

PROFILUL BACTERIAN ȘI REZISTENȚA  
LA ANTIBIOTICE LA PACIENȚII CU ULCERE VENOASE  
CRONICE DE GAMBĂ ÎNTR-UN SERVICIU  
DE DERMATOLOGIE DIN ROMÂNIA: O PROBLEMĂ  
DE IMPORTANȚĂ NAȚIONALĂ

BACTERIAL PROFILE AND ANTIBIOTIC RESISTANCE  
IN PATIENTS WITH CHRONIC VENOUS LEG ULCERS  
IN A DERMATOLOGY SERVICE IN ROMANIA: A MATTER  
OF NATIONAL IMPORTANCE

CORINA TEODORA BUD\*, ROXANA DIANA GOMAN\*\*, BIANCA MARIA NICOLAU\*\*,  
ANDREEA CORINA ULICI \*\*

Rezumat

Susceptibilitatea la antibiotice este esențială în prescrierea empirică a antibioticelor înainte de a fi disponibile rezultatele culturilor secrețiilor din plagă [1]. În cazul pacienților cu ulcere cronice de gambă (UCG) s-a observat o rezistență tot mai mare la antibioticele utilizate în mod obișnuit. Scopul studiului nostru a fost izolarea bacteriilor care infectează UCG, determinarea profilului lor de rezistență antimicrobiană și de a arăta cât de repede dezvoltă pacienții rezistență la antibioticele utilizate. Bacteriile gram-negative (*Proteus mirabilis* și *Pseudomonas aeruginosa*) au fost mai frecvent asociate cu UCG decât bacteriile gram-pozitive (*Staphylococcus aureus*). Am observat că antibioticele cele mai susceptibile de a induce rezistență într-o perioadă scurtă de timp pentru bacteriile gram-negative sunt cefepima și ceftazidima, iar pentru cele gram-pozitive, fluorochinolonele, urmate de aminoglicozide și macrolide mai ales în zona urbană.

**Cuvinte cheie:** ulcer cronic al gambei, rezistența la antibiotice, cultură bacteriană.

Intrat în redacție: 5.12.2025  
Acceptat: 12.01.2026

Summary

Antibiotic susceptibility is essential in the prescription of empirical antibiotics before the results of cultures of wound samples are available [1]. For patients with chronic leg ulcers (CLU), increasing resistance to commonly used antibiotics has been observed. The aim of our study was to isolate the bacteria that infect CLU, determine their antimicrobial resistance profile and show how quickly patients develop resistance to the antibiotics used. Gram-negative bacteria (*Proteus mirabilis* and *Pseudomonas aeruginosa*) were more frequently associated with CLU than Gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus*). We observed that the antibiotics most likely to induce resistance in a short period of time for Gram-negative bacteria are cefepime and ceftazidime and for Gram-positive bacteria, fluoroquinolones, followed by aminoglycosides and macrolides, mostly in the urban area.

**Keywords:** chronic leg ulcer, antibiotic resistance, bacterial culture.

Received: 5.12.2025  
Accepted: 12.01.2026

\* Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicină și Farmacie, departamentul Dermatologie.

University of Oradea, Faculty of Medicine and Pharmacy, Dermatology department.

\*\* Spitalul Clinic de Urgență Bihor, secția Dermatovenerologie, Bihor, România.

Bihor Clinical Emergency Hospital, Dermatovenerology department, Bihor, Romania.

## Introducere

Ulcerul cronic al membrelor inferioare (UCMI) reprezintă o problemă globală de sănătate, cu un impact socioeconomic semnificativ. Se estimează că ulcerul activ apare în aproximativ 2% din populație și este cel mai frecvent întâlnit la persoanele cu vârsta între 60 și 80 de ani [2].

UCMI reprezintă un defect cutanat sub nivelul genunchiului care persistă mai mult de șase săptămâni și nu prezintă tendință de vindecare după trei sau mai multe luni. Cauzele comune includ neuropatia, bolile venoase și arteriale. Infecțiile în UCMI pot fi cauzate de bacterii gram-pozitive și gram-negative, care pot reprezenta o provocare majoră pentru terapie atunci când dezvoltă rezistență la unul sau mai multe antibiotice [3]. Din numeroasele forme clinice ale bolii venoase cronice, ulcerul venos al membrelor inferioare poate fi considerat unul dintre cele mai importante [4].

Terapia antibiotică empirică pe termen lung a rănilor și cronicitatea acestora poate favoriza selecția tulpinilor microbiene rezistente la medicamente, mai ales dacă ulcerul a fost infectat cu agenți patogeni de alertă [5]. Un studiu de cultură bacteriană a identificat *Staphylococcus aureus* la suprafața rănilor și *Pseudomonas aeruginosa* în straturile mai adânci ale țesuturilor [6]. Colonizarea ulcerului nu duce neapărat la o infecție clinică evidentă [5]. Recent, s-a observat că bacteriile din rănilor cronice dezvoltă biofilme care contribuie la întârzierea vindecării. Rezistența la antibiotice a bacteriilor care produc biofilme este o problemă crucială în gestionarea și tratamentul rănilor cronice [6].

Pentru a minimiza colonizarea și posibila infecție, este importantă o curățare atentă a rănilor utilizând soluții fiziologice sau agenți antimicrobieni [3]. În caz de infecție, anumite semne și simptome trebuie evaluate cu atenție, cum ar fi edemul, eritemul, durerea, țesutul de granulație friabil, numărul crescut de leucocite, vindecarea întârziată în urma unui tratament topic adecvat și modificările caracteristicilor exudatului [3]. Prezența acestor simptome susține diagnosticul clinic de infecție a rănilor, iar obiectivul principal în astfel de cazuri este tratamentul antibacterian țintit [5].

## Introduction

Chronic leg ulcers (CLU) constitute a global health problem with a large socioeconomic impact. It is estimated that active ulcers occur in approximately 2% of the population and are mostly observed in individuals between 60 and 80 years of age [2].

CLU represents a skin defect below knee level that persists for more than six weeks and shows no tendency of healing after three or more months. Common causes are neuropathy, venous and arterial diseases. Infections in leg ulcers can be caused by Gram-positive and Gram-negative bacteria, which can represent a major challenge for therapy when they develop resistance to one or more antibiotics [3]. Of the many presentations across the clinical spectrum of chronic venous disease, venous leg ulcers can be considered amongst the most important [4].

Long-term empirical antibiotic therapy of wounds and their chronicity may favor the selection of drug-resistant microbial strains within the wound, especially if the leg ulcer was infected with alert pathogens [5]. Colonization of pathogenic bacteria at the wound site is associated with wound chronicity. A bacterial culture study recognized *Staphylococcus aureus* at the surface of wounds and *Pseudomonas aeruginosa* in deeper layers of tissue [6]. Colonization of the ulcer does not necessarily result in clinically overt infection [5]. Recently, it has been observed that bacteria in chronic wounds develop biofilms that contribute to a delay in healing. Resistance to antibiotics in biofilm-producing bacteria is a crucial problem in the management and treatment of chronic wounds [6].

In order to minimize colonization and possible infection, a careful cleaning of the wound using physiological solutions or anti-microbial agents is important [3]. In the event of an infection, certain signs and symptoms should be carefully evaluated, such as edema, erythema, pain, granulation tissue with a friable characteristic, high white blood cell count, delayed healing under adequate topical therapy and changes in exudate characteristics [3]. The presence of those symptoms supports the clinical diagnosis of wound infection and the primary objective in such cases is targeted antibacterial

Până în prezent, nu există un consens clar privind utilizarea corectă a antibioticelor (indicația, doza, tipul de antibiotic, durata tratamentului) în UCMI. Prin urmare, ele sunt frecvent prescrise fără o selecție precisă sau indicație clinică [7].

### **Materiale și metode**

Un număr total de 50 de pacienți, 27 bărbați (54%) și 23 femei (46%), au fost selectați aleatoriu, fiecare al 5-lea pacient, pe baza următoarelor criterii de incluziune: vârsta între 35 și 90 de ani, cu ulcer venos cronic de cel puțin 6 luni, fără tendință de epitelizare, internați în spitalul nostru în perioada ianuarie 2019-decembrie 2022. Criteriile de excludere au fost: alte tipuri de ulcere, ulcere care durează mai puțin de 6 luni, femei însărcinate. Datele colectate au inclus: vârsta, sexul, mediul de viață, numărul de internări în spital, numărul de culturi efectuate.

Probele au fost colectate prin rotirea tampoanelui ferm în sens circular, pe o zonă de 1 cm<sup>2</sup>, după ce ulcerul a fost curățat de exudat, țesut necrotic și resturi de pansament.

Microorganismele dinampoane au fost incubate pe medii selective în condiții standard și apoi procesate utilizând sistemul Vitek2. Datele statistice au fost analizate folosind regresia liniară multiplă (aplicația Excel – funcția „Analiză de date/Regresie”), având ca variabilă dependentă numărul de tulpini rezistente la antibiotice și două variabile independente ca intrări: numărul de internări și mediul de viață actual (urban vs. rural). Metoda a fost aleasă pentru a confirma dacă ambele variabile independente pot prezice variabila dependentă într-un singur model de regresie.

### **Rezultate**

Au fost efectuate un total de 195 culturi bacteriene din care au fost izolate 265 de tulpini bacteriene, după cum urmează: în 109 culturi (55,89%) a fost prezentă o singură tulpină bacteriană, în 59 culturi (30,25%) au fost prezente două tulpini bacteriene, în 13 culturi (6,66%) au fost prezente trei sau mai multe tulpini bacteriene și în 14 culturi (7,17%) nu au fost prezente tulpini bacteriene. Dintre acestea, 55 (20,75%) erau bacterii gram-pozitive (26 dintre ele fiind MRSA)

objective in such cases is targeted antibacterial treatment [5].

To date, there is a lack of consensus regarding the proper use of antibiotics (indication, dosage, type of antibiotic, duration of therapy) in CLU. Therefore, they are frequently prescribed without an accurate selection or clinical indication [7].

### **Materials and methods**

A total of 50 patients, 27 males (54%) and 23 females (46%) were randomly selected every 5<sup>th</sup> patient based on the following inclusion criteria: age between 35 and 90 years old with chronic venous leg ulcer for more than 6 months, without tendency to epithelialization, admitted in our hospital between January 2019 and December 2022. The exclusion criteria were: other types of ulcers, ulcers lasting less than 6 months, pregnant women. Data collected included: age, sex, living environment, number of hospital admissions, number of cultures made.

Samples were collected by rotating the swab firmly in a circular motion, over a 1 cm<sup>2</sup> area of the ulcer after it was cleaned of exudate, necrotic tissue and remnants of the dressing.

The microorganisms from the swabs were incubated on selective media under standard conditions and then processed on Vitek2. Statistical data were firstly analyzed by using Multiple Linear Regression (Excel app – “Data Analysis/Regression” feature) taking into consideration no. of strains with resistance to antibiotics as depended variable, and two independent variables as input: no. of hospitalization and current living environmental area (Urban versus Rural). The method has been chosen in order to confirm if both independent variables can predict the depended variable within one regression model.

### **Results**

A total of 195 bacterial cultures were performed from which 265 bacterial strains were isolated as follows: in 109 cultures (55,89%) a single bacterial strain was present, in 59 cultures (30,25%) two bacterial strains were present, in 13 cultures (6,66%) three or more bacterial strains were present and in 14 cultures (7,17%) bacterial strains were absent. Among these, there were 55

și 210 (79,24%) bacterii gram-negative (31 tulpini MDR și 7 tulpini ESBL) (Tabelul 1).

Cea mai frecventă tulpină bacteriană a fost *Proteus mirabilis*, urmată îndeaproape de *Pseudomonas aeruginosa* și *Staphylococcus aureus* (Tabelul 1). Cele mai frecvente combinații de două tulpini bacteriene au fost *Pseudomonas aeruginosa* și *Proteus mirabilis* în 21 culturi, *Pseudomonas aeruginosa* și *Providencia stuartii* în 6 culturi, *Proteus mirabilis* și *Klebsiella spp.* în 5 culturi. Cea mai frecventă combinație de trei tulpini bacteriene a fost *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* și *Providencia stuartii* în 2 culturi.

Bacteriile gram-negative au fost mai rezistente la: cefalosporine, carbapeneme, piperaza-

(20,75%) Gram-positive bacteria (26 bacterial strains were MRSA) and 210 (79,24%) Gram-negative bacteria (31 bacterial strains were MDR and 7 bacterial strains were ESBL) (Table 1).

The most common bacterial strain was *Proteus mirabilis*, closely followed by *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* (Table 1). The most common combinations of two bacterial strains were *Pseudomonas aeruginosa* and *Proteus mirabilis* in 21 cultures, *Pseudomonas aeruginosa* and *Providencia stuartii* in 6 cultures, *Proteus mirabilis* and *Klebsiella spp.* in 5 cultures. The most common combination of three bacterial strains was *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Providencia stuartii* in 2 cultures.

**Tabelul 1.** Profilul bacteriilor izolate de la 50 de pacienți cu ulcer venos cronic al membrelor inferioare

Categorie bacteriană	Numărul patogenilor	% din total*
<b>Subcategoria 1 – bacterii gram-negative</b>	<b>210</b>	<b>79,25</b>
<i>Proteus mirabilis</i>	68	25,66
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	67	25,28
<i>Klebsiella spp.</i>	12	4,52
<i>Escherichia Coli</i>	15	5,66
<i>Acinetobacter spp.</i>	16	6,03
<i>Providencia spp.</i>	10	3,77
<i>Enterobacter spp.</i>	6	2,26
Altele	16	6,03
<b>Subcategoria 2 – bacterii gram-pozitive</b>	<b>55</b>	<b>20,75</b>
<i>Staphylococcus aureus</i>	48	18,11
<i>Streptococcus spp.</i>	7	2,64
<b>Total*</b>	<b>265</b>	<b>N/A</b>

**Table 1.** Profile of bacteria isolated from 50 patients with chronic venous leg ulcer

Bacteria category	Number of pathogens	% from Total*
<b>Sub-category 1 - Gram-negative bacteria</b>	<b>210</b>	<b>79,25</b>
<i>Proteus mirabilis</i>	68	25,66
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	67	25,28
<i>Klebsiella spp.</i>	12	4,52
<i>Escherichia Coli</i>	15	5,66
<i>Acinetobacter spp.</i>	16	6,03
<i>Providencia spp.</i>	10	3,77
<i>Enterobacter spp.</i>	6	2,26
Others	16	6,03
<b>Sub-category 2 - Gram-positive bacteria</b>	<b>55</b>	<b>20,75</b>
<i>Staphylococcus aureus</i>	48	18,11
<i>Streptococcus spp.</i>	7	2,64
<b>Total*</b>	<b>265</b>	<b>N/A</b>

colină, colistin și aminoglicozide. Bacteriile gram- pozitive au fost mai rezistente la: fluoro-chino- lone, macrolide, clindamicină și gentamicină (Figura 1). Toate tulpinile MRSA au fost sensibile la vancomicină, aceasta continuând să fie medicamentul de elecție pentru majoritatea infecțiilor cu MRSA.

Gram-negative bacteria were more resistant to: cephalosporins, carbapenems, piperacillin, colistin and aminoglycosides. Gram-positive bacteria were more resistant to: fluoroquinolones, macrolides, clindamycin and gentamycin (Figure 1). All MRSA bacterial strains were sensitive to vancomycin, so it continues to be the drug of choice for most MRSA infections.

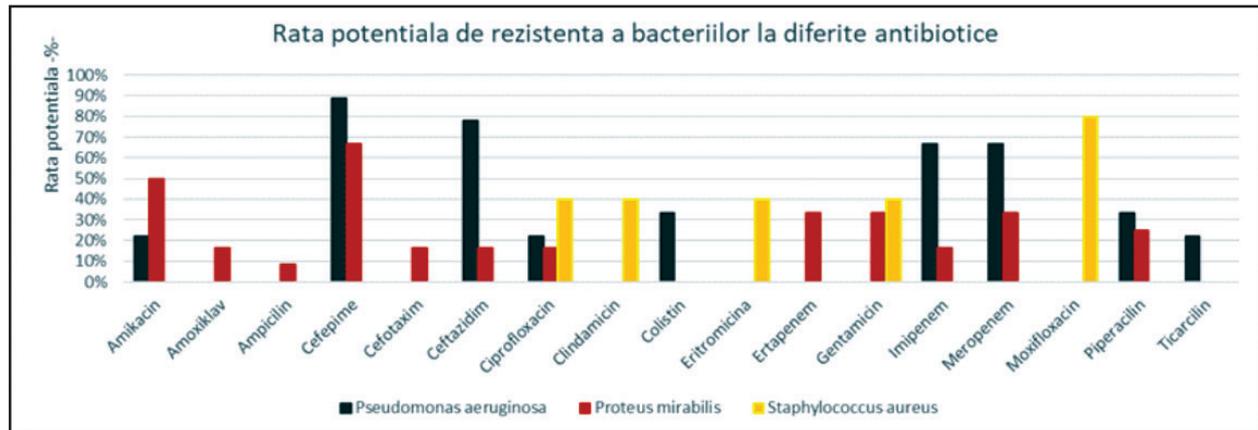


Figura 1. Rata potențială de rezistență bacteriană la antibiotic.

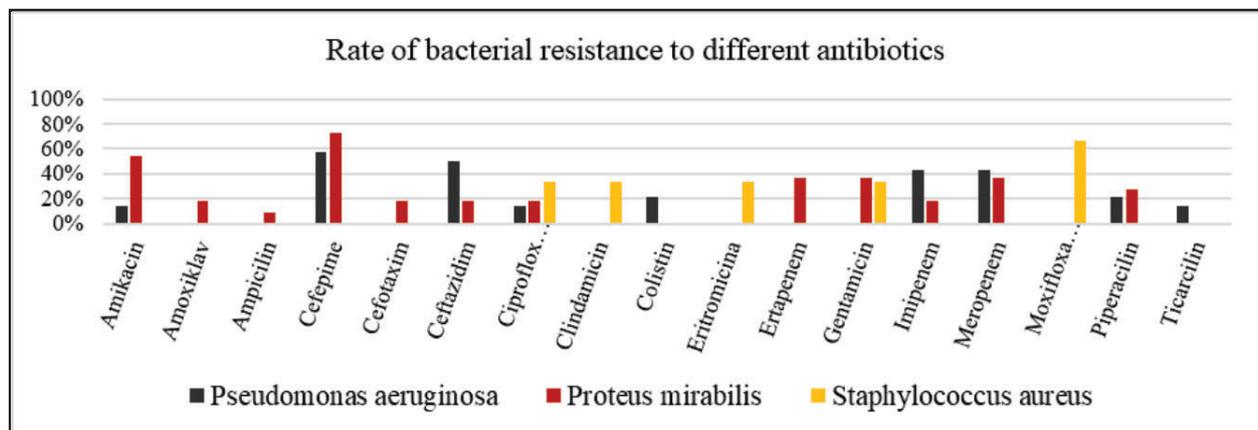


Figure 1. Rate of bacterial resistance to antibiotics.

Notă: Rata potențială de rezistență bacteriană ia în considerare doar datele pentru 3 bacterii (*Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis* și *Staphylococcus aureus*) care constituie aproape 70% din totalul patogenilor izolați în perioada ianuarie 2019 – decembrie 2022 utilizând Vitek2 ca metodă de determinare a rezistenței. Procentele atribuite fiecărui antibiotic au fost calculate împărțind numărul de tulpini rezistente

Note: Rate of bacterial resistance takes into consideration only data for 3 bacteria (*Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis* and *Staphylococcus aureus*) that count for almost 70% of total isolated pathogens within January 2019 – December 2022 period of time, by using Vitek2 as method of resistance determination. The percentages assigned to each antibiotic were calculated by dividing the number of strains

la antibiotic la numărul total de tulpini rezistente la unul sau mai multe dintre antibioticele luate în considerare în acest studiu (vezi Tabelul 2).

resistant to the antibiotic by the number of strains resistant to one or more of the antibiotics considered in this study (see example in Table 2).

**Tabelul 2.** Rata de rezistență bacteriană la cefepim

	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Nr. de tulpini identificate	67	68	48
Nr. de tulpini cu cel puțin o rezistență la antibiotice	14	11	6
Nr. de cazuri de rezistență la cefepim	8	8	0
<b>Rezistența bacteriilor la Cefepim</b>	<b>(8/14) * 100</b>	<b>(8/11) * 100</b>	<b>(0/6) * 100</b>

**Table 2.** Rate of bacterial resistance to Cefepime

	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
No. of identified strains	67	68	48
No. of strains with at least one resistance to antibiotics	14	11	6
No. of resistance occurrences for Cefepime	8	8	0
<b>Bacteria resistance for Cefepime</b>	<b>(8/14) * 100</b>	<b>(8/11) * 100</b>	<b>(0/6) * 100</b>

Dintre numărul total de pacienți, 4 pacienți au avut o singură internare în spital, 12 pacienți au avut între 2 și 5 internări și 34 de pacienți au avut mai mult de 5 internări în perioada menționată mai sus. Vârsta medie a pacienților internați a fost de 68 de ani. Majoritatea bacteriilor izolate au dezvoltat rezistență la antibioticele comune în aproximativ 6 luni.

A fost realizată o analiză de regresie liniară multiplă pentru numărul de tulpini cu rezistență la antibiotice ca variabilă dependentă și numărul de internări și mediul social (urban și rural) ca variabile independente, rezultatele fiind prezentate în Tabelul 3. Această analiză a fost aplicată pentru aceleași 3 bacterii: *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis* și *Staphylococcus aureus*.

Valoarea coeficientului de determinare (Multiple R) ne arată că aproape 50,5% din numărul de antibiotice pentru care pacienții au dezvoltat rezistență poate fi explicat folosind modelul de regresie. Cu toate acestea, valoarea P a testului F de 0,001, indică faptul că ipoteza nulă poate fi respinsă într-un mod rezonabil, ceea ce înseamnă că modelul se potrivește mai bine

Of the total number of patients, 4 patients had only one hospital admission, 12 patients had between 2 and 5 hospital admissions and 34 patients had more than 5 hospital admissions during the period mentioned above. The mean age of hospitalized patients was 68 years.

Most isolated bacteria have developed resistance to common antibiotics within about 6 months.

Multiple linear regression analysis was performed for the number of strains with resistance to antibiotics as the dependent variable, and the number of hospitalizations and social environment (urban and rural) as independent variables, results being presented in Table 3. This analysis has been applied for the same 3 bacteria: *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis* and *Staphylococcus aureus*

The coefficient of determination (the Multiple R) value, simply tells us that almost 50,5% of no. of antibiotics, for which patients developed resistance, can be explained using the regression model. However, the overall F-test p-value of 0,001 indicates that the null hypothesis can be reasonable rejected, that means model fits the

**Tabelul 3.** Model de regresie liniară multiplă pentru numărul de tulpini cu rezistență la antibiotice ca variabilă dependentă

<i>Regresia statistică</i>						
Multiple R	<b>0,505</b>					
R <sup>2</sup>	0,255					
R <sup>2</sup> ajustat	0,223					
Eroarea standard	2,796					
Observații	50					
ANOVA						
	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>	
Regresie	2	125,85	62,9250	8,0491	<b>0,0010</b>	
Residual	47	367,43	7,8177			
Total	49	493,28				
	<i>Coefficient</i>	<i>Eroarea standard</i>	<i>t Stat</i>	<i>P-value</i>	< 95%	> 95%
Intercepție	0,9622	1,3432	0,7164	0,4773	-1,7399	3,6643
Număr de spitalizări	0,1773	0,0442	4,0120	<b>0,0002</b>	<b>0,0884</b>	<b>0,2662</b>
Mediul social	-0,4895	0,8119	-0,6029	0,5495	-2,1229	1,1439

**Table 3.** Multiple Linear Regression Model for no. of strains with resistance to antibiotic as dependent variable

<i>Regression Statistics</i>						
Multiple R	<b>0,505</b>					
R Square	0,255					
Adjusted R Square	0,223					
Standard Error	2,796					
Observations	50					
ANOVA						
	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>	
Regression	2	125,85	62,9250	8,0491	<b>0,0010</b>	
Residual	47	367,43	7,8177			
Total	49	493,28				
	<i>Coefficients</i>	<i>Standard Error</i>	<i>t Stat</i>	<i>P-value</i>	<i>Lower 95%</i>	<i>Upper 95%</i>
Intercept	0,9622	1,3432	0,7164	0,4773	-1,7399	3,6643
No. of hospitalization	0,1773	0,0442	4,0120	<b>0,0002</b>	<b>0,0884</b>	<b>0,2662</b>
Social Environment	-0,4895	0,8119	-0,6029	0,5495	-2,1229	1,1439

datelor decât doar cu modelul intercept. Totuși, în ceea ce privește variabilele independente, coeficientul numărului de internări are un interval de confidență între 0,088 și 0,266, ceea ce înseamnă că valoarea „0” este exclusă din punct

data better than the intercept-only model. However, as far as independent variables, the no. of hospitalizations coefficient has a range of confidence interval between 0.088 and 0.266 which means the „0” value of it are excluded

de vedere al probabilității. Interceptul și mediul social („1” pentru urban și „2” pentru rural) au ambele în intervalul lor valoarea „0” pentru propriul coeficient. Aceasta înseamnă că nu putem prezice cu exactitate numărul de tulpini rezistente la antibiotice pe baza celor două variabile independente într-un singur model de regresie.

from probability point of view. The intercept and Social Environment („1” for Urban and „2” for Rural) have both in range the „0” value for their own coefficient. That means that we cannot accurately predict the no. of strains with resistance to antibiotic based on those two independent variables in one regression model.

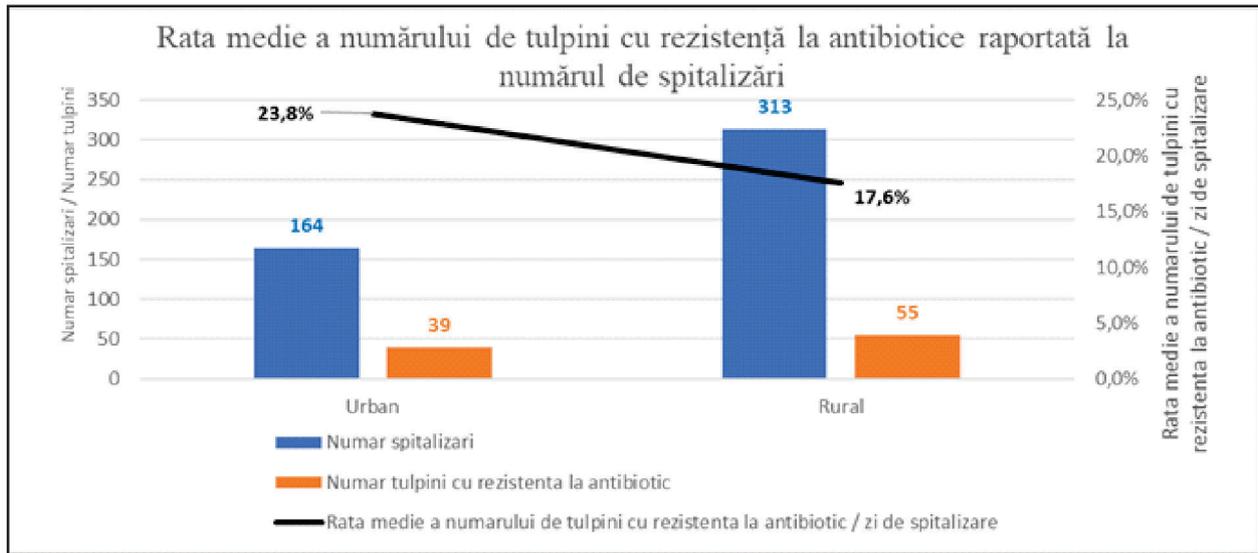


Figura 2. Impactul mediului social asupra numărului de tulpini cu rezistență la antibiotice

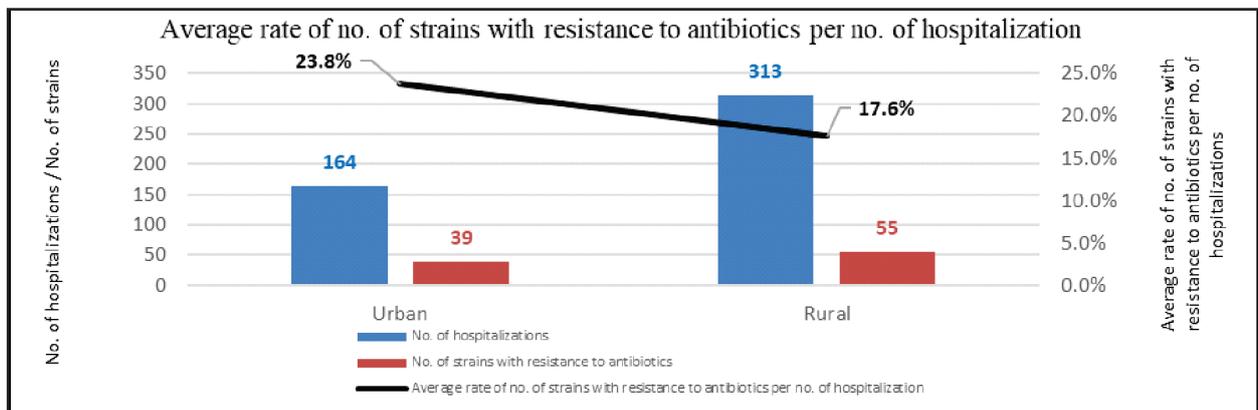


Figure 2. Impact of social environment on no. of strains with resistance to antibiotics

Pe măsură ce am continuat cu analiza datelor brute, am observat că între mediul urban și cel rural există unele diferențe în ceea ce privește numărul mediu de tulpini cu rezistență la antibiotice. Datele din Figura 2 indică o diferență

Going further with raw data analysis, we've noticed that between urban and rural environments, there are some differences in term of average no. of strains with resistance to antibiotics. Data from Figure 2 indicate a

**Tabelul 4.** Model de regresie liniară simplă pentru numărul de tulpini cu rezistență la antibiotice

	Urban	Rural	Rural				
Multiple R	0,095	<b>0,839</b>	<i>Rural</i>	<i>Coefficient</i>	<i>P-value</i>	<95%	>95%
R <sup>2</sup>	0,009	<b>0,704</b>	Intercepție	-0,6167	0,1715	1,5175	0,2841
R <sup>2</sup> ajustat	-0,043	0,693	Număr spitalizări	<b>0,2329</b>	<b>0,0000</b>	<b>0,1732</b>	<b>0,2925</b>
Numar observații	21,000	29,000	Urban				
				<i>Coefficient</i>	<i>P-value</i>	< 95%	>95%
ANOVA	Urban	Rural	Intercepție	2,275	0,089	-0,379	4,929
Significant F	0,681	<b>0,000</b>	Număr spitalizări	-0,053	0,681	-0,322	0,215

**Table 4.** Simple Linear Regression model for no. of strains with resistance to antibiotics

	Urban	Rural	Rural				
Multiple R	0,095	<b>0,839</b>	<i>Rural</i>	<i>Coefficients</i>	<i>P-value</i>	<i>Lower 95%</i>	<i>Upper 95%</i>
R Square	0,009	<b>0,704</b>	Intercept	-0,6167	0,1715	1,5175	0,2841
Adjusted R Square	-0,043	0,693	No. of hospitalization	<b>0,2329</b>	<b>0,0000</b>	<b>0,1732</b>	<b>0,2925</b>
Standard Error	3,571	1,652	Urban				
Observations	21,000	29,000		<i>Coefficients</i>	<i>P-value</i>	<i>Lower 95%</i>	<i>Upper 95%</i>
ANOVA	Urban	Rural	Intercept	2,275	0,089	-0,379	4,929
Significant F	0,681	<b>0,000</b>	No. of hospitalization	-0,053	0,681	-0,322	0,215

semnificativă între mediul urban și cel rural în ceea ce privește rata de apariție a rezistenței. Căutând posibile modele de regresie, am aplicat modelul liniar simplu pentru numărul de tulpini cu rezistență la antibiotice ca variabilă dependentă și numărul de internări ca variabilă independentă, separat pentru fiecare mediu social. Rezultatele sunt prezentate în Tabelul 4.

Urmând aceleași criterii pentru analiza datelor (Multiple R, p-value și intervalele de confidență), singurul model care elimină ipoteza nulă este cel legat de mediul social rural. În acest caz, un model liniar bazat pe numărul de

significant difference between urban and rural environments as far as resistance occurrence rate is concerned. Looking for potential regression models, we've applied the Simple Linear Model with no. of strains with resistance to antibiotics as depended variable, and no. of hospitalizations as independent variable, separately for each social environment. Results are presented in Table 4.

Following the same criteria to analyze the data (Multiple R, p-value and confidence intervals), the only model that eliminates the null hypothesis is the one related to rural social environment. In this case, a linear model based

internări (coeficient de linearitate = 0,2329) pare să prezică foarte bine numărul de tulpini cu rezistență la antibiotice. De exemplu, în acest mediu social, după patru internări, ne putem aștepta să observăm cel puțin o tulpină dintre *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis* și *Staphylococcus aureus*, cu rezistență la unul dintre antibioticele luate în considerare în acest studiu. Cu toate acestea, ar trebui realizate cercetări suplimentare pentru a dezvolta un model mai fiabil bazat pe alte variabile independente, cum ar fi categoria de antibiotice prescrise în timpul și după internare, istoricul individual privind consumul de antibiotice și altele.

## Discuții

Majoritatea (92,8%) ulcerelor venoase cronice au prezentat culturi pozitive. Asemenea altor studii, am observat că infecțiile sunt de obicei monomicrobiene (55,89%), cu predominanța bacteriilor gram-negative (*Proteus mirabilis* fiind tulpina bacteriană dominantă) rezistente la unul sau mai multe antibiotice. Studiul nostru a demonstrat prezența următoarelor bacterii: *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Streptococcus spp.*

Infecțiile cu *Staphylococcus aureus* provin de obicei din colonizarea asimptomatică [8]. Colonizarea nu este periculoasă, dar tulpinile care colonează rănilor formează biofilme care conferă protecție împotriva tratamentelor antimicrobiene și a eliminării de către sistemul imunitar al gazdei [9]. Patogenii de alertă reprezintă 24% din toate tulpinile bacteriene identificate în culturile de ulcere venoase, comparativ cu 28,6% în alte studii [5].

Ceftriaxona și ceftazidimul sunt cele mai frecvent utilizate cefalosporine injectabile în spitalele din România [8]. Studiul nostru sugerează că cefalosporinele de a treia generație sunt inducători puternici ai beta-lactamazelor cu spectru larg și ar trebui evitate din cauza riscului major de selecție a germenilor rezistenți. Conform ghidului național de terapie cu antibiotice, pentru infecțiile cu *Pseudomonas aeruginosa*, colistina este soluția cea mai eficientă, iar pentru infecțiile cu *Staphylococcus aureus*, cotrimoxazolul s-a dovedit foarte eficient. În cazul în care ULC sunt superinfectate cu floră bacteriană mixtă, se

on no. of hospitalizations (linearity coefficient = 0,2329) seems to highly predict the no. of strains with resistance to antibiotics. For instance, in this social environment, after four hospitalizations, we might expect to observe at least one strain, among *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis* and *Staphylococcus aureus*, with resistance to one of antibiotics taken into consideration in this survey. However, further investigations should be conducted to develop a more reliable model based on other independent variables, such as the category of antibiotics prescribed during and after hospitalization, individual historical data on antibiotics consumption and so on.

## Discussion

The majority (92,8%) of CLU showed positive cultures. As with other studies, we observed that infection was more frequently monomicrobial (55,89%), with the predominance of Gram-negative bacteria (*Proteus mirabilis* was the dominant bacterial strain) resistant to one or more antibiotics. Our study demonstrated the presence of: *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Streptococcus spp.*

*Staphylococcus aureus* infections usually originate from asymptomatic colonization [8]. Colonization is harmless, but colonizing strains lead to biofilm formation which confers protection against antimicrobial therapeutics and host immune clearance [9]. Alert pathogens account for 24% of all bacterial strains identified in our leg ulcers cultures, comparative to 28.6% in other studies [5].

Ceftriaxone and ceftazidime are the most commonly used injectable cephalosporins in Romanian hospitals [8]. Our study suggests that third generation cephalosporins are potent inducers of extended-spectrum beta-lactamases and should therefore be avoided because of the major risk of selecting resistant germs. According to the national antibiotic therapy guide, for *Pseudomonas aeruginosa* infections, colistin is the most effective solution, and in the case of *Staphylococcus aureus* infections, cotrimoxazole has proven very effective. When CLU are superinfected with mixed bacterial flora it is

recomandă utilizarea combinațiilor de antibiotice în funcție de rezultatele antibiogrammei [10].

În studiul nostru, pentru bacteriile gram-negative, antibioticele cele mai susceptibile să inducă rezistență într-o perioadă scurtă de timp sunt cefepima și ceftazidima, urmate de carbapeneme (imipenem, meropenem). Antibioticele rămase (piperacilina, colistina, amikacina, gentamicina, ampicilina) sunt cele mai puțin susceptibile să inducă rezistență. În ceea ce privește *Staphylococcus aureus*, observăm că primele rezistențe apar la fluoroquinolone, urmate de aminoglicozide și macrolide. Pe de altă parte *Staphylococcus aureus* nu induce rezistență la cefalosporinele de a treia și a patra generație sau la carbapeneme. Mai mult, poate prezenta rezistență la aproape toate antibioticele disponibile. Vancomicina rămâne antibioticul de ultimă instanță pentru infecțiile cu MRSA [11].

Istoric, rezistența la antibiotice a fost întotdeauna prezentă, având în vedere că multe molecule de antibiotice se găsesc în mediile naturale și interacționează cu germenii. Astfel, un anumit nivel de rezistență intrinsecă este de așteptat la majoritatea microorganismelor [12]. Rezistența intrinsecă este un fenomen natural care se manifestă independent de expunerea la antibiotice și este prezentă universal într-un grup de bacterii sau într-o specie bacteriană [13]. Rezistența dobândită este mai critică din punct de vedere clinic, deoarece întâlnim bacterii care, inițial sensibile, devin rezistente la antibiotice și pot fi un motiv pentru lipsa unui tratament eficient [14].

Am observat că pacienții din mediul rural (58%) ar putea fi mai afectați de numărul de internări atunci când analizăm impactul acestora asupra nivelului de rezistență la antibiotice. Deși pentru acest mediu social, modelul liniar simplu analizat poate prezice în mod rezonabil nivelul de rezistență la antibiotice, studii suplimentare care vor include alte variabile ar putea oferi soluții pentru atenuarea acestei tendințe.

Tratamentul principal al ulcerelor infectate este adesea empiric și se bazează pe ghidurile clinice existente. Astfel, cunoașterea prevalenței bacteriilor patogene și a rezistenței la antibiotice într-o anumită zonă este esențială pentru a putea alege cele mai bune antibiotice empirice pentru locuitorii săi [15]. Pansarea corectă a rănilor

recommended to use combinations of antibiotics depending on the results of the antibiogram [10].

In our study, for Gram-negative bacteria the antibiotics most likely to induce resistance in a short period of time are cefepime and ceftazidime, followed by carbapenems (imipenem, meropenem). The remaining antibiotics (piperacillin, colistin, amikacin, gentamicin, ampicillin) are the least likely to induce resistance. With regard to *Staphylococcus aureus*, we find that the first resistances occur with fluoroquinolones, followed by aminoglycosides and macrolides. On the other hand, *Staphylococcus aureus* does not induce resistance to third and fourth generation of cephalosporins or to carbapenems. Furthermore, can show resistance to almost all available antibiotics. Vancomycin remains the antibiotic of last resort for MRSA infections [11].

Historically, antibiotic resistance has always been present, given that many antibiotic molecules are found in natural environments and have been interacting with germs. Thus, a certain level of intrinsic resistance is expected in most microorganisms [12]. Intrinsic resistance is a naturally occurring phenomenon that is independent of antibiotic exposure and is universally found within of a group of bacteria or within a bacterial species [13]. Acquired resistance is more clinically critical because we encounter bacteria that were initially susceptible but then become resistant to antibiotics and may be one of the reasons for the lack of effective treatment [14].

We observed that patients from rural areas (58%) might be more affected by the number of hospitalizations when analyzing the impact of multiple hospitalizations on their level of antibiotic resistance. Although for this social area the simple linear model analyzed can reasonably predict the level of antibiotic resistance, further studies that will include other variables could provide solutions to mitigate this trend.

The primary treatment of infected leg ulcer is often empirical and based on existing clinical guidelines. Hence, knowing the prevalence of pathogenic bacteria and their antibiotic resistance patterns in a local area, it is crucial to have the best empiric antibiotics for its residents [15]. Proper wound dressing (foam dressings, alginate dressings, hydrocolloids) and regular cleaning are essential for preventing infection, facilitating

(pansamente de spumă, pansamente cu alginat, hidrocoloidale) și curățarea regulată sunt esențiale pentru prevenirea infecției, facilitarea vindecării și promovarea unui mediu umed al răni [4]. Este necesar să se detecteze patogenii specifici și modelul lor de susceptibilitate pentru a iniția tratamentul precoce cu antibioticele adecvate [16].

### Concluzii

În țara noastră, rezistența antimicrobiană reprezintă o provocare semnificativă pentru tratament. Observăm că multe bacterii au dezvoltat rezistență la unul sau mai multe antibiotice, în special în mediul urban. Orice administrare de antibiotice, indiferent dacă este indicată clinic sau nu, contribuie la creșterea nivelului de rezistență bacteriană la antibiotice.

Nu recomandăm utilizarea antibioticelor cu spectru larg în prima instanță, deoarece bacteriile dobândesc rapid rezistență, iar antibioticele devin ineficiente. Cefalosporinele ar trebui utilizate doar în cazuri absolut necesare și nu ca primă opțiune. În cazul ulcerelor cu o durată mai mare de 6 luni, administrarea de ampicilină, cefotaxim, aminoglicozide pentru bacteriile gram-negative și administrarea de cefalosporine, ampicilină și carbapeneme pentru bacteriile gram-pozitive ar trebui luate în considerare până la obținerea rezultatelor antibiogrammei.

healing and promoting a moist wound environment [4]. It is necessary to detect the specific pathogens and their susceptibility pattern to initiate early treatment with the appropriate antibiotics [16].

### Conclusions

In our country, antimicrobial resistance represents a great challenge to therapy. We observe that many bacteria developed resistance to one or more antibiotics, especially in urban area. Any administration of antibiotics, whether clinically indicated or not, contributes to increasing the level of bacterial resistance to antibiotics.

We do not suggest broad-spectrum antibiotics in the first instance, because bacteria quickly acquire resistance and antibiotics become ineffective. Cephalosporins should only be used in absolutely necessary cases and not as a first option. In ulcers with a duration of more than 6 months, the administration of ampicillin, cefotaxime, aminoglycosides for Gram-negative bacteria and the administration of cephalosporins, ampicillin and carbapenems for Gram-positive bacteria should be considered until the antibiogram arrives.

### Bibliografie/Bibliography

1. Mesmin Dehayem Yefou et al. Bacterial profile of diabetic foot infections and antibiotic susceptibility in a specialized diabetes centre in Cameroon. *Pan African Medical Journal*, 2022;42(52): p 2.
2. Kruszewska K, Wesolowska-Gorniak K, Czarkowska-Paczek B, Venous leg ulcer healing time is increased with each subsequent bacterial strain identified in the ulcer. A retrospective study. *Phlebology*, 2021 May;36(4): p 2-3.
3. Garcia TF, Borges EL, Junho TOC, Spira JAO, Microbiological profile of leg ulcer infections: review study. *Revista Brasileira de Enfermagem*, 2021;74(3): p 2-3.
4. Matei SC, Dumitru CS, Fakhry AM, Ilijevski N, Peoić S, Petrović J, Crăiniceanu ZP., Murariu MS, Olariu S, Bacterial Species Involved in Venous Leg Ulcer Infections and Their Sensitivity to Antibiotherapy-An Alarm Signal Regarding the Seriousness of Chronic Venous Insufficiency C6 Stage and Its Need for Prompt Treatment. *Microorganisms*, 2024;12,472: p 1,7.
5. Cwajda-Białasik J, Mościcka P, Jawień A, Szewczyk MT, Microbiological Status of Venous Leg Ulcers and Its Predictors: A Single-Center Cross-Sectional Study. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2021: p 2-8.
6. Rahim K, Saleha S, Zhu X, Huo L, Basit A, Franco OL, Bacterial Contribution in Chronicity of Wounds. *Microb Ecol.*, 2017 Apr;73(3): p 1-3.
7. Iluț PA, Păpara C, Danescu S, Candrea E, Baican C, Vaida Ș, Baican A, Antibiotic susceptibility and resistance of bacterial pathogens in chronic leg ulcers: a retrospective cohort study. *Farmacia*, 2023; vol. 71,1: p 39.

8. Popescu G, Șerban R, Niculcea A, Leuștean M, Pistol A, Consumul de antibiotice, Rezistența microbiană și Infecții Asociate Asistenței Medicale în România. CARMIAMM România. 2018: p 13-14, 19-20.
9. Howden BP, Giulieri SG, Wong Fok Lung T. et al, Staphylococcus aureus host interactions and adaptation. *Nature Review Microbiology*, 2023; 21: p 381-386.
10. Benea EO, Gavriliu LC, Popescu C, Popescu GA, Ghidul Angelescu-Terapie antimicrobiană. București. 2018: p 35, 216.
11. Gordon YC, Cheung JS, Otto M, Pathogenicity and virulence of Staphylococcus aureus. *Virulence*, 2021;12,1: p 547.
12. Hodea FV, Lăzărescu AL, Grosu-Bularda A, Crețu A, Teodoreanu RN, Lascăr I, Hariga CS, Antimicrobial resistance of escape pathogens in major burns patients-one-year retrospective study. *Farmacia*, 2023; vol.71,3: p 549.
13. Morrison L, Zembower T. Antimicrobial Resistance. *Gastrointestinal Endoscopy Clinics of North America*, 2020, 30, 4: p 621-628.
14. Tenderenda A, Łysakowska M., Gawron-Skarbek A, The Prevalence of Alert Pathogens and Microbial Resistance Mechanisms: A Three-Year Retrospective Study in a General Hospital in Poland. *Pathogens*, 2023;12,1401: p 2.
15. Shahrokh S, Aliye T, Yazdi M, Siavash M, Aminorroaya A, Bacterial Profile and Antimicrobial Resistance Patterns of Infected Diabetic Foot Ulcers in Iran: A Systematic Review and Meta-Analysis of Cross-Sectional Studies. *Int J Low Extrem Wounds*, 2022 Dec;21(4):p 1.
16. Atlaw A, Kebede HB, Abdela AA, Woldeamanuel Y, Bacterial isolates from diabetic foot ulcers and their antimicrobial resistance profile from selected hospitals in Addis Ababa, Ethiopia. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2022 Aug; 31: p 2.

Conflict de interese  
NEDECLARATE

Conflict of interest  
NONE DECLARED

*Adresa de corespondență:* Goman Roxana Diana  
Spitalul Clinic Județean de Urgență Bihor  
e-mail: roxana.lata@yahoo.com

*Correspondance address:* Goman Roxana Diana,  
Bihor Clinical Emergency Hospital  
e-mail: roxana.lata@yahoo.com