

МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ
„ПРОФ. Д-Р ПАРАСКЕВ СТОЯНОВ” - ВАРНА
Факултет “Медицина”
Катедра “Микробиология и вирусология”

проф. д-р Теменуга Жекова Стоева, дм

АНТИБИОТИЧНА РЕЗИСТЕНТНОСТ НА
НАЙ-ЧЕСТИТЕ ПРИЧИНИТЕЛИ НА БАКТЕРИЕМИИ
И ЛЕТАЛИТЕТ, СВЪРЗАН С ТЯХ

Дисертационен труд

за присъждане на научна степен «Доктор на науките»

Научна специалност:

«Микробиология»

ВАРНА, 2023

СЪДЪРЖАНИЕ

1. ВЪВЕДЕНИЕ.....	6стр.
2. ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР.....	9стр.
2.1. Инфекции на кръвта: дефиниции	
2.2. Класификация на инфекциите на кръвта	
2.3. Епидемиология на инфекциите на кръвта	
2.4. Етиология на бактериалните инфекции на кръвта	
2.5. Инфекции на кръвта при пациенти с онкохематологични заболявания	
2.6. Съвременна микробиологична диагностика на инфекциите на кръвта	
2.7. Основни механизми на резистентност към антимикробни лекарствени средства сред водещи причинители на бактериални инфекции на кръвта	
2.8. Съвременно състояние на антибиотичната резистентност сред водещи причинители на бактериални инфекции на кръвта	
3. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ.....	82стр.
4. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ.....	83стр.
4.1. Дизайн на проучването	
4.2. Микробиологични методи	
4.2.1. Доказване на микроорганизми в кръвта	
4.2.2. Видова идентификация	
4.2.3. Изпитване на чувствителност към антимикробни лекарствени средства	
4.2.4. Молекулярно-генетични методи за доказване на гени, кодиращи ESBLs и карбапенемази	
4.2.5. Епидемиологично типизиране	
4.3. Статистически методи	
5. РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ.....	99стр.
5.1. Етиологичен спектър на бактериалните инфекции на кръвта в болнично лекувани пациенти за 10-годишен период (2011-2020г.).....	99стр.
5.2. Антибиотична резистентност на най-честите причинители на бактериемии, асоциирани с инфекции на кръвта в болнично лекувани пациенти за 10-годишен период (2011-2020г.).....	112стр.
5.2.1. Грам положителни бактерии (<i>S. aureus</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>E. faecium</i>).....	112стр.
5.2.2. Грам отрицателни бактерии (<i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>Enterobacter</i> spp., <i>A. baumannii</i> - <i>calcoaceticus</i> complex, <i>P. aeruginosa</i>).....	124стр.
5.3. Етиологичен спектър на бактериалните инфекции на кръвта в хоспитализирани пациенти с онкохематологични заболявания в периода 2010-2020г.....	184стр.

5.4.	Антибиотична резистентност на най-честите причинители на бактериемии, асоциирани с инфекции на кръвта в хоспитализирани пациенти с онкохематологични заболявания в периода 2010-2020г.....	189стр.
5.5.	Тридесет дневен леталитет при инфекции на кръвта, причинени от <i>S. aureus</i> , <i>S. pneumoniae</i> , <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>E. cloacae</i> complex, <i>A. baumannii</i> - <i>calcoaceticus</i> complex и <i>P. aeruginosa</i> в болнично лекувани пациенти в периода 2016 - 2020г.....	199стр.
6.	ИЗВОДИ.....	223стр.
7.	ПРИНОСИ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД.....	228стр.
8.	НАУЧНИ ПУБЛИКАЦИИ И УЧАСТИЯ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД.....	230стр.
9.	ИЗПОЛЗВАНА ЛИТЕРАТУРА.....	234стр.
10.	ПРИЛОЖЕНИЯ.....	283стр.
11.	БЛАГОДАРНОСТИ.....	296стр.

ЧЕСТО ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

ОХЗ - онкохематологични заболявания

bla - гени, кодиращи β -лактамази

BCR - Blood Culture Rate

BSIs - Bloodstream Infections (инфекции на кръвния ток / на кръвта)

BG - Bulgaria

CDC - Centre for Disease Prevention and Control

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute

CRE - Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae*

CR - Carbapenem-Resistant

CVC - Central Venous Catheter

CoNS - Coagulase-Negative Staphylococcus

DDDs - Defined Daily Doses

DALYs - Disability-Adjusted Life-Years (години живот загубени поради болест и/или преждевременна смърт)

EU - European Union

Efm - *Enterococcus faecium*

ESBL - Extended-Spectrum Beta-Lactamase (широкоспектърна бета-лактамаза)

ESKAPE - *E. faecium*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *Enterobacter* spp.

ESCAPE - *E. faecium*, *S. aureus*, *C. difficile*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *Enterobacteriaceae*

ESKAPEEc - *E. faecium*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *Enterobacter* spp., *E. coli*

EUCAST - European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

ECDC - European Centre for Disease Prevention and Control

GVHD - Graft Versus Host Disease (болест на присадката срещу хазяина)

HICs - High Income Countries (страни с висок доход)

HLAR - High Level Aminoglycoside Resistance

ISs - Insertion Sequences (инсерционни последователности)

ICU - Клиника за интензивно лечение

LCBI - Laboratory Confirmed Bloodstream Infections (Лабораторно потвърдена инфекция на кръвта)

MBI - LCBI - Mucosal Barrier Injury Laboratory Confirmed Bloodstream Infection (Лабораторно потвърдена инфекция на кръвта, асоциирана с увреждане на лигавична бариера)

LICs - Low Income Countries (страни с нисък доход)

LMICs - Low- and Middle-Income Countries (страни с нисък и среден доход)

MBLs - Metallo-beta lactamases (метало β -лактамази)

MLST - Multi Locus Sequence Typing (Мультилокусно секвениране)

MRCoNS - Methicillin-Resistant Coagulase-Negative Staphylococci

MRSA - Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*

MIC - Minimal Inhibitory Concentration

MDR - Multidrug Resistant

NA - not applicable

OXA - oxacillinase

PDR - Pan Drug Resistant

PCR - Polymerase Chain Reaction

ST - Sequence Type (секвенциален тип)

TSM - trimethoprim/sulphomethoxazole

UH - University Hospital

VRE - Vancomycin-Resistant *Enterococcus*

VREfm - Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecium*

VREf - Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecalis*

XDR - Extensively Drug Resistant

1. ВЪВЕДЕНИЕ

Въпреки изключително големия напредък на медицината от последните десетилетия, инфекциите на кръвта продължават и днес да са сред значимите проблеми, свързани с общественото здраве и водеща причина за заболяемост и смъртност. Честотата на тези инфекции в популационни проучвания в Европа и Северна Америка варира между 113 и 204 на 100 000 човеко-години (*Goto M, 2013*), а смъртността се оценява между 15% и 30% (*Hattori H, 2018*). Обширно проучване върху глобалната смъртност, свързана с 33 клинично значими бактериални патогена проведено през 2019г., обхващащо 343 милиона индивидуални записа в 204 страни, съобщава за общо 13.7 милиона смъртни случая, свързани с инфекции. От проучените 11 инфекциозни синдрома, два се свързват с над 2 милиона смъртни случая всеки: инфекциите на долния респираторен тракт - с 4 милиона и инфекциите на кръвта - с 2.91 милиона смъртни случая (*Ikuta K, 2022*). В допълнение, инфекциите на кръвта са идентифицирани като водещ инфекциозен синдром в два супер-региона на света, а *Staphylococcus aureus* като глобална водеща причина за фатални кръвни инфекции, отговорен за 299 000 смъртни случая през 2019г. (*Ikuta K, 2022*).

През 2008г. Rice обединява бактериалните видове *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Enterobacter* spp. в група наречена “ESKAPE” като най-честите причинители на животозастрашаващи инфекции, свързани с медицинското обслужване и заради способността си да избягват ефекта на редица антибиотици и заради профила си на множествена резистентност (*Rice L, 2008*). През 2009г. е предложен по-адекватен акроним ESCAPE, като „С“ се отнася за *Clostridioides difficile*, важен вътреболничен патоген, който също може лесно да придобива множествена резистентност, а “Е” - за *Enterobacteriaceae*, отнасящо се до всички Грам отрицателни чревни бактерии, вкл. *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus* spp. и *Enterobacter* spp. (*Peterson L, 2009*). Именно заради своята изключително проблемна резистентност, някои от тези патогени (vancomycin-резистентни *Enterococcus faecium*, карбапенем-резистентните *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* и *Enterobacteriaceae*) попадат и в списъка на микроорганизми на Световната Здравна Организация (СЗО), които са с приоритет „критичен“ за проучване и създаване на нови, ефективни антибиотици (*WHO, 2017*).

Редица проучвания демонстрират освен нарастване на товара на бактериалните инфекции на кръвта в световен мащаб, така и устойчива тенденция към бързо увеличаване честота на инфекциите, причинени от ESKAPE групата, представляващи между 50 и 70% от етиологичния им спектър, като често тези инфекции се асоциират с

продължителен болничен престой, увеличени икономически разходи и по-лош изход заради неадекватна и забавена антимикробна терапия поради антибиотичната резистентност на причинителите си (*De Kraker M, 2013; Founou R, 2017; Marturano J, 2019; Pogue J, 2015; Stewardson A, 2016; Tacconelli E, 2019; Yang S, 2019; Zhen X, 2019*).

Медицинският напредък и възможностите за лечение на редица заболявания води до непрекъснато нарастване групата на имунокомпрометираните пациенти (такива с онкохематологични заболявания, трансплантирани, ICU пациенти и др.). В последните години в световен мащаб е налице ясна тенденция за увеличаване честотата на инвазивните, животозастрашаващи инфекции, причинени от множествено-резистентни ESKAPE патогени и в тази специфична група, като тези микроорганизми са сред водещите причини за смъртност (*Gustinetti G, 2016; Martinez-Nadal G, 2020*).

Понастоящем антибиотичната резистентност е една от най-важните причини за смърт в глобален мащаб, асоциираща се с болестен товар, по-висок от този на HIV или малария (*Ikuta K, 2022*), като през 2050г. се смята, че тя ще бъде причина номер едно за смъртност, изпреварвайки дори онкологичните заболявания (*O'Neill J, 2016*). През 2019г. СЗО обявява „Антибиотичната резистентност“ като една от десетте заплахи за общественото здраве, добавяйки още два индикатора към своята програмата за периода 2019 - 2023г.: инфекциите на кръвта, причинени от *E. coli*, резистентни на цефалоспорини от трета генерация и метицилин-резистентни *S. aureus* (MRSA), както и консумацията на антибиотици на национално ниво (*WHO, 2019*).

В контекста на казаното, инфекциите на кръвта, причинени от резистентни микроорганизми представлява много актуален медицински проблем. Извършването на надзор и анализ на важни микробиологични и епидемиологични аспекти на тези инфекции, касаещи тенденции в етиологичния спектър и антибиотичната чувствителност на патогените, рисковите фактори и леталитета, който ги съпътства, предоставят важна информация на клиничните специалисти и професионалистите по контрол на инфекциите за създаването на адекватни лечебни алгоритми и програми за превенция и контрол на локално ниво. От друга страна, адекватно извършваният надзор на локално ниво, допринася съществено за разширяването на данните и научната информация за антибиотичната резистентност на национално ниво и за извършването на анализ на генерираната информация с цел оценка тежестта на антибиотичната резистентност при различни инфекции, в частност тези на кръвта. Генерирането на висококачествени и сравними данни по тези проблеми, позволяват интегрирането им с данни от Европейски и Глобални мрежи за надзор и подпомагат създаването на политики, насочени към

ограничение и контрол на проблема “Антибиотична резистентност” на национално и глобално ниво.

2. ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР

2.1 Инфекции на кръвта: дефиниции

Инфекциите на кръвта / кръвния ток (англ. Bloodstream Infections) са заболявания, причинени от присъствие и циркулиране на микроорганизми в кръвта и се дефинират от наличието на положителна хемокултура или хемокултури в пациент със симптоми на инфекция, при когото контаминацията е изключена (*Goto M, 2013; Laupland K, 2013a*).

При дефиниране на „инфекцията“ като процес, при който микроорганизмът встъпва във взаимоотношения с хазаина, инфекциите на кръвта / кръвния ток в широк смисъл обхващат много голям диапазон от процеси - от физиологични бактериемии без клинични прояви до сепсис, септичен шок, множествена органна недостатъчност, дисеминирана интраваскуларна коагулация (*Тягуненко Ю, 1998*). Често понятията „бактериемия“ и „инфекция на кръвта“ се използват взаимозаменяемо (*Laupland K, 2013a*), с признаване, че бактериемията отразява всяко присъствие на бактерии в кръвта, докато инфекцията на кръвта отразява не само микробно присъствие, но и характерни симптоми, свързани с развитие на възпалителен отговор срещу микроорганизми или техни метаболити, присъстващи в кръвта (*Liskowska-Lysiak K, 2021*). В този смисъл, понятието „бактериемия“ включва също манифестациите на сепсиса и септичния шок, отнасящи се до присъствие на микроорганизми в кръвта (*Тягуненко Ю, 1998*).

Инфекциите на кръвта могат да са първични и вторични. Първичните са лабораторно потвърдени инфекции на кръвта/кървния ток, които не са свързани с предшестваща или едновременна инфекция на друго място в организма или са без доказан произход, докато вторичните са резултат от предшестваща или едновременна инфекция, засягаща друго анатомично място (най-често уринарен, респираторен и гастро-интестинален тракт, кардиоваскуларна система) (*Timsit J, 2020; <https://www.cdc.gov/nhsn/psc/bsi/>*). При първичните инфекции на кръвния ток, бактериите се изолират само от кръвта, като тук се отнасят и случаите, свързани с контаминирани инфузионни разтвори и с трансфузия на замърсени кръвни продукти. Според продължителността на присъствието на бактериите в кръвта, инфекциите на кръвта / кръвния ток могат да се представят като транзиторна, интермитентна и персистираща бактериемия. Транзиторната бактериемия обикновено е с продължителност от няколко минути до часове и често се наблюдава след манипулации на инфектирани тъкани (абсцеси, фурункули, хирургически

манипулации), инвазивни процедури и инструментални манипулации на контаминирани мукозни повърхности, в началото на бактериални пневмонии, при артрити, остеомиелити, пиелонефрити и др. (Маркова Б, 2000; Тягуненко Ю, 1998). Интермитентната бактериемия (навлизане на бактерии в кръвния ток на интервали от първичното място на инфекцията) се наблюдава често при недренирани окултни абсцеси в коремната кухина или на други места или при интермитентни обструкции (жлъчни или уринарни), докато персистиращата или постоянна бактериемия е характерна за острия и хроничен бактериален ендокардит, супуративен тромбозен флебит, ендартериит и инфектирани аневризми, коремен тиф, паратифове и бруцелоза (мултисистемни инфекции) (Маркова Б, 2000; Тягуненко Ю, 1998). Трябва да се отбележи, че в по-голямата част от случаите бактериемията са асоциирани с инфекции, но в някои случаи, след малки по обем манипулации в областта на нестерилни, лигавични повърхности (миене на зъби, зъбна екстракция, други дентални процедури), може да се развие по-горе посочената транзиторна бактериемия, която да не се асоциира с инфекция и последици за пациента, макар в редки случаи да се стигне до развитие на инфекциозен ендокардит в предразположени пациенти (Laupland K, 2014; Martinez R, 2016). Други случаи, в които доказването на бактерии в кръвта не се свързва с истинска инфекция на кръвта е т. нар „псевдобактериемия“, когато хемокултурите са положителни за микроорганизми, неприсъстващи в кръвния ток, което е резултат от нестерилни техники при вземането и/или последващата обработка на кръвната проба (Laupland K, 2014).

Диагнозата „Инфекция на кръвта“ обикновено се поставя чрез положителна хемокултура при пациент, суспектен за инфекция, при когото контаминацията на кръвната проба е изключена (Laupland K, 2013a; Viscoli C, 2016). CDC/NHSN (National Healthcare Safety Network) разработва критерии за дефиниране на лабораторно-потвърдена инфекция на кръвта или кръвния ток (LCBI, Laboratory Confirmed Bloodstream Infection) при всички видове пациенти, като публикува и списък на микроорганизмите, отнасящи се към групата на коменсалните видове (NHSN, 2023; <https://www.cdc.gov/nhsn/psc/bsi/>). **Първичните лабораторно потвърдени инфекции на кръвта** трябва да отговарят на поне един от следните три критерия, като се разграничават 3 варианта (**LCBI 1-3**): **1.** Пациент, независимо от възрастта, с доказан бактериален или микотичен патоген от една или повече хемокултури (или доказан с не-културелно базиран микробиологичен метод), който не е част от коменсалната микрофлора и не е свързан с инфекция на друго място (**LCBI 1**). **2.** Пациент, независимо от възрастта, който има поне един от следните симптоми: фебрилитет

(>38⁰C), втрисане или хипотония и е с идентифициран микроорганизъм/и в кръвта, който не е свързан с инфекция на друго място + идентифициране на същия микроорганизъм, който е част от обичайната коменсална микрофлора, в две или повече хемокултури, взети по различно време (**LCBI 2**). **3.** Пациент на възраст <=1г., който има поне един от следните симптоми: фебрилитет (>38⁰C), хипотермия (<36⁰C), апнея или брадикардия и е с идентифициран микроорганизъм/и в кръвта, който не е свързан с инфекция на друго място + идентифициране на същия микроорганизъм, който е част от обичайната коменсална микрофлора, в две или повече хемокултури, взети по различно време (**LCBI 3**).

Вторичната лабораторно потвърдена инфекция (вторична спрямо инфекция с друга анатомична локализация - уроинфекция, пневмония, абдоминална инфекция, инфекция на хирургическото място, специфичен тип инфекция), трябва да отговаря на един от следните 2 критерия: **1.** микроорганизмът, идентифициран в хемокултурата, е елемент, който се използва, за да отговори на NHSN критериите за място-специфична инфекция, поради което хемокултурата се взема по време на т.нар. **“прозоречен период на място-специфична инфекция”** (определение: 7-дневен период, през който всички място-специфични критерии трябва да се изпълнят: включва датата, на която първият позитивен диагностичен тест, използван като елемент от място-специфичните критерии, е получен, 3 дни преди и 3 дни след това).

2. поне един микроорганизъм от хемокултурата трябва да съответства на микроорганизъм, идентифициран от клиничен материал, специфичен за мястото на съответната инфекция, като хемокултурата е взета по време на т. нар. **„период на отнасяне на вторична BSI“** [определение: времето, през което хемокултурата трябва да се вземе, за да бъде отнесена една вторична инфекция на кръвта към първичната място-специфична инфекция (включва прозоречния период и 14-дневна времева рамка, през която не се диагностицират нови инфекции от същия тип: средно 14-17 дни в зависимост от датата на настъпване на събитието (определение на „дата на събитие“: първата дата, в която се появява първият елемент, използван, за да отговори на NHSN критериите за място-специфична инфекция по време на 7-дневния прозоречен период) (*NHSN, 2023*).

Подвид на лабораторно-потвърдената инфекция на кръвта е т. нар. **Асоциирана с увреда на лигавичната бариера Лабораторно потвърдена Инфекция на кръвта (MBI-LCBI)** (*Mucosal Barrier Injury Laboratory Confirmed Bloodstream Infection*), поради което тази инфекция първо трябва да отговаря напълно на критериите за Лабораторно-потвърдена инфекция (LCBI), преди да бъде

допълнително оценена като свързана с лигавична увреда. Тук също се разграничават 3 варианта (**МБИ - LCBI 1-3**). Според CDC и NHSN, **МБИ LCBSI** трябва да отговаря на един от следните критерии (<https://www.cdc.gov/nhsn/psc/bsi/>):

Тип 1 МБИ LCBI	Тип 2 МБИ LCBI	Тип 3 МБИ LCBI
Пациент, независимо от възрастта, който отговаря на критериите за LCBI 1.	Пациент, независимо от възрастта, който отговаря на критериите за LCBI 2.	Пациент ≤ 1 г., който отговаря на критериите за LCBI 3.
С поне 1 хемокултура	С поне 2 съвпадащи хемокултури	С поне 2 съвпадащи хемокултури
изолирани са само чревни бактерии, които са посочени в NHSN МБИ списъка (https://www.cdc.gov/nhsn/psc/bsi/).	идентифицират се <i>Streptococcus viridans</i> и/или <i>Rothia</i> spp. самостоятелно (без други микроорганизми).	идентифицират се <i>Streptococcus viridans</i> и/или <i>Rothia</i> spp. самостоятелно (без други микроорганизми).
Идентифицирани с културелни и не-културелно-базирани микробиологични методи	Идентифицирани чрез култура	Идентифицирани чрез култура

И

Пациентът трябва да отговаря поне на едно от следващите изисквания:

- той е **реципиент на алогенна хематопоеична стволово-клетъчна трансплантация** през последната година, като едно от следващите състояния е документирано по време на същата хоспитализация, когато е доказана положителната хемокултура:

а. Чревна форма на GVHD (Graft Versus Host Disease)

или

б. ≥ 1 л. диарийни изхождания за 24ч. с поява по време или 7 дни преди датата на положителната хемокултура.

Или

- той е **неутропеничен** (диагностициран в поне два отделни дни с ANC и/или $WBC < 500$ клетки/ mm^3 в рамките на 7 дневен период, който включва деня на вземане на положителната хемокултура, 3 дни преди и 3 дни след това).

При срещата между имунната система на индивида и циркулиращия в кръвта патоген, се индуцира имунен отговор, в резултат на който най-често се демонстрират симптоми като фебрилитет, втрисания, хипотония, хипотермия, тахипнея, тахикардия, хипервентилация, промяна в менталния статус и др. (Martinez R, 2016). Инфекциите на кръвта могат да доведат до развитие на сепсис, септичен шок и смърт в най-тежките случаи. През 2017г. около 49 млн. души са били засегнати от сепсис (почти 50% са деца под 5г.) и около 11 млн. са починали, а през 2019г. броят на починалите нараства до 13.66 милиона глобално (Ikuta K, 2022; WHO, 2020). За 2018г. се оценява, че 15% от неонаталната смъртност в световен мащаб е в резултат на сепсис. Един от всеки 4 случая на сепсис в болнични условия и 1 от всеки 2 в ICUs, е резултат от инфекции, свързани с медицинското обслужване (WHO 2020; <https://apps.who.int/iris/handle/10665/334216>). През 2016г. European Society of Intensive Care Medicine и Society of Critical Care Medicine публикува нова дефиниция на сепсис, като елиминира понятието „SIRS“ и „тежък сепсис“ (Singer M, 2016). Понастоящем, сепсисът се дефинира като „живото-застрашаваща органна дисфункция, причинена от дисрегулиран отговор на макроорганизма спрямо инфекция“, като органната дисфункция може да се оцени адекватно при леглото на болния чрез използване на qSOFA точковата система (Quick Sequential [Sepsis-related] Organ Failure Assessment): дихателна честота ≥ 22 пъти/мин., промяна в психическото състояние или систолно кръвно налягане $\leq 100\text{mmHg}$ (Singer M, 2016). Септичният шок се дефинира като подвид на сепсис (късна и тежка фаза), при който наблюдаваните тежки циркулаторни, клетъчни или метаболитни отклонения са особено дълбоки, за да увеличат смъртността значително (Singer M, 2016; SCCM, 2021). Пациентите със септичен шок могат да бъдат идентифицирани, когато на фона на сепсис се установят персистираща хипотония, изискваща приложение на вазопресори, за да се поддържа средно артериално налягане $\geq 65\text{mmHg}$ и се доказват стойности на серумния лактат $>2\text{ mmol/L}$ (18mg/dL) независимо от адекватната обемна ресусцитация (Singer M, 2016).

2.2 Класификация на инфекциите на кръвта

За целите на клиничния мениджмънт и антимикробна терапия, инфекциите на кръвта се класифицират според мястото си на придобиване и според особеностите на макроорганизма (Laupland K, 2014; Timsit J, 2020; Viscoli C, 2016). Според мястото им на възникване, се разграничават инфекции, придобити в обществото; инфекции,

свързани с медицинското обслужване и болнично-придобити. В групата на инфекциите, придобити в обществото се категоризират онези от тях, които възникват в пациенти без предварителна експозиция на фактори на здравната система и се идентифицират след по-малко от 48ч. от извършена хоспитализация. Инфекции, възникнали в домове за социални грижи или в болнична среда се означават като инфекции, свързани с медицинско обслужване при пациенти, които са изложени на значителни по обем здравни грижи (подгрупа на инфекции, възникващи в обществото). Разграничаването на тази група се свързва на първо място с драматично променените модели на предоставяне на здравни грижи в последните години, с много по-високо ниво на предоставяне на комплексни здравни грижи и услуги (домашна хемодиализа, извънболнична парентерална антибиотична терапия и др.) (*Laupland K, 2014*). Инфекции на кръвта, които се идентифицират за първи път след повече от 48ч. след хоспитализацията, се приемат за вътреболнични. Инфекциите на кръвта са отговорни за около 40% от случаите на придобитите в обществото и вътреболничните сепсиси и септичен шок и за около 20% от ICU-придобитите случаи (*Timsit J, 2020*).

В зависимост от особеностите на макроорганизма, в който възникват, се разграничават три основни групи инфекции на кръвта: Първа група: в имунологично компетентни пациенти, с интактни защитни механизми; Втора група: в пациенти, при които има непълноценна защита поради физиологични особености (новородени и много възрастни хора); Трета група: в имунокомпрометирани пациенти - с налични патологични или фармакологични условия, които предразполагат към инфекция (пациенти на имunosупресивна и цитостатична терапия, HIV пациенти, с онкологични заболявания, диабет, с инвазивни диагностични и терапевтични процедури, трансплантирани и др.) (*Viscoli C, 2016*).

2.3 Епидемиология на инфекциите на кръвта

Инфекциите на кръвта са тежки, живото-заstrашаващи заболявания, които се характеризират с висока честота, смъртност и сериозна финансова тежест върху здравните системи по света (*Brunelli S, 2016; Costa S, 2022; Goto M, 2013*). Определят се сред седемте най-чести причини за смърт в САЩ и Европа (*Goto M, 2013*).

Проследена в годините епидемиологията на инфекциите на кръвта е доста динамична, тъй като зависи както от микробиологични, така и от фактори, отнасящи се до пациента и до здравната система - демографски промени, възникване и клонално разпространение на множествено-резистентни патогени, медицинския напредък и свързаната с него увеличена популацията на имунокомпрометирани пациенти.

а. Честота

Множество фактори повлияват актуалната честота на инфекциите в даден регион, като тези фактори не се отнасят само до честота на хемокултурелното изследване, клинични практики, програми за надзор, но също и до социално-икономически, етнокултурни, географски и климатични влияния (*Laupland K, 2013a*). Предвид важноста на инфекциите на кръвта, в много страни са провеждани популационни и лонгитудинални проучвания, като те произхождат предимно от Европейски и страни в Северна Америка (таблица 1). Популационно - базираните проучвания са приети като проучвания с оптимален дизайн, за да се оцени честотата на дадено заболяване в популацията, тъй като установяват всички случаи в даден, добре дефиниран географски регион с известен брой на населението (като са изключени приходящите) и позволят оценка на въздействието на реструктурирането на системата за здравни грижи или на превантивните мерки върху епидемиологията на заболяването, както и могат да идентифицират промени или тенденции в честотата и разпределението на етиологичните агенти в обществото или в структурите, предоставящи здравни грижи (*Nielsen S, 2014; Nilesen S, 2015; Nielsen S, 2015a*). Макар да съществуват различия в използваните методи, в проучваните популации и времеви период, публикуваните резултати ясно демонстрират, че инфекциите на кръвта се съпътстват с голям болестен товар. Данните от големи популационно - базирани проучвания по отношение честотата на инфекциите на кръвта от последните 10 години са доста хетерогенни, като варират между 101 и 309 епизода на 100 000 население / година и между 1.3 и 31.2 епизода на 1000 болнични приема (таблица 1). За сравнение, честотата на инфекциите на кръвта, рапортувана на база популационни проучвания върху товара на инфекциите на кръвта в Северна Америка и Европа, извършени преди 2010г. (1992 - 2007г.) и данни от национални надзорни системи (САЩ, Франция, Англия, Испания, Финландия) в същия период, е между 113 - 204 епизода на 100 000 население, като делът на вътреболничните инфекции се изчислява на около 30-50% от случаите в страни с високи доходи (HICs) (*Goto M, 2013; Kern W, 2020; Laupland K, 2014*). На таблица 1 са представени резултатите на най-големите популационни проучвания върху бактериемии / инфекции на кръвта в периода 1992 - 2018г. Макар да се забелязват някои тенденции през годините, при сравнение между двете декади не се установяват значителни промени в честотата на тези инфекции (*Alonso-Menchén D, 2022; Kern W, 2020*). Прави впечатление популационното проучване на Laupland et al., обхващащо периода 2010 - 2020г. с фокус върху популацията над 65г. (таблица 1). Това проучване доказва годишна честота средно от 533.9 епизода на 100

000 население, като честота в групите 65-74г., 75-84 и ≥ 85 е съответно 375.3, 678.9 и 1046.6 на 100 000, като мъжете са със сигнификантно по-висок риск за инфекция в сравнение с женския пол, а с увеличаването на възрастта се очертава тенденция за намаляване на инфекциите, възникнали в обществото и повишаване на тези, свързани със здравното обслужване (*Laupland K, 2021*).

Трябва да се отбележи, че не всички популационни проучвания отдиференцират ясно инфекциите на кръвта, възникнали в обществото, вътреболничните и тези, свързани с медицинско обслужване. Сравнявайки онези от тях, в които се съобщават такива резултати, се установяват значителни вариации: делът на придобитите в обществото инфекции на кръвта варират между 17.1% в Канада, 29% във Финландия, 53.3% в Дания, 67% в Швеция и до 89% в Тайланд (таблица 1); делът на вътреболничните инфекции се движи между 9.9% в Тайланд, 33% в Швеция, 38.4% в Дания и до 81.8% в Канада, а инфекциите, свързани с медицинското обслужване се оценяват между 1.1% за Канада, от 8.4 – 19.6% в Дания, с 50 и 85 епизода на 100 000 човеко-години в Дания и Норвегия съответно (таблица 1). Някои проучвания не отдиференцират вътреболничните от инфекциите, свързани със здравното обслужване и ги представят в обща група - 71% във Финландия и 69.2 епизода на 100 000 население в Канада (таблица 1). Публикация на M. Goto съобщава за 19.1%, 28% и 35% дял на вътреболничните инфекции в САЩ, Канада и Европа, което съответства на между 113 000 и 134 000 епизода на година за Северна Америка и около 240 000 случая годишно за Европа (*Goto M, 2013*). В допълнение, трябва да се отбележат и значителните различия между резултатите по отношение на вътреболничните инфекции от популационните проучвания от една страна и данните, съобщавани от съответните Национални надзорни системи (*Goto M, 2013; Kern W, 2020; Laupland K, 2014*). В контекста на инфекциите на кръвта в критично болни пациенти, в световен мащаб ICU- асоциирани инфекции на кръвта възникват на около 5-7% от приемите, което съответства на средно 6-10 епизода на 1000 пролежани дни. Нозокомиалните инфекции на кръвта в критично болни пациенти са внесени в около 25% от случаите (документирани при хоспитализацията на пациента) или ICU-придобити в 75% съответно (*Timsit J, 2020*).

За разлика от Европа и Северна Америка, в научната литература има относително малко информация относно честота на инфекциите на кръвта в Африка и Азия на база популационни проучвания. Наскоро публикувана обзорна статия на S. Marchello et al. върху 34 проучвания от тези два региона върху превалирането на инфекции на кръвта, придобити в обществото сред хоспитализирани пациенти в

Африка и Азия в периода 1974 - 2015г. и извършен мета-анализ, установява, че сред общо 29 022 пациенти, средното превалиране на инфекциите на кръвта е 12.5% (между 2.0% и 48.4%), като в педиатричната популация инфекции на кръвта са доказани в 9.6%, а сред възрастните участници - в 12.1% (*Marchello C, 2020*). Специфична особеност за Африка са случаите на ко-инфекции на кръвта и малария (5.3%) или с HIV (26.9%). Същите автори на база мета-анализ съобщават и средно 2.9% (2.1 - 19.2%) и 7.3% (2.9 - 15.6%) превалиране на инфекциите на кръвта в Европа и Америка през проследявания период (*Marchello C, 2020*).

Таблица 1. Честота на инфекции на кръвта, съобщена в популационни проучвания*.

Страна	Период	Честота	Автор
САЩ, Европа**	2003 - 2005	189	<i>Goto M, 2013</i>
Канада	1998 - 2005	101.2	<i>Laupland K, 2013b</i>
Канада**	2010 - 2015	117.8	<i>Laupland K, 2016</i>
Канада**	2017	150	<i>Verway M, 2022</i>
Канада***	2010 - 2020	533.9	<i>Laupland K, 2021</i>
Англия	2004 - 2008	189	<i>Goto M, 2013</i> <i>Wilson J, 2011</i>
Дания**	1992 - 2006	114-166	<i>Goto M, 2013</i> <i>Sogaard M, 2011</i>
Дания**	2000 - 2008	215.7 (198-254)	<i>Nielsen S, 2014</i>
Швеция**	2000 - 2013	169-265	<i>Holmbom M, 2016</i>
Норвегия**	2002 - 2013	215	<i>Mehl A, 2017</i>
Швейцария	2008 - 2014	220 (211-240)	<i>Buetti N, 2017</i>
Финландия	2004 - 2007	159 (149-168)	<i>Goto M, 2013</i> <i>Skogberg K, 2012</i>
Финландия**	2004 - 2018	216 (150 - 309)	<i>Kontula K, 2021</i>
Тайланд**	2007 - 2014	110	<i>Phodes J, 2019</i>

* модифицирана по Alonso-Menchén D, 2022; ** проучвания, в които се съобщава честота/относителен дял и според мястото на придобиване на инфекциите (вътреболнични, придобити в обществото или свързани с медицинското обслужване); *** проучена е само популация ≥ 65 г.

Проучвания, които са с фокус върху честотата на патоген-специфични инфекции на кръвта, съобщават за честота от 20 до 30 епизода на 100 000 население за *S. aureus* асоциираните инфекции, като в редица държави (САЩ, Канада, Дания, Финландия, Тайланд, Австрия и др.) в последните години се отбелязва тренд за увеличаване, особено сред по-възрастни пациенти (*Diekema D, 2019a; Jaganath D, 2018; Jokinen E, 2018; Jones M, 2019; Kern W, 2020; Kourtis A, 2019; Lam J, 2019; Laupland K, 2013d; Souli M, 2019; Thorlacius L, 2018*). Честотата на инфекциите на

кръвта, причинени от *E. coli* е по-висока от тази на *S. aureus* и варира в различни проучвания между 50 и 60 епизода на 100 000 население (*Abernethy J, 2017; Blandy O, 2019; Bou-Antoun S, 2014; Williamson D, 2013*). *S. pneumoniae*, като трети по важност причинител на придобити в обществото инфекции, се асоциира с честота от 10-20 епизода на 100 000 (*Akova M, 2016*). С по-ниска честота като причинители на инфекции на кръвта, възникнали в обществото, се асоциират представителите на *Klebsiella* spp. (5.2 - 5.7/100 000 и до 15.4/100 000 при мъжкия пол), *Proteus* spp. (1.3 - 2/100 000), *Enterobacter* spp. (3.3/100 000), *P. aeruginosa* (3.6/100 000 и до 10.8/100 000 в мъжкия пол), *Enterococcus* spp. (2.9 - 3.6/100 000; 7 и 1/100 000 за *E. faecalis* и *E. faecium* съответно) (*Laupland K, 2014*).

За 2019г. ECDC оценява, че за най-големия брой инфекции на кръвта в Европейския съюз са отговорни два вида антибиотично-резистентни бактерии: резистентните на цефалоспоринови трета генерация *E. coli* и MRSA. Карбапенем-резистентните *K. pneumoniae*, макар отговорни за по-малък дял от инфекциите в ЕУ, показват големи вариации в зависимост от конкретната страна. Така честота на инфекциите на кръвта средно за Европа (брой инфекции на 100 000 население), причинени от резистентни на цефалоспоринови трета генерация *E. coli* е 10.4, за MRSA - 5.6 и 2.18 за инфекциите, причинени от карбапенем-резистентни *K. pneumoniae*. Най-висока честота на инфекции на кръвта, причинени от *E. coli*, резистентни на цефалоспоринови от трета генерация се доказва в Италия (23.2), Белгия (13.2) и Малта (12.4), за тези асоциирани с MRSA - в Италия (13.6), Румъния (13.7) и Португалия (11.4), а за инфекциите, причинени от карбапенем-резистентни *K. pneumoniae* - в Гърция (13.05), Италия (8.51) и Румъния (7.12). За същия период ECDC съобщава за България честота на инфекциите на кръвта, причинени от *E. coli*, резистентни на цефалоспоринови от трета генерация - 4.3/100 000, за тези асоциирани с MRSA - 1.5/100 000, а за инфекциите, причинени от карбапенем-резистентни *K. pneumoniae* - 2.29/100 000 население (*ECDC, 2023*).

б. Източници на инфекция

Инфекциите на кръвта могат да бъдат предшествани, последвани или едновременно съпътствани от локализиращи инфекции (пневмония, ендокардит, менингит, уроинфекция), хирургически процедури или да са в резултат на наличие на чуждо тяло (напр. катетър) (*Costa S, 2022*). Според ECDC, източникът на инфекция на кръвта в ICU пациентите е свързан в 36.5% с катетър, вторична инфекция на кръвта, свързана с други източник в 35% и е с неизвестен произход - в 20.5% от случаите. В случаите на вторични ICU - придобити инфекции на кръвта, първичният фокус е най-

често белодробен (45.4%), следван от уринарния (18.5%) и гастроинтестиналния тракт (20.2%) (ECDC, 2019). Катетър-свързаните инфекции на кръвта се характеризират с бактериемия или фунгемия, произхождащи от интравенозния катетър. Честота на инфекциите, асоциирани с периферните катетри е ниска, за разлика от тази при катетър-свързаните инфекции, асоциирани с централни венозни катетри, при които дневния риск за инфекция е около 20 пъти по-висок от този при периферните устройства (Gominet M, 2017). Катетрите са основен източник на инфекции на кръвта в Европейските интензивни клиники (ECDC, 2019). През 2020г. са регистрирани около 21 000 катетър-свързани инфекции на кръвта (CDC, 2020). Развитието на този тип инфекция се асоциира с микробна контаминация на повърхността на катетъра (най-често от кожна микрофлора), катетърния хъб или хематогенна дисеминация от други източник или при вливане на нестерилни инфузионни разтвори, последвани от формиране на микробен биофилм, който се превръща в потенциален източник на инфекция (Costeron J, 1999). Клетки от този биофилм се откъсват, причинявайки катетър-свързана инфекция на кръвта с последващо дисеминиране и до други анатомични области (Gominet M, 2017).

Повече от 50% от инфекциите на кръвта възникват в пациенти над 65г. и по-възрастни, като уринарните инфекции са най-честият източник, доказван в 21 - 59% от пациентите, следван от тези в респираторния тракт (9-28%), интраабдоминални (1-20%) и инфекции, свързани с наличие на съдов катетър (1-10%) (Del Bono V, 2016; Yahav D, 2016).

в. Рискови фактори

Рискът за развитие на инфекции на кръвта зависи освен от експозицията на конкретен микробен причинител и от фактори, свързани със специфични характеристики на макроорганизма (анатомия, хормонален статус, здравно състояние, поведение, начин на живот) и географско положение (Askim A, 2018; Mohus R, 2018; Paulsen J, 2017; Rudd K, 2020).

- **Възраст**

Възрастта е сред основните рискови фактори за инфекции на кръвта и септични състояния, като възраст над 40г. е рисков фактор за сепсис, а при пациентите над 85г. се установяват най-високите нива на смъртност (над 35%) (Martinez RM, 2016). Инфекциите на кръвта са по-чести при по-възрастни хора, като над 50% от случаите се доказват в пациенти над 65г. и по-възрастни, което се свързва с намален потенциал на механизмите на естествената резистентност и имунитета, съществуващи сериозни подлежащи заболявания и увеличаване на хоспитализациите (Htwe TH, 2007; Yahav

D, 2016). Тези пациенти са и в по-висок риск за вътреболнични инфекции, като независими рискови фактори за такива инфекции са освен по-голямата възраст, обездвижването, наличие на вътресъдов катетър или гастростома, уринна инконтиненция, обструктивна уропатия и неврологични увреждания (*Del Bono V, 2016; Kaye KS, 2011; Reunes S, 2011; Yahav D, 2016*).

Друга група в повишен риск за развитие на инфекции са децата в неонаталната възраст поради незрялост на имунната система в този период от живота, като при тези пациенти също се доказват по-високи нива на смъртност (*Hedegaard S, 2015; Kan B, 2016*).

- **Пол и раса**

Тежките инфекции на кръвта се развиват по-често при мъже отколкото при жени и са доказани с по-висока честота при афроамериканци отколкото при кавказката раса (*Martinez R, 2016*). Машабно проспективно популационно проучване в Норвегия, обхващащо 64 040 участника и период от 15.2 години, съобщава, че мъжкият пол има 41% по-висок риск за инфекция на кръвта в сравнение с женския пол, като 34% от този риск се опосредства от фактори като здравно поведение, образование, съпътстващи заболявания и кардиоваскуларни рискови фактори, както и че мъжкият пол се асоциира с 87% по-висок риск за умирање (*Mohus RM, 2022*). Същото проучване показва, че нарастващата възраст е рисков фактор за развитие и неблагоприятен изход от инфекции на кръвта. Друго популационно проучване върху 9 266 пациенти с инфекции на кръвта в интензивни клиники, също установява, че мъжкият пол е рисков фактор за този тип инфекция (*Laupland K, 2004*). Скорошни проучвания на K. Laupland et al. върху населението на регион в Канада за 8-годишен период и върху пациенти в старческа възраст (≥ 65 г.), доказва, че мъжете са в повишен риск за инфекции на кръвта в сравнение с жените, като влиянието на пола като рисков фактор е най-изразено сред най-възрастните пациенти (*Laupland K, 2020; Laupland K, 2021*).

- **Хранене и начин на живот**

Различни метаболитни и хранителни дефицити (витамин D, селен, желязо, аминокиселини, хормонални отклонения, диабет, затлъстяване) се свързват с увеличен риск, тежест и смъртност от инфекции на кръвта (*Badurdeen S, 2015; Berger M, 2015; Huang Z, 2012; Upala S, 2015*). Тютюнопушеното, злоупотребата с алкохол и обездвижването също са идентифицирани като рискови фактори (*Mohus RM, 2018; Paulsen J, 2017*).

- **Хоспитализация**

Хоспитализацията и рисковите фактори за вътреболнични инфекции (скорошна хоспитализация, хемодиализа, чести болнични визити, провеждана профилактика с флуорохинолони в болница) предразполагат пациентите към инфекции на кръвта и сепсис (*Martinez R, 2016*).

- **Оперативно лечение**

Инфекцията на кръвта, вкл. с фатален край, може да съпътства различни хирургични интервенции (спленектомия, коремна хирургия, онкохирургия, трансплантационни процедури и др.) (*Martinez R, 2016*).

- **Престой в интензивна клиника**

Пациентите в критично клинично състояние са особено предразположени към развитие на инфекции на кръвта, които се доказват в около 7% от всички пациенти през първия месец от престоя (*Bassetti M, 2016*). EPIC II проектът (Extended Prevalence of Infection in the ICU) установява, че в ICUs приблизително 15% от пациентите са били с инфекция на кръвта в деня на проучването (*Vincent JL, 2009*). В този смисъл, престоят в интензивна клиника е сред важните рискови фактори за инфекции на кръвта, особено такива причинени от MDR микроорганизми, като критично болните пациенти са изложени на специфични рискови фактори за кръвни инфекции като APACHE II score, продължителен престой, необходимост от изкуствена вентилация, хемодиализа, имunosупресия, компрометирана чернодробна функция, скорошно хирургично лечение или инвазивна процедура в последните 30 дни, нозокомиална инфекция, наличие на чуждо тяло, експозиция на широкоспектърни антибиотици в последните 30 дни (флуорохинолони и/или цефалоспорини от трета генерация и/или карбапенеми), предишна колонизация с MDR бактерии, локален взрив от MDR инфекции и локалната епидемиология, свързана с резистентност, доказана в над 20% от изолатите (*Di Franco S, 2021*). Широката употреба на интраваскуларни катетри е призната за най-важния рисков фактор за възникване на инфекции на кръвта, като централните венозни катетри са устройствата най-често асоциирани с придобиване на такава инфекция (*Gahlot R, 2014*). EUROBACT-1 международното проучване, обхващащо 1 156 ICU-придобити инфекции на кръвта, установява, че 21% от тези инфекции са катетър-свързани, 21% - произхождат от VAP (Ventilator Associated Pneumonia), 24% - са свързани с интраабдоминални инфекции, а други 24% - са с неясен източник (*Tabah A, 2012*). CVC-свързаните инфекции се развиват в 0.5-1.5% от пациентите, които са били експонирани, със средна честота от 0.5 - 2.5 епизода на 1000-катетърни дни, като югуларната или феморалната инсерция и продължителността на катетеризацията са водещите рискови фактори (*Timsit J, 2020*).

В допълнение, пациентите, които са подложени на ЕСМО (Extracorporeal Membrane Oxygenation) са с особено висок риск за ICU-асоциирани инфекции на кръвта, с честота достигаща 20 епизода на 1000 ЕСМО-дни (*Timsit J, 2020*). Други автори също потвърждават водещото място на катетър-свързаните инфекции (30%), следвани от VAP-свързаните бактериемии (15%), като VAP са най-честия източник на вторична бактериемия в критично болни пациенти (*Bassetti M, 2012; Kunac A, 2014; Lim SJ, 2014*). В допълнение, тоталното парентерално хранене също е доказан независим рисков фактор за инфекции на кръвта (*Luzzati R, 2016*).

- **Придружаващи заболявания**

Редица придружаващи заболявания, някои, от които свързани със застаряване на човешката популация, са важни фактори, предразполагащи към инфекции на кръвта: кардиоваскуларни заболявания, захарен диабет, ХОББ, чернодробна цироза, хронична бъбречна недостатъчност, автоимунни и онкологични заболявания, HIV инфекция, вродени имунни дефицити, деменция, спленектомия, алкохолизъм, наркомания и др. (*Dagasso G, 2018; Del Bono V, 2016; Lauplant K, 2020; Skov Dalgaard L, 2015; Thulstrup AM, 2000*).

Захарният диабет е заболяване, идентифицирано като рисков фактор за придобиване на различни по вид инфекции на кръвта, като повишената чувствителност на пациентите с това заболяване се свързва с увредени защитни механизми, особено в случаите на лош контрол на диабета и кетоацидоза, а именно - дисфункция на полиморфонуклеарните левкоцити, намалени серумни нива на C4 фракцията на комплемента и на цинк, променен цитокинен отговор и лимфоцитна трансформация след стимулация (*Lauplant K, 2020*). В допълнение, микроангиопатията, характерна за това заболяване, повлиява негативно левкоцитната миграция чрез задебеляването на капилярната базална мембрана, което също е свързано с увеличаване чувствителността към инфекции (*Thomsen RW, 2005*).

Инфекциите на кръвта са чести инфекциозни усложнения сред пациентите в стадия на терминално чернодробно заболяване, засягащи между 4-21% от пациентите, като са десет пъти по-чести при пациенти с цироза, отколкото в тези без (*Bartoletti M, 2016*). Повишеният чревен пермеабилитет, цироза-асоциираната имунна дисфункция и свързаната с тях повишена бактериална транслокация са рисковите фактори свързани с ендегенния път за възникване на кръвна инфекция, а честите хоспитализации, инвазивните процедури, използването на чужди тела (CVCs, шънтови устоята) определят предимно екзогенния път за развитието им най-често в болнични условия (*Albillos A, 2014; Bartoletti M, 2016; Bellot P, 2013*).

Пациентите с автоимунни или неопластични заболявания също са в повишен риск за инфекции на кръвта, поради вродени дефицити на факторите на естествената резистентност или придобития имунитет от една страна или заради често провеждана имуносупресивна (понякога продължителна) и цитостатична терапия заради основното подлежащо заболяване. Пациентите със солидни тумори са група, особено предразположена към инфекции на кръвта, като повишената чувствителност се свързва с различни механизми (чести състояния на прогресиращ катаболизъм, малнутриция, улцеративни лезии по кожата и лигавиците, обструктивни процеси, инвазивни процедури и поставяне на чужди тела) (*Gudiol C, 2016*). Друг важен рисков фактор е провеждане на самото хирургическо лечение, като пациентите с обширни туморни резекции, особено в областта на респираторния и гастроинтестиналния тракт, са в много висок риск за нозокомиални постоперативни инфекции, като инфекциите на кръвта са идентифицирани като третата причина за постоперативна инфекция (16%), след пневмонията (43%) и раневата инфекция (28%) (*Avritscher E, 2014*).

В контекста на онкологичните заболявания, рискът от развитие на инфекции на кръвта е особено висок при неутропенични пациенти с онкохематологични заболявания, като рискът се оценява до 8 пъти по-висок от този при пациенти със солидни тумори, като за това допринася имунният дефицит, свързан с подлежащото злокачествено заболяване и неговото специфично лечение (*Carvahlo A, 2020; Marin M, 2014; Schlenez S, 2013*). Треската, развиваща се в хода на неутропенията (химиотерапевтично индуцирана) е често усложнение при онкохематологичните заболявания, известна като фебрилна неутропения, засягайки около 80% от пациентите (*Amanati A, 2021; Gustinetti G, 2016*), като инфекциите на кръвта са отговорни за между 10 и 25% от фебрилните епизоди и са най-честите инфекциозни усложнения в условия на неутропения (*Boss MM, 2013*). Неутропенията, особено продължителната и тежка неутропения (<500 клетки/ μ l), е най-честият рисков фактор за тежки инфекции на кръвта (*Carvahlo A, 2020*).

Увреждането на мукозната бариера на гастро-интестиналния тракт под формата на мукозит при тези пациенти е в резултат на провежданата химио- и радиотерапия, като обикновено увредата е най-демонстративна в областта на тънките черва (*Gustinetti G, 2016*). Микробната транслокация от чревния тракт, резултат от лигавичната увреда, се асоциира с повишена честота на бактериемиите, като някои проучвания докладват, че около 40-50% от инфекциите на кръвта в онкологичните клиници са в резултат на увреждане на лигавичната мукоза (*Metzger KE, 2015*).

Наличието на централен венозен катетър също увеличава риска за развитие на инфекция на кръвта и сепсис, като той е по-голям в случаите, когато се използват многолуменни устройства и се извършват многократни манипулации със CVC (*Mollee P, 2011*).

Други рискови фактори за развитие на инфекции на кръвта по време на неутропения са фекална колонизация с MDR бактерии, продължителен болничен престой, провеждана профилактика с широкоспектърни антибиотици, флуорохинолони или trimethoprim-sulphomethoxazole (специално за инфекции, причинени от зеленеещи стрептококи) (*Carvahlo A, 2020; Cornejo-Juarez P, 2016; Pinana JL, 2014; Tunkel AR, 2002*).

- **HIV инфекция**

Макар, че с напредъка и въвеждането на комбинираната антиретровирусна терапия, продължителността на живота на HIV пациентите е значително удължен, а спектърът на HIV-асоцираните опортюнистични инфекции променен, все пак инфекцията с HIV остава причина за повишен риск за инфекции на кръвта (*Taramasso L, 2016*). Сред най-важните рискови фактор за развитие на този тип инфекции в HIV групата пациенти е ниският брой на CD4 лимфоцитите, В-клетъчната дисфункция с последваща липса на серумни опсонини, както и количествени и качествени дефицити на неутрофилите (*Martinez R, 2016; Taramasso L, 2016*). Машабно проучване на K. Laupland et al. върху 2141 епизода на инфекции на кръвта, диагностицирани сред всички жители на Western Interior of British Columbia в Канада в периода 2011 - 2018г. в Канада, установява, че HIV инфекцията, следвана от онкологичните заболявания са най-значимите рискови фактори за развитие на кръвни инфекции, придобити в обществото (*Laupland K, 2020*).

Друг възможен рисков фактор, който вероятно ще има ефект върху честота на кръвните инфекции в HIV инфектирани пациенти в следващите години е фактът, че свързано с напредъка на антиретровирусната терапията животът на много от тези пациенти ще бъде удължен и към основния рисков фактор ще се добавят и фактори, типични за застаряването на населението (сърдечно-съдови заболявания, хипертония, диабет, хронични бъбречни заболявания, остеопороза и не-СПИН свързани онкологични заболявания), което ще увеличи риска от хоспитализации и нозокомиални инфекции (*Taramasso L, 2016*).

- **Трансплантации**

Пациентите след трансплантация на солиден орган или хематопоетична-стволово клетъчна трансплантация (ХСКТ) представляват една от най-уязвимите

групи пациенти за инфекциозни усложнения и в частност инфекции на кръвта, като най-висока е честотата в първите 30 дни след процедурата. Видът на трансплантацията има отношение към честотата на това инфекциозно усложнение, като тя е най-висока след трансплантация на черен дроб (*Martinez R, 2016*). Рисковите фактори за инфекции на кръвта след трансплантация са многобройни, но сред най-важните се отнасят: възраст на реципиента над 55г., нозокомиална инфекция, наличие на чуждо тяло, продължителност на хирургическата интервенция, хирургични усложнения, имунна супресия, хронични заболявания, които персistirат след трансплантацията, продължителен престой в интензивна клиника, предишна експозиция на антибиотици, повторна трансплантация, диабет, хипоалбуминемия, хипергликемия, пост-трансплантационно назално носителство на *S. aureus*, хемодиализа преди трансплантацията, неутропения, парентерално хранене, голяма кръвозагуба, ре-операция (*Kritikos A, 2016*).

Пациентите след хематопоеична стволово-клетъчна трансплантация се асоциират с някои специфични рискови фактори за развитие на инфекциозни усложнения и в частност инфекции на кръвта. По литературни данни инфекциите на кръвта засягат 10% от реципиентите на автоложна и 20% до 30% - на алогенна ХСКТ, като най-висока честота се наблюдава през периода на пре-енграфтмънт (*Balletto E, 2015*). Неутропенията е сред най-важните и специфични рискови фактори, като случаите с по-голяма продължителност и тежест на неутропенията (особено дълбока неутропения - абсолютен неутрофилен брой (ANC) ≤ 100 клетки/ μL) се асоциират с по - чести епизоди на инфекциозни усложнения и висок риск от смъртен изход (*Wingard J, 2019*). Други значими рискови фактори са мукозитът в гастроинтестиналния тракт, развиващ се най - често при пациенти с миелоаблативен режим на кондициониране, но и в хода на провеждане на профилактика срещу GVHD (*Nathan S, 2019*), използването на централни венозни катери за целите на ХСКТ, свързано с нарушаване целостта на кожата и последващата микробна колонизация на катетъра, наличието на коморбидност, тежко протичащата остра и хронична GVHD и нейната по-агресивна терапия с висока дози глюкокортикостероиди и нови имуносупресанти, хипогамаглобулинемия, профилактика с флуорохинолони и колонизация с полирезистентни бактерии преди трансплантацията (*Balletto E, 2015*).

- **Специфична терапия**

Специфичното лечение на онкологичните и автоимунни заболявания (лупус, ревматоиден артрит, множествена склероза и др.) също се асоциира с повишен риск за развитие на инфекциозни усложнения и в частност инфекции на кръвта поради

повлияване на имунния отговор и индуциране на имunosупресивен ефект: приложение на кортикостероиди и цитостатици (коментирани по-горе), В и Т клетъчна деплеция (*Martinez R, 2016; Wingard J, 2019*).

г. Смъртност

По-голяма част от наличната информация за смъртността, съпътстваща инфекциите на кръвта, е получена от различни многоцентрови-кохорни и популационни проучвания, които рапортуват много различни и трудно сравними резултати, което може да се обясни с множество фактори като различен дизайн на проучването, типа на изследваната популация, честота на инфекцията, етиологичен агент и използване на различни дефиниции (*Alonso-Menchén D, 2022*).

По-ранни проучвания, като това на *Goto et al.* върху товара на инфекциите на кръвта и нозокомиалните инфекции на кръвта в Северна Америка и Европа, съобщава за смъртност, асоциирана с инфекции на кръвта съответно 23-28 / 100 000 човеко-години в САЩ, 20-25 / 100 000 човеко-години - в Канада и 21.6 – 37.8 / 100 000 човеко-години в Европа, което се асоциира с между 72 349 - 84 823, 7117 - 8832 и 158 000 - 276 000 смъртни случая за година съответно в САЩ, Канада и Европа, общо около 250 000 смъртни случая за Северна Америка и Европа (*Goto M, 2013*). Същото проучване съобщава за смъртност, свързана с нозокомиални инфекции на кръвта както следва: за САЩ: между 15 000 и 36 000 случая на година; Канада: 2900 - 3600 и за Европа - 29 000 случая на година (*Goto M, 2013*). В исторически аспект, някои проучвания преди 2000г. едновременно върху нозокомиални и инфекции, възникнали в обществото, съобщават за увеличена честота на инфекциите, но при тренд за намаляване на смъртността (28% - 18%; 12% - 7%), като данните за смъртността, свързана с нозокомиални инфекции варира много в различните проучвания - 23%, 6-48% (*Bearman G, 2005*).

Резултатите от популационни проучвания, публикувани в последната декада също са доста различни, но средно смъртността, свързана с инфекции на кръвта е между 21 - 32 умирация на 100 000 човеко-години, а 30-дневната смъртност се движи между 12.8% и 22.7% (таблица 2). Популационно кохортно проучване върху 30-дневната смъртност след бактериемични епизоди в Дания, обхващащо продължителен 14 годишен период (2000 - 2014г.) установява на фона на повишаваща се честота на бактериемии в проучвания период (от 181 до 222 епизода на 100 000 население през 2014г.), тенденция за сигнификантно намаляване на показателя смъртност с 6% на 100 000 население, което авторите обясняват с подобрени възможности за диагностика, лечение и контрол на инфекциите на кръвта (*Holm M, 2021*). Значителни

различия има и по отношение показателя „смъртност“, когато той е отнесен към инфекции на кръвта, според мястото на възникване (възникнали в обществото, свързани с медицинското обслужване и нозокомиални). В групата на инфекциите, възникнали в обществото, този показател се движи в границите между 7.6% и 19.5%, а при инфекциите, свързани с медицинското обслужване - между 18% и 22% (*Fitzpatrick J, 2016; Holmbom M, 2016; Jin L, 2021; Laupland K, 2016; Lenz R, 2012; Pérez-Crespo P, 2021; Rodríguez-Baño J, 2010*). При нозомиалните инфекции този показател достига между 17.2% и 26% (*Holmbom M, 2016; Lenz R, 2012; Nagao M, 2012; Pérez-Crespo P, 2021; Rodríguez-Baño J, 2010*). С още по - високи нива на смъртност (между 40 и 60%) се асоциират инфекциите на кръвта в интензивните клиники, като рискът за смъртен изход в тези болнични структури е 3 пъти по-висок (*Bassetti M, 2016*). Машабно национално ретроспективно кохортно проучване в периода 2007-2015г., проведено от Wang et al. в Тайван, доказва 44.2% смъртност в кохортата пациенти с ICU - придобити инфекции на кръвта срещу 33.48% - в кохорта ICU пациенти, но без инфекции (*Wang Y, 2020*). Подобни нива на смъртност се доказват и в други, по-ранни проучвания (41.2% срещу 22.5%) (*Prowle J, 2011*).

Таблица 2. Смъртност при инфекции на кръвта, съобщена в популационни проучвания.

Страна	Период	Смъртност	Автор
САЩ	2003 - 2005	23.6 - 27.5 (смъртност на 100 000 човеко-години)	<i>Goto M, 2013</i>
Канада	1998 - 2005	20.4 - 25.3 (смъртност на 100 000 person-years)	<i>Goto M, 2013</i>
Канада	2010-2015	10.6% (болничен леталитет) 12.7% HCA-BSI (болничен леталитет) 7.6% CA-BSI (болничен леталитет)	<i>Laupland K, 2016</i>
Канада	2017	17% (30-дневен болничен леталитет)	<i>Verway M, 2022</i>
Дания	1992-2006	20.6 – 22.7% (30-дневен болничен леталитет)	<i>Goto M, 2013; Søgaard M, 2011</i>
Швеция	2000-2013	12.8% (30-дневен болничен леталитет) 10.6% CA-BSI (30-дневен болничен леталитет) 17.2% HA-BSI (30-дневен болничен леталитет) 142 - 205 (смъртност на 100 000 приема)	<i>Holmbom M, 2016</i>
Швеция	2008-2016	13% (30-дневен болничен леталитет) 162 -189 (на 100 000 приема)	<i>Holmbom M, 2020</i>
Норвегия	2002 - 2013	32 (смъртност на 100 000 човеко-години)	<i>Mehl A, 2017</i>
Финландия	2004-2007	13% (30-дневен болничен леталитет) 20.8 (19.2 – 21.6) (смъртност на 100 000 човеко-години)	<i>Goto M, 2013; Skogberg K, 2012</i>
Финландия	2004 - 2018	13% (30-дневен болничен леталитет) 28 (смъртност на 100 000 човеко-години)	<i>Kontula K, 2021</i>

Съкращения: CA-BSI, community acquired bloodstream infection; HA-BSI, hospital-acquired bloodstream infection; HCA-BSI, healthcare associated bloodstream infection.

В повечето проучвания смъртността, свързана с инфекции на кръвта във възрастната популация от населението (над 65г.) е по-висока в сравнение с групата на по-младите пациенти, като това се отнася както за 30-дневната (между 16-50%), 90-дневната (20-85%) и смъртността след 1 година от инфекцията (30-31%) (*Yahav D, 2016*). В популационно проучване, проведено в Канада в периода 2010 - 2020г. върху болестния товар на инфекциите на кръвта във възрастни пациенти (над 65г.), *Laupland et al.* съобщават за 17.3%, 24.6% и 26.9% тридесет-дневна смъртност във възрастовите групи 65-74, 75-84 и > 85г. съответно, като пациентите във възрастовата група 75-84г. и ≥ 85г. са със сигнификантно по-висок риск за смъртен изход в сравнение с групата 65-74г. (*Laupland K, 2021*). Сред най-важните факторите с принос за повишена смъртност сред пациентите над 65г. са намаления физиологичен капацитет (вкл. на хуморални и клетъчно-медиерания имунитет), увеличената честотата на подлежащи заболявания, лош толеранс към инвазивни диагностични и терапевтични процедури, по-голям риск и честота на вътреболнични инфекции като цяло, като сред предиктивните фактори за смъртност са по-голяма възраст, лош функционален статус, ко-морбидитети, неподходяща емпирична антибиотична терапия, респираторни, абдоминални и неутропения -асоциирани инфекции (*Yahav D, 2016*).

Инфекциите на кръвта остават една от главните причини за смъртност при пациенти след трансплантация на солидни органи (*Green M, 2013*). Нивата на смъртност, асоциирана с инфекциите на кръвта при тази група пациенти варира между 3 и 33% за сърдечните трансплантации, между 10 и 52% за чернодробните, 6 - 25% - при трансплантациите на бял дроб, 6 - 44.4% - за панкреас и между 2.5% и 11% за бъбречните трансплантации (*Kritikos A, 2016*).

Цитираните по-горе проучвания, оценяват показателя „смъртност“, свързан с инфекции на кръвта в контекста на „краткосрочна“ смъртност. За този тип инфекции е известно, че се асоциират и с висока „дългосрочна“ смъртност, последващи кардио-васкуларни усложнения и повишен риск от рекурентни инфекции на кръвта (*Jafarzadeh S, 2016*). Например обзорна статия на J. F. McNamara върху асоциацията между инфекциите на кръвта и дългосрочната смъртността (от 1 до 12 години), докладва, че при три проучвания, които оценяват този показател, сравнявайки с не-BSI болнични контролни групи, смъртността е съответно 48% срещу 27% за контролната група, 60% срещу 6% и 29.7 срещу 23.9%, а при проучванията, които използват популационни контроли, този показател е съответно 44.6% срещу 4.1%, 41.4% срещу 2.6% и 8% срещу 3.9%, като най-висока смъртност е докладвана в проучване сред пациенти с чернодробна трансплантация (60%). Авторите изчисляват, че рискът за

смърт на първата година е сигнификантно по-висок за пациентите с инфекции на кръвта в сравнение с контролните групи (RR 4.04 [95% CI 1.84-8.87]) (McNamara J, 2018). Подобни резултати се докладват и в 12 годишно популационно кохортно проучване в Дания, което съобщава за по-висока кумулативна смъртност в бактериемични пациенти срещу популационни контроли във всички проследявани периоди, както следва: 22% срещу 0.2% (на 30 ден), 30.1% срещу 0.6% (на 90-ден), 41.4% срещу 2.6% (на първата година), 63.0% срещу 16.8% (на петата година) и 75.8% срещу 36.6% (на 10-та година) (Nielsen S, 2015).

Като се вземе под внимание съществуването на ясни патоген-специфични различия и множеството фактори, асоцииращи се с неблагоприятен изход, подходящо е също показателят „смъртност при инфекции на кръвта“ да бъде представен и проучван в светлината на конкретен патоген. Например, по-ранни проучвания върху инфекции на кръвта, възникнали в обществото, отчитат смъртност, свързана със *S. aureus* от 3/100 000 население и 20% тридесет-дневна смъртност, а в случаите на нозокомиални инфекции, смъртността е по-висока както при MRSA, така и при MSSA инфекциите в сравнение с тези, придобити в обществото: 36% срещу 20% за MRSA и 11.8% срещу 5.1% за MSSA. Същото проучване съобщава за 20% смъртност до 30-я ден при *Klebsiella spp.* асоциираните инфекции (Laupland K, 2014).

Многоцентрово ретроспективно кохортно проучване върху болестния и икономически товар на инфекциите на кръвта, причинени от чувствителни и резистентни *Enterobacteriaceae* и *S. aureus*, включващо 606 649 епизода на инфекции на кръвта в 10 Европейски болници в периода 2010 - 2011г., доказва честота на инфекциите, причинени от MSSA и MRSA както следва - 0.227 и 0.042 епизода на 1,000 пролежани дни в риск за MSSA и MRSA инфекции на кръвта, както и честота от 0.538 и 0.092 епизода на 1,000 пролежани дни в риск за инфекции на кръвта, причинени от чувствителни и съответно резистентни към трета генерация цефалоспорини *Enterobacteriaceae*. Проучването установява, че резистентните към трета генерация цефалоспорини *Enterobacteriaceae*, MSSA и MRSA увеличават сигнификантно дневния риск за смъртен изход, докато инфекциите на кръвта с чувствителни към трета генерация цефалоспорини *Enterobacteriaceae* сигнификантно увеличават болничния престой, но не и риска за смърт (Stewardson A, 2016). Американско проучване, обхващащо 193 болници в периода 2014 - 2018г., докладва, че инфекциите на кръвта, причинени от ESKAPE групата (доказани в 42.2% от всички епизоди) в сравнение с не-ESKAPE причинители на инфекции на кръвта, се асоциират с по-дълъг болничен престой (3.3 дни), по-високи болнични разходи (5500\$) и

увеличена смъртност с 2.2% (Marturano J, 2019). Други проучвания макар да доказват, доминация на ESKAPEEс патогените в етиологичния спектър на инфекциите на кръвта (над 70%), не установяват статистически значима разлика в показателя „смъртност“ между групата пациенти с инфекции на кръвта, причинени от една страна от MDR ESKAPEEс и от друга – от non-MDR ESKAPEEс (13.7% срещу 11.4%, $p=0.692$) (Peng X, 2021).

Популационно проучване върху 6 вида вътреболнично придобити инфекции (вкл. инфекции на кръвта), проведено в периода 2011 - 2012г., съобщава за 2 609 911 нови случая всяка година в Европейския съюз, асоциирани с общ болестен товар от 501 DALYs (Disability-Adjusted Life-Years, години живот загубени поради болест и/или преждевременна смърт) на 100 000 население (съответствашо на общо 2,506,091 DALYs (95% UI: 2,163,850–2,877,574). След вътреболничните пневмонии, нозокомиалните първични инфекции на кръвта се асоциират с най-голям болестен товар, като се представят със 145 DALYs на 100,000 население (28.9% от общия DALYs). Инфекциите на кръвта, заедно с нозокомиалните пневмонии са отговорни за над 60% от общия болестен товар. Макар и с относително ниска честота (напр. значително по-ниска от тази на инфекциите на хирургичната рана), първичните нозокомиални инфекции на кръвта генерират висок болестен товар, поради тежестта си и високата смъртност, с която се асоциират (Cassini A, 2016).

Популационен анализ, извършен през 2015г. в Европейския съюз с цел оценка на показателите „смъртност“ и „DALYs“, асоциирани с антибиотично резистентни бактерии и 5 вида инфекции (вкл. инфекции на кръвта) на база резултати от EARS-Net, рапортува общо 671 689 инфекции, причинени от антибиотично-резистентни бактерии през 2015г. (доказана честота от 131 на 100 000 население), от които 63.5%, свързани с медицинското обслужване. Тези инфекции се асоциират средно с 6.44 умирения на 100 000 население и 170 DALYs на 100 000 население, което е много близко до комбинирания болестен товар на три важни инфекциозни заболявания (грип, туберкулоза и HIV) (183 DALYs на 100 000) (Cassini A, 2019). Проучването докладва, че 75% от болестния товар на инфекциите, причинени от антибиотично-резистентни бактерии в Европа (127 DALYs на 100 000 население) се асоциира с медицинското обслужване (болници и други здравни заведения). Нещо повече, авторите съобщават, че инфекциите на кръвта се асоциират със 71.7% от общия DALYs (122 от 170), което означава, че оценената смъртност от инфекции, причинени от антибиотично резистентни бактерии през 2015г. в Европа е най-вече свързана с инфекциите на кръвта. Болестният товар е най-голям при деца под 1 година и хора над

65 годишна възраст, като се отбелязва тренд за увеличаване в периода 2007 - 2015г. както на честотата (от 239 238 до 602 609), така и на смъртността, свързана с тези инфекции (от 11 144 до 27 249). Италия и Гърция са страните с най-голям товар, като карбапенем- или colistin-резистентните бактерии са отговорни за по-голям дял от товара в Гърция, отколкото в Италия, резултати, които се потвърждават от докладваното от EuSCAPE проучването през 2017г. за най-високо превалиране на карбапенемаза-продуциращи *K pneumoniae* и *E coli* в Италия и Гърция (6.0/10 000 болнични приема в Италия и 17.3/100 000 пролежани дни в Гърция) (Cassini A, 2019; Grundmann H, 2017). Около една трета от умираанията в резултат на антибиотично-резистентни бактерии в Европейския съюз през 2015г. са в Италия. В Хърватска, България и Унгария около 40% от болестния товар се асоциира с карбапенем- или colistin-резистентни бактерии, но общият болестен товар в тези страни е подобен на средния за Европа. Проучването докладва, че около 68% (115 от 170) от общия DALYs на 100 000 население са причинени от 4 антибиотично резистентни бактерии: резистентни на трета генерация цефалоспорини *E coli*, MRSA, карбапенем-резистентни *P aeruginosa* и резистентни на трета генерация цефалоспорини *K pneumoniae*, като инфекциите с colistin - или карбапенем-резистентни бактерии са отговорни за 38.7% (65.9 от 170) от общия DALYs. Независимо от относително ниската си честота, карбапенем-резистентните *K. pneumoniae* имат висок болестен товар, заради високата смъртност, с която се асоциират, докато vancomycin-резистентните *E. faecalis* и *E. faecium* (с подобна честота на карбапенем-резистентните *K. pneumoniae*) се асоциират с нисък болестен товар. Проучването доказва, че най-силно е увеличен болестния товар на карбапенем-резистентните *K. pneumoniae* (около 6 пъти), както като брой инфекции, така и като брой смъртни случаи, следван от карбапенем-резистентните *E coli*, резистентните на трета генерация цефалоспорини *E. coli* и *K. pneumoniae*. Броят на смъртните случаи, свързани с инфекции, причинени от резистентни на трета генерация цефалоспорини *E. coli*, се е увеличил около 4 пъти в периода 2007 - 2015г. Проучването съобщава, че инфекциите на кръвта, причинени от colistin-резистентни *K. pneumoniae*, карбапенем-резистентни *K. pneumoniae*, colistin-резистентни *E. coli*, VRE, карбапенем-резистентни *E. coli*, резистентни на трета генерация цефалоспорини *E. coli* се асоциират с най-високи средни проценти от DALYs на 100 000 население, съответно – 95.5%, 92.9%, 92.2%, 91.1%, 89%, 80.5% (Cassini A, 2019).

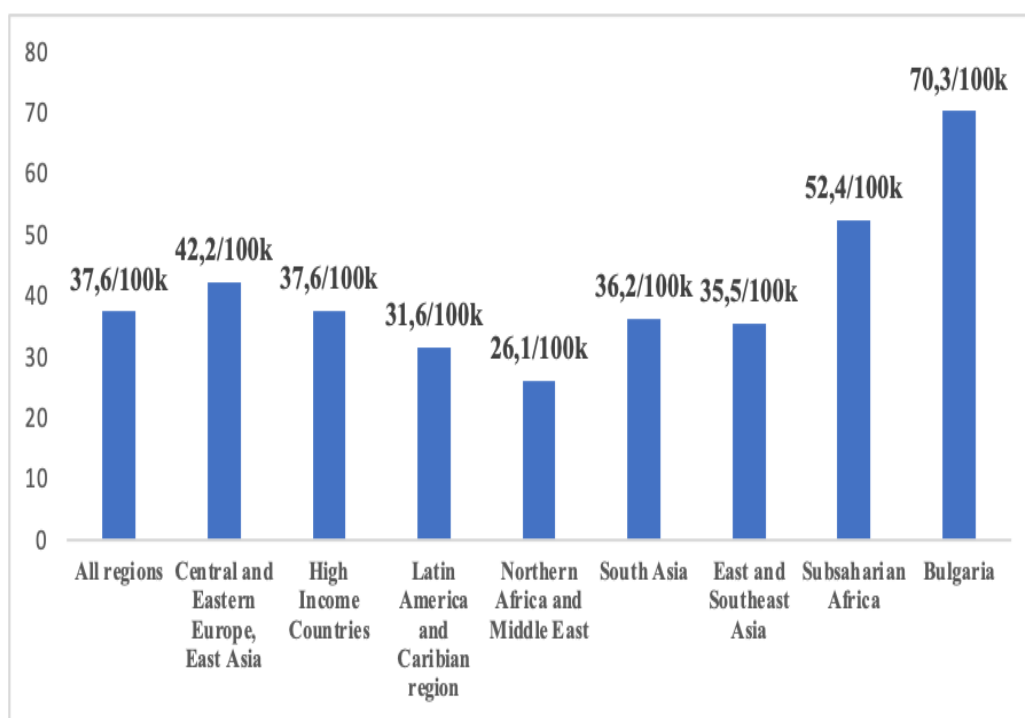
В синхрон с тези резултати, проучване на ECDC, публикувано през 2022г. потвърждава значителния товар на инфекциите, асоциирани с антибиотично

резистентни бактерии (вкл. инфекции на кръвта) в Европейския съюз в периода 2016-2020г., като между 2016г. и 2019г. се установява нарастваща тежест на тези инфекции (от 685 433 до 865 767), с изключение на 2020г., когато се установява лек спад (801 517) ($p < 0.001$). В този период аналогична тенденция се доказва и за инфекциите на кръвта, причинени от антибиотично-резистентни бактерии (увеличение от 107 404 до 134 277 и спад до 122 070 през 2020г.). Логичен резултат е доказването на увеличение на броя на умираанията, свързани с тези инфекции, от 30 730 през 2016г. до 38 710 през 2019г., с лек спад до 35 813 през 2020г. ($p < 0.001$). Проучването също съобщава и за нарастване на показателя DALYs: от 909 488 през 2016г. до 1 101 288 през 2019г., с леко понижение до 1 014 799 през 2020г. ($p < 0.001$), като 67-68% от общия DALYs се асоциират с инфекциите на кръвта. В допълнение, 70.9% от случаите на инфекции, причинени от антибиотично-резистентни бактерии в Европейския съюз са свързани с медицинското обслужване. В периода 2016 - 2020г. *E. coli* продължава да е най-често съобщавания патоген в EARS-Net и съответно асоцииран с най-високия болестен товар за този период, като най-голям принос за това имат инфекциите, причинени от *E. coli*, резистентни на цефалоспорини от трета генерация, следвани от MRSA и *K. pneumoniae*, резистентни на цефалоспорини от трета генерация, като заедно генерират 58.2% от общия DALYs. В повечето европейски страни *E. coli* и резистентността към цефалоспорини от трета генерация са сред най-честите комбинации микробен вид-антибиотична резистентност с принос върху болестния товар, изразен както като DALYs, така и като брой умираания. На национално ниво, в Гърция, Италия и Румъния, карбапенем-резистентните *K. pneumoniae* са отговорни за голяма част от DALYs. В този период в много страни карбапенем-резистентните *Acinetobacter* spp. и карбапенем-резистентните *P. aeruginosa* са сред антибиотично резистентните бактерии със сравнително висок DALYs. Инфекциите, причинени от карбапенем-резистентни *K. pneumoniae*, макар представени в малък относителен дял (4-5%) от общия брой случаи в Европейския съюз в този период, представляват относително голям дял от броя на смъртните случаи (8-11%) и DALYs (9-12%). Въпреки, че в периода 2016-2020г. се доказва нарастващ тренд за всички комбинации микробен вид-карбапенемна резистентност, за карбапенем-резистентните *Acinetobacter* spp. и *K. pneumoniae*, най-голям брой инфекции и респективно болестен товар се установява през 2020г., когато за много други патогени се доказва лек спад в сравнение с 2019г. Пациентите на възраст над 65г. се характеризират със значително по-висок болестен товар спрямо всички останали, като в тази възрастова група инфекциите, причинени от *E. coli*, резистентни на цефалоспорини от трета генерация се асоциират с най-

високия болестен товар. Страните от Южна и Източна Европа (особено Гърция, Италия и Румъния) продължават да са с най-висок болестен товар от инфекции, причинени от антибиотично-резистентни бактерии и в периода 2016 - 2020г. (ECDC, 2022c).

Мащабно проучване през 2019г. върху смъртността на глобално, регионално и национално ниво, свързана с 33 важни бактериални патогена (чувствителни и резистентни) (вкл. ESKAPEЕе групата) и 11 инфекциозни синдрома (вкл. инфекции на кръвта) на база 343 милиона изолата от 204 страни, установява 13.7 милиона инфекция-свързани смъртни случая глобално, като 7.7 милиона от тях се асоциират с проучваните 33 бактериални патогена (Ikuta K, 2022). Тези бактерии са отговорни за 13.6% от всички смъртни случаи глобално през 2019г. и за 56.2% от всички сепсис-свързани случаи в същата година. Общата смъртност се оценява на 99.6 случая на 100 000 население за всички 33 патогена. Само един бактериален вид, *S. aureus*, се асоциира с над 1 милиона случая през 2019г., а други четири - *E. coli*, *S pneumoniae*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* - с над 500 000 смъртни случая всеки през същата година. Всъщност, повече от половината смъртни случаи глобално за 2019г. (54.9%) са причинени от един от тези 5 патогена: *S aureus*, *E coli*, *S pneumoniae*, *K pneumoniae* и *P. aeruginosa*. Проучването установява, че два инфекциозни синдрома са отговорни за повече от 2 милиона смъртни случая през 2019г.: инфекциите на долния респираторен дял с 4млн. и тези на кръвта с 2.91млн. смъртни случая. Независимо от географския регион, инфекциите на кръвта са единият от трите водещи инфекциозни синдрома, а *S. aureus* е водеща причина за фатални инфекции на кръвта [299 000 умирения (166 000 - 485 000)], като се асоциира с 23% от умиренията от инфекции на кръвта в супер-региона с високи доходи през 2019г., но само с 5% от тези в Субсахарска Африка. Възрастово-стандартизираната смъртност, асоциирана с инфекциите на кръвта варира, като е най-висока в региона на Субсахарска Африка (52.4 случая на 100 000 популация), следвана от региона на Централна и Източна Европа и Източна Азия (42.2 случая / 100 000 население), НИС (37.5/100 000), Южна Азия (36.15/100 000), Източна и Югоизточна Азия (35.5/100 000), Латинска Америка и Карибския регион (31.6/100 000) и най-ниска в региона на Северна Африка и Среден Изток (26.14 на 100 000) (фигура 1) (Ikuta K, 2022). Данните за България сочат, че общата смъртност в случая на инфекции на кръвта, свързана с всички 33 бактериални патогена, е сред най-високите (70.34 случая на 100 000 население), като близки до тези стойности са резултатите за Сърбия (57.85/100 000), Северна Македония (52/100 000), Украйна (50.9/100000) и Румъния (50.32/100 000). Петте бактериални вида, които

глобално се асоциират с най-високи нива на смъртност като причинители на инфекции на кръвта в допълнение към *S. aureus* (3.86/100 000), са *K. pneumoniae* (3.42/100 000), *A. baumannii* (3.20/100 000), *E. coli* (3.13/100 000) и *P. aeruginosa* (2.10/100 000). С по-ниска смъртност се свързват *Enterobacter* spp. (2.01/100 000), *S. pneumoniae* (1.62/100 000), *E. faecalis* (1.01/100 000) и *E. faecium* (0.96/100 000). Сред всички представени в проучването 7 супер-региона, *E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *S. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii* и *Enterobacter* spp. са сред причинителите, асоцииращи се с най-високи нива на смъртност при инфекции на кръвта, като има определени географски различия в поредността им. Данните за България сочат, че смъртността, свързана с *E. coli* (20.37 / 100 000), *S. aureus* (9.15 / 100 000) и *K. pneumoniae* (7.63 / 100 000) са сред най-високите (таблица 3) (Ikuta K, 2022; <https://vizhub.healthdata.org/microbe/>).



Фигура 1. Инфекции на кръвта и смъртност по региони през 2019г. (представена като брой смъртни случаи на 100 000 население)*

* източник: <https://vizhub.healthdata.org/microbe/>

Таблица 3. Инфекции на кръвта и смъртност, свързана с най-честите бактериални патогени по региони през 2019г. (представена като брой смъртни случаи на 100 000 население)*.

Региони	<i>Ec</i>	<i>Sa</i>	<i>Kp</i>	<i>Sp</i>	<i>Pa</i>	<i>Ab</i>	<i>Efm</i>	<i>Efc</i>	<i>Enterobacter spp.</i>
Всички региони	3,13	3,86	3,42	1,62	2,10	3,20	1,01	0,96	2,01
Централна и Източна Европа, Централна Азия	9,17	5,73	4,18	2,7	2,02	1,9	1,71	1,59	0,87
България	20,37	9,15	7,63	4,57	3,06	1,72	2,97	2,94	0,56
НІСs	7,03	8,47	3,14	1,74	1,96	2,17	1,75	1,06	0,81
Латинска Америка и Карибски регион	2,98	3,53	3,51	1,59	2,17	2,16	1,07	0,87	1,16
Северна Африка и Среден Изток	1,86	2,56	2,54	1,20	1,61	2,28	0,74	0,65	1,47
Южна Азия	1,85	1,77	3,59	1,49	2,16	2,86	0,95	0,68	2,15
Източна и Югоизточна Азия	1,94	4,38	2,46	1,32	2,05	5,59	0,94	0,71	3,48
Субсахарска Африка	2,19	1,89	5,50	2,15	2,54	1,57	0,81	1,39	1,27

* източник: <https://vizhub.healthdata.org/microbe/>

Съкращения: *Ec*, *E. coli*; *Kp*, *K. pneumoniae*; *Pa*, *P. aeruginosa*; *Ab*, *A. baumannii*; *Sa*, *S. aureus*; *Efc*, *E. faecalis*; *Efm* *E. faecium*.

Проучването представя и смъртността при инфекции на кръвта, но асоциирана с антибиотично-резистентни бактерии. С най-висока смъртност глобално се асоциират MRSA (1.56/100 000), резистентните на цефалоспорици трета генерация *E. coli* (0.77/100 000), карбапенем-резистентните *A. baumannii* (0.75/100 000), карбапенем-резистентните *K. pneumoniae* (0.72/100 000) и резистентните на цефалоспорици трета генерация *K. pneumoniae* (0.65/100 000) (таблица 4). В България смъртността при инфекции на кръвта, асоциирана с резистентни на цефалоспорици трета генерация *E. coli* (2.37/100 000), резистентни на цефалоспорици трета генерация *K. pneumoniae* (1.66/100 000), карбапенем-резистентните *K. pneumoniae* (1.13/100 000) и карбапенем-резистентните *A. baumannii* (0.71/100 000) е сред най-високите, включени в проучването (таблица 4). Висока смъртност, свързана с MRSA инфекции на кръвта се установяват в НІСs (2.52/100 000), САЩ (2.66/100 000), Гърция (3.58/100 000) и Италия (2.18/100 000). За Гърция се доказва и висока смъртност при инфекции на кръвта, свързана с карбапенем-резистентни *K. pneumoniae* (1.56/100 000) и VRE (0.1/100 000) (Ikuta K, 2022; <https://vizhub.healthdata.org/microbe/>)

Таблица 4. Инфекции на кръвта и смъртност, свързана с бактериална резистентност, представена спрямо комбинация патоген-антимикробно средство по региони през 2019г. (представена като брой смъртни случаи на 100 000 население)*

Региони	<i>3rd GCREC</i>	<i>CREC</i>	<i>3rd GCRKP</i>	<i>CR KP</i>	<i>CRPA</i>	<i>CRAB</i>	<i>MRSA</i>	<i>VREf</i>	<i>VREfm</i>
Всички региони	0,77	0,38	0,65	0,72	0,49	0,75	1,56	0,044	0,18
Централна и Източна Европа, Централна Азия	1,39	0,3	0,72	0,91	0,74	0,5	1,35	0,051	0,26
Централна Европа	0,99	0,15	0,84	0,55	0,68	0,49	1,72	0,046	0,45
Източна Европа	1,94	0,41	0,54	1,4	0,9	0,5	1,29	0,061	0,2
България	2,37	0,23	1,66	1,13	0,63	0,71	1,30	0,056	0,38
HICs	0,61	0,087	0,35	0,17	0,41	0,32	2,52	0,043	0,42
Западна Европа	0,66	0,11	0,38	0,21	0,39	0,13	1,42	0,036	0,21
Северна Америка	0,41	0,049	0,22	0,12	0,41	0,43	2,53	0,065	0,82
Латинска Америка и Карибски регион	0,73	0,11	0,68	0,52	0,66	0,70	2,01	0,091	0,42
Северна Африка и Среден Изток	0,58	0,28	0,60	0,51	0,34	0,55	1,51	0,03	0,23
Южна Азия	0,82	1,07	0,31	1,73	0,79	0,96	1,31	0,064	0,14
Източна и Югоизточна Азия	0,68	0,12	0,51	0,37	0,31	1,11	1,32	0,026	0,053
Субсахарска Африка	0,94	0,29	1,77	0,42	0,35	0,32	1,39	0,029	0,1

* източник: <https://vizhub.healthdata.org/microbe/>

Съкращения: *3rd GCREC*, резистентни на 3-та генерация цефалоспорини *E. coli*; *CREC*, карбапенем-резистентни *E. coli*; *3rd GCRKP*, резистентни на 3-та генерация цефалоспорини *K. pneumoniae*; *CRKP*, карбапенем-резистентни *K. pneumoniae*; *CRPA*, карбапенем-резистентни *P. aeruginosa*; *CRAB*, карбапенем-резистентни *A. baumannii*; *MRSA*, метицилин-резистентни *S. aureus*; *VREf*, vancomycin-резистентни *E. faecalis*; *VREfm*, vancomycin-резистентни *E. faecium*.

2.4 Етиология на бактериалните инфекции на кръвта

Етиологичният спектър на инфекциите на кръвта е изключително широк, но най-важните причинители са бактериите (90%) и много по-рядко гъбички и вируси (*Banik A, 2018; Martinez R, 2016; Nucci M, 2005; Peman J, 2014; Pfaller M, 2004; Pfaller M, 2020; Ruiz-Camps I, 2014*).

Бактериите, които причиняват инфекции на кръвта и сепсис притежават няколко механизма, осигуряващи тяхното оцеляване, пролиферация и дисеминация в човешкото тяло. В случаите на Грам отрицателни бактерии, ендотоксинът активира имунната система на човек, а при Грам положителните - пептидогликанът, липотейхоевите киселини и някои токсини инициират възпалителен отговор. Този отговор се състои от две основни компоненти - едната е оттокът, свързан със съдов, клетъчен и химичен отговор с цел да се спре увредата и да се намали концентрацията на токсините, а втората компонента е свързана с процеса фагоцитоза, която цели премахване на бактериите и клетъчния детрит (*Martinez R, 2016*). По-голяма част от бактериите, които причиняват инфекции на кръвта са факултативни анаероби, като те се асоциират с по-големи възможности за оцеляване и пролиферация в различни условия на външната среда (*Costa S, 2022*). Оксидативният стрес, причиняван от фагоцитиращите клетки на макроорганизма, свързан с освобождаването на супероксид, водороден пероксид и високо токсични радикали, е основен механизъм за защита. Критични за оцеляването на патогените в такива условия са биохимичните пътища, водещи до инактивация на кислород-зависимите защитни процес (супероксид дисмутаза, каталаза, глутатион пероксидаза и глутатион редуктаза) (*Minasyan H, 2017*). Други фактори на патогенност при бактериите, причиняващи инфекции на кръвта, са свързани с наличието на капсула и слайм, структури, отговорни за защитата в условия на стрес, фагоцитоза и антибиотично лечение, а фактът, че повечето бактерии, причиняващи инфекции на кръвта, могат да растат в условията на биофилм, допълнително увеличава тяхната патогенност (*Minasyan H, 2019*).

Сред най-честите бактериални етиологични агенти са *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Streptococcus pneumoniae*, коагулаза-негативни стафилококи, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus* spp. (*E. faecalis*, *E. faecium*), *Streptococcus pyogenes*, група G стрептококи, *P. aeruginosa* и други представители на семейство *Enterobacteriaceae* (*Laupland K, 2013a; Laupland K, 2013b; Laupland K, 2013c; Liu C, 2022; Rothe K, 2019*). Важни бактериални агенти, които по подобие на *S. pyogenes*, *S. pneumoniae*, *S. aureus* и *Streptococcus viridans*, също могат да причинят инфекции на кръвта в

имунокомпетентни индивиди без дефицити на факторите на защитата, са *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, *Salmonella typhi* и не-тифни салмонели (в определени географски региони) (Marchello C, 2020; Viscoli C, 2016).

По-редки бактериални патогени, доказвани обикновено при пациенти с определен имунен дефицит или дефицит на факторите на естествената резистентност (вкл. поради физиологични особености) са *Streptococcus agalactiae*, *Listeria monocytogenes*, *Vibrio vulnificus*, *Leptotrichia* spp., *Capnocytophaga* spp. (Martinez R, 2016). От групата на анаеробните бактерии, *Bacteroides fragilis* group и *Clostridium* spp. са сред най-честите изолати от кръв и обикновено са свързани с рискови фактори като злокачествени заболявания, диабет, напреднала възраст, пост-оперативен статус (Suzuki H, 2009). Микобактериалните видове като причинители на инфекции на кръвта се свързват предимно с *M. tuberculosis*, *M. chelonae* complex, *M. haemophilum*, *M. mageritense* и *M. canariense*, някои доказвани като причинители на катетър-свързани инфекции и вътреболнични взривове в хематологични клиники (Tagashira Y, 2015). В допълнение към посочените по-горе важни етиологични агенти на инфекции на кръвта, трябва да се добавят и трудно култивиремите и вискателни микроорганизми от групата НАСЕК (*Haemophilus*, *Actinobacillus*, *Cardiobacterium*, *Eikenella*, *Kingella*), причиняваща най-често инфекциозни ендокардити, *Legionella* spp., *Capnocytophaga* spp., *Burkholderia pseudomallei*, *Bartonella* spp. и *Brucella* spp., последните със специфично географско разпространение (Martinez R, 2016).

Въпреки изключителната ширина на етиологичния спектър на бактериалните инфекции на кръвта, повечето от причинителите се отнасят към групата ESKAPEс (Renner, L, 2017). Болнични едноцентрови и многоцентрови проучвания от последните години докладват, че делът на ESKAPEс в етиологичния спектър на тези инфекции се движи между 50% до над 75% (De Angelis G, 2018; De Socio G, 2019; Peng X, 2021; Yardimci A, 2022).

Множеството публикации в научната литература от последните две декади върху епидемиологичните аспекти на инфекциите на кръвта доказват, че етиологичният им спектър търпи изменения във времето. Основните промени са свързани от една страна с тенденция за превалиране на Грам отрицателните микроорганизми, а от друга - с появата и глобалното разпространение на множество-резистентни патогени, най-важните, от които са MRSA, VRE, ESBL и карбапенем-резистентни *Enterobacteriaceae*, MDR и карбапенем-резистентни неферментиращи бактерии като *P. aeruginosa* и *Acinetobacter* spp. Относително малко на брой са големите епидемиологични проучвания и програми с достатъчна

продължителност в годините, които да дават задълбочен поглед върху глобалните тенденции, касаещи спектъра на най-честите патогени на инфекциите на кръвта (вкл. ново появяващи се патогени) и техния относителен дял, анализирайки големи серии от епизоди на инфекции на кръвта в не-селектирани групи пациенти или видове микроорганизми.

Международни и регионални мрежи

През 2019г. SENTRY Antimicrobial Surveillance Program публикува своите резултати, отнасящи се до видовата принадлежност на 264 901 бактериални изолати, получени от пациенти с инфекции на кръвта за 20-годишен период (1997-2016), рапортувани от над 200 медицински центъра в 45 държави в Европа, Северна и Южна Америка и Азиатско-тихоокеанския регион (*Diekema D, 2019*). За целия период на проучването *S. aureus* (20.7%) и *E. coli* (20.5%) се доказват като най-честите етиологични агенти, общо представляващи около 40% от всички инфекции на кръвта, следвани от *K. pneumoniae* (7.7%), *P. aeruginosa* (5.35) и *E. faecalis* (5.2%). По-рядко изолирани бактерии, но сред първите 10 микробни вида, са *Staphylococcus epidermidis* (3.8%), *E. cloacae* (2.9%), *S. pneumoniae* (2.8%), *E. faecium* (2.8%) и *A. baumannii* (2.0%). Проследени във времето броят на изолатите *E. coli* нараства (от 18.7% до 24%), а този на *S. aureus* намалява (от 22.5% до 18.7%). В допълнение, доказва се и общо ръст на дела на Грам отрицателните микроорганизми сред десетте най-чести причинителя на инфекции на кръвта (от 33.5% до 43.4%) в периода 1997г. - 2016г. Успоредно с това е налице тенденция за намаляване дяла на *S. pneumoniae* - от 4.2% в началото на проследявания период до 1.9% в периода 2013 - 2016г., особено в Латинска Америка и Азиатско-тихоокеанския регион. Проучването установява вариации в честотата на патогените във времето, географския регион, възрастта и мястото на придобиване. По-голям дял на изолати *S. aureus* е доказан в Северна (24.5%) и Латинска Америка (20.1%), докато *E. coli* - в Европа и Азиатско-тихоокеанския регион (24.1% и 26% респективно). Най-голямо намаление на дела на *S. aureus* се отчита за Латинска Америка и азиатско-тихоокеанския регион. В контраст на това, увеличение дела на *E. coli* и *K. pneumoniae* се отчита във всички региони, но особено в Европа и Азиатско-тихоокеанския регион. *Acinetobacter* spp. е по-честа причина за инфекции на кръвта в Латинска Америка и Азиатско-тихоокеанския регион и се асоциира с по-голям дял (4.4% и 3.2%), докато тези микроорганизми не са сред 10-те най-чести патогена в Северна Америка, а в Европа заемат девета позиция (1.8 - 2.4%). *S. aureus* и *E. coli* са двата най-чести вида, причиняващи както болнични, така и придобити в обществото инфекции на кръвта, но в по-висок дял се доказват в

случаите на придобити в обществото инфекции. Като важни вътреболнични причинители се доказват *K. pneumoniae* (8.8%), *P. aeruginosa* (7.4%), *E. faecalis* (6.4%), *S. epidermidis* (4.8%), *E. faecium* (4.3%), *E. cloacae* (4.0%), *A. baumannii* (3.2%), *S. marcescens* (2.1%). Проучването не доказва *E. faecium*, *A. baumannii* и *Serratia marcescens* в групата на 10-те най-чести етиологични агента на придобити в обществото инфекции на кръвта в проследявания 20-годишен период (Diekema D, 2019).

Като част от SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, M. Pfaller през 2020г. публикува резултати, отнасящи се до честота на възникване и антибиотичната чувствителност на 6741 бактериални изолата, асоциирани с инфекции на кръвта от 16 големи медицински центъра в САЩ (n=10), Европа (n=4), Мексико (n=1) и Южна Корея (n=1) в периода 2012 - 2017г., като също докладва *S. aureus* водещ патоген сред всички възрастови групи, освен в групата на пациентите над 65г. (19.9%), в която доминира *E. coli* (26.7%). *S. aureus* е често изолиран от пациенти, както с инфекции на кръвта, придобити в обществото, така и с вътреболнични, но *E. coli* е най-честият бактериален вид (24.5%) в случаите на инфекции, придобити в обществото. Десетте най-чести патогена, доказани в това проучване, съставляват 89.4% от всички изолати, без да се доказват никакви статистически значими тенденции в периода 2012 - 2017, за който и да е от тях (*S. aureus*, 22.5%; *E. coli*, 21.2%; *Enterococcus spp.*, 10.0%; *Klebsiella spp.* 9.1%; *CoNS*, 8.9%; бета-хемолитични стрептококи, 8.7%; *P. aeruginosa*, 4.2%; *Enterobacter spp.*, 3.7%; *Candida spp.*, 3.1%; *viridans* стрептококи, 2.5%). По-скоро са наблюдавани количествени различия: *S. aureus*, *E. coli* и *Enterococcus spp.* са трите най-чести патогена за всички проучвани години (*Enterococcus spp.* в 4 от 6-те години), като *S. aureus* е най-чест за целия 6-годишен период, както и в годините 2012 - 2014г. и 2017г., а *E. coli* заема първото място през 2015г. и 2016г. Честота на *S. aureus* като причинител на инфекции на кръвта варира в годините: намалява от 23.9% в първите 3 години (2012–2014г.) до 19.9% и 20.8% през 2015г. и 2016г., но отново нараства до 24.5% през 2017г. Противоположно на това, *E. coli* се увеличава от 19.5% до 22.1% през същия период. Прави впечатление, че *S. pneumoniae* е извън 10-те най-чести патогена, заемащ 11 позиция и дял от 1.4% през 2017г. Това проучване стратифицира данните според мястото на придобиване на инфекцията: вътреболничните инфекции са 2 до 3 пъти по-често причинявани от *Enterococcus spp.* (13.8%), *CoNS* (10.8%) и *P. aeruginosa* (5.2%) (Pfaller M, 2020). При сравняване на двата три-годишни периода (2012-2014г. и 2015-2017г.) отново се установява тенденцията за намаляване на Грам положителните инфекции (от 51.5% до 49.6%) и

увеличаване на тези, свързани с Грам отрицателни бактерии (от 44.5% до 46.5%), което е резултат от намаляване дела на *S. aureus* инфекциите и увеличаване дела на *E. coli* в двата периода (Pfaller M, 2020).

В контраст с тези резултати, проучване на Gagliotti от 2021г. върху тенденциите, свързани със *S. aureus* асоциираните инфекции на кръвта в Европейския съюз в периода 2005 - 2018г. на база EARS-Net данни, съобщава за статистически значим тренд за увеличаване дела на *S. aureus* инфекциите с 57%, увеличаване на MSSA-свързаните с 84% и намаляване този на MRSA от 30.2% през 2005г. до 16.3% през 2018г., резултати, които ясно демонстрират, че независимо от отчетеното намаление на MRSA инфекциите, здравната тежест, свързана със *S. aureus* в Европа остава голяма (Gagliotti C, 2021).

Популационни проучвания

След 2010г. са публикувани няколко големи популационни проучвания, които обединяват резултати от голям брой лаборатории и дават информация за най-важните микроорганизми, свързани с бактериемични епизоди / инфекции на кръвта в обществото, заведенията за продължителни здравни грижи, болниците за активно лечение и интензивните клиники (Buetti N, 2017; Diekema D, 2019; Douglas N, 2020; Holmbom M, 2016; Jokinen E, 2018; Kern W, 2020; Kontula K, 2021; Laupland K, 2013b; Laupland K, 2016; Mehl A, 2017; Nielsen S, 2014; Perez-Crespo P, 2021; Reid C, 2019; Rhodes J, 2019; Skogberg K, 2012; Sogaard M, 2011; Wilson J, 2011; Verway M, 2022). Подобно на докладваното от международните и регионални мрежи за надзор, тези проучвания потвърждават *E. coli* и *S. aureus* като най-честите микроорганизми, причиняващи инфекции на кръвта.

Трябва да се отбележи обаче, че публикуваната информация е изключително хетерогенна. Например ретроспективното популационно проучване на M. Verway et al. в Канада от 2017г. докладва *E. coli* (26.9%), *S. aureus* (15.9%), *CoNS* (9.2%), *Klebsiella* spp. (8.2%) и *Enterococcus* spp. (5.8%) като най-често изолираните микроорганизми. В голям относителен дял е представен и родът *Streptococcus* (10.9%), като най-честият вид е *S. pneumoniae* (3.2%). Проучването установява относително намаляване дела на *E. coli* в хоспитализирани пациенти и увеличаване на представителите на *Enterococcus* spp. и *Candida* spp. (Verway M, 2022). Друго Канадско популационно проучване, обхващащо периода 2010 - 2017г. доказва остро увеличаване дела на *Klebsiella* spp. асоциираните инфекции на кръвта в последната година (Reid C, 2019). Проучване пак от Канада, обхващащо сходен период (2010 -

2015), съобщава *E. coli* (37%), *S. aureus* (16%) и *S. pneumoniae* (6%) като бактериалните видове, отговорни за по-голяма част от случаите (Laupland K, 2016), но доказва различно разпределение на етиологичните агенти в зависимост от мястото на придобиване на инфекцията: вътреболничните инфекции се асоциира по-често с ентерококи, *Pseudomonas* spp. и *Enterobacteriaceae* различни от *E. coli* (Laupland K, 2016). По-ранни проучвания в Канада (до 2010г.) също потвърждават *E. coli*, *S. aureus* и *S. pneumoniae* като трите най-чести етиологични агент (Laupland K, 2013a).

Популационно 14-годишно проучване върху инфекциите на кръвта във Финландия (2004 - 2018г.), проведено от K. Kontula *et al.* показва еднакво представени за целия период на проследяването Грам положителните и Грам отрицателните микроорганизми в етиологичния спектър (по 46%), с водещи патогени *E. coli* (29%), *S. aureus* (13%), *CoNS* (8%), *Streptococcus beta-haemolyticus* (8%), *S. pneumoniae* (7%), *Klebsiella* spp. (5%), *Enterococcus* spp. (4%). Проследени в годините обаче авторите установяват тренд за повишаване дела на Грам отрицателните инфекции и по-специално на *E. coli* асоциираните (от 26% до 30%), респективно понижаване този на Грам положителните, най-вече за сметка на *CoNS* (от 11% до 7%) и *S. pneumoniae* (от 9% до 4%), но без промяна по отношение на *S. aureus* (13%) (Kontula K, 2021). Противоположно на това, Jokinen *et al.* в периода 2005 - 2015 пак във Финландия установява нарастване дела на MSSA инфекциите на кръвта както придобити в обществото, така и свързани с медицинско обслужване в сравнение с други части на страната, но редуциране през 2015г. на тези, причинени от MRSA, достигайки националните нива (Jokinen E, 2018).

Проспективно популационно проучване на Mehl *et al.* в Норвегия, обхващащо периода 2002 - 2013г. идентифицира известни различия в етиологичния спектър в зависимост от пола: Грам отрицателните микроорганизми са по-чести причинители на инфекции на кръвта в женския пол в сравнение с мъжкия (135 vs. 110 на 100 000 човеко-години), докато Грам положителните са по-често доказвани при мъже (101 vs. 68 на 100 000 човеко-години). Подобно на други проучвания, в цялата популация в периода 2002 - 2013г. се установява тренд за намаляване дела на Грам положителните патогени и увеличаване този на Грам отрицателните (вкл. *E. coli*). И в това проучване *E. coli* е най-честия етиологичен агент, като доминира при жените (93 vs. 56 на 100 000 човеко-години), следван от *S. pneumoniae* (25 епизода на 100 000 човеко-години), еднакво представен в двата пола и предимно свързан с инфекции, придобити в обществото. *S. aureus* е третия по честота микробен вид, почти наравно представен със *S. pneumoniae* (24 / 100,000 човеко-години), но по-често доказван в случаите на

инфекции на кръвта, свързани с медицинското обслужване и малко по-често в мъжкия пол (31 vs. 16 епизода на 100 000 човеко-години). Трите бактериални вида са отговорни за над 50% от всички епизоди на инфекция на кръвта. Очаквано за този регион, авторите съобщават много нисък относителен дял на MDR бактерии (Mehl A, 2017).

Седем-годишното популационно проучване на Vuetti et al. в Швейцария (2007 – 2014г.) макар да доказва *S. aureus* като втори по честота етиологичен агент, не установява тренд към увеличение или намаление във времето (Vuetti N, 2017).

Австралийското популационно проучване върху 20-годишен период (1999 - 2019г.), доказва превес на Грам положителните микроорганизми (54.6%) и водещи патогени *S. aureus* (32.5%), *E. coli* (16.6%) и *Burkholderia pseudomallei* (8.97%). Проучването също установява значими промени във времето: след 2009г. *S. aureus* асоциираните бактериемии значимо намаляват, а тези, свързани с *E. coli* драматично нарастват особено в по-възрастните пациенти (>65г.), като след 2017г. *E. coli* е по-чест патоген от *S. aureus*. Подобно на други проучвания и това установява тренд за намаляване дела на *S. pneumoniae* бактериемии във времето (Douglas N, 2020).

За разлика от повечето популационни проучвания, това, проведено в Тайланд в периода 2007 - 2014г., идентифицира с много висока честота *Burkholderia pseudomallei* и *Salmonella non-typhi* spp., потвърждавайки зависимостта на етиологичния спектър от някои географски, климатични и социално-икономически особености на региона, подобно на проучването от Австралия цитирано по-горе (Rhodes J, 2019).

Многоцентрови болнични проучвания

Европа

Проучване в десет големи Английски болници за активно лечение идентифицира 70% от бактериемии като придобити в обществото, като най-често са причинени от *E. coli* (65%), *Klebsiella* spp. (15%) и *Pseudomonas* spp. (7%) и с източници предимно от уринарния тракт (51%), чревен/билиарен тракт (20%) или долен респираторен тракт (14%). Инфекциите на кръвта, асоциирани с *E. coli* са порядко вътреболнични за разлика от тези, причинени от *Klebsiella* spp. (40%), *Pseudomonas* spp. (43%) и други *Enterobacteriaceae* (43%) (Fitzpatrick J, 2016).

Наскоро публикуваните резултати от многоцентрово, проспективно кохортно проучване в Испания на Р. М. Martinez-Crespo et al., обхващащо периода 2016 - 2017г., доказва *E. coli* (43.8%), *Klebsiella* spp. (8.9%), *S. aureus* (8.9%), CoNS (7.4%), и *Enterococcus* spp. (5.5%) като 5-те най-чести причинители на инфекции на кръвта в

общата популация пациенти. Много важен резултат в това проучване е високият дял и втора позиция на *Klebsiella* spp. (Pérez-Crespo P, 2021), резултат много близък до друго Испански проучване, което сравнява периодите 2006-2007г. и 2016-2017г. и доказва *Klebsiella* spp. четвърта по честота през първия период, с последващо изместване на втора позиция след 10 години и общо увеличаване дела на Грам отрицателните бактерии в етиологичния спектър (Pérez-Crespo P, 2021a).

Проспективно многоцентрово проучване, обхващащо 26 болници в периода 2015 - 2019г. в Германия, съобщава 13.2% дял на клинично значимите положителни хемокултури, като 10-те водещи патогена са *E. coli* (25.4%), *S. aureus* (15.2%), *S. epidermidis* (8.1%), *K. pneumoniae* (4.6%), *E. faecalis* (4.4%), *E. faecium* (4.2%), *Candida* spp. (2.7%), *P. mirabilis* (2.2%), *P. aeruginosa* (1.7%), *S. pneumoniae* (1.6%), без да се установяват промени в подреждането им в проследявания 5 годишен период, както и през двете последни декади при сравняване със сходни проучвания в Германия (Schöneweck F, 2021).

Северна и Южна Америка

Проучване на H. Sader et al. върху инфекциите на кръвта в 33 медицински центъра в САЩ в периода 2015 - 2017г., установява като най-чести етиологични агенти *S. aureus* (24.3%), *E. coli* (20.8%), *K. pneumoniae* (9.1%), CoNS (7.3%), *E. faecalis* (5.5%), *P. aeruginosa* (4.7%), β -хемолитични стрептококи (4.6%), *Enterobacter cloacae* (3.3%) и *E. faecium* (3.1%). Общият дял на Грам отрицателните бактерии е 50%, от които 41.4% са представителите на семейство *Enterobacteriaceae* (Sader H, 2019).

Десет-годишното ретроспективно проучване (2010 - 2019г.) от Колумбия върху етиологичния спектър на бактериемииите, обхващащо 31 големи болници, съобщава *E. coli* (20.4%), *S. aureus* (14.8%), *S. epidermidis* (11.7%) и *K. pneumoniae* (10.6%) като най-често идентифицирани, както и лек превес на Грам отрицателните бактерии (43.9%) над Грам положителните (40.7%) (Robledo J, 2022). Общият относителен дял на *E. coli* и *S. aureus* е 35.2%, което е много близко до рапортуваното от глобалната надзорна програма SENTRY (40%) (Diekema D, 2019). Доказва се и сигнификантен тренд за увеличение на честотата на бактериемичните епизоди, асоциирани с *E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumoniae* и *P. mirabilis* през 10-те години, за разлика от тези, причинени от CoNS и *P. aeruginosa*, които показват обратната тенденция (Robledo J, 2022).

Азия

Многоцентрово ретроспективно проучване в Югозападен Китай в периода 2012 - 2017г., обхващащо всички епизоди на бактериемии във възрастни и деца, докладва, че 59.5% (65.3% при възрастни и 27.2% при деца) от тях се дължат на ESKAPEEs

патогените, представени в ред и дял, близък на представените по-горе: *E. coli* (32%), *K. pneumoniae* (11.1%), *S. epidermidis* (10.23%) и *S. aureus* (6.05%). Доказва се статистически значимо увеличение на изолатите от положителни хемокултури въобще и особено за *E. coli* и *K. pneumoniae*, но на фона на намаляване дела на *A. baumannii* и *P. aeruginosa* (Yang S, 2019). Резултатите от национално проспективно проучване в 16 Китайски университетски болници в периода 2007 - 2016г. потвърждават по-горните данни и показват доминиране на Грам отрицателните бактерии над Грам положителните в три годишния период (70.33% срещу 29.67%), сред които *E. coli* (29.2%), *K. pneumoniae* (12.70%), *S. aureus* (9.79%), *A. baumannii* (7.03%) и *P. aeruginosa* (6.33%) са петте най-чести причинители на инфекции на кръвта и остават такива през целия 10-годишен период (Jin L, 2021). Макар пак в Азиатския регион, по-различни резултати се съобщават от многоцентрово, проспективно, кохортно проучване, проведено в 5 големи университетски болници в Япония, което идентифицира като най-чести причинители на инфекции на кръвта CoNS (23%), едва след тях се нареждат *E. coli* (18.1%), *S. aureus* (9.2%) и *K. pneumoniae* (8.2%), резултат, който отново демонстрира съществуващи различия между отделни географски региони (Takeshita N, 2017).

Друг аспект, под който може да се разгледа етиологичния спектър на инфекциите на кръвта, е според засегнатата популация пациенти. Съществуват няколко групи пациенти, при които инфекциите на кръвта се характеризират с известни особености освен по отношение на честота, така по отношение вид на изолираните етиологичните агенти. Такива са пациентите над 65г., пациенти с чернодробна цироза, солидни тумори и онкохематологични заболявания, HIV пациенти, пациенти след трансплантация на солиден орган или хематопоеична стволово-клетъчна трансплантация и пациенти в интензивни клиници.

Пациенти над 65г.: в тази популация пациенти, Грам отрицателните бактерии заемат около 40-60% от етиологичния спектър на кръвните инфекции (*E. coli*, 40%; *Klebsiella* spp., 3-10%; *P. aeruginosa*, 1-9%; *A. baumannii*, 1-2%), а Грам положителните - между 30 - 45% (*S. aureus*, 7-17%; CoNS, 14-25%; *Enterococcus* spp., 3-10%). Делът на анаеробните причинители е около 2-5% (Yahav D, 2016). Увеличаване дела на повъзрастното население (застаряване на популацията), извършване на повече инвазивни диагностични процедури (урологични, гастро-интестинални) са част от причините за увеличаване дела на Грам отрицателните патогени, асоциирани с инфекции на кръвта (Douglas N, 2020).

Пациенти с чернодробна цироза: Инфекциите на кръвта, засягащи пациенти с чернодробна цироза, най-често се асоциират с представители на семейство *Enterobacteriaceae* (43%), *Staphylococcus* spp. (23%), *Enterococcus* spp. (19%) и *Candida* spp. (8%), като представителите на семейство *Enterobacteriaceae*, са съответно MDR и XDR в 53% и 5% от случаите (*Bartoletti M, 2016*).

Пациенти с HIV: В етиологичния спектър на причинителите на инфекции на кръвта в HIV пациенти доминират бактериалните патогени (около 70%), представени най-често от *S. aureus*, 12% (2-28%); CoNS, 7% (0-26%); *S. pneumoniae*, 13% (0-43%); не-тифни *Salmonella*, 15% (0-46%); *E. coli*, 8% (0-31%); *P. aeruginosa*, 6% (0-30%) (*Taramasso L, 2016*). Микробактериите заемат около 20% (*M. tuberculosis*, 17% (0-54%); не-туберкулозни микобактерии, 20% (0-17%), следвани от гъбичките [*Cryptococcus* spp., 5% (0-21%), *Candida* spp., 1% (0-3%)] (*Taramasso L, 2016*).

Пациенти със солидни тумори: При инфекциите на кръвта, документирани в пациенти със солидни тумори, Грам отрицателните доминират над Грам положителните бактерии (47-55% срещу 35-34%). В групата на Грам отрицателните микроорганизми най-често се доказват *E. coli* (25-55%), *P. aeruginosa* (7-18%), *Klebsiella* spp. (2-10.6%), *Enterobacter* spp. (1-5.1%), *Proteus* spp. (1-3%), *Salmonella* spp. (3-4.5%), а от Грам положителните, съответно - стрептококи от групата viridans (4-22%), *S. aureus* (7-21%), *Enterococcus* spp. (2.5-18%), CoNS (15-16%), *S. pneumoniae* (2-15%) *L. monocytogenes* (9%) и анаероби в 3-4.5% (*Gudiol C, 2016*). Етиологичният спектър при пациенти с онкохематологични заболявания е разгледан в т. 2.5.

Пациенти след трансплантация: В групата на пациентите, претърпели трансплантация на солиден орган (най-често бъбрек), Грам отрицателните бактерии най-често се идентифицират като етиологични агенти на инфекциите на кръвта (62-70%), като *E. coli* е отговорна за около 30% от епизодите, следвана от *P. aeruginosa* (14%), *Klebsiella* spp. (5%), *Enterobacter* spp. (4%) и *A. baumannii* (3%). Грам положителните микроорганизми се идентифицират в около 32% от случаите и са представени от CoNS (22%), *Enterococcus* spp. (5%) и *S. aureus* (3%), а гъбичките с около 5-6% (*Kritikos A, 2016*). Някои автори съобщават за близък относителен дял на Грам положителните и Грам отрицателни патогени сред пациенти с трансплантация на черен дроб (*Moreno A, 2007*). Сред MDR микроорганизми, специфичен и много критичен патоген в случаите на трансплантация на бял дроб, е *Burkholderia cepacia*, асоциираща се с т. нар. серасиa синдром и висока смъртност, достигаща до 80% в първата година след трансплантацията (*Kritikos A, 2016*). В случаите на сърдечни трансплантации, най-честите етиологични агенти са CoNS (27%), *S. aureus*

(21%) и Грам отрицателни бактериални видове - около 55% (най-често *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *S. marcescens*) (Moreno A, 2007; Rodrigues C, 2006).

Пациенти в интензивни клиници: ICU-асоциираните инфекции на кръвта имат свои специфични епидемиологични и микробиологични характеристики, които в различните интензивни структури са различни, като зависят от вида на пациентите, локалните антибиотични политики и политики за контрол на инфекциите и географската локация (Timsit J, 2020). Както бе отбелязано, широкото използване на интраваскуларни катетри е най-важният фактор, допринасящ за възникване на този тип инфекции. Катетър-свързаните инфекции (до 30%) и първичните инфекции на кръвта (около 35%) са най-честите типове кръвни инфекции в интензивните клиници, а сред най-честите етиологични агенти са Грам положителните бактерии (*S. aureus*, *S. epidermidis*, *Enterococcus* spp.), следвани от *Candida* spp. (Bassetti M, 2016). Сред Грам отрицателните микроорганизми, най-чести са *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Enterobacter* spp., *A. baumannii* и *P. aeruginosa* (Costa S, 2022; De Waele J, 2014; Lebeaux D, 2014; Timsit J, 2020).

2.5 Инфекции на кръвта при пациенти с онкохематологични заболявания

а. Честота на бактериалните инфекции на кръвта

Честота на инфекциите на кръвта при имунокомпрометирани пациенти зависи от множество фактори, сред които вида на подлежащото заболяване, страната, вида на болницата и клиниката и продължителността на хоспитализацията, като достига между 11% до 38% при пациенти с онкохематологични заболявания (Trecarichi E, 2014; Viscoli C, 2016). Двадесет до 30% от всички епизоди на фебрилна неутропения във възрастни пациенти със злокачествени заболявания се дължат на бактериални инфекции на кръвта (Amanati A, 2021). Според прочуване на L. Pagano при пациенти с ново диагностицирано онкохематологично заболяване, микробиологично документираните бактериални инфекции са около 9.4%, като в 85.1% от случаите се доказва инфекция на кръвта (Pagano L, 2012). Проучване на медицинската литература по проблема показва доста варираща честота на инфекциите в различните хематологични центрове в неутропенични пациенти - 5.4 епизода / 1000 хематологични леглодни или между 6.8 - 17.6 епизода на 1000 болнични дни, или 5.6% - 8.0% епизода на 1000 болнични престоя, което повдига въпроса и за стандартизация при съобщаване на този показател (Carvahlo A, 2020; Gudiol C, 2013a; Syrjälä, H, 2010).

б. Етиологичен спектър на бактериалните инфекции на кръвта

Проследена в последните декади, епидемиологията на инфекциите на кръвта при пациенти с онкохематологични заболявания се характеризира със следните специфични тенденции: в периода 1960 - 1970г. в етиологичния спектър доминират Грам отрицателните бактерии, а от средата на 80-те години - Грам положителните, като вероятните причини за тази промяна се свързват с широката профилактична употреба в този период от време на флуорохинолоните, антифунгалните препарати, употребата на централни венозни катетри, използване на различни схеми за селективна чревна деконтаминация, на химиотерапевтични схеми, асоцииращи се с развитието на тежки мукозити, както и употребата на инхибитори на протонната помпа и H2 блокери (*Gustinetti G, 2016*).

В последните 15 години в много хематологични центрове се забелязва обратната тенденция: Грам отрицателните микроорганизми отново започват да доминират, макар да се забелязват широки граници на представяне на тези микроорганизми в етиологичния спектър според различните проучвания - между 25% и 75% (средно 49%), като *E. coli* е най-честият патоген, отговорен за около ¼ от всички Грам отрицателни изолати (*Choi H, 2022; Kara O, 2015; Marin M, 2015; Treçarichi E, 2014; Treçarichi E, 2015*). Проучване на Mikulska върху етиологията на бактериемите при възрастни и деца с хематологични и злокачествени заболявания в периода 2005 - 2011г., установява редукция на съотношението Грам положителни към Грам отрицателни бактерии - 55% : 45% спрямо 60% : 40% в по-стари проучвания, но авторите отбелязват големи вариации между отделните центрове и страни (*Mikulska M, 2014*). Най-честите патогени се отнасят към семейство *Enterobacteriaceae* (30%), следвани от *CoNS* (24%) и ентерококите (8%) (*Mikulska M, 2014*). Подобни резултати докладва и E. Treçarichi в мащабно проспективно проучване в 9 хематологични клиники в Италиански болници (52.8% срещу 46.6%) с водещи причинители *E. coli* (52.9%), *P. aeruginosa* (18.7%), *K. pneumoniae* (12.2%), *Enterobacter cloacae* (7.7%) (*Treçarichi E, 2014*). Пет годишно проучване в Иран, обхващащо периода 2015 - 2019г., доказва доминиране на Грам отрицателните бактерии (63.3%), като *E. coli* е водещ патоген (47%), следван от *Pseudomonas* spp. (31%) и *K. pneumoniae* (14.5%) (*Amanati A, 2021*). Други автори от Иран в проспективно 3-годишно проучване (2012 – 2015) също потвърждават превалирането на Грам отрицателните бактерии (84.9%) и в частност бактериалния вид *E. coli* (38.7%), следван от *Klebsiella* spp. (14.2%), *Acinetobacter* spp. (11.3%) и *Enterobacter* spp. (10.4%) (*Vahedian-Ardakani H, 2019*). Подобни резултати за доминиране на Грам отрицателните бактерии и по-специално *E.*

coli (24.2%), *Klebsiella* spp. (16.3%) и *Pseudomonas* spp. (4.8%) се съобщават и от Н. Choi в негово едногодишно проучване през 2020г. сред пациенти с онкохематологични заболявания в Корея, резултат потвърждаващ други корейски проучвания от по-ранни периоди (2012-2013г.) (Choi H, 2022; Kang C, 2012; Kwon J, 2013). Мащабно 9 годишно проучване в 3 големи болници в Китай доказва доминация на Грам отрицателните бактерии в етиологичния спектър на инфекциите на кръвта в пациенти с хематологични злокачествени заболявания (75.7%), но с тенденция делът на MDR патогени да намалява (Tang Y, 2021). В унисон с други проучвания от Китай, авторите съобщават и за висок относителен дял на *Enterobacter*-свързани инфекции на кръвта (Mert D, 2019; Tang Y, 2021; Zhu J, 2018). Ретроспективно проучване, проведено в Турция в периода 2012 - 2017г. също доказва доминация на Грам отрицателните бактерии (*E. coli*, 58%, *K. pneumoniae*, 22.9%) (Mert D, 2019). Близки данни се съобщават от S. Haddad в ретроспективно проучване в Ливан в периода 2007 - 2017г. (65% за всички Грам отрицателни бактерии; *E. coli*, 45.5%; *P. aeruginosa*, 7.5%; *A. baumannii*, 3.9%) (Haddad S, 2021). Публикация на P. Kokkayil et al. през 2018г. показва изключителна доминация на Грам отрицателните бактерии (92%), с водещи представители *K. pneumoniae* (43%), *Enterobacter* spp. (20%) и *E. coli* (12%) като причинители на инфекции на кръвта при пациенти с фебрилна неутропения и онкохематологично заболяване в Турция (Kokkayil P, 2018). Трябва да се отбележи, че има кохортни проучвания, които идентифицират *Pseudomonas* spp. и *Acinetobacter* spp. в над 40% от всички бактериемични епизоди (Sood P, 2012). Още от 1960г. *P. aeruginosa* е известен като чест и важен причинител на инфекции на кръвта при неуропенични пациенти, като с въвеждането на флуорохинолоновата профилактика превалирането му значително намалява, но въпреки това той все още е отговорен за между 18% и 27% от инфекциите на кръвта в тази популация пациенти, със смъртност достигаща нива от 40% (Menzo S, 2015).

В групата на Грам положителните микроорганизми най-чести са CoNS (54.6%, 53.4%, 38.4%, 21%), *Enterococcus* spp. (12.2%, 21.5%), viridans стрептококи (11.5%, 13%) и *S. aureus* (0-20%, средно 6%) (Amanati A, 2021; Choi H, 2022; Haddad S, 2021; Mert D, 2019; Trecarichi E, 2014; Vahedian-Ardakani H, 2019). CoNS имат нисък вирулентен и инвазивен потенциал, но притежават способността да формират биофилм върху изкуствени повърхности и често се асоциира с катетър-свързани кръвни инфекции (Menzo S, 2015). По отношение на ентерококите, идентифицираните рискови фактори за инфекция на кръвта са донор, различен от HLA идентичен, чревна ентерококова колонизация, тежък мукозит, предшестваща употреба на

цефалоспорини от трета генерация и Karnofsky score <50 (Mikulska M, 2010), а рисковите фактори за инфекция на кръвта, причинена от vancomycin-резистентни ентерококи, са съответно - скорошна употреба на vancomycin, кортикостероиди и тежест на подлежащото заболяване, VRE колонизация, GVHD (Menzo S, 2015). Подобно, рискови фактори за придобиване на инфекция на кръвта, причинена от viridans стрептококи, които са част от нормалната човешка микрофлора, са високо дозова терапия с cytarabine, орален колимицин без аминогликозид за деконтаминация, антифунгална профилактика, диария и периодонтит по време на неутропеничния епизод (Menzo S, 2015).

За разлика от посочените по-горе проучвания, проспективно проучване в Испания в периода 2004 - 2016г. върху инфекциите на кръвта в пациенти с левкемия, показва лек превес на Грам положителните над Грам отрицателните микроорганизми (55% срещу 43.5%), като водещи патогени са CoNS (35.7%), следвани от ентерококите (10.8%). *E. coli* (20.5%) остава най-често изолираният Грам отрицателен бактериален вид, следван от *P. aeruginosa* (12%) (Garsia-Vidal C, 2018). Подобно, A. Carvalho et al. съобщават също за лек превес общо на Грам положителните бактерии (50.1%) над Грам отрицателните (45.6%) в Австралия в периода 2009 - 2015г., като най-честият патоген в това проучване е *E. coli* (15.3%), следван от Viridans Streptococcus групата (23.3%) (Carvalho A, 2020). Резултати от проспективно проучване в Индия през 2018г. макар да показват доминиране в етиологичния спектър на инфекциите на кръвта в неутропенични пациенти с онкохематологични заболявания на Грам отрицателните бактерии (79%), с водещ причинител *E. coli*, идентифицират *S. aureus* като вторият най-чест бактериален вид, като също установяват и тренд към увеличаване дела на Грам положителните инфекции в сравнение с предходен период (21% срещу 15%) (Jamal A, 2019). В голямо лонгитудинално национално кохортно проучване в Дания, обхващащо периода 2008 - 2016г. върху инфекции на кръвта в пациенти с хронична лимфоцитна левкемия, M. Andersen et al. съобщават почти равен дял на Грам отрицателните (46%) и Грам положителни инфекции (45.7%), но идентифицират като водещи патогени сред Грам положителните микроорганизми - *S. pneumoniae* (22%) и *S. aureus* (21%), а сред Грам отрицателните - *E. coli* (46%) (Andersen M, 2019).

В последните 20 години освен промяната в спектъра на патогените, по-съществената промяна, която се случва, се отнася до техния профил на антибиотична чувствителност, като това важи особено за Грам отрицателните бактерии, една тенденция, съответстваща на тази в общата популация пациенти. В групата на пациентите с онкохематологични заболявания се отчита увеличаване на инфекциите,

причинени от MDR микроорганизми и в частност тези на кръвта, като също се установява и характерния градиент на увеличение от север/запад към юг/изток (*Gustinetti G, 2016; Mikulska M, 2014; Secreto Carolina, 2020*). Продуцентите на широкоспектърни бета-лактамази (ESBLs) от семейство *Enterobacteriaceae*, причинители на инфекции на кръвта в неутропенични онкологични пациенти, нарастват по честота, като по данни на различни държави сред най-засегнатите видове са *K. pneumoniae* (над 50%) и *E. coli* (между 7.1% до над 70%) (*Carvahlo A, 2020; Gustinetti G, 2016; Haddad S, 2021; Liang T, 2021; Mert D, 2019; Treacarichi E, 2009*). Amanati et al. в свое 5 годишно проучване (2015 - 2019) съобщава *Acinetobacter* spp. (100%), *Pseudomonas* spp. (96.2%), *E. coli* (66.7%) и *K. pneumoniae* (60.7%) като най-честите продуценти на ESBLs (*Amanati A, 2021*). Италианско мултицентрово проучване съобщава за 36.9% резистентност към трета генерация цефалоспорини сред 265 кръвни изолата *Enterobacteriaceae* (*Treacarichi E, 2014*). Делът на ESBL продуцентите от семейство *Enterobacteriaceae*, асоциирани с кръвни инфекции при пациенти с хематологични заболявания в Корейска университетска болница през 2020г. е 25.1%, като 37.4% и 6.9% от изолатите *E. coli* и *K. pneumoniae* съответно са ESBL продуценти (*Choi H, 2022*), но авторите да отбелязват намаляване дела на ESBL продуцентите в сравнение с предходно проучване и обясняват положителния тренд с ограничаване на профилактичната употреба на флуорохинолони в техния хематологичен център. Аналогично, Garcia et al. в испанско проспективно проучване, обхващащо периода 2004 - 2016г. рапортува тренд за намаляване дела на ESBL *E. coli* (от 6.4% до 5.7%) и *K. pneumoniae* (2.6% до 0.7%) (*Garcia-Vidal C, 2018*). Ретроспективно проучване в Китай, обхващащо периода 2010 - 2018г., докладва 45.4% дял на пациентите с онкохематологични заболявания, развили инфекции на кръвта, причинени от ESBL продуциращи *E. coli* и *K. pneumoniae*, като е установено статистически значимо нарастване от 34.5% в периода 2010 - 2014г. до 54.7% през 2015 - 2018г. (*Liang C, 2021*).

В последната декада карбапенем-резистентни *K. pneumoniae*, *E. coli*, *A. baumannii* и *P. aeruginosa* все по-често се съобщават като причинители на инфекции на кръвта сред пациенти с онкохематологични заболявания, вкл. трансплантирани (*Micozzi A, 2017; Perez F, 2014; Satlin M, 2014*). Систематичен обзор и мета-анализ на E. Righi et al. върху глобалното превалиране на карбапенемната резистентност в изолати от неутропенични пациенти (обхващащо 21 страни) докладва, че този тип резистентност варира между 2% и 53% (средно 9%), като инфекции, причинени от карбапенем-резистентни *P. aeruginosa* са съобщени в 18 от проучванията (60%), като

се доказват високи (средни) нива (44% от всички карбапенем-резистентни Грам отрицателни бактерии и 19% от изолатите *Pseudomonas*); по-рядко са докладвани карбапенем-резистентни *Enterobacteriaceae*, като инфекции на кръвта, причинени от карбапенем-резистентни *K. pneumoniae* най-вече са съобщавани от ендемичните региони (Гърция, Италия, Израел); карбапенемна резистентност в *Acinetobacter* spp. е установена в 9 (30%) проучванията (средна резистентност - 58%). Същите автори съобщават смъртност между 33% и 71% (средно 50%) при пациенти с инфекции на кръвта, причинени от карбапенем-резистентни изолати, като карбапенемната резистентност и предварителната експозиция на карбапенемни се явяват статистически значими фактори за неблагоприятен изход (*Righi E, 2017*).

От 2008г. множество съобщения описват разпространението на карбапенем-резистентни *K. pneumoniae* предимно в Средиземноморския регион и Южна Европа, с бързо разпространение в Израел и Гърция (*Tsakris A, 2008*). Машабно ретроспективно италианско проучване, обхващащо над 50 трансплантационни центъра, показва драматично 6-кратно нарастване в периода 2010 - 2013г. на карбапенемната резистентност сред изолати *K. pneumoniae*, причиняващи инфекции (*Girmenia C, 2015*). Други италиански автори съобщават за 34.9% карбапенемна резистентност сред кръвни изолати *K. pneumoniae*, получени от онкохематологични пациенти (*Treccarichi E, 2014*). Проучване на Gianella et al. установява, че при 45% от пациентите с доказана фекална колонизация с карбапенем-резистентни *K. pneumoniae*, се развива съответната инфекция на кръвта, като смъртността в тези случаи е над 50%, резултат, който демонстрира важността на фекалния скрининг като компонент на програмата за контрол на инфекциите при тези пациенти, с потенциал да редуцира дела на карбапенем-резистентните *Enterobacteriaceae* инфекции, вкл. тези на кръвта (*Gianella M, 2014*). Проучвания от Турция, Иран, Китай, Ливан, Австралия съобщават за случаи на инфекции на кръвта, причинени от карбапенем-резистентни *Enterobacteriales* и за тяхното постепенно, стабилно увеличаване в проследяваните периоди от време: 4.8%, 9%, 13.2%, 17.2%, 24.4%, 70.7% (*Amanati A, 2021; Carvahlo A, 2020; Gedik H, 2014; Mert D, 2019*). В допълнение, вътреболнични взривове от инфекции на кръвта, причинени от карбапенем-резистентни *K. pneumoniae* и *Enterobacter* spp. също са докладвани сред пациенти с онкохематологични заболявания (*Satlin M, 2013*).

Карбапенемната резистентност е често доказвана сред изолати, представители на видове *P. aeruginosa* и *A. baumannii*. Проучване на Cattaneo върху инфекции на кръвта в пациенти с хематологични заболявания, доказва множествена резистентност (вкл. карбапенемна) в над 70% от изолатите *P. aeruginosa* (*Cattaneo C, 2012*). Автори

от Индия, Южна Корея, Иран, Австралия съобщават карбапенем-резистентни *P. aeruginosa* и *A. baumannii* като чести причинители на инфекции на кръвта при неутропенични пациенти (Amanati A, 2021; Carvahlo A, 2020; Kim S, 2014; Sood P, 2012). В 10-годишно ретроспективно проучване, S. Haddad et al. доказват карбапенем-резистентни *Pseudomonas* като причинители на 7.5% от инфекциите на кръвта (Haddad S, 2021). В проучване на H. Choi от 2020г. се съобщава за 9.5% карбапенем-резистентни *Pseudomonas* spp. и 100% MDR *A. baumannii* (Choi H, 2022). Y. Tang доказва статистически значим тренд за увеличаване дела на ESBL и карбапенем-резистентните Грам отрицателни бактерии в Китайски болници в периода 2010 - 2018г. (от 31.1% през 2010 - 2014г. до 50.5% за периода 2015 - 2018г. за ESBL продуценти и от 0.0% през 2010г. до 15.8% през 2018г. за карбапенем - резистентни изолати) (Tang Y, 2021).

Резистентността сред Грам положителните бактерии (метицилинова сред стафилококи и гликопептидна сред ентерококи) е значително по-малко проблемна в сравнение с тежестта и мащаба на антибиотичната резистентност сред Грам отрицателните микроорганизми. Въпреки това, делът на инфекциите на кръвта, причинени от метицилин-резистентни коагулаза негативни стафилококи е много висок (над 50%), но от 2004г. се забелязва тенденция за понижаване честота на кръвните инфекции, причинени от MRSA (ECDC, 2015; Garcia-Vidal C, 2018; Livermore D, 2012; Mikulska M, 2014). По-ранни проучвания докладват нарастващ дял на MRSA от 22% през 1995г. до 57% през 2001г. (Wisplinghoff H, 2003). В потвърждение за тези факти, H. Choi et al. съобщават за 95.8% дял на MRCoNS и 27.3% MRSA (Choi H, 2022). Сходни данни съобщават Trecarichi и колектив - 84.3% за MRCoNS и 36.4% за MRSA (Trecarichi E, 2014). Подобни резултати за метицилинова резистентност сред CoNS (82.2%), съобщава и D. Mert в Турция (Mert D, 2019). Сред ентерококите, двата вида с най-голямо значение са *E. faecalis* и *E. faecium*, последният водещ в някои центрове, което често е свързано и с увеличени нива на резистентност към vancomycin (Choi H, 2022; Gudiol C, 2013). Големи италиански проучвания установяват нива на резистентност към vancomycin в *E. faecium* между 10.8% и 23% (Mikulska M, 2014; Trecarichi E, 2014), а австралийско проучване съобщава vancomycin-резистентните *E. faecium* като доминиращия ентерококов вид, асоцииран с инфекции на кръвта в неутропенични пациенти с онкохематологични заболявания в периода 2009-2015г. (Carvahlo A, 2020).

в. Изход от инфекции на кръвта

Бруто коефициентът на смъртност при онкохематологични пациенти с инфекции на кръвта варира между 12 и 42%, като пряко асоциираната смъртност е между 7.5% и 30% (*Garcia-Vidal C, 2018; Norgaard M, 2006; Tumbarello M, 2009; Wisplinghoff H, 2003*). Подобно на общата популация, смъртността, свързана с инфекции на кръвта в неутропенични пациенти е много варираща в различните проучвания, но обичайно Грам положителните инфекции се асоциират с по-ниска смъртност, отколкото Грам отрицателните (*Gustinetti G, 2016; Trecarichi E, 2015*), макар да има проучвания, които съобщават за ниска смъртност, свързана с инфекции, причинени от *CoNS* (4%), но до 40% при MRSA, 18 - 39% при такива, причинени от зеленеещи стрептококи и между 33% и 79% в случаите на vancomycin-резистентни ентерококи (*Erlandson K, 2008; Han S, 2013; Livermore D, 2012; Marron A, 2000; Rosa R, 2014; Shaw B, 2007*). Amanati в свое проучване съобщава средно за 20% смъртност (между 18.8% - 22.1%), асоциирана с Грам отрицателни кръвни инфекции (MDR, карбапенем-резистентни и ESBL продуценти) в онкохематологични пациенти, но в същото време установява и значително по-висока смъртност, свързана с резистентни Грам положителни инфекции (*Amanati A, 2021*). Сред 575 пациента със злокачествени кръвни заболявания и инфекции на кръвта, Trecarichi съобщава за 13.2% смъртност (21-дневна), като тя е значително по-висока в случаите на Грам отрицателни инфекции в сравнение с Грам положителните (16.9 срещу 5.6%, $p < 0.001$) (*Trecarichi E, 2014*).

По литературни данни, смъртността от инфекции на кръвта, причинени от най-честите Грам отрицателни бактерии в пациенти с онкохематологични заболявания се движи между 15% и 47% (*Kokkayil P, 2018; Tang Y, 2021*). Високи нива на смъртност са съобщени от различни проучвания върху инфекции на кръвта при неутропенични пациенти, причинени от ESBLs продуциращи *Enterobacteriaceae* (11.1 - 44.8%), MDR *K. pneumoniae* (69%) и карбапенем-резистентни Грам отрицателни бактерии (36% - 58%, 50% и 80% при пациенти след костно-мозъчна трансплантация) (*Ben-Chetrit E, 2019; Gedik H, 2014; Girmenia C, 2015; Gudiol C, 2010; Pagano L, 2014; Satlin M, 2013; Trecarichi E, 2015; Wang S, 2011; Xiao T, 2019*). Moghnieh et al. съобщават за четири- и десет-кратно по-високи нива на смъртност в случая на инфекции на кръвта, причинени от изолати, резистентни на трета-генерация цефалоспорини и MDR щамове в сравнение с инфекции, причинени от съответните чувствителни микроорганизми (*Moghnieh R, 2015*). Китайско проучване от периода 2010 - 2018г. установява, че ранната смъртност, свързана с Грам отрицателни неферментиращи бактерии е статистически по-висока от тази, асоциирана с *Enterobacteriaceae* (22.6%

срещу 9.7%); в допълнение карбапенем-резистентните бактерии сигнификантно неблагоприятно повлияват дела на пациентите с ранна смърт, като карбапенем-резистентните *A. baumannii* (64%), *Stenotrophomonas maltophilia* (35%), карбапенем-резистентните *P. aeruginosa* (13.8%) се асоциират с най-висока ранна смъртност, а инфекция на кръвта, причинена от неферментиращи бактерии е идентифицирана като независим рисков фактор за смъртен изход до седмия ден. Авторите установяват също, че ранната смърт е статистически по-висока в случаите на инфекции, причинени от карбапенем-резистентни щамове в сравнение с инфекциите, причинени от карбапенем-чувствителни, като това важи с особена сила в случаите на карбапенем-резистентни *K. pneumoniae* (36% срещу 7.6%) (Tang Y, 2021). С. Vidal et al. също доказват, че MDR *P. aeruginosa* кръвна инфекция, лекувана с неподходящ антибиотик е статистически значим рисков фактор за смъртност (асоциира се с 11-кратно повишаване на смъртността) (Garcia-Vidal C, 2018). Интересен резултат установен от M. Andersen et al. е високата 30-дневна смъртност в случаите на *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa* инфекции на кръвта при онкохематологични пациенти, като този показател е различен при пациентите, които в момента на проучването не са лекувани за основното си заболяване и тези, които са провеждали вече лечение: 80% срещу 56% съответно за *K. pneumoniae* и 40% срещу 43% за *E. coli* (Andersen M, 2019).

Проучване на С. Cattaneo върху инфекциите на кръвта в онкохематологични пациенти, колонизирани с MDR бактерии, установява, че 25.7% от тях развиват поне една кръвна инфекция, а от тях - 62.2% развиват инфекция, причинена от колонизиращия микроорганизъм както следва: 15.6% от ESBL продуциращи ентеробактерии, 14.1% от карбапенем-резистентни Грам отрицателни бактерии и 11.1% - от VRE. Интересно, само *K. pneumoniae* и *Enterobacter aerogenes* сред колонизиращите карбапенем-резистентни ентеробактерии са отговорни за MDR инфекции на кръвта, което може да се обясни с по-високата вирулентност на тези видове в сравнение с другите ентеробактерии. Тримесечната преживяемост в това проучване е сигнификантно по-ниска при пациентите, колонизирани с карбапенем-резистентни Грам отрицателни бактерии (83.6%) и VRE (77.8%), в сравнение с тези, колонизирани с ESBL продуциращи ентеробактерии (96.8%). Инфекцията на кръвта, асоциирана с карбапенем-резистентни бактерии, е доказана като независим предсказващ фактор за смъртност (Cattaneo C, 2018). Подобно, девет годишно проучване на S. Schech et al. в Германия върху Грам отрицателните инфекции на кръвта в пациенти с онкохематологични заболявания, установява превалиране на представителите на семейство *Enterobacteriaceae* (73.4%), следвани от Грам

отрицателните неферментиращи бактерии (26.6%), като 85.3% от всички инфекции са идентифицирани като вътреболнични и почти 30% от пациентите развиват MDR инфекция. От всички проучени пациенти, 32.1% са били колонизирани с MDR микроорганизъм, като 60% от колонизираните развиват инфекции на кръвта. При пациентите с доказана MDR инфекции в сравнение с тези с не-MDR инфекция, по-чести етиологични агенти са били неферментиращите глюкозата бактерии (40.6% срещу 20.8%). Ранната преживяемост (30-дневна след диагностициране на инфекцията) е значително по-ниска при пациенти с инфекция на кръвта, причинена от MDR Грам отрицателни бактерии, в сравнение с тези, при които етиологичния агент не е с характеристика на MDR (85.6% срещу 55.9%). В допълнение, MDR инфекция, причинена от Грам отрицателни неферментиращи бактерии е била с по-лоша прогноза от тази, причинена от MDR *Enterobacteriaceae*. Статистическият анализ в това проучване идентифицира инфекцията на кръвта, причинена от множество резистентни Грам отрицателни микроорганизми и престоят в интензивна клиника като независими рискови фактори за 30-дневна смъртност (Scheich S, 2018).

2.6 Съвременна микробиологична диагностика на инфекциите на кръвта

Бързата и точна детекция, идентификация и определяне на чувствителността към антибиотици на етиологичните причинители на инфекциите на кръвта са от критична важност особено в условията на непрекъснато увеличаваща се резистентност, тъй като дават необходимата информация на клиничните специалисти за информирано решение за най-адекватно терапевтично поведение. Според проучване върху повече от 2600 случая от 15 интензивни клиници в 5 Американски и Канадски града, рискът от смъртен изход при сепсис се увеличава с между 6 и 10% за всеки изминал час от развитието на септичния шок до стартирането на ефективна антимикробна терапия (Kumar A, 2006; Kumar A, 2006a). Широкоспектърните антибиотици обикновено се назначават като стандартна първоначална терапия, но без окончателния резултат от културелното изследване, прието за златен стандарт, е трудно да се извърши де-ескалация на лечението (Thirndike J, 2020), а това от своя страна води до увеличаване на антибиотичната резистентност (Lockhart G, 2019). Нещо повече, Kadri et al. съобщават, че в Американските болници приблизително един на всеки четири пациента с инфекция на кръвта получава неадекватна емпирична терапия, което се свързва с увеличен шанс за смъртен изход (Kadri S, 2021). В този смисъл, непрекъснатото подобряване на целия диагностичен процес, базирано на качеството на вземане на кръвната проба и на факторите, които имат

ефект върху продължителността на времето до получаване на резултата, са сред приоритетите, за да се постигне подобряване в изхода при всеки пациент (*Lambregts M, 2019; Lamy B, 2020; Lee C-C, 2019*).

Хемокултурелното изследване е сред най-важните изследвания в една микробиологична лаборатория и продължава да бъде златния стандарт в етиологичната диагностика на инфекциите на кръвта и септичните състояния (*Rhodes A, 2017*). Хемокултурата е лабораторен тест, чрез който се доказва присъствието на бактерии или гъбички в кръвта чрез културелния метод, което позволява изолация, идентификация и изпитване на чувствителността към антимикробни лекарствени средства. Съществуват два основни типа хемокултурелни подходи: мануален и автоматизиран. При мануалния метод се използва бульонна или по-често бифазна хранителна среда, в която кръвта се инокулира преди инкубация; последва ежедневно макроскопско оценяване на хемокултурата за микробен растеж (помътняване, хемолиза, образуване на колонии), като при наличие на такива белези се извършва суб-култивиране върху агарови среди с цел изолация, идентификация и определяне на чувствителност. Всички хемокултури без очевидни белези за микробен растеж се субкултивират след 7-10 дневна инкубация (*Doern G, 1994; Dreyer W, 2012*). Съществени недостатъци на мануалния подход са получаване на фалшиво позитивни и фалшиво негативни резултати, ограничени възможности за растеж и изолиране на анаеробни и много взискателни бактерии и значителна трудоемкост и времеемкост (*Dreyer W, 2012*).

Понастоящем мануалният подход е широко заменен от автоматизирания хемокултурелен метод, който преодолява много от горепосочените недостатъци (*Reimer L, 1997*). Принципът на този метод е индиректна детекция на микробен растеж, базираща се на освободения в бульонната среда CO_2 в резултат на микробния метаболизъм или повишено налягане. Когато концентрацията на CO_2 достигне необходимите нива на детекция, апаратът дава индикация за наличие на микробен растеж в съответната бутилка с бульонна среда и кръвна проба. Рутинно хемокултурите се вземат като сет (една аеробна и една анаеробна бульонни среди), в който кръвта (оптимално 16 - 20ml) се разделя и инокулира в двете бульонни среди (бутилки). Последва инкубиране на хемокултурите на 35°C , като бутилките остават в апарата до доказване на микробен растеж, обикновено до 5 или по-малко дни ако се появи индикация за положителна хемокултура. От положителната хемокултура се изготвя микроскопски препарат по Грам, чийто резултат се съобщава на клинициста и се извършват посевки върху няколко вида твърди хранителни среди (най-често

кръвен, шоколадов агар, диференцираща среда за чревни бактерии и среда на Сабуро) за изолиране, идентифициране и изпитване на антибиотичната чувствителност на микробния агент, както при мануалния начин на работа. Въведени през 90-те години автоматизираните системи довеждат до значително подобрена стандартизация на тази микробиологична диагностика (*Dubourg G, 2018*). Понастоящем в практиката широко се използват няколко такива апарата - BD Bactec FX, bioMerieux BacT/Alert и Trek Diagnostics Versa Trek (Thermo Fisher). Аеробните и анаеробни бутилки с бульонна среда, съдържащи антикоагулант, антифагоцитен агент и агент, неутрализиращ антибиотичните препарати, позволяват растеж и детекция на най-честите причинители на инфекции на кръвта. Инокулираните с кръв бутилки, поставени в апарата се мониторира на всеки 10 мин., като инкубацията продължава средно 5 дни, а в случаите, в които се търсят чувствителни и бавно растящи микроорганизми (микобактерии, диморфни гъбички), тя се удължава. Бульонните среди като Bactec Myco/F Lytic medium (Becton Dickinson) и BacT/Alert MB medium (bioMerieux) са специално предназначени за изолация на микобактерии. В практиката се използват и системи за целите на изолацията на много вискозителни и трудно култивирани микроорганизми (*Brucella, Bartonella*, микробактерии, филаментозни гъбички, *Histoplasma capsulatum*) чрез лизиране, последващо центрофугиране и инокулация върху богати, твърди хранителни среди на получения седимент (Isolator System, Wampole Laboratories, Cranbury, NJ) (*Reimer L, 1997*).

При интерпретацията на положителната хемокултура, двата най-важни параметъра са видът на детектирания микроорганизъм и броят на хемокултурите, в които той е доказан (*Weinstein, M, 2003*). Изследване на два сета хемокултури, взети от две различни периферни места (по възможност) преди началото на антибиотичната терапия, се приемат за оптимални като брой с оглед правилна оценка на клиничната значимост на изолирания микроорганизъм и свеждане до минимум на фалшиво-положителните резултати (*Martinez R, 2016*). Проучване върху микробиологичната диагностика на инфекциите на кръвта в 209 лаборатории в 25 Европейски страни през 2019г. установява, че само в 39.7% от участващите лаборатории (83/209) за целите на първоначална оценка на фебрилен епизод се вземат поне два хемокултурелни сета (*Idelevich E, 2019*).

Финалният резултат от хемокултурелното изследване е в много голяма степен зависим от пре-аналитичната фаза на изследването, включваща правилна дезинфекция на мястото на венепункцията, време на вземане на пробата, мястото, от което се взема, инокулираното количество кръв в една бутилка, брой взети хемокултури за един

епизод и времето до поставянето на хемокултурите в апарата за автоматично инкубиране (*Lamy B, 2020*). Кръвна проба, взета чрез венепункция на периферен съд е предпочитана при хемокултурелното изследване. Хемокултурите, взети от съдови катетри се асоциират с по-ниска специфичност и позитивна предиктивна стойност и по-високи нива на контаминация, затова е препоръчително при ограничен съдов достъп, хемокултурата от катетъра да се комбинира с хемокултура, взета от периферен съд, което ще позволи адекватна оценка на културелния резултат (*Martinez R, 2016*). В случая на съмнение за катетър-свързана инфекция се препоръчва вземане на поне две хемокултури - една от периферен съд и една от всички лумени на катетъра (*Chaves F, 2018*). Проучване на *Guembe et al.* показва, че 37% от катетър-свързаните инфекции ще бъдат пропуснати, ако се взема кръв само от единия отвор на трилуменен катетър (*Guembe M, 2010*).

В общия случай, за постигане на висока чувствителност на хемокултурелното изследване е необходимо да бъдат взети два или три сета хемокултури (по 20мл. кръв за сет или 10мл. за бутилка или според препоръките на производителя) през интервал от 10-30 минути, което ще докаже патогена в 80% до 99% от случаите (*Alonso-Menchen D, 2022; Cockerill F, 2004*). Независимо от важността на фактора „количество на кръвната проба“, някои проучвания съобщават, че в рутинната практика до 48% от хемокултурите се инокулират с недостатъчен обем кръв (*Coorevits L, 2015; Henning C, 2019*). Интересен е фактът, че съществува обратно пропорционална зависимост между обема на кръвната проба и дела на контаминиранияте проби (*Opota O, 2015*). По отношение броя на взетите хемокултури е важно да се отбележи, че изследването само на една хемокултура (1 хемокултурелен сет) трябва да се избягва заради ниската чувствителност и потенциалните затруднения в интерпретирането на резултатите.

Асептичната техника при вземането на кръв за хемокултура е задължителна за свеждане до минимум на контаминацията с нормална кожна микрофлора или от околната среда (*Martinez R, 2016*).

Представеният по-горе класически микробиологичен диагностичен подход обикновено отнема между 3 до 5 дни от момента на вземане на хемокултурата до получаване на финална идентификация и резултат от изпитването на чувствителността (*Kim T, 2013*). Със замяната на процеса на биохимична идентификация на изолирания патоген, извършвана чрез мануални тестове, полу-автоматизирани и автоматизирани системи (*Crystal, BD; Phoenix, BD, API, VITEK, bioMerieux*) с MALDI TOF MS технологията (*Matrix-assisted laser desorbition/ionization-*

time-of-flight mass spectrometry), става възможно времето до финалния резултат да се скъси до 24 часа след позитивиране на хемокултурата в апарата.

Бърза идентификация от положителна хемокултура

В последните десет години MALDI TOF MS технологията широко навлиза в микробиологичната диагностична практика, като се използва за целите на микробната идентификация. Методът извършва анализ на протеинния състав (високо консервативните рибозомални протеини) на микробната клетка, като го представя под формата на видово-специфични спектри, които сравнява с видово-специфичните спектри в базата си данни (*Craxatto A, 2012; La Scola, 2009*). Предимства на метода са високата акуратност, ниската цена за единично изследване и експресността на изследването, без да са необходими предварителни познания за микроорганизма (*Clark A, 2013; Maier T, 2006*). В практиката по настоящем широко приложение намират две системи - MALDI Biotyper Sirius (Bruker Daltonics) и VITEK MS (bioMérieux) (*Lamy B, 2020*).

Освен за видова идентификация на изолирани върху твърда хранителна среда микроорганизми (*Idelevich EA, 2019*), MALDI TOF MS методът намира особено важно приложение за поставяне на бърза етиологична диагноза на инфекциите на кръвта директно от положителна хемокултура, чрез два основни подхода: директна идентификация от кръвната проба (чрез използване на микробна пелета) и идентификация чрез използване на кратко субкултивиране на положителната хемокултура върху твърда хранителна среда. Първият подход използва кратка процедура по обработка на малко количество от положителната кръвна проба, за да се получи микробната пелета, преди да се пристъпи към директна идентификация чрез MALDI TOF MS, като по този начин се получава резултат за видовата принадлежност на изолата в рамките на около 30мин. Получената микробна пелета може да се използва и за изготвяне на препарат по Грам, както и за определяне на антибиотична чувствителност и бързи PCR-базирани тестове (*Opota O, 2015*). За целите на директната микробна идентификация от положителна хемокултура в практиката се използва MALDI Sepsityper (Bruker Daltonics) (одобрен от FDA) (*Ponderland L, 2020*). Чрез използването на този подход се достига до 80% идентификация на бактериалните изолати (*Idelevich EA, 2014; Martiny D, 2012; Schubert S, 2011*), но недостатък е невъзможността едновременно да се извърши микробна детекция и определяне на чувствителност към антимикуробни лекарствени средства директно от кръв (*Ponderand L, 2020*).

По-често прилаганият и предпочитан в лабораторната практика е вторият подход на кратко суб-култивиране (няколко часа) на положителната хемокултура без други допълнителни стъпки преди използване на MALDI TOF MS (*Idelevich E, 2019*). Проучване в 209 Европейски лаборатории съобщава, че 22.5% от тях използват MALDI TOF MS за идентификация директно от положителна хемокултура, а 37.3% - използват същия метод, но работят с микроколониите, получени след кратко суб-култивиране върху твърда хранителна среда (*Idelevich E, 2019*).

Безспорни предимства на подходите, използващи MALDI TOF MS са огромната база данни от микробни видове (над 4000), с която разполага системата, експресното време за идентификация, ниската цена на единично изследване и възможността тази технология много успешно да се комбинира с бързи методи за изпитване на антибиотична чувствителност. Недостатък и на двата бързи подхода е невъзможността надеждно да бъдат идентифицирани смесени култури (*Altun O, 2015; Idelevich E, 2014b*).

В последните години няколко системи за микробна идентификация, базирани на Multiplex PCR или Microarray и адаптирани за работа директно от положителна хемокултура, намират приложение в диагностичната практика, като предоставят резултат в рамките на 1 до 3 часа. Сред основните недостатъци на тези системи са високата цена, възможност да детектират само ограничен брой патогени и да работят едновременно само с няколко проби (*Altun O, 2013; Banerjee R, 2015; Ledeboer N, 2015*).

Друг метод, в чиято основа стои PCR и магнитен резонанс, позволява директна детекция на патогена в цяла кръв без необходимост от предварително набогатяване на хемокултурата, а резултатът се предоставя в рамките на около 5 часа. Такъв апарат е T2Dx (Lexington, MA), използващ нано частици с магнитни свойства и с потенциал да доказва 1-3 CFU/ml (*Mylonakis E, 2015*).

Бързо изпитване на чувствителността към антибиотици от положителна хемокултура

Навременният резултат от изпитването на чувствителността към антимикробни лекарствени средства е от критична важност за окончателния избор на подходяща етиотропна терапия. Класическият подход при изпитване на чувствителността е тя бъде определена след субкултивиране от положителната хемокултура и получаване на чиста култура на следващия ден. Съществуват два подхода, които да съкратят това време и предоставят резултат един ден по-рано: 1. чрез инокулиране на Мюлер Хинтон агар или на AST панели/карти на автоматизираните системи за микробна

идентификация директно от положителната хемокултура, като се използва микробната пелета, получена след предварително центрофугиране. 2. чрез инокулиране директно от положителната хемокултура или чрез инокулиране на суб-култури от хемокултурата, получени след кратко (няколкочасово) инкубиране на твърда хранителна среда (*de Cueto M, 2004; EUCAST 2019; EUCAST. RAST, 2019; Idelevich E, 2014a; Idelevich E, 2018*). Чрез директно инокулиране на бактериална пелета, акуратни резултати се получават за Грам отрицателни бактерии, докато за Грам положителните микроорганизми и гъбичките редица автори съобщават за неточни резултати (*de Cueto M, 2004; Prod'hom G, 2013*). По-точни резултати се получават при работа с няколко-часови субкултури от твърда среда, поради възможността за по-добро стандартизиране на инокулума, като този подход може да се комбинира с MALDI TOF MS идентификация пак от същите суб-култури (*Idelevich E, 2014*). Полимикробните хемокултури и бавно растящите микробни видове са непригодни за бързо тестване на чувствителността с нито един от посочените по-горе методи (*Descours G, 2018; Idelevich E, 2019; Marschal M, 2017*).

Молекулярно-генетична идентификация от цяла кръв

За разлика от културелното изследване, молекулярно-генетичните методи се използват за директна детекция и идентификация на патогените в положителна хемокултура и цяла кръвна проба (*Lamy B, 2020*). Използването на тези методи предполага възможност за по-бързо поставяне на етиологичната диагноза и по-ранно стартиране на терапия, съобразена с микробиологичната диагноза и осъществяване на де-ескалационния терапевтичен подход (*Banerjee R, 2015; Idelevich E, 2015; Rule R, 2021; Tafelski S, 2015*). Клиничната полезност на този подход е в пряка връзка и в правопрпорционална зависимост от максимално съкращаване на времето от вземане на кръвната проба до извършване на изследването, от наличието на квалифициран персонал и възможност за осигуряване на непрекъснато работно време на диагностичната структура (24/7) (*Blondeau J, 2018*). Сред предимствата на молекулярно-генетичните методи е значително по-слабата зависимост и повлияване от предшестваща емпирична антибиотична терапия в сравнението със стандартното хемокултурелно изследване. Сред недостатъците са наличието на голямо количество човешка ДНК в кръвната проба, както и на кръвни фактори, които могат да инхибират PCR реакцията (желязо, имуноглобулини, хепарин), възможност за контаминация на реакцията (от околната среда, от PCR реагентите, от циркулираща мъртва бактериална / микотична ДНК в кръвната проба при отсъствие на инфекция) и получаване на фалшиво-положителни резултати. Сред прилаганите в лабораторната

практика методи от тази група са PNA FISH, PCR и Multiplex PCR и ДНК секвенирането:

PNA FISH (Peptide Nucleic Acid Fluorescens In Situ Hybridization)

PNA FISH е технология, която позволява директна идентификация на най-честите причинители на бактериемии (стафилококи, ентерококи, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *Candida* spp.) в кръвни натривки, приготвени директно от положителна хемокултура в рамките на 2.5 часа (Martinez R, 2016). Методът почива на бързо и специфично хибридизиране на флуоресциращи проби НК към комплементарните им микробни ДНК последователности - 16S рРНК за бактерии и 18S рРНК – за гъбички. Методът се характеризира с бързина, лесно изпълнение, специфичност, лесна интерпретация и независимост от амплифициране на микробния материал (Opota O, 2015). Понастоящем три FISH - базирани системи са намерили практическо приложение (одобрени от FDA) - Qiuck FISH (OpGen, Gaithersburg, USA), hemaFISH (Miacome Diagnostics, Germany) и Accelerate Pheno system (Accelerate Diagnostics, Arisona, USA) (Abdelhamed A, 2015; Ehren K, 2020; Enroth H, 2019; Pancholi P, 2018; Sakarikou C, 2014). Различни проучвания демонстрират много добра чувствителност и специфичност на метода: за *S. aureus*, 98.8% и 99.6% съответно, *E. faecalis*, 96.3% и 98.3%, други *Enterococcus* spp., 93.1% и 99.3%, *E. coli*, 100% и 100%, *K. pneumoniae*, 60% и 100%, *P. aeruginosa*, 100% и 100%; общо акуратност за представители на *Enterobacteriaceae*, 94.3% и за non-*Enterobactericae*, 100% (Martinez, 2014). Сред основните недостатъци на метода са високата цена, висок праг на детекция (10^5 CFU/ml) и ограничен брой на наличните FISH проби (Florio W, 2017).

PCR (Polymerase Chain Reaction), Multiplex PCR

В практика се използват няколко апарата, които почиват на интегрирана ДНК екстракция заедно с Real Time PCR и предполагат минимално участие на персонала. Такива системи са GeneXpert MRSA/SA (Cepheid GeneXpert) и BD GeneOhm StaphSR (BD GeneOhm, San Diego, CA), които идентифицират директно от положителна хемокултура MRSA и MSSA в рамките на под 2 часа, като чувствителността за *S. aureus* е оценена между 98.9% и 100%, а тази за MRSA - между 95% и 100% (Buchan B, 2015; Wolk D, 2009).

Film Array системата (BioFire; Salt Lake City, UT) е напълно интегриран Multiplex PCR апарат, който детектира 27 различни генетични таргета, свързани с най-честите бактериални и микотични агенти, както и бактериални гени, кодиращи

водещи механизми на резистентност към някои антибиотични групи (*mecA*, *vanA*, *vanB*, *blaKPC*) (Fiori B, 2016; Opota O, 2015). Verigene (Nnaosphere, Northbrook, IL, USA), Prove-it Sepsis assay (Mobidiag, Esbo, Finland) са подобни Microarray системи (Opota O, 2015).

ДНК секвениране

ДНК секвенирането предлага алтернативен и културелно независим метод за микробна детекция в кръвна проба, като таргетираният ген в случаите на бактериални патогени най-често е 16S рибозомалната RNA. Понастоящем основното ограничение на този метод се свързва с установената незадоволителна чувствителност (Rothman R, 2002).

Безспорен факт е, че въвеждането на молекулярно-генетичните подходи и MALDI TOF MS за видова идентификация и бързо изпитване на антибиотичната чувствителност могат да редуцират в значителна степен времето необходимо за получаване на резултат в случаите на пациенти със съмнение за инфекция на кръвта. С не по-малка важност в това отношение обаче е изпълнението на множество стъпки в пре- и пост-аналитичните фази на изследването (Lamy B, 2020). Съкращаване на времето от вземането на кръвните проби до стартиране на тяхната инкубацията, тясно обвързано от една страна с работното време на лабораторията и от друга с осигуряването на адекватна пре-аналитична транспортна верига, както и поставянето на апарати за автоматична инкубация извън лабораторията, са сред най-важните стъпки, които могат да осигурят значимо съкращаване на диагностичния процес (Bruins M, 2017; Weinbren M, 2018). Постигането на максимален резултат обаче се свързва и с бърз процес на комуникация между лабораторията и клинициста, с водеща роля на лабораторния лекар (Lamy B, 2020). Проучване на Timbrook et al. демонстрира, че смъртността от инфекции на кръвта сигнификантно намалява само, когато бързите методи за диагностика се комбинират с адекватна комуникация на резултата, но не и, когато тази комуникация липсва (Timbrook T, 2017).

Скорошно проучване върху микробиологичната диагностика на инфекциите на кръвта в Европейския съюз установява, че 32.5% (68/209) от лабораториите използват класическата хемокултурелна диагностика, а над 60% прилагат бързи методи за диагностика. От участващите в проучването лаборатории, само 42.2% (78/185) могат да стартират инкубиране непосредствено след вземането на пробата; едва 13% (25/192) са създали организация за 24-часова диагностична услуга и само 4.7% (9/190) са създали организация за 24-часова диагностична услуга, включваща валидиране и

изпращане на резултата до наредителя на изследването (клиничния специалист) (*Idelevich E, 2019*). Същото проучване демонстрира, че най-сериозният проблем по настоящем, свързан с хемокултурелната диагностика, се отнася до недостатъчното като продължителност диагностично работно време, предлагано от лабораторията. Инфекциите на кръвта са спешни състояния, което предполага предоставяне на услугата 24/7 и в този смисъл недостигът на лабораторен персонал се отразява негативно на здравната услуга (*Idelevich E, 2019*).

2.7 Основни механизми на резистентност към антимикробни лекарствени средства сред водещи причинители на бактериални инфекции на кръвта

Основните генетични механизми на антибиотична резистентност сред водещите причинители на бактериални инфекции на кръвта, които попадат в групата на ESKAPEЕс, се свързват с възникване на мутации и придобиване на различни мобилни генетични елементи като плазмиди, инсерционни последователности и транспозони (*Partridge S, 2018*). Тези механизми могат да се категоризират в 3 основни групи: а) инактивиране или алтерация на антибиотика; б) модифициране на таргета; в) намалена пенетрация или натрупване на антибиотика в бактериалната клетка.

а. Инактивиране или алтерация на антибиотика

Инактивацията на антимикробното лекарство (чрез разрушаване или неутрализация) в резултат от продукцията на различни бактериални ензими е един от най-честите механизми, използвани от ESKAPEЕс патогените, особено от Грам отрицателните видове. Сред тези ензими най-важни са ензимите, разрушаващи бета-лактамния пръстен на бета-лактамната група антибиотици (бета-лактамази) и ензимите, които модифицират ключови участъци на антимикробното средство.

Бета-лактамази

До настоящия момент са известни над 2500 различни бета-лактамази, медиращи резистентността към един или няколко бета-лактамни препарата (пеницилини, цефалоспорини, монобактами, карбапенеми), като това остава най-важният механизъм на резистентност сред Грам отрицателните ESKAPEЕс патогени (*Naas T, 2018*). В класифицирането на бета-лактамазите се използват две класификационни схеми: тази на Ambler, базирана на първичната им молекулярна структура и тази на Bush-Jacoby, почиваща на хидролитичния им профил и способността да бъдат инактивирани от различни инхибитори (*Ambler RP, 1980; Bush K, 2010*). Ambler Клас А ензимите са серин-съдържащи ензими в активния си център и включват пеницилинази, цефалоспоринази, тясно- и широкоспектрни бета-

лактамази, такива с разширен спектър (ESBL) и карбапенемази. Представлявайки най-големия клас бета-лактамази, Ambler Клас А ензимите практически могат да инактивират повечето групи бета-лактами. Чувствителността им към clavulanic acid и tazobactam е вариабилна, макар и да се инхибират от новите бета-лактамни инхибитори (avivactam, relebactam, vaborbactam) (Bush K, 2010; Bush K, 2019). В клас А се намират голяма част от ензимите, често доказвани в Грам отрицателните (TEM, SHV, CTX-M, KPC) и Грам положителни (пеницилинази) ESKAPEЕс патогени. Тясно спектрните TEM-тип ензими (например TEM-1), чийто хидролитичен профил включва пеницилини и по-старите генерации цефалоспорини са доказвани често в *K. pneumoniae*, *Enterobacter* spp., но и в изолати *A. baumannii* и *P. aeruginosa*. Подобно на това, SHV-1, близка по спектър на TEM-1, почти винаги се доказва в *K. pneumoniae* (Wright G, 2018). От TEM и SHV типовете ензими произхождат ензими с характеристика на ESBLs (обикновено плазмидно кодирани), способни да хидролизират цефалоспорините от III и IV генерация, като тези ензими са широко разпространени сред представителите на *Enterobacteriaceae* (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *Enterobacter* spp. и др.). Други клас А ESBLs, отнасящи се към CTX-M, PER, GES и VEB семейства също са доказвани в представители на Грам отрицателните ESKAPEЕс патогени (Bush K, 2010; Gniadkowski M, 2008), като PER-1 продуциращи *P. aeruginosa* са широко разпространени в Турция и по-малко в Европа и Азия, а PER-, GES- и VEB- ESBLs са най-честите клас А ESBL, доказвани в *A. baumannii*, като PER-1 превалят в Турция, но също са дисеминирани в няколко Източно Европейски държави (Русия, Унгария, Румъния), Китай, Корея и САЩ (Akova M, 2016). Обичайно повечето клас А ESBLs са чувствителни на clavulanic acid, макар да има доказани и т. нар инхибитор-резистентни бета-лактамази в изолати от вида *K. pneumoniae* (Bradford P, 2004). Сред най-важните ензими от този клас са KPC бета-лактамазите (обичайно плазмидно кодирани), които са с характеристика на карбапенемази и са доказани сред *K. pneumoniae*, причиняващи вътреболнични взривове в много различни региони на света (Nordmann P, 2009; Oliveira D, 2020). KPC продуценти са идентифицирани с висока честота в Северна и Южна Америка, Израел, Китай и др., а в Европа - Средиземноморският регион и по-специално Италия и Гърция са ендемични за KPC-продуциращи *K. pneumoniae* (Nordmann P, 2009; Parisi S, 2015). Най-широко разпространената KPC-карбапенемаза е KPC-2 (Akova M, 2016). За първи път, KPC продуциращи изолати са доказани през 1996г. в САЩ (Yigit H, 2001). Бета-лактамите, потенцирани с новите бета-лактамазни инхибитори като avivactam, relebactam и vaborbactam са с добра активност и алтернатива за лечение на инфекции, причинени

от КРС-продуциращи микроорганизми (Vena A, 2019). За съжаление вече има съобщения за възникване на резистентност и към ceftazidime-avibactam в КРС продуциращи изолати *K. pneumoniae*, отнасящи се към различни ST типове (Gottig S, 2019; Zhang P, 2020). В допълнение, многоцентрово проучване в Италия съобщава, че 43% от КРС - продуциращи *K. pneumoniae* демонстрират резистентност и към colistin (Monaco M, 2014).

Към клас А ензимите се отнасят и други бета-лактамази с карбапенемазна активност (IMI/NMC, SME, GES). В изолати *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa* са идентифицирани *bla* гени, медиращи продукцията на GES карбапенемазата, докато SME ензимите се доказват предимно сред изолати от вида *S. marcescens*, а IMI и NMC - спорадично в *E. cloacae* (Queenan A, 2007)

Метало-бета-лактамазите от Ambler клас В (MBLs) са втората клинично значима група бета-лактамази, характеризиращи се с потенциал да хидролизират почти всички бета-лактами, вкл. карбапенемите, но без aztreonam. За разлика от клас А, тези ензими изискват Zn^{2+} в активния си център и се инхибират от EDTA (Bush K, 2010). Най-важните представители на тази група, успешно инактивирани карбапенемните антибиотици, са плазмидно кодирани и доказани сред Грам отрицателните ESKAPEEc патогени - карбапенемази от семействата IMP, VIM и NDM. За първи път доказани в изолати *P. aeruginosa*, IMP и VIM карбапенемазите понастоящем са идентифицирани в *Acinetobacter* spp., *E. cloacae* complex и *K. pneumoniae* (Cornaglia G, 2011; Lauretti L, 1999; Matsumura Y, 2017; Peirano G, 2018). Подобно, NDM карбапенемазите са доказани сред всички Грам отрицателни представители на ESKAPEEc патогените (Cornaglia G, 2011; Lauretti L, 1999; Lee K, 2014; Oliveira D, 2020). Първият изолат, продуциращ NDM карбапенемаза е съобщен през 2008г. в клиничен изолат *K. pneumoniae* на пациент от Ню Делхи (Halaby T, 2012). Понастоящем NDM-положителни изолати са дисеминирани в целия свят, като Бангладеш, Индия и Пакистан се смятат за ендемични, а Балканите и Средния изток за друг основен резервоар; вътреболнични епидемии, причинени от такива изолати са рапортувани в Обединеното кралство, Италия, Гърция, Франция, Китай, Австралия, Средния Изток (Akova M, 2016). По настоящем NDM метало-карбапенемазата е най-често срещаната MBL сред представители на *Enterobacteriaceae* и *A. baumannii* (Akova M, 2016; Diene S, 2014; Walsh T, 2011). През 2016г. Тодорова съобщава първият български NDM-1 продуциращ изолат *K. pneumoniae* (Todorova B, 2016). Поради своя много широк хидролитичен профил и липса на ефективен инхибитор за клинично приложение, метало-карбапенемазите се приемат като най-проблемните ензими.

Клас С бета-лактамазите са представени от хромозомно кодирани цефалоспориноми (AmpC), идентифицирани в много Грам отрицателни видове (*Enterobacter* spp., *Acinetobacter* spp. и *P. aeruginosa*) (Bush K, 2010). Хидролитичният им профил включва тясно спектърните цефалоспориноми и aztreonam, като тези ензими са резистентни на действието на clavulanic acid. Конститутивната им експресия обичайно е ниска, като клинично значима резистентност, асоциирана с този тип ензими, обикновено е индуцирана в хода на терапия (Bush K, 2010). Освен хромозомно кодирана резистентност, свързана с клас С бета-лактамази, в литературата има множество съобщения и за плазмидно медирана резистентност в Грам отрицателни микроорганизми като *K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. mirabilis*, които нормално не притежават гени за клас С ензими в своята хромозома. Такива са CMY, ACC, DHA и FOX ензимите (Jacoby G, 2009).

Клас D бета-лактамазите са представени от ензими с характеристика на оксацилинази и с вариабилна чувствителност към clavulanic acid. Някои от тези ензими демонстрират профил на ESBLs и карбапенемази (но обикновено със слаба хидролитична активност) (OXA-23, OXA-24, OXA-58, OXA-51, OXA-48) (Bush K, 2009; Nordmann P, 2012). Обикновено хромозомно кодирани, окса-карбапенемазите най-често се доказват в *A. baumannii* (OXA-51, OXA-23 – най-честата и глобално разпространена; OXA-40, OXA-58, OXA-141, OXA-235), макар понастоящем плазмидно кодирани OXA-48-like карбапенемази да са широко разпространени и в други Грам отрицателни бактерии (*K. pneumoniae*, *Enterobacter* spp.), обикновено ко-продуцирани заедно с ESBLs (Akova M, 2016; Pitout J, 2020; Poirel L, 2012). Подобно на продуцентите на MBLs, вътреболнични взривове, причинени от OXA-48-like положителни изолати са съобщени в редица Европейски страни (Германия, Франция, Испания), но също така OXA-48 продуциращи *K. pneumoniae* се идентифицират често в Индия, Средния изток, Турция, Северна Африка и по-рядко в Южна и Северна Америка (Nordmann, 2014). За България, първите bla_{OXA-23} и bla_{OXA-58} положителни изолати *A. baumannii* са идентифицирани през 2008 и 2009 г. съответно (Stoeva T, 2008; Stoeva T, 2009).

Аминогликозид-модифициращи ензими (AME)

Продукцията на AME (ацетилтрансферази, AAC: фосфотрансферази, APH; нуклеотидилтрансферази, ANT) е най-важния механизъм, кодиращ резистентност към аминогликозидната група антибиотици в представители на ESKAPEEs патогените, като гените, кодиращи тези ензими са локализирани или в хромозомата или се носят от плазмиди и транспозони. Широкото разпространение на генетичните детерминанти

на АМЕ в представителите на ESKAPEEc се свързва най-често с хоризонтален генетичен трансфер (Ramirez M, 2010). AAC ензимите са представители на най-големия клас АМЕ. Скорошни проучвания доказват, че AAC(3), AAC(6') и ANT(2'') са най-често продуцираните ензими в Грам отрицателните представители на ESKAPEEc групата, кодиращи резистентност към gentamicin, tobramycin и amikacin, а ANT(4') и APH(3') - в *S. aureus* и *Enterococcus* spp. (Castanheira M, 2019; Costello S, 2019). Широкоспектрната аминогликозидна резистентност сред Грам отрицателните микроорганизми често е резултат от продукцията на множество АМЕ, а плазмидно кодираният вариант на AAC(6') ензима - AAC(6') Ib-cr, идентифициран в изолати *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *K. pneumoniae* и *Enterobacter* spp. се асоциира едновременно с ниско ниво на резистентност към аминогликозиди и флуорохинолони (De Oliveira D, 2020; Park C, 2006).

б. Модифициране на таргета

Друга честа стратегия за избягване ефекта на антибиотиците, доказвана в ESKAPEEc, се отнася до модифициране на свързващото антибиотика място, което най-често се осъществява по три механизма:

Модификация на таргетния ензим

Това е основният механизъм на метицилинова резистентност в *S. aureus*, асоциираща се с резистентност към цялата група бета-лактамни антибиотици. Резистентността се медира от присъствието на *mecA* гена, намиращ се т. нар SCC_{mec} касета и кодиращ PBP2, модифициран PBP (Penicillin Binding Protein), с много нисък афинитет към бета-лактамните антибиотици (Lakhundi S, 2018). Обикновено щамове, носещи по-големи SCC_{mec} касети са с фенотип на множествена резистентност и обикновено вътреболнични (Baig S, 2018). Наскоро в *S. aureus* изолати, демонстриращи метицилинова резистентност, са доказани други два варианта на *mec* гена - B и C, като *mecC* положителни *S. aureus* са идентифицирани предимно в Обединеното Кралство и Европа (Lakhundi S, 2018; Paterson G, 2014; Paterson G, 2020).

В изолати *E. faecalis* и *E. faecium* също е доказан PBP с нисък афинитет към бета-лактами - PBP5, кодиращ вродена ниско- до средно ниво бета-лактамна резистентност, а в някои щамове *E. faecium* поради свръхпродукция на PBP5 - и високо ниво на резистентност към ampicillin (Arias C, 2012; Zapun A, 2008).

Резистентността към флуорохинолони в ESCAPEEc също се асоциира с модификации в таргетните ензими ДНК гираза и топоизомераза IV, всеки състоящ се от две субединици, кодирани от съответните гени (*gyrA*, *gyrB*, *parC*, *parE*). Най-често

флуорохинолоновата резистентност се свързва със спонтанни мутации в съответните гени (*gyrA* и *parC*), но също в *K. pneumoniae* и *Enterobacter* spp. може да е и плазмидно медирана (Markovska R, 2019, Robicsek A, 2006; Ruiz J, 2019). Плазмидната резистентност се свързва със специфични протеини, кодирани от *qnr* гени, които директно се свързват към таргентния ензим, медирайки ниско ниво на флуорохинолонова резистентност, като често този механизъм се доказва в ESBL продуциращи щамове (Robicsek A, 2006; Ruiz J, 2019).

Алтерации на рибозомалния таргет

Главният механизъм на резистентност към макролиди и линкозамиди в *S. aureus* и *Enterococcus* spp. се опосредства от *erm*-кодирани rRNA метилтрансферази, които метилират определени частъци на 23S rRNA на голямата бактериална 50S субединица. Механизмът може да е конститутивно или индуцибилно експресиран, като в първия случай се доказва резистентност към двата класа антибиотици, а във втория случай - само към макролиди. Erm(A), (C) и (B) са гените с най-голямо значение, като често са плазмидно локализирани (*ermC*), а други са част от SCCmec II касетата в MRSA изолати (*ermB*) (Munita J, 2016).

Наскоро идентифициран механизъм, причиняващ високо ниво на аминокликозидна резистентност, засягаща всички аминокликозиди, вкл. plazomicin в Грам отрицателни ESKAPEEs, също се свързва с ензимно метилиране на 16S rRNA (Cox G, 2018; Doi Y, 2016). ArgA е най-честата метилаза, доказвана в *A. baumannii* и отговорна за HLLAR (Akova M, 2016).

Алтерации на прекурсорите на клетъчната стена

Това е основният механизъм на резистентност към стратегическата група гликопептидни антибиотици (vancomycin, teicoplanin), доказан е *Enterococcus* spp. Гликопептидната резистентност се медира от *van* гени, които определят продукцията от една страна на модифицирани пептидогликанни прекурсори и от друга страна – продукцията на карбоксипептидази, които елиминират естествените D-Ala-D-Ala прекурсори от клетката (Arias C, 2012). Резистентността към vancomycin в *E. faecalis* и *E. faecium* най-често се асоциират с *vanA* и *vanB* клъстера от гени (разположени върху транспозони с плазмидна или хромозомна локализация), като в първия случай изолатите демонстрират високо ниво на резистентност едновременно към vancomycin и teicoplanin (*vanA*), а във втория случай - само към vancomycin (Arias C, 2012; Kristich C, 2014).

Скорешни проучвания върху механизмите на резистентност към colistin в Грам отрицателни ESKAPEEs представители (*A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*)

доказват, че този тип резистентност се асоциира с промяна в структурата на липополизахарида (липид А) във външната мембрана на тези бактериални видове, водеща до намален свързващ потенциал за антибиотика. Колистиновата резистентност може да бъде както от мутационен тип (*mcrB* ген), така и придобита, плазмидно медирана (*mcr* ген) (Poirel L, 2017). Плазмидно медирана резистентност към colistin, свързана с *mcr* гена, е описана в щамове *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Salmonella* spp. (Akova M, 2016).

в. Намалена пенетрация или натрупване на антибиотика в бактериалната клетка

Порини

Мутациите в Грам отрицателната бактериална клетка, които водят до нарушена функция, брой, размер или баланс на външно мембранните порини, са сред важните механизми на резистентност към бета-лактами и флуорохинолони и са доказани сред представители на *P. aeruginosa* (OprD, свързан с намалена чувствителност към карбапенеми), *A. baumannii* (CarO, асоцииран с резистентност към imipenem), *K. pneumoniae* (*ompK36*, резистентност към карбапенеми) и *Enterobacter* spp. (Li X, 2015).

Ефлуксни помпи

Ефлуксният механизъм, опосредстван от действието на ефлуксни помпи, отнасящи се към 6 основни семейства (RND, MFS, MATE, SMR, ABC, PACE), е сред най-важните механизми на микробна резистентност, често отговорен за феномена „множествена резистентност“ (Li X, 2015). Сред ESKAPEEс патогените са доказани и шестте вида ефлуксни помпи, като RND е с особено значение сред Грам отрицателните представители (De Olivera, D, 2020). Ефлуксен механизъм, асоцииран с множествена резистентност е доказан в изолати *P. aeruginosa* (MexAB-OprM), *A. baumannii* (AdeABC, AdeFGH, AdeIJK RND), *K. pneumoniae* (AcrAB-ToIC), *Enterobacter* spp. (AcrAB-ToIC) (De Olivera, D, 2020).

2.8 Съвременно състояние на антибиотичната резистентност сред водещи причинители на бактериални инфекции на кръвта

Надзорът е важен фактор за адекватната оценка на състоянието и разпространението на антибиотичната резистентност сред медицински значимите бактерии и стои в основата при разработване на политики и предприемане на конкретни действия за нейното ограничаване. Надзорът е и важен инструмент в

процеса на мониториране възникването на нови механизми на резистентност и за оценка ефективността на предприетите локални и национални действия и стратегии. В продължение на много години Световната Здравна Организация има водеща роля в процеса на надзор на микробната резистентност и глобалната епидемиология на лекарствено-резистентните инфекции (GLASS, 2021).

Големи регионални мрежи за надзор на антибиотичната резистентност съществуват вече над 20г. Сред тях са EARS-Net (European Antimicrobial Surveillance Network) от 1998г., CAESAR (Central Asian and European Surveillance of Antimicrobial Resistance) от 2011г. за страни, които не са част от EARS Net в СЗО Европейски регион, RIVM и ReLAVRA (Latin American Network for Antimicrobial Resistance Surveillance), създадена през 1996г. (<https://ecdc.europa.eu>; [https://www.who.int/europe/groups/central-asian-and-european-surveillance-of-antimicrobial-resistance-\(caesar\)](https://www.who.int/europe/groups/central-asian-and-european-surveillance-of-antimicrobial-resistance-(caesar)); <https://www.paho.org/en/relavra>). Глобалната система за надзор на антибиотичната резистентност и употреба (GLASS, Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System) е създадена през 2015г. с цел подпомагане на Глобалния план за действие, насочен към микробната резистентност, одобрен от Шейсет и осмата Световна Здравна Асамблея през май същата година като инициатива на СЗО (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/193736>).

European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS Net)

Европейската Мрежа за сървейланс на антибиотичната резистентност (EARSS, European Antimicrobial Surveillance System, през 2010г. преименувана в EARS - Net) поддържа една от най-големите база-данни за чувствителност към антимикробни лекарствени средства на инвазивни бактериални изолати, асоциирани с инфекции на кръвта и ЦНС, като са обхванати повече от 25 Европейски страни (<https://ecdc.europa.eu>). От момента на създаването си до сега се мониторират тенденциите в антибиотичната чувствителност на 8 бактериални вида с важно медицинско значение: *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter* spp., шест, от които включени в групата “ESKAPEEC”. Данните от EARS-Net проследени в последните 10 години показват трайна тенденция за увеличаване общия броя на рапортуваните инвазивни изолати от мониторираните бактериални видове, с изключение на *S. pneumoniae* през 2020г. (<https://atlas.ecdc.europa.eu/>).

Резултатите за чувствителността съобщени от EU/ЕЕА страните в периода 2011 - 2021г. варират много широко, като това се отнася както за бактериалния вид, антибиотичната група и географския регион. Проследена в годините, се запазва тенденцията за нарастващ градиент на резистентността в посока „север-юг“ и „запад-изток“ (ECDC, 2022a).

През 2021г. най-многобройната група изолати е тази на *E. coli* (39.4%), следвана от *S. aureus* (22.1%), *K. pneumoniae* (11.9%), *E. faecalis* (8.8%), *E. faecium* (6.2%), *P. aeruginosa* (6.1%), *Acinetobacter* spp. (3.0%) и *S. pneumoniae* (2.5%). Важен резултат за 2021г. е увеличението брой на съобщените инвазивни изолати от всички мониториращи видове в сравнение с 2020г., с общо между 7 и 8%, най-значимо за *Acinetobacter* spp. (+73.9%) и *E. faecium* (+32.5%), следвани от *E. faecalis* (+11.7%). Почти без промяна е броя на *K. pneumoniae* (+0.03%) и *P. aeruginosa* (-0.9%), а за *S. aureus* (-5.5%), *E. coli* (-11.8%) и особено *S. pneumoniae* (-45.6%) се съобщава намаление (ECDC, 2022a).

По отношение на най-многобройната група инвазивни изолати за 2021г., представляваща вида *E. coli*, макар да остава ниска резистентността към карбапенеми (0.2%; диапазон 0.0% - 1.1%), в последния 5 годишен период (2017 - 2021г.) се установява сигнификантна тенденция към увеличение нивата в този вид (без да се доказват значими разлики между отделните страни), с най-висок дял в Гърция (1.1%), и Кипър (1%) (следвани от Италия, Румъния и България с дял от по 0.4%), докато тази към аминопеницилини (53.4%), флуорохинолони (22.7%) и аминогликозиди (9.8%) намалява. Делът на карбапенем-резистентните *E. coli* за България в периода 2011 - 2020г. се движи в диапазона 2.6/2.8% до 0.8% (ECDC, 2015; ECDC, 2022).

Проучванията върху средната за Европа резистентност към цефалоспорини трета генерация за инвазивни изолати *E. coli* в периода 2002 - 2020г., обработени от EARS-Net, показват тенденция за нарастване, като тя е особено демонстративна до 2012г. и по-малко изразена след този период (ECDC, 2022). Проследен във времето от 2011 до 2021г. средно за Европа делът на резистентните към трета-генерация цефалоспорини *E. coli* се движи в диапазона 9.6 - 14.9% със статистически значим тренд да намалява, като през 2021г. е най-ниска в Норвегия (5.5%) и най-висока в Кипър (32.8%) и България (37.3%), като за нашата страна нивата на тази резистентност за 10-годишния период (от 2011г. до 2020г.) са между 23% и 41.4% (<https://atlas.ecdc.europa.eu/>). В по-ранно проучване на M. Kraker от 2013г. върху кръвни изолати, докладвани към EARSS в периода 2002 – 2008г., се установява стръмно увеличение на резистентността към цефалоспорини от трета генерация в *E.*

coli, със средно годишно увеличение от 29.9%, като този тип резистентност е третият най-чест фенотип на резистентност (3%) след флуорохинолон-резистентните *E. coli* (9%) и MRSA (6%) сред общо 110 026 бактериемични изолата през 2008г. Бързото увеличение дела на бактериемите, причинени от *E. coli*, резистентни на цефалоспорици от трета генерация е характерно за всички мониторираните тогава държави, но по-слабо изразено за страните от IV регион (Южна Европа) (*De Kraker M, 2013*).

Резистентността към флуорохинолони в *E. coli* през 2021г. е средно 21.9% за Европа, като варира между 9.6% за Норвегия и 51.6% за Кипър, а тази към аминокликозиди е средно 9.6%, като най-ниска е във Финландия (4.1%) и най-висока в България (27%). В периода 2011 - 2020г. нивата на средната флуорохинолонова резистентност в този бактериален вид за Европа са между 22 - 23.8% с флукутации в отделните години, а за България – между 30% и 42.9% (*ECDC, 2022a*).

За 2021г. в групата на *K. pneumoniae* изолатите, сред всички мониторираните антибиотични групи, EARS Net съобщава най-висока средна резистентност към цефалоспорици трета генерация - 34.3% (варираща между 3.4% за Исландия, 5.1% в Дания, 7% Швеция до 81.4% за България), следвана от тази към флуорохинолони (33.6%), аминокликозиди (23.7%) и карбапенемни (11.7%), като за всички антибиотици се доказват много големи различия между отделните държави. Така например по отношение резистентността към карбапенемни през 2021г. се доказва 0.0% резистентност в Исландия и Холандия до 46.3% в България, 54.5% в Румъния и 73.7% за Гърция. В 12 страни нивата на карбапенемна резистентност са под 1%. По отношение на този тип резистентност сред особено засегнатите страни са тези от Южна и Югоизточна Европа (Гърция, 73.7%; Румъния, 54.5%; България, 46.3%; Хърватия, 32.9%; Италия, 26.7%, Кипър, 26.2%). Сред всички антибиотици, статистически значим тренд към увеличение в периода 2017 - 2021г. се доказва само за групата на карбапенемите, като увеличението спрямо предходната година е съответно с 5%, 6%, 11% и 17%. Нещо повече, за лабораториите, които попадат в групата на „постоянно рапортуващи“ в периода 2017 - 2021г., годишната промяна в дела на карбапенем-резистентните изолати е драматична (0%, 8%, 31% и 20% за 2018 - 2021) (*ECDC, 2022a*). При проследяване на тенденциите в 10 годишния период (от 2011 до 2020г.), се установява, че средната резистентност на инвазивните изолати *K. pneumoniae* за Европа бележи тенденция за увеличение както към трета-генерация цефалоспорици (30 - 33.9%), така и към флуорохинолони (25% - 33.8%) и карбапенемни (6% - 10%). В България се установяват аналогични тенденции, но в

значително по-високи нива от средните за Европа: трета-генерация цефалоспорици - 81-79.1%; флуорохинолони - 51-67.1% и карбапенеми - <1 до 28.1% (ECDC, 2022a; <https://atlas.ecdc.europa.eu/>).

В сравнение с *E. coli* и *K. pneumoniae*, резистентността към карбапенеми в *P. aeruginosa* и *Acinetobacter* spp. през 2021г. е значително по-висока – 18.1% (3.5%-45.9%) и 39.9% (0.0%-99.5%), като статистически значим тренд към намаление в шест годишния период (2016 - 2021) се установява само при *P. aeruginosa*. Карбапенемна резистентност в *P. aeruginosa* > 40% е документирана в 2 държави (Румъния и Словакия), между 25% и < 40% в 6 (между тях и България, 32.5%) и между 10% до 25% - в 13 страни. В същия бактериален вид се установява и статистически значимо намаление на резистентността и за други антибиотици (флуорохинолони, аминогликозиди), но без piperacillin/tazobactam и ceftazidime. Три страни съобщават за > 20% резистентност към аминогликозиди, а в една се доказват нива над 40% (Румъния, 41.7%). За периода 2016 - 2021г. ECDC съобщава тренд на стабилизиране нивата на антибиотична резистентност в *P. aeruginosa* към основните антипсевдомонадни средства. За десет годишния период (2011 - 2020г.), средните нива на резистентност към карбапенеми в Европа флукутират между 16.8 и 17.8%, към флуорохинолоните се движат между 22.1 и 19.6% със сигнификантен тренд да намаляват, както и към аминогликозидите - между 16.7 и 9.4%. За същия период в България резистентността към аминогликозиди в инвазивни изолати *P. aeruginosa* намалява от 38% до 32%, но не и тази към карбапенеми (29% - 42.9%) и флуорохинолони (30% - 52.9%) (<https://atlas.ecdc.europa.eu/>). В периода 2011 - 2020г. се доказват тенденции за увеличаване дела на резистентните инвазивни изолати *P. aeruginosa* към piperacillin/tazobactam, както средно за Европа, така и за България (ECDC, 2015; ECDC, 2018; ECDC, 2022).

В групата на *Acinetobacter* изолатите, макар за периода 2016 - 2020г. в Европа да не се установяват статистически значими тенденции, свързани с резистентността към мониторираните антибиотични групи, е налице увеличение на карбапенемната резистентност през 2020г. (до 38%) в сравнение с предходните четири години (2016 - 2019г.) (между 32.6 - 32.4%) (ECDC, 2022). За периода 2012 - 2020г. България докладва повишаващи се нива на резистентност в много високите диапазони едновременно към флуорохинолони (от 69.2% до 82.9%), аминогликозиди (от 58.5% до 76%) и карбапенеми (от 60.3% до 82.9%) (<https://atlas.ecdc.europa.eu/>). EARS Net докладва *Acinetobacter* spp. като вида с най-широки географски вариации по отношение на резистентността към трите групи тествани антибиотици (хинолони,

аминогликозиди и карбапенеми) (0.0% - 99.5%), като през 2021г. най-високи нива на резистентност към карбапенеми се доказват отново в страни от Южна и Източна Европа (Хърватия, 99.5%; Гърция, 96.9%; Румъния, 93.5%; Латвия, 96.1%; България, 77.9%; Кипър, 92.1%; Италия, 86.9%; Унгария, 83%; Полша, 82.7%), като много често доказван фенотип на резистентност е комбинираната резистентност едновременно към всички мониторирувани антибиотични групи (флуорхинолони, аминогликозиди и карбапенеми) (36.8% за 2021г.), като за 2021г. делът на тези изолати варира между 0.0% и 98.3% и е налице сигнификантен тренд за увеличаването му в 7-годишния период (2015-2021г.) (ECDC, 2022a).

Освен рязко увеличеният брой рапортувани инвазивни изолати *A. baumannii* през 2021г. (n=5389), сред лабораториите, които редовно докладват данни в периода 2017 - 2021г., увеличението на броя на резистентните изолати е много по-изразено през 2021г. в сравнение със средния им брой за 2018 и 2019г. (+121% средно за всяка една от групите – аминогликозиди, флуорохинолони и карбапенеми), като с най-голямо увеличение е дела на изолатите, резистентни на карбапенеми, достигащо 48% през 2021. Най-голям ръст на резистентността се установява в страните, които традиционно са съобщавали висока нива преди 2020г. (ECDC, 2022).

Сред всички мониторирувани бактериални видове от EARS Net, групата на *S. aureus* инвазивните изолати е втора по брой след тази на *E. coli*, което потвърждава значимостта на този микроорганизъм като водещ причинител на инфекции на кръвта (Cassini A, 2019). Средният за Европа дял на MRSA за 2021г. е 15.8% (диапазон между 0.9% и 42.9%), като е налице статистически значим тренд за понижаване от 19.3% до 15.8% в периода 2016 - 2021г. Последните данни от EARS Net за 2021г. показват, че Кипър и Румъния са с най-високи нива на MRSA (42.9% и 41% съответно), а Хърватска, Италия и Португалия са с нива между 25 и 40%. Най-нисък дял MRSA се докладва за Норвегия, Исландия и Холандия (0.9 - 1.5%). В България делът на MRSA през 2021г. (15.2%) е много близък до средния за Европа (15.8%), като бележи повишение в сравнение с 2020г. (11.8%) (ECDC, 2022). За периода 2011 - 2020г. в Европа средният дял на MRSA е около 16.7% (с известни флукутации в годините - до 18.8% през 2012г.), а в България относителният дял на MRSA се движи между 22.4% за 2011г. до 11.8%, демонстрирайки положителен тренд за намаляване през този десет годишен период (ECDC, 2015; ECDC, 2018; ECDC, 2022; <https://atlas.ecdc.europa.eu/>). С. Gagliotti в публикация от 2021г., базирайки се на EARS-Net данни от 2005 - 2018г., съобщава, че намаляването дела на MRSA сред *S. aureus* асоциирани инфекции на кръвта се дължи предимно на увеличаване броя MSSA инфекциите (Gagliotti C, 2021).

По-ранни проучвания (2002 - 2008г.) върху епидемиологията на бактериемии в Европа на база резултати от EARSS, доказват *S. aureus* отново като втория най-чест бактериален вид (29%), асоцииран с бактериемии, както и установяват бифазна тенденция в дела на MRSA инвазивните изолати: от 21% през 2002г. до 23% през 2005г. и спад до 19% през 2008г. (най-вече за сметка на тенденцията в страните от Западна Европа), като независимо от тази тенденция, в същия период се установява непрекъснат тренд за увеличаване дела на MSSA (характерна за всички мониторирувани страни, независимо от географския регион) (*de Kraker M, 2013*). Същото проучване съобщава MRSA като вторият най-често срещан фенотип на резистентност в този период сред всички проследявани бактериални видове (6%) (*de Kraker M, 2013*).

Според данни на EARS Net делът на изолатите *S. pneumoniae* penicillin-non wild тип за 2020г. е 15.6%, а този на макролид-резистентните - 16.9%, като положителна тенденция за намаляване на резистентността в периода 2016 - 2020г. се доказва само за макролидната група антибиотици (*ECDC, 2022*). По-високи нива на резистентност към penicillin в Европа за 2021г. са докладвани в няколко страни: Испания, 22.3%; Хърватия, 12.7% и Румъния, 10.7%. При десет страни са доказани нива <1% . През 2021г. се доказва нарастване средния за Европа дял на penicillin non-wild type щамовете от 8.8% през 2011г. до 16.8% (*ECDC, 2022a*). Тенденциите за България в периода 2011 - 2020г. са в посока на намаляване: от 21% през 2011г. до 7.1% (<https://atlas.ecdc.europa.eu/>).

Особено неблагоприятна тенденция в Европа в периода 2011 - 2020г. е нарастване делът на vancomycin-резистентните *E. faecium* от средно 7.3% през 2011г. до 16.8% през 2020г. (диапазон 0.0 – 56.6%), като едва 11 от общо 29-те участващи в мониторинга държави съобщават нива под 5% (*ECDC, 2015; ECDC, 2018; ECDC, 2022*). Тази тенденция на повишаване дела на VRE продължава и през 2021г. - средно 20.0% с диапазон от 0.0 до 66.3%. В случая с VREfm, не се установява ясен географски модел на разпространение по подобие на другите бактериални видове и антибиотици, като висок относителен дял на vancomycin-резистентни *E. faecium* се съобщава от всички региони на Европа, като най-засегнати са Литва (66.4%), Малта (55%), Кипър (51.2%), Румъния (44.5%), Гърция (41.1%) и Унгария (40.7%) (*ECDC, 2022a*). С най-нисък дял на VRE са Холандия и Швеция (0.3%), Финландия (0.4%), Франция и Норвегия (0.5%), Испания (1%) и Австрия (2%). За България делът на VRE през 2021г. е 10.1%, като в периода 2011 - 2020г. и у нас се доказва тенденцията за нарастване на този тип резистентност (от 0.0% през 2011г. до 7.8% през 2020г.) с пик в периода 2014 - 2017г. (13.3% - 19%) (*ECDC, 2022; ECDC, 2022a;*

<https://atlas.ecdc.europa.eu/>). По отношение резистентността към vancomycin, значително по-слабо засегнат вид е *E. faecalis*. A. Olaniyi et al. проучвайки епидемиологичните тенденции и рискови фактори, свързани с резистентността на ентерококите към vancomycin в пациенти с инфекции на кръвта в EU/EEA в периода 2012 – 2018г., потвърждава тази тенденция за нарастване дела на VREfm от 8.1% през 2012г. до 19.0% през 2018г., като това е резултат, наблюдаван във всички Европейски региони, в двата пола и всички възрастови групи без деца и подрастващи (1 - 19г.). Средният дял на vancomycin-резистентните *E. faecalis* в Европа за този период е нисък (1.1%) (Olaniyi A, 2020).

По отношение на средната за Европа HLLAR в *E. faecalis*, данните на EARS Net показват макар и статистически незначим, тренд за намаление в периода 2011 - 2021г. (от 33.7% до 28.3%), като варира в широки граници (от 6.7% в Швеция до 55.2% в Полша). За същия период в България делът на HLLAR *E. faecalis* нараства от 30.6% през 2011г. до 48.4% през 2021г. (ECDC, 2015; ECDC, 2018; ECDC, 2022a; <https://atlas.ecdc.europa.eu/>).

SENTRY Antimicrobial Surveillance Program

Друга голяма международна мрежа, която има за цел постоянен мониторинг на тенденциите, отнасящи се до микробиологичния аспект на различни видове инфекции, вкл. тези на кръвта (спектър и разпределение на патогените, нива на антибиотична резистентност) е SENTRY Програмата, създадена през 1997г. (Diekema D, 2000; Diekema D, 2019). Резултатите, отнасящи се до първите 20 години на програмата (1997 - 2016г.), на база проучени 264 901 инвазивни изолата, получени от 238 центъра (72 в Северна Америка, 18 - в Латинска Америка, 65 - в Европа и 83 от азиатско-тихоокеанския регион), показват, че делът на MRSA нараства в периода 2005 - 2008г. до 40%, след което показва тенденция да намалява (под 35%), което се докладва и от други регионални и национални програми в Европа и САЩ (Diekema D, 2019; ECDC, 2022; Gagliotti C, 2011; Johnson AP, 2012; Klevens RM, 2007). Проучването установява различия в дела на MRSA изолатите според географския регион: в края на проучвания период за Европа, относителният дял на MRSA е около 26%, а този в Северна Америка – над 40%. Делът на VRE намалява след 2012г., като за целия период е 16.4%. Честотата на MDR *Enterobacteriaceae* сред всички изолати от семейство *Enterobacteriaceae* също нараства - от 6.2% в периода 1997 - 2000г. до 15.8% през 2016г. Същият тренд се доказва и за резистентните към трета генерация цефалоспорини *E. coli* и *K. pneumoniae* и за карбапенем-резистентните

Enterobacteriaceae, като в края на периода делът на *E. coli* и *K. pneumoniae* с ESBL фенотип е над 20% и 30%, при изходни нива от 5% и 20% съответно през 1997г. (Diekema D, 2019). Делът на карбапенем-резистентните изолати в последния 4-годишен период (2013-2016г.) надхвърля 3%. Тези резултати потвърждават установеното от EARS-Net и отразяват възникването и разпространението на ESBLs и карбапенемази сред Грам отрицателните микроорганизми в световен мащаб (Brolund A, 2019; Diekema D, 2019; ECDC, 2022; McDanel J, 2017; Tangden T, 2015; van Duin D, 2017).

Като част от SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, M. Pfaller през 2020г. публикува резултати, отнасящи се до честота на възникване и антибиотична чувствителност на 6741 бактериални изолата, асоциирани с инфекции на кръвта от 16 големи медицински центъра в САЩ (n=10), Европа (n=4), Мексико (n=1) и Южна Корея (n=1) в периода 2012 - 2017г. Стратифицирайки резултатите по място на придобиване, авторите докладват, че инфекциите на кръвта, причинени от VRE, penicillin не-чувствителни *S. pneumoniae*, ESBL продуциращи *Klebsiella* spp., карбапенем-резистентни *Enterobacteriaceae* и MDR *P. aeruginosa* са по-чести сред ICU пациенти в сравнение с такива, хоспитализирани в не-интензивни клиники, като при последните се отчита малко по-висока честотата на MRSA (37.5%) в сравнение с ICU групата (34.1%). В допълнение, проучването отчита висока честота на MRSA (37.0%), VRE (24.6%), ESBL *Klebsiella* spp. (21.5%) и MDR *P. aeruginosa* (15.4%), макар на фона на намаляваща тенденция от 2012 до 2017г. и ниски и намаляващи нива на penicillin-нечувствителни *S. pneumoniae* (3.4%) и карбапенем - резистентни *Enterobacteriaceae* (1.5%) за периода на проучването (Pfaller M, 2020). Проучването показва и някои географски различия: по-висока честота на MRSA и VRE в Северна Америка (39.7% и 33.2%), отколкото в Европа (30.2% и 9.9%), но по-висока честота на ESBL-продуциращи *Klebsiella* spp., CRE и MDR *P. aeruginosa* в Европа (24.1%, 10.9% и 18.8%,) отколкото в Северна Америка (12.5%, 2.3% и 13.1%) (Pfaller M, 2020).

Пак като част от SENTRY Програмата, Di Franco съобщава, че в периода 2013 - 2019г. най-честите бактериални видове, асоциирани с инфекции на кръвта и демонстриращи MDR са *K. pneumoniae*, *E. coli*, *A. baumannii* - *calcoaceticus complex* и *P. aeruginosa*., потвърждавайки специфичните географски различия (Di Franco S, 2021).

Global Antimicrobial Resistance Surveillance and Use System (GLASS)

Глобалната мрежа за надзор на антибиотичната резистентност и употреба (GLASS) събира данни за 6 бактериални вида, причинители на инфекции на кръвта

(*Acinetobacter* spp., *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Salmonella* spp., *S. aureus*, *S. pneumoniae*). Според данните за 2019г., рапортувани от 70 страни в целия свят (общо 520 154 кръвни изолата), средно делът на инфекциите на кръвта, причинени от *E. coli*, резистентни на цефалоспорини от трета генерация е 36.6%, като се доказват значими разлики в нивата на резистентност между LICs (58.3%) и HICs (17.53%). Същото проучване потвърждава *E. coli* като най-честия причинител на инфекции на кръвта (GLASS, 2021). Аналогичен тренд се установява и за дела на MRSA инфекциите: средно 24.9%; 33.3% за LICs и 15% за HICs (GLASS, 2021). GLASS установява и висок дял на инфекции на кръвта, причинени от резистентни на трета генерация цефалоспорини *K. pneumoniae* (40-50%), карбапенем - резистентни *Acinetobacter* spp. (65.48%), както и ниски към средни нива на резистентност към карбапенеми в *K. pneumoniae*, а делът на penicillin - и ceftriaxone - резистентните *S. pneumoniae* е съответно 2.7% и 0.5% (GLASS, 2021).

Извън големите популационни проучвания, глобални и регионални надзорни мрежи, в научната литература има голям брой едноцентрови и многоцентрови болнични проучвания върху епидемиологията и профила на антибиотична резистентност на водещите причинители на инфекции на кръвта. Трябва да се отбележи обаче, че съществува значителна географска хетерогенност по отношение еволюцията на фенотиповете на резистентност на основите етиологични агенти, но въпреки това се очертават две важни тенденции: от една страна, стабилизация или намаление на епизодите, причинени от MRSA, а от друга - увеличение на тези, причинени от VRE и особено от MDR Грам отрицателни видове (ESBLs продуциращи *E. coli*, карбапенем-резистентни *K. pneumoniae*, MDR и карбапенем-резистентни *A. baumannii*) (De Angelis G, 2018; De Socio GV, 2019; Kontula K, 2021; Liu C, 2022; Peng X, 2021; Pérez-Crespo P, 2021; Rhodes J, 2019; Rothe K, 2019; Sader H, 2019; Schöneweck F, 2021; Yardimci A, 2022).

Заклучение

Проучената научна литература демонстрира значимостта на инфекциите на кръвта в Европейски и световен мащаб заради високата заболяемост и смъртност, с които те са свързани, особено инфекциите, причинени от антибиотично резистентни бактерии. В България не са извършвани болнични комплексни микробиологични и епидемиологични проучвания върху промените в етиологичния спектър на инфекциите на кръвта и антибиотичната резистентност на най-честите бактериални причинители, рисковите фактори и леталитета, с който те са съпътствани, обхващайки продължителен период от време и неселектирана популация от пациенти, без

ограничения във възраст, пол, клиника и диагноза. Натрупването на информация по тези въпроси, заедно с локални и национални програми биха били особено полезни с цел мониторинг на инфекциите сред хоспитализирани пациенти, своевременно идентифициране на онези от тях, които са в повишен риск и предложение на адекватни мерки за превенция и контрол.

3. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

Целта на настоящия дисертационен труд е да се извърши микробиологично и епидемиологично проучване върху антибиотичната резистентност на най-честите причинители на бактериемии за 10 годишен период и леталитета, свързан с тях.

Във връзка с тази цел бяха поставени следните задачи:

1. Да се определи и анализира етиологичния спектър на лабораторно потвърдените бактериалните инфекции на кръвта, доказани при хоспитализирани пациенти в УМБАЛ“Света Марина“ в периода 2011 - 2020г. (независимо от възраст, пол, диагноза, клиника) и да се проучи резистентността към антимикробни лекарствени средства сред най-честите причинители на бактериемии, асоцииращи се с тези инфекции, като се оцени и тренда в развитие на резистентността във времето.
2. Да се проучат генетичните механизми на резистентност към цефалоспорини от трета генерация и карбапенеми в репрезентативни карбапенем-резистентни *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* complex и *Acinetobacter baumannii* изолати от кръв и да се извърши епидемиологично типизиране.
3. Да се определи и анализира етиологичния спектър на лабораторно потвърдените бактериалните инфекции на кръвта, доказани при хоспитализирани пациенти с онко-хематологични заболявания (независимо от възраст, пол, диагноза) в периода 2010 - 2020г. и да се проучи резистентността към антимикробни лекарствени средства сред най-честите причинители на бактериемии, асоцииращи се с тези инфекции, като се оцени и тренда в развитие на резистентността във времето.
4. За всички болнично лекувани пациенти с инфекции на кръвта, причинени от седем бактериални вида в периода 2016 - 2020г. (*S. aureus*, *S. pneumoniae*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae* complex, *A. baumannii* - *calcoaceticus* complex, *P. aeruginosa*) да се извлече, обобщи и асоциира информация, свързана с 27 променливи.
5. Да се изчисли показателят „30-дневен леталитет“ (общ и специфичен - по възрастови групи, пол, вид на клиниката, място на придобиване, микробен вид, комбинация микроорганизъм/антибиотик) в групата на всички болнично лекувани пациенти с лабораторно потвърдени инфекции на кръвта, причинени от 7-те бактериални вида в периода 2016 - 2020г., както и да се идентифицират рисковите факторите, които влияят върху 30-дневния леталитет.

4. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

4.1. Дизайн на проучването

Настоящото проучване е с ретроспективен описателен дизайн, целящ анализ на честотата на клинично значимите бактериемии, техните микробни причинители и рисковите фактори за смъртен изход при инфекциите на кръвта в пациенти лекувани в УМБАЛ“Света Марина“, Варна (болница с 1400 легла) за 10 годишен период (2011 - 2020 г.).

В проучването са включени всички клинично значими епизоди на бактериемия (свързани с инфекция), доказани при пациенти, лекувани в посочения период, независимо от тяхната възраст, пол, диагноза и клиника. Отделно са проучени всички клинично значими епизоди на бактериемия в болнично лекувани пациенти с онкохематологични заболявания за 11 годишен период (2010 - 2020г.), независимо от техния пол, възраст и диагноза.

Епизодите на фунгемия, епизодите на бактериемия, отчетени като „контаминация“, както и еднократно изследвани хемокултури, положителни за представители на нормалната кожна микробна флора са изключени от проучването. Болничната и Лабораторната информационни системи са използвани за събирането на информация, отнасяща се до доказване на епизодите на клинично значими бактериемии в периода 2010 - 2020г., техните етиологични агенти и чувствителността им към антимикробни лекарствени средства. От проучването са изключени дублиращи се бактериални изолати от кръв, получени от един и същ пациент (изолиране на същия микробен вид с идентичен профил на чувствителност по време на хоспитализацията - от момента на приема до изписването).

В проучването са включени всички епизоди на бактериемия, които отговарят на следните определения:

- За епизодите на бактериемия, асоциирани с Грам - отрицателни и Грам положителни бактерии, различни от резидентната кожна микрофлора (коагулаза-негативни стафилококи, коринебактерии, *Propionibacterium* spp., *Micrococcus* spp., *Bacillus* spp. (различни от *B. anthracis*): всеки епизод, при който е налице микробна изолация от 1 или повече хемокултурелни сета.
- За епизодите на бактериемия, асоциирани с представители на резидентната кожна микрофлора: всеки случай, при който е налице изолация от два или повече хемокултурелни сета на изолати от един същи бактериален вид в рамките на 48 часа, както и при изолация на един и същи бактериален вид от централен венозен катетър и от периферен съд едновременно, при наличие на симптоми на инфекция (фебрилитет ($>38^{\circ}\text{C}$) / втрисане / хипотония).

Датата на вземане на първата положителна хемокултура е приета за дата на настъпване на бактериемията и нейното диагностициране.

Положителна хемокултура със същия микроорганизъм (демонстриращ и идентична чувствителност), доказана в рамките на до 30 дни от първата положителна хемокултура при съответния пациент, не е включена в проучването.

Полимикробна бактериемия е отчетена, когато са идентифицирани повече от 1 микробен вид в рамките на един епизод. При доказване на полимикробна бактериемия, при която единият изолат е част от нормалната кожна микрофлора, той е изключен от проучването.

Когато в хемокултура е идентифициран друг бактериален вид, различен от вида, доказан в първата положителна хемокултура, вторият епизод е отчетен като нов епизод.

Хемокултурата е интерпретирана като клинично незначима, когато някой от следните микроорганизми е идентифициран в един хемокултурелен сет, получен от един пациент в един ден: коагулаза-негативни стафилококи, *Corynebacterium* spp., *Propionibacterium* spp., *Micrococcus* spp., *Bacillus* spp. (без *B. anthracis*). При изолиране на повече от един микроорганизъм, представители на нормалната кожна микрофлора в една хемокултура, тя е интерпретирана като контаминирана и изключена от проучването.

Един сет хемокултури се състои от една кръвна проба (получена или чрез венепункция или през катетър), инокулирана в една аеробна и една анаеробна бутилка, съдържащи бульонна хранителна среда.

При 798 пациента с лабораторно (културелно) потвърдени инфекции на кръвта, причинени от *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae* complex, *A. baumannii - calcoaceticus* complex и *P. aeruginosa* в периода 2016 - 2020г., с цел оценка на 30-дневния леталитет и рисковите фактори за това, е събрана информация за общо 27 променливи както следва:

1. Пол
2. Възраст
3. Клиника, в която е приет пациента
4. Вид клиничен материал (кръв, урина, ликвор, раневи секрет), изследван при приемане и по време на болничното пролежаване
5. Изолиран бактериален вид
6. Резултати от антибиограма
7. Дата на вземане на материала
8. Дата на приемане на пациента в УМБАЛ „Св. Марина“
9. Диагноза при приемане
10. Дата на изписване (продължителност на престоя)
11. Инфекция придобита в общността / Вътреболнична инфекция

12. Клинични синдроми
13. Диагноза при изписване
14. Изход от лечението
15. Код на диагнозата по МКБ на причина за смърт
16. Дата на смъртта
17. Името на населено място, в което пациентът живее постоянно
18. Придружаващи заболявания
19. Тежест на заболяването (пролежаване в интензивно отделение)
20. Предишна или настояща хирургическа интервенция
21. Последващи хоспитализации /рехоспитализации
22. Допълнителни / последващи изолати/ инфекции
23. Социално икономически статус
24. Образование
25. Етническа принадлежност
26. Антибиотици приемани преди вземане на биологичен материал
27. Изолиран микроорганизъм от кръвта и неговата антибиотична чувствителност

С цел отразяване на данните за всеки пациент, свързани с 27-те променливи, беше разработен формуляр за събиране на информация от болничната документация на пациенти лекувани в УМБАЛ „Света Марина“ (приложение 2).

В допълнение, 30-дневния леталитет, свързан с инфекции на кръвта, причинени от 7 антибиотично - резистентни бактериални вида *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae* complex, *A. baumannii* - *calcoaceticus* complex и *P. aeruginosa* (най-важни, сред които MRSA, резистентни на 3-та генерация цефалоспорини Грам отрицателни бактерии, карбапенем-резистентни *P. aeruginosa*, *A. baumannii* и *Enterobacteriaceae*) е сравнен с 30-дневния леталитет при кореспондиращите не-антибиотично резистентни инфекции, с цел оценка на антибиотичната резистентност като рисков фактор за 30-дневния леталитет.

Показанията за включване на пациентите с цел оценка на 30 - дневния леталитет и рисковите фактори са:

1. Хоспитализация в УМБАЛ“Света Марина“ в периода 2016 - 2020г.
2. Доказан епизод на клинично значима бактериемия, причинена от *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae* complex, *A. baumannii* - *calcoaceticus* complex и *P. aeruginosa* в периода 2016 - 2020г.
3. Налична информация за всички по-горепосочени 27 променливи.

Проучените общо 798 пациента са стратифицирани на базата на клиничния изход от хоспитализацията на две групи: първа група, която преживява в рамките на поне 30 дни и втора, която умира в рамките на 30 дни от момента на вземането на положителната хемокултура.

Проучването е одобрено от Комисията по етика на научните изследвания с протокол No92/02.04.2020г.

Дефиниции:

- **Бактериемия:** присъствие на бактерии в кръвта.
- **Бактериална инфекция на кръвта:** изолиране на бактериален патоген, който не е част от резидентната микрофлора, от една или повече хемокултури. В случая с кожни коменсали като *CoNS*, *Corynebacterium* spp. (без *C. diphtheriae*), *Bacillus* spp. (без *B. anthracis*), *Micrococcus* spp. са необходими поне 2 последователни положителни хемокултури със същия микроорганизъм, взети по различно време в рамките на 48ч. на фона на поне един от следните симптоми: повишена температура, втрисане и хипотония.
- **Инфекция на кръвта, придобита в обществото:** дефинира се, когато първата доказана положителна хемокултура е взета в рамките на ≤ 48 часа от хоспитализацията.
- **Вътреболнична инфекция на кръвта:** дефинира се, когато първата доказана положителна хемокултура е взета след 48 час от хоспитализацията.
- **Лабораторно потвърдена инфекция на кръвта:** използвани са критериите на CDC/National Healthcare Safety Network (NHSN) (*NHSN*, 2023; <https://www.cdc.gov/nhsn/psc/bsi/>)
- **Кумулативна заболяемост от инфекции на кръвта / бактериемии:** показателят е изчислен на 1000 хоспитализации за всяка една година от периода 2011 - 2020г.
- **Метицилин - резистентни стафилококи:** cefoxitin/oxacillin резистентни стафилококи, определени чрез дисково - дифузионния метод или чрез автоматизирана система.
- **Изолати, суспектни за продуценти на широкоспектърни бета-лактамази (ESBLs) от семейство *Enterobacteriaceae*:** изолати, демонстриращи резистентност към ceftazidime/cefotaxime/ceftriaxone.
- **Карбапенем - нечувствителни *Enterobacterales*, *A. baumannii* и *P. aeruginosa*:** изолати с интермедиерна чувствителност или резистентност към един или повече

карбапенемни антибиотики според CLSI, използван в периода 2010 - 2015г. и EUCAST, използван в периода 2016 - 2020г.

- **Множествена резистентност (MDR) при *P. aeruginosa*:** резистентност към 3 или повече от следните антимикробни групи: цефалоспорици от трета генерация, piperacillin/tazobactam, карбапенеми, флуорохинолони и аминогликозиди (Magiorakos A, 2012).
- **MDR *A. baumannii*:** не-чувствителност към поне един агент в три или повече от следните групи антимикробни лекарствени средства: аминогликозиди (gentamicin, amikacin, tobramycin), антипсевдомонадни карбапенеми (imipenem, meropenem), антипсевдомонадни флуорохинолони (ciprofloxacin, levofloxacin), пеницилини + бета-лактамазен инхибитор (sulbactam), инхибитори на синтеза на фолиева киселина (trimethoprim/sulphamethoxazole), полимиксини (colistin, polymyxin B) и тетрациклини. **XDR *A. baumannii*:** не-чувствителност към поне един агент във всички, с изключение на 2 или 1 от посочените групи (Magiorakos A, 2012).

4.2. Микробиологични методи

4.2.1. Доказване на микроорганизми в кръв (хемокултурелно изследване)

За целите на микробната изолация са използвани автоматизираните системи за апаратно инкубиране на хемокултури BACTEC 9120 и BACTEC 9050 (BD, USA). За целите на изолиране на бактерии, инкубирането е с продължителност между 5 и 7 дни, като пробите, в които не е установен микробен растеж са изписвани като стерилни след този период от време. При съмнение за микотична инфекция, инкубацията е удължена до 14 дни. Автоматизираната BACTEC система работи със следните хранителни среди: BACTEC Plus AEROBIC/F (за изолиране на аеробни бактерии), BACTEC Plus ANEROBIC/F (за изолиране на анаеробни бактерии), BACTEC PEDS Plus/F (използва се за работа с малки обеми кръв и е предназначена за детската възраст) и MYCOSIS-IC/F (специално създадена за изолиране на гъбички). При индикация за микробен растеж в хемокултурата, субкултивирането е извършвано върху кръвен агар с 5% овнешка кръв, MacConkey, шоколадов и Сабуро агар (Oxoid, UK), а при детекция на микробен растеж в BACTEC Plus ANEROBIC/F средата - и върху Columbia агар (Oxoid, UK) за изолация на анаеробни бактерии.

4.2.2. Видова идентификация

- **Видова идентификация чрез изпитване на биохимична активност**

За видовата идентификация на бактериалните изолати са използвани набор от мануални биохимични тестове, полуавтоматизирана Crystal система (BD, USA) и автоматизирана система Phoenix 100 (BD, USA). Полуавтоматизираните и автоматизирани методи за видова идентификация почиват на определяне на биохимичната активност на

микробните изолати, като всеки панел съдържа микроямки, натоварени с лиофилизирани биохимични субстрати. Използвани са следните панели: Crystal E/NF ID (BD); Crystal GP ID (BD), Crystal N/H ID (BD), Crystal Anaerobe ID (BD), Phoenix NMIC/ID-76 (BD) и Phoenix PM/ID-90 (BD), като са следвани стриктно инструкциите на производителя при работа с тях. При използване на автоматизираната Phoenix система, информацията от данните за идентификацията е обработвана софтуерно от EpiCenter Version V6.12A/V5.21A (Becton Dickinson).

- **Молекулярно - генетичен метод за видова идентификация на *A. baumannii***

За целите на определяне на генетичните механизми на карбапенемна резистентост и епидемиологичното типизиране при 71 изолата, идентифицирани като *A. baumannii* - *calcoaceticus* complex, видовата идентификация при тези изолати беше определена чрез *gyrB* PCR (Higgins PG, 2007). Използвани бяха три праймера: sp4F (5'-CACGCCGTAAGAGTGCAATTA-3'), sp4R (5'-AACGGAGCTTGTCAGGGTTA-3') и sp2F (5'-GTTCCCTGATCCGAAATTCTCG-3'). *A. baumannii* ATCC 19606 и *Acinetobacter nosocomialis* (*Acinetobacter* genomic species 13TU) ATCC17903 и *Acinetobacter* genomic species 3 бяха включвани във всяка PCR реакция като контролни щамове.

Изолиране на ДНК и PCR: щамовете бяха култивирани върху кръвен агар. Изолирането на ДНК от проучваните щамове беше извършено чрез термоекстракция: 2-3 еднакви колонии се суспендираха в 100µl стерилна вода и се обработваха термично на 99°/15 мин. Охлаждаха се на лед, след което се центрофугираха на 13000об. за 1мин. В PCR реакциите се използваше супернатантата. Пробите се съхраняваха на лед до стартиране на реакцията. 1µl от лизата беше използван във всяка PCR реакция. Използван беше Taq PCR Master Mix (Qiagen, Hilden, Germany). Крайният обем на реакцията беше 25µl с концентрация на праймерите 0.2 µM. PCR реакцията беше извършена при следните условия:

начална денатурация - 94°C / 2 мин.

25 цикъла: денатурация - 94°C/1 мин., хибридиране - 60°C/30сек., елонгация - 72°C/1мин.

крайна елонгация - 72°C/10мин.

PCR продуктите бяха визуализирани върху 1.2% агарозен гел. 10 µl от всеки PCR продукт беше смесван с 2 µl PCR loading буфер (Promega) и беше извършвана електрофореза в 1xTAE буфер при 100V (установка за хоризонтална гел-електрофореза Amersham Bioscience). 100 bp ДНК маркер (BioLabs) беше използван за определяне размера на продукта. Продуктите бяха визуализирани на UV - трансилюминатор (BIO RAD Gel Doc 2000) с 1µg/ml етидиев бромид.

- **Молекулярно-генетичен метод за идентификация на видовете от *E. cloacae* complex чрез *hsp60* секвениране.**

Молекулярно - генетичният метод *hsp60* секвениране, бе използван за определяне видовата принадлежност на 1 карбапенем-резистентен изолат, принадлежащ към *E. cloacae* complex, като този анализ е извършен в МУ, София, катедра „Медицинска Микробиология“. Hsp60-F (5'-GGTAGAAGAAGGCGTGGTTGC-3') и Hsp60-R (5'-ATGCATTCGGTGGTGATCATCAG-3') са използвани за амплификация на 341-bp фрагмент на *hsp60* гена. PCR реакцията протича в 30 цикъла при следните условия: 30 сек. на 95°C за денатурация, 30 сек. на 59°C за свързване и 30 сек. на 72°C за елонгация. Пречистеният PCR продукт е секвениран по Sanger (Applied Biosystems 3130xl Genetic Analyzer). Анализът на секвенциите е направен чрез Chromas Lite версия 2.01 (Technelysium Pty Ltd, Australia), DNAMAN версия 8 (Lynnon Corporation, USA) и NCBI nucleotide BLAST.

4.2.3. Изпитване на чувствителност към антимикробни лекарствени средства

За целите на изпитване на чувствителността на бактериалните изолати към набор от антимикробни лекарствени средства е използван дисково-дифузионния метода на Бауер-Кърби с търговски антибиотични дискове (Oxoid, Бул Био) според микробния вид: ceftazidime (5µg), cefotaxime (5µg), cefepime (30µg), trimethoprim/sulfamethoxazole (1.25/23.75µg), ciprofloxacin (5µg), levofloxacin (5µg), gentamicin (10µg), amikacin (30µg), tobramycin (10µg), piperacillin/tazobactam (30/6 µg); amoxicillin/clavulanic acid (20/10µg); imipenem (10µg), meropenem (10µg), ampicillin (10µg), ampicillin (2µg), erythromycin (15µg), clindamycin (2µg), vancomycin (5µg), teicoplanin (30µg), linezolid (10µg), gentamicin (30µg).

Чувствителността към антимикробни лекарствени средства е определяна и чрез автоматизирана система Phoenix 100 (BD, USA), като са използвани панелите NMIC/ID-76, NMIC-502 и PMIC/ID-90 с включени набор от антибиотици, представени в серийни разреждания, според препоръките на производителя.

За интерпретация на получените резултати са използвани препоръките на CLSI до 2015г. и EUCAST след 2015г.

За изпитване чувствителността на изолати *Acinetobacter* spp. към ampicillin/sulbactam е използван дисково-дифузионния метод, а резултатите интерпретирани според препоръките на CLSI (2016-2019).

За определяне на MIC_{colistin} в Грам отрицателни бактерии е използван микродилуционния тест MIKROLATEST (Erba Lachema, Czech Republic) с концентрационен обхват от 0.25 до 16 mg/l.

В периода 2018 - 2020г. за целите на детекцията на colistin-резистентни Грам отрицателни бактерии е използвана скрининговата среда SuperPolymyxin (Nordmann P, 2016).

За контрол на използваните антибиотични дискове и панели за микробна идентификация и определяне на чувствителност на автоматизираната Phoenix система (BD) бяха използвани следните референтни щамове:

- *S. aureus* ATCC 25922
- *E. faecalis* ATCC 29212
- *E. coli* ATCC 25922
- *P. aeruginosa* ATCC 27853

4.2.4. Молекулярно-генетични методи за доказване на гени, кодиращи ESBLs и карбапенемази

Чрез молекулярно-генетични методи е проучена резистентността към цефалоспорини от трета генерация и карбапенеми в 29 карбапенем-резистентни изолати *K. pneumoniae* и 1 карбапенем-резистентен *Enterobacter asburiae* изолат, всички от кръв, както и резистентността към карбапенеми в 71 изолата *A. baumannii*, от които, 12 изолата от кръв и 59 от други клинични материали. PCR експериментите с *K. pneumoniae*, *E. asburiae* и част от изолатите *A. baumannii* са извършени в МУ, София, катедра „Медицинска Микробиология“.

• Полимеразо-верижна реакция (PCR)

Изолиране на ДНК: първоначално щамовете са култивирани върху МакКонки или кръвен агар. Изолирането на ДНК е извършвано чрез термоекстракция: 2-3 еднакви колонии се суспендират в Tris-EDTA (TE) буфер (10 mM Tris; 1 mM EDTA; pH ~8.0-8.3) и се центрофугират на 10 000 rpm за 5мин. Супернатантата се отпипетира и утайката се суспендира отново в Tris-EDTA. Пробите се обработват термично на 100°C за 10мин. и получените термоекстракти се съхраняват във фризер на -30°C до използването им.

При една част от изолатите *A. baumannii*, ДНК изолацията е извършена чрез DNeasy Blood and Tissue Kit (QIAGEN, Hilgen, Germany) според инструкциите на производителя от 3ml 24-часова култура, получена от единична колония.

PCR реакциите са изпълнени в общ обем от 25µl, като са използвани 1.2µl или 3 µl от термоекстракти (в зависимост от конкретния PCR режим). Реакционната смес включва

1x reaction buffer, 1.5 или 2 mM MgCl₂, 0,4 mM dNTP mix (dATP, dTTP, dGTP, dCTP) (GeNetBio, Daeyeon, South Korea), 15 pmol от всеки праймер, 0.75U/1.0U Prime *Taq* DNA polymerase (GeNet Bio, Daeyeon, South Korea). Използвани са следните PCR апарати: Gene Pro Thermal Cycler (Bioer Technology, Hangzhou, China) и MWG - BIOTECH Primus.

Олигонуклеотидите, използвани като праймери за амплификация на гените, специфични за отделните β -лактамази и инсерционни последователности са синтезирани от Amersham Biosciences, Buckinghamshire, UK / Alpha DNA, Canada / Metabion, Germany и са посочени на таблица 5.

Таблица 5. Олигонуклеотиди, използвани като праймери в PCR реакциите за детекция на гени, кодиращи ESBLs и карбапенемази.

Праймери		Размер на PCR продукта	Автор
<i>bla</i> _{TEM-like}	F: ata aaa ttc ttg aag ac R: tta cca atg ctt aat ca	1075 bp	<i>Markovska R, 2008</i>
<i>bla</i> _{SHV-like}	F: act gaa tgc ggc gct tcc R: tcc cgc aga taa atc acc	297 bp	<i>Markovska R, 2008</i>
<i>bla</i> _{CTX-M-like}	F: cva tgt gca gya cca gta a R: arg tsa cca gaa yma gcg g	585 bp	<i>Markovska R, 2008</i>
<i>bla</i> _{VIM-like}	F: gat ggt gtt tgg tgc cat a R: cga atg cgc agc acc ag	390 bp	<i>Poirel L, 2011</i>
<i>bla</i> _{IMP-like}	F: gga ata gag tgg ctt aay tct c R: ggt tta aya aaa caa cca cc	270 bp	<i>Poirel L, 2011</i>
<i>bla</i> _{KPC-like}	F: cgt cta gtt ctg ctg tct tg R: ctt gtc atc ctt gtt agg cg	798 bp	<i>Poirel L, 2011</i>
<i>bla</i> _{NDM-like}	F: ggt ttg gcg atc tgg ttt tc R: cgg att ggc tca tca cga tc	621 bp	<i>Poirel L, 2011</i>
<i>bla</i> _{OXA-48}	F: gcg tgg tta agg atg aac ac R: cat caa gtt caa ccc aac cg	438 bp	<i>Poirel L, 2011</i>
<i>bla</i> _{OXA-51-like}	F: taa tgc ttt gat cgg cct tg R: tgg att gca ctt cat ctt gg	353 bp	<i>Woodford N, 2006</i>
<i>bla</i> _{OXA-23-like}	F: gat cgg att gga gga cca ga R: att tct gac cgc att tcc at	501 bp	<i>Woodford N, 2006</i>
<i>bla</i> _{OXA-24/40-like}	F: ggt tag ttg gcc ccc tta aa R: agt tga gcg aaa agg gga tt	246 bp	<i>Woodford N, 2006</i>
<i>bla</i> _{OXA-58-like}	F: aag tat tgg ggc ttg tgc tg R: ccc ctc tgc gct cta cat ac	599 bp	<i>Woodford N, 2006</i>
<i>bla</i> _{OXA-143}	F: tgg cac ttt cag cag ttc ct R: taa tct tga ggg ggc caa cc	146 bp	<i>Higgins PG, 2010</i>
<i>bla</i> _{OXA-235}	F: ttg ttg cct tta ctt agt tgc R: caa aat ttt aag acg gat cg	768 bp	<i>Higgins PG, 2013</i>
<i>ISAbal</i>	F: cac gaa tgc aga agt tg R: cga cga at acta tga cac	549 bp	<i>Turton J, 2006</i> <i>Poirel L, 2006</i>

В зависимост от търсените гени, са използвани следните режими на работа:

PCR за *bla*_{TEM}: амплификация в 35 цикъла (денатурация на 94°C за 30s; хибридизация на 43°C за 30s; елонгация на 72°C за 1min)

Multiplex PCR за *bla*_{SHV/CTX-M}: амплификация в 30 цикъла (денатурация на 95°C за 45s; хибридизация на 61°C за 45s; елонгация на 72°C за 45s)

Multiplex PCR за *bla*_{KPC/NDM/OXA-48}: амплификация в 35 цикъла (денатурация на 95°C за 30s; хибридизация на 57°C за 30s; елонгация на 72°C за 1min)

Multiplex PCR за *bla_{VIM}/IMP*: амплификация в 35 цикъла (денатурация на 95°C за 30s; хибридизация на 54°C за 30s; елонгация на 72°C за 45s)

Multiplex PCR за *bla_{OXA-51/OXA-23/OXA-24/40/OXA-58}*: амплификация: в 30 цикъла: (денатурация на 94°C за 25s; хибридизация на 52°C за 40s; елонгация на 72°C за 50s)

PCR за *bla_{OXA-143}*: амплификация: в 30 цикъла: (денатурация на 95°C за 45s; хибридизация на 50-60°C за 45s; елонгация на 72°C за 45s)

PCR за *bla_{OXA-235}*: амплификация: в 30 цикъла: (денатурация на 95°C за 45s; хибридизация на 50-60°C за 45s; елонгация на 72°C за 45s)

PCR за *ISAbal1*: амплификация: в 35 цикъла: (денатурация на 95°C за 45s; хибридизация на 56°C за 45s; елонгация на 72°C за 3min)

PCR картиращи експерименти (за определяне позиция на IS спрямо *bla_{OXA}* гени): амплификация: в 35 цикъла: (денатурация на 95°C за 45s; хибридизация на 56°C/ 58°C за 45s; елонгация на 72°C за 3min).

PCR продуктите са визуализирани върху 1.5% агарозен гел. 10 µl от всеки PCR-продукт се смесват с 1-2 µl 6x DNA Loading Dye (Norgen Biotek Corp., Ontario, Canada) или Gel Loading Dye (New England BioLabs, Ipswich, Massachusetts, USA) и се извършва електрофореза в 1x TAE буфер за 50 до 90 минути при 400 mA и 120V. Молекулен маркер PCR Sizer 100 bp DNA Ladder (Norgen Biotek Corp., Ontario, Canada) се използва за определяне размера на PCR продукта. Амплификационните продукти са визуализирани на UV - транслюминатор (TFX-35M, Vilber Lourmat, France и BIO RAD Gel Doc 2000) с 0.5 µg/ml етидиев бромид.

- **ДНК секвениране**

Репрезентативни карбапенем-резистентни щамове *K. pneumoniae* и единственият карбапенем-резистентен *E. asburiae* бяха избрани за секвениране на гените, кодиращи съответните карбапенемази (*bla_{NDM-like}*, *bla_{KPC-like}*) и изпратени за този анализ в МУ, София, катедра „Медицинска Микробиология“. Анализът на секвенциите е направен чрез Chromas Lite версия 2.01 (Technelysium Pty Ltd, Australia), DNAMAN версия 8 (Lynnon Corporation, USA) и програмата BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

4.2.5. Епидемиологично типизиране

Епидемиологично типизиране беше извършено на 28 карбапенем-резистентни *K. pneumoniae* и 8 карбапенем-резистентни *A. baumannii* изолата от кръв. С цел

сравнителен анализ в експериментите бяха включени 20 карбапенем-чувствителни *K. pneumoniae* изолати от кръв и 1 от ръце на медицински персонал и 59 карбапенем-резистентни изолати *A. baumannii* от клинични материали, свързани с инфекции с друга анатомична локализация, различна от инфекции на кръвта. Епидемиологичното типизиране на изолатите *K. pneumoniae* и част от изолатите *A. baumannii* са извършени в МУ, София, катедра „Медицинска Микробиология“.

- **ERIC-PCR** (*Versalovic J, 1991*)

Този метод използва праймери, амплифициращи постоянни вътрегенни последователности, специфични за семейство *Enterobacteriaceae*.

Изолирането на ДНК от проучваните изолати е извършено с DNA Swab Isolation Spin Kit (AppliChem GmbH, Darmstadt, Germany) според препоръките на производителя.

Използвани са следните праймери:

ERIC1R - ATG TAA GCT CCT GGG GAT TCA C

ERIC2 - AAG TAA GTG ACT GGG GTG AGC

Състав на реакционната смес: 1x reaction buffer, 4 mM MgCl₂, dNTP - 0,4 mM dNTP mix (ABBiogyne), 50 pmol ERIC 1R и ERIC 2, 1.5 U Taq полимераза (ABBiogyne) и 4 µl ДНК екстракт (до общ обем 25 µl).

За целите на амплификацията е използван PCR апарат Gene Pro Thermal Cycler (Bioer Technology, Hangzhou, China).

Режим на работа: амплификация: в 30 цикъла (денатурация на 94°C за 30s, хибридизация на 45°C за 30s и удължаване на 72°C за 1min и 30s).

PCR продуктът е визуализиран върху 2% агарозен гел при 120V за 120 мин. (установка за хоризонтална гел-електрофореза Bio Rad). PCR Sizer 100bp DNA Ladder (100bp-1517bp) (New England Biolabs) е използван за определяне размера на продукта, като визуализацията е осъществена чрез UV - трансилюминатор (Vilbert Lourmat) с 0.5 µg/ml етидиев бромид. Генетичното сходство е определяно чрез използване коефициентът на Dice и UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Averages) (<http://genomes.urv.cat/UPGMA/>).

- **RAPD PCR (Random amplified polymorphic DNA)** (*Grundmann H, 1997*)

Този метод, основаващ се също на полимеразо-верижната реакция, позволява откриването на генен полиморфизъм без предварителни познания върху нуклеотидната последователност. Извършва се амплифициране на геномната ДНК

чрез единични произволни ДНК праймери. Изолирането на ДНК от проучваните изолати е извършено чрез термоекстракция: 2-3 еднакви колонии се суспендират в 100µl стерилна вода и се обработват термично на 99°C за 15 мин. Охлаждат се на лед, след което се центрофугират на 13 000rpm за 1мин. В PCR реакциите се използва супернатантата. Пробите се съхраняват на лед до стартиране на реакцията. В RAPD PCR е използван M13 праймера: 5'-GAG GGT GGC GGT TCT.

Състав на реакционната смес: 12.5 µl *Taq* PCR Master Mix Kit (Qiagen, Hilden, Germany), 5.5 µl свободна от RN-ase вода (Qiagen, Hilden, Germany), 5 µl праймер (концентрация 10 pmol/µl) и 2 µl от супернатантата на изследвания щам (до общ обем 25 µl). Амплификацията е извършена с PCR апарат MWG - BIOTECH Primus.

Режим на работа: Начална денатурация: 94°C за 2 min; 35 цикъла: денатурация на 94°C за 20s / хибридизация на 50°C за 1min / елонгация на 72°C за 20s и крайна елонгация на 72°C за 5 min

PCR продуктите са визуализирани върху 2% агарозен гел. 10 µl от всеки PCR продукт се смесва с 2 µl PCR loading буфер (Promega) и се извършва електрофореза в 1xTAE буфер при 100V (установка за хоризонтална гел-електрофореза Amersham Biosciences). 100 bp или 1kb ДНК маркери (BioLabs) са използвани за определяне размера на PCR продукта, като визуализацията е осъществена чрез UV - трансилюминатор (BIO RAD Gel Doc 2000) с 1µg/ml етидиев бромид. С цел построяване на дендрограма, отразяваща степента на сходство е използван софтуер GeneTools v.4.1 (Syngene, Cambridge, UK). Сходство между щамовете над 70% е използвано като праг, определящ степен на клонална свързаност (*Grundmann H., 1997*)

- **REP-PCR (Repetitive element sequence - based PCR)** (*Healy M, 2005*)

REP-PCR е метод, който се основава на повтарящи се секвенции в бактериалния геном. Автоматизираният вариант на мануалния REP-PCR - REP-PCR DiversiLab Microbial Typing System™ (bioMérieux), version 3.3., е използван за епидемиологично типизиране на 22 изолата *A. baumannii*, предварително култивирани върху 5% кръвен агар за 24 часа на 37°. ДНК е изолирана чрез използване на UltraClean Microbial DNA isolation kit (MO BIO Laboratories, Inc.) според инструкциите на производителя. Екстрахираната ДНК е амплифицирана чрез използване на *Acinetobacter* Kit (DiversiLab) според указанията на производителя, с rep-PCR праймери, осигурени от Bacterial Barcodes, Ins.

Режим на работа: Начална денатурация: 94°C за 2 мин.; 35 цикъла: денатурация на 94°C за 30сек. / хибридикация 50°C за 30сек. / елонгация на 70°C за 90сек. и крайна елонгация: 70°C за 3мин.

Сепарирането на ДНК ампликоните и тяхната детекция е автоматизирана чрез микрофлуидни чипове и биоанализатор модел B2100 (Agilent Technologies). Интерпретацията и анализът на гер-PCR профилите са извършвани чрез DiversiLab software (bioMérieux, version 3.3). Резултатите се генерират автоматично и включват дендрограми, виртуални образи на профилите, матрици на сходство и графични изображения на гер-PCR профилите.

- **Мультилокусно секвениране (MLST, Multi Locus Sequence Typing)**

Репрезентативни карбапенем-резистентни изолати *K. pneumoniae* бяха избрани за MLST и изпратени за този анализ в МУ, София, катедра „Медицинска Микробиология“. MLST е метод, в чиято основа стои ДНК секвенирането на седем «housekeeping» гена при *K. pneumoniae* (*gap*, *inf*, *mdh*, *pgi*, *pho*, *rpo*, *ton*) (Diancourt L, 2005).

Техника: след изолиране на ДНК на избраните щамове, чрез PCR се извършва амплифициране на 7-те гена, последвано от ДНК секвениране на получените продукти. Комбинацията от седемте алела дава точния ST (https://bigsddb.pasteur.fr/cgi-bin/bigsddb/bigsddb.pl?db=pubmlst_klebsiella_seqdef&page=profiles). Използваните праймерите са показана в таблица 6.

Таблица 6. Праймери, използвани при мультилокусното секвениране на репрезентативни карбапенем-резистентни изолати *K. pneumoniae*.

Гени	Праймери
<i>rpoB</i>	F: GGCGAAATGGCWGAGAACCA R: GAGTCTTCGAAGTTGTAACC
<i>gapA</i>	F: TGAAATATGACTCCACTCACGG R: CTTCAGAAGCGGCTTTGATGGCTT
<i>Mdh</i>	F: CCCAACTCGCTTCAGGTTTCAG R: CCGTTTTTCCCCAGCAGCAG
<i>Pgi</i>	pgi2F: CTGCTGGCGCTGATCGGCAT pgi2R: TTATAGCGGTTAATCAGGCCGT
<i>phoE</i>	F: ACCTACCGCAACACCGACTTCTTCGG R: TGATCAGAACTGGTAGGTGAT
<i>infB</i>	F: CTCGCTGCTGGACTATATTCG R: CGCTTTCAGCTCAAGAACTTC
<i>tonB</i>	F: CTTTATACCTCGGTACATCAGGTT R: ATTCGCCGGCTGRGCRGAGAG

MLST и определяне на конкретния секвенциален тип са извършени и при единствения карбапенем-резистентен изолат *E. asburiae* чрез използване на MLST базата данни (<https://pubmlst.org/ecloacae/>).

4.3. Статистически методи

Анонимизирана информация за включените в проучването пациенти е извлечена от болничната информационна и лабораторна системи по предварително разработен и одобрен протокол и формуляр (приложение 2).

Използваните статистически методи са съобразени със спецификата на поставените задачи, вида на изучаваните променливи и скалите за измерването им.

В описателния анализ качествените променливи са представени с абсолютен брой и относителен дял, а количествените, със средна стойност и стандартно отклонение или с медиана и интерквартилен обхват (IQR), в зависимост от вида на разпределението, предварително проверено чрез теста на Колмогоров Смирнов.

Кумулативната заболяемост от инфекции на кръвта/бактериемии за 1 година (на 1000 хоспитализации) е изчислена като броят на новодиагностицираните епизоди на бактериемия е разделен на броя на хоспитализациите за една година $\times 1000$.

Тридесет дневен леталитет, асоцииран с конкретна инфекция на кръвта е изчислен като броят на починалите пациенти с инфекция на кръвта (от даден причинител), починали в интервал от 30 дни от поставяне на диагнозата е разделен на броя на пациентите с инфекция от същия причинител (представен в %).

Тридесет дневният леталитет в цялата проучвана група пациенти с инфекции на кръвта е изчислен като броят на пациентите, починали в интервал от 30 дни от поставяне на диагнозата (независимо от конкретния причинител) е разделен на общия брой пациенти с инфекции на кръвта (представен в %).

Всички честотни показатели за леталитет, кумулативна заболяемост, болестност са представени с 95% интервали на доверителност.

При проверката на хипотези за връзка между две качествени променливи (например изход от заболяването и резистентност) е използван тестът хи - квадрат или точен тест на Фишер. При изследване на връзката между две величини, измерени по ординалната скала е използвана рангова корелация на Спирман.

Трендът във времето за развитието на антибиотичната резистентност е тестван с Chi-squared test for trend.

За да се изследва ефекта на рисковите фактори върху риска за умиране е използвана бинарна едно и многофакторна логистична регресия.

Всички статистически тестове са двустранни.

Резултатите са отчитани като статистически значими при допустимо ниво на грешка $\alpha=0.05$.

Резултатите са представени в обобщен вид в многомерни таблици и са илюстрирани с подходящи графики: стълбовидни и линейни. Всички анализи са извършени със статистическия пакет IBM SPSS version 21.0., а графиките са построени в Microsoft Excel for Windows.

5. РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

5.1. Етиологичен спектър на бактериалните инфекции на кръвта в болнично лекувани пациенти за 10-годишен период (2011-2020г.)

През проучвания период от време в Лабораторията по микробиология на УМБАЛ“Света Марина“, Варна са изследвани 27 650 хемокултурелни сета, получени от общо 15 602 хоспитализирани пациенти. Клинично значими микробни изолати от кръв (асоциирани с инфекции на кръвта) са документирани при 2715 пациенти (17.4%) (таблица 7). Изолирани и идентифицирани са общо 2727 неповтарящи се микробни изолата, свързани с клинично значими епизоди на бактериемия и фунгемия при 2715 пациента. Средно относителният дял на положителните хемокултури (вкл. контаминирани) е 16% (11.8% - 21.4%). Делът на положителните хемокултури, интерпретирани като контаминирани, от общия брой положителни хемокултури, средно е 38.3%, като варира в годините между 31.7% и 44.5%. Честотата на хемокултурелното изследване (Blood Culture Rate, BCR) и кумулативната заболяемост от инфекции на кръвта на 1000 приема по години са показани на таблица 7.

Таблица 7. Общ брой изследвани пациенти, дял на положителните хемокултури от общия брой, BCR и кумулативна заболяемост от инфекции на кръвта в УМБАЛ“Света Марина“, Варна в периода 2011 - 2020г.

Година	Общ брой изследвани пациенти, (n)	Пациенти с клинично значими микробни изолати от кръв , (%)	Положителни хемокултури (%)*	Клинично значими положителни хемокултури (%)	BCR**	Кумулативна заболяемост от инфекции на кръвта
2011	1418	14.4	19.1	12.0	5.6	4.1/1000
2012	1424	15.8	20.0	13.6	5.3	4.4/1000
2013	1462	17.0	21.4	14.2	5.4	4.5/1000
2014	1549	20.1	20.6	14.2	7.0	5.6/1000
2015	1581	17.5	15.9	10.3	8.6	5.2/1000
2016	1541	19.7	20.2	11.4	8.1	5.7/1000
2017	1568	18.9	13.9	8.5	10.6	5.6/1000
2018	1536	18.6	13.4	8.1	10.7	5.1/1000
2019	1754	16.5	11.8	6.9	13.8	5.2/1000
2020	1769	15.4	13.6	7.6	13.9	5.9/1000
2011/2020	15 602	17.4	16.0	9.9	-	-

* вкл. и контаминирани хемокултури; **BCR (брой хемокултурелни сетове/1000 легло-дни).

Етиологичната структура на инфекциите на кръвта общо за целия десет годишен период е представена на таблици 8, 9, 10 и 11, а детайлизираната етиологична структура, съответстваща на всяка една от десетте години е представена в Приложение 1 към дисертацията.

Делът на ESKAPEEc изолатите (*E. faecium*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *Acinetobacter* spp., *P. aeruginosa*, *Enterobacter* spp., *E. coli*) за целия десет годишен период е 66.8%.

Делът на изолатите, отнасящи се към осемте бактериални вида, мониторирани от EARS Net (*S. aureus*, *S. pneumoniae*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Acinetobacter* spp., *P. aeruginosa*) е средно 64.7% във времето от 2011г. до 2020г., като делът им е най-нисък през 2012г. (47.9%) и достига до 71.1% през 2020г. Представителите на микробните видове *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Acinetobacter* spp. и *P. aeruginosa* през всички проучвани години попадат сред най-честите бактериални видове, асоцииращи се с инфекции на кръвта, но без *S. pneumoniae*. Този микроорганизъм през всички 10 години трайно е извън десетте най-чести етиологични агента на инфекции на кръвта, като позицията му варира между 11-то, 14-то и 17-то място. В периода 2013 - 2019г. са серотипизирани 13 изолата *S. pneumoniae*, като в 5 изолата е идентифициран серотип 3, серотип 19А - в 2 и серотипове 23F, 31/40, 19F, 6С, 7 и 23А - в единични изолати.

Таблица 8. Спектър на причинителите на лабораторно потвърдените инфекции на кръвта в болнично лекувани пациенти за 10-годишен период (2011-2020г.).

Микробни причинители, n (%)	2011 n, (%)	2012 n, (%)	2013 n, (%)	2014 n, (%)	2015 n, (%)	2016 n, (%)	2017 n, (%)	2018 n, (%)	2019 n, (%)	2020 n, (%)	<i>p</i>
Грам отрицателни бактерии 1605 (58.9)	117 (57.4)	146 (64.9)	147 (59.0)	195 (62.5)	175 (63.2)	192 (62.1)	172 (57.9)	164 (57.4)	157 (53.8)	140 (50.7)	0.035
Грам положителни бактерии 972 (35.6)	68 (33.3)	64 (28.4)	89 (35.7)	83 (26.6)	84 (30.3)	104 (33.7)	117 (39.4)	111 (38.8)	126 (43.2)	126 (45.7)	0.006
Гъбички 150 (5.5)	19 (9.3)	15 (6.7)	13 (5.2)	34 (10.9)	18 (6.5)	13 (4.2)	8 (2.7)	11 (3.8)	9 (3.0)	10 (3.6)	0.009
Общо 2727 (100.0)	204 (100)	225 (100)	249 (100)	312 (100)	277 (100)	309 (100)	297 (100)	286 (100)	292 (100)	276 (100)	-

Таблица 9. Детайлизирана етиологична структура на лабораторно потвърдените инфекции на кръвта в болнично лекувани пациенти за 10-годишен период (2011-2020г.).

Етиологичен причинител	n, (%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	462 (17.2)
<i>E. coli</i>	399 (14.6)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	329 (12.0)
<i>Enterobacter cloacae</i> complex	218 (8.0)
<i>Enterococcus faecalis</i>	171 (6.3)
<i>Acinetobacter baumannii</i> - <i>calcoaceticus</i> complex	171 (6.3)
<i>Candida</i> spp.	150 (5.5)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	120 (4.4)
<i>Streptococcus viridans</i>	86 (3.2)
<i>Enterococcus faecium</i>	72 (2.6)
Коагулаза негативни стафилококи (CoNS)	62 (2.3)
<i>Serratia marcescens</i>	59 (2.2)
<i>Citrobacter</i> spp.	53 (1.9)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	43 (1.6)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	41 (1.5)
<i>Proteus mirabilis</i>	40 (1.47)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	35 (1.3)
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	28 (1.0)
<i>Streptococcus agalactiae</i>	27 (0.99)
<i>Pseudomonas</i> spp. (различни от <i>P. aeruginosa</i>)	23 (0.8)
<i>Streptococcus bovis</i>	22 (0.8)
<i>Bacteroides</i> spp.	17 (0.6)
<i>Morganella morgannii</i>	15 (0.55)
<i>Salmonella</i> spp.	13 (0.47)
<i>Streptococcus pyogenes</i>	12 (0.44)
<i>Proteus vulgaris</i>	8 (0.3)
<i>Enterobacter agglomerans</i>	3 (0.1)
Други*	48 (1.8)
Общо клинично значими микроорганизми от хемокултури	2727 (100.0)

* Бактериални видове, представени с по-малко от 20 изолата (виж таблица 10)

Таблица 10. По-рядко изолирани микроорганизми от кръв, асоцииращи се с бактериални инфекции на кръвта в болнично лекувани пациенти за 10-годишен период (2011-2020г.).

Бактериален вид / род	n, (%)
<i>Listeria monocytogenes</i>	5 (0.18)
<i>Neisseria meningitidis</i>	4 (0.14)
<i>Bacillus anthracis</i>	2 (0.07)
<i>Yersinia enterocolitica</i>	1 (0.03)
<i>Clostridium perfringens</i>	1 (0.03)
<i>Burkholderia cepacia</i>	5 (0.18)
<i>Burkholderia gladioli</i>	1 (0.03)
<i>Pasteurella multocida</i>	1 (0.03)
<i>Cardiobacterium hominis</i>	1 (0.03)
<i>Corynebacterium</i> spp.	5 (0.2)
<i>Aeromonas</i> spp.	5 (0.18)
<i>Providencia</i> spp.	3 (0.11)
<i>Peptostreptococcus</i> spp.	3 (0.11)
<i>Streptococcus porcinus</i>	3 (0.11)
<i>Achromobacter</i> spp.	2 (0.07)
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	2 (0.07)
<i>Leuconostoc</i> spp.	1 (0.03)
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	1 (0.03)
<i>Propionibacterium acnes</i>	1 (0.03)
<i>Streptococcus intermedius</i>	1 (0.03)
Общо редки бактериални изолати от общия брой изолати от хемокултури в периода 2011 - 2020г.	48 (1.8)

Таблица 11. Разпределение по години на 10-те най-често изолирани микробни вида от кръв, причинители на бактериални инфекции на кръвта в периода 2011 - 2020г.

Бактериален вид	2011-2020 n (%)	2011 n (%)	2012 n (%)	2013 n (%)	2014 n (%)	2015 n (%)	2016 n (%)	2017 n (%)	2018 n (%)	2019 n (%)	2020 n (%)	<i>p</i>
<i>S. aureus</i>	462 (17.2)	32 (15.7)	29 (12.9)	41 (16.5)	28 (9.0)	52 (18.8)	42 (13.6)	50 (16.8)	71 (24.8)	61 (20.9)	56 (20.3)	0.048
<i>E. coli</i>	399 (14.6)	35 (17.1)	29 (12.9)	24 (9.6)	30 (9.6)	38 (13.7)	51 (16.5)	33 (11.1)	50 (17.5)	62 (21.2)	47 (17.0)	0.145
<i>K. pneumoniae</i>	329 (12.0)	26 (12.7)	36 (16.0)	36 (14.4)	52 (16.7)	23 (8.3)	36 (11.7)	35 (11.8)	30 (10.5)	33 (11.3)	22 (8.0)	0.035
<i>E. cloacae</i>	218 (8.0)	13 (6.4)	13 (5.8)	16 (6.4)	30 (9.6)	52 (18.8)	31 (10.0)	22 (7.4)	13 (4.5)	12 (4.1)	16 (5.8)	0.618
<i>A. baumannii</i>	171 (6.3)	12 (5.9)	17 (7.6)	22 (8.8)	30 (9.6)	15 (5.4)	19 (6.1)	19 (6.4)	13 (4.5)	8 (2.7)	16 (5.8)	0.067
<i>E. faecalis</i>	171 (6.3)	17 (8.3)	9 (4.0)	18 (7.2)	14 (4.5)	8 (2.9)	20 (6.5)	20 (6.7)	15 (5.2)	17 (5.8)	33 (12.0)	0.351
<i>P. aeruginosa</i>	120 (4.4)	7 (3.4)	13 (5.8)	16 (6.4)	8 (2.6)	15 (5.4)	14 (4.5)	19 (6.4)	11 (3.8)	8 (2.7)	9 (3.3)	0.381
<i>S. viridans</i>	86 (3.2)	2 (1.0)	5 (2.2)	5 (2.0)	12 (3.8)	4 (1.4)	14 (4.5)	9 (3.0)	9 (3.1)	13 (4.5)	13 (4.7)	0.011
<i>E. faecium</i>	72 (2.6)	5 (2.4)	5 (2.2)	10 (4.0)	7 (2.2)	2 (0.7)	3 (1.0)	14 (4.7)	6 (2.0)	9 (3.0)	11 (4.0)	0.486
<i>CoNS</i>	62 (2.3)	6 (2.9)	4 (1.8)	4 (1.6)	6 (1.9)	5 (1.8)	8 (2.6)	7 (2.4)	2 (0.7)	12 (4.1)	8 (2.9)	0.442
Други	637 (23.4)	49 (24.0)	65 (28.9)	57 (22.9)	95 (30.4)	63 (22.7)	71 (23.0)	69 (23.2)	66 (23.0)	57 (19.5)	45 (16.3)	-
Общо	2727 (100.0)	204 (100.0)	225 (100.0)	249 (100.0)	312 (100.0)	277 (100.0)	309 (100.0)	297 (100.0)	286 (100.0)	292 (100.0)	276 (100.0)	-

Обсъждане

В условията на нарастваща антибиотична резистентност, надзорът на инфекциите на кръвта е от важно значение за познаване разпределението на микробните видове в етиологичния спектър на тези инфекции и фенотиповете на резистентност на техните най-чести причинители.

От друга страна, адекватното микробиологично изследване на кръвни проби е необходимо условие за поставяне на точна етиологична диагноза и провеждане на подходяща антибиотична терапия на инфекциите на кръвта, както и значим фактор за намаляване негативното влияние на антибиотичната резистентност.

Задоволителното ниво на детекция на инфекциите на кръвта зависи в много голяма степен от честота на хемокултурелното изследване. В настоящото проучване, обхващащо продължителен десет годишен период, се доказва 2.5 пъти увеличение на показателя „BCR” от 5.6 през 2011г. до 13.9 през 2020г., което корелира с нарастване на показателя „кумулятивната заболяемост от инфекции на кръвта“ в годините от 4.1 на 1000 хоспитализации през 2011г. до 5.9 на 1000 хоспитализации през 2020г. По данни на EARS Net за 2020г., в Европейските страни, участващи в надзора на антибиотичната резистентност на инвазивни бактериални изолати, показателят “BCR” варира в много широки граници: от 3 за Украйна, 5 за Грузия, 6 за Беларус и Косово, 10.4 за България и 11 за Русия, между 17.2 - 37.9 за Унгария, Румъния, Словакия, Чехия, Естония, Малта и Германия, между 54.4 - 109.5 за Франция, Исландия, Италия, Норвегия и Испания, до 202.4 за Дания и 244.2 за Португалия (ECDC, 2022). Показателят, установен за УМБАЛ“Света Марина“, е в унисон със съобщеното от EARS Net за България. Въпреки установената положителната тенденция за нарастване в това проучване обаче, драматичните различия, които съществуват по отношение на този показател между България и повечето Европейски държави, показват необходимостта от полагане на усилия за стимулиране на клиничните специалисти за изследване на допълнителни хемокултури с цел по-точна и адекватна диагностика на инфекциите на кръвта.

Както беше отбелязано, в настоящото проучване закономерно бе установено нарастване на кумулативната заболяемост от инфекции на кръвта в десет годишния период. Получените резултати попадат в широкия обхват от стойности, съобщавани за този показател в различни проучвания - от 2.3 до 26.9 на 1000 болнични приема (Marchaim D, 2008; Mitt P, 2009; Nielsen S, 2015a; Pittet D, 1997; Rodriguez-Bano J, 2010). Сравняването на кумулативната заболяемост между отделните проучвания е

затрудняващо, заради множеството различия, отнасящи се до възрастовата група пациенти или вида пациенти, които са обект на проучването, различия в класификацията на инфекциите по място на придобиване, различия в използваните дефиниции за „бактериемичен епизод“ (първи епизод или всички епизоди); дефиниция на понятието „нов епизод“, влиянието на фактори, които не са свързани с пациента, честота на хемокултурелното изследване (BCR), здравните услуги предлагани от конкретните болници и др. (Mehl A, 2017).

В настоящото проучване делът на истински положителните (клинично значими) хемокултури за проследявания 10-годишен период е 9.9%, доказани при 2715 пациенти. Микроорганизми, интерпретирани като контаминанти, бяха установени в 6.1% от всички изследвани хемокултури, което съответства на 38.3% от общия брой на доказаните изолати. Този резултат значително надвишава общоприетата препоръка за дял на контаминирани хемокултури до 3% от изследваните хемокултури, което е препоръчан индикатор за качеството на здравната услуга (Dargère, S 2018). По литературни данни, контаминатите могат да представляват до 50% от положителните хемокултури, като хемокултурелната контаминация от общия брой хемокултури варира между 0.6% до 17% (Dargère, S 2018). Подобни разлики в показателя „контаминация“ могат да се обяснят и зависят от особеностите при вземането на хемокултурата, както и от определението на понятието „контаминация“. Факторите повлияващи този показател са свързани с вида на болницата, медицинския персонал и вида на пациентите. По-високи нива на контаминация се съобщават в университетските болници, особено в спешните отделения, като честата смяна на персонал, липсата на адекватно обучение, свръхнатоварването, както и възрастта и подлежащите заболявания на пациентите могат значимо да повлияят тези стойности (Chang C, 2015). При пациентите с контаминирани хемокултури често се налага провеждането на повече консултации, хоспитализации, ненужен прием на антибиотици (до 40-50% от случаите), повишени финансови разходи, достигащи до \$2 000 000 годишно и удължаване на болничния престой с 1 до 5.4 дни (Alahmadi Y, 2011). Сред най-важните стъпки за намаляване дела на контаминирани хемокултури са кожната антисептика, извършване на венепункция вместо вземане на катетърна кръв, обучение на специални екипи от флеботомисти, провеждане на периодични обучения на медицинския персонал и др. (Dargère, S 2018). В допълнение, доколкото контаминиращите микроорганизми са най-често част от нормалната кожна микрофлора, с цел правилна интерпретация на микробиологичния резултат, за

клиничният микробиолог е необходима не само информация относно демографските показатели на пациента, но и пълноценна клинична информация, тъй като сама по себе си изолацията на микроорганизъм от хемокултура винаги поставя въпроса за необходимост от провеждане на антибиотична терапия.

Настоящото проучване установява 16% дял на положителните хемокултури (с включени контаминиращи изолати). Този дял е малко по-висок от съобщения от Idelevich при проучване на микробиологичната диагностика на инфекциите на кръвта в 209 европейски болници, който докладва средно 14.1% дял на положителните хемокултури (Idelevich E, 2019a). Същото проучване установява, че само в 39.7% от лабораториите с цел първоначална оценка на фебрилен епизод се вземат два хемокултурелни сета кръв от пациента. По-голяма част от лабораториите (91.9%; 192 от 209) използват единичен хемокултурелен сет (аеробна и анаеробна течна среда). В нашата болница до 2013г. това също беше основна практика, но от 2014г. тенденцията е да се работи с два или повече (по преценка) хемокултурелни сета за 24ч. от пациент, суспектен за инфекция на кръвта.

През последните две декади, етиологията на инфекциите на кръвта претърпява значителни промени, като проучванията, оценяващи голям брой случаи на инфекции на кръвта в не-селектирана популация от пациенти или специфични патогени са относително малко. Настоящото изследване доказва, че за целия десет годишен период на проследяването по-чести етиологични агенти на инфекции на кръвта в хоспитализирани пациенти са Грам отрицателните бактерии, доказани в 58.9% от случаите, с водещи патогени *E. coli* (14.6%), *K. pneumoniae* (12.0%), *E. cloacae* (8.0%), *A. baumannii* (6.3%) и *P. aeruginosa* (4.4%). При проследяване на етиологичния спектър в годините обаче, се установява статистически значим тренд за намаляващ дял на Грам отрицателните бактерии от 57.4% през 2011г. до 50.7% през 2020г. ($p=0.035$). Делът на Грам положителните бактерии за целия десет-годишен период е 35.6%, като водещите микробни видове са *S. aureus* (17.2%), *E. faecalis* (6.3%), *S. viridans* (3.2%), *E. faecium* (2.6%) и *CoNS* (2.3%). Проучването доказва ясен тренд към трайно увеличаване дела на Грам положителните бактерии от 33.3% през 2011г. до 45.7% през 2020г. ($p=0.006$). Десетте най-чести патогена, доказани в това проучване (*S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae*, *E. faecalis*, *A. baumannii* - *calcoaceticus complex*, *P. aeruginosa*, *S. viridans*, *E. faecium*, *CoNS*), съставляват 76.9% от всички изолати, като статистически значима тенденция за увеличение в периода 2011 - 2020г. се наблюдава за *S. aureus* ($p=0.048$) и *S. viridans* ($p=0.011$), а тренд към намаление - за *K. pneumoniae* ($p=0.035$).

Най-честият бактериален вид в целия десет годишен период, независимо от Грамовата принадлежност, е *S. aureus* (17.2%), следван от *E. coli* (14.6%), като двата вида често сменят позицията си в годините. В пет от годините *S. aureus* заема първа позиция (2013г., 2015г., 2017г., 2018г., 2020г.), а *E. coli* - през 2011г., 2016г. и 2019г. съответно. Бактериалният вид *K. pneumoniae*, заемащ трета позиция в 5 от 10-те години, през 2012г. и 2014г. е първи в етиологичния спектър. Подобно, *E. cloacae*, традиционно заемащ 4 или 5 позиция, през 2014 и 2015г. е на второ и съответно първо място заедно с *A. baumannii* и *S. aureus* в съответната година. През 2020г. *E. faecalis* се измества от обичайното си 4 или 5 място, на по-предната трета позиция след *S. aureus* и *E. coli*, а през 2021г. общо изолатите от видовете *E. faecalis* и *E. faecium* заемат първо място в етиологичния спектър на инфекциите на кръвта (непоказани данни), което е в унисон със съобщеното от EARS Net за 2021г. за Европейския съюз (ECDC, 2022; ECDC, 2022a). За водеща позиция на *Klebsiella* spp. в етиологичния спектър на инфекциите на кръвта и изместване на спектъра по посока на Грам отрицателни бактерии, се докладва в проучвания от Испания и Канада, обхващащи периода 2016 - 2017г. (Pérez-Crespo P, 2021; Pérez-Crespo P, 2021a; Reid C, 2019). В допълнение, A. Yardimci съобщава *K. pneumoniae* като най-често доказвания инвазивен бактериален вид в турска болница в периода 2016 - 2019г. и 50% дял на ESKAPEEs асоциираните инфекции на кръвта (Yardimci A, 2022).

По отношение на *S. aureus*, установяваме статистически значим тренд на увеличаване дела на този бактериален вид от 15.7% през 2011г. до 20.3% през 2020г. (с пик от 24.8% през 2019г.). Подобен резултат съобщава Gagliotti от 2021г. в своя статия върху тенденциите, свързани със *S. aureus* асоциираните инфекции на кръвта в Европейския съюз за периода 2005 - 2018г., като рапортува статистически значим тренд за увеличаване дела на *S. aureus* асоциираните инфекции с 57% (Gagliotti C, 2021). Подобен тренд се докладва и от други автори (Asgeirsson H, 2011; Thorlacius-Ussing L, 2019). По отношение на *E. coli*, вторият по честота вид за проучвания 10-годишен период, наблюдаваме значителни вариации в относителния дял без да се доказват статистически значими разлики в годините ($p > 0.05$): в периода 2011- 2015г. е налице тренд за намаляване от 17.1% до 13.7%, след което се установява тенденция за увеличение и достигане през 2020г. нивата от 2011г., преминавайки през пик от 21.2% през 2019г.

Делът на ESKAPEEs изолатите от общия брой инвазивни изолати за целия 10-годишен период в настоящото проучване е 66.8%, а този на мониторираните от EARS

Net бактериални видове - 64.7%. Близки до нашите резултати за относителен дял на ESKAPEEс патогените (61.7%) докладва G. De Angelis в свое проучване върху честотата на инфекциите на кръвта и тенденциите в антибиотичната резистентност в голяма Италианска университетска болница в периода 2007 - 2015г. Проучването съобщава като най-чести причинители на инфекции на кръвта *E. coli* (32.8%), *S. aureus* (20.6%), *K. pneumoniae* (16.1%) и *P. aeruginosa* (11.6%) (De Angelis G, 2018). В едноцентрови проучвания в периода 2014 - 2018, други Европейски и китайски автори рапортуват по-висок относителен дял на ESKAPEEс патогени, свързани с инфекции на кръвта - между 75.7%, 76.3% и 78.9% (De Socio G, 2019; Peng X, 2021). В Китай многоцентрово проучване съобщава за значително по-нисък дял на ESKAPEEс патогените (59.5%), вариращ между 65.3% при възрастни пациенти и 27.2% при деца, като *S. aureus* заема едва 4 позиция с 6%, след *E. coli* (32%), *K. pneumoniae* (11.1%) и *S. epidermidis* (10.2%) (Yang S, 2019). Автори от Китай, изучаващи инфекции на кръвта в неселектирана популация хоспитализирани пациенти в периода 2010 - 2019г., също съобщават за доминация на Грам отрицателните бактерии (55.2% срещу 41.3%), но по-различно разпределение на най-често доказваните патогени: *E. coli* (21.7%), *CoNS* (18.8%), *K. pneumoniae* (13.0%), *S. aureus* (6.6%), *E. faecium* (5.0%), *A. baumannii* (4.4%), *P. aeruginosa* (3.8%). Противоположно на установеното в настоящото проучване, тези автори докладват статистически значим тренд към нарастване дела на Грам отрицателните патогени и намаляване този на Грам положителните в десет годишния период, като тази тенденция е особено демонстративна при *E. coli*, *K. pneumoniae* и *S. aureus* (Liu C, 2022). Още по-изразена доминация на Грам отрицателните микроорганизми над Грам положителните в етиологичния спектър на инфекциите на кръвта (70.3% срещу 29.7%) се съобщава от L. Jin et al. в Китайско проучване обхващащо 16 болници в периода 2007 - 2016г. (Jin L, 2021). Водещите 5 топ патогена са *E. coli* (29%), *K pneumoniae* (12.7%), *S. aureus* (9.8%), *A. baumannii* (7.0%) и *P. aeruginosa* (6.3%) (Jin L, 2021). Проучване на Sader et al., извършено в 33 болнични Американски центъра в периода 2015 - 2017г., съобщава по-нисък относителен дял на Грам отрицателните бактерии (50%) в етиологичния спектър на инфекциите на кръвта, но идентични на докладваните от нас първи три водещи микробни вида: *S. aureus* (24.3%), *E. coli* (20.8%), *K. pneumoniae* (9.1%) (Sader H, 2019). Близко до установеното от нас (44.8%), тези автори докладват 41.4% дял на представителите на семейство *Enterobacteriaceae*. K. Kontula et al. докладват еднакво представени Грам положителни и Грам отрицателни микроорганизми (по 48%) в етиологичния спектър на инфекциите

на кръвта във Финландия в периода 2004 - 2018г., потвърждавайки *E. coli* и *S. aureus* като водещи патогени, но също докладват и тренд за повишаване дела на Грам отрицателните инфекции (от 42% до 48%), особено тези, причинени от *E. coli* (от 26% до 30%) (Kontula K, 2021). Автори от Колумбия съобщават за лек превес на Грам отрицателните бактерии над Грам положителните (43.9% срещу 40.7%) в етиологичния спектър на бактериемииите в 31 големи болници в периода 2010 – 2019г., с водещи причинители *E. coli* (20.4%), *S. aureus* (14.8%), *S. epidermidis* (11.7%) и *K. pneumoniae* (10.6%) (Robledo J, 2022). Получените резултати от настоящото проучване са в съответствие със SENTRY Antimicrobial Resistance Program, която публикува своите данни, отнасящи се до видовата принадлежност на 264 901 бактериални изолати, получени от пациенти с инфекции на кръвта за 20-годишен период (1997-2016), рапортувани от над 200 медицински центъра в 45 държави в Европа, Северна и Южна Америка и Азиатско-тихоокеанския регион (Diekema D, 2019). Подобно на установеното от нас, за целия период на проучването *S. aureus* (20.7%) и *E. coli* (20.5%) се доказват като най-честите етиологични агенти, общо представляващи около 40% от всички инфекции на кръвта, следвани от *K. pneumoniae* (7.7%), *P. aeruginosa* (5.35) и *E. faecalis* (5.2%). По-рядко изолирани бактерии, но сред първите 10 микробни вида, са *S. epidermidis* (3.8%), *E. cloacae* (2.9%), *S. pneumoniae* (2.8%), *E. faecium* (2.8%) и *A. baumannii* (2%). В настоящото 10-годишно проучване, *S. pneumoniae* остава извън 10-те най-чести патогени, заемащ 17 позиция с 1.3%. Идентифицирането на серотипове 3 и 19А като най-чести, е в съответствие с резултатите от друга надзорна система (European Invasive Bacterial Disease Surveillance Network, EU-IBD), която рапортува за периода 2014 - 2018г. серотиповете 8, 3, 19А, 22F, 12F, 9N, 15А, 10А, 23В, 6С и 11А като най-чести, отговорни за 70% от всички случаи на инвазивни пневмококови инфекции с известен серотип през 2018г., като за същата година отчита и рязко увеличаване на серотипове 8 и 3 в сравнение с 2014г. (ECDC, 2022d). Макар да идентифицира *S. pneumoniae* сред 10-те най-чести етиологични агента, SENTRY Antimicrobial Resistance Program едновременно с това доказва тренд за намаляващ дял на *S. pneumoniae* в периода 1997 - 2016г. (Diekema D, 2019). В синхрон с това, и други автори съобщават за същата тенденция след 2000г. и като цяло за нисък относителен дял на *S. pneumoniae* инфекциите на кръвта (Австралия, Финландия, Швеция, Германия и др.), подобно на установеното в настоящото проучване, което до голяма степен е отражение на имунизационното и серотипово покритие, свързано с наличните пневмококови ваксини (Douglas N, 2020; Holmbom M, 2016; Kontula K, 2021;

Schöneweck, F, 2021).

В контекста на етиологичния спектър на инфекциите на кръвта, противоположно на установеното от нас, SENTRY Antimicrobial Resistance Program доказва ръст на дела на Грам отрицателните микроорганизми сред десетте най-чести причинителя (от 33.5% до 43.4%) в периода 1997г. - 2016г. (*Diekema D, 2019*). Резултатите за доминацията на *S. aureus* и *E. coli* като най-честите етиологични агенти на инфекции на кръвта се потвърждават и от няколко големи популационни и многоцентрови болнични проучвания, проведени след 2010г., макар, че трябва да се подчертае, че съществуващата информация е доста хетерогенна (*Buetti N, 2017; Holmbom M, 2016; Kontula K, 2021; Laupland K, 2013b; Laupland K, 2016; Mehl A, 2017; Nielsen S, 2014; Rhodes J, 2019; Schöneweck, F, 2021; Skogberg K, 2012; Søgaard M, 2011; Verway M, 2022; Wilson J, 2011*). Редица проучвания от региони като Япония, Тайланд, Австралия, други страни в Азия, Африка докладват висока честота на изолация на *CoNS* (23%), *Burkholderia pseudomallei* (8.97%), *Salmonella non-typhi* spp. (67.7%), *Salmonella enterica* serovar Typhi (29.3%) и серовар Paratyphi A (3.4%), *S. pneumoniae* (13.2%), микобактерии (6.1%) от хемокултури, потвърждавайки значението на някои географски, климатични и социално-икономически особености на съответните региони (*Douglas N, 2020; Marchello C, 2020; Rhodes J, 2019; Takeshita N, 2017*). Противоположно на тези данни, в настоящото проучване например делът на изолатите *Salmonella* spp. е едва 0.47%.

Заклучение

От общо 27 650 изследвани хемокултури през проучвания 10-годишен период, делът на положителните е 16%, като този на истински положителните (клинично значими) хемокултури е 9.9%, доказан при 2715 пациенти. Настоящото проучване установява доминиране в етиологичния спектър на инфекциите на кръвта в не-селектирана популация от пациенти на Грам отрицателните (58.9%) над Грам положителните бактерии (35.6%) и гъбичките (5.5%), със статистически значим тренд през годините за увеличаване дела на Грам положителните ($p=0.006$) и намаляване дела на Грам отрицателните бактерии ($p=0.035$) и гъбички ($p=0.009$). Най-често изолирания бактериален вид от хемокултури за целия период е *S. aureus* (17.2%), следван от *E. coli* (14.6%) и *K. pneumoniae* (12.0%). Делът на ESKAPEЕс патогените в етиологичния спектър на инфекциите на кръвта е 66.8%, а този на мониторираните от EARS Net бактериални видове е 64.7%. В хода на 10-годишното проследяване се доказва статистически значим тренд за увеличаване дела на *S. aureus* ($p=0.048$) и *S. viridans*

изолатите ($p=0.011$) и намаляване този на *K. pneumoniae* ($p=0.035$).

5.2. Антибиотична резистентност на най-честите причинители на бактериемии, асоциирани с инфекции на кръвта в болнично лекувани пациенти за 10-годишен период (2011-2020г.)

5.2.1. Грам положителни бактерии

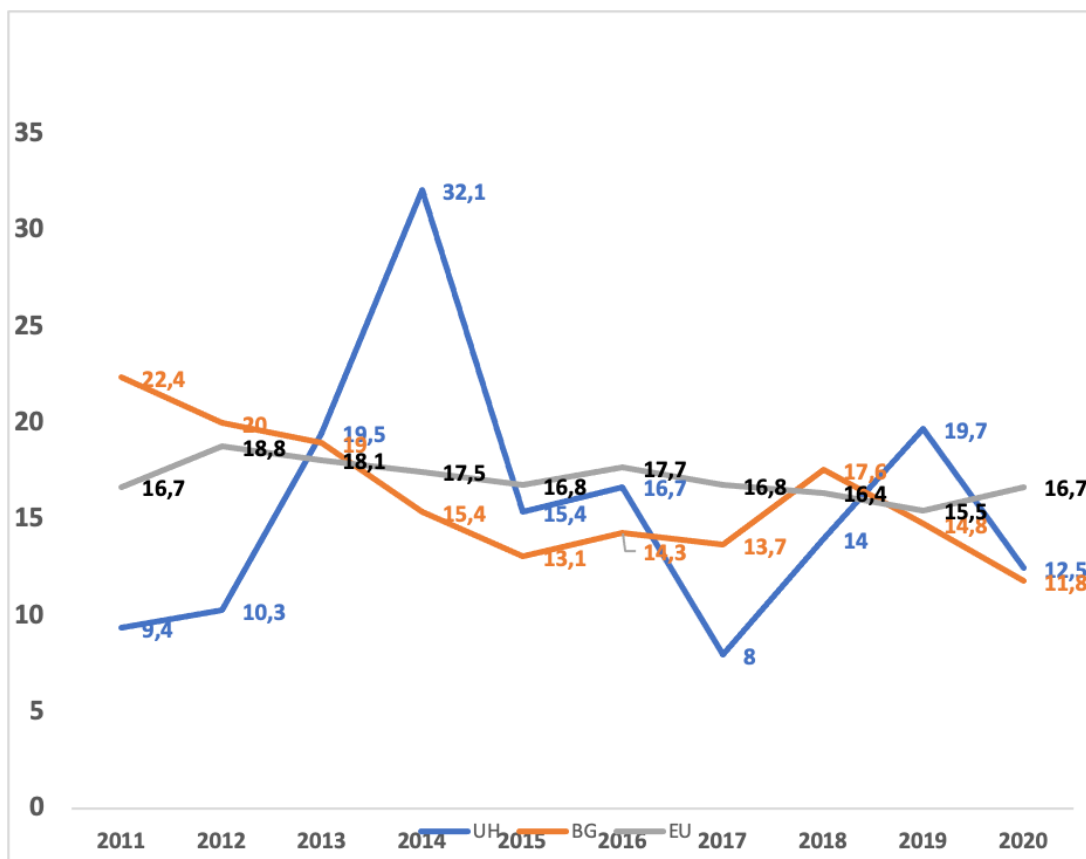
Staphylococcus aureus

В 10-годишния период на изследването чувствителността към methicillin, gentamicin, флуорохинолони, макролиди, линкозамиди, гликопептиди и linezolid е проучена сред общо 462 кръвни изолата *S. aureus*. За целия период, дялът на MRSA е 15.4%. Резистентността към съответните антибиотични групи в намаляващ ред е както следва: макролиди, 20.6% > gentamicin, 16.5% > methicillin, линкозамиди, 15.4% > флуорохинолони, 12.3% > гликопептиди, linezolid, 0.2%. Статистически значим тренд за увеличение на резистентността в годините се доказва за gentamicin ($p=0.045$), макролиди ($p=0.001$) и линкозамиди (clindamycin) ($p=0.001$) (таблица 12).

Антибиотичната резистентност по години и установената тенденция за 10-годишния период, както и сравнително представяне на резистентността, заедно с националните и средните за Европейския съюз данни в периода 2011 - 2020г. са представени на таблица 12 и фигура 2.

Таблица 12. Резистентност към антимикробни лекарствени средства на изолати *S. aureus* от кръв на пациенти с лабораторно потвърдени инфекции на кръвта в периода 2011 - 2020г.

АБ група	2011 - 2020		2011		2012		2013		2014		2015		2016		2017		2018		2019		2020		p
	n	% R	n	% R	n	% R	n	% R	n	% R	n	% R	n	% R	n	% R	n	% R	n	% R	n	% R	
MRSA	462	15.4	32	9.4	29	10.3	41	19.5	28	32.1	52	15.4	42	16.7	50	8.0	71	14.0	61	19.7	56	12.5	0.973
gentamicin	462	16.5	32	6.3	29	13.8	41	4.9	28	14.3	52	21.2	42	19.0	50	22.0	71	18.3	61	21.3	56	14.3	0.045
ciprofloxacin	462	12.3	32	9.4	29	13.8	41	17.0	28	17.9	52	21.2	42	9.5	50	12.0	71	7.0	61	11.5	56	8.9	0.251
макролиди	462	20.6	32	9.4	29	10.3	41	7.3	28	17.9	52	23.0	42	23.8	50	16.0	71	23.9	61	26.2	56	32.1	0.001
clindamycin	462	15.4	32	6.3	29	3.4	41	2.4	28	10.7	52	19.2	42	9.5	50	14.0	71	19.7	61	21.3	56	28.6	0.001
гликопептиди	462	0.2	32	0.0	29	0.0	41	0.0	28	0.0	52	0.0	42	0.0	50	0.0	71	0.0	61	0.0	56	1.8	0.122
оксазолидинони	462	0.2	32	0.0	29	0.0	41	0.0	28	0.0	52	0.0	42	0.0	50	0.0	71	0.0	61	0.0	56	1.8	0.122



Фигура 2. Сравнително представяне на относителния дял на MRSA, изолирани от хемокултури в периода 2011 - 2020г. (в %)*

* източник за EU и BG: <https://atlas.ecdc.europa.eu/>; <https://ecdc.europa.eu>

Обсъждане

S. aureus е сред най-честите и важни човешки патогени, отговорен за около 20-30% от инфекциите на кръвта и тези на хирургическото място и до 50% от инфекциите на костите и ставите, както придобити в обществото, така и свързани с медицинското обслужване (Diekema D, 2019a; Lisowska-Łysiak K, 2021). Заболяванията, асоциирани с този бактериален вид и понастоящем продължават да се асоциират с висока смъртност (Cassini A, 2022; Ikuta K, 2022).

Сред най-проблемната и мониторирана резистентност, характерна за *S. aureus*, е метицилиновата (MRSA), медирана от *mecA* гена, локализиран в генетичния остров *SCCmec* и кодиращ РВР с нисък афинитет (РВР2а) (Katayama Y, 2003). Този тип резистентност детерминира не-чувствителност към почти целия спектър бета-лактамини антибиотици. Възможността за хоризонтален трансфер, благоприятства разпространението ѝ сред представители на този бактериален вид

(Katayama Y, 2003). Много от MRSA изолатите са резистентни и към други групи антибиотици, освен бета-лактамите, което значително затруднява лечението (Diekema D, 2000a). Възникването на последователни “вълни“ от епидемични клонове MRSA, дисеминиращи се в различни географски региони, страни и континенти, води до и обяснява значителните регионални вариации в дела на MRSA (Diekema D, 2019a). ST22, ST225, ST8, ST5, ST125 са сред най-честите MRSA клонове в Европа, ST239 - в Китай, а в Латинска Америка най-често се доказват ST5, ST105, ST1011 (Lisowska-Lysiak K, 2021).

За проследявания десет годишен период в УМБАЛ“Света Марина“ се установява относителен дял на кръвните изолати MRSA (15.4%), близък и малко по-нисък от средния за Европа в периода 2011 - 2020г. (15.5 - 18.8%). В този времеви интервал за Европейския съюз се доказва статистически значим тренд за намаляващ дял на MRSA (ECDC, 2012; ECDC, 2017; ECDC, 2022), което като тенденция също се потвърждава от някои многоцентрови и едноцентрови проучвания в различни Европейски и Азиатски държави (Испания, Германия, Италия, Китай) (De Socio G, 2019; Liu C, 2022; Pérez-Crespo P, 2021a; Schöneweck F, 2021), макар други автори да докладват обратната тенденция (De Angelis G, 2018). Данните от EARS Net за 2020г. показват, че Кипър и Румъния са с най-високи нива на MRSA (49.1% и 47.3% съответно), а Хърватия, Португалия, Италия и Гърция са с нива между 29 и 40%. Най-нисък дял MRSA се докладва за Холандия, Дания и Норвегия (1.4 - 1.7%) (ECDC, 2022). В България за периода 2011 - 2020г. относителният дял на MRSA показва трайна тенденция да намалява от 22.4% през 2011г. до 11.8% през 2020г. въпреки, че не се установява статистическа значимост (ECDC, 2012; ECDC, 2017; ECDC, 2022). В настоящото едноцентрово проучване, се установяват значителни вариации в дела на MRSA в годините (между 32.1% през 2014г. до 12.5% през 2020г.) без да се доказва статистически значим тренд за намаляване ($p=0.973$). Въпреки това обаче, в края на проучвания период (2020г.) делът на MRSA (12.5%) е по-нисък от средния за Европа (16.7%) и много близък до средния за България (11.8%) за същата година (ECDC, 2022).

Както бе посочено в глава 5.1, сред всички бактериални видове, асоциирани с инфекции на кръвта в УМБАЛ“Света Марина“, *S. aureus* е най-често изолираният патоген, като е налице тенденция за увеличаване дела му в годините ($p=0.045$). Проведеният анализ обаче не доказва ясен статистически значим тренд за увеличаване или намаляване дела на MRSA или MSSA. В контраст на този резултат, базирайки се

на EARS-Net данни от 2005 - 2018г., С. Gagliotti съобщава, че намаляването дела на MRSA сред *S. aureus* асоциирани инфекции на кръвта се дължи предимно на увеличаване броя на MSSA инфекциите (Gagliotti C, 2021). Подобно, тенденция за намаляване дела на MRSA инфекции на кръвта, придобити в обществото под 35% и под 45% за вътреболничните, в периода 1997 - 2016г. се докладва и от SENTRY програмата, както и от други национални и регионални програми (Burton D, 2009; Diekema D, 2019a; ECDC, 2022a; Gagliotti C, 2011; Johnson A, 2012; Sader H, 2017). Същата програма рапортува и различия в дела на MRSA според географския регион: по-нисък за Европа (около 26%) и по-висок за Северна Америка (над 40%) (Diekema D, 2019a), което се потвърждава и от Н. Sader в многоцентрово Американско проучване от 2019г., включващо 33 медицински центъра (Sader H, 2019). В допълнение, Н. Sader също доказва и сигнификантен тренд към намаляване на MRSA от 45.4% през 2015г. до 39.5% през 2017г. Подобно, скорошно проучване в немски медицински центрове върху инфекции на кръвта, причинени от *S. aureus*, докладва увеличаване на случаите в проследявания 14 годишен период (2006 - 2019г.) (+6.4%/година), заедно с увеличаване дела на *S. aureus* инфекциите, придобити в обществото (+4.9%/година) и намаляване на тези, причинени от MRSA (-8.5%/година) (Mathé P, 2023). Като част от SENTRY програмата, през 2020г. Pfaller макар да отчита висока честота на MRSA (37.5%) сред изолати от 16 големи медицински центъра в САЩ, Европа, Мексико и Южна Корея в периода 2012-2017г., той също докладва и сигнификантно намаляване дела на тези резистентни изолати, асоциирани с инфекции на кръвта в посочения период (Pfaller M, 2020). Друга глобална мрежа за надзор, GLASS, съобщава за 2019г. по-висок относителен дял на MRSA асоциирани инфекции на кръвта в LICs, отколкото в NICs (33.3% vs 15%) (GLASS, 2021).

В настоящото проучване, проследена във времето, активността на гликопептидните антибиотици и linezolid остава стабилна, като сред всички 462 изолата тези две антибиотични групи демонстрират най-висока активност (99.8%). Само един изолат *S. aureus*, демонстриращ резистентност едновременно към vancomycin и linezolid, е идентифициран през 10-годишния период на проучването (2020г.). В този смисъл, в случаите на MRSA инфекции на кръвта, vancomycin остава препарат на избор за лечение. Много добрата активност на гликопептидните антибиотици едновременно срещу MSSA и MRSA изолати се потвърждава и от големи лонгитудинални проучвания, в които над 99.9% от изолатите *S. aureus* демонстрират MIC \leq 2mg/L (Diekema D, 2019; Diekema D, 2019a).

В настоящото проучване беше установена статистически значима тенденция в годините за намаляване активността на аминогликозидите, макролидите и clindamycin спрямо *S. aureus* изолати, като най-засегнати са макролидната група антибиотици (увеличаване на резистентността от 9.4% през 2011г. до 32.4% през 2020г.), следвана от clindamycin (от 6.3% до 28.6%) и gentamicin (от 6.3% до 14.3%).

Enterococcus spp.

В 10-годишния период на изследването чувствителността към аминопеницилини, аминогликозиди (HLAR), ciprofloxacin, гликопептиди и linezolid е проучена сред общо 171 изолата *E. faecalis* и 72 *E. faecium*. За целия период, делът на vancomycin - резистентните *E. faecium* (VREfm) е 4.2%, като тези изолати демонстрират едновременно резистентност и към teicoplanin, аминопеницилини, HLAR, флуорохинолони, но са със съхранена чувствителност към linezolid. Не се доказват vancomycin- и linezolid-резистентни *E. faecalis*.

Резистентността към съответните антибиотични групи в намаляващ ред за *E. faecalis* е както следва: HLAR, 48.5% > ciprofloxacin, 35.7% > аминопеницилини, 9.4%. Нивата на резистентност за изолатите *E. faecium* са съответно: аминопеницилини, 95.3% > HLAR, 90.3% > ciprofloxacin, 84.7% > гликопептиди, 4.2%. Не се идентифицират linezolid-резистентни *E. faecium*.

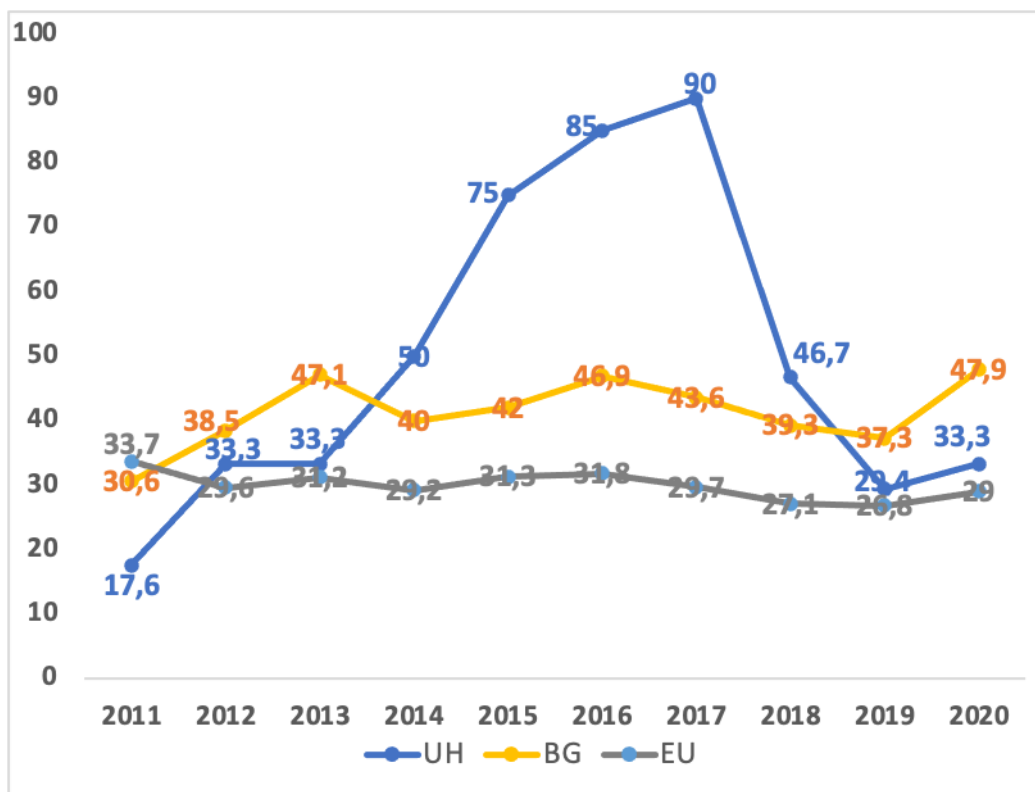
Статистически значим тренд за увеличение на резистентността в годините сред изолатите *Enterococcus spp.* се доказва само за гликопептидната група антибиотици сред представителите на *E. faecium* ($p=0.026$) (таблица 14). Антибиотичната резистентност по години и установената тенденция за 10-годишния период, както и сравнително представяне на резистентността, заедно с националните и средните за Европейския съюз данни за същия период са представени на таблици 13 и 14 и фигури 3 и 4.

Таблица 13. Резистентност към антимикробни лекарствени средства на изолати *E. faecalis* от кръв на пациенти с лабораторно потвърдени инфекции на кръвта в периода 2011 - 2020г.

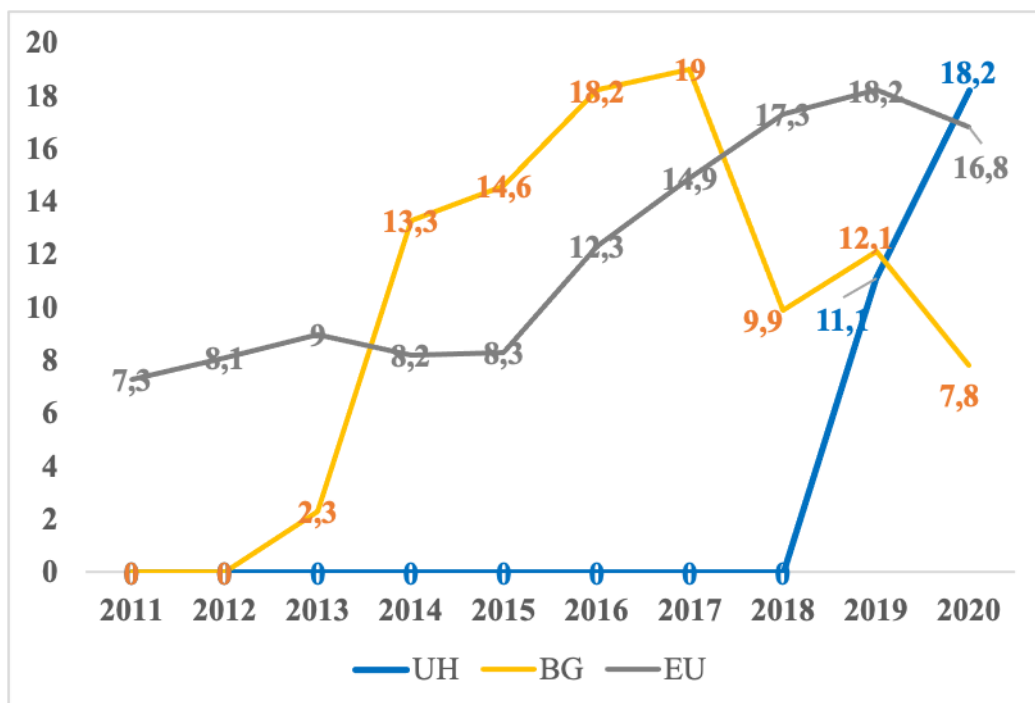
АБ група	2011 – 2020		2011		2012		2013		2014		2015		2016		2017		2018		2019		2020		p
	N	%R	N	%R	N	%R	N	%R	N	%R	N	%R	N	%R	N	%R	N	%R	N	%R	N	%R	
аминопеницилини	171	9.4	17	0.0	9	11.1	18	0.0	14	0.0	8	0.0	20	5.0	20	0.0	15	0.0	17	0.0	33	0.0	0.544
HLAR	171	48.5	17	17.6	9	33.3	18	33.3	14	50.0	8	75.0	20	85.0	20	90.0	15	46.7	17	29.4	33	33.3	0.532
гликопептиди	171	0.0	17	0.0	9	0.0	18	0.0	14	0.0	8	0.0	20	0.0	20	0.0	15	0.0	17	0.0	33	0.0	NA
linezolid	171	0.0	17	0.0	9	0.0	18	0.0	14	0.0	8	0.0	20	0.0	20	0.0	15	0.0	17	0.0	33	0.0	NA
ciprofloxacin	171	35.7	17	23.5	9	33.3	18	22.2	14	0.0	8	37.5	20	65.0	20	45.0	15	13.3	17	41.2	33	48.5	0.268

Таблица 14. Резистентност към антимикробни лекарствени средства на изолати *E. faecium* от кръв на пациенти с лабораторно потвърдени инфекции на кръвта в периода 2011 - 2020г.

АБ група	2011 - 2020		2011		2012		2013		2014		2015		2016		2017		2018		2019		2020		<i>p</i>
	N	%R	N	%R	N	%R	N	%R	N	%R	N	%R	N	%R	N	%R	N	%R	N	%R	N	%R	
аминопеницилини	72	95.3	5	100	5	60.0	10	100	7	100	2	100	3	100	14	100	6	100	9	88.9	11	100	0.414
HLAR	72	90.3	5	100	5	80.0	10	100	7	100	2	100	3	66.6	14	100	6	83.3	9	77.8	11	81.8	0.208
гликопептиди	72	4.2	5	0.0	5	0.0	10	0.0	7	0.0	2	0.0	3	0.0	14	0.0	6	0.0	9	11.1	11	18.2	0.026
linezolid	72	0.0	5	0.0	5	0.0	10	0.0	7	0.0	2	0.0	3	0.0	14	0.0	6	0.0	9	0.0	11	0.0	NA
ciprofloxacin	72	84.7	5	100	5	100	10	100	7	85.7	2	100	3	0.0	14	71.4	6	100	9	88.9	11	81.8	0.524



Фигура 3. Сравнително представяне на относителния дял на изолатите *E. faecalis cHLAR*, изолирани от хемокултури в периода 2011 - 2020г.*



Фигура 4. Сравнително представяне на относителния дял на vancomycin - резистентните *E. faecium*, изолирани от хемокултури в периода 2011 - 2020г.*

* източник за EU и BG: <https://atlas.ecdc.europa.eu/>; <https://ecdc.europa.eu>

Обсъждане

Ентерококите са Грам положителни бактерии, които се откриват като част от нормалната микрофлора на гастро-интестиналния тракт при човека и животните, но притежават потенциала да причиняват инвазивни инфекции в условията на дисбиоза. Тези микроорганизми притежават механизми, които им позволяват да колонизират болничната среда и да персистират продължително в нея, което улеснява трансмисията им чрез множество пътища на крос-контаминация, вкл. чрез чужди тела (Ayobami O, 2020a). *E. faecalis* и *E. faecium* са най-често изолираните видове, асоцииращи се с вътреболнични взривове от инфекции на кръвта, инфекции на уринарния тракт и ендокардити (Arias C, 2012; Zhang Y, 2017). Важна особеност на ентерококите е освен вродената им резистентност към цефалоспорици, така и придобитата им високо ниво резистентност към няколко групи антибактериални препарати: гликопептиди, аминопеницилини и аминогликозиди. Понастоящем най-проблемна е гликопептидната резистентност. Тя се медуира от *van* гени, които определят продукцията от една страна на модифицирани пептидогликанни прекурсори и от друга страна - продукцията на карбоксипептидази, които елиминират остатъчните, естествени прекурсори от бактериалната клетка (Arias C, 2012; Kristich CJ, 2014). Резистентността към vancomycin в *E. faecalis* и *E. faecium* най-често се асоциира с *vanA* и *vanB* клъстера от гени (разположени върху транспозони с плазмидна или хромозомна локализация), като в първия случай изолатите демонстрират високо ниво на резистентност едновременно към vancomycin и teicoplanin (*vanA*), а във втория случай - само към vancomycin (Kristich CJ, 2014). Често vancomycin-резистентните ентерококи демонстрират фенотип на множествена резистентност. Понастоящем vancomycin-резистентни изолати от вида *E. faecium* (VREfm) са водещите MDR *Enterococcus* spp. (Ayobami O, 2020a).

За проследявания десет годишен период в УМБАЛ“Света Марина“ се установява 4.2% относителен дял на кръвните VREfm изолати, както и сигнификантен тренд за увеличаване на дела им от 0% в периода 2011 - 2018г. до 11.1% през 2019г. и 18.2% през 2020г. ($p=0.026$). Този резултат потвърждава докладваната от EARS Net особено неблагоприятна тенденция за Европа в периода 2011 - 2020г. за нарастване дела на vancomycin-резистентните *E. faecium* от средно 7.3% през 2011г. до 16.8% през 2020г. (диапазон 0.0 - 56.6%), като едва 11 от общо 29-те участващи в мониторинга държави съобщават нива на резистентност под 5% (ECDC, 2012; ECDC, 2013; ECDC, 2017; ECDC, 2022). Тази тенденция продължава в Европейския съюз и през 2021г. - средно 20.0% с диапазон от 0.0 до 66.3%, без да се установява ясен географски модел

на разпространение, като висок относителен дял на VRE_{fm} се съобщава от всички региони на Европа, но най-засегнати са Литва (66.4%), Малта (55%), Кипър (51.2%), Румъния (44.5%), Гърция (41.1%) и Унгария (40.7%). С най-нисък дял на VRE са Холандия и Швеция (0.3%), Финландия (0.4%), Франция и Норвегия (0.5%), Испания (1%) и Австрия (2%). За България дялът на VRE през 2021г. е 10.1%, като в периода 2011 - 2020г. и у нас се доказва тенденцията за нарастване на този тип резистентност (от 0.0% през 2011г. до 7.8% през 2020г.), с пик в периода 2014 - 2017г. (13.3% - 19%), поради което между 2015г. и 2020г. е установен статистически значим тренд за намаление (ECDC, 2018; ECDC, 2020).

Проучване върху епидемиологичните тенденции и рискови фактори, свързани с резистентността на ентерококите към vancomycin в пациенти с инфекции на кръвта в Европа (общо 30 държави) в периода 2012 - 2018г., също потвърждава като статистически значим тренда за постоянно нарастващ дял на VRE_{fm} от 8.1% през 2012г. до 19.0% през 2018г. (Ayobami O, 2020a). Авторите отбелязват, че това е тенденция наблюдавана във всички 4 Европейски региона, като са налице значителни регионални различия: по-висок дял на VRE_{fm} в Източна и Северна Европа (32% и 28.4%) в сравнение с този в Южна и Западна (15.3% и 18.5%), което е в контраст с типичния градиент Север/Запад - Юг/Изток, характерен за много други бактериални патогени. Отбелязва се и значителна интра-регионална хетерогенност на ниво държава в 4-те Европейски региона, вероятно свързано със специфични локални фактори (диагностични различия, контрол, антибиотична употреба). Проучването докладва също увеличение на дела на VRE_{fm} във всички възрастови групи - особено в новородени и много възрастни хора, както и умерено увеличение във възрастовата група от 1 до 19 години, но без статистическа значимост (Ayobami O, 2020a).

Подобно, специфични географски различия се отчитат и от M. Pfaller et al., които рапортуват по-висока честота на кръвни VRE изолати в Северна Америка (33.2%), отколкото в Европа (9.9%) в периода 2012 - 2017г. (Pfaller M, 2020). Същото проучване докладва, че инфекциите на кръвта, причинени от VRE са по-чести сред ICU пациенти отколкото в хоспитализирани в не-интензивни клиники, което вероятно е свързано с мястото на придобиване на инфекцията., вкл. по-често използване на инвазивни устройства, широкоспектърна антибиотична терапия и др. Подобни резултати за значителни различия в дела на VRE_{fm} според вида на клиниката се съобщават и от други автори (Ayobami O, 2020a).

Нарастващият проблем с увеличаване дела на VREfm, причиняващи инфекции на кръвта, също се потвърждава и от самостоятелни проучвания, проведени в отделни Европейски държави (Германия, Испания, Италия, Словакия, Норвегия) и Турция (Ayobami O, 2020a; De Socio G, 2019; Pérez-Crespo P, 2021a; Schöneweck F, 2021; Yardimci A, 2022). Трябва да се отбележи, че въпреки увеличението дял на VREfm за Европа (20% през 2021г.), той остава по-нисък от съобщените данни в други част на света, като САЩ (66%), Австралия (45%) и страни от Източно-Средиземноморския регион (Иран) (Armin S, 2019; Coombs G, 2020; Jabbari S, 2019; Mendes R, 2018; Moghimbeigi A, 2018), но пък остава доста по-висок от този, докладван за Китайски болници например - 0.7% (Liu C, 2022).

В настоящото проучване всички VREfm изолати са и teicoplanin-резистентни, което предполага, че вероятно резистентността в тези изолати се медира от VanA гена. Ко-резистентността във VREfm към всички тествани антибиотични групи, без linezolid, демонстрира изключително ограничените възможности за терапия на инфекции на кръвта, асоциирани с VREfm. Съхранената активност на linezolid в такива случаи го прави препарат на последен избор за терапия, макар вече да има съобщения за възникване в Европа на резистентност към linezolid в ентерококи, вкл. във VREfm (Ayobami O, 2020a; Bender J, 2018).

В настоящото проучване сред цялата колекция от 72 изолата *E. faecium*, установяваме силно редуцирана активност на всички антибиотични групи (над 80%), с изключение на гликопептидите и linezolid, които остават препарати на избор за лечение на инфекции на кръвта, причинени от *E. faecium*.

Докато VREfm са докладват от различни региони по света, *E. faecalis* остава значително по-слабо засегнат вид по отношение на резистентността към гликопептидните антибиотици. В настоящото проучване за 10-годишния период не са идентифицирани кръвни изолати *E. faecalis*, резистентни на vancomycin и teicoplanin. Този резултат потвърждава докладваното от Ayobami et al. за нисък среден дял на vancomycin-резистентни *E. faecalis* (VREf), асоциирани с инфекции на кръвта в Европа в периода 2012 - 2018г. (1.1%), но с ясни регионални различия: по-висок дял на VREf в Северна и Източна Европа (2.2% и 2.3%) спрямо Западна и Южна (0.21% и 1.0%) (Ayobami O, 2020a). За сравнение делът на VREf от кръв в САЩ варира между 1.9 - 5.3%, а в Китай е под 1% (Mendes R, 2018; Liu C, 2022). Националните данни за България в периода 2011 - 2020г. сочат дял на VREf под 1% през 2011г. до 0% през 2020г., но с пик през 2013г. от 3% (<https://atlas.ecdc.europa.eu/>).

В настоящото проучване, в групата на *E. faecalis* изолатите се установяват високи нива на хинолонова резистентност и HLAR (над 30% и над 48% съответно), при съхранена активност на аминопеницилиновата група антибиотици (под 10% резистентност), без да се доказват статистически значими тенденции за намаляване или увеличаване в годините ($p>0.05$). Средната за Европа HLAR в кръвни изолати *E. faecalis* показва статистически значим тренд за намаление в периода 2011 - 2020г. (от 33.7% до 29%), като варира в широки граници - от 6.7% в Швеция до 55.2% в Полша. За същия период в България делът на HLAR *E. faecalis* нараства от 30.6% през 2011г. до 47.9% през 2021г., което е в съответствие с резултатите от това проучване (ECDC, 2022a).

5.2.2. Грам отрицателни бактерии

E. coli

В 10-годишния период на изследването чувствителността към аминопеницилини, цефалоспорици от трета генерация, карбапенеми, аминогликозиди и флуорохинолони е проучена сред общо 399 кръвни изолата *E. coli*.

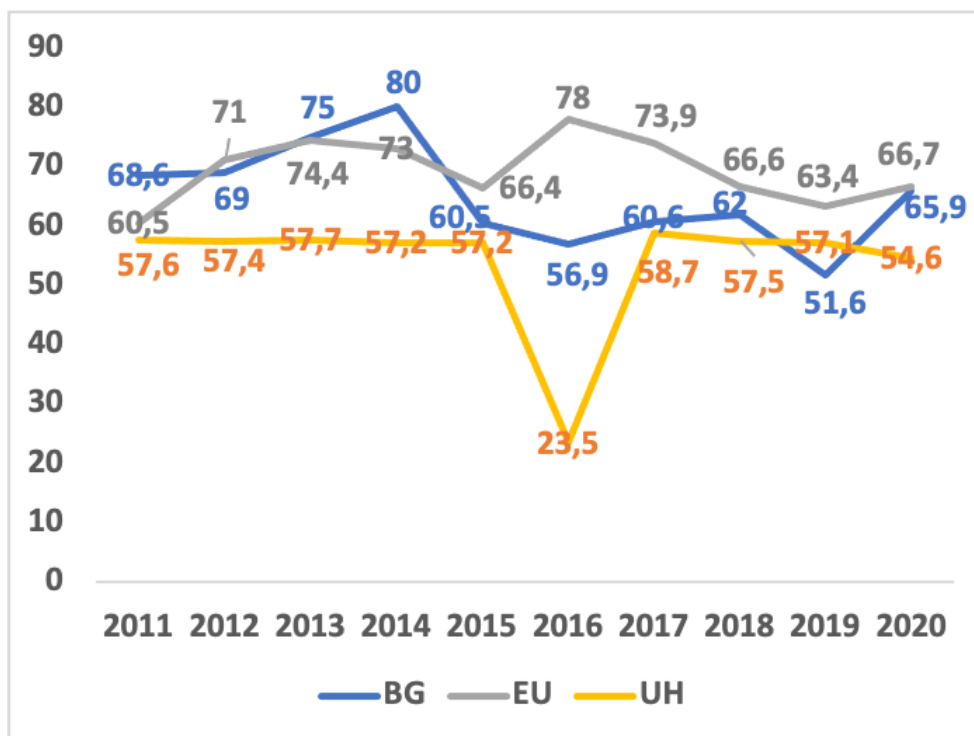
Резистентността към съответните антибиотични групи в намаляващ ред за целия период е както следва: ampicillin, 63.2% > ciprofloxacin, 33.6% > цефалоспорици от трета генерация, 28.8% > gentamicin, 21.3% > amikacin, 3.3% > meropenem, 0.3%.

Не се установява статистически значим тренд за увеличение или понижение на резистентността към нито една от мониторираните антибиотични групи в годините от 2011 до 2020г.

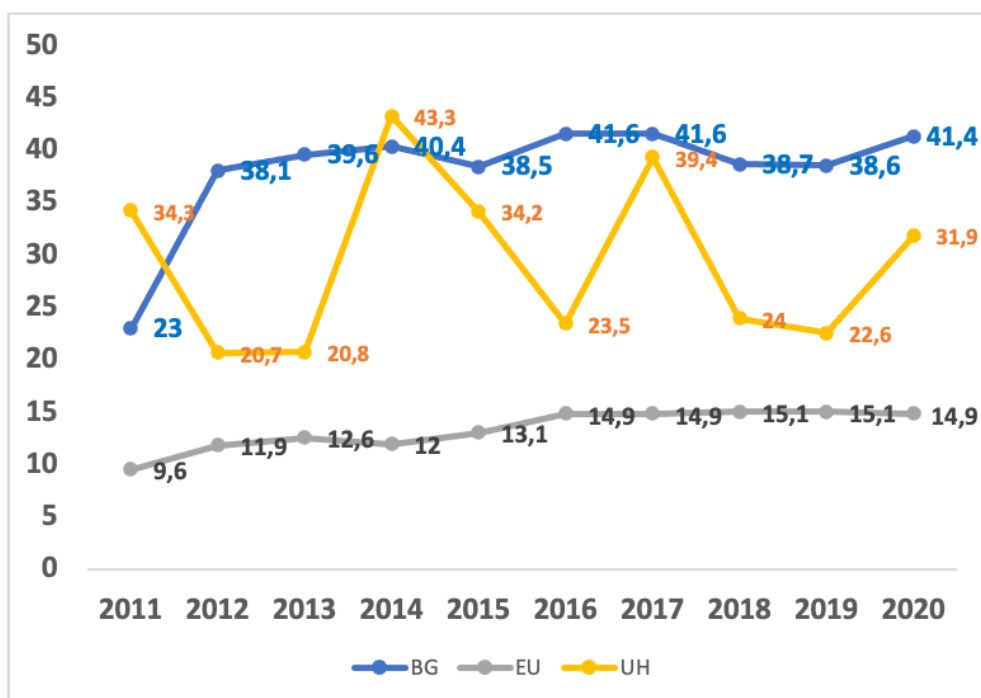
Антибиотичната резистентност по години и установената тенденция за 10-годишния период, както и сравнително представяне на резистентността, заедно с националните и средните за Европейския съюз данни в периода 2011 - 2020г. са представени на таблица 15 и фигури 5, 6, 7, 8 и 9.

Таблица 15. Резистентност към антимикробни лекарствени средства в изолати *E. coli* от кръв на пациенти с лабораторно потвърдени инфекции на кръвта в периода 2011 - 2020г.

АБ група	2011-2020		2011		2012		2013		2014		2015		2016		2017		2018		2019		2020		p
	n	% R	n	%R	n	%R	n	%R	n	%R	n	%R	n	%R	n	%R	n	%R	n	%R	n	%R	
аминопеницилини	399	63.2	35	68.6	29	69.0	24	75.0	30	80.0	38	60.5	51	56.9	33	60.6	50	62.0	62	51.6	47	65.9	0.1
3 генерация цефалоспорини	399	28.8	35	34.3	29	20.7	24	20.8	30	43.3	38	34.2	51	23.5	33	39.4	50	24.0	62	22.6	47	31.9	0.9
карбапенеми	399	0.3	35	0.0	29	0.0	24	0.0	30	0.0	38	0.0	51	0.0	33	3.0	50	0.0	62	0.0	47	0.0	0.6
gentamicin	399	21.3	35	22.8	29	20.7	24	29.2	30	26.7	38	26.3	51	19.6	33	30.3	50	20.0	62	16.1	47	12.8	0.9
amikacin	399	3.3	35	0.0	29	0.0	24	4.2	30	3.3	38	7.9	51	5.9	33	0.0	50	4.0	62	0.0	47	6.4	0.4
флуорохинолони	399	33.6	35	40.0	29	31.0	24	29.2	30	40.0	38	26.3	51	37.3	33	39.4	50	20.0	62	38.7	47	34.0	0.8

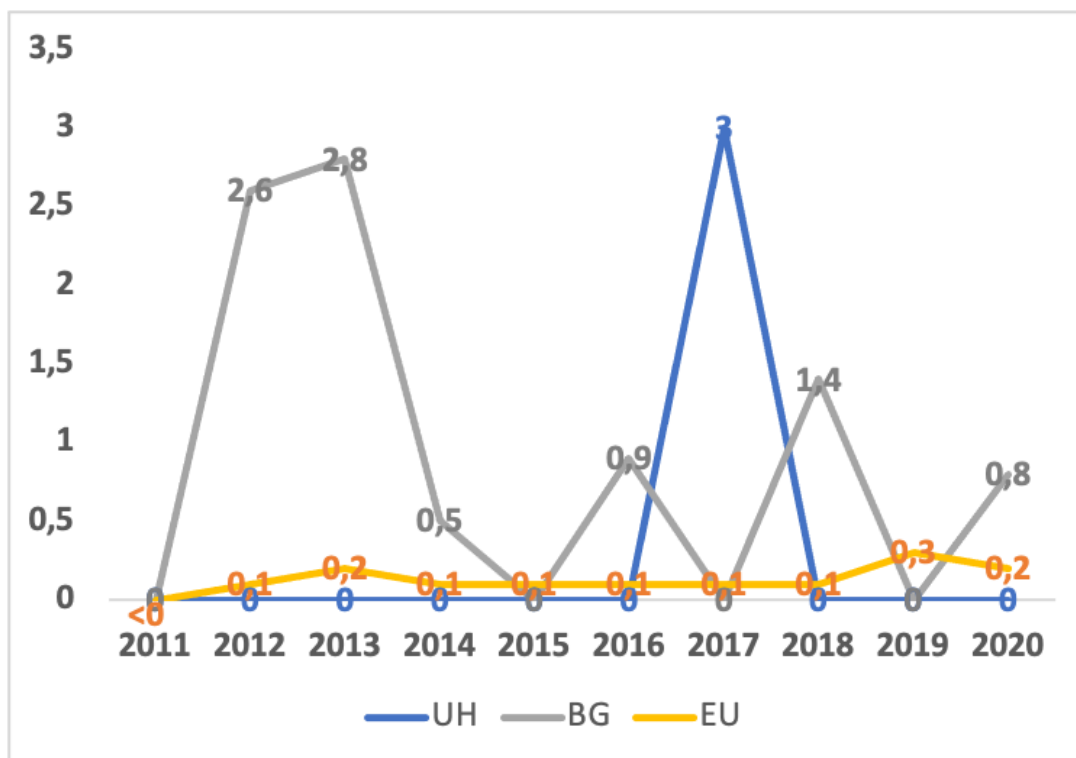


Фигура 5. Сравнително представяне на относителния дял на резистентните към аминопеницилини *E. coli*, изолирани от хемокултури в периода 2011 - 2020г. (в %)*

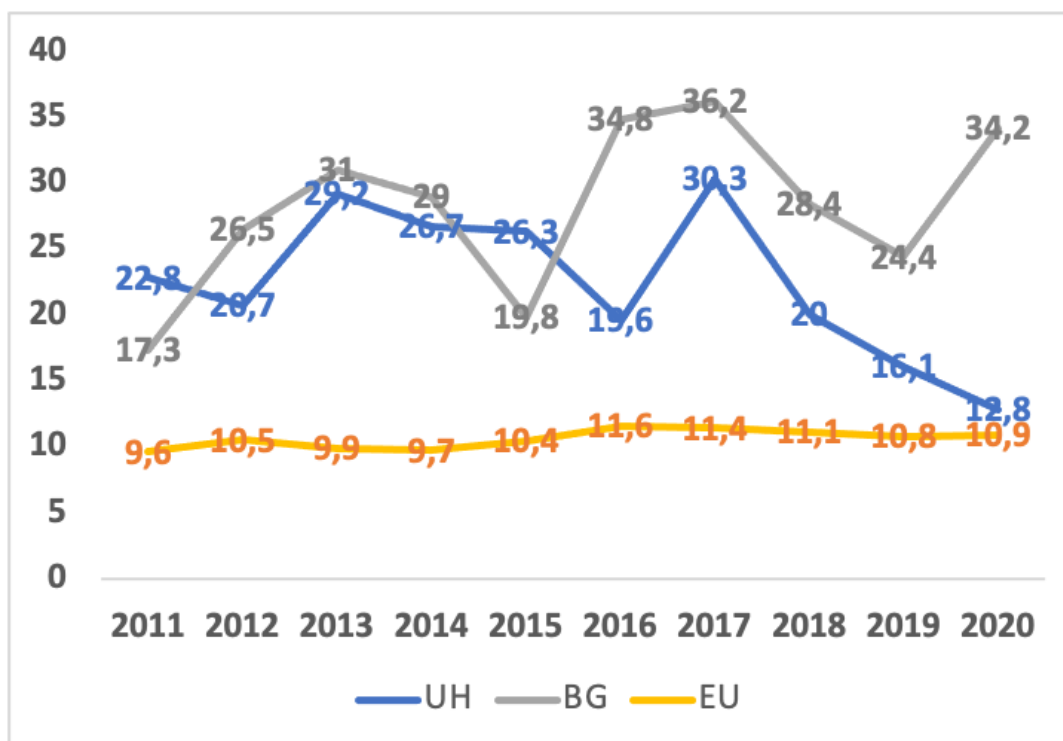


Фигура 6. Сравнително представяне на относителния дял на резистентните към цефалоспорини от трета генерация *E. coli*, изолирани от хемокултури в периода 2011 - 2020г. (в %)*

* източник за EU и BG: <https://atlas.ecdc.europa.eu/>; <https://ecdc.europa.eu>

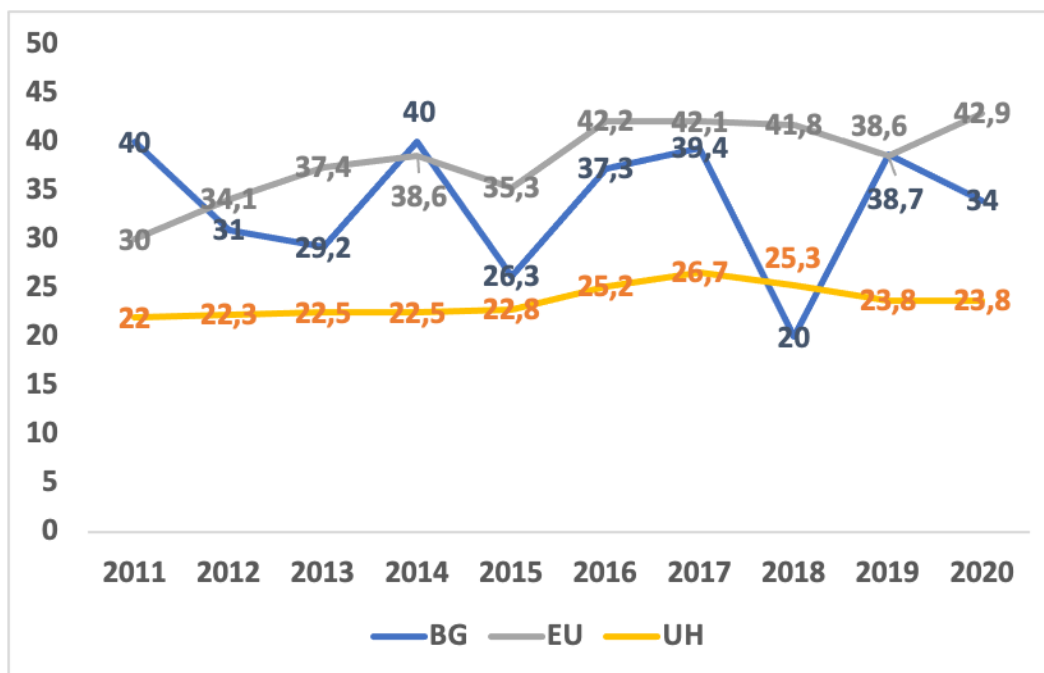


Фигура 7. Сравнително представяне на относителния дял на резистентните към карбапенеми *E. coli*, изолирани от хемокултури в периода 2011 - 2020г. (в %)*



Фигура 8. Сравнително представяне на относителния дял на резистентните към аминогликозиди *E. coli*, изолирани от хемокултури в периода 2011 - 2020г. (в %)*

* източник за EU и BG: <https://atlas.ecdc.europa.eu/>; <https://ecdc.europa.eu>



Фигура 9. Сравнително представяне на относителния дял на резистентните към флуорохинолони *E. coli*, изолирани от хемокултури в периода 2011 - 2020г. (в %) *

* източник за EU и BG: <https://atlas.ecdc.europa.eu/>; <https://ecdc.europa.eu>

Обсъждане

E. coli е Грам отрицателен бактериален вид, репрезентативен за семейство *Enterobacteriaceae*. Той е част от нормалната чревна флора, но и причинител на интестинални и екстра-интестинални инфекции, включително тежки инвазивни инфекции като инфекции на кръвта, сепсис и менингит в неонаталната възраст (Bonten M, 2020). Урогениталните инфекции са отговорни за повече от 50% за всички бактериемични *E. coli* епизоди, следвани от билиарни (11 - 27%) и други интра-абдоминални инфекции (4 - 48%) (Bonten M, 2020).

Сред най-проблемната и мониторирана резистентност в този бактериален вид е резистентността към бета-лактамни антибиотици, специално цефалоспорини от трета генерация и карбапенеми, като основният генетичен механизъм на тази резистентност е ензимния, кодиран от продукцията на TEM, SHV и CTX-M тип широкоспектърни бета-лактамази, плазмидно-кодирани варианти на хромозоните AmpC β -лактамази (CMY, ACC, DHA) и карбапенемази от различни класове, предимно OXA-48, NDM, но също и KPC, IMP и VIM типове (Bush K, 2020; De Oliveira D, 2020; Nordmann P, 2019). ESBL продукцията сред български изолати *E. coli* се асоциира най-често с CTX-M-3,

CTX-M-15, SHV-12 и TEM-139 бета-лактамази (Markovska R, 2004; Markovska R, 2008; Markovska R, 2012; Markovska R, 2014a; Markovska R, 2021).

Първото съобщение за карбапенем-резистентен изолат *E. coli* (вкл. от кръв) в България е от 2014г., като изолатът е идентифициран като NDM-1 продуцент и свързан с вътреболничен взрив в българска болница (Poirel L, 2014). По-късно през 2017г., Марковска и колектив докладват KPC-2 продуциращ карбапенем-резистентен изолат *E. coli* ST131, изолиран от урина на хоспитализиран пациент през 2015г. (Markovska R, 2017a).

За проследявания десет годишен период в УМБАЛ“Света Марина“ се установява 28.8% относителен дял на резистентни към цефалоспорини 3-та генерация кръвни изолати *E. coli*, значително по-висок от средния за Европа в периода 2011 - 2020г. (между 9.6% - 15.1% - 14.9%) (ECDC, 2012; ECDC, 2017; ECDC, 2022). Трябва да се отбележи положителната тенденция в Европейския съюз във времевия интервал между 2016г. и 2021г. за статистически значимо намаляване дела на тези изолати, като през 2020г. и 2021г. средния дял достига 14.9% и 13.8% (ECDC, 2017a; ECDC, 2022). През 2021г. най-голям е броят на страните в Европейския съюз с резистентност между 5 и 10% (n=12), като най-ниско ниво се съобщава за Норвегия (5.5%), а най-високо за България (37.3%). За нашата страна нивата на тази резистентност в периода 2011-2020г. са между 23% и 41.4% и са най-високи в съюза (ECDC, 2012; ECDC, 2017; ECDC, 2022). Проследен в по-дълъг времеви интервал (почти две декади, 2002 - 2020г.), трендът в Европа по отношение резистентността към цефалоспорини 3-та генерация в кръвни изолати *E. coli* е да нараства, особено демонстративно до 2012г. и по-малко изразено след този период (ECDC, 2022; <https://ecdc.europa.eu>). Сходни тенденции за нарастващ дял на резистентните към цефалоспорини 3-та генерация кръвни изолати *E. coli* се съобщават в скорошни проучвания на европейски автори и международни мрежи (De Angelis G, 2018; De Socio G, 2019; Diekema D, 2019, GLASS report 2021; Pérez-Crespo P, 2021a; Schöneweck F, 2021). Близък до средния за Европейския съюз дял на *Enterobacteriaceae*, резистентни към 3-та генерация цефалоспорини в САЩ се съобщава от H. Sader (15.6%) (Sader H, 2019). В унисон с тази тенденция, за 2019г. Глобалната система за надзор на антибиотичната резистентност и употреба (GLASS) съобщава по-висок среден дял на инфекциите на кръвта, причинени от *E. coli*, резистентни на цефалоспорини от трета генерация (36.6%), но на фона на значими разлики в нивата на резистентност между LMICs (58.3%) и HICs (17.53%) (GLASS, 2021). Азиатски автори проучвайки инфекции на

кръвта в хоспитализирани пациенти в същия времеви интервал на този в настоящото проучване, макар да съобщават за сигнификантен тренд за намаляване дела на изолатите *E. coli*, резистентни на цефалоспорини от 3-та генерация, доказват много високи нива на тази резистентност в годините (между 86.4% и 67.9%) (Liu C, 2022).

Сред проучваните общо 399 кръвни изолата *E. coli*, бе идентифициран само един, резистентен на карбапенеми (0.3%), което прави карбапенемната група антибиотици с най-висока и съхранена активност към *E. coli* понастоящем. Това е в унисон с общата Европейска тенденция за ниски нива на резистентност към карбапенеми в изолати *E. coli* от кръв (под 1%) в периода 2011 - 2020г. (ECDC, 2012; ECDC, 2017; ECDC, 2022). Макар да остава нисък в Европа, в последния 5 годишен период (2017 - 2021г.) се установява сигнификантна тенденция за увеличение дела на карбапенем-резистентните *E. coli* (без да се доказват значими разлики между отделните страни), като най-висок е този дял в Гърция (1.1%) и Кипър (1%), следвани от Италия, Румъния и България с дял по 0.4%. Това е единственият тип резистентност в *E. coli* в Европейския съюз, за който се установява статистически значим тренд за нарастване в периода 2017 - 2021г., докато тази към цефалоспорини трета генерация, аминопеницилини, флуорохинолони и аминогликозиди намалява и трендът е статистически значим (ECDC, 2022a). Макар делът на карбапенем-резистентните кръвни изолати *E. coli* в България да намалява във времето от 2011г. до 2020г. от 2.6% - 2.8% до 0.8%, статистически значим тренд не се установява (ECDC, 2012; ECDC, 2017; ECDC, 2022).

По-високи нива на карбапенемна-резистентност сред кръвни изолати *E. coli* в сравнение със средните за Европа, се съобщават от китайски автори в ретроспективно проучване, обхващащо голяма болница (10 000 легла) за десет годишен период (2010 - 2019), като се докладва ниво на резистентност в този период между 1.4% и 5.6% (Liu C, 2022). Други проучвания в същия географски регион, докладват за 2.4% карбапенем-резистентни *E. coli* от кръв (Peng X, 2021).

В контекста на бета-лактамна резистентност, в допълнение към цефалоспорините от трета генерация и карбапенемите, настоящото проучване установява висок дял на резистентните към аминопеницилини *E. coli* (средно за периода 63.2%) - от 68.6% през 2011г. до 65.9% през 2020г. Тези резултати са в съответствие с националните данни за България, като в същия период те варират от 60.5% през 2011г. до 66.7% за 2020г., като във втория пет годишен период се установява сигнификантен тренд за намаляване. Такава е и общата Европейска

тенденция, макар тя да е в по-ниския диапазон: от 57.6% през 2011г. до 54.6% през 2020г. (ECDC, 2012; ECDC, 2017; ECDC, 2022).

След аминопеницилините, в групата на изолатите *E. coli*, най-сериозно е засегнатата чувствителността към флуорохинолони - над 30% резистентност. Макар да се отбелязва спад в дела на флуорохинолон-резистентните изолати - от 40% през 2011г. до 34%, той е без статистическа значимост. В същия времеви период, нивата на средната флуорохинолонова резистентност в този бактериален вид за Европа е по-нисък - между 22% и 23.8% с флукутации в отделните години, а за България те са близки до установените от настоящото проучване - между 30% и 42.95 (ECDC, 2012; ECDC, 2017; ECDC, 2022).

Средната резистентност към gentamicin в *E. coli* за десет годишния период е 21.3%, като макар и статистически незначим, се доказва спад от 22.8% през 2011г. до 12.8% през 2020г. Възможно обяснение на този тренд е в рестриктираната консумация на gentamicin в болницата в този период (непоказани данни). След карбапенемите, amikacin е антибактериалният препарат с най-висока активност и доказани най-ниски средни нива на резистентност (3.3%), въпреки тенденцията в годините тя да нараства - от 0% през 2011г. до 6.3% през 2020г. През 2020г. резистентността към аминогликозиди средно за Европа е близка до установената от нас - 10.9%, като е най-ниска в Дания (5.5%) и най-висока в България (34.2%) (ECDC, 2022).

Klebsiella pneumoniae

В 10-годишния период на изследването чувствителността към цефалоспорини от трета генерация, карбапенеми, аминогликозиди и флуорохинолони е проучена сред общо 331 кръвни изолата *K. pneumoniae*.

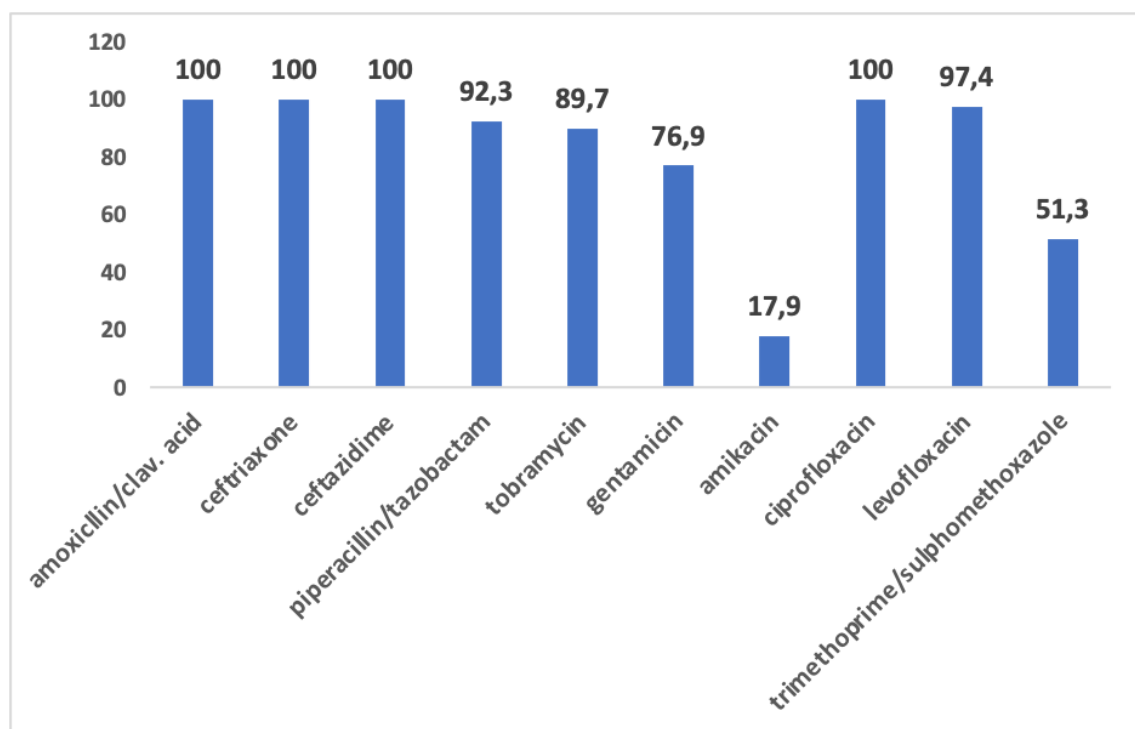
Резистентността към съответните антибиотични групи в намаляващ ред за целия период е както следва: цефалоспорини от трета генерация, 74.9% > ciprofloxacin, 61% > gentamicin, 58.6% > amikacin, 13.9% > meropenem, 11.8%.

В периода 2011 - 2020г. статистически значим тренд за понижаване на резистентността се установява единствено за gentamicin (от 73% през 2011г. до 40.9% през 2020г., $p=0.006$). Към останалите антибиотични групи не се доказват статистически значими тенденции към повишаване или намаляване на резистентността.

Сред всички 331 инвазивни изолата *K. pneumoniae* бяха доказани тридесет и девет, демонстриращи резистентност към карбапенеми (11.8%). Резистентността в тази

група изолати към бета-лактами, аминогликозиди, флуорохинолони и trimethoprim/sulphomethoxazole е представена на фигура 10. Резистентността към colistin е изпитана спрямо всички карбапенем-резистентни изолати, изолирани след януари 2014г. (n=33) и е 6% (n=2).

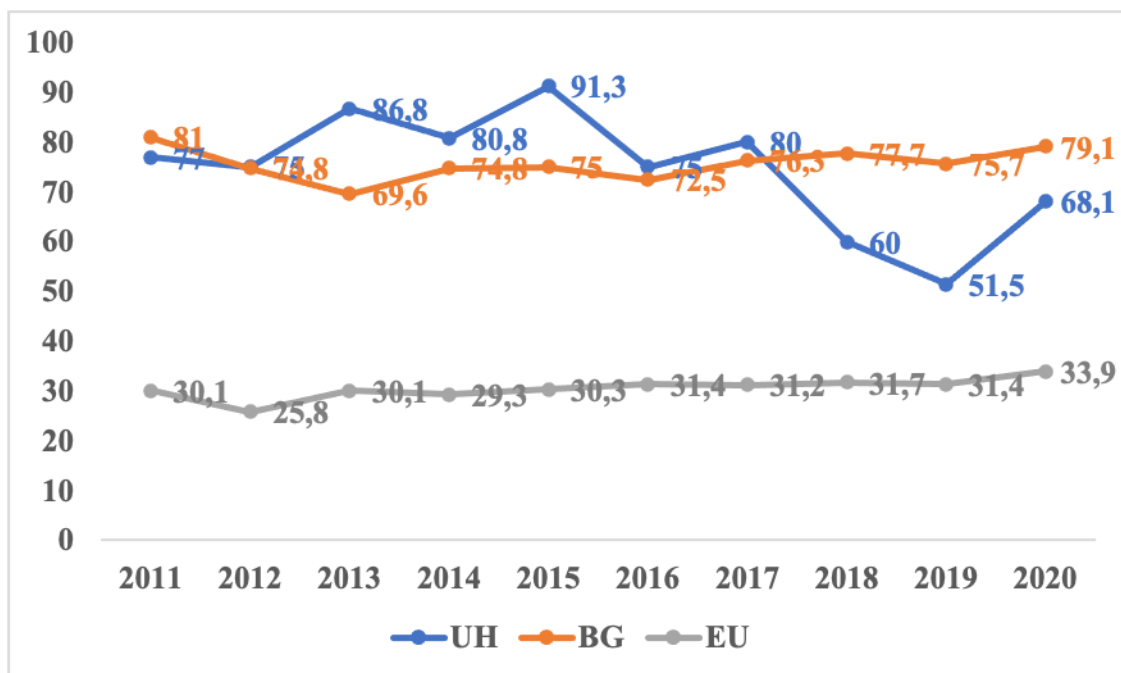
Антибиотичната резистентност по години и установената тенденция за 10-годишния период, както и сравнително представяне на резистентността в цялата група инвазивни изолати *K. pneumoniae* са показани на таблица 16 и фигури 11, 12, 13 и 14.



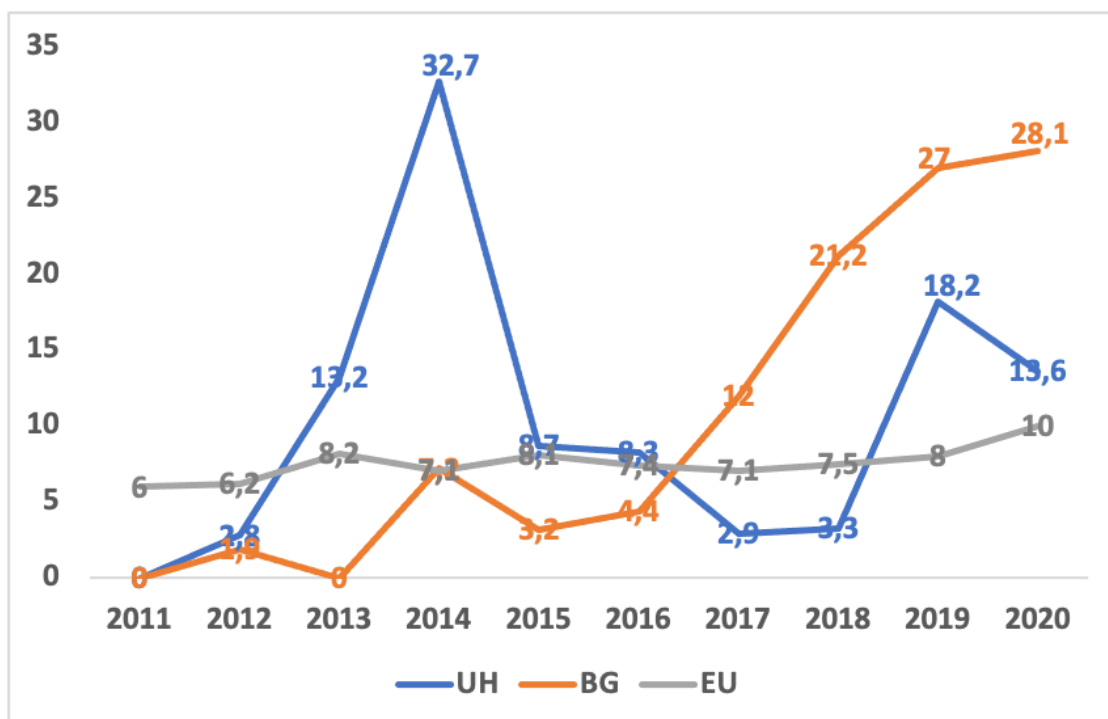
Фигура 10. Резистентност към антимикробни лекарствени средства сред 39 карбапенем - резистентни *K. pneumoniae*, изолирани от кръв в периода 2011 - 2020г. (в %).

Таблица 16. Резистентност към антимикробни лекарствени средства на изолати *K. pneumoniae* от кръв на пациенти с лабораторно потвърдени инфекции на кръвта в периода 2011 - 2020г.

АБ група	2011-2020		2011		2012		2013		2014		2015		2016		2017		2018		2019		2020		p
	n	%R	n	%R	n	%R	n	%R	n	%R	n	%R	n	%R	n	%R	n	%R	n	%R	n	%R	
3 генерация цефалоспорици	331	74.9	26	77.0	36	75.0	38	86.8	52	80.8	23	91.3	36	75.0	35	80.0	30	60.0	33	51.5	22	68.1	0.063
карбапенеми	331	11.8	26	0.0	36	2.8	38	13.2	52	32.7	23	8.7	36	8.3	35	2.9	30	3.3	33	18.2	22	13.6	0.554
gentamicin	331	58.6	26	73.0	36	55.5	38	71.0	52	77.0	23	60.8	36	52.8	35	62.9	30	43.3	33	33.3	22	40.9	0.006
amikacin	331	13.9	26	15.4	36	19.4	38	13.2	52	9.6	23	21.7	36	2.8	35	17.1	30	20.0	33	6.0	22	22.7	0.940
флуорохинолони	331	61.0	26	61.5	36	50.0	38	76.3	52	55.	23	69.6	36	63.9	35	68.6	30	60.0	33	45.5	22	63.6	0.736

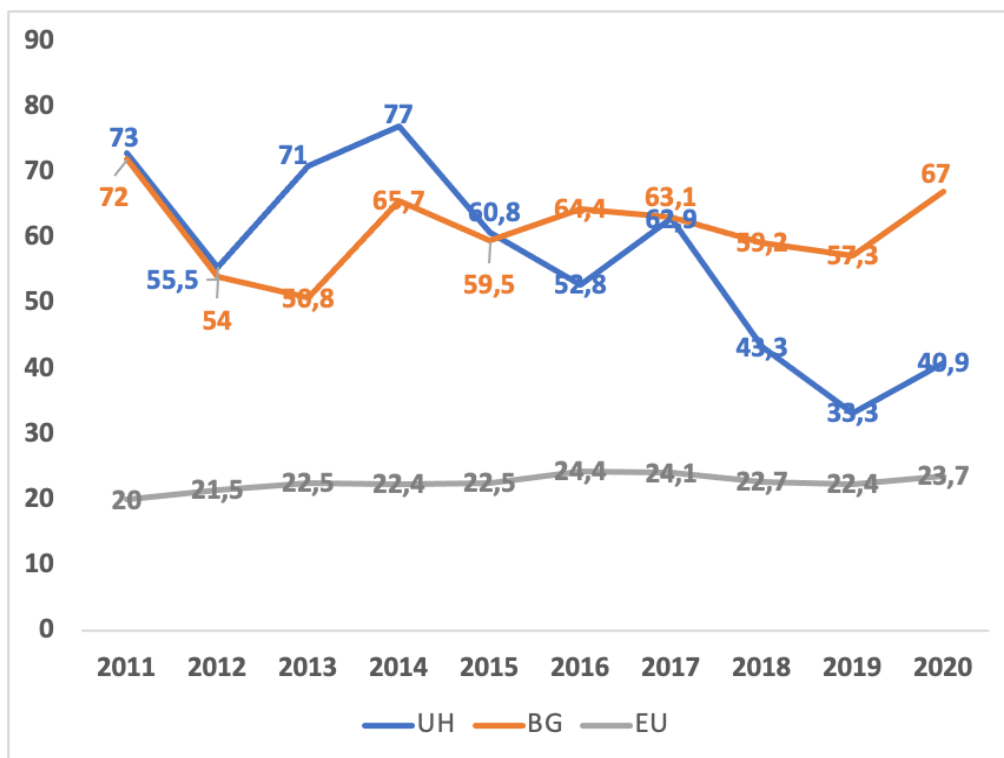


Фигура 11. Сравнително представяне на относителния дял на резистентните към цефалоспорини от трета генерация *K. pneumoniae*, изолирани от хемокултури в периода 2011 - 2020г. (в %)*

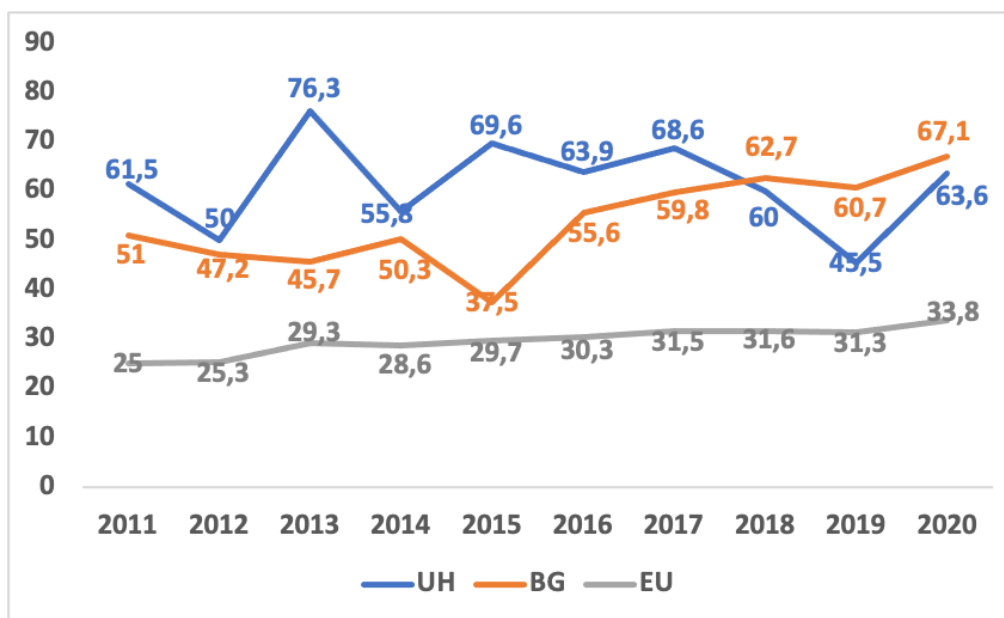


Фигура 12. Сравнително представяне на относителния дял на резистентните към карбапенеми изолати *K. pneumoniae* от хемокултури в периода 2011 - 2020г. (в %)*

* източник за EU и BG: <https://atlas.ecdc.europa.eu/>; <https://ecdc.europa.eu>



Фигура 13. Сравнително представяне на относителния дял на резистентните към gentamicin *K. pneumoniae*, изолирани от хемокултури в периода 2011 - 2020г. (в %)*



Фигура 14. Сравнително представяне на относителния дял на резистентните към флуорохинолони *K. pneumoniae*, изолирани от хемокултури в периода 2011 - 2020г. (в %)*

* източник за EU и BG: <https://atlas.ecdc.europa.eu/>; <https://ecdc.europa.eu>

Генетични механизми на резистентност към цефалоспорици от трета генерация и карбапенеми в карбапенем-резистентни *K. pneumoniae*, изолирани от кръв

С цел установяване на генетичните механизми на резистентност към β -лактамни антибиотици в групата на най-проблемните, карбапенем-резистентни *K. pneumoniae* беше използван PCR и метода на нуклеотидно секвениране за доказване на най-често срещаните гени, кодиращи ESBLs (CTX-M, SHV и TEM ESBLs), AmpC ензими (DHA, FOX, EBC, MOX, ACC, CMY) и карбапенемази от класовете А, В и D. Бяха проучени общо 29 от всички 39 карбапенем-резистентни (CR) *K. pneumoniae* (74.4%), изолирани в периода януари 2011 - декември 2020г.

При 93.1% от CR изолати (n=27) се доказва наличие на *bla*_{CTX-M-15}. При два CR изолата не бе идентифициран ген, кодираща ESBL от клас А.

*bla*_{KPC-2} беше доказан в 27 CR изолата (93.1%), от които 25 положителни и за *bla*_{CTX-M-15} (92.6%). Генът кодиращ NDM-1 метало-карбапенемаза бе детектиран само в два CR изолата (6.9%), едновременно носители и на *bla*_{CTX-M-15} и *bla*_{CMY-4}. Сред проучените 29 CR изолата не бяха доказани *bla* гени, кодиращи други β -лактамази с карбапенемазна активност.

Епидемиологично типизиране на карбапенем-резистентни *K. pneumoniae* изолати

Генетичната връзка между 28 CR *K. pneumoniae* изолата, чиято β -лактамазна продукция беше проучена, бе определена чрез ERIC PCR и MLST. С цел сравнение, в епидемиологичния анализ бяха включени и 20 карбапенем-чувствителни кръвни изолата *K. pneumoniae*, изолирани в същия времеви период, както и един изолат от ръце на медицински персонал. Проучването установи единадесет различни ERIC типа (А, В, С, D, Е, F, G, H, I, J, K), всички кореспондиращи много добре на 11 MLST типа - ST15, ST76, ST11, ST340, ST1350, ST151, ST902, ST70, ST359, ST37 и ST35 съответно (таблица 17). Епидемиологичното типизиране доказа 3 основни MDR клона *K. pneumoniae* сред всички 49 изолата: ST15 (59.2%), ST76 (10.2%) и ST11 (8.2%). ST15 е доминиращия клон, представен от 29 изолата, получени от пациенти, хоспитализирани в 12 клиници на болницата и един изолат от ръце на медицински персонал от КАИЛ. По-голям дял от ST15 изолатите бяха получени от пациенти, хоспитализирани в Интензивно Неврологично отделение (ИНО) (n=7) между Ноември 2013г. и май 2017г.; в Неврологичната клиника (n=4) - доминиращо през декември 2017г. (представени като клъстер) и като единичен изолат през юни 2017г. ST15 също беше идентифициран в КАИЛ (n=6) в периода

януари - май 2013г. и март - май 2015г., както и в Интензивно Детско Отделение (ИДО) (n=2) - през януари и юни 2014г. Представен като единични изолати, ST15 беше идентифициран в още 8 клиники на болницата в периода април 2014г. - декември 2017г. Най-висока честота на изолируемост бе установена през 2014г. и 2017г., а най-ниска - през 2015г. (1 изолат през февруари 2015г. в клиниката по Кардиохирургия). Всички 29 ST15 *K. pneumoniae* изолати са положителни за *bla*STX-m-15, а седемнадесет са и KPC-2 продуценти (58.6%) (таблица 17).

Типът ST76 беше представен като клъстер от пет KPC-2 и CTX-M-15 продуциращи *K. pneumoniae* изолати от кръв на пациенти, хоспитализирани в ИНО, КАИЛ, ИДО и Неврологична клиника в периода Декември 2014г. - Януари 2015г. Първият ST76 CR KPC-2 продуциращ изолат беше идентифициран по-рано през март 2014г. в Интензивното Кардиологично Отделение (ИКО).

ST11 беше доказан в 4 MDR изолата, получени от кръв на пациенти, хоспитализирани в Клиника по Хематология, Хемодиализа, Онкология и ИКО през 2016г. (март, юни) и 2017г. (януари, декември). Не бяха доказани клъстери от случаи. ST11 се асоциира с CTX-M-15 продукция във всички изолати и с NDM-1 метало-карбапенемаза - в два CR *K. pneumoniae*, изолирани през март 2016г. и декември 2017г. съответно.

Два CR *K. pneumoniae*, изолирани в периода Ноември - Декември 2014г. от кръв на пациенти, хоспитализирани в ИНО, ко-продуциращи KPC-2 карбапенемазата и CTX-M-15 ESBL бяха отнесени към ST151 типа.

Типът ST1350, представен от два CR KPC-2 продуциращи *K. pneumoniae* изолата, беше идентифициран през ноември 2014г. в ИНО и ИКО на болницата.

Типове ST35, ST37, ST70, ST359 и ST902 бяха доказани само в единични изолати и интерпретирани като спорадични. ST37 и ST70 се асоциират с изолати, продуценти само на CTX-M-3 ESBL, а ST35, ST359 и ST902 - със CTX-M-15 ESBL.

Общо, CR изолатите (n=28) бяха представени от 5 секвенциални типа: ST15 (60.7%), ST76 (17.9%), ST11 (7.1%) ST1350 (7.1%), ST151 (7.1%). Разпределението на изолатите според вида на клиниката, от която произхождат, MLST типа и тяхната β -лактамна продукция са показани на таблица 17.

Таблица 17. Разпределение на 49 изолата *K. pneumoniae*, получени от хемокултури според MLST типа, годината на изолиране, клиниката, и носителството на гени, кодиращи ESBLs и карбапенемази.

MLST (n)	ESBL (n) / карбапенемаза (n)	Година на изолиране (n)	Клиника (n)
ST15 (n=29**)	<i>bla</i> _{CTX-M-15} (n=12)	2014 _{n=2} , 2016 _{n=3} 2017 _{n=7}	КАИЛ _{n=1} , Неврология _{n=1} , Хемодиализа _{n=1} , Педиатрия _{n=1} , Хематология _{n=2} , Гастроентерология _{n=1} , Клиника по вътрешни болести _{n=1} , Ендокринология _{n=1}
	<i>bla</i> _{CTX-M-15} + <i>bla</i> _{KPC-2} (n=17)*	2013 _{n=5} , 2014 _{n=9} 2015 _{n=1} , 2016 _{n=2}	КАИЛ _{n=5} , Неврология _{n=3} , Кардиохирургия _{n=1} , Клиника по вътрешни болести _{n=1}
ST76 (n=5)	<i>bla</i> _{CTX-M-15} + <i>bla</i> _{KPC-2} (n=5)*	2014 _{n=4} , 2015 _{n=1}	ИКО _{n=1} , ИНО _{n=1} , КАИЛ _{n=1} , Неврология _{n=1} , ИДО _{n=1}
ST11 (n=4)	<i>bla</i> _{CTX-M-15} + <i>bla</i> _{CMY-4} + <i>bla</i> _{NDM-1} (n=2)*	2016 _{n=1} , 2017 _{n=1}	Хематология _{n=1} , ИКО _{n=1}
	<i>bla</i> _{CTX-M-15} (n=2)	2016 _{n=1} , 2017 _{n=1}	Хемодиализа _{n=1} , Онкология _{n=1}
ST340 (n=2)	<i>bla</i> _{CTX-M-15} (n=2)	2017 _{n=2}	КАИЛ _{n=2}
ST1350 (n=2)	<i>bla</i> _{KPC-2} (n=2)*	2014 _{n=2}	ИКО _{n=1} , ИНО _{n=1}
ST151 (n=2)	<i>bla</i> _{CTX-M-15} + <i>bla</i> _{KPC-2} (n=2)*	2014 _{n=2}	ИНО _{n=2}
ST902 (n=1)	<i>bla</i> _{CTX-M-15} (n=1)	2014 _{n=1}	Нефрология _{n=1}
ST70 (n=1)	<i>bla</i> _{CTX-M-3} (n=1)	2014 _{n=1}	Педиатрия _{n=1}
ST359 (n=1)	<i>bla</i> _{CTX-M-15} + <i>bla</i> _{SHV-12} (n=1)	2014 _{n=1}	Кардиохирургия _{n=1}
ST37 (n=1)	<i>bla</i> _{CTX-M-3} (n=1)	2016 _{n=1}	Педиатрия _{n=1}
ST35 (n=1)	<i>bla</i> _{CTX-M-15} (n=1)	2016 _{n=1}	Хематология _{n=1}

Съкращения: *CR изолати ,**включен един изолат от ръце на медицински персонал; ИКО, Интензивно Кардиологично Отделение; ИНО, Интензивни Нервно Отделение; КАИЛ, Клиника по Анестезиология и Интензивно Лечение; ИДО, Интензивно Детско Отделение.

Обсъждане

K. pneumoniae е Грам отрицателен опортюнистичен патоген. Сред членовете на семейство *Enterobacteriaceae*, този бактериален вид най-често се асоциира с вътреболнични инфекции, като има способността бързо да се разпространява и засяга пациентите (Di Franco S, 2021). Най-проблемният аспект при този бактериален вид обаче е свързан с продукцията на няколко вида бета-лактамази (ESBLs и карбапенемази), медиращи резистентността към бета-лактамни антибиотици. В края на миналия век, широкоспектърните бета-лактамази, доказани в *K. pneumoniae*, най-често се асоциират с TEM и SHV типове ензими, докато в последните години CTX-M ESBLs са доминиращи и представени главно от CTX-M-15 и CTX-M-14 (Adler A, 2016; Bush K, 2020; Woodford N, 2011). Широката употреба на карбапенеми за лечение на инфекции, причинени от ESBL продуциращи *K. pneumoniae* довежда до възникване и разпространение на щамове, продуциращи различни карбапенемази като Klebsiella Producing Carbapenemase (KPC), New Delhi Metallo- β -lactamase (NDM), Verona Integron-encoded Metallo- β -lactamase (VIM), IMP и OXA-48 (Nordmann P, 2019; Rahman S, 2018; Rodríguez-Vaño J, 2018). Увеличената резистентност към стратегически бета-лактамни антибиотици в *K. pneumoniae*, също се асоциира и с дисеминация на глобални, високо-рискови клонове, носещи мобилни елементи (плазмиди, интегрони), които медираат от една страна повсеместното разпространение на ESBLs и/или карбапенемази, а от друга - възникването на резистентност и към множество различни антибиотични групи (хинолони, аминогликозиди, тетрациклини, trimethoprim/sulfamethoxazole, др.), превръщайки изолатите в множествено- и дори пан-драг резистентни (Adler A, 2016; Partridge S, 2018; Woodford N, 2011; Wyres K, 2020).

В настоящото проучване се доказва много високо ниво на резистентност към цефалоспорини от трета генерация (74.9%) в проучваната колекция от 331 инвазивни изолата *K. pneumoniae* за десет-годишния период на изследването, значително надвишавайки дела на резистентните към същата антибиотична група *E. coli* (28.8%) и по-високо от това сред *Enterobacter* spp. изолатите (68.5%) (виж. стр. 149). От всички мониториращи антибиотици, цефалоспорините от трета генерация са групата с най-драматично редуцирана активност спрямо *K. pneumoniae*. Много високи нива на

резистентност бяха отчетени също към флуорохинолони (61%) и gentamicin (58.6%), макар за последния да се установява положителен, статистически значим тренд да намалява резистентността от 73% през 2011г. до 40.9% през 2020г. Макар с нива на резистентност над 10%, меропенем (11.8%) и amikacin (13.9%) се доказаха като антимикробните препарати с най-висока активност спрямо *K. pneumoniae*. Трябва да се отбележи, че сред всички мониторираните антибиотични групи, най-големи флукутации на резистентността в годините се отбелязва за карбапенемните антибиотици: ако през 2011г. практически тази резистентност е 0%, през 2012г. е доказан само един резистентен изолат, то през 2014г. се отбелязва пик (32.7%), последван от значителен спад до 2.9% през 2017г. и отново подем през 2019 - 2020г. (18.2 - 13.6%). Групата на карбапенем-резистентните изолати в това проучване демонстрира много високи нива на резистентност спрямо всички изпитвани антимикробни средства с изключение на amikacin и colistin, които се явяват препарати на избор за лечение на инфекции, асоциирани с карбапенем-резистентни *K. pneumoniae*.

Получените резултати в това изследване са в пълно съответствие със съобщеното от EARS Net за периода 2011 - 2020г.: средната резистентност на инвазивните изолати *K. pneumoniae* за Европа бележи тенденция за увеличение както към трета-генерация цефалоспорини (30% - 33.9%), така и към флуорохинолони (25% - 33.8%) и карбапенеми (6% - 10%) (ECDC, 2015; ECDC, 2018; ECDC, 2022). В България се установяват аналогични тенденции, но в значително по-високи нива от средните за Европа: трета-генерация цефалоспорини, 81%-79.1% (най-висока за Европа); флуорохинолони, 51%-67.1% и карбапенеми, от <1 през 2011г. до 28.1% през 2020г., като за флуорохинолоните и карбапенемите този тренд на нарастване е статистически значим (ECDC, 2015; ECDC, 2018; ECDC, 2022). Подобно на установеното в настоящото проучване, в Европа в периода 2016 - 2020г. също се установява статистически значимо намаляване на резистентността към аминогликозиди – от 24.4% през 2016г. до 23.7% през 2020г. (ECDC, 2022). Сред всички антибиотици статистически значим тренд към увеличение в периода 2011 - 2020г. за Европа се доказва само за групата на карбапенемите - от 6% през 2011г. до 10% през 2020г. Нещо повече, за лабораториите, които попадат в групата на „постоянно рапортуващи“ към EARS Net в периода 2017 - 2021г., годишната промяна в дела на карбапенем-резистентните *K. pneumoniae* е драматична (0%, 8%, 31% и 20% за 2018 - 2021) (ECDC, 2022a). Характерно за всички мониторираните групи антибиотици са големите различия в нивата на резистентност между отделните Европейски държави. Например по

отношение на резистентността към цефалоспорици трета генерация: макар за 2021г. най-високата средна резистентност да е тази към цефалоспорици трета генерация (34.3%), тя варира между 3.4% за Исландия, 5.1% в Дания, 7% Швеция до 81.4% за България (ECDC, 2022a). Аналогично по отношение резистентността към карбапенеми през 2021г.: доказва се 0% резистентност в Исландия и Холандия до 46.3% в България, 54.5% в Румъния и 73.7% за Гърция. В 12 страни нивата на карбапенемна резистентност са под 1%. По отношение на този тип резистентност сред особено засегнатите страни са тези от Южна и Югоизточна Европа (Гърция, 73.7%; Румъния, 54.5%; България, 46.3%; Хърватия, 32.9%; Италия, 26.7%, Кипър, 26.2%) (ECDC, 2022a). Тези вариации в нивата на резистентност се потвърждават и от различни многоцентрови проучвания върху антимикробния профил на главните етиологични агенти на инфекции на кръвта: от < 1% карбапенемна резистентност в *K. pneumoniae* в Германия и Испания до между 36.5 - 53.2% в Италия; резистентност към цефалоспорици от трета генерация между 9.9 и 7.4%, към флуорохинолони 13.8 - 13.3% и към аминогликозиди от 3.9 до 12.2% в Германски болници (De Socio G, 2019; Pérez-Crespo PM, 2021; Schönneweck F, 2021). В допълнение, автори от Швеция съобщават за ниски нива на резистентност в изолати *K. pneumoniae* от кръв в периода 2008 - 2016г. към флуорохинолони (3.7 - 7.7%) и цефалоспорици (2.5 - 5.2%) (Holmbom M, 2020).

Тенденциите за нарастващ дял на резистентни към цефалоспорици от трета генерация и към карбапенеми *K. pneumoniae* от кръв (над 30% и над 3% съответно) в периода 1997- 2016г. се потвърждават и от SENTRY програмата (Diekema DJ, 2019) Същата програма отчита и по-висока честота на инвазивни ESBL продуциращи *Klebsiella* spp. и CRE в Европа в сравнение със Северна Америка (24.1% и 10.9% срещу 12.5% и 2.3%) (Pfaller M, 2020). Пак като част от SENTRY, M. Pfaller за периода 2012 - 2017г. докладва сред общо 636 изолата *K. pneumoniae*, асоциирани с инфекции на кръвта и колекционирани от общо 16 медицински центъра (САЩ, Европа, Мексико и Южна Корея) значително по-ниски нива на средна резистентност към ceftazidime (14.9%), ciprofloxacin (15.4%), gentamicin (9.6%) и към meropenem (5.0%), без да се установяват статистически значими трендове към повишаване или понижаване в годините (Pfaller M, 2020). Данните от SENTRY за по-късен период (2013 - 2019г.) показват по-високи нива на резистентност сред над 6800 изолата *K. pneumoniae* от кръв към ciprofloxacin, 30.7%; gentamicin, 19.0%; цефалоспорици от трета генерация,

29.7 - 30.6% и карбапенеми, 8%-8.4%; резистентността към amikacin е 8.7% (Di Franco S, 2021).

По-високи нива на резистентност към цефалоспорици от трета генерация за 2019г. в *K. pneumoniae* (40-50%) и ниски към средни нива на резистентност към карбапенеми в същия бактериален вид, асоцииран с инфекции на кръвта, се съобщава от GLASS (GLASS 2021). По-висок дял и драматичен ръст на карбапенем-резистентни *K. pneumoniae*, свързани с инфекции на кръвта в периода 2007 - 2018г. се съобщават от италиански автори (от 4.2% до 51.6% и от 36.5% до 53.2%) (De Angelis G, 2018; De Socio G, 2019). G. De Angelis докладва и сигнификантен ръст на карбапенемаза-продуциращи *K. pneumoniae*, свързани с придобити в обществото инфекции на кръвта в Италия в периода 2007 - 2015г. - от 0% до 17.6%, но без динамика по отношение на ESBL продуциращите *K. pneumoniae*, свързани със същия тип инфекции на кръвта (25 - 20.5%). В контраст на това, същият автор показва тенденция за намаляване от 37.5% до 13.3% на дела на ESBL изолатите, свързани с вътреболнични инфекции на кръвта в по-горе визирания период (De Angelis G, 2018). Още по-висок дял и негативен тренд, свързан с карбапенем-резистентните *K. pneumoniae*, асоциирани с инфекции на кръвта в периода 2010 - 2019г. съобщава С. Liu. (Liu C, 2022). Този автор докладва ръст на карбапенем-резистентни изолати от 5% през 2010г. до 56.7% през 2019г., като в ICU структурите този дял достига 71.4%, както и сигнификантен тренд за нарастване на резистентността и към цефалоспорици от трета генерация (от 41.5% до 64.2%), gentamicin (от 41.7% до 58.4%), amikacin (от 10% до 44.6%) и флуорохинолони (от 51.7% до 71.9%) (Liu C, 2022). Подобен тренд за нарастващи нива на резистентност спрямо всички основни групи антимикробни средства сред изолати *K. pneumoniae* от кръв, особено спрямо карбапенеми (от 16.7% през 2014г. до 41.8% през 2019г.), amikacin (от 8.3% до 28.4%) и цефалоспорици от трета генерация (от 40.3% до 65.7%) се съобщава и от други Китайски автори (Li, Y, 2020). Много висока резистентност към карбапенеми в изолати *K. pneumoniae* от кръв (над 60%) в периода 2016 - 2020г. се докладва и в турска болница, като авторите съобщават също и за 89.2% резистентност към цефалоспорици от трета генерация, 100% към gentamicin, 85% amikacin, 75% към ciprofloxacin и 11.2% пан-драг резистентни изолати (Yardimci A, 2022). В контраст, други автори също докладват сигнификантен тренд за увеличение на резистентността в *K. pneumoniae*, асоциирани с инфекции на кръвта, но в значително по-ниските диапазони. Например като част от GERMEN Antimicrobial Network, J. Robleto et al. съобщава за периода 2010 - 2019г. увеличаване на резистентността към

флуорохинолони от 11.8 до 19%, към gentamicin - от 9.75 до 17%, докато резистентността към ceftazidime се задържа около 25%, а тази към meropenem - между 6 - 7% (Robledo J, 2022). Макар да съобщават сигнификантна тенденция за увеличаване на резистентността към amikacin (от 2% до 3.8%) и карбапенеми (от 3 до 5%), като част от CARSS (China Antimicrobial Resistance Surveillance System), S. Yang докладва противоположно на общия тренд за увеличаване на резистентността към цефалоспорини от трета генерация - сигнификантно намаляване от 30% до 26% (Yang S, 2019).

Една от задачите на настоящото проучване е да идентифицира *bla* гените, медиращи резистентността към бета-лактамни антибиотици (цефалоспорини от трета генерация и карбапенеми) в карбапенем-резистентните изолати *K. pneumoniae* и тяхната асоциацията с определени ST типове.

CTX-M-15 бета-лактамазата беше идентифицирана като напълно доминиращата ESBL, както в групата на карбапенем-резистентните изолати, така и сред карбапенем-чувствителните *K. pneumoniae*, включени с цел сравнителен епидемиологичен анализ. От карбапенем-чувствителните изолати само два продуцираха CTX-M-3 ESBL. Копродукция на CTX-M-15 и KPC-2 карбапенемаза беше детектирана в 92.6% от CR *K. pneumoniae*. Два изолата продуцираха само KPC-2 ензима и два - едновременно CTX-M-15 и NDM-1 метало-карбапенамазата. В световен мащаб *bla*_{CTX-M-15} е доказан като най-честият ген асоцииран с резистентност към цефалоспорини от трета генерация в клинично значими Грам отрицателни бактерии и по-специално *E. coli* и *K. pneumoniae* (D'Andrea M, 2013). В последната декада значително се увеличават научните съобщения за вътреболнични инфекции, причинени от MDR CTX-M-15 продуциращи *K. pneumoniae* (D'Andrea M, 2013). В съответствие с настоящото проучване, широка дисеминация на *bla*_{CTX-M-15} се доказва в Обединеното Кралство, Холандия, Германия, Гърция, Чехия, Франция и Дания (Bevan E, 2017). Резултатите от SENTRY 2016 демонстрират, че 60.3% от изолатите *K. pneumoniae* в САЩ носят *bla*_{CTX-M}, като 52.7% са CTX-M-15 (Mendes R, 2019). Проучване в България от 2017г. върху *K. pneumoniae* изолати, колекционирани от 6 болници, идентифицира CTX-M-15 и CTX-M-3 продуценти в 87% и 9% съответно, както и SHV-12 и SHV-2 продуциращи *K. pneumoniae*, но само в 2% и CTX-M-14 в 1% (Markovska R, 2017). Висок относителен дял на ESBLs продуциращи инвазивни изолати *K. pneumoniae*, асоциирани с инфекции на кръвта и превалиране на CTX-M ESBLs се съобщават в подобни проучвания от автори в Италия (32.6%), Русия (60.8%), САЩ (51.8%), Корея (52.9%) и Китай (27.5%)

(Xiao S, 2017). В настоящото проучване плазмидно-кодираната AmpC цефалоспориноза - CMY-4 бе идентифицирана в два карбапенем-резистентни изолата *K. pneumoniae*, и двата ко-продуциращи CTX-M-15 ESBL и NDM-1 металокарбапенемазата. Скорошно проучване върху фекално носителство на високо-рискови клонове *Enterobacterales* сред пациенти, хоспитализирани в 6 болници в периода 2017 - 2019г. в България, доказва разнообразие от ESBLs, като сред изолатите *K. pneumoniae* водеща е CTX-M-3 (41%), следвана от CTX-M-15 (33%) и CTX-M-14 ESBLs (1.4%), а идентифицираните карбапенемази са NDM-1 (14.8%) и KPC-2 (1.4%), като NDM-1 изолати са ко-продуценти на CTX-M-15/-3 ESBLs и/или CMY-4 β -лактамази (Markovska R, 2022). Проучвания върху карбапенем-резистентни *K. pneumoniae*, изолирани от урина на пациенти, хоспитализирани в COVID-19 и ICU клиники на УМБАЛ“Света Марина“, Варна през 2020г. също идентифицира NDM карбапенемазата във всички изолати, като не доказва KPC ензима (Savova D, 2023).

Интернационалните високо-рискови клонове *K. pneumoniae* са едни от най-честите и клинично значими болнични патогени. *Bla* гени, обикновено с плазмидна локализация, често са асоциирани с „успешни“ *K. pneumoniae* ST типове, каквито са ST258 и ST11. В настоящата работа всички проучени карбапенем-резистентни изолати (с две изключения) са KPC-2 продуценти, като първият KPC-2 продуцент от кръв беше идентифициран през април 2012г. Понастоящем *bla*_{KPC} е ендемичен в много страни по света: в Европа, специално в Австрия, Германия, Русия и Обединеното Кралство; в Латинска Америка, вкл. Бразилия и Мексико; в Азия - Китай, Япония, Тайван, както и в Израел и САЩ. Доминиращият KPC-продуциращ ST258 клон е отговорен за повече от 70% от съобщените взривове в Америка и Европа (Kitchel B, 2009). В настоящото проучване този ST тип не бе доказан. Доминиращият ST сред 49-те изолата *K. pneumoniae* в това проучване е ST15. ST15 съставлява 59.2% от всички тествани инвазивни изолати [(60.7% от карбапенем-резистентните изолати (17 от 28)] и се установява в различни клиники на болницата през проучвания период. Относителният дял на KPC-2 продуциращите *K. pneumoniae* ST15 от всички ST15 изолати е 58.6% (17 от 29). Подобно на ST258 и ST11, ST15 *K. pneumoniae* също е известен като „успешен“ интернационален клон. Често носи *bla*_{CTX-M-15}, но също KPC, NDM, VIM и OXA-48 гени (David S, 2019; Rodrigues C, 2014; Woodford N, 2011; Wyres K, 2020). Това е в съответствие с резултатите от настоящото проучване, които демонстрират, че всички ST15 изолати носят *bla*_{CTX-M-15}. В този смисъл високият дял на CTX-M-15 ESBL и широката им дисеминация се асоциират най-вече с епидемичния интернационален

клон ST15, който също ко-продуцира KPC-2 карбапенемаза. В това проучване *bla*_{CTX-M-15} дисеминацията също се медира и от други, не толкова широко разпространени ST типове: ST11, ST340, ST76, ST902, ST359, ST35. Проучване в България върху клинични изолати ESBL продуциращи *K. pneumoniae*, също установява, че CTX-M-15 изолатите се отнасят предимно към ST15 (34.1%) и в по-малка степен към CC17 (ST16, ST17, ST336), докато CTX-M-3 продуциращите *K. pneumoniae* - към ST29, ST70, ST432, ST542 и ST15 (Markovska R, 2017). В настоящото проучване *bla*_{CTX-M-3} и *bla*_{CTX-M-12} гените, доказани само в два и един изолата съответно, се асоциират с ST70, ST37 и ST359, последният докладван като широко разпространен MDR клон, свързан с продукцията на CTX-M-15 и KPC-2 (Aires-de-Sousa M, 2020; Markovska R, 2017; Woodford N, 2011).

Доминиращият ST15 клон в това проучване, доказан за първи път в началото на 2013г., персистира в периода 2014 - 2017г., като е установен в 12 болнични клиники, включително в 4 интензивни структури. ST15 доминира като кълстерни случаи на инфекции на кръвта в ИНО и Неврологична клиника през декември 2014, Хемодиализа, ИКО и ИНО през юли 2016г. съответно. Като единични изолати, ST15 *K. pneumoniae* се доказва в още 8 клиники през целия период, но главно през 2014г. и 2017г. Детекцията на изолати с идентични ST типове, получени от пациенти, хоспитализирани в различни клиники на болницата и разпределението във времето на случаите за 5-те години на проследяването, е индикация за вътреболнична интермитентна крос-трансмисия от човешки източник или такъв в околната среда. Очевидно, тази епидемична линия *K. pneumoniae*, представена от ST15 изолати, повечето, от които карбапенем-резистентни и *bla*_{KPC-2} положителни, изглежда добре адаптирана за продължителна трансмисия в условията на болничната среда, което се потвърждава от дългия период от време, в който тя се доказва и персистира. Идентификацията на *K. pneumoniae* ST15 от ръцете на медицински персонал в една от клиниките на болницата, демонстрира, че медицинският персонал е важен фактор за вътреболнична дисеминация на нозокомиалния патоген. Вътреболнично придобиване и дисеминация чрез ръце на медицински персонал е едно от възможните обяснения на болничния епидемичен процес, асоцииран с този конкретен ST тип. Микробиологичното изследване не успя да идентифицира *K. pneumoniae* от обекти в болничната среда.

Настоящото проучване демонстрира ST15 като доминиращия тип, асоцииран с карбапенем-резистентни *K. pneumoniae*, а KPC-2 карбапенемазата като най-честата

карбапенемаза, медираща резистентността към карбапеними. В съответствие с множество подобни проучвания, показващи *K. pneumoniae* ST15 широко разпространен в Европа и асоцииран с различни карбапенемази (KPC-2, OXA-48, VIM-1) (Rodrigues C, 2014), резултатите от настоящото проучване доказват висок относителен дял на ST15 (60.7%) в групата на проучените карбапенем-нечувствителни инвазивни изолати, следван от ST76 (17.9%) и ST11, ST 151 и ST1350 (по 7.1%). ST76, вариант на *K. pneumoniae* ST495, е идентифициран в Гърция в периода 2009-2010г. и асоцииран с KPC-2 продукция (Giakkouri P, 2011). През 2018г. Gong et al. рапортуват вътреболничен взрив (вкл. случаи на инфекции на кръвта), причинен от *bla*_{KPC-2} положителен *K. pneumoniae* ST76 тип в Китай (Gong X, 2018). През 2014г. Zhu съобщава също за вътреболничен взрив сред новородени в Шанхай, причинен от карбапенем-резистентен *K. pneumoniae* ST76, но продуциращ NDM-1 карбапенемаза (Zhu J, 2016).

В настоящото проучване *K. pneumoniae* ST11 типът е третият най-често доказван ST, като се асоциира с *bla*_{CTX-M-15} и *bla*_{NDM-1} гени. Този тип е идентифициран през май и юни 2016г., и по-късно през януари и декември 2017г., засягайки пациенти в четири различни клиници на болницата. *K. pneumoniae* ST11 е известен като един от важните патогенни клонове *K. pneumoniae*, широко разпространен в страни от Азия (особено Китай), Латинска Америка, САЩ и Европа (Португалия, Полша, Чехия, Испания, Гърция, Швейцария) (Bilal H, 2021; David S, 2019; Izdebski R, 2020; Nordmann P, 2019; Novais A, 2022; Pitout J, 2008; Studentova V, 2015; Xu Q, 2020; Yan L, 2020). ST11 клонът се асоциира и с продукция на различни карбапенемази (NDM-1, NDM-5, KPC-2, OXA-48), както в клинични, така и във фекални изолати (Bilal H, 2021; David S, 2019; Errico G, 2019; Hernandez-Garcia M, 2018; Novais A, 2022; Xu Q, 2020; Yan L, 2020). Този секвенциален тип се свързва с разнообразни вътреболнични инфекции, като инфекции на уринарния тракт, на кръвта, инфекции на долен респираторен дял и др. (Ko K, 2010). В скорошно проучване от Китай, Fu et al. идентифицират ST11 като доминиращ ST (87.1%) сред KPC-продуциращи *K. pneumoniae*. В същото проучване във всички *K. pneumoniae* ST11 изолати са установени IncFII плазмиди, докато в не-ST11 изолати те са доказани в едва 16% (Fu P, 2019). Xiao et al. също демонстрират абсолютно доминиране на ST11 KPC-2 *K. pneumoniae* сред карбапенемаза-продуценти, асоциирани с инфекции на кръвта (Xiao S, 2017). В подобно проучване върху разпространението на различни MLSTs в бактериални видове от семейство *Enterobacteriaceae*, Teo et al. съобщават MDR (вкл. colistin резистентни) *K. pneumoniae*

ST11 и ST20 като доминиращи типове (Teo J, 2019). Проучване на Carrasco et al. идентифицира 10 различни MLSTs, като ST258 и ST1161 са доминиращи (Carrasco S, 2018). В съответствие с настоящото проучване, друго проучване от Китай върху 38 карбапенем-резистентни *K. pneumoniae* идентифицира *bla*_{KPC-2} и *bla*_{IMP-4} в 89.5% и 7.9% съответно. Авторите също доказват дисеминация на ST23, ST15, ST1373 и ST1415 сред проучваните изолати, но ST11 е определен като доминиращ (Lin D, 2018). Подобно, ST11 *bla*_{NDM-1}/*bla*_{CTX-M-15/3}/*bla*_{CMY-4} положителни изолати са доказани и в Чехия (Studentova V, 2015).

В настоящата работа, доминиращият *bla*_{KPC-2} ген се асоциира с четири различни секвенциални типа: ST15, ST1350, ST151 и ST76. Известно е, че трансмисията на *bla*_{KPC-2} се свързва предимно с IncFIIAs плазмиди (Fu P, 2019). В този смисъл, дисеминация на *bla*_{KPC-2} съдържащ плазмид между различни клонове *K. pneumoniae* и внасяне на нови, карбапенем-резистентни ST типове с епидемичен потенциал може да обясни развитието на епидемични процес в болницата. Важно е да се отбележи, че високият селективен натиск в българските болници значително допринася за понататъшната експанзия на нови клонове. Сред всички мониторирани Европейски държави, консумацията на стратегически антибиотици в болничния сектор в България (особено цефалоспорини от трета генерация), е най-висока (ECDC, 2022b).

В настоящото проучване бяха идентифицирани само два карбапенем-резистентни *K. pneumoniae* продуциращи NDM-1 с принадлежност към ST11. *bla*_{NDM-1} генът е доказан в изолати *K. pneumoniae* от Африка, Европа, Австралия, САЩ и Азия, специално Турция, Алжир, Франция, Италия, Гърция, Нова Зеландия, Мексико и Китай (Gong X, 2018; Pitout J, 2015). Основна причина за това е бързата дисеминация на ST11, ST15, ST70, ST258 и ST1883, всички асоциирани с NDM-1 метало-карбапенемазата. В България за първи път NDM-1 продуциращи *K. pneumoniae* ST11 изолати са докладвани през 2016г. (Todorova B, 2016). По-късно Савов и кол. съобщават за първата поликлонална вътреболнична епидемия, причинена от NDM-1 продуциращи *K. pneumoniae* ST11, ST16, ST15 и ST391 типове, като ST11 е доминиращ (Savov E, 2018). Скоростно проучване върху фекално носителство на високо-рискови клонове *Enterobacterales* сред пациенти, хоспитализирани в 6 болници в периода 2017 - 2019г. в България установява висок относителен дял (26%) на три основни високо-рискови клона *K. pneumoniae* ST11, ST258 и ST15, като проучването идентифицира два пан-драг резистентни *K. pneumoniae* ST11 NDM-1 продуциращи изолата (Markovska R, 2022).

Enterobacter spp.

В 10 - годишния период на изследването чувствителността към цефалоспорини от трета генерация, карбапенеми, аминогликозиди и флуорохинолони е проучена сред общо 260 кръвни изолата *Enterobacter spp.* (*E. cloacae*, n=218; *E. aerogenes*, n=39; *E. agglomerans*, n=3). Резистентността към съответните антибиотични групи в намаляващ ред за целия период е както следва: цефалоспорини от трета генерация, 68.5% > gentamicin, 61.5% > ciprofloxacin, 45.8% > amikacin, 5% > meropenem, 0.4%.

Не се установява статистически значим тренд за увеличение или понижение на резистентността към нито една от мониторираните антибиотични групи в годините от 2011 до 2020г. Антибиотичната резистентност по години и установената тенденция за 10-годишния период са представени на таблица 18.

Генетични механизми на резистентност в карбапенем-резистентни Enterobacter spp.

Сред всички 260 инвазивни изолата *Enterobacter spp.* бе доказан само един изолат, идентифициран като *Enterobacter asburiae*, демонстриращ резистентност към карбапенеми (MIC_{imipenem, meropenem}>8mg/L) и множествена резистентност (резистентност към всички цефалоспорини, piperacillin/tazobactam, всички аминогликозиди, ciprofloxacin и colistin). Съхранена чувствителност бе установена единствено към levofloxacin (MIC=0.25mg/L), fosfomycin (MIC<16mg/L), nitrofurantoin (MIC<16mg/L) и tigecycline (MIC=0.38mg/L). Чрез PCR и нуклеотидно секвениране този изолат беше доказан като продуцент на NDM-1 метало-карбапенемаза, CTX-M-3 ESBL, ACT-68 AmpC и отнесен към *E. cloacae* MLST type ST23.

Таблица 18. Резистентност към антимикробни лекарствени средства на изолати *Enterobacter* spp. от кръв на пациенти с лабораторно потвърдени инфекции на кръвта в периода 2011 - 2020г.

АБ група	2011-2020		2011		2012		2013		2014		2015		2016		2017		2018		2019		2020		p
	N	%R	N	%R	N	%R	N	%R	N	%R	N	%R	N	%R	N	%R	N	%R	N	%R	N	%R	
3 генерация цефалоспорини	260	68.5	18	72.2	20	50.0	16	87.5	39	41.0	54	85.1	33	48.5	28	85.7	19	68.4	16	56.3	17	52.9	0.709
карбапенеми	260	0.4	18	0.0	20	0.0	16	0.0	39	0.0	54	0.0	33	0.0	28	3.6	19	0.0	16	0.0	17	0.0	0.312
gentamicin	260	61.5	18	61.1	20	45.0	16	81.3	39	33.3	54	77.7	33	42.4	28	85.7	19	52.6	16	43.8	17	47.0	0.667
amikacin	260	5.0	18	22.2	20	5.0	16	0.0	39	5.1	54	0.0	33	0.0	28	14.3	19	0.0	16	12.5	17	0.0	0.434
флуорохинолони	260	45.8	18	16.7	20	10.0	16	50.0	39	25.6	54	66.6	33	48.5	28	67.9	19	52.6	16	43.8	17	47.0	0.072

Обсъждане

Представителите на род *Enterobacter* са факултативно - анаеробни Грам отрицателни бактерии, които се отнасят към 22 вида. Откриват се както във фактори на околната среда (почва, вода, растения), така и като част от нормалната чревна флора на животни и хора. Понастоящем видовете *Enterobacter aerogenes* и тези, отнасящи се към *E. cloacae complex* (*E. asburiae*, *E. carcinogenus*, *E. cloacae*, *E. hormaechei*, *E. kobei*, *E. nimipressuralis*, *E. mori*) се представят като класически опортюнистични патогени, причиняващи най-често нозокомиални инфекции (инфекции на кръвта, пневмонии, уроинфекции, пост-оперативни перитонити, менингити, абсцеси и др.), вкл. вътреболнични взривове, засягайки предимно имунокомпрометирани пациенти (*Beyrouthy R, 2018; David-Regli A, 2023; Girlich D, 2021; Lee C, 2010; Mshana M, 2011; Shi Q, 2023; Wang S, 2017*). Най-често това са новородени и преждевременно родени деца, пациенти с диабет, изгаряне или множествени травми, пациенти с онкохематологични заболявания, пациенти, провеждащи имуносупресивна терапия, ICU пациенти, такива с инвазивни процедури, с продължителен болничен престой и пациенти след органна трансплантация (*Campos LC, 2007; Dalben M, 2008; David-Regli A, 2023; Tebano G, 2016*). Тъй като инфекциите, причинени от *Enterobacter* spp. са основно вътреболнични, в наши дни голяма част от изолатите демонстрират резистентност към бета-лактамни антибиотици, вкл. цефалоспорини от трета генерация и карбапенеми, хинолони и аминогликозиди. В семейство *Enterobacteriaceae*, след *E. coli* и *K. pneumoniae*, представителите на род *Enterobacter* и специално *E. cloacae complex* са третите най-чести чревни бактерии, резистентни на цефалоспорини от трета генерация, като тази резистентност се асоциира най-вече със свръхекспресия на хромозомно кодираната AmpC цефалоспориноза, ESBLs от класовете TEM (TEM-24), SHV (SHV-12), CTX-M (CTX-M-15, CTX-M-3), VEB (VEB-1, VEB-3), както и с мембранно асоциирани механизми и ефлуксни помпи (*Савова Д, 2019; David-Regli 2015; David-Regli A, 2023; Guo J, 2017; Markovska R, 2014*). CTX-M ESBLs доминират в Европа и Латинска Америка, докато SHV типове и по-специално SHV-12 - в Азия (*Guo J, 2017*). Проучвания на изолати *Enterobacter* spp. (вкл. от кръв), получени от пациенти на УМБАЛ“Света Марина“, Варна в периода 2011г. и 2014 - 2017г. доказват CTX-M-15 като водеща ESBL, следвана от CTX-M-3 и SHV-12 ESBLs в по-ниски относителни дялове (*Савова Д, 2019; Markovska R, 2014*).

Негативна тенденция в последните години са научните съобщения за поява и увеличаване на дела на клиничните карбапенем-резистентни изолати *E. aerogenes* и *E.*

cloacae complex в Европа, Азия и Америка, асоцииращи се с продукцията на карбапенемази от различни класове (VIM, NDM, IMP, GIM, FRI, KPC, IMI, GES, FRI, OXA-48) (Boyd DA, 2017; Beyrouthy R, 2018; David-Regli A, 2015; David-Regli A, 2023; Khajuria A, 2014; Peirano G, 2018; Porton A, 2013; Torres E, 2014; Wang Q, 2018; Wilson VM, 2017). В настоящото проучване се доказва високо ниво на резистентност към цефалоспорици от трета генерация в проучваната колекция от 260 инвазивни изолата *Enterobacter* spp. за проучвания 10-годишен период (68.5%), много близко до установеното за *K. pneumoniae* (74.9%) и значително надвишавайки дела на резистентните към същата антибиотична група *E. coli* (28.8%).

Много високи нива на резистентност бяха отчетени също към gentamicin (61.5%) и флуорохинолони (45.8%). Meropenem (0.4% резистентност) и amikacin (5%) се доказаха като антимикуробните препарати с най-висока активност. За подобна колекция от изолати *Enterobacter* spp., асоциирани с инфекции на кръвта в периода 2016 - 2019г. съобщава Yardimci и кол. Макар и по-ниско от установеното в настоящото проучване, авторите също докладват високи нива на резистентност към цефалоспорици от трета генерация (52.2%), gentamicin (37.5%) и флуорохинолони (32.1%), но значително по-високо ниво към amikacin (31.4%) и карбапенеми (23.2%). Нещо повече, това проучване от Турция съобщава за драматично нарастване на карбапенемната резистентност от 0% през 2016г. до 50% през 2020г. сред представителите на *Enterobacter* spp. (Yardimci A, 2022). Сходно проучване на G. De Angelis върху инфекции на кръвта в Италия, докладва по-ниски нива на резистентност в колекция от 309 инвазивни изолати *Enterobacter* spp., получени в периода 2007 - 2015г.: цефалоспорици от трета генерация, 26.3 - 37%; флуорохинолони, 5.3 - 10.3%; gentamicin, 5.3 - 7.2%, но близки нива по отношение резистентността към meropenem (0 - 0.7%) и amikacin (0-1.7%) (De Angelis A, 2018). В допълнение, авторите докладват сигнификантно намаляване на резистентността към цефалоспорици от трета генерация, флуорохинолони и аминогликозиди в проучвания период. По-ниски нива на резистентност в *Enterobacter* spp., изолирани от кръв на пациенти с инфекции на кръвта, се съобщава от S. De Franco и M. A. Pfaller в периода 2012 - 2017г. на база информация от SENTRY Antimicrobial Surveillance Program: резистентност към ceftriaxone, 26.1 - 31.6%; към ciprofloxacin, 14.3%; gentamicin, 8.3%, но близки нива на установените от нас към meropenem (0.4 - 0.7%) и amikacin (2.1%) (Di Franco S, 2021; Pfaller M, 2020). По-високи нива на карбапенемна резистентност в *Enterobacter* spp. (9.47%), се съобщават в голямо Китайско проучване от периода 2012 - 2017г. (Yang S,

2019). Авторите докладват резистентност към цефалоспорици от трета генерация около 40%, към gentamicin - 20-25%, ciprofloxacin и amikacin - под 20%, без да се установяват сигнификантни промени в нивата на резистентност през годините. Също автори от Китай, докладват за периода 2010- 2019г. сигнификантна тенденция за намаляване дела на инвазивните изолати *E. cloacae*, резистентни към цефалоспорици от трета генерация (от 53.8% до 34.3%), към gentamicin (от 38.5% до 17.1%), ceferime (38.5% до 15.7%) и piperacillin/tazobactam (от 23.1% до 8.6%). Макар и без сигнификантен тренд, meropenem (от 7.7% до 10%) и amikacin (от 7.7% до 5.7%) са сред най-активните антибиотици през 10-годишния период (Liu C, 2022). Значителни флукуации в резистентността към различни антибиотични групи в периода 2014 - 2018г. се съобщава от D. Wei за изолати *E. cloacae*, асоциирани с инфекции на кръвта: нарастване през 2017г., последвано от намаляване през 2018 - 2019г., като резистентността към цефалоспорици от трета генерация и карбапенем достига около 40% и 25% респективно (Wei D, 2020).

Противоположно на установеното от нас, в испанско проучване, J. Robledo докладва за увеличаване, макар и несигнификантно, на дела на ceftazidime (от 58.5% до 78%), ceferime (от 75.5% до 82.9%) и imipenem-чувствителните *E. cloacae* (от 88.7 до 89.2%) от кръв, изолирани също в периода 2010 - 2019г. ($p > 0.05$). Делът на карбапенем - резистентните изолати е по-висок от установения от нас и варира между 10.8 и 11.3% за imipenem и между 7.3% и 9.6% за meropenem ($p > 0.05$) (Robledo J, 2022). Висок относителен дял на резистентни *Enterobacter* spp. към различни антибиотици се съобщава и в обширно Иранско проучване, обхващащо периода 1996 - 2021г.: ceftriaxone, 49.3%; ceferime, 43.6%; ciprofloxacin, 35.3%; gentamicin, 42.1%; amikacin, 30.3% и meropenem, 16.2% (Khademi F, 2022). Висок дял на резистентни към цефалоспорици от трета генерация и ESBL-продуциращи *Enterobacter* spp. се съобщава и в други страни от Азия и Африка (Непал, 62%; Нигерия, 37.5%; Етиопия, 50%) (Manandhar S, 2021; Sheu C, 2019; Teklu DS, 2019). Резултатите от настоящото проучване показват, че карбапенемите все още са препарати на избор за лечение на инфекции на кръвта, причинени от ESBL-продуциращи и MDR *Enterobacter* spp. В десет годишния период бе идентифициран само един карбапенем-резистентен изолат *E. asburiae* (отнасящ се към *E. cloacae* комплекса), изолиран през 2017г., продуцент на NDM-1 метало-карбапенемазата. По литературни данни този вид сравнително рядко се доказва като вид с клинично значение, като предимно се асоциира с хемокултури, макар след 2017г. Florio et al. да установяват неговото постепенно увеличаване (De

Florio, 2018). През 2010г. CDC съобщава първия случай на NDM-1-продуциращ *E. cloacae* в пациенти, лекувани по-рано в Индия (David-Regli A, 2023). Изолатът от настоящото проучване демонстрира множествена резистентност (едновременно резистентност към всички бета-лактами, аминогликозиди, ciprofloxacin и colistin). Възникването на такива MDR изолати е особено притеснителен факт заради потенциалния риск от вътреболнична дисеминация. В периода юли 2017г. - до края на 2021г. в УМБАЛ“Света Марина“, Варна, са изолирани четири карбапенем-резистентни *E. cloacae* complex изолата (3 от урина и 1 от фекална проба), идентифицирани като продуценти на VIM метало-карбапенемаза (Ниязи Д, 2022; Savova D, 2023). Въпреки, че видовете *Escherichia* и *Klebsiella* са двата най-проблемни вида по отношение на карбапенемазната и ESBL-продукция в семейство *Enterobacteriaceae* (David-Regli, 2015), в САЩ например карбапенем-резистентните *Enterobacter* spp. са вторите най-чести карбапенем-резистентни *Enterobacteriaceae* (Chavda KD, 2016). Според CDC от 2019г., увеличеното превалиране на карбапенем-резистентни *Enterobacteriaceae*, специално *Enterobacter cloacae* complex, е вече сериозен проблем, свързан с общественото здраве в САЩ (CDC 2019: <https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/threats-report/2019-ar-threats-report-508.pdf>.)

Относително малко са съобщенията, описващи MLST типове сред *Enterobacter cloacae* complex. Първото проучване върху карбапенемаза-продуциращи *E. cloacae* клонове, е извършено от Izdebski върху 173 цефалоспорин-резистентни изолати *E. cloacae* от Израел и няколко Европейски държави. Авторите идентифицират 88 MLSTs, сред които ST78, ST114, ST108 и ST66 са най-чести, като доказаните в проучването KPC-2 и VIM-1 карбапенемази са асоциирани с ST78 и ST114 съответно (Izdebski R, 2015). В контраст на това, карбапенем-резистентният *E. asburiae* изолат от кръв в настоящото проучване, бе идентифициран като ST23. Резултатите от голямо проучване върху карбапенемаза-продуциращи *Enterobacter* spp. от периода 2008-2014г. идентифицира 4 глобални клона - ST114, ST93, ST90, ST78 и докладва VIM карбапенемазата като най-честа, следвана от NDM, KPC, OXA-48 и IMP ензимите (Peirano G, 2018). Макар колекцията от изолати да е представена предимно от *E. xiangfangensis* и *E. hormaechei*, проучването също докладва NDM-продуциращ *E. asburiae* изолат, но от ST435 типа. Установява се също, че макар и по-рядко ST171, ST90, ST105, ST 182 и ST133 се асоциират с карбапенемаза-продуциращи *E. cloacae* (Peirano G, 2018). Проучване на S. Manandhar, обхващащо периода 2016 - 2017г. в Непал върху 127 изолата *Enterobacter* spp., причиняващи инфекции на кръвта в обществото,

докладва карбапенемна резистентност в 3.9%, асоциираща се с OXA-48 и NDM-1 карбапенемази и ST171, ST134 и ST528 типове (предимно *E. xiangfangensis* и *E. hormaechei* (Manandhar S, 2021). Карбапенем-резистентният изолат *E. asburiae* в настоящото проучване продуцира и AmpC цефалоспориноза от EBS семейството (ACT-68). Относително скоро *E. asburiae* е идентифициран като първоизточник на ACT-1 бета-лактамаза (Rottman M, 2002). В този смисъл полученият резултат потвърждава асоциацията на ACT семейството ензими с *E. asburiae*. Високите нива на резистентност в този изолат могат да се обяснят с ко-продукцията на три различни бета-лактамази - NDM-1 карбапенемаза, CTX-M-3 ESBL и ACT-68. В допълнение, изолатът демонстрира резистентност и към colistin, антиминобен агент смятан за един от малкото антибиотици, последно средство на избор за терапия на инфекции, причинени от такива проблемни MDR щамове. Този резултат е в съответствие с проучването на P. Iglesias, публикувано през 2023г. и обхващащо периода 2014 - 2019г., което съобщава за 12% дял на карбапенем - резистентни *Enterobacter* spp. от кръв (*E. xiangfangensis*, *E. hoffmannii*), всички продуценти на OXA-48 карбапенемазата и отнасящи се към високо рисковите и глобално разпространени типове ST 66, 171, 78, отговорни за дисеминиране както на гени, кодиращи резистентност към карбапеними и широкоспектърни цефалоспорини, така и към colistin (*bla*_{OXA-48}, *bla*_{VIM-1}, *bla*_{NDM-1}, *bla*_{NDM-7}, *bla*_{KPC-2}, *bla*_{KPC-3}, *bla*_{KPC-4}, *bla*_{CTX-M-3}, *bla*_{CTX-M-15}, *bla*_{CTX-M-9}, *mcr-9* (Lumbreras-Iglesias P, 2023). В това проучване Iglesias съобщава за резистентност на някои от OXA-48 продуцентите *Enterobacter* spp. и към colistin, медирана от носителството на *mcr-9* гена. В допълнение, други съобщения докладват *E. hormaechei* тип ST133 като карбапенем-резистентен епидемичен и хипервирулентен клон, асоцииращ се също с различни *bla* гени, кодиращи карбапенемази и ESBLs (IMP-1, IMP-4, IMP-26, NDM-1, CTX-M-15, SHV-12), но и с колистинова резистентност (*mcr-9*) (Xu T, 2022; Zhou K, 2023). Няколко проучвания съобщават за по-високо превалиране на колистиновата резистентност в клинични изолати *Enterobacter* spp., отколкото в *E. coli* и *Klebsiella* spp., достигащо 0.7% в глобални проучвания (Binsker U, 2022). В този смисъл разпространението на карбапенамаза продуциращи *E. cloacae* complex, носещи гени, кодиращи резистентност и към colistin, е сериозен проблем, тъй като това са изолати, асоцииращи се често с инвазивни инфекции. От изключителна важност е извършването на адекватен болничен контрол и проучване на тези проблемни за лечение бактерии поради сериозния им потенциал за епидемично разпространение, причиняване на

трудни за контрол вътреболнични епидемии и асоциация с висока смъртност (*Girlich D, 2021*)

Pseudomonas aeruginosa

В 10 - годишния период на изследването чувствителността към следните антипсевдомонадни средства: piperacillin/tazobactam, ceftazidime, карбапенеми, аминогликозиди и флуорохинолони е проучена сред общо 120 кръвни изолата *P. aeruginosa*. Чувствителност на изолатите към gentamicin е определяна до 2019г.

Резистентността към съответните антибиотични групи в намаляващ ред за целия период е както следва: ciprofloxacin, 40% > ceftazidime, 36% > gentamicin, 35.1% > piperacillin/tazobactam, 30.8% > meropenem, 24.2% > amikacin, 23.3%.

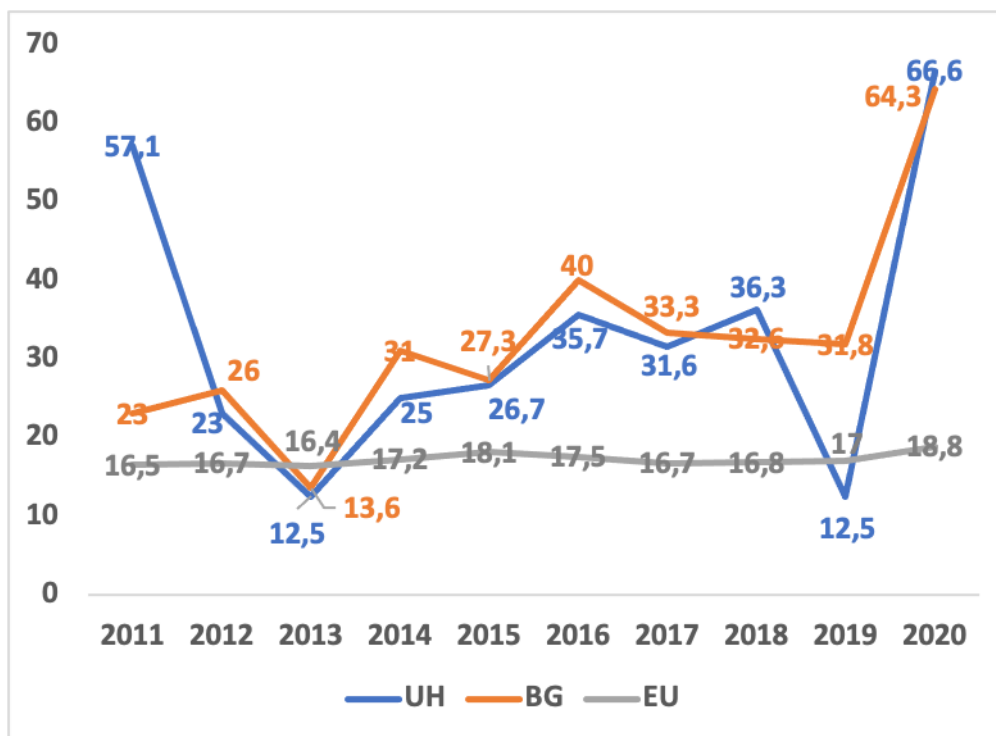
Не се установява статистически значим тренд за увеличение или понижение на резистентността към нито една от мониторираните антибиотични групи в годините от 2011 до 2020г.

Антибиотичната резистентност по години и установената тенденция за 10-годишния период, както и сравнително представяне на резистентността, заедно с националните и средните за Европейския съюз данни в периода 2011 - 2020г. са представени на таблица 19 и фигури 15, 16, 17 и 18.

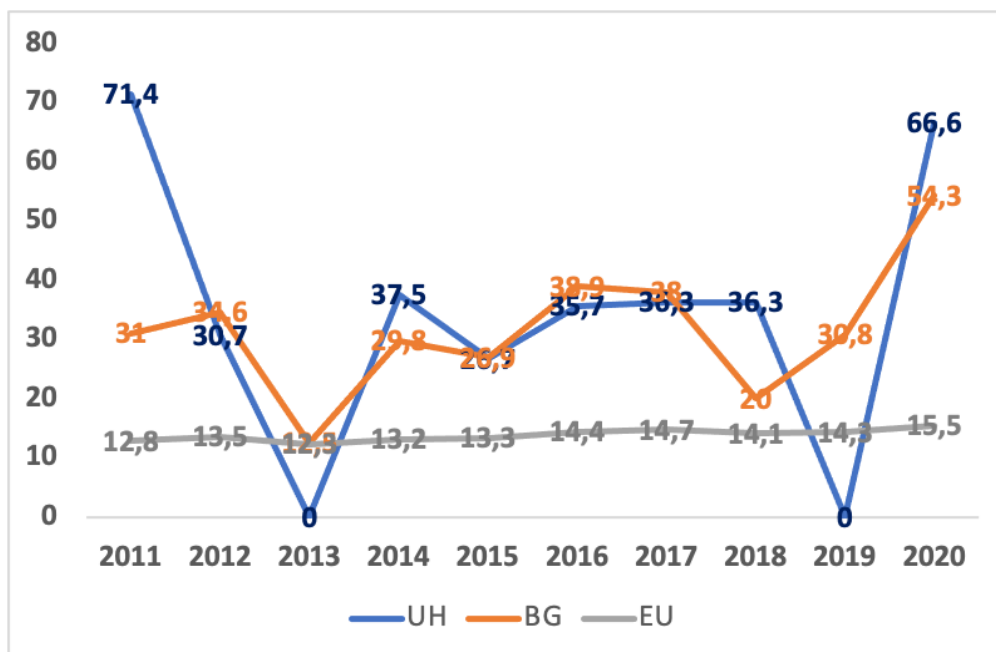
Таблица 19. Резистентност към антимикробни лекарствени средства на изолати *P. aeruginosa* от кръв на пациенти с лабораторно потвърдени инфекции на кръвта в периода 2011 - 2020г.

АБ група	2011-2020		2011		2012		2013		2014		2015		2016		2017		2018		2019		2020		p
	n	%R	n	%R	n	%R	n	%R	n	%R	n	%R	n	%R	n	%R	n	%R	n	%R	n	%R	
piperacillin/tazobactam	120	30.8	7	57.1	13	23.0	16	12.5	8	25.0	15	26.7	14	35.7	19	31.6	11	36.3	8	12.5	9	66.6	0.645
ceftazidime	120	36.0	7	71.4	13	30.7	16	0.0	8	37.5	15	26.7	14	35.7	19	36.3	11	36.3	8	0.0	9	66.6	0.828
карбапеними	120	24.2	7	57.1	13	0.0	16	0.0	8	37.5	15	20.0	14	37.5	19	21.0	11	36.3	8	0.0	9	66.6	0.616
gentamicin*	111	35.1	7	42.8	13	30.7	16	43.8	8	37.5	15	26.7	14	50.0	19	31.6	11	36.3	8	12.5	-	-	0.854
amikacin	120	23.3	7	28.6	13	23.0	16	6.3	8	12.5	15	20.0	14	35.7	19	36.3	11	36.3	8	0.0	9	44.4	0.491
флуорохинолони	120	40.0	7	42.8	13	30.7	16	43.8	8	37.5	15	40.0	14	50.0	19	31.6	11	36.3	8	12.5	9	77.7	0.666

*чувствителността към gentamicin е определяна до 2019г.

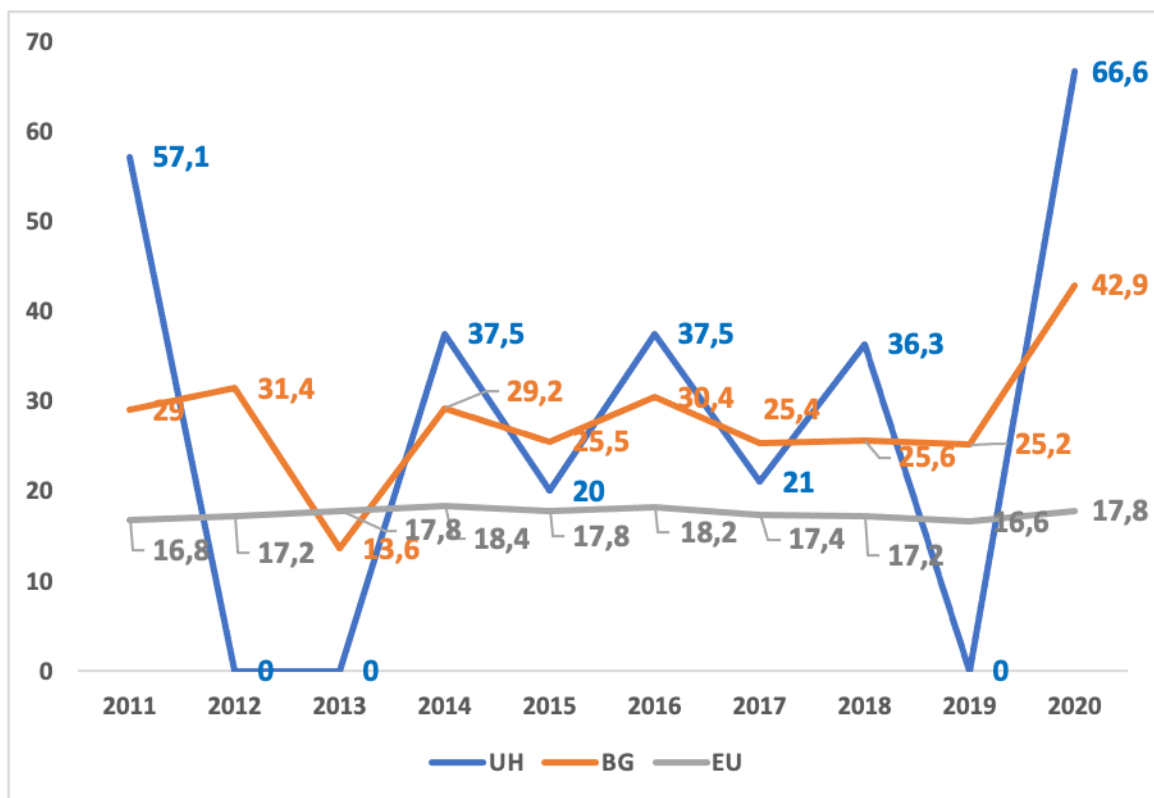


Фигура 15. Сравнително представяне на относителния дял на резистентните към piperacillin/tazobactam *P. aeruginosa*, изолирани от хемокултури в периода 2011-2020г. (в %)*

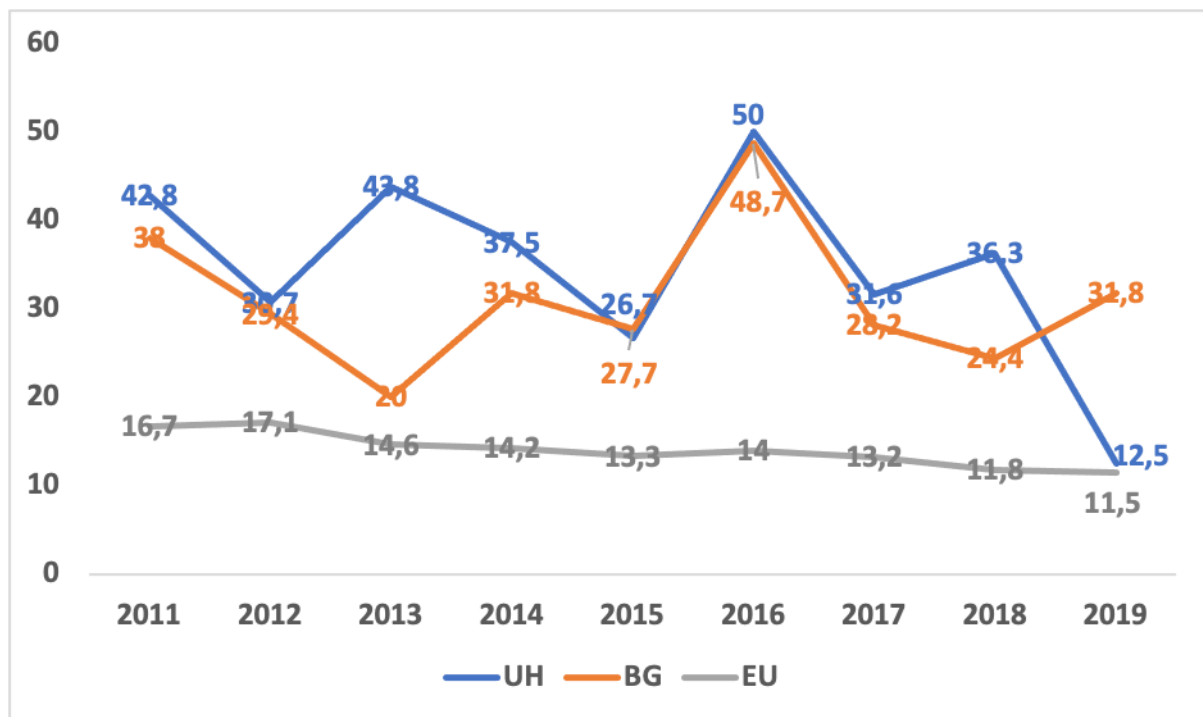


Фигура 16. Сравнително представяне на относителния дял на резистентните към ceftazidime *P. aeruginosa*, изолирани от хемокултури в периода 2011-2020г. (в %)*

* източник за EU и BG: <https://atlas.ecdc.europa.eu/>; <https://ecdc.europa.eu>



Фигура 17. Сравнително представяне на относителния дял на резистентните към карбапенеми *P. aeruginosa*, изолирани от хемокултури в периода 2011-2020г. (в %)*



Фигура 18. Сравнително представяне на относителния дял на резистентните към аминогликозиди *P. aeruginosa*, изолирани от хемокултури в периода 2011-2019г. (в %)*

* източник за EU и BG: <https://atlas.ecdc.europa.eu/>; <https://ecdc.europa.eu>

Обсъждане

P. aeruginosa е един от биохимично най-адаптивните бактериални видове, разпространен широко в околната (почва, вода, растения) и често в болнична среда (респиратори, басейни, мивки, дезинфекционни разтвори, почистващи предмети). Може да бъде открит и по човешката кожа, орална мукоза и гастро-интестинален тракт, особено в продължително хоспитализирани и лекувани с антибиотици пациенти (Wood S, 2023). Заради богатия си арсенал от фактори на вирулентност, *P. aeruginosa*, може да причини много тежки, живота-застрашаващи остри и хронични инфекции, особено при имунокомпрометирани пациенти, водещ етиологичен агент е на инфекции на кръвта и сепсис в неутропенични пациенти и на вътреболнични пневмонии, асоциирани с изкуствена вентилация (Wood S, 2023). *P. aeruginosa* е сред четирите най-чести бактериални патогени в европейските болници, като се асоциира с различни ICU инфекции (уроинфекции, пневмонии и инфекции на кръвта) (Qin S, 2022). В допълнение към тежкия ход на псевдомонадните инфекции, второто предизвикателство е етиологичното лечение на тези инфекции, което понастоящем често е изключително затруднено не само заради вродената, но и придобитата антибиотична резистентност на *P. aeruginosa*, вкл. възникване на мутации и придобиване на резистентност още в хода на провежданата антимикробна химиотерапия (Qin S, 2022; Wood S, 2023)

Карбапенемите са сред антибиотичните групи с изразен антипсевдомонаден ефект, приети като стратегически препарати за лечение, но за съжаление вече с компрометиран ефект и спрямо *P. aeruginosa*. Резистентността на този микроорганизъм към карбапенемни антибиотици се асоциира най-често с ензимния механизъм, свързан с придобиването на *bla* гени, кодиращи карбапенемази от различни класове (VIM, IMP, NDM, GIM, GES, KPC), както и с механизми, водещи до намалена пенетрация или натрупване на антибиотика в бактериалната клетка (загуба на външно мембранни протеини, ефлуксни помпи) или е в резултат на комбинация от механизми (Nordmann P, 2019; Oliveira D, 2020). Скорошни проучвания върху карбапенем-резистентни изолати *Pseudomonas* spp. (вкл. *P. aeruginosa*), получени от пациенти след костно-мозъчна трансплантация в УМБАЛ“Света Марина“, Варна, идентифицират *bla*_{VIM-2} генът като основен механизъм, медиращ резистентността към тази група антимикробни лекарствени средства (Нуязи Д, 2022; Niyazi D, 2023). В проучване от 2022г. върху карбапенем-резистентни изолати *P. aeruginosa*, получени от различни клинични материали на пациенти, хоспитализирани в COVID-19 клиники на болницата

в периода 2019 - 2021г. не се установяват *bla* гените, асоцииращи се най-често с карбапенемна резистентност в този микробен вид, което предполага вероятно наличие на механизми, различни от ензимния (*Savova D, 2023*).

В настоящото проучване дялът на карбапенем-резистентните изолати за 10-годишния период (2011-2020г.) е 24.2%, като проследен в отделните години той е силно вариращ и се движи между 0% през 2012г. и 2013г. до 66.6% през 2020г. без да се установява статистически значим тренд. За същия период националните данни сочат, че дялът на карбапенем-резистентните изолати *P. aeruginosa* нараства от 29% през 2011г. до 42.9% през 2020г., надхвърляйки значително средния дял за Европа, като през 2020г. само за Румъния (43.9%) и Словакия (48.9%) се докладват по-високи нива от тези в България (*ECDC, 2012; ECDC, 2017; ECDC, 2022*). В същия период, средните нива на резистентност към карбапенемни сред инвазивни изолати *P. aeruginosa* в Европа флукуират слабо - между 16.8 и 17.8%, като в периода 2016 - 2020г. се доказва дори статистически значимо намаляване дела на карбапенем-резистентните изолати, тенденция, която продължава и през 2021г. (*ECDC, 2012; ECDC, 2017; ECDC, 2022; ECDC, 2022a*). През 2020г. най-голям е броят на държавите (n=12), в които се установяват нива на карбапенемна резистентност в диапазона 20-30%, а в 8 държави нивата са под 10% (*ECDC, 2022*). Като цяло в Европа за периода 2016 - 2021г., EARS Net съобщава тренд за стабилизиране нивата на антибиотична резистентност в *P. aeruginosa* към основните антипсевдомонадни средства, вкл. и към карбапенемни (*ECDC, 2022; ECDC, 2022a*). Подобни резултати за намаляващ дял на карбапенем-резистентни изолати *P. aeruginosa*, асоцииращи се с инфекции на кръвта, се съобщават и от други проучвания върху кръвни инфекции в периода 2007- 2019г. (*De Angelis G, 2018; Liu C, 2022; Rothe K, 2019*).

В настоящото проучване се установява над 25% резистентност към всички останали антипсевдомонадни агенти [с изключение на amikacin (23.3%)], като най-силно е редуцирана активността на флуорохинолоните, следвани от gentamicin, ceftazidime и piperacillin/tazobactam. За десет годишния период на проучването (2011 - 2020г.) в Европейския съюз средните нива на резистентност към флуорохинолони и аминогликозиди са по-ниски от установените от нас, като се движат между 22.1% и 19.6% за флуорохинолоните и между 16.7% и 9.4% за аминогликозидите със сигнификантен тренд да намаляват в годините. В същия период за България дялът на флуорохинолон-, аминогликозид-, piperacillin/tazobactam- и ceftazidime-резистентните инвазивни изолати *P. aeruginosa* е близък до установения в това проучване, движи се

във високите диапазони на резистентността спрямо по-голямата част от мониторираните Европейски държави, като статистически значим тренд за увеличаване се доказва в периода 2016 - 2020г. за piperacillin/tazobactam (от 40% до 64.3%) (ECDC, 2022). Обратно, за Европа статистически значим тренд за увеличаване на дела на piperacillin/tazobactam резистентните *P. aeruginosa* се доказва в периода 2012 - 2015г. (от 16.7% до 18.1%), без такъв да се установява между 2016 - 2020г. (ECDC, 2012; ECDC, 2017; ECDC, 2017a; ECDC, 2022). В Европейския съюз средните нива на резистентност към ceftazidime също са по-ниски от установените от нас, като варират между 12.8% през 2011г. до 15.5% през 2020г. без да се доказва сигнификантен тренд за увеличение или намаление в годините (ECDC, 2012; ECDC, 2017; ECDC, 2022). Резултатите докладвани от EARS Net за 2020г. отреждат на България първа позиция по дял на ceftazidime- (42.1%) и флуорохинолони - резистентни (52.9%) инвазивни изолати *P. aeruginosa*, втора и трета позиция по дял на piperacillin/tazobactam (42.1%) и аминогликозид-резистентни изолати (32%) (ECDC, 2022).

Acinetobacter baumannii - calcoaceticus complex

В 10 - годишния период на изследването чувствителността към карбапенеми, аминогликозиди, флуорохинолони и trimethoprim/sulphomethoxazole е проучена сред общо 171 кръвни изолата *A. baumannii - calcoaceticus complex*. Резистентността към съответните антибиотични групи в намаляващ ред за целия период е както следва: ciprofloxacin, 88.3% > gentamicin, 82.5% > amikacin, 76.6% > meropenem, 68.4% > trimethoprim/sulphomethoxazole, 67.3%.

В периода 2011 - 2020г. не беше доказан статистически значим тренд към повишаване или намаляване на резистентността към нито една от изследваните антибиотични групи.

Антибиотичната резистентност по години и установената тенденция за 10-годишния период, както и сравнително представяне на резистентността, заедно с националните и средните за Европейския съюз данни в периода 2011 - 2020г. са представени на таблица 20 и фигури 19, 20 и 21.

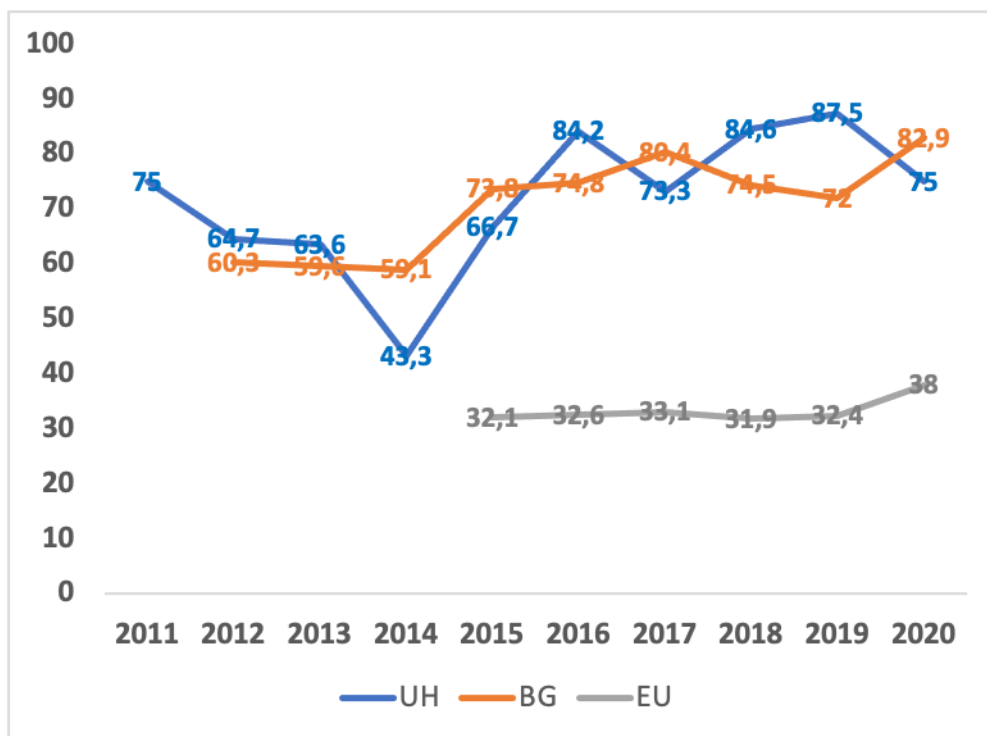
Резистентността към sulbactam, amikacin, gentamicin, tobramycin, ciprofloxacin, trimethoprim/sulphomethoxazole и colistin в групата на карбапенем-резистентните *A. baumannii - calcoaceticus complex*, изолирани в периода 2016 - 2020г. (n=60), представляваща 80% от всички изолирани инвазивни *A. baumannii* в този период е показана на фигура 22. Пет процента (n=3) от тези изолати са резистентни

едновременно към 3 от 6 антибиотични групи (карбапеними, аминогликозиди, хинолони, colistin, sulbactam, triethoprimе/sulphomethoxazole), 31.7% (n=19) - на 4, а 60% (36) - към пет групи препарати.

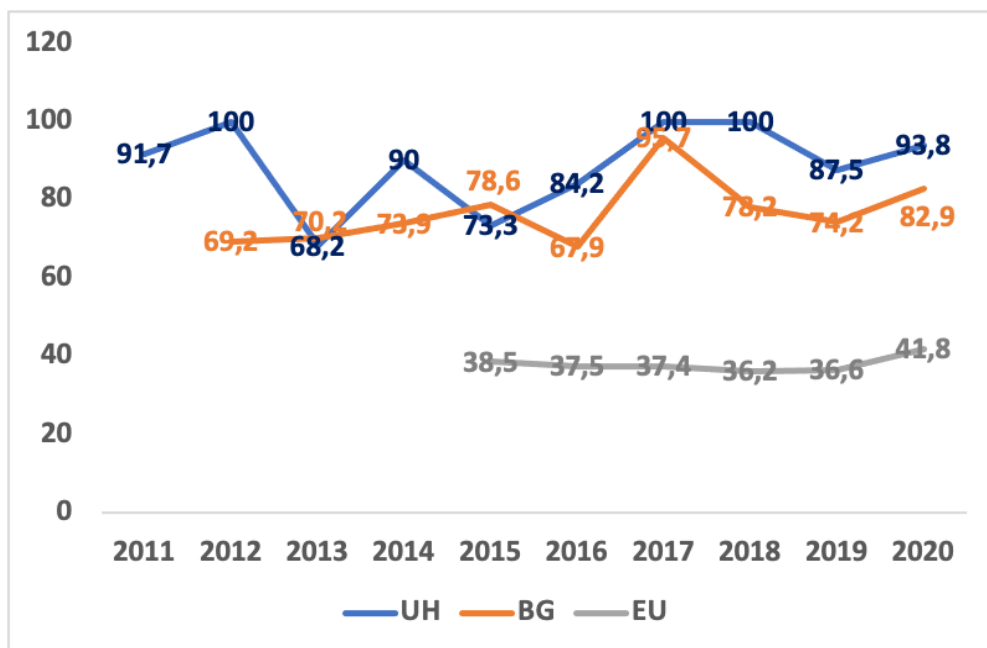
Таблица 20. Резистентност към антимикробни лекарствени средства на изолати *A. baumannii* - *calcoaceticus* complex от кръв на пациенти с лабораторно потвърдени инфекции на кръвта в периода 2011 - 2020г.

АБ група	2011 - 2020		2011		2012		2013		2014		2015		2016		2017		2018		2019		2020		p
	n	%R	n	%R	n	%R	n	%R	n	%R	n	%R	n	%R	n	%R	n	%R	n	%R	n	%R	
карбапеними	171	68.4	12	75.0	17	64.7	22	63.6	30	43.3	15	66.7	19	84.2	19	73.7	13	84.6	8	87.5	16	75.0	0.121
gentamicin	171	82.5	12	83.3	17	88.2	22	59.0	30	76.7	15	73.3	19	84.2	19	100	13	100	8	75.0	16	93.8	0.241
amikacin	171	76.6	12	91.7	17	88.2	22	54.5	30	76.7	15	53.3	19	78.9	19	84.2	13	92.3	8	75.0	16	81.3	0.853
флуорохинолони	171	88.3	12	91.7	17	100	22	68.2	30	90.0	15	73.3	19	84.2	19	100	13	100	8	87.5	16	93.8	0.545
TSM	171	67.3	12	50.0	17	94.1	22	59.0	30	66.7	15	60.0	19	68.4	19	78.9	13	92.3	8	75.0	16	31.3	0.809
Colistin	75*	0.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19	0.0	19	0.0	13	0.0	8	0.0	16	0.0	NA

* изпитване на чувствителността към colistin е извършвано за всички изолати сред 2015г.; **NA**, неприложимо

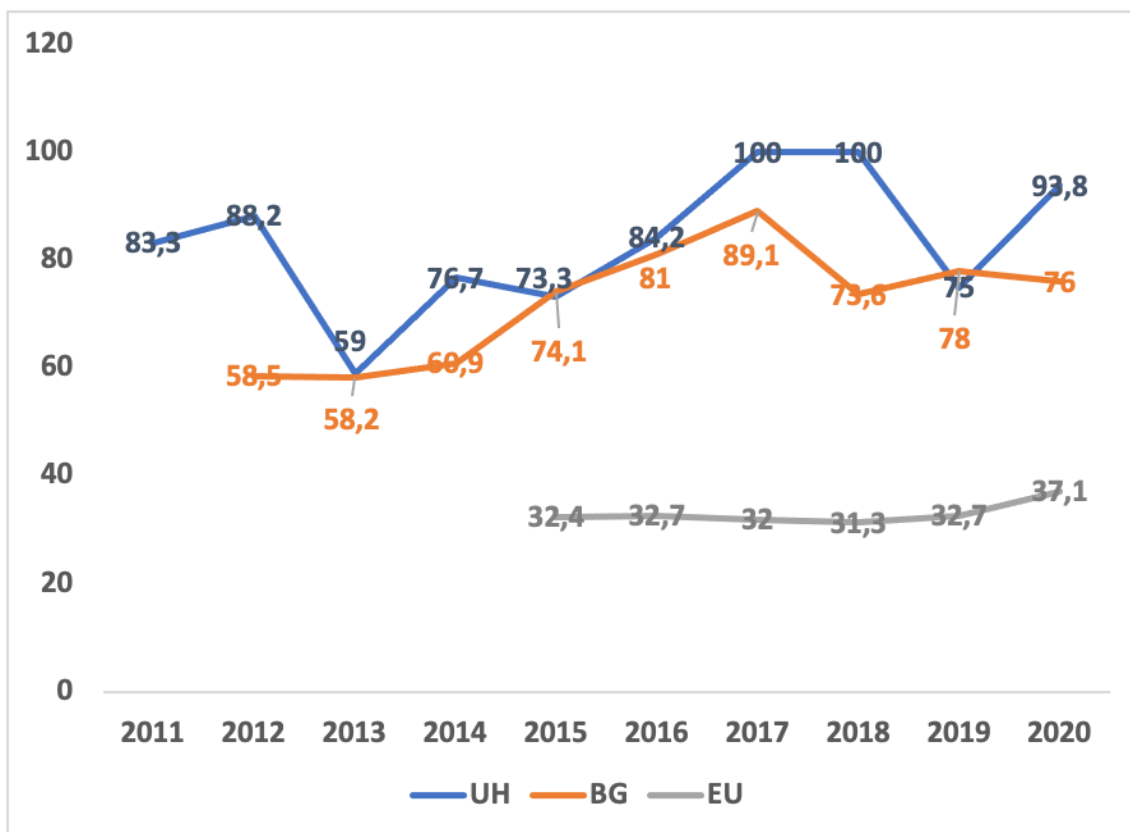


Фигура 19. Сравнително представяне на относителния дял на резистентните към карбапенеми *A. baumannii - calcoaceticus* complex, изолирани от хемокултури в периода 2011 - 2020г. (в %)*



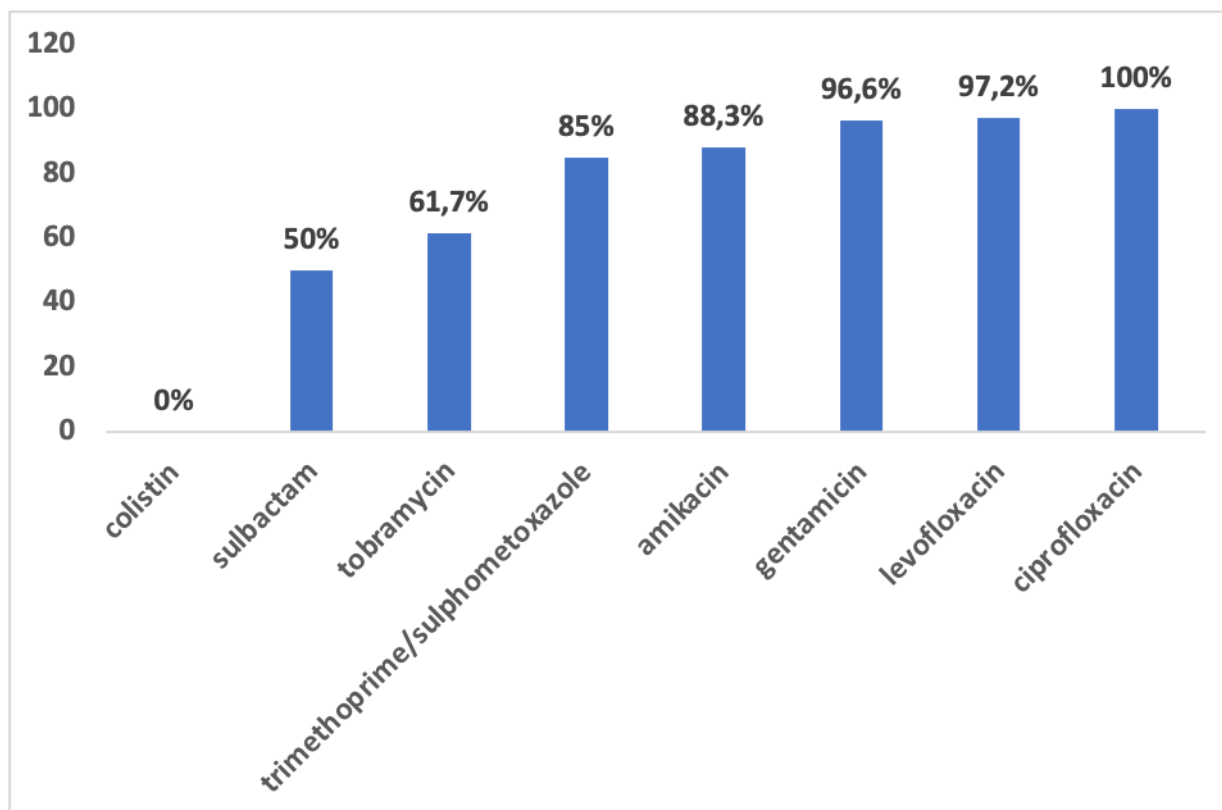
Фигура 20. Сравнително представяне на относителния дял на резистентните към флуорохинолони *A. baumannii - calcoaceticus* complex, изолирани от хемокултури в периода 2011 - 2020г. (в %)*

* източник за EU и BG: <https://atlas.ecdc.europa.eu/>; <https://ecdc.europa.eu> (показаните данни за EU и BG са за изолати *Acinetobacter* spp.)



Фигура 21. Сравнително представяне на относителния дял на резистентните към аминогликозиди *A. baumannii* - *calcoaceticus* complex, изолирани от хемокултури в периода 2011 - 2020г. (в %)*

* източник за EU и BG: <https://atlas.ecdc.europa.eu/>; <https://ecdc.europa.eu> (показаните данни за EU и BG са за изолати *Acinetobacter* spp.)



Фигура 22. Резистентност към антимикробни лекарствени средства на 60 карбапенем-резистентни *A. baumannii - calcoaceticus* complex, изолирани от кръв в периода 2016 - 2020г. (в %)

Генетични механизми на резистентност към карбапенемни антибиотици в карбапенем-резистентни A. baumannii

Видовата идентификация на всички изолати, включени в този анализ, беше потвърдена чрез *gyrB* PCR метода.

Генетичните механизми на карбапенемна резистентност бяха проучени при общо 71 *A. baumannii*, изолирани в периода 2010-2016г., от които, дванадесет изолата от хемокултури и асоциирани с инфекции на кръвта ($n_{2012}=3$, $n_{2015}=3$, $n_{2016}=6$).

За доказване на най-честите ОХА карбапенемази в *A. baumannii* беше използван Multiplex PCR. Всички тествани карбапенем-резистентни изолати бяха положителни за *bla*_{ОХА-51-like} гена, 35 (49.3%) - за *bla*_{ОХА-23-like} гена (от тези - 74.3% ($n=26$) само за *bla*_{ОХА-23-like} и 25.7% ($n=9$) - едновременно и за *bla*_{ОХА-40/24-like}) и 42 изолата (59.2%) - за *bla*_{ОХА-40/24-like} (от тях - 78.6% ($n=33$) само за *bla*_{ОХА-40/24-like}, а 21.4% ($n=9$) - и за *bla*_{ОХА-23-like}). Не бяха детектирани гени, кодиращи други ОХА-карбапенемази, както и метало-карбапенемази. При три карбапенем-резистентни изолата не бяха доказани други гени,

кодиращи карбапенемази, освен intrinsic *bla*_{OXA-51-like}.

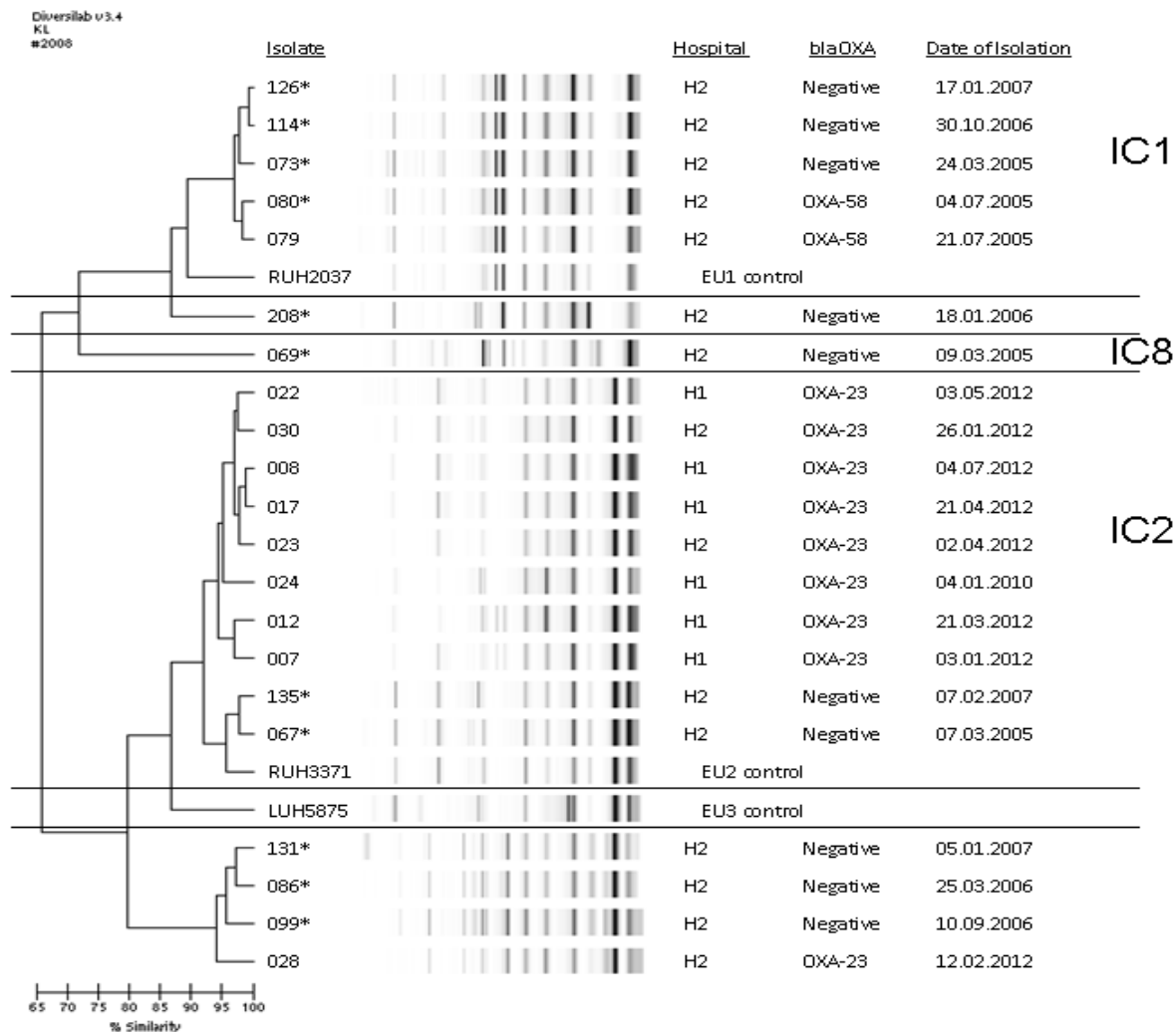
В групата на 12-те карбапенем-резистентни изолата *A. baumannii* от кръв, делът на OXA-карбапенемазите е както следва: OXA-51-like, 100% (n=12); OXA-40/23-like, 75% (n=9); OXA-23-like, 41.7% (n=5), като ко-продукция на OXA-23-like и OXA-40/23-like бе доказана в 16.7% (n=2). *ISAbal* се установи пред *bla*_{OXA-23-like} гена при всички OXA-23 продуценти.

Епидемиологично типизиране на карбапенем-резистентни изолати A. baumannii

Видовата идентификация на всички изолати, включени в този анализ, беше потвърдена чрез *gyrB* PCR метода.

Епидемиологичното типизиране на 67 недублиращи се, карбапенем-резистентни изолата *A. baumannii*, получени в периода 2010 - 2016г., осем, от които, изолирани от хемокултури и асоциирани с инфекции на кръвта, беше извършено чрез *gyrB*PCR за изолатите от 2010г. и 2012г. (n₂₀₁₀=1; n₂₀₁₂=21) и RAPD PCR - за изолатите от периода 2014 - 2016г. (n₂₀₁₄=8; n₂₀₁₅=18; n₂₀₁₆=19). С цел сравнение, в епидемиологичния анализ на изолатите, получени от пациенти през 2010г. и 2012г., бяха включени шамове, репрезентативни за главните интернационални клонове *A. baumannii* (IC 1-8). Изолатът от 2010г. и всички 21 изолата от 2012г., получени от пациенти на КАИЛ (вкл. три от хемокултури) формираха клъстер, демонстрирайки идентичен или близък *gyrB*PCR профил и принадлежност към IC2 (фигура 23, таблица 21).

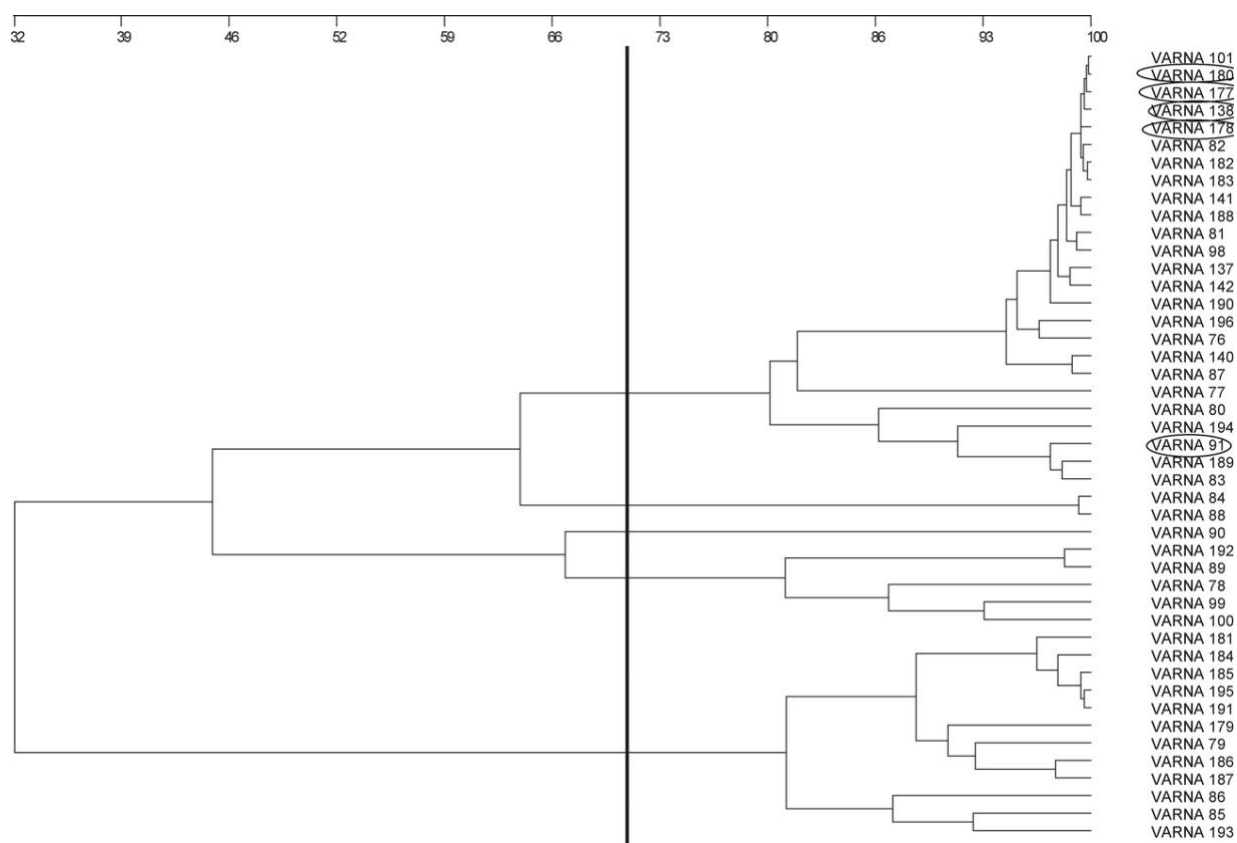
Сред останалите 45 карбапенем-резистентни изолата от периода 2014 - 2016г. (пет от кръв) чрез RAPD PCR бяха идентифицирани 4 клъстера, както следва: Клъстер I (25 изолата, 80% генетично родство); Клъстер II (2 изолата, 80% родство); Клъстер III (5 изолата, 81% родство), Клъстер IV (12 изолата, 98% родство). Един изолат беше интерпретиран като спорадичен, демонстрирайки уникален RAPD профил. Всички пет карбапенем-резистентни изолата, получени от кръв на пациенти, хоспитализирани в три клиники на болницата (КАИЛ, ИНО, Кардиохирургия) в периода 2015 - 2016г. бяха отнесени към клъстер I (фигура 24, таблица 21).



*carbapenem-susceptible

Фигура 23. Дендрограма и герPCR профили на *A. baumannii*, изолирани от клинични материали (вкл. кръв **) на пациенти в УМБАЛ“Света Марина“, Варна (H1) в периода 2010 - 2012г., показваща принадлежност към главните международни клонове (IC).

H1, изолати *A. baumannii*, получени от клинични материали на пациенти от УМБАЛ“Света Марина“, Варна; **H2**, изолати *A. baumannii*, получени от клинични материали на пациенти от МБАЛ“Света Ана“, Варна; ** *A. baumannii* от 03.01.2012г., 21.03.2012г. и 04.07.2012г. са изолати от кръв.



Фигура 24. Дендрограма, показваща степента на сходство между карбапенем-резистентни *A. baumannii*, изолирани от клинични материали (вкл. кръв) на пациенти от УМБАЛ“Света Марина“, Варна в периода 2014 - 2016г. на база на RAPD профили*.

**A. baumannii* с номера 91, 138, 177, 178 и 180 са изолати от кръв.

Таблица 21. Разпределение на карбапенем-резистентни *A. baumannii*, изолирани от кръв според RAPD/repPCR профила, годината на изолиране, клиника, и носителство на гени, кодиращи карбапенемази.

RAPD/repPCR профил	Принадлежност към IC	Карбапенемаза (n)	Година на изолиране (n)	Клиника (n)
A (repPCR) (n=3)	IC2	<i>bla</i> _{OXA-23-like} (n=3)	2012 _{n=3}	КАИЛ _{n=3}
Клъстър I (RAPD PCR) (n=5)	ND	<i>bla</i> _{OXA-40/23-like} + <i>bla</i> _{OXA-23-like} (n=2)	2015 _{n=1} , 2016 _{n=1}	Кардиохирургия _{n=1} ИНО _{n=1}
	ND	<i>bla</i> _{OXA-40/24-like} (n=3)	2015 _{n=1} , 2016 _{n=2}	КАИЛ _{n=3}

Съкращения: ND, неопределен; IC, International Clone; ИНО, Интензивно Нервно Отделение; КАИЛ, Клиника по Анестезиология и Интензивно Лечение.

Обсъждане

Представителите на род *Acinetobacter* са Грам отрицателни, неферментиращи глюкозата опортюнистични микроорганизми, широко разпространени в природата. Понастоящем към рода се отнасят 59 вида (*Vijayakumar S, 2019*), като с най-голямо клинично значение е *Acinetobacter calcoaceticus* - *Acinetobacter baumannii* complex, който включва близките и трудно разграничими с фенотипни методи видове *A. calcoaceticus* (genomic species 1), *A. baumannii* (genomic species 2), *A. pittii* (genomic species 3), *A. nosocomialis* (genomic species 13 TU), *A. seifertii* и *A. dijkschoorniae*. *A. baumannii*, *A. pittii*, *A. nosocomialis*, *A. seifertii* и *A. dijkschoorniae* са видове с медицинско значение, докато *A. calcoaceticus*, често изолиран от почва, не е признат за човешки патоген (*Cosgaya C, 2016; Gerner-Smidt P, 1992; Nemes A, 2015*). От представителите на рода, видът *A. baumannii* е отговорен за около 90% от всички *Acinetobacter* асоциирани инфекции в човешката популация (*ECDC, 2016*). Този вид може да бъде открит в околната среда, но неговото естествено местообитание остава все още неизвестно (*Karah M, 2023*). По-често се изолира от клинични материали и болнична среда, отколкото от естествени източници (*Karah M, 2023; Nguyen M, 2021*). *A. baumannii* е множествоно резистентен опортюнистичен патоген със склонност към клонално разпространение, причиняващ разнообразие от остри нозокомиални инфекции и

взривове, сред които най-чести са пневмонии, свързани с изкуствена вентилация, инфекции на кръвта, но също и уроинфекции, мекотъканни и инфекции на хирургическата рана (Altunes L, 2014; Higgins P, 2010; Vázquez-López R, 2020; Wong D, 2016). Сред най-важните рискови фактори за развитие на *A. baumannii* асоциирани инфекции са престой в интензивна клиника, продължителен болничен престой, хирургически процедури или други травми, много възрастни пациенти, предшестваща антибиотична терапия (особено цефалоспорини от трета генерация и карбапенеми) и процедури, при които се налага използване на „чужди тела“ (изкуствена вентилация, iv и уринарни катетри, дренажни тръби и др.) (Dijkshoorn L, 2007). Макар делът на *A. baumannii* инфекциите да е по-нисък от този на другите ESKAPEEs видове, глобално над 45% от изолатите *A. baumannii* са MDR, с нива надхвърлящи 60% в САЩ, Латинска Америка и Средния Изток и над 90% в Гърция и Турция (Giammanco A, 2017; Xie R, 2018; <https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/threats-report/2019-ar-threats-report-508.pdf>). Тези MDR нива са над 4 пъти по-високи от нивата в *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa* (De Oliveira D, 2020). Аспект във физиологията на *A. baumannii* е способността му да развива много бързо резистентност. Например само от 2011г. до 2016г. делът на карбапенем-резистентните *A. baumannii* се увеличава с над 30% глобално (Xie R, 2018). Така понастоящем *A. baumannii* - инфекциите, обичайно се причиняват от MDR-, XDR или PDR - щамове, феномен, опосредстван от различни ензимни и не-ензимни механизми на резистентност (Abdi S, 2020; Kyriakidis I, 2021; Vázquez-López R, 2020). Особено проблемни за лечение са случаите, в които се доказва карбапенемна резистентност. През 2019г. CDC определя карбапенем-резистентните *A. baumannii* като непосредствена заплаха за общественото здраве (<https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/threats-report/2019-ar-threats-report-508.pdf>).

Карбапенемната резистентност в *A. baumannii* се асоциира предимно с продукцията на карбапенемази (по-рядко не-ензимни механизми), като най-чести са тези от клас D и много по-рядко от класовете A и B (Bush K, 2018; Havenga B, 2022; Higgins P, 2013; Lee CR, 2017).

В последната декада, *A. baumannii* - *calcoaceticus* complex е сред най-често изолираните множествено-резистентни микроорганизми от клинични материали на пациенти, хоспитализирани в УМБАЛ“Света Марина“, като първите карбапенем-резистентни изолати в болницата са доказани през 2009г. от раневи секрети, но представени само като единични изолати (непоказани данни). В настоящото проучване върху 171 изолата *A. baumannii* - *calcoaceticus* complex от кръв, за проследявания десет-

годишен период се установяват много високи нива на резистентност (над 60%) практически към всички антибиотични групи (карбапенеми, аминогликозиди, флуорохинолони и trimethoprim/sulphomethoxazole), като особено засегнати са флуорохинолоните (88.3%) и аминогликозидите (76.6 - 82.5%), следвани от карбапенемите (68.4%). Нещо повече, 100% от карбапенем-резистентни изолати от периода 2016-2020г. са с характеристика на MDR, а 60% от тях са XDR (чувствителни единствено на colistin), което потвърждава факта, че карбапенемната резистентност в *A. baumannii* сама по себе си се асоциира с изключително проблемно лечение на съответната инфекция поради липсата на терапевтични алтернативи.

По данни на EARS Net макар за периода 2016 - 2020г. в Европа да не се установяват статистически значими тенденции, свързани с резистентността към мониторираните антибиотични групи в *Acinetobacter* spp., през 2020г. е налице увеличение на средната за Европа карбапенемната резистентност до 38% в сравнение с предходните четири години (2016 - 2019г.) (между 32.6 - 32.4%), а за 2021г. тези нива достигат 39.9%, което резултира в статистически значим тренд за увеличение в периода 2017 - 2021г. (ECDC, 2022; ECDC, 2022a). В продължение на тенденциите от предходни години (Ayobami O, 2020), през 2021г. най-високи нива на резистентност към карбапенеми се доказват в страни от Южна и Източна Европа (Хърватия, 99.5%; Гърция, 96.9%; Латвия, 96.1%; Румъния, 93.5%; Кипър, 92.1%; Италия, 86.9%; Унгария, 83%; Полша, 82.7%; България, 77.9%), докато тези в страните от Западна и Северна Европа остават под 10% (ECDC, 2022a). Освен много голямото нарастване в броя на рапортуваните изолати *Acinetobacter* spp., както през 2020г., така и през 2021г., за 2021г. EARS Net съобщава и удвояване (+121%) на инвазивните изолати *Acinetobacter* spp., резистентни към всяка от трите антибиотични групи (карбапенеми, аминогликозиди, флуорохинолони) в сравнение със средното за периода 2018 - 2019г., като най-голямо е увеличението на карбапенем-резистентните изолати (48%). В допълнение, най-голям ръст на резистентността се установява за страните, които традиционно са съобщавали висока нива на резистентност преди 2020г., което потвърждава трайно влошаващата се ситуация с *Acinetobacter* spp. в последните две години, явяваща се и резултат от COVID-19 пандемията (ECDC, 2022a). В съответствие с установеното от настоящото локално проучване, в периода 2012 - 2020г. за България се докладват повишаващи се нива на резистентност в много високите диапазони едновременно към флуорохинолони (от 69.2% до 82.9%), аминогликозиди (от 58.5% до 76%) и карбапенеми (от 60.3% до 82.9%) (ECDC, 2015; ECDC, 2018;

ECDC, 2022). В синхрон с установените локални тенденции в това проучване, в Европа също много често доказван фенотип на резистентност в *Acinetobacter* spp. е комбинираната резистентност едновременно към всички мониторираните антибиотични групи (флуорхинолони, аминогликозиди и карбапенеми) - средно 36.8% за 2021г. (между 0.0% и 98.3% според географския регион), като е налице сигнификантен тренд за увеличаването ѝ в периода 2017-2021г. (ECDC, 2022a). През 2020г. най-висок относителен дял на MDR *Acinetobacter* spp. с резистентност едновременно към трите антибиотични групи се установява в Хърватия (95.1%), Гърция (90.8%), Румъния (88.8%) и Литва (86.7%). В България през 2020г. този дял също значително надвишава средния за Европа (34%), като достига 72.9% (ECDC, 2022).

През първите две години на COVID-19 пандемията, ECDC съобщава голямо намаление в консумацията на антибиотиците за системна употреба, особено в обществото и по-малко в болничния сектор, където се наблюдава увеличена консумация на стратегически антибиотици и в частност карбапенеми (ECDC, 2022). За 2020г. и 2021г. България е страната с една от най-високите тотални антибиотични консумации (болнична и в обществото) (22.7 - 24.4 DDD/1000 население на ден срещу средно 16.4 DDD/1000 население на ден за Европа), като в болничния сектор това е страната с най-висока консумация на стратегически антимикробни средства (62.6 - 70 DDD/1000 население на ден срещу средно 38.6 - 40.3 DDD/1000 население на ден за Европа), както и единствената страна през 2021г. сред 29 мониторираните държави, в която се доказва статистически значим тренд за увеличаване на антибиотичната консумация, както болнична, така и в обществото (ECDC, 2022a). Тези факти естествено корелират с много високите нива на резистентност сред мониторираните от EARS Net микробни видове в България, вкл. *Acinetobacter* spp., най-високи за някои комбинации „бактериален вид-антибиотична група“ сред всички Европейските държави. Връзката между болничната карбапенемна консумация и нивата на карбапенемна резистентност в *Acinetobacter* spp. е доказана в множество проучвания (Ayobami O, 2020). Извън антибиотичната употреба обаче, и други потенциални фактори като неефективната организация на мероприятията по контрола на инфекциите и предоставянето на здравни грижи, както и климатични и социално-икономически условия също са от значение (Ayobami O, 2020).

Подобно на установеното в това проучване и в потвърждение на данните от EARS Net, GLASS също съобщава висок дял на инфекции на кръвта, причинени от карбапенем-резистентни *Acinetobacter* spp. за 2019г. на база изолати от 70 държави в

целия свят - 65.5% (GLASS, 2021) Базата данни на SENTRY Antimicrobial Surveillance Program дава информация за сходен дял на карбапенем-резистентни *A. baumannii* изолати от инфекции на кръвта - между 57.5% и 59.6%, както и висок дял на резистентни към хинолони (62%), аминогликозиди (43.8 - 55.3%) и colistin (7.9%) (Di Franco, S, 2021). Скорошно глобално проучване, включващо инвазивни и не-инвазивни карбапенем-нечувствителни изолати *Acinetobacter baumannii* complex, доказва значително по-висок дял на тези изолати в азиатско-тихоокеанския регион (~ 79%), Латинска Америка (~ 85%) и Северна Америка (~ 45%) в сравнение със средните за Европа (Gales A, 2019).

Изключително неблагоприятната тенденция за нарастващ дял на карбапенем -, MDR и XDR инвазивни изолати *A. baumannii* в последната декада се установява и от множество едноцентрови, многоцентрови, ретро- и проспективни проучвания в различни държави: Италия (94.2% MDR и карбапенемна резистентност; от 83.3% до 100% MDR *A. baumannii*), Гърция (>90% карбапенемна резистентност), Турция (от 61.8% до 90.4% карбапенем-резистентни *A. baumannii*), Китай (от 79.5% до 91.3% карбапенем-резистентни *A. baumannii* и >70% MDR изолати), Южна Корея (>90% карбапенемна резистентност), Южна и Югоизточна Азия (>50% карбапенем-резистентни *A. baumannii* в повечето болници, особено ICUs) (De Angelis G, 2018; De Socio G, 2019; Hsu L, 2017; Jarlier V, 2019; Liu C, 2019; Liu C, 2022; Yardimci A, 2022). Трябва обаче да се отбележи, че има и съобщения, които рапортуват тренд за намаляване дела на карбапенем-резистентните *A. baumannii* от кръв в последната декада, макар стойностите да остават във високия диапазон (Китай, от 65.5% до 56.0%), както и съобщения за много нисък относителен дял на карбапенем-резистентни и MDR *A. baumannii*, асоциирани с инфекции на кръвта в същия времеви период (Германия, MDR - от 0.0 до 6.1%; карбапенемна-резистентност - от 0.0 до 8.6%) (Schöneweck F, 2021; Yang S, 2019).

По настоящем шест основни групи карбапенемази, отнасящи се към клас D, се асоциират с възникването и разпространението на карбапенемна резистентност в *A. baumannii* - вродената OXA-51-like, OXA-23-like, OXA-24/40-like, OXA-58-like, OXA-235-like и OXA-143-like (Abouelfetouh A, 2019). В настоящото проучване, OXA-24/40-like и OXA-23-like карбапенемазите (100% асоциирани с ISAbal), бяха доказани като основен механизъм на карбапенемна резистентност. Логично, intrinsic bla_{OXA-51-like} беше идентифициран във всички тествани изолати. В синхрон с получените резултати, bla_{OXA-23-like} генът е докладван като повсеместно разпространен и най-чест (Северна

Америка, Индия, страните от азиатско-тихоокеанския регион, Южна Корея, Европа) (Al-Hassan L, 2021; Evans B, 2014; Hamidian M, 2019; Hammoudi D, 2015; Nguyen M, 2021; Moubareck C, 2020; Mugnier P, 2010; Nordmann P, 2019; Ramirez M, 2020; Santimaleeworagun W, 2016; Valcek A, 2022; Wibberg D, 2018). Този ген за първи път е описан през 1985г. в изолат *A. baumannii* от Шотландия, скоро след въвеждането на карбапенемите в употреба (Paton R, 1993). Инсерционни последователности [ISAbal и ISAbal1 (най-широко разпространена и уникална за *A. baumannii*)], локализирани пред *bla_{OXA-23}* гена, са свързани с неговата експресия (Peleg A, 2008; Ramirez M, 2020; Sen B, 2016). Продукцията на OXA-23-like е най-честият механизъм, медиращ карбапенемната резистентност в изолати *A. baumannii* и в няколко проучвания от Балканския регион (Хърватия, Гърция, Румъния, Турция, България), както и в EURECA проучването (67.7%), обхващащо изолати от 10 страни (Албания, Хърватия, Косово, Гърция, Италия, Черна гора, Румъния, Сърбия, Испания и Турция) в периода 2016 - 2018г. (Bonnin R, 2011; D'Onofrio V, 2020; Karampatakis T, 2017; Kostyanov T, 2021; Palmieri M, 2020; Petrova A, 2017; Pfeifer Y, 2017; Strateva T, 2012; Zeka A, 2014). OXA-23 карбапенемаза е идентифицирана като водещ механизъм на резистентност (96.4%) и сред голяма колекция от карбапенем-резистентни изолати от Средиземноморския регион (Израел, Гърция и Италия) (Frenk S, 2022). За България първото съобщение за OXA-23 продуциращи карбапенем-резистентни *A. baumannii*, е направено през 2008г., при проучване на 29 карбапенем-резистентни изолати от пациенти, хоспитализирани в периода 1999 - 2006г. (Stoeva T, 2008). Това проучване идентифицира ISAbal1-*bla_{OXA-23}* гена като основен механизъм на карбапенемна резистентност, което се потвърждава и от настоящите резултати.

Трябва да се отбележи, че в редица географски региони OXA-23 карбапенемазата е идентифицирана едновременно продуцирана с други карбапенемази в клинични изолати *A. baumannii*: OXA-23 и GES-11 (Ливан, Кувейт, Судан); OXA-23 и NDM-1 (Индия, Судан); OXA-23 и OXA-58 (Тунис, Судан); OXA-23, OXA-58 и NDM-1 (Судан); OXA-23, VIM-2 и NDM-1 (Тайланд) (Al-Hassan L, 2021; Hammoudi D, 2015; Kumar S, 2019; Mathlouthi N, 2018; Santimaleeworagun W, 2016; Zhu L, 2019). Проучване на Ниязи от 2022г. върху бактериални инфекциозни усложнения при пациенти след костно-мозъчна трансплантация, идентифицира карбапенем-резистентен изолат *A. baumannii* от кръв, притежаващ едновременно *bla_{OXA-51-like}*, *bla_{OXA-23-like}*, *bla_{OX24/40}*, *bla_{OXA48-like}* и *bla_{VIM-like}* гени, резултат, който потвърждава генетичната пластичност на този бактериален вид, даваща му възможност да се възползва от многообразието на

механизмите на резистентност в условията на висок селективен антибиотичен натиск (Ниязи Д, 2022; Fournier P, 2006). В синхрон с тези съобщения, настоящото проучване също идентифицира в 12.7% ко-продукция на OXA-23-like и OXA-24/40-like. В допълнение на това, *bla*_{OXA-24/40-like} беше идентифициран в 59.2% от карбапенем-резистентните изолати. Исторически *bla*_{OXA-24/40-like} генът първоначално е доказан хромозомно локализиран в карбапенем-резистентен изолат *A. baumannii* от Испания (Poirel L, 2010). Понастоящем *bla*_{OXA-24/40-like} карбапенем-резистентни *A. baumannii* са идентифицирани повсеместно, включително свързани с вътрешболнични взривове (Afzal-Shah M, 2001; Chen Y, 2018; Huang L, 2013; Kuo S, 2018; Nasiri M, 2020; Pailhories H, 2016; Poirel L, 2010; Sari A, 2013; Todorova B, 2014). Първият български OXA-24-like продуциращ *A. baumannii* е доказан през 2012г. (Todorova B, 2014). По-късно OXA-24/40-like продуциращи *A. baumannii* в България са идентифицирани като продуценти на OXA-72 карбапенемаза (Pfeifer Y, 2017). Този ензим е сред най-често докладваните карбапенемази от OXA-24/40-like групата. Така например, около 30% от изолатите в EURECA проучването, предимно от Сърбия, са положителни за *bla*_{OXA-72} (Kostyanev T, 2021). Тази карбапенемаза за първи път е съобщена за Балканския регион в Сърбия през 2016г., а през 2017г. и в България (Dortet L, 2016; Pfeifer Y, 2017). *Bla*_{OXA-72} е идентифициран и сред карбапенем-резистентни изолати в Хърватия, Латвия, Бразилия (Franelić-Kukina I, 2011; Povilonis J, 2013; Vasconcelos A, 2015), Тайван, Китай, Колумбия, САЩ, Франция, Полша, Италия, Швеция (Lin M, 2014), Белгия (Valcek A, 2022), Германия (Pfeifer Y, 2016). Сходни на получените резултати от настоящото локално проучване, се съобщават и от Lukovic et al. в първото многоцентрово проучване върху 237 карбапенем-резистентни *A. baumannii* в Сърбия (43 изолата, асоциирани с инфекции на кръвта): *bla*_{OXA-24-like} се идентифицира в 44.2%, *bla*_{OXA-23-like} в 34.5%, а едновременно присъствие на *bla*_{OXA-24-like} и *bla*_{OXA-23-like} в два изолата. Проучването идентифицира и 7 карбапенем-резистентни изолата, носители едновременно на *bla*_{OXA-24} и *bla*_{NDM-1} (7.2%) (Lukovic B, 2020). В проучване от Полша, OXA-24-like (OXA-72) също се доказва като основен механизъм на карбапенемна резистентност (64%), следван от OXA-23 (23%) и OXA-58 (10.2%) (Słoczyńska A, 2021).

Освен плазмидно кодираните оксацилинази с карбапенемазна активност от групата на OXA-23-like и OXA-24/40-like, в *A. baumannii* са идентифицирани и карбапенемази от групите OXA-58-like, OXA-143-like и OXA-235-like (Higgins P, 2013; Mathlouthi N, 2018; Sarikhani Z, 2017). OXA-58 генът за първи път е доказан през 2003г. в изолат от Франция, локализиран на плазмид (Poirel L, 2005). Подобно на *bla*_{OXA-23-like},

експресията му също се асоциира с инсерционни последователности (ISAbal, ISAbal2, ISAbal3, ISAbal8) (Ramirez A, 2020). В научната литература има описани вътреболнични взривове в Европа, САЩ, Южна Америка, Австралия, Африка и Азия (Тайланд), причинени от OXA-58-like продуциращи *A. baumannii* (Bertini A, 2007; Heritier C, 2005; Merkier A, 2008; Poirel L, 2008; Poirel L, 2010; Ramirez M, 2020; Sevillano E, 2012; Valcek A, 2022). В България bla_{OXA-58} също е доказван, но само в единични изолати *A. baumannii* (Stoeva T, 2009). Противно на тенденцията за домиране на OXA-23-like и OXA24/40-like като механизъм на карбапенемна резистентност в *A. baumannii*, Novovic et al. съобщават, че над 1/3 от тестваните карбапенем-резистентни изолати, получени от педиатрични пациенти са положителни за bla_{OXA-58-like} (Novovic K, 2015). Макар bla_{OXA-58-like} да се доказва в страни от Балканския регион, неговото превалиране е само около 3% (Franolić-Kukina I, 2011; Lukovic B, 2020; Novovic K, 2015; Pournaras S, 2017). В настоящото проучване не бяха доказани bla_{OXA-58-like} положителни изолати, което е в синхрон с други проучвания, доказващи шифт от OXA-58-like към OXA-23-like и OXA-24/40-like продукция в *A. baumannii* (Adams-Haduch J, 2011; Djahmi N, 2014; Liakopoulus A, 2012; Pournas S, 2017; Rosales-Reyes R, 2017; Schleicher X, 2013; Wang T, 2018). OXA-143-like и OXA-235-like карбапенемазите също са докладвани като асоциирани с вътреболнични взривове в няколко държави, но понастоящем те не се смятат за водещи причини за карбапенемна резистентност в *A. baumannii* (Hamidian M, 2019; Rodriguez C, 2018), което се потвърждава и от получените от нас резултати.

Макар и рядко карбапенемната-резистентност в *A. baumannii* се медира и от продукцията на карбапенемази от клас А (GES-11, KPC-2, KPC-3, KPC-3), като такива изолати са докладвани в Ливан, Пуерто Рико, Португалия и Бразилия (Caneiras C, 2018; Hammoudi D, 2015; Lima W, 2019; Moubareck C, 2009; Ribeiro P, 2016; Robledo I, 2010). Подобна е ситуацията и с метало-карбапенемазите (NDM-1, NDM-6, VIM, GIM, SIM, IMP): за разлика от семейство *Enterobacteriaceae*, тези ензими също не са често идентифицирани в *A. baumannii* (Da Silva G, 2016), макар и доказвани в редица региони на света (Европа, Азия, Африка, Южна Америка, Тунис, Иран, Ливан, Саудитска Арабия, Турция) (Aghamiri S, 2016; Beigverdi R, 2019; Bonnin R, 2012; Chen Y, 2011; Djahmi N, 2014; El-Mahdi T, 2017; Girija S, 2018; Gholami M, 2018; Jaidane N, 2018; Lukovic B, 2020; Ramadan R, 2018; Rezaei A, 2018; Salloum T, 2018; Shakibaie M, 2017; Villacis J, 2019; Xanthopoulou K, 2020). В настоящото локално проучване не бяха доказани карбапенем-резистентни изолати, продуценти на клас А или клас В карбапенемази.

Разпространението на MDR *A. baumannii* е широко асоциирано със специфичната му склонност за клонално разпространение, като днес са известни девет интернационални клона (IC 1-9), циркулиращи глобално, от които IC2 е широко разпространен на различните континенти (*Higgins P, 2010*), докато други, като IC5 и IC4, са доказани предимно в Латинска Америка (*Bansal G, 2020; Brito B, 2022; Graña-Miraglia L, 2020; Higgins P, 2010; Jones C, 2015; Mateo-Estrada V, 2021; Pournas S, 2017; Seifert H, 2020; Tomaschek F, 2016*). В допълнение, MDR и карбапенем-резистентните *A. baumannii* са известни и със склонността си да причиняват трудно контролируеми вътреболнични взривове, като такива са доказвани в САЩ, Канада, Южна Америка, Европа, Африка, Средния Изток, Югоизточна Азия и Австралия (*Dandachi I, 2019; Hamidian M, 2019; Valencia-Martín, R, 2019; Wareth G, 2020*).

Доказването на много висок относителен дял на карбапенем - и MDR - *A. baumannii* - *calcoaceticus* complex в УМБАЛ“Света Марина“ в периода 2011-2020г. поставя въпроса доколко изолатите са генетично свързани. С цел изясняване на молекулярната епидемиология на репрезентативни изолати *A. baumannii* (сред които и такива, асоциирани с инфекции на кръвта), бяха използвани *gerPCR* и *RAPD PCR*. Получените резултати ясно демонстрират вътреболнична дисеминация в периода 2014-2016г. на клонално-свързани ОХА-карбапенамаза продуциращи MDR изолати, групирани в 4 клъстера, два, от които доминиращи и персистиращи в рамките на три години (2014 - 2016г.), като в клъстер I попадат 55.6% от изолатите, вкл. изолатите от кръв на пациенти, хоспитализирани в три различни клиници на болницата. Получените резултати демонстрират способността на *A. baumannii* веднъж попаднал в болничната среда, да персистира продължително време в нея, причинявайки вътреболнични инфекции и взривове. Изключителната устойчивост на изсушаване и дезинфектанти, заедно с комплекс от фактори на вирулентност (биофилм продукция, AbOmpA протеин, др.) позволяват на този микроорганизъм да персистира жизнеспособен продължително време върху сухи повърхности (до 4 месеца) и в болничната среда (*Nguyen M, 2021*). Именно тази особеност допринася в огромна степен за клоналното разпространение на изолатите и предразполага трансмисията от човек на човек и контаминацията на околната среда (*Higgins P, 2010*). Получените резултати подкрепят предишни и скорошни проучвания, демонстриращи успешна дисеминация и ендемичност на определени карбапенем-резистентни клонове *A. baumannii*, продуциращи ОХА-23, ОХА-40/24 и ОХА-58 карбапенамази (вкл. IC2), асоциирани с вътреболнични инфекции и взривове (инфекции на кръвта, VAP и др.) и в други

български болници (Stoeva T, 2008; Stoeva T, 2009; Pfeifer Y, 2017; Stratev A, 2020). Може да се предположи, че внасянето и разпространението на няколко клона води до паралелно протичащи взривове и поликлонална ендемичност в болницата, подобно на съобщено от други автори (Marchaim, D, 2007). Проучване на V. Mateo-Estrada, обхващащо 10-годишен период (2007-2017) в Мексиканска болница идентифицира едновременно, продължително съществуване на 4 линии MDR *A. baumannii* (ST417, ST208, ST136, ST369), принадлежащи към IC2 и всички доказани в няколко клиники на болницата (Mateo-Estrada V, 2021).

Резултатите от епидемиологичното типизиране на 21 изолата от 2012г. и един от 2010г., всички от КАИЛ, получени от пациенти с инфекции с различна анатомична локализация, включително инфекции на кръвта, доказва продължителен вътреболничен взрив, асоцииран с ОХА-23 продуциращ IC2 и неговото трайно персистиране с характеристика на ендемичност в тази болнична структура. Понастоящем IC2 е най-широко разпространения международен клон, глобално доказван сред всички секвенирани *A. baumannii* геноми (Levy-Blitchtein S, 2018; Seifert H, 2020; Valcek A, 2022). Редица проучвания доказват дисеминацията на ОХА-23 продуциращи карбапенем-резистентни *A. baumannii*, принадлежащи към IC2 в различни страни, вкл. в много Балкански държави (Al Atrouni A, 2016; Castanheira M, 2014; Dandachi I, 2019; Eigenbrod T, 2019; Hamidian M, 2019; Higgins P, 2010a; Kostyanov T, 2021; Müller C, 2019; Tomaschek F, 2019; Zarrilli R, 2013). Например, Костянев съобщава, че сред 228 карбапенем-резистентни изолати *A. baumannii*, получени от кръв на пациенти, хоспитализирани в 10 държави (Албания, Хърватия, Гърция, Италия, Косово, Черна гора, Румъния, Сърбия, Испания, Турция) в периода 2016 - 2018г., ST2 (IC2) е най-разпространеният, доказан в 67.7%, като се асоциира най-често с ОХА-23 карбапенамазата (60%), но също и с ОХА-24 и ОХА-72 ензимите (Kostyanov T, 2021). Същото проучване идентифицира още 11 STs, сред които ST1, ST492 и ST636 (Kostyanov T, 2021). В допълнение и в синхрон с получените резултати, *bla*_{ОХА-23} положителни карбапенем-резистентни *A. baumannii* IC2 също са идентифицирани като водещи причинители на инфекции на кръвта в интензивна клиника в Италия (Cherubini S, 2022). Подобно, скорошно проучване в 4 болници в Судан, макар да доказва изолати *A. baumannii*, принадлежащи към IC1, IC5 и IC9, установява пълно доминиране на IC2 (88%), асоцииран с ОХА-23 карбапенамаза, вкл. за изолати асоциирани с инфекции на кръвта, персистиращи в периода 2016 - 2018г. и свързани с междуболнична дисеминация на този клон (Al-Hassan L, 2021). Автори от

Балканския (вкл. България) и Средиземноморския регион (Гърция, Италия, Ливан и Турция), съобщават ST2 (IC2) като ендемичен и също асоцииран с множество вътреболнични взривове (*Di Popolo A, 2011; Gogou V, 2011; Stratev A, 2020*). Скорошни епидемиологични проучвания върху карбапенем-резистентни изолати *A. baumannii* (сред тях и изолати от кръв) от различни болници в Гърция демонстрират доминацията на OXA-23 продуценти от IC2 (80.9%) и в много по-малка степен IC1 (*Palmieri M, 2020; Pournas S, 2017*). Подобно, автори от Сърбия, анализирайки 237 карбапенем-резистентни изолата *A. baumannii* (17.7% изолати от кръв) също демонстрират широка междуболнична дисеминация на OXA-72 или OXA-23 продуциращ IC2, представен от ST2 и ST492 (вариант на ST2), но и на ST636 (вариант на ST2), асоцииран с OXA-72 карбапенемазата (*Lukovic B, 2020*). В контекста на ST636, скорошно проучване върху български карбапенем-резистентни изолати *A. baumannii* от 2018-2019г., също идентифицира щам с принадлежност към този тип, но ко-продуциращ OXA-23 и OXA-72, много близък до изолати *A. baumannii* от Унгария и Румъния (*Strateva T, 2023*). Същото проучване потвърждава и присъствието на OXA-23 продуценти в Българските болници, принадлежащи към ST2 (IC2) (*Strateva T, 2023*). Широко мащабно проучване върху 247 изолата (34.8% асоциирани с бактериемии) от 6 болници в Гърция, Израел и Италия в периода 2013-2017г., потвърждава IC2, асоцииран с OXA-23 ензима, като повсеместно разпространен, но проучването отбелязва и някои географски различия в разпространението на IC2 (ST2): 93.5% в Гърция, 82.9% - в Италия и 40% в Израел, като в Израел в по-висок дял се доказва IC3 (ST3) (*Frenk S, 2022*). Макар и основно свързан с OXA-24-like продукция, IC2 също е идентифициран като доминиращ клон сред изолати *A. baumannii* (вкл. инвазивни) в Полска болница в периода 2009 - 2014г., както и в две болници в Перу (2014-2016), асоцииран с OXA-72 продукция, с характеристика на ендемичен и причиняващ продължителен вътреболничен взрив, като 73.8% от изолатите в това проучване са от кръв (*Levy-Blitchtein S, 2018; Słoczyńska A, 2021*).

Заклучение

За целия десет годишен период на проучването се доказва относително ниско ниво на MRSA инвазивни изолати (15.4%), като през 2020г. делът им (12.5%) е по-нисък от средния за Европа (16.7%) и много близък до средния за България (11.8%). Всички антибиотични групи (с изключение на макролидите), запазват добра активност, като делът на не-чувствителните изолати е под 20%.

Проучването установява сигнификантен тренд за увеличаване дела на VREfm от 0% в периода 2011 - 2018г. до 11.1% през 2019г. и 18.2% през 2020г. Изолатите *E. faecium* демонстрират много високо ниво на резистентност към аминопеницилини (95.3%), флуорохинолони (84.3%) и HLAR (90.3%). За разлика от *E. faecium*, делът на ampicillin-резистентните *E. faecalis* е много нисък, което прави групата на аминопеницилите подходящ избор за терапия на *E. faecalis* асоциираните инфекции. Активността на флуорохинолоните за същия период сред *E. faecalis* е значително редуцирана (над 35%), при висок дял на HLAR (над 45%). Въпреки сигнификантният тренд за увеличаване на резистентността към vancomycin, гликопептидите и linezolid все още са антибиотиците с най-добра активност спрямо изолатите *Enterococcus* spp.

В групата на Грам отрицателните бактериални видове се установява висок относителен дял (над 25%) на резистентни към цефалоспорини трета генерация и флуорохинолони *E. coli* изолати от кръв, без сигнификантен тренд за увеличаване или намаляване в годините. Установява се силно редуцирана активност на аминопеницилините спрямо *E. coli*, като резистентността към тази антибиотична група е най-висока (63.2%). Резистентността към gentamicin намалява в годините от 22.8% до 12.8%, макар трендът да не е статистически значим. Карбапенемите и amikacin са със съхранена активност спрямо изолатите *E. coli* (резистентност <1% и <5% съответно), което ги прави подходящ избор за емпирична терапия в случаите на инфекции на кръвта, асоциирани с тези бактериален вид.

Настоящото проучване доказва много високо ниво на резистентност към цефалоспорини от трета генерация (74.9%) в проучваната колекция от 331 инвазивни изолата *K. pneumoniae*, значително надвишавайки дела на резистентните към същата антибиотична група *E. coli* и по-високо от това сред *Enterobacter* spp. изолатите. Цефалоспорините от трета генерация са групата с най-силно редуцирана активност спрямо *K. pneumoniae*. Много високи нива на резистентност (над 50%) се отчитат също към флуорохинолони и gentamicin, като за последния се установява статистически значим тренд за намаляване на резистентността от 73% през 2011г. до 40.9% през 2020г. Средната резистентност към карбапенемите и amikacin за 10-годишния период е 11.8% и 13.9%, което прави карбапенемите и amikacin антиминокробните препарати с най-висока активност спрямо *K. pneumoniae*. За 10-годишния период на проучването най-драматични промени се доказват по отношение чувствителността към карбапенемни антибиотици, която от 0% през 2011г. достигна 32.7% през 2014г. и 18.2% и 13.6% през 2019г. и 2020г., което е в съответствие с европейските тенденции.

В групата на карбапенем-резистентните *K. pneumoniae*, colistin и amikacin демонстрират добра in vitro активност, което ги прави препарати на избор за лечение в случай на инфекция, причинена от карбапенем-резистентни изолати.

*Bla*_{CTX-M-15} се идентифицира като главен механизъм на резистентност към цефалоспорини от трета генерация, както в карбапенем-чувствителни, така и в карбапенем-резистентни изолати *K. pneumoniae*. *Bla*_{KPC-2} и в много по-малка степен *bla*_{NDM-1} медираат карбапенемната резистентност в проучените изолати. Карбапенемаза-продуциращите *K. pneumoniae* се асоциират с 5 различни ST типа: ST15, ST76, ST151 и ST1350 за KPC-2 карбапенемазата и с ST11 - за NDM-1 метало-карбапенемазата. Установява се широка вътреболнична дисеминация на KPC-2 и/или CTX-M-15 продуциращи *K. pneumoniae* ST15. Този клон персистира няколко години, демонстрирайки висок крос-трансмисивен, епидемичен и инвазивен потенциал. В допълнение към ST15, резистентността към цефалоспорини от трета генерация и карбапенемни се асоциира с вътреболнична дисеминация и на други ST типове (ST76, ST1350, ST11, ST340, ST902, ST70, ST359, ST37, ST35), съществуващи едновременно с доминиращия ST15 клон. В този смисъл, въпреки, че клоналното разпространение на ST15 допринася значително за дисеминирането на карбапенем-резистентни *K. pneumoniae*, не-ST15 щамове също се появяват и имат принос.

Настоящото проучване доказва и висок дял на изолатите *Enterobacter* spp. от кръв, резистентни към цефалоспорини от трета генерация, флуорохинолони и gentamicin. Установява се нисък дял на amikacin-резистентни и много нисък дял на карбапенем-резистентни *Enterobacter* spp. за изследвания 10-годишен период. NDM-1 метало-карбапенемаза е механизмът, медиращ резистентността към карбапенемни на единствения карбапенем-резистентен изолат *E. cloacae* complex (*E. asburiae*), доказан в периода 2011 - 2020г. Карбапенемните антибиотици и amikacin продължават да са препарати на избор за лечение на инвазивни инфекции, причинени от *Enterobacter* spp.

По отношение на групата кръвни изолати *P. aeruginosa* за проучвания десет годишен период се доказва резистентност над 20% към всички антипсевдомонадни групи препарати, като най-силно е редуцирана активността на флуорохинолоните (40%). Не се установяват статистически значими тенденции към понижаване или повишаване на резистентността в различните години за нито една от изследваните групи антимикробни препарати. Карбапенемите и amikacin са най-активните агенти сред проучваните антипсевдомонадни средства, макар резистентността да е в

диапазона 20-30%. Това предполага внимателно приложение на тези антибиотици в случаите, в които се подозира *P. aeruginosa* асоциирана инфекция.

В проследявания 10 годишен период изолатите *A. baumannii* - *calcoaceticus* complex от кръв трайно демонстрират много високи нива на резистентност спрямо всички изпитвани антимикуробни средства (над 60%), с изключение на colistin, към който чувствителността в този период е напълно съхранена. Спрямо всички Грам отрицателни бактериални видове, делът на карбапенем-резистентните *A. baumannii* е най-висок, достигайки 68.4%, като 60% от тези изолати са с XDR фенотип. Резистентността към карбапеними се асоциира с присъствието на *bla*_{OXA-24/40-like} и/или *bla*_{OXA-23-like} гени в асоциация с IS*Aba1*. Високият относителен дял на карбапенем-резистентни изолати *A. baumannii* се свързва с вътреболнична дисеминация и трайно присъствие на няколко OXA-продуциращи MDR клона с характеристика на ендемични, сред които и IC2.

5.3 Етиологичен спектър на бактериалните инфекции на кръвта в хоспитализирани пациенти с онкохематологични заболявания в периода 2010-2020г.

През проучвания период от време в Лабораторията по микробиология на УМБАЛ "Св. Марина" - Варна, са изследвани общо 3954 хемокултури на пациенти с онкохематологични заболявания и съмнение за инфекциозно усложнение, хоспитализирани в Клиниката по клинична хематология и Клиниката по детска онкохематология на болницата. Изолирани и идентифицирани са общо 457 неповтарящи се, клинично значими изолата от хемокултури на 442 пациента (вкл. 17 пациента след ХСКТ), като етиологичният спектър на бактериите, асоциирани с инфекции на кръвта, е представен в таблица 22. Съотношението Грам отрицателни към Грам положителни бактерии спрямо общия брой бактериални изолати (микотичните изолати са изключени) за периода 2010 - 2020г. е 58.8% : 41.2%, като през първия пет годишен период (2010 - 2014г.) това съотношение е 57.7% : 42.3%, а през втория (2015 - 2020г.) - 59.2% : 40.8% съответно.

Таблица 22. Етиологичен спектър на инфекциите на кръвта в хоспитализирани пациенти с онкохематологични заболявания в периода 2010-2020г. (сравнително представяне).

Етиологичен спектър	Общо за периода	Първи период	Втори период	p
	2010 – 2020г. n (%)	2010 - 2014г. n (%)	2015 – 2020г. n (%)	
Грам отрицателни бактерии	248 (54.3)	75 (53.2)	173 (54.7)	0.764
Грам положителни бактерии	174 (38.0)	55 (39.0)	119 (37.7)	0.794
Гъбички	35 (7.7)	11 (7.8)	24 (7.6)	0.944
Разпределение на изолатите по микробни видове				
<i>Staphylococcus aureus</i>	79 (17.3)	38 (27.0)	41 (13.0)	0.0002
<i>E. coli</i>	73 (16.0)	27 (19.1)	46 (14.5)	0.215
<i>Enterobacter</i> spp.	50 (10.9)	12 (8.5)	38 (12.0)	0.267
<i>Klebsiella</i> spp.	47 (10.3)	15 (10.6)	32 (10.1)	0.865
<i>Enterococcus</i> spp.	40 (8.8)	10 (7.0)	30 (9.5)	0.4

<i>(E. faecalis, E. faecium)</i>				
<i>Candida spp.; Cryptococcus spp.</i>	35 (7.6)	11 (7.8)	24 (7.5)	0.936
<i>CoNS</i>	32 (7.0)	3 (2.1)	29 (9.2)	0.006
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27 (5.9)	10 (7.0)	17 (5.4)	0.471
<i>Acinetobacter baumannii</i>	18 (3.9)	4 (2.8)	14 (4.4)	0.418
<i>Serratia marcescens</i>	8 (1.8)	3 (2.1)	5 (1.6)	0.682
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	6 (1.3)	1 (0.7)	5 (1.6)	0.447
<i>Streptococcus viridans</i>	6 (1.3)	-	6 (1.9)	-
<i>Salmonella spp.</i>	5 (1.0)	2 (1.4)	3 (0.9)	0.659
<i>Streptococcus agalactiae</i>	5 (1.1)	2 (1.4)	3 (0.9)	0.659
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	4 (0.9)	-	4 (1.3)	-
<i>Bacteroides spp.</i>	3 (0.7)	1 (0.7)	2 (0.6)	0.928
<i>Corynebacterium spp.</i>	3 (0.7)	-	3 (0.9)	-
<i>Listeria monocytogenes</i>	3 (0.7)	2 (1.4)	1 (0.3)	0.18
<i>Proteus mirabilis</i>	2 (0.4)	-	2 (0.6)	-
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	2 (0.4)	-	2 (0.6)	-
<i>Citrobacter koseri</i>	1 (0.2)	-	1 (0.3)	-
<i>Morganella morganii</i>	1 (0.2)	-	1 (0.3)	-
<i>Aeromonas veronii</i>	1 (0.2)	-	1 (0.3)	-
<i>Aeromonas hydrophila</i>	1 (0.2)	-	1 (0.3)	-
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1 (0.2)	-	1 (0.3)	-
<i>Pasteurella multocida</i>	1 (0.2)	-	1 (0.3)	-
<i>Burkholderia cepacia</i>	1 (0.2)	-	1 (0.3)	-
<i>Streptococcus group D</i>	1 (0.2)	-	1 (0.3)	-
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	1 (0.2)	-	1 (0.3)	-
Общо	457 (100.0)	141 (100.0)	316 (100.0)	-

Обсъждане

Пациентите с онкохематологични заболявания (ОХЗ) са с повишен риск за развитие на инфекциозни усложнения, като неутропенията е най-значимият рисков фактор за това. Инфекциите на кръвта са сред най-тежките, животозастрашаващи усложнения с нива на смъртност между 18 и 42% (*Wisplinghoff H, 2003*). Според проучване на Pagano и колектив честотата на микробиологично доказаните инфекции сред пациенти с ОХЗ е 9.4%, като 85% от тях са бактериални инфекции на кръвта (*Pagano L, 2012*). Проследено в исторически план, в хода на последните пет

десетилетия се установяват значителни промени в етиологичния спектър на микроорганизмите, изолирани от хемокултури на пациенти с ОХЗ. През 60-те и 70-те години на миналия век Грам - отрицателните бактерии са сред най-честите причинители на инфекции на кръвта в тази група пациенти. В следващите 30 години, делът на Грам - положителните микроорганизми (коагулаза - негативни стафилококи, стрептококи вириданс, ентерококи, *Staphylococcus aureus*) значително нараства. Сред факторите, свързани с тази промяна, са увеличената употреба на някои химиотерапевтици и свързаното с това развитие на орални мукозити, тежката и продължителна неутропения, увеличената употреба на венозни катетри, флуорохинолоновата профилактика и др. (*Benfield T, 2007; Montassier E, 2013; Wisplinghoff H, 2003*).

В последните години множество проучвания съобщават за промяна в етиологичния спектър на тези инфекции: от Грам положителни към Грам отрицателни бактерии, успоредно с увеличаването и успешното дисеминиране на MDR и дори пан-драг резистентни Грам отрицателни бактерии (*Kokkayil, 2018; Paul M, 2020*). Промяната в съотношението Грам положителни към Грам отрицателни бактериемии е от 60:40% в началото към 55:45% в полза на Грам отрицателните бактерии понастоящем (*Secreto C, 2020*). Сред причините за очертаващата се тенденция на превалиране на Грам - отрицателни микроорганизми се идентифицират няколко основни фактора, като най-важният сред тях е използването и продължителността на антибиотичната профилактика (*Montassier E, 2013*). В унисон с тази тенденция, за проучвания период от време (2010 - 2020г.) в нашия център по-чести причинители на инфекции на кръвта са Грам отрицателните бактерии, доказани в 54.3% от случаите, с водещи бактериални видове *E. coli* (16.0%), *Enterobacter spp.* (10.2%), *Klebsiella spp.* (10.3%), *P. aeruginosa* (5.9%) и *A. baumannii* (3.9%), като съотношението Грам отрицателни към Грам положителни бактерии е 58.2% : 41.2%. В подобни на настоящото проучвания сред пациенти с ОХЗ след 2000г. от Италия, Испания и Южна Корея се съобщават сходни резултати за съотношението Грам отрицателни към Грам положителни бактериемии: Cattaneo et al., 57.3% срещу 33.6%; Trecarichi et al., 52.8% за Грам отрицателните бактериемии; Gudiol et al., 49% срещу 41%; Kang et al., 55.6% срещу 32.7% (*Cattaneo C, 2012; Gudiol C, 2013a; Kang C, 2012; Trecarichi E, 2015*). В проучване на Калева и колектив върху микробиологичния спектър на инфекциозните усложнения при онкологично болни деца в България, обхващащо два по-ранни периода: 1990 - 1994 г. и 1995 - 2003г., се установява превалиране на Грам -

положителните бактериемии (53.2%) пред Грам - отрицателните (40.3%) и фунгемиите (6.5%), като най-често са изолирани коагулаза - негативни стафилококи, следвани от *Klebsiella* spp., *Enterococcus* spp., *E. coli* и *P. aeruginosa* (Калева В, 2006). В същото проучване, съотношението между Грам - положителните и Грам - отрицателните изолати от кръв не се променя през двата изследвани периода, но през по-късния период сигнификантно се повишава относителният дял на *E. coli*, а дялът на α -хемолитичните стрептококи се понижава (Калева В, 2006).

В настоящето проучване Грам положителните бактерии се установяват в 38% от случаите, като стафилококите (*S. aureus*, 17.3%; *CoNS*, 7.0%) и ентерококите (8.8%) са най-честите Грам положителни бактерии, асоцииращи се с инфекции на кръвта при нашите пациенти.

Най-често изолираният бактериален вид сред всички бактериални видове, независимо от тяхната Грамова принадлежост, е *S. aureus* (17.3%), следван от *E. coli* (16.0%) и *Enterobacter* spp. (10.9%). Сравнявайки двата периода на настоящето проучване, установяваме статистически значима тенденция за намаляване дела на *S. aureus* през втория период ($p=0.002$), на фона на ясна тенденция за увеличаване дела на *CoNS* ($p=0.006$), най-често асоцииращи се с катетър-свързани инфекции на кръвта (непоказани данни) и на ентерококите (9.5% срещу 6.9%) ($p=0.4$) в периода 2015 - 2020г. За подобно водещо значение на стафилококите, но за сметка на *CoNS* се съобщава от S. Haddad, A. Amanati, D. Mert, M. Paul и др. (Amanati A, 2021; Haddad S, 2021; Mert D, 2019; Paul M, 2020; Secreto C, 2020). С. Secreto et al. докладват *CoNS* отговорни за около 25% от Грам положителни бактериемии, а *S. aureus* - за около 5% от случаите (Secreto C, 2020). Други проучвания също съобщават по-високи нива на изолируемост на *CoNS* като етиологични агенти на инфекции на кръвта: 8.3% (Kang C, 2012a), 14.7% (Kjellander C, 2012), 23.1% (Chong Y, 2011), 24.8% (Trecarichi E, 2009), 43% (Irfan S, 2008), 55.2% (Saghir, S, 2009). По отношение на *S. aureus*, в различни проучвания дялът им варира значително - между 1.3%, 6.9%, 9.5% и 12%, като този бактериален вид не е сред първите три доминиращи патогени в съответните проучвания (Cattaneo C, 2012; Chong Y, 2011; Gudiol C, 2010; Irfan S, 2008; Kang C, 2012a, Kjellander C, 2012). Trecarichi и колектив съобщават, че *S. aureus* е на едно от последните места по честота на изолируемост (1.6%), което е в контраст с нашите резултати (Trecarichi E, 2015). По-близко до данните, които са представени в настоящето проучване е работата на Kang и колектив, които установяват *S. aureus*

(9.8%) и *Enterococcus* spp. (9.2%) като най-честите Грам - положителни бактериални видове, причиняващи инфекции на кръвта в пациенти с ОХЗ (Kang C, 2012a).

Сравнявайки резултатите от двата периода на настоящото проучване, се установява запазване във времето на тенденцията за превалиране на Грам отрицателните бактерии в цялостния спектър на инфекциите. Във втория период се доказва увеличен дял на *Enterobacter* spp. (от 8.3% до 12%), намаляващ на *E. coli* (от 19.1% до 14.5%) и *P. aeruginosa* (от 7.0% до 5.4%) ($p > 0.05$). Подобни резултати за превалиране на Грам отрицателните бактерии в етиологичния спектър на инфекциите на кръвта при пациенти с ОХЗ, с водещи патогени *E. coli*, следвани от *K. pneumoniae*, *Enterobacter* spp., *P. aeruginosa* и *A. baumannii* се съобщават и от много други автори (Amanati A, 2021; Govind Babu K, 2016; Haddad S, 2021; Islas-Munoz, 2018; Kokkayli P, 2018; Mert D, 2019; Paul M, 2020; Tang Y, 2021). В контраст с нашите резултати, A. Carvahlo et al. съобщават най-висок процент на *Streptococcus viridans* (24.1%) и ентерококи (13.3%) в целия етиологичен спектър и подобен относителен дял на *E. coli* (14.9%) (Carvahlo A, 2020).

Макар и много по-рядко изолирани в сравнение с доминиращите причинители на инфекции на кръвта, в настоящото проучване бяха доказани изолати, отнасящи се към видовете *Listeria monocytogenes* и *Salmonella* spp. Листерийната инфекция засяга определени контингенти, сред които новородени, много възрастни пациенти, бременни, както и имунокомпрометирани индивиди с дефицит в клетъчно-медиацията на имунитет. Една от най-рисковите групи за листериен сепсис са индивидите, подложени на имunosупресивна терапия (онкологично болни пациенти, трансплантирани). Генерализацията на инфекциозния процес в случаите на *Salmonella* spp., след преодоляване на локалната бариера на лимфните възли в чревния тракт, също е характерна за имunosупресирани пациенти и тези с имунни дефицити. Изолатите от тези бактериални видове, макар и доказани в единична хемокултура при съответните пациенти, винаги трябва се интерпретират като клинично значими.

Заклучение

Настоящото проучване установява доминиране в етиологичния спектър на инфекциите на кръвта в пациенти с ОХЗ на Грам отрицателните (54.3%) над Грам положителните бактерии (38.0%) и гъбичките (7.7%), което е в съответствие с установеното в общата (неселектирана) група хоспитализирани пациенти. Най-често изолирания бактериален вид от хемокултури за целия период е *S. aureus* (17.3%),

следван от *E. coli* (16.0%) и *Enterobacter* spp. (10.9%). В хода на 11-годишното проследяване се доказва статистически значим тренд за намаляване дела на *S. aureus* изолатите от хемокултури ($p=0.0002$) и увеличаването този на *CoNS* ($p=0.006$), последните заемащи 6-та позиция в етиологичния спектър.

5.4 Антибиотична резистентност на най-честите причинители на бактериемии, асоциирани с инфекции на кръвта в хоспитализирани пациенти с онкохематологични заболявания в периода 2010-2020г.

Резистентността на най-честите Грам отрицателни (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii* - *calcoaceticus* complex) и Грам положителни бактериални видове (*S. aureus*, *Enterococcus* spp.), причинители на бактериемии, асоциирани с инфекции на кръвта в пациенти с онкохематологични заболявания в периода 2010 - 2020г. към основни групи антимикробни лекарствени средства е представена на таблици 23, 24, 25, 26, 27, 28 и 29.

Таблица 23. Резистентност към набор от антимикробни лекарствени средства на изолати *S. aureus* от кръв на пациенти с онкохематологични заболявания с лабораторно потвърдени инфекции на кръвта в периодите 2010 - 2014г. и 2015 - 2020г. (сравнително представяне).

АБ група	2010 - 2020		2010-2014		2015-2020		<i>p</i>
	n	%R (n)	n	%R (n)	n	%R (n)	
methicillin	79	11.4 (9)	38	10.5 (4)	41	12.2 (5)	0,818
аминогликозиди	79	13.9 (11)	38	7.9 (3)	41	19.5 (8)	0,136
флуорохинолони	79	8.9 (7)	38	7.9 (3)	41	9.7 (4)	0,771
гликопептиди	79	0.0 (0)	38	0.0 (0)	41	0.0 (0)	NA
оксазолидинони	79	0.0 (0)	38	0.0 (0)	41	0.0 (0)	NA

Таблица 24. Резистентност към набор от антимикробни лекарствени средства на изолати *E. faecalis* и *E. faecium* от кръв на пациенти с онкохематологични заболявания с лабораторно потвърдени инфекции на кръвта в периодите 2010 - 2014г. и 2015 - 2020г. (сравнително представяне).

АБ група	2010 - 2020		2010-2014		2015-2020		p
	n	%R (n)	n	%R (n)	n	%R (n)	
<i>E. faecalis</i>							
аминопеницилини	23	8.7 (2)	6	16.6 (1)	17	5.8 (1)	0,418
HLAR	23	69.6 (16)	6	66.6 (4)	17	70.5 (12)	0,857
гликопептиди	23	0.0 (0)	6	0.0 (0)	17	0.0 (0)	NA
оксазолидинони	23	0.0 (0)	6	0.0 (0)	17	0.0 (0)	NA
флуорохинолони	23	82.6 (19)	6	66.6 (4)	17	88.0 (15)	0,230
<i>E. faecium</i>							
аминопеницилини	17	94.1 (16)	4	100 (4)	13	92.3 (12)	0,568
HLAR	17	94.1 (16)	4	100 (4)	13	92.3 (12)	0,568
гликопептиди	17	0.0 (0)	4	0.0 (0)	13	0.0 (0)	NA
оксазолидинони	17	0.0 (0)	4	0.0 (0)	13	0.0 (0)	NA
флуорхинолони	17	100 (0)	4	100 (4)	13	100 (13)	NA

Таблица 25. Резистентност към набор от антимикробни лекарствени средства на изолати *E. coli* от кръв на пациенти с онкохематологични заболявания с лабораторно потвърдени инфекции на кръвта в периодите 2010 - 2014г. и 2015 - 2020г. (сравнително представяне).

АБ група	2010-2020		2010-2014		2015-2020		p
	n	%R (n)	n	%R (n)	n	%R (n)	
3-та генерация цефалоспорици	73	39.7 (29)	27	74.0 (20)	46	19.6 (9)	0,0001
карбапенеми	73	1.4 (1)	27	0.0 (0)	46	2.2 (1)	0,443
gentamicin	73	30.1 (22)	27	40.7 (11)	46	23.9 (11)	0,131
amikacin	73	2.7 (2)	27	3.7 (1)	46	2.2 (1)	0,697
флуорохинолони	73	45.2 (33)	27	48.1 (13)	46	43.5 (20)	0,697
colistin	46	2.2 (1)	-	-	46	2.2 (1)	NA

Таблица 26. Резистентност към набор от антимикробни лекарствени средства на изолати *K. pneumoniae* от кръв на пациенти с онкохематологични заболявания с лабораторно потвърдени инфекции на кръвта в периодите 2010 - 2014г. и 2015 - 2020г. (сравнително представяне).

АБ група	2010 - 2020		2010 - 2014		2015 - 2020		p
	n	%R (n)	n	%R (n)	n	%R (n)	
3-та генерация цефалоспорини	45	57.8 (26)	15	67.0 (10)	30	53.3 (16)	0,395
карбапенеми	45	6.7 (3)	15	0.0 (0)	30	10.0 (3)	0,204
gentamicin	45	77.8 (35)	15	80.0 (12)	30	71.8 (23)	0,802
amikacin	45	11.1 (5)	15	6.6 (1)	30	13.3 (4)	0,503
флуорохинолони	45	51.1 (23)	15	67.0 (10)	30	43.3 (13)	0,134
colistin	30	0.0 (0)	-	-	30	0.0 (0)	NA

Таблица 27. Резистентност към набор от антимикробни лекарствени средства на изолати *E. cloacae* complex от кръв на пациенти с онкохематологични заболявания с лабораторно потвърдени инфекции на кръвта в периодите 2010 - 2014г. и 2015 - 2020г. (сравнително представяне).

АБ група	2010 - 2020		2010 - 2014		2015 - 2020		p
	n	%R (n)	n	%R (n)	n	%R (n)	
3 генерация цефалоспорини	44	46.8 (25)	12	25.0 (3)	32	68.8 (22)	0,009
карбапенеми	44	2.3 (1)	12	0.0 (0)	32	3.1 (1)	0,535
gentamicin	44	59.0 (26)	12	25.0 (3)	32	71.8 (23)	0,005
amikacin	44	0.0 (0)	12	0.0 (0)	32	0.0 (0)	NA
флуорохинолони	44	34.0 (15)	12	0.0 (0)	32	46.8 (15)	0,004
colistin	32	0.0 (0)	-	-	32	0.0 (0)	NA

Таблица 28. Резистентност към набор от антимикробни лекарствени средства на изолати *P. aeruginosa* от кръв на пациенти с онкохематологични заболявания с лабораторно потвърдени инфекции на кръвта в периодите 2010 - 2014г. и 2015 - 2020г. (сравнително представяне).

АБ група	2010 - 2020		2010 - 2014		2015 - 2020		p
	n	%R (n)	n	%R (n)	n	%R (n)	
pipercillin/tazobactam	27	11.1 (3)	10	20.0 (2)	17	5.9 (1)	0,258
ceftazidime	27	14.8 (4)	10	20.0 (2)	17	11.8 (2)	0,562
карбапеними	27	7.4 (2)	10	0.0 (0)	17	11.8 (2)	0,258
gentamicin	25*	0.0 (0)	10	0.0 (0)	15	0.0 (0)*	NA
amikacin	27	3.7 (1)	10	0.0 (0)	17	5.9 (1)	0,435
флуорхинолони	27	7.4 (2)	10	0.0 (0)	17	11.8 (2)	0,258
colistin	17	0.0 (0)	-	-	17	0.0 (0)	NA

*Чувствителността към gentamicin е определяна до 2019г.

Таблица 29. Резистентност към набор от антимикробни лекарствени средства на изолати *A. baumannii - calcoaceticus* complex от кръв на пациенти с онкохематологични заболявания с лабораторно потвърдени инфекции на кръвта в периодите 2010 - 2014г. и 2015 - 2020г. (сравнително представяне).

АБ група	2010 - 2020		2010 - 2014		2015-2020		p
	n	%R (n)	n	%R (n)	n	%R (n)	
карбапеними	18	72.2 (13)	4	25.0 (1)	14	85.7 (12)	0,017
gentamicin	18	94.4 (17)	4	100 (4)	14	93.0 (13)	0,582
amikacin	18	88.9 (16)	4	75.0 (3)	14	93.0 (13)	0,317
флуорохинолони	18	94.4 (17)	4	100.0 (4)	14	93.0 (13)	0,582
colistin	14	0.0 (0)	-	-	14	0.0 (0)	NA

Обсъждане

Макар някои проучвания да отчитат значително намаляване на смъртността, свързана с инфекции на кръвта в пациенти с онкохематологични заболявания от 25% през 70-те години до 6% в последните години поради употребата на широкоспектърни антибиотици, една неблагоприятна последица от това обаче е съвременната тенденция

за стабилно увеличаване дела на инфекциите, причинени от множествено-резистентни бактерии, включително инфекции на кръвта (*Paul M, 2020*). От своя страна заради ограничения избор на активни антибиотици, инфекциите, причинени от MDR патогени, често се асоциират с неуспешно лечение и висока смъртност (*Secreto C, 2020; Tang Y, 2021*). Понастоящем спектърът на MDR патогени в пациенти с ОХЗ е ограничен предимно (но не единствено) до Грам отрицателните бактерии (*Secreto C, 2020*). Сред множествено резистентните Грам отрицателни бактерии, представителите на семейство *Enterobacteriaceae*, демонстриращи фенотип на ESBL продуценти, карбапенем- и colistin-резистентните изолати от същото семейство, както и карбапенем- и colistin-резистентните *P. aeruginosa* и *A. baumannii*, са все по-нарастващ проблем в съвременната инфекциозна патология и в тази специфична група пациенти. Пациентите с ОХЗ, които са имunosупресирани заради основното си заболяване и повтаряща се във времето, продължителна експозиция на широкоспектърни антибиотици, са с особено висок риск за развитие на инфекции на кръвта. Множество проучвания през последните години сочат, че епидемиологията на инфекциите на кръвта в пациенти със злокачествени кръвни заболявания се асоциира все повече с MDR патогени, като тези микроорганизми се очертават доминиращите агенти при този вид инфекции (*Amanati A, 2021; Kokkayil P, 2018*). В контекста на това, трябва да се отбележи, че е задължително да се акумулира и анализира непрекъснато информацията за локално превалиращите патогени с техния профил на резистентност с цел подпомагане на емпиричния антибиотичен избор. Сред основните рискови фактори за развитие на инфекции, причинени от MDR бактерии, са наличие на предишна или настояща колонизация (чревен тракт, нос, гърло) с MDR бактерии, предишна инфекция с MDR патоген, скорошна експозиция на широкоспектърни антибиотици, удължен болничен престой или престой в интензивна клиника и състоянието на локалната болнична резистентност. В контекста на онкохематологичните заболявания, необходимо е да се оцени кои пациенти са високо рискови по отношение на тези фактори, за да бъде иницирана именно при тях антимикуробна терапия, таргетираща тези патогени.

В проследявания 11-годишен период от време се установи висок относителен дял на резистентни към трета генерация цефалоспорини ентеробактерии [49.4% (80 от 162 изолата)]. Най-висок е този дял в групата на изолатите *K. pneumoniae* (57.8%), следвани от *E. cloacae* complex (46.8%) и *E. coli* (39.7%). Настоящото проучване доказва резистентните към трета генерация цефалоспорини чревни бактерии сред най-

честите причинители на инфекции на кръвта при пациенти с ОХЗ, което се потвърждава и от други подобни проучвания (Martin M, 2015). В допълнение, сравнявайки периодите 2010 - 2014г. и 2015 - 2020г., се установява статистически значим тренд към намаляване дела на изолатите *E. coli*, резистентни на трета генерация цефалоспорини ($p=0.0001$) и увеличаване този на *E. cloacae*, резистентни към трета генерация цефалоспорини ($p=0.009$) през втория период. Редица автори съобщават подобен и по-висок дял за Грам отрицателни бактерии, причинители на инфекции на кръвта в онкохематологични пациенти, демонстриращи профил на резистентност към трета генерация цефалоспорини (50.5%, 52.4%, 64%, 79.5%) (Amanati A, 2021; Haddad S, 2021; Mert D, 2019; Tang Y, 2021). Установеното от нас високо ниво на резистентност към трета генерация цефалоспорини е в съответствие със съобщенията на EARS-Net за нивата на резистентност към цефалоспорини от III генерация (ceftriaxone, ceftazidime, cefotaxime) на инвазивни изолати от кръв за периода 2011 - 2020г., мониториращи в над 25 страни от Европейския съюз, според които България заема първо място с най-високо ниво сред инвазивни изолати от видовете *E. coli* (23% - 41.4%) и *K. pneumoniae* (81% - 79.1%) (ECDC, 2022).

Сред изолатите от семейство *Enterobacteriaceae* бяха установени и високи нива на резистентност към флуорохинолони (между 34% и 51%), като за *E. cloacae* complex беше доказан статистически значим тренд на увеличение дела на хинолон-резистентните изолати от 25% до 68.8% през втория период (2015-2020г.) ($p=0.004$). Подобно на тези резултати, редица автори, проучвали онкологично болни пациенти, също докладват хинолонова резистентност сред представителите на семейство *Enterobacteriaceae* между 45 и 91% (Bhusal Y, 2011; Chong Y, 2011; Irfan S, 2008; Mihic S, 2010; Treccarichi E, 2009; Treccarichi E, 2015). Понастоящем се смята, че профилактичната употреба на хинолони играе важна роля за възникването на този тип резистентност. Нещо повече, широката профилактична употреба на хинолонови препарати има значителен принос не само за селектирането на хинолон-резистентни бактерии в гастро-интестиналния тракт, но и за селектиране на чревни бактерии, продуценти на ESBLs и MRSA (Montassier E, 2013). В допълнение, циркулацията на хинолон-резистентни щамове от семейство *Enterobacteriaceae* в обществото може да обясни изолирането на хинолон-резистентни чревни бактерии от хемокултури на онкологично болни, при които не е била провеждана хинолонова профилактика.

И срещу трите бактериални вида *E. coli*, *K. pneumoniae* и *E. cloacae* complex, amikacin демонстрира много добра активност (0% - 11.1% резистентност), за разлика от

тази на gentamicin (30.1% - 77.8% резистентност). Подобно на резистентността към трета генерация цефалоспорици и флуорохинолони в *E. cloacae*, статистически значим тренд на увеличаване е доказан и за дела на gentamicin-резистентните *E. cloacae* ($p=0.005$) в проследявания 11-годишен период от време.

Резистентността към стратегическия препарат colistin в цялата група Грам отрицателни бактерии е много ниска, като е идентифицирана само в един изолат *E. coli*. Тези резултати правят amikacin и colistin препарати на избор при терапия на инфекции на кръвта, причинени от MDR чревни бактерии, като трябва обаче да се вземе под внимание потенциалната нефротоксичност на тези антимикробни средства, особено в случаите на критично болни пациенти, получаващи химиотерапия.

Друг ключов антимикробен препарат, чиято активност е мониторирана, е меропенем. В настоящото проучване бе установен много висок относителен дял на карбапенем-резистентни *A. baumannii* - *calcoaceticus* complex (72.2%), като проследен в годините, се доказва статистически значим тренд на увеличение ($p=0.017$). Значително по-ниски нива на резистентност към меропенем бяха доказани в *P. aeruginosa* (7.4%), *K. pneumoniae* (6.7%), *E. cloacae* (2.3%) и *E. coli* (1.4%). Карбапенемната резистентност в цялата група Грам отрицателни бактерии е 9.7% (20 от 207 изолата), като този тип резистентност бе доказан само сред кръвни изолати, получени от пациенти след 2014г. Близки до нашите резултати за карбапенемна резистентност сред Грам отрицателни бактерии съобщават и други автори (12%, 11.5%) (Haddad S, 2021; Kedzior S, 2021). В контраст, Amanati et al. докладват 39.3% карбапенемна резистентност сред представители на семейство *Enterobacteriaceae* и неферметиращи бактерии, 87.5% в *A. baumannii* и 71.6% в *P. aeruginosa* (Amanati A, 2021). Обширен обзор, публикуван през 2017г. и включващ проучвания от 21 страни, заключава, че резистентността към карбапенемни в семейство *Enterobacteriaceae* (особено *K. pneumoniae*), *P. aeruginosa* и в *A. baumannii* е сериозна заплаха за пациентите с ОХЗ в световен мащаб и се асоциира с високи нива на смъртност (Righi E, 2017). В научната литература има публикувани редица съобщения за възникване на карбапенем-резистентни *Enterobacteriaceae*, специално *K. pneumoniae* и *Enterobacter* spp., причиняващи инфекции в пациенти с онкологични заболявания, вкл. вътреболнични епидемии и смърт (Micozzi A, 2017; Satlin M, 2013; Satlin M, 2014). В допълнение, Y. Tang et al. съобщават, че наличието на карбапенемна резистентност в бактериалния причинител значимо въздейства върху прогнозата при пациенти с ОХЗ и инфекции на кръвта, като това особено се отнася за карбапенем-резистентните *K. pneumoniae*, вероятно поради високо резистентния

профил на тези бактериални патогени (Tang Y, 2021). В синхрон със световните и Европейски тенденции, в периода 2011 - 2020г. за България се съобщава трайна тенденция за постепенно увеличаващо се ниво на карбапенемна резистентност (<1% до 28.1%) сред най-честите представителите на семейство *Enterobacteriaceae* (*K. pneumoniae*, *E. coli*), изолирани от кръв (ECDC, 2022), което напълно съответства на получените от нас резултати за меропенем в периода 2010 - 2020г. за инфекции на кръвта в пациенти с ОХЗ, което е отражение на националните и локални резултати сред не-селектираната популация пациенти.

P. aeruginosa е един микроорганизъм, който се асоциира с особено висока смъртност при пациенти с ОХЗ и остава важна мишена за начална емпирична терапия (Kedzior S, 2021). В проучваните от нас изолати в периода 2010 - 2020г. се установиха относително ниски нива на резистентност към всички мониториранни антипсевдомонасни антибиотици (под 15%), при напълно съхранена активност на gentamicin и colistin.

В настоящото проучване прави впечатление много високата резистентност на изолатите *A. baumannii* - *calcoaceticus* complex към почти всички антибактериални препарати, вкл. карбапенеми, което потвърждава резултатите изнесени от EARS-Net, особено за страни като България, Италия, Латвия, Литва, Кипър, Румъния, Гърция и Хърватска (ECDC, 2022; ECDC, 2022a). Единствено colistin демонстрира напълно съхранена активност към този бактериален вид, като често е единственият препарат с активност срещу *A. baumannii*, което изключително затруднява избора на адекватна антимикробна терапия в пациенти с ОХЗ.

Относително съхранената чувствителност към меропенем в настоящото проучване на изолатите *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae* и *P. aeruginosa* и високите нива на резистентност към цефалоспорини от трета генерация, показват, че карбапенемите продължават да са препарати на първи избор в случаите на резистентни към цефалоспорини от трета генерация бактерии, асоцииращи се с инфекции на кръвта в тази особено рискова група пациенти.

Staphylococcus aureus и инфекциите на кръвта, които този бактериален вид причинява, също са сериозен клиничен проблем при пациентите с ОХЗ. *S. aureus* се асоциира с по-голяма вирулентност, отколкото коагулаза - негативните стафилококи, ако демонстрира метицилинова резистентност (Secreto C, 2020). В настоящото проучване се установяват относително ниски нива на MRSA (11.4%), близки до съобщените от други автори (Haddad S, 2021; Mert D, 2019), макар много подобни

проучвания да докладват по-висок дял на MRSA: 18% за Индия, 30.2% за Пакистан, 36% за Италия и 48.4% за Южна Корея (*Irfan S, 2008; Kang C, 2012a; Prabhash K, 2010; Treçarichi E, 2015*). В настоящото 11-годишно проучване не бяха идентифицирани vancomycin, teicoplanin и linezolid резистентни щамове, което прави гликопептидите и оксазолидиноните с най-висока активност спрямо *S. aureus*, вкл. MRSA.

Ентерококите са коменсали в гастроинтестиналния тракт, като най-честите причинители на инфекции на кръвта са *E. faecalis*, следван от *E. faecium*. Честата употреба на vancomycin като емпирична терапия при пациенти с ОХЗ, особено и в контекста на COVID-19, води до силен селективен натиск върху ентерококите, като част от нормалната чревна микрофлора, и респективно до сериозен риск от поява на резистентни изолати в тази анатомична област, тенденция, която установяваме в последните години и в нашия болничен център (непубликувани данни). Колонизацията на чревния тракт с vancomycin-резистентни ентерококи (VRE) в тази група пациенти е важен потенциален източник за инфекции на кръвта. И за двата най-чести ентерококови вида (*E. faecalis*, *E. faecium*) в литература се съобщават данни за увеличаваща се резистентност към vancomycin, увеличаваща се честота на тези инфекции, както и за по-висока смъртност от VRE - асоциирани инфекции на кръвта при пациенти с ОХЗ (*Bossaer J, 2010; Kamboj M, 2010; Secreto C, 2020*). Според някои автори особено засегнати са пациентите след костно-мозъчна трансплантация, при които VRE са сред водещите причини за инфекции на кръвта в първите 30 дни след трансплантацията (53.5% от всички бактериемии) (*Bossaer J, 2010, Kamboj M, 2010*). Проучвания върху септични състояния при онкологични пациенти с неутропения установяват различни нива на резистентност към vancomycin в ентерококи: 1% в Швеция; 7.5% в Италия; 13% в Пакистан (*Irfan S, 2008; Kjellander C, 2012; Treçarichi E, 2015*). В настоящото проучване не бяха идентифицираха изолати ентерококи, резистентни на vancomycin, teicoplanin и linezolid. Негативен резултат, който беше установен е персистиращата в годините множествена резистентност при изолатите *E. faecium*: резистентността към аминопеницилини, флуорохинолони и аминогликозиди (HLAR) е 94.1%, 100% и 94.1% съответно. Високо ниво на хинолонова резистентност се доказва и при *E. faecalis* (82.6%), варираща между 66.6% и 88% в двата периода на проучването. Изразената MDR, особено в изолатите *E. faecium*, прави vancomycin, teicoplanin и linezolid препарати на избор за лечение.

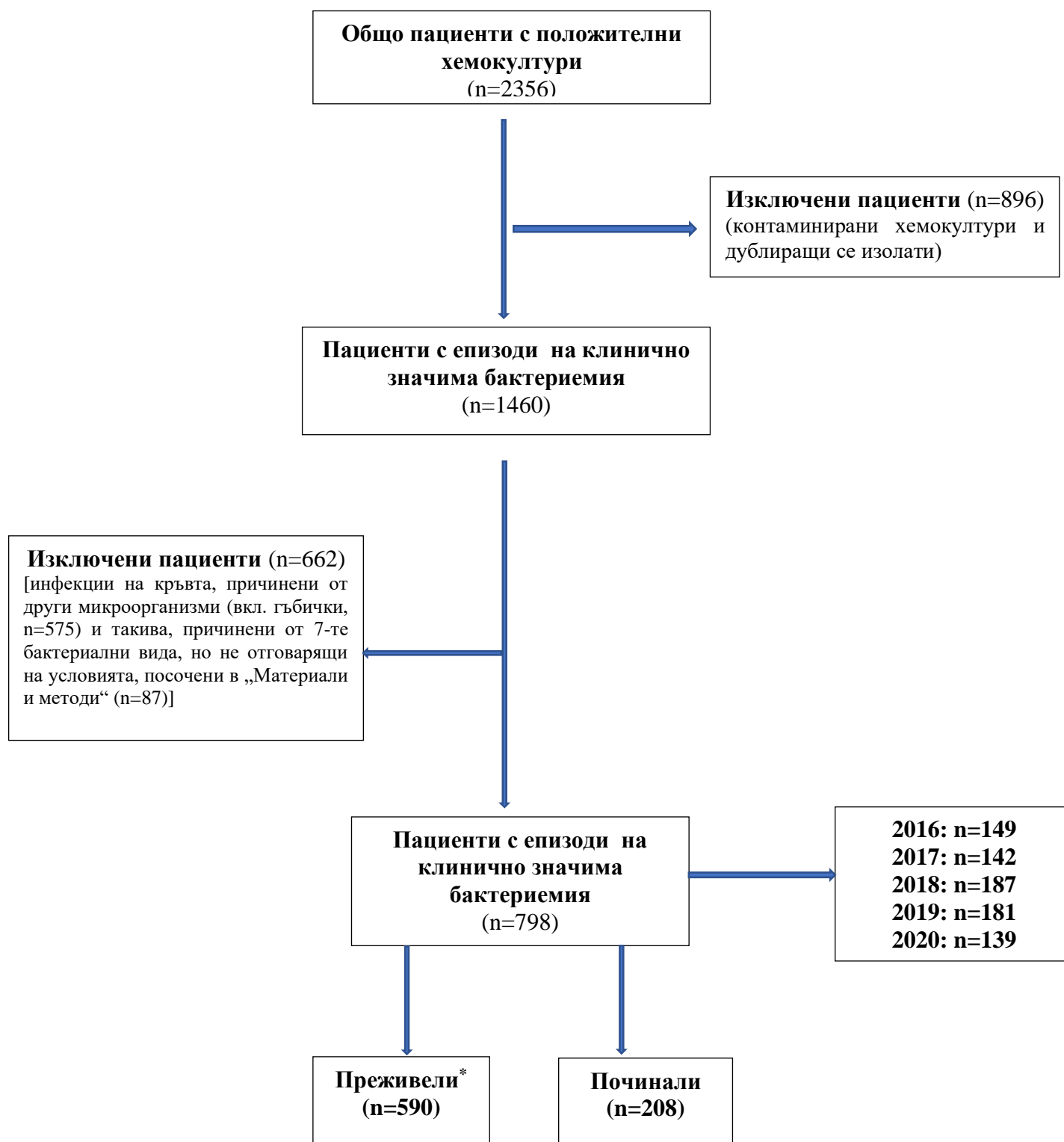
Заклучение

Проучването, извършено в групата на пациентите с онкохематологични заболявания, демонстрира възникването и персистирането в годините на проблемни за лечение MDR микроорганизми, предимно Грам отрицателни бактерии, асоцииращи се с инфекции на кръвта в тази популация от пациенти, феномен, който е отражение на увеличаващата се антибиотична резистентност в обществото и следва тренда в неселектираната популация болнични пациенти с инфекции на кръвта. Установява се персистираща във времето тенденция за високо ниво на резистентност към трета генерация цефалоспорини сред представителите на семейство *Enterobacteriaceae* (49.4%) и появата след 2014г. на инвазивни карбапенем-резистентни изолати от същото семейство, като най-засегнатият вид по отношение и на двата типа резистентност е *K. pneumoniae* (57.8% и 6.7% съответно). Доказва се статистически значим тренд за увеличаване резистентността към трета генерация цефалоспорини, аминогликозиди и флуорохинолони в групата на изолатите от вида *Enterobacter cloacae* complex; персистиране на висок относителен дял на карбапенем-резистентни *A. baumannii* - *calcoaceticus* complex на фона на статистически значим тренд за увеличаване на тази резистентност, както и увеличаване дела на MDR *Enterococcus faecium*. Подобно на общата популация пациенти, положителен тренд е установеният нисък относителен дял на MRSA инвазивни изолати. В периода на проучването не са идентифицирани изолати *Staphylococcus* spp. и *Enterococcus* spp., резистентни на гликопептидни антибиотици и оксазолидинони, което прави тези антибиотици препарати на избор за начално лечение в случаите на съмнение за стафилококова или ентерококова инфекция на кръвта или фебрилна неутропения до поставяне на етиологичната диагноза.

5.5. Тридесет дневен леталитет при инфекции на кръвта, причинени от *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae* complex, *A. baumannii* - *calcoaceticus* complex и *P. aeruginosa* в болнично лекувани пациенти в периода 2016 - 2020г.

В проучвания 5 годишен период (2016 - 2020г.) са идентифицирани 2356 положителни хемокултури при изследвани общо 8168 пациента. След изключване на 896 пациента с контаминирани хемокултури и/или дублиращи се изолати, броят на пациентите с положителни хемокултури, интерпретирани като клинично значими (инфекции на кръвта) е 1460 (17.9%). След изключване на 662 пациенти с положителни, клинично значими хемокултури, но асоциирани с други микробни видове, различни от мониторираните 7 вида (n=575), както и пациенти с положителни хемокултури за *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae* complex, *A. baumannii* – *calcoaceticus* complex и *P. aeruginosa*, но при които изолатът е доказан в хемокултура, взета след настъпване на смъртта, пациенти, които са на хемодиализа и нямат статут на хоспитализирани, както и хоспитализирани, при които не е налична информация за всички 27 проследявани променливи (n=87) (виж глава „Материали и методи“), остават общо 798 пациента с клинично значими епизоди на бактериемия (инфекции на кръвта), причинени от посочените 7 бактериални вида, които бяха анализирани (фигура 25). Тези пациенти съставляват 90.2% от всички пациенти с доказани епизоди на бактериемия (инфекции на кръвта), причинена от седемте микробни вида в периода 2016 - 2020г. и са 54.7% от всички пациенти с бактериемични епизоди (инфекции на кръвта), свързани с различни микробни причинители през същия период от време. Анализираната група беше разделена на две подгрупи: първа подгрупа: преживели (n=590) в рамките на поне 30 дни и съответно втора подгрупа: починали (n=208) в рамките на до 30 дни от момента на вземането на положителната хемокултура.

Фигура 25. Диаграма на подбора на пациентите, 2016 - 2020г.

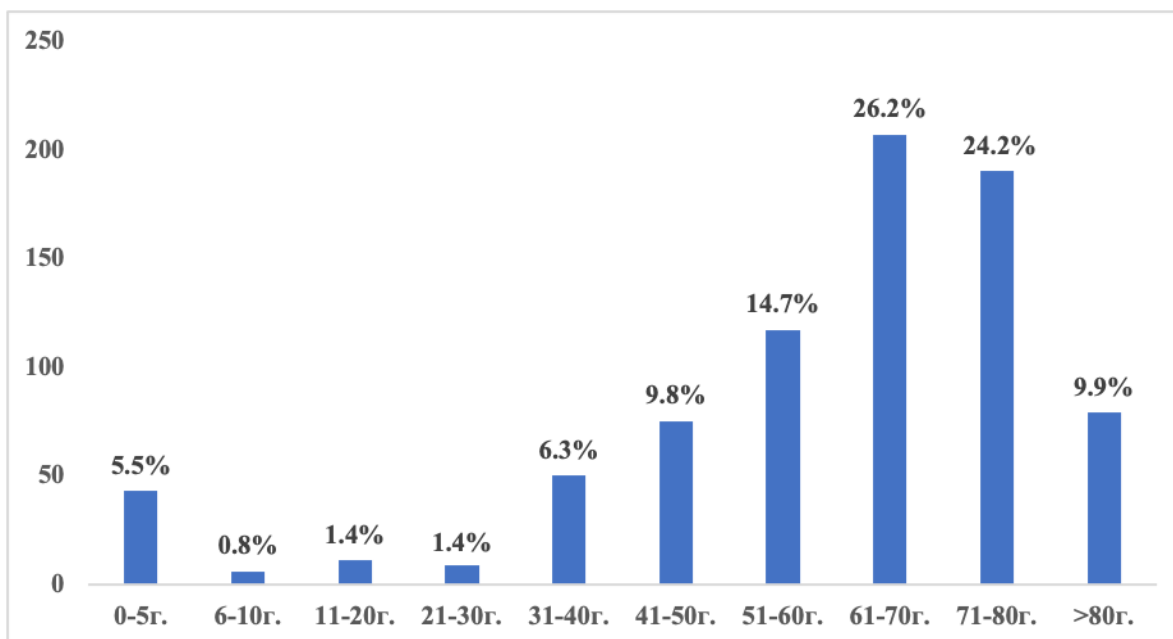


*Преживяемостта е дефинирана като преживяемост за поне 30 дни, а смъртта - като летален изход, настъпил в рамките на до 30 дни след вземането на положителната хемокултура.

Основните характеристики на проучените 798 пациента са представени на таблица 30 и фигура 26.

Таблица 30. Характеристика на пациентите с инфекции на кръвта, стратифицирани по показател „30-дневен леталитет“.

Променливи	Общо n=798 n (%)	Починали до 30 ден n=208 n (%)	Благоприятен изход n=590 n (%)	p
Мъже	442 (55.4)	119 (57.2)	323 (54.7)	0,538
Етническа принадлежност				
Български	663 (83.1)	173 (83.2)	490 (83.1)	0,684
турски	88 (11.0)	20 (9.6)	68 (11.5)	
ромски	33 (4.1)	10 (4.8)	10 (3.9)	
друг	-	-	-	
Възраст 65+	389 (48.7)	91 (43.8)	298 (50.5)	0,094
Средна възраст	59.5 (20.9)	62.0 (19.5)	58.6 (21.3)	0,045
Среден болничен престой	20.3 (25.81)	20.4 (34.72)	20.2 (21.82)	0,934
Вид на клиниката, в която е хоспитализран пациента				
Клиники с профил "Вътрешни болести"	273 (34.2)	55 (26.4)	218 (36.9)	0,001
Хематологични клиники	183 (22.9)	50 (24.0)	133 (22.5)	
Интензивни клиники	201 (25.2)	72 (34.6)	129 (21.9)	
Други	141 (17.7)	31 (14.9)	110 (18.6)	
Място на придобиване на инфекцията				
придобита в обществото	395 (49.5)	82 (39.4)	313 (53.1)	0,001
вътреболнична инфекции	403 (50.5)	126 (60.6)	277 (46.6)	
Вид провеждана терапия				
хирургично лечение	135 (17.0)	13 (6.3)	122 (20.7)	<0,001
лечение в интензивно отделение	148 (18.6)	85 (41.1)	63 (10.7)	
хирургично и интензивно лечение	57 (7.2)	34 (16.4)	23 (3.9)	
нищо едно от посочените	456 (57.3)	75 (36.2)	381 (64.7)	
Предхождаща хоспитализация				
не	492 (61.7)	107 (51.4)	385 (65.3)	<0,001
да (в същата клиника)	112 (14.0)	24 (11.5)	88 (14.9)	
да (в същата болница, но в друга клиника)	132 (16.5)	48 (23.1)	84 (14.2)	
да (в друга болница)	62 (7.8)	29 (13.9)	33 (5.6)	



Фигура 26. Възрастово разпределение на 798 пациенти с инфекции на кръвта, причинени от *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae* complex, *A. baumannii* - *calcoaceticus* complex и *P. aeruginosa* в периода 2016 - 2020г.

Най- висок относителен дял на инфекции на кръвта се доказва във възрастовата група 61-70г. (26.2%), следвана от 71-80г. (24.2%), 51-60г. (14.7%) и над 80г. (9.9%). В група на починалите пациенти, средната възраст е 62 години, а тази в групата на преживелите 58.6 години ($p=0.045$) (таблица 30). Делът на пациентите над 65г. в цялата проучвана извадка е 48.7%, като в групата на починалите, този дял е 43.8%, а в групата с благоприятен изход - 50.5% ($p=0.094$).

Всички 21 клиники, в които са хоспитализирани проучваните пациенти с инфекции на кръвта са разделени в четири групи според профила им: интензивни клиники (I група), клиники с профил „Вътрешни болести“ (II група), Хематологични клиники (III група) и други (IV група) (таблица 31).

С най-висок относителен дял на пациенти с инфекции на кръвта, причинени от 7-те бактериални вида, се представя Клиниката по хематология (21.4%), следвана от Клиника по нефрология (11.7%), Интензивно отделение към Клиника по кардиохирургия (10%) и Клиника по Вътрешни болести (9.6%) (таблица 31).

Таблица 31. Разпределение на пациентите с инфекции на кръвта според вида на клиниката и стратифицирани по показател „30-дневен леталитет“.

Вид на клиниката	Брой пациенти n (%)	Починали пациенти до 30-я ден n (%)
Група I		
Интензивни клиники	201 (25.2)	72 (34.6)
<i>Интензивно отделение към Клиника по кардиохирургия</i>	80 (10.0)	27 (13.0)
<i>Клиника по Анестезиология и Интензивно Лечение</i>	27 (3.4)	17 (8.2)
<i>Интензивно Нервно Отделение</i>	46 (5.8)	13 (6.3)
<i>Интензивно Детско Отделение</i>	36 (4.5)	10 (4.8)
<i>Интензивно Респираторно Отделение</i>	10 (1.3)	4 (1.9)
<i>Интензивно Кардиологично Отделение</i>	2 (0.3)	1 (0.5)
Група II		
Клиники с профил “Вътрешни болести”	273 (34.2)	55 (26.4)
<i>Нефрология</i>	93 (11.7)	14 (6.7)
<i>Гастроентерология</i>	26 (3.3)	14 (6.7)
<i>Вътрешни болести</i>	77 (9.6)	13 (6.3)
<i>Ендокринология</i>	29 (3.6)	1 (0.5)
<i>Кардиология</i>	23 (2.9)	10 (4.8)
<i>Ревматология</i>	20 (2.5)	3 (1.4)
<i>Пулмология</i>	5 (0.6)	0 (0.0)
Група III		
Хематологични клиники	183 (22.9)	50 (24.0)
<i>Клиника по клинична хематология</i>	171 (21.4)	50 (24.0)
<i>Клиника по Детска хематология</i>	12 (1.5)	0 (0.0)
Група IV		
Други клиники	132 (16.5)	31 (14.9)
<i>Хирургични клиники</i>	54 (6.8)	10 (4.8)
<i>Неврологични клиники</i>	42 (5.3)	18 (8.7)
<i>Инфекциозни клиники</i>	21 (2.6)	2 (1.0)
<i>Клиника по онкология</i>	15 (1.9)	1 (0.5)
<i>Педиатрични клиники</i>	6 (0.8)	0 (0.0)
<i>Психиатрични клиники</i>	3 (0.4)	0 (0.0)
Общо	798 (100)	208 (100)

Тридесет-дневният леталитет сред всички 798 пациенти е 26% (208/798), като в групата на пациентите с инфекции, придобити в обществото, този показател е 20.8% (82/395), а при тези с вътреболнични инфекции - 31.3% (126/403) ($p=0,001$).

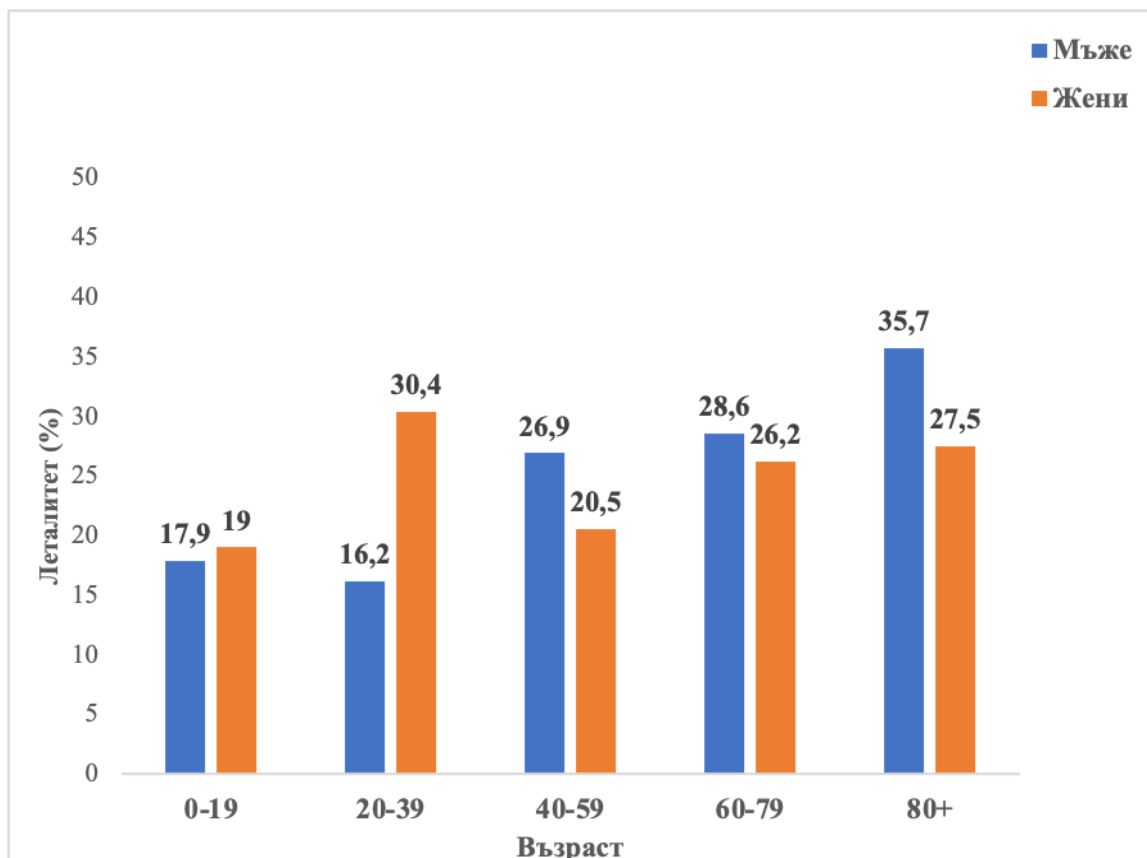
В групата на починалите пациенти до 30-я ден ($n=208$), с най-висок относителен дял са представени пациентите от Клиниката по хематология (24%), следвани от тези в Интензивното отделение към Клиника по кардиохирургия (13.0%), Неврологичните клиники (8.7%), КАИЛ (8.2%) и Клиники по Нефрология (6.7%) и Гастроентерология (6.7%) (таблица 31).

Тридесет-дневният леталитет, изчислен за вида на клиниката, в която е хоспитализиран пациента, е както следва: Интензивни клиники - 35.8%; Вътрешни клиники - 20.1%, Хематологични клиники - 27.3% и други клиники - 23.5% (таблица 32).

Таблица 32. Тридесет-дневен леталитет при инфекциите на кръвта, причинени от *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae*, *A. baumannii - calcoaceticus* complex и *P. aeruginosa* в периода 2016 - 2020г. според вида на клиниката, в която е хоспитализиран пациентът.

Вид на клиниката	Брой пациенти с инфекция на кръвта	Брой починали пациенти до 30-я ден	30- дневен леталитет % (95% CI)
Група I			
Интензивни клиники	201	72	35.8 (29,2 – 42,9)
<i>Интензивно отделение към Клиника по кардиохирургия</i>	80	27	33.8 (23,5 - 45,2)
<i>Клиника по Анестезиология и Интензивно Лечение</i>	27	17	63.0 (42,4 - 86,7)
<i>Интензивно Нервно Отделение</i>	46	13	28.3 (16 - 43,4)
<i>Интензивно Детско Отделение</i>	36	10	27.8 (14,2 - 45,2)
<i>Интензивно Респираторно Отделение</i>	10	4	40.0 (12,2 - 73,2)
<i>Интензивно Кардиологично Отделение</i>	2	1	50 (1,3 - 98,7)
Група II			
Клиники с профил "Вътрешни болести"	273	55	20.1 (15,6 – 25,4)
<i>Нефрология</i>	93	14	15.0 (8,5 - 24)
<i>Гастроентерология</i>	26	14	53.8 (33,4 - 73,4)
<i>Вътрешни болести</i>	77	13	16.9 (9,3 - 27,1)
<i>Ендокринология</i>	29	1	3.4 (0,1 - 17,8)
<i>Кардиология</i>	23	10	43.5 (23,1 - 65,5)
<i>Ревматология</i>	20	3	15.0 (3,21 - 37,9)
<i>Пулмология</i>	5	0	0.0 (0,00 - 52,2)
Група III			
Хематологични клиники	183	50	27.3 (21,01 – 34,4)
<i>Клиника по клинична хематология</i>	171	50	29.2 (22,5 - 36,7)
<i>Клиника по Детска хематология</i>	12	0	0.0 (0,00 - 26,5)
Група IV			
Други клиники	132	31	23.5 (16,6 – 31,7)
<i>Хирургични клиники</i>	54	10	18.5 (9,25 - 31,4)
<i>Неврологични клиники</i>	42	18	42.9 (27,7 - 59)
<i>Инфекциозни клиники</i>	21	2	9.5 (0,12 - 23,8)
<i>Клиника по онкология</i>	15	1	6.7 (0,17 - 32)
<i>Педиатрични клиники</i>	6	0	0.0 (0,00 – 45,9)
<i>Психиатрични клиники</i>	3	0	0.0 (0,00 - 70,8)
Общо	798	208	26.0

Разпределението на починалите пациенти до 30-я ден по възраст и пол е представено на фигура 27. Най-висок дял починали пациенти от мъжки пол има във възрастта над 80г. (35.7%), докато при жените - във възрастовата група 20-39г. (30.4%).



Фигура 27. Тридесет дневен леталитет при инфекции на кръвта, причинени от *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae* complex, *A. baumannii* - *calcoaceticus* complex и *P. aeruginosa* в периода 2016 - 2020г., представен по възраст и пол.

Таблица 33 показва леталитета до 30-я ден в групите пациенти, разделени според бактериалния вид, причинител на инфекцията на кръвта в периода 2016 - 2020г. С най-висок 30-дневен леталитет се съпътстват инфекциите, причинени от *A. baumannii* (56.3% [43-68]), като се установява статистически значима разлика при сравнение на този показател в случаите на инфекции, причинени от *A. baumannii* - *calcoaceticus* complex от една страна и тези, причинени от *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae* ($p=0.026$).

Таблица 33. Тридесет-дневен леталитет в пациенти с инфекции на кръвта в периода 2016-2020г., групирани спрямо бактериалния вид, причинил инфекцията.

Бактериален вид	Общ брой пациенти с инфекция на кръвта	Брой починали до 30-я ден	30-дневен леталитет % (95% CI)
<i>S. aureus</i>	235	43	18.3 (14-24)
<i>E. coli</i>	210	49	23.3 (18-30)
<i>K. pneumoniae</i>	139	40	28.8 (21-37)
<i>E. cloacae</i>	83	18	21.7 (13-32)
<i>A. baumannii</i>	64	36	56.3 (43-68)
<i>P. aeruginosa</i>	53	19	35.8 (23-50)
<i>S. pneumoniae</i>	14	3	21.4 (5-51)

На таблица 34 е показана информация за видовете *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae* complex, *A. baumannii* - *calcoaceticus* complex и *P. aeruginosa*, доказани като етиологични агенти на инфекции на кръвта в проучваната група пациенти и стратифицирани по показател 30-дневен леталитет и антибиотична резистентност. Сред всички проучвани пациенти с инфекции на кръвта (n=798), *S. aureus* е най-честият етиологичен агент (29.4%), следван от *E. coli* (26.3%) и *K. pneumoniae* (17.4%), а най-често изолираните антибиотично - резистентни микроорганизми са ampicillin-резистентните *E. coli* (126/798) и резистентните към 3-та генерация цефалоспорини *K. pneumoniae* (91/798). *E. coli* (23.6%; 49/208), *S. aureus* (20.7%; 43/208) и *K. pneumoniae* (19.2%; 40/208) се асоциират с най-голям брой смъртни случаи.

При оценка на 30-дневния леталитет спрямо комбинацията „бактериален вид/антибиотик“, аминогликозид, хинолон и меропенем-резистентните *A. baumannii* - *calcoaceticus* complex се асоциират с най-голям брой смъртни случаи (15.9-16.3%; 34/208; 33/208), следвани от ampicillin-резистентните *E. coli* (15.9%; 33/208) и резистентните на цефалоспорини от трета генерация *K. pneumoniae* (14.9%; 31/208)

(таблица 34). Инфекциите на кръвта, причинена от *E. coli*, резистентни на 3-та генерация цефалоспорици се асоциират със статистически значим по-висок риск от летален изход ($p=0.006$), както и инфекциите, причинени от резистентни *P. aeruginosa*, резистентни на ceftazidime, piperacillin/tazobactam, meropenem и аминогликозиди ($p<0.05$) (таблица 34).

Таблица 34. *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae* complex, *A. baumannii* - *calcoaceticus* complex и *P. aeruginosa* - асоциирани инфекции на кръвта при 798 хоспитализирани пациенти в периода 2016 - 2020г., стратифицирани по показател „30-дневен леталитет“ и антибиотична резистентност.

	Общ брой пациенти n (%)	Починали до 30-я ден n (%)	Благоприятен изход n (%)	p
Бактериален вид				<0.001
<i>Staphylococcus aureus</i>	235 (29.4)	43 (20.7)	192 (32.5)	0.77
MRSA	31 (13.2)	6 (2.9)	25 (4.2)	0.870
erythromycin резистентни	59 (25.1)	13 (6.3)	46 (7.8)	0.437
clindamycin резистентни	48 (20.4)	13 (6.3)	35 (5.9)	0.094
аминогликозиди резистентни	42 (17.9)	7 (3.4)	35 (5.9)	0.830
флуорхинолони резистентни	17 (7.2)	4 (1.9)	13 (2.2)	0.523
<i>E. coli</i>	210 (26.3)	49 (23.6)	161 (27.3)	0.983
ampicillin резистентни	126 (60.0)	33 (15.9)	93 (15.8)	0.248
трета генерация цефалоспорици резистентни	57 (27.1)	21 (10.1)	36 (6.1)	0.006
piperacillin/tazobactam резистентни	20 (9.5)	7 (3.4)	13 (2.2)	0.263
аминогликозиди резистентни	42 (20.0)	13 (6.3)	29 (4.9)	0.222
флуорхинолони резистентни	78 (37.1)	23 (11.1)	55 (9.3)	0.129
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	139 (17.4)	40 (19.2)	99 (16.8)	0.562
трета генерация цефалоспорици резистентни	91 (65.5)	31 (14.9)	60 (10.2)	0.076
piperacillin/tazobactam резистентни	78 (56.1)	24 (11.5)	54 (9.2)	0.577
meropenem резистентни	9 (6.5)	1 (0.5)	8 (1.4)	0.446
аминогликозиди резистентни	63 (45.3)	21 (10.1)	42 (7.1)	0.347
флуорхинолони резистентни	84 (60.4)	27 (13.0)	57 (9.7)	0.340
<i>Enterobacter cloacae</i> <i>complex</i>	83 (10.4)	18 (8.7)	65 (11.0)	0.983
трета генерация цефалоспорици резистентни	55 (66.3)	14 (6.7)	41 (6.9)	0.277
piperacillin/tazobactam резистентни	48 (57.8)	13 (6.3)	35 (5.9)	0.188

меропенем резистентни	1 (1.2)	1 (0.5)	0 (0.0)	0.217
аминогликозиди резистентни	47 (56.6)	12 (5.8)	35 (5.9)	0.424
флуорхинолони резистентни	47 (56.6)	13 (6.3)	34 (5.8)	0.181
<i>Acinetobacter baumannii-calcoaceticus complex</i>	64 (8.0)	36 (17.3)	28 (4.7)	0.026
меропенем резистентни	54 (84.4)	33 (15.9)	21 (3.6)	0.90
аминогликозиди резистентни	61 (95.3)	34 (16.3)	27 (4.6)	1
флуорхинолони резистентни	61 (95.3)	34 (16.3)	27 (4.6)	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	53 (6.6)	19 (9.1)	34 (5.8)	0.313
ceftazidime резистентни	18 (34.0)	10 (4.8)	8 (1.4)	0.04
piperacillin/tazobactam резистентни	20 (37.7)	11 (5.3)	9 (1.5)	0.038
меропенем резистентни	18 (34.0)	10 (4.8)	8 (1.4)	0.04
аминогликозид резистентни	20 (37.7)	11 (5.3)	9 (1.5)	0.038
флуорхинолони резистентни	21 (39.6)	11 (5.3)	10 (1.7)	0.077
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	14 (1.8)	3 (1.4)	11 (1.9)	0.670
penicillin резистентни	5 (35.7)	1 (0.5)	4 (0.7)	1.000
Общо	798 (100)	208 (100)	590 (100)	

Приложеният еднофакторен регресионен анализ установи, че съществува статистически значима връзка между вероятността за преживяване до 30-я ден и следните фактори: възраст, вид на клиниката, в която е хоспитализиран пациента, място на придобиване на инфекцията (болнична или в обществото), предшестваща хоспитализация, вид на провежданата терапия, бактериален вид и инфекциозен синдром. Всички демографски показатели без възраст (пол, етническа принадлежност, образование, социален статус) нямат връзка с риска за умиране до 30-я ден и не са значими рискови фактори за леталитет в проучваната група пациенти.

Конструиран беше модел, в който бяха включени всички 7 фактора самостоятелно оказващи значим ефект върху вероятността за умиране / преживяване, а именно: възраст, вид на клиниката, бактериален вид, инфекция придобита в болница или в обществото, предхождаща хоспитализация, вид на инфекциозния синдром, проведено хирургическо и/или лечение в интензивна клиника. От всички седем независими променливи, само възрастта е количествена променлива. Отчетени едновременно, тези променливи статистически значимо прогнозира вероятността за преживяване до и след 30 ден: хи квадрат тест = 296.026, $df=48$, $p<0.00001$. Съгласно критерия на Валд, една от тези независими променливи - „инфекция придобита в болница или в обществото“, беше отчетена като статистически незначима и поради това изключена от регресионния модел, като бе конструиран редуциран регресионен модел с шест независими променливи:

- възраст, $p=0.001$
- вид на клиниката, $p=0.007$
- бактериален вид, $p = 0.001$
- предхождаща хоспитализация, $p=0.029$
- клиничен (инфекциозен) синдром, $p = 0.001$
- проведено хирургично и/или интензивно лечение, $p<0.00001$

Анализът доказва редуцирания регресионен модел като статистически значим: моделът обяснява между 31.1% (Cox & Snell) и 45.5% (Nagelkerke) от дисперсията на зависимата променлива починал/жив и коректно класифицира 81.9% от наблюденията (106 от 208 починали и 546 от 590 живи са точно предвидени и класифицирани). Критерият на Валд показва, че и шестте независими променливи, влияят съществено на прогнозата за преживяемост до 30-ден. т.е те са фактори, самостоятелно оказващи значим ефект върху вероятността за умирање / преживяване (предсказващи фактори за смърт). Стойностите на регресионните коефициенти и отношенията на шансовете са представени в таблица 35. С увеличаване на възрастта вероятността за благоприятен изход от болестта намалява ($p=0.001$).

Таблица 35. Многофакторен регресионен анализ прогнозиращ вероятността за 30-дневен леталитет при пациенти с инфекции на кръвта, причинени от *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae* complex, *A. baumannii - calcoaceticus* complex и *P. aeruginosa*, 2016 - 2020г.

Променлива	B	p value	Odds ratio Exp B	95% CI for EXP(B)
Възраст	-0,027	0,001	0,973	0,958 - 0,989
Клиника		0,005		
Нефрология	-0,975	0,366	0,377	0,045 - 3,131
Онкология	0,002	0,999	1,002	0,056 - 18, 051
Вътрешна Клиника	-1,418	0,188	0,242	0,029 - 1,997
Пулмология	18,098	0,999	72401648	0
ИРО	-0,457	0,725	0,633	0,05 - 8,051
Кардиология	-2,354	0,043	0,095	0,0 - 0,9241
ИКО	-4,031	0,027	0,018	0,001 - 0,629
Ревматология	-1,299	0,345	0,273	0,018 - 4,053
Хематология	-1,878	0,079	0,153	0,019 - 1,239
Ендокринология	1,366	0,364	3,921	0,205 - 75, 061
Гастроентерология	-2,811	0,012	0,06	0,007 - 0,545

Неврология	-1,242	0,26	0,289	0,033 - 2,503
ИНО	0,277	0,803	1,319	0,15 - 11,594
Педриатрия	16,679	0,999	17526341	0
ИДО	-1,924	0,119	0,146	0,013 - 1,644
Детска Онкохематология	16,848	0,999	20739139	0
Хирургия	-1,202	0,311	0,301	0,029 - 3,079
КАИЛ	-1,383	0,233	0,251	0,026 - 2,433
ИКХ	-2,077	0,102	0,125	0,01 - 1,511
Психиатрия	18,331	0,999	91448497	0
Бактериален вид		0		
<i>K. pneumoniae</i>	-1,052	0,196	0,349	0,071 - 1,719
<i>A. baumannii-calcoaceticus</i> complex	-2,39	0,005	0,092	0,017 - 0,495
<i>E. coli</i>	-1,332	0,099	0,264	0,054 - 1,283
<i>E. cloacae</i> complex	-0,77	0,366	0,463	0,087 - 2,459
<i>P. aeruginosa</i>	-1,675	0,052	0,187	0,035 - 1,013
<i>S. aureus</i>	-0,531	0,511	0,588	0,121 - 2,862
Предхождаща хоспитализация		0,03		
Няма	0,916	0,01	2,5	1,239 - 5, 043
Предхождаща хоспитализация в същата клиника	0,808	0,09	2,244	0,881 - 5,716
Предхождаща хоспитализация в същата болница, но в друга клиника	0,353	0,405	1,423	0,62 - 3,265
Клиничен синдром		0,001		
респираторен	-0,938	0,353	0,391	0,054 - 2,829
гастроинтестинален	-1,792	0,056	0,167	0,027 - 1,045
урологичен	-0,33	0,723	0,719	0,116 - 4,465
ЦНС	-1,583	0,095	0,205	0,032 - 1,316
токси-инфекциозен	-1,772	0,047	0,17	0,029 - 0,98
кожен	0,207	0,869	1,23	0,105 - 14, 41
кардиологичен	-0,69	0,494	0,501	0,07 - 3,617
Провеждано лечение в ICU и/или хирургическо лечение		0		
Няма провеждано лечение в ICU и/или хирургическо лечение	2,399	0	11,009	3,983 - 30, 433
Хирургическо лечение	2,746	0	15,578	5,892 - 41, 185
Лечение в ICU	-0,19	0,705	0,827	0,31 - 2,208
Constant	3,936	0,019	51,218	

Съкращения: ИДО, Интензивно Детско Отделение; ИКО, Интензивно Кардиологично Отделение; ИКХ, Интензивно отделение към Кардио-хирургична клиника; ИНО, Интензивно Нервно Отделение; ИРО, Интензивно Респираторно Отделение; КАИЛ, Клиника по анестезиология и интензивно лечение; ICU, интензивна клиника.

По-малък риск за смъртен изход се установява в случаите, в които липсва анамнеза за предшестваща хоспитализация. Липсата на хирургическо лечение и хоспитализация в не-ICU се свързват с увеличена вероятност за преживяване, докато престоят в ICU и едновременно престой в ICU и хирургично лечение - с повишен риск от летален изход, като рискът за това в случай на ICU престой се увеличава с 82.7% (таблица 35). Токсикоинфекциозният синдром се асоциират също с нарастващ риск за неблагоприятен изход.

В следващ етап е проведен еднофакторен регресионен анализ с цел определяне на факторите обуславящи вероятността за умирање до 30-ден за всяка от 7-те групи пациенти, групирани според бактериалния вид, причиняващ инфекция на кръвта.

Идентифицирани са следните променливи като статистически значими, самостоятелни предиктивни фактори за леталитет както следва:

- инфекции, причинени от *E. coli*: (1) „предхождаща хоспитализация“, (2) „хирургично и ICU лечение“, (3) „резистентност към цефалоспорини от трета генерация“.
- инфекции, причинени от *S. aureus* - „възраст“ и „ICU/хирургическо лечение“
- инфекции, причинени от *K. pneumoniae*: „хирургично/ICU лечение“
- инфекции, причинени от *P. aeruginosa*: „хирургично лечение“ и „резистентност към gentamicin, ceftazidime, ciprofloxacin и meropenem“
- инфекции, причинени от *A. baumannii - calcoaceticus* complex: „хирургично лечение“

За случаите на инфекции причинени от *S. pneumoniae* и *E. cloacae*, не се установиха самостоятелно значими предиктори на риска за умирање до 30-я ден.

В конструиран модел, включващ едновременно и трите променливи, самостоятелно свързани с риска за умирање в случаите на *E. coli* инфекции, тези фактори остават значимо свързани с риска за умирање ($p < 0.0001$). Аналогично и за *S. aureus* инфекциите - в модел включващ едновременно променливите „възраст“ и „ICU/хирургическо лечение“, тези фактори остават значимо свързани с риска за умирање ($p < 0.0001$) (таблица 36). В случаите на *P. aeruginosa* обаче, от поставените в общ модел показатели „хирургическо лечение“ и „резистентност към gentamicin, ceftazidime,

ciprofloxacin и meropenem“, статистически значим рисков фактор остава само вида на лечението (таблица 36).

Таблица 36. Рискови фактори за 30-дневен леталитет при пациентите, групирани според бактериалния вид, причиняващ инфекцията на кръвта.

Променлива	B	p value	Odd Ratio Exp(B)	95% CI for EXP(B)	
				Lower	Upper
<i>K. pneumoniae</i>					
без хирургично/интензивно лечение	1.546	.002	4.692	1.727	12.747
хирургично лечение	21.203	.998	1615474842.851	.000	.
интензивно лечение	-.405	.483	.667	.215	2.067
Constant	.000	1.000	1.000		
<i>E. coli</i>					
предхождаща хоспитализация		.036			
липса на предхождаща хоспитализация	1.282	.127	3.604	.695	18.688
провеждане на ICU / хирургично лечение		.000			
без хирургично/ICU лечение	2.632	.026	13.897	1.366	141.422
резистентност към цефалоспорици трета генерация	-1.088	.023	.337	.132	.862
Constant	-1.658	.243	.191		
<i>S. aureus</i>					
без хирургично/ICU лечение	2.666	.000	14.386	3.309	62.539
хирургично лечение	21.873	.997	3158788063.095	.000	.
интензивно лечение	.447	.565	1.564	.341	7.175
Възраст	-.038	.000	.962	.943	.982
Constant	1.727	.059	5.624		
<i>P. aeruginosa</i>					
без хирургично/интензивно лечение	2.238	.087	9.377	.720	122.035
хирургично лечение	3.616	.019	37.180	1.827	756.508
интензивно лечение	.786	.585	2.194	.131	36.700
резистентност към аминогликозиди	-21.523	1.000	.000	.000	.
резистентност към ceftazidime	-1.773	.246	.170	.008	3.406
резистентност към флуорохинолони	22.338	1.000	5028474008.979	.000	.
резистентност към piperacillin/tazobactam	-.798	.567	.450	.029	6.900

Constant	-.803	.500	.448		
A. baumannii - calcoaceticus complex					
без хирургично/интензивно лечение	1.030	.325	2.800	.361	21.727
хирургично лечение	1.946	.033	7.000	1.173	41.759
интензивно лечение	.272	.771	1.312	.210	8.184
Constant	-1.253	.118	.286		

Съкращения: ICU, интензивна клиника.

Обсъждане

Настоящото проучване доказва относително висок 30-дневен леталитет (26%) в неселектирана популация от хоспитализирани пациенти с инфекции на кръвта, причинени от *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae* complex, *A. baumannii - calcoaceticus* complex и *P. aeruginosa*. При сравняването на получените резултати с тези в научната литература, се установяват силно вариабилни данни, вероятно повлияни от дизайна на проучването, мястото на придобиване на инфекцията, различното разпределение на патогените в етиологичния спектър, разлики в превалирането на антибиотичната резистентност, както и разлики в предоставянето на здравни грижи в съответната държава, като смъртността варира между 10% и 19% за инфекциите на кръвта, придобити в обществото, между 17% и 28% за нозокомиалните и достигат до 35-60% в интензивните клиники (Alonso-Menchén D, 2022; Bassetti M, 2016; Verway M, 2022). Например според многоцентрови проучвания в Испания, 30-дневният леталитет сред пациенти с инфекции на кръвта в периода 2006-2017г. се движи между 21.1% през 2006г. до 21.5% през 2016г., като вариации се установяват в зависимост от мястото на придобиване на инфекцията (16.1% за тези, придобити в обществото до 24.8% - за вътреболничните) (Pérez-Crespo P, 2021). Друго проучване в Испания също потвърждава разликите в смъртността, с която се асоциират инфекциите на кръвта, придобити в обществото (11.6%), тези, свързани с медицинското обслужване (19.5%) и вътреболничните инфекции (22%) на фона на обща 30-дневна смъртност от 16.9% (Pérez-Crespo P, 2021a). Подобно, настоящото проучване също установява по-висок 30-дневен леталитет в случаите на нозокомиални инфекции (31.3%) спрямо този при инфекции, придобити в обществото (20.75%) ($p=0.001$), като относителният дял на починалите пациенти с нозокомиални инфекции достига 60.6% в цялата група починали ($n=208$), а 30-дневния леталитет в интензивните клиники средно е 35.8%, достигайки 63% в КАИЛ. От клиниките с профил „не-интензивни“, най-висок 30-

дневен леталитет се доказва в Хематологичните клиники (27.3%). Резултатите от проучвания върху смъртността при пациенти с онкохематологични заболявания с инфекции на кръвта, са много вариращи, като се движат между 12 и 42%, като често този показател е по-висок в случаите на Грам отрицателни инфекции в сравнение с Грам положителните (*Garcia-Vidal C, 2018; Nørgaard M, 2006; Treçarichi E, 2014, Treçarichi E, 2015; Tumbarello M, 2009; Wisplinghoff H, 2003*). По отношение на проучваните бактериални видове, 30-дневния леталитет се свързва с най-голям брой инфекции, причинени от *E. coli* (23.6%), следвани от *S. aureus* (20.7%) и *K. pneumoniae* (19.2%). Макар и в по-ниски стойности, проучване на Н. Hatori в Японска болница в периода 2012-2016г., съобщава за най-висок 30-дневен леталитет при *S. aureus* (14.7%), следван от *E. coli* (8.8%), *K. pneumoniae* (8.2%), *Enterobacter spp.* (4.4%), *Pseudomonas spp.* (3.8%) и *Acinetobacter spp.* (0.6%) асоциираните инфекции (*Hattori H, 2018*). Тридесет-дневният леталитет, оценен за 10-годишен период (2007 - 2016г.) сред 16 болници в Китай е значително по-нисък от установения от нас (12.8%), като авторите докладват вариращи нива на смъртност, свързана с различни патогени: *S. aureus* - между 20.4% (2009-2010г.) и <10% (2015-2016г.); за *A. baumannii* и *P. aeruginosa* - нарастваща в края на проучвания период (30% и над 25% съответно), докато за *E. coli* и *K. pneumoniae* асоциираните инфекции на кръвта - относително ниска смъртност (10% и 8%) и стабилизирани нива в годините (*Jin L, 2021*). По-ранни проучвания отчитат 30-дневна смъртност от по 20%, свързана съответно със *S. aureus* и *Klebsiella spp.* инфекции на кръвта, възникнали в обществото (*Laupland K, 2014*). Популационно проучване в Канада върху смъртността, свързана с инфекции на кръвта установява, че от групата на ESKAPEЕс патогените, *S. aureus*, *E. coli* и *K. pneumoniae* се асоциират с най-голям брой смъртни случаи на 30-я ден (*Verway M, 2022*). Получените резултати са много близки до докладваните данни през 2022г. от голямо проучване върху смъртността на глобално, регионално и национално ниво, свързана с 33 патогена (вкл. ESKAPEЕс) и 11 инфекциозно синдрома (вкл. инфекции на кръвта) (*Ikuta K, 2022*). Проучването установява, че независимо от географския регион, *S. aureus* е водеща причина за фатални инфекции на кръвта (299 000 умирения (166 000–485 000); смъртност 3.9/100 000), като се асоциира с 23% от умиренията от инфекции на кръвта в HICs-супер региона през 2019г. Освен *S. aureus*, още 4 бактериални вида глобално се асоциират с най-високи нива на смъртност като причинители на инфекции кръвта - *K. pneumoniae* (3.42/100 000), *A. baumannii* (3.20/100 000), *E. coli* (3.13/100 000) и *P. aeruginosa* (2.10/100 000). В съответствие с резултатите от настоящото проучване,

данните за България сочат, че най-високите нива на смъртността при инфекции на кръвта са свързани с *E. coli* (20.37 / 100 000), *S. aureus* (9.15 / 100 000) и *K. pneumoniae* (7.63/100 000) и те са сред най-високите глобално (<https://vizhub.healthdata.org/microbe/>). Трябва да отбележим и установения висок дял на починали, свързани с *K. pneumoniae* (19.2%) в настоящата работа, което е в съответствие с други проучвания, демонстриращи този патоген като най-бързо растящата заплаха в Европа по отношение на заболяемост и смъртност, бактериален вид, предимно свързан с вътре- и междуболнична трансмисия (David S, 2019).

При оценяване на показателя „30-дневен леталитет“ спрямо комбинацията микроорганизъм/антибиотик, се установява, че с най-висок дял в групата на починалите са тези с инфекции на кръвта, причинени от аминогликозид, хинолон и меропенем-резистентни *A. baumannii - calcoaceticus* complex (15.9 - 16.3%), следвани от ампицилин-резистентни *E. coli* (15.9%) и *K. pneumoniae*, резистентни на цефалоспорини от трета генерация (14.9%), а причинените от *E. coli*, резистентни на цефалоспорини от трета генерация са представени с 10.1%. Противно на тези резултати, по-горе цитираното проучване докладва, че с най-висока смъртност в световен мащаб се асоциират MRSA (1.56/100 000) и резистентните на цефалоспорини от трета генерация *E. coli* (0.77/100 000) и на следващи позиции - карбапенем-резистентните *A. baumannii* (0.75/100 000), карбапенем-резистентните *K. pneumoniae* (0.72/100 000) и резистентните на цефалоспорини трета генерация *K. pneumoniae* (0.65/100 000) (Ikuta K, 2022). Смъртността в България при инфекции на кръвта, причинени от резистентни на цефалоспорини трета генерация *E. coli* (2.37 / 100 000), резистентни на цефалоспорини трета генерация *K. pneumoniae* (1.66 / 100 000), карбапенем-резистентни *K. pneumoniae* (1.13 / 100 000) и карбапенем-резистентни *A. baumannii* (0.71 / 100 000) е сред най-високите (<https://vizhub.healthdata.org/microbe/>). Подобно на това, популационен анализ, извършен през 2015г. в Европейския съюз с цел оценка на показателите „смъртност“ и „DALYs“ (години живот загубени поради болест и/или преждевременна смърт) на база резултати от EARS Net, доказва, че около 68% (115 от 170) от общия DALYs на 100 000 население са причинени от 4 антибиотично резистентни бактерии, а именно: резистентни на трета генерация цефалоспорини *E. coli* (4-кратно нараснал брой на смъртните случаи в периода 2007-2015г.), MRSA, карбапенем-резистентни *P. aeruginosa* и резистентни на трета генерация цефалоспорини *K. pneumoniae*, факт, който потвърждава значимостта на тези патогени (Cassini A, 2019). Проучване на ECDC в периода 2016 - 2020г., установява, че *E. coli* продължава да е най-често съобщавания

патоген в EARS-Net и съответно асоцииран с най-високия болестен товар за този период, като най-голям принос за това имат инфекциите, причинени от *E. coli*, резистентни на цефалоспорици от трета генерация, следвани от MRSA и *K. pneumoniae*, резистентни на цефалоспорици от трета генерация, като заедно генерират 58.2% от общия DALYs., макар в този период в много страни карбапенем-резистентните *Acinetobacter* spp., *P. aeruginosa* и *K. pneumoniae* да са сред антибиотично резистентните бактерии със сравнително висок DALYs, особено през 2020г. (ECDC, 2022c).

Настоящото проучване доказва нисък дял на MRSA (2.9%) и карбапенем-резистентни *K. pneumoniae* инфекции на кръвта (0.5%) в групата на починалите пациенти изобщо, както и нисък дял на починалите с MRSA и карбапенем-резистентни *K. pneumoniae* съответно в групите пациенти със *S. aureus* (6 от 235) и *K. pneumoniae*, асоциирани инфекции (1 от 139). Особено висока смъртност, свързана с MRSA инфекции на кръвта се доказва в НИС (2.52/100 000), САЩ (2.66/100 000), Гърция (3.58/100 000) и Италия (2.18/100 000), като за Гърция се установява и висока смъртност при инфекции на кръвта, свързана с карбапенем-резистентни *K. pneumoniae* (1.56/100 000) (Ikuta K, 2022; <https://vizhub.healthdata.org/microbe/>).

В настоящото проучване бяха оценени демографски, клинични и микробиологични показатели с цел установяването на предикторите за летален изход. Познаването на прогностичните фактори позволява идентифициране в реално време на онези пациенти, които са в повишен риск за смъртен изход след инфекция на кръвта. Приложеният многофакторен регресионен анализ установи, че шест променливи - възраст, вид на клиниката, предшестваща хоспитализация, вид на провежданата терапия (ICU и/или хирургично лечение), бактериален вид и инфекциозен синдром са независими предсказващи фактори за смърт. Различни проучвания съобщават множество клинични фактори (подлежащи заболявания, предшестваща антибиотична терапия, тежест на бактериемията) и фактори, отнасящи се до пациента (възраст, пол, предшестваща хоспитализация) като показатели, независимо свързани с фатален изход в случаите на инфекции на кръвта, макар по-често това да са проучвания с фокус върху специфични субпопулации от пациенти, а не върху общата популация (Babich T, 2020; Diallo K, 2018; Rac H, 2020). Подобно на установеното от нас, Jin et al. доказват възрастта, престоя в ICU и клиничните симптоми (също и онкологично заболяване и продължителност на болничния престой) като независими предиктори за смърт в общата популация (Jin L, 2021). Други проучвания върху ESKAPEc инфекции на

кръвта идентифицират още женският пол, преждевременно и/или ниско тегло при раждане, лимфоцитен брой $< 300/\text{mm}^3$, кортикостероидна терапия, бета-лактамна монотерапия и септичен шок като предиктори за неблагоприятен изход (Bodro M, 2014; Song S, 2014; Ye Q, 2014).

Настоящото проучване доказва, че с най-висок 30-дневен леталитет се съпътстват инфекциите, причинени от *A. baumannii* - *calcoaceticus* complex (53.6%) и *P. aeruginosa* (35.8%), а тези, причинени от *E. coli*, резистентни на 3-та генерация цефалоспорини и *P. aeruginosa*, резистентни на ceftazidime, piperacillin/tazobactam, meropenem и аминогликозиди се асоциират със статистически значим по-висок риск от летален изход. Тези резултати са в унисон със съобщеното и от други автори в едноцентрови и многоцентрови болнични проучвания (Hattori H, 2021; Jin L, 2021). Wisplinghoff *et al.* рапортуват смъртност от 40% в случаите на нозокомиални инфекции на кръвта, причинени от *A. baumannii* (Wisplinghoff H, 2012), а Wong *et al.* - около 60% при инфекции на кръвта и вътреболнични пневмонии, причинени на карбапенем-резистентни *A. baumannii* (Wong D, 2017). Сред ESKAPEЕс патогените, в мащабно популационно проучване M. Verway рапортува най-висока 30-дневна смъртност за инфекции на кръвта, причинени от *Pseudomonas* spp. (24.7%), *S. aureus* (22.8%) и *Klebsiella* spp. (17.6%) и значително по-ниска от установената от нас - за *Acinetobacter* spp. (15.5%) (Verway M, 2022). По-нисък 30-дневен леталитет (30%) при *Acinetobacter* - инфекции на кръвта се доказва и в проучване на R. Patel (Patel R, 2019). Проучване на Chen *et al.* установява по-висок 14-дневен леталитет сред пациенти с инфекции на кръвта, причинени от *A. baumannii*, придобити в обществото (38.9%), отколкото в групата на вътреболничните инфекции (20.4%), изтъквайки като възможна причина повишена вирулентност на щамовете от обществото и неадекватна антимикробна терапия на тези инфекции (Chen C, 2018). В настоящото проучване *K. pneumoniae* е бактериалният вид, при който след *A. baumannii* и *P. aeruginosa*, се отчита най-висок 30-дневен леталитет (28.8%). Близки до тези стойности се съобщават от T. Xiao (25.6%), но този автор доказва много по-висок 28-дневен леталитет в случаите на инфекции на кръвта, причинени от карбапенем-резистентни *K. pneumoniae* (55.8%) в сравнение с тези, асоциирани с карбапенем-чувствителни изолати (13.9%), като карбапенемната резистентност, тежката форма на заболяването и лечението с tigecycline са идентифицирани като независими рискови фактори за смърт от инфекция на кръвта, причинена от *K. pneumoniae* (Xiao T, 2020). Китайско проучване върху *K. pneumoniae* асоциираните инфекции на кръвта, докладва нарастваща в годините

смъртност, асоциирана с тези инфекции - от 14% през 2014г. до 44% през 2019г., също и по отношение на карбапенем-резистентните *K. pneumoniae* инфекции на кръвта - от 38% през 2014г. до 74% през 2019г. (Li Y, 2020). Като независими рискови фактори за смърт са идентифицирани „предшестваща хоспитализация“, „солиден тумор“, „неинвазивна вентилация“ и „използване на бета-лактамазен инхибитор“, а в случаите на карбапенем-резистентни *K. pneumoniae* - предшестваща хоспитализация, продължителен болничен престой, костно-мозъчна пункция и използване на бета-лактамазен инхибитор. В настоящото проучване е доказан един случай, причинен от карбапенем-резистентен *K. pneumoniae* изолат, завършил с летален изход до 30-я ден, но в цялата група на починалите пациенти (n=208), след ampicillin-резистентните *E. coli* и карбапенем-резистентните *A. baumannii - calcoaceticus* complex, резистентните към цефалоспорини от трета генерация *K. pneumoniae* (14.9%) са най-често доказвани. За разлика от *E. coli* обаче, въпреки високите нива на резистентност в *K. pneumoniae*, резистентността към нито една от антибиотичните групи не се асоциира с по-висок риск от летален изход ($p>0.05$). В литературата също има подобни проучвания рапортуващи, че резистентността в *K. pneumoniae* (специално към карбапенеми) не е рисков фактор за смъртен изход при инфекции, асоциирани с този бактериален вид, като някои автори съобщават за повишена смъртност в резултат на хипервирулентни щамове *K. pneumoniae*, които иначе са чувствителни на всички антибиотици с изключение на ampicillin (Li Y, 2020; Luci C, 2013; Vardakis K, 2015; Wang X, 2018). Подобно, проучване на X. Peng върху рисковите фактори и изхода на инфекции на кръвта, причинени от ESKAPEEs патогени при хоспитализирани деца, установява 14.4% смъртност в тази група пациенти, без да се доказва статистически значима разлика в смъртността между MDR ESKAPEEs и non-MDR ESKAPEEs инфекциите, което дава основание на авторите да заключат, че в тази проучвана група MDR ESKAPEEs не са били рисков фактор за неблагоприятен изход (Peng X, 2021). Като такива са били идентифицирани хирургично лечение, престой в ICU, провеждана механична вентилация и тромбоцитопения (Peng X, 2021), като някои от тези фактори се потвърждават и в настоящото проучване.

При оценка на 30-дневния леталитет, отнесен към конкретен етиологичния агент, многофакторният регресионен анализ идентифицира в случаите на *E. coli* инфекции, променливите „предхождаща хоспитализация“, провеждано „хирургично / ICU лечение“ и „резистентност към цефалоспорини от трета генерация“ като самостоятелни предиктивни фактори за умиране; за *S. aureus* инфекциите - такива променливи са

„възраст“ и „ICU/хирургическото лечение“, а в случаите на *P. aeruginosa* и *A. baumannii* - *calcoaceticus* complex - самостоятелни предиктивни фактори са само провеждане на хирургическо лечение. Изобщо, статистическият анализ показва, че отсъствието на хирургическо и/или ICU лечение и липсата на предшестваща хоспитализация се асоциират с по-висок шанс за благоприятен изход във всички случаи, независимо от бактериалния вид, т.е. сигнификантно намаляват риска за умирање. Подобно на установеното от нас за *E. coli*, по-ранно проучване, проведено в 10 Европейски болници, демонстрира, че при пациенти с инфекции на кръвта, причинени от представители на *Enterobacterales*, резистентността към цефалоспорини от трета генерация сигнификантно увеличава шанса за смъртен изход (Stewardson A, 2016).

При проучване на клиничните фактори, асоциирани със смъртност при *Acinetobacter* асоциирани инфекции (вкл. кръвни), R. V. Patel доказва независима връзка между смъртността и SOFA скалата (Sequential Organ Failure Assessment), която намира приложение като полезен предиктивен инструмент за органната дисфункция и смърт в ICUs (Patel R, 2019). Други автори доказват „придобиване на инфекцията в обществото“, „респираторният тракт като източник на кръвна инфекция“ и „провеждането на имunosупресивна терапия“ като независими рискови фактори, свързани с 14-дневна смъртност сред пациенти с инфекции на кръвта, причинени от *A. baumannii* (Chen C, 2018).

Анализът в настоящото проучване не доказва статистически значима връзка между метицилиновата резистентност в *S. aureus* и смъртността в случаите на MRSA инфекция на кръвта, което е в съответствие с докладваното и от други автори, макар да има и проучвания, които рапортуват метицилиновата резистентност при *S. aureus* инфекциите, като рисков фактор за смъртен изход (Stewardson A, 2016; Wolkewitz M, 2011).

В настоящото проучване 60.3% от инфекциите на кръвта са доказани в пациенти над 60г., като най-високият относителен дял е във възрастовата група 61-70 години. Подобно на тези данни, други автори също установяват над 50% от инфекциите на кръвта в пациенти над 65г. и по-възрастни, което се свързва със съществуващи сериозни подлежащи заболявания и намален потенциал на механизмите на естествената резистентност и имунитета (Leibovici L, 1993; Skogberg K, 2012; Uslan D, 2007). В настоящото проучване над 50% от смъртните случаи (64.3% при мъжете и 53.7% при жените) са във възрастта над 60г., като средната възраст сред починалите до

30-я ден е по-висока от тази на преживелите (62 срещу 58.6 години, $p=0.045$). Еднофакторният и многофакторен регресионен анализ доказват наличието на статистически значима връзка между вероятността за преживяване до 30-я ден и променливата „възраст“, определяйки я като независим предиктивен фактор за смъртен изход ($p=0.001$), което се доказва и от други автори (Kontula K, 2021). В повечето проучвания смъртността, свързана с инфекции на кръвта във възрастната популация от населението (над 65г.) е по-висока в сравнение с групата на по-младите пациенти, като това се отнася както за 30-дневната (между 16-50%), така и за 90-дневната (20-85%), така и 1 година след инфекцията (30-31%) (Laupland K, 2021; Yahav D, 2016). Скорошно популационно проучване на Cassini доказва, че болестният товар, свързан с инфекции на кръвта, е най-голям при деца под 1 година, както и при хора над 65 годишна възраст, като се отбелязва тренд за увеличаване в периода 2007 - 2015г. както на честотата (от 239 238 до 602 609), така и на смъртността, свързана с тези инфекции (от 11 144 до 27 249) (Cassini A, 2019). Този тренд продължава и в периода 2016-2020г., като във възрастовата група над 65 години, инфекциите, причинени от *E. coli*, резистентни на цефалоспорици от трета генерация, се асоциират с най-високия болестен товар (ECDC, 2022c). В настоящото проучване 30-дневния леталитет нараства с възрастта, като това важи за мъжкия пол, докато за женския пол най-висок е леталитетът във възрастта 20-39г. Във възрастта след 60г. случаите с летален изход са по-чести сред мъжкия пол, но разликата е статистически незначима.

Заклучение

Тридесет-дневният леталитет в групата на проучваните 798 пациента с инфекции на кръвта, причинени от *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae* complex, *A. baumannii - calcoaceticus* complex и *P. aeruginosa* е 26%, като за инфекциите, придобити в обществото, този показател е 20.8%, а за вътреболничните инфекции - 31.3%. Най-висок 30-дневен леталитет се доказва в интензивните структури на болницата (35.8%), следвани от Хематологичните клиники (27.3%).

E. coli (23.6%), *S. aureus* (20.7%) и *K. pneumoniae* (19.2%) се асоциират с най-голям брой смъртни случаи. При сравнение между бактериалните видове, най-висок 30-дневен леталитет се доказва при инфекциите, причинени от *A. baumannii - calcoaceticus* complex (53.6%). При оценка на 30-дневния леталитет спрямо комбинацията „бактериален вид/антибиотик“, аминогликозид, хинолон и меропенем-резистентните *A. baumannii - calcoaceticus* complex се асоциират с най-голям брой

смъртни случаи (15.9-16.3%), следвани от ampicillin-резистентните *E. coli* (15.9%) и резистентните на цефалоспорини от трета генерация *K. pneumoniae* (14.9%). Множественият регресионен анализ доказва показателите „възраст“, „вид на клиника“, „предшестваща хоспитализация“, „вид на провеждана терапия (ICU и/или хирургическо лечение)“, „бактериален вид“ и „инфекциозен синдром“ като независими фактори, които влияят съществено на прогнозата за преживяемост до 30-ден (предсказващи фактори за смърт). Групирани според бактериалния вид, в случаите на *E. coli* инфекции, факторите „резистентност към цефалоспорини от трета генерация“, „предхождаща хоспитализация“, „хирургично и ICU лечение“ са значимо свързани с риска за умиране ($p < 0.0001$), а при *S. aureus* инфекциите - такива са „възраст“ и „хирургическо/ICU лечение“ ($p < 0.0001$). За *P. aeruginosa* и *A. baumannii* - *calcoaceticus* complex, статистически значим предиктивен фактор за смърт е променливата „хирургическо лечение“, а в случаите на инфекции на кръвта, причинени от *K. pneumoniae* - „хирургическо/ICU лечение“.

6. ИЗВОДИ

На базата на получените резултати от комплексните микробиологични и епидемиологични проучвания върху антибиотичната резистентност сред водещи причинители на бактериемии, асоциирани с инфекции на кръвта в УМБАЛ“Света Марина“ за 10-годишен период и леталитета, свързан с тях и след извършения анализ, могат да се направят следните по-важни изводи:

1. Делът на положителните хемокултури през проучвания десет годишен период е 16%, като този на истински положителните (клинично значими) хемокултури е 9.9%.
2. В периода 2011-2020г. етиологичният спектър на лабораторно потвърдените бактериални инфекции на кръвта в неселектираната популация от пациенти се доминира от Грам отрицателните бактерии (58.9%), но се доказва статистически значим тренд за увеличаване в годините на дела на Грам положителните бактерии и намаляване този на Грам отрицателните бактерии и гъбичките. Най-често изолирания бактериален вид от хемокултури за целия период е *S. aureus* (17.2%), следван от *E. coli* (14.6%), *K. pneumoniae* (12.0%), *E. cloacae* complex (8.0%), *A. baumannii - calcoaceticus* complex (6.3%) и *E. faecalis* (6.3%). Делът на ESKAPEЕс патогените в етиологичния спектър е много висок, като достига 66.8%, а този на мониторираните от EARS Net бактериални видове - 64.7%. В хода на 10-годишното проследяване се доказва статистически значим тренд за увеличаване относителния дял на *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus viridans* изолатите и намаляване дела на *Klebsiella pneumoniae*.
3. Проучването, обхващащо една декада, демонстрира възникването, дисеминацията и персистирането във времето на проблемни за лечение MDR Грам отрицателни бактерии, асоцииращи се с инфекции на кръвта и в много по-малка степен на Грам положителни микроорганизми, потвърждавайки Европейските и световните тенденции от последните години.
4. Относителният дял на резистентните към цефалоспорици трета генерация и флуорохинолони *E. coli* от кръв е висок (над 25%), но без сигнификантен тренд за увеличаване или намаляване в годините. Активността на аминопеницилините спрямо *E. coli* е силно редицирана, като резистентността към тази антибиотична група е най-висока (63.2%). Карбапенемите и амикасин са със съхранена активност спрямо *E. coli* (резистентност <1% и <5% съответно), което ги прави подходящ избор за емпирична терапия в случаите на инфекции на кръвта, асоциирани с този бактериален вид.
5. Доказва се много високо ниво на резистентност към цефалоспорици от трета генерация сред изолатите *Klebsiella pneumoniae* (74.9%), значително надвишавайки

дела на резистентните към същата антибиотична група *E. coli* и по-високо от това сред *Enterobacter* spp. Цефалоспориините от трета генерация са групата с най-силно редуцирана активност спрямо *K. pneumoniae*. Много високи нива на резистентност (над 50%) се отчитат също към флуорохинолони и gentamicin, макар за последния да се установява статистически значим тренд за намаляване на резистентността от 73% през 2011г. до 40.9% през 2020г. Карбапенемите и amikacin са антимикробните препарати с най-висока активност спрямо *K. pneumoniae* (11.8% и 13.9% резистентност съответно). За 10-годишния период на проучването най-динамични и драматични промени се доказват по отношение резистентността към карбапенемни антибиотици, която от 0% през 2011г. достига 32.7% през 2014г. и 18.2% и 13.6% през 2019г. и 2020г. В групата на карбапенем-резистентните *K. pneumoniae*, colistin и amikacin демонстрират най-добра in vitro активност (6% и 17.9% резистентност), което ги прави препарати на избор за лечение в случай на инфекция, причинена от карбапенем-резистентни изолати.

6. *bla*_{CTX-M-15} се идентифицира като главен механизъм на резистентност към цефалоспориини от трета генерация в карбапенем-резистентни изолати *K. pneumoniae* от кръв, а *bla*_{KPC-2} и в много по-малка степен *bla*_{NDM-1} медираат ензимния механизъм на карбапенемна резистентност в тези изолати. Карбапенем-резистентните *K. pneumoniae* се асоциират с 5 различни ST типа: ST15, ST76, ST151 и ST1350 за KPC-2 продуцентите и ST11 - за NDM-1 продуциращите изолати. Доказва се широка вътреболнична дисеминация на KPC-2 и/или CTX-M-15 продуциращи ST15 *K. pneumoniae*. Този клон персистира няколко години, демонстрирайки висок крос-трансмисивен, епидемичен и инвазивен потенциал. В допълнение към ST15, резистентността към цефалоспориини от трета генерация и карбапенемни се асоциира с вътреболнична дисеминация и на други ST типове, съществуващи едновременно с доминиращия ST15. В този смисъл, въпреки, че клоналното разпространение на ST15 допринася значително за дисеминирането на карбапенем-резистентни *K. pneumoniae*, не-ST15 щамове също се появяват и имат принос.

7. Доказва се много висок относителен дял на изолатите *Enterobacter* spp. от кръв, резистентни към цефалоспориини от трета генерация (над 65%), както и високи нива на резистентност към флуорохинолони и gentamicin (над 45%). Делът на amikacin- и карбапенем-резистентните *Enterobacter* spp. остава много нисък, което прави тези антимикробни средства подходящ избор за лечение на инвазивни инфекции, причинени от *Enterobacter* spp. NDM-1 метало-карбапенемаза е механизмът, медиращ

резистентността към карбапенеми в единствения карбапенем-резистентен изолат *Enterobacter* spp. (*E. asburiae*) за този период.

8. В групата на кръвните изолати *Pseudomonas aeruginosa*, се доказва резистентност над 20% към всички антипсевдомонадни групи препарати, като най-силно е редуцирана активността на флуорохинолоните (40%). Не се установяват статистически значими тенденции към понижаване или повишаване на резистентността в различните години за нито една от изследваните групи антимикробни препарати. Карбапенемите и amikacin са най-активните агенти сред проучваните антипсевдомонадни средства, макар резистентността да е в диапазона 20-30%, което предполага внимателно приложение на тези антибиотици в случаите, в които се подозира *P. aeruginosa* асоциирана инфекция.

9. В целия 10 годишен период на проучването, кръвните изолати *A. baumannii* - *calcoaceticus* complex трайно демонстрират много високи нива на резистентност спрямо всички изпитвани антимикробни средства (над 60%), с изключение на colistin. В сравнение с всички други Грам отрицателни бактериални видове, дялът на карбапенем-резистентните *A. baumannii* - *calcoaceticus* complex е най-висок (68.4%), като 60% от изолатите са с фенотип на XDR. Резистентността към карбапенеми се асоциира с присъствието на *bla*_{OXA-24/40-like} и/или *bla*_{OXA-23-like} гени в асоциация с IS*Abal*. Високият относителен дял на карбапенем-резистентни изолати *A. baumannii* се свързва с вътреболнична дисеминация и трайно присъствие на няколко OXA-продуциращи MDR клона *A. baumannii* с характеристика на ендемични, сред които и IC2.

10. В периода 2011- 2020г. е установено относително ниско ниво на MRSA инвазивни изолати, като през 2020г. дялът им е по-нисък от средния за Европа и много близък до средния за България. С изключение на макролидите, всички останали антибиотични групи запазват добра активност, с дял на не-чувствителните изолати под 20%.

11. Установява се сигнификантен тренд за увеличаване дела на vancomycin-резистентните *Enterococcus faecium* от кръв - от 0% в периода 2011 - 2018г. до 11.1% през 2019г. и 18.2% през 2020г. Изолатите *E. faecium* демонстрират много високо ниво на резистентност към аминопеницилини (95.3%), флуорохинолони (84.3%) и HLAR (90.3%). За разлика от *E. faecium*, дялът на ampicillin - резистентните *E. faecalis* остава нисък (9.4%), което прави групата на аминопеницилините подходящ избор за терапия на *E. faecalis* асоциираните инфекции. Активността на флуорохинолоните за същия период сред *E. faecalis* е значително редуцирана (над 35%), при висок дял на HLAR (над 45%). Въпреки сигнификантния тренд за увеличаване на резистентността към

vancomycin, гликопептидите и linezolid все още са антибиотиците с най-добра активност спрямо изолати *Enterococcus* spp.

12. В периода 2011-2020г. в етиологичния спектър на бактериемииите, асоциирани с инфекции на кръвта в пациенти с онкохематологични заболявания преобладават Грам отрицателните над Грам положителните бактерии (54.3% срещу 38.0%), като най-честите бактериални патогени са *S. aureus* (17.3%), *E. coli* (16.0%), *Enterobacter* spp. (10.9%), *Klebsiella* spp. (10.3%) и *Enterococcus* spp. (8.8%). Доказва се статистически значим тренд за намаляване относителния дял на *S. aureus* и увеличаване този на коагулаза-негативните стафилококи в етиологичния спектър на инфекциите на кръвта в тази група пациенти.

13. Проучването, извършено в групата на пациентите с онкохематологични заболявания, демонстрира възникването и персистирането в годините на проблемни за лечение MDR микроорганизми, предимно Грам отрицателни бактерии, асоцииращи се с инфекции на кръвта в тази популация от пациенти, феномен, който е отражение на увеличаващата се антибиотична резистентност в обществото и следва тренда в неселектираната популация болнични пациенти с инфекции на кръвта. Установява се персистираща във времето тенденция за високо ниво на резистентност към трета генерация цефалоспорини сред представителите на семейство *Enterobacteriaceae* (49.4%) и появата след 2014г. на инвазивни карбапенем-резистентни изолати от същото семейство, като най-засегнатият вид по отношение и на двата типа резистентност е *K. pneumoniae* (57.8% и 6.7% съответно). Доказва се статистически значим тренд за увеличаване резистентността към трета генерация цефалоспорини, аминогликозиди и флуорохинолони в групата на изолатите от вида *Enterobacter cloacae* complex; персистиране на висок относителен дял на карбапенем-резистентни *A. baumannii* - *calcoaceticus* complex на фона на статистически значим тренд за увеличаване на тази резистентност, както и увеличаване дела на MDR *Enterococcus faecium*. Подобно на общата популация пациенти, положителен резултат е установеният нисък относителен дял на MRSA кръвни изолати. В периода на проучването не са идентифицирани изолати *Staphylococcus* spp. и *Enterococcus* spp., резистентни на гликопептидни антибиотици и оксазолидинони, което прави тези антибиотици препарати на избор за начално лечение в случаите на съмнение за стафилококова или ентерококова инфекция на кръвта или фебрилна неутропения до поставяне на етиологичната диагноза.

14. Установен е висок 30-дневен леталитет (26%) в групата на проучваните 798 пациенти с инфекции на кръвта, причинени от *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *E. coli*. *K.*

pneumoniae, *E. cloacae*, *A. baumannii - calcoaceticus* complex и *P. aeruginosa*, като този показател е по-висок в случаите на вътреболнични инфекции, в сравнение с тези, придобити в обществото (31.3% срещу 20.8%). С изключение на възрастта, всички останали демографските показатели не се доказват като значими рискови фактори за леталитет в проучваната група пациенти. Най-висок 30-дневен леталитет се доказва в интензивните структури на болницата (35.8%), следвани от Хематологичните клиники (27.3%).

15. *E. coli* (23.6%), *S. aureus* (20.7%) и *K. pneumoniae* (19.2%) се асоциират с най-голям брой смъртни случаи. При сравнение между бактериалните видове, най-висок 30-дневен леталитет се доказва при инфекциите, причинени от *A. baumannii - calcoaceticus* complex (53.6%). При оценка на 30-дневния леталитет спрямо комбинацията „бактериален вид/антибиотик“, аминокликозид, хинолон и тегорепем-резистентните *A. baumannii - calcoaceticus* complex (15.9-16.3%) се асоциират с най-голям брой смъртни случаи, следвани от ампицилин-резистентните *E. coli* (15.9%) и резистентните на цефалоспорини трета генерация *K. pneumoniae* (14.9%).

16. Показателите „възраст“, „вид на клиника“, „предшестваща хоспитализация“, „вид на провеждана терапия (ICU и/или хирургическо лечение)“, „бактериален вид“ и „инфекциозен синдром“ са идентифицирани като независими фактори, които влияят съществено на прогнозата за преживяемост до 30-ден (предсказващи фактори за смърт). Групиран според бактериалния вид, в случаите на *E. coli* инфекции, факторите „резистентност към цефалоспорини от трета генерация“, „предхождаща хоспитализация“, „хирургично/ICU лечение“ са значимо свързани с риска за умиране, а при *S. aureus* инфекциите - такива са „възраст“ и „хирургическо/ICU лечение“. За *P. aeruginosa* и *A. baumannii - calcoaceticus* complex инфекциите, статистически значим предиктивен фактор за смърт е променливата „хирургическо лечение“, а в случаите на инфекции на кръвта, причинени от *K. pneumoniae* - „хирургическо/ICU лечение“.

7. ПРИНОСИ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

Приноси с оригинален характер

1. Извършен е детайлен анализ на етиологичния спектър на бактериемите и антибиотичната резистентност на ESKAPEEс патогените, свързани с тях в не-селектирана група хоспитализирани пациенти с лабораторно потвърдени инфекции на кръвта за една декада, като са оценени трендовете във времето и са сравнени с Европейските и световни тенденции.
2. Извършен е детайлен анализ на етиологичния спектър на бактериемите и антибиотичната резистентност на ESKAPEEс патогените, свързани с тях в групата на онкохематологични пациенти с лабораторно потвърдени инфекции на кръвта за 11-годишен период и са оценени трендовете във времето. Получените резултати са основа, върху която да се дефинират препоръките за емпирично антибиотично лечение в случаите на фебрилна неутропения или при съмнение за инфекциозни усложнения в тази група имунокомпрометирани пациенти.
3. Проучен е 30-дневния леталитет (общ и специфичен) и рисковите фактори за фатален изход при инфекции на кръвта, причинени от 7 бактериални вида (*S. aureus*, *S. pneumoniae*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae* complex, *A. baumannii* - *calcoaceticus* complex и *P. aeruginosa*) сред 798 хоспитализирани пациенти за 5-годишен период и е демонстриран сериозния товар, с който тези заболявания се асоциират.
4. Извършеното проучване разширява наличните данни и научна информация за антибиотичната резистентност сред водещи причинители на инфекции на кръвта и товара на тези инфекции за България и може да послужи като основа при създаването на политики, насочени към ограничение и контрол на проблема на локално и национално ниво.
5. Извършеното проучване доведе до генериране на висококачествени и сравними данни и тяхното интегриране в много широка международна база данни, чиято цел е оценка на товара на антибиотичната резистентност при различни инфекции, вкл. инфекции на кръвта.

Приноси с потвърдителен характер

1. Проучени са молекулярно-генетичните механизми на карбапенемна резистентност сред най-важните и проблемни патогени (*K. pneumoniae*, *A. baumannii*), асоцииращи се с клинично значими бактериемии, като е доказана тяхната широка вътреболнична дисеминация и асоциация с определени секвенциални типове и международни клонове.

Приноси с научно - приложен характер

1. Демонстрираната дълбочината на проблема „Антибиотична резистентност“ и „Леталитет“, съпътстващи инфекциите на кръвта в хоспитализирани пациенти, вкл. в тежко имунокомпрометирани, ясно показва необходимостта от въвеждане в лабораторната диагностика на тези живото-застрашаващи инфекции на съвременни методи за експресна микробна идентификация и определяне на чувствителност към антимикробни лекарствени средства. Преки резултати от това ще са намаляване на смъртността от инфекции, причинени от мултирезистентни бактерии и увеличаване броя на провежданите микробиологични изследвания и в частност на тези за определяне на антибиотична чувствителност.

8. НАУЧНИ ПУБЛИКАЦИИ И СЪОБЩЕНИЯ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

Публикации в научни списания

1. **Antimicrobial Resistance Collaborators.** Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. **Lancet** **2022**; 399: 629-55 Published Online January 20, 2022 [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0). **IF 202.731**
2. **European Antimicrobial Resistance Collaborators.** The burden of antimicrobial resistance in the WHO European region in 2019: a cross-country systematic analysis. **Lancet Public Health** **2022**; 7: e897–913 Published Online October 13, 2022 [https://doi.org/10.1016/S2468-2667\(22\)00225-0](https://doi.org/10.1016/S2468-2667(22)00225-0). **IF 72.427**
3. **Т. Стоева, Д. Ниязи, И. Мичева.** Инфекции на кръвта при пациенти с онкохематологични заболявания: етиологичен спектър и профил на антибиотична резистентност (2015 - 2020). **Хематология, 2022, VOL. LVIII 2022 № 1-2; 38-44. SJR₂₀₂₂ 0.101, Q4**
4. D. Niyazi, I. Micheva, D. Savova, M. Georgieva, E. Ismail, **T. Stoeva.** Species diversity and antimicrobial resistance of *Staphylococcus* spp. isolates associated with catheter – related bloodstream infections in patients after hematopoietic stem cell transplantation. **Scripta Scientifica Medica, 2022;54(2):13-17.**
5. **Temenuga Stoeva, Romyana Markovska, Ivan Mitov.** Molecular epidemiology of *Klebsiella pneumoniae* blood isolates resistant to 3rd generation cephalosporins and/or carbapenems collected from patients in a Bulgaria University Hospital. **Доклади на Българската академия на науките, 2021, vol 74, No 10, 1469-1478. IF 0.326**
6. Д. Ниязи, И. Мичева, **Т. Стоева.** Бактериални и микотични усложнения при пациенти след хематопоеична стволово-клетъчна трансплантация. **Хематология 2020, vol. LVI, № 1-2; 26-31. SJR₂₀₂₀ 0.101, Q4**
7. R. Markovska, **T. Stoeva, P. Stankova, L. Boyanova, D. Dimitrova, R. Gergova, I. Mitov.** First report of *Enterobacter asburiae* isolate, producing NDM-1 and a novel ACT-68 enzyme in Bulgaria. **Infectious Diseases, 2019, 51(8). IF 2.191**
8. R. Markovska, **T. Stoeva, L. Boyanova, P. Stankova, E. Keuleyan, M. Murdjeva, M. Lesseva, G. Nedelcheva, A. Petrova, D. Ivanova, K. Mihova, R. Kaneva, I. Mitov.** Multicentre investigation of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in Bulgarian hospitals–Interregional spread of ST11 NDM-1-

producing *K. pneumoniae*. **Infection, Genetics and Evolution**, 2019, 69: 61-67. **IF 2.26**

9. T. Strateva, I. Sirakov, **T. Stoeva**, A. Stratev, S. Dimov, E. Savov, I. Mitov. Carbapenem - resistant *Acinetobacter baumannii*: Current status of the problem in four Bulgarian university hospitals (2014–2016). **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, 2019, 16: 266-73. **IF 2.022**
10. Г. Неделчева, **Т. Стоева**, Р. Марковска, Д. Димитрова, П. Станкова, И. Митов. Антибиотична чувствителност на клинично значими изолати *Klebsiella pneumoniae*, изолирани от пациенти, хоспитализирани в УМБАЛ „Света Марина“ - Варна за периода 2014-2017г. **Обща медицина**, 2019, брой 3; 9-16. **SJR₂₀₂₂ 0.101, Q4**
11. L. Setchanova, M. Murdjeva, A. Alexandrova, M. Sredkova, **T. Stoeva**, M. Yoneva, A. Kurchatova, I. Mitov. Serotype changes and antimicrobial nonsusceptibility rate of invasive and non-invasive *Streptococcus pneumoniae* isolates after implementation of 10-valent pneumococcal nontypeable *Haemophilus influenzae* protein D conjugate vaccine (PHiD-CV) in Bulgaria. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases** 2017, 21, 4: 433-440. **IF 1.468**
12. **Т. Стоева**, М. Божкова, Р. Марковска, В. Каменова, К. Божкова. Проблемна антибиотична резистентност сред най-важните причинители на бактериемии в Университетска болница. **Medicart** 2016, 1:24-33.
13. **Т. Стоева**, М. Божкова, Р. Марковска, К. Божкова. Етиологичен спектър и антимикробна лекарствена резистентност на най-честите причинители на инфекции на кръвта при пациенти с онкохематологични заболявания. **Медицински преглед** 2016, 52, №2:38-45.
14. R. Markovska. **T. Stoeva**. I. Schneider. L. Boyanova, V. Popova, D. Dacheva, R. Kaneva, A. Bauernfeind, V. Mitev, I. Mitov. Clonal dissemination of multilocus sequence type ST15 KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* in Bulgaria. **APMIS** 2015, 123, 10:887-94. **IF 1.933**.
15. **T. Stoeva**, P. Higgins, K. Bojova, H. Seifert. Molecular epidemiology of Multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from two Bulgarian hospitals. **Scripta Scientifica Medica** 2014, 46, No3: 47-50.

16. R. Markovska, I. Schneider, **T. Stoeva**, K. Bojkova, L. Boyanova, A. Bauernfeind, I. Mitov. First identification of KPC-2 and VIM-1 producing *Klebsiella pneumoniae* in Bulgaria. **Diagnostic Microbiology & Infectious Disease** 2013, 77, № 3, 252-253. **IP 2.568**
17. **Т. Стоева**, К. Божкова, М. Божкова. „Тенденции в развитието на проблемната антибиотична резистентност сред най - важните причинители на бактериемии в УМБАЛ”Света Марина” – Варна за периода 2007 – 2011г. като част от Европейската мрежа за надзор над антибиотичната резистентност (EARS-Net)”. **Медицински Преглед** 2013, 49, №1: 41-9.
18. **Т. Стоева**, К. Божкова, М. Божкова. Проучване на фунгемиите в Университетска Болница: етиологичен спектър и антимикотична чувствителност. **Български Медицински Журнал** 2013, No2:65-71.

Съобщения, изнесени на научни форуми

1. К. Божкова, **Т. Стоева**, М. Божкова, В. Каменова. Проучване на фунгемиите в Университетска болница – етиологичен спектър и антимикотична чувствителност. Сборник научни трудове на X Национален Конгрес по Клинична Микробиология и Инфектология на Българската Асоциация по Микробиология с международно участие, 26 - 28 Април, 2012, Пловдив, 11.
2. **T. Stoeva**, P.G. Higgins, K. Bojkova, H. Seifert. Molecular epidemiology of multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from Bulgarian Hospital. 9th International Symposium on the Biology of *Acinetobacter*, June 19-21, 2013, Cologne, Germany. P5-1.
3. R. Markovska, **T. Stoeva**, I. Schneider, M. Sredkova, D. Ivanova, K. Bojkova, A. Bauernfeind, I. Mitov. Emergence of OXA-48 and continuous dissemination of clonal KPC-2 producers among *Klebsiella pneumoniae* from two Bulgarian university hospitals. Barcelona 2014, 24 ECCMID 10 - 13 May 2014. R105.
4. **Т. Стоева**, Р. Марковска, М. Божкова, К. Божкова, В. Каменова, Д. Димитрова, И. Митов. Проучване на механизмите на резистентност към карбапенеми и епидемиология на клинични изолати *Klebsiella pneumoniae*. Сборник научни трудове на XIII Национален Конгрес по Клинична Микробиология и

Инфектология на Българската Асоциация по Микробиология с международно участие, София 16 – 18 Май, 2015.

5. **Т. Стоева**, М. Божкова, Д. Димитрова, В. Каменова, К. Божкова. Етиологичен спектър и антимикробна лекарствена резистентност на най-честите причинители на бактериемии в пациенти с онкохематологични заболявания. Сборник научни трудове на XIV Национален Конгрес по Клинична Микробиология и Инфектология на Българската Асоциация по Микробиология с международно участие, София 12- 14 Май 2016: 21.
6. Т. Стратева, **Т. Стоева**, Е. Савов, Ю. Проевска, А. Трифонова, И. Сираков, И. Митов. Нозокомиални изолати *Acinetobacter baumannii* с множествена лекарствена резистентност (2014-2016) - механизми на антимикробна устойчивост и епидемиологично типизиране. Сборник научни трудове на XV Национален Конгрес по Клинична Микробиология и Инфектология на Българската Асоциация по Микробиология с международно участие, София, 17-19 май 2017: 13.

9. ИЗПОЛЗВАНА ЛИТЕРАТУРА

- Калева В., К. Божкова, Т. Стоева, В. Калудова, В. Каменова. Микробиологичен спектър на инфекциозни усложнения при онкологично болни деца с фебрилна неутропения. *Инфектология*, 2006, 1: 16-21.
- Маркова Б, Диков И. Сепсис. 2000г. Издателство „Знание“, Българска Национална Академия по Медицина. ISBN 954-621-169-9.
- Ниязи Д. Проучване върху бактериемите и инвазивните микотични инфекции при пациенти след автоложна и алогенна хематопоеична стволово-клетъчна трансплантация. Дисертация за присъждане на ОНС“Доктор“, 2022.
- Савова Д. Микробиологични и молекулярно-генетични проучвания върху разпространението и механизмите на резистентност към бета-лактами и хинолони при клинично значими *Enterobacter spp.* Дисертация за присъждане на ОНС“Доктор“, 2019.
- Тягуненко Ю. Микроорганизми в кръвта. Хемокултури. София, 1998.
- Abdelhamed AM, Zhang SX, Watkins T, Morgan MA, Wu F, Buckner RJ, et al. Multicenter Evaluation of Candida QuickFISH BC for Identification of Candida Species Directly from Blood Culture Bottles. *Journal of Clinical Microbiology* 2015;53:1672–6. <https://doi.org/10.1128/jcm.00549-15>.
- Abdi SN, Ghotaslou R, Ganbarov K, Mobed A, Tanomand A, Yousefi M, et al. *Acinetobacter baumannii* Efflux Pumps and Antibiotic Resistance. *Infection and Drug Resistance* 2020;13:423–34. <https://doi.org/10.2147/idr.s228089>.
- Abernethy J, Guy R, Sheridan EA, Hopkins S, Kiernan M, Wilcox MH, et al. Epidemiology of Escherichia coli bacteraemia in England: results of an enhanced sentinel surveillance programme. *Journal of Hospital Infection* 2017;95:365–75. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2016.12.008>.
- Abouelfetouh A, Torky AS, Aboulmagd E. Phenotypic and genotypic characterization of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from Egypt. *Antimicrobial Resistance & Infection Control* 2019;8. <https://doi.org/10.1186/s13756-019-0611-6>.
- Adams-Haduch JM, Onuoha EO, Bogdanovich T, Tian G-B, Marschall J, Urban CM, et al. Molecular Epidemiology of Carbapenem-Nonsusceptible *Acinetobacter baumannii* in the United States. *Journal of Clinical Microbiology* 2011;49:3849–54. <https://doi.org/10.1128/jcm.00619-11>.
- Adler A, Katz DE, Marchaim D. The Continuing Plague of Extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae Infections. *Infectious Disease Clinics of North America* 2016;30:347–75. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2016.02.003>.
- Afzal-Shah M, Woodford N, Livermore DM. Characterization of OXA-25, OXA-26, and OXA-27, Molecular Class D β -Lactamases Associated with Carbapenem Resistance in Clinical Isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2001;45:583–8. <https://doi.org/10.1128/aac.45.2.583-588.2001>.
- Aghamiri S, Amirmozafari N, Fallah Mehrabadi J, Fouladtan B, Hanafi Abdar M. Antibiotic Resistance Patterns and a Survey of Metallo- β -Lactamase Genes Including bla-IMP and bla-VIM Types in *Acinetobacter baumannii* Isolated from Hospital Patients in Tehran. *Chemotherapy* 2016;61:275–80. <https://doi.org/10.1159/000443825>.
- Aires-de-Sousa M, Lopes E, Gonçalves ML, Pereira AL, Machado e Costa A, de Lencastre H, et al. Intestinal carriage of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae at admission in a Portuguese hospital. *European Journal of*

- Clinical Microbiology & Infectious Diseases 2020;39:783–90. <https://doi.org/10.1007/s10096-019-03798-3>.
- Akova M. Epidemiology of antimicrobial resistance in bloodstream infections. *Virulence* 2016;7:252–66. <https://doi.org/10.1080/21505594.2016.1159366>.
- Al Atrouni A, Hamze M, Jisr T, Lemarié C, Eveillard M, Joly-Guillou M-L, et al. Wide spread of OXA-23-producing carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* belonging to clonal complex II in different hospitals in Lebanon. *International Journal of Infectious Diseases* 2016;52:29–36. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2016.09.017>.
- Al-Hassan L, Elbadawi H, Osman E, Ali S, Elhag K, Cantillon D, et al. Molecular Epidemiology of Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* From Khartoum State, Sudan. *Frontiers in Microbiology* 2021;12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.628736>.
- Alahmadi YM, Aldeyab MA, McElnay JC, Scott MG, Darwish Elhajji FW, Magee FA, et al. Clinical and economic impact of contaminated blood cultures within the hospital setting. *Journal of Hospital Infection* 2011;77:233–6. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2010.09.033>.
- Albillos A, Lario M, Álvarez-Mon M. Cirrhosis-associated immune dysfunction: Distinctive features and clinical relevance. *Journal of Hepatology* 2014;61:1385–96. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2014.08.010>.
- Alonso-Menchén D, Muñoz P, Sánchez-Carrillo C, Pérez-Latorre L, Bouza E. Unresolved issues in the epidemiology and diagnosis of bacteremia: an opinion paper. *Revista Española de Quimioterapia* 2022. <https://doi.org/10.37201/req/066.2022>.
- Altun O, Almuhayawi M, Ullberg M, Özenci V. Clinical Evaluation of the FilmArray Blood Culture Identification Panel in Identification of Bacteria and Yeasts from Positive Blood Culture Bottles. *Journal of Clinical Microbiology* 2013;51:4130–6. <https://doi.org/10.1128/jcm.01835-13>.
- Altun O, Botero-Kleiven S, Carlsson S, Ullberg M, Özenci V. Rapid identification of bacteria from positive blood culture bottles by MALDI-TOF MS following short-term incubation on solid media. *Journal of Medical Microbiology* 2015;64:1346–52. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.000168>.
- Amanati A, Sajedianfard S, Khajeh S, Ghasempour S, Mehrangiz S, Nematolahi S, et al. Bloodstream infections in adult patients with malignancy, epidemiology, microbiology, and risk factors associated with mortality and multi-drug resistance. *BMC Infectious Diseases* 2021;21:636. <https://doi.org/10.1186/s12879-021-06243-z>.
- Ambler RP. The structure of β -lactamases. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B, Biological Sciences* 1980;289:321–31. <https://doi.org/10.1098/rstb.1980.0049>.
- Andersen MA, Moser CE, Lundgren J, Niemann CU. Epidemiology of bloodstream infections in patients with chronic lymphocytic leukemia: a longitudinal nationwide cohort study. *Leukemia* 2019;33:662–70. <https://doi.org/10.1038/s41375-018-0316-5>.
- Antunes LCS, Visca P, Towner KJ. *Acinetobacter baumannii*: evolution of a global pathogen. *Pathogens and Disease* 2014;71:292–301. <https://doi.org/10.1111/2049-632x.12125>.
- Arias CA, Murray BE. The rise of the Enterococcus: beyond vancomycin resistance. *Nature Reviews Microbiology* 2012;10:266–78. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2761>.
- Armin S, Zahedani SS, Rahbar M, Azimi L. Prevalence and Resistance Profiles of Vancomycin-resistant Enterococcal Isolates in Iran; An Eight-month Report from

- Nine Major Cities. *Infectious Disorders - Drug Targets* 2020;20:828–33. <https://doi.org/10.2174/1871526519666191112113753>.
- Asgeirsson H, Gudlaugsson O, Kristinsson KG, Heiddal S, Kristjansson M. Staphylococcus aureus bacteraemia in Iceland, 1995–2008: changing incidence and mortality. *Clinical Microbiology and Infection* 2011;17:513–8. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2010.03265.x>.
- Askim Å, Gustad LT, Paulsen J, Reitan SK, Mehl A, Mohus RM, et al. Anxiety and Depression Symptoms in a General Population and Future Risk of Bloodstream Infection: The HUNT Study. *Psychosomatic Medicine* 2018;80:673–9. <https://doi.org/10.1097/psy.0000000000000619>.
- Avritscher EBC, Cooksley CD, Rolston KV, Swint JM, Delclos GL, Franzini L, et al. Serious postoperative infections following resection of common solid tumors: outcomes, costs, and impact of hospital surgical volume. *Supportive Care in Cancer* 2014;22:527–35. <https://doi.org/10.1007/s00520-013-2006-1>.
- Ayobami O, Willrich N, Reuss A, Eckmanns T, Markwart R. The ongoing challenge of vancomycin-resistant Enterococcus faecium and Enterococcus faecalis in Europe: an epidemiological analysis of bloodstream infections. *Emerging Microbes & Infections* 2020a;9:1180–93. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1769500>.
- Ayobami O, Willrich N, Suwono B, Eckmanns T, Markwart R. The epidemiology of carbapenem-non-susceptible Acinetobacter species in Europe: analysis of EARS-Net data from 2013 to 2017. *Antimicrobial Resistance & Infection Control* 2020;9. <https://doi.org/10.1186/s13756-020-00750-5>.
- Babich T, Naucler P, Valik JK, Giske CG, Benito N, Cardona R, et al. Risk factors for mortality among patients with Pseudomonas aeruginosa bacteraemia: a retrospective multicentre study. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2020;55:105847. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2019.11.004>.
- Badurdeen S, Mulongo M, Berkley JA. Arginine depletion increases susceptibility to serious infections in preterm newborns. *Pediatric Research* 2015;77:290–7. <https://doi.org/10.1038/pr.2014.177>.
- Baig S, Johannesen TB, Overballe-Petersen S, Larsen J, Larsen AR, Stegger M. Novel SCC mec type XIII (9A) identified in an ST152 methicillin-resistant Staphylococcus aureus. *Infection, Genetics and Evolution* 2018;61:74–6. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2018.03.013>.
- Balletto E, Mikulska M. Bacterial infections in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases* 2015;7:e2015045. <https://doi.org/10.4084/mjhid.2015.045>.
- Banerjee R, Teng CB, Cunningham SA, Ihde SM, Steckelberg JM, Moriarty JP, et al. Randomized Trial of Rapid Multiplex Polymerase Chain Reaction–Based Blood Culture Identification and Susceptibility Testing. *Clinical Infectious Diseases* 2015;61:1071–80. <https://doi.org/10.1093/cid/civ447>.
- Banik A, Bhat SH, Kumar A, Palit A, Sneha K. Bloodstream infections and trends of antimicrobial sensitivity patterns at Port Blair. *Journal of Laboratory Physicians* 2018;10:332–7. https://doi.org/10.4103/jlp.jlp_50_18.
- Bansal G, Allen-McFarlane R, Eribo B. Antibiotic Susceptibility, Clonality, and Molecular Characterization of Carbapenem-Resistant Clinical Isolates of Acinetobacter baumannii from Washington DC. *International Journal of Microbiology* 2020;2020. <https://doi.org/10.1155/2020/2120159>.
- Bartoletti M, Giannella M, Lewis RE, Viale P. Bloodstream infections in patients with liver cirrhosis. *Virulence* 2016;7:309–19. <https://doi.org/10.1080/21505594.2016.1141162>.

- Bassetti M, Taramasso L, Giacobbe DR, Pelosi P. Management of ventilator-associated pneumonia: epidemiology, diagnosis and antimicrobial therapy. *Expert Review of Anti-Infective Therapy* 2012;10:585–96. <https://doi.org/10.1586/eri.12.36>.
- Bassetti M, Righi E, Canelutti A. Bloodstream infections in the Intensive Care Unit. *Virulence* 2016;7:267–79. <https://doi.org/10.1080/21505594.2015.1134072>.
- Bearman GML, Wenzel RP. Bacteremias: A Leading Cause of Death. *Archives of Medical Research* 2005;36:646–59. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2005.02.005>.
- Beigverdi R, Sattari-Maraji A, Emaneini M, Jabalameli F. Status of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* harboring carbapenemase: First systematic review and meta-analysis from Iran. *Infection, Genetics and Evolution* 2019;73:433–43. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2019.06.008>.
- Bellot P, Francés R, Such J. Pathological bacterial translocation in cirrhosis: pathophysiology, diagnosis and clinical implications. *Liver International* 2013;33:31–9. <https://doi.org/10.1111/liv.12021>.
- Ben-Chetrit E, Eldaim MA, Bar-Meir M, Dodin M, Katz DE. Associated factors and clinical outcomes of bloodstream infection due to extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* during febrile neutropenia. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2019;53:423–8. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2018.12.003>.
- Bender JK, Cattoir V, Hegstad K, Sadowy E, Coque TM, Westh H, et al. Update on prevalence and mechanisms of resistance to linezolid, tigecycline and daptomycin in enterococci in Europe: Towards a common nomenclature. *Drug Resistance Updates* 2018;40:25–39. <https://doi.org/10.1016/j.drup.2018.10.002>.
- Benfield T, Espersen F, Frimodt-Møller N, Jensen AG, Larsen AR, Pallesen LV, et al. Increasing incidence but decreasing in-hospital mortality of adult *Staphylococcus aureus* bacteraemia between 1981 and 2000. *Clinical Microbiology and Infection* 2007;13:257–63. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2006.01589.x>.
- Berger MM, Oudemans-van Straaten HM. Vitamin C supplementation in the critically ill patient. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care* 2015;18:193–201. <https://doi.org/10.1097/mco.000000000000148>.
- Bertini A, Poirel L, Bernabeu S, Fortini D, Villa L, Nordmann P, et al. Multicopy bla OXA-58 Gene as a Source of High-Level Resistance to Carbapenems in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2007;51:2324–8. <https://doi.org/10.1128/aac.01502-06>.
- Bevan ER, Jones AM, Hawkey PM. Global epidemiology of CTX-M β -lactamases: temporal and geographical shifts in genotype. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2017;72:2145–55. <https://doi.org/10.1093/jac/dkx146>.
- Beyrouthy R, Baretts M, Marion E, Dananché C, Dauwalder O, Robin F, et al. Novel *Enterobacter* Lineage as Leading Cause of Nosocomial Outbreak Involving Carbapenemase-Producing Strains. *Emerging Infectious Diseases* 2018;24:1505–15. <https://doi.org/10.3201/eid2408.180151>.
- Bhusal Y, Mihu CN, Tarrand JJ, Rolston KV. Incidence of Fluoroquinolone-Resistant and Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* at a Comprehensive Cancer Center in the United States. *Chemotherapy* 2011;57:335–8. <https://doi.org/10.1159/000329661>.
- Bilal H, Zhang G, Rehman T, Han J, Khan S, Shafiq M, et al. First Report of blaNDM-1 Bearing IncX3 Plasmid in Clinically Isolated ST11 *Klebsiella pneumoniae* from Pakistan. *Microorganisms* 2021;9:951. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9050951>.

- Binsker U, Käsbohrer A, Hammerl JA. Global colistin use: a review of the emergence of resistant Enterobacterales and the impact on their genetic basis. *FEMS Microbiology Reviews* 2021;46. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuab049>.
- Blandy O, Honeyford K, Gharbi M, Thomas A, Ramzan F, Ellington MJ, et al. Factors that impact on the burden of *Escherichia coli* bacteraemia: multivariable regression analysis of 2011–2015 data from West London. *Journal of Hospital Infection* 2019;101:120–8. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2018.10.024>.
- Blondeau JM, Idelevich EA. The 24-h clinical microbiology service is essential for patient management. *Future Microbiology* 2018;13:1625–8. <https://doi.org/10.2217/fmb-2018-0228>.
- Bodro M, Gudiol C, Garcia-Vidal C, Tubau F, Contra A, Boix L, et al. Epidemiology, antibiotic therapy and outcomes of bacteremia caused by drug-resistant ESKAPE pathogens in cancer patients. *Supportive Care in Cancer* 2014;22:603–10. <https://doi.org/10.1007/s00520-013-2012-3>.
- Bonnin RA, Poirel L, Licker M, Nordmann P. Genetic diversity of carbapenem-hydrolysing β -lactamases in *Acinetobacter baumannii* from Romanian hospitals. *Clinical Microbiology and Infection* 2011;17:1524–8. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03622.x>.
- Bonnin RA, Poirel L, Naas T, Pirs M, Seme K, Schrenzel J, et al. Dissemination of New Delhi metallo- β -lactamase-1-producing *Acinetobacter baumannii* in Europe. *Clinical Microbiology and Infection* 2012;18:E362–5. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2012.03928.x>.
- Bonten M, Johnson JR, van den Biggelaar AHJ, Georgalis L, Geurtsen J, de Palacios PI, et al. Epidemiology of *Escherichia coli* Bacteremia: A Systematic Literature Review. *Clinical Infectious Diseases* 2021;72:1211–9. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa210>.
- Bos MEM, Smeets LS, Dumay I, de Jonge E. Bloodstream infections in patients with or without cancer in a large community hospital. *Infection* 2013;41:949–58. <https://doi.org/10.1007/s15010-013-0468-1>.
- Bossaer JB, Hall PD, Garrett-Mayer E. Incidence of vancomycin-resistant enterococci (VRE) infection in high-risk febrile neutropenic patients colonized with VRE. *Supportive Care in Cancer* 2010;19:231–7. <https://doi.org/10.1007/s00520-009-0808-y>.
- Bou-Antoun S, Davies J, Guy R, Johnson AP, Sheridan EA, Hope RJ. Descriptive epidemiology of *Escherichia coli* bacteraemia in England, April 2012 to March 2014. *Eurosurveillance* 2016;21. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es.2016.21.35.30329>.
- Boyd DA, Mataseje LF, Davidson R, Delpont JA, Fuller J, Hoang L, et al. Enterobacter cloacae Complex Isolates Harboring bla NMC-A or bla IMI -Type Class A Carbapenemase Genes on Novel Chromosomal Integrative Elements and Plasmids. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2017;61. <https://doi.org/10.1128/aac.02578-16>.
- Bradford PA, Bratu S, Urban C, Visalli M, Mariano N, Landman D, et al. Emergence of Carbapenem-Resistant *Klebsiella* Species Possessing the Class A Carbapenem-Hydrolyzing KPC-2 and Inhibitor-Resistant TEM-30 -Lactamases in New York City. *Clinical Infectious Diseases* 2004;39:55–60. <https://doi.org/10.1086/421495>.
- Brito BP, Koong J, Wozniak A, Opazo-Capurro A, To J, Garcia P, et al. Genomic Analysis of Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* Strains Recovered from Chilean Hospitals Reveals Lineages Specific to South America and Multiple Routes for Acquisition of Antibiotic Resistance Genes. *Microbiology Spectrum* 2022;10. <https://doi.org/10.1128/spectrum.02463-22>.

- Brolund A, Lagerqvist N, Byfors S, Struelens MJ, Monnet DL, Albiger B, et al. Worsening epidemiological situation of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Europe, assessment by national experts from 37 countries, July 2018. *Eurosurveillance* 2019;24. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es.2019.24.9.1900123>.
- Bruins MJ, Egbers MJ, Israel TM, Diepeveen SHA, Wolfhagen MJHM. Reduced length of hospital stay through a point of care placed automated blood culture instrument. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 2017;36:619–23. <https://doi.org/10.1007/s10096-016-2837-z>.
- Brunelli SM, Turenne W, Sibbel S, Hunt A, Pfaffle A. Clinical and economic burden of bloodstream infections in critical care patients with central venous catheters. *Journal of Critical Care* 2016;35:69–74. <https://doi.org/10.1016/j.jcrc.2016.04.035>.
- Buchan BW, Allen S, Burnham C-AD, McElvania TeKippe E, Davis T, Levi M, et al. Comparison of the Next-Generation Xpert MRSA/SA BC Assay and the GeneOhm StaphSR Assay to Routine Culture for Identification of *Staphylococcus aureus* and Methicillin-Resistant *S. aureus* in Positive-Blood-Culture Broths. *Journal of Clinical Microbiology* 2015;53:804–9. <https://doi.org/10.1128/jcm.03108-14>.
- Buetti N, Atkinson A, Marschall J, Kronenberg A. Incidence of bloodstream infections: a nationwide surveillance of acute care hospitals in Switzerland 2008–2014. *BMJ Open* 2017;7:e013665. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2016-013665>.
- Burton DC. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Central Line–Associated Bloodstream Infections in US Intensive Care Units, 1997–2007. *JAMA* 2009;301:727–36. <https://doi.org/10.1001/jama.2009.153>.
- Bush K, Jacoby GA. Updated Functional Classification of β -Lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2010;54:969–76. <https://doi.org/10.1128/aac.01009-09>.
- Bush K. Past and Present Perspectives on β -Lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2018;62. <https://doi.org/10.1128/aac.01076-18>.
- Bush K, Bradford PA. Interplay between β -lactamases and new β -lactamase inhibitors. *Nature Reviews Microbiology* 2019;17:295–306. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0159-8>.
- Bush K, Bradford PA. Epidemiology of β -Lactamase-Producing Pathogens. *Clinical Microbiology Reviews* 2020;33. <https://doi.org/10.1128/cmr.00047-19>.
- Campos LC, Lobianco LF, Seki LM, Santos RMR, Asensi MD. Outbreak of *Enterobacter hormaechei* septicaemia in newborns caused by contaminated parenteral nutrition in Brazil. *Journal of Hospital Infection* 2007;66:95–7. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2007.02.013>.
- Caneiras C, Calisto F, Jorge da Silva G, Lito L, Melo-Cristino J, Duarte A. First Description of Colistin and Tigecycline-Resistant *Acinetobacter baumannii* Producing KPC-3 Carbapenemase in Portugal. *Antibiotics* 2018;7:96. <https://doi.org/10.3390/antibiotics7040096>.
- Carrasco-Anabalón S, Vera-Leiva A, Quezada-Aguiluz M, Morales-Rivera MF, Lima CA, Fernández J, et al. Genetic Platforms of blaCTX-M in Carbapenemase-Producing Strains of *K. pneumoniae* Isolated in Chile. *Frontiers in Microbiology* 2018;9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00324>.
- Carvalho AS, Lagana D, Catford J, Shaw D, Bak N. Bloodstream infections in neutropenic patients with haematological malignancies. *Infection, Disease & Health* 2020;25:22–9. <https://doi.org/10.1016/j.idh.2019.08.006>.
- Cassini A, Plachouras D, Eckmanns T, Abu Sin M, Blank H-P, Ducomble T, et al. Burden of Six Healthcare-Associated Infections on European Population Health: Estimating Incidence-Based Disability-Adjusted Life Years through a Population Prevalence-

- Based Modelling Study. *PLOS Medicine* 2016;13:e1002150. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1002150>.
- Cassini A, Högberg LD, Plachouras D, Quattrocchi A, Hoxha A, Simonsen GS, et al. Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015: a population-level modelling analysis. *The Lancet Infectious Diseases* 2019;19:56–66. [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(18\)30605-4](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(18)30605-4).
- Castanheira M, Costello SE, Woosley LN, Deshpande LM, Davies TA, Jones RN. Evaluation of Clonality and Carbapenem Resistance Mechanisms among *Acinetobacter baumannii*-*Acinetobacter calcoaceticus* Complex and Enterobacteriaceae Isolates Collected in European and Mediterranean Countries and Detection of Two Novel β -Lactamases, GES-22 and VIM-35. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2014;58:7358–66. <https://doi.org/10.1128/aac.03930-14>.
- Castanheira M, Davis AP, Serio AW, Krause KM, Mendes RE. In vitro activity of Plazomicin against Enterobacteriaceae isolates carrying genes encoding aminoglycoside-modifying enzymes most common in US Census divisions. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 2019;94:73–7. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2018.10.023>.
- Cattaneo C, Antoniazzi F, Casari S, Ravizzola G, Gelmi M, Pagani C, et al. *P. aeruginosa* bloodstream infections among hematological patients: an old or new question? *Annals of Hematology* 2012;91:1299–304. <https://doi.org/10.1007/s00277-012-1424-3>.
- Cattaneo C, Di Blasi R, Skert C, Candoni A, Martino B, Di Renzo N, et al. Bloodstream infections in haematological cancer patients colonized by multidrug-resistant bacteria. *Annals of Hematology* 2018;97:1717–26. <https://doi.org/10.1007/s00277-018-3341-6>.
- Centers for Disease Control and Prevention. 2019. Antibiotic resistant threats in the United States 2019. <https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/threats-report/2019-ar-threats-report-508.pdf>.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2020 HAI Progress Report Executive Summary., 2020.
- Chang C-J, Wu C-J, Hsu H-C, Wu C-H, Shih F-Y, Wang S-W, et al. Factors Associated with Blood Culture Contamination in the Emergency Department: Critical Illness, End-Stage Renal Disease, and Old Age. *PLOS ONE* 2015;10:e0137653. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0137653>.
- Chavda KD, Chen L, Fouts DE, Sutton G, Brinkac L, Jenkins SG, et al. Comprehensive Genome Analysis of Carbapenemase-Producing *Enterobacter* spp.: New Insights into Phylogeny, Population Structure, and Resistance Mechanisms. *mBio* 2016;7. <https://doi.org/10.1128/mbio.02093-16>.
- Chaves F, Garnacho-Montero J, del Pozo JL, Bouza E, Capdevila JA, de Cueto M, et al. Diagnosis and treatment of catheter-related bloodstream infection: Clinical guidelines of the Spanish Society of Infectious Diseases and Clinical Microbiology and (SEIMC) and the Spanish Society of Spanish Society of Intensive and Critical Care Medicine and Coronary Units (SEMICYUC). *Medicina Intensiva* 2018;42:5–36. <https://doi.org/10.1016/j.medin.2017.09.012>.
- Chen C-T, Wang Y-C, Kuo S-C, Shih F-H, Chen T-L, How C-K, et al. Community-acquired bloodstream infections caused by *Acinetobacter baumannii*: A matched case-control study. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection* 2018;51:629–35. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2017.02.004>.

- Chen Y, Zhou Z, Jiang Y, Yu Y. Emergence of NDM-1-producing *Acinetobacter baumannii* in China. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2011;66:1255–9. <https://doi.org/10.1093/jac/dkr082>.
- Chen Y, Yang Y, Liu L, Qiu G, Han X, Tian S, et al. High prevalence and clonal dissemination of OXA-72-producing *Acinetobacter baumannii* in a Chinese hospital: a cross sectional study. *BMC Infectious Diseases* 2018;18. <https://doi.org/10.1186/s12879-018-3359-3>.
- Cherubini S, Perilli M, Segatore B, Fazii P, Parruti G, Frattari A, et al. Whole-Genome Sequencing of ST2 *A. baumannii* Causing Bloodstream Infections in COVID-19 Patients. *Antibiotics* 2022;11:955. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11070955>.
- Ching-Chi L, Lee N-Y, Yan J-J, Lee H-C, Chen P-L, Chang C-M, et al. Bacteremia Due to Extended-Spectrum- β -Lactamase-Producing *Enterobacter cloacae*: Role of Carbapenem Therapy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2010;54:3551–6. <https://doi.org/10.1128/aac.00055-10>.
- Choi H, Ahn H, Lee R, Cho S-Y, Lee D-G. Bloodstream Infections in Patients with Hematologic Diseases: Causative Organisms and Factors Associated with Resistance. *Infection & Chemotherapy* 2022;54:340–52. <https://doi.org/10.3947/ic.2022.0069>.
- Chong Y, Yakushiji H, Ito Y, Kamimura T. Clinical impact of fluoroquinolone prophylaxis in neutropenic patients with hematological malignancies. *International Journal of Infectious Diseases* 2011;15:e277–81. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2010.12.010>.
- Clark AE, Kaleta EJ, Arora A, Wolk DM. Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry: a Fundamental Shift in the Routine Practice of Clinical Microbiology. *Clinical Microbiology Reviews* 2013;26:547–603. <https://doi.org/10.1128/cmr.00072-12>.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-sixth informational supplement. CLSI document M100-S26. Wayne, PA: CLSI; 2016.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*, 29th ed.; CLSI Supplement M100; Clinical and Laboratory Standards Institute: Wayne, PA, USA, 2019.
- Cockerill FR, Wilson JW, Vetter EA, Goodman KM, Torgerson CA, Harmsen WS, et al. Optimal Testing Parameters for Blood Cultures. *Clinical Infectious Diseases* 2004;38:1724–30. <https://doi.org/10.1086/421087>.
- Coombs GW, Daley DA, Lee YT, Pang S. Australian Group on Antimicrobial Resistance (AGAR) Australian Enterococcal Sepsis Outcome Programme (AESOP) Annual Report 2018. *Communicable Diseases Intelligence* 2020;44. <https://doi.org/10.33321/cdi.2020.44.19>.
- Coorevits L, Van den Abele A-M. Evaluation of the BD BACTEC FX blood volume monitoring system as a continuous quality improvement measure. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 2015;34:1459–66. <https://doi.org/10.1007/s10096-015-2373-2>.
- Cornaglia G, Giamarellou H, Rossolini GM. Metallo- β -lactamases: a last frontier for β -lactams? *The Lancet Infectious Diseases* 2011;11:381–93. [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(11\)70056-1](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(11)70056-1).
- Cornejo-Juárez P, Suárez-Cuenca JA, Volkow-Fernández P, Silva-Sánchez J, Barrios-Camacho H, Nájera-León E, et al. Fecal ESBL *Escherichia coli* carriage as a risk factor for bacteremia in patients with hematological malignancies. *Supportive Care in Cancer* 2015;24:253–9. <https://doi.org/10.1007/s00520-015-2772-z>.

- Cosgaya C, Marí-Almirall M, Van Assche A, Fernández-Orth D, Mosqueda N, Telli M, et al. *Acinetobacter dijkschoorniae* sp. nov., a member of the *Acinetobacter calcoaceticus*–*Acinetobacter baumannii* complex mainly recovered from clinical samples in different countries. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 2016;66:4105–11. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001318>.
- Costa SP, Carvalho CM. Burden of bacterial bloodstream infections and recent advances for diagnosis. *Pathogens and Disease* 2022;80. <https://doi.org/10.1093/femspd/ftac027>.
- Costello SE, Deshpande LM, Davis AP, Mendes RE, Castanheira M. Aminoglycoside-modifying enzyme and 16S ribosomal RNA methyltransferase genes among a global collection of Gram-negative isolates. *Journal of Global Antimicrobial Resistance* 2019;16:278–85. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2018.10.020>.
- Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial Biofilms: A Common Cause of Persistent Infections. *Science* 1999;284:1318–22. <https://doi.org/10.1126/science.284.5418.1318>.
- Cox G, Ejim L, Stogios PJ, Koteva K, Bordeleau E, Evdokimova E, et al. Plazomicin Retains Antibiotic Activity against Most Aminoglycoside Modifying Enzymes. *ACS Infectious Diseases* 2018;4:980–7. <https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.8b00001>.
- Croxatto A, Prod'hom G, Greub G. Applications of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical diagnostic microbiology. *FEMS Microbiology Reviews* 2012;36:380–407. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00298.x>.
- D'Andrea MM, Arena F, Pallecchi L, Rossolini GM. CTX-M-type β -lactamases: A successful story of antibiotic resistance. *International Journal of Medical Microbiology* 2013;303:305–17. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2013.02.008>.
- D'Onofrio V, Conzemius R, Varda-Brkić D, Bogdan M, Grisold A, Gyssens IC, et al. Epidemiology of colistin-resistant, carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and *Acinetobacter baumannii* in Croatia. *Infection, Genetics and Evolution* 2020;81:104263. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2020.104263>.
- Da Silva G, Domingues S. Insights on the Horizontal Gene Transfer of Carbapenemase Determinants in the Opportunistic Pathogen *Acinetobacter baumannii*. *Microorganisms* 2016;4:29. <https://doi.org/10.3390/microorganisms4030029>.
- Dafna Y, Eliakim-Raz N, Leibovici L, Paul M. Bloodstream infections in older patients. *Virulence* 2016;7:341–52. <https://doi.org/10.1080/21505594.2015.1132142>.
- Dagasso G, Conley J, Parfitt E, Pasquill K, Steele L, Laupland K. Risk factors associated with bloodstream infections in end-stage renal disease patients: a population-based study. *Infectious Diseases* 2018;50:831–6. <https://doi.org/10.1080/23744235.2018.1500707>.
- Dalben M, Varkulja G, Basso M, Krebs VLJ, Gibelli MA, van der Heijden I, et al. Investigation of an outbreak of *Enterobacter cloacae* in a neonatal unit and review of the literature. *Journal of Hospital Infection* 2008;70:7–14. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2008.05.003>.
- Dandachi I, Azar E, Hamouch R, Maliha P, Abdallah S, Kanaan E, et al. *Acinetobacter* spp in a Third World Country with Socio-economic and Immigrants Challenges. *The Journal of Infection in Developing Countries* 2019;13:948–55. <https://doi.org/10.3855/jidc.11341>.
- Dargère S, Cormier H, Verdon R. Contaminants in blood cultures: importance, implications, interpretation and prevention. *Clinical Microbiology and Infection* 2018;24:964–9. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.03.030>.

- David S, Reuter S, Harris SR, et al. Epidemic of carbapenem- resistant *Klebsiella pneumoniae* in Europe is driven by nosocomial spread. *Nat Microbiol* 2019;4:1919-29.
- Davin-Regli A, Pagès J-M. *Enterobacter aerogenes* and *Enterobacter cloacae*; versatile bacterial pathogens confronting antibiotic treatment. *Frontiers in Microbiology* 2015;6. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00392>.
- Davin-Regli A, Lavigne J-P, Pagès J-M. *Enterobacter* spp.: Update on Taxonomy, Clinical Aspects, and Emerging Antimicrobial Resistance. *Clinical Microbiology Reviews* 2019;32. <https://doi.org/10.1128/cmr.00002-19>.
- De Angelis G, Fiori B, Menchinelli G, D'Inzeo T, Liotti FM, Morandotti GA, et al. Incidence and antimicrobial resistance trends in bloodstream infections caused by ESKAPE and *Escherichia coli* at a large teaching hospital in Rome, a 9-year analysis (2007–2015). *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 2018;37:1627–36. <https://doi.org/10.1007/s10096-018-3292-9>.
- de Cueto M, Ceballos E, Martinez-Martinez L, Perea EJ, Pascual A. Use of Positive Blood Cultures for Direct Identification and Susceptibility Testing with the Vitek 2 System. *Journal of Clinical Microbiology* 2004;42:3734–8. <https://doi.org/10.1128/jcm.42.8.3734-3738.2004>.
- de Kraker MEA, Jarlier V, Monen JCM, Heuer OE, van de Sande N, Grundmann H. The changing epidemiology of bacteraemias in Europe: trends from the European Antimicrobial Resistance Surveillance System. *Clinical Microbiology and Infection* 2013;19:860–8. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12028>.
- De Oliveira DMP, Forde BM, Kidd TJ, Harris PNA, Schembri MA, Beatson SA, et al. Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. *Clinical Microbiology Reviews* 2020;33. <https://doi.org/10.1128/cmr.00181-19>.
- De Socio GV, Rubbioni P, Botta D, Cenci E, Belati A, Paggi R, et al. Measurement and prediction of antimicrobial resistance in bloodstream infections by ESKAPE pathogens and *Escherichia coli*. *Journal of Global Antimicrobial Resistance* 2019;19:154–60. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2019.05.013>.
- De Waele J, Lipman J, Sakr Y, Marshall JC, Vanhems P, Barrera Groba C, et al. Abdominal infections in the intensive care unit: characteristics, treatment and determinants of outcome. *BMC Infectious Diseases* 2014;14. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-14-420>.
- Del Bono V, Giacobbe DR. Bloodstream infections in internal medicine. *Virulence* 2016;7:353–65. <https://doi.org/10.1080/21505594.2016.1140296>.
- Descours G, Desmurs L, Hoang TLT, Ibranosyan M, Baume M, Ranc A-G, et al. Evaluation of the Accelerate Pheno™ system for rapid identification and antimicrobial susceptibility testing of Gram-negative bacteria in bloodstream infections. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 2018;37:1573–83. <https://doi.org/10.1007/s10096-018-3287-6>.
- Di Franco S, Alfieri A, Pace MC, Sansone P, Pota V, Fittipaldi C, et al. Blood Stream Infections from MDR Bacteria. *Life* 2021;11:575. <https://doi.org/10.3390/life11060575>.
- Di Popolo A, Giannouli M, Triassi M, Brisse S, Zarrilli R. Molecular epidemiological investigation of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* strains in four Mediterranean countries with a multilocus sequence typing scheme. *Clinical Microbiology and Infection* 2011;17:197–201. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2010.03254.x>.
- Diallo K, Thilly N, Luc A, Beraud G, Ergonul Ö, Giannella M, et al. Management of bloodstream infections by infection specialists: an international ESCMID cross-

- sectional survey. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2018;51:794–8. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2017.12.010>.
- Diancourt L, Passet V, Verhoef J, Grimont PAD, Brisse S. Multilocus Sequence Typing of *Klebsiella pneumoniae* Nosocomial Isolates. *Journal of Clinical Microbiology* 2005;43:4178–82. <https://doi.org/10.1128/jcm.43.8.4178-4182.2005>.
- Diekema DJ, Pfaller MA, Jones RN, Doern GV, Kugler KC, Beach ML, et al. Trends in antimicrobial susceptibility of bacterial pathogens isolated from patients with bloodstream infections in the USA, Canada and Latin America. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2000;13:257–71. [https://doi.org/10.1016/s0924-8579\(99\)00131-4](https://doi.org/10.1016/s0924-8579(99)00131-4).
- Diekem DJ, Pfaller MA, Turnidge J, Verhoef J, Bell J, Fluit AC, et al. Genetic Relatedness of Multidrug-Resistant, Methicillin (Oxacillin)-Resistant *Staphylococcus aureus* Bloodstream Isolates from SENTRY Antimicrobial Resistance Surveillance Centers Worldwide, 1998. *Microbial Drug Resistance* 2000a;6:213–21. <https://doi.org/10.1089/mdr.2000.6.213>.
- Diekema DJ, Hsueh P-R, Mendes RE, Pfaller MA, Rolston KV, Sader HS, et al. The Microbiology of Bloodstream Infection: 20-Year Trends from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2019;63. <https://doi.org/10.1128/aac.00355-19>.
- Diekema DJ, Pfaller MA, Shortridge D, Zervos M, Jones RN. Twenty-Year Trends in Antimicrobial Susceptibilities Among *Staphylococcus aureus* From the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Open Forum Infectious Diseases* 2019a;6:S47–53. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofy270>.
- Diene SM, Rolain J-M. Carbapenemase genes and genetic platforms in Gram-negative bacilli: Enterobacteriaceae, *Pseudomonas* and *Acinetobacter* species. *Clinical Microbiology and Infection* 2014;20:831–8. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12655>.
- Dijkshoorn L, Nemec A, Seifert H. An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Nature Reviews Microbiology* 2007;5:939–51. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1789>.
- Djahmi N, Dunyach-Remy C, Pantel A, Dekhil M, Sotto A, Lavigne J-P. Epidemiology of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae and *Acinetobacter baumannii* in Mediterranean Countries. *BioMed Research International* 2014;2014:1–11. <https://doi.org/10.1155/2014/305784>.
- Doern GV. Manual Blood Culture Systems and the Antimicrobial Removal Device. *Clinics in Laboratory Medicine* 1994;14:133–47. [https://doi.org/10.1016/s0272-2712\(18\)30400-1](https://doi.org/10.1016/s0272-2712(18)30400-1).
- Doi Y, Wachino J, Arakawa Y. Aminoglycoside Resistance. *Infectious Disease Clinics of North America* 2016;30:523–37. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2016.02.011>.
- Dortet L, Bonnin RA, Bernabeu S, Escaut L, Vittecoq D, Girlich D, et al. First Occurrence of OXA-72-Producing *Acinetobacter baumannii* in Serbia. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2016;60:5724–30. <https://doi.org/10.1128/aac.01016-16>.
- Douglas NM, Hennessy JN, Currie BJ, Baird RW. Trends in Bacteremia Over 2 Decades in the Top End of the Northern Territory of Australia. *Open Forum Infectious Diseases* 2020;7. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofaa472>.
- Dubourg G, Lamy B, Ruimy R. Rapid phenotypic methods to improve the diagnosis of bacterial bloodstream infections: meeting the challenge to reduce the time to result. *Clinical Microbiology and Infection* 2018;24:935–43. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.03.031>.

- Ehren K, Meißner A, Jazmati N, Wille J, Jung N, Vehreschild JJ, et al. Clinical Impact of Rapid Species Identification From Positive Blood Cultures With Same-day Phenotypic Antimicrobial Susceptibility Testing on the Management and Outcome of Bloodstream Infections. *Clinical Infectious Diseases* 2020;70:1285-93. <https://doi.org/10.1093/cid/ciz406>.
- Eigenbrod T, Reuter S, Gross A, Kocer K, Günther F, Zimmermann S, et al. Molecular characterization of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* using WGS revealed missed transmission events in Germany from 2012–15. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2019;74:3473–80. <https://doi.org/10.1093/jac/dkz360>.
- El-Mahdy TS, Al-Agamy MH, Al-Qahtani AA, Shibl AM. Detection of blaOXA-23-like and blaNDM-1 in *Acinetobacter baumannii* from the Eastern Region, Saudi Arabia. *Microbial Drug Resistance* 2017;23:115–21. <https://doi.org/10.1089/mdr.2015.0304>.
- Enroth H, Retz K, Andersson S, Andersson C, Svensson K, Ljungström L, et al. Evaluation of QuickFISH and maldi Sepsityper for identification of bacteria in bloodstream infection. *Infectious Diseases* 2019;51:249–58. <https://doi.org/10.1080/23744235.2018.1554258>.
- Erlanson KM, Sun J, Iwen PC, Rupp ME. Impact of the More-Potent Antibiotics Quinupristin-Dalfopristin and Linezolid on Outcome Measure of Patients with Vancomycin-Resistant *Enterococcus* Bacteremia. *Clinical Infectious Diseases* 2008;46:30–6. <https://doi.org/10.1086/523588>.
- Errico G, Gagliotti C, Monaco M, Masiero L, Gaibani P, Ambretti S, et al. Colonization and infection due to carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in liver and lung transplant recipients and donor-derived transmission: a prospective cohort study conducted in Italy. *Clinical Microbiology and Infection* 2019;25:203–9. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.05.003>.
- European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2011. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Stockholm: ECDC; 2012.
- European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2012. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Stockholm: ECDC; 2013.
- European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2014. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Stockholm: ECDC; 2015.
- European Centre for Disease Prevention and Control. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in healthcare settings. Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control; 2016.
- European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2015. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Stockholm: ECDC; 2017.
- European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance of antimicrobial resistance in Europe 2016. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Stockholm: ECDC; 2017a.
- European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance of antimicrobial resistance in Europe - Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net) 2017. Stockholm: ECDC; 2018.

- European Centre for Disease Prevention and Control. Healthcare-associated infections acquired in intensive care units. *Annual Epidemiological Report for 2017*. Stockholm: ECDC, 2019.
- European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance in the EU/EEA (EARS-Net) - Annual Epidemiological Report 2020. Stockholm: ECDC; 2022.
- European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance in the EU/EEA (EARS-Net) - Annual Epidemiological Report 2021. Stockholm: ECDC; 2022a.
- European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial consumption in the EU/EEA (ESAC-Net) - Annual Epidemiological Report 2021. Stockholm: ECDC; 2022b.
- European Centre for Disease Prevention and Control. Assessing the health burden of infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU/EEA, 2016-2020. Stockholm: ECDC; 2022c.
- European Centre for Disease Prevention and Control. Invasive pneumococcal disease. Annual epidemiological report for 2018. Stockholm: ECDC; 2022d.
- European Centre for Disease Prevention and Control Technical Report. Estimated incidence of bloodstream infections with three key pathogens in the EU/EEA in 2019; April 2023.
- EUCAST. Rapid AST directly from positive blood culture bottles. Version 1.1. 2019.
- EUCAST. Zone diameter breakpoints for rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) directly from blood culture bottles. Version 1.1. 2019.
- Evans BA, Amyes SGB. OXA β -Lactamases. *Clinical Microbiology Reviews* 2014;27:241–63. <https://doi.org/10.1128/cmr.00117-13>.
- Fernández J, Montero I, Martínez Ó, Fleites A, Poirel L, Nordmann P, et al. Dissemination of multiresistant *Enterobacter cloacae* isolates producing OXA-48 and CTX-M-15 in a Spanish hospital. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2015;46:469–74. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2015.07.003>.
- Fiori B, D’Inzeo T, Giaquinto A, Menchinelli G, Liotti FM, de Maio F, et al. Optimized Use of the MALDI BioTyper System and the FilmArray BCID Panel for Direct Identification of Microbial Pathogens from Positive Blood Cultures. *Journal of Clinical Microbiology* 2016;54:576–84. <https://doi.org/10.1128/jcm.02590-15>.
- Fitzpatrick JM, Biswas JS, Edgeworth JD, Islam J, Jenkins N., Judge R., et al. Gram-negative bacteraemia; a multi-centre prospective evaluation of empiric antibiotic therapy and outcome in English acute hospitals. *Clinical Microbiology and Infection* 2016;22:244–51. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2015.10.034>.
- Florio W, Morici P, Ghelardi E, Barnini S, Lupetti A. Recent advances in the microbiological diagnosis of bloodstream infections. *Critical Reviews in Microbiology* 2018;44:351–70. <https://doi.org/10.1080/1040841x.2017.1407745>.
- Founou RC, Founou LL, Essack SY. Clinical and economic impact of antibiotic resistance in developing countries: A systematic review and meta-analysis. *PLOS ONE* 2017;12:e0189621. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189621>.
- Fournier P., D. Vallenet, V. Barbe, S. Audic, H. Ogata, L. Pireis, et al. Comparative genomics of multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Proteomics* 2006;2:62-72.
- Franolić-Kukina I, Bedenić B, Budimir A, Herljević Z, Vraneš J, Higgins PG. Clonal spread of carbapenem-resistant OXA-72-positive *Acinetobacter baumannii* in a Croatian university hospital. *International Journal of Infectious Diseases* 2011;15:e706–9. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2011.05.016>.

- Frenk S, Temkin E, Lurie-Weinberger MN, Keren-Paz A, Rov R, Rakovitsky N, et al. Large-scale WGS of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates reveals patterns of dissemination of ST clades associated with antibiotic resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2022;77:934–43. <https://doi.org/10.1093/jac/dkac010>.
- Fu P, Tang Y, Li G, Yu L, Wang Y, Jiang X. Pandemic spread of bla among *Klebsiella pneumoniae* ST11 in China is associated with horizontal transfer mediated by IncFII-like plasmids. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2019;54:117–124. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2019.03.014>.
- Gagliotti C, Balode A, Baquero F, Degener J, Grundmann H, Gür D, et al. *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*: bad news and good news from the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net, formerly EARSS), 2002 to 2009. *Eurosurveillance* 2011;16. <https://doi.org/10.2807/ese.16.11.19819-en>.
- Gagliotti C, Högberg LD, Billström H, Eckmanns T, Giske CG, Heuer OE, et al. *Staphylococcus aureus* bloodstream infections: diverging trends of meticillin-resistant and meticillin-susceptible isolates, EU/EEA, 2005 to 2018. *Eurosurveillance* 2021;26. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es.2021.26.46.2002094>.
- Gahlot R, Gahlot R, Nigam C, Kumar V, Yadav G, Anupurba S, et al. Catheter-related bloodstream infections. *International Journal of Critical Illness and Injury Science* 2014;4:162–7. <https://doi.org/10.4103/2229-5151.134184>.
- Gales AC, Seifert H, Gur D, Castanheira M, Jones RN, Sader HS. Antimicrobial Susceptibility of *Acinetobacter calcoaceticus*–*Acinetobacter baumannii* Complex and *Stenotrophomonas maltophilia* Clinical Isolates: Results From the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997–2016). *Open Forum Infectious Diseases* 2019;6:S34–46. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofy293>.
- Garcia-Vidal C, Cardozo-Espinola C, Puerta-Alcalde P, Marco F, Tellez A, Agüero D, et al. Risk factors for mortality in patients with acute leukemia and bloodstream infections in the era of multiresistance. *PLOS ONE* 2018;13:e0199531. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199531>.
- Gedik H, Simsek F, Yildirmak T, Kanturk A, Arica D, Aydin D, et al. Bloodstream infections in patients with hematological malignancies: which is more fatal – cancer or resistant pathogens? *Therapeutics and Clinical Risk Management* 2014;10:743–52. <https://doi.org/10.2147/tcrm.s68450>.
- Gerner-Smidt P. Ribotyping of the *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex. *Journal of Clinical Microbiology* 1992;30:2680–5. <https://doi.org/10.1128/jcm.30.10.2680-2685.1992>.
- Gholami M, Moshiri M, Ahanjan M, Salimi Chirani A, Hasannejad Bibalan M, Asadi A, et al. The diversity of class B and class D carbapenemases in clinical *Acinetobacter baumannii* isolates. *Le Infezioni in Medicina* 2018;26:329–335.
- Giakkoupi P, Papagiannitsis CC, Miriagou V, Pappa O, Polemis M, Tryfinopoulou K, et al. An update of the evolving epidemic of blaKPC-2-carrying *Klebsiella pneumoniae* in Greece (2009–10). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2011;66:1510–3. <https://doi.org/10.1093/jac/dkr166>.
- Giammanco A, Calà C, Fasciana T, Dowzicky MJ. Global Assessment of the Activity of Tigecycline against Multidrug-Resistant Gram-Negative Pathogens between 2004 and 2014 as Part of the Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial. *mSphere* 2017;2. <https://doi.org/10.1128/msphere.00310-16>.

- Giannella M, Trecarichi EM, De Rosa FG, Del Bono V, Bassetti M, Lewis RE, et al. Risk factors for carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection among rectal carriers: a prospective observational multicentre study. *Clinical Microbiology and Infection* 2014;20:1357–62. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12747>.
- Girija SA, Jayaseelan VP, Arumugam P. Prevalence of VIM- and GIM-producing *Acinetobacter baumannii* from patients with severe urinary tract infection. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* 2018;65:539–50. <https://doi.org/10.1556/030.65.2018.038>.
- Girlich D, Poirel L, Nordmann P. Clonal distribution of multidrug-resistant *Enterobacter cloacae*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 2015;81:264–8. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2015.01.003>.
- Girlich D, Ouzani S, Emeraud C, Gauthier L, Bonnin RA, Le Satche N, et al. Uncovering the novel *Enterobacter cloacae* complex species responsible for septic shock deaths in newborns: a cohort study. *The Lancet Microbe* 2021;2:e536–44. [https://doi.org/10.1016/s2666-5247\(21\)00098-7](https://doi.org/10.1016/s2666-5247(21)00098-7).
- Girmentria C, Rossolini GM, Piciocchi A, Bertaina A, Pisapia G, Pastore D, et al. Infections by carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in SCT recipients: a nationwide retrospective survey from Italy. *Bone Marrow Transplantation* 2014;50:282–8. <https://doi.org/10.1038/bmt.2014.231>.
- Global antimicrobial resistance and use surveillance system (GLASS) report 2021. Geneva: World Health Organization; 2021. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
- Gniadkowski M. Evolution of extended-spectrum β -lactamases by mutation. *Clinical Microbiology and Infection* 2008;14:11–32. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2007.01854.x>.
- Gogou V, Pournaras S, Giannouli M, Voulgari E, Piperaki E-T, Zarrilli R, et al. Evolution of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clonal lineages: a 10 year study in Greece (2000-09). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2011;66:2767–72. <https://doi.org/10.1093/jac/dkr390>.
- Gominet M, Compain F, Beloin C, Lebeaux D. Central venous catheters and biofilms: where do we stand in 2017? *APMIS* 2017;125:365–75. <https://doi.org/10.1111/apm.12665>.
- Gong X, Zhang J, Su S, Fu Y, Bao M, Wang Y, et al. Molecular characterization and epidemiology of carbapenem non-susceptible *Enterobacteriaceae* isolated from the Eastern region of Heilongjiang Province, China. *BMC Infectious Diseases* 2018;18. <https://doi.org/10.1186/s12879-018-3294-3>.
- Goto M, Al-Hasan MN. Overall burden of bloodstream infection and nosocomial bloodstream infection in North America and Europe. *Clinical Microbiology and Infection* 2013;19:501–9. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12195>.
- Göttig S, Frank D, Mungo E, Nolte A, Hogardt M, Besier S, et al. Emergence of ceftazidime/avibactam resistance in KPC-3-producing *Klebsiella pneumoniae* in vivo. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2019;74:3211–6. <https://doi.org/10.1093/jac/dkz330>.
- Govind BK, Lokanatha D, Lakshmaiah KC, Suresh Babu MC, Jacob LA, Bhat GR, et al. Bloodstream infections in febrile neutropenic patients at a tertiary cancer institute in South India: A timeline of clinical and microbial trends through the years. *Indian Journal of Medical and Paediatric Oncology* 2016;37:174–82. <https://doi.org/10.4103/0971-5851.190352>.
- Graña-Miraglia L, Evans BA, López-Jácome LE, Hernández-Durán M, Colín-Castro CA, Volkow-Fernández P, et al. Origin of OXA-23 Variant OXA-239 from a Recently

- Emerged Lineage of *Acinetobacter baumannii* International Clone V. *mSphere* 2020;5. <https://doi.org/10.1128/msphere.00801-19>.
- Green M. Introduction: Infections in Solid Organ Transplantation. *American Journal of Transplantation* 2013;13:3–8. <https://doi.org/10.1111/ajt.12093>.
- Grundmann HJ, Towner KJ, Dijkshoorn L, Gerner-Smidt P, Maher M, Seifert H, et al. Multicenter study using standardized protocols and reagents for evaluation of reproducibility of PCR-based fingerprinting of *Acinetobacter* spp. *Journal of Clinical Microbiology* 1997;35:3071–7. <https://doi.org/10.1128/jcm.35.12.3071-3077.1997>.
- Grundmann H, Glasner C, Albiger B, Aanensen DM, Tomlinson CT, Andrasević AT, et al. Occurrence of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in the European survey of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (EuSCAPE): a prospective, multinational study. *The Lancet Infectious Diseases* 2017;17:153–63. [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(16\)30257-2](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(16)30257-2).
- Gudiol C, Calatayud L, Garcia-Vidal C, Lora-Tamayo J, Císnal M, Duarte R, et al. Bacteraemia due to extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* (ESBL-EC) in cancer patients: clinical features, risk factors, molecular epidemiology and outcome. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2010;65:333–41. <https://doi.org/10.1093/jac/dkp411>.
- Gudiol C, Ayats J, Camoez M, Domínguez MÁ, García-Vidal C, Bodro M, et al. Increase in Bloodstream Infection Due to Vancomycin-Susceptible *Enterococcus faecium* in Cancer Patients: Risk Factors, Molecular Epidemiology and Outcomes. *PLoS ONE* 2013;8:e74734. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0074734>.
- Gudiol C, Bodro M, Simonetti A, Tubau F, González-Barca E, Císnal M, et al. Changing aetiology, clinical features, antimicrobial resistance, and outcomes of bloodstream infection in neutropenic cancer patients. *Clinical Microbiology and Infection* 2013a;19:474–9. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2012.03879.x>.
- Gudiol C, Aguado JM, Carratalà J. Bloodstream infections in patients with solid tumors. *Virulence* 2016;7:298–308. <https://doi.org/10.1080/21505594.2016.1141161>.
- Guembe M, Rodríguez-Crèixems M, Sánchez-Carrillo C, Pérez-Parra A, Martín-Rabadán P, Bouza E. How Many Lumens Should Be Cultured in the Conservative Diagnosis of Catheter-Related Bloodstream Infections? *Clinical Infectious Diseases* 2010;50:1575–9. <https://doi.org/10.1086/652766>.
- Gustinetti G, Mikulska M. Bloodstream infections in neutropenic cancer patients: A practical update. *Virulence* 2016;7:280–97. <https://doi.org/10.1080/21505594.2016.1156821>.
- Haddad S, Jabbour J-F, Hindy J-R, Makki M, Sabbagh A, Nayfeh M, et al. Bacterial bloodstream infections and patterns of resistance in patients with haematological malignancies at a tertiary centre in Lebanon over 10 years. *Journal of Global Antimicrobial Resistance* 2021;27:228–35. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2021.09.008>.
- Halaby T, Reuland AE, al Naiemi N, Potron A, Savelkoul PHM, Vandenbroucke-Grauls CMJE, et al. A Case of New Delhi Metallo- β -Lactamase 1 (NDM-1)-Producing *Klebsiella pneumoniae* with Putative Secondary Transmission from the Balkan Region in the Netherlands. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2012;56:2790–1. <https://doi.org/10.1128/aac.00111-12>.
- Hamidian M, Nigro SJ. Emergence, molecular mechanisms and global spread of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Microbial Genomics* 2019;5. <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000306>.

- Hammoudi D, Moubareck CA, Hakime N, Houmani M, Barakat A, Najjar Z, et al. Spread of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* co-expressing OXA-23 and GES-11 carbapenemases in Lebanon. *International Journal of Infectious Diseases* 2015;36:56–61. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2015.05.015>.
- Han SB, Bae EY, Lee JW, Lee D-G, Chung N-G, Jeong D-C, et al. Clinical characteristics and antimicrobial susceptibilities of viridans streptococcal bacteremia during febrile neutropenia in patients with hematologic malignancies: a comparison between adults and children. *BMC Infectious Diseases* 2013;13. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-13-273>.
- Hattori H, Maeda M, Nagatomo Y, Takuma T, Niki Y, Naito Y, et al. Epidemiology and risk factors for mortality in bloodstream infections: A single-center retrospective study in Japan. *American Journal of Infection Control* 2018;46:e75–9. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2018.06.019>.
- Havenga B, Reyneke B, Waso-Reyneke M, Ndlovu T, Khan S, Khan W. Biological Control of *Acinetobacter baumannii*: In Vitro and In Vivo Activity, Limitations, and Combination Therapies. *Microorganisms* 2022;10:1052. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10051052>.
- Healy M, Huong J, Bittner T, Lising M, Frye S, Raza S, et al. Microbial DNA Typing by Automated Repetitive-Sequence-Based PCR. *Journal of Clinical Microbiology* 2005;43:199–207. <https://doi.org/10.1128/jcm.43.1.199-207.2005>.
- Hedegaard SS, Wisborg K, Hvas A-M. Diagnostic utility of biomarkers for neonatal sepsis – a systematic review. *Infectious Diseases* 2015;47:117–24. <https://doi.org/10.3109/00365548.2014.971053>.
- Henning C, Aygül N, Dinnétz P, Wallgren K, Özenci V. Detailed Analysis of the Characteristics of Sample Volume in Blood Culture Bottles. *Journal of Clinical Microbiology* 2019;57. <https://doi.org/10.1128/jcm.00268-19>.
- Héritier C, Dubouix A, Poirel L, Marty N, Nordmann P. A nosocomial outbreak of *Acinetobacter baumannii* isolates expressing the carbapenem-hydrolysing oxacillinase OXA-58. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2005;55:115–8. <https://doi.org/10.1093/jac/dkh500>.
- Hernández-García M, Pérez-Viso B, Carmen Turrientes M, Díaz-Agero C, López-Fresneña N, Bonten M, et al. Characterization of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae from colonized patients in a university hospital in Madrid, Spain, during the R-GNOSIS project depicts increased clonal diversity over time with maintenance of high-risk clones. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2018;73:3039–43. <https://doi.org/10.1093/jac/dky284>
- Higgins PG, Wisplinghoff H, Krut O, Seifert H. A PCR-based method to differentiate between *Acinetobacter baumannii* and *Acinetobacter* genomic species 13TU. *Clinical Microbiology and Infection* 2007;13:1199–201. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2007.01819.x>.
- Higgins PG, Lehmann M, Seifert H. Inclusion of OXA-143 primers in a multiplex polymerase chain reaction (PCR) for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in *Acinetobacter* spp. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2010;35:305. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2009.10.014>.
- Higgins PG, Dammhayn C, Hackel M, Seifert H. Global spread of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2010a;65:233–8. <https://doi.org/10.1093/jac/dkq123>.
- Higgins PG, Pérez-Llarena FJ, Zander E, Fernández A, Bou G, Seifert H. OXA-235, a Novel Class D β -Lactamase Involved in Resistance to Carbapenems in *Acinetobacter*

- baumannii. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2013;57:2121–6. <https://doi.org/10.1128/aac.02413-12>.
- Ho PL, Shek RHL, Chow KH, Duan RS, Mak GC, Lai EL, et al. Detection and characterization of extended-spectrum β -lactamases among bloodstream isolates of *Enterobacter* spp. in Hong Kong, 2000–2002. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2005;55:326–32. <https://doi.org/10.1093/jac/dki010>.
- Holm MKA, Jansåker F, Gradel KO, Nielsen RT, Østergaard Andersen C, Jarløv JO, et al. Decrease in All-Cause 30-Day Mortality after Bacteraemia over a 15-Year Period: A Population-Based Cohort Study in Denmark in 2000–2014. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 2021;18:5982. <https://doi.org/10.3390/ijerph18115982>.
- Holmbom M, Giske CG, Fredrikson M, Östholm Balkhed Å, Claesson C, Nilsson LE, et al. 14-Year Survey in a Swedish County Reveals a Pronounced Increase in Bloodstream Infections (BSI). Comorbidity - An Independent Risk Factor for Both BSI and Mortality. *PLOS ONE* 2016;11:e0166527. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0166527>.
- Holmbom M, Möller V, Nilsson LE, Giske CG, Rashid M-U, Fredrikson M, et al. Low incidence of antibiotic-resistant bacteria in south-east Sweden: An epidemiologic study on 9268 cases of bloodstream infection. *PLOS ONE* 2020;15:e0230501. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0230501>.
- Hsu L-Y, Apisarnthanarak A, Khan E, Suwantararat N, Ghafur A, Tambyah PA. Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* and *Enterobacteriaceae* in South and Southeast Asia. *Clinical Microbiology Reviews* 2017;30:1–22. <https://doi.org/10.1128/cmr.00042-16>.
- Htwe TH, Mushtaq A, Robinson SB, Rosher RB, Khardori N. Infection in the Elderly. *Infectious Disease Clinics of North America* 2007;21:711–43. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2007.07.006>.
- Huang L, Sun L, Yan Y. Clonal spread of carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* ST92 in a Chinese Hospital during a 6-year period. *Journal of Microbiology* 2013;51:113–7. <https://doi.org/10.1007/s12275-013-2341-4>.
- Huang Z, Rose AH, Hoffmann PR. The Role of Selenium in Inflammation and Immunity: From Molecular Mechanisms to Therapeutic Opportunities. *Antioxidants & Redox Signaling* 2012;16:705–43. <https://doi.org/10.1089/ars.2011.4145>.
- Idelevich EA, Grunewald CM, Wüllenweber J, Becker K. Rapid Identification and Susceptibility Testing of *Candida* spp. from Positive Blood Cultures by Combination of Direct MALDI-TOF Mass Spectrometry and Direct Inoculation of Vitek 2. *PLoS ONE* 2014;9:e114834. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0114834>.
- Idelevich EA, Schüle I, Grünastel B, Wüllenweber J, Peters G, Becker K. Acceleration of Antimicrobial Susceptibility Testing of Positive Blood Cultures by Inoculation of Vitek 2 Cards with Briefly Incubated Solid Medium Cultures. *Journal of Clinical Microbiology* 2014a;52:4058–62. <https://doi.org/10.1128/jcm.02400-14>.
- Idelevich EA, Schüle I, Grünastel B, Wüllenweber J, Peters G, Becker K. Rapid identification of microorganisms from positive blood cultures by MALDI-TOF mass spectrometry subsequent to very short-term incubation on solid medium. *Clinical Microbiology and Infection* 2014b;20:1001–6. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12640>.
- Idelevich EA, Silling G, Niederbracht Y, Penner H, Sauerland MC, Tafelski S, et al. Impact of multiplex PCR on antimicrobial treatment in febrile neutropenia: a randomized

- controlled study. *Medical Microbiology and Immunology* 2015;204:585–92. <https://doi.org/10.1007/s00430-014-0385-7>.
- Idelevich EA, Storck LM, Sparbier K, Drews O, Kostrzewa M, Becker K. Rapid Direct Susceptibility Testing from Positive Blood Cultures by the Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry-Based Direct-on-Target Microdroplet Growth Assay. *Journal of Clinical Microbiology* 2018;56. <https://doi.org/10.1128/jcm.00913-18>.
- Idelevich EA, Becker K. How to accelerate antimicrobial susceptibility testing. *Clinical Microbiology and Infection* 2019;25:1347–55. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.04.025>.
- Idelevich EA, Seifert H, Sundqvist M, Scudeller L, Amit S, Balode A, et al. Microbiological diagnostics of bloodstream infections in Europe—an ESGBIES survey. *Clinical Microbiology and Infection* 2019a;25:1399–407. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.03.024>.
- Ikuta KS, Swetschinski LR, Aguilar G.R, Sharara F, Mestrovic T, Gray A, et al. Global mortality associated with 33 bacterial pathogens in 2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *The Lancet* 2022; 400(10369):2221–2248.
- Irfan S, Idrees F, Mehraj V, Habib F, Adil S, Hasan R. Emergence of Carbapenem resistant Gram negative and vancomycin resistant Gram positive organisms in bacteremic isolates of febrile neutropenic patients: A descriptive study. *BMC Infectious Diseases* 2008;8. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-8-80>.
- Islas-Muñoz B, Volkow-Fernández P, Ibanes-Gutiérrez C, Villamar-Ramírez A, Vilar-Compte D, Cornejo-Juárez P. Bloodstream infections in cancer patients. Risk factors associated with mortality. *International Journal of Infectious Diseases* 2018;71:59–64. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2018.03.022>.
- Izdebski R, Baraniak A, Herda M, Fiett J, Bonten MJM, Carmeli Y, et al. MLST reveals potentially high-risk international clones of *Enterobacter cloacae**. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2015;70:48–56. <https://doi.org/10.1093/jac/dku359>.
- Izdebski R, Sitkiewicz M, Urbanowicz P, Krawczyk M, Brisse S, Gniadkowski M. Genomic background of the *Klebsiella pneumoniae* NDM-1 outbreak in Poland, 2012–18. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2020;75:3156–62. <https://doi.org/10.1093/jac/dkaa339>.
- Jabbari Shiadeh SM, Pormohammad A, Hashemi A, Lak P. Global prevalence of antibiotic resistance in blood-isolated *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium*: a systematic review and meta-analysis. *Infection Infection and Drug Resistance* 2019;Volume 12:2713–25. <https://doi.org/10.2147/idr.s206084>.
- Jacoby GA. AmpC β -Lactamases. *Clinical Microbiology Reviews* 2009;22:161–82. <https://doi.org/10.1128/cmr.00036-08>.
- Jafarzadeh SR, Thomas BS, Warren DK, Gill J, Fraser VJ. Longitudinal Study of the Effects of Bacteremia and Sepsis on 5-year Risk of Cardiovascular Events. *Clinical Infectious Diseases* 2016;63:495–500. <https://doi.org/10.1093/cid/ciw320>.
- Jaganath D, Jorakate P, Makprasert S, Sangwichian O, Akarachotpong T, Thamthitiwat S, et al. *Staphylococcus aureus* Bacteremia Incidence and Methicillin Resistance in Rural Thailand, 2006–2014. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 2018;99:155. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.17-0631>.
- Jaidane N, Naas T, Oueslati S, Bernabeu S, Boujaafar N, Bouallegue O, et al. Whole-genome sequencing of NDM-1-producing ST85 *Acinetobacter baumannii* isolates from Tunisia. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2018;52:916–21. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2018.05.017>.

- Jamal A, Fatima N, Shaikh S, Kaleem B, Rizvi QA, Zaidi U, et al. Pattern of Antimicrobial Sensitivity in Microbiologically Documented Infections in Neutropenic Patients with Haematological Malignancies: A single Center Study. *Indian Journal of Microbiology* 2019;59:188–92. <https://doi.org/10.1007/s12088-019-00789-y>.
- Jarlier V, Diaz Högberg L, Heuer OE, Campos J, Eckmanns T, Giske CG, et al. Strong correlation between the rates of intrinsically antibiotic-resistant species and the rates of acquired resistance in Gram-negative species causing bacteraemia, EU/EEA, 2016. *Eurosurveillance* 2019;24. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es.2019.24.33.1800538>.
- Jin L, Zhao C, Li H, Wang R, Wang Q, Wang H. Clinical Profile, Prognostic Factors, and Outcome Prediction in Hospitalized Patients With Bloodstream Infection: Results From a 10-Year Prospective Multicenter Study. *Frontiers in Medicine* 2021;8. <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.629671>.
- Johnson AP, Davies J, Guy R, Abernethy J, Sheridan E, Pearson A, et al. Mandatory surveillance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) bacteraemia in England: the first 10 years. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2012;67:802–9. <https://doi.org/10.1093/jac/dkr561>.
- Jokinen E, Laine J, Huttunen R, Lyytikäinen O, Vuento R, Vuopio J, et al. Trends in incidence and resistance patterns of *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Infectious Diseases* 2018;50:52–8. <https://doi.org/10.1080/23744235.2017.1405276>.
- Jones CL, Clancy M, Honnold C, Singh S, Snesrud E, Onmus-Leone F, et al. Fatal Outbreak of an Emerging Clone of Extensively Drug-Resistant *Acinetobacter baumannii* With Enhanced Virulence. *Clinical Infectious Diseases* 2015;61:145–54. <https://doi.org/10.1093/cid/civ225>.
- Jones M, Jernigan JA, Evans ME, Roselle GA, Hatfield KM, Samore MH. Vital Signs: Trends in *Staphylococcus aureus* Infections in Veterans Affairs Medical Centers — United States, 2005–2017. *MMWR Morbidity and Mortality Weekly Report* 2019;68:220–4. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6809e2>.
- Kadri SS, Lai YL, Warner S, Strich JR, Babiker A, Ricotta EE, et al. Inappropriate empirical antibiotic therapy for bloodstream infections based on discordant in-vitro susceptibilities: a retrospective cohort analysis of prevalence, predictors, and mortality risk in US hospitals. *The Lancet Infectious Diseases* 2021;21:241–51. [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(20\)30477-1](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(20)30477-1).
- Kamboj M, Chung D, Seo SK, Pamer EG, Sepkowitz KA, Jakubowski AA, et al. The Changing Epidemiology of Vancomycin-Resistant *Enterococcus* (VRE) Bacteremia in Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplant (HSCT) Recipients. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 2010;16:1576–81. <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2010.05.008>.
- Kan B, Razzaghian HR, Lavoie PM. An Immunological Perspective on Neonatal Sepsis. *Trends in Molecular Medicine* 2016;22:290–302. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2016.02.001>.
- Kang C-I, Chung DR, Ko KS, Peck KR, Song J-H. Risk factors for infection and treatment outcome of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* bacteremia in patients with hematologic malignancy. *Annals of Hematology* 2012;91:115–21. <https://doi.org/10.1007/s00277-011-1247-7>.
- Kang C-I, Song J-H, Chung DR, Peck KR, Yeom J-S, Son JS, et al. Bloodstream infections in adult patients with cancer: clinical features and pathogenic significance of *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Supportive Care in Cancer* 2012a;20:2371–8. <https://doi.org/10.1007/s00520-011-1353-z>.

- Kara Ö, Zarakolu P, Aşçıoğlu S, Etgül S, Uz B, Büyükaşık Y, et al. Epidemiology and emerging resistance in bacterial bloodstream infections in patients with hematologic malignancies. *Infectious Diseases* 2015;47:686–93. <https://doi.org/10.3109/23744235.2015.1051105>.
- Karah N, Mateo-Estrada V, Castillo-Ramírez S, Higgins PG, Havenga B, Khan W, et al. The *Acinetobacter baumannii* website (Ab-web): a multidisciplinary knowledge hub, communication platform, and workspace. *FEMS Microbes* 2023;4. <https://doi.org/10.1093/femsmc/xtad009>.
- Karampatakis T, Antachopoulos C, Tsakris A, Roilides E. Molecular epidemiology of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in Greece: an extended review (2000–2015). *Future Microbiology* 2017;12:801–15. <https://doi.org/10.2217/fmb-2016-0200>.
- Katayama Y, Takeuchi F, Ito T, Ma XX, Ui-Mizutani Y, Kobayashi I, et al. Identification in Methicillin-Susceptible *Staphylococcus hominis* of an Active Primordial Mobile Genetic Element for the Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Bacteriology* 2003;185:2711–22. <https://doi.org/10.1128/jb.185.9.2711-2722.2003>.
- Kaye KS, Marchaim D, Chen T-Y, Chopra T, Anderson DJ, Choi Y, et al. Predictors of Nosocomial Bloodstream Infections in Older Adults. *Journal of the American Geriatrics Society* 2011;59:622–7. <https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.2010.03289.x>.
- Kedzior S, Ham Y, Bubalo J. Overcoming Resistance: Antibiotic Guidance for Multidrug-Resistant Febrile Neutropenia in Patients with Cancer. *J Hematol Oncol Pharm*, 2021;11:95-104.
- Kern WV, Rieg S. Burden of bacterial bloodstream infection - a brief update on epidemiology and significance of multidrug-resistant pathogens. *Clinical Microbiology and Infection* 2020;26:151–7. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.10.031>.
- Khademi F, Vaez H, Neyestani Z, Sahebkar A. Prevalence of ESBL-Producing Enterobacter Species Resistant to Carbapenems in Iran: A Systematic Review and Meta-Analysis. *International Journal of Microbiology* 2022;2022. <https://doi.org/10.1155/2022/8367365>.
- Khajuria A, Praharaj AK, Kumar M, Grover N. Carbapenem Resistance among Enterobacter Species in a Tertiary Care Hospital in Central India. *Chemotherapy Research and Practice* 2014;2014. <https://doi.org/10.1155/2014/972646>.
- Kim SB, Min YH, Cheong J-W, Kim JS, Kim SJ, Ku NS, et al. Incidence and risk factors for carbapenem- and multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* bacteremia in hematopoietic stem cell transplantation recipients. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* 2014;46:81–8. <https://doi.org/10.3109/00365548.2013.857042>.
- Kirn TJ, Weinstein MP. Update on blood cultures: how to obtain, process, report, and interpret. *Clinical Microbiology and Infection* 2013;19:513–20. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12180>.
- Kitchel B, Rasheed JK, Patel JB, Srinivasan A, Navon-Venezia S, Carmeli Y, et al. Molecular Epidemiology of KPC-Producing *Klebsiella pneumoniae* Isolates in the United States: Clonal Expansion of Multilocus Sequence Type 258. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2009;53:3365–70. <https://doi.org/10.1128/aac.00126-09>.
- Kjellander C, Björkholm M, Cherif H, Kalin M, Giske CG. Hematological: Low all-cause mortality and low occurrence of antimicrobial resistance in hematological patients with bacteremia receiving no antibacterial prophylaxis: a single-center study.

- European Journal of Haematology 2012;88:422–30. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0609.2012.01768.x>.
- Klevens RM, Morrison MA, Nadle J, Petit S, Gershman K, Ray S, et al. Invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in the United States. *JAMA* 2007;298:1763. <https://doi.org/10.1001/jama.298.15.1763>.
- Ko KS, Lee J-Y, Baek JY, Suh J-Y, Lee MY, Choi JY, et al. Predominance of an ST11 extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* clone causing bacteraemia and urinary tract infections in Korea. *Journal of Medical Microbiology* 2010;59:822–8. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.018119-0>.
- Kokkayil P, Agarwal R, Mohapatra S, Bakshi S, Das B, Sood S, et al. Bacterial profile and antibiogram of blood stream infections in febrile neutropenic patients with haematological malignancies. *The Journal of Infection in Developing Countries* 2018;12:442–7. <https://doi.org/10.3855/jidc.9725>.
- Kontula KSK, Skogberg K, Ollgren J, Järvinen A, Lyytikäinen O. Population-Based Study of Bloodstream Infection Incidence and Mortality Rates, Finland, 2004–2018. *Emerging Infectious Diseases* 2021;27:2560–9. <https://doi.org/10.3201/eid2710.204826>.
- Kostyanev T, Xavier BB, García-Castillo M, Lammens C, Bravo-Ferrer Acosta J, Rodríguez-Baño J, et al. Phenotypic and molecular characterizations of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates collected within the EURECA study. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2021;57:106345. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2021.106345>.
- Kourtis AP, Hatfield K, Baggs J, Mu Y, See I, Epton E, et al. Vital Signs: Epidemiology and Recent Trends in Methicillin-Resistant and in Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* Bloodstream Infections - United States. *MMWR Morbidity and Mortality Weekly Report* 2019;68:214. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6809e1>.
- Kristich CJ, Rice LB, Arias CA. Enterococcal Infection - Treatment and Antibiotic Resistance. 2014 Feb 6. In: Gilmore MS, Clewell DB, Ike Y, et al., editors. *Enterococci: From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection* [Internet]. Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary; 2014-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK190420/>
- Kritikos A, Manuel O. Bloodstream infections after solid-organ transplantation. *Virulence* 2016;7:329–40. <https://doi.org/10.1080/21505594.2016.1139279>.
- Kumar Anand, Haery C, Paladugu B, Kumar Aseem, Symeoneides S, Taiberg L, et al. The Duration of Hypotension before the Initiation of Antibiotic Treatment Is a Critical Determinant of Survival in a Murine Model of *Escherichia coli* Septic Shock: Association with Serum Lactate and Inflammatory Cytokine Levels. *The Journal of Infectious Diseases* 2006;193:251–8. <https://doi.org/10.1086/498909>.
- Kumar Anand, Roberts D, Wood KE, Light B, Parrillo JE, Sharma S, et al. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Critical Care Medicine* 2006a;34:1589–96. <https://doi.org/10.1097/01.ccm.0000217961.75225.e9>.
- Kumar S, Patil PP, Singhal L, Ray P, Patil PB, Gautam V. Molecular epidemiology of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates reveals the emergence of blaOXA-23 and blaNDM-1 encoding international clones in India. *Infection, Genetics and Evolution* 2019;75:103986. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2019.103986>.
- Kunac A, Sifri ZC, Mohr AM, Horng H, Lavery RF, Livingston DH. Bacteremia and Ventilator-Associated Pneumonia: A Marker for Contemporaneous Extra-

- Pulmonic Infection. *Surgical Infections* 2014;15:77–83. <https://doi.org/10.1089/sur.2012.030>.
- Kuo S-C, Huang W-C, Huang T-W, Wang H-Y, Lai J-F, Chen T-L, et al. Molecular Epidemiology of Emerging bla OXA-23-Like - and bla OXA-24-Like -Carrying *Acinetobacter baumannii* in Taiwan. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2018;62. <https://doi.org/10.1128/aac.01215-17>.
- Kwon J-C, Kim S-H, Choi J-K, Cho S-Y, Park Y-J, Park SH, et al. Epidemiology and Clinical Features of Bloodstream Infections in Hematology Wards: One Year Experience at the Catholic Blood and Marrow Transplantation Center. *Infection & Chemotherapy* 2013;45:51–61. <https://doi.org/10.3947/ic.2013.45.1.51>.
- Kyriakidis I, Vasileiou E, Pana ZD, Tragiannidis A. *Acinetobacter baumannii* Antibiotic Resistance Mechanisms. *Pathogens* 2021;10:373. <https://doi.org/10.3390/pathogens10030373>.
- La Scola B, Raoult D. Direct Identification of Bacteria in Positive Blood Culture Bottles by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionisation Time-of-Flight Mass Spectrometry. *PLoS ONE* 2009;4:e8041. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008041>.
- Lakhundi S, Zhang K. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Molecular Characterization, Evolution, and Epidemiology. *Clinical Microbiology Reviews* 2018;31. <https://doi.org/10.1128/cmr.00020-18>.
- Lam JC, Gregson DB, Robinson S, Somayaji R, Conly JM, Parkins MD. Epidemiology and Outcome Determinants of *Staphylococcus aureus* Bacteremia Revisited: A Population-Based Study. *Infection* 2019;47:961–71. <https://doi.org/10.1007/s15010-019-01330-5>.
- Lambrechts MMC, Bernards AT, van der Beek MT, Visser LG, de Boer MG. Time to positivity of blood cultures supports early re-evaluation of empiric broad-spectrum antimicrobial therapy. *PLOS ONE* 2019;14:e0208819. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0208819>.
- Lamy B, Sundqvist M, Idelevich EA. Bloodstream infections – Standard and progress in pathogen diagnostics. *Clinical Microbiology and Infection* 2020;26:142–50. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.11.017>.
- Lancet, T. Antimicrobial resistance: time to repurpose the Global Fund. *The Lancet* 2022;399(10322):335. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(22\)00091-5](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(22)00091-5).
- Laupland KB, Gregson DB, Zygun DA, Doig CJ, Mortis G, Church DL. Severe bloodstream infections: A population-based assessment. *Critical Care Medicine* 2004;32:992–7. <https://doi.org/10.1097/01.ccm.0000119424.31648.1e>.
- Laupland KB. Incidence of bloodstream infection: a review of population-based studies. *Clinical Microbiology and Infection* 2013a;19:492–500. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12144>.
- Laupland KB, Kibsey PC, Gregson DB, Galbraith JC. Population-based laboratory assessment of the burden of community-onset bloodstream infection in Victoria, Canada. *Epidemiology and Infection* 2013b;141:174–80. <https://doi.org/10.1017/s0950268812000428>.
- Laupland KB. Defining the epidemiology of bloodstream infections: the ‘gold standard’ of population-based assessment. *Epidemiology and Infection* 2013c;141:2149–57. <https://doi.org/10.1017/s0950268812002725>.
- Laupland KB, Lyytikäinen O, Sgaard M, Kennedy KJ, Knudsen JD, Ostergaard C, et al. The changing epidemiology of *Staphylococcus aureus* bloodstream infection: a multinational population-based surveillance study. *Clinical Microbiology and Infection* 2013d;19:465–71. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2012.03903.x>.

- Laupland KB, Church DL. Population-Based Epidemiology and Microbiology of Community-Onset Bloodstream Infections. *Clinical Microbiology Reviews* 2014;27:647–64. <https://doi.org/10.1128/cmr.00002-14>.
- Laupland KB, Pasquill K, Parfitt EC, Naidu P, Steele L. Burden of community-onset bloodstream infections, Western Interior, British Columbia, Canada. *Epidemiology and Infection* 2016;144:2440–6. <https://doi.org/10.1017/s0950268816000613>.
- Laupland KB, Pasquill K, Dagasso G, Parfitt EC, Steele L, Schonheyder HC. Population-based risk factors for community-onset bloodstream infections. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 2020;39:753–8. <https://doi.org/10.1007/s10096-019-03777-8>.
- Laupland KB, Pasquill K, Steele L, Parfitt EC. Burden of bloodstream infection in older persons: a population-based study. *BMC Geriatrics* 2021;21. <https://doi.org/10.1186/s12877-020-01984-z>.
- Laurettil L, Riccio ML, Mazzariol A, Cornaglia G, Amicosante G, Fontana R, et al. Cloning and Characterization of bla VIM , a New Integron-Borne Metallo-β-Lactamase Gene from a Pseudomonas aeruginosa Clinical Isolate. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1999;43:1584–90. <https://doi.org/10.1128/aac.43.7.1584>.
- Lebeaux D, Fernández-Hidalgo N, Chauhan A, Lee S, Ghigo J-M, Almirante B, et al. Management of infections related to totally implantable venous-access ports: challenges and perspectives. *The Lancet Infectious Diseases* 2014;14:146–59. [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(13\)70266-4](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(13)70266-4).
- Ledeboer NA, Lopansri BK, Dhiman N, Cavagnolo R, Carroll KC, Granato P, et al. Identification of Gram-Negative Bacteria and Genetic Resistance Determinants from Positive Blood Culture Broths by Use of the Verigene Gram-Negative Blood Culture Multiplex Microarray-Based Molecular Assay. *Journal of Clinical Microbiology* 2015;53:2460–72. <https://doi.org/10.1128/jcm.00581-15>.
- Lee C-C, Lee N-Y, Yan J-J, Lee H-C, Chen P-L, Chang C-M, et al. Bacteremia Due to Extended-Spectrum-β-Lactamase-Producing Enterobacter cloacae: Role of Carbapenem Therapy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2010;54:3551–6. <https://doi.org/10.1128/aac.00055-10>.
- Lee C-R, Lee JH, Park M, Park KS, Bae IK, Kim YB, et al. Biology of Acinetobacter baumannii: Pathogenesis, Antibiotic Resistance Mechanisms, and Prospective Treatment Options. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 2017;7. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00055>.
- Lee C-C, Lee C-H, Yang C-Y, Hsieh C-C, Tang H-J, Ko W-C. Beneficial effects of early empirical administration of appropriate antimicrobials on survival and defervescence in adults with community-onset bacteremia. *Critical Care* 2019;23:363. <https://doi.org/10.1186/s13054-019-2632-1>.
- Lee K, Ha GY, Shin B-M, Kim JJ, Kang JO, Jang SJ, et al. Metallo-β-lactamase-producing Gram-negative bacilli in Korean Nationwide Surveillance of Antimicrobial Resistance group hospitals in 2003: Continued prevalence of VIM-producing pseudomonas spp. and increase of IMP-producing Acinetobacter spp. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 2004;50:51–8. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2004.05.002>.
- Leibovici L, Pitlik S, Konisberger H, Drucke M. Bloodstream Infections in Patients Older than Eighty Years. *Age and Ageing* 1993;22:431–42. <https://doi.org/10.1093/ageing/22.6.431>.
- Lenz R, Leal JR, Church DL, Gregson DB, Ross T, Laupland KB. The distinct category of healthcare associated bloodstream infections. *BMC Infectious Diseases* 2012;12:85. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-12-85>.

- Levy-Blitchtein S, Roca I, Plasencia-Rebata S, Vicente-Taboada W, Velásquez-Pomar J, Muñoz L, et al. Emergence and spread of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* international clones II and III in Lima, Peru. *Emerging Microbes & Infections* 2018;7:1–9. <https://doi.org/10.1038/s41426-018-0127-9>.
- Li X-Z, Plésiat P, Nikaido H. The Challenge of Efflux-Mediated Antibiotic Resistance in Gram-Negative Bacteria. *Clinical Microbiology Reviews* 2015;28:337–418. <https://doi.org/10.1128/cmr.00117-14>.
- Li Y, Li J, Hu T, Hu J, Song N, Zhang Y, et al. Five-year change of prevalence and risk factors for infection and mortality of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection in a tertiary hospital in North China. *Antimicrobial Resistance & Infection Control* 2020;9. <https://doi.org/10.1186/s13756-020-00728-3>.
- Liakopoulos A, Miriagou V, Katsifas EA, Karagouni AD, Daikos GL, Tzouvelekis LS, et al. Identification of OXA-23-producing *Acinetobacter baumannii* in Greece, 2010 to 2011. *Eurosurveillance* 2012;17. <https://doi.org/10.2807/ese.17.11.20117-en>.
- Liang T, Xu C, Cheng Q, Tang Y, Zeng H, Li X. Epidemiology, Risk Factors, and Clinical Outcomes of Bloodstream Infection due to Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Hematologic Malignancy: A Retrospective Study from Central South China. *Microbial Drug Resistance* 2021;27:800–8. <https://doi.org/10.1089/mdr.2020.0033>.
- Lim SJ, Choi JY, Lee SJ, Cho YJ, Jeong YY, Kim HC, et al. Intensive care unit-acquired blood stream infections: a 5-year retrospective analysis of a single tertiary care hospital in Korea. *Infection* 2014;42:875–81. <https://doi.org/10.1007/s15010-014-0651-z>.
- Lima WG, Silva Alves GC, Sanches C, Antunes Fernandes SO, de Paiva MC. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in patients with burn injury: A systematic review and meta-analysis. *Burns* 2019;45:1495–508. <https://doi.org/10.1016/j.burns.2019.07.006>.
- Lin D, Chen J, Yang Y, Cheng J, Sun C. Epidemiological study of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Open Medicine* 2018;13:460–6. <https://doi.org/10.1515/med-2018-0070>.
- Lin M-F. Antimicrobial resistance in *Acinetobacter baumannii*: From bench to bedside. *World Journal of Clinical Cases* 2014;2:787. <https://doi.org/10.12998/wjcc.v2.i12.787>.
- Liskowska-Lysiak K, Lauterbach R, Miedzobrodzki J, Kosecka-Strojek M. Epidemiology and Pathogenesis of Staphylococcus Bloodstream Infections in Humans: a Review. *Polish Journal of Microbiology* 2021;70:13–23. <https://doi.org/10.33073/pjm-2021-005>.
- Liu C, Yoon E-J, Kim D, Shin Jong Hee, Shin Jeong Hwan, Shin KS, et al. Antimicrobial resistance in South Korea: A report from the Korean global antimicrobial resistance surveillance system (Kor-GLASS) for 2017. *Journal of Infection and Chemotherapy* 2019;25:845–59. <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2019.06.010>.
- Liu C, Xu M, Li X, Dong H, Ming L. Trends in antimicrobial resistance in bloodstream infections at a large tertiary-care hospital in China: a 10-year retrospective study (2010–2019). *Journal of Global Antimicrobial Resistance* 2022;29:413–9. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2021.09.018>.
- Livermore DM. Fourteen years in resistance. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2012;39:283–94. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2011.12.012>.
- Lockhart GC, Hanin J, Micek ST, Kollef MH. Pathogen-Negative Sepsis—An Opportunity for Antimicrobial Stewardship. *Open Forum Infectious Diseases* 2019;6. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofz397>.

- Luci C, Martino MDV, Siqueira I, Pasternak J, Gales AC, Silva CV, et al. A hospital-based matched case–control study to identify clinical outcome and risk factors associated with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection. *BMC Infectious Diseases* 2013;13. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-13-80>.
- Lukovic B, Gajic I, Dimkic I, Kekic D, Zornic S, Pozder T, et al. The first nationwide multicenter study of *Acinetobacter baumannii* recovered in Serbia: emergence of OXA-72, OXA-23 and NDM-1-producing isolates. *Antimicrobial Resistance & Infection Control* 2020;9:101. <https://doi.org/10.1186/s13756-020-00769-8>.
- Lumbreras-Iglesias P, de Toro M, Vázquez X, García-Carús E, Rodicio MR, Fernández J. High-risk international clones ST66, ST171 and ST78 of *Enterobacter cloacae* complex causing blood stream infections in Spain and carrying blaOXA-48 with or without mcr-9. *Journal of Infection and Public Health* 2023;16:272–9. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2022.12.015>.
- Luzzati R, Cavinato S, Giangreco M, Granà G, Centonze S, Deiana ML, et al. Peripheral and total parenteral nutrition as the strongest risk factors for nosocomial candidemia in elderly patients: a matched case-control study. *Mycoses* 2013;56:664–71. <https://doi.org/10.1111/myc.12090>.
- Magiorakos A-P, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection* 2012;18:268–81. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x>.
- Maier T, Klepel S, Renner U, Kostrzewa M. Fast and reliable MALDI-TOF MSbased microorganism identification. *Nature Methods* 2006,3, i-ii. <https://doi.org/10.1038/nmeth870>
- Manandhar S, Nguyen Q, Nguyen Thi Nguyen T, Pham DT, Rabaa MA, Dongol S, et al. Genomic epidemiology, antimicrobial resistance and virulence factors of *Enterobacter cloacae* complex causing potential community-onset bloodstream infections in a tertiary care hospital of Nepal. *JAC-Antimicrobial Resistance* 2022;4. <https://doi.org/10.1093/jacamr/dlac050>.
- Marchaim D, Navon-Venezia S, Leavitt A, Chmelnitsky I, Schwaber MJ, Carmeli Y. Molecular and Epidemiologic Study of Polyclonal Outbreaks of Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii* Infection in an Israeli Hospital. *Infection Control & Hospital Epidemiology* 2007;28:945–50. <https://doi.org/10.1086/518970>.
- Marchaim D, Zaidenstein R, Lazarovitch T, Karpuch Y, Ziv T, Weinberger M. Epidemiology of bacteremia episodes in a single center: increase in Gram-negative isolates, antibiotics resistance, and patient age. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 2008;27:1045–51. <https://doi.org/10.1007/s10096-008-0545-z>.
- Marchello CS, Dale AP, Pisharody S, Rubach MP, Crump JA. A Systematic Review and Meta-analysis of the Prevalence of Community-Onset Bloodstream Infections among Hospitalized Patients in Africa and Asia. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2019;64:e01974-19. <https://doi.org/10.1128/aac.01974-19>.
- Marin M, Gudiol C, Ardanuy C, Garcia-Vidal C, Calvo M, Arnan M, et al. Bloodstream infections in neutropenic patients with cancer: Differences between patients with haematological malignancies and solid tumours. *Journal of Infection* 2014;69:417–23. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2014.05.018>.
- Marín M, Gudiol C, Ardanuy C, Garcia-Vidal C, Jimenez L, Domingo-Domenech E, et al. Factors influencing mortality in neutropenic patients with haematologic

- malignancies or solid tumours with bloodstream infection. *Clinical Microbiology and Infection* 2015;21:583–90. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2015.01.029>.
- Markovska R, Schneider I, Keuleyan E, Bauernfeind A. Extended-spectrum β -lactamase (ESBL) CTX-M-15-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Sofia, Bulgaria. *Clinical Microbiology and Infection* 2004;10:752–5. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2004.00929.x>.
- Markovska R, Schneider I, Keuleyan E, Sredkova M, Ivanova D, Markova B, et al. Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae in Bulgarian Hospitals. *Microbial Drug Resistance* 2008;14:119–28. <https://doi.org/10.1089/mdr.2008.0814>.
- Markovska R, Schneider I, Ivanova D, Keuleyan E, Stoeva T, Sredkova M, et al. High Prevalence of CTX-M-15-Producing O25b-ST131 *Escherichia coli* Clone in Bulgarian Hospitals. *Microbial Drug Resistance* 2012;18:390–5. <https://doi.org/10.1089/mdr.2011.0186>.
- Markovska RD, Stoeva TJ, Bojkova KD, Mitov IG. Epidemiology and Molecular Characterization of Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing Enterobacter spp., *Pantoea agglomerans*, and *Serratia marcescens* Isolates from a Bulgarian Hospital. *Microbial Drug Resistance* 2014;20:131–7. <https://doi.org/10.1089/mdr.2013.0102>.
- Markovska R, Schneider I, Ivanova D, Mitov I, Bauernfeind A. Predominance of IncL/M and IncF plasmid types among CTX-M-ESBL-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Bulgarian hospitals. *APMIS* 2014a;122:608–15. <https://doi.org/10.1111/apm.12204>.
- Markovska R, Stoeva T, Boyanova L, Stankova P, Pencheva D, Keuleyan E, et al. Dissemination of successful international clone ST15 and clonal complex 17 among Bulgarian CTX-M-15 producing *K. pneumoniae* isolates. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 2017;89:310–3. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2017.08.012>.
- Markovska R, Stoeva T, Boyanova L, Stankova P, Pencheva D, Kaneva R, et al. Isolation of *Escherichia coli* ST131 producing KPC-2 in Bulgaria. *Infectious Diseases* 2017a;49:429–31. <https://doi.org/10.1080/23744235.2016.1270464>.
- Markovska R, Stoeva T, Dimitrova D, Boyanova L, Stankova P, Mihova K, Mitov I. Quinolone resistance mechanisms among 3rd generation cephalosporin resistant isolates of *Enterobacter* spp. in a Bulgarian University Hospital. *Infection and Drug Resistance* 2019;12:1445-1455.
- Markovska R, Stankova P, Stoeva T, Ivanova D, Pencheva D, Kaneva R, et al. Fecal Carriage and Epidemiology of Extended-Spectrum Beta-Lactamase/Carbapenemases Producing Enterobacteriales Isolates in Bulgarian Hospitals. *Antibiotics* 2021;10:747. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10060747>.
- Markovska R, Stankova P, Stoeva T, Murdjeva M, Marteva-Proevska Y, Ivanova D, et al. Dissemination of High-Risk Clones Enterobacteriales among Bulgarian Fecal Carriage Isolates. *Microorganisms* 2022;10:2144. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10112144>.
- Marron A, Carratala J, Gonzalez-Barca E, Fernandez-Sevilla A, Alcaide F, Gudiol F. Serious Complications of Bacteremia Caused by Viridans Streptococci in Neutropenic Patients with Cancer. *Clinical Infectious Diseases* 2000;31:1126–30. <https://doi.org/10.1086/317460>.
- Marschal M, Bachmaier J, Autenrieth I, Oberhettinger P, Willmann M, Peter S. Evaluation of the Accelerate Pheno System for Fast Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing from Positive Blood Cultures in Bloodstream Infections

- Caused by Gram-Negative Pathogens. *Journal of Clinical Microbiology* 2017;55:2116–26. <https://doi.org/10.1128/jcm.00181-17>.
- Martinez M, Bauerle ER, Fang FC, Butler-Wu SM. Evaluation of Three Rapid Diagnostic Methods for Direct Identification of Microorganisms in Positive Blood Cultures. *Journal of Clinical Microbiology* 2014;52:2521–9. <https://doi.org/10.1128/jcm.00529-14>.
- Martinez RM, Wolk DM. Bloodstream Infections. *Microbiology Spectrum* 2016; 4(4):DMIH2-0031-2016. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.DMIH2-0031-2016>.
- Martinez-Nadal G, Puerta-Alcalde P, Gudiol C, Cardozo C, Albasanz-Puig A, Marco F, et al. Inappropriate Empirical Antibiotic Treatment in High-risk Neutropenic Patients With Bacteremia in the Era of Multidrug Resistance. *Clinical Infectious Diseases* 2020;70:1068–74. <https://doi.org/10.1093/cid/ciz319>.
- Martiny D, Dediste A, Vandenberg O. Comparison of an in-house method and the commercial Sepsityper™ kit for bacterial identification directly from positive blood culture broths by matrix-assisted laser desorption-ionisation time-of-flight mass spectrometry. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 2012;31:2269–81. <https://doi.org/10.1007/s10096-012-1566-1>.
- Marturano JE, Lowery TJ. ESKAPE Pathogens in Bloodstream Infections Are Associated With Higher Cost and Mortality but Can Be Predicted Using Diagnoses Upon Admission. *Open Forum Infectious Diseases* 2019;6. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofz503>.
- Mateo-Estrada V, Fernández-Vázquez JL, Moreno-Manjón J, Hernández-González IL, Rodríguez-Noriega E, Morfín-Otero R, et al. Accessory Genomic Epidemiology of Cocirculating *Acinetobacter baumannii* Clones. *mSystems* 2021;6. <https://doi.org/10.1128/msystems.00626-21>.
- Mathé P, Göpel S, Hornuss D, Tobys D, Käding N, Eisenbeis S, et al. Increasing numbers and complexity of *Staphylococcus aureus* bloodstream infection—14 years of prospective evaluation at a German tertiary care centre with multi-centre validation of findings. *Clinical Microbiology and Infection* 2023. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2023.05.031>.
- Mathlouthi N, Ben lamine Y, Somai R, Bouhalila-Besbes S, Bakour S, Rolain J-M, et al. Incidence of OXA-23 and OXA-58 Carbapenemases Coexpressed in Clinical Isolates of *Acinetobacter baumannii* in Tunisia. *Microbial Drug Resistance* 2018;24:136–41. <https://doi.org/10.1089/mdr.2016.0306>.
- Matsumura Y, Peirano G, Devinney R, Bradford PA, Motyl MR, Adams MD, et al. Genomic epidemiology of global VIM-producing Enterobacteriaceae. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2017;72:2249–58. <https://doi.org/10.1093/jac/dkx148>.
- McDanel J, Schweizer M, Crabb V, Nelson R, Samore M, Khader K, et al. Incidence of Extended-Spectrum β -Lactamase (ESBL)-Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* Infections in the United States: A Systematic Literature Review. *Infection Control & Hospital Epidemiology* 2017;38:1209–15. <https://doi.org/10.1017/ice.2017.156>.
- McNamara JF, Righi E, Wright H, Hartel GF, Harris PNA, Paterson DL. Long-term morbidity and mortality following bloodstream infection: A systematic literature review. *Journal of Infection* 2018;77:1–8. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2018.03.005>.
- Mehl A, Åsvold BO, Lydersen S, Paulsen J, Solligård E, Damås JK, et al. Burden of bloodstream infection in an area of Mid-Norway 2002-2013: a prospective

- population-based observational study. *BMC Infectious Diseases* 2017;17:205. <https://doi.org/10.1186/s12879-017-2291-2>.
- Mendes RE, Sader HS, Castanheira M, Flamm RK. Distribution of main Gram-positive pathogens causing bloodstream infections in United States and European hospitals during the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2010–2016): concomitant analysis of oritavancin in vitro activity. *Journal of Chemotherapy* 2018;30:280–9. <https://doi.org/10.1080/1120009x.2018.1516272>.
- Mendes RE, Jones RN, Woosley LN, Cattoir V, Castanheira M. Application of Next-Generation Sequencing for Characterization of Surveillance and Clinical Trial Isolates: Analysis of the Distribution of β -lactamase Resistance Genes and Lineage Background in the United States. *Open Forum Infectious Diseases* 2019;6:S69–78. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofz004>.
- Menzo SL, La Martire G, Ceccarelli G, Venditti M. New insight on epidemiology and management of bacterial bloodstream infection in patients with hematological malignancies. *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases* 2015;7:e2015044. <https://doi.org/10.4084/mjhid.2015.044>.
- Merkier A, Catalano M, Ramírez M, Quiroga C, Orman B, Ratier L, et al. (2008). Polyclonal spread of blaOXA-23 and blaOXA-58 in *Acinetobacter baumannii* isolates from Argentina. *The Journal of Infection in Developing Countries* 2008;2:235–240.
- Mert D, Ceken S, Iskender G, Iskender D, Merdin A, Duygu F, et al. Epidemiology and mortality in bacterial bloodstream infections in patients with hematologic malignancies. *The Journal of Infection in Developing Countries* 2019;13:727–35. <https://doi.org/10.3855/jidc.11457>.
- Metzger KE, Rucker Y, Callaghan M, Churchill M, Jovanovic BD, Zembower TR, et al. The Burden of Mucosal Barrier Injury Laboratory-Confirmed Bloodstream Infection among Hematology, Oncology, and Stem Cell Transplant Patients. *Infection Control & Hospital Epidemiology* 2015;36:119–24. <https://doi.org/10.1017/ice.2014.38>.
- Micozzi A, Gentile G, Minotti C, Cartoni C, Capria S, Ballarò D, et al. Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in high-risk haematological patients: factors favouring spread, risk factors and outcome of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bacteremias. *BMC Infectious Diseases* 2017;17:203. <https://doi.org/10.1186/s12879-017-2297-9>.
- Mihu CN, Rhomberg PR, Jones RN, Coyle E, Prince RA, Rolston KV. *Escherichia coli* resistance to quinolones at a comprehensive cancer center. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 2010;67:266–9. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2010.02.014>.
- Mikulska M, Del Bono V, Prinapori R, Boni L, Raiola AM, Gualandi F, et al. Risk factors for enterococcal bacteremia in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients. *Transplant Infectious Disease* 2010;12:505–12. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3062.2010.00544.x>.
- Mikulska M, Viscoli C, Orasch C, Livermore DM, Averbuch D, Cordonnier C, et al. Aetiology and resistance in bacteraemias among adult and paediatric haematology and cancer patients. *Journal of Infection* 2014;68:321–31. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2013.12.006>.
- Minasyan H. Sepsis and septic shock: Pathogenesis and treatment perspectives. *Journal of Critical Care* 2017;40:229–42. <https://doi.org/10.1016/j.jcrc.2017.04.015>.
- Minasyan H. Sepsis: mechanisms of bacterial injury to the patient. *Scandinavian Journal of Trauma, Resuscitation and Emergency Medicine* 2019;27. <https://doi.org/10.1186/s13049-019-0596-4>.

- Mitt P, Adamson V, Lõivukene K, Lang K, Telling K, Pärtel K, et al. Epidemiology of nosocomial bloodstream infections in Estonia. *Journal of Hospital Infection* 2009;71:365–70. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2009.01.008>.
- Moghimbeygi A, Moghimbeygi M, Dousti M, Kiani F, Sayehmiri F, Sadeghifard N, et al. Prevalence of vancomycin resistance among isolates of enterococci in Iran: a systematic review and meta-analysis. *Adolescent Health, Medicine and Therapeutics* 2018;177–88. <https://doi.org/10.2147/ahmt.s180489>.
- Moghnieh R, Estaitieh N, Mugharbil A, Jisr T, Abdallah DI, Ziade F, et al. Third generation cephalosporin resistant Enterobacteriaceae and multidrug resistant gram-negative bacteria causing bacteremia in febrile neutropenia adult cancer patients in Lebanon, broad spectrum antibiotics use as a major risk factor, and correlation with poor prognosis. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 2015;5. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2015.00011>.
- Mohus RM, Paulsen J, Gustad L, Askim Å, Mehl A, DeWan AT, et al. Association of iron status with the risk of bloodstream infections: results from the prospective population-based HUNT Study in Norway. *Intensive Care Medicine* 2018;44:1276–83. <https://doi.org/10.1007/s00134-018-5320-8>.
- Mohus RM, Gustad LT, Furberg A-S, Moen MK, Liyanarachi KV, Askim Å, et al. Explaining sex differences in risk of bloodstream infections using mediation analysis in the population-based HUNT study in Norway. *Scientific Reports* 2022;12:8436. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-12569-8>.
- Mollee P, Jones M, Stackelroth J, van Kuilenburg R, Joubert W, Faoagali J, et al. Catheter-associated bloodstream infection incidence and risk factors in adults with cancer: a prospective cohort study. *Journal of Hospital Infection* 2011;78:26–30. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2011.01.018>.
- Monaco M, Giani T, Raffone M, Arena F, Garcia-Fernandez A, Pollini S, et al. Colistin resistance superimposed to endemic carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: a rapidly evolving problem in Italy, November 2013 to April 2014. *Eurosurveillance* 2014;19. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es2014.19.42.20939>.
- Montassier E, Batard E, Gastinne T, Potel G, Cochetière MF. Recent changes in bacteremia in patients with cancer: a systematic review of epidemiology and antibiotic resistance. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 2013;32:841–50. <https://doi.org/10.1007/s10096-013-1819-7>.
- Moreno A, Cervera C, Gavaldá J, Rovira M, De La Cámara R, Jarque I, et al. Bloodstream Infections Among Transplant Recipients: Results of a Nationwide Surveillance in Spain. *American Journal of Transplantation* 2007;7:2579–86. <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2007.01964.x>.
- Moubareck C, Brémont S, Conroy M-C, Courvalin P, Lambert T. GES-11, a Novel Integron-Associated GES Variant in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2009;53:3579–81. <https://doi.org/10.1128/aac.00072-09>.
- Moubareck CA, Hammoudi Halat D. Insights into *Acinetobacter baumannii*: A Review of Microbiological, Virulence, and Resistance Traits in a Threatening Nosocomial Pathogen. *Antibiotics* 2020;9:119. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9030119>.
- Mshana SE, Gerwing L, Minde M, Hain T, Domann E, Lyamuya E, et al. Outbreak of a novel *Enterobacter* sp. carrying blaCTX-M-15 in a neonatal unit of a tertiary care hospital in Tanzania. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2011;38:265–9. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2011.05.009>.
- Mugnier PD, Poirel L, Naas T, Nordmann P. Worldwide Dissemination of the blaOXA-23 Carbapenemase Gene of *Acinetobacter baumannii*. *Emerging Infectious Diseases* 2010;16:35–40. <https://doi.org/10.3201/eid1601.090852>.

- Müller C, Stefanik D, Wille J, Hackel M, Higgins PG, Seifert H. (2019). “Molecular epidemiology of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates and identification of the novel international clone IC9: results from a worldwide surveillance study (2012 – 2016),” in Proceedings of the Abstract Book of the 29th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases 2019;P0947, Amsterdam (vol. 947).
- Munita JM, Arias CA. Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Microbiology Spectrum* 2016;4. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.vmbf-0016-2015>.
- Mylonakis E, Clancy CJ, Ostrosky-Zeichner L, Garey KW, Alangaden GJ, Vazquez JA, et al. T2 Magnetic Resonance Assay for the Rapid Diagnosis of Candidemia in Whole Blood: A Clinical Trial. *Clinical Infectious Diseases* 2015;60:892–9. <https://doi.org/10.1093/cid/ciu959>.
- Naas T, Oueslati S, Bonnin RA, Dabos ML, Zavala A, Dortet L, et al. Beta-lactamase database (BLDB) – structure and function. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* 2017;32:917–9. <https://doi.org/10.1080/14756366.2017.1344235>.
- Nasiri MJ, Zamani S, Fardsanei F, Arshadi M, Bigverdi R, Hajikhani B, et al. Prevalence and mechanisms of carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: a comprehensive systematic review of cross-sectional studies from Iran. *Microb Drug Resist* 2020;26:270-283.
- Nathan S, Ustun C. Complications of Stem Cell Transplantation that Affect Infections in Stem Cell Transplant Recipients, with Analogies to Patients with Hematologic Malignancies. *Infectious Disease Clinics of North America* 2019;33:331–59. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2019.01.002>.
- NHSN, 2023. National Healthcare Safety Network (NHSN) Surveillance Definitions: Bloodstream Infection Event (Central Line-Associated Bloodstream Infection and Non-central Line Associated Bloodstream Infection). 1-47. https://www.cdc.gov/nhsn/pdfs/pscmanual/4psc_clabscurrent.pdf
- Nemec A, Krizova L, Maixnerova M, Sedo O, Brisse S, Higgins PG. *Acinetobacter seifertii* sp. nov., a member of the *Acinetobacter calcoaceticus*–*Acinetobacter baumannii* complex isolated from human clinical specimens. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 2015;65:934–42. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.000043>.
- Nguyen M, Joshi SG. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*, and their importance in hospital-acquired infections: a scientific review. *Journal of Applied Microbiology* 2021;131:2715–38. <https://doi.org/10.1111/jam.15130>.
- Niyazi D, Stoeva T. In Vitro Activity of Ceftazidime-Avibactam against 3rd Generation Cephalosporin and Carbapenem Resistant Gram-Negative Bacteria Obtained from Blood and Fecal Samples of Hematopoietic Stem Cell Transplanted Patients. *Acta Microbiologica Bulgarica* 2023;39: 78-82.
- Nielsen SL, Pedersen C, Jensen TG, Gradel KO, Kolmos HJ, Lassen AT. Decreasing incidence rates of bacteremia: A 9-year population-based study. *Journal of Infection* 2014;69:51–9. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2014.01.014>.
- Nielsen SL, Lassen AT, Gradel KO, Jensen TG, Kolmos HJ, Hallas J, et al. Bacteremia is associated with excess long-term mortality: A 12-year population-based cohort study. *Journal of Infection* 2015;70:111–26. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2014.08.012>
- Nielsen SL, Lassen AT, Kolmos HJ, Jensen TG, Gradel K.O, Pedersen C. The overall and daily risk of bacteremia during hospitalization: a 9-year multicenter cohort study.

- Poster session presented at 25th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, København, Denmark, 2015a.
- Nordmann P, Cuzon G, Naas T. The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. *The Lancet Infectious Diseases* 2009;9:228–36. [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(09\)70054-4](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(09)70054-4).
- Nordmann P, Gniadkowski M, Giske CG, Poirel L, Woodford N, Miriagou V. Identification and screening of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Clinical Microbiology and Infection* 2012;18:432–8. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2012.03815.x>.
- Nordmann P, Poirel L. The difficult-to-control spread of carbapenemase producers among Enterobacteriaceae worldwide. *Clinical Microbiology and Infection* 2014;20:821–30. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12719>.
- Nordmann P, Jayol A, Poirel L. A Universal Culture Medium for Screening Polymyxin-Resistant Gram-Negative Isolates. *Journal of Clinical Microbiology* 2016;54:1395–9. <https://doi.org/10.1128/jcm.00446-16>.
- Nordmann P, Poirel L. Epidemiology and Diagnostics of Carbapenem Resistance in Gram-negative Bacteria. *Clinical Infectious Diseases* 2019;69:S521–8. <https://doi.org/10.1093/cid/ciz824>.
- Nørgaard M, Larsson H, Pedersen G, Schønheyder HC, Sørensen HT. Risk of bacteraemia and mortality in patients with haematological malignancies. *Clinical Microbiology and Infection* 2006;12:217–23. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2005.01298.x>.
- Novais Â, Ferraz RV, Viana M, da Costa PM, Peixe L. NDM-1 Introduction in Portugal through a ST11 KL105 *Klebsiella pneumoniae* Widespread in Europe. *Antibiotics* 2022;11:92. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11010092>.
- Novovic K, Mihajlovic S, Vasiljevic Z, Filipic B, Begovic J, Jovcic B. Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* from Serbia: Revision of CarO Classification. *PLOS ONE* 2015;10:e0122793. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122793>.
- Nucci M, Marr KA. Emerging Fungal Diseases. *Clinical Infectious Diseases* 2005;41:521–6. <https://doi.org/10.1086/432060>.
- Olaniyi A, Willrich N, Reuss A, Eckmanns T, Markwart R. The ongoing challenge of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* in Europe: an epidemiological analysis of bloodstream infections. *Emerging Microbes & Infections* 2020a;9:1180–93. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1769500>.
- O'Neill, J. Review on antimicrobial resistance: tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations. Review on antimicrobial resistance: tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations, 2016.
- Opota O, Croxatto A, Prod'hom G, Greub G. Blood culture-based diagnosis of bacteraemia: state of the art. *Clinical Microbiology and Infection* 2015;21:313–22. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2015.01.003>.
- Opota O, Jaton K, Greub G. Microbial diagnosis of bloodstream infection: towards molecular diagnosis directly from blood. *Clinical Microbiology and Infection* 2015a;21:323–31. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2015.02.005>.
- Pagano L, Caira M, Rossi G, Tumbarello M, Fanci R, Garzia MG, et al. A prospective survey of febrile events in hematological malignancies. *Annals of Hematology* 2012;91:767–74. <https://doi.org/10.1007/s00277-011-1373-2>.
- Pagano L, Caira M, Trecarichi EM, Spanu T, Di Blasi R, Sica S, et al. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* and Hematologic Malignancies. *Emerging Infectious Diseases* 2014;20:1235–6. <https://doi.org/10.3201/eid2007.130094>.
- Pailhoriès H, Kempf M, Belmonte O, Joly-Guillou M-L, Eveillard M. First case of OXA-24-producing *Acinetobacter baumannii* in cattle from Reunion Island, France.

- International Journal of Antimicrobial Agents 2016;48:763–4. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2016.09.005>.
- Palmieri M, D'Andrea MM, Pelegrin AC, Perrot N, Mirande C, Blanc B, et al. Abundance of Colistin-Resistant, OXA-23- and ArmA-Producing *Acinetobacter baumannii* Belonging to International Clone 2 in Greece. *Frontiers in Microbiology* 2020;11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00668>.
- Pancholi P, Carroll KC, Buchan BW, Chan RC, Dhiman N, Ford B, et al. Multicenter Evaluation of the Accelerate PhenoTest BC Kit for Rapid Identification and Phenotypic Antimicrobial Susceptibility Testing Using Morphokinetic Cellular Analysis. *Journal of Clinical Microbiology* 2018;56. <https://doi.org/10.1128/jcm.01329-17>.
- Parisi SG, Bartolini A, Santacatterina E, Castellani E, Ghirardo R, Berto A, et al. Prevalence of *Klebsiella pneumoniae* strains producing carbapenemases and increase of resistance to colistin in an Italian teaching hospital from January 2012 To December 2014. *BMC Infectious Diseases* 2015;15:244. <https://doi.org/10.1186/s12879-015-0996-7>.
- Park CH, Robicsek A, Jacoby GA, Sahm D, Hooper DC. Prevalence in the United States of *aac(6')-Ib-cr* Encoding a Ciprofloxacin-Modifying Enzyme. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2006;50:3953–5. <https://doi.org/10.1128/aac.00915-06>.
- Partridge SR, Kwong SM, Firth N, Jensen SO. Mobile Genetic Elements Associated with Antimicrobial Resistance. *Clinical Microbiology Reviews* 2018;31. <https://doi.org/10.1128/cmr.00088-17>.
- Patel RV, Shah JS, Revathi G, Siika W, Shah R. *Acinetobacter* infections: a retrospective study to determine in hospital mortality rate and clinical factors associated with mortality. *Infection Prevention in Practice* 2019;1:100010. <https://doi.org/10.1016/j.infpip.2019.100010>.
- Paterson GK, Harrison EM, Holmes MA. The emergence of *mecC* methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Trends in Microbiology* 2014;22:42–7. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2013.11.003>.
- Paterson GK. Low prevalence of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clonal complex 398 and *mecC* MRSA among human isolates in North-West England. *Journal of Applied Microbiology* 2020;128:1785–92. <https://doi.org/10.1111/jam.14578>.
- Paton R, Miles RS, Hood J, Amyes SGB, Miles RS, Amyes SGB. ARI 1: β -lactamase-mediated imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. *International Journal of Antimicrobial Agents* 1993;2:81–7. [https://doi.org/10.1016/0924-8579\(93\)90045-7](https://doi.org/10.1016/0924-8579(93)90045-7).
- Paul M, Bhatia M, Rekha US, Omar BJ, Gupta P. Microbiological Profile of Blood Stream Infections in Febrile Neutropenic Patients at a Tertiary Care Teaching Hospital in Rishikesh, Uttarakhand. *Journal of Laboratory Physicians* 2020;12:147–53. <https://doi.org/10.1055/s-0040-1716661>.
- Paulsen J, Askim Å, Mohus RM, Mehl A, Dewan A, Solligård E, et al. Associations of obesity and lifestyle with the risk and mortality of bloodstream infection in a general population: a 15-year follow-up of 64 027 individuals in the HUNT Study. *International Journal of Epidemiology* 2017;46:1573–81. <https://doi.org/10.1093/ije/dyx091>.
- Peirano G, Matsumura Y, Adams MD, Bradford P, Motyl M, Chen L, et al. Genomic Epidemiology of Global Carbapenemase-Producing *Enterobacter* spp., 2008–2014. *Emerging Infectious Diseases* 2018;24:1010–9. <https://doi.org/10.3201/eid2406.171648>.

- Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: Emergence of a Successful Pathogen. *Clinical Microbiology Reviews* 2008;21:538–82. <https://doi.org/10.1128/cmr.00058-07>.
- Pemán J, Salavert M. Enfermedad fúngica invasora por *Scedosporium*, *Fusarium* y *Mucor*. *Revista Iberoamericana de Micología* 2014;31:242–8. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2014.05.002>.
- Peng X, Zhou W, Zhu Y, Wan C. Epidemiology, risk factors and outcomes of bloodstream infection caused by ESKAPEE pathogens among hospitalized children. *BMC Pediatrics* 2021;21. <https://doi.org/10.1186/s12887-021-02661-9>.
- Pérez-Crespo PMM, Lanz-García JF, Bravo-Ferrer J, Cantón-Bulnes ML, Domínguez AS, Aguirre JG, et al. Revisiting the epidemiology of bloodstream infections and healthcare-associated episodes: results from a multicentre prospective cohort in Spain (PRO-BAC Study). *Int J Antimicrob Agents*. 2021;58(1):106352. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2021.106352
- Pérez-Crespo PM, López-Cortés LE, Retamar-Gentil P, García JL, García DV, León E, et al. Epidemiologic changes in bloodstream infections in Andalucía (Spain) during the last decade. *Clinical Microbiology and Infection*, 2021a, 27(2): 283.e9-283.e16
- Perez F, Adachi J, Bonomo RA. Antibiotic-Resistant Gram-Negative Bacterial Infections in Patients With Cancer. *Clinical Infectious Diseases* 2014;59:S335–9. <https://doi.org/10.1093/cid/ciu612>.
- Peterson LR. Bad Bugs, No Drugs: No ESCAPE Revisited. *Clinical Infectious Diseases* 2009;49:992–3. <https://doi.org/10.1086/605539>.
- Petrova AP, Stanimirova ID, Ivanov IN, Petrov M, Miteva-Katrandzhieva TM, Grivnev V, et al. Carbapenemase production of clinical isolates *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* from a Bulgarian university hospital. *Folia Medica* 2017;59:413-22.
- Pfaller MA, Diekema DJ. Rare and Emerging Opportunistic Fungal Pathogens: Concern for Resistance beyond *Candida albicans* and *Aspergillus fumigatus*. *Journal of Clinical Microbiology* 2004;42:4419–31. <https://doi.org/10.1128/jcm.42.10.4419-4431.2004>.
- Pfaller MA, Carvalhaes CG, Smith CJ, Diekema DJ, Castanheira M. Bacterial and fungal pathogens isolated from patients with bloodstream infection: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility patterns from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2012–2017). *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 2020;97:115016. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2020.115016>.
- Pfeifer Y, Hunfeld K-P, Borgmann S, Maneg D, Blobner W, Werner G, et al. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* ST78 with OXA-72 carbapenemase and ESBL gene *bla_{CTX-M-115}*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2016;71:1426–8. <https://doi.org/10.1093/jac/dkv462>.
- Pfeifer Y, Trifonova A, Pietsch M, Brunner M, Todorova I, Gergova I, et al. Clonal Transmission of Gram-Negative Bacteria with Carbapenemases NDM-1, VIM-1, and OXA-23/72 in a Bulgarian Hospital. *Microbial Drug Resistance* 2017;23:301–7. <https://doi.org/10.1089/mdr.2016.0059>.
- Piñana JL, Montesinos P, Martino R, Vazquez L, Rovira M, López J, et al. Incidence, risk factors, and outcome of bacteremia following autologous hematopoietic stem cell transplantation in 720 adult patients. *Annals of Hematology* 2014;93:299–307. <https://doi.org/10.1007/s00277-013-1872-4>.

- Pitout JD, Laupland KB. Extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. *The Lancet Infectious Diseases* 2008;8:159–66. [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(08\)70041-0](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(08)70041-0).
- Pitout JDD, Nordmann P, Poirel L. Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae*, a Key Pathogen Set for Global Nosocomial Dominance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2015;59:5873–84. <https://doi.org/10.1128/aac.01019-15>.
- Pitout JDD, Peirano G, Kock MM, Strydom K-A, Matsumura Y. The Global Ascendancy of OXA-48-Type Carbapenemases. *Clinical Microbiology Reviews* 2020;33:10.1128/cmr.00102-19. <https://doi.org/10.1128/cmr.00102-19>.
- Pittet D, Davis CS, Li N, Wenzel RP. Identifying the hospitalized patient at risk for nosocomial bloodstream infection: a population-based study. *Proceedings of the Association of American Physicians* 1997;109:58-67. PMID: 9010917.
- Pogue JM, Kaye KS, Cohen DA, Marchaim D. Appropriate antimicrobial therapy in the era of multidrug-resistant human pathogens. *Clinical Microbiology and Infection* 2015;21:302–12. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2014.12.025>.
- Poirel L, Marqué S, Héritier C, Segonds C, Chabanon G, Nordmann P. OXA-58, a novel class D beta-lactamase involved in resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49:202–208.
- Poirel L, Nordmann P. Genetic Structures at the Origin of Acquisition and Expression of the Carbapenem-Hydrolyzing Oxacillinase Gene bla OXA-58 in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2006;50:1442–8. <https://doi.org/10.1128/aac.50.4.1442-1448.2006>.
- Poirel L, Mansour W, Bouallegue O, Nordmann P. Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* Isolates from Tunisia Producing the OXA-58-Like Carbapenem-Hydrolyzing Oxacillinase OXA-97. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2008;52:1613–7. <https://doi.org/10.1128/aac.00978-07>.
- Poirel L, Naas T, Nordmann P. Diversity, Epidemiology, and Genetics of Class D β -Lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2010;54:24–38. <https://doi.org/10.1128/aac.01512-08>.
- Poirel L, Walsh TR, Cuvillier V, Nordmann P. Multiplex PCR for detection of acquired carbapenemase genes. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 2011;70:119–23. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2010.12.002>.
- Poirel L, Bonnin RA, Nordmann P. Genetic Features of the Widespread Plasmid Coding for the Carbapenemase OXA-48. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2012;56:559–62. <https://doi.org/10.1128/aac.05289-11>.
- Poirel L, Savov E, Nazli A, Trifonova A, Todorova I, Gergova I, et al. Outbreak Caused by NDM-1- and RmtB-Producing *Escherichia coli* in Bulgaria. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2014;58:2472–4. <https://doi.org/10.1128/aac.02571-13>.
- Poirel L, Jayol A, Nordmann P. Polymyxins: Antibacterial Activity, Susceptibility Testing, and Resistance Mechanisms Encoded by Plasmids or Chromosomes. *Clinical Microbiology Reviews* 2017;30:557–96. <https://doi.org/10.1128/cmr.00064-16>.
- Ponderand L, Pavese P, Maubon D, Giraudon E, Girard T, Landelle C, et al. Evaluation of Rapid Sepsityper® protocol and specific MBT-Sepsityper module (Bruker Daltonics) for the rapid diagnosis of bacteremia and fungemia by MALDI-TOF-MS. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials* 2020;19:60. <https://doi.org/10.1186/s12941-020-00403-w>.
- Potron A, Poirel L, Rondinaud E, Nordmann P. Intercontinental spread of OXA-48 beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae over a 11-year period, 2001 to 2011. *Eurosurveillance* 2013;18. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es2013.18.31.20549>.

- Pournaras S, Dafopoulou K, Del Franco M, Zarkotou O, Dimitroulia E, Protonotariou E, et al. Predominance of international clone 2 OXA-23-producing- *Acinetobacter baumannii* clinical isolates in Greece, 2015: results of a nationwide study. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2017;49:749–53. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2017.01.028>.
- Povilonis J, Šeputienė V, Krasauskas R, Juškaitė R, Miškinytė M, Sužiedėlis K, et al. Spread of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* carrying a plasmid with two genes encoding OXA-72 carbapenemase in Lithuanian hospitals. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2013;68:1000–6. <https://doi.org/10.1093/jac/dks499>.
- Prabhash K, Medhekar A, Ghadyalpatil N, Noronha V, Biswas S, Kurkure P, et al. Blood stream infections in cancer patients: a single center experience of isolates and sensitivity pattern. *Indian J Cancer* 2010;47:184–88.
- Prod'hom G, Durussel C, Greub G. A simple blood-culture bacterial pellet preparation for faster accurate direct bacterial identification and antibiotic susceptibility testing with the VITEK 2 system. *Journal of Medical Microbiology* 2013;62:773–7. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.049361-0>.
- Prowle JR, Echeverri JE, Ligabo EV, Sherry N, Taori GC, Crozier TM, et al. Acquired bloodstream infection in the intensive care unit: incidence and attributable mortality. *Critical Care* 2011;15:R100. <https://doi.org/10.1186/cc10114>.
- Qin S, Xiao W, Zhou C, Pu Q, Deng X, Lan L, et al. *Pseudomonas aeruginosa*: pathogenesis, virulence factors, antibiotic resistance, interaction with host, technology advances and emerging therapeutics. *Signal Transduction and Targeted Therapy* 2022;7:199. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01056-1>.
- Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the Versatile β -Lactamases. *Clinical Microbiology Reviews* 2007;20:440–58. <https://doi.org/10.1128/cmr.00001-07>.
- Rac H, Gould AP, Bookstaver PB, Justo JA, Kohn J, Al-Hasan MN. Evaluation of early clinical failure criteria for gram-negative bloodstream infections. *Clinical Microbiology and Infection* 2020;26:73–7. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.05.017>.
- Rahman SU, Ali T, Ali I, Khan NA, Han B, Gao J. The Growing Genetic and Functional Diversity of Extended Spectrum Beta-Lactamases. *BioMed Research International* 2018;2018. <https://doi.org/10.1155/2018/9519718>.
- Ramadan RA, Gebriel MG, Kadry HM, Mosallem A. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*: Characterization of carbapenemase genes and E-test evaluation of colistin-based combinations. *Infection and Drug Resistance* 2018;Volume 11:1261–9. <https://doi.org/10.2147/idr.s170233>.
- Ramirez MS, Tolmasky ME. Aminoglycoside modifying enzymes. *Drug Resistance Updates* 2010;13:151–71. <https://doi.org/10.1016/j.drug.2010.08.003>.
- Ramirez MS, Bonomo RA, Tolmasky ME. Carbapenemases: Transforming *Acinetobacter baumannii* into a Yet More Dangerous Menace. *Biomolecules* 2020;10:720. <https://doi.org/10.3390/biom10050720>.
- Reid CB, Steele L, Pasquill K, Parfitt EC, Laupland KB. Occurrence and determinants of *Klebsiella* species bloodstream infection in the western interior of British Columbia, Canada. *BMC Infectious Diseases* 2019;19:1070. <https://doi.org/10.1186/s12879-019-4706-8>.
- Reimer LG, Wilson ML, Weinstein MP. Update on detection of bacteremia and fungemia. *Clinical Microbiology Reviews* 1997;10:444–65. <https://doi.org/10.1128/cmr.10.3.444>.
- Renner LD, Zan J, Hu LI, Martinez M, Resto PJ, Siegel AC, et al. Detection of ESKAPE Bacterial Pathogens at the Point of Care Using Isothermal DNA-Based Assays in a

- Portable Degas-Actuated Microfluidic Diagnostic Assay Platform. *Applied and Environmental Microbiology* 2017;83. <https://doi.org/10.1128/aem.02449-16>.
- Reunes S, Rombaut V, Vogelaers D, Brusselaers N, Lizy C, Cankurtaran M, et al. Risk factors and mortality for nosocomial bloodstream infections in elderly patients. *European Journal of Internal Medicine* 2011;22:e39–44. <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2011.02.004>.
- Rezaei A, Fazeli H, Halaji M, Moghadampour M, Faghri J. Prevalence of metallo-beta-lactamase producing *Acinetobacter baumannii* isolated from intensive care unit in tertiary care hospitals. *Ann. Ig. Med. Prev. Comunita* 2018, 30, 330–336.
- Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, Levy MM, Antonelli M, Ferrer R, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock:2016. *Intensive Care Med* 2017;43:304-77.
- Rhodes J, Jorakate P, Makprasert S, Sangwichian O, Kaewpan A, Akarachotpong T, et al. Population-based bloodstream infection surveillance in rural Thailand, 2007–2014. *BMC Public Health* 2019;19:521. <https://doi.org/10.1186/s12889-019-6775-4>.
- Ribeiro PCS, Monteiro AS, Marques SG, Monteiro SG, Monteiro-Neto V, Coqueiro MM, et al. Phenotypic and molecular detection of the blaKPC gene in clinical isolates from inpatients at hospitals in São Luis, MA, Brazil. *BMC Infectious Diseases* 2016;16;737. <https://doi.org/10.1186/s12879-016-2072-3>.
- Rice LB. Federal Funding for the Study of Antimicrobial Resistance in Nosocomial Pathogens: No ESKAPE. *The Journal of Infectious Diseases* 2008;197:1079–81. <https://doi.org/10.1086/533452>.
- Righi E, Peri AM, Harris PN, Wailan AM, Liborio M, Lane SW, et al. Global prevalence of carbapenem resistance in neutropenic patients and association with mortality and carbapenem use: systematic review and meta-analysis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2017,72: 668-677.
- Robicsek A, Jacoby GA, Hooper DC. The worldwide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance. *The Lancet Infectious Diseases* 2006;6:629–40. [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(06\)70599-0](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(06)70599-0).
- Robledo IE, Aquino EE, Santé MI, Santana JL, Otero DM, León CF, et al. Detection of KPC in *Acinetobacter* spp. in Puerto Rico. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2010;54:1354–7. <https://doi.org/10.1128/aac.00899-09>.
- Robledo J, Maldonado N, Robledo C, Ceballos Naranjo L, Hernández Galeano V, Pino JJ. Changes in Antimicrobial Resistance and Etiology of Blood Culture Isolates: Results of a Decade (2010–2019) of Surveillance in a Northern Region of Colombia. *Infection and Drug Resistance* 2022:6067–79. <https://doi.org/10.2147/idr.s375206>.
- Rodríguez C, Muñoz P, Rodríguez-Créixems M, Yañez JF, Palomo J, Bouza E. Bloodstream infections among heart transplant recipients. *Transplantation* 2006;81:384-391.
- Rodrigues C, Machado E, Ramos H, Peixe L, Novais Â. Expansion of ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae* in hospitalized patients: A successful story of international clones (ST15, ST147, ST336) and epidemic plasmids (IncR, IncFIIK). *International Journal of Medical Microbiology* 2014;304:1100–8. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2014.08.003>.
- Rodríguez CH, Nastro M, Famiglietti A. Carbapenemases in *Acinetobacter baumannii*. Review of their dissemination in Latin America. *Revista Argentina de Microbiología* 2018;50:327–33. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2017.10.006>.
- Rodríguez-Baño J, López-Prieto MD, Portillo MM, Retamar P, Natera C, Nuño E, et al. Epidemiology and clinical features of community-acquired, healthcare-associated and nosocomial bloodstream infections in tertiary-care and community hospitals.

- Clinical Microbiology and Infection 2010;16:1408–13. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2010.03089.x>.
- Rodríguez-Baño J, Gutiérrez-Gutiérrez B, Machuca I, Pascual A. Treatment of Infections Caused by Extended-Spectrum-Beta-Lactamase-, AmpC-, and Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae. *Clinical Microbiology Reviews* 2018;31. <https://doi.org/10.1128/cmr.00079-17>.
- Rosa RG, dos Santos RP, Goldani LZ. Mortality Related to Coagulase-Negative Staphylococcal Bacteremia in Febrile Neutropenia: A Cohort Study. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology* 2014;25:e14–7. <https://doi.org/10.1155/2014/702621>.
- Rosales-Reyes R, Gayosso-Vázquez C, Fernández-Vázquez JL, Jarillo-Quijada MD, Rivera-Benítez C, Santos-Preciado JI, et al. Virulence profiles and innate immune responses against highly lethal, multidrug-resistant nosocomial isolates of *Acinetobacter baumannii* from a tertiary care hospital in Mexico. *PLOS ONE* 2017;12:e0182899. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0182899>.
- Rothe K, Wantia N, Spinner CD, Schneider J, Lahmer T, Waschulzik B, et al. Antimicrobial resistance of bacteraemia in the emergency department of a German university hospital (2013–2018): potential carbapenem-sparing empiric treatment options in light of the new EUCAST recommendations. *BMC Infectious Diseases* 2019;19:1091. <https://doi.org/10.1186/s12879-019-4721-9>.
- Rothman RE, Majmudar MD, Kelen GD, Madico G, Gaydos CA, Walker T, et al. Detection of Bacteremia in Emergency Department Patients at Risk for Infective Endocarditis Using Universal 16S rRNA Primers in a Decontaminated Polymerase Chain Reaction Assay. *The Journal of Infectious Diseases* 2002;186:1677–81. <https://doi.org/10.1086/345367>.
- Rottman M, Benzerara Y, Hanau-BerĀšot B, Bizet C, Philippon A, Arlet G. Chromosomal ampC genes in Enterobacter species other than *Enterobacter cloacae*, and ancestral association of the ACT-1 plasmid-encoded cephalosporinase to *Enterobacter asburiae*. *FEMS Microbiology Letters* 2002;210:87–92. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2002.tb11164.x>.
- Rudd KE, Johnson SC, Agesa KM, Shackelford KA, Tsoi D, Kievlan DR, et al. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990–2017: analysis for the Global Burden of Disease Study. *The Lancet* 2020;395:200–11. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(19\)32989-7](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(19)32989-7).
- Ruiz J. Transferable Mechanisms of Quinolone Resistance from 1998 Onward. *Clinical Microbiology Reviews* 2019;32. <https://doi.org/10.1128/cmr.00007-19>.
- Ruiz-Camps I, Jarque I. Enfermedad fúngica invasora por hongos filamentosos en pacientes hematológicos. *Revista Iberoamericana de Micología* 2014;31:249–54. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2014.06.002>.
- Rule R, Paruk F, Becker P, Neuhoff M, Chausse J, Said M. Clinical utility of the BioFire FilmArray Blood Culture Identification panel in the adjustment of empiric antimicrobial therapy in the critically ill septic patient. *PLOS ONE* 2021;16:e0254389. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0254389>.
- Sader HS, Mendes RE, Streit JM, Flamm RK. Antimicrobial Susceptibility Trends among *Staphylococcus aureus* Isolates from U.S. Hospitals: Results from 7 Years of the Ceftaroline (AWARE) Surveillance Program, 2010 to 2016. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2017;61. <https://doi.org/10.1128/aac.01043-17>.
- Sader HS, Castanheira M, Streit JM, Flamm RK. Frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of bacteria isolated from patients hospitalized with bloodstream infections in United States medical centers (2015–2017). *Diagnostic Microbiology*

- and Infectious Disease 2019;95:114850.
<https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2019.06.002>.
- Saghir S, Faiz M, Saleem M, Younus A, Aziz H. Characterization and antimicrobial susceptibility of Gram-negative bacteria isolated from Bloodstream infections of cancer patients on chemotherapy in Pakistan. *Indian Journal of Medical Microbiology* 2009;27:341–7. <https://doi.org/10.4103/0255-0857.55454>.
- Sakarikou C, Parisato M, Cascio GL, Fontana C. Beacon-based (bbFISH®) technology for rapid pathogens identification in blood cultures. *BMC Microbiology* 2014;14. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-14-99>.
- Salloum T, Tannous E, Alousi S, Arabaghian H, Rafei R, Hamze M, et al. Genomic mapping of ST85 blaNDM-1 and blaOXA-94 producing *Acinetobacter baumannii* isolates from Syrian Civil War Victims. *International Journal of Infectious Diseases* 2018;74:100–8. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2018.07.017>
- Santimaleeworagun, W, Samret W, Preechachuawong P, Kerdsin A, Jitwasinkul T. Emergence of Co-Carbapenemase Genes, Bla(Oxa23), Bla(Vim) And Bla(Ndm) In Carbapenemresistant *Acinetobacter baumannii* Clinical Isolates. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health* 2016;47:1001–1007.
- Sarı AN, Biçmen M, Gülay Z. The First Report on the Outbreak of OXA-24/40-Like Carbapenemase-Producing *Acinetobacter baumannii* in Turkey. *Japanese Journal of Infectious Diseases* 2013;66:439–42. <https://doi.org/10.7883/yoken.66.439>.
- Sarikhani Z, Nazari R, Nateghi M. First report of OXA-143-lactamase producing *Acinetobacter baumannii* in Qom, Iran. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences* 2017;20:1282–1286.
- Satlin MJ, Calfee DP, Chen L, Fauntleroy KA, Wilson SJ, Jenkins SG, et al. Emergence of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae as causes of bloodstream infections in patients with hematologic malignancies. *Leukemia & Lymphoma* 2013;54:799–806. <https://doi.org/10.3109/10428194.2012.723210>.
- Satlin MJ, Jenkins SG, Walsh TJ. The Global Challenge of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae in Transplant Recipients and Patients With Hematologic Malignancies. *Clinical Infectious Diseases* 2014;58:1274–83. <https://doi.org/10.1093/cid/ciu052>.
- Savov E, Politi L, Spanakis N, Trifonova A, Kioseva E, Tsakris A. NDM-1 Hazard in the Balkan States: Evidence of the First Outbreak of NDM-1-Producing *Klebsiella pneumoniae* in Bulgaria. *Microbial Drug Resistance* 2018;24:253–9. <https://doi.org/10.1089/mdr.2017.0230>.
- Savova D, Niyazi D, Bozhkova M, Stoeva T. Molecular epidemiology of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae isolated from patients in COVID-19 wards and ICUs in a Bulgarian University Hospital. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* 2023;70:142–6. <https://doi.org/10.1556/030.2023.02048>.
- Scheich S, Weber S, Reinheimer C, Wichelhaus TA, Hogardt M, Kempf VAJ, et al. Bloodstream infections with gram-negative organisms and the impact of multidrug resistance in patients with hematological malignancies. *Annals of Hematology* 2018;97:2225–34. <https://doi.org/10.1007/s00277-018-3423-5>.
- Schelenz S, Nwaka D, Hunter PR. Longitudinal surveillance of bacteraemia in haematology and oncology patients at a UK cancer centre and the impact of ciprofloxacin use on antimicrobial resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2013;68:1431–8. <https://doi.org/10.1093/jac/dkt002>.
- Schleicher X, Higgins PG, Wisplinghoff H, Körber-Irrgang B, Kresken M, Seifert H. Molecular epidemiology of *Acinetobacter baumannii* and *Acinetobacter*

- nosocomialis in Germany over a 5-year period (2005–2009). *Clinical Microbiology and Infection* 2013;19:737–42. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12026>.
- Schönebeck F, Schmitz RPH, Reißner F, Scherag A, Löffler B, Pletz MW, et al. The epidemiology of bloodstream infections and antimicrobial susceptibility patterns in Thuringia, Germany: a five-year prospective, state-wide surveillance study (AlertsNet). *Antimicrobial Resistance & Infection Control* 2021;10:132. <https://doi.org/10.1186/s13756-021-00997-6>.
- Schubert S, Weinert K, Wagner C, Gunzl B, Wieser A, Maier T, et al. Novel, Improved Sample Preparation for Rapid, Direct Identification from Positive Blood Cultures Using Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight (MALDI-TOF) Mass Spectrometry. *The Journal of Molecular Diagnostics* 2011;13:701–6. <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2011.07.004>.
- Secreto C, Busca A, Lupia T, Corcione S, De Rosa FG. The Management of Hematologic Patients with Bloodstream Infections Due to Multi-Drug Resistant Bacteria: Where Do We Stand? From Antibacterial Prophylaxis to the Treatment of Septic Shock. *Hemato* 2020;1:60–76. <https://doi.org/10.3390/hemato1020010>.
- Seifert H, Müller C, Stefanik D, Higgins PG, Miller A, Kresken M. In vitro activity of sulbactam/durlobactam against global isolates of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2020;75:2616–21. <https://doi.org/10.1093/jac/dkaa208>.
- Seki LM, Pereira PS, de Souza Conceição M, Souza MJ, Marques EA, Carballido JM, et al. Molecular epidemiology of CTX-M producing Enterobacteriaceae isolated from bloodstream infections in Rio de Janeiro, Brazil: emergence of CTX-M-15. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases* 2013;17:640–6. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2013.03.012>.
- Sen B, Joshi SG. Studies on *Acinetobacter baumannii* involving multiple mechanisms of carbapenem resistance. *Journal of Applied Microbiology* 2016;120:619–29. <https://doi.org/10.1111/jam.13037>.
- Sevillano E, Fernández E, Bustamante Z, Zabalaga S, Rosales I, Umanan A, et al. Emergence and clonal dissemination of carbapenem-hydrolysing OXA-58-producing *Acinetobacter baumannii* isolates in Bolivia. *Journal of Medical Microbiology* 2012;61:80–4. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.032722-0>.
- Shakibaie MR, Azizi O, Shahcheraghi F. Insight into stereochemistry of a new IMP allelic variant (IMP-55) metallo- β -lactamase identified in a clinical strain of *Acinetobacter baumannii*. *Infection, Genetics and Evolution* 2017;51:118–26. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2017.03.018>.
- Shaw BE, Boswell T, Byrne JL, Yates C, Russell NH. Clinical impact of MRSA in a stem cell transplant unit: analysis before, during and after an MRSA outbreak. *Bone Marrow Transplantation* 2007;39:623–9. <https://doi.org/10.1038/sj.bmt.1705654>.
- Sheu C-C, Chang Y-T, Lin S-Y, Chen Y-H, Hsueh P-R. Infections Caused by Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae: An Update on Therapeutic Options. *Frontiers in Microbiology* 2019;10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00080>.
- Shi Q, Huang C, Chen W, Wu S, Ji J, Ying C, et al. Cefepime, not Piperacillin/Tazobactam use, for empirical treatment of bloodstream infections caused by *Enterobacter* spp.: Results from a population pharmacokinetic/pharmacodynamic analysis. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 2023;180:106334. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2022.106334>.
- Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA* 2016;315:801. <https://doi.org/10.1001/jama.2016.0287>.

- Skogberg K, Lyytikäinen O, Ollgren J, Nuorti JP, Ruutu P. Population-based burden of bloodstream infections in Finland. *Clinical Microbiology and Infection* 2012;18:E170–6. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2012.03845.x>.
- Skov Dalgaard L, Nørgaard M, Jespersen B, Jensen-Fangel S, Østergaard LJ, Schönheyder HC, et al. Risk and Prognosis of Bloodstream Infections among Patients on Chronic Hemodialysis: A Population-Based Cohort Study. *PLOS ONE* 2015;10:e0124547. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0124547>.
- Słoczyńska A, Wand ME, Tyski S, Laudy AE. Analysis of blaCHDL Genes and Insertion Sequences Related to Carbapenem Resistance in *Acinetobacter baumannii* Clinical Strains Isolated in Warsaw, Poland. *International Journal of Molecular Sciences* 2021;22:2486. <https://doi.org/10.3390/ijms22052486>.
- Society of Critical Care Medicine (SCCM). Surviving sepsis campaign 2021 adult guidelines. <https://sccm.org/SurvivingSepsisCampaign/Guidelines/Adult-Patients>
- Sogaard M, Norgaard M, Dethlefsen C, Schonheyder HC. Temporal Changes in the Incidence and 30-Day Mortality associated with Bacteremia in Hospitalized Patients from 1992 through 2006: A Population-based Cohort Study. *Clinical Infectious Diseases* 2011;52:61–9. <https://doi.org/10.1093/cid/ciq069>.
- Song SH, Li XX, Wan QQ, Ye QF. Risk Factors for Mortality in Liver Transplant Recipients With ESKAPE Infection. *Transplantation Proceedings* 2014;46:3560–3. <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2014.08.049>.
- Sood P, Seth T, Kapil A, Sharma V, Dayama A, Sharma S, et al. Emergence of multidrug resistant acinetobacter blood stream infections in febrile neutropenia patients with haematological cancers and bone marrow failure syndromes. *Journal of the Indian Medical Association* 2012;110(7):439-444.
- Stewardson AJ, Allignol A, Beyersmann J, Graves N, Schumacher M, Meyer R, et al. The health and economic burden of bloodstream infections caused by antimicrobial-susceptible and non-susceptible Enterobacteriaceae and *Staphylococcus aureus* in European hospitals, 2010 and 2011: a multicentre retrospective cohort study. *Eurosurveillance* 2016;21. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es.2016.21.33.30319>.
- Stoeva T, Higgins PG, Bojkova K, Seifert H. Clonal spread of carbapenem-resistant OXA-23-positive *Acinetobacter baumannii* in a Bulgarian university hospital. *Clinical Microbiology and Infection* 2008;14:723–7. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2008.02018.x>.
- Stoeva T, Higgins PG, Savov E, Markovska R, Mitov I, Seifert H. Nosocomial spread of OXA-23 and OXA-58 -lactamase-producing *Acinetobacter baumannii* in a Bulgarian hospital. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2009;63:618–20. <https://doi.org/10.1093/jac/dkn537>.
- Strateva T, Markova B, Marteva-Proevska Y, Ivanova D, Mitov I. Widespread dissemination of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* producing OXA-23 carbapenemase and ArmA 16S ribosomal RNA methylase in a Bulgarian university hospital. *Brazilian Journal of Infectious Diseases* 2012;16:307–10. <https://doi.org/10.1590/s1413-86702012000300020>.
- Strateva TV, Sirakov I, Stoeva TJ, Stratev A, Peykov S. Phenotypic and Molecular Characteristics of Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* Isolates from Bulgarian Intensive Care Unit Patients. *Microorganisms* 2023;11:875. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11040875>.
- Stratev A, Tanova R, Dimov S, Mitov I, Strateva T. Clonal spread of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates among Bulgarian critically ill patients undergoing renal replacement therapy (2016–2018). *Infectious Diseases* 2020;52:430-33.

- Studentova V, Dobiasova H, Hedlova D, Dolejska M, Papagiannitsis CC, Hrabak J. Complete Nucleotide Sequences of Two NDM-1-Encoding Plasmids from the Same Sequence Type 11 *Klebsiella pneumoniae* Strain. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2015;59:1325–8. <https://doi.org/10.1128/aac.04095-14>.
- Suzuki H, Murata K, Sakamoto A. Fulminant sepsis due to anaerobic bacterial infection in immuno-compromised state. *Legal Medicine* 2009;11:237–40. <https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2009.06.003>.
- Syrjälä H, Ohtonen P, Kinnunen U, Rätty R, Elonen E, Nousiainen T, et al. Blood stream infections during chemotherapy-induced neutropenia in adult patients with acute myeloid leukemia: treatment cycle matters. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 2010;29:1211–8. <https://doi.org/10.1007/s10096-010-0984-1>.
- Tabah A, Kourenti D, Laupland K, Misset B, Valles J, Bruzzi de Carvalho F, et al. Characteristics and determinants of outcome of hospital-acquired bloodstream infections in intensive care units: the EUROBACT International Cohort Study. *Intensive Care Medicine* 2012;38:1930–45. <https://doi.org/10.1007/s00134-012-2695-9>.
- Tacconelli E, Cataldo MA, Mutters NT, Carrara E, Bartoloni A, Raglio A, et al. Role of place of acquisition and inappropriate empirical antibiotic therapy on the outcome of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae infections. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2019;54:49–54. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2019.04.007>.
- Tafelski S, Nachtigall I, Adam T, Bereswill S, Faust J, Tamarkin A, et al. Randomized controlled clinical trial evaluating multiplex polymerase chain reaction for pathogen identification and therapy adaptation in critical care patients with pulmonary or abdominal sepsis. *Journal of International Medical Research* 2015;43:364–77. <https://doi.org/10.1177/0300060514561135>.
- Tagashira Y, Kozai Y, Yamasa H, Sakurada M, Kashiyama T, Honda H. A Cluster of Central Line–Associated Bloodstream Infections Due to Rapidly Growing Nontuberculous Mycobacteria in Patients with Hematologic Disorders at a Japanese Tertiary Care Center: An Outbreak Investigation and Review of the Literature. *Infection Control & Hospital Epidemiology* 2015;36:76–80. <https://doi.org/10.1017/ice.2014.14>.
- Takeshita N, Kawamura I, Kurai H, Araoka H, Yoneyama A, Fujita T, et al. Unique characteristics of community-onset healthcare-associated bloodstream infections: a multi-centre prospective surveillance study of bloodstream infections in Japan. *Journal of Hospital Infection* 2017;96:29–34. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2017.02.022>.
- Tang Y, Xu C, Xiao H, Wang L, Cheng Q, Li X. Gram-Negative Bacteria Bloodstream Infections in Patients with Hematological Malignancies – The Impact of Pathogen Type and Patterns of Antibiotic Resistance: A Retrospective Cohort Study. *Infection and Drug Resistance* 2021;Volume 14:3115–24. <https://doi.org/10.2147/idr.s322812>.
- Tängdén T, Giske CG. Global dissemination of extensively drug-resistant carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: clinical perspectives on detection, treatment and infection control. *Journal of Internal Medicine* 2015;277:501–12. <https://doi.org/10.1111/joim.12342>.
- Taramasso L, Tatarelli P, Di Biagio A. Bloodstream infections in HIV-infected patients. *Virulence* 2016;7:320–8. <https://doi.org/10.1080/21505594.2016.1158359>.
- Teklu DS, Negeri AA, Legese MH, Bedada TL, Woldemariam HK, Tullu KD. Extended-spectrum beta-lactamase production and multi-drug resistance among

- Enterobacteriaceae isolated in Addis Ababa, Ethiopia. *Antimicrobial Resistance & Infection Control* 2019;8:39. <https://doi.org/10.1186/s13756-019-0488-4>.
- Teo JQ-M, Chang CW-T, Leck H, Tang C-Y, Lee SJ-Y, Cai Y, et al. Risk factors and outcomes associated with the isolation of polymyxin B and carbapenem-resistant Enterobacteriaceae spp.: A case-control study. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2019;53:657–62. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2019.03.011>.
- Thomsen RW, Hundborg HH, Lervang H-H, Johnsen SP, Schonheyder HC, Sorensen HT. Diabetes Mellitus as a Risk and Prognostic Factor for Community-Acquired Bacteremia Due to Enterobacteria: A 10-Year, Population-Based Study among Adults. *Clinical Infectious Diseases* 2005;40:628–31. <https://doi.org/10.1086/427699>.
- Thorlacius-Ussing L, Sandholdt H, Larsen AR, Petersen A, Benfield T. Age-Dependent Increase in Incidence of Staphylococcus aureus Bacteremia, Denmark, 2008–2015. *Emerging Infectious Diseases* 2019;25:875–82. <https://doi.org/10.3201/eid2505.181733>.
- Thorndike J, Kollef MH. Culture-negative sepsis. *Current Opinion in Critical Care* 2020;26:473–7. <https://doi.org/10.1097/mcc.0000000000000751>.
- Thulstrup AM, Sørensen HT, Schönheyder HC, Møller JK, Tage-Jensen U. Population-Based Study of the Risk and Short-Term Prognosis for Bacteremia in Patients with Liver Cirrhosis. *Clinical Infectious Diseases* 2000;31:1357–61. <https://doi.org/10.1086/317494>.
- Timbrook TT, Morton JB, McConeghy KW, Caffrey AR, Mylonakis E, La Plante KL. The Effect of Molecular Rapid Diagnostic Testing on Clinical Outcomes in Bloodstream Infections: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clinical Infectious Diseases* 2017;64:15–23. <https://doi.org/10.1093/cid/ciw649>.
- Timsit J-F, Ruppé E, Barbier F, Tabah A, Bassetti M. Bloodstream infections in critically ill patients: an expert statement. *Intensive Care Medicine* 2020;46:266–84. <https://doi.org/10.1007/s00134-020-05950-6>.
- Todorova B, Velinov T, Ivanov I, Dobreva E, Kantardjiev T. First detection of OXA-24 carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii* isolates in Bulgaria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 2014;30:1427–30. <https://doi.org/10.1007/s11274-013-1562-3>.
- Todorova B, Sabtcheva S, Ivanov IN, Lesseva M, Chalashkanov T, Ioneva M, et al. First clinical cases of NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* from two hospitals in Bulgaria. *Journal of Infection and Chemotherapy* 2016;22:837–40. <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2016.03.014>.
- Tomaschek F, Higgins PG, Stefanik D, Wisplinghoff H, Seifert H. Head-to-Head Comparison of Two Multi-Locus Sequence Typing (MLST) Schemes for Characterization of *Acinetobacter baumannii* Outbreak and Sporadic Isolates. *PLOS ONE* 2016;11:e0153014. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0153014>.
- Torres E, López-Cerero L, Del Toro MD, Pascual Á. First detection and characterization of an OXA-48-producing *Enterobacter aerogenes* isolate. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* 2014;32:469–70. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2013.10.008>.
- Treacarichi EM, Tumbarello M, Spanu T, Caira M, Fianchi L, Chiusolo P, et al. Incidence and clinical impact of extended-spectrum- β -lactamase (ESBL) production and fluoroquinolone resistance in bloodstream infections caused by *Escherichia coli* in patients with hematological malignancies. *Journal of Infection* 2009;58:299–307. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2009.02.002>.

- Trecarichi EM, Tumbarello M. Antimicrobial-resistant Gram-negative bacteria in febrile neutropenic patients with cancer. *Current Opinion in Infectious Diseases* 2014;27:200–10. <https://doi.org/10.1097/qco.0000000000000038>.
- Trecarichi EM, Pagano L, Candoni A, Pastore D, Cattaneo C, Fanci R, et al. Current epidemiology and antimicrobial resistance data for bacterial bloodstream infections in patients with hematologic malignancies: an Italian multicentre prospective survey. *Clinical Microbiology and Infection* 2015;21:337–43. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2014.11.022>.
- Tsakris A, Kristo I, Poulou A, Markou F, Ikonomidis A, Pournaras S. First occurrence of KPC-2-possessing *Klebsiella pneumoniae* in a Greek hospital and recommendation for detection with boronic acid disc tests. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2008;62:1257–60. <https://doi.org/10.1093/jac/dkn364>.
- Tumbarello M, Spanu T, Caira M, Trecarichi EM, Laurenti L, Montuori E, et al. Factors associated with mortality in bacteremic patients with hematologic malignancies. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 2009;64:320–6. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2009.02.008>.
- Tunkel AR, Sepkowitz KA. Infections Caused by Viridans Streptococci in Patients with Neutropenia. *Clinical Infectious Diseases* 2002;34:1524–9. <https://doi.org/10.1086/340402>.
- Turton JF, Ward ME, Woodford N, Kaufmann ME, Pike R, Livermore DM, et al. The role of ISAbal in expression of OXA carbapenemase genes in *Acinetobacter baumannii*. *FEMS Microbiology Letters* 2006;258:72–7. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2006.00195.x>.
- Upala S, Sanguankeo A, Permpalung N. Significant association between vitamin D deficiency and sepsis: a systematic review and meta-analysis. *BMC Anesthesiology* 2015;15. <https://doi.org/10.1186/s12871-015-0063-3>.
- Uslan DZ. Age- and Sex-Associated Trends in Bloodstream Infection. *Archives of Internal Medicine* 2007;167:834–9. <https://doi.org/10.1001/archinte.167.8.834>.
- Vahedian-Ardakani HA, Moghimi M, Shayestehpour M, Doosti M, Amid N. Bacterial Spectrum and Antimicrobial Resistance Pattern in Cancer Patients with Febrile Neutropenia. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 2019;20:1471–4. <https://doi.org/10.31557/apjcp.2019.20.5.1471>.
- Valcek A, Nesporova K, Whiteway C, De Pooter T, De Coster W, Strazisar M, et al. Genomic Analysis of a Strain Collection Containing Multidrug-, Extensively Drug-, Pandrug-, and Carbapenem-Resistant Modern Clinical Isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2022;66. <https://doi.org/10.1128/aac.00892-22>.
- Valencia-Martín R, Gonzalez-Galan V, Alvarez-Marín R, Cazalla-Foncueva AM, Aldabó T, Gil-Navarro MV, et al. A multimodal intervention program to control a long-term *Acinetobacter baumannii* endemic in a tertiary care hospital. *Antimicrobial Resistance & Infection Control* 2019;8:199. <https://doi.org/10.1186/s13756-019-0658-4>.
- van Duin D, Doi Y. The global epidemiology of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Virulence* 2017;8:460–9. <https://doi.org/10.1080/21505594.2016.1222343>.
- Vardakas KZ, Matthaiou DK, Falagas ME, Antypa E, Koteli A, Antoniadou E. Characteristics, risk factors and outcomes of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infections in the intensive care unit. *Journal of Infection* 2015;70:592–9. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2014.11.003>.

- Vasconcelos ATR, Barth AL, Zavascki AP, Gales AC, Levin AS, Lucarevski BR, et al. The changing epidemiology of *Acinetobacter* spp. producing OXA carbapenemases causing bloodstream infections in Brazil: a BrasNet report. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 2015;83:382–5. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2015.08.006>.
- Vázquez-López R, Solano-Gálvez SG, Juárez Vignon-Whaley JJ, Abello Vaamonde JA, Padró Alonzo LA, Rivera Reséndiz A, et al. *Acinetobacter baumannii* Resistance: A Real Challenge for Clinicians. *Antibiotics* 2020;9:205. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9040205>.
- Vena A, Castaldo N, Bassetti M. The role of new β -lactamase inhibitors in gram-negative infections. *Current Opinion in Infectious Diseases* 2019;32:638–46. <https://doi.org/10.1097/qco.0000000000000600>.
- Versalovic J, Schneider M, de Bruijn FJ, Lupski JR. Genomic fingerprinting of bacteria using the repetitive sequence based polymerase chain reaction. *Methods of Molecular Cell Biology* 1994;5(1):25–40.
- Verway M, Brown KA, Marchand-Austin A, Diong C, Lee S, Langford B, et al. Prevalence and Mortality Associated with Bloodstream Organisms: a Population-Wide Retrospective Cohort Study. *Journal of Clinical Microbiology* 2022;60. <https://doi.org/10.1128/jcm.02429-21>.
- Vijayakumar S, Biswas I, Veeraraghavan B. Accurate identification of clinically important *Acinetobacter* spp.: an update. *Future Science OA* 2019;5. <https://doi.org/10.2144/fsoa-2018-0127>.
- Villacís JE, Bovera M, Romero-Alvarez D, Cornejo F, Albán V, Trueba G, et al. NDM-1 carbapenemase in *Acinetobacter baumannii* sequence type 32 in Ecuador. *New Microbes and New Infections* 2019;29:100526. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2019.100526>.
- Vincent J-L. International Study of the Prevalence and Outcomes of Infection in Intensive Care Units. *JAMA* 2009;302:2323–9. <https://doi.org/10.1001/jama.2009.1754>.
- Viscoli C. Bloodstream Infections: The peak of the iceberg. *Virulence* 2016;7:248–51. <https://doi.org/10.1080/21505594.2016.1152440>.
- Walsh TR, Weeks J, Livermore DM, Toleman MA. Dissemination of NDM-1 positive bacteria in the New Delhi environment and its implications for human health: an environmental point prevalence study. *The Lancet Infectious Diseases* 2011;11:355–62. [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(11\)70059-7](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(11)70059-7).
- Wang Q, Wang X, Wang J, Ouyang P, Jin C, Wang R, et al. Phenotypic and Genotypic Characterization of Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: Data From a Longitudinal Large-scale CRE Study in China (2012–2016). *Clinical Infectious Diseases* 2018;67:S196–205. <https://doi.org/10.1093/cid/ciy660>.
- Wang S-S, Lee N-Y, Hsueh P-R, Huang W-H, Tsui K-C, Lee H-C, et al. Clinical manifestations and prognostic factors in cancer patients with bacteremia due to extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* or *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection* 2011;44:282–8. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2010.08.004>.
- Wang S, Xiao S-Z, Gu F-F, Tang J, Guo X-K, Ni Y-X, et al. Antimicrobial susceptibility and molecular epidemiology of clinical *Enterobacter cloacae* bloodstream isolates in Shanghai, China. *PLOS ONE* 2017;12:e0189713. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189713>.
- Wang T-H, Leu Y-S, Wang N-Y, Liu C-P, Yan T-R. Prevalence of different carbapenemase genes among carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* blood isolates in

- Taiwan. *Antimicrobial Resistance & Infection Control* 2018;7:123. <https://doi.org/10.1186/s13756-018-0410-5>.
- Wang X, Xie Y, Li G, Liu J, Li X, Tian L, et al. Whole-Genome-Sequencing characterization of bloodstream infection-causing hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* of capsular serotype K2 and ST374. *Virulence* 2018;9:510–21. <https://doi.org/10.1080/21505594.2017.1421894>.
- Wang Y-C, Shih S-M, Chen Y-T, Hsiung CA, Kuo S-C. Clinical and economic impact of intensive care unit-acquired bloodstream infections in Taiwan: a nationwide population-based retrospective cohort study. *BMJ Open* 2020;10:e037484. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2020-037484>.
- Wareth G, Brandt C, Sprague LD, Neubauer H, Pletz MW. Spatio-Temporal Distribution of *Acinetobacter baumannii* in Germany - A Comprehensive Systematic Review of Studies on Resistance Development in Humans (2000–2018). *Microorganisms* 2020;8:375. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8030375>.
- Wei D-D, Gao J, Yang R-L, Bai C-Y, Lin X-H. Antimicrobial resistance profiles of ESKAPE and *Escherichia coli* isolated from blood at a tertiary hospital in China. *Chinese Medical Journal* 2020;133:2250–2. <https://doi.org/10.1097/cm9.0000000000000987>.
- Weinbrein MJ, Collins M, Heathcote R, Umar M, Nisar M, Ainger C, et al. Optimization of the blood culture pathway: a template for improved sepsis management and diagnostic antimicrobial stewardship. *Journal of Hospital Infection* 2018;98:232–5. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2017.12.023>.
- Weinstein MP. Blood Culture Contamination: Persisting Problems and Partial Progress. *Journal of Clinical Microbiology* 2003;41:2275–8. <https://doi.org/10.1128/jcm.41.6.2275-2278.2003>.
- Wibberg D, Salto IP, Eikmeyer FG, Maus I, Winkler A, Nordmann P, et al. Complete Genome Sequencing of *Acinetobacter baumannii* Strain K50 Discloses the Large Conjugative Plasmid pK50a Encoding Carbapenemase OXA-23 and Extended-Spectrum β -Lactamase GES-11. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2018;62. <https://doi.org/10.1128/aac.00212-18>.
- William DA, 2012. Blood Culture Systems: From Patient to Result, in: *Sepsis - An Ongoing and Significant Challenge*. pp. 287–310. <https://doi.org/10.5772/50139>
- Williamson DA, Lim A, Wiles S, Roberts SA, Freeman JT. Population-based incidence and comparative demographics of community-associated and healthcare-associated *Escherichia coli* bloodstream infection in Auckland, New Zealand, 2005 – 2011. *BMC Infectious Diseases* 2013;13:385. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-13-385>.
- Wilson BM, El Chakhtoura NG, Patel S, Saade E, Donskey CJ, Bonomo RA, et al. Carbapenem-Resistant *Enterobacter cloacae* in Patients from the US Veterans Health Administration, 2006–2015. *Emerging Infectious Diseases* 2017;23:878–80. <https://doi.org/10.3201/eid2305.162034>.
- Wilson J, Elgohari S, Livermore DM, Cookson B, Johnson A, Lamagni T, et al. Trends among pathogens reported as causing bacteraemia in England, 2004–2008. *Clinical Microbiology and Infection* 2011;17:451–8. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2010.03262.x>.
- Wingard JR. Overview of infections following hematopoietic cell transplantation. In S. Bond (Ed.), *UpToDate*. Retrieved 2019 from <https://www.uptodate.com/contents/overview-of-infections-following-hematopoietic-cell-transplantation>
- Wisplinghoff H, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Current Trends in the Epidemiology of Nosocomial Bloodstream Infections in Patients with Hematological Malignancies

- and Solid Neoplasms in Hospitals in the United States. *Clinical Infectious Diseases* 2003;36:1103–10. <https://doi.org/10.1086/374339>.
- Wisplinghoff H, Paulus T, Lugenheim M, Stefanik D, Higgins PG, Edmond MB, et al. Nosocomial bloodstream infections due to *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter pittii* and *Acinetobacter nosocomialis* in the United States. *Journal of Infection* 2012;64:282–90. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2011.12.008>.
- Wolk DM, Struelens MJ, Pancholi P, Davis T, Della-Latta P, Fuller D, et al. Rapid Detection of *Staphylococcus aureus* and Methicillin-Resistant *S. aureus* (MRSA) in Wound Specimens and Blood Cultures: Multicenter Preclinical Evaluation of the Cepheid Xpert MRSA/SA Skin and Soft Tissue and Blood Culture Assays. *Journal of Clinical Microbiology* 2009;47:823–6. <https://doi.org/10.1128/jcm.01884-08>.
- Wolkewitz M, Frank U, Philips G, Schumacher M, Davey P, Frank U, et al. Mortality associated with in-hospital bacteraemia caused by *Staphylococcus aureus*: a multistate analysis with follow-up beyond hospital discharge. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2011;66:381–6. <https://doi.org/10.1093/jac/dkq424>.
- Wong D, Nielsen TB, Bonomo RA, Pantapalangkoor P, Luna B, Spellberg B. Clinical and Pathophysiological Overview of *Acinetobacter* Infections: a Century of Challenges. *Clinical Microbiology Reviews* 2017;30:409–47. <https://doi.org/10.1128/cmr.00058-16>.
- Wood SJ, Kuzel TM, Shafikhani SH. *Pseudomonas aeruginosa*: Infections, Animal Modeling, and Therapeutics. *Cells* 2023;12:199. <https://doi.org/10.3390/cells12010199>.
- Woodford N, Ellington M, Coelho J, Turton J, Ward M, Brown S, et al. Multiplex PCR for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in *Acinetobacter* spp. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2006;27:351–3. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2006.01.004>.
- Woodford N, Turton JF, Livermore DM. Multiresistant Gram-negative bacteria: the role of high-risk clones in the dissemination of antibiotic resistance. *FEMS Microbiology Reviews* 2011;35:736–55. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00268.x>.
- World Health Organization. Global Action Plan on Antimicrobial Resistance. 2015 (http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/193736/1/9789241509763_eng.pdf?ua=1)
- World Health Organization (WHO). WHO global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics; 2017. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/311820>.
- World Health Organization. Thirteenth general programme of work, 2019–2023. Geneva; 2019. Available from: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/324775/WHO-PRP-18.1-eng.pdf,%0A>.
- World Health Organization. Global report on the epidemiology and burden of sepsis: current evidence, identifying gaps and future directions. World Health Organization, Geneva, 2020. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/334216>
- Wright G, McArthur AG. The comprehensive antibiotic resistance database. 2018. <http://arpcard.mcmaster.ca/>.
- Wyres KL, Lam MMC, Holt KE. Population genomics of *Klebsiella pneumoniae*. *Nature Reviews Microbiology* 2020;18:344–59. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0315-1>.
- Xanthopoulou K, Urrutikoetxea-Gutiérrez M, Vidal-Garcia M, Diaz de Tuesta del Arco J-L, Sánchez-Urtaza S, Wille J, et al. First Report of New Delhi Metallo- β -Lactamase-6 (NDM-6) in a Clinical *Acinetobacter baumannii* Isolate From Northern Spain. *Frontiers in Microbiology* 2020;11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.589253>.

- Xiao S, Wang S, Wu W, Zhao S, Gu F, Ni Y, et al. The Resistance Phenotype and Molecular Epidemiology of *Klebsiella pneumoniae* in Bloodstream Infections in Shanghai, China, 2012–2015. *Frontiers in Microbiology* 2017;8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00250>.
- Xiao T, Wu Z, Shi Q, Zhang X, Zhou Y, Yu X, et al. A retrospective analysis of risk factors and outcomes in patients with extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* bloodstream infections. *Journal of Global Antimicrobial Resistance* 2019;17:147–56. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2018.12.014>.
- Xiao T, Zhu Y, Zhang S, Wang Y, Shen P, Zhou Y, et al. A Retrospective Analysis of Risk Factors and Outcomes of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Bacteremia in Nontransplant Patients. *The Journal of Infectious Diseases* 2020;221:S174–83. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiz559>.
- Xie R, Zhang XD, Zhao Q, Peng B, Zheng J. Analysis of global prevalence of antibiotic resistance in *Acinetobacter baumannii* infections disclosed a faster increase in OECD countries. *Emerging Microbes and Infections* 2018;7(1):1-10. doi: 10.1038/s41426-018-0038-9.
- Xu Q, Pan F, Sun Y, Wang C, Shi Y, Zhang T, et al. Fecal Carriage and Molecular Epidemiology of Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae* from Inpatient Children in a Pediatric Hospital of Shanghai. *Infection and Drug Resistance* 2020;Volume 13:4405–15. <https://doi.org/10.2147/idr.s275549>.
- Xu T, Xue C-X, Huang J, Wu J, Chen R, Zhou K. Emergence of an epidemic hypervirulent clone of *Enterobacter hormaechei* coproducing *mcr-9* and carbapenemases. *The Lancet Microbe* 2022;3:e474–5. [https://doi.org/10.1016/s2666-5247\(22\)00122-7](https://doi.org/10.1016/s2666-5247(22)00122-7).
- Yahav D, Eliakim-Raz N, Leibovici L, Paul M. Bloodstream infections in older patients. *Virulence* 2016;7:341–52. <https://doi.org/10.1080/21505594.2015.1132142>.
- Yan L, Sun J, Xu X, Huang S. Epidemiology and risk factors of rectal colonization of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* among high-risk patients from ICU and HSCT wards in a university hospital. *Antimicrobial Resistance & Infection Control* 2020;9:155. <https://doi.org/10.1186/s13756-020-00816-4>.
- Yang S, Xu H, Sun J, Sun S. Shifting trends and age distribution of ESKAPEE_c resistance in bloodstream infection, Southwest China, 2012–2017. *Antimicrobial Resistance & Infection Control* 2019;8. <https://doi.org/10.1186/s13756-019-0499-1>.
- Yardimci AC, Arman D. Prevalence and Antimicrobial Resistance of Bloodstream Infections Caused by ESKAPEE_c Pathogens: A Five-Year Analysis. *Jundishapur Journal of Microbiology* 2022;15. <https://doi.org/10.5812/jjm-122990>.
- Ye QF, Zhao J, Wan QQ, Qiao BB, Zhou JD. Frequency and clinical outcomes of ESKAPE bacteremia in solid organ transplantation and the risk factors for mortality. *Transplant Infectious Disease* 2014;16:767–74. <https://doi.org/10.1111/tid.12278>.
- Yigit H, Queenan AM, Anderson GJ, Domenech-Sanchez A, Biddle JW, Steward CD, et al. Novel Carbapenem-Hydrolyzing β -Lactamase, KPC-1, from a Carbapenem-Resistant Strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2001;45:1151–61. <https://doi.org/10.1128/aac.45.4.1151-1161.2001>.
- Zapun A, Contreras-Martel C, Vernet T. Penicillin-binding proteins and β -lactam resistance. *FEMS Microbiology Reviews* 2008;32:361-85. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2007.00095.x>.
- Zarrilli R, Pournaras S, Giannouli M, Tsakris A. Global evolution of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clonal lineages. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2013;41:11–9. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2012.09.008>.

- Zeka AN, Poirel L, Sipahi OR, Bonnin RA, Arda B, Ozinel M, et al. GES-type and OXA-23 carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii* in Turkey. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2014;69:1145–6. <https://doi.org/10.1093/jac/dkt465>.
- Zhang P, Shi Q, Hu H, Hong B, Wu X, Du X, et al. Emergence of ceftazidime/avibactam resistance in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in China. *Clinical Microbiology and Infection* 2020;26:124.e1-124.e4. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.08.020>.
- Zhang Y, Du M, Chang Y, Chen L, Zhang Q. Incidence, clinical characteristics, and outcomes of nosocomial *Enterococcus* spp. bloodstream infections in a tertiary-care hospital in Beijing, China: a four-year retrospective study. *Antimicrobial Resistance & Infection Control* 2017;6:73. <https://doi.org/10.1186/s13756-017-0231-y>.
- Zhen X, Lundborg CS, Sun X, Hu X, Dong H. Economic burden of antibiotic resistance in ESKAPE organisms: a systematic review. *Antimicrobial Resistance & Infection Control* 2019;8:137. <https://doi.org/10.1186/s13756-019-0590-7>.
- Zhou K, Zhou Y, Xue C, Xu T, Chen Y, Shen P, et al. Bloodstream infections caused by *Enterobacter hormaechei* ST133 in China, 2010–22. *The Lancet Microbe* 2023;4:e13. [https://doi.org/10.1016/s2666-5247\(22\)00226-9](https://doi.org/10.1016/s2666-5247(22)00226-9).
- Zhu J, Sun L, Ding B, Yang Y, Xu X, Liu W, et al. Outbreak of NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* ST76 and ST37 isolates in neonates. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 2016;35:611–8. <https://doi.org/10.1007/s10096-016-2578-z>.
- Zhu J, Zhou K, Jiang Y, Liu H, Bai H, Jiang J, et al. Bacterial Pathogens Differed Between Neutropenic and Non-neutropenic Patients in the Same Hematological Ward: An 8-Year Survey. *Clinical Infectious Diseases* 2018;67:S174–8. <https://doi.org/10.1093/cid/ciy643>.
- Zhu L, Chen X, Hou P. Mutation of CarO participates in drug resistance in imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Clinical Laboratory Analysis* 2019;33. <https://doi.org/10.1002/jcla.22976>.
- http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/193736/1/9789241509763_eng.pdf?ua=1
<https://apps.who.int/iris/handle/10665/334216>
<https://apps.who.int/iris/handle/10665/193736>
<https://atlas.ecdc.europa.eu/>
https://bigsdbs.pasteur.fr/cgi-bin/bigsdbs/bigsdbs.pl?db=pubmlst_klebsiella_seqdef&page=profiles
<https://ecdc.europa.eu/>
www.eucast.org
<https://pubmlst.org/ecloacae/>
<https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/threats-report/2019-ar-threats-report-508.pdf>.).
<https://www.cdc.gov/nhsn/psc/bsi/>
https://www.cdc.gov/nhsn/pdfs/pscmanual/4psc_clabscurrent.pdf
<https://www.paho.org/en/relavra>
[https://www.who.int/europe/groups/central-asian-and-european-surveillance-of-antimicrobial-resistance-\(caesar\)](https://www.who.int/europe/groups/central-asian-and-european-surveillance-of-antimicrobial-resistance-(caesar))

10. ПРИЛОЖЕНИЯ

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

Етиологична структура на лабораторно потвърдените инфекции на кръвта в болнично лекувани пациенти през 2011г.

Етиологичен причинител на инфекциите на кръвта	n (%)
Грам - положителни бактерии	68 (33.3)
<i>Staphylococcus aureus</i>	32 (15.7)
<i>Enterococcus faecalis</i>	17 (8.3)
<i>Staphylococcus coagulase negative</i>	6 (2.9)
<i>Enterococcus faecium</i>	5 (2.4)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	3 (1.5)
<i>Streptococcus viridans</i>	2 (1.0)
<i>Streptococcus bovis</i>	2 (1.0)
<i>Streptococcus agalactiae</i>	1 (0.5)
Грам – отрицателни бактерии	117 (57.4)
<i>E. coli</i>	35 (17.1)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	26 (12.7)
<i>Enterobacter cloacae</i>	13 (6.4)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	12 (5.9)
<i>Serratia marcescens</i>	9 (4.4)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7 (3.4)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	5 (2.4)
<i>Proteus mirabilis</i>	4 (2.0)
<i>Citrobacter freundii</i>	2 (1.0)
<i>Providencia spp.</i>	1 (0.5)
<i>Enterobacter agglomerans</i>	1 (0.5)
<i>Salmonella spp.</i>	1 (0.5)
<i>Achromobacter spp.</i>	1 (0.5)
Гъбички	19 (9.3)
Общо клинично значими микроорганизми от хемокултури	204 (100.0)

Етиологична структура на лабораторно потвърдените инфекции на кръвта в болнично лекувани пациенти през 2012г.

Етиологичен причинител на инфекциите на кръвта	n (%)
Грам - положителни бактерии	64 (28.4)
<i>Staphylococcus aureus</i>	29 (12.9)
<i>Enterococcus faecalis</i>	9 (4.0)
<i>Enterococcus faecium</i>	5 (2.2)
<i>Streptococcus viridans</i>	5 (2.2)
<i>Streptococcus agalactiae</i>	4 (1.8)
<i>Staphylococcus coagulase negative</i>	4 (1.8)
<i>Streptococcus bovis</i>	3 (1.3)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	2 (0.9)
<i>Listeria monocytogens</i>	1 (0.4)
<i>Clostridium perfringens</i>	1 (0.4)
<i>Corynebacterium jeikeum</i>	1 (0.4)
Грам - отрицателни бактерии	146 (64.9)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	36 (16.0)
<i>E. coli</i>	29 (12.9)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	17 (7.6)
<i>Enterobacter cloacae</i>	13 (5.8)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13 (5.8)
<i>Citrobacter freundii</i>	10 (4.4)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	7 (3.1)
<i>Proteus mirabilis</i>	7 (3.1)
<i>Serratia marcescens</i>	4 (1.8)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	2 (0.9)
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	2 (0.9)
<i>Morganella morganii</i>	1 (0.4)
<i>Proteus vulgaris</i>	1 (0.4)
<i>Enterobacter agglomerans</i>	1 (0.4)
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1 (0.4)
<i>Neisseria meningitidis</i>	1 (0.4)
<i>Burkholderia cepacia</i>	1 (0.4)
Гъбички	15 (6.7)
Общо клинично значими микроорганизми от хемокултури	225 (100.0)

Етиологична структура на лабораторно потвърдените инфекции на кръвта в болнично лекувани пациенти през 2013г.

Етиологичен причинител на инфекциите на кръвта	n (%)
Грам - положителни бактерии	89 (35.7)
<i>Staphylococcus aureus</i>	41 (16.5)
<i>Enterococcus faecalis</i>	18 (7.2)
<i>Enterococcus faecium</i>	10 (4.0)
<i>Streptococcus viridans</i>	5 (2.0)
<i>Streptococcus pyogenes</i>	5 (2.0)
<i>Staphylococcus coagulase negative</i>	4 (1.6)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	3 (1.2)
<i>Streptococcus agalactiae</i>	2 (0.8)
<i>Leuconostoc spp.</i>	1 (0.4)
Грам - отрицателни бактерии	147 (59)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	36 (14.4)
<i>E. coli</i>	24 (9.6)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	22 (8.8)
<i>Enterobacter cloacae</i>	16 (6.4)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16 (6.4)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	8 (3.2)
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	6 (2.4)
<i>Citrobacter freundii</i>	4 (1.6)
<i>Serratia marcescens</i>	4 (1.6)
<i>Bacteroides spp.</i>	4 (1.6)
<i>Pseudomonas spp.</i>	3 (1.2)
<i>Proteus mirabilis</i>	2 (0.8)
<i>Proteus vulgaris</i>	1 (0.4)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1 (0.4)
Гъбички	13 (5.2)
Общо клинично значими микроорганизми от хемокултури	249 (100.0)

Етиологична структура на лабораторно потвърдените инфекции на кръвта в болнично лекувани пациенти през 2014г.

Етиологичен причинител на инфекциите на кръвта	n (%)
Грам - положителни бактерии	83 (26.6)
<i>Staphylococcus aureus</i>	28 (9.0)
<i>Enterococcus faecalis</i>	14 (4.5)
<i>Streptococcus viridans</i>	12 (3.8)
<i>Enterococcus faecium</i>	7 (2.2)
<i>Staphylococcus coagulase negative</i>	6 (1.9)
<i>Streptococcus bovis</i>	5 (1.6)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	4 (1.3)
<i>Streptococcus agalactiae</i>	2 (0.6)
<i>Peptostreptococcus magnus</i>	1 (0.3)
<i>Streptococcus intermedius</i>	1 (0.3)
<i>Streptococcus porcinus</i>	1 (0.3)
<i>Listeria monocytogenes</i>	1 (0.3)
<i>Propionibacterium acnes</i>	1 (0.3)
Грам - отрицателни бактерии	195 (62.5)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	52 (16.7)
<i>E. coli</i>	30 (9.6)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	30 (9.6)
<i>Enterobacter cloacae</i>	30 (9.6)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	10 (3.2)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	9 (2.9)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8 (2.6)
<i>Serratia marcescens</i>	5 (1.6)
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	6 (1.9)
<i>Pseudomonas spp.</i>	4 (1.3)
<i>Aeromonas hydrophila</i>	3 (1.0)
<i>Enterobacter agglomerans</i>	1 (0.3)
<i>Proteus vulgaris</i>	1 (0.3)
<i>Providencia spp.</i>	1 (0.3)
<i>Bacteroides fragilis</i>	5 (1.6)
Гъбички	34 (10.9)
Общо клинично значими микроорганизми от хемокултури	312 (100.0)

Етиологична структура на лабораторно потвърдените инфекции на кръвта в болнично лекувани пациенти през 2015г.

Етиологичен причинител на инфекциите на кръвта	n (%)
Грам - положителни бактерии	84 (30.3)
<i>Staphylococcus aureus</i>	52 (18.8)
<i>Enterococcus faecalis</i>	8 (2.9)
<i>Staphylococcus coagulase negative</i>	5 (1.8)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	3 (1.0)
<i>Streptococcus viridans</i>	4 (1.4)
<i>Enterococcus faecium</i>	2 (0.7)
<i>Bacillus anthracis</i>	2 (0.7)
<i>Streptococcus bovis</i>	2 (0.7)
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1 (0.4)
<i>Streptococcus agalactiae</i>	1 (0.4)
<i>Listeria monocytogenes</i>	1 (0.4)
<i>Corynebacterium jeikeum</i>	1 (0.4)
<i>Peptostreptococcus</i> spp.	2 (0.7)
Грам - отрицателни бактерии	175 (63.2)
<i>Enterobacter cloacae</i>	52 (18.8)
<i>E. coli</i>	38 (13.7)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	23 (8.3)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	15 (5.4)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15 (5.4)
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	5 (1.8)
<i>Proteus mirabilis</i>	5 (1.8)
<i>Citrobacter koseri</i>	4 (1.4)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	4 (1.4)
<i>Pseudomonas</i> spp.	3 (1.0)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	2 (0.7)
<i>Serratia marcescens</i>	2 (0.7)
<i>Salmonella</i> spp.	2 (0.7)
<i>Morganella morganii</i>	1 (0.4)
<i>Burkholderia cepacia</i>	1 (0.4)
<i>Cardiobacterium hominis</i>	2 (0.7)
<i>Neisseria meningitidis</i>	1 (0.4)
<i>Bacteroides capillosus</i>	1 (0.4)
Гъбички	18 (6.5)
Общо клинично значими микроорганизми от хемокултури	277 (100.0)

Етиологична структура на лабораторно потвърдените инфекции на кръвта в болнично лекувани пациенти през 2016г.

Етиологичен причинител на инфекциите на кръвта	n (%)
Грам - положителни бактерии	104 (33.7)
<i>Staphylococcus aureus</i>	42 (13.6)
<i>Enterococcus faecalis</i>	20 (6.5)
<i>Streptococcus viridans</i>	14 (4.5)
<i>Staphylococcus coagulase negative</i>	8 (2.6)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6 (1.9)
<i>Enterococcus faecium</i>	3 (1.0)
<i>Streptococcus agalactiae</i>	4 (1.3)
<i>Corynebacterium</i> spp. (<i>C. jeikeium</i> , <i>C. matruchotii</i>)	2 (0.6)
<i>Streptococcus bovis</i>	2 (0.6)
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1 (0.3)
<i>Streptococcus bovis</i>	1 (0.3)
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	1 (0.3)
Грам - отрицателни бактерии	192 (62.1)
<i>E. coli</i>	51 (16.5)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	36 (11.7)
<i>Enterobacter cloacae</i>	31 (10.0)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	19 (6.1)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14 (4.5)
<i>Proteus mirabilis</i>	8 (2.6)
<i>Serratia marcescens</i>	5 (1.6)
<i>Morganella morganii</i>	5 (1.6)
<i>Pseudomonas</i> spp.	5 (1.6)
<i>Citrobacter</i> spp.	4 (1.3)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	3 (1.0)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	2 (0.6)
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	2 (0.6)
<i>Salmonella</i> group B	2 (0.6)
<i>Bacteroides fragilis</i>	3 (1.0)
<i>Proteus vulgaris</i>	1 (0.3)
<i>Achromobacter</i> spp.	1 (0.3)
Гъбички	13 (4.2)
Общо клинично значими микроорганизми от хемокултури	309 (100.0)

Етиологична структура на лабораторно потвърдените инфекции на кръвта в болнично лекувани пациенти през 2017г.

Етиологичен причинител на инфекциите на кръвта	n (%)
Грам - положителни бактерии	117 (39.4)
<i>Staphylococcus aureus</i>	50 (16.8)
<i>Enterococcus faecalis</i>	20 (6.7)
<i>Enterococcus faecium</i>	14 (4.7)
<i>Streptococcus viridans</i>	9 (3.0)
<i>Staphylococcus coagulase negative</i>	7 (2.4)
<i>Streptococcus agalactiae</i>	6 (2.0)
<i>Streptococcus bovis</i>	4 (1.3)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	4 (1.3)
<i>Streptococcus pyogenes</i>	2 (0.7)
<i>Streptococcus porcinus</i>	1 (0.3)
Грам - отрицателни бактерии	172 (57.9)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	35 (11.8)
<i>E. coli</i>	33 (11.1)
<i>Enterobacter cloacae</i>	22 (7.4)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	19 (6.4)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	19 (6.4)
<i>Serratia marcescens</i>	7 (2.4)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	6 (2.0)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	6 (2.0)
<i>Pseudomonas spp.</i>	5 (1.7)
<i>Proteus vulgaris</i>	4 (1.3)
<i>Citrobacter freundii</i>	4 (1.3)
<i>Burkholderia cepacia</i>	2 (0.7)
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	2 (0.7)
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	2 (0.7)
<i>Salmonella enteritidis</i>	3 (1.0)
<i>Providencia rettgerii</i>	1 (0.3)
<i>Pasteurella multocida</i>	1 (0.3)
<i>Bacteroides spp.</i>	1 (0.3)
Гъбички	8 (2.7)
Общо клинично значими микроорганизми от хемокултури	297 (100.0)

Етиологична структура на лабораторно потвърдените инфекции на кръвта в болнично лекувани пациенти през 2018г.

Етиологичен причинител на инфекциите на кръвта	n (%)
Грам - положителни бактерии	111 (38.8)
<i>Staphylococcus aureus</i>	71 (24.8)
<i>Enterococcus faecalis</i>	15 (5.2)
<i>Enterococcus faecium</i>	6 (2.0)
<i>Streptococcus viridans</i>	9 (3.1)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	5 (1.7)
<i>Staphylococcus coagulase negative</i>	2 (0.7)
<i>Streptococcus bovis</i>	2 (0.7)
<i>Streptococcus porcinus</i>	1 (0.3)
Грам - отрицателни бактерии	164 (57.4)
<i>E. coli</i>	50 (17.5)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	30 (10.5)
<i>Serratia marcescens</i>	14 (4.9)
<i>Enterobacter cloacae</i>	13 (4.5)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11 (3.8)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	13 (4.5)
<i>Citrobacter spp.</i>	8 (2.8)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	6 (2.0)
<i>Proteus mirabilis</i>	5 (1.7)
<i>Salmonella spp.</i>	4 (1.4)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	3 (1.0)
<i>Morganella morganii</i>	2 (0.7)
<i>Y. enterocolitica</i>	1 (0.3)
<i>Aeromonas veronii</i>	1 (0.3)
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	2 (0.7)
<i>Neisseria meningitidis</i>	1 (0.3)
Гъбички	11 (3.8)
Общо клинично значими микроорганизми от хемокултури	286 (100.0)

Етиологична структура на лабораторно потвърдените инфекции на кръвта в болнично лекувани пациенти през 2019г.

Етиологичен причинител на инфекциите на кръвта	n (%)
Грам - положителни бактерии	126 (43.2)
<i>Staphylococcus aureus</i>	61 (20.9)
<i>Enterococcus faecalis</i>	17 (5.8)
<i>Enterococcus faecium</i>	9 (3.0)
<i>Streptococcus viridans</i>	13 (4.5)
<i>Staphylococcus coagulase negative</i>	12 (4.1)
<i>Streptococcus agalactiae</i>	6 (2.0)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	3 (1.0)
<i>Streptococcus pyogenes</i>	2 (0.7)
<i>Listeria monocytogenes</i>	2 (0.7)
<i>Streptococcus bovis</i>	1 (0.3)
Грам - отрицателни бактерии	157 (53.8)
<i>E. coli</i>	62 (21.2)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	33 (11.3)
<i>Enterobacter cloacae</i>	12 (4.1)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	8 (2.7)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8 (2.7)
<i>Serratia marcescens</i>	5 (1.7)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	4 (1.3)
<i>Proteus mirabilis</i>	4 (1.3)
<i>Citrobacter freundii</i>	4 (1.3)
<i>Citrobacter brakii</i>	4 (1.3)
<i>Morganella morganii</i>	3 (1.0)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	2 (0.7)
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	4 (1.3)
<i>Bacteroides spp.</i>	3 (1.0)
<i>Salmonella spp.</i>	1 (0.3)
Гъбички	9 (3.0)
Общо клинично значими микроорганизми от хемокултури	292 (100.0)

Етиологична структура на лабораторно потвърдените инфекции на кръвта в болнично лекувани пациенти през 2020г.

Етиологичен причинител на инфекциите на кръвта	n (%)
Грам - положителни бактерии	126 (45.7)
<i>Staphylococcus aureus</i>	56 (20.3)
<i>Enterococcus faecalis</i>	33 (12.0)
<i>Streptococcus viridans</i>	13 (4.7)
<i>Enterococcus faecium</i>	11 (4.0)
<i>Staphylococcus coagulase negative</i>	8 (2.9)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	2 (0.7)
<i>Streptococcus agalactiae</i>	1 (0.4)
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1 (0.4)
<i>Corynebacterium jeikeium</i>	1 (0.4)
Грам - отрицателни бактерии	140 (50.7)
<i>E. coli</i>	47 (17.0)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	22 (8.0)
<i>Enterobacter cloacae</i>	16 (5.8)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	16 (5.8)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9 (3.3)
<i>Cirrobacter spp.</i>	9 (3.3)
<i>Proteus mirabilis</i>	5 (1.8)
<i>Serratia marcescens</i>	4 (1.4)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	3 (1.0)
<i>Morganella morganii</i>	3 (1.0)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1 (0.4)
<i>Aeromonas hydrophila</i>	1 (0.4)
<i>Burkholderia cepacia</i>	1 (0.4)
<i>Burkholderia gladioli</i>	1 (0.4)
<i>Pseudomonas putida</i>	1 (0.4)
<i>Neisseria meningitidis</i>	1 (0.4)
Гъбички	10 (3.6)
Общо клинично значими микроорганизми от хемокултури	276 (100.0)

ПРИЛОЖЕНИЕ 2

Формуляр за събиране на информация от болничната документация на пациенти лекувани в УМБАЛ „Света Марина“

Идентификационен номер в проучването (ID):

А. ДЕМОГРАФСКИ ДАННИ

1. Дата на приемане на пациента в УМБАЛ „Св. Марина“:
2. Пол: Мъж 0 Жена 1
3. Възраст:
4. Образование: основно и по-ниско 0 средно 1 Висше (Бак, Маг,) 2
5. Етническа принадлежност: българска 0 турска 2 ромска 3 друга 4
6. Социално икономически статус: нисък среден висок
7. Населено място, в което пациентът живее постоянно:
8. Има ли предхождащо до 30 дни преди настоящата хоспитализация:

Болнично лечение: Да 0 Не 1
Диализно лечение: Да 0 Не 1
Пребиваване в социална институция: Да 0 Не 1

Б. КЛИНИЧНИ И МИКРОБИОЛОГИЧНИ ДАННИ

9. Диагноза при приемане:
- 8.1 Код на Дг при прием по МКБ 10.....
10. Клиника, в която е приет пациента:
11. Антибиотици приемани преди вземане на биологичен материал:.....

-
.....
12. Дата на вземане на първи материал за микробиологично изследване:.....
13. Вид клиничен материал изследван до 2 ден включително от приема:
- Кръв 0, Урина 1, Ликвор 2, Ранев секрет 3, Друго 4
14. Изолиран бактериален вид:
15. Резултати от антибиограма:
- 15.1 Тестван за чувствителност към:.....
- 15.2 Чувствителен към:
- 15.3 Резистентен към:.....
16. Дата на вземане на втори материал за микробиологично изследване:.....
17. Вид клиничен материал изследван след 2 ден от приема (3 и повече дни):
Кръв 0, Урина 1, Ликвор 2, Ранев секрет 3, Друго 4
18. Инфекция придобита в: Общността 0 Болнична 1
19. Клинични синдроми:.....
20. Дата на изписване:
21. Диагноза при изписване:.....
22. Придружаващи заболявания:.....
23. Провеждана ли е хирургическа интервенция: Да 0 Не 1
24. Пациентът лежал ли е в интензивно отделение: Да 0 Не 1
25. Последващи хоспитализации /рехоспитализации/: Да 0 Не 1

БЛАГОДАРНОСТИ

Първо бих искала да благодаря на моя съпруг за безрезервната подкрепа, търпение и примера, който беше за мен през всичките години. Благодаря ти!

Изказвам своите сърдечни благодарности за помощта, професионализма и приятелството на Клара Докова, Радка Стоянова, на колективите на Лабораторията по клинична микробиология към УМБАЛ “Света Марина“ и на катедрата по Микробиология и Вирусология към Медицински Университет, Варна!

Благодаря на проф. д-р Иван Митов и на колегите от катедра „Медицинска Микробиология“ на Медицински Университет, София за дългогодишното професионално сътрудничество!

ПОСВЕЩЕНИЕ

Посвеждавам тази работа на моите скъпи родители!