

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI
ȘCOALA DOCTORALĂ
MEDICINĂ**



**STUDIUL MEDICO-LEGAL
AL INFECȚIILOR ASOCIATE ASISTENȚEI MEDICALE
REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT**

Conducător de doctorat:

PROF. UNIV. DR. BELIȘ VLADIMIR

Student-doctorand:

DIAC IULIANA

2023

CUPRINS

Introducere	7
I.Partea Generală	8
1. Supravegherea Infecțiilor Asociate Asistenței Medicale	8
1.1. Definirea Infecțiilor Asociate Asistenței Medicale	8
1.2. Scurt Istoric al supravegherii infecțiilor asociate asistenței medicale	11
1.3. Sisteme de supraveghere a infecțiilor asociate asistenței medicale	12
1.4. Supravegherea infecțiilor asociate asistenței medicale în România	15
1.5. Dezvoltarea prevenției, supravegherea infecțiilor asociate asistenței medicale și controlul calității în sănătate	20
1.6. Normele etice privind supravegherea în sănătatea publică	22
1.7. Confidențialitatea și protecția datelor cu caracter personal în supraveghere	27
1.8. Studiul Checklist – distincție cercetare/practică	29
2. Microorganisme implicate în IAAM	31
2.1. Agenții patogeni ESKAPE - Prezentare generală a rezistenței antimicrobiene	31
2.2. Rezistența la carbapenemaze	33
3. Examine bacteriologice postmortem	34
II. Contribuții personale	36
4. Ipoteza de lucru și obiectivele generale	36
5. Metodologia generală a cercetării	36
6. Microbiologia postmortem în autopsii medico-legale – un studiu retrospectiv, centru unic, în România	37
6.1 Introducere	37
6.2. Material si metodă	37
6.3. Rezultate	39
6.4. Discuții	64
6.5. Concluzii	65
7. Tendințele rezistenței antimicrobiene – Un studiu retrospectiv monocentric al agenților patogeni asociați asistenței medicale – prelevarea post-mortem de probe post- la autopsiile medico-legale din București	66
7.1. Introducere	66

7.2. Materiale și metodă	66
7.3. Rezultate	69
7.4. Discuții	99
7.5. Concluzii	102
8. Chestionar privind infecțiile asociate asistenței medicale în practica medico-legală.	103
8.1. Introducere	103
8.2. Material și Metodă	103
8.3. Rezultate	105
8.4. Discuții	115
8.5. Concluzii	115
9. Evaluarea performanței testelor RESIST-5 O.K.N.V.I. pentru probe biologice postmortem - Studiu pilot prospectiv	116
9.1. Introducere	116
9.2. Material și Metodă	118
9.3. Rezultate	122
9.4. Discuții	127
9.5. Concluzii	128
10. Discuții generale	129
Concluzii	134
Referințe bibliografice	137
ANEXE	154
ANEXA 1- Elementele normative privind IAAM cu implicații pentru practica necropsică	155
ANEXA 2 Chestionar	162
ANEXA 3 Rezultate teste RESIST-5 OKNVI	169
ANEXA 4 Articole publicate	183

Introducere

Motivația alegerii temei de cercetare

La nivel mondial, infecțiile asociate asistenței medicale (IAAM) sunt o problemă majoră de sănătate publică [1], dat fiind impactul acestora asupra mortalității și morbidității intraspitalicești, prelungirea perioadelor de spitalizare și creșterea costurilor legate de asistența medicală, fiind o povară pentru sistemele de sănătate din întreaga lume [2]. Cu toate acestea, atunci când vine vorba de evaluarea impactului acestei probleme la nivel internațional, apar dificultăți fie din cauza subraportării IAAM, fie a lipsei sistemelor naționale de supraveghere continuă, în prezent acestea fiind în vigoare în doar 19 state ale Uniunii Europene [3].

Sistemele de supraveghere sunt predominant prezente în țările cu venituri mari arătând o prevalența IAAM aici este între 3,5% și 12%, pe când în țările cu venituri mici și medii avem o imagine fragmentată datorată fie lipsei sau calității inadecvate a datelor arătând o prevalența ce variază între 5,7 % și 19,1%[2], [4].

În Europa, prevalența medie a scăzut de la 7,1% (2010) la 5,7% (2016-2017) [4], [5]. În Statele Unite, de la o prevalență medie de 3% (2015) [6], când a fost stabilită linia de bază națională, progresul privind controlul infecțiilor asociate asistenței medicale naționale și povara IAAM se evaluează utilizând raportul standardizat de infecție (SIR), arătând o scădere generală a IAAM în toate instituțiile de îngrijire a sănătății [6]. IAAM în România sunt subraportate, iar povara este mult subestimată, raportările spitalelor arătând o rată de prevalență de 0,2-0,25% [7] cu o valoare mai mare într-un studiu de prevalență punctual din 2017 de 2,6% [8].

Ipoteza de cercetare

Dat fiind că IAAM sunt întâlnite în practica medico-legală pe de o parte atunci când sunt implicate în lanțul tanatogenerator și pe de altă parte în expertizele medico-legale când pacienții sau familiile acestora acuză unitățile medicale sau personalul de apariția infecției și cer compensații financiare [9], astfel se conturează un rol al specialității în această problematică de sănătate publică.

Examinările post-mortem joacă rol în sănătatea publică, având mai multe implicații epidemiologice. În ultimele trei decenii, s-a încercat supravegherea sistematică în legătură cu bioterorismul, bolile infecțioase [10] și mortalitatea prin droguri [11], precum și recent pentru supravegherea sistematică prospectivă post-mortem a deceselor legate de Covid-19 [12].

PARTEA GENERALĂ

Capitolul 1. Supravegherea Infecțiilor Asociate Asistenței Medicale

Supravegherea în medicină cu precădere în sănătate publică recunoaște ca element important al sistemelor de supraveghere definițiile de caz, deoarece pot avea un impact crucial asupra sensibilității sistemului și pot asigura comparabilitatea și coerența datelor colectate [13].

În ultimii 10 ani supravegherea și raportarea infecțiilor asociate asistenței medicale (IAAM) sau nosocomiale s-a făcut după ultimele două Ordine ale Ministerului Sănătății, nr. 916/2006 și nr. 1101/2016. În ordinul din 2006 nu se face referire la cazuistica necropsică explicit, ci doar la criteriile care includ examen histopatologic cu rezultat pozitiv pentru infecție. Ordinul nr. 1101/2016 privind aprobarea Normelor de supraveghere, prevenire și limitare a infecțiilor asociate asistenței medicale în unitățile sanitare folosește definițiile de caz prezentate în Decizia nr. 2119/98/CE a Parlamentului European și a Consiliului, din care am ales să prezentăm subcapitolele în care se indică un criteriu histologic similar cu definițiile din ordinul 916 din 27 iulie 2006 precum și cele la care apar criteriile necropsice, respectiv aspecte macroscopice constatate cu ocazia autopsiilor, identificând doar 3 situații (infecție a sistemului nervos central, infecție la nivelul sistemului cardiovascular, infecție a sistemului gastrointestinal) [14].

Față de cele de mai sus, contribuția specialităților medicale care efectuează autopsii (medicină-legală, anatomie patologică) este redusă în ceea ce privește aspectele necropsice aferente definițiilor de caz, însă de subliniat aici că în evaluarea unui caz se dispune și de documentația medicală, respectiv rezultatele analizelor de laborator și evoluția clinică din perioada spitalizării.

Capitolul 2. Microorganisme implicate în IAAM

În ceea ce privește microorganismele multirezistente specifice mediului spitalicesc, amenințările urgente indicate de Centrele pentru Controlul și Prevenirea Bolilor și Organizația Mondială a Sănătății sunt Enterobacteriaceae rezistente la carbapeneme, Acinetobacter multirezistent și Pseudomonas aeruginosa multirezistent [15] care apar în infecțiile asociate asistenței medicale (IAAM); cele mai provocatoare microorganisme care dezvoltă rezistență sunt rezumate de acronimul ESKAPE: Enterococcus faecium, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa și Enterobacter spp. [16]. Institutul Național de Sănătate Publică, București, România participă la supravegherea rezistenței antimicrobiene (AMR) în Europa, cu o acoperire a populației naționale estimată la 21% în 2020,

cel mai recent raport arătând o creștere a tulpinilor rezistente la carbapenemaze de *Klebsiella pneumoniae* și *Acinetobacter baumannii* între 2016 și 2020 [17].

Capitolul 3. Examine bacteriologice postmortem

Infecțiile asociate asistenței medicale reprezintă o preocupare majoră pentru sistemele de sănătate din întreaga lume. Grupul de studiu al Societății Europene de Microbiologie Clinică și Boli Infecțioase (ESCMID) de Microbiologie Legală și Postmortem (ESGFOR) a evaluat prelevarea de probe de microbiologie postmortem în urma deceselor în spital.

Declarația de consens a grupului de studiu identifică trei motive principale pentru a efectua microbiologie post-mortem din probe biologice: identificarea agentului etiologic al unei infecții nediagnosticate anterior, confirmarea unui presupus diagnostic ante-mortem și determinarea eficacității terapiei antimicrobiene [18]. Examinările microbiologice postmortem (PMM) au fost un subiect controversat în ultimul secol. Studiile care arată divergențe față de rezultatele ante-mortem [19] sau o corelație slabă între tipul de infecție și/sau indicatorii de infecție și microorganismele recuperate la autopsie [20] prezintă drept cauza evenimentele survenite după moarte.

Răspândirea agonală este procesul în care invazia bacteriană are loc în timpul procesului de moarte sau în timpul încercărilor de resuscitare din cauza leziunilor ischemice induse pe suprafețele mucoasei. Translocarea postmortem este migrarea bacteriană de la suprafața mucoasei în sânge și organele interne după moarte [21]. Măsurile tehnice neadecvate, cum ar fi răcirea întârziată a cadavrului sau procedura de prelevare a probelor, utilizarea de instrumente nesterile sau operarea în medii nesterile, pot provoca contaminare [22].

Cu scopul de a evalua valoarea culturilor de microbiologie post-mortem pe baza literaturii existente, Riedel [23] discută cele două teorii principale care explică creșterea bacteriană în hemoculturile și culturile din țesuturi efectuate pe probe prelevate postmortem: răspândirea agonală, respectiv transmigrarea bacteriană postmortem. În plus, autorul recunoaște posibilitatea contaminării iatrogene a a probelor post-mortem în timpul prelevării. Pe baza literaturii revizuite, se susține relevanța culturile post-mortem pentru probe prelevate în urma autopsiilor efectuate în primele 48 de ore după moarte, cu o probabilitate scăzută de răspândire agonală și a tranlocării bacteriene post-mortem.

CONTRIBUȚII PERSONALE

Ipoteza de lucru și obiectivele generale

Infecțiile asociate asistenței medicale ridică dificultăți în practica medico-legală în ceea ce privește rolul în lanțul tanatogenerator și în contextul acuzațiilor de deficiențe în acordarea asistenței medico-chirurgicale.

Obiectivele generale ale studiului doctoral au fost:

- conturarea protocolului de recoltare în centrul de studiu
- identificarea cronologiei decelării tipurilor de rezistență la antibiotice în examinările microbiologice postmortem
- evaluarea percepției subiective a medicilor legiști privitor la infecțiile asociate asistenței medicale (IAAM)
- identificarea sensibilității testelor rapide pentru rezistența la carbapeneme direct pe produsele biologice prelevate postmortem.

Metodologia generală a cercetării

Evaluarea obiectivelor generale ale cercetării doctorale s-a realizat prin 4 studii, după cum urmează:

- Studiul I- Microbiologia postmortem în autopsii medico-legale – un studiu retrospectiv, monocentric- Institutul Național de Medicină Legală Mina Minovici, București, România (studiu epidemiologic retrospectiv)
- Studiul II- Tendințele rezistenței antimicrobiene – Un studiu retrospectiv monocentric al agenților patogeni asociați asistenței medicale – modele de prelevare a probelor biologice post-mortem la autopsiile medico-legale în București (studiu epidemiologic retrospectiv)
- Studiul III- Chestionar privind infecțiile asociate asistenței medicale în practica medico-legală (studiu observațional prospectiv folosind ca instrument un sondaj online)
- Studiul IV - Teste rapide pentru rezistența la carbapeneme efectuate direct pe produse biologice prelevate postmortem - un studiu pilot prospectiv (studiu experimental prospectiv)

6. Microbiologia postmortem în autopsii medico-legale – un studiu retrospectiv, monocentric, în România

6.1 Introducere

Examinările Microbiologice postmortem au fost un subiect controversat de-a lungul anilor, deși valoarea culturilor de microbiologie post-mortem rămâne promițătoare. Scopul acestui studiu a fost revizuirea procedurilor de prelevare microbiologică post-mortem și a rezultatelor acestora într-un singur centru din București pe o perioadă de 10 ani.

Obiectiv principal: -conturarea protocolului de recoltare în centrul de studiu

Obiective secundare: -evaluarea contaminării postmortem

-evaluarea translocării bacteriene postmortem

-evaluarea relevanței examinărilor bacteriologice în practica medico-legală necropsică

6.2. Material si metodă

Am efectuat un studiu retrospectiv, observațional, unicentric, la Institutul Național de Medicină Legală Mina Minovici din București, România, analizând rezultatele examenelor microbiologice post-mortem și dosarele de autopsie corespunzătoare, aferente perioadei 2011 până în 2020. Datele colectate au fost incluse într-o bază de date electronică folosind software-ul Microsoft Excel 2010, analiza statistică a fost efectuată folosind IBM®SPSS Statistics pentru Windows versiunea 24.0.

6.3. Rezultate

Pentru perioada de zece ani (2011-2020) inclusă în studiu, am regăsit un număr de 630 de cazuri în care au fost solicitate investigații microbiologice. Analiza microbiologică a fost solicitată în puține cazuri față de numărul total de autopsii - între 1,89% și 5,59%.

Caracteristicile demografice ale populației studiate au fost următoarele: 245 de femei (38,9%) și 385 de bărbați (61,1%), intervalul de vârstă 0 și 94 de ani, vârsta medie de 52 de ani. Decesele s-au produs în spital pentru 594 de cazuri (94,3%) și în afara spitalului pentru 36 de cazuri (5,7% - caz de teren).

Pentru analiza tipului de eșantion și microbiologia am folosit toate cele 630 de cazuri, dar pentru constatările necropsice și documentele medicale nu am putut recupera 84 de dosare de autopsie, incluzând astfel în evaluarea statistică doar 546 de cazuri (522 de cazuri de spital, 24 de cazuri de teren). Acest lucru s-a datorat parțial faptului că unele dosare de autopsie au fost

solicitate și utilizate la instrumentarea unor dosare civile sau penale în desfășurare, sau nefinalizate pentru anul 2020 la momentul colectării datelor.

Modelele de eșantionare au variat considerabil: pe parcursul celor zece ani am identificat 104 modele diferite pentru cazurile spitalicești și 19 modele pentru cazurile de teren. Pentru ambele subgrupe, hemoculturile post-mortem au fost cele mai frecvente analize, urmate de tamponare traheale/probele de țesut pulmonar și, în sfârșit, tamponare de secreție plină/probă de țesut cutanat pentru cazurile de spital și mostre de recoltare pentru cazurile de teren.

Prelevarea a fost efectuată în primele două zile (48h) în cadrul a 334 autopsii (53,0%) și în primele 4 zile în cadrul a 579 autopsii (91,9%). În mod excepțional, pentru mai puțin de 1% dintre cazuri autopsia a fost efectuată mai târziu de o săptămână.

Ca agent patogen din familia Enterobacteriaceae, *Klebsiella pneumoniae* a fost microorganismul cel mai frecvent identificat în perioada de zece ani. *Acinetobacter baumannii* și *Pseudomonas aeruginosa* au fost, de asemenea, printre primii trei agenți patogeni. *Staphylococcus aureus* sau alți stafilococi nu au fost microorganisme identificate în mod obișnuit în hemoculturi în cazurile studiului nostru.

Numărul de microorganisme/cultură nu a variat semnificativ în funcție de tipul de caz, astfel că 70,8% din hemoculturile pentru cazurile de deces în spital au fost polimicrobiene, în timp ce 31,3% au fost monomicrobiene pentru cazurile de teren ($p=0,863$).

Comparația între microorganismul identificat în hemoculturi și intervalul post-mortem a identificat o singură asocieră semnificativă statistic, respectiv rezultatul *Staphylococcus* spp. (spp. – polimicrobiene- microorganisme din familie) (mediană rezultate negative $2,68 \pm 1,28$ zile și pozitive $3,52$ zile $\pm 1,209$, $p= 0,003$).

Nu a existat nici o asocieră semnificativă statistic între intervalul post-mortem și numărul de microorganisme identificate ($p=0,122$).

În 85,5% dintre cazurile cu leziuni cutanate raportate la autopsie au fost identificate culturi polimicrobiene ($p=0,004$, $p<0,05$). În culturile pozitive au fost identificate cel mai frecvent *Acinetobacter baumannii* și *Pseudomonas aeruginosa* (62,0%), urmate de Enterococcaceae (56,10%), indiferent de intervalul post-mortem.

Am colectat date privind rezultatele microbiologiei înainte de deces din dosarele de autopsie pentru 233 (42,6%) dintre decesele în spital dintre care 21 de cazuri (9,1%) au fost negative. În acest subgrup, a existat o asocieră între probele pozitive de microbiologie din spital

și probele de microbiologie post-mortem (indiferent de tipul de probă) pentru *Clostridium difficile* ($p < 0,001$), *Klebsiella pneumoniae* ($p = 0,035$) și *Proteus mirabilis* ($p = 0,018$). În cazurile care au avut culturi negative la microbiologie în spital, doar *Staphylococcus aureus* a fost identificat în culturi post-mortem - 28,6 % ($p = 0,022$).

6.4. Discuții

Datele noastre arată că decesele intraspitalicești și cazurile de teren nu diferă semnificativ în ceea ce privește numărul de microorganisme identificate într-o hemocultură pozitivă. Deși în microbiologia postmortem creșterea polimicrobiană este considerată contaminare [24]–[26], sunt și unele studii care raportează bacterii de creștere mixtă ca agenți patogeni autentici [27]. Pentru populația studiului nostru, majoritatea probelor de tamponare din secreție plagă sau de țesut cutanat au fost polimicrobiene, indiferent de intervalul post-mortem, probabil din cauza circumstanțelor morții (victime de arsuri, victime ale traumatismelor cu spitalizare prelungită, pacienți imobilizați cu ulcere de presiune cunoscute a avea culturi polimicrobiene) [28]–[30].

Deși *Clostridium* spp., inclusiv *Clostridium difficile* [31], sunt membri cu creștere rapidă ai culturilor microbiene post-mortem, respectiv contaminanți, rezultatele noastre pozitive pentru acesta din urmă au fost în probe de fecale, cu corelație statistică cu infecția documentată înainte de deces.

Studiile anterioare au sugerat referitor la culturile de splină postmortem că pot fi utile în evaluarea eficacității tratamentului bacteriemiei antemortem [32], însă probele de splină au fost rar prevelate în cazurile noastre de studiu, având astfel date insuficiente în evaluarea relevanței acestui tip de eșantion. PMM pentru decesele în spital poate fi utilizat pentru a evalua răspunsul la tratament [18], cu toate acestea, deteriorarea rapidă a pacientului poate avea un efect neclar al tratamentului antimicrobian asupra rezultatelor culturilor post-mortem [33]. Studiul nostru nu și-a propus să evalueze răspunsul la tratament, datele extrase din fișele medicale nu au inclus debutul clinic și de laborator al infecțiilor în spital sau tratamentul cu antibiotice primit, conferind astfel o limitare a corelației cu rezultatele antemortem. Evaluarea postmortem a eficacității tratamentului a fost o limitare a studiului nostru.

Colectarea de probe din cel puțin două locuri diferite de prelevare a crescut probabilitatea identificării unei infecții subiacente (potențial fatală), așa cum a fost cazul culturilor de sânge și probelor pulmonare sau din diferite colecții.

7. Tendințele rezistenței antimicrobiene – Un studiu retrospectiv monocentric al agenților patogeni asociați asistenței medicale – prelevare de probe post-mortem la autopsiile medico-legale din București

7.1. Introducere

Infecțiile asociate asistenței medicale reprezintă o preocupare majoră pentru sistemele de îngrijire a sănătății din întreaga lume. Microorganismele care dezvoltă rezistență la antibiotice puternice reprezintă o amenințare urgentă pentru sănătatea publică.

Prezentul studiu își propune să caracterizeze tendințele rezistenței antimicrobiene întâlnite în probele microbiologice post-mortem prelevate în timpul autopsiilor medico-legale în București, România, pe o perioadă de zece ani. Mai mult, am evaluat posibilitatea ca aceste examinări să identifice focare epidemiologice.

Obiectiv principal: - tendințele rezistenței antimicrobiene în examinările bacteriologice postmortem din centrul de studiu

Obiective secundare: -evaluarea rezistenței la antibiotice pentru unitățile medicale cuprinse în cazuistică

-evaluarea rezistenței la antibiotice a bacteriilor intraspitalicești

-evaluarea posibilității de a identifica retrospectiv focare de IAAM

7.2 Materiale și metodă

Pentru perioada 2010-2020 au fost selectate dosarele de autopsie care au îndeplinit două criterii de includere, respectiv decesul survenit în timpul spitalizării și recoltarea de probe biologice pentru efectuarea examenelor microbiologice postmortem. Din arhiva Laboratorului de Prosectura al Institutului Național de Medicină Legală Mina Minovici s-au selectat 516 cazuri de autopsie medico-legală care au îndeplinit criteriile antemenționate.

Clusterul, focarul IAAM a fost definit ca mai multe cazuri de IAAM care apar într-o unitate de asistență medicală [34] în aceeași perioadă de timp. Deoarece autopsiile nu sunt efectuate în mod obișnuit la toate decesele intraspitalicești și ratele autopsiilor din spitale continuă să scadă [35] propunem, pentru epidemiologia retrospectivă post-mortem a IAAM, să se utilizeze o lună calendaristică ca unitate de timp. Pentru evaluare, sunt necesare date privind unitatea medicală. În ceea ce privește durata spitalizării, rămânem cu definiția IAAM [36], infecție identificată la peste 3 zile de la admisie. Microbiologia postmortem constă în rezultate pozitive care identifică același agent patogen cu rezistență antimicrobiană (AMR) similară.

7.3 Rezultate

Analiza probelor microbiologice a fost solicitată în câteva dintre autopsiile pentru decese în spital efectuate în centrul nostru (1,68%-5,44% cazuri/an) și incluse în studiu 1,62%- 5,09% autopsii/an. Am identificat 516 autopsii medico-legale care au îndeplinit criteriile de includere.

Caracteristicile demografice ale populației studiate au fost următoarele: 310 bărbați (60,1%) și 206 femeii (39,9%), intervalul de vârstă cuprins între 0 și 94 de ani, cu o vârstă medie de 57 de ani. Durata spitalizării a fost între o zi (1) și 232 de zile, cu o medie de 10 zile; 401 pacienți (77,7%) au fost, de asemenea, internați în secțiile de terapie intensivă (ATI) și au avut cele mai lungi perioade de spitalizare. Intervalul post-mortem, respectiv perioada între deces și autopsia medico-legală cu recoltarea de probe biologice a fost între o zi (1) și 8 zile post-mortem cu o mediană de 2 zile.

Pentru a evalua tipurile de probe prelevate și a schița un protocol de colectare ipotetic în cadrul Institutului Național de Medicină Legală Mina Minovici, am folosit funcția Missing Value Pattern oferită de IBM SPSS Statistics 24.0 pentru cele 14 variabile corespunzătoare tipurilor de probe biologice găsite a fi fost luate în timpul analizei retrospective a dosarelor de autopsie. Rezumatul valorilor lipsă a relevat că doar 12,9% dintre variabilele studiate aveau date complete. Astfel, au fost utilizate 96 de seturi (combinații) de produse biologice pentru cele 516 cazuri incluse în studiu.

Rezistența la antimicrobiene generală, crescută, a enterobacteriilor este asociată semnificativ statistic cu perioada de spitalizare peste 3zile ($p=0.018$, $p<0.05$).

Folosind numărul de zile de spitalizare ca variabilă continuă se constată o diferență între mediile grupurilor, semnificativă, numărul de zile de spitalizare este mai mare pentru enterobacteriile rezistente ($F=6.538$, $p=0.011$, $p<0.05$) identificate în hemoculturile pozitive postmortem.

În ceea ce privește perioadele de spitalizare în terapie intensivă, deși procentual se observă o creștere direct proporțională a germenilor rezistenți, nu s-au obținut asocieri semnificativ statistice pentru tipurile de rezistență ale enterobacteriilor.

S-a constatat că odată cu creșterea perioadei de spitalizare crește și numărul de enterobacterii rezistente pentru fiecare hemocultură postmortem, un germene rezistent fiind identificat la o medie de 4.34 zile și doi germeni la 4.82 zile, spre deosebire de 3 germeni multirezistenți regăsiți la 8.2 zile.

Pseudomonas aeruginosa și *Acinetobacter baumannii* au fost identificate în hemoculturi în mai puțin de 20% din cazuri. S-au găsit tulpini de *Pseudomonas aeruginosa* multirezistente și variante rezistente la carbapenemaze în 5,5% din cazuri. *P.aeruginosa* a fost asociată cu spitalizare prelungită și spitalizare la ATI. Tulpinile rezistente de *P.aeruginosa* par să fie mai frecvente cu spitalizare prelungită (spitalizare < 3 zile: 8,3% vs. spitalizare > 3 zile: 32,8%) fără a atinge semnificația statistică ($p=0,087$). Hemoculturile pozitive pentru *Acinetobacter baumannii* au fost asociate cu spitalizarea prelungită ($p=0,046$), în timp ce culturile pulmonare pozitive pentru *A. baumannii* au fost asociate cu șederea prelungită la ATI ($p=0,015$).

Cazurile incluse în studiu au provenit din 29 de unități medicale din București care au fost anonimizate folosind Hn (H1-H29) și împărțite în 6 categorii: 1-Spital de Urgență, 2-Spital de Boli Cronice, 3-Spital de Copii, 4-Spital de Boli Infecțioase, 5-Spitalul Privat, 6-Maternitate. Cazurile incluse în studiu au provenit în mare parte din spitalele de urgență (69,8%), urmate de spitalele de boli cronice (12%). Tulpinile rezistente la antibiotice (ESBL, CP, MDR - predominant *A. baumannii*) au fost identificate în principal în spitalele de urgență, peste 75% dintre tulpinile rezistente, iar enterococci rezistenți la vancomicină au fost găsite numai în acest tip de unitate.

Microbiologia post-mortem arată o imagine retrospectivă a AMR în spitalele din București, România, între 2011 și 2020: variantele ESBL sunt predominante cu un vârf semnificativ în 2016, variantele CR (producător de carbapenemază și neproducător de carbapenemază), au fost rare (<10 cazuri) /an până în 2019 când au depășit variantele ESBL. Alte izolate MDR și VR au o rată de identificare scăzută, dar constantă, mai mică de 10 cazuri/an.

Astfel, pentru perioada de studiu am recuperat maximum 6 cazuri din aceeași unitate medicală care au fost autopsiate medico-legal în aceeași lună. Am încercat o analiză retrospectivă a principalelor microorganisme virulente din mediul spitalicesc și anume *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp. cunoscute sub acronimul ESKAPE.

Astfel, au fost recuperate 11 clusteruri cu microorganismele menționate anterior, decesele survenite în doar 3 unități medicale (H1 și H2 sunt Spitale de Urgență din București, H17 - Spital de Boli Cronice din București).

7.4 Discuții

Agenții patogeni rezistenți la antimicrobieni la pacienții spitalizați sunt de mare îngrijorare pentru medicii din întreaga lume.

Microbiologia postmortem a avut o relevanță îndoielnică în trecut, dar a câștigat relevanță în prelevarea de probe în urma deceselor în spital prin cercetări sistematice.

Acesta este primul studiu sistematic unicentric care descrie identificarea variantelor AMR ale microorganismelor specifice mediilor spitalicești recuperate din prelevarea de probe post-mortem în timpul autopsiilor medico-legale din România.

Cu toate acestea, această analiză retrospectivă are câteva limite care contribuie la o subestimare la nivel clinic.

În primul rând, numărul de autopsii medico-legale în care s-a solicitat microbiologia post-mortem este mic, deoarece acest tip de investigație nu este un standard în protocoalele de autopsie din România și este solicitat de la caz la caz de medicul legist.

În al doilea rând, modelele eterogene de eșantionare identificate în studiul nostru constau din 14 tipuri de eșantioane în 96 de combinații care interferează cu asocierea rezultatelor microbiologice și a infecției/locului de infecție confirmat histologic. Această variație determină necesitatea unui protocol de eșantionare standardizat.

În al treilea rând, conform legislației române, nu toate decesele în spital sunt supuse unei autopsii medico-legale.

Prin urmare, aceste rezultate post-mortem sunt aplicabile pentru o mică parte din cazuri: decese violente sau suspecte pentru care o autopsie medico-legală este ordonată de autorități, ceea ce determină o subestimare a AMR prin prezentul studiu; indicatorii epidemiologici, cum ar fi incidența și prevalența, sunt considerați irelevanți pentru studiul nostru.

Alte limite includ indisponibilitatea datelor privind istoricul medical și spitalizările anterioare care ar servi la conturarea unei imagini epidemiologice mai complexe.

8. Chestionar privind infecțiile asociate asistenței medicale în practica medico-legală

8.1. Introducere

În practica medicală folosirea sondajelor asupra unor populații țintă (pacienți, personal medical) poate fi un instrument de îmbunătățire a calității serviciilor [37], [38].

Cercetarea prin intermediul sondajelor este o metodă comună pentru studiile din domeniul medical sau al serviciilor medicale. Chestionarele folosite sunt structurate pentru a

obține o imagine la un anumit moment în timp, fiind potrivite predominant pentru studii descriptive.

Scopul acestui studiu a fost să evalueze opinia profesionistilor din specialitatea medicină-legală, asupra cazuisticii necropsice și clinice medico-legale privitoare la infecțiile asociate asistenței medicale (IAAM).

Obiectiv principal - evaluarea percepției subiective a medicilor legiști privitor la infecțiile asociate asistenței medicale (IAAM) în practică

Obiective secundare - evaluarea raționamentului privind practica necropsică în cazurile cu IAAM

- evaluarea raționamentului privind practica clinică medico-legală în cazurile cu IAAM

8.2.Material și Metodă

S-a efectuat un studiu observațional folosind ca instrument un sondaj online cu titlul „Chestionar privind infecțiile asociate asistenței medicale în practica medico-legală”. Datele colectate au fost incluse într-o bază de date electronică și analiza statistică a fost efectuată folosind IBM®SPSS Statistics pentru Windows versiunea 24.0.

8.3.Rezultate

S-au colectat 24 de răspunsuri.

Prezentăm rezultatele structurate pe 3 categorii: date socio-profesionale; aspecte legate de cazuistică; aspecte privind raționamentul profesional.

Legat de cazuistică, se pare că respondenții au întâlnit rar în lucrările medico-legale obiective referitoare la IAAM (17 respondenți, 70.8%), mai frecvent în lucrări de tipul nouă expertiză (10 respondenți, 41,7%), predominant în cazuri de traumatologie la persoane care aveau și afecțiuni patologice preexistente (17 respondenți, 70.8%), cu deces ulterior infecției (20 respondenți, 83.3%).. Cazurile proveneau predominant din secții de chirurgie.

Au fost solicitate rar opinii de specialitate (boli infecțioase/epidemiologie), la elaborarea concluziilor fiind avute în vedere predominant elementele prevăzute de legislația națională, anchetele epidemiologice, rezistența la antibiotice a microorganismelor identificate și opiniile de specialitate;

Referitor la raționamentul profesional am folosit întrebări cu răspuns scalabil și subliniem că abordarea respondenților a fost aplicată la caz, simpla identificare a unei IAAM la un caz nu orientează asupra prezenței sau absenței deficiențelor în acordarea asistenței medicale.

- majoritatea respondenților nu consideră IAAM deficiență dacă aceasta a fost identificată și tratată, ci în situațiile în care a fost identificată și netratată sau neidentificată și implicit netratată;

-în cazurile de traumatologie respondenții au considerat că apariția unei IAAM poate cel mult să influențeze tipul legăturii de cauzalitate, fără a fi cu caracter de obligativitate – întotdeauna - o cauzalitate indirectă

8.4. Discuții

Printre limitările acestei cercetări avem numărul mic de respondenți care oferă o imagine parțială și faptul că sondajul a fost doar la nivel național;

9. Evaluarea performanței testelor RESIST-5 O.K.N.V.I. pentru probe biologice postmortem - Studiu pilot prospectiv

9.1. Introducere

În acest studiu, performanța testelor RESIST-5 OKNVI a fost evaluată ca fiind capacitatea de detectare și diferențiere a celor cinci izoenzime (carbapenemaze) în probe biologice postmortem impure și culturi bacteriologice pure rezultate din aceste probe ca standard de referință.

Scopul studiului este de a determina sensibilitatea și specificitatea testelor rapide pentru rezistența la carbapeneme postmortem în produse biologice, precum și fezabilitatea testelor rapide și de a vedea dacă acestea pot ajuta medicul legist/anatomopatolog în ceea ce privește oportunitatea testării rezistenței la carbapeneme postmortem.

Obiectiv principal -Identificarea sensibilității testelor rapide pentru rezistența la carbapeneme direct pe produsele biologice prelevate postmortem.

Obiectiv secundar -Compararea semicantitativă a prezenței bacteriilor în probele biologice

9.2. Material și Metodă

Am efectuat un studiu pilot prospectiv, cu un singur centru, care evaluează testarea rezistenței la carbapenemaze la fața locului din probe post-mortem, comparativ cu testarea din culturi pure după inoculare, izolare și identificarea agenților cauzali.

Criteriile de includere a pacienților au fost următoarele: durata spitalizării mai mare de 3 zile, o bacterie rezistentă la carbapenem (CR) identificată înainte de deces, bacteriologie post-mortem comandată de medic patolog pentru evaluarea cauzei decesului.

În timpul autopsiei, au fost recoltate patru tampoane pentru fiecare specimen, după cum urmează:

- Tampon I a fost testat la fața locului, imediat după prelevare. Tamponul a fost scufundat într-un tub semirigid care conținea 12 picături de tampon LY-A, amestecat bine, iar proba diluată a fost transferată prin pipetă pe fiecare dintre cele două casete de RESIST-5 OKNVI, rezultatele au fost citite după 15 minute (testul I).

- Tampon II a fost testat în laboratorul local. Tamponul a fost folosit pentru a inocula Brilliance™ ESBL Agar (Oxoid, Basingstoke, Marea Britanie) - o placă de screening cromogenă pentru detectarea organismelor producătoare de β-lactamaze cu spectru extins. Plăcile de agar Brilliance™ ESBL au fost examinate după incubare la 36°C ± 2°C timp de 18 până la 24 de ore. Dacă agarul a prezentat populații mixte, a fost obținută o placă de izolare pentru a separa în continuare microorganismele individuale.

Odată ce au fost obținute culturi pure, testarea RESIST-5 OKNVI a fost efectuată conform instrucțiunilor producătorului (testul II). Rezultatele au fost obținute în 1-2 zile, în funcție de creșterea culturilor și de instalațiile de incubare.

9.3. Rezultate

Un număr de 200 de autopsii au fost efectuate la Institutul Național de Medicină Legală Mina Minovici în lunile iunie - iulie 2022. Am identificat 21 de autopsii medico-legale care au îndeplinit criteriile de includere și pentru 14 dintre ele au fost disponibile date complete și au fost incluse în studiul de față.

Am efectuat 39 de teste rapide RESIST-5 OKNVI pe 19 probe biologice, cel puțin o probă/caz, pentru 5 cazuri s-au recoltat două probe biologice. Pentru două probe primele teste au fost negative și după 24 de ore de incubare nu au crescut microorganisme pe Oxoid Brilliance ESBL Agar, astfel încât pentru aceste probe nu a fost efectuat al doilea set de teste.

În probele de studiu, testele RESIST-5 OKNVI direct din probe biologice au arătat o sensibilitate globală de 92,3% și o specificitate de 100%, valoare predictivă pozitivă 100%, valoare predictivă negativă 80,0%. În setul doi de teste pentru 10 culturi, rezultatele au fost pozitive pentru 2 tipuri de izoenzime CR.

În studiul nostru nu au fost identificate variante de IMP, variantele VIM au fost prezente în 2 cazuri, varianta NDM în 10 cazuri, KPC în 3 cazuri și OXA-48 în 8 cazuri.

Pentru variantele KPC am recuperat o sensibilitate de 100% cu o specificitate de 92,9%. Pentru VIM și NDM specificitatea globală a fost de 100%, dar sensibilitatea a fost sub 80%. Variantele OXA-48 au fost identificate direct din probe biologice cu o sensibilitate de 75,0% și o specificitate de 77,8%.

Intervalul post-mortem pentru eșantionare nu a arătat o influență semnificativă statistic asupra rezultatelor testului II ($p=0,212$) atunci când am comparat probele prelevate în primele 24 de ore cu cele prelevate mai târziu, până la 6 zile, iar concordanța testului I și testului II pentru variantele CP nu a demonstrat. modificări cu intervalul postmortem în zile (NDM [F(5,13)=0,99, $p=0,460$], VIM [F(5,13)=1,09, $p=0,409$], KPC [F(5,13)=0,35, $p=0,870$], OXA-48 [F(5,13)=2,58, $p=0,078$]).

9.4. Discuții

Izolatele producătoare de carbapenemaze sunt în creștere atât în spital, cât și în comunitate [39], precum și la animale [40]. Pentru practica de medicină legală, aceste infecții ridică mai multe probleme cu privire la acuzațiile de neglijență care se concentrează pe infecții nediagnosticsate asociate asistenței medicale sau tratamentului/antibiotic înainte de deces.

Întrucât bacteriologia post-mortem este rar solicitată în timpul autopsiilor medico-legale în centrul nostru, parțial pentru că sunt examinări costisitoare și consumatoare de timp și deoarece testele rapide cu aplicații post-mortem sunt în curs de dezvoltare, am vrut să le vedem performanța și în prelevarea de probe post-mortem.

Sensibilitatea generală și specificitatea RESIST-5 OKNVI pentru eșantionarea postmortem a fost satisfăcătoare. Considerăm că aceste rezultate la testele rapide, direct din probă biologică și nu din cultură, s-au datorat calității specimenului, nediluat ca lavajul traheal/bronșic

Prelevarea post-mortem pentru bacteriologie se recomandă să fie efectuată în primele 24 de ore [18] după moarte, cu toate acestea, intervalul post-mortem de recoltare pentru probele noastre nu a afectat concordanța rezultatelor cu testele efectuate direct din culturile bacteriene.

Deși limitate de dimensiunea mică a eșantionului, rezultatele noastre au arătat o corelație bună între testul efectuat direct din probe biologice și rezultatul din culturi pure după 24/48 de ore de incubație.

10. Discuții generale

Lipsa unui protocol de eșantionare PMM este ilustrată și de eterogenitatea modelelor identificate în datele noastre pe o perioadă de 10 ani (104 modele diferite pentru cazurile cu deces în unități medicale și 19 modele pentru cazurile de teren)[41].

Similar cu studiile anterioare în domeniu, datele noastre susțin contaminarea probei, când rezultatul examinării microbiologice postmortem este *Staphylococcus* spp. ($p=0,003$), respectiv o hemocultură polimicrobiană din această familie [26], [42], [43]. Studii recente pe modele animale arată că din ziua 2 până în ziua 18 postmortem *Staphylococcus* spp. sunt genul predominant identificat precum contaminant de recoltare [44].

Izolatele de Enterobacteriaceae producătoare de carbapenemază (CPE) din rezultatele noastre de microbiologie post-mortem au crescut în frecvență în 2019 [45], aspect ce coincide și cu rapoartele autorităților de sănătate publică din România [17]. Variantele ESBL au scăzut pe măsură ce CP a crescut, posibil din cauza unei creșteri a utilizării terapiei cu carbapeneme. Variantele de AMR de mare îngrijorare în zilele noastre, cum ar fi *S. aureus* rezistent la vancomicină sau CP *A. baumannii* nu au fost identificate în probele noastre. Enterococii rezistenți la vancomicină nu au fost izolați în prima jumătate a perioadei de studiu (2011-2014).

Încercarea noastră de a descrie focarele IAAM prin rezultate microbiologice post-mortem și de recuperare a clusterelor/focarelor epidemiologice a avut câteva limitări, în principal din cauza numărului mic de cazuri/unitate medicală/lună.

. Includerea specialității medicină-legală în România într-un sistem de supraveghere a IAAM la nivel național ar presupune pentru fezabilitate o etapizare.

În ceea ce privește chestionarul completat online de specialiștii în domeniu este interesant că am regăsit un număr ridicat de respondenți care consideră oportună implicarea medicinei legale în supraveghere, chiar și în absența unui cadru legal explicit.

În studiul al 4-lea, testele rapide utilizate au fost complexe și au testat 5 variante de carbapenemaze, dar întrucât nu am recuperat variante IMP și doar două variante VIM în 19 probe, sugerăm că versiunile anterioare ar fi suficiente, precum RESIST-4 OKNV [46][47] sau RESIST -3 OKN [48], pentru screening post-mortem al microorganismelor CP-CR[49]. În constatările macroscopice de infecție cu sau fără agent etiologic cunoscut anterior, screening-ul pentru rezistența la carbapenem poate ghida în solicitarea unui examen bacteriologic post-mortem complet.

Concluzii

Pe baza rezultatelor celor patru studii efectuate în cadrul cercetării doctorale formulăm următoarele concluzii:

Referitor la obiectivul general al primului studiu s-a constatat că prelevarea postmortem a probelor biologice pentru examene microbiologice în centrul de studiu este eterogenă, cu o mare varietate de modele (104 modele pentru cazurile de deces în unități medicale și 19 modele pentru cazurile de teren).

Totodată s-a stabilit o corelație între rezultatele culturilor post-mortem, prelevate din diferite locuri anatomice, cu aspectele macroscopice necropsice și constatările histologice, care poate permite medicului legist să identifice agentul etiologic al infecției antemortem și să ofere un ajutor semnificativ în stabilirea cauzei exacte a decesului.

Rezultatele noastre au fost promițătoare în reconfirmarea unui microorganism identificat antemortem în unitățile medicale.

Un rezultat de hemocultură pozitivă pentru *Staphylococcus* spp., fără identificarea unui microorganism specific, este mai probabil datorat contaminării post-mortem față de rolul său ca agent etiologic.

În cel de-al doilea studiu, referitor la tendințele rezistenței antimicrobiene, rezultatele au arătat că variantele producătoare de carbapenemaze ale speciilor din familia Enterobacteriaceae au fost identificate încă din 2011 și s-au menținut relativ constante până în 2019, când s-a constatat o creștere semnificativă care coincide și cu datele de specialitate raportate la nivel național, fiind la acel moment un element de îngrijorare pentru instituțiile medicale. Rezistența la vancomicină în lotul de studiu a fost identificată numai la speciile de *Enterococcus* (*E. faecium* și *E. faecalis*) începând cu anul 2015.

Secundar, prezența agenților patogeni cunoscuți sub acronimul ESKAPE și rezistența antimicrobiană a acestora au fost asociate cu spitalizarea prelungită totală în spital, respectiv spitalizarea în secțiile de terapie intensivă (peste 3 zile).

Rezultatele noastre au fost promițătoare pentru utilizarea microbiologiei post-mortem în practica medicinei legale ca o metodă de identificare a infecțiilor asociate asistenței medicale (IAAM) în unitățile cu risc ridicat și poate fi o metodă suplimentară utilă pentru supravegherea IAAM. Criteriile propuse pentru identificarea clusterelor/ focarelor epidemiologice postmortem au

putut identifica 7 posibile clustere IAAM prin analiză retrospectivă, un rezultat promițător pentru studii prospective ulterioare.

Referitor la problematica infecțiile asociate asistenței medicale în practica medico-legală, în cel de-al treilea studiu răspunsurile profesioniștilor din specialitatea medicină-legală au arătat că în practică există o abordare aplicată la caz, o infecție asociată asistenței medicale a fost considerată de către majoritatea respondenților deficiență în acordarea asistenței medicale/medico-chirurgicale în două situații: dacă nu a fost identificată infecția și implicit netratată specific sau dacă a fost confirmată infecția dar netratată.

Rezultatele celui de-al patrulea studiu au arătat că utilizarea testelor RESIST-5 OKNVI pe probe biologice recoltate de la cadavru în timpul autopsiei medico-legale, deși pe un lot mic de studiu, s-a dovedit utilă și s-a observat că rezultatele sunt fezabile, respectiv identificarea prezenței și tipului de carbapenemază, direct din proba recoltată, fără a fi nevoie de culturi, cu o sensibilitate generală de 92,3% și o specificitate de 100%, reprezentând un element de predictibilitate cu specificitate crescută pentru diagnosticul post-mortem al acestor infecții.

S-a observat, de asemenea, că utilizarea procedurii de screening post-mortem pentru rezistența la carbapeneme ajută la selectarea cazurilor pentru analize ulterioare cu examinări bacteriologice post-mortem complete.

Contribuția personală a cercetării din teza de doctorat constă în:

1. Demonstrarea rolului examinărilor bacteriologice post-mortem în identificarea agentului etiologic implicat în lanțul tanatogenerator, rezultatele studiului arătând o asociere corectă între culturile pozitive și sediul infecției confirmat macro sau microscopic.

2. Exemplificarea rolului specialității medicină-legală în problematica rezistenței la antimicrobiene, arătând că studiile retrospective post-mortem tind să ofere o imagine în oglindă a situației din unitățile medicale.

3. Propunerea unor criterii postmortem de identificare a focarelor de infecții asociate asistenței medicale, venind în susținerea politicilor de sănătate publică naționale, cu rezultate promițătoare, care se pretează pentru studii prospective, posibil și ca un element constitutiv al unor sisteme de supraveghere naționale.

4. Evaluarea sensibilității și specificității testelor rapide pentru identificarea rezistenței la carbapeneme, în cadrul unui studiu prospectiv, fiind prima cercetare care vizează aplicabilitatea acestora direct pentru probele prelevate necropsic cu testare în cadrul autopsie.

Referinte bibliografice

- [1] A. Revelas, “Healthcare - associated infections: A public health problem,” *Niger. Med. J.*, vol. 53, no. 2, p. 59, 2012, doi: 10.4103/0300-1652.103543.
- [2] WHO Guidelines on Hand Hygiene in Health Care: First Global Patient Safety Challenge Clean Care Is Safer Care, “Report on the Burden of Endemic Health Care-Associated Infection Worldwide Clean Care is Safer Care,” *World Heal. Organ.*, vol. 3, 2009.
- [3] “List of the national/regional systems for surveillance of healthcare-associated infections within EU and links to their websites: <https://www.ecdc.europa.eu/en/about-us/networks/disease-networks-and-laboratory-networks/hai-net-about>.”
- [4] “WHO Health care-associated infections FACT SHEET,” 2010.
- [5] E. U. OCDE, *Health at a Glance: Europe 2020: State of in the EU Cycle*. 2020.
- [6] “<https://www.cdc.gov/hai/data/portal/index.html>.”
- [7] S. Voidazan, S. Albu, R. Toth, B. Grigorescu, A. Rachita, and I. Moldovan, “Healthcare associated infections—a new pathology in medical practice?,” *Int. J. Environ. Res. Public Health*, vol. 17, no. 3, 2020, doi: 10.3390/ijerph17030760.
- [8] “Suetens, C.; Latour, K.; Karki, T.; Ricchizzi, E.; Kinross, P.; Moro, M.L.; Jans, B.; Hopkins, S.; Hansen, S.; Lyytikainen, O.; et al. Healthcare-Associated Infections Prevalence Study Group, Prevalence of healthcare-associated infections, estimated incid.”
- [9] P. H. Mishra, P. Banerjee, and H. Gosain, “Study of Healthcare-associated Infections,” pp. 524–535.
- [10] K. B. Nolte *et al.*, “‘Med-X’: a medical examiner surveillance model for bioterrorism and infectious disease mortality,” *Hum. Pathol.*, vol. 38, no. 5, pp. 718–725, 2007, doi: 10.1016/j.humpath.2007.02.003.
- [11] S. L. Lathrop, “Forensic Pathology and Epidemiology, Public Health and Population-Based Research,” *Acad. Forensic Pathol.*, vol. 1, no. 3, pp. 282–287, 2011, doi: 10.23907/2011.039.
- [12] L. Mwananyanda *et al.*, “Covid-19 deaths in Africa: Prospective systematic postmortem surveillance study,” *BMJ*, vol. 372, pp. 9–13, 2021, doi: 10.1136/bmj.n334.
- [13] T. Horan and J. M. Hughes, “SPECIAL ARTICLE CDC definitions for nosocomial infections ,” vol. 6553, no. July, 1988, doi: 10.1016/0196-6553(88)90053-3.
- [14] “2012/506/UE: Decizia de punere în aplicare a Comisiei din 8 august 2012 de modificare

- a Deciziei 2002/253/CE de stabilire a definițiilor de caz pentru raportarea bolilor transmisibile rețelei comunitare în conformitate cu Decizia nr. 2119/98/CE a Parlamen.” .
- [15] D. M. Sievert *et al.*, “Antimicrobial-Resistant Pathogens Associated with Healthcare-Associated Infections : Summary of Data Reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Antimicrobial-Resistant Pathogens Associated with Healthcare- Associated Infections ,” pp. 2009–2010, doi: 10.1086/668770.
- [16] J. N. Pendleton, S. P. Gorman, and B. F. Gilmore, “Clinical relevance of the ESKAPE pathogens,” *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, vol. 11, no. 3. pp. 297–308, 2013, doi: 10.1586/eri.13.12.
- [17] WHO Regional Office for Europe/European Centre for Disease Prevention and Control, “Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2022 – 2020,” 2022.
- [18] J. L. Burton *et al.*, “Postmortem microbiology sampling following death in hospital: An ESGFOR task force consensus statement,” *Journal of Clinical Pathology*, vol. 72, no. 5. pp. 329–336, 2019, doi: 10.1136/jclinpath-2018-205365.
- [19] S. J. Wilson, M. L. Wilson, and L. B. Reller, “Diagnostic utility of postmortem blood cultures.,” *Arch. Pathol. Lab. Med.*, vol. 117, no. 10, pp. 986–988, 1993.
- [20] A. J. Wort and E. W. Walton, “Post-mortem Bacteriology,” *Br. Med. J.*, vol. 1, no. 5487, p. 611, 1966, doi: 10.1136/bmj.1.5487.611.
- [21] E. Ventura Spagnolo, C. Stassi, C. Mondello, S. Zerbo, L. Milone, and A. Argo, “Forensic microbiology applications: A systematic review,” *Leg. Med.*, vol. 36, pp. 73–80, 2019, doi: 10.1016/j.legalmed.2018.11.002.
- [22] M. M. Heimesaat *et al.*, “Comprehensive postmortem analyses of intestinal microbiota changes and bacterial translocation in human flora associated mice,” *PLoS One*, vol. 7, no. 7, 2012, doi: 10.1371/journal.pone.0040758.
- [23] S. Riedel, “The Value of Postmortem Microbiology Cultures,” vol. 52, no. 4, pp. 1028–1033, 2014, doi: 10.1128/JCM.03102-13.
- [24] M. Tsokos and K. Püschel, “Postmortem bacteriology in forensic pathology: Diagnostic value and interpretation,” *Leg. Med.*, vol. 3, no. 1, pp. 15–22, 2001, doi: 10.1016/S1344-6223(01)00002-5.
- [25] J. A. Morris, L. M. Harrison, and S. M. Partridge, “Postmortem bacteriology: A re-evaluation,” *J. Clin. Pathol.*, vol. 59, no. 1, pp. 1–9, 2006, doi: 10.1136/jcp.2005.028183.

- [26] M. P. Weinstein, “Blood culture contamination: Persisting problems and partial progress,” *J. Clin. Microbiol.*, vol. 41, no. 6, pp. 2275–2278, 2003, doi: 10.1128/JCM.41.6.2275-2278.2003.
- [27] R. kuan Tang *et al.*, “Evaluation of post-mortem heart blood culture in a Chinese population,” *Forensic Sci. Int.*, vol. 231, no. 1–3, pp. 229–233, 2013, doi: 10.1016/j.forsciint.2013.05.020.
- [28] Z. Shimoni, E. Flatau, and Y. Turgeman, “Polymicrobial bacteremia,” *Harefuah*, vol. 105, no. 12, pp. 404-405+447, 1983, doi: 10.1001/jama.242.22.2411.
- [29] S. Esposito, T. Ascione, and P. Pagliano, “Management of bacterial skin and skin structure infections with polymicrobial etiology,” *Expert Rev. Anti. Infect. Ther.*, vol. 17, no. 1, pp. 17–25, 2019, doi: 10.1080/14787210.2019.1552518.
- [30] D. Pittet, N. Li, and R. P. Wenzel, “Association of secondary and polymicrobial nosocomial bloodstream infections with higher mortality,” *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 12, no. 11, pp. 813–819, 1993, doi: 10.1007/BF02000400.
- [31] G. T. Javan, S. J. Finley, T. Smith, J. Miller, and J. E. Wilkinson, “Cadaver thanatomicrobiome signatures: The ubiquitous nature of Clostridium species in human decomposition,” *Front. Microbiol.*, vol. 8, no. OCT, pp. 1–10, 2017, doi: 10.3389/fmicb.2017.02096.
- [32] F. J. Roberts, “Procurement, interpretation, and value of postmortem cultures,” *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 17, no. 12, pp. 821–827, 1998, doi: 10.1007/s100960050200.
- [33] S. Lalwani *et al.*, “Diagnosis of ventilator-associated pneumonia: Comparison between ante-mortem and post-mortem cultures in trauma patients,” *Indian J. Med. Microbiol.*, vol. 32, no. 3, pp. 294–300, 2014, doi: 10.4103/0255-0857.136572.
- [34] Y. Fan, J. Zou, X. Cao, Y. Wu, F. Gao, and L. Xiong, “Data on antibiotic use for detecting clusters of healthcare-associated infection caused by multidrug-resistant organisms in a hospital in China, 2014 to 2017,” *J. Hosp. Infect.*, vol. 101, no. 3, pp. 305–312, 2019, doi: 10.1016/j.jhin.2018.06.011.
- [35] R. Scarl, B. Parkinson, V. Arole, T. Hardy, and P. Allenby, “The hospital autopsy: the importance in keeping autopsy an option,” *Autops. Case Reports*, vol. 12, pp. 1–7, 2022, doi: 10.4322/acr.2021.333.

- [36] “COMMISSION IMPLEMENTING DECISION (EU) 2018/945 of 22 June 2018 on the communicable diseases and related special health issues to be covered by epidemiological surveillance as well as relevant case definition.”
- [37] R. Article, “Patient Satisfaction Survey as a Tool Towards Quality Improvement,” vol. 29, no. 1, pp. 3–7, 2014.
- [38] A. B. Cohen, J. E. Drake, R. Kang, P. Kralovec, and S. K. Holmes, “Improvement Activities,” pp. 571–595, 2016.
- [39] M. Tilahun, Y. Kassa, A. Gedefie, and M. Ashagire, “Emerging carbapenem-resistant enterobacteriaceae infection, its epidemiology and novel treatment options: A review,” *Infect. Drug Resist.*, vol. 14, no. October, pp. 4363–4374, 2021, doi: 10.2147/IDR.S337611.
- [40] J. M. da Silva, J. Menezes, C. Marques, and C. F. Pomba, “Companion Animals—An Overlooked and Misdiagnosed Reservoir of Carbapenem Resistance,” *Antibiotics*, vol. 11, no. 4, pp. 1–18, 2022, doi: 10.3390/antibiotics11040533.
- [41] **I. Diac**, A. A. Keresztesi, A. M. Cerghizan, M. Negrea, and C. Dogăroiu, “Postmortem Bacteriology in Forensic Autopsies—A Single Center Retrospective Study in Romania,” *Diagnostics*, vol. 12, no. 8, 2022, doi: 10.3390/diagnostics12082024.
- [42] R. R. Chamberland and C. O. Deetz, “Postmortem Blood Culture,” *Dark Art Blood Cult.*, p. 297, 2017, doi: 10.1128/9781555819811.ch14.
- [43] V. Saegeman *et al.*, “How is post-mortem microbiology appraised by pathologists? Results from a practice survey conducted by ESGFOR,” *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 36, no. 8, pp. 1381–1385, 2017, doi: 10.1007/s10096-017-2943-6.
- [44] F. Dell’Annunziata *et al.*, “Postmortem interval assessment by MALDI-TOF mass spectrometry analysis in murine cadavers,” *J. Appl. Microbiol.*, vol. 132, no. 1, pp. 707–714, 2022, doi: 10.1111/jam.15210.
- [45] **I. Diac**, C. Dogăroiu, A. A. Keresztesi, and M. Horumbă, “Antimicrobial resistance trends – a single-center retrospective study of healthcare-associated pathogens – postmortem sampling from medico-legal autopsies in Bucharest,” *Germs*, vol. 12, no. 3, pp. 352–360, 2022, doi: 10.18683/germs.2022.1339.
- [46] M. D. Shields and J. Riedler, “Bronchoalveolar lavage and tracheal aspirate for assessing airway inflammation in children,” *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 162, no. 2 II, 2000,

doi: 10.1164/ajrccm.162.supplement_1.maic-4.

- [47] A. Cointe *et al.*, “Detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in positive blood culture using an immunochromatographic Resist-4 O.K.N.V. Assay,” *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 62, no. 12, pp. 10–13, 2018, doi: 10.1128/AAC.01828-18.
- [48] L. Flow and M. Assay, “crossm Rapid Detection of Carbapenemases in Enterobacteriaceae : Evaluation of the,” *J. Clin. Microbiol.*, vol. 55, no. 4, pp. 1223–1225, 2017.
- [49] **I. Diac**, L. Neculai-Cândeia, M. Horumbă, C. Dogăroiu, M. Costescu, and A.-A. Keresztesi, “Assessing O.K.N.V.I. RESIST-5 performance for post-mortem biological samples: A prospective pilot study,” *Exp. Ther. Med.*, vol. 27, no. 1, pp. 1–10, 2023, doi: 10.3892/etm.2023.12302.

Lista lucrările științifice publicate

1. **Diac I**, Keresztesi A-A, Cerghizan A-M, Negrea M, Dogăroiu C. Postmortem Bacteriology in Forensic Autopsies—A Single Center Retrospective Study in Romania. *Diagnostics*. 2022; 12(8):2024.

Link de acces: <https://doi.org/10.3390/diagnostics12082024>

Indexare revistă – PubMed, Factor de Impact – 3.6

Capitolul 6 – Contribuție personală (pag. 43-71)

2. **Diac I**, Dogăroiu C, Keresztesi AA, Horumbă M. Antimicrobial resistance trends - a single-center retrospective study of healthcare-associated pathogens - postmortem sampling from medico-legal autopsies in Bucharest. *Germs*. 2022 Sep 30;12(3):352-360. PMID: 37680676; PMCID: PMC10482475

Link de acces: <https://doi.10.18683/germs.2022.1339>

Indexare revistă – PubMed Central, Factor de Impact – N/A

Capitolul 7 – Contribuție personală (pag.. 72-108)

3. **Diac, I.**, Neculai-Cândea, L., Horumbă, M., Dogăroiu, C., Costescu, M., & Keresztesi, A. (2024). Assessing O.K.N.V.I. RESIST-5 performance for post-mortem biological samples: A prospective pilot study. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 27, 14.

Link de acces: <https://doi.org/10.3892/etm.2023.12302>

Indexare revistă – PubMed, Factor de Impact – 2.7

Capitolul 9– Contribuție personală (pag. 122-134)