



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**  
**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**  
**ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**



**Κλινική Εντατικής Θεραπείας**

**Διευθυντής: Καθηγητής Επαμεινώνδας Ζακυνθινός**

---

**Διδακτορική Διατριβή**

**‘KLEBSIELLA PNEUMONIAE PRODUCING CARBAPENEMASE**  
**ΛΟΙΜΩΞΗ: ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ – ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ –**  
**ΘΝΗΣΙΜΟΤΗΤΑ ΣΕ ΒΑΡΕΩΣ ΠΑΣΧΟΝΤΕΣ’**

υπό

**Κωνσταντίνου Μαντζαρή**

Πανεπιστημιακού Υπότροφου Εντατικής Θεραπείας

Υπεβλήθη για την εκπλήρωση μέρους των

απαιτήσεων για την απόκτηση του

Διδακτορικού Διπλώματος

Λάρισα, 2019

© 2019 Κωνσταντίνος Μαντζαράλης

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το Τμήμα Ιατρικής της Σχολής Επιστημών Υγείας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας δεν υποδηλώνει αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα (σύμφωνα με τις διατάξεις του άρθρου 202, παράγραφος 2 του Ν.5343/1932).

*Στη σύζυγό μου*



**Εγκρίθηκε από τα Μέλη της Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής  
(Αρ. Πρ. 7596-05/12/2019):**

- |   |  |
|---|--|
| <b>1<sup>ος</sup> Εξεταστής<br/>(Επιβλέπων)</b> | <b>Επαμεινώνδας Ζακυνθινός</b><br>Καθηγητής Εντατικής Θεραπείας, Ιατρικό Τμήμα, Παν.<br>Θεσσαλίας              |
| <b>2<sup>ος</sup> Εξεταστής</b>                 | <b>Δημοσθένης Μακρής</b><br>Αν. Καθηγητής Εντατικής Θεραπείας, Ιατρικό Τμήμα, Παν.<br>Θεσσαλίας                |
| <b>3<sup>ος</sup> Εξεταστής</b>                 | <b>Ζωή Δανιήλ</b><br>Καθηγήτρια Πνευμονολογίας, Ιατρικό Τμήμα, Παν. Θεσσαλίας                                  |
| <b>4<sup>ος</sup> Εξεταστής</b>                 | <b>Κωνσταντίνος Γουργουλιάνης</b><br>Καθηγητής Πνευμονολογίας, Ιατρικό Τμήμα, Παν. Θεσσαλίας                   |
| <b>5<sup>ος</sup> Εξεταστής</b>                 | <b>Ευθυμία Πετεινάκη</b><br>Καθηγήτρια Μικροβιολογίας, Ιατρικό Τμήμα, Παν. Θεσσαλίας                           |
| <b>6<sup>ος</sup> Εξεταστής</b>                 | <b>Μακαρίτσης Κωνσταντίνος</b><br>Αν. Καθηγητής Παθολογίας, Ιατρικό Τμήμα, Παν. Θεσσαλίας                      |
| <b>7<sup>ος</sup> Εξεταστής</b>                 | <b>Τσιλιμίγκας Νικόλαος</b><br>Καθηγητής Χειρουργικής Θώρακα-Καρδιάς-Αγγείων, Ιατρικό<br>Τμήμα, Παν. Θεσσαλίας |



## Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τους κ. Επαμεινώνδα Ζακυνθινό και Δημοσθένη Μακρή για την εμπιστοσύνη που μου έδειξαν, την αμέριστη στήριξη και κύρια για τη μαθητεία κοντά τους. Χωρίς αυτούς τίποτε από τα παρακάτω δε θα ήταν εφικτό. Επίσης, όλο το προσωπικό της Κλινικής Εντατικής Θεραπείας του Παν. Γεν. Νοσοκ. Λάρισας για τη βοήθεια και τη συνεργασία τους.

Κωνσταντίνος Μαντζαρλής





# **ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ**

Μαντζαρλής Κων/νος

## **Προσωπικά στοιχεία**

Ημ. Γέννησης: 30/05/1977

Τόπος Γέννησης: Καρδίτσα

Εκπλήρωση στρατιωτικών υποχρεώσεων 2003-2004

Οικογενειακή κατάσταση: Έγγαμος με δύο τέκνα

## **Στοιχεία επικοινωνίας**

Διεύθυνση: 18<sup>ης</sup> Αυγούστου 65, Καρδίτσα, Τ.Κ. 43100

Τηλέφωνο: 6974909374

E-mail: [mantzk@outlook.com](mailto:mantzk@outlook.com)

## **Εκπαίδευση**

1995: Απολυτήριο Λυκείου με βαθμό 'Άριστα'

1<sup>ο</sup> Γενικό Λύκειο Καρδίτσας

2002: Πτυχίο Ιατρικής με βαθμό 'Λίαν Καλώς'

Ιατρική Σχολή Α.Π.Θ.

2010: Λήψη Ιατρικής Ειδικότητας Παθολογίας,

Παθολογική Κλινική Γ.Ν. Καρδίτσας & Παν. Παθ. Κλινική Π.Γ.Ν.

Λάρισας

2011: Υποψήφιος διδάκτορας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου

Θεσσαλίας.

Θέμα διατριβής: Klebsiella Pneumoniae Producing Carbapenemase

λοίμωξη: παράγοντες κινδύνου – συχνότητα – θνησιμότητα σε βαρέως

πάσχοντες

2013: Απόκτηση τίτλου εξειδίκευσης στην Εντατικολογία

### **Ξένες Γλώσσες**

Αγγλικά (First Certificate in English / Cambridge University)

Γερμανικά (Zentrale Mittelstufeprüfung / Goethe Institut)

### **Επαγγελματική εμπειρία**

2002-2003: Υπηρεσία Υπαίθρου

2003-2004: Στρατιωτική θητεία ως ιατρός μονάδας

2005-2008: Ειδίκευση στην Παθολογία, Παθολογική Κλινική Γ.Ν. Καρδίτσας

2008-2010: Ειδίκευση στην Παθολογία, Παν. Παθ. Κλινική Π.Γ.Ν. Λάρισας

2011-2013: Εξειδίκευση στην Εντατικολογία, ΜΕΘ του Π.Γ.Ν. Λάρισας

2014-2018: Πανεπιστημιακός Υπότροφος, Ιατρική Σχολή Παν. Θεσσαλίας

2018-παρόν: Επιμελητής Εντατικής Θεραπείας, ΚΕΘ Π.Γ.Ν. Λάρισας

## Δημοσιεύσεις

1. Karvouniaris M, Makris D, Manoulakas E, Zygoulis P, Mantzaris K, Triantaris A, Chatzi M, Zakyntinos E. Ventilator-associated tracheobronchitis increases the length of intensive care unit stay. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2013 Aug;34(8):800-808 (Impact factor 3.7)
2. Chatzi M, Karvouniaris M, Makris D, Tsimitrea E, Gatos C, Tasiou A, Mantzaris K, Fountas KN, Zakyntinos E. Bundle of Measures for External Cerebral Ventricular Drainage-Associated Ventriculitis. *Crit Care Med*. 2014 Jan;42(1):66-73 (Impact factor 6.33)
3. Mantzaris K, Makris, Manoulakas S, Karvouniaris M, Zakyntinos E. Risk factors for the first episode of klebsiella Pneumoniae Resistant to Carbapenems Infection in Critically Ill patients: a prospective study. *Biomed Research International* Volume 2013, Article ID 850547 (Impact factor 2.88)
4. Karvouniaris M, Makris D, Zygoulis P, Triantaris A, Xitsas S, Mantzaris K, Petinaki E, Zakyntinos E. Nebulised colistin for ventilator-associated pneumonia prevention. *Eur Respir J*. 2015 Dec;46(6):1732-9 (Impact factor 8.332)
5. Oikonomou O, Sarrou S, Papagiannitsis CC, Georgiadou S, Mantzaris K, Zakyntinos E, Dalekos GN, Petinaki E. Rapid dissemination of colistin and carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* in Central Greece: mechanisms of resistance, molecular identification and epidemiological data. *BMC Infect Dis*. 2015 Dec 9;15:559 (Impact factor 2.69)
6. Papanikolaou J, Tsolaki V, Makris D, Mantzaris K, Zakyntinos E. Right Atrial Transverse Band Prevents a "Passing-by" Thrombus From Migrating Into Pulmonary Circulation . *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 2016 Oct;30(5):e47-e48
7. Papagiannitsis CC, Malli E, Florou Z, Sarrou S, Hrabak J, Mantzaris K, Zakyntinos E, Petinaki E. Emergence of sequence type 11 *Klebsiella pneumoniae* coproducing NDM-1 and VIM-1 metallo- $\beta$ -lactamases in a Greek hospital. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2017 Mar;87(3):295-297 (Impact factor 2.45)
8. Mantzaris K., Tsolaki V., Zakyntinos E. Role of Oxidative Stress and Mitochondrial Dysfunction in Sepsis and Potential Therapies. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Volume 2017, Article ID 5985209 (Impact Factor 4.59)
9. Tsolaki V., Makris D., Mantzaris K., Zakyntinos E. Sepsis-Induced Cardiomyopathy: Oxidative implications in the initiation and resolution of the damage. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Volume 2017, Article ID 7393525 (Impact Factor 4.59)
10. Demosthenes Makris, Efi Petinaki, Vassiliki Tsolaki, Efstratios Manoulakas, Konstantinos Mantzaris, Olimpia Apostolopoulou, Dimitrios Sfyras,

- Epaminondas Zakynthinos. Colistin versus Colistin Combined with Ampicillin- Sulbactam for Multiresistant *Acinetobacter baumannii* Ventilator- associated Pneumonia Treatment: An Open- label Prospective Study. *Indian J Crit Care Med* 2018;22:67-77. (Impact factor 0.76)
11. Xie F, Mantzaris K, Malliotakis P, Koulouras V, Degroote S, Kourenti D, Blot S, Boussery K, Van Bocxlaer J, Colin P; LIMOP study collaborators. Pharmacokinetic evaluation of linezolid administered intravenously in obese patients with pneumonia. *J Antimicrob Chemother.* 2019 Mar 1;74(3):667-674 (Impact factor 5.22)
12. Mantzaris K, Makris D, Zakynthinos E. Risk factors for the first episode of *Acinetobacter baumannii* resistant to colistin infection and outcome in critically ill patients. *J Med Microbiol.* 2019 Oct 24. doi:10.1099/jmm.0.001094. [Epub ahead of print] (Impact factor 2.11)

#### Συγγραφέας κεφαλαίου σε βιβλίο

1. Διατροφή στην καρδιακή ανεπάρκεια (σε Μπαλτόπουλος: Εντατική θεραπεία και Επείγουσα Ιατρική Μεταβολισμός και διατροφή, 2017)

#### Επιστημονικές Εργασίες

1. Ιογενής Ηπατίτιδα Α / 20<sup>ο</sup> Ιατρικό Συνέδριο Ενόπλων Δυνάμεων
2. Αναζωπύρωση HBV λοίμωξης σε ασθενή με HbsAg (-) και antiHCV (+) κατόπιν ΧΜΘ λόγω Hodgkin λεμφώματος / 2<sup>ο</sup> Συνέδριο Παθολογίας Κεντρικής Ελλάδας
3. K. Pneumoniae producing karbapenemase infections in critical care patients: prevalence and risk factors / 24th *ESICM LIVES* Annual Congress
4. Προσδιορισμός παραγόντων κινδύνου για λοίμωξη *Klebsiella Pneumoniae* ανθεκτική στις καρβαπενέμες σε ασθενείς Μονάδας Εντατικής Θεραπείας και επίπτωση στη νοσηρότητα και την επιβίωση / 14ο *Πανελλήνιο Συνέδριο Εντατικής θεραπείας*
5. Μελέτη της επίδρασης της PACO<sub>2</sub> στην πνευμονική αρτηριακή πίεση σε διασωληνωμένα κουνέλια υπό μηχανικό αερισμό / 14ο *Πανελλήνιο Συνέδριο Εντατικής θεραπείας*
6. Μέτρηση της ενδοκοιλιακής πίεσης σε διάφορες θέσεις και διαφορετικές τιμές τελοεκπνευστικής πίεσης σε ασθενείς της ΜΕΘ / 14ο *Πανελλήνιο Συνέδριο Εντατικής θεραπείας*
7. The association between genetic polymorphisms of Toll-like receptors (TLRs) in critical care patients and ventilator-associated pneumonia (VAP) / 23rd European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (*ESCCMID 2013*)

8. A Bundle of Measures for External Cerebral Ventricular Drainage Associated Ventriculitis (EVDV): results from the post study period / 24th European Society of Intensive Care Medicine (ESICM LIVES) Annual Congress
9. Outcomes of septic shock due to multidrug resistant bacteremia treated with Fosfomycin / 25th European Society of Intensive Care Medicine (ESICM LIVES) Annual Congress

### **Προσκεκλημένος ομιλητής**

1. 2014 – 5<sup>ο</sup> Εκπαιδευτικό Σεμινάριο Κ.Ε.Θ. Π.Γ.Ν. Λάρισας
2. 2014 – 7<sup>ο</sup> Επιστημονικό συμπόσιο τομέα Επείγουσας και Εντατικής Νοσηλευτικής
3. 2016 – Cranial Trauma Workshop, Νευροχειρουργική Κλινική Π.Γ.Ν. Λάρισας
4. 2016 – 7<sup>ο</sup> Εκπαιδευτικό Σεμινάριο Κ.Ε.Θ. Π.Γ.Ν. Λάρισας
5. 2017 – Εκπαιδευτικό Σεμινάριο ‘Ανάπτυξη κλινικών περιπτώσεων θρόμβωσης και λήψη θεραπευτικών αποφάσεων’, Αγγειοχειρουργική Κλινική Παν. Θεσσαλίας
6. 2017 – 8<sup>ο</sup> Εκπαιδευτικό Σεμινάριο Κ.Ε.Θ. Π.Γ.Ν. Λάρισας
7. 2018 – Σεμινάριο Εντατικής Θεραπείας και Επείγουσας Ιατρικής, Κ.Ε.Θ. Π.Γ.Ν. Λάρισας
8. 2018 – Πανελλήνιο Συνέδριο Εντατικής Θεραπείας, Ελληνική Εταιρεία Εντατικής Θεραπείας
9. 2019 – Ημέρες πνευμονολογίας και εντατικής θεραπείας, Πνευμονολογική και Κλινική Εντατικής Θεραπείας, Π.Γ.Ν. Λάρισας

### **Διδακτικό Έργο**

1. 2008-2010 Εκπαιδευτικό πρόγραμμα Παν. Παθ. Κλινικής Παν. Θεσσαλίας
2. 2010-2020 Εκπαιδευτικό πρόγραμμα Κ.Ε.Θ. Π.Γ.Ν. Λάρισας
3. 2010-2019 Εκπαίδευση φοιτητών Κ.Ε.Θ. Π.Γ.Ν. Λάρισας
4. 2013-2019 Π.Μ.Σ. ‘Πρωτοβάθμια Φροντίδα Υγείας’
5. 2015-2019 Π.Μ.Σ. ‘Διατροφή στη Υγεία και τη νόσο’
6. 2019 Π.Μ.Σ. ‘Διαχείριση και αποκατάσταση βαρέως πάσχοντα’

## Συμμετογή σε Κλινικές Μελέτες

1. POL7080-003 - Μια πολυκεντρική, ανοικτού σχεδιασμού μελέτη φάσης II για αξιολόγηση της φαρμακοκινητικής της ασφάλειας και της αποτελεσματικότητας της θεραπείας με POL7080 συγχρηγούμενη με την καθιερωμένη θεραπεία (SoC) σε ασθενείς με πνευμονία που συνδέεται με τη χρήση αναπνευστήρα (VAP) λόγω υποψίας ή επιβεβαιωμένης λοίμωξης από *Pseudomonas aeruginosa*.
2. CAP-01-102 - Μια τυχαιοποιημένη, διπλά τυφλή, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο, παράλληλων ομάδων μελέτη φάσης 2 αερολύματος αμικασίνης και φωσφομυκίνης που χορηγείται μέσω του ερευνητικού ενσωματωμένου συστήματος eFlow® σε ασθενείς με μηχανικό αερισμό με Gram αρνητική βακτηριακή πνευμονία (IASIS)
3. MagicBullet/COLMER - Ανοικτή, τυχαιοποιημένη, πολυκεντρική μελέτη Φάσης IV απόδειξης μη κατωτερότητας για τη σύγκριση της ασφάλειας και της αποτελεσματικότητας της κολιστίνης έναντι της μεροπενέμης στην εμπειρική θεραπεία της πνευμονίας που συνδέεται με τη χρήση αναπνευστήρα.
4. BAY 41-6551 - Μια προοπτική, τυχαιοποιημένη, διπλά τυφλή, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο, πολυκεντρική μελέτη για την αξιολόγηση της ασφάλειας και της αποτελεσματικότητας του BAY 41-6551 ως επικουρική θεραπεία σε διασωληνωμένους και μηχανικά αεριζόμενους ασθενείς με αρνητική κατά Gram πνευμονία
5. ACHN-490-007 - Πολυκεντρική, Τυχαιοποιημένη Μελέτη Ανοικτής Θεραπείας Φάσης 3 για την Αξιολόγηση της Αποτελεσματικότητας και της Ασφάλειας του Plazomicin σε Σύγκριση με την Κολιστίνη, σε Ασθενείς με Λοιμώξεις από Εντεροβακτήρια Ανθεκτικά στην Καρβαπενέμη (CRE)
6. TR701-132 - Μια Τυχαιοποιημένη, Διπλά-τυφλή Μελέτη Φάσης 3 για τη Σύγκριση του TR-701 ΕΟ και της Λινεζολίδης σε Υπό αερισμό Gram-θετική Νοσοκομειακή Πνευμονία
7. CXA-NP-11-04 - Μια Τυχαιοποιημένη, Διπλά-τυφλή Μελέτη, πολυκεντρική Φάσης 3 μελέτη για την αξιολόγηση και επίδραση της ενδοφλέβιας κεφτολοζάνης/ταζομπακτάμης συγκρινόμενη με μεροπενέμη σε ενήλικους αρρώστους με πνευμονία σχετιζόμενη με τον αναπνευστήρα
8. CD-ID-MEDI4893-1139 - Μία μελέτη φάσης 2, τυχαιοποιημένη, διπλά-τυφλή, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο, μονής δόσης, κυμαινόμενης δοσολογίας, για την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια του MEDI4893, ενός ανθρώπινου μονοκλωνικού αντισώματος κατά της άλφα-τοξίνης του χρυσίζοντος σταφυλόκοκκου σε μηχανικά αεριζόμενους ενήλικες ασθενείς
9. HELICAS - «Η εκτίμηση του κόστους της περίθαλψης της διηθητικής καντιντίασης στις μονάδες εντατικής θεραπείας (ΜΕΘ) στην Ελλάδα
10. D5470C00004 – Φάσης 2 μελέτη με απόδειξη της έννοιάς της, για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας και της ασφάλειας του MEDI3902 σε μηχανικά αεριζόμενους ασθενείς για την πρόληψη της νοσοκομειακής πνευμονίας που προκαλείται από *Pseudomonas aeruginosa*

11. CD101.IV.2.03 A3/4A – Μια φάσης 2, Πολυκεντρική, τυχαιοποιημένη, διπλά τυφλή μελέτη για την ασφάλεια, ανοχή, και αποτελεσματικότητα του ενδοφλέβιου CD101 έναντι ενδοφλέβιας κασποφουγκίνης με ακόλουθη αποκλιμάκωση σε φλουκοναζόλη σε ασθενείς με καντιντεμία και/ή διηθητική καντιντίαση
12. 1424R2131 – Μια πολυκεντρική, τυχαιοποιημένη, ανοικτής θεραπείας κλινική μελέτη του S-649266 ή της βέλτιστης διαθέσιμης θεραπείας για τη θεραπεία των σοβαρών λοιμώξεων που προκαλούνται από ανθεκτικά στην καρβαπενέμη αρνητικά κατά Gram παθογόνα
13. AR-105-002 – Μια τυχαιοποιημένη διπλά τυφλή μελέτη του Aerucin® ως συμπληρωματική θεραπεία των αντιβιοτικών για τη θεραπεία της πνευμονίας από *P. Aeruginosa*
14. CF-301-302 – Μια πολυκεντρική, διπλά τυφλή, τυχαιοποιημένη συγκριτική μελέτη για την ασφάλεια, ανοχή, αποτελεσματικότητα και φαρμακοκινητική του CF-301 έναντι εικονικού φαρμάκου ως συμπλήρωμα στην ενδεδειγμένη αντιμικροβιακή αγωγή για τη θεραπεία σε ενήλικους ασθενείς βακτηριαμιών από *Staphylococcus aureus* συμπεριλαμβανομένης και της δεξιάς ενδοκαρδίτιδας
15. EU-CARE: Μελέτη παρατήρησης για τη διαχείριση λοιμώξεων που αποδίδονται σε ανθεκτικά στις καρβαπενέμες gram αρνητικά μικρόβια
16. POL7080-011: Μια πολυκεντρική, ανοικτού σχεδιασμού μελέτη, τυχαιοποιημένη, με ομάδα ελέγχου, για την εκτίμηση της αποτελεσματικότητας, ασφάλειας, ανοχής και φαρμακοκινητικής της θεραπείας με μουρεπαβαδίνη συγχρηγούμενη με αντιψευδομοναδική θεραπεία έναντι διπλής αντιψευδομοναδικής αγωγής σε ασθενείς με πνευμονία που συνδέεται με τη χρήση αναπνευστήρα (VAP) λόγω υποψίας ή επιβεβαιωμένης λοίμωξης από *Pseudomonas aeruginosa*.
17. CS2514-2017-004: Μια τυχαιοποιημένη με ομάδα ελέγχου μελέτη για την εκτίμηση της αποτελεσματικότητας και της ασφάλειας της ενδοφλέβιας χορήγησης Sulbactam-ETX2514 για τη θεραπεία ασθενών με λοιμώξεις από *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus* Complex

#### **Σεμινάρια – Συνέδρια – Εκπαιδευτικά μαθήματα**

1. 2000: Πανελλήνιο Ογκολογικό Συνέδριο, Α΄ Προπ. Χειρ. Κλιν. ΑΧΕΠΑ
2. 2001: Υπερλιπιδαιμίες και Αθηροσκλήρωση στον 21<sup>ο</sup> αι. και Εκπαιδευτικά σεμινάρια, Α΄ Προπ. Παθ. Κλιν. ΑΧΕΠΑ
3. 2004: 20<sup>ο</sup> Ιατρικό Συνέδριο Ενόπλων Δυνάμεων

4. 2005: Εκπαιδευτικό Σεμινάριο Ηπατολογίας, Ελληνική Εταιρεία Έρευνας Εκπαίδευσης στην Πρωτοβάθμια Φροντίδα Υγείας
5. 2006 – 2008: Παρακολούθηση υπερήχων σε Γ.Ν. Καρδίτσας
6. 2009: 1<sup>ο</sup> Συνέδριο Παθολογίας Κεντρικής Ελλάδας, Παν. Παθολογική Κλινική Παν. Θεσσαλίας
7. 2010: 2<sup>ο</sup> Συνέδριο Παθολογίας Κεντρικής Ελλάδας, Παν. Παθολογική Κλινική Παν. Θεσσαλίας
8. 2011: 31<sup>st</sup> International Symposium on Intensive Care and Emergency Medicine (ISICEM)
9. 2011: 2<sup>ο</sup> Εκπαιδευτικό σεμινάριο 'Θέματα αιχμής στη ΜΕΘ', ΚΕΘ Π.Γ.Ν. Λάρισας
10. 2011: 24<sup>th</sup> European Society of Intensive Care Medicine (ESICM LIVES) Annual Congress
11. 2012: 3<sup>ο</sup> Εκπαιδευτικό σεμινάριο 'Η σήψη στη ΜΕΘ σήμερα', ΚΕΘ Π.Γ.Ν. Λάρισας
12. 2012: 14<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Εντατικής Θεραπείας
13. 2013: 4<sup>ο</sup> Εκπαιδευτικό σεμινάριο 'Αιμοδυναμική παρακολούθηση στη σήψη', ΜΕΘ Π.Γ.Ν. Λάρισας
14. 2014: 5<sup>ο</sup> Εκπαιδευτικό σεμινάριο 'Αναπνευστικές λοιμώξεις στη ΜΕΘ', ΚΕΘ Π.Γ.Ν. Λάρισας
15. 2014: 27<sup>th</sup> European Society of Intensive Care Medicine (ESICM LIVES) Annual Congress
16. 2014: 15<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Εντατικής Θεραπείας
17. 2014: Συμπόσιο Νεφρολογίας Κεντρικής Ελλάδας, Νεφρολογική Κλινική Παν. Θεσσαλίας
18. 2015: 35<sup>th</sup> International Symposium on Intensive Care and Emergency Medicine (ISICEM)
19. 2015: 6<sup>ο</sup> Εκπαιδευτικό σεμινάριο, 'Έλεγχος ενδοκράνιας πίεσης' με το hands on session υπερηχογραφική απεικόνιση αγγείων, ΚΕΘ Π.Γ.Ν. Λάρισας
20. 2015: 1<sup>ο</sup> ATHENA (Approaching the Severely Infected Patient), Αττικόν Νοσοκομείο
21. 2016: Cranial Trauma Workshop, Παν. Νευροχειρουργική Κλινική Παν. Θεσσαλίας
22. 2016: 7<sup>ο</sup> Εκπαιδευτικό σεμινάριο 'Επείγουσες καταστάσεις κοιλίας', ΚΕΘ Π.Γ.Ν. Λάρισας
23. 2010 – 2013: Εκπαιδευτικά μαθήματα Κλινικής Εντατικής Θεραπείας Π.Γ.Ν.Λάρισας με μαθήματα βρογχοσκοπήσεων και υπερηχογραφίας
24. 2013 – 2016: Εκπαιδευτικά μαθήματα Κλινικής Εντατικής Θεραπείας Π.Γ.Ν.Λάρισας
25. 2016: 16<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Εντατικής Θεραπείας
26. 2017: Σεμινάριο για τη δωρεά οργάνων, ΕΟΜ
27. 2017: Εκπαιδευτικό Σεμινάριο 'Ανάπτυξη κλινικών περιπτώσεων θρόμβωσης και λήψη θεραπευτικών αποφάσεων', Αγγειοχειρουργική Κλινική Παν. Θεσσαλίας
28. 2017: 37<sup>th</sup> International Symposium on Intensive Care and Emergency Medicine (ISICEM)
29. 2017: 8<sup>ο</sup> Εκπαιδευτικό σεμινάριο 'Νεότερα δεδομένα στην Εντατική Θεραπεία', ΚΕΘ Π.Γ.Ν. Λάρισας
30. 2017: ESICM Regional Conference for Hemodynamic Monitoring
31. 2016 – 2018: Εκπαιδευτικά μαθήματα Κλινικής Εντατικής Θεραπείας Π.Γ.Ν.Λάρισας
32. 2017: 2<sup>ο</sup> ATHENA (Approaching the Severely Infected Patient), Αττικόν Νοσοκομείο



33. 2018: Σεμινάριο Εντατικής Θεραπείας και Επείγουσας Ιατρικής, Κ.Ε.Θ. Π.Γ.Ν.Λάρισας
34. 2019: Ημέρες Πνευμονολογίας και Εντατικής Θεραπείας, Πνευμονολογική και Κλινική Εντατικής Θεραπείας, Π.Γ.Ν.Λάρισας



‘KLEBSIELLA PNEUMONIAE PRODUCING CARBAPENEMASE

**ΛΟΙΜΩΞΗ: ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ – ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ –**

**ΘΝΗΣΙΜΟΤΗΤΑ ΣΕ ΒΑΡΕΩΣ ΠΑΣΧΟΝΤΕΣ’**

**Κωνσταντίνος Μαντζαρλής**

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Τμήμα Ιατρικής, 2017

**ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

1. Επαμεινώνδας Ζακυνθινός, Καθηγητής Εντατικής Θεραπείας, Ιατρικό Τμήμα,  
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
2. Δημοσθένης Μακρής, Αναπληρωτής Καθηγητής Εντατικής Θεραπείας, Ιατρικό  
Τμήμα, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
3. Δανιήλ Ζωή, Καθηγήτρια Πνευμονολογίας, Ιατρικό Τμήμα, Πανεπιστήμιο  
Θεσσαλίας



## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>I. ΠΕΡΙΛΗΨΗ</b>	23
<b>II. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b>	27
Εισαγωγή	29
Επιδημιολογία	30
Μηχανισμοί παθογένεσης	32
Κάψα	33
Λιποπολυσακχαρίτης	35
Κροσσοί τύπου 1 και 3	36
Σιδηροφέροντα μόρια	38
Πρωτεΐνες έξω μεμβράνης	41
Πορίνες	42
Αντλίες και μεταφορείς	43
Θεραπεία	44
<b>III. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b>	53
Υπόθεση	55
Μέθοδοι	62

Αποτελέσματα	62
Συζήτηση	72
Παραπομπές	77
<b>IV. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ</b>	<b>103</b>

## **I. ΠΕΡΙΛΗΨΗ**





Σκοπός: Ο εντοπισμός παραγόντων κινδύνου για το πρώτο επεισόδιο λοίμωξης με *Klebsiella pneumoniae* ανθεκτικής στις καρβαπενέμες (KPRC) σε ασθενείς με βαριά νόσο που νοσηλεύονται υπό μηχανικό αερισμό σε Μονάδα Εντατικής Θεραπείας (ΜΕΘ).

Σχεδιασμός, Περιβάλλον, Μέθοδος: Αυτή η προοπτική μελέτη διεξήχθη σε γενική ΜΕΘ 12 κλινών σε Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο σε ασθενείς που νοσηλεύονται υπό μηχανικό αερισμό για >48 ώρες κατά τη διάρκεια περιόδου 12 μηνών. Μελετήθηκαν κλινικά και μικροβιολογικά δεδομένα των αρρώστων. Χαρακτηριστικά των ασθενών με KPRC λοίμωξη συγκρίθηκαν με αντίστοιχα ασθενών που παρουσίασαν βακτηριακές λοιμώξεις από πολύ-ευαίσθητα μικρόβια ή ακόμη και καθόλου λοίμωξη.

Αποτελέσματα: 25 ασθενείς παρουσίασαν λοίμωξη KPRC, 18 από πολύ-ευαίσθητα βακτήρια, και 39 ασθενείς δεν παρουσίασαν καμία λοίμωξη. Σε σύγκριση με ασθενείς χωρίς τεκμηριωμένη λοίμωξη ή λοίμωξη από πολύ-ευαίσθητα βακτήρια, οι ασθενείς με λοίμωξη KPRC είχαν λάβει πιο συχνά ή και για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα αντιβιοτικά έναντι Gram αρνητικών βακτηριδίων (καρβαπενέμες, κολιστίνη  $P < 0,05$ ). Η διάρκεια χορήγησης κολιστίνης πριν την απομόνωση της KPRC συσχετίστηκε ανεξάρτητα με λοίμωξη KPRC (odds ratio, 1.156 ανά ημέρα, 95% confidence interval 1,010 - 1,312,  $P = 0,025$ ). Οι ασθενείς με KPRC έμειναν νοσηλεύόμενοι στη ΜΕΘ για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα και έλαβαν μηχανικό αερισμό και καταστολή επίσης για μεγαλύτερες περιόδους παρουσιάζοντας μάλιστα αυξημένη θνησιμότητα ( $P < 0,05$ ).

Συμπέρασμα: Η λοίμωξη από KPRC είναι μια νοσοκομειακή λοίμωξη που είναι πιο συχνή σε ασθενείς με προηγούμενη χρήση αντιβιοτικών και

κυρίως κολιστίνης, ενώ συμβάλλει στη θνησιμότητα και νοσηρότητα των αρρώστων που νοσηλεύονται υπό μηχανικό αερισμό σε ΜΕΘ.

## **II. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**



## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η *Klebsiella pneumoniae* είναι ένα κατά Gram αρνητικό βακτήριο με κάψα, που ζυμώνει τη λακτόζη, δυνητικά αναερόβιο σε σχήμα ράβδου. Σε ό,τι αφορά την ταξινόμησή της ανήκει στο γένος (genus) *Klebsiella* που με τη σειρά του ανήκει στην οικογένεια (family) των εντεροβακτηριακών (enterobacteriaceae). Αναφορικά με τα είδη (species) *Klebsiella* αυτά διακρίνονται σε: *K. oxytoca*, *K. terrigena*, *K. ornithinolytica*, *K. planticola* (*K. trevisani*) εκτός της *K. pneumoniae*. Μετά την τελευταία ο επόμενος σημαντικότερος εκπρόσωπος της κατηγορίας είναι η *K. oxytoca* [1].

Αν και βρίσκεται στη φυσιολογική χλωρίδα του στόματος, του δέρματος και των εντέρου, μπορεί να προκαλέσει λοιμώξεις τόσο της κοινότητας, όσο και νοσοκομειακές. Χαρακτηριστικές είναι οι λοιμώξεις της κοινότητας που προκαλεί σε χρόνιους αλκοολικούς, και κατά κύριο λόγο πνευμονία [2]. Η *K. pneumoniae* μπορεί να προκαλέσει ποικιλία νοσοκομειακών λοιμώξεων όπως λοιμώξεις του ουροποιητικού και του κατώτερου αναπνευστικού, μικροβιαμίες, λοιμώξεις χειρουργικών τραυμάτων καθώς και λοιμώξεις σε νεογέννητα με διαφορετική επίπτωση στις διάφορες μελέτες [1, 3-5].

## ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Η *K. pneumoniae* μπορεί να βρεθεί στο περιβάλλον σε διάφορα σημεία όπως τα επιφανειακά ύδατα, τα λύματα, το έδαφος και τα φυτά [6-9]. Άλλη πηγή είναι οι βλεννογόνοι θηλαστικών όπως οι άνθρωποι, τα άλογα ή οι χοίροι, τους οποίους και εποικίζουν. Στους ανθρώπους, ως σαπρόφυτο στο ρινοφάρυγγα και στην εντερική οδό ανιχνεύεται από 1-6% και 5-38%, αντίστοιχα [10, 11]. Αξίζει να σημειωθεί πως οι συνθήκες ανάπτυξης για το μικρόβιο στο δέρμα δεν είναι ευνοϊκές, γι' αυτό και σπάνια απομονώνονται από εκεί, θεωρούμενο ως παροδικό μέλος της χλωρίδας [12]. Αυτά τα ποσοστά αποικισμού αλλάζουν δραστικά κατά τη νοσηλεία σε νοσοκομειακό περιβάλλον, αυξανόμενα όσο αυξάνονται και οι ημέρες νοσηλείας του αρρώστου [10, 13, 14].

Τα τελευταία χρόνια παρατηρείται ολοένα και περισσότερο η απομόνωση ανθεκτικών στελεχών στα αντιβιοτικά [15]. Με δεδομένο πως η παραγωγή β-λακταμάσης παραμένει ο σημαντικότερος παράγοντας που συμβάλλει στη μικροβιακή αντίσταση κατά των αντιβιοτικών, η εμφάνιση μικροβιακών στελεχών με παραγωγή β-λακταμασών εκτεταμένου φάσματος (extended spectrum b-lactamases, ESBLs), αποτέλεσε σημαντική εξέλιξη στο πεδίο αυτό [16-18]. Οι β-λακταμάσες έχουν την ικανότητα να υδρολύουν διάφορους τύπους νεότερων αντιβιοτικών, συμπεριλαμβανομένων των κεφαλοσπορινών τρίτης γενιάς (κεφοταξίμη, κεφτριαξόνη, κεφταζιδίμη), μονοβακτάμες (π.χ. αζτρεονάμη), αλλά όχι τις καρβαπενέμες (ιμιπενέμη, μεροπενέμη και ερταπενέμη) [19, 20]. Τα παθογόνα που παράγουν ESBL αποτελούν ένα σημαντικό λόγο για την αποτυχία της αρχικής εμπειρικής θεραπείας με κεφαλοσπορίνες, έχοντας σοβαρό αντίκτυπο στην έκβαση των ασθενών [16, 21].

Σε αυτά τα πλαίσια παρουσιάστηκε και η ανάπτυξη στελεχών που παράγουν β-λακταμάσες που είναι ικανές να υδρολύουν και τις καρβαπενέμες (καρβαπενεμάσες) με κύρια παθογόνα που φέρουν τα ένζυμα αυτά τις *K. pneumoniae* [22], καθιστώντας την από τα πιο απειλητικά αρνητικά κατά Gram μικρόβια [23]. Η ταχεία διασπορά της σε πολλά νοσοκομεία πολλών χωρών την καθιστά παγκόσμια απειλή [24-32]. Με δεδομένο ότι οι επιλογές για δραστική αντιμικροβιακή θεραπεία είναι περιορισμένες [33] η *K. pneumoniae* που είναι ανθεκτική στις καρβαπενέμες (CRKP) είναι φυσικό να αποτελεί ακόμη μεγαλύτερη πρόκληση για τους κλινικούς ιατρούς, εφόσον η θνησιμότητα είναι πολύ υψηλή [34].

## ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΠΑΘΟΓΕΝΕΣΗΣ

Η έρευνα για τους παθογενετικούς μηχανισμούς των λοιμώξεων από *Klebsiella* έχει εντοπίσει διάφορους παράγοντες που αφορούν το μικρόβιο και συμβάλλουν στην ανάπτυξη λοιμώξεων. Τόσο *in vitro* όσο και *in vivo* μοντέλα έχουν χρησιμοποιηθεί για να ερευνηθούν την αλληλεπίδραση των βακτηριακών κυττάρων και του ξενιστή. Η χρήση ζωικών μοντέλων υπήρξε ένα κρίσιμο στοιχείο στη μελέτη της παθογένειας *Klebsiella* παρέχοντας ζωτικής σημασίας πληροφορίες που δεν μπορούν να ληφθούν από μελέτες *in vitro*. Ποντίκια και αρουραίοι φαίνεται να είναι οι κατάλληλοι τύποι ζώων [35-37]. Η *K. pneumoniae* χρησιμοποιεί πολλές στρατηγικές για να αναπτυχθεί και να προστατευθεί από την ανοσιακή απάντηση του ξενιστή. Αξίζει να σημειωθεί πως στελέχη *K. pneumoniae* απορρίπτονται από τους πνεύμονες των ποντικών ταχύτερα από τα στελέχη *K. pneumoniae* άγριου τύπου, υποδηλώνοντας ότι τα τελευταία χρησιμοποιούν αποτελεσματικότερα μηχανισμούς για να παρακάμψουν την απάντηση του ξενιστή [38]. Τέτοιους παράγοντες αποτελούν η εξωτερική κάψα, ο λιποπολυσακχαρίτης (LPS), τα σιδηροφόρα μόρια, και οι κροσσοί, επίσης γνωστά ως pili. Διάφοροι άλλοι παράγοντες προσδιορίστηκαν πρόσφατα ως σημαντικοί για τη λοιμογόνο δράση του μικροβίου, ωστόσο αυτοί οι παράγοντες δεν έχουν χαρακτηριστεί λεπτομερώς. Αυτοί οι λοιμογόνοι παράγοντες περιλαμβάνουν διάφορες πρωτεΐνες της έξω μεμβράνης, τις πορίνες, τις αντλίες εκροής, τα συστήματα μεταφοράς σιδήρου και γονίδια που εμπλέκονται στο μεταβολισμό της αλλαντοΐνης. Ο τρόπος δράσης τους φαίνεται να είναι αμυντικός και όχι επιθετικός προς τον ξενιστή, π.χ. δεν παράγουν τοξίνες. Παρακάτω οι παράγοντες αυτοί περιγράφονται αναλυτικότερα.



## Κάψα

Η κάψα είναι ένα περίβλημα του κυττάρου που συντίθεται από πολυσακχαρίτη [1, 39] και είναι ίσως το πλέον απαραίτητο συστατικό για τη διενέργεια λοίμωξης. Στελέχη χωρίς κάψα είναι δραματικά λιγότερο μολυσματικά σε μοντέλα λοίμωξης ποντικών, όπου παρατηρούνται χαμηλότερα ποσοστά θνησιμότητας και αδυναμία των βακτηριδίων να εξαπλωθούν συστηματικά [38-41]. Επιπλέον, υπερλοιμογόνα στελέχη διαθέτουν κάψα ειδικής σύστασης, διαφορετική της τυπικής [42, 43]. Οι πολυσακχαρίτες που την αποτελούν ονομάζονται αντιγόνα K (K1 μέχρι K78) [44]. Μπορεί να υπάρξει συσχέτιση μεταξύ των παραγόμενων αντιγόνων K από το στέλεχος *K. pneumoniae* και τη σοβαρότητα της μόλυνσης, ιδιαίτερα στις λοιμώξεις της κοινότητας. Από τους 78 ορότυπους υπάρχουν σε μεγάλο ποσοστό λοιμώξεων συγκεκριμένοι ορότυποι, καθώς 25 από αυτούς αποτελούν πάνω από το 70% αυτών που συνολικά απομονώνονται στα κλινικά δείγματα στελεχών [45]. Οι πιο συχνοί ορότυποι που συλλέγονται είναι οι K1 και K2, τα στελέχη δε που τους φέρουν είναι γενικά πιο μολυσματικά από στελέχη άλλων οροτύπων [46-48]. Υπάρχουν πολλοί πιθανοί λόγοι για την αυξημένη συχνότητα εμφάνισης των στελεχών K1 και K2. Μια ερμηνεία είναι ότι τα στελέχη αυτών των οροτύπων μπορεί προκαλούν την απελευθέρωση μικρότερης ποσότητας δραστικών ριζών οξυγόνου στον άνθρωπο από τα ουδετερόφιλα και έτσι επιβιώνουν καλύτερα στους ιστούς [49]. Επιπρόσθετα, τα στελέχη των οροτύπων K1 και K2 είναι πιο ανθεκτικά στη φαγοκυττάρωση και ενδοκυτταρική θανάτωση από τα μακροφάγα κύτταρα των κυψελίδων και από τα ουδετερόφιλα [50-52], γεγονός που μπορεί να οφείλεται εν μέρει στην παρουσία σιαλικού οξέος επί της επιφάνειας, οπότε μπορεί να μιμούνται το σιαλικό οξύ που τυπικά παράγεται από τον ξενιστή και επιτρέπει την αποφυγή των ανοσολογικών

κυττάρων του ξενιστή [50, 53]. Επιπλέον, μελέτες έχουν δείξει ότι τα στελέχη K1 / K2 μπορούν να είναι πιο ανθεκτικά στην οψωνοποίηση και φαγοκυττάρωση από τα μακροφάγα που μεσολαβείται από τους υποδοχείς μαννόζης / λεκτίνης [54, 55]. Σε αντίθεση με άλλα στελέχη, τα στελέχη K1 και K2 στερούνται συγκεκριμένες επαναλήψεις υπολειμμάτων μαννόζης που αναγνωρίζονται από τον ξενιστή μέσω του υποδοχέα μαννόζης στα μακροφάγα και την έκκρισης SP-A στο πνευμονικό παρέγχυμα [51, 56]. Επομένως, παρεμποδίζεται η αποτελεσματική αναγνώριση και η μετέπειτα προαγωγή της φλεγμονής διαμέσου των σημάτων που προσλαμβάνουν ουδετερόφιλα και μονοκύτταρα μεταξύ άλλων κυττάρων. Ανεξάρτητα από τον ορότυπο η κάψα βοηθά το βακτήριο στην αντιμετώπιση της ανοσιακής απάντησης του ξενιστή. Συγκεκριμένα, μελέτες πνευμονίας που πραγματοποιήθηκαν με *K. pneumoniae* ανέδειξαν ότι τα στελέχη με κάψα προκάλεσαν χαμηλότερα επίπεδα κυτταροκινών που προάγουν τη φλεγμονή όπως ο TNF, η IL-6 και η IL-10 απ'ότι στελέχη χωρίς [41, 57]. Επίσης, η κάψα επιβραδύνει τον NF-kB μέσω ενός μηχανισμού που εξαρτάται από την ενεργοποίηση ενδοκυττάρων μηχανισμών μεταφοράς σημάτων, η οποία μειώνει την παραγωγή IL-8 όπως αυτή επάγεται από την IL-1β [58]. Με τα παραπάνω συμφωνούν και τα αποτελέσματα μελέτης κατά την οποία διαπιστώθηκε ότι περισσότερα ανοσιακά κύτταρα στρατολογούνται στις κυψελίδες πνευμόνων που έχουν μολυνθεί από στελέχη χωρίς κάψα [41]. Η κάψα συμβάλλει επίσης στην αντοχή έναντι του συμπληρώματος, αν και δεν εξακριβωθεί αν αυτή ή ο LPS είναι ο κύριος αποτρεπτικός παράγοντας [59-62]. Απουσία της O πλευρικής αλυσίδας στα χωρίς κάψα στελέχη η σύνδεση με το C3 είναι πιο συχνή πιθανώς λόγω της έκθεσης ενεργοποιητών συμπληρώματος στην επιφάνεια του κυττάρου, με αποτέλεσμα αυξημένη οψωνοποίηση και θάνατο μέσω της εναλλακτικής οδού του συμπληρώματος [38, 63]. Αξιοσημείωτη είναι η παρατήρηση

πως η έκφραση της κάψας επάγεται από την παρουσία πολυμυξίνης B [64] αυξάνοντας τη λοιμογονικότητα. Με βάση τα παραπάνω γίνεται φανερή η αξία που έχει η κάψα στην λοιμογονικότητα του μικροβίου.

### Λιποπολυσακχαρίτης (LPS)

Ο LPS, επίσης γνωστός και ως ενδοτοξίνη, είναι ένα σημαντικό και απαραίτητο συστατικό στοιχείο του εξωτερικού της κυτταρικής μεμβράνης όλων των αρνητικών κατά Gram μικροβίων. Παρόλο που υπάρχουν σημαντικές διαφορές στη δομή του μεταξύ των βακτηριακών ειδών, αποτελείται συνήθως από το αντιγόνο O, ένα ολιγοσακχαρίδιο ως πυρήνα και το λιπίδιο A. Υπάρχουν μόνο 9 διαφορετικοί τύποι O αντιγόνου ταυτοποιημένοι, και το O1 είναι το πιο συνηθισμένο [65]. Ο LPS είναι ταυτόχρονα πλεονέκτημα αλλά και μειονέκτημα κατά τη λοίμωξη. Από τη μία προστατεύει το μικρόβιο από τη χυμική ανοσία του ξενιστή, από την άλλη είναι ένας ισχυρός ενεργοποιητής άλλων τμημάτων του ανοσιακού μηχανισμού. Το λιπιδικό τμήμα του LPS συνδέεται με τον Toll Like Receptor 4 (TLR4), σύνδεση που οδηγεί στην παραγωγή κυτταροκινών που βοηθούν στην ενεργοποίηση κυττάρων όπως τα ουδετερόφιλα και τα μακροφάγα, τα οποία εξολοθρεύουν τα μικρόβια εμποδίζοντας τη λοίμωξη αλλά και την εξάπλωση της *K. pneumoniae* σε άλλους ιστούς. Αυτό έχει αποδειχθεί σε πειραματικά μοντέλα ποντικών, όπου τα ποντίκια που δεν έχουν TLR4 ή MyD88, μια πρωτεΐνη απαραίτητη για τη μεταφορά του σήματος του TLR4, είναι πιο ευαίσθητα στην πνευμονία και στη συστηματική εξάπλωση της λοίμωξης [66-68]. Σε αυτά τα knock out ποντίκια, υπάρχει μειωμένη παραγωγή κυτταροκινών και στρατολόγησης ουδετερόφιλων. Ορισμένα στελέχη της *K. pneumoniae* μπορούν χρησιμοποιήσουν την κάψα για να προστατεύσουν μερικώς τον LPS από την ανίχνευση [59]. Στελέχη με τα αντιγόνα K1, K10 και K16 το πετυχαίνουν, ενώ άλλα στελέχη, όπως αυτά που

εκφράζουν τα αντιγόνα K2, δεν μπορούν. Επιπλέον, το λιπίδιο A χαρακτηρίζεται από πλαστικότητα στη δομή και σε ορισμένες περιπτώσεις παρατηρούνται τροποποιημένα, έτσι ώστε να μην ενεργοποιούν τη φλεγμονώδη απόκριση στον ίδιο βαθμό με τη φυσική μορφή του λιπιδίου A, αυξάνοντας αποτελεσματικά την *in vitro* λοιμογονικότητα [69]. Τέλος, τόσο *in vitro* όσο και *in vivo* πειράματα έχουν δείξει ότι το λιπίδιο A προστατεύει από ορισμένα κατιονικά αντιμικροβιακά πεπτίδια [69, 70]. Η *K. pneumoniae* αναγνωρίζεται και ενεργοποιεί την κλασσική, την εναλλακτική, και την οδό μέσω λεκτίνης σε ό,τι αφορά το συμπλήρωμα. Ο LPS είναι το κύριο μέσο προστασίας από τη διαδικασία αυτή [59]. Στελέχη που περιέχουν αντιγόνο O με πλήρες μήκος ή "ομαλό LPS", είναι ανθεκτικά στο συμπλήρωμα. Εκείνα με αποκομμένο ή απών ή "τραχύ LPS", είναι ευαίσθητοι σε θάνατο με τη μεσολάβηση συμπληρώματος ακόμη και παρουσία κάψουλας [59]. Συγκεκριμένα, τα ανθεκτικά στο συμπλήρωμα στελέχη ενεργοποιούν τον καταρράκτη συμπληρώματος αλλά δεν επιτυγχάνεται η τελική λύση που επιφέρει και το θάνατό τους. Το O αντιγόνο προστατεύει από τη δέσμευση με το C3 συστατικό (συνδεδεμένο με το C3b που είναι ταυτόχρονα οψονίνη αλλά και μέρος του συμπλόκου λύσης της κυτταρικής μεμβράνης) κρατώντας το μακριά από τη μεμβράνη και τον πόρο λύσης [59, 71-73]. Επιπλέον, η απουσία του O αντιγόνου καθιστά τα βακτήρια πιο ευαίσθητα στη σύνδεση του C1q στην κυτταρική επιφάνεια, με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση της κλασσικής οδού του συμπληρώματος [60].

### Κροσσοί τύπου 1 και 3

Οι κροσσοί αντιπροσωπεύουν μια άλλη κατηγορία παραγόντων λοίμωξης, εφόσον είναι σημαντικοί μεσολαβητές της πρόσφυσης *K. pneumoniae* στα κύτταρα του ξενιστή. Στην *K. pneumoniae*, οι κροσσοί τύπου 1 και 3 είναι οι κυριότεροι παράγοντες προσκόλλησης. Τέσσερις

ακόμη τέτοιες δομές έχουν απομονωθεί για το μικρόβιο αυτό [74-76]. Οι κροσσοί τύπου 1 είναι λεπτές, νηματοειδείς προεξοχές του βακτηρίου και εκφράζονται στην κυτταρική επιφάνεια σε ποσοστό 90% τόσο από τα νοσοκομειακά όσο και σε στελέχη της κοινότητας, καθώς και σχεδόν σε όλα τα μέλη των εντεροβακτηριακών [77, 78]. Οι κροσσοί αυτοί συνδέονται με D-μαννοζυλιωμένες γλυκοπρωτεΐνες, γι' αυτό και συχνά ονομάζονται "ευαίσθητες στη μαννόζη" (284, 285). Οι κροσσοί τύπου 3 είναι νημάτια τύπου έλικας. Σε αντίθεση με τους κροσσούς τύπου 1, οι κροσσοί τύπου 3 είναι "μη ευαίσθητοι στη μαννόζη" επειδή δεν δεσμεύονται με αυτή. Δεν έχει ταυτοποιηθεί ακόμη ειδικός υποδοχέας, φαίνεται όμως ότι συνδέουν πρωτεΐνες της εξωκυττάριας ουσίας, όπως κολλαγόνο τύπου IV και V [79]. Η *K. pneumoniae* ρυθμίζει την έκφραση των κροσσών του τύπου 1 ανάλογα με το περιβάλλον που βρίσκεται. Για παράδειγμα, τα αντίστοιχα γονίδια εκφράζονται όταν το μικρόβιο βρίσκεται στην ουροδόχο κύστη αλλά όχι όταν είναι στη γαστρεντερική οδό ή τους πνεύμονες [80, 81]. Η παρατήρηση αυτή είναι σύμφωνη με το γεγονός ότι οι κροσσοί τύπου 1 συμβάλλουν σε ουρολοιμώξεις [80]. Για τους κροσσούς τύπου 3 τα δεδομένα είναι συγκεχυμένα. Μελέτες δείχνουν πως δεν χρειάζονται για αποικισμό του γαστρεντερικού σωλήνα ή τον πνεύμονα, μπορούν δε να δεσμευτούν σε επιθηλιακά κύτταρα της ουροδόχου κύστης, αλλά δεν φαίνεται να συμβάλλουν στις ουρολοιμώξεις [80, 82, 83]. Από την άλλη μεριά έχει φανεί σε προηγούμενες μελέτες ότι οι τύπου 3, αλλά όχι οι τύπου 1 κροσσοί μπορούν να προκαλέσουν τη σύνδεση με τα τραχειακά κύτταρα, κύτταρα της στοματικής κοιλότητας ή και τμήματα πνεύμονα *in vitro* [84]. Αναμφισβήτητα όμως ο σημαντικότερος κλινικά ρόλος είναι ο σχηματισμό biofilm. Η ικανότητα να συνδέονται με επιφάνειες όπως οι καθετήρες ή άλλες συσκευές, τους παρέχουν τη δυνατότητα διαρκούς αποικισμού των ασθενών [80]. Τυπικά, το biofilm σχηματίζεται όταν έρχονται βακτήρια και καλλιεργούνται σε

επαφή με μια επιφάνεια, στη συνέχεια σχηματίζεται ένα σύμπλεγμα με τρισδιάστατη (3D) δομή. Βακτήρια εντός αυτής της δομής συχνά γίνονται ανθεκτικά σε χημικές ουσίες στις οποίες μπορεί να ήταν ευαίσθητα [85]. Οι δομές αυτές έπειτα παρέχουν βακτήρια και γίνονται πηγή λοιμώξεων. Οι τύπου 3 κροσσοί εκφράζονται κατά τη διάρκεια του σχηματισμού biofilm σε καθετήρες, ενώ η έκφραση των κροσσών τύπου 1 είναι αμφιλεγόμενη [86, 87]. Οι τύπου 3 και ενδεχομένως οι τύπου 1 μπορούν επίσης να συμβάλλουν στην είσοδο και την παραμονή του *K. pneumoniae* στους πνεύμονες και την πρόκληση πνευμονίας από τον αναπνευστήρα. Οι ενδοτραχειακοί σωλήνες που χρησιμοποιούνται συνήθως για τον αερισμό των ασθενών, δίνουν στα βακτήρια πρόσβαση στους πνεύμονες, εφόσον παρεμποδίζεται η κάθαρση τους μέσω των βλεννογόνιων κροσσών του ασθενούς (ενώ ταυτόχρονα υπάρχει και βλάβη στους ιστούς ξενιστή κατά την εισαγωγή του σωλήνα) και παρέχουν μία επιφάνεια για σχηματισμό biofilm [88]. Οι κροσσοί τύπου 3 βοηθούν έτσι στον αποικισμό των ενδοτραχειακών σωλήνων και, συνεπώς, στη λοίμωξη των πνευμόνων. Σε υγιή άτομα, τα οφέλη των κροσσών που προσφέρονται από την αυξημένη προσκόλληση σε επιφάνειες μπορεί να αντιρροπιστούν εν μέρει, από τις αλληλεπιδράσεις τους με τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος. Ειδικά, η έκφραση των κροσσών αυξάνει τη δέσμευσή τους στα φαγοκύτταρα [54] που συχνά οδηγεί σε βακτηριακή ενδοκυττάρωση και θάνατο. Αυτό έπειτα οδηγεί σε αυξημένη βακτηριακή θανάτωση [56] που ενισχύει την παραγωγή κυταροκινών και την ενεργοποίηση φλεγμονωδών κυττάρων. Στα αρνητικά συγκαταλέγεται και η ικανότητα των κροσσών τύπου 3 διεγείρουν αντιμικροβιακή οξειδωτική απάντηση στα ουδετερόφιλα [89].

Σιδηροφόροντα μόρια (siderofores)

Ο σίδηρος είναι ένας περιορισμένος πόρος που απαιτείται για τη μικροβιακή ανάπτυξη και πρέπει να αποκτηθεί από το περιβάλλον κατά τη διάρκεια της μόλυνσης. Αυτό το μέταλλο δεν είναι άμεσα διαθέσιμο κυρίως επειδή, ως μέρος της μη ειδικής ανοσιακής απάντησης, ο ξενιστής το απομονώνει για να περιορίσει την ανάπτυξη πιθανών παθογόνων [90]. Κανονικά, δεν υπάρχει ελεύθερος σίδηρο στο πλάσμα του ξενιστή σε μεγάλη συγκέντρωση, καθώς συνδέεται με μόρια μεταφοράς σιδήρου όπως η τρανσφερίνη. Τα θηλαστικά μπορούν περαιτέρω να μειώσουν τα επίπεδα σιδήρου κατά τη βακτηριακή λοίμωξη συνδέοντας τον σίδηρο στη λακτοφερρίνη, η οποία είναι μια αμυντική πρωτεΐνη που υπάρχει σε σωματικά υγρά [91-93]. Ως εκ τούτου, *K. pneumoniae*, όπως και πολλά άλλα βακτήρια πρέπει να βρουν τρόπους για να αποκτήσουν σίδηρο προκειμένου να επιβιώσουν και να εξαπλωθούν. Η κυρίαρχη τακτική που χρησιμοποιείται από πολλά παθογόνα, συμπεριλαμβανομένης της *K. pneumoniae*, είναι μέσω της έκκρισης σιδηροφόρων μορίων, μορίων δηλαδή που έχουν μεγαλύτερη συγγένεια για το σίδηρο από τις πρωτεΐνες μεταφοράς. Τα μόρια αυτά μπορούν να υποκλέψουν σίδηρο από τις πρωτεΐνες του ξενιστή ή να τον απομακρύνουν από το περιβάλλον. Τα στελέχη της κωδικοποιούν διάφορα σιδηροφόρα μόρια, η έκφραση και η συμβολή δε του καθενός ποικίλλει. Η παραγωγή περισσότερων από ενός μπορεί να είναι ένας τρόπος βελτιστοποίησης του επιτυχούς αποικισμού, αποφεύγοντας την εξουδετέρωση του σε περίπτωση ύπαρξης μόνο ενός [94]. Διάφορα σιδηρόφορα μόρια παράγονται από την *K. pneumoniae*: η εντερομπακτίνη, η υερσινιομπακτίνη, η σαλμοχελίνη και η αερομπακτίνη. Η συγγένεια αυτών των για το σίδηρο κυμαίνεται από χαμηλή για την αερομπακτίνη, μέχρι πολύ υψηλή για την εντερομπακτίνη [95, 96].

Η εντερομπακτίνη είναι πανταχού παρούσα μεταξύ των στελεχών, αποτελώντας το κύριο σύστημα πρόσληψης σιδήρου [97-99]. Η

εντερομπακτίνη εξουδετερώνεται από το μόριο της λιποκαλίνη-2 [100, 101]. Η λιποκαλίνη-2 είναι πρωτεΐνη που έχει αρκετές αντιμικροβιακές δυνατότητες και απελευθερώνεται από πολλούς τύπους κυττάρων, συμπεριλαμβανομένων των ουδετεροφίλων. Η μεταγραφή αυτού του παράγοντα αυξάνεται σε περίπτωση λοίμωξης στην αναπνευστική οδό [102-104]. Η δράση της δεν αφορά τη θανάτωση του μικροβίου αλλά μάλλον την παρεμπόδιση της ανάπτυξής της εξαλείφοντας την ικανότητα πρόσληψη σιδήρου από τον ξενιστή δεσμεύοντας και εξουδετερώνοντας μερικά από τα εκκρινόμενα σιδηρόφορα μόρια [105]. Η λιποκαλίνη-2 έχει επίσης υπέρ της φλεγμονής λειτουργίες: αύξηση της παραγωγής της οδηγεί σε σημαντική αύξηση στην κινητοποίηση των ουδετερόφιλων προς το σημείο της βακτηριακής λοίμωξης, πιθανότατα μέσω της παραγωγής IL-8 [106]. Η εντερομπακτίνη ελλείπει λιποκαλίνης-2 βοηθά τόσο στον αποικισμό όσο και στην εξάπλωση από τους πνεύμονες στους υπόλοιπους ιστούς [107]. Παρουσία λιποκαλίνης-2 τα στελέχη που παράγουν μόνο εντερομπακτίνη συνήθως εκκαθαρίζονται [107]

Η υερσινιομπακτίνη ανακαλύφθηκε αρχικά στο Gram-αρνητικό παθογόνο *Yersinia*, αλλά έκτοτε έχει αναγνωριστεί και σε άλλα βακτήρια, συμπεριλαμβανομένης της *K. pneumoniae* [108]. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός πως το μόριο αυτό παρατηρήθηκε μόνο στο 18% των κλασσικών στελεχών αλλά το ποσοστό έφτασε στο 90% για τα νοσοκομειακά στελέχη [107, 109]. Σε συνδυασμό με την εντερομπακτίνη, υπερεκπροσωπούνται σε μικρόβια που προκαλούν πνευμονία [107]. Συγκεκριμένα, η υερσινιομπακτίνη εκφράζεται κατά τη διάρκεια της λοίμωξης των πνευμόνων και η δραστηριότητά της δεν αναστέλλεται από τη λιποκαλίνη 2, πιθανότατα επειδή η δομή της διαφέρει σημαντικά από αυτή της εντερομπακτίνης [91, 100]. Αυτό επιτρέπει στην *K. pneumoniae* να αναπτυχθεί σημαντικά στους πνεύμονες κατά τη διάρκεια της



μόλυνσης [107]. Ενώ, λοιπόν φαίνεται να μην επηρεάζεται από τη λιποκαλίνη-2 δεν είναι σε θέση να ανακτήσει τον σίδηρο που απαιτείται για την ανάπτυξη της *K. pneumoniae* παρουσία της πρωτεΐνης τρανσφερίνης. Έτσι, τα στελέχη που εκφράζουν μόνο αυτό το σιδηροφόρο μόριο δεν είναι ικανά να διαδοθούν από τους πνεύμονες στα υπόλοιπα όργανα, πιθανόν επειδή η τρανσφερίνη, η συγκέντρωση της οποίας είναι σημαντική στο πλάσμα αίματος, αποτρέπει την ανάπτυξη. Ως εκ τούτου, τα ανοσολογικά ικανά άτομα μπορούν πιθανόν να αποτρέψουν τη μόλυνση.

Η σαλμοχηλίνη είναι μια c-γλυκοζυλιωμένη μορφή εντεροβακτίνης [110, 111]. Είναι σημαντικό ότι αυτή η τροποποίηση αποτρέπει τη δέσμευση της σαλμοχηλίνης από τη λιποκάλινη-2, αποτρέποντας έτσι την εξουδετέρωση της και την εξαρτώμενη από τη λιποκάλινη 2 επαγωγή φλεγμονής. Επομένως, δεν προκαλεί έκπληξη το γεγονός ότι η σαλμοχηλίνη διευκολύνει τον αποικισμό του ρινοφάρυγγα [106]. Επειδή η έκφραση της επιτρέπει τον αποικισμό σε ξενιστές ικανούς να παράγουν λιποκαλίνη-2, μπορεί κανείς να προβλέψει ότι οι πληθυσμοί των ασθενών που έχουν μολυνθεί με τα στελέχη αυτά μπορεί να προκαλέσουν λοίμωξη σε λιγότερο ανοσοκατασταλμένα άτομα. Κατά μέσο όρο τα στελέχη που παράγουν σαλμοχηλίνη είναι πιο μολυσματικά. Το μόριο αυτό είναι παρών μόνο στο 2 έως 4% των νοσοκομειακών στελεχών [99, 107, 109].

Η αερομπακτίνη είναι σπάνια στα νοσοκομειακά στελέχη, ενώ βρίσκεται μόνο στο 6% περίπου των κλασικών στελεχών. Είναι παρούσα στο 93 έως 100% των υπερλοιμογόνων στελεχών που προκαλούν πνευμονία [47, 112].

Πρωτεΐνες της έξω μεμβράνης (Outer Membrane Proteins – OMPs)

Διάφοροι άλλοι παράγοντες αναγνωρίστηκαν πρόσφατα ως έχοντες ρόλους στην παθογονικότητα του μικροβίου. Ωστόσο, χρειάζονται ακόμη πολλά για την κατανόηση των μηχανισμών δράσης τους και την αξιολόγηση της κλινικής σημασίας τους. Αυτοί οι παράγοντες μολυσματικότητας περιλαμβάνουν τις OMPs. Διάφορες OMPs έχουν αναφερθεί όπως η πρωτεΐνη A της εξωτερικής μεμβράνης (OmpA). Η OmpA βοηθά στην λοιμογόνο δράση της *K. pneumoniae*, τουλάχιστον εν μέρει, μέσω της προστασία από τη φυσική ανοσιακή απάντηση του οργανισμού. Ωστόσο υπάρχουν μελέτες με αντικρουόμενα αποτελέσματα. Παρατηρήσεις έδειξαν ότι η OmpA συνδέεται επίσης με βρογχικά επιθηλιακά κύτταρα δενδριτικά κύτταρα και μακροφάγα, οδηγώντας σε αυξημένη παραγωγή κυτταροκίνης [113-115] μέσω ενεργοποίησης του TLR2. Εκτός της OmpA, η συμβολή της λιποπρωτεΐνης που σχετίζεται με την πεπτιδογλυκάνη των OMPs (Pal) και της λιποπρωτεΐνης της μουρεΐνης (LppA) στη λοιμογονικότητα του μικροβίου φαίνεται να είναι σημαντική. Αυτή διενεργείται μέσω της προστασίας από τα ουδετερόφιλα και άλλα συστατικά του ορού [116]. Επιπλέον, οι πρωτεΐνες αυτές συμβάλλουν πιθανώς στην ακεραιότητα και την επιλεκτική αδιαπερατότητα της κυτταρικής μεμβράνης (ανεξάρτητα από τον LPS και την κάψα), ενισχύοντας την άμυνα έναντι διαφόρων αντιμικροβιακών ανιόντων και ορισμένων αντιβιοτικών.

### Πορίνες

Τα μόρια OmpK35 και OmpK36 είναι πορίνες η έκφραση των οποίων είναι μειωμένη σε μικρόβια ανθεκτικά στα αντιβιοτικά, συμπεριλαμβανομένων των ESBL αλλά και των ανθεκτικών σε καρβαπενέμες [117-123]. Η μείωση του αριθμού των πορινών φαίνεται να παρέχει πλεονέκτημα για αυτά τα βακτηρίδια για αντοχή έναντι των αντιβιοτικών, εφόσον χρησιμεύουν ίσως ως κανάλι που επιτρέπει την

είσοδο των αντιβιοτικών στα βακτήρια [124]. Αποκατάσταση της έκφρασης τους μείωσε σημαντικά την αντοχή στα αντιβιοτικά [123-125]. Επί πλέον, η ταυτόχρονη διαγραφή τόσο της ompK35 όσο και της ompK36 οδήγησαν στην αντίσταση στα αντιβιοτικά. Εντούτοις, η μείωση των πορινών μπορεί να οδηγήσει σε μείωση της λοιμογόνου δύναμης [117]. Μελέτες έδειξαν ότι εξάλειψη της ompK36 σε στελέχη *K. pneumoniae* δεν επηρεάζουν την ικανότητα αποικισμού του ήπατος, που όμως παύει να είναι παρατεταμένη, και γρήγορα τα μικρόβια εξαλείφονται. Ένας μηχανισμός με τον οποίο η OmpK36 μπορεί να συμβάλει στη λοιμογονικότητα είναι η παρεμπόδιση της φαγοκυττάρωσης, όπως αυτή καταδεικνύεται από την αυξημένη πρόσληψη μικροβίου με εξάλειψη ompK36 από ουδετερόφιλα κύτταρα. Αυτό γίνεται πιθανά λόγω αλλαγών στη σύνδεση των βακτηριδίων με τα ουδετερόφιλα.

#### Αντλίες και μεταφορείς

Το AcrAB είναι μια αντλία εκροής που εμπλέκεται τόσο στην ανάπτυξη λοιμογονικότητας όσο και στην αντοχή στα αντιβιοτικά [126-128]. Αυτή η συμβολή αποδείχθηκε σε μοντέλο ποντικών με πνευμονική λοίμωξη, όπου υπάρχει μόλυνση με στέλεχος που δεν παράγει μόριο acrB, γεγονός που οδήγησε σε μείωση του βακτηριακού φορτίου στους πνεύμονες σε σύγκριση με στέλεχος άγριου τύπου. Όσον αφορά την αντοχή στα αντιβιοτικά, μια διαγραφή acrB καθιστά το μικρόβιο πιο ευαίσθητο σε αντιβιοτικά όπως β-λακτάμες. Η επίδραση αυτή διενεργείται λόγω της απόρριψης επιβλαβών μορίων του ξενιστή ή αντιβιοτικών εκτός του βακτηρίου. Τέλος, το Kfu είναι ένα σύστημα μεταφοράς σιδήρου στο κύτταρο της *K. pneumoniae* σε στελέχη που εμφανίζουν υπερλοιμογονικότητα [109, 129, 130] φανερώνοντας τη μεγάλη αξία που έχει ο σίδηρος για τη βακτηριακή ανάπτυξη.

## ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Οι λοιμώξεις από τα κατά Gram αρνητικά βακτηρίδια έχουν αυξηθεί δραματικά τα τελευταία χρόνια [131], με σημαντική επίπτωση στη θνησιμότητα και τη νοσηρότητα των αρρώστων [132]. Οι απειλητικές για τη ζωή λοιμώξεις που προκαλούνται από πολύ-ανθεκτικά στα αντιβιοτικά μικρόβια πρέπει να αντιμετωπίζονται κατά το δυνατόν συντομότερα εφόσον αυτό έχει επίπτωση στη συνολική θνησιμότητα [133, 134]. Ανάμεσα στις δράσεις που πρέπει άμεσα να πραγματοποιηθούν είναι η χορήγηση κατάλληλης εμπειρικής αγωγής. Αξίζει να σημειωθεί ότι υπάρχουν αναφορές πως η ανεπαρκής αρχική θεραπεία σχετίζεται με υψηλότερη θνησιμότητα, ακόμη και αν πραγματοποιηθεί προσαρμογή της αντιβιοτικής αγωγής όταν γίνουν διαθέσιμα τα μικροβιολογικά αποτελέσματα των καλλιεργειών με τα σχετικά αντιβιογράμματα [135]. Με βάση τα παραπάνω γίνεται εμφανής η αδήριτη ανάγκη για τη βελτιστοποίηση της αρχικής εμπειρικής αντιβιοτικής αγωγής και στη συνέχεια η διερεύνηση της δυνατότητας για την προσαρμογή του αρχικού σχήματος με βάση τα αποτελέσματα των αντιβιογραμμάτων.

Στα πλαίσια αυτά εμπίπτει και ο προβληματισμός για την ανάγκη αρχικής συνδυαστικής αντιβιοτικής αγωγής ευρέος φάσματος. Η λογική της παραπάνω στρατηγικής συνίσταται στο γεγονός της πιθανής μείωσης χορήγησης ακατάλληλης αγωγής αν εμπειρικά χορηγηθούν περισσότερα του ενός αντιβιοτικά [136]. Άλλα πιθανά οφέλη της συνδυαστικής θεραπείας είναι η πιθανότητα συνέργειας μεταξύ των αντιβιοτικών καθώς και ο περιορισμός της ανάπτυξης αντίστασης στα αντιβιοτικά [137-139]. Τα δεδομένα ωστόσο από κλινικές μελέτες δεν είναι ικανά να δώσουν μια ξεκάθαρη απάντηση στην παραπάνω υπόθεση.

Από την άλλη πλευρά, με τη χρήση συνδυασμού αντιβιοτικών η πιθανότητα για παρενέργειες αυξάνουν. Για παράδειγμα, η χρήση των αμινογλυκοσιδών αυξάνει τον κίνδυνου για νεφροτοξικότητα περισσότερο αν συνδυαστεί με άλλα αντιβιοτικά παρά ως μόνοθεραπεία [140]. Μια άλλη πιθανή σοβαρή ανεπιθύμητη ενέργεια είναι η κολίτιδα που σχετίζεται με το *Clostridium difficile*. Η σκέψη πως η επίπτωση της συγκεκριμένης λοίμωξης μπορεί να αυξηθεί με τη χορήγηση συνδυασμού, άρα και περισσότερων, αντιβιοτικών είναι λογική, δεν έχει όμως διερευνηθεί από κατάλληλες μελέτες σε κλινικό επίπεδο.

Παρόλα αυτά, η χορήγηση συνδυασμού αντιβιοτικών όχι μόνο ως αρχική εμπειρική θεραπεία αλλά και ως στοχευμένη θεραπεία μετά τα αποτελέσματα των καλλιεργειών είναι γεγονός σε μεγάλο βαθμό στην κλινική πρακτική [141, 142]. Κατά συνέπεια, προκύπτει το ερώτημα της επιλογής ανάμεσα στη μονοθεραπεία ή τη χορήγηση συνδυασμού αντιβιοτικών είτε ως αρχική εμπειρική θεραπεία είτε και ως θεραπεία μετά την απόκτηση των αντιβιογραμμάτων.

Η θεραπεία της CRKP περιλαμβάνει τις ακόλουθες τρεις στρατηγικές [143]: α) Η πρώτη επιλογή είναι η χορήγηση αντιβιοτικού πρώτης γραμμής (μεροπενέμη, φθοροκινολόνη, αμινογλυκοσίδη) σε υψηλότερη δόση για να ξεπεραστεί η MIC του μικροβίου, ωστόσο μερικά στελέχη απαιτούν τόσο υψηλές συγκεντρώσεις αντιβιοτικού για να υπερκεραστεί αυτό το εμπόδιο που καθιστούν την τοξικότητα περιοριστικό παράγοντα, β) Η δεύτερη επιλογή είναι η χρησιμοποίηση αντιβιοτικού δεύτερης γραμμής με Gram-αρνητική δραστικότητα για το οποίο η αντίσταση δεν έχει αναπτυχθεί ακόμη (π.χ., κολιστίνη, τιγκεκυκλίνη, γενταμυκίνη, φωσφομυκίνη), με μειονεκτήματα την τοξικότητα που επίσης έχουν σε σχέση με τα φάρμακα πρώτης γραμμής, τα κακά φαρμακοκινητικά / φαρμακοδυναμικά χαρακτηριστικά τους που

περιορίζουν τη δραστηριότητά τους στις ανατομικές θέσεις όπου υπάρχει η λοίμωξη, όπως στο αίμα, τα ούρα ή το αναπνευστικό σύστημα [144-149] και την ταχεία εμφάνιση αντοχής κατά τη διάρκεια της θεραπείας, εάν χρησιμοποιούνται ως μονοθεραπεία [150]. γ) Η τελική στρατηγική για τη θεραπεία αυτών των λοιμώξεων είναι να συνδυάσουμε αντιβιοτικά πρώτης και δεύτερης γραμμής με την ελπίδα ότι η πιθανή συνεργική δράση μεταξύ των αντιβιοτικών θα μειώσει την ανάγκη για εξαιρετικά υψηλές δόσεις αντιβιοτικών, καταστέλλοντας ταυτόχρονα την εμφάνιση αντοχής και ξεπερνώντας τις αδυναμίες της φαρμακοκινητικής/φαρμακοδυναμικής [143]. Δεδομένων αυτών των περιορισμένων επιλογών γίνεται σαφές γιατί πολλοί κλινικοί ιατροί προτιμούν τη συνδυασμένη θεραπεία. Στη βάση αυτή ανακύπτουν δύο ερωτήματα σχετικά με την επιλογή εμπειρικής αντιβιοτικής αγωγής: α) Υπάρχουν εργαστηριακά ή κλινικά δεδομένα που να υποστηρίζουν τη χορήγηση συνδυασμού αντιβιοτικών και, β) Ποιά είναι η θέση των καρβαπενεμών ως αντιβιοτικά πρώτης γραμμής στη θεραπεία στελεχών *K. pneumoniae* που καταρχήν εμφανίζονται ανθεκτικά σε αυτές;

Έχουν χρησιμοποιηθεί διάφορες *in vitro* τεχνικές για την αξιολόγηση του συνδυαστικής θεραπείας, όπως μελέτες χρόνου θανάτου των βακτηρίων, βακτηριοκτόνο δράση στο πλάσμα, δοκιμασίες με δίσκους διάχυσης, e-test, δοκιμασίες αραίωσης σε άγαρ και μοντέλα φαρμακοδυναμικής σε εργαστήριο. Τα περισσότερα από αυτά τα δεδομένα έχουν ελάχιστα ή καθόλου στοιχεία που να υποστηρίζουν τη συσχέτισή τους με κλινική αποτελεσματικότητα. Άλλοι παράγοντες που κάνουν ερμηνεία των μελετών αυτών δύσκολη είναι τα διαφορετικά αποτελέσματα μεταξύ των κλινικών μελετών για στελέχη ταυτόσημα ως προς την ευαισθησία τους και η στατική φύση των περισσότερων δοκιμών που δεν αντανακλούν τη δυναμικά μεταβαλλόμενη αλλαγή στη σχέση

φαρμάκου και μικροβίου που εμφανίζεται *in vivo*. Επιπλέον, στις *in vitro* μελέτες σπάνια εξετάζεται η δραστηριότητα των αντιβιοτικών πέρα των 24 ωρών, όταν επανεμφανίζονται ανθεκτικά στελέχη [151-162]. Επομένως, είναι δύσκολο να συγκριθεί η σχετική δραστηριότητα των διαφόρων συνδυασμών για τη θεραπεία της ο CRKP με βάση μόνο τα δεδομένα *in vitro*.

Υπάρχουν διάφορες κλινικές μελέτες που προσπαθούν να απαντήσουν στα παραπάνω. Η πρώτη από αυτές [163] είναι μία αναδρομική πολυκεντρική μελέτη που διεξήχθη σε τρία ιταλικά πανεπιστημιακά νοσοκομεία. Συμπεριέλαβε 125 ασθενείς με μικροβιαμία από CRKP μεταξύ των ετών 2010 και 2011. Η έκβαση που αξιολογήθηκε ήταν ο θάνατος εντός 30 ημερών από την πρώτη θετική καλλιέργεια αίματος. Οι επιζώντες και οι μη επιζώντες συγκρίθηκαν για τον εντοπισμό των προγνωστικών δεικτών για τη θνησιμότητα. Το συνολικό ποσοστό της ήταν 41,6%. Ήταν σημαντικά υψηλότερη στους ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με ένα μόνο αντιβιοτικό (54,3% έναντι 34,1% σε αυτούς που έλαβαν συνδυασμένη φαρμακευτική θεραπεία,  $P = 0,02$ ). Στην πολυπαραγοντική ανάλυση η θνησιμότητα των 30 ημερών συνδέθηκε ανεξάρτητα με τη σηπτική καταπληξία κατά την έναρξη της λοίμωξης (odds ratio [OR] 7,17, 95% confidence interval [CI] 1,65-31,03,  $P = .008$ ), την ανεπαρκή αρχική αντιμικροβιακή θεραπεία (OR 4.17, 95% CI 1.61-10.76,  $P = .003$ ), και το υψηλό APACHE III score (OR 1.04, 95% CI 1.02-1.07,  $P <.001$ ). Η οριστική θεραπεία μετά τα αποτελέσματα από τα αντιβιογράμματα με συνδυασμό τριγεκυκλίνης, κολιστίνης και μεροπενέμης συσχετίστηκε με χαμηλότερη θνησιμότητα (OR 0.11, 95% CI .02-.69,  $P = .01$ ). Στα συμπεράσματα των ερευνητών αναφέρεται πως για τη βελτίωση της επιβίωσης, είναι απαραίτητη η συνδυασμένη θεραπεία με δύο ή περισσότερα φάρμακα με *in vitro* δραστικότητα έναντι

του στελέχους που απομονώθηκε , ειδικά εκείνα που περιλαμβάνουν επίσης καρβαπενέμη. Σε μία δεύτερη αναδρομική επίσης μελέτη που διενεργήθηκε σε περισσότερα αυτή τη φορά νοσοκομεία της Ιταλίας (πέντε) εξετάστηκαν οι παράγοντες κινδύνου για τη θνησιμότητα στις 14 ημέρες από την έναρξη της λοίμωξης. Κατά τη διάρκεια τεσσάρων ετών (2010-13) βρέθηκαν 661 ενήλικες με μικροβιαμία ή άλλες λοιμώξεις (κατώτερης αναπνευστικής οδού, ενδοκοιλιακές, ουροφόρου οδού ή άλλες θέσεις) που προκλήθηκαν από CRKP. Όλοι είχαν λάβει  $\geq 48$  ώρες θεραπείας (εμπειρικά και / ή μη εμπειρικά) με τουλάχιστον ένα δραστικό φάρμακο έναντι του στελέχους που είχε απομονωθεί. Οι περισσότεροι θάνατοι συνέβησαν εντός 2 εβδομάδων από την έναρξη της μόλυνσης (θνησιμότητα 14 ημερών: 34,1%). Ως ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες για τη θνησιμότητα μετά από στατιστική ανάλυση βρέθηκαν η μικροβιαμία (OR 2.09, 95% CI 1.34-3.29), εμφάνιση της λοίμωξης με σηπτική καταπληξία (OR 2.45, 95% CI 1.47-4.08), η ανεπαρκής εμπειρική αντιμικροβιακή θεραπεία (OR 1.48, 95% CI 1.01-2.18), η χρόνια νεφρική ανεπάρκεια (OR 2.27, 95% CI 1.44-3.58), η υψηλή βαθμολογία APACHE III (OR 1.05, 95% CI 1.04-1.07) και άρρωστοι που νόσησαν από στελέχη ανθεκτικά στην κολιστίνη (OR 2,18, 95% CI 1,37-3,46). Συνδυαστική θεραπεία τουλάχιστον δύο αντιβιοτικών φαρμάκων που εμφανίζουν *in vitro* δραστηριότητα έναντι του απομονωμένου στελέχους συνδέθηκε και πάλι με χαμηλότερη θνησιμότητα (OR 0.52, 95% CI 0,35-0,77), ιδιαίτερα σε ασθενείς με μικροβιαμία, λοιμώξεις των πνευμόνων ή που παρουσίαζαν υψηλό APACHE III score ή / και σηπτική καταπληξία στην έναρξη της μόλυνσης. Συνδυασμοί που περιελάμβαναν μεροπενέμη συσχετίστηκαν με σημαντικά υψηλότερα ποσοστά επιβίωσης αν το παθογόνο είχε MIC μεροπενέμης  $< 8$  mg / L. Οι συγγραφείς καταλήγουν σε παρεμφερή συμπεράσματα: η λοίμωξη από CRKP σχετίζεται με υψηλή



θνησιμότητα, ενώ η θεραπεία με δύο ή περισσότερα φάρμακα βελτιώνει την επιβίωση, κυρίως σε ασθενείς που παρουσιάζουν βαρύτερη νόσο.

Δεδομένα υπάρχουν και από ελληνικά νοσοκομεία [164]. Πρόκειται για μελέτη παρατήρησης που διεξήχθη κατά την περίοδο 2009-2010 σε δύο νοσοκομεία της Αθήνας. Στόχοι ήταν: α) η αξιολόγηση της έκβασης των ασθενών με μικροβιαμία από CRKP, β) η διερεύνηση προγνωστικών παραγόντων για τη θνησιμότητα, και γ) η αξιολόγηση των διαφόρων αντιβιοτικών σχημάτων που χρησιμοποιούνται. Συνολικά 205 ασθενείς με μικροβιαμία συμπεριλήφθησαν. 103 ασθενείς έλαβαν συνδυασμένη θεραπεία (δύο ή περισσότερα δραστικά φάρμακα), 72 έλαβαν μονοθεραπεία (ένα δραστικό φάρμακο) και 12 έλαβαν θεραπεία χωρίς δραστικό φάρμακο. Οι υπόλοιποι 18 ασθενείς πέθαναν εντός 48 ωρών μετά την έναρξη της βακτηριαμίας. Η θνησιμότητα στις 28 ημέρες ήταν 40%. Υψηλότερο ποσοστό θνησιμότητας παρατηρήθηκε σε ασθενείς που έλαβαν μονοθεραπεία σε σύγκριση με εκείνους που έλαβαν περισσότερα αντιβιοτικά (44,4% έναντι 27,2%,  $P < 0,018$ ). Το χαμηλότερο ποσοστό θνησιμότητας (19,3%) παρατηρήθηκε σε ασθενείς που αντιμετωπίστηκαν με συνδυασμούς που περιείχαν καρβαπενέμη. Η συνδυαστική θεραπεία συνδέθηκε στενά με την επιβίωση (hazard ratio [HR] θανάτου για μονοθεραπεία έναντι συνδυασμού 2.08, 95% CI 1.23 έως 3.51.  $P = 0,006$ ), κυρίως λόγω της αποτελεσματικότητας των σκευασμάτων που περιέχουν καρβαπενέμη. Στην πιο πρόσφατη μελέτη [141] στόχος ήταν η εύρεση της καλύτερης διαθέσιμης θεραπείας έναντι εντεροβακτηριακών ανθεκτικών στις καρβαπενέμες. Αποτελεί αναδρομική μελέτη που συμπεριέλαβε ασθενείς με μικροβιαμία από 26 τριτοβάθμια νοσοκομεία σε δέκα χώρες. Στα κριτήρια αποκλεισμού ήταν, η θεραπεία με ενεργό αντιβιοτικό για τουλάχιστον 2 ημέρες πριν από τη θετική καλλιέργεια αίματος. Μεταξύ 2004 και 2013 βρέθηκαν 480 ασθενείς από τους οποίους

συμπεριλήφθησαν 437 (91%) στη μελέτη. 343 (78%) ασθενείς έλαβαν κατάλληλη θεραπεία σε σύγκριση με 94 (22%) που έλαβαν ακατάλληλη θεραπεία. Ο συχνότερος οργανισμός ήταν η *K. pneumoniae* (86% όλων των αρρώστων και 85% των 343 ασθενών που έλαβαν κατάλληλη θεραπεία έναντι 89% των 94 που έλαβαν ακατάλληλη θεραπεία). Η κατάλληλη θεραπεία συσχετίστηκε με χαμηλότερη θνησιμότητα από ό, τι η ακατάλληλη θεραπεία (38,5% έναντι 60,6% αντίστοιχα, HR 0,45, 95% CI 0,33-0,62, P <0.0001). Μεταξύ αυτών που έλαβαν κατάλληλη θεραπεία, 135 (39%) έλαβαν θεραπεία συνδυασμού και 208 (61%) μονοθεραπεία. Η συνολική θνησιμότητα δεν ήταν διαφορετική μεταξύ τους (35% έναντι 41%, HR 1,63, 95% CI 0.67-3.91, p = 0,28). Ωστόσο, η συνδυαστική θεραπεία συσχετίστηκε με χαμηλότερη θνησιμότητα στους αρρώστους με υψηλό κίνδυνο θνησιμότητας (48% έναντι 62%, HR 0.56 [0,34-0,91], P = 0.02) όπως αυτός καθορίστηκε από τους ερευνητές. Η κατάλληλη θεραπεία λοιπόν με περισσότερα του ενός αντιβιοτικά συσχετίστηκε με προστατευτική επίδραση στη θνησιμότητα στους ασθενείς με μικροβιαμία μόνο σε βαρύτερα αρρώστους και όχι σε όλους. Μειονεκτήματα όλων των παραπάνω μελετών αποτελούν ο αναδρομικός χαρακτήρας τους, η δημιουργία ομάδων με χαρακτηριστικά που δεν αντιπαραβλήθηκαν εκ των προτέρων και το γεγονός πως για την περίοδο που διενεργήθηκαν το σχήμα χορήγησης της κολιστίνης δεν περιελάμβανε ως κοινή πρακτική τη δόση φόρτισης.

Από τα παραπάνω διαφαίνεται επίσης η θετική επίδραση της χρήσης των καρβαπενεμών στην επιβίωση για μία λοίμωξη που προκαλείται από μικρόβιο που είναι καταρχήν ανθεκτικό σε αυτές. Μία ελληνική μελέτη δίνει πληρέστερη απάντηση και ερμηνεία στη διαπίστωση αυτή δίνοντας επίσης κατεύθυνση για την πιθανό ρόλο των αντιβιοτικών αυτών στη θεραπεία [165]. Οι μελετητές συγκέντρωσαν

δεδομένα από δημοσιευμένες αναφορές για την εξέταση της αποτελεσματικότητας των καρβαπενεμών και τη σχέση της αποτελεσματικότητας με την MIC. Συλλέχθηκαν δεδομένα από 44 ασθενείς που είχαν μολυνθεί με CRKP και όλοι έλαβαν μονοθεραπεία με τα συγκεκριμένα αντιβιοτικά [146, 166-173]. Μεταξύ αυτών των ασθενών, 32 μολύνθηκαν με CRKP με MIC για καρβαπενέμες  $\leq 4$  mg / L, πέντε με MIC 8 mg / L, και επτά με MICs  $> 8$  mg / L. Για σύγκριση, δημιουργήθηκε ομάδα από 22 ασθενείς με λοίμωξη από *K. pneumoniae* που δεν παράγει καρβαπενεμάση και με MICs  $< 0,5$  mg / L που επίσης όλοι τους είχαν λάβει μονοθεραπεία με καρβαπενέμη. Μετά την ανάλυση των δεδομένων παρατηρήθηκε πως η θεραπευτική αποτελεσματικότητα των καρβαπενεμών αυξάνεται από 29% για MIC  $> 8$  mg / L, έως 60% για MIC = 8 mg / L και σε 69% για ένα MIC = 4 mg / L ή λιγότερο. Αν και η σύγκριση μεταξύ των ομάδων δεν ήταν στατιστικά σημαντική αξίζει να σημειωθεί ότι η αποτελεσματικότητα των καρβαπενεμών στην τελευταία ομάδα ήταν παρόμοια με αυτή που παρατηρήθηκε σε ασθενείς που είχαν μολυνθεί *K. pneumoniae* που δεν παράγει καρβαπενεμάση (73%). Επιπλέον, αναλύθηκαν δεδομένα από 138 ασθενείς που είχαν λάβει κατάλληλη θεραπεία διαφορετική από τη μονοθεραπεία με καρβαπενέμη [146, 169, 170, 174-178]. Το χαμηλότερο ποσοστό θνησιμότητας (μόνο 3 από τους 26) παρατηρήθηκε σε αυτούς τους ασθενείς που έλαβαν συνδυασμό με δύο δραστικά φάρμακα, ένα εκ των οποίων ήταν καρβαπενέμη (όταν η MIC ήταν  $\leq 4$  mg / L) και το άλλο ήταν αμινογλυκοσίδη (11 ασθενείς), ή κολιστίνη (14 ασθενείς) ή τιγκεκυκλίνη (ένας ασθενής). Η θνησιμότητα που παρατηρήθηκε σε ασθενείς που έλαβαν άλλα δραστικά φάρμακα εκτός από καρβαπενέμη (46 από 112 ασθενείς) ήταν μεγαλύτερη (OR 5.3, 95% CI 1.5-18.9,  $p=0.006$ ). Οι συγγραφείς καταλήγουν πως τα δεδομένα παρέχουν ένδειξη για θεραπευτικό όφελος έναντι λοίμωξης από CRKP όταν η MIC είναι  $\leq 4$

mg / L. Η ερμηνεία που δίνουν βασίζεται στη φαρμακοκινητική / φαρμακοδυναμική. Χορήγηση μακράς διάρκειας μεγάλης δόσης μπορεί να επιτύχει συγκέντρωση αντιβιοτικού στο αίμα ικανή να ξεπεράσει την MIC του μικροβίου. Άρα, α) αν η MIC του μικροβίου είναι ίση ή μικρότερη από 4 mg / L, β) χορηγηθεί μεγάλη δόση με παρατεταμένη έγχυση, και γ) χορηγηθεί συνδυασμός με ένα άλλο ενεργό αντιβιοτικό οι καρβαπενέμες έχουν θέση στη θεραπεία αυτών των λοιμώξεων.

### **III. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**



## ΥΠΟΘΕΣΗ

Η διαχείριση των λοιμώξεων από πολυανθεκτικά μικρόβια στη Μονάδα Εντατικής Θεραπείας (ΜΕΘ) όπως αναφέρθηκε παραπάνω αποτελεί ακρογωνιαίο λίθο για τη διαχείριση του βαρέως πάσχοντα αρρώστου, καθώς είναι γνωστό πως για την Ελλάδα σε αυτές αναλογεί το μεγαλύτερο ποσοστό νοσοκομειακών λοιμώξεων σύμφωνα με τα επικαιροποιημένα στοιχεία για το 2016 της WHONET GREECE (<http://www.mednet.gr/whonet/>). Ανάμεσα σε αυτές η πλειονότητα των λοιμώξεων οφείλεται σε αρνητικά κατά Gram μικρόβια [179].

Με βάση τα παραπάνω γίνεται φανερό πως η διερεύνηση παραγόντων κινδύνου για τη λοίμωξη από CRKP καθίσταται σημαντική. Η έγκαιρη αναγνώριση των αρρώστων με μεγάλη πιθανότητα λοίμωξης από το συγκεκριμένο μικρόβιο μπορεί να οδηγήσει στην έγκαιρη επιλογή κατάλληλης αντιμικροβιακής αγωγής ή ακόμη και απομόνωσής / καλύτερης διαχείρισης του αρρώστου για την προστασία του χώρου από τη διασπορά του μικροβίου.

Στην παρούσα λοιπόν προοπτική μελέτη προσπαθήσαμε να αναγνωρίσουμε παράγοντες κινδύνου για λοίμωξη από CRKP, καθώς και να συλλέξουμε στοιχεία που αφορούν την έκβαση των αρρώστων που πάσχουν από τη συγκεκριμένη νοσοκομειακή λοίμωξη.

## ΜΕΘΟΔΟΙ

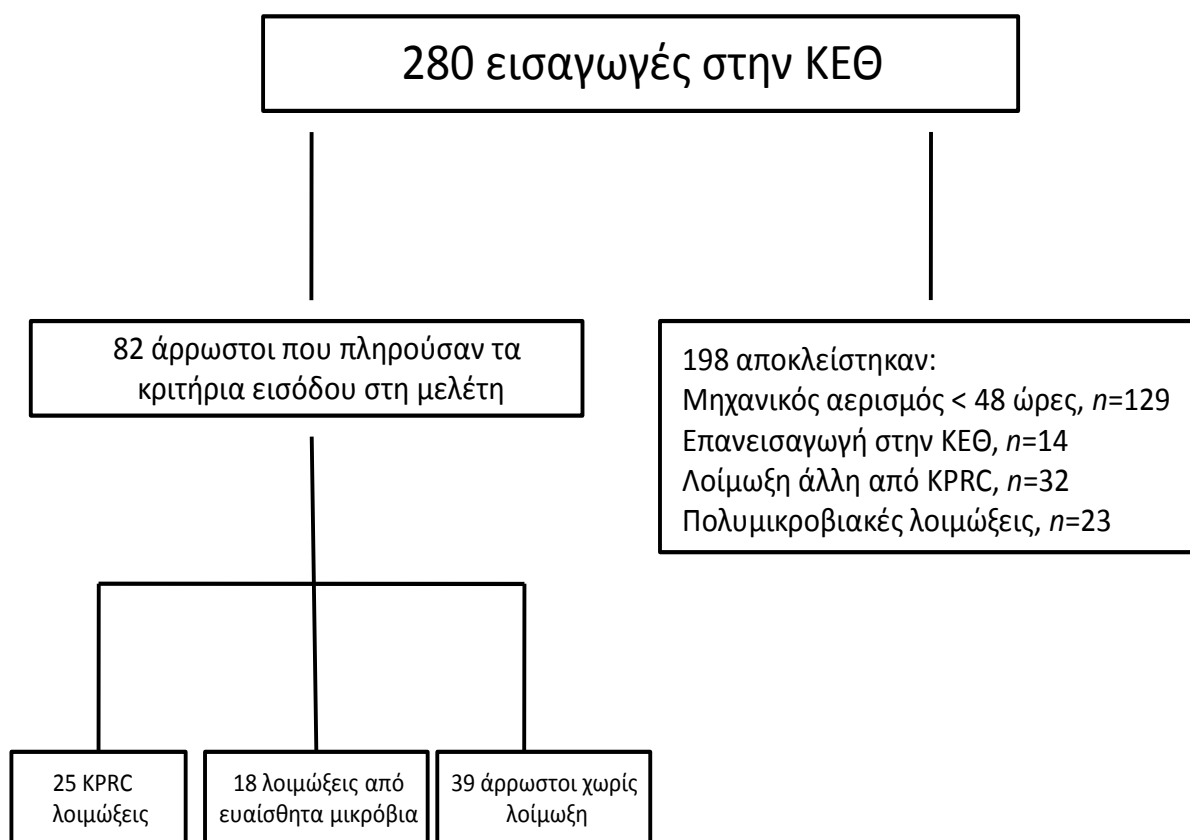
Η συγκεκριμένη μελέτη διενεργήθηκε στην Κλινική Εντατικής Θεραπείας (ΚΕΘ) του Γενικού Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας κατά τη διάρκεια δώδεκα μηνών ανάμεσα στα έτη 2011-2012. Η συγκεκριμένη ΚΕΘ αποτελείται από δώδεκα κλίνες και είναι γενική ΜΕΘ εφόσον δέχεται τόσο παθολογικά όσο και χειρουργικά περιστατικά.

Τα κριτήρια για να συμπεριληφθεί ένας άρρωστος στη μελέτη ήταν: (1) εισαγωγή στη ΜΕΘ για οποιοδήποτε λόγο (χειρουργικό ή παθολογικό), και (2) διασωλήνωση και μηχανικός αερισμός για πάνω από 48 ώρες. Κριτήρια αποκλεισμού αποτελούσαν (1) ηλικία κάτω των 18 ετών, (2) άρρωστος η εισαγωγή του οποίου στη συγκεκριμένη ΚΕΘ δεν ήταν η πρώτη, (3) λοίμωξη με αίτιο διαφορετικό από CRKP, και (4) άρρωστοι που έπασχαν από πολύ-μικροβιακές λοιμώξεις.

Οι άρρωστοι αυτοί συγκρίθηκαν με αρρώστους που έπασχαν από λοίμωξη με αίτιο πολυευαίσθητο μικρόβιο και ακόμη με αρρώστους που δεν παρουσίασαν λοίμωξη σε όλη τη διάρκεια της νοσηλείας τους. Για την υπό μελέτη ομάδα μόνο η πρώτη λοίμωξη από KPRC χρησιμοποιήθηκε.



## Σχήμα 1. Οργάνωση της μελέτης



Η αναγνώριση των παραγόντων κινδύνου για το πρώτο επεισόδιο λοίμωξης από CRKP αποτέλεσε το πρωταρχικό εξαγόμενο της μελέτης.

Αναφορικά με τους ορισμούς η *K. pneumoniae* θεωρήθηκε ανθεκτική στις καρβαπενέμες με βάση τα αναθεωρημένα όρια της Minimum Inhibitory Concentration (MIC) του Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), όπως αυτά αναφέρονται στη βιβλιογραφία [180]. Συγκεκριμένα τα όρια ανθεκτικότητας σε  $\mu\text{g/ml}$  για τη δοριπενέμη, ερταπενέμη, ιμιπενέμη και μεροπενέμη αντίστοιχα είναι  $\geq 4$ ,  $\geq 1$ ,  $\geq 4$  και  $\geq 4$ . Λοίμωξη από CRKP θεωρήθηκε η περίπτωση του συνδυασμού των κλινικών ενδείξεων σε έναν άρρωστο με ταυτόχρονη απομόνωση CRKP στελέχους σε καλλιέργειες. Πιο συγκεκριμένα η πνευμονία

σχετιζόμενη με τον αναπνευστήρα (VAP – Ventilator Associated Pneumonia) ορίστηκε ως η παρουσία νέων ή προοδευτικά επιδεινούμενων διηθήσεων ακτινογραφικά πιστοποιημένων με ταυτόχρονη παρουσία δύο εκ των τριών ακολούθων: (1) πυρετού  $>38.5^{\circ}\text{C}$  ή υποθερμίας  $<36.5^{\circ}\text{C}$ , (2) λευκοκυττάρωσης  $>10000/\mu\text{L}$  ή λευκοπενίας  $<1500/\mu\text{L}$ , (3) πυωδών εκκρίσεων. Η θετική ποσοτική καλλιέργεια όπως αναφέρθηκε παραπάνω ήταν απαραίτητη για να επιβεβαιώσει τη διάγνωση. Αυτή μπορεί να προερχόταν από βρογχικές εκκρίσεις με απαραίτητη συγκέντρωση  $>10^5$  cfu/ml ή από βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα με απαραίτητη συγκέντρωση  $>10^4$  cfu/ml. Για τον ορισμό της μικροβιαμίας και της ουρολοίμωξης που σχετίζεται με ουροκαθετήρα χρησιμοποιήθηκαν οι ορισμοί του Center of Disease Control (CDC) [181]. Αξίζει να σημειωθεί πως για τη μικροβιολογική επιβεβαίωση της μικροβιαμίας δεν απαιτούνταν ποσοτική θετική αιμοκαλλιέργεια. Η απομόνωση της CRKP σε ασθενή χωρίς κλινικά σημεία λοίμωξης θεωρήθηκε ως αποικισμός, οπότε και οι συγκεκριμένοι άρρωστοι δεν συμπεριελήφθησαν στην υπό μελέτη ομάδα. Ανοσοκατεσταλμένοι θεωρήθηκαν οι άρρωστοι που είχαν στο παρελθόν υποστεί μεταμόσχευση ή λάμβαναν ανοσοκατασταλτικά φάρμακα συμπεριλαμβανομένων και των κορτικοειδών. Πολύ-ευαίσθητα μικρόβια ορίστηκαν αυτά που είχαν in vitro ευαισθησία στις παρακάτω κατηγορίες αντιβιοτικών: 3<sup>ης</sup> γενιάς κεφαλοσπορίνες, κινολόνες και αντιψευδομοναδικές πενικιλίνες. Η νοσηλεία σε νοσοκομείο για πάνω από 48 ώρες κατά τους τελευταίους μήνες ορίστηκε ως προηγηθείσα νοσηλεία. Τέλος, η χορήγηση δραστικού έναντι του μικροβίου αντιβιοτικού, όπως αυτό διαπιστώθηκε in vitro με το αποτέλεσμα της καλλιέργειας, κατά το πρώτο 24ωρο ονομάστηκε ‘κατάλληλη εμπειρική αντιμικροβιακή αγωγή’, ενώ η χορήγηση δραστικού αντιβιοτικού για πάνω από 48 ώρες ονομάστηκε οριστική κατάλληλη θεραπεία [182].

Για όλους τους ασθενείς της μελέτης καταγράφηκαν προοπτικά, τα ακόλουθα χαρακτηριστικά: ηλικία, φύλο, βαρύτητα ασθένειας με βάση το Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II Score (APACHE II Score) και το Sequential Organ Failure Assessment Score (SOFA Score) κατά την εισαγωγή, είδος εισαγωγής (παθολογική αιτιολογίας ή χειρουργικής, μεταφορά από το τμήμα επειγόντων ή από άλλο τμήμα του νοσοκομείου), ιστορικό εισαγωγής στο νοσοκομείο του τελευταίου τρεις μήνες, ιστορικό επεμβατικών διαδικασιών (γαστροσκόπηση, κολonosκόπηση ή βρογχοσκόπηση) ή χειρουργική επέμβαση, ιατρικό ιστορικό, ιστορικό χρήσης αντιβιοτικών, του τύπου και της διάρκειας τους, και θεραπεία με κορτικοστεροειδή κατά τη διάρκεια της παραμονής στη ΜΕΘ. Για τους επιβιώσαντες και τους μη-επιβιώσαντες καταγράφηκαν χαρακτηριστικά που επηρεάζουν τη θνησιμότητα: η ηλικία, το φύλο, η βαρύτητα της ασθένειας, επεμβατικές διαδικασίες, καταλληλότητα αντιβιοτικής θεραπείας, συνολική διάρκεια μηχανικού αερισμού, καταστολή και λοίμωξη από CRKP.

Σε ό,τι αφορά το μικροβιολογικό κομμάτι, η ταυτοποίηση και οι δοκιμασίες ευαισθησίας των στελεχών της CRKP εκτελέστηκαν από το Vitek 2 automated system (bioMerieux, Marcy l'Etoile, Γαλλία). Φαινοτυπικός έλεγχος για καρβαπενεμάσες πραγματοποιήθηκε σε όλα τα στελέχη που απομονώθηκαν και παρουσίαζαν μειωμένη ευαισθησία σε καρβαπενέμες (MIC > 1 μg / mL) με τη χρήση της τροποποιημένης δοκιμασίας Hodge και της συνδυασμένης δοκιμασίας σε δίσκους με καρβαπενέμες και/ή 'όχι EDTA ή βορονικό οξύ [183, 184].

Οι στρατηγικές για τη διαχείριση των λοιμώξεων και της προφύλαξης από αυτές παρέμειναν αμετάβλητες κατά τη διάρκεια της μελέτης. Η επιλογή αντιβιοτικών και η διάρκεια της θεραπείας για κάθε λοίμωξη βρισκόταν στη διακριτική ευχέρεια των θεραπόντων ιατρών. Στην πολιτική ελέγχου των λοιμώξεων περιλαμβάνονταν τεχνικές

απομόνωσης σε ασθενών με πολυανθεκτικά βακτήρια και συνεχής παρακολούθηση και καταγραφή των νοσοκομειακών λοιμώξεων. Η επιλογή κατασταλτικών φαρμάκων και οι διαδικασίες απογαλακτισμού από των αναπνευστήρα ήταν σταθερές σε όλη την περίοδο της μελέτης. Η κοινή πρακτική για την καταστολή των ασθενών στην κλινική περιλαμβάνει κυρίως ρεμφαιντανίλη, προποφόλη και μιδαζολάμη. Η συνταγογράφηση των άνω σκευασμάτων ήταν επίσης στη διακριτική ευχέρεια των γιατρών των θεραπόντων ιατρών καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης. Επίσης, η κλινική μας εφαρμόζει τη δέσμη μέτρων που προτείνεται από το CDC [185] εκτός αν αντενδείκνυται. Η απολύμανση του στόματος διεξαγόταν καθημερινά με τη χρήση χλωρεξιδίνης, ενώ προφυλακτικά τοπικά αντιβιοτικά ως μέρος της εκλεκτικής στοματοφαρυγγικής ή του πεπτικού σωλήνα απολύμανση δεν χρησιμοποιούνταν. Καλλιέργειες επιτήρησης (ρινική, στοματική, πρωκτική και τραχειακή λήψη δειγμάτων διεξάγονταν κατά την εισαγωγή και έκτοτε μία φορά την εβδομάδα. Αιματολογικές και βιοχημικές εξετάσεις διενεργούνταν καθημερινά.

Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως συχνότητα (%) για ποιοτικές μεταβλητές ή διάμεση τιμή (median) (25ο και 75ο τεταρτημόριο) για ποσοτικές μεταβλητές. Η κανονική κατανομή δεδομένων αξιολογήθηκε με τη δοκιμασία Kolmogorov - Smirnov. Οι ποιοτικές μεταβλητές συγκρίθηκαν με τη δοκιμασία του  $\chi$  τετράγωνο (Chi-square) ή τη δοκιμασία Fisher (Fisher test) όπου απαιτούνταν. Οι ποσοτικές μεταβλητές συγκρίθηκαν τη δοκιμασία ANOVA (Bonferroni post hoc test). Πολύ-παραγοντική ανάλυση πραγματοποιήθηκε για τον προσδιορισμό ανεξάρτητων προγνωστικών παραγόντων για την εμφάνιση CRKP λοίμωξης και τη θνησιμότητα. Μόνο αυτές οι μεταβλητές που απέκτησαν στατιστική σημαντικότητα μετά από μονο-παραγοντική ανάλυση χρησιμοποιήθηκαν στην πολυπαραγοντική ανάλυση. Για τον

προσδιορισμό των παραγόντων κινδύνου για λοίμωξη με KPRC η ανάλυση έγινε μεταξύ δύο ομάδων: της ομάδας μελέτης έναντι όλων των άλλων. Η διάρκεια χορήγησης κολιστίνης, ο μηχανικός αερισμός, οι επεμβατικές διαδικασίες, προσδιορίστηκαν ως παράγοντες κινδύνου. Η έκθεση στους πιθανούς παράγοντες κινδύνου αξιολογήθηκε μόνο πριν από τη διάγνωση της λοίμωξης KPRC. Ασθενείς με αποικισμό KPRC δεν συμπεριλήφθηκαν στην ανάλυση. Η ανάλυση των στοιχείων για τη θνησιμότητα πραγματοποιήθηκε επίσης μεταξύ δύο ομάδων (επιζώντες και μη επιζώντες). Η ηλικία, οι επεμβατικές διαδικασίες, η συνολική διάρκεια καταστολής και μηχανικού αερισμού, παθολογική αιτία εισαγωγής, και KPRC λοίμωξη χρησιμοποιήθηκαν ως παράγοντες κινδύνου. Το λογισμικό SPSS (SPSS 17.0, Chicago, IL) χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση των δεδομένων.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Συνολικά 280 ασθενείς μελετήθηκαν (Σχήμα 1). Υπήρχαν 25 (8,9%) περιπτώσεις ασθενών με λοίμωξη CRKP που περιελάμβανε 16 (65,4%) μικροβιαμίες, 6 (23%) λοιμώξεις του αναπνευστικού συστήματος, 2 (7,7%) λοιμώξεις του ουροποιητικού συστήματος και 1 (3,8%) του κεντρικού νευρικού συστήματος. Οι 18 άρρωστοι με λοιμώξεις από πολύευαίσθητα μικρόβια περιελάμβαναν 2 περιπτώσεις με αιτιολογικό παράγοντα *E. coli*, 5 περιπτώσεις με ευαίσθητο σε μεθικιλίνη *S. aureus*, 1 περίπτωση με *S. epidermidis*, 1 περίπτωση με *S. pneumoniae*, 2 περιπτώσεις με *K. pneumoniae*, 2 περιπτώσεις με *E. faecalis*, 2 περιπτώσεις με *P. aeruginosa*, 1 περίπτωση με *E. cloacae*, 1 περίπτωση με *P. mirabilis*, και 1 περίπτωση με *S. marcescens*. Η CRKP απομονώθηκε κατά την [mean (SE)] 13,1 (1,9) ημέρα νοσηλείας στη ΜΕΘ, ενώ τα πολύ-ευαίσθητα βακτήρια κατά την 6.78 (1.756) ημέρα. Από τους υπόλοιπους 55 ασθενείς που παρουσίασαν λοιμώξεις με παθογόνους μικροοργανισμούς άλλους της CRKP 32 μολύνθηκαν με *A. baumannii* και όσοι απέμειναν από πολυμικροβιακές λοιμώξεις. Το ποσοστό των νοσηλευομένων που αποικίστηκαν με βακτήρια κατά την περίοδο της μελέτης εκτιμήθηκε στο 39,5%. Το ποσοστό των νοσηλευομένων που αποικίστηκαν με CRKP χωρίς να εμφανίσουν λοίμωξη ήταν 6,9%. Τα χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων παρουσιάζονται στους πίνακες 1-3.

Τα χαρακτηριστικά των αρρώστων κατά την εισαγωγή δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά και παρουσιάζονται αναλυτικά στον πίνακα 1. Η προηγούμενη χρήση και η διάρκεια χορήγησης συγκεκριμένων αντιβιοτικών, η διάρκεια του μηχανικού αερισμού, και η πραγματοποίηση επεμβατικών διαδικασιών ήταν με στατιστική σημαντικότητα διαφορετικά μεταξύ των συγκρινόμενων ομάδων για τη

**Πίνακας 1. Βασικά χαρακτηριστικά των αρρώστων**

	KPRC (N=25)	<i>P</i> <sup>Λ</sup>	Λοίμωξη από μη MDR βακτήρια (N=18)	<i>P</i> <sup>#</sup>	Ομάδα χωρίς βακτήρια (N=39)	<i>P</i> <sup>#</sup>
Φύλλο (άρρεν)	14 (56)	.328	8 (44.4)	.199	26 (66.7)	.436
Ηλικία (χρόνια)	62 (50,69)	.150	47 (32,62)	.229	62 (40,76)	.245
Παθολογικοί άρρωστοι	14 (56)	.597	8 (44)	.223	17 (43.6)	.443
Διάγνωση εισαγωγής						
Σήψη	3 (12)	.590	3 (17)	.683	3 (8)	.671
Νευρολογική νόσος	4 (16)	.201	1 (5)	.127	6 (15)	1.0
Παγκρεατίτιδα	2 (8)	.223	0 (0)	1.0	0 (0)	.149
ARDS	4 (16)	.277	1 (6)	.380	2 (5)	.199
Νευροχειρουργική νόσος	5 (20)	.587	4 (22)	1.0	12 (31)	.397
Χειρουργείο κοιλιάς	3 (12)	.773	1 (5)	.628	4 (10)	1.0
Τραύμα	2 (8)	.656	3 (17)	.634	4 (10)	1.0
Άλλα	2 (8)	.225	5 (28)	.110	8 (21)	.292
APACHE II score	15 (12,20)	.204	13 (10,19)	.886	15 (10,18)	.230
SOFA score	7 (4,8)	.768	7 (6,9)	1.0	7 (5,9)	1.0

Νοσηλεία σε νοσοκομείο τους τελευταίους 3 μήνες	6 (24)	.157	1 (5.6)	.209	4 (10.3)	.170
Εισαγωγή από το τμήμα Επειγόντων Περιστατικών	15 (60)	.355	7 (38.9)	.223	18 (46.2)	.315
Σακχαρώδης Διαβήτης	5 (20.8)	.156	2 (11.1)	.679	2 (5.1)	.095
Χρόνια Πνευμονική Νόσος	2 (8.3)	.665	3 (16.7)	.636	6 (15.4)	.699
Χρόνια Καρδιολογική Νόσος	7 (29.2)	.570	4 (22.2)	.731	14 (35.9)	.784
Χρόνια νεφρική Ανεπάρκεια	2 (8.3)	.320	0 (0)	.498	1 (2.6)	.552
Νευρολογική Νόσος	9 (37.5)	.108	4 (22.2)	.333	20 (51.3)	.311
Χρόνια Ηπατική Νόσος	2 (8.3)	.585	1 (5.6)	1.0	1 (2.6)	.552
Κακοήθεια	2 (8.3)	.401	2 (11.1)	1.0	1 (2.6)	.552
Ανοσοανεπάρκεια	2 (8.3)	.940	1 (5.6)	1.0	3 (7.7)	1.0

Τα στοιχεία παρουσιάζονται ως median (25%, 75% quartiles) ή n (%); KPRC, *Klebsiella pneumoniae* resistant to carbapenems; MDR, multi drug resistant bacteria; APACHE, Acute Physiology and Chronic Health Evaluation; SOFA, Sequential Organ Failure Assessment; ARDS, Acute respiratory distress syndrome; p<sup>^</sup>, σύγκριση μεταξύ των τριών ομάδων; p#, KPRC vs. μη MDR , KPRC vs. ομάδα χωρίς βακτήρια. Αποτελέσματα μονοπαραγοντικής ανάλυσης.

διερεύνηση παραγόντων κινδύνου για λοίμωξη με KPRC (πίνακες 2,3). Ασθενείς με λοίμωξη CRKP έλαβαν καρβαπενέμες και κολιστίνη για μεγαλύτερη διάρκεια και καρβαπενέμες πιο συχνά [odds ratio (OR) 95%, confidence interval (CI)] [5,42 (1,25-23,49)]. πριν από τη μόλυνση σε σύγκριση με τους ασθενείς των ομάδων ελέγχου.(πίνακας 3). Ασθενείς με



**Πίνακας 2. Κλινικά χαρακτηριστικά των αρρώστων πριν τη λοίμωξη**

	KPRC (N=25)	<i>P</i> <sup>Λ</sup>	Λοίμωξη από μη MDR βακτήρια (N=18)	<i>P</i> <sup>#</sup>	Ομάδα χωρίς βακτήρια (N=39)	<i>P</i> <sup>#</sup>
Διάρκεια MA (μέρες)	10 (5,19)	.003	5 (2,8)	.005	7 (4,11)	.021
Χειρουργική επέμβαση	15 (60)	.852	12 (66.7)	.735	23 (59)	1.0
Παρεμβατικές διαδικασίες	6 (24)	.044	1 (5.6)	.209	2 (5.1)	.048
Καθετηριασμός ουροδόχου κύστης πριν τη ΜΕΘ	1 (4)	.850	1 (5.6)	1.0	1 (2.6)	1.0
Τραχειοστομία	7 (28)	.403	2 (11.1)	.283	8 (20.5)	1.0
Καταστολή	22 (88)	.252	18 (100)	.252	37 (95)	.371
Χρήση CVVHDF	4 (16)	.781	2 (11.1)	1.0	4 (10.3)	.701
Διάρκεια CVVHDF (μέρες)	0 (0,0)	.179	0 (0,0)	.396	0 (0,0)	.271
Κορτικοειδή (mg υδροκορτιζόνης/μέρα)	0 (0,1)	.936	0 (0,0)	1.0	0 (0,0)	1.0

Τα στοιχεία παρουσιάζονται ως median (25%, 75% quartiles) ή n (%), KPRC *Klebsiella pneumoniae* resistant to carbapenems, MDR multi drug resistant bacteria, MA Μηχανικός αερισμός, ΜΕΘ Μονάδα Εντατικής Θεραπείας, CVVHDF Continuous veno-venous hemodialfiltration; Επεμβατικές διαδικασίες γαστροσκοπηση, κολonosκόπηση ή βρογχοσκόπηση, *p*<sup>Λ</sup> σύγκριση μεταξύ των τριών ομάδων, *p*<sup>#</sup>, KPRC vs. μη MDR, KPRC vs. Ομάδας χωρίς βακτήρια, αποτελέσματα μονοπαραγοντικής ανάλυσης

Πίνακας 3. Χορηγηθείσα αντιβιοτική αγωγή

	KPRC (N=25)	<i>P</i> <sup>Λ</sup>	Λοίμωξη από μη MDR βακτήρια (N=18)	<i>P</i> <sup>#</sup>	Ομάδα χωρίς βακτήρια (N=39)	<i>P</i> <sup>#</sup>
Αντιβιοτικά το τελευταίο 3μηνο	5 (20)	.336	2 (11.1)	.680	3 (7.7)	.245
Αντιβιοτικά κατά τη νοσηλεία προ λοίμωξης	24 (96)	.022	14 (77.8)	.144	38 (97.4)	1.0
Καρβαπενέμες	13 (52)	.062	3 (16.7)	.026	15 (38.5)	.313
Διάρκεια (μέρες)	3 (0,11)	.025	0 (0,0)	.021	0 (0,6)	.409
Αντιψευδομοναδικές πενικιλίνες	8 (32)	.474	3 (16.7)	.309	12 (30.8)	1.0
Διάρκεια (μέρες)	0 (0,4)	.265	0 (0,0)	.330	0 (0,4)	1.0
Κινολόνες	7 (28)	.403	2 (11.1)	.263	8 (20.5)	.553
Διάρκεια (μέρες)	0 (0,4)	.154	0 (0,0)	.162	0 (0,0)	1.0
Κεφαλοσπορίνες 3 <sup>ης</sup> γενιάς	5 (20)	.217	6 (33.3)	.480	16 (41)	.105
Διάρκεια (μέρες)	0 (0,0)	.886	0 (0,2)	1.0	0 (0,2)	1.0
Κεφαλοσπορίνες 4 <sup>ης</sup> γενιάς	2 (8)	.341	0 (0)	.502	1 (2.6)	.555
Διάρκεια (μέρες)	0 (0,0)	.228	0 (0,0)	.423	0 (0,0)	.395

Κολιμικίνη	14 (56)	.028	7 (38.9)	.358	9 (23.1)	.015
Διάρκεια (μέρες)	2 (0,13)	.001	0 (0,4)	.022	0 (0,0)	.001
Τιγκεκυκλίνη	5 (20)	0.07	2 (11.1)	.680	1 (2.6)	1.0
Διάρκεια (μέρες)	0 (0,0)	.096	0 (0,0)	.392	0 (0,0)	.108
Αμινογλικοσίδες	2 (8)	.934	2 (11.1)	1.0	4 (10.3)	1.0
Διάρκεια (μέρες)	0 (0,0)	.560	0 (0,0)	1.0	0 (0,0)	1.0
Εισπνεόμενη κολιμικίνη	4 (16)	.673	4 (22)	1.0	5 (13)	1.0
Κατάλληλη εμπειρική αντιβιοτική αγωγή	15 (60)	0.38	16 (88)	.046	NA	NA
Κατάλληλη οριστική αντιβιοτική αγωγή	23 (92)	.229	18 (100)	.502	NA	NA

---

Τα στοιχεία παρουσιάζονται ως median (25%, 75% quartiles) ή n (%), KPRC, *Klebsiella pneumonia* resistant to carbapenems; MDR, multi drug resistant bacteria, Κατάλληλη εμπειρική αντιβιοτική θεραπεία η χορήγηση αντιβιοτικών με in vitro δράση έναντι των στελεχών εντός 24 ωρών από την έναρξη της λοίμωξης, Κατάλληλη οριστική αντιβιοτική θεραπεία η χορήγηση αντιβιοτικών με in vitro δράση έναντι των στελεχών για τουλάχιστον 48 ώρες, p<sup>^</sup>, σύγκριση μεταξύ των τριών ομάδων; p#, KPRC vs. μη MDR, KPRC vs. Χωρίς βακτήρια, Αποτελέσματα μονοπαραγοντικής ανάλυσης

---

**Πίνακας 4. Χαρακτηριστικά επιζώντων και μη στη ΜΕΘ**

	Επιζώντες (N=49)	Μη επιζώντες (N=33)	<i>P</i>
Φύλλο (άρρεν)	31 (63.3)	23 (69.7)	.638
Ηλικία (χρόνια)	55 (36,37)	62 (52,73)	.023
Παθολογικοί άρρωστοι	18 (36.7)	21 (63.6)	.024
APACHE II score	14 (10,19)	15 (13,18)	.710
SOFA score	7 (5-8)	7 (5,9)	.121
Σακχαρώδης Διαβήτης	3 (6.1)	6 (18.8)	.144
Χρόνια Πνευμονική Νόσος	5 (10.2)	6 (18.8)	.328
Χρόνια Καρδιολογική Νόσος	15 (30.6)	10 (31.1)	.571
Άλλα	25 (51)	14 (42)	.546
Ανοσοανεπάρκεια	1 (2)	5 (15.6)	.033
Παρεμβατικές διαδικασίες	2 (4.1)	7 (21.2)	.027
Κατάλληλη εμπειρική αντιβιοτική αγωγή	14 (70)	17 (73.9)	.521
Κατάλληλη οριστική αντιβιοτική αγωγή	19 (95)	22 (95.7)	.720
Συνολική παραμονή στη ΜΕΘ (μέρες)	12 (7,23)	14 (9,28)	.230

Συνολική διάρκεια MA (μέρες)	9 (4,16)	14 (9-28)	.007
Καταστολή σύνολο(μέρες)	4 (2,10)	9 (5,15)	.009
KPRC infection	10 (20.4)	15 (45.5)	.027

Τα στοιχεία παρουσιάζονται ως median (25%, 75% quartiles) ή n (%), KPRC, *Klebsiella pneumonia* resistant to carbapenems, άλλα στη νοσηρότητα περιλαμβάνουν αιματολογική νόσο, χρόνια νεφρική και ηπατική ανεπάρκεια, Κατάλληλη εμπειρική αντιβιοτική θεραπεία η χορήγηση αντιβιοτικών με in vitro δράση έναντι των στελεχών εντός 24 ωρών από την έναρξη της λοίμωξης, Κατάλληλη οριστική αντιβιοτική θεραπεία η χορήγηση αντιβιοτικών με in vitro δράση έναντι των στελεχών για τουλάχιστον 48 ώρες, ΜΕΘ Μονάδα Εντατικής Θεραπείας, APACHE, Acute Physiology and Chronic Health Evaluation, SOFA, Sequential Organ Failure Assessment, MA Μηχανικός αερισμός, Αποτελέσματα από μονοπαραγοντική ανάλυση.

λοιμώξη CRKP έλαβαν κολιστίνη συχνότερα [4,24 (1,43-12,56)] και για μεγαλύτερη διάρκεια (ημέρες) σε σύγκριση με τους ασθενείς που δεν παρουσίασαν τεκμηριωμένη λοίμωξη (Πίνακας 3). Επιπλέον, ασθενείς με CRKP είχαν λάβει μηχανικό αερισμό για μεγαλύτερες περιόδους πριν από την απομόνωση του παθογόνου σε σύγκριση με τις άλλες δύο ομάδες, και υποβλήθηκαν συχνότερα σε επεμβατικές διαδικασίες (πίνακας 2). Η μη κατάλληλη εμπειρική θεραπεία συσχετίστηκε πιο συχνά με μόλυνση με CRKP (πίνακας 3). Η πολυπαραγοντική ανάλυση ανέδειξε ότι η διάρκεια χορήγησης της κολιστίνης ήταν ο μόνος ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για CRKP λοίμωξη. [OR (95% CI)] [1,15 (1,02-1,31)] ανά ημέρα χορήγησης ( $P = 0,025$ ).

**Πίνακας 5. Διάρκεια παραμονής στη ΜΕΘ, θάνατος, Μηχανικός αερισμός και καταστολή στις διάφορες ομάδες αρρώστων**

	KPRC (N=25)	<i>P</i> <sup>^</sup>	Λοίμωξη από μη MDR βακτήρια (N=18)	<i>P</i> <sup>#</sup>	Ομάδα χωρίς βακτήρια (N=39)	<i>P</i> <sup>#</sup>
Διάρκεια ΜΕΘ (Μέρες)	24 (15,32)	<.001	20 (9,32)	.433	9 (6,13)	<.001
Θάνατος	15 (60)	.022	8 (44.4)	.365	10 (25.6)	.009
Μηχανικός αερισμός διάρκεια (μέρες)	20 (9,31)	<.001	18 (9,25)	.435	7 (4,11)	<.001
Καταστολή διάρκεια (μέρες))	8 (2,18)	.003	9 (5,15)	.967	4 (2,8)	.003

Τα στοιχεία παρουσιάζονται ως median (25%, 75% quartiles) ή n (%), KPRC *Klebsiella pneumoniae* resistant to carbapenems, MDR multi drug resistant bacteria, ΜΕΘ, Μονάδα Εντατικής Θεραπείας, *p*<sup>^</sup>, σύγκριση μεταξύ τριών ομάδων, *p*<sup>#</sup>, KPRC vs. μη MDR και KPRC vs. Ομάδας χωρίς βακτήρια, Αποτελέσματα μονοπαραγοντικής ανάλυσης

Ασθενείς με CRKP σε σύγκριση με τους ασθενείς που δεν παρουσίασαν λοίμωξη είχαν μεγαλύτερη διάρκεια νοσηλείας στη ΜΕΘ, μεγαλύτερη θνησιμότητα [4,35 (1,5-12,7)], και συνολική διάρκεια μηχανικής υποστήριξης της αναπνοής και καταστολής (πίνακας 4). Οι επιζώντες σε σύγκριση με τους μη επιζώντες είχαν νεότερη ηλικία (πίνακας 5), έλαβαν μηχανικό αερισμό και καταστολή για μικρότερη διάρκεια και υποβλήθηκαν λιγότερο συχνά επεμβατικές διαδικασίες [0,16 (0,03-0,8)]. Η αιτία εισαγωγής τους ήταν συχνότερα λόγω χειρουργικής

αιτιολογίας [0,33 (0,13-0,8)] και παρουσίασε λιγότερο συχνά λοίμωξη CRKP [3.25 (1.2-8.6)]. Η πολυπαραγοντική ανάλυση έδειξε ότι η ηλικία (έτη) [1.048 (1.006-1.093)] ( $P = 0.023$ ) και η ανοσοανεπάρκεια [25,22 (1,94-327,19)] ( $P = 0,014$ ) ήταν ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες θνησιμότητας στην ΜΕΘ.

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα μελέτη, επιδιώξαμε να προσδιορίσουμε κλινικούς παράγοντες κινδύνου για το πρώτο επεισόδιο μόλυνσης με CRKP στη ΜΕΘ. Τα ευρήματά μας δείχνουν ότι η συγκεκριμένη λοίμωξη συσχετίστηκε με προηγούμενη χρήση αντιβιοτικών, όπως οι καρβαπενέμες και, κυρίως, η κολιστίνη. Από την υπάρχουσα βιβλιογραφία δεν προέκυπτε σχέση μεταξύ λοίμωξης από KPRC και χρήσης κολιστίνης. Επιπλέον παράγοντες κινδύνου αποτελούν οι διάφορες επεμβατικές διαδικασίες στις οποίες υποβλήθηκαν οι άρρωστοι καθώς και τη διάρκεια του μηχανικού αερισμού πριν τη λοίμωξη. Από αυτή την άποψη, η μελέτη δείχνει ότι αναγκαία μέτρα για τον περιορισμό της είναι η υιοθέτηση πολιτικών ελέγχου στη χρήσης αντιβιοτικών με στόχο την αποφυγή υπερβολικής και άσκοπης χρήσης τους, ιδιαίτερα δε σε ότι αφορά τη χρήση κολιστίνης.

Τα δεδομένα σχετικά με τους παράγοντες κινδύνου για λοίμωξη από CRKP ειδικά στη ΜΕΘ είναι περιορισμένα. Τα περισσότερα από αυτά έχουν προέλθει από μεικτούς πληθυσμούς αρρώστων που νοσηλεύονται σε ΜΕΘ και παθολογικά ή χειρουργικά τμήματα των νοσοκομείων. Τα ποσοστά των αρρώστων κάθε κατηγορίας δεν ξεκαθαρίζονται, και δεν υπάρχουν ξεχωριστά αποτελέσματα για την κάθε ομάδα. Ένα επιπλέον μειονέκτημα των υπαρχόντων μελετών αποτελεί το γεγονός ότι είναι κατά κύριο λόγο αναδρομικές. Αυτό μπορεί να εισάγει προβλήματα στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων, ιδιαίτερα στη διάγνωση της λοίμωξης και το διαχωρισμό της από των αποικισμό σε περιοχές του σώματος που δεν είναι φυσιολογικά στείρες όπως το ουροποιητικό και το αναπνευστικό σύστημα. Από την άποψη αυτή, οριστικό συμπέρασμα για τους παράγοντες κινδύνου σε βαρέως πάσχοντες είναι δύσκολο να εξαχθούν από διαθέσιμα στοιχεία. Με βάση την έρευνά μας στη



βιβλιογραφία η παρούσα μελέτη είναι η πρώτη προοπτική μελέτη για το συγκεκριμένο αντικείμενο και μπορεί να παρέχει χρήσιμα δεδομένα στην εφαρμογή αποτελεσματικών πολιτικών ελέγχου των λοιμώξεων.

Βρήκαμε μια συσχέτιση μεταξύ της λοίμωξης CRKP και της προηγούμενης χρήσης αντιβιοτικών. Μια τέτοια σχέση ήταν αναμενόμενη καθώς και σε προηγούμενες μελέτες αυτό έχει διαπιστωθεί [186-190]. Τα αντιβιοτικά μπορούν να εξολοθρεύσουν τα ευαίσθητα σε αυτά μικρόβια οπότε και η επερχόμενη λοίμωξη να πραγματοποιηθεί με τα ανθεκτικά μικρόβια στα αντιβιοτικά που χορηγήθηκαν και κατάφεραν να επιβιώσουν. Η χρήση λοιπόν των καρβαπενεμών δεν θα επηρεάσει τα μικρόβια που είναι ανθεκτικά σε αυτές άρα και η μελλοντική μόλυνση θα επιτευχθεί από το ανθεκτικά σε αυτές. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης είναι συνεπή με αποτελέσματα προηγούμενων μελετών. καθώς και δικής μας αναδρομικής μελέτης στην οποία διαπιστώθηκε πως ασθενείς με CRKP λοίμωξη έλαβαν συχνότερα (87% έναντι 40%,  $P = 0,003$ ) και για μεγαλύτερες περιόδους (ημέρες) (8,8 (1,8) έναντι 1,75 (0,6),  $P < 0,001$ ) καρβαπενέμες [191].

Επιπλέον, διαπιστώσαμε ότι η κολιστίνη αποτελεί παράγοντα κινδύνου λοίμωξης με CRKP και μάλιστα η διάρκεια χορήγησης της αποτελεί το μόνο ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα κινδύνου. Από την ως τώρα γνώση μας αυτή η σχέση δεν έχει αλλού αναφερθεί. Η κολιστίνη είναι ένα παλιό αντιβιοτικό, δυνητικά τοξικό στους νεφρούς που έχει χρησιμοποιηθεί όλο και περισσότερο κατά τα τελευταία χρόνια λόγω της εμφάνισης Gram-αρνητικών πολυανθεκτικών παθογόνων. Η συσχέτιση μεταξύ κολιστίνης και CRKP λοίμωξης απεικονίζει το αδιέξοδο στο οποίο βρισκόμαστε: μια λοίμωξη από μικρόβιο ανθεκτικό στις καρβαπενέμες ευαίσθητο όμως στην κολιστίνη επάγεται από την προηγούμενη χρήση ενός αντιβιοτικού που αποτελεί και μία από τις ελάχιστες θεραπευτικές επιλογές. Η χορήγηση λοιπόν της 'λύσης' επάγει την επιλογή

υπερπαθογόνων όπως η CRKP. Είναι επομένως πιθανό ότι η αυξανόμενη χρήση αντιβιοτικών με ένα ευρύ φάσμα κατά των αρνητικών κατά Gram μικροβίων προοδευτικά να τροποποιεί τη μικροβιολογική χλωρίδα των ασθενών υπέρ των πολύ-ανθεκτικών. Επιπλέον, λίγα είναι γνωστά για τη φάρμακο-κινητική και φάρμακο-δυναμική της κολιστίνης στους διάφορους ιστούς [192, 193]. Επιπλέον, η χορήγηση κολιστίνης ως κατάλληλη θεραπεία με βάση την *in vitro* ευαισθησία όπως αυτή προσδιορίζεται στα αντιβιογράμματα δεν συσχετίστηκε με βελτιωμένη επιβίωση σύμφωνα με προηγούμενες μελέτες [186]. Αν συνδυαστούν οι παραπάνω διαπιστώσεις προκύπτει από τη μελέτη μας ένα ακόμη ενδιαφέρον συμπέρασμα που αφορά το κατά πόσον η κολιστίνη αποτελεί αποτελεσματικό αντιβιοτικό έναντι των ανθεκτικών μικροβίων ακόμη κι αν αυτά είναι ευαίσθητα σε αυτή.

Υπό το πρίσμα των πορισμάτων αυτών πρέπει να είμαστε προσεκτικοί κατά την εμπειρική και παρατεταμένη χρήση κολιστίνης, ειδικά όταν υπάρχουν άλλοι δυνητικοί παράγοντες που προδιαθέτουν σε λοίμωξη με CRKP. Επιπλέον, η μελέτη μας αμφισβητεί τη χρησιμότητα πολιτικών εκλεκτικής αποστείρωσης (Selective Decontamination). Σχήματα που περιλαμβάνουν την κολιστίνη ανάμεσα σε άλλους αντι-μικροβιακούς είναι διαδεδομένα. Με δεδομένο ότι στην κλινική μας δεν χρησιμοποιούμε τέτοιες στρατηγικές περιορισμού του μικροβιακού φορτίου δεν μπορούμε να παράσχουμε στοιχεία για την επίδρασή τους. Οφείλουμε πάντως να είμαστε εξαιρετικά προσεκτικοί στη χρήση τους με βάση τα παραπάνω στοιχεία. Παρόλα αυτά, υποστηρίζουμε στρατηγικές αποκλιμάκωσης στη χρήση των αντιβιοτικών αν και υπάρχουν ακόμη θέματα προς διερεύνηση [194-198]. Μελέτες για τη βέλτιστη διάρκεια της χορήγησης κολιστίνης καθώς και της υιοθέτησης προγραμμάτων αποκλιμάκωσης μπορούν να βελτιώσουν τη χρήση των αντιβιοτικών σε ΜΕΘ προκειμένου να υποχωρήσει η πίεση που οδηγεί σε αυξημένη

μικροβιακή αντίσταση. Σίγουρα, γρήγορες μέθοδοι για τη διάγνωση αρνητικών κατά Gram μικροβίων θα μπορούσαν να βοηθήσουν στο συγκεκριμένο πεδίο, και πιο ειδικά για την CRKP [199, 200].

Στην παρούσα έρευνα, υπήρξε επίσης συσχέτιση μεταξύ της λοίμωξης CRKP και της διάρκειας του μηχανικού αερισμού πριν τη λοίμωξη. Ο μηχανικός αερισμός είναι μια θεραπευτική επιλογή συχνά απαραίτητη για την επιβίωση των βαρέως πασχόντων. Στην κριτική νόσο σχετίζεται με τη βαρύτητά της, ενώ η διάρκειά του μπορεί να θεωρηθεί ως δείκτης της κατάστασης [201]. Προηγούμενες μελέτες έχουν υπογραμμίσει τη συσχέτιση μεταξύ CRKP λοίμωξης και βαρύτητας της νόσου [174, 202]. Ερμηνεύοντας τη συσχέτιση μπορούμε να πούμε πως η εφαρμογή του μηχανικού αερισμού περιλαμβάνει διαδικασίες που διακόπτουν τη φυσιολογική άμυνα του οργανισμού στις αεροφόρες οδούς, ενώ συνήθως απαιτεί καταστολή, παράγοντες που ευνοούν την ανάπτυξη νοσοκομειακών λοιμώξεων [203].

Το γεγονός ότι η CRKP λοίμωξη είναι επίσης συνδεδεμένη με τη συχνότητα των επεμβατικών διαδικασιών, με την καταστολή και με την παρατεταμένη νοσηλεία συμφωνεί με την παραπάνω υπόθεση. Η μακρά νοσηλεία μπορεί να προδιαθέσει σε μεγαλύτερο βαθμό για αποικισμό με στελέχη CRKP [204, 205] από ασθενή σε ασθενή. Δυστυχώς, η παρούσα μελέτη δεν έχει εξετάσει μηχανισμούς αποικισμού.

Στην παρούσα μελέτη, οι ασθενείς που παρουσίασαν CRKP λοίμωξη στη ΜΕΘ είχαν αυξημένη θνησιμότητα, χρειάστηκαν μεγαλύτερη διάρκεια μηχανικού αερισμού και καταστολής, και παρέμειναν για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα νοσηλευόμενοι με τους ασθενείς των ομάδων ελέγχου. Αναδρομικές μελέτες επιβεβαιώνουν τα παραπάνω ευρήματα, παρέχοντας στοιχεία ότι η συγκεκριμένη λοίμωξη σχετίζεται με αυξημένη νοσηρότητα και θνησιμότητα [186, 191, 202, 206, 207]. Στην προοπτική μας μελέτη, παρά το γεγονός πως οι ομάδες των

ασθενών ήταν συγκρίσιμες ως προς την ηλικία, τη βαρύτητα της ασθένειας όπως αυτή αντικατοπτρίζεται στο APACHE score, και την αιτία εισόδου, ο αριθμός των αρρώστων ήταν σχετικά μικρός για την εξαγωγή οριστικών συμπερασμάτων. Πρέπει να υπογραμμίσουμε ότι η λοίμωξη αυξάνει στατιστικά σημαντικά τη θνησιμότητα στη μονοπαραγοντική ανάλυση δεν φτάνει σε επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας στην πολυπαραγοντική. Κατά συνέπεια η CRKP λοίμωξη δεν αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα που επηρεάζει τη θνησιμότητα των νοσηλευομένων σε ΜΕΘ. Μία εύλογη εξήγηση για αυτό μπορεί να είναι ότι ο μικρός αριθμός των ασθενών που συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη. Επιπλέον, η θνησιμότητα στη ΜΕΘ είναι αποτέλεσμα πολλών παραγόντων. Πολλοί από αυτούς μπορεί να μην έχουν αξιολογηθεί στην παρούσα μελέτη. Έτσι, η συσχέτιση μεταξύ θνησιμότητας και CRKP λοίμωξης μπορεί να έχει συσκοτιστεί.

Συμπερασματικά, τα ευρήματά μας παρέχουν ενδείξεις πως η χρήση αντιβιοτικών, και ιδίως η παρατεταμένη χρήση κολιστίνης, είναι ένας ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας για τη μόλυνση με CRKP. Από την άποψη αυτή, η παρούσα μελέτη δείχνει ότι η ορθολογική χρήση των αντιβιοτικών εναντίον των κατά αρνητικών κατά Gram, βακτηρίων πρέπει να αποτελεί μέρος της στρατηγικής είναι απαραίτητα για τον περιορισμό της εξάπλωσης της λοίμωξης από CRKP στη ΜΕΘ.

## ΠΑΡΑΠΟΜΠΕΣ

1. Podschun, R. and U. Ullmann, *Klebsiella spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors*. Clin Microbiol Rev, 1998. **11**(4): p. 589-603.
2. Carpenter, J.L., *Klebsiella pulmonary infections: occurrence at one medical center and review*. Rev Infect Dis, 1990. **12**(4): p. 672-82.
3. Bergogne-Berezin, E., *[Nosocomial infections: new agents, incidence, prevention]*. Presse Med, 1995. **24**(2): p. 89-97.
4. Emori, T.G., et al., *National nosocomial infections surveillance system (NNIS): description of surveillance methods*. Am J Infect Control, 1991. **19**(1): p. 19-35.
5. Urban, C. and J.J. Rahal, *Klebsiella and extended spectrum beta-lactamases*. Int J Antimicrob Agents, 1997. **8**(1): p. 37-43.
6. Bagley, S.T., et al., *Isolation of Klebsiellae from within living wood*. Appl Environ Microbiol, 1978. **36**(1): p. 178-85.
7. Brown, C. and R.J. Seidler, *Potential pathogens in the environment: Klebsiella pneumoniae, a taxonomic and ecological enigma*. Appl Microbiol, 1973. **25**(6): p. 900-4.
8. Edberg, S.C., V. Piscitelli, and M. Carter, *Phenotypic characteristics of coliform and noncoliform bacteria from a public water supply compared with regional and national clinical species*. Appl Environ Microbiol, 1986. **52**(3): p. 474-8.
9. Matsen, J.M., J.A. Spindler, and R.O. Blosser, *Characterization of Klebsiella isolates from natural receiving waters and comparison with human isolates*. Appl Microbiol, 1974. **28**(4): p. 672-8.
10. Davis, T.J. and J.M. Matsen, *Prevalence and characteristics of Klebsiella species: relation to association with a hospital environment*. J Infect Dis, 1974. **130**(4): p. 402-405.

11. Rosenthal, S. and I.B. Tager, *Prevalence of gram-negative rods in the normal pharyngeal flora*. Ann Intern Med, 1975. **83**(3): p. 355-7.
12. Kloos, W.E. and M.S. Musselwhite, *Distribution and persistence of Staphylococcus and Micrococcus species and other aerobic bacteria on human skin*. Appl Microbiol, 1975. **30**(3): p. 381-5.
13. Cooke, E.M., et al., *Further studies on the sources of Klebsiella aerogenes in hospital patients*. J Hyg (Lond), 1979. **83**(3): p. 391-5.
14. Pollack, M., et al., *Factors influencing colonisation and antibiotic-resistance patterns of gram-negative bacteria in hospital patients*. Lancet, 1972. **2**(7779): p. 668-71.
15. Hanberger, H., et al., *Surveillance of microbial resistance in European Intensive Care Units: a first report from the Care-ICU programme for improved infection control*. Intensive Care Med, 2009. **35**(1): p. 91-100.
16. Pitout, J.D. and K.B. Laupland, *Extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern*. Lancet Infect Dis, 2008. **8**(3): p. 159-66.
17. Lagace-Wiens, P.R., et al., *First description of an extended-spectrum-beta-lactamase-producing multidrug-resistant Escherichia fergusonii strain in a patient with cystitis*. J Clin Microbiol, 2010. **48**(6): p. 2301-2.
18. Laupland, K.B., et al., *Community-onset extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) producing Escherichia coli: importance of international travel*. J Infect, 2008. **57**(6): p. 441-8.
19. Bradford, P.A., *Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat*. Clin Microbiol Rev, 2001. **14**(4): p. 933-51, table of contents.

20. Bradford, P.A., *What's New in beta-lactamases?* Curr Infect Dis Rep, 2001. **3**(1): p. 13-19.
21. Paterson, D.L. and R.A. Bonomo, *Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update.* Clin Microbiol Rev, 2005. **18**(4): p. 657-86.
22. Debby, B.D., et al., *Epidemiology of carbapenem resistant Klebsiella pneumoniae colonization in an intensive care unit.* Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2012. **31**(8): p. 1811-7.
23. Nordmann, P., G. Cuzon, and T. Naas, *The real threat of Klebsiella pneumoniae carbapenemase-producing bacteria.* Lancet Infect Dis, 2009. **9**(4): p. 228-36.
24. Giakkoupi, P., et al., *VIM-1 Metallo-beta-lactamase-producing Klebsiella pneumoniae strains in Greek hospitals.* J Clin Microbiol, 2003. **41**(8): p. 3893-6.
25. Leavitt, A., et al., *Emergence of KPC-2 and KPC-3 in carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae strains in an Israeli hospital.* Antimicrob Agents Chemother, 2007. **51**(8): p. 3026-9.
26. Samra, Z., et al., *Outbreak of carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae producing KPC-3 in a tertiary medical centre in Israel.* Int J Antimicrob Agents, 2007. **30**(6): p. 525-9.
27. Bratu, S., et al., *Emergence of KPC-possessing Klebsiella pneumoniae in Brooklyn, New York: epidemiology and recommendations for detection.* Antimicrob Agents Chemother, 2005. **49**(7): p. 3018-20.
28. Woodford, N., et al., *Outbreak of Klebsiella pneumoniae producing a new carbapenem-hydrolyzing class A beta-lactamase, KPC-3, in a New York Medical Center.* Antimicrob Agents Chemother, 2004. **48**(12): p. 4793-9.

29. Bratu, S., et al., *Rapid spread of carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae in New York City: a new threat to our antibiotic armamentarium*. Arch Intern Med, 2005. **165**(12): p. 1430-5.
30. Oteo, J., et al., *The spread of KPC-producing Enterobacteriaceae in Spain: WGS analysis of the emerging high-risk clones of Klebsiella pneumoniae ST11/KPC-2, ST101/KPC-2 and ST512/KPC-3*. J Antimicrob Chemother, 2016. **71**(12): p. 3392-3399.
31. Tada, T., et al., *Dissemination of Carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae clinical isolates with various combinations of Carbapenemases (KPC-2, NDM-1, NDM-4, and OXA-48) and 16S rRNA Methylases (RmtB and RmtC) in Vietnam*. BMC Infect Dis, 2017. **17**(1): p. 467.
32. Won, S.Y., et al., *Emergence and rapid regional spread of Klebsiella pneumoniae carbapenemase-producing Enterobacteriaceae*. Clin Infect Dis, 2011. **53**(6): p. 532-40.
33. Giamarellou, H. and G. Poulakou, *Multidrug-resistant Gram-negative infections: what are the treatment options?* Drugs, 2009. **69**(14): p. 1879-901.
34. Tumbarello, M., et al., *Infections caused by KPC-producing Klebsiella pneumoniae: differences in therapy and mortality in a multicentre study*. J Antimicrob Chemother, 2015. **70**(7): p. 2133-43.
35. Fader, R.C. and C.P. Davis, *Effect of piliation on Klebsiella pneumoniae infection in rat bladders*. Infect Immun, 1980. **30**(2): p. 554-61.
36. Fader, R.C. and C.P. Davis, *Klebsiella pneumoniae-induced experimental pyelitis: the effect of piliation on infectivity*. J Urol, 1982. **128**(1): p. 197-201.



37. Maayan, M.C., et al., *Population shift in mannose-specific fimbriated phase of Klebsiella pneumoniae during experimental urinary tract infection in mice*. Infect Immun, 1985. **49**(3): p. 785-9.
38. Cortes, G., et al., *Molecular analysis of the contribution of the capsular polysaccharide and the lipopolysaccharide O side chain to the virulence of Klebsiella pneumoniae in a murine model of pneumonia*. Infect Immun, 2002. **70**(5): p. 2583-90.
39. Lawlor, M.S., S.A. Handley, and V.L. Miller, *Comparison of the host responses to wild-type and cpsB mutant Klebsiella pneumoniae infections*. Infect Immun, 2006. **74**(9): p. 5402-7.
40. Lawlor, M.S., et al., *Identification of Klebsiella pneumoniae virulence determinants using an intranasal infection model*. Mol Microbiol, 2005. **58**(4): p. 1054-73.
41. Yoshida, K., et al., *Role of bacterial capsule in local and systemic inflammatory responses of mice during pulmonary infection with Klebsiella pneumoniae*. J Med Microbiol, 2000. **49**(11): p. 1003-10.
42. Fang, C.T., et al., *A novel virulence gene in Klebsiella pneumoniae strains causing primary liver abscess and septic metastatic complications*. J Exp Med, 2004. **199**(5): p. 697-705.
43. Yeh, K.M., et al., *Capsular serotype K1 or K2, rather than magA and rmpA, is a major virulence determinant for Klebsiella pneumoniae liver abscess in Singapore and Taiwan*. J Clin Microbiol, 2007. **45**(2): p. 466-71.
44. Pan, Y.J., et al., *Capsular polysaccharide synthesis regions in Klebsiella pneumoniae serotype K57 and a new capsular serotype*. J Clin Microbiol, 2008. **46**(7): p. 2231-40.
45. Cryz, S.J., Jr., et al., *Seroepidemiology of Klebsiella bacteremic isolates and implications for vaccine development*. J Clin Microbiol, 1986. **23**(4): p. 687-90.

46. Mizuta, K., et al., *Virulence for mice of Klebsiella strains belonging to the O1 group: relationship to their capsular (K) types*. Infect Immun, 1983. **40**(1): p. 56-61.
47. Yu, W.L., et al., *Comparison of prevalence of virulence factors for Klebsiella pneumoniae liver abscesses between isolates with capsular K1/K2 and non-K1/K2 serotypes*. Diagn Microbiol Infect Dis, 2008. **62**(1): p. 1-6.
48. Lin, Y.T., et al., *Bacteremic community-acquired pneumonia due to Klebsiella pneumoniae: clinical and microbiological characteristics in Taiwan, 2001-2008*. BMC Infect Dis, 2010. **10**: p. 307.
49. Sahly, H., et al., *Impairment of respiratory burst in polymorphonuclear leukocytes by extended-spectrum beta-lactamase-producing strains of Klebsiella pneumoniae*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2004. **23**(1): p. 20-6.
50. Lee, C.H., et al., *Sialic acid involved in hypermucoviscosity phenotype of Klebsiella pneumoniae and associated with resistance to neutrophil phagocytosis*. Virulence, 2014. **5**(6): p. 673-9.
51. Kabha, K., et al., *Relationships among capsular structure, phagocytosis, and mouse virulence in Klebsiella pneumoniae*. Infect Immun, 1995. **63**(3): p. 847-52.
52. Lin, J.C., et al., *High prevalence of phagocytic-resistant capsular serotypes of Klebsiella pneumoniae in liver abscess*. Microbes Infect, 2004. **6**(13): p. 1191-8.
53. Tigyi, Z., et al., *Topo-optical investigations on the surface of bacterial cells during the phagocytosis of Klebsiella pneumoniae in mouse*. Acta Histochem, 2009. **111**(4): p. 300-7.
54. Athamna, A., et al., *Lectinophagocytosis of encapsulated Klebsiella pneumoniae mediated by surface lectins of guinea pig alveolar*

- macrophages and human monocyte-derived macrophages. Infect Immun, 1991. 59(5): p. 1673-82.*
55. Ofek, I., et al., *Nonopsonic phagocytosis of microorganisms. Annu Rev Microbiol, 1995. 49: p. 239-76.*
  56. Sahly, H., et al., *Recognition of bacterial surface polysaccharides by lectins of the innate immune system and its contribution to defense against infection: the case of pulmonary pathogens. Infect Immun, 2008. 76(4): p. 1322-32.*
  57. Yoshida, K., et al., *Induction of interleukin-10 and down-regulation of cytokine production by Klebsiella pneumoniae capsule in mice with pulmonary infection. J Med Microbiol, 2001. 50(5): p. 456-61.*
  58. Regueiro, V., et al., *Klebsiella pneumoniae subverts the activation of inflammatory responses in a NOD1-dependent manner. Cell Microbiol, 2011. 13(1): p. 135-53.*
  59. Merino, S., et al., *Mechanisms of Klebsiella pneumoniae resistance to complement-mediated killing. Infect Immun, 1992. 60(6): p. 2529-35.*
  60. Alberti, S., et al., *C1q binding and activation of the complement classical pathway by Klebsiella pneumoniae outer membrane proteins. Infect Immun, 1993. 61(3): p. 852-60.*
  61. Tomas, J.M., et al., *Role of capsule and O antigen in resistance of Klebsiella pneumoniae to serum bactericidal activity. Infect Immun, 1986. 54(1): p. 85-9.*
  62. Clements, A., et al., *The major surface-associated saccharides of Klebsiella pneumoniae contribute to host cell association. PLoS One, 2008. 3(11): p. e3817.*
  63. Alvarez, D., et al., *Capsular polysaccharide is a major complement resistance factor in lipopolysaccharide O side chain-deficient*

- Klebsiella pneumoniae* clinical isolates. Infect Immun, 2000. **68**(2): p. 953-5.
64. Llobet, E., et al., *Analysis of the networks controlling the antimicrobial-peptide-dependent induction of Klebsiella pneumoniae virulence factors*. Infect Immun, 2011. **79**(9): p. 3718-32.
  65. Hansen, D.S., et al., *Klebsiella pneumoniae lipopolysaccharide O typing: revision of prototype strains and O-group distribution among clinical isolates from different sources and countries*. J Clin Microbiol, 1999. **37**(1): p. 56-62.
  66. Cai, S., et al., *Both TRIF- and MyD88-dependent signaling contribute to host defense against pulmonary Klebsiella infection*. J Immunol, 2009. **183**(10): p. 6629-38.
  67. Standiford, L.R., et al., *TLR4-dependent GM-CSF protects against lung injury in Gram-negative bacterial pneumonia*. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2012. **302**(5): p. L447-54.
  68. Branger, J., et al., *Role of Toll-like receptor 4 in gram-positive and gram-negative pneumonia in mice*. Infect Immun, 2004. **72**(2): p. 788-94.
  69. Llobet, E., et al., *Deciphering tissue-induced Klebsiella pneumoniae lipid A structure*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2015. **112**(46): p. E6369-78.
  70. Clements, A., et al., *Secondary acylation of Klebsiella pneumoniae lipopolysaccharide contributes to sensitivity to antibacterial peptides*. J Biol Chem, 2007. **282**(21): p. 15569-77.
  71. Merle, N.S., et al., *Complement System Part II: Role in Immunity*. Front Immunol, 2015. **6**: p. 257.

72. Alberti, S., et al., *Analysis of complement C3 deposition and degradation on Klebsiella pneumoniae*. Infect Immun, 1996. **64**(11): p. 4726-32.
73. Shankar-Sinha, S., et al., *The Klebsiella pneumoniae O antigen contributes to bacteremia and lethality during murine pneumonia*. Infect Immun, 2004. **72**(3): p. 1423-30.
74. Di Martino, P., et al., *A new fimbrial antigen harbored by CAZ-5/SHV-4-producing Klebsiella pneumoniae strains involved in nosocomial infections*. Infect Immun, 1996. **64**(6): p. 2266-73.
75. Darfeuille-Michaud, A., et al., *R-plasmid-encoded adhesive factor in Klebsiella pneumoniae strains responsible for human nosocomial infections*. Infect Immun, 1992. **60**(1): p. 44-55.
76. Favre-Bonte, S., A. Darfeuille-Michaud, and C. Forestier, *Aggregative adherence of Klebsiella pneumoniae to human intestine-407 cells*. Infect Immun, 1995. **63**(4): p. 1318-28.
77. Stahlhut, S.G., et al., *Comparative structure-function analysis of mannose-specific FimH adhesins from Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli*. J Bacteriol, 2009. **191**(21): p. 6592-601.
78. Klemm, P. and M.A. Schembri, *Fimbriae-assisted bacterial surface display of heterologous peptides*. Int J Med Microbiol, 2000. **290**(3): p. 215-21.
79. Sebghati, T.A., et al., *Characterization of the type 3 fimbrial adhesins of Klebsiella strains*. Infect Immun, 1998. **66**(6): p. 2887-94.
80. Struve, C., M. Bojer, and K.A. Krogfelt, *Identification of a conserved chromosomal region encoding Klebsiella pneumoniae type 1 and type 3 fimbriae and assessment of the role of fimbriae in pathogenicity*. Infect Immun, 2009. **77**(11): p. 5016-24.

81. Struve, C., M. Bojer, and K.A. Krogfelt, *Characterization of Klebsiella pneumoniae type 1 fimbriae by detection of phase variation during colonization and infection and impact on virulence*. Infect Immun, 2008. **76**(9): p. 4055-65.
82. Tarkkanen, A.M., et al., *Binding of the type 3 fimbriae of Klebsiella pneumoniae to human endothelial and urinary bladder cells*. Infect Immun, 1997. **65**(4): p. 1546-9.
83. Wurker, M., et al., *Type of fimbriation determines adherence of Klebsiella bacteria to human epithelial cells*. Zentralbl Bakteriол, 1990. **274**(2): p. 239-45.
84. Hornick, D.B., et al., *Adherence to respiratory epithelia by recombinant Escherichia coli expressing Klebsiella pneumoniae type 3 fimbrial gene products*. Infect Immun, 1992. **60**(4): p. 1577-88.
85. Davies, D., *Understanding biofilm resistance to antibacterial agents*. Nat Rev Drug Discov, 2003. **2**(2): p. 114-22.
86. Stahlhut, S.G., et al., *Biofilm formation of Klebsiella pneumoniae on urethral catheters requires either type 1 or type 3 fimbriae*. FEMS Immunol Med Microbiol, 2012. **65**(2): p. 350-9.
87. Schroll, C., et al., *Role of type 1 and type 3 fimbriae in Klebsiella pneumoniae biofilm formation*. BMC Microbiol, 2010. **10**: p. 179.
88. Ramirez, P., G.L. Bassi, and A. Torres, *Measures to prevent nosocomial infections during mechanical ventilation*. Curr Opin Crit Care, 2012. **18**(1): p. 86-92.
89. Przondo-Mordarska, A., et al., *Chemiluminescence response of human polymorphonuclear leukocytes induced by purified, latex attached Klebsiella fimbriae*. Zentralbl Bakteriол, 1991. **275**(4): p. 521-9.

90. Carniel, E., *The Yersinia high-pathogenicity island: an iron-uptake island*. *Microbes Infect*, 2001. **3**(7): p. 561-9.
91. Miethke, M. and M.A. Marahiel, *Siderophore-based iron acquisition and pathogen control*. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2007. **71**(3): p. 413-51.
92. Bullen, J.J., H.J. Rogers, and L. Leigh, *Iron-binding proteins in milk and resistance to Escherichia coli infection in infants*. *Br Med J*, 1972. **1**(5792): p. 69-75.
93. Bullen, J.J., H.J. Rogers, and E. Griffiths, *Role of iron in bacterial infection*. *Curr Top Microbiol Immunol*, 1978. **80**: p. 1-35.
94. Bachman, M.A., et al., *Interaction of lipocalin 2, transferrin, and siderophores determines the replicative niche of Klebsiella pneumoniae during pneumonia*. *MBio*, 2012. **3**(6).
95. Brock, J.H., et al., *Relative availability of transferrin-bound iron and cell-derived iron to aerobactin-producing and enterochelin-producing strains of Escherichia coli and to other microorganisms*. *Infect Immun*, 1991. **59**(9): p. 3185-90.
96. Perry, R.D., et al., *Yersiniabactin from Yersinia pestis: biochemical characterization of the siderophore and its role in iron transport and regulation*. *Microbiology*, 1999. **145** ( Pt 5): p. 1181-90.
97. Podschun, R., et al., *Serotypes, hemagglutinins, siderophore synthesis, and serum resistance of Klebsiella isolates causing human urinary tract infections*. *J Infect Dis*, 1993. **168**(6): p. 1415-21.
98. Tarkkanen, A.M., et al., *Fimbriation, capsulation, and iron-scavenging systems of Klebsiella strains associated with human urinary tract infection*. *Infect Immun*, 1992. **60**(3): p. 1187-92.
99. El Fertas-Aissani, R., et al., *Virulence profiles and antibiotic susceptibility patterns of Klebsiella pneumoniae strains isolated*

- from different clinical specimens. Pathol Biol (Paris), 2013. 61(5): p. 209-16.*
100. Lawlor, M.S., C. O'Connor, and V.L. Miller, *Yersiniabactin is a virulence factor for Klebsiella pneumoniae during pulmonary infection. Infect Immun, 2007. 75(3): p. 1463-72.*
  101. Lai, Y.C., H.L. Peng, and H.Y. Chang, *Identification of genes induced in vivo during Klebsiella pneumoniae CG43 infection. Infect Immun, 2001. 69(11): p. 7140-5.*
  102. Cowland, J.B. and N. Borregaard, *Molecular characterization and pattern of tissue expression of the gene for neutrophil gelatinase-associated lipocalin from humans. Genomics, 1997. 45(1): p. 17-23.*
  103. Chan, Y.R., et al., *Lipocalin 2 is required for pulmonary host defense against Klebsiella infection. J Immunol, 2009. 182(8): p. 4947-56.*
  104. Nelson, A.L., et al., *Bacterial colonization of nasal mucosa induces expression of siderocalin, an iron-sequestering component of innate immunity. Cell Microbiol, 2005. 7(10): p. 1404-17.*
  105. Goetz, D.H., et al., *The neutrophil lipocalin NGAL is a bacteriostatic agent that interferes with siderophore-mediated iron acquisition. Mol Cell, 2002. 10(5): p. 1033-43.*
  106. Bachman, M.A., V.L. Miller, and J.N. Weiser, *Mucosal lipocalin 2 has pro-inflammatory and iron-sequestering effects in response to bacterial enterobactin. PLoS Pathog, 2009. 5(10): p. e1000622.*
  107. Bachman, M.A., et al., *Klebsiella pneumoniae yersiniabactin promotes respiratory tract infection through evasion of lipocalin 2. Infect Immun, 2011. 79(8): p. 3309-16.*
  108. Bach, S., A. de Almeida, and E. Carniel, *The Yersinia high-pathogenicity island is present in different members of the family Enterobacteriaceae. FEMS Microbiol Lett, 2000. 183(2): p. 289-94.*



109. Hsieh, P.F., et al., *Serum-induced iron-acquisition systems and TonB contribute to virulence in Klebsiella pneumoniae causing primary pyogenic liver abscess.* J Infect Dis, 2008. **197**(12): p. 1717-27.
110. Fischbach, M.A., et al., *The pathogen-associated iroA gene cluster mediates bacterial evasion of lipocalin 2.* Proc Natl Acad Sci U S A, 2006. **103**(44): p. 16502-7.
111. Fischbach, M.A., et al., *In vitro characterization of IroB, a pathogen-associated C-glycosyltransferase.* Proc Natl Acad Sci U S A, 2005. **102**(3): p. 571-6.
112. Vernet, V., et al., *Virulence factors (aerobactin and mucoid phenotype) in Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli blood culture isolates.* FEMS Microbiol Lett, 1995. **130**(1): p. 51-7.
113. Pichavant, M., et al., *Outer membrane protein A from Klebsiella pneumoniae activates bronchial epithelial cells: implication in neutrophil recruitment.* J Immunol, 2003. **171**(12): p. 6697-705.
114. Jeannin, P., et al., *Complexity and complementarity of outer membrane protein A recognition by cellular and humoral innate immunity receptors.* Immunity, 2005. **22**(5): p. 551-60.
115. Jeannin, P., et al., *Outer membrane protein A (OmpA): a new pathogen-associated molecular pattern that interacts with antigen presenting cells-impact on vaccine strategies.* Vaccine, 2002. **20 Suppl 4**: p. A23-7.
116. Hsieh, P.F., et al., *Klebsiella pneumoniae peptidoglycan-associated lipoprotein and murein lipoprotein contribute to serum resistance, antiphagocytosis, and proinflammatory cytokine stimulation.* J Infect Dis, 2013. **208**(10): p. 1580-9.

117. Chen, J.H., et al., *Contribution of outer membrane protein K36 to antimicrobial resistance and virulence in Klebsiella pneumoniae*. J Antimicrob Chemother, 2010. **65**(5): p. 986-90.
118. Shin, S.Y., et al., *Resistance to carbapenems in sequence type 11 Klebsiella pneumoniae is related to DHA-1 and loss of OmpK35 and/or OmpK36*. J Med Microbiol, 2012. **61**(Pt 2): p. 239-45.
119. Hernandez-Alles, S., et al., *Porin expression in clinical isolates of Klebsiella pneumoniae*. Microbiology, 1999. **145** ( Pt 3): p. 673-9.
120. Garcia-Fernandez, A., et al., *An ertapenem-resistant extended-spectrum-beta-lactamase-producing Klebsiella pneumoniae clone carries a novel OmpK36 porin variant*. Antimicrob Agents Chemother, 2010. **54**(10): p. 4178-84.
121. Chudackova, E., et al., *Carbapenem-nonsusceptible strains of Klebsiella pneumoniae producing SHV-5 and/or DHA-1 beta-lactamases in a Czech hospital*. FEMS Microbiol Lett, 2010. **309**(1): p. 62-70.
122. Mena, A., et al., *Characterization of a large outbreak by CTX-M-1-producing Klebsiella pneumoniae and mechanisms leading to in vivo carbapenem resistance development*. J Clin Microbiol, 2006. **44**(8): p. 2831-7.
123. Doumith, M., et al., *Molecular mechanisms disrupting porin expression in ertapenem-resistant Klebsiella and Enterobacter spp. clinical isolates from the UK*. J Antimicrob Chemother, 2009. **63**(4): p. 659-67.
124. Hernandez-Alles, S., et al., *Relationship between outer membrane alterations and susceptibility to antimicrobial agents in isogenic strains of Klebsiella pneumoniae*. J Antimicrob Chemother, 2000. **46**(2): p. 273-7.

125. Tsai, Y.K., et al., *Klebsiella pneumoniae* outer membrane porins *OmpK35* and *OmpK36* play roles in both antimicrobial resistance and virulence. *Antimicrob Agents Chemother*, 2011. **55**(4): p. 1485-93.
126. Padilla, E., et al., *Klebsiella pneumoniae* *AcrAB* efflux pump contributes to antimicrobial resistance and virulence. *Antimicrob Agents Chemother*, 2010. **54**(1): p. 177-83.
127. Wang, X., et al., *Genetic characterisation of clinical Klebsiella pneumoniae* isolates with reduced susceptibility to tigecycline: Role of the global regulator *RamA* and its local repressor *RamR*. *Int J Antimicrob Agents*, 2015. **45**(6): p. 635-40.
128. Bialek-Davenet, S., et al., *Differential contribution of AcrAB and OqxAB efflux pumps to multidrug resistance and virulence in Klebsiella pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother*, 2015. **70**(1): p. 81-8.
129. Fang, C.T., et al., *Klebsiella pneumoniae* genotype *K1*: an emerging pathogen that causes septic ocular or central nervous system complications from pyogenic liver abscess. *Clin Infect Dis*, 2007. **45**(3): p. 284-93.
130. Jung, S.W., et al., *Microbiological and clinical characteristics of bacteraemia caused by the hypermucoviscosity phenotype of Klebsiella pneumoniae in Korea*. *Epidemiol Infect*, 2013. **141**(2): p. 334-40.
131. Akova, M., et al., *Interventional strategies and current clinical experience with carbapenemase-producing Gram-negative bacteria*. *Clin Microbiol Infect*, 2012. **18**(5): p. 439-48.
132. Gutierrez-Gutierrez, B., et al., *A Predictive Model of Mortality in Patients With Bloodstream Infections due to Carbapenemase-*

- Producing Enterobacteriaceae*. Mayo Clin Proc, 2016. **91**(10): p. 1362-1371.
133. Kumar, A., et al., *Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock*. Crit Care Med, 2006. **34**(6): p. 1589-96.
134. Rhodes, A., et al., *Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016*. Intensive Care Med, 2017. **43**(3): p. 304-377.
135. Petrosillo, N., et al., *Management of antibiotic resistance in the intensive care unit setting*. Expert Rev Anti Infect Ther, 2010. **8**(3): p. 289-302.
136. Kumar, A., et al., *A survival benefit of combination antibiotic therapy for serious infections associated with sepsis and septic shock is contingent only on the risk of death: a meta-analytic/meta-regression study*. Crit Care Med, 2010. **38**(8): p. 1651-64.
137. Mouton, J.W., et al., *Use of pharmacodynamic indices to predict efficacy of combination therapy in vivo*. Antimicrob Agents Chemother, 1999. **43**(10): p. 2473-8.
138. Lister, P.D. and D.J. Wolter, *Levofloxacin-imipenem combination prevents the emergence of resistance among clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa*. Clin Infect Dis, 2005. **40 Suppl 2**: p. S105-14.
139. Lister, P.D., et al., *Levofloxacin/imipenem prevents the emergence of high-level resistance among Pseudomonas aeruginosa strains already lacking susceptibility to one or both drugs*. J Antimicrob Chemother, 2006. **57**(5): p. 999-1003.
140. Tamma, P.D., S.E. Cosgrove, and L.L. Maragakis, *Combination therapy for treatment of infections with gram-negative bacteria*. Clin Microbiol Rev, 2012. **25**(3): p. 450-70.

141. Gutierrez-Gutierrez, B., et al., *Effect of appropriate combination therapy on mortality of patients with bloodstream infections due to carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (INCREMENT): a retrospective cohort study*. Lancet Infect Dis, 2017. **17**(7): p. 726-734.
142. Harris, P.N.A., et al., *Geographical variation in therapy for bloodstream infections due to multidrug-resistant enterobacteriaceae: a post hoc analysis of the INCREMENT study*. Int J Antimicrob Agents, 2017.
143. Roberts, J.A. and J. Lipman, *Editorial commentary: Closing the loop--a colistin clinical study to confirm dosing recommendations from PK/PD modeling*. Clin Infect Dis, 2012. **54**(12): p. 1727-9.
144. Borer, A., et al., *Attributable mortality rate for carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae bacteremia*. Infect Control Hosp Epidemiol, 2009. **30**(10): p. 972-6.
145. Benenson, S., et al., *Carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae endocarditis in a young adult. Successful treatment with gentamicin and colistin*. Int J Infect Dis, 2009. **13**(5): p. e295-8.
146. Weisenberg, S.A., et al., *Clinical outcomes of patients with Klebsiella pneumoniae carbapenemase-producing K. pneumoniae after treatment with imipenem or meropenem*. Diagn Microbiol Infect Dis, 2009. **64**(2): p. 233-5.
147. Michalopoulos, A., et al., *Intravenous fosfomycin for the treatment of nosocomial infections caused by carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae in critically ill patients: a prospective evaluation*. Clin Microbiol Infect, 2010. **16**(2): p. 184-6.
148. Humphries, R.M., et al., *Successful treatment of pan-resistant Klebsiella pneumoniae pneumonia and bacteraemia with a*

- combination of high-dose tigecycline and colistin. J Med Microbiol, 2010. 59(Pt 11): p. 1383-6.*
149. Orsi, G.B., et al., *Risk factors and clinical significance of ertapenem-resistant Klebsiella pneumoniae in hospitalised patients. J Hosp Infect, 2011. 78(1): p. 54-8.*
  150. Hirsch, E.B. and V.H. Tam, *Detection and treatment options for Klebsiella pneumoniae carbapenemases (KPCs): an emerging cause of multidrug-resistant infection. J Antimicrob Chemother, 2010. 65(6): p. 1119-25.*
  151. Le, J., et al., *In vitro activity of carbapenems alone and in combination with amikacin against KPC-producing Klebsiella pneumoniae. J Clin Med Res, 2011. 3(3): p. 106-10.*
  152. Souli, M., et al., *Does the activity of the combination of imipenem and colistin in vitro exceed the problem of resistance in metallo-beta-lactamase-producing Klebsiella pneumoniae isolates? Antimicrob Agents Chemother, 2009. 53(5): p. 2133-5.*
  153. Pankey, G.A. and D.S. Ashcraft, *Detection of synergy using the combination of polymyxin B with either meropenem or rifampin against carbapenemase-producing Klebsiella pneumoniae. Diagn Microbiol Infect Dis, 2011. 70(4): p. 561-4.*
  154. Jernigan, M.G., et al., *The combination of doripenem and colistin is bactericidal and synergistic against colistin-resistant, carbapenemase-producing Klebsiella pneumoniae. Antimicrob Agents Chemother, 2012. 56(6): p. 3395-8.*
  155. Wiskirchen, D.E., et al., *In vitro pharmacodynamics of simulated pulmonary exposures of tigecycline alone and in combination against Klebsiella pneumoniae isolates producing a KPC carbapenemase. Antimicrob Agents Chemother, 2011. 55(4): p. 1420-7.*

156. Pournaras, S., et al., *Activity of tigecycline alone and in combination with colistin and meropenem against Klebsiella pneumoniae carbapenemase (KPC)-producing Enterobacteriaceae strains by time-kill assay*. Int J Antimicrob Agents, 2011. **37**(3): p. 244-7.
157. Petersen, P.J., et al., *In vitro antibacterial activities of tigecycline in combination with other antimicrobial agents determined by checkerboard and time-kill kinetic analysis*. J Antimicrob Chemother, 2006. **57**(3): p. 573-6.
158. Souli, M., et al., *In vitro interactions of antimicrobial combinations with fosfomycin against KPC-2-producing Klebsiella pneumoniae and protection of resistance development*. Antimicrob Agents Chemother, 2011. **55**(5): p. 2395-7.
159. Samonis, G., et al., *Synergy of fosfomycin with carbapenems, colistin, netilmicin, and tigecycline against multidrug-resistant Klebsiella pneumoniae, Escherichia coli, and Pseudomonas aeruginosa clinical isolates*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2012. **31**(5): p. 695-701.
160. Bulik, C.C. and D.P. Nicolau, *Double-carbapenem therapy for carbapenemase-producing Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother, 2011. **55**(6): p. 3002-4.
161. Elemam, A., J. Rahimian, and M. Doymaz, *In vitro evaluation of antibiotic synergy for polymyxin B-resistant carbapenemase-producing Klebsiella pneumoniae*. J Clin Microbiol, 2010. **48**(10): p. 3558-62.
162. Bratu, S., et al., *Carbapenemase-producing Klebsiella pneumoniae in Brooklyn, NY: molecular epidemiology and in vitro activity of polymyxin B and other agents*. J Antimicrob Chemother, 2005. **56**(1): p. 128-32.

163. Tumbarello, M., et al., *Predictors of mortality in bloodstream infections caused by Klebsiella pneumoniae carbapenemase-producing K. pneumoniae: importance of combination therapy*. Clin Infect Dis, 2012. **55**(7): p. 943-50.
164. Daikos, G.L., et al., *Carbapenemase-producing Klebsiella pneumoniae bloodstream infections: lowering mortality by antibiotic combination schemes and the role of carbapenems*. Antimicrob Agents Chemother, 2014. **58**(4): p. 2322-8.
165. Daikos, G.L. and A. Markogiannakis, *Carbapenemase-producing Klebsiella pneumoniae: (when) might we still consider treating with carbapenems?* Clin Microbiol Infect, 2011. **17**(8): p. 1135-41.
166. Yan, J.J., et al., *Outbreak of infection with multidrug-resistant Klebsiella pneumoniae carrying bla(IMP-8) in a university medical center in Taiwan*. J Clin Microbiol, 2001. **39**(12): p. 4433-9.
167. Mathers, A.J., et al., *Fatal cross infection by carbapenem-resistant Klebsiella in two liver transplant recipients*. Transpl Infect Dis, 2009. **11**(3): p. 257-65.
168. Lomaestro, B.M., et al., *The spread of Klebsiella pneumoniae carbapenemase-producing K. pneumoniae to upstate New York*. Clin Infect Dis, 2006. **43**(3): p. e26-8.
169. Daikos, G.L., et al., *VIM-1-producing Klebsiella pneumoniae bloodstream infections: analysis of 28 cases*. Int J Antimicrob Agents, 2007. **29**(4): p. 471-3.
170. Daikos, G.L., et al., *Prospective observational study of the impact of VIM-1 metallo-beta-lactamase on the outcome of patients with Klebsiella pneumoniae bloodstream infections*. Antimicrob Agents Chemother, 2009. **53**(5): p. 1868-73.
171. Endimiani, A., et al., *Presence of plasmid-mediated quinolone resistance in Klebsiella pneumoniae isolates possessing blaKPC in*



- the United States*. Antimicrob Agents Chemother, 2008. **52**(7): p. 2680-2.
172. Wei, Z.Q., et al., *Plasmid-mediated KPC-2 in a Klebsiella pneumoniae isolate from China*. Antimicrob Agents Chemother, 2007. **51**(2): p. 763-5.
173. Lee, N.Y., et al., *Clinical experiences of bacteremia caused by metallo-beta-lactamase-producing gram-negative organisms*. J Microbiol Immunol Infect, 2004. **37**(6): p. 343-9.
174. Mouloudi, E., et al., *Bloodstream infections caused by metallo-beta-lactamase/Klebsiella pneumoniae carbapenemase-producing K. pneumoniae among intensive care unit patients in Greece: risk factors for infection and impact of type of resistance on outcomes*. Infect Control Hosp Epidemiol, 2010. **31**(12): p. 1250-6.
175. Daly, M.W., et al., *Tigecycline for treatment of pneumonia and empyema caused by carbapenemase-producing Klebsiella pneumoniae*. Pharmacotherapy, 2007. **27**(7): p. 1052-7.
176. Souli, M., et al., *Clinical experience of serious infections caused by Enterobacteriaceae producing VIM-1 metallo-beta-lactamase in a Greek University Hospital*. Clin Infect Dis, 2008. **46**(6): p. 847-54.
177. Souli, M., et al., *An outbreak of infection due to beta-Lactamase Klebsiella pneumoniae Carbapenemase 2-producing K. pneumoniae in a Greek University Hospital: molecular characterization, epidemiology, and outcomes*. Clin Infect Dis, 2010. **50**(3): p. 364-73.
178. Nadkarni, A.S., et al., *Cluster of bloodstream infections caused by KPC-2 carbapenemase-producing Klebsiella pneumoniae in Manhattan*. Am J Infect Control, 2009. **37**(2): p. 121-6.

179. Raymond, D.P., et al., *Impact of antibiotic-resistant Gram-negative bacilli infections on outcome in hospitalized patients*. Crit Care Med, 2003. **31**(4): p. 1035-41.
180. Gupta, N., et al., *Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: epidemiology and prevention*. Clin Infect Dis, 2011. **53**(1): p. 60-7.
181. Garner, J.S., et al., *CDC definitions for nosocomial infections, 1988*. Am J Infect Control, 1988. **16**(3): p. 128-40.
182. Zarkotou, O., et al., *Predictors of mortality in patients with bloodstream infections caused by KPC-producing Klebsiella pneumoniae and impact of appropriate antimicrobial treatment*. Clin Microbiol Infect, 2011. **17**(12): p. 1798-803.
183. Tsakris, A., et al., *Evaluation of boronic acid disk tests for differentiating KPC-possessing Klebsiella pneumoniae isolates in the clinical laboratory*. J Clin Microbiol, 2009. **47**(2): p. 362-7.
184. Franklin, C., L. Liolios, and A.Y. Peleg, *Phenotypic detection of carbapenem-susceptible metallo-beta-lactamase-producing gram-negative bacilli in the clinical laboratory*. J Clin Microbiol, 2006. **44**(9): p. 3139-44.
185. Tablan, O.C., et al., *Guidelines for preventing health-care-associated pneumonia, 2003: recommendations of CDC and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee*. MMWR Recomm Rep, 2004. **53**(RR-3): p. 1-36.
186. Patel, G., et al., *Outcomes of carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae infection and the impact of antimicrobial and adjunctive therapies*. Infect Control Hosp Epidemiol, 2008. **29**(12): p. 1099-106.
187. Hussein, K., et al., *Carbapenem resistance among Klebsiella pneumoniae isolates: risk factors, molecular characteristics, and*

- susceptibility patterns*. Infect Control Hosp Epidemiol, 2009. **30**(7): p. 666-71.
188. Kritsotakis, E.I., et al., *Antibiotic use and the risk of carbapenem-resistant extended-spectrum- $\beta$ -lactamase-producing Klebsiella pneumoniae infection in hospitalized patients: results of a double case-control study*. J Antimicrob Chemother, 2011. **66**(6): p. 1383-91.
189. Daikos, G.L., et al., *Risk factors for bloodstream infection with Klebsiella pneumoniae producing VIM-1 metallo- $\beta$ -lactamase*. J Antimicrob Chemother, 2010. **65**(4): p. 784-8.
190. Falagas, M.E., et al., *Risk factors of carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae infections: a matched case control study*. J Antimicrob Chemother, 2007. **60**(5): p. 1124-30.
191. *Abstracts of ESICM LIVES 2011, the 24th Annual Congress of the European Society of Intensive Care Medicine. October 1-5, 2011. Berlin Germany*. Intensive Care Med, 2011. **37 Suppl 1**: p. S6-314.
192. Michalopoulos, A.S. and M.E. Falagas, *Colistin: recent data on pharmacodynamics properties and clinical efficacy in critically ill patients*. Ann Intensive Care, 2011. **1**(1): p. 30.
193. Ziaka, M., et al., *Combined intravenous and intraventricular administration of colistin methanesulfonate in critically ill patients with central nervous system infection*. Antimicrob Agents Chemother, 2013. **57**(4): p. 1938-40.
194. Katsios, C.M., et al., *An antimicrobial stewardship program improves antimicrobial treatment by culture site and the quality of antimicrobial prescribing in critically ill patients*. Crit Care, 2012. **16**(6): p. R216.

195. De Waele, J.J., J. Schouten, and G. Dimopoulos, *Understanding antibiotic stewardship for the critically ill*. Intensive Care Med, 2016. **42**(12): p. 2063-2065.
196. Benoit, D.D., G. Doig, and J.F. Timsit, *Focus on adequate antimicrobial treatment and de-escalation in the ICU*. Intensive Care Med, 2016. **42**(12): p. 1856-1858.
197. Leone, M., et al., *De-escalation versus continuation of empirical antimicrobial treatment in severe sepsis: a multicenter non-blinded randomized noninferiority trial*. Intensive Care Med, 2014. **40**(10): p. 1399-408.
198. Leone, M., C. Bechis, and K. Baumstarck, *De-escalation in severe sepsis: still an important part of our armamentarium against antimicrobial resistance, of course!* Intensive Care Med, 2014. **40**(10): p. 1619.
199. Vincent, J.L., et al., *Rapid Diagnosis of Infection in the Critically Ill, a Multicenter Study of Molecular Detection in Bloodstream Infections, Pneumonia, and Sterile Site Infections*. Crit Care Med, 2015. **43**(11): p. 2283-91.
200. O'Dwyer, M.J., et al., *The detection of microbial DNA but not cultured bacteria is associated with increased mortality in patients with suspected sepsis-a prospective multi-centre European observational study*. Clin Microbiol Infect, 2017. **23**(3): p. 208 e1-208 e6.
201. Polito, A., et al., *Perioperative factors associated with prolonged mechanical ventilation after complex congenital heart surgery*. Pediatr Crit Care Med, 2011. **12**(3): p. e122-6.
202. Gasink, L.B., et al., *Risk factors and clinical impact of Klebsiella pneumoniae carbapenemase-producing K. pneumoniae*. Infect Control Hosp Epidemiol, 2009. **30**(12): p. 1180-5.

203. Nseir, S., et al., *Intensive Care Unit-acquired infection as a side effect of sedation*. Crit Care, 2010. **14**(2): p. R30.
204. Borer, A., et al., *Risk factors for developing clinical infection with carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae in hospital patients initially only colonized with carbapenem-resistant K pneumoniae*. Am J Infect Control, 2012. **40**(5): p. 421-5.
205. Kwak, Y.G., et al., *Risk factors for the acquisition of carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae among hospitalized patients*. Microb Drug Resist, 2005. **11**(2): p. 165-9.
206. Sanchez-Romero, I., et al., *Nosocomial outbreak of VIM-1-producing Klebsiella pneumoniae isolates of multilocus sequence type 15: molecular basis, clinical risk factors, and outcome*. Antimicrob Agents Chemother, 2012. **56**(1): p. 420-7.
207. Liu, S.W., et al., *Outcomes and characteristics of ertapenem-nonsusceptible Klebsiella pneumoniae bacteremia at a university hospital in Northern Taiwan: a matched case-control study*. J Microbiol Immunol Infect, 2012. **45**(2): p. 113-9.



## **IV. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ**





## Clinical Study

# Risk Factors for the First Episode of *Klebsiella pneumoniae* Resistant to Carbapenems Infection in Critically Ill Patients: A Prospective Study

**Konstantinos Mantzarlis, Demosthenes Makris, Efstratios Manoulakas, Marios Karvouniaris, and Epaminondas Zakynthinos**

Department of Critical Care, School of Medicine, University of Thessaly, University Hospital of Larissa, 41110 Thessaly, Greece

Correspondence should be addressed to Demosthenes Makris; [appollon7@hotmail.com](mailto:appollon7@hotmail.com)

Received 30 April 2013; Revised 12 August 2013; Accepted 2 October 2013

Academic Editor: Saad Nseir

Copyright © 2013 Konstantinos Mantzarlis et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

**Objective.** To identify risk factors for the first episode of *Klebsiella Pneumonia* resistant to carbapenems (KPRC) infection in critically ill patients. **Design, Setting, and Methods.** This prospective cohort study was conducted in a 12-bed general Intensive Care Unit (ICU) in a University Hospital on ICU patients who required mechanical ventilation (MV) for >48 hours during a 12-month period. Clinical and microbiologic data were studied. Characteristics of KPRC patients were compared with those of critically ill patients who presented nonmultidrug resistant (MDR) bacterial infections or no documented infection at all. **Results.** Twenty-five patients presented KPRC infection, 18 presented non-MDR bacterial infection, and 39 patients presented no infection. Compared to patients without documented infection or infected by non MDR bacteria, patients with KPRC infection had received more frequently or for longer duration antibiotics against Gram-negative bacteria (carbapenems, colistin  $P < 0.05$ ). Duration of colistin administration prior to KPRC isolation was independently associated with increased frequency of KPRC infection (odds ratio, 1.156 per day; 95% confidence interval, 1.010 to 1.312;  $P = 0.025$ ). KPRC patients stayed longer in the ICU and received mechanical ventilation and sedation for longer periods and presented increased mortality ( $P < 0.05$ ). **Conclusion.** KPRC infection is an emerging problem which might be more common in patients with previous use of antibiotics and especially colistin.

## 1. Introduction

The management of multidrug resistant (MDR) bacterial infections in the Intensive Care Unit (ICU) is a challenging issue for both physicians and infection control teams. In the United States, Gram-negative bacteria (GNB) account for about 70% of these types of infections in the ICU setting [1] and are associated with significant morbidity and mortality [2]. At the same time, GNB resistance to antibiotics is growing over the years and has become an emerging concern in critical care [3] since the antimicrobial options are very restricted [4].

*Klebsiella pneumoniae* resistant to carbapenems (KPRC) infection is one of the most threatening GNB [5] and unfortunately is rapidly spreading between countries [6–11]. Despite these challenges, there is only a few evidence-based data regarding the risk factors associated with increased frequency of KPRC infection.

In the present prospective study, we aimed to identify possible risk factors for KPRC infection in the critical care setting. These assessments might be crucial in implementing efficient infection control measures to limit the spread of these pathogens and to develop effective strategies for prevention.

## 2. Patients and Methods

This prospective cohort study was conducted in a 12-bed ICU in the University Hospital of Larissa, Thessaly, during a 12-month period, between 2011 and 2012. Inclusion criteria were (a) admission in the ICU for medical or surgical causes and (b) intubation and mechanical ventilation for >48 hours. Exclusion criteria were (a) age <18 years old, (b) pregnancy, (c) ICU readmission, (c) other MDR infections,

and (d) multiple bacterial infections. The first episode of KPRC infection was accounted. Patients with KPRC infection were compared with patients who were ventilated >48 h and presented either non-MDR bacterial infection or no infection at all. Institutional review board approved the study that was conducted in accordance with current institutional regulations.

**2.1. Outcome.** Identification of risk factors for the first episode of KPRC infection in ICU was the primary outcome in this study.

**2.2. Definitions.** KPRC was defined according to the revised Minimum Inhibitory Concentration (MIC) breakpoints as previously described [12]. KPRC infection was defined as clinical manifestation of infection which was microbiologically confirmed by isolation of KPRC in cultured material. Definition of ventilator associated pneumonia (VAP) included the presence of new or progressive radiographic infiltrate associated with two of the three following criteria: (1) temperature >38.5°C or <36.5°C, (2) leukocyte count >10000/ $\mu$ L or <1500/ $\mu$ L, and (3) purulent tracheal aspirate. In addition, a positive tracheal aspirate in quantitative cultures ( $\geq 10^5$  cfu/mL) or a positive bronchoalveolar lavage culture ( $\geq 10^4$  cfu/mL) was required to confirm the diagnosis. Blood stream infection and catheter associated urinary tract infection were defined according to Center of Disease Control (CDC) criteria [13, 14]. Isolation of KPRC in biological samples without criteria for clinical infection was considered as colonization. We considered as immunocompromised any patient who was transplanted or received immunosuppressive agents, including corticosteroids. Tracheal aspirate or other type of cultures were quantitative except blood cultures. We considered non-MDR bacteria strains susceptible to the next three antibiotic categories: third generation cephalosporins, antipseudomonal penicillins and quinolones [15]. Previous hospitalization was defined as admission to hospital or other health care facilities for >48 h during the last three months. Appropriate empirical antimicrobial treatment referred to administration at least one of in vitro active antimicrobials against the study isolates within 24 hrs from infection onset. Appropriate definitive treatment was considered as the administration of in vitro active antibiotics for at least 48 hrs [16].

**2.3. Clinical Assessment.** For all study patients, the following characteristics were prospectively recorded: age, sex, illness severity based on Acute Physiology and Chronic Health Evaluation Score II (APACHE II), Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) score at admission, type of admission (transfer to the ICU from a ward/emergency department), history of hospitalization during the last 3 months before current admission, history of invasive procedures (gastroscopy, colonoscopy, or bronchoscopy) or surgery, medical history, history of antibiotic use and type and duration of antibiotics used, and corticosteroid treatment during ICU stay. For survivors and nonsurvivors, several characteristics that might affect mortality were recorded: age, sex, severity of illness, comorbidities, invasive procedures, appropriate antibiotic

treatment, total duration of mechanical ventilation (MV) and sedation, and KPRC infection.

**2.4. Microbiology.** Identification and susceptibility testing of *K. pneumoniae* blood isolates were performed by the Vitek 2 automated system (bioMerieux, Marcy l' Etoile, France). Phenotypic screening for carbapenemases was performed for all isolates exhibiting reduced susceptibility to carbapenems (MIC>1  $\mu$ g/mL) by using the modified Hodge test and the combined disk tests using carbapenems with and without EDTA or boronic acid [17, 18].

**2.5. Management of Infection and Infection Control Policy.** Nature and duration of treatment for each infection were at physicians' discretion. Infection control policy included isolation techniques in patients with MDR bacteria and continuous surveillance of nosocomial infections. Sedation and ventilator weaning procedures were standard throughout the whole study period; the common policy for sedation in our unit includes mainly remifentanyl/propofol/midazolam, and sedation regimens were at physicians' discretion throughout the study. Our unit practices the respiratory bundle suggested by the CDC [19] unless contraindicated. Oral decontamination was performed daily with the use of chlorhexidine, while prophylactic local antibiotics as part of Selective Oropharyngeal or Selective Digestive Decontamination (SDD) was not applied. Surveillance cultures (nasal, oral, rectal, and tracheal aspirate) were performed routinely on admission and once weekly. Blood counts and biochemical measurements were performed daily.

**2.6. Statistical Analysis.** Results are presented as frequency (%) for qualitative variables or median (25th and 75th quartiles) for quantitative variables. Normality of data distribution was assessed by Kolmogorov Smirnov test. Qualitative variables were compared using Chi-square test or Fisher's exact test where appropriate; quantitative variables were compared by one way ANOVA (Bonferroni post hoc test). Multivariate analyses were performed to determine variables associated with KPRC infection or mortality. Only those variables which were significantly associated with KPRC infection or mortality in the univariate analysis were entered in the stepwise logistic regression models. For KPRC infection, analysis was performed between two groups (patients with KPRC and all other patients); colistin duration, MV, invasive procedures were assessed as risk factors for KPRC infection. Exposure to potential risk factors was taken into account only before diagnosis of KPRC infection. Patients with KPRC colonization were not included in analysis. Mortality analysis was performed between two groups (survivors and nonsurvivors); age, invasive procedures, total duration of sedation and MV, medical cause of admission, and KPRC infection were assessed as risk factors. SPSS software (SPSS 17.0, Chicago, IL) was used for data analysis.

### 3. Results

A total of 280 patients were studied (Figure 1). There were 25 (8.9%) cases of KPRC infection which included 16 (65.4%)

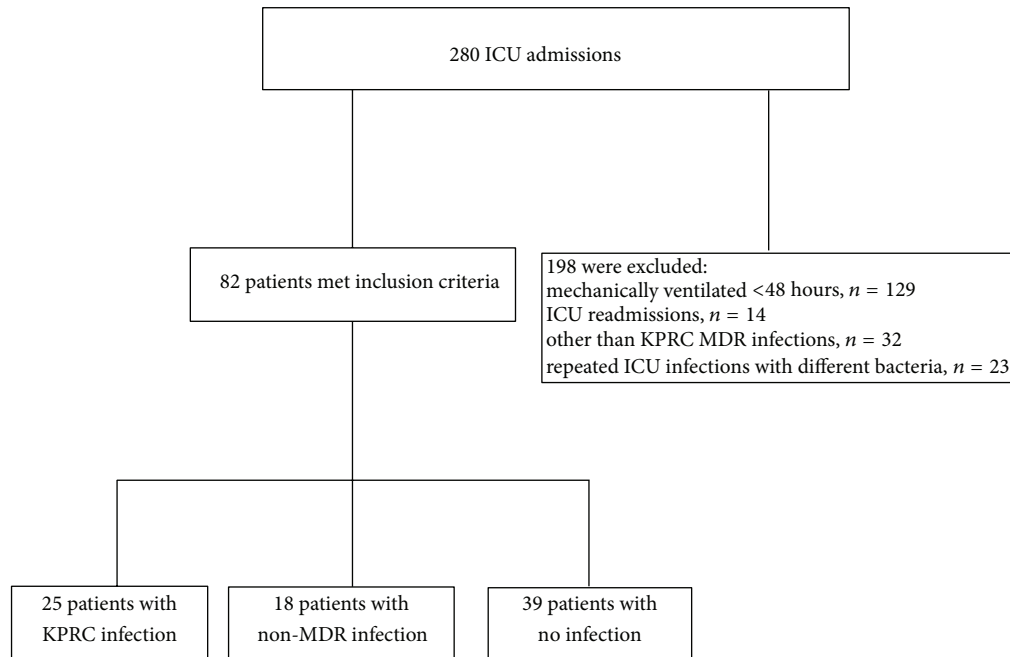


FIGURE 1: Flow chart of the study.

bloodstream infections, 6 (23%) respiratory infections, 2 (7.7%) urinary tract infections, and 1 (3.8%) central nervous system (CNS) infection. The 18 non-MDR bacterial infection cases included 2 cases with *Escherichia coli*, 5 cases with *Methicilline Sensitive Staphylococcus aureus*, 1 case with *Staphylococcus epidermidis*, 1 case with *Streptococcus pneumoniae*, 2 cases with *Klebsiella pneumonia*, 2 cases with *Enterococcus faecalis*, 2 cases with *Pseudomonas aeruginosa*, 1 case with *Enterobacter cloacae*, 1 case with *Proteus mirabilis*, and 1 case with *Serratia marcescens*. KPRC was isolated at mean (SE) 13.1 (1.9) ICU days and non-MDR bacteria at 6.78 (1.756) ICU days. From the other 55 patients who presented infections with MDR pathogens other than KPRC, 32 were infected with *Acinetobacter baumannii* and the rest had multibacterial infections. The percentage of the uninfected patients which were colonized with bacteria in the study period was estimated up to 39.5%; the percentage of uninfected patients with KPRC colonization was up to 6.9%. Characteristics of participants are presented in Tables 1–3.

**3.1. Risk Factors for KPRC Infection.** Baseline characteristics between groups are not significantly different and are presented in Table 1. Prior use and the duration of administration of specific antibiotics, the duration of MV, and the performance of invasive procedures were significantly associated with KPRC infection (Tables 2 and 3). Patients with KPRC infection received carbapenems and colistin for longer duration and carbapenems more frequently (odds ratio (OR) 95%; confidence interval (CI) 5.42 (1.25–23.49)) prior to infection compared to patients who presented non-MDR infection (Table 3). Patients with KPRC infection received colistin more frequently (4.24 (1.43–12.56)) and for longer period (days) compared to patients who presented no

documented infection (Table 3). In addition, KPRC patients had received MV for longer periods before pathogen isolation compared to the other two groups, and they underwent more frequently invasive procedures (Table 2). Inappropriate empirical treatment was associated more frequently with KPRC infection (Table 3).

Multivariate analysis revealed that colistin duration of administration was an independent risk factor for KPRC infection (OR (95%CI) 1.15 (1.02–1.31) per day of administration) ( $P = 0.025$ ).

**3.2. Mortality and Morbidity Indices in Patients with KPRC Infection.** KPRC patients in comparison with patients who presented no documented infection had longer ICU stay, mortality (4.35 (1.5–12.7)), and total duration of mechanical ventilation and sedation (Table 4). Survivors compared to non-survivors had younger age (Table 5), received MV or sedation for shorter duration and underwent less frequently invasive procedures (0.16 (0.03–0.8)) while they were more likely admitted due to surgical and nonmedical causes (0.33 (0.13–0.8)) and presented less frequently KPRC infection (3.25 (1.2–8.6)).

Multivariate analysis showed that age (years) (1.048 (1.006–1.093)) ( $P = 0.023$ ) and immunodeficiency (25.22 (1.94–327.19)) ( $P = 0.014$ ) were independent risk factors for ICU mortality.

## 4. Discussion

In the present study, we aimed to identify clinical risk factors for the first episode of KPRC infection in ICU. Our findings suggest that KPRC infection was associated with the prior use of antibiotics, in particular carbapenems and most notably

TABLE 1: Baseline characteristics of participants.

	KPRC (N = 25)	P*	Non-MDR bacterial infection (N = 18)	P#	No bacteria group (N = 39)	P#
Sex (male)	14 (56)	0.328	8 (44.4)	0.199	26 (66.7)	0.436
Age (years)	62 (50, 69)	0.150	47 (32, 62)	0.229	62 (40, 76)	0.245
Medical patients	14 (56)	0.597	8 (44)	0.223	17 (43.6)	0.443
Diagnosis during admission						
Sepsis	3 (12)	0.590	3 (17)	0.683	3 (8)	0.671
Neurological disease	4 (16)	0.201	1 (5)	0.127	6 (15)	1.0
Pancreatitis	2 (8)	0.223	0 (0)	1.0	0 (0)	0.149
ARDS	4 (16)	0.277	1 (6)	0.380	2 (5)	0.199
Neurosurgical disease	5 (20)	0.587	4 (22)	1.0	12 (31)	0.397
Abdominal surgery	3 (12)	0.773	1 (5)	0.628	4 (10)	1.0
Trauma patients	2 (8)	0.656	3 (17)	0.634	4 (10)	1.0
Other	2 (8)	0.225	5 (28)	0.110	8 (21)	0.292
APACHE II score	15 (12, 20)	0.204	13 (10, 19)	0.886	15 (10, 18)	0.230
SOFA score	7 (4, 8)	0.768	7 (6, 9)	1.0	7 (5, 9)	1.0
Hospitalization in the last 3 months	6 (24)	0.157	1 (5.6)	0.209	4 (10.3)	0.170
Admission from emergency department	15 (60)	0.355	7 (38.9)	0.223	18 (46.2)	0.315
Diabetes mellitus	5 (20.8)	0.156	2 (11.1)	0.679	2 (5.1)	0.095
Chronic lung disease	2 (8.3)	0.665	3 (16.7)	0.636	6 (15.4)	0.699
Chronic heart disease	7 (29.2)	0.570	4 (22.2)	0.731	14 (35.9)	0.784
Chronic renal failure	2 (8.3)	0.320	0 (0)	0.498	1 (2.6)	0.552
Neurological disease	9 (37.5)	0.108	4 (22.2)	0.333	20 (51.3)	0.311
Chronic liver disease	2 (8.3)	0.585	1 (5.6)	1.0	1 (2.6)	0.552
Malignancy	2 (8.3)	0.401	2 (11.1)	1.0	1 (2.6)	0.552
Immunodeficiency	2 (8.3)	0.940	1 (5.6)	1.0	3 (7.7)	1.0

Data are presented as median (25% and 75% quartiles) or *n* (%); KPRC: *Klebsiella pneumoniae* resistant to carbapenems; MDR: multidrug resistant bacteria; APACHE: Acute Physiology and Chronic Health Evaluation; SOFA: Sequential Organ Failure Assessment; ARDS: Acute respiratory distress syndrome; P\*: comparison between three groups; P#: KPRC versus non-MDR group, KPRC versus no bacteria group. Results are by univariate analysis.

TABLE 2: Clinical characteristics of participants in the ICU before KPRC or non-MDR infection.

	KPRC (N = 25)	P*	Non MDR bacterial infection (N = 18)	P#	No bacteria group (N = 39)	P#
MV duration (days)	10 (5, 19)	0.003	5 (2, 8)	0.005	7 (4, 11)	0.021
Surgical operation	15 (60)	0.852	12 (66.7)	0.735	23 (59)	1.0
Invasive procedures	6 (24)	0.044	1 (5.6)	0.209	2 (5.1)	0.048
Catheterization of urinary bladder prior ICU admission	1 (4)	0.850	1 (5.6)	1.0	1 (2.6)	1.0
Tracheotomy	7 (28)	0.403	2 (11.1)	0.283	8 (20.5)	1.0
Sedation	22 (88)	0.252	18 (100)	0.252	37 (95)	0.371
CVVHDF use	4 (16)	0.781	2 (11.1)	1.0	4 (10.3)	0.701
CVVHDF duration (days)	0 (0, 0)	0.179	0 (0, 0)	0.396	0 (0, 0)	0.271
Corticosteroids (mg of hydrocortisone/day)	0 (0, 1)	0.936	0 (0, 0)	1.0	0 (0, 0)	1.0

Data are presented as median (25% and 75% quartiles) or *n* (%); KPRC: *Klebsiella pneumoniae* resistant to carbapenems; MDR: multidrug resistant bacteria; MV: mechanical ventilation; ICU: Intensive Care Unit; CVVHDF: Continuous veno-venous hemodiafiltration; invasive procedures, gastroscopy, colonoscopy, or bronchoscopy; P\*: comparison between three groups; P#: KPRC versus non-MDR group, KPRC versus no bacteria group. Results are by univariate analysis.

TABLE 3: Antibiotic treatment administered to participants.

	KPRC (N = 25)	P*	Non-MDR bacterial infection (N = 18)	P#	No bacteria group (N = 39)	P#
Antibiotics in the last 3 months	5 (20)	0.336	2 (11.1)	0.680	3 (7.7)	0.245
Antibiotics during hospitalization prior to infection	24 (96)	0.022	14 (77.8)	0.144	38 (97.4)	1.0
Use of carbapenems	13 (52)	0.062	3 (16.7)	0.026	15 (38.5)	0.313
Duration of carbapenem use (days)	3 (0, 11)	0.025	0 (0, 0)	0.021	0 (0, 6)	0.409
Use of antipseudomonal penicillins	8 (32)	0.474	3 (16.7)	0.309	12 (30.8)	1.0
Duration of antipseudomonal penicillins use (days)	0 (0, 4)	0.265	0 (0, 0)	0.330	0 (0, 4)	1.0
Use of quinolones	7 (28)	0.403	2 (11.1)	0.263	8 (20.5)	0.553
Duration of quinolones use (days)	0 (0, 4)	0.154	0 (0, 0)	0.162	0 (0, 0)	1.0
Use of cephalosporins 3rd generation	5 (20)	0.217	6 (33.3)	0.480	16 (41)	0.105
Duration of cephalosporins 3rd generation use (days)	0 (0, 0)	0.886	0 (0, 2)	1.0	0 (0, 2)	1.0
Use of cephalosporins 4th generation	2 (8)	0.341	0 (0)	0.502	1 (2.6)	0.555
Duration of cephalosporins 4th generation use (days)	0 (0, 0)	0.228	0 (0, 0)	0.423	0 (0, 0)	0.395
Use of colistin	14 (56)	0.028	7 (38.9)	0.358	9 (23.1)	0.015
Duration of colistin use (days)	2 (0, 13)	0.001	0 (0, 4)	0.022	0 (0, 0)	0.001
Use of tygecycline	5 (20)	0.07	2 (11.1)	0.680	1 (2.6)	1.0
Duration of tygecycline use (days)	0 (0, 0)	0.096	0 (0, 0)	0.392	0 (0, 0)	0.108
Use of aminoglycosides	2 (8)	0.934	2 (11.1)	1.0	4 (10.3)	1.0
Duration of aminoglycosides use (days)	0 (0, 0)	0.560	0 (0, 0)	1.0	0 (0, 0)	1.0
Aerosolized colistin	4 (16)	0.673	4 (22)	1.0	5 (13)	1.0
Appropriate empirical antibiotic treatment	15 (60)	0.38	16 (88)	0.046	NA	NA
Appropriate definitive antibiotic treatment	23 (92)	0.229	18 (100)	0.502	NA	NA

Data are presented as median (25% and 75% quartiles) or n (%); KPRC: *Klebsiella pneumoniae* resistant to carbapenems; MDR: multidrug resistant bacteria; appropriate empirical antimicrobial treatment, administration of in vitro active antimicrobials against the study isolates within 24 h from infection onset; appropriate definitive antibiotic treatment, administration of in vitro active antibiotics for at least 48 h; P\*: comparison between three groups; P#: KPRC versus non-MDR group, KPRC versus no bacteria group. Results are by univariate analysis.

TABLE 4: Duration of ICU stay, death, mechanical ventilation, and sedation in patients with KPRC, non-MDR infection, and no infection.

	KPRC (N = 25)	P*	Non-MDR bacterial infection (N = 18)	P#	No bacteria group (N = 39)	P#
ICU duration (days)	24 (15, 32)	<0.001	20 (9, 32)	0.433	9 (6, 13)	<0.001
Death	15 (60)	0.022	8 (44.4)	0.365	10 (25.6)	0.009
MV duration (days)	20 (9, 31)	<0.001	18 (9, 25)	0.435	7 (4, 11)	<0.001
Duration of sedation (days)	8 (2, 18)	0.003	9 (5, 15)	0.967	4 (2, 8)	0.003

Data are presented as median (25% and 75% quartiles) or n (%); KPRC: *Klebsiella pneumoniae* resistant to carbapenems; MDR: multidrug resistant bacteria; MV: mechanical ventilation; ICU: Intensive Care Unit; P\*: comparison between three groups; P#: KPRC versus non-MDR group, KPRC versus no bacteria group. Results are by univariate analysis.

with colistin. To our knowledge the association between KPRC and the use of colistin has not yet been reported. KPRC was also associated with the performance of invasive procedures and the duration of mechanical ventilation prior to infection. In this respect, our study suggests that infection control policies should reinforce measures to prevent excessive antibiotic use and to be cautious with the use of colistin.

Data regarding risk factors for KPRC infection in the ICU are limited. Most data have been derived from mixed medical

and critical care populations; the prevalence of critically ill patients among those studies is unclear. Moreover, most previous studies were retrospective; this may insert bias in the interpretation of the results, especially in the diagnosis of KPRC infection, for example, differentiation between infection and colonization. In this respect, definitive conclusion for the risk factors of KPRC infections in the critical care setting is hard to be drawn from available evidence. To our knowledge, the present study is the first prospective study



TABLE 5: Characteristics of survivors and nonsurvivors in the ICU.

	Survivors (N = 49)	Nonsurvivors (N = 33)	P
Sex (male)	31 (63.3)	23 (69.7)	0.638
Age (years)	55 (36, 37)	62 (52, 73)	0.023
Medical patients	18 (36.7)	21 (63.6)	0.024
APACHE II score	14 (10, 19)	15 (13, 18)	0.710
SOFA score	7 (5–8)	7 (5, 9)	0.121
Diabetes mellitus	3 (6.1)	6 (18.8)	0.144
Chronic lung disease	5 (10.2)	6 (18.8)	0.328
Chronic heart disease	15 (30.6)	10 (31.1)	0.571
Other comorbidities	25 (51)	14 (42)	0.546
Immunodeficiency	1 (2)	5 (15.6)	0.033
Invasive procedures	2 (4.1)	7 (21.2)	0.027
Appropriate empirical antibiotic treatment	14 (70)	17 (73.9)	0.521
Appropriate definitive antibiotic treatment	19 (95)	22 (95.7)	0.720
Total ICU duration (days)	12 (7, 23)	14 (9, 28)	0.230
MV total duration (days)	9 (4, 16)	14 (9–28)	0.007
Sedation total duration (days)	4 (2, 10)	9 (5, 15)	0.009
KPRC infection	10 (20.4)	15 (45.5)	0.027

Data are presented as median (25% and 75% quartiles) or *n* (%); KPRC: *Klebsiella pneumoniae* resistant to carbapenems; other comorbidities included hematological disease, chronic kidney and chronic liver disease; appropriate empirical antimicrobial treatment, administration of in vitro active antimicrobials against the study isolates within 24 h from infection onset; appropriate definitive antibiotic treatment, administration of in vitro active antibiotics for at least 48 h; ICU: Intensive Care Unit; APACHE: Acute Physiology and Chronic Health Evaluation; SOFA: Sequential Organ Failure Assessment; MV: mechanical ventilation; Results are by univariate analysis.

which aimed to identify risk factors for KPRC infection in the ICU setting and may provide useful data in the implementation of effective infection control policies.

We found an association between KPRC infection and the previous use of antibiotics. A relationship between prior carbapenem use and KPRC infection might be expected [20–24]. Carbapenems can destroy the susceptible proportion of strains which is part of patient's colonies, so opportunistic infection could be accomplished by the resistant one. The results of the present study are consistent with our retrospectively collected data from our centre reported previously [25] where KPRC patients had also received more often (87% versus 40%  $P = 0.003$ ) and for longer periods (days) (8.8 (1.8) versus 1.75 (0.6)  $P < 0.001$ ) carbapenems.

Moreover, we found that colistin was also associated with increased risk of KPRC infection and that the duration of colistin administration was an independent risk factor for KPRC infection. To our knowledge this association has not yet been reported. Colistin is an old antibiotic and potentially toxic to kidneys that has been used increasingly during the last years due to the emergence of Gram-negative MDR bacteria. The association between colistin and KPRC might illustrate the “cul-de-sac” we are in. The emergence of MDR Gram-negative infection requires treatment with an old antibiotic such as colistin, but the use of colistin may promote the selection of “super bugs” such as KPRC. It is therefore likely that the increasing use of antibiotics with a broad spectrum against GNB might progressively modify the microbiological flora of critically ill patients in

favour of KPRC and of other “superbugs.” Additionally, little is known about the pharmacokinetics/dynamics of colistin [26, 27]. Notably, colistin administration as the appropriate treatment—based on in vitro bacterial susceptibility to antibiotics—was not associated with improved survival in KPRC infection according to previous studies [20].

In light of our findings, one should be cautious with the empirical and prolonged use of colistin, especially when other potential factors for KPRC infection are present. Furthermore, our study questions the usefulness of SDD policies which include colistin, in ICU settings where KPRC is prevalent. In our unit we do not use decontamination strategies with colistin and we therefore cannot provide data in this issue. Nevertheless, we advocate in favour of appropriate de-escalation strategies that should be considered when culture results are available. Studies about the optimum duration of colistin administration and the implementation of Antimicrobial Stewardship Programs may improve antimicrobial use in Intensive Care Units in order to prevail growing antimicrobial resistance. Certainly, fast and accurate diagnostic tests for GNB and more specifically for KPRC infection would be also very helpful in the de-escalation of treatment, but to our knowledge, tests for KPRC are not available at the moment.

In the present investigation, there was also an association between KPRC infection and the duration of MV. Mechanical ventilation is a treatment option that is often necessary in critical illness and it is related with the burden of the disease; its duration might be considered as a marker of

disease severity [28]. Previous studies have underlined the association between KPRC infection and the burden of critical illness [29, 30]. Moreover, the application of MV includes procedures that interrupt the physiologic defence barriers and usually requires sedation, and thus it might favour the development of nosocomial infections [31].

The fact that KPRC was also associated with the performance of invasive procedures, with sedation and with prolonged ICU stay, is in agreement with the above hypothesis. Longer hospitalisation may additionally predispose in greater risk for colonization with KPRC strains [32, 33] through patient-to-patient transmission. Unfortunately, the present study has not examined mechanisms of colonization with KPRC strains which could be the scope of a future study.

In the present study, patients who presented KPRC infection in the ICU had increased mortality, required longer duration of mechanical ventilation and sedation, and stayed for a longer period in the ICU compared to patients who had not acquired an infection in the ICU. Recent retrospective reports provided also evidence that KPRC infection might be significantly associated with adverse outcomes [20, 25, 29, 34, 35]. In our prospective study, despite that the groups of patients were comparable in terms of age, burden of disease (APACHE), and cause of admission, the number of outcomes was small to draw definitive conclusions. We have to underline that KPRC infection, although associated with ICU mortality in univariate analysis, was not an independent factor for ICU mortality as multivariate analysis revealed. A plausible explanation for this might be that the number of KPRC infected patients included in the study was relatively small; in addition, ICU mortality is multifactorial, and several other factors which have not been assessed in the present study have also an impact on mortality, and they might have obscured a potential association between KPRC and mortality.

In conclusion, our findings provide evidence that prior use of antibiotics, in particular, prolonged use of colistin, is an independent factor for KPRC infection. In this respect, the present study suggests that judicious use of antibiotics against Gram-negative, such as colistin, should be part of the algorithm required to restrict the spread of KPRC infection in the ICU.

## Conflict of Interests

All authors report no conflict of interests relevant to this paper.

## Acknowledgment

The authors thank Mrs. Vassiliki Tsiloni (English Literature graduate) for her assistance in editing the paper.

## References

- [1] A. Y. Peleg and D. C. Hooper, "Hospital-acquired infections due to gram-negative bacteria," *The New England Journal of Medicine*, vol. 362, no. 19, pp. 1804–1813, 2010.

- [2] D. P. Raymond, S. J. Pelletier, T. D. Crabtree, H. L. Evans, T. L. Pruett, and R. G. Sawyer, "Impact of antibiotic-resistant Gram-negative bacilli infections on outcome in hospitalized patients," *Critical Care Medicine*, vol. 31, no. 4, pp. 1035–1041, 2003.
- [3] G. W. Waterer and R. G. Wunderink, "Increasing threat of Gram-negative bacteria," *Critical Care Medicine*, vol. 29, supplement, no. 4, pp. N75–N81, 2001.
- [4] H. Giamarellou and G. Poulakou, "Multidrug-resistant gram-negative infections: what are the treatment options?" *Drugs*, vol. 69, no. 14, pp. 1879–1901, 2009.
- [5] P. Nordmann, G. Cuzon, and T. Naas, "The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria," *The Lancet Infectious Diseases*, vol. 9, no. 4, pp. 228–236, 2009.
- [6] P. Giakkoupi, A. Xanthaki, M. Kanelopoulou et al., "VIM-1 metallo- $\beta$ -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* strains in Greek hospitals," *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 41, no. 8, pp. 3893–3896, 2003.
- [7] A. Leavitt, S. Navon-Venezia, I. Chmelnitsky, M. J. Schwaber, and Y. Carmeli, "Emergence of KPC-2 and KPC-3 in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains in an Israeli hospital," *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol. 51, no. 8, pp. 3026–3029, 2007.
- [8] Z. Samra, O. Ofir, Y. Lishtzinsky, L. Madar-Shapiro, and J. Bishara, "Outbreak of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* producing KPC-3 in a tertiary medical centre in Israel," *International Journal of Antimicrobial Agents*, vol. 30, no. 6, pp. 525–529, 2007.
- [9] S. Bratu, M. Mooty, S. Nichani et al., "Emergence of KPC-possessing *Klebsiella pneumoniae* in Brooklyn, New York: epidemiology and recommendations for detection," *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol. 49, no. 7, pp. 3018–3020, 2005.
- [10] N. Woodford, P. M. Tierno Jr., K. Young et al., "Outbreak of *Klebsiella pneumoniae* producing a new carbapenem-hydrolyzing class A  $\beta$ -lactamase, KPC-3, in a New York Medical Center," *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol. 48, no. 12, pp. 4793–4799, 2004.
- [11] S. Bratu, D. Landman, R. Haag et al., "Rapid spread of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in New York City: a new threat to our antibiotic armamentarium," *Archives of Internal Medicine*, vol. 165, no. 12, pp. 1430–1435, 2005.
- [12] N. Gupta, B. M. Limbago, J. B. Patel, and A. J. Kallen, "Carbapenem-resistant enterobacteriaceae: epidemiology and prevention," *Clinical Infectious Diseases*, vol. 53, no. 1, pp. 60–67, 2011.
- [13] <http://www.cdc.gov/hicpac/pdf/CAUTI/CAUTIguideline2009final.pdf>.
- [14] J. S. Garner, W. R. Jarvis, T. G. Emori, T. C. Horan, and J. M. Hughes, "CDC Definitions for nosocomial infections, 1988," *The American Journal of Infection Control*, vol. 16, no. 3, pp. 128–140, 1988.
- [15] M. E. Falagas, P. K. Koletsi, and I. A. Bliziotis, "The diversity of definitions of multidrug-resistant (MDR) and pandrug-resistant (PDR) *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*," *Journal of Medical Microbiology*, vol. 55, no. 12, pp. 1619–1629, 2006.
- [16] O. Zarkotou, S. Pournaras, P. Tselioti et al., "Predictors of mortality in patients with bloodstream infections caused by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* and impact of appropriate antimicrobial treatment," *Clinical Microbiology and Infection*, vol. 17, no. 12, pp. 1798–1803, 2011.

- [17] A. Tsakris, I. Kristo, A. Poulou et al., "Evaluation of boronic acid disk tests for differentiating KPC-possessing *Klebsiella pneumoniae* isolates in the clinical laboratory," *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 47, no. 2, pp. 362–367, 2009.
- [18] C. Franklin, L. Liolios, and A. Y. Peleg, "Phenotypic detection of carbapenem-susceptible metallo- $\beta$ -lactamase-producing gram-negative bacilli in the clinical laboratory," *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 44, no. 9, pp. 3139–3144, 2006.
- [19] O. C. Tablan, L. J. Anderson, R. Besser, C. Bridges, and R. Hajjeh, "Guidelines for preventing health-care-associated pneumonia, 2003: recommendations of CDC and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee," *MMWR*, vol. 53, no. 3, pp. 1–36, 2004.
- [20] G. Patel, S. Huprikar, S. H. Factor, S. G. Jenkins, and D. P. Calfee, "Outcomes of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection and the impact of antimicrobial and adjunctive therapies," *Infection Control and Hospital Epidemiology*, vol. 29, no. 12, pp. 1099–1106, 2008.
- [21] K. Hussein, H. Sprecher, T. Mashlach, I. Oren, I. Kassis, and R. Finkelstein, "Carbapenem resistance among *Klebsiella pneumoniae* isolates: risk factors, molecular characteristics, and susceptibility patterns," *Infection Control and Hospital Epidemiology*, vol. 30, no. 7, pp. 666–671, 2009.
- [22] E. I. Kritsotakis, C. Tsioutis, M. Roumelaki, A. Christidou, and A. Gikas, "Antibiotic use and the risk of carbapenem-resistant extended-spectrum- $\beta$ -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* infection in hospitalized patients: a double case-control study," *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, vol. 66, no. 6, Article ID dkr116, pp. 1383–1391, 2011.
- [23] G. L. Daikos, E. Vryonis, M. Psychogiou et al., "Risk factors for bloodstream infection with *Klebsiella pneumoniae* producing VIM-1 metallo- $\beta$ -lactamase," *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, vol. 65, no. 4, Article ID dkq005, pp. 784–788, 2010.
- [24] M. E. Falagas, P. I. Rafailidis, D. Kofteridis et al., "Risk factors of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infections: a matched case: control study," *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, vol. 60, no. 5, pp. 1124–1130, 2007.
- [25] K. Mantzarlis, S. Manoulakas, D. Makris, P. Zygoulis, and E. Zakyntinos, *K. Pneumoniae Producing Carbapenemases Infections in Critically Ill Patients: Prevalence and Risk Factors*, ESICM e-poster, Berlin, Germany, 2011.
- [26] A. Michalopoulos and M. Falagas, "Colistin: recent data on pharmacodynamics properties and clinical efficacy in critically ill patients," *Annals of Intensive Care*, vol. 1, no. 1, article 30, 2011.
- [27] M. Ziaka, S. L. Markantonis, M. Fousteri et al., "Combined intravenous and intraventricular administration of colistin methanesulfonate in critically ill patients with central nervous system infection," *Antimicrob Agents Chemother*, vol. 57, no. 4, pp. 1938–1940, 2013.
- [28] A. Polito, E. Patorno, J. M. Costello et al., "Perioperative factors associated with prolonged mechanical ventilation after complex congenital heart surgery," *Pediatric Critical Care Medicine*, vol. 12, no. 3, pp. e122–e126, 2011.
- [29] L. B. Gasink, P. H. Edelstein, E. Lautenbach, M. Synnestvedt, and N. O. Fishman, "Risk factors and clinical impact of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae*," *Infection Control and Hospital Epidemiology*, vol. 30, no. 12, pp. 1180–1185, 2009.
- [30] E. Mouloudi, E. Protonotariou, A. Zagorianou et al., "Bloodstream infections caused by metallo- $\beta$ -lactamase/*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae* among intensive care unit patients in Greece: risk factors for infection and impact of type of resistance on outcomes," *Infection Control and Hospital Epidemiology*, vol. 31, no. 12, pp. 1250–1256, 2010.
- [31] S. Nseir, D. Makris, D. Mathieu, A. Durocher, and C.-H. Marquette, "Intensive care unit-acquired infection as a side effect of sedation," *Critical Care*, vol. 14, article R30, 2010.
- [32] A. Borer, L. Saidel-Odes, S. Eskira et al., "Risk factors for developing clinical infection with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in hospital patients initially only colonized with carbapenem-resistant *K. pneumoniae*," *The American Journal of Infection Control*, vol. 40, pp. 421–425, 2012.
- [33] Y. G. Kwak, S.-H. Choi, E. J. Choo et al., "Risk factors for the acquisition of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* among hospitalized patients," *Microbial Drug Resistance*, vol. 11, no. 2, pp. 165–169, 2005.
- [34] I. Sánchez-Romero, Á. Asensio, J. Oteo et al., "Nosocomial outbreak of VIM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates of multilocus sequence type 15: molecular basis, clinical risk factors, and outcome," *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol. 56, no. 1, pp. 420–427, 2012.
- [35] S.-W. Liu, H.-J. Chang, J.-H. Chia, A.-J. Kuo, T.-L. Wu, and M.-H. Lee, "Outcomes and characteristics of ertapenem-nonsusceptible *Klebsiella pneumoniae* bacteremia at a university hospital in Northern Taiwan: a matched case-control study," *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, vol. 45, no. 2, pp. 113–119, 2012.



# Risk factors for the first episode of *Acinetobacter baumannii* resistant to colistin infection and outcome in critically ill patients

Konstantinos Mantzarlis\*, Demosthenes Makris and Epaminondas Zakynthinos

## Abstract

**Objective.** To identify risk factors for the first episode of *Acinetobacter baumannii* resistant to colistin (ABCR) infection in critically ill patients.

**Design.** Prospective observational study.

**Setting.** Twelve-bed general intensive care unit (ICU) at a University Hospital.

**Methods.** ICU patients who required mechanical ventilation for >48h during a 36 month period. Clinical and microbiological data were studied; characteristics of patients infected with ABCR were compared with those of critically ill patients who presented infection due to *A. baumannii* sensitive to colistin (ABCS).

**Results.** Twenty patients presented with ABCR infection, and 57 patients ABCS infection. Compared to patients with ABCS infection, patients suffering from ABCR infection had received more frequent and/or for longer duration dosing of several antibiotics active against Gram-negative bacteria ( $P<.05$ ). Moreover, the duration of mechanical ventilation, and the presence of invasive procedures and tracheostomy prior to infection were associated with ABCR infections. The duration of carbapenem administration was an independent risk factor for ABCR infection [odds ratio (OR), 1.21; 95% confidence interval (95% CI), 1.00 to 1.45;  $P=.049$ ]. Mortality rate for patients with ABCR infection was higher (85 vs 39% for the ABCS group). Sequential organ failure assessment score on admission, Charlson score and ABCR infection were independent risk factors for mortality.

**Conclusion.** ABCR infection is a life-threatening infection, which might be more common in patients with previous use of antibiotics, especially carbapenems.

## INTRODUCTION

The management of multi-drug-resistant (MDR) bacterial infections in intensive care units (ICUs) is a challenging issue for both physicians and infection control teams. Gram-negative bacteria (GNB) account for about 70% of such infections in the ICU setting and are associated with significant morbidity and mortality [1]. For example, in a recent study conducted at our hospital, it was found that infections due to carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains presented higher mortality in comparison to infections due to non-MDR pathogens [2]. *Acinetobacter baumannii* infections are a major problem [3] that may increase mortality [4, 5]. Recently published guidelines for the prevention and management of *A. baumannii* infections reflect

increasing concern held by physicians about this life-threatening infection [6]. Moreover, the rate of resistance to colistin in *A. baumannii* strains [7] has increased [8]. Therefore, the recognition of the risk factors associated with ABCR infection is of paramount importance, especially considering that any delay in the administration of potentially active antibiotics is a major determinant of patient outcome [9]. This study aims to identify risk factors and evaluate outcomes associated with infections due to colistin-resistant *A. baumannii*.

## PATIENTS AND METHODS

This prospective study took place in the 12-bed ICU of the University Hospital of Larissa, Thessaly, Greece. It was

Received 08 July 2019; Accepted 23 September 2019; Published 24 October 2019

**Author affiliations:** <sup>1</sup>Department of Critical Care, School of Medicine, University of Thessaly, University Hospital of Larissa, Thessaly, Greece.

\***Correspondence:** Konstantinos Mantzarlis, mantzk@outlook.com

**Keywords:** *Acinetobacter baumannii*; colistin resistance; risk factors; mortality.

**Abbreviations:** ABCR, *Acinetobacter baumannii* resistant to colistin; ABCS, *Acinetobacter baumannii* sensitive to colistin; APACHE, Acute physiology and chronic health evaluation score; BSI, Blood stream infection; CI, Confidence interval; GNB, Gram-negative bacteria; ICU, Intensive care unit; MDR, Multi-drug resistant; MIC, Minimum inhibitory concentration; MV, Mechanical ventilation; OR, Odds ratio; SOFA, Sequential organ failure assessment; VAP, Ventilator associated pneumonia.

001094 © 2019 The Authors

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

conducted over a 36 month period, between 2013 and 2016. Inclusion criteria were the following: (a) ICU admission for medical or surgical causes, (b) intubation and mechanical ventilation for >48 h and (c) *A. baumannii* infection. Exclusion criteria were the following: (a) age <18 years old, (b) ICU readmission while still hospitalized, (c) any other co-existing infection. The first episode of *A. baumannii* infection was studied. Infected patients were divided into two different groups: the first consisted of patients who presented infection due to colistin-sensitive *A. baumannii* (ABCS), and the second comprising patients with infection due to colistin-resistant *A. baumannii* (ABCR).

## Outcome

The primary outcome was the determination of risk factors for the first episode of ABCR infection in an ICU setting. Secondary outcomes were overall ICU mortality, total ICU stay and total duration of mechanical ventilation.

## Definitions

According to the MIC breakpoints provided by the Clinical and Laboratory Standards Institute [10], an *A. baumannii* pathogen with a MIC >2 mg l<sup>-1</sup> to colistin was considered to be resistant. In the present study, *A. baumannii* infection was defined as the clinical manifestation of infection, which could be microbiologically confirmed by the isolation of the specific pathogen in cultured material. The types of infection were defined according to standardized definitions by the Centers for Disease Control and Prevention/National Healthcare Safety Network [11]. The isolation of *A. baumannii* in biological samples without criteria for clinical infection was considered as colonization. We considered any patient who was transplanted, or received immunosuppressive agents, including corticosteroids as immunocompromised. With the exception of blood cultures, all cultures, including tracheal aspirate were quantitative. Previous hospitalization was defined as admission to hospital or any other health care facility for >48 h during the previous 3 months.

## Clinical assessment

For all patients partaking in the study, the following characteristics were recorded: age, sex, illness severity based on acute physiology and chronic health evaluation score II (APACHE II), sequential organ failure assessment (SOFA) score on admission, type of admission (transfer to the ICU from a ward/emergency department), history of hospitalization during the previous 3 months prior to admission, tracheostomy or history of invasive procedures (gastroscopy, colonoscopy or bronchoscopy) or surgery, medical history, history of antibiotic use active against GNB, and duration of antibiotics used. For survivors and non-survivors, several characteristics, which might affect mortality were recorded: age, sex, Charlson score, APACHE II and SOFA scores on admission, need for vasopressors at the onset of infection, invasive procedures, total duration of mechanical ventilation (MV) and sedation and ABCR infection. Exposure to

**Table 1.** Baseline characteristics of participants

	Colistin-sensitive group (n=57)	Colistin-resistant group (n=20)	P
Sex (male)	36 (63)	9 (45)	.192
Age (years)	56 (40, 71)	65 (59, 70)	.088
Medical patients	20 (35)	9 (45)	.437
APACHE II score	17 (13, 22)	19 (16, 26)	.136
SOFA score	7 (5, 10)	8 (6, 10)	.138
Hospitalization in the last 3 months	10 (18)	4 (20)	.750
Admission from ward	25 (44)	14 (70)	.068
Duration of total hospitalization before infection (days)	10 (7, 15)	16 (10, 39)	.003
Charlson score	2 (0, 3)	2 (1, 3)	.525

Data are presented as median (25%, 75% quartiles) or n (%); APACHE, acute physiology and chronic health evaluation; SOFA, sequential organ failure assessment; P, comparison between the two groups. Results by univariate analysis.

potential risk factors was taken into account only before the isolation of the causative pathogen.

## Microbiology

Identification and susceptibility testing of *A. baumannii* blood isolates were performed by the Vitek 2 automated system

**Table 2.** Clinical characteristics of participants in the ICU before *A. baumannii* infection

	Colistin-sensitive group (n=57)	Colistin-resistant group (n=20)	P
MV duration (days)	8 (6,11)	12 (8, 33)	.002
Surgical operation	36 (63)	10 (50)	.427
Invasive procedures	4 (7)	5 (25)	.046
Catheterization of urinary bladder prior ICU admission	2 (4)	0 (0)	1.0
Tracheostomy	5 (9)	7 (35)	.010
Sedation	56 (98)	20 (100)	1.0
CVVHDF use	6 (11)	3 (15)	.689
CVVHDF duration (days)	0 (0)	0 (0, 0)	.505

Data are presented as median (25%, 75% quartiles) or n (%); MV, mechanical ventilation; ICU, intensive care unit; CVVHDF, continuous veno-venous hemodiafiltration; Invasive procedures, gastroscopy, colonoscopy or bronchoscopy; P, comparison between the two groups. Results by univariate analysis.

(bioMerieux, Marcy l'Étoile, France). Determination of MIC to colistin was assessed by the E-test method.

### Statistical analysis

Results are presented as frequency (%) for qualitative variables or median (25th, 75th quartiles) for quantitative variables. Normality of data distribution was assessed by the Kolmogorov-Smirnov test. Qualitative variables were compared using the chi square test or Fisher's exact test where appropriate; quantitative variables were compared by the Mann-Whitney test. Multivariate analyses were performed to determine variables associated with ABCR infection or mortality. Only variables with a  $P$ -value  $<.05$  were used in the binary logistic regression model. SPSS software (SPSS 17.0, Chicago, IL) was used for data analysis.

## RESULTS

A total of 798 patients were studied. There were 77 (9.6%) patients infected with *A. baumannii*. Of these, 57 patients were infected with ABCS and 20 patients with ABCR. The first group of patients included 19 (33%) blood-stream infections (BSIs), 36 (63%) cases of ventilator-associated pneumonia (VAP), 1 (2%) case of central nervous system infection and 1 (2%) case of urinary tract infection. BSIs for the second group

were 14 (70%) and VAP cases 6 (30%). ABCS was isolated at median 8 (6, 11) and ABCR at 12 (8, 28) ICU day ( $P=.006$ ). Participant characteristics are presented in Tables 1–3. A secondary analysis between patients that presented BSI was conducted.

### Risk factors for ABCR infection

Baseline characteristics between groups are presented in Table 1. There were no differences between the two groups. Patients who had had long periods of mechanical ventilation or had undergone tracheostomy or invasive procedures prior to infection exhibited higher incidence of ABCR infection ( $P<.05$ , Table 2). Regarding antibiotic use prior to the infection, carbapenems, antipseudomonal penicillins, quinolones, fourth generation cephalosporins, tigecycline and aminoglycosides were administered more frequently and for longer periods to patients with ABCR infection ( $P<.05$ , Table 3). Multivariate analysis revealed that the duration of carbapenem use was an independent risk factor for ABCR infection [OR, 1.21; (95% CI), 1.00 to 1.45;  $P=.049$ ]. Surprisingly, colistin use before infection was not statistically different between the two groups. The only risk factors for patients that presented BSI due to ABCR were the duration of administration of tigecycline ( $P=.002$ ) and aminoglycosides ( $P=.037$ ).

**Table 3.** Antibiotics administered to participants before *A. baumannii* infection

	Colistin-sensitive group (n=57)	Colistin-resistant group (n=20)	P
Antibiotics last 3 months	4 (7)	3 (15)	.367
Antibiotics during hospitalization prior to infection	57 (100)	20 (100)	–
Use of carbapenems	17 (30)	12 (60)	.003
Duration of carbapenem use (days)	0 (0, 2)	4 (0, 8)	.012
Use of antipseudomonal penicillins	17 (30)	12 (60)	.030
Duration of antipseudomonal penicillin use (days)	0 (0, 2)	3 (0, 7)	.023
Use of quinolones	12 (21)	11 (55)	.009
Duration of quinolone use (days)	0 (0, 0)	3 (0, 12)	.002
Use of cephalosporin 3d generation	24 (42)	5 (25)	.194
Duration of cephalosporin 3d generation use (days)	0 (0, 4)	0 (0, 1)	.114
Use of cephalosporin fourth generation	4 (7)	7 (35)	.005
Duration of cephalosporin fourth generation use (days)	0 (0, 0)	0 (0, 4)	.003
Use of colistin	12 (21)	8 (40)	.138
Duration of colistin use (days)	0 (0)	0 (0, 4)	.087
Use of tygecycline	0 (0)	8 (40)	<.001
Duration of tygecycline use (days)	0 (0, 0)	0 (0, 7)	<.001
Use of aminoglycosides	1 (2)	4 (20)	.015
Duration of aminoglycoside use (days)	0 (0, 0)	0 (0, 0)	.005

Data are presented as median (25%, 75% quartiles) or  $n$  (%);  $P$ , comparison between the two groups. Appropriate antibiotic therapy referred to the administration at least one of the *in vitro* active antimicrobials against the study isolates for at least 48 h. Results by univariate analysis.

**Table 4.** Duration of ICU stay, death, mechanical ventilation and sedation in patients infected with sensitive or resistant to colistin *A. baumannii*

	Colistin-sensitive group (n=57)	Colistin-resistant group (n=20)	P
ICU duration (days)	26 (15, 37)	16 (11, 45)	.272
BSI	19 (33)	14 (70)	.008
Death	22 (39)	17 (85)	.001
Need for vasopressors at infection's onset	42 (74)	16 (80)	.765
Appropriate antibiotic therapy	50 (87)	0 (0)	.016
Days alive after the onset of infection until death for non-survivors	12 (2, 30)	3 (2, 8)	.053
MV duration (days)	20 (13, 30)	15 (12, 42)	.803
Duration of sedation (days)	8 (4, 16)	11 (6, 18)	.181

Data are presented as median (25%, 75% quartiles) or *n* (%); ICU, intensive care unit; MV, mechanical ventilation; BSI, blood-stream infection; *P*, comparison between the two groups. Results by univariate analysis.

### Mortality and morbidity indices in patients with ABCR infection

Patients that presented ABCR infection in comparison to the patients who presented ABCS infection had increased mortality [17 (85%) vs 22 (39%), *P*=.001] (Table 4). Other indices such as total ICU stay, total mechanical ventilation duration and sedation duration were not statistically different after univariate analysis. Mortality for patients that presented BSI due to ABCR was 85%. It was 57% for those with ABCS. Mortality was not different between the two groups (*P*=.131). Compared to non-survivors, survivors had a younger age, lower SOFA and APACHE II scores on admission. They also had a lower Charlson score, longer total ICU stay and a higher incidence of ABCR infection and BSI (*P*<.05) (Table 5). Multivariate analysis showed that the SOFA score (1.26; 1.02 to 1.57; *P*=.035), Charlson score (1.63; 1.09 to 2.44; *P*=.018) and ABCR infection (8.56; 1.98 to 39.03; *P*=.004) were independent risk factors for ICU mortality.

### DISCUSSION

In the present study, we aimed to identify clinical risk factors for the first episode of ABCR infection in an ICU, since it is an emerging problem worldwide [12]. This is the first study that takes into account patients infected by *A. baumannii* who did not present co-infections with other bacteria. Our findings suggest that ABCR infection was associated with the prior use of antibiotics, and especially carbapenems. ABCR infection was also related to longer duration of mechanical ventilation, the presence of tracheostomy and invasive procedures prior to the infection. Moreover, ABCR infection was an independent risk factor for mortality in the ICU.

Data regarding ABCR infections are limited. Most studies include patients hospitalized in several wards and not especially in an ICU [8]. To our knowledge, this is the first study that aimed to identify the risk factors for ABCR infection for critically ill patients as a specific population.

Previous use of several antibiotics was a predetermining factor for the acquisition of ABCR infection. Furthermore, the duration of prior carbapenem use was the only independent risk factor. The fact that the use of antibiotics promotes infections caused by carbapenem-resistant *A. baumannii* strains is well documented [13–16], but data for colistin-resistant pathogens are lacking. Only rare references can be found in the literature regarding this kind of infection [8, 17, 18] and all of them include mixed populations of critically and non-critically ill patients. Therefore, our study underlines the importance

**Table 5.** Characteristics of survivors and non-survivors in the ICU

	Survivors (n=38)	Non-survivors (n=39)	P
Sex (male)	22 (58)	23 (59)	.814
Age (years)	56 (35, 69)	63 (54, 73)	.029
Medical patients	14 (37)	15 (38)	1.0
APACHE II score	16 (12, 21)	19 (16, 24)	.008
SOFA score	6 (4, 8)	8 (6, 11)	.004
Charlson score	1 (0, 2)	2 (1, 4)	.003
Total ICU duration (days)	29 (18, 38)	16 (11, 32)	.023
MV total duration (days)	22 (14, 30)	16 (11, 38)	.318
Sedation total duration (days)	8 (4, 17)	10 (5, 16)	.547
Colistin-resistant <i>A. baumannii</i> infection	3 (8)	17 (44)	.001
Patients with BSI	10	23	.006
Patients with VAP	26 (68)	16 (41)	.022

Data are presented as median (25%, 75% quartiles) or *n* (%); ICU, intensive care unit; APACHE, acute physiology and chronic health evaluation; SOFA, sequential organ failure assessment; MV, mechanical ventilation; *P*, comparison between the two groups. Results by univariate analysis.



of the previous use of antibiotics as a risk factor for ABCR, especially for the critically ill patients.

According to our results, the previous use of colistin was not a predetermining factor of ABCR infection. In fact, there was an indication towards an increased number of patients who received colistin to present ABCR infection. (21 vs 40% in the colistin-sensitive and resistant group, respectively,  $P=0.138$ ). The fact that almost 50% more patients had received carbapenems than colistin may have affected our results. A prospective trial could lend further insight regarding this point, but our study was a 'real-world' clinical study. Therefore, we cannot ascertain whether this hypothesis has any validity. It should also be noted that results of similar studies are conflicting: in one study all the patients with an infection caused by ABCR had received colistin [8], whereas in another, colistin was not a risk factor for such an infection [18]. Another hypothesis is that heteroresistance may play a role: subpopulations of colistin-resistant strains may be present, and the subsequent use of antibiotics may facilitate the pathogens to grow and thereafter be the causative agent of the infection. The fact that heteroresistance was observed in patients who never received colistin is supportive of this hypothesis [12, 19]. Moreover, the fact that the *mcr-1* gene responsible for colistin resistance was detected in several types of pathogens that were carbapenem resistant may also explain the results [20, 21]. However, further research is needed.

Mechanical ventilation was also a predetermining factor for ABCR infection, along with invasive procedures and the presence of tracheostomy before the infection in the ICU. Although typical indices of severity such as APACHE II and SOFA scores are not different between the two groups, mechanical ventilation or the presence of tracheostomy and the need for more invasive treatment modalities may indicate patients with more severe disease. Patients infected with ABCR were also in the hospital for a longer period before the onset of infection. Our speculation is that patients with severe disease, with physiological defense barriers interrupted by several treatment modalities, who were hospitalized for a period long enough in order to be colonized, and the use of antibiotics may kill pathogens that are sensitive to these antibiotics but drug-resistant pathogens will survive and therefore patients may suffer from infections caused by MDR pathogens, ABCR in our case.

Regarding mortality, our study revealed that ABCR infection affects survival, since it was an independent risk factor for death, along with SOFA and Charlson scores. The result underlines the importance of the ABCR infection, and also the need for judicious use of antibiotics and several other treatment options like mechanical ventilation. Moreover, patients infected with ABCR died sooner after the onset of the infection in comparison to patients infected with ABCS. Although it is very difficult to attribute death to the infection, the fact that ABCR patients died sooner in comparison to patients infected with ABCS may be explained by the lack of appropriate therapy and perhaps the virulence of the colistin-resistant strains. Our results are contradictory to

another study where colistin resistance was associated with significantly lower mortality among patients infected by carbapenem-resistant *A. baumannii* strains [22]. Although resistance to antibiotics is not associated with virulence [23], facts that may explain the different result include the different method for susceptibility testing and the different patient populations.

Our study presents a few limitations. Nonetheless, being performed at a single centre and having a small overall number of patients may limit generalizability. Pathogen transmission mechanisms between the patients were not studied. Moreover, we did not examine resistance mechanisms, the heteroresistance phenomenon, and therefore we cannot exclude the possibility that colistin resistance might emerge in individual patients under the selective pressure of antibiotics, as was demonstrated in a previous study [8]. In our case, the fact that colistin was not a risk factor for infection weakens the aforementioned assumption.

In conclusion, an *A. baumannii* infection in critically ill patients is deleterious, especially if the pathogen presents resistance to colistin. Previous administration of antibiotics and the use of several treatment modalities are predetermining factors for this specific infection. The high rates of mortality revealed in our study should alert physicians and more studies should be conducted in order to investigate the mechanisms of infection and various treatment options. At the time, the selective use of invasive procedures and antibiotics, and appropriate de-escalation might be an option for infection restriction.

#### Funding information

The authors received no specific grant from any funding agency.

#### Acknowledgements

We thank Elena Chatzinikou and Ross J. Robertson for their assistance in editing the paper.

#### Conflicts of interest

The authors declare that there are no conflicts of interest.

#### Ethical statement

The study was approved by the Institutional Review Board/Ethics Committee of the University Hospital of Larissa, and informed consent was obtained from the participants.

#### References

1. Peleg AY, Hooper DC. Hospital-Acquired infections due to gram-negative bacteria. *N Engl J Med Overseas Ed* 2010;362:1804–1813.
2. Mantzaris K, Makris D, Manoulakas E, Karvouniaris M, Zakynthinos E *et al*. Risk factors for the first episode of Klebsiella pneumoniae resistant to carbapenems infection in critically ill patients: a prospective study. *Biomed Res Int* 2013;2013:850547–.
3. Boucher HW, Talbot GH, Bradley JS, Edwards JE, Gilbert D *et al*. Bad bugs, no drugs: no ESKAPE! an update from the infectious diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2009;48:1–12.
4. Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. *Clin Microbiol Rev* 2008;21:538–582.
5. Munoz-Price LS, Arheart K, Nordmann P, Boulanger AE, Cleary T *et al*. Eighteen years of experience with *Acinetobacter baumannii* in a tertiary care hospital. *Crit Care Med* 2013;41:2733–2742.
6. Garnacho-Montero J, Dimopoulos G, Poulakou G, Akova M, Cisneros JM *et al*. Task force on management and prevention of

- Acinetobacter baumannii* infections in the ICU. *Intensive Care Med* 2015;41:2057–2075.
7. Hejnar P, Kolár M, Hájek V. Characteristics of *Acinetobacter* strains (phenotype classification, antibiotic susceptibility and production of beta-lactamases) isolated from haemocultures from patients at the teaching hospital in Olomouc. *Acta Univ Palacki Olomuc Fac Med* 1999;142:73–77.
  8. Qureshi ZA, Hittle LE, O'Hara JA, Rivera JI, Syed A et al. Colistin-Resistant *Acinetobacter baumannii*: beyond carbapenem resistance. *Clin Infect Dis* 2015;60:1295–1303.
  9. Kumar A, Roberts D, Wood KE, Light B, Parrillo JE et al. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Crit Care Med* 2006;34:1589–1596.
  10. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*, 24th informational supplement; M100-S24. Wayne, PA: CLSI; 2014.
  11. Horan TC, Andrus M, Dudeck MA. CDC/NHSN surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *Am J Infect Control* 2008;36:309–332.
  12. Ahmed SS, Alp E, Ulu-Kilic A, Dinc G, Aktas Z et al. Spread of carbapenem-resistant international clones of *Acinetobacter baumannii* in Turkey and Azerbaijan: a collaborative study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2016;35:1463–1468.
  13. Pogue JM, Mann T, Barber KE, Kaye KS. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, surveillance and management. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2013;11:383–393.
  14. Kim T, Chong YP, Park SY, Jeon MH, Choo EJ et al. Risk factors for hospital-acquired pneumonia caused by carbapenem-resistant gram-negative bacteria in critically ill patients: a multicenter study in Korea. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2014;78:457–461.
  15. Lee HY, Chen CL, Wu SR, Huang CW, Chiu CH et al. Risk factors and outcome analysis of *Acinetobacter baumannii* complex bacteremia in critical patients. *Crit Care Med* 2014;42:1081–1088.
  16. Baran G, Erbay A, Bodur H, Ongürü P, Akıncı E et al. Risk factors for nosocomial imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* infections. *Int J Infect Dis* 2008;12:16–21.
  17. Matthaiou DK, Michalopoulos A, Rafailidis PI, Karageorgopoulos DE, Papaioannou V et al. Risk factors associated with the isolation of colistin-resistant gram-negative bacteria: a matched case-control study. *Crit Care Med* 2008;36:807–811.
  18. Lee SY, Shin JH, Park KH, Kim JH, Shin MG et al. Identification, genotypic relation, and clinical features of colistin-resistant isolates of *Acinetobacter* genomic species 13BJ/14TU from bloodstreams of patients in a university hospital. *J Clin Microbiol* 2014;52: :931–939p..
  19. Li J, Rayner CR, Nation RL, Owen RJ, Spelman D et al. Heteroresistance to colistin in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50:2946–2950.
  20. Yu H, Qu F, Shan B, Huang B, Jia W et al. Detection of the mcr-1 colistin resistance gene in carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* from different hospitals in China. *Antimicrob Agents Chemother* 2016;60:5033–5035.
  21. Long H, Feng Y, Ma K, Liu L, McNally A et al. The co-transfer of plasmid-borne colistin-resistant genes mcr-1 and mcr-3.5, the carbapenemase gene bla<sub>NDM-5</sub> and the 16S methylase gene rmtB from *Escherichia coli*. *Sci Rep* 2019;9:696.
  22. Dickstein Yet al. Treatment outcomes of colistin and carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* infections: an exploratory subgroup analysis of a randomized clinical trial. *Clin Infect Dis* 2018.
  23. Lawlor MS, Handley SA, Miller VL. Comparison of the host responses to wild-type and cpsB mutant klebsiella pneumoniae infections. *Infect Immun* 2006;74:5402–5407.

### Five reasons to publish your next article with a Microbiology Society journal

1. The Microbiology Society is a not-for-profit organization.
2. We offer fast and rigorous peer review – average time to first decision is 4–6 weeks.
3. Our journals have a global readership with subscriptions held in research institutions around the world.
4. 80% of our authors rate our submission process as 'excellent' or 'very good'.
5. Your article will be published on an interactive journal platform with advanced metrics.

Find out more and submit your article at [microbiologyresearch.org](http://microbiologyresearch.org).