ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
UNIVERSITY OF CRETE

ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
FACULTY OF MEDICINE

Διδακτορική διατριβή

«Συχνότητα, έκβαση και παράγοντες κινδύνου για λοιμώξεις από ανθεκτικούς στην κολιστίνη Gram αρνητικούς μικροοργανισμούς»

Δημήτριος Κ. Ματθαίου
Ειδικός Παθολόγος

ΗΡΑΚΛΕΙΟ 2015

© 2015
Δημητρίου Κ. Ματθαίου
ALL RIGHTS RESERVED

Αφιέρωση

Στους γονείς μου

Κωνσταντίνο και Φωτεινή Ματθαίου

Στη σύζυγο Ελένη

και στα τρία παιδιά μου Κωσταντή, Φώτη και Αχιλλέα χωρίς την παρουσία των οποίων το παρόν πόνημα θα είχε τελειώσει πολύ συντομότερα, αλλά με πολύ λιγότερες εμπειρίες και ωριμότητα.

Η Τριμελής Επιτροπή

1. Γεώργιος Σαμώνης, Καθηγητής Παθολογίας (επιβλέπων)
2. Αχιλλέας Γκίκας, Καθηγητής Παθολογίας (συνεπιβλέπων)
3. Δημήτριος Γεωργόπουλος, Καθηγητής Εντατικής Θεραπείας (συνεπιβλέπων)

Η Επταμελής Επιτροπή

1. Γεώργιος Σαμώνης, Καθηγητής Παθολογίας
2. Αχιλλέας Γκίκας, Καθηγητής Παθολογίας
3. Δημήτριος Γεωργόπουλος, Καθηγητής Εντατικής Θεραπείας
4. Διαμαντής Κοφτερίδης, Επίκουρος Καθηγητής Παθολογίας
5. Εμμανουήλ Γαλανάκης, Αναπληρωτής Καθηγητής Παιδιατρικής
6. Δημήτριος Μαυρουδής, Καθηγητής Παθολογικής Ογκολογίας
7. Εμμανουήλ Γανωτάκης, Καθηγητής Παθολογίας

«Η έγκρισις της Διδακτορικής Διατριβής υπό της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου της Κρήτης, δεν υποδηλοί αποδοχήν των γνωμών του συγγραφέως.»
(Νόμος 5343/32, άρθρ. 202 **§** 2 και ν. 1268/82, άρθρ. 50 **§** 8)

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ **7**

ΣΧΕΤΙΚΕΣ ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ **10**

ΠΕΡΙΛΗΨΗ **12**

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ **19**

1. ΙΣΤΟΡΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ – ΔΟΜΗ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ – ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΔΡΑΣΗΣ – ΦΑΡΜΑΚΟΤΕΧΝΙΚΕΣ ΜΟΡΦΕΣ **20**

1.1 Μηχανισμος δρασης 22

2. ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΗ – ΦΑΡΜΑΚΟΔΥΝΑΜΙΚΗ – ΔΟΣΟΛΟΓΙΑ – ΜΟΝΑΔΕΣ **23**

3. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ ΤΩΝ ΑΝΘΕΚΤΙΚΩΝ ΣΤΙΣ ΠΟΛΥΜΥΞΙΝΕΣ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ **29**

3.1 Ποσοστα αντοχης στις πολυμυξινες στην Αμερικη 30

3.2 Ποσοστα αντοχης στις πολυμυξινες στην Ασια 30

3.3 Ποσοστα αντοχης στις πολυμυξινες στην Ευρωπη 31

3.4 Ποσοστα αντοχης στις πολυμυξινες στην Αφρικη, την Ωκεανια και τον Ειρηνικο 31

3.5 Ποσοστα αντοχης σε ασθενεις με κυστικη ινωση 32

4. ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΑΝΤΟΧΗΣ ΣΤΗΝ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗ **33**

4.1 Μηχανισμοι αντοχης 33

4.2 Ετεροαντοχη 37

5. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΚΑΙ ΕΚΒΑΣΕΙΣ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ ΑΠΟ ΠΑΝΑΝΘΕΚΤΙΚΑ GRAM ΑΡΝΗΤΙΚΑ ΜΙΚΡΟΒΙΑ **38**

5.1 Ορισμος 38

5.2 Μελετες σε σειρες ασθενων με παναντθεκτικα βακτηρια 38

6. ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΕΠΙΛΟΓΕΣ ΓΙΑ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΥΣ ΣΤΙΣ ΠΟΛΥΜΥΞΙΝΕΣ GRAM ΑΡΝΗΤΙΚΟΥΣ ΒΑΚΙΛΟΥΣ **42**

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ **45**

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ Α' **46**

7. IN VITRO ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΤΩΝ ΑΝΘΕΚΤΙΚΩΝ ΣΤΗΝ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗ GRAM ΑΡΝΗΤΙΚΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΩΝ ΣΤΕΛΕΧΩΝ ΣΕ ΕΝΑ ΓΕΝΙΚΟ ΤΡΙΤΟΒΑΘΜΙΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ ΣΤΗΝ ΚΡΗΤΗ **46**

7.1 Εισαγωγη 46

7.2 Μεθοδοι 47

7.3 Αποτελεσματα 48

7.4 Συζητηση 50

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ Β' **54**

8. ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ ΑΠΟ ΠΑΝΑΝΘΕΚΤΙΚΑ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE, PSEUDOMONAS AERUGINOSA* ΚΑΙ *ACINETOBACTER BAUMANNII*: ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΚΑΙ ΕΚΒΑΣΗ ΣΕ ΜΙΑ ΣΕΙΡΑ 28 ΑΣΘΕΝΩΝ **54**

8.1 Εισαγωγη 54

8.2 Μεθοδοι 56

8.2.1 Σχεδιασμός της μελέτης και επιλογή ασθενών 56

8.2.2 Συλλογή δεδομένων ... 56
8.2.3 Ορισμοί ... 56
8.2.4 Μικροβιολογικές δοκιμασίες ... 57
8.3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ... 59
8.4 ΣΥΖΗΤΗΣΗ ... 63

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ Γ' ... 69

9. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΗΝ ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΑΝΘΕΚΤΙΚΩΝ ΣΤΗΝ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗ GRAM ΑΡΝΗΤΙΚΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ: ΜΙΑ ΜΕΛΕΤΗ ΑΣΘΕΝΟΥΣ-ΜΑΡΤΥΡΑ ΜΕ ΕΞΟΜΟΙΩΣΗ ... 69
9.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ ... 69
9.2 ΜΕΘΟΔΟΙ ... 71
9.2.1 Περιγραφή της μελέτης και επιλογή των ασθενών και των μαρτύρων ... 71
9.2.2 Μελέτη αντιμικροβιακής ευαισθησίας ... 72
9.2.3 Ορισμός της λοίμωξης και των εκβάσεων της μελέτης ... 72
9.2.4 Συλλογή δεδομένων ... 73
9.2.5 Στατιστική ανάλυση ... 74
9.3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ... 76
9.3.1 Ταυτοποίηση των ασθενών ... 76
9.3.2 Επιλογή εξομοιωμένων μαρτύρων ... 76
9.3.3 Παράγοντες κινδύνου για την απομόνωση παθογόνου ανθεκτικού στην κολιστίνη ... 76
9.3.4 Εκβάσεις ... 77
9.4 ΣΥΖΗΤΗΣΗ ... 80

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ ... 89

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ ... 100

ΠΛΗΡΗ ΚΕΙΜΕΝΑ ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΩΝ ... 111

Ευχαριστίες

Πολλοί εκλεκτοί συνάδελφοι συνέβαλαν αποφασιστικά, ο καθένας με τον τρόπο του, στην επιτυχή περαίωση αυτής της διατριβής. Πρώτα από όλους, ευχαριστώ τον επιβλέποντα Καθηγητή κ. Γεώργιο Σαμώνη και τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Ματθαίο Φαλάγγα αφενός για τη δυνατότητα εκπόνησης της διατριβής, αφετέρου για τη συμβολή τους στο σχεδιασμό του ερευνητικού πρωτοκόλλου, την καθοδήγησή τους κατά τα διάφορα στάδια της συγγραφής των επιστημονικών εργασιών και την αξιολόγηση και αξιοποίηση των επιστημονικών δεδομένων σε ένα ερευνητικό πεδίο που, αν και αφορά ένα παλαιό φάρμακο, τα κενά της επιστημονικής γνώσης είναι ακόμα μεγάλα.

Επιπλέον, τους ευχαριστώ από καρδιάς, επειδή πριν φτάσουμε στο στάδιο της εκπόνησης αυτής της διατριβής απετέλεσαν τους πρώτους μου δασκάλους στην επιστημονική έρευνα. Μου άνοιξαν το παράθυρο αυτής και της συγγραφής επιστημονικών εργασιών, γνωρίζοντας μου νέους ορίζοντες, αλλάζοντας άρδην την αντίληψή μου για την ιατρική επιστήμη και επιτρέποντάς μου, εντέλει, τη συμμετοχή στην παραγωγή και κοινωνία της επιστημονικής γνώσης.

Σημαντική συμβολή στην πραγματοποίηση αυτής της διατριβής είχε ο θανών Διευθυντής της Μονάδας Εντατικής Θεραπείας του νοσοκομείου «Ερρίκος Ντυνάν», κ. Αργύρης Μιχαλόπουλος παρέχοντας τη δυνατότητα πρόσβασης στο πρωτογενές υλικό των φακέλων των ασθενών από τους οποίους προέκυψαν τα συμπεράσματα της παρούσας μελέτης.

Ευχαριστώ πολύ τον Καθηγητή Παθολογίας κ. Αχιλλέα Γκίκα και τον Καθηγητή Εντατικής Θεραπείας κ. Δημήτριο Γεωργόπουλο για την αποδοχή τους να συμμετέχουν στην τριμελή επιτροπή και για τα σχόλια και τις διορθώσεις τους στο τελικό κείμενο της διατριβής. Επίσης, ευχαριστώ τον κ. Διαμαντή Κοφτερίδη, Επίκουρο Καθηγητή Παθολογίας, τον κ. Εμμανουήλ Γαλανάκη, Αναπληρωτή Καθηγητή Παιδιατρικής, τον κ. Δημήτριο Μαυρουδή, Καθηγητή Παθολογικής Ογκολογίας και τον κ. Εμμανουήλ Γανωτάκη, Αναπληρωτή Καθηγητή Παθολογίας, για τη συμμετοχή τους στην εφταμελή επιτροπή αξιολόγησης της παρούσας διατριβής.

Εντέλει, ευχαριστώ τους φίλους και συνεργάτες του Άλφα Ινστιτούτου Βιοϊατρικών Επιστημών (AIBE) για την πρακτική και ηθική συμπαράσταση σε όλη αυτή την προσπάθεια: Πέτρο Ραφαηλίδη, Κωνσταντίνο Βαρδάκα, Δρόσο Καραγεωργόπουλο, Σάρδη Θάλεια, Γεωργία Ντάνη, Βαγγέλη Αλεξίου, Ιωάννη Μπληζιώτη και Αναστάσιο Καπασκέλη.

«Υγεία». Ελαιογραφία του Rubens (1615). Φυλάσσεται στο Detroit Institute of Arts.

ΣΧΕΤΙΚΕΣ ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

Τα αποτελέσματα της εργασίας δημοσιεύθηκαν στα περιοδικά:

Critical Care Medicine (Impact factor (2014): 6.312), ***International Journal of Antimicrobial Agents*** (Impact factor (2014): 4.296), ***Clinical Infectious Diseases*** (Impact factor (2014): 8.886) και ***Drug Resistance Updates*** (Impact factor (2014): 9.121)

1. **Matthaiou DK**, Michalopoulos A, Rafailidis PI, Karageorgopoulos DE, Papaioannou V, Ntani G, Samonis G, Falagas ME. Risk factors associated with the isolation of colistin-resistant gram negative bacteria: a matched case-control study. *Crit Care Med*. 2008; 36:807-11.
2. Falagas ME, Rafailidis PI, **Matthaiou DK**, Virtzili S, Nikita D, Michalopoulos A. Pandrug-resistant Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii infections: characteristics and outcome in a series of 28 patients. *Int J Antimicrob Ag*. 2008; 32:450-4.
3. Samonis G, **Matthaiou DK**, Kofteridis D, Maraki S, Falagas ME. In vitro susceptibility to various antibiotics of colistin-resistant gram negative bacterial isolates in a general tertiary hospital in Crete, Greece. *Clin Infect Dis*. 2010; 50:1689-91.
4. Falagas ME, Rafailidis PI, **Matthaiou DK**. Resistance to polymyxins: Mechanisms, frequency and treatment options. *Drug Resist Update*. 2010; 13:132-8.

και παρουσιάστηκαν σε συνέδρια της Ευρωπαϊκής Εταιρίας Κλινικής Μικροβιολογίας και Λοιμωδών Νόσων

1. **D. Matthaiou**, A. Michalopoulos, P. Rafailidis, D. Karageorgopoulos, V. Papaioannou,

G. Ntani, G. Samonis, M. Falagas. Risk factors associated with the isolation of colistin-resistant Gram negative bacteria: a matched case-control study. *18th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID)*, Barcelona, Spain, April 2008. (Oral presentation)

2. M. Falagas, P. Rafailidis, **D. Matthaiou**, S. Virtzili, D. Nikita, A. Michalopoulos. Pandrug-resistant Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, and Acinetobacter baumannii infections: characteristics and outcomes in a series of 28 patients. *18th European Conference of Clinical Microbiology and Infection Diseases* (ECCMID), Barcelona, Spain, April 2008. (Poster presentation)

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι πολυμυξίνες, αν και είναι παλιά φάρμακα και ευρέως χρησιμοποιημένα, εγκαταλείφθηκαν την δεκαετία του ’80 λόγω παρενεργειών. Επανεμφανίστηκαν ως επιλογή για την αντιμετώπιση των gram αρνητικών λοιμώξεων μετά την ανάδυση πολυανθεκτικών παθογόνων.

Χορηγείται συνήθως στη μορφή της colistin methanosulphate και υδρολύεται σε κολιστίνη και άλλα μόρια. Η φαρμακοκινητική της δεν έχει πλήρως αποσαφηνιστεί και ένα σημείο που μπορεί να δημιουργήσει σύγχυση αφορά τις μονάδες μέτρησης για τη χορήγηση της. Πρόσφατες μελέτες κατέληξαν στη χορήγηση δόσης φόρτισης και ημερήσια δόση περισσότερων από 6 εκατομμύρια IU σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς με καλή νεφρική λειτουργία.

Η αντοχή στις πολυμυξίνες ποικίλει. Οι πιο συλλογικές αναφορές είναι αυτές του προγράμματος αντιμικροβιακής επαγρύπνησης SENTRY, το οποίο παρακολουθεί τα πρότυπα αντοχής διαφόρων παθογόνων που συλλέγονται από όλον τον κόσμο.

Ο πιο σημαντικός μηχανισμός ανάπτυξης αντοχής στις πολυμυξίνες περιλαμβάνει τροποποιήσεις της βακτηριακής εξωτερικής μεμβράνης, κυρίως μέσω της μετατροπής του λιποπολυσακχαρίτη. Περαιτέρω τροποποιήσεις της βακτηριακής εξωτερικής μεμβράνης μπορούν να συνεισφέρουν στην αντοχή στις πολυμυξίνες, ενώ ένας άλλος μηχανισμός περιλαμβάνει την ανάπτυξη ενός συστήματος αντλίας εκροής καλίου.

Τα δεδομένα που αφορούν ασθενείς που εκδήλωσαν λοίμωξη από πανανθεκτικά *P. aeruginosa, K. pneumoniae* και *A. baumannii* είναι περιορισμένα. Προκειμένου να αντιμετωπιστούν αυτές οι λοιμώξεις, η συνδυαστική θεραπεία φαίνεται να είναι πιο αποτελεσματική. Η συνδυαστική θεραπεία με σχήματα που περιέχουν πολυμυξίνες μαζί με άλλα αντιβιοτικά μπορεί να αποτελέσει μια εφικτή εναλλακτική για την θεραπεία των λοιμώξεων από ανθεκτικά στις πολυμυξίνες gram αρνητικά παθογόνα.

Αναλύσαμε τα πρότυπα αντιμικροβιακής αντοχής που εκφράστηκαν από στελέχη *K. pneumoniae, P. aeruginosa* και του γένους *Acinetobacter*, τα οποία απομονώθηκαν από ασθενείς που νοσηλεύονταν στο Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Ηρακλείου. Αυτή η ανάλυση έδειξε ότι ένα σημαντικό ποσοστό των gram αρνητικών βακτηριακών στελεχών που είναι ανθεκτικά στην κολιστίνη (κυρίως *K. pneumoniae*) από ασθενείς του συγκεκριμένου νοσοκομείου διατήρησαν την ευαισθησία τους σε διάφορους άλλους αντιμικροβιακούς παράγοντες.

Περιγράψαμε τα χαρακτηριστικά και την έκβαση λοιμώξεων από πανανθεκτικά Gram αρνητικά βακτήρια σε νοσηλευόμενους ασθενείς σε ένα τριτοβάθμιο νοσοκομείο. Η συνολική νοσοκομειακή θνητότητα ήταν 41.7%, ενώ η αποδοτέα θνητότητα στη λοίμωξη ήταν 33.3%. Οι λοιμώξεις από πανανθεκτικά Gram αρνητικά βακτήρια σχετίζονται με θνητότητα όχι τόσο υψηλή όσο θα αναμενόταν δεδομένου του γεγονότος ότι τα στελέχη ήταν ανθεκτικά σε όλα τα δοκιμασμένα αντιβιοτικά. Τα αντιβιοτικά που είναι αναποτελεσματικά in vitro μπορεί να αποδειχτούν σωτήρια για μερικούς από αυτούς τους ασθενείς, ιδίως σε συνδυαστικά σχήματα που περιέχουν κολιστίνη.

Πραγματοποιήσαμε μια μελέτη ασθενών-μαρτύρων με εξομοίωση για να ερευνήσουμε τους πιθανούς παράγοντες κινδύνου για την απομόνωση ανθεκτικών στην κολιστίνη *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, και *Pseudomonas aeruginosa* από νοσηλευόμενους ασθενείς σε ένα τριτοβάθμιο νοσοκομείο στην Αθήνα. Οι παράγοντες κινδύνου που σχετίζονταν σημαντικά με την απομόνωση των ανθεκτικών στην κολιστίνη στελεχών ήταν η ηλικία, η διάρκεια της παραμονής στη Μονάδα Εντατικής Θεραπείας, οι χειρουργικές διαδικασίες, η χρήση κολιστίνης, η χρήση μονοβακταμών, η διάρκεια χρήσης της κολιστίνης και η διάρκεια χρήσης αντιμυκητικών φαρμάκων. Η χρήση της κολιστίνης ταυτοποιήθηκε ως ο μόνος ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου.

Polymyxins, although they belong to an old antibiotic class and were widely used, they were abandoned in the mid-80's due to side effects. They re-emerged as a treatment option for infections due to gram-negative pathogens after the emergence of multidrug-resistant pathogens.

It is systematically administered in the form of colistin methanosulphate and it is hydrolyzed to colistin and other molecules. Its pharmacokinetics are not well-understood, and a matter that may cause confusion regards the measurement units used for its administration. Recent studies suggest the administration of a loading dose and a total daily dose of more than 6 million IU to critically ill patients with preserved renal function.

Resistance to polymyxins varies. The most cumulative reports come from SENTRY program, which monitors the resistance patterns of various pathogens that are collected worldwide.

The most important mechanism of resistance to polymyxins included modifications of the outer bacterial membrane, mainly through the modification of lipopolysaccharite. Further modifications of the outer bacterial membrane, may confer to the emergence of resistance to polymyxins. Another mechanism includes the development of an potassium-efflux pump.

Data regarding patients infected by pandrug-resistant *P. aeruginosa, K. pneumoniae* and

A. Baumannii are scarce. In order to successfully combat such infections, combination antibiotic therapy seems to be the most effective. Combination therapy with regimens including polymyxins along with other antibiotics may pose a useful alternative in treating infections due to polymyxin-resistant gram-negative pathogens.

We analyzed resistance patterns of strains belonging to *P. aeruginosa, K. pneumoniae* and *Acinetobacter* species, which were isolated from patients hospitalized in Herakleion University Hospital. This analysis showed that a significant portion of colistin-resistant gram-negative bacterial strains (mainly *K. pneumoniae*) isolated from patients of this particular hospital maintained sensitivity to several other antimicrobial agents.

We described characteristics and outcomes of infections due to pandrug-resistant gram-negative bacteria in patients hospitalized in a tertiary hospital. Overall in-hospital mortality was 41.7%, while attributable-mortality was 33.3%. Infection-related mortality due to pan-drug gram-negative bacteria is not as high as expected given that the studied strains were resistant to all available antibiotics. Antibiotics that are not active in vitro may prove lifesaving for some of these patients, especially in combination regimens including colistin.

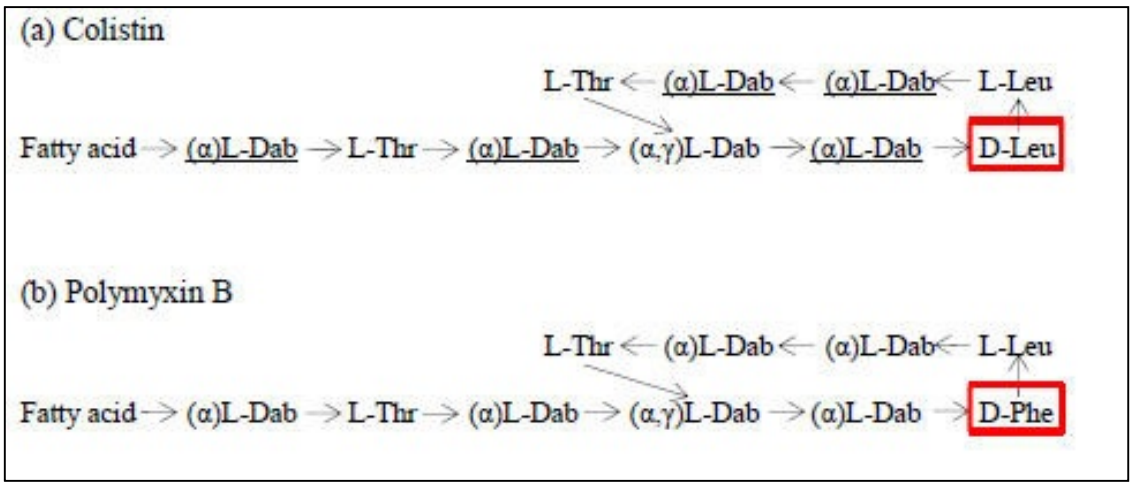
We conducted a matched case-control study to investigate potential risk factors for the isolation of colistin-resistant *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, and *Pseudomonas aeruginosa* from hospitalized patients in a tertiary hospital in Athens, Greece. Risk factors that were significantly associated with the isolation of colistin-

resistant isolates were age, duration of ICU stay, surgical procedures, use of colistin, use of monobactams, duration of colistin use, and duration of antifungal agent use. Colistin use was identified as the only independent risk factor.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΙΣΤΟΡΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ – ΔΟΜΗ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ – ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΔΡΑΣΗΣ – ΦΑΡΜΑΚΟΤΕΧΝΙΚΕΣ ΜΟΡΦΕΣ

Οι πολυμυξίνες περιλαμβάνουν την πολυμυξίνη Β και την κολιστίνη (πολυμυξίνη Ε) και είναι παράγωγα του Bacillus polymyxa υποείδος colistinus. Ανήκουν σε μια ποικιλόμορφη ομάδα φυσικών αντιμικροβιακών που βρίσκονται στα ευκαρυωτικά κύτταρα και ονομάζονται κατιονικά αντιμικροβιακά πεπτίδια. Δομικά, είναι δεκαπεπτίδια που συνδέονται με μια άλυσο λιπαρού οξέος. Αποτελούνται από έναν επταμελή κυκλικό δακτύλιο από αμινοξέα με μια τριπεπτιδική πλάγια άλυσο. Η πλάγια άλυσος είναι αυτή που συνδέεται στο λιπιδικό τμήμα του μορίου. Ο επταπεπτιδικός δακτύλιος είναι ο ίδιος στις δύο πολυμυξίνες με εξαίρεση ενός αμινοξέος, που είναι η φαινυλαλανίνη στην πολυμυξίνη Β και η λευκίνη στην κολιστίνη (Σχήμα 1).(1)



Σχήμα 1. Χημική δομή των πολυμυξινών

Οι πολυμυξίνες ανακαλύφθηκαν στα τέλη της δεκαετίας του ’40 και χρησιμοποιήθηκαν ευρέως μέχρι τα μέσα της δεκαετίας του ’80, οπότε και εγκαταλείφθηκαν λόγω διαφόρων

παρενεργειών, οι πιο σημαντικές εκ των οποίων είναι η νεφροτοξικότητα και η νευροτοξικότητα. Ωστόσο, παρέμειναν στην κλινική πράξη για την αντιμετώπιση πνευμονικών λοιμώξεων από μικρόβια ευαίσθητα σε αυτή σε ασθενείς με κυστική ίνωση και σε διαλύματα για τοπική χρήση μαζί με άλλα αντιμικροβιακά για την αντιμετώπιση ωτικών ή οφθαλμικών λοιμώξεων. Επανεμφανίστηκαν ως επιλογή για την αντιμετώπιση των gram αρνητικών λοιμώξεων σε ασθενείς χωρίς κυστική ίνωση, χορηγούμενες ενδοφλεβίως και/ή μέσω νεφελοποίησης ή ενδοραχιαίας έγχυσης, μετά την ανάδυση πολυανθεκτικών παθογόνων και τον επακόλουθο περιορισμό των πιθανών εναλλακτικών.(2) Παρά την σχετικά πρόσφατη επαναφορά τους στην κλινική πράξη, η αντοχή στην κολιστίνη αποτελεί ήδη ένα σημαντικό ζήτημα.

Οι πολυμυξίνες είναι δραστικές ενάντια στα gram αρνητικά παθογόνα συμπεριλαμβανομένων των *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella* spp., *Escherichia coli* και άλλων εντεροβακτηριοειδών. Εντούτοις, υπάρχουν είδη που έχουν ενδογενή αντοχή, όπως τα *Providencia* spp, *Neisseria* spp., *Proteus* spp., *Serratia marcescens* και *Burkholderia cepacia*. Οι πολυμυξίνες δεν είναι δραστικές ενάντια στα gram θετικά βακτήρια και στα αναερόβια.

Υπάρχουν πρόσφατες αναφορές για συνδυασμό κολιστίνης με αντιβιοτικά που έχουν δραστικότητα ενάντια στα gram θετικά βακτήρια, όπως τα γλυκοπεπτίδια και η λινεζολίδη, ως θεραπευτικά σχήματα σε λοιμώξεις από πολυανθεκτικό *A. baumannii*.(3, 4) Φαίνεται ότι ο συνδυασμός τους οδηγεί σε βελτιωμένες εκβάσεις χωρίς αύξηση της

τοξικότητας. Ωστόσο, η κλινική αποτελεσματικότητα του συνδυασμού μένει να διερευνηθεί περαιτέρω.

1.1 Μηχανισμός δράσης

Ο λιποπολυσακχαρίτης (LPS) είναι ένα δομικό συστατικό της βακτηριακής εξωτερικής μεμβράνης που αποτελείται από το αντιγόνο Ο, έναν βασικό πολυσακχαρίτη και το λιπίδιο Α, το οποίο είναι αγκυροβολημένο στην εξωτερική μεμβράνη.(5) Φέρει αρνητικό φορτίο και συμβάλλει στην ακεραιότητα και σταθερότητα της βακτηριακής εξωτερικής μεμβράνης. Οι πολυμυξίνες, φέροντας θετικό φορτίο, εκτοπίζουν τα ιόντα Mg^{2+} ή Ca^{2+} και συνδέονται στο λιπίδιο Α προκαλώντας την αποσταθεροποίηση και διάσπαση της εξωτερικής και εσωτερικής μεμβράνης.(6-10) Το πιο δραστικό τμήμα του μορίου της πολυμυξίνης είναι η υδρόφοβη λιπιδική ουρά. Το εννιαπεπτίδιο, που είναι το ακυλικό τμήμα που απομένει μετά την αφαίρεση του λιπιδικού συστατικού από το μόριο της πολυμυξίνης, διαθέτει και αυτό αντιμικροβιακές ιδιότητες, αν και σε μικρότερο βαθμό. Εκδηλώνει μικρότερη συγγένεια από ότι η υδρόφοβη ουρά, αλλά ευαισθητοποιεί τα βακτήρια στη δράση άλλων αντιβιοτικών και των ανθρώπινων ουδετεροφίλων.(11-13)

2. ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΗ – ΦΑΡΜΑΚΟΔΥΝΑΜΙΚΗ – ΔΟΣΟΛΟΓΙΑ – ΜΟΝΑΔΕΣ

Η κολιστίνη συστηματικά χορηγείται συνήθως στη μορφή της colistin methanosulphate (CMS), η οποία προτιμάται ως λιγότερο τοξική, αν και αποτελεί αδρανές προφάρμακο χωρίς ενδογενή αντιβακτηριακή δράση. Αυτό υδρολύεται σε κολιστίνη και άλλα μόρια.(14) Οι φαρμακοκινητικές ιδιότητες της κολιστίνης δεν είναι σαφείς για διάφορους λόγους, μεταξύ των οποίων είναι η μεταβλητότητα κατά τη διάσπαση και διάχυση του φαρμάκου. Τα δεδομένα προέρχονται κυρίως από ασθενείς με κυστική ίνωση, ενώ μελέτες σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς έχουν γίνει μόλις τα τελευταία χρόνια.

Ένα σημείο που μπορεί να δημιουργήσει σύγχυση αφορά τις μονάδες μέτρησης για τη χορήγηση της κολιστίνης. Οι δύο πιο συνηθισμένες μονάδες μέτρησης είναι οι διεθνείς μονάδες (IU) και τα χιλιοστογραμμάρια βασικής δραστικότητας της κολιστίνης (CBA). Οι IU χρησιμοποιούνται κυρίως στην Ευρώπη, το Ηνωμένο Βασίλειο και την Ινδία, ενώ τα mg CBA χρησιμοποιούνται στον υπόλοιπο κόσμο. Επιπλέον, οι συσκευασίες του CMS αναγράφουν την περιεκτικότητα του φαρμάκου σε mg. Η ισοδυναμία μεταξύ των μονάδων έχει ως εξής: 1 εκατομμύριο IU ισούται με 30 mg CBA και με 80 mg CMS (1 mg CBA είναι περίπου 2.7 mg CMS). Είναι συχνό το φαινόμενο της σύγχυσης ανάμεσα στα mg CBA με τα mg CMS, με αποτέλεσμα τη λανθασμένη δοσολόγηση του φαρμάκου.(15)

Επίσης, παρά τις τελευταίες μελέτες που έχουν καταλήξει στη σύσταση χορήγησης δόσης φόρτισης της κολιστίνης και στην ημερήσια δόση περισσότερων από 6

εκατομμύρια IU σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς με καλή νεφρική λειτουργία, φαίνεται ότι ως οδηγίες δεν έχουν ενσωματωθεί στα φύλλα οδηγιών χρήσης (SPCs) του φαρμάκου σε πολλές χώρες παγκοσμίως. Αντίθετα, σε πολλές από αυτές τα SPCs δεν είναι ενημερωμένα για τα δεδομένα που αφορούν τις ενδείξεις, τη δοσολόγηση και τα φαρμακοκινητικά δεδομένα του φαρμάκου.(16)

Σε μια πρόσφατη φαρμακοκινητική μελέτη σε 18 βαρέως πάσχοντες χορηγήθηκαν 3 εκατομμύρια IU τρεις φορές την ημέρα, που προσαρμοζόταν στα 2 εκατομμύρια IU τρεις φορές την ημέρα για ασθενείς που είχαν κάθαρση κρεατινίνης λιγότερη από 50 ml/min. Η συλλογή του αίματος για τον καθορισμό των φαρμακοκινητικών παραμέτρων γινόταν πριν από την πρώτη και την τέταρτη έγχυση και 15, 30, 60, 90, 120, 240, 360, και 465 min μετά το τέλος της πρώτης και της τέταρτης έγχυσης. Αν δεν ήταν βέβαιη η επίτευξη σταθερής κατάστασης στις συγκεντρώσεις του φαρμάκου, η συλλογή γινόταν μετά την έκτη ή έβδομη έγχυση. Επίσης, λαμβανόταν αίμα από κάποιους ασθενείς 60, 240, 480, 720, και 1440 min μετά το τέλος της τελευταίας έγχυσης.

Η ανάλυση των δεδομένων ανέδειξε γραμμική φαρμακοκινητική και για την κολιστίνη και για την CMS. Τα δεδομένα για την CMS ταίριαζαν σε μοντέλο διπλού διαμερίσματος, ενώ για την κολιστίνη σε μονού διαμερίσματος. Βρέθηκε ότι ο ρυθμός σχηματισμού της κολιστίνης από CMS ήταν πολύ χαμηλότερος σε σχέση με τους μη βαρέως πάσχοντες. Η μέγιστη συγκέντρωση σταθερής κατάστασης υπολογίστηκε σε 2.3 mg/l, που δηλώνει ότι οι συγκεντρώσεις κατά τις κρίσιμες πρώτες δόσεις είναι υποθεραπευτικές. Ακόμα και σε σταθερή κατάσταση η μέγιστη συγκέντρωση είναι οριακή, με αποτέλεσμα να

υποστηριχτεί ότι η χορήγηση δόσης φόρτισης και ενδεχομένως οι παρατεταμένοι χρόνοι έγχυσης να είναι απαραίτητοι για την επίτευξη ικανοποιητικών συγκεντρώσεων το αίμα.(17)

Σε μια ακόλουθη μελέτη που περιελάμβανε 10 ασθενείς, στο πρωτόκολλο της χορηγούμενης κολιστίνης προστέθηκε δόση φόρτισης 6 εκατομμυρίων IU. Η προσθήκη της δόσης φόρτισης είχε ως αποτέλεσμα την βελτιωμένη βακτηριακή θανάτωση, μειώνοντας τον χρόνο θανάτωσης από 20 στις 8.5 ώρες για στελέχη της *P. aeruginosa*. Αυτή η βελτίωση φάνηκε να συσχετίζεται με το μέγεθος της δόσης φόρτισης. Ωστόσο, δεν κατέστη δυνατό να εξηγηθεί η φαρμακοκινητική μεταβλητότητα ανάμεσα στους ασθενείς, όπως και στην προηγούμενη μελέτη.(18)

Οι βαρέως πάσχοντες ασθενείς που βρίσκονται σε συνεχή αιμοδιαδιήθηση αποτελούν μια ιδιαίτερη κατηγορία ασθενών όσον αφορά την φαρμακοκινητική της κολιστίνης. Μια πρόσφατη φαρμακοκινητική μελέτη των επιπέδων της CMS και της κολιστίνης σε 5 βαρέως πάσχοντες ασθενείς που βρίσκονταν σε συνεχή αιμοδιαδιήθηση, οι ερευνητές χορήγησαν 2 εκατομμύρια μονάδες 3 φορές την ημέρα. Το πρώτο συμπέρασμα της μελέτης ήταν ότι και οι δύο μορφές του φαρμάκου καθαίρονται με αυτή την τεχνική. Η συνολική κάθαρση της CMS βρέθηκε να είναι παρόμοια με προηγούμενες αναφορές, (19, 20) όμως η κάθαρση της κολιστίνης υπολογίστηκε ότι ήταν περίπου διπλάσια και οι συγκεντρώσεις της στο πλάσμα ήταν περίπου οι μισές. Από αυτά τα ευρήματα, προέκυψε η σύσταση ότι σε αιμοκαθαιρόμενους ασθενείς η δοσολογία θα πρέπει να παραμένει η ίδια με τους μη αιμοκαθαιρόμενους.(21)

Μελέτη αναφοράς για ζητήματα φαρμακοκινητικής στους βαρέως πάσχοντες αποτελεί αυτή των Garonzik και συν.,(19) η οποία συμπεριέλαβε 105 ασθενείς, από τους οποίους οι 12 ήταν σε αιμοδιάλυση και οι 4 σε θεραπεία συνεχούς νεφρικής αποκατάστασης. Η χορηγούμενη δόση CMS ήταν 5 εκατομμύρια IU κάθε 8 ως 24 ώρες και προσδιορίστηκαν οι φαρμακοκινητικές παράμετροι της CMS και της κολιστίνης. Ο μεγάλος αριθμός των συμμετεχόντων ασθενών επέτρεψε τη δημιουργία δοσολογικών συστάσεων, οι οποίες χρησιμοποιούνται πλέον σε μεγάλο βαθμό ως οδηγοί στην κλινική πράξη (Πίνακας 1).

Πίνακας 1. Συνιστώμενες δόσεις φόρτισης και ημερήσιες δόσεις συντήρησης για τη CMS[a] (προσαρμογή από Garonzik και συν.)

Δόση	Κατηγορία βαρέως πασχόντων ασθενών	Συστάσεις δοσολόγησης
Δόση φόρτισης	Όλες οι κατηγορίες ασθενών	Εξίσωση 1: Δόση φόρτισης CBA (mg) = $C_{ss,avg}$ στόχος[b] κολιστίνης × 2.0 × σωματικό βάρος (kg).[c] Προσοχή στην υποσημείωση *c*. Πρώτη δόση συντήρησης θα πρέπει να χορηγείται 24 h μετά.
Δόση συντήρησης	Όχι σε νεφρική υποκατάσταση	Εξίσωση 2: Ημερήσια δόση CBA (mg) = $C_{ss,avg}$ στόχος[b] κολιστίνης × (1.50 × CrCL + 30).[d] Συνιστώμενα διαστήματα χορήγησης σύμφωνα με την CrCL: <10 ml/min/1.73 m^2, κάθε 12 h, 10-70 ml/min/1.73 m^2 κάθε 12 (ή 8) h, και >70 ml/min/1.73 m^2 κάθε 12 (ή 8) h. Προσοχή στην υποσημείωση *d*.
	Θεραπεία διαλείπουσας νεφρικής υποκατάστασης	Ημερήσια δόση CBA σε μέρα χωρίς αιμοκάθαρση προς επίτευξη για κάθε 1.0 mg/l $C_{ss,avg}$ στόχου[b] κολιστίνης = 30 mg[e]. Συμπληρωματική δόση CBA σε μέρα αιμοκάθαρσης[f]: προσθήκη 50% στην ημερήσια δόση συντήρησης αν η συμπληρωματική δόση χορηγείται κατά την τελευταία ώρα της συνεδρίας αιμοκάθαρσης ή προσθήκη 30% στην ημερήσια δόση συντήρησης αν η συμπληρωματική δόση χορηγείται μετά τη συνεδρία αιμοκάθαρσης. Συνιστάται δοσολόγηση δις ημερησίως.
	Λήψη συνεχούς νεφρικής υποκατάστασης	Ημερήσια δόση CBA προς επίτευξη για κάθε 1.0 mg/l $C_{ss,avg}$ στόχου κολιστίνης = 192 mg.[g] Οι δόσεις μπορούν να χορηγούνται κάθε 8-12 h.

$C_{ss,avg}$: μέση συγκέντρωση σταθερής κατάστασης στο πλάσμα, CrCL: κάθαρση κρεατινίνης, MIC: ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση

[a] Εκφράζονται ως mg CBA για διάφορες κατηγορίες βαρέως πασχόντων ασθενών. Η συνιστώμενη ημερήσια δόση συντήρησης θα χορηγείται 24 h μετά την χορήγηση δόσης φόρτισης CMS. Π.χ. προς επίτευξη $C_{ss,avg}$ κολιστίνης στα 2.5 mg/l, ένας ασθενής 55 kg με CrCL 40 ml/min/1.73 m^2 θα λάμβανε δόση φόρτισης 275 mg CBA και μετά από 24 h χορήγηση δόσης συντήρησης 225 mg CBA την ημέρα σε 2 ή 3 διαιρεμένες ισόποσα δόσεις.

[b] Η $C_{ss,avg}$ στόχος της κολιστίνης εκφράζεται σε mg/l. Αυτός ο στόχος θα πρέπει να βασίζεται στην MIC, την εστία και την βαρύτητα της λοίμωξης.

[c] Χρησιμοποιείστε το βάρος που είναι μικρότερο (ιδεώδες ή πραγματικό) υπολογισμένο σε kg. Επί του παρόντος, συνιστάται προσοχή στην χρήση δόσης φόρτισης μεγαλύτερης από 300 mg CBA.

[d] Με βάση την ανάλυση για τους 101 βαρέως πάσχοντες που δεν ήταν σε θεραπεία συνεχούς νεφρικής υποκατάστασης, η $C_{ss,avg}$ στόχος της κολιστίνης εκφράζεται σε mg/l. Η CrCL εκφράζεται σε ml/min/1.73 m^2. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν διάφοροι τύποι υπολογισμού αρκεί να σταθμίζονται για επιφάνεια μάζας σώματος 1.73 m^2. Προσοχή όταν πρόκειται για ασθενείς με CrCL values > 70 ml/min/1.73 m^2 ή όταν ο στόχος είναι μια "υψηλή" $C_{ss,avg}$ κολιστίνης, επειδή και στις δύο περιπτώσεις ενδέχεται να υπολογιστούν πολύ υψηλές δόσεις πάνω από τα όρια.

[e] Με βάση την εξίσωση 2 και θεωρώντας την CrCL μηδενική.

[f] Συμπληρωματική δόση CMS προς επίτευξη παρόμοιας $C_{ss,avg}$ κολιστίνης σε μια μέρα συνεχούς αιμοκάθαρσης, όπως συμβαίνει σε μια μέρα χωρίς αιμοκάθαρση. Θεωρείται ότι η αιμοκάθαρση γίνεται προς το τέλος του μεσοδιαστήματος δοσολόγησης της CMS.

[g] Με βάση τη φαρμακοκινητική ανάλυση για τους 4 βαρέως πάσχοντες ασθενείς που λαμβάνουν θεραπεία συνεχούς νεφρικής υποκατάστασης.

3. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ ΤΩΝ ΑΝΘΕΚΤΙΚΩΝ ΣΤΙΣ ΠΟΛΥΜΥΞΙΝΕΣ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ

Η αντοχή στις πολυμυξίνες ποικίλει στα διάφορα μέρη του κόσμου και σε διαφορετικά περιβάλλοντα. Τα τυπικά περιβάλλοντα στα οποία χρησιμοποιούνται ευρέως οι πολυμυξίνες είναι οι ασθενείς με κυστική ίνωση και οι ασθενείς των Μονάδων Εντατικής Θεραπείας (ΜΕΘ). Τις τελευταίες δύο δεκαετίες έχουν υπάρξει διάφορες αναφορές σχετικά με τα ποσοστά της αντοχής στις πολυμυξίνες. Το παρόν πόνημα επικεντρώθηκε σε αναφορές που παρουσιάζουν στοιχεία σχετικά με την *K. pneumoniae*, την *P. aeruginosa* και το *A. baumannii*, εξαιρώντας αυτές που αναφέρουν μηδενικά ποσοστά αντοχής, αλλά και σε αναφορές που παρουσιάζουν στοιχεία από ασθενείς με κυστική ίνωση.

Οι πιο συλλογικές αναφορές είναι αυτές του προγράμματος αντιμικροβιακής επαγρύπνησης SENTRY, το οποίο παρακολουθεί τα πρότυπα αντοχής διαφόρων παθογόνων που συλλέγονται από όλον τον κόσμο σε τακτική βάση. Τα αναφερόμενα ποσοστά αντοχής είναι μικρότερα από 5% για την *P. aeruginosa* και τα είδη *Acinetobacter* και 6.7% για την *K. pneumoniae*.(22-28) Παρομοίως, η πλειονότητα των υπόλοιπων αναφορών παρουσιάζει ποσοστά αντοχής που ποικίλουν από πρακτικά μηδενικά μέχρι 10%. Εντούτοις, υπάρχουν επίσης μελέτες που αναφέρουν υψηλά ποσοστά αντοχής. Θα πρέπει να σημειωθεί αυτές οι διακυμάνσεις ενδέχεται να υπάρχουν λόγω διαφορών στην εφαρμοζόμενη μεθοδολογία. Μερικά εργαστήρια χρησιμοποιούν τη μέθοδο διάχυσης δίσκου κατά την οποία οι πολυμυξίνες διαχέονται πτωχά λόγω του

υψηλού μοριακού τους βάρους. Έτσι, είναι δυνατό να υποεκτιμηθεί η αντοχή όταν χρησιμοποιείται η μέθοδος διάχυσης δίσκου.

3.1 Ποσοστά αντοχής στις πολυμυξίνες στην Αμερική

Στη Βόρειο Αμερική, οι περισσότερες αναφορές προέρχονται από τις ΗΠΑ. Τα ποσοστά αντοχής για την *P. aeruginosa* και το A. baumannii είναι μικρότερα του 5.5%.(29-33) Εντούτοις, οι μελέτες αντοχής για την *K. pneumoniae* αναφέρουν υψηλότερα ποσοστά από 9% μέχρι 27%.(34-36) Μια μελέτη από τον Καναδά αναφέρει ποσοστά αντοχής για την *P. aeruginosa* στο 4%.(37) Στη Νότιο Αμερική, μελέτες από την Βραζιλία και την Χιλή αναφέρουν ποσοστά αντοχής για την *P.* aeruginosa και το *A. baumannii* μέχρι 9%.(38-40)

3.2 Ποσοστά αντοχής στις πολυμυξίνες στην Ασία

Στην Ασία, οι περισσότερες μελέτες αναφέρουν ποσοστά αντοχής μικρότερα από 10%.(41-47) Εντούτοις, υπάρχουν αναφορές που παρουσιάζουν ανησυχητικά υψηλά ποσοστά αντοχής. Υπάρχουν μελέτες από την Σιγκαπούρη και την Ινδία για την *P. aeruginosa* που αναφέρουν ποσοστά της τάξεως του 33% και 38.3%, αντίστοιχα.(48-50) Μελέτες για το *A. baumannii* από την Τουρκία και την Κορέα αναφέρουν ποσοστά αντοχής της τάξεως του 27.5% και 27.9%, αντίστοιχα.(51, 52) Στην μελέτη από την Κορέα, περαιτέρω υποομαδοποίηση σύμφωνα με τις γονιδιακές ακολουθίες rpoB των αναλυμένων στελεχών απέδωσαν ποσοστά που έφταναν μέχρι και στο 68.4% σε μία από τις υποομάδες.(52)

3.3 Ποσοστά αντοχής στις πολυμυξίνες στην Ευρώπη

Στην Ευρώπη, οι αναφορές παρουσιάζουν ποικίλα ποσοστά αντοχής. Σχετικά με το *A. baumannii*, οι περισσότερες αναφορές παρουσιάζουν ποσοστά μικρότερα του 6% (41, 53-56) με εξαίρεση μιας αναφοράς από την Βουλγαρία που παρουσιάζει ποσοστά της τάξης του 16.7%.(57) Τα ποσοστά αντοχής της *K. pneumoniae* ήταν 17% σε μια μελέτη από την Ρουμανία,(58) ενώ μελέτες από την Ελλάδα αναφέρουν ποσοστά 15.3% μέχρι 27.6%.(56, 59) Εντούτοις, κατά την ερμηνεία αυτών των σχετικά υψηλών ποσοστών, θα πρέπει να σημειωθεί ότι αφορούν πολυανθεκτικά ή ακόμα και πανανθεκτικά gram αρνητικά βακτήρια, για τα οποία υπάρχουν πολύ περιορισμένες ως και καθόλου θεραπευτικές επιλογές. Το παθογόνο με το υψηλότερο ποσοστό αντοχής στην κολιστίνη (40.2%) σε Ευρωπαϊκές αναφορές ήταν η *P. aeruginosa* σε μια μελέτη από την Ισπανία.(53)

3.4 Ποσοστά αντοχής στις πολυμυξίνες στην Αφρική, την Ωκεανία και τον Ειρηνικό

Οι αναφορές από την Αφρική είναι σπάνιες. Στοιχεία από τη Νιγηρία αναφέρουν ποσοστά αντοχής για την *P. aeruginosa* και την *K. pneumoniae* που είναι μικρότερα από 10%.(60) Εντούτοις, υπάρχει μία μελέτη από τη Ζιμπάμπουε που αναφέρει σωρευτικά δεδομένα για την *P. aeruginosa* από δύο διαφορετικά νοσοκομεία που αναφέρουν ποσοστά αντοχής της τάξεως του 53%.(61) Στοιχεία από την Ωκεανία και τον Ειρηνικό μπορούν να υπολογιστούν έμμεσα από τις μελέτες του SENTRY και αναφέρουν πολύ χαμηλά ποσοστά αντοχής.

3.5 Ποσοστά αντοχής σε ασθενείς με κυστική ίνωση

Οι περισσότερες μελέτες που αναφέρουν στοιχεία για την *P. aeruginosa* σε ασθενείς με κυστική ίνωση προέρχονται από την Ευρώπη και ποικίλουν σημαντικά. Υπάρχουν μελέτες από την Σκωτία που αναφέρουν ποσοστά που ποικίλουν από 16% μέχρι 40%.(62, 63) Είναι αξιοσημείωτο ότι μια αναφορά από το υπόλοιπο του Ηνωμένου Βασιλείου παρουσιάζει ποσοστά μόλις της τάξεως του 3.1%.(64) Σχετικές αναφορές από την Γερμανία παρουσιάζουν ποσοστά από 6.7% μέχρι 58.7%.(65, 66) Μια μελέτη από την Αυστραλία, που αναφέρει ευαισθησίες στελεχών *P. aeruginosa* υπό αερόβιες και αναερόβιες συνθήκες και συνθήκες βιομεμβρανών, παρουσιάζει ποσοστά αντοχής της τάξεως του 0%, 25% και 75%, αντίστοιχα.(67)

4. ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΑΝΤΟΧΗΣ ΣΤΗΝ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗ

4.1 Μηχανισμοί αντοχής

Τα gram αρνητικά βακτήρια μπορεί να αναπτύξουν αντοχή μέσω μηχανισμών που είναι κοινοί για την κολιστίνη και την πολυμυξίνη Β. Ο πιο σημαντικός μηχανισμός περιλαμβάνει τροποποιήσεις της βακτηριακής εξωτερικής μεμβράνης, κυρίως μέσω της μετατροπής του LPS τμήματος.(5, 68) Εντούτοις, περαιτέρω τροποποιήσεις της βακτηριακής εξωτερικής μεμβράνης μπορούν να συνεισφέρουν στην αντοχή στις πολυμυξίνες.(69, 70) Ένας άλλος μηχανισμός περιλαμβάνει την ανάπτυξη ενός συστήματος αντλίας εκροής καλίου που ανευρίσκεται στα είδη της *Yersinia*.(71) Παρόλο που δεν έχουν αναφερθεί ως τώρα ενζυματικοί μηχανισμοί αντοχής, γνωρίζουμε ότι τα είδη του *B. polymyxa* παράγουν κολιστινάση (Πίνακας 2).(72)

Πίνακας 2. Σύνοψη των μηχανισμών αντοχής στις πολυμυξίνες

Μηχανισμός αντοχής	**Παθογόνο**
Τροποποίηση τμήματος του πολυσακχαρίτη της εξωτερικής βακτηριακής μεμβράνης	*E. coli – S. enterica* ορότυπος *typhimurium* μεταξύ άλλων
Σύστημα αντλίας εκροής καλίου	*Y. pestis*
Αυξημένη παραγωγή του καψιδιακού πολυσακχαρίτη της εξωτερικής βακτηριακής μεμβράνης	*K. pneumoniae*
Αυξημένα επίπεδα της πρωτεΐνης H1 της εξωτερικής μεμβράνης	*P. aeruginosa*
Παραγωγή κολιστινάσης	*B. polymyxa*

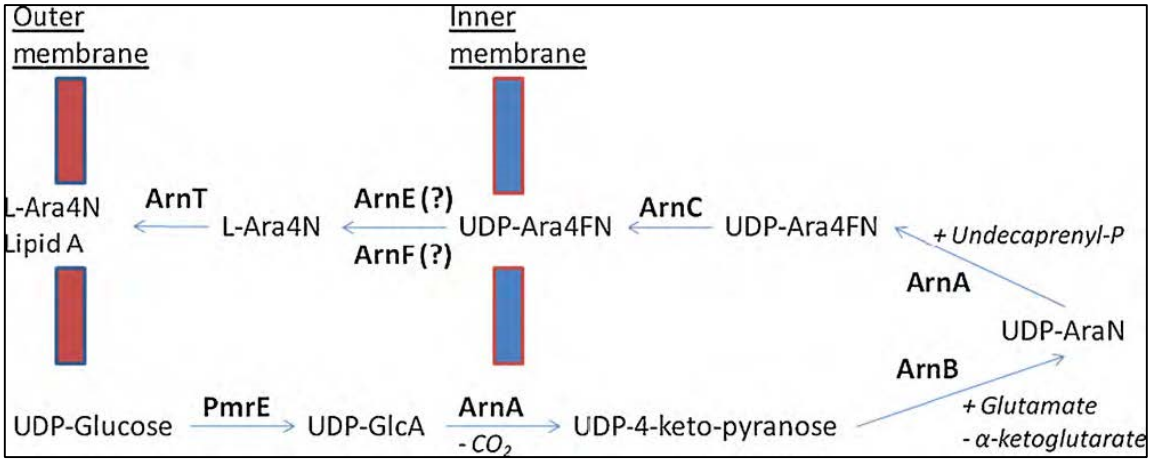
Η τροποποίηση του LPS γίνεται με την προσθήκη της 4-αμινο-4-δεοξυ-l-αραβινόζης (LAra4N) σε μια ομάδα του λιπιδίου Α. Αυτή η προσθήκη προκαλεί μια απόλυτη αύξηση στο φορτίο του λιπιδίου Α, μειώνοντας με αυτόν τον τρόπο την συγγένεια των θετικά φορτισμένων πολυμυξινών.(68)

Η βιοσύνθεση της LAra4N (Σχήμα 2) εξαρτάται από τα γονίδια του οπερονίου της αντοχής στις πολυμυξίνες, που ήταν γνωστό με το όνομα pmr, αλλά έχει μετονομαστεί σε arn.(73) Αυτό το οπερόνιο περιλαμβάνει τα γονίδια pmrHFIJKLM.

Αρχικά, η UDP-γλυκόζη αφυδρογονώνεται σε UDP-γλυκουρονικό οξύ (UDP-GlcA) από την PmrE αφυδρογονάση. Το UDP-GlcA επακολούθως αποκαρβοξυλιώνεται και τρανσαμινώνεται από την ArnA(PmrI) και την ArnB(PmrH) προς UDP-AraN.(74, 75) Η UDP-Ara4N φορμυλιώνεται από την ArnA προς UDP-Ara4FN και μεταφέρεται στην εσωτερική βακτηριακή μεμβράνη με τη βοήθεια της ArnC(PmrF), όπου αποφορμυλιώνεται και μεταφέρεται από την εσωτερική στην εξωτερική βακτηριακή μεμβράνη με μηχανισμούς που δεν είναι πλήρως κατανοητοί. Ωστόσο, η ArnE(PmrM) και η ArnF(PmrL) μπορεί να παίζουν ρόλο στην μεταφορά της UDP-Ara4FN διαμέσου της βακτηριακής εσωτερικής μεμβράνης.(76)

Τελικά, η ArnT(PmrK) μεταφέρει την LAra4N στο λιπίδιο Α.(5, 77) Αυτά τα γονίδια μελετήθηκαν πρώτα στον ορότυπο Typhimurium της *S. enterica* και στην *E. coli*.(78) Εντούτοις, παρόμοιες βιοσυνθετικές οδοί υπάρχουν και σε άλλα gram αρνητικά βακτήρια, όπως η *P. aeruginosa,* η *B. cepacia,* τα είδη της *Salmonella* και η *Yersinia pestis*.(79)

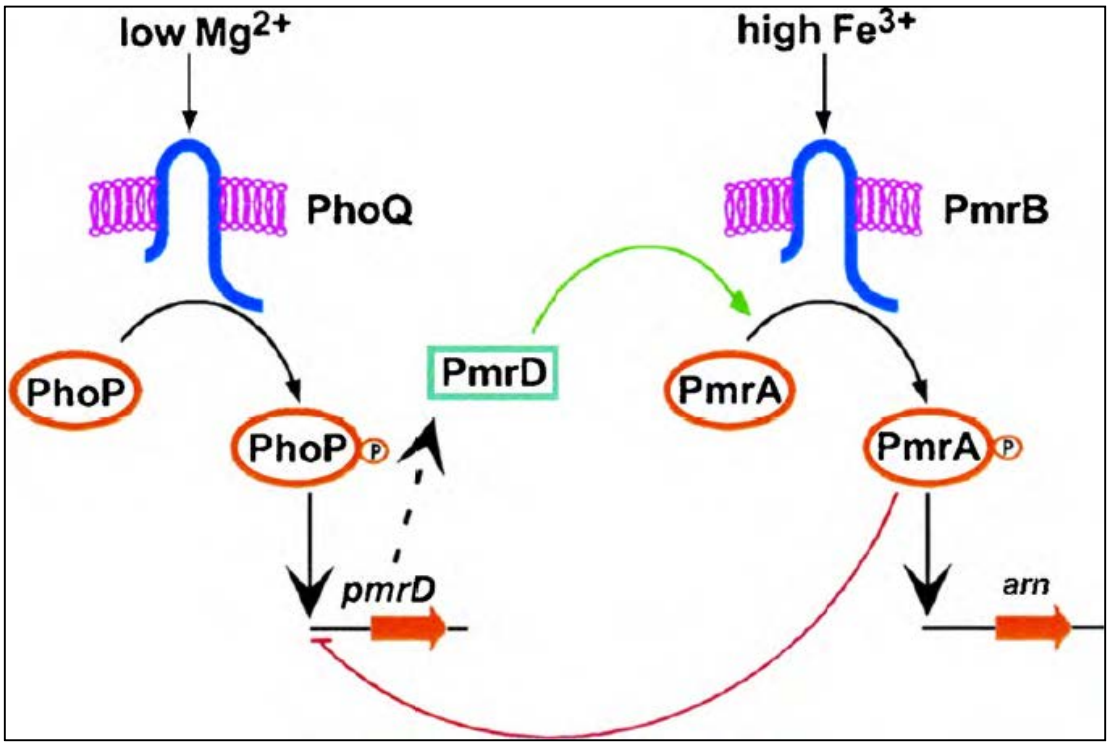
Σχήμα 2. Βιοσύνθεση της L-Ara4N και τροποποίηση του λιπιδίου Α.



Inner membrane: εσωτερική μεμβράνη; Outer membrane: εξωτερική μεμβράνη

Η βιοσύνθεση της LAra4N διαμεσολαβείται από τα διπλά ρυθμιστικά συστήματα των PmrA/PmrB και PhoP/PhoQ (Σχήμα 3). Η PmrB είναι μια κινάση-αισθητήρας που είναι ενσωματωμένη στην κυτταροπλασματική μεμβράνη και φέρει υπόλειμμα ιστιδίνης στο τμήμα που είναι ενσωματωμένο στη μεμβράνη. Ενεργοποιείται από υψηλές συγκεντρώσεις Fe^{3+} ή από το χαμηλό pH. Μόλις ενεργοποιηθεί, φωσφορυλιώνει το ασπαρτικό υπόλειμμα της PmrA, η οποία είναι μια ρυθμιστική πρωτεΐνη του οπερονίου arn.(80) Η PhoP είναι μια άλλη κινάση-αισθητήρας που διαπερνά την κυτταροπλασματική μεμβράνη, η οποία ενεργοποιείται από χαμηλές συγκεντρώσεις Mg^{2+} ή Ca^{2+}.(78, 81) Μόλις ενεργοποιηθεί, φωσφορυλιώνει την ρυθμιστική PhoQ, που με τη σειρά της ενεργοποιεί την μεταγραφή της PmrD. Η PmrD έχει προστατευτικό ρόλο αναστέλλοντας την αποφωσφορυλίωση της PmrA, συμβάλλοντας έτσι στην προαγωγή της μεταγραφής του arn.(82) Η PmrA, με τη σειρά της, ασκεί αρνητική ανατροφοδότηση καταστέλλοντας την μεταγραφή του pmrD γονιδίου κάτω από συνθήκες που ενεργοποιούν την PmrA, όπως οι υψηλές συγκεντρώσεις Fe^{3+}.(83)

Σχήμα 3. Τα διπλά ρυθμιστικά συστήματα PmrA/PmrB και PhoP/PhoQ (Τροποποιημένο από Kato A et al. PNAS 2003;100:4706-4711©)



Αυτοί οι μηχανισμοί, αν και είναι κοινοί στα gram αρνητικά βακτήρια, εμφανίζουν παραλλαγές ανάμεσα στα είδη. Τα συστήματα PmrA/PmrB και PhoP/PhoQ, όπως περιγράφτηκαν, υπάρχουν στα είδη της *Salmonella* και μελετήθηκαν καλά στον ορότυπο Typhimurium της *S. enterica*.(78) Στην *Y. pestis,* δεν υοάρχει η PmrD. Και τα δύο συστήματα μπορούν να προάγουν απευθείας την μεταγραφή του οπερονίου arn.(84) Στην *E. coli*, αν και υπάρχει το σύστημα PhoP/PhoQ και προάγει την μεταγραφή του pmrD, δεν ενεργοποιεί το σύστημα PmrA/PmrB.(85) Στην *P. aeruginosa,* οι συγκεντρώσεις Mg^{2+} ρυθμίζουν απευθείας το σύστημα PmrA/PmrB.(80) Επίσης, τα κύτταρα που επιδεικνύουν υψηλή μεταβολική δραστηριότητα από βιομεμβράνες της *P. aeruginosa*

αναφέρθηκε ότι αναπτύσσουν αντοχή στην κολιστίνη, ρυθμίζοντας αυξητικά την μεταγραφή του arn.(86) Στο *A. baumannii*, οι μηχανισμοί αντοχής δεν είναι καλώς κατανοητοί. Εντούτοις, οι μεταλλάξεις στα γονίδια που κωδικοποιούν το PmrA/PmrB συνδέονται με αντοχή στις πολυμυξίνες.(87)

Περαιτέρω τροποποιήσεις της βακτηριακής εξωτερικής μεμβράνης περιλαμβάνουν την αυξημένη παραγωγή του καψιδιακού πολυσακχαρίτη (CPS) στην *K. pneumoniae*. Ο CPS περιορίζει την αλληλεπίδραση των πολυμυξινών με τα σημεία-στόχους τους. Έτσι, η αυξητική ρύθμιση της παραγωγής του CPS συμβάλλει στην αυξημένη αντοχή στις πολυμυξίνες.(69) Επιπλέον, τα αυξημένα επίπεδα της H1 πρωτεΐνης της εξωτερικής μεμβράνης αναστέλλει τη δράση των πολυμυξινών αναπληρώνοντας τα ιόντα Mg^{2+} ή Ca^{2+} στις θέσεις σύνδεσης του LPS.(88, 89)

4.2 Ετεροαντοχή

Η ετεροαντοχή μπορεί να οριστεί ως η ανάδυση αντοχής σε ένα συγκεκριμένο αντιβιοτικό από έναν υποπληθυσμό ενός κατά τα λοιπά ευαίσθητου πληθυσμού σε αυτό το αντιβιοτικό σύμφωνα με τον έλεγχο ευαισθησίας.(90) Η ετεροαντοχή στην κολιστίνη δεν είχε αναφερθεί μέχρι πρόσφατα. Σχετικές αναφορές παρουσιάζουν στοιχεία ετεροανθεκτικών στελεχών *A. baumannii* από ασθενείς που εισήχθηκαν στη ΜΕΘ.(91, 92). Οι ετεροανθεκτικοί βακτηριακοί πληθυσμοί, ειδικότερα, βρέθηκαν να είναι σημαντικά υψηλότεροι σε στελέχη που απομονώθηκαν από ασθενείς που είχαν θεραπευτεί προηγουμένως με κολιστίνη.(93) Η ανάδυση ετεροαντοχής σχετίζεται με την έκθεση σε υποβέλτιστη δοσολογία πολυμυξινών. Εντούτοις, η κλινική της σημασία μένει να προσδιοριστεί.

5. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΚΑΙ ΕΚΒΑΣΕΙΣ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ ΑΠΟ ΠΑΝΑΝΘΕΚΤΙΚΑ GRAM ΑΡΝΗΤΙΚΑ ΜΙΚΡΟΒΙΑ

5.1 Ορισμός

Με τον όρο πανανθεκτικά μικρόβια, ορίζουμε τα μικρόβια που δεν εμφανίζουν ευαισθησία σε καμία από τις διαθέσιμες ομάδες αντιμικροβιακών. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι αυτός είναι ένας δυναμικός ορισμός, που αφορά τα αντιμικροβιακά που είναι διαθέσιμα σε δεδομένη χρονική στιγμή.(94, 95) Τα βακτηριακά στελέχη που συναντώνται σε αυτή την κατηγορία ανήκουν συνήθως στην *P. aeruginosa, K. pneumoniae* και *A. baumannii.*

5.2 Μελέτες σε σειρές ασθενών με πανανθεκτικά βακτήρια

Τα δεδομένα που αφορούν ασθενείς που εκδήλωσαν λοίμωξη από πανανθεκτικά *P. aeruginosa, K. pneumoniae* και *A. baumannii* είναι περιορισμένα. Οι πρώτες σχετικές αναφορές δημοσιεύτηκαν μόλις στις αρχές του 21^{ου} αιώνα.

Σημαντικό μέρος των διαθέσιμων στοιχείων προέρχεται από την Άπω Ανατολή και συγκεκριμένα από Ταϊβάν και Ταϊλάνδη και συμπεριλάμβαναν ασθενείς που είχαν λοίμωξη από *A.baumannii* και *P.aeruginosa*.(96-98) Οι Kuo και συν.(96) περιέγραψαν 30 ασθενείς με βακτηριαιμία από *A.baumannii* με συνολική θνητότητα 60% και αποδοτέα θνητότητα 40%, ενώ η βακτηριαιμία αναπτύχθηκε κατά μέσο όρο μετά από 33 ημέρες νοσηλείας. Η κλινική έκβαση των ασθενών φάνηκε να σχετίζεται με τις συνοσηρότητες των ασθενών και μπορούσε να προβλεφθεί από την ύπαρξη πολυοργανικής ανεπάρκειας. Έχει ενδιαφέρον ότι δε βρέθηκε κάποια συγκεκριμένη

αντιμικροβιακή θεραπεία να υπερτερεί στην αποτελεσματικότητα. Ο μόνος τρόπος αντιμετώπισης των λοιμώξεων ήταν η εφαρμογή μέτρων ελέγχου και πρόληψης. Οι Wang και συν.(97) περιέγραψαν 19 ασθενείς με λοίμωξη από *P. aeruginosa* με συνολική θνητότητα 73.7%, ενώ η μέση περίοδος ανάμεσα στην απομόνωση μη πανανθεκτικου και πανανθεκτικού στελέχους ήταν 128.3 ημέρες. Οι Inchai και συν.(98) περιέγραψαν 12 ασθενείς με πνευμονία σχετιζόμενη με τον αναπνευστήρα από *A. baumannii*. Η προηγηθείσα χρήση κολιστίνης, καρβαπενεμών και το υψηλό SAPS II σκορ βρέθηκαν ως παράγοντες κινδύνου για ανάπτυξη πνευμονίας σχετιζόμενη με τον αναπνευστήρα από *A. baumannii.*

Η πλειοψηφία των μελετών με ασθενείς που εκδήλωσαν λοίμωξη από πανανθεκτικά βακτήρια προέρχονται από την Ελλάδα.(99-101) Πρώτοι οι Φαλάγγας και συν.(99) περιέγραψαν μια σειρά 7 ασθενών με διάφορες λοιμώξεις από *P.aeruginosa* (5 ασθενείς) και *K. pneumoniae* (2 ασθενείς) με συνολική θνητότητα 42.9%. Κλινική θεραπεία της λοίμωξης επιτεύχθηκε στο 66.7% των ασθενών, ενώ η απομόνωση του πανανθεκτικού βακτηρίου έγινε κατά μέσο όρο 36.3 ημέρες μετά την εισαγωγή. Όλοι οι ασθενείς έλαβαν συνδυασμό κολιστίνης με β-λακτάμη +/- ένα τρίτο αντιβιοτικό. Οι Μεντζελόπουλος και συν.(100) περιέγραψαν 7 ασθενείς με πνευμονία σχετιζόμενη με τον αναπνευστήρα από *P. aeruginosa* με συνολική θνητότητα 20%. Ο μόνος ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για ανάπτυξη πνευμονίας σχετιζόμενη με τον αναπνευστήρα από πανανθεκτική *P. aeruginosa* ήταν η συνδυασμένη χρήση καρβαπενέμης για περισσότερο από 20 ημέρες και κολιστίνης για περισσότερο από 13 ημέρες. Οι Τσιούτης και συν.(101) περιέγραψαν 21 ασθενείς με λοιμώξεις από πανανθεκτικά βακτήρια, από τους οποίους απομονώθηκαν

18 *K. pneumoniae,* 4 *A. baumannii* και 1 *P. aeruginosa*. Η συνολική και η αποδοτέα θνητότητα ήταν 23.8%. Οι λοιμώξεις αναπτύχθηκαν κατά μέσο όρο 41.5 μέρες μετά την εισαγωγή. Τα χορηγούμενα θεραπευτικά σχήματα που χρησιμοποιήθηκαν περιείχαν κολιστίνη (47.6%) ή τιγκεκυκλίνη (33.3%). Είναι ενδιαφέρον ότι όλοι οι ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με τιγκεκυκλίνη θεραπεύτηκαν και είχαν σημαντικά μικρότερο χρόνο νοσηλείας μετά την εκδήλωση της λοίμωξης. Από τις ΗΠΑ προέρχεται μια μοναδική μελέτη με 2 ασθενείς με λοίμωξη από *K. pneumoniae* που έλαβαν θεραπευτικά σχήματα με βάση την τιγκεκυκλίνη και είχαν θνητότητα 50%.(102)

Συνοπτικά, φαίνεται ότι οι λοιμώξεις από πανανθεκτικά παθογόνα συμβαίνουν, όπως αναμενόταν, σε ασθενείς βαρέως πάσχοντες που νοσηλεύονται σε μονάδες εντατικής θεραπείας. Αυτοί συνήθως έχουν μακρά νοσηλεία, προηγούμενη έκθεση σε αντιβιοτικά, ενώ έχουν υποστεί πολυφαρμακία. Προκειμένου να αντιμετωπιστούν αυτές οι λοιμώξεις, η συνδυαστική θεραπεία, συνήθως με κολιστίνη και μεροπενέμη, φαίνεται να είναι πιο αποτελεσματική.

Η ενδιαφέρουσα παρατήρηση σε αυτούς τους ασθενείς, είναι ότι η θνητότητα, τουλάχιστο για τις ελληνικές σειρές, είναι συγκρίσιμη με αυτή σειρών ασθενών που εκδήλωσαν λοίμωξη με πολυανθεκτικά παθογόνα. Αυτό θα μπορούσε να αποδοθεί στη διαφορά της αποτελεσματικότητας των διαφόρων αντιβιοτικών in vivo και in vitro, δεδομένου ότι σε κάποια διαμερίσματα επιτυγχάνονται χαμηλές συγκεντρώσεις, ενώ σε άλλα υψηλές, σύμφωνα με τις φαρμακοκινητικές ιδιότητες του κάθε αντιβιοτικού. Επίσης, είναι πιθανόν τα πανανθεκτικά στελέχη να έχουν μειωμένη μολυσματικότητα σε

σχέση με τα πολυανθεκτικά λόγω των μεταλλάξεων που οδήγησαν στην αντοχή σε όλα τα διαθέσιμα αντιβιοτικά. Αυτές τα έκαναν πιο ανθεκτικά στη δράση τους με αντίστοιχο κόστος στη μολυσματικότητά τους απέναντι στον ξενιστή. Η τελευταία υπόθεση μελετήθηκε σε ένα πειραματικό μοντέλο με κουνέλια στα οποία προκλήθηκε βακτηριαιμία με πολυανθεκτικά και πανανθεκτικά στελέχη *K. pneumoniae.* Βρέθηκε ότι η βακτηριαιμία που προκλήθηκε από τα πανανθεκτικά στελέχη προκάλεσε λιγότερες βλάβες συγκριτικά με την βακτηριαιμία από πολυανθεκτικά. Τα κουνέλια με βακτηριαιμία από πανανθεκτικά βακτήρια επέζησαν περισσότερο και εξεδήλωσαν μικρότερη φλεγμονώδη απάντηση.(103)

6. ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΕΠΙΛΟΓΕΣ ΓΙΑ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΥΣ ΣΤΙΣ ΠΟΛΥΜΥΞΙΝΕΣ GRAM ΑΡΝΗΤΙΚΟΥΣ ΒΑΚΙΛΟΥΣ

Η έλλειψη επιλογών για την θεραπεία των λοιμώξεων από ανθεκτικά στις πολυμυξίνες gram αρνητικά παθογόνα καθιστά απαραίτητη την εύρεση άλλων λύσεων. Η συνδυαστική θεραπεία με σχήματα που περιέχουν πολυμυξίνες μαζί με άλλα αντιβιοτικά μπορεί να αποτελέσει μια εφικτή εναλλακτική. Υπάρχουν μελέτες που αναφέρουν ενθαρρυντικά στοιχεία από ασθενείς με τέτοιες λοιμώξεις μετά τη θεραπεία με ποικίλους συνδυασμούς κολιστίνης με άλλα αντιβιοτικά.(2, 104) Ο συχνότερος συνδυασμός της κολιστίνης ήταν με μεροπενέμη. Ακόμα, η ιμιπενέμη/σιλαστατίνη και η αμπικιλλίνη/σουλβακτάμη έχουν επίσης χορηγηθεί σε συνδυασμό με κολιστίνη. Μια πρόσφατη μεγάλη μελέτη κοορτής ασθενών με λοιμώξεις από πολυανθεκτικά gram αρνητικά βακτήρια αναφέρει ευνοϊκές εκβάσεις σε πάνω από 75% των ασθενών, όταν το θεραπευτικό σχήμα περιλάμβανε συνδυασμό κολιστίνης με μεροπενέμη ή αμπικιλίνη/σουλβακτάμη.(105)

Η τιγκεκυκλίνη αποτελεί ένα νεότερο αντιμικροβιακό και είναι το πρώτο μέλος της τάξης των γλυκυλκυκλινών, οι οποίες είναι παράγωγα της τετρακυκλίνης. Έχει ευρύ αντιμικροβιακό φάσμα που περιλαμβάνει gram θετικά και gram αρνητικά βακτήρια. Εντούτοις, η *P. aeruginosa* έχει ενδογενή αντοχή στην τιγκεκυκλίνη.(106) Επιπρόσθετα, οι Proteae έχουν επίσης φυσική αντοχή μικρού βαθμού στην τιγκεκυκλίνη. Πρόσφατες μελέτες αναφέρουν πολύ καλή αντιμικροβιακή δραστικότητα της τιγκεκυκλίνης ενάντια στα Εντεροβακτηριοειδή και ειδικά στην *K. pneumoniae*. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι σύμφωνα με τα όρια ευαισθησίας της EUCAST πολλά στελέχη της *K. pneumoniae* έχουν

ενδιάμεση ευαισθησία στην τιγκεκυκλίνη. Οι κλινικές μελέτες, αν και περιλαμβάνουν μικρό δείγμα ασθενών, αναφέρουν ευνοϊκές εκβάσεις σε σχεδόν 70% των ασθενών με λοίμωξη από ανθεκτικά στις καρβαπενέμες πολυανθεκτικά Εντεροβακτηριοειδή ή πολυανθεκτικά Εντεροβακτηριοειδή που παράγουν ευρέως φάσματος β-λακταμάσες.(107) Τα σχετικά στοιχεία από λοιμώξεις λόγω πολυανθεκτικών *A. baumannii* είναι σπάνια. Παρόλο που η τιγκεκυκλίνη έχει καλή αντιμικροβιακή δραστικότητα, ανάλογα με τα όρια ευαισθησίας που χρησιμοποιούνται, υπάρχουν ήδη μελέτες που αναφέρουν αντοχή. Η πλειονότητα των σχετικών στοιχείων προέρχονται από λοιμώξεις λόγω *A. baumannii*. Τα δεδομένα από άλλα είδη είναι ακόμα σπανιότερα για να επιτρέψουν σημαντικά συμπεράσματα που αφορούν τις εκβάσεις.(108-110) Παρόλο που αποτελεί μια χρήσιμη εναλλακτική, ο μεγάλος όγκος κατανομής της, που έχει ως αποτέλεσμα τις πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις ελεύθερου φαρμάκου στον ορό, την καθιστά ακατάλληλη για τη θεραπεία λοιμώξεων της αιματικής ροής. Έτσι, η τιγκεκυκλίνη θα πρέπει να χρησιμοποιείται με σύνεση και για συγκεκριμένες λοιμώξεις.

Η φωσφομυκίνη είναι ένα αντιβιοτικό για το οποίο το ενδιαφέρον έχει ανανεωθεί πρόσφατα και θα μπορούσε να αποτελέσει μια χρήσιμη εναλλακτική είτε σε συνδυασμό είτε ως μονοθεραπεία, αν και η τελευταία δε συνιστάται λόγω του ισχυρού ενδεχόμενου ανάδυσης αντοχής στο φάρμακο. Μπορεί να χορηγηθεί από το στόμα ως άλας τρομεθαμίνης ή ασβεστίου ή ενδοφλεβίως. Εντούτοις, ο βαθμός της εντερικής απορρόφησης του άλατος τρομεθαμίνης είναι υψηλότερη συγκριτικά με το άλας ασβεστίου. Η βιοδιαθεσιμότητα από το στόμα των δύο αλάτων είναι 40% και 12% ως 28%, αντίστοιχα.(111) Μέχρι πρόσφατα, χρησιμοποιούνταν κυρίως για την

αντιμετώπιση των λοιμώξεων του ουροποιητικού. Εντούτοις, έχει χρησιμοποιηθεί για την θεραπεία βαρέως πασχόντων ασθενών με λοιμώξεις από ανθεκτική στις καρβαπενέμες *K. pneumoniae*.(112) Άλλα δημοσιευμένα στοιχεία συνιστούν ότι η φωσφομυκίνη μπορεί να έχει θέση στην αντιμετώπιση λοιμώξεων από πολυανθεκτική *P. aeruginosa*.(113) Ωστόσο, θα πρέπει να εξετάζεται το ενδεχόμενο αντοχής *A. baumannii* στην φωσφομυκίνη.(114)

In vitro δεδομένα έδειξαν αυξημένη ευαισθησία στη ριφαμπικίνη του ανθεκτικού στην κολιστίνη *A. baumannii*, ακόμα και στην ελάχιστη συγκέντρωση ριφαμπικίνης που ελέγχθηκε. Προκαλεί ενδιαφέρον το γεγονός ότι σημειώθηκε αυξημένη ευαισθησία για άλλα αντιβιοτικά (τεϊκοπλανίνη, κουινουπριστίνη-δαλφοπριστίνη, φουσιδικό οξύ) που είναι συνήθως μη δραστικά ενάντια στα gram αρνητικά βακτήρια. Μια πιθανή εξήγηση του φαινομένου μπορεί να είναι ότι η τροποποίηση της εξωτερικής βακτηριακής μεμβράνης των στελεχών που ήταν ανθεκτικά στην κολιστίνη οδήγησε στην αυξημένη διαπερατότητα σε αντιβιοτικά που, υπό κανονικές συνθήκες, δεν διαπερνούν την εξωτερική μεμβράνη των gram αρνητικών βακτηρίων. Η αντοχή στην κολιστίνη στα στελέχη *A.* baumannii φαίνεται να προκαλεί ένα βιολογικό κόστος με μειωμένη την ικανότητα σχηματισμού βιομεμβρανών. Η σημασία αυτών των ευρημάτων πρέπει να αξιολογηθεί περαιτέρω στο κλινικό περιβάλλον.(115)

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Ειδικό Μέρος Α'

Τα ανθεκτικά στην κολιστίνη gram αρνητικά παθογόνα συνήθως έχουν αντοχή στην πλειονότητα των διαθέσιμων αντιμικροβιακών παραγόντων. Σε αυτή την περίπτωση, χαρακτηρίζονται ως πολυανθεκτικά παθογόνα, ενώ όταν εμφανίζουν αντοχή στο σύνολο των διαθέσιμων αντιβιοτικών χαρακτηρίζονται ως πανανθεκτικά. Δεν είναι γνωστό το πρότυπο αντοχής των ανθεκτικών στην κολιστίνη gram αρνητικών παθογόνων στον ελληνικό χώρο. Στα πλαίσια αυτά πραγματοποιήθηκε μια μελέτη που εξέταζε την in vitro ευαισθησία τέτοιων στελεχών σε ένα γενικό τριτοβάθμιο νοσοκομείο στην Κρήτη.

7. IN VITRO ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΤΩΝ ΑΝΘΕΚΤΙΚΩΝ ΣΤΗΝ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗ GRAM ΑΡΝΗΤΙΚΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΩΝ ΣΤΕΛΕΧΩΝ ΣΕ ΕΝΑ ΓΕΝΙΚΟ ΤΡΙΤΟΒΑΘΜΙΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ ΣΤΗΝ ΚΡΗΤΗ

7.1 Εισαγωγή

Η αντοχή στην πλειονότητα των διαθέσιμων αντιβιοτικών σε στελέχη *Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa* και *Acinetobacter baumannii* που απομονώνονται σήμερα σε διάφορα μέρη του κόσμου παρατηρείται με αυξανόμενη συχνότητα.(116) Η κολιστίνη χρησιμοποιείται συχνά ως αγωγή σωτηρίας για την θεραπεία λοιμώξεων που προκαλούνται από τέτοια πολυανθεκτικά gram αρνητικά παθογόνα.(117, 118) Εντούτοις, έχει αναδυθεί αντοχή και την κολιστίνη. Η υποβέλτιστη δοσολόγηση της κολιστίνης ενδέχεται να συμβάλει περαιτέρω στην ανεπιτυχή θεραπεία λοιμώξεων που προκαλούνται από πολυανθεκτικά βακτήρια που είναι ευαίσθητα στην κολιστίνη (119) και μπορεί να οδηγήσει στην ανάδυση αντοχής.

7.2 Μέθοδοι

Αναλύσαμε τα πρότυπα αντιμικροβιακής αντοχής που εκφράστηκαν από στελέχη *K. pneumoniae, P. aeruginosa* και του γένους *Acinetobacter*, τα οποία απομονώθηκαν από ασθενείς που νοσηλεύονταν στο Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Ηρακλείου, δυναμικότητας 700 κλινών, από τον Οκτώβριο 2000 μέχρι και τον Ιούλιο 2007. Η ταυτοποίηση των παθογόνων έγινε με τη χρήση του συστήματος API 20E (bioMerieux) ή του συστήματος Vitek 2 (bioMerieux). Η ευαισθησία των παθογόνων στην κολιστίνη προσδιορίστηκε με την χρήση ταινίας Etest (AB Biodisk, Solna) σε θρεπτικό μέσο με άγαρ Mueller-Hinton, το οποίο ενοφθαλμίστηκε με βακτήρια με μέγεθος ενοφθαλμισμού ίσο με 0.5 του προτύπου McFarland.(120) Η ευαισθησία στους αντιμικροβιακούς παράγοντες προσδιορίστηκε με τη μέθοδο διάχυσης δίσκου ή με το σύστημα Vitek 2, σύμφωνα με τα ερμηνευτικά όρια ευαισθησίας που συνιστώνται από το Ινστιτούτο Κλινικών και Εργαστηριακών Προτύπων (CLSI).(121)

7.3 Αποτελέσματα

Η μέση ηλικία (±σταθερά απόκλιση) των ασθενών ήταν 56±20.5 έτη. Από τους 28 συνολικά ασθενείς, οι 19 (68%) ήταν άρρενες. Οι συμπαρομαρτούσες νόσοι συμπεριλάμβαναν τον σακχαρώδη διαβήτη (σε 8 ασθενείς [29%]), νεοπλασία (σε 7 [25%]), καρδιαγγειακή νόσο (σε 7 [25%]), νεφρική νόσο (σε 5 [18%]) και ηπατική νόσο (σε 3 [11%]). Έντεκα ασθενείς (39%) νοσηλεύτηκαν σε παθολογικές κλινικές και απέδωσαν συνολικά 11 στελέχη, 10 (36%) νοσηλεύτηκαν στη μονάδα εντατικής θεραπείας και απέδωσαν συνολικά 12 στελέχη και 7 (25%) νοσηλεύτηκαν σε χειρουργικές κλινικές και απέδωσαν συνολικά 7 στελέχη. Συλλέχθηκαν 22 στελέχη *K. pneumoniae*, 4 *P. aeruginosa,* 2 *A. baumannii* και 2 *A. junii* που ήταν ανθεκτικά στην κολιστίνη. Από τα 30 συνολικά στελέχη, τα 7 (23%) απομονώθηκαν από δείγματα ούρων, 6 (20%) από δείγματα πύου, 6 (20%) από βρογχικές εκκρίσεις, 4 (13%) από βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα, 4 (13%) από ενδοφλέβιους καθετήρες και 3 (10%) από το αίμα. Τρία στελέχη απομονώθηκαν από τον ίδιο ασθενή, αλλά από διαφορετικά σημεία σε διαφορετικές ημέρες. Πέντε (18%) από τους 28 ασθενείς πέθαναν εξαιτίας της λοίμωξης που προκάλεσαν τα στελέχη που απομονώθηκαν.

Τα αποτελέσματα του ελέγχου ευαισθησίας από το εργαστήριο των στελεχών που ήταν ανθεκτικά στην κολιστίνη παρουσιάζονται ξεχωριστά στον Πίνακα 3, μαζί με το σημείο απομόνωσης και το φύλο των ασθενών. Από τα 30 απομονωμένα στελέχη, 30 (100%) ήταν ανθεκτικά στην κολιστίνη, 28 (93%) στην τριμεθοπρίμη-σουλφαμεθοξαζόλη, 27 (905) στη κεφοταξίμη, 25 (83%) στην σιπροφλοξασίνη, 24 (80%) στην κεφταζιδίμη, 24 (80%) στην κεφεπίμη, 22 (73%) στην πιπερακιλλίνη-ταζομπακτάμη, 21 (70%) στη

γενταμικίνη, 16 (53%) στην ιμιπενέμη, 16 (53%) στην χλωραμφενικόλη, 15 (50%) στην τετρακυκλίνη και 8 (27%) στη φωσφομυκίνη. Δεν υπάρχουν στοιχεία για την ευαισθησία στην τιγκεκυκλίνη, καθώς το φάρμακο δεν κυκλοφορούσε στην Ελλάδα κατά τη διάρκεια της περιόδου μελέτης.

7.4 Συζήτηση

Το κύριο εύρημα της μελέτης ήταν ότι ένα σημαντικό ποσοστό των gram αρνητικών στελεχών που είναι ανθεκτικά στην κολιστίνη (κυρίως *K. pneumoniae*) και απομονώθηκαν από ασθενείς του νοσοκομείου μας διατήρησαν την ευαισθησία τους σε διάφορους άλλους αντιμικροβιακούς παράγοντες. Αυτό αποτελεί ένα αξιοσημείωτο πρότυπο αντοχής που αναφέρεται μόνο περιστασιακά στην παγκόσμια βιβλιογραφία. Για την ακρίβεια, οι περισσότερες μελέτες αναφέρουν ότι η πλειονότητα των gram αρνητικών παθογόνων που είναι ανθεκτικά στην κολιστίνη είναι επίσης ανθεκτικά πρακτικώς σε όλα τα διαθέσιμα αντιβιοτικά. Έτσι, είναι ενδιαφέρον ότι η εργαστηριακή ευαισθησία στην ιμιπενέμη, την τετρακυκλίνη, την φωσφομυκίνη και την χλωραμφενικόλη ήταν αρκετά υψηλή στα στελέχη που απομονώθηκαν από ασθενείς αυτού του νοσοκομείου. Η δραστικότητά τους μπορεί να αποδοθεί στο γεγονός ότι αυτά τα αντιβιοτικά, με εξαίρεση την ιμιπενέμη και προσφάτως την φωσφομυκίνη, σπανίως χρησιμοποιούνται στην Ελλάδα.

Τα αξιόλογα αποτελέσματα αυτής της μελέτης δεν είναι μοναδικά στη βιβλιογραφία. Δύο πρόσφατες μελέτες αναφέρουν στοιχεία για ανθεκτικά στην κολιστίνη στελέχη *A. baumannii* που είχαν σημαντική ευαισθησία σε άλλες κλάσεις αντιβιοτικών που έχουν δραστικότητα ενάντια σε gram αρνητικά βακτήρια.(52, 115) Σε μια από αυτές τις μελέτες,(115) τα ανθεκτικά στην κολιστίνη στελέχη βρέθηκαν να είναι πιο ευαίσθητα στις πενικιλίνες και τις καρβαπενέμες, καθώς επίσης και στις κεφαλοσπορίνες, από ότι ήταν τα στελέχη που ήταν ευαίσθητα στην κολιστίνη. Εντούτοις, είναι πολύ ενδιαφέρον ότι αυτά τα στελέχη ήταν ευαίσθητα σε αντιβιοτικές κλάσεις που κανονικά δεν έχουν

δραστικότητα ενάντια σε gram αρνητικά παθογόνα. Στην άλλη μελέτη,(52) τα στελέχη του Acinetobacter ταυτοποιήθηκαν μετά από τον μερικό προσδιορισμό της rpoB γονιδιακής αλληλουχίας. Η rpoB γονιδιακή αλληλουχία κωδικοποιεί τη β υπομονάδα της βακτηριακής RNA πολυμεράσης και οι μεταλλάξεις σε αυτή την αλληλουχία οδηγούν στην ανάπτυξη αντοχής στη ριφαμπικίνη. Σύμφωνα με την μεταβλητότητα των περιοχών στην rpoB γονιδιακή αλληλουχία, η ευαισθησία των στελεχών *A. baumannii* σε άλλες αντιμικροβιακές κλάσεις ήταν ποικίλη, ενώ η αντοχή τους στις πολυμυξίνες αυξανόταν πολύ στις ομάδες II και III.

Αυτό το φαινόμενο διατήρησης της ευαισθησίας που παρατηρήθηκε απέναντι σε διάφορους αντιμικροβιακούς παράγοντες ανάμεσα σε στελέχη ανθεκτικά στην κολιστίνη μπορεί να εξηγηθεί υποθέτοντας ότι το βιολογικό κόστος της αντιμικροβιακής αντοχής στην κολιστίνη οδήγησε στην καταστολή ή απώλεια των γονιδίων της αντοχής σε άλλες κλάσεις αντιβιοτικών.(122) Εντούτοις, αντισταθμιστικές μεταλλάξεις μπορεί να προκαλέσουν την άθροιση πολυάριθμων μηχανισμών φαρμακευτικής αντοχής σε κάποιο παθογόνο χωρίς μείωση στη λοιμογόνο του δύναμη.(123)

Σε μια πρόσφατη γαλλική μελέτη,(124) συγκρίθηκαν ολόκληρα τα γονιδιώματα από δύο κλινικά πολυανθεκτικά στελέχη *A. baumannii*, που απομονώθηκαν από τον ίδιο ασθενή πριν και μετά από τη χορήγηση θεραπείας με κολιστίνη και ριφαμπικίνη. Το πρώτο στέλεχος ήταν ευαίσθητο μόνο σε αυτά τα δύο αντιβιοτικά, ενώ μετά τη θεραπεία, το δεύτερο στέλεχος εμφάνισε αντοχή και στα δύο αυτά αντιβιοτικά. Μετά τη σύγκριση των γονιδιωμάτων των δύο στελεχών, ανευρέθηκαν σημειακές μεταλλάξεις στο γονίδιο *rpoB*

και στο γονίδιο *pmrA*, που κωδικοποιεί το διπλό ρυθμιστικό σύστημα PmrA/PmrB. Είναι ενδιαφέρον ότι τα δύο στελέχη φάνηκε να ανήκουν στον ίδιο κλώνο σύμφωνα με τις PFGE και MLST αναλύσεις. Η κύρια διαφορά τους ήταν η απώλεια ενός προφάγου από το ανθεκτικό στην κολιστίνη στέλεχος, η οποία φαίνεται να είναι η κύρια αιτία για τη μειωμένη λοιμογονικότητα του ανθεκτικού στην κολιστίνη στελέχους.

Θα πρέπει να σημειωθεί ότι στα *Acinetobacter* spp. ανήκει ένας μεγάλος αριθμός ειδών, πολλά από τα οποία δεν έχουν ακόμα ταξινομηθεί και αναφέρονται γενικά ως γονιδιακά είδη (genomic species – GS). Αυτά τα μη *baumannii* είδη προκαλούν σοβαρή σηψαιμία, ενώ ένα από αυτά, το *Acinetobacter* GS 13BJ/14TU απομονώνεται σε σημαντικό ποσοστό από αιμοκαλλιέργειες(125) και είναι ανθεκτικό στην κολιστίνη. Η αντοχή είναι μάλλον ενδογενής, δεδομένου ότι κατά την απομόνωσή τους δεν είχε προηγηθεί χορήγηση κολιστίνης.(126) Η ακριβής ταυτοποίηση των βακτηρίων, ιδίως όταν πρόκειται για *Acinetobacter* spp. έχει ιδιαίτερη σημασία για την επιλογή της κατάλληλης θεραπείας.(127)

Εν κατακλείδι, αυτή η ανάλυση έδειξε ότι ένα σημαντικό ποσοστό των gram αρνητικών βακτηριακών στελεχών που είναι ανθεκτικά στην κολιστίνη (κυρίως *K. pneumoniae*) από ασθενείς του συγκεκριμένου νοσοκομείου διατήρησαν την ευαισθησία τους σε διάφορους άλλους αντιμικροβιακούς παράγοντες. Παρουσιάζοντας πρότυπα εργαστηριακού ελέγχου ευαισθησίας αυτών των ανθεκτικών στην κολιστίνη στελεχών, τα δεδομένα μας αποτελούν μια χρήσιμη προσθήκη στη βιβλιογραφία των πολυανθεκτικών gram αρνητικών βακτηρίων.

Πίνακας 3. Αποτελέσματα της in vitro ευαισθησίας των ανθεκτικών στην κολιστίνη στελεχών σε διάφορα αντιβιοτικά

Identifier	Isolate	Site of isolation	Sex	COL	IMI	CPFX	GM	CZID	CTAX	CFP	PIP-TAZ	TET	FM	TMP-SMZ	CHL
1	*Klebsiella pneumoniae*	Urine	M	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R
2	*Pseudomonas aeruginosa*	Pus	F	R	S	S	S	S	R	S	S	R	S	R	R
3	*P. aeruginosa*	Bronchial	M	R	S	S	S	S	R	S	S	R	S	R	R
4	*Acinetobacter junii*	Pus	F	R	S	S	S	S	R	S	S	S	R	R	S
5	*A. junii*	Pus	M	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
6	*K. pneumoniae*	Urine	M	R	S	R	S	S	S	S	S	R	S	R	S
7	*K. pneumoniae*	Urine	M	R	S	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S
8	*P. aeruginosa*	Pus	M	R	S	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R
9	*P. aeruginosa*	Bronchial	F	R	R	S	S	R	R	R	R	R	S	R	R
10	*Acinetobacter baumannii*	Pus	M	R	S	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R
11	*A. baumannii*[a]	Bronchial	M	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
12	*K. pneumoniae*	Urine	M	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S
13	*K. pneumoniae*	BAL	M	R	S	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S
14	*K. pneumoniae*	Catheter	M	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S
15	*K. pneumoniae*	Bronchial	M	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	S
16	*K. pneumoniae*	Urine	M	R	S	R	S	R	R	R	R	R	S	R	S
17	*K. pneumoniae*	Femoral catheter	M	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R
18	*K. pneumoniae*	Catheter	F	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	S
19	*K. pneumoniae*[a,b]	BAL	M	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
20	*K. pneumoniae*[b]	Pus from surgical trauma	M	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R
21	*K. pneumoniae*	Femoral catheter	M	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R
22	*K. pneumoniae*[b]	Blood	M	R	S	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
23	*K. pneumoniae*	Bronchial	M	R	S	R	R	R	R	R	R	S	S	R	S
24	*K. pneumoniae*	BAL	F	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	S
25	*K. pneumoniae*	Urine	F	R	S	R	R	R	R	R	R	S	S	R	S
26	*K. pneumoniae*	Blood	F	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R
27	*K. pneumoniae*	Bronchial	M	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	S
28	*K. pneumoniae*	Blood	F	R	S	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R
29	*K. pneumoniae*	BAL	M	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R
30	*K. pneumoniae*	Urine	M	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R

BAL: βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα; CFP: κεφεπίμη; CHL: χλωραμφενικόλη; COL: κολιστίνη; CPFX: σιπροφλοξασίνη; CTAX: κεφοταξίμη; CZID: κεφταζιδίμη; F: θήλυ; FM: φωσφομυκίνη; GM: γενταμικίνη; IMI: ιμιπενέμη; M: άρρεν; PIP-TAZ: πιπερακιλλίνη-ταζοβακτάμη; R: ανθεκτικό; S: ευαίσθητο; TET: τετρακυκλίνη; TMP-SMZ: τριμεθοπρίμη-σουλφαμεθοξαζόλη.

[a] Αυτά τα στελέχη ήταν πανανθεκτικά, [b] Αυτά τα στελέχη προέρχονταν από τον ίδιο ασθενή

Ειδικό μέρος Β'

Οι λοιμώξεις από πανανθεκτικά gram αρνητικά παθογόνα εμφανίζει αυξανόμενη συχνότητα. Ωστόσο, τα χαρακτηριστικά των αυτών των λοιμώξεων και η έκβαση τους δεν έχουν μελετηθεί επαρκώς. Για αυτόν τον λόγο, μελετήσαμε μια σειρά ασθενών με λοίμωξη από πανανθεκτικά gram αρνητικά παθογόνα καταγράφοντας τα χαρακτηριστικά και την έκβασή τους.

8. ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ ΑΠΟ ΠΑΝΑΝΘΕΚΤΙΚΑ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*, *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* ΚΑΙ *ACINETOBACTER BAUMANNII*: ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΚΑΙ ΕΚΒΑΣΗ ΣΕ ΜΙΑ ΣΕΙΡΑ 28 ΑΣΘΕΝΩΝ

8.1 Εισαγωγή

Η επίπτωση των λοιμώξεων που προκαλούνται από πολυανθεκτικά gram αρνητικά βακτήρια αυξάνεται παγκοσμίως.(128, 129) Η ανάδυση πανανθεκτικών βακτηρίων, τα οποία είναι ανθεκτικά σε όλες τις ομάδες των διαθέσιμων αντιμικροβιακών παραγόντων, αντιπροσωπεύει ένα ανησυχητικό τελικό σημείο στην ανάπτυξη της αντιμικροβιακής αντοχής.(130) Παρά την σπανιότητα απομόνωσης τέτοιων βακτηρίων, υπάρχει μεγάλη ανησυχία στην ιατρική κοινότητα, καθώς οι κλινικοί γιατροί έχουν μείνει πρακτικά χωρίς επιλογές για τη θεραπεία ασθενών από τους οποίους απομονώνονται πανανθεκτικά βακτήρια. Υπάρχουν κλινικές αναφορές που επιβεβαιώνουν ότι τα gram αρνητικά βακτήρια έχουν αναπτύξει αντοχή ακόμα και στις πολυμυξίνες,(100, 131) οι οποίες είναι παλιά ομάδα αντιβιοτικών που χρησιμοποιείται ευρέως σε διάφορες χώρες ως αντιμικροβιακή θεραπεία σωτηρίας ενάντια στα gram αρνητικά βακτήρια που είναι ανθεκτικά σε όλες τις υπόλοιπες ομάδες αντιβιοτικών.(2)

Θα πρέπει να σημειωθεί ότι ο ορισμός των πανανθεκτικών gram αρνητικών βακτηρίων δεν περιλαμβάνει πάντα τον έλεγχο για πολυμυξίνες σε ορισμένες χώρες.(132) για παράδειγμα, σε μία μελέτη λοιμώξεων από *Acinetobacter baumannii* από την Ταΐβάν, αναφέρθηκε υψηλό ποσοστό θνητότητας (60%).(96) Εντούτοις, η κολιστίνη δεν χρησιμοποιήθηκε στον in vitro έλεγχο ευαισθησίας ή ως μέρος της θεραπείας αυτών των ασθενών, προφανώς επειδή αυτό το αντιβιοτικό δεν ήταν διαθέσιμο σε αυτή την χώρα. Από την άλλη πλευρά, σε μια σειρά ασθενών που δημοσιεύτηκε παλιότερα, περιγράφτηκαν λοιμώξεις από πανανθεκτικά gram αρνητικά βακτήρια (των ανθεκτικών στις πολυμυξίνες συμπεριλαμβανομένων), οι οποίες είχαν ως αποτέλεσμα 29% θνητότητα (2/7 ασθενείς), με την κολιστίνη να χρησιμοποιείται ως θεραπεία στα 6 από τα 7 περιστατικά.(99)

Παρόλο που θεωρητικά όλα τα βακτήρια έχουν την προοπτική ανάπτυξης πολυανθεκτικότητας και εντέλει πανανθεκτικότητας, ευτυχώς η τελευταία συμβαίνει σε σχετικά μικρό ποσοστό των ασθενών. Εντούτοις, το ζήτημα των λοιμώξεων λόγω πανανθεκτικών gram αρνητικών βακτηρίων πιθανώς είναι πολύ υποτιμημένο σε παγκόσμιο επίπεδο. Είναι γνωστή παγκοσμίως η σημαντική αντοχή στις καρβαπενέμες και θα μπορούσε δικαίως να θεωρηθεί ότι η αντοχή στις πολυμυξίνες μπορεί να υφίσταται σε ένα σημαντικό ποσοστό αυτών των βακτηρίων.(133)

8.2 Μέθοδοι

8.2.1 Σχεδιασμός της μελέτης και επιλογή ασθενών

Αυτή η μελέτη πραγματοποιήθηκε στο νοσοκομείο «Ερρίκος Ντυνάν», που είναι ένα τριτοβάθμιο κέντρο δυναμικότητας 450 κλινών με μια μικτή μονάδα εντατικής θεραπείας δυναμικότητας 38 κλινών. Παρουσιάζουμε δεδομένα που αφορούν την έκβαση πανανθεκτικών (PDR) λοιμώξεων από *A. baumannii, P. aeruginosa* και *K. pneumoniae* σε ασθενείς χωρίς κυστική ίνωση. Η μελέτη πραγματοποιήθηκε σε ασθενείς που εισήχθησαν στο νοσοκομείο σε ένα χρονικό διάστημα διάρκειας 17 μηνών (1 Ιανουαρίου 2006 μέχρι 31 Μαΐου 2007).

8.2.2 Συλλογή δεδομένων

Προς αναγνώριση όλων των PDR λοιμώξεων από *A. baumannii, P. aeruginosa* και *K. pneumoniae* χρησιμοποιήθηκε η μηχανογραφημένη βάση δεδομένων του βακτηριολογικού εργαστηρίου του νοσοκομείου. Έπειτα, ανασύρθηκαν οι ιατρικοί φάκελοι των ασθενών με αυτά τα παθογόνα. Συλλέχθηκαν δεδομένα για διάφορες παραμέτρους, συμπεριλαμβανομένων δημογραφικών και κλινικών πληροφοριών, καθώς και αποτελέσματα εργαστηριακών και απεικονιστικών εξετάσεων των ασθενών, χρησιμοποιώντας μια ειδικά σχεδιασμένη φόρμα συλλογής δεδομένων.

8.2.3 Ορισμοί

Τα στελέχη *A. baumannii, P. aeruginosa* και *K. pneumoniae* ορίστηκαν ως PDR εφόσον ήταν ανθεκτικά και στις εφτά κατηγορίες αντιψευδομοναδικών αντιμικροβιακών παραγόντων (αντιψευδομοναδικές πενικιλίνες, κεφαλοσπορίνες, καρβαπενέμες,

μονοβακτάμες, κινολόνες, αμινογλυκοσίδες και κολιστίνη). Επιπρόσθετα, τα στελέχη *A. baumannii* θα έπρεπε να έχουν ελαττωμένη ευαισθησία στην σουλβακτάμη για να θεωρούνται PDR. Η ενδιάμεση ευαισθησία των απομονωμένων Gram αρνητικών βακτηρίων θεωρήθηκε ως αντοχή. Δοκιμασίες ευαισθησίας των στελεχών της *K. pneumoniae* και του *A. baumannii* στην τιγκεκυκλίνη δεν πραγματοποιήθηκαν καθώς το συγκεκριμένο φάρμακο εισήχθη στην Ελλάδα στα τέλη Απριλίου του 2007 και ως εκ τούτου δεν ήταν διαθέσιμο κατά τη διάρκεια του χρόνου μελέτης.

Ένας ασθενής θεωρήθηκε ότι είχε λοίμωξη ή ήταν αποικισμένος σύμφωνα με τα κριτήρια των Κέντρων Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων των ΗΠΑ [US Centers for Disease Control and Prevention (CDC)].(134)

Η έκβαση της λοίμωξης ορίστηκε ως θεραπεία (πλήρης λύση των συμπτωμάτων και σημείων), βελτίωση (μερική λύση των συμπτωμάτων και σημείων) ή επιδείνωση.

8.2.4 Μικροβιολογικές δοκιμασίες

Η ταυτοποίηση όλων των υπεύθυνων παθογόνων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση κλασικών μικροβιολογικών μεθόδων. Ο έλεγχος ευαισθησίας πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο αυτοματοποιημένης μικροαραίωσης με ζωμό (automated broth microdilution) (Vitek 2, bioMérieux, Hazelwood, MO). Τα όρια ευαισθησίας που χρησιμοποιήθηκαν ήταν αυτά που ορίζονται από τη Βρετανική Εταιρία Αντιμικροβιακής Χημειοθεραπείας (BSAC). Ελέγχθηκαν οι εξής αντιμικροβιακοί παράγοντες: αμικασίνη, γενταμικίνη, νετιλμικίνη, τομπραμυκίνη, σιπροφλοξασίνη, πεφλοξασίνη, αζτρεονάμη,

αμπικιλλίνη/σουλβακτάμη (για το *A. baumannii*), τικαρκιλλίνη, τικαρκιλλίνη/κλαβουλανικό, πιπερακιλλίνη, πιπερακιλλίνη/ταζοβακτάμη, κεφταζιδίμη, κεφεπίμη, κεφπιρόμη, ιμιπενέμη, μεροπενέμη, τριμεθοπρίμη/σουλφαμεθοξαζόλη (SXT) και κολιστίνη. Για τον έλεγχο ευαισθησίας στην κολιστίνη χρησιμοποιήθηκε το Etest (AB Biodisk, Solna, Sweden). Η MIC που χρησιμοποιήθηκε για την ταυτοποίηση βακτηρίων ως ανθεκτικών στην κολιστίνη ήταν τα 4 mg/L, δηλαδή βακτήρια για τα οποία η MIC ήταν ≥4mg/L θεωρήθηκαν ανθεκτικά.(135) Δεν πραγματοποιήθηκαν δοκιμασίες μοριακής βιολογίας για να προσδιοριστεί αν τα απομονωμένα βακτήρια του ίδιου είδους αποτελούσαν τα ίδια ή διαφορετικά στελέχη.

8.3 Αποτελέσματα

Ταυτοποιήθηκαν εικοσιτέσσερις ασθενείς με λοίμωξη εξαιτίας PDR *K. pneumoniae* (20 ασθενείς), *P. aeruginosa* (2 ασθενείς) ή *A. baumannii* (3 ασθενείς). Σε έναν από αυτούς τους ασθενείς ταυτοποιήθηκε πολυμικροβιακή λοίμωξη από *K. pneumoniae* και *A. baumannii*. Τέσσερις επιπλέον ασθενείς ταυτοποιήθηκαν ως αποικισμένοι με PDR Gram αρνητικά βακτήρια σε καλλιέργειες αγγειακών καθετήρων τους και δεν ελήφθησαν περαιτέρω υπόψη στην ανάλυση (τρία από αυτά τα στελέχη ήταν *K. pneumoniae* και ένα ήταν *P. aeruginosa*). Τα ακόλουθα δεδομένα συνοψίζονται στον Πίνακα 4: ηλικία, φύλο, αιτία εισαγωγής και συνοσηρότητες, απομονωμένος οργανισμός και σημείο απομόνωσης, διάρκεια της νοσηλείας μέχρι την απομόνωση, προηγηθείσα χρήση κολιστίνης, συνδυασμός των αντιβιοτικών που χρησιμοποιήθηκαν τουλάχιστο για 3 ημέρες μετά την απομόνωση, λοίμωξη ή αποικισμός του ασθενούς με το βακτήριο, έκβαση της λοίμωξης και αν ο ασθενής απεβίωσε (ενδονοσοκομειακή και αποδοτέα θνητότητα).

Από τους 24 ασθενείς με PDR λοίμωξη, οι 14 ήταν άντρες. Η μέση ηλικία των 24 ασθενών ήταν 54.6 έτη, η μέση διάρκεια της θεραπείας με κολιστίνη πριν την απομόνωση του PDR παθογόνου ήταν 21.7 ημέρες (7 ασθενείς δεν έλαβαν καθόλου κολιστίνη πριν την απομόνωση) και η μέση διάρκεια παραμονής στο νοσοκομείο πριν την απομόνωση του PDR παθογόνου ήταν 44.3 ημέρες. Το σημείο της λοίμωξης ήταν σχετιζόμενο με κεντρικό φλεβικό καθετήρα σε 5 από τους 24 ασθενείς, βακτηριαιμία σε 5 ασθενείς, το αναπνευστικό σύστημα σε 5 ασθενείς, χειρουργική θέση σε 5 ασθενείς, το ουροποιητικό σύστημα σε 2 ασθενείς, ασκιτικό υγρό σε1 ασθενή και το κεντρικό νευρικό σύστημα σε 1 ασθενή.

Είκοσι από τους 24 ασθενείς έλαβαν κολιστίνη ως μέρος της θεραπείας της PDR λοίμωξης: 8 ασθενείς έλαβαν κολιστίνη με μεροπενέμη (ένας από αυτούς έλαβε επιπρόσθετα σιπροφλοξασίνη), 4 ασθενείς έλαβαν μονοθεραπεία με κολιστίνη, 4 έλαβαν κολιστίνη με πιπερακιλλίνη/ταζοβακτάμη (ένας από αυτούς έλαβε επιπρόσθετα SXT, ένας έλαβε γενταμικίνη και ένας έλαβε χλωραμφενικόλη), 1 ασθενής έλαβε κολιστίνη με ριφαμπικίνη, 1 ασθενής έλαβε κολιστίνη με SXT, 1 ασθενής έλαβε κολιστίνη με αμπικιλλίνη/σουλβακτάμη και 1 ασθενής έλαβε κολιστίνη με αζτρεονάμη. Τέσσερις ασθενείς έλαβαν άλλα αντιβιοτικά σχήματα που δεν περιελάμβαναν κολιστίνη.

Θεραπεία ή βελτίωση της λοίμωξης σημειώθηκε σε 14 από τους 24 ασθενείς, ενώ επιδείνωση παρατηρήθηκε σε 10 ασθενείς. Απεβίωσαν 10 από τους 24 ασθενείς (συνολική ενδονοσοκομειακή θνητότητα 41.7%). Οχτώ από αυτούς τους θανάτους αποδόθηκαν στην λοίμωξη από PDR παθογόνα (αποδοτέα θνητότητα 33.3%).

Πίνακας 4. Κλινικά χαρακτηριστικά των υπό μελέτη ασθενών και εκβάσεις των λοιμώξεων

Patient no.	Age/gender	Reason for admission/co-morbidity	Isolated organism	Site of isolation	Days in hospital until isolation of PDR strain	Prior colistin use (days)	Antibiotic combination used after isolation for more than 3 days	Infection/ colonisation	Outcome of infection	Death
1	72/M	Liver cancer/HBV, arterial hypertension, diabetes mellitus	*K. pneumoniae*	Catheter	15	0	Ciprofloxacin 3d: + imipenem/cilastatin 3d	Colonisation	N/A	–
2	62/M	Stroke, coma/chronic atrial fibrillation, CAD-PTCA, arterial hypertension, diabetes mellitus	*K. pneumoniae*	Bronchial secretions	127	0	Colistin 24d + meropenem 23d	Infection	Improvement	–
3	71/F	CABG × 3/CAD, heart failure, diabetes mellitus	*K. pneumoniae*	Blood	11	0	Colistin 8d	Infection	Deterioration	+
4	19/M	Multiple injuries	*A. baumannii*	CSF	13	10	Colistin 19d + meropenem 8d	Infection	Deterioration	+
5	47/M	Head trauma	*K. pneumoniae*	Catheter	54	38	Colistin 32d + meropenem 32d	Infection	Cure	–
6	67/M	Subarachnoid hemorrhage, cerebral aneurysm/arterial hypertension	*K. pneumoniae*	Urine	74	55	Colistin 10d + rifampicin 17d	Infection	Deterioration	+*
7	24/F	Multiple injuries	*A. baumannii*	Bronchial secretions	16	9	Colistin 6d + meropenem 9d	Infection	Improvement	–
8	43/F	Hypophyseal adenoma/Crohn's disease	*K. pneumoniae*	Urine	75	47	Nitrofurantoin 16d	Infection	Cure	–
9	70/F	Cardio-respiratory arrest/COPD, arterial hypertension, renal stones, diabetes mellitus, acute renal failure at admission	*K. pneumoniae*	Blood	8	0	Colistin 4d + meropenem 4d + ciprofloxacin 4d	Infection	Deterioration	+
10	58/M	Aortic valve stenosis/heart failure (LVEF = 20%), acute myocardial infarction, dyslipidaemia	*P. aeruginosa*	Bronchial secretions	60	40	Colistin 16d + gentamicin 4d + piperacillin/tazobactam 10d	Infection	Deterioration	+*
11	64/F	Multiple injuries, head trauma	*K. pneumoniae*	Catheter	48	40	Colistin 3d + SXT 7d	Colonisation	N/A	–
12	42/M	Multiple injuries	*K. pneumoniae*	Pus	12	2	Colistin 32d	Infection	Cure	–
13	62/M	Acute myelogenic leukaemia, respiratory failure/bowel cancer, colectomy	*K. pneumoniae*	Pus (Port-A-Cath)	17	7	Colistin 6d + SXT 3d	Infection	Deterioration	+
14	32/M	Haemorrhage of the brainstem, intraventricular haemorrhage	*K. pneumoniae*	Catheter	45	36	Colistin 13d	Infection	Improvement	–
15	65/F	Cardio-respiratory arrest after near drowning/arterial hypertension, diabetes mellitus, psychotic syndrome under treatment	*K. pneumoniae*	Catheter	28	8	Colistin 12d + meropenem 12d + ampicillin/sulbactam 12d	Colonisation	N/A	–
16	71/F	Intracerebral haemorrhage, mechanical ventilation/arterial hypertension not regulated with drugs	*K. pneumoniae*	Blood	9	3	Colistin 10d + piperacillin/tazobactam 3d	Infection	Improvement	–

Πίνακας 4 (συνέχεια). Κλινικά χαρακτηριστικά των υπό μελέτη ασθενών και εκβάσεις των λοιμώξεων

Patient no.	Age/gender	Reason for admission/co-morbidity	Isolated organism	Site of isolation	Days in hospital until isolation of PDR strain	Prior colistin use (days)	Antibiotic combination used after isolation for more than 3 days	Infection/ colonisation	Outcome of infection	Death
17	74/M	Acute respiratory failure, respiratory infection/COPD type II	*P. aeruginosa*	Bronchial secretions	43	20	Colistin nebulised 5d	Infection	Cure	–
18	45/F	Community acquired pneumonia	*K. pneumoniae*	Catheter	44	32	Colistin 19d + SXT 8d + piperacillin/tazobactam 9d	Infection	Improvement	–
19	61/M	Hydrocele/arterial hypertension, chronic atrial fibrillation	*K. pneumoniae*	Blood	26	0	Ciprofloxacin 12d + imipenem/cilastatin 12d	Infection	Cure	–
20	84/F	Subdural haematoma drainage, head injury (GCS= 6/15)/mechanical ventilation, history of aortic valve substitution, diabetes mellitus, Alzheimer's disease	*K. pneumoniae/A. baumannii*	Catheter	8	0	Ceftriaxone 3d	Mixed infection	Deterioration	+
21	47/M	Alcoholic pancreatitis, pancreatic pseudocyst/chronic alcoholic pancreatitis	*K. pneumoniae*	Pus (drainage)	73	26	Colistin 12d+ ampicillin/sulbactam 4d	Infection	Deterioration	+
22	65/M	Septic shock, ruptured aneurysm/arterial hypertension, abdominal aortic aneurysm	*P. aeruginosa*	Catheter	21	20	Colistin 3d	Colonisation	N/A	–
23	24/M	Multiple injuries	*K. pneumoniae*	Bronchial secretions	18	13	Colistin 13d + chloramphenicol 5d + piperacillin/tazobactam 17d	Infection	Cure	–
24	72/M	Ileus, post-radiation enteritis/rectal cancer, arterial hypertension, abdominal aortic distension	*K. pneumoniae*	Trauma	15	0	Piperacillin/tazobactam 6d, then meropenem 5d	Infection	Deterioration	+
25	76/F	Intracerebral haemorrhage (GCS= 7/15), aspiration, acute respiratory failure/arterial hypertension, carotid stenosis, diabetes mellitus	*K. pneumoniae*	Catheter	121	101	Colistin 7d + aztreonam 5d	Infection	Deterioration	+
26	45/M	Bowel cancer, liver metastases, gastric resection/acute renal failure at admission	*K. pneumoniae*	Ascitic fluid	58	40	Colistin 7d + meropenem 7d	Infection	Cure	–
27	48/F	Urinary tract infection, renal colic/sleep-apnoea syndrome, morbid obesity, cardiac failure, arterial hypertension, renal stones, spastic paraplegy, diabetes mellitus	*K. pneumoniae*	Blood	88	43	Colistin 5d + meropenem 5d	Infection	Cure	–
28	68/F	Bowel cancer/diabetes mellitus, allergic asthma	*K. pneumoniae*	Pus	50	0	Colistin 32d + meropenem 32d	Infection	Cure	–

PDR: πανανθεκτικό; M: άρρεν; F: θήλυ; HBV: ιός ηπατίτιδας B; DM: σακχαρώδης διαβήτης; CAD: στεφανιαία νόσος; PTCA: διαδερμική στεφανιαία αγγειοπλαστική; CABG: αρτηριακή παράκαμψη στεφανιαίων; COPD: χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια; CSF: εγκεφαλονωτιαίο υγρό; SAH: υπαραχνοειδής αιμορραγία; LVEF: κλάσμα εξώθησης αριστερής κοιλίας; AMI: οξύ έμφραγμα μυοκαρδίου; SXT: τριμεθοπρίμη/σουλφαμεθοξαζόλη; AML: οξεία μυελογενής λευχαιμία; CAP: πνευμονία της κοινότητας; GCS: Glasgow Coma Scale score; UTI: λοίμωξη ουροποιητικού; +: θάνατος αποδοτέος στη λοίμωξη; +*: θάνατος μη αποδοτέος στη λοίμωξη; −: ζωντανός; N/A: άνευ αντικειμένου.

8.4 Συζήτηση

Το κύριο εύρημα της μελέτης είναι ότι η θνητότητα των λοιμώξεων από PDR βακτήρια είναι σημαντική, αν και όχι τόσο υψηλή όσο θα περίμενε κάποιος. Αν και υπάρχουν θεωρίες σχετικά με την εν δυνάμει λοιμογονικότητα των PDR παθογόνων, η επίδρασή τους στην υγεία σε διεθνές επίπεδο δε μπορεί να αμφισβητηθεί.

Το ζήτημα της αντοχής σε σχεδόν όλα τα διαθέσιμα αντιβιοτικά σε μια χώρα δεν περιορίζεται σε αυστηρά γεωγραφικά όρια, αλλά αποτελεί ένα διεθνές φαινόμενο. Σε μια πολύ ενδιαφέρουσα μελέτη, η αντιμικροβιακή ευαισθησία των *P. aeruginosa, A. baumannii* και *K. pneumoniae* σε ένα ευρύ φάσμα αντιβιοτικών εκτιμήθηκε σε τρεις διαφορετικές χρονικές περιόδους (1999, 2001 και 2006, αντίστοιχα) στο Brooklyn, NY. Η *K. pneumoniae* βρέθηκε να είναι το πιο κοινό παθογόνο που εμφάνιζε πολυανθεκτικότητα; 22% των στελεχών *K. pneumoniae* ήταν ανθεκτικά στις καρβαπενέμες, τις φθοριοκινολόνες και τις αμινογλυκοσίδες. Εξετάζοντας περαιτέρω τα ευρήματα αυτής της μελέτης, το 95% και 94% των στελεχών *K. pneumoniae* ήταν ευαίσθητα στην πολυμυξίνη Β και την τιγκεκυκλίνη, αντίστοιχα.(136) Το εύρημα της μελέτης μας ότι τα PDR στελέχη της *K. pneumoniae* που προκάλεσαν λοίμωξη ήταν τα πιο συχνά συνάδει με τα ευρήματα της μελέτης των Landman et al.

Το φαινόμενο των βακτηρίων που δεν είναι ευαίσθητα σε κανένα από τα διαθέσιμα αντιβιοτικά, δηλαδή των PDR βακτηρίων, αποτελεί αιτία ανησυχίας. Δεν υπάρχουν πολλά δεδομένα που αφορούν την έκβαση λοιμώξεων πραγματικά PDR λοιμώξεων εξαιτίας των *P. aeruginosa, A. baumannii* και *K. pneumoniae*. Σε μια άλλη σχετική

μελέτη, πέντε από τους 7 ασθενείς με PDR λοιμώξεις εξαιτίας των *P. aeruginosa, A. baumannii* ή *K. pneumoniae* επέζησαν.(99) Σε αυτή την μελέτη, 14 από τους 24 ασθενείς με PDR λοίμωξη επέζησαν. Από τους 10 ασθενείς που απεβίωσαν, οι 8 πέθαναν εξαιτίας της PDR λοίμωξης, δηλαδή ή αποδοτέα θνητότητα ήταν 33.3%. Αυτό το εύρημα έρχεται σε αντίθεση με την υψηλότερη θνητότητα των ασθενών με λοιμώξεις από ανθεκτικούς στην κολιστίνη Gram αρνητικούς βάκιλους στη μελέτη των Beno et al.,(137) όπου αναφέρεται 80% θνητότητα.

Μια πιθανή εξήγηση για την χαμηλή θνητότητα που παρατηρήθηκε στη μελέτη μας θα μπορούσε να είναι το βιολογικό κόστος της προσαρμογής λόγω της αντιμικροβιακής αντοχής. Ο ρυθμός ανάπτυξης αυτών των βακτηρίων μπορεί να είναι πιο αργός ή η λοιμογονικότητα και η μετάδοσή τους να είναι μειωμένη. Εντούτοις, το βιολογικό κόστος μπορεί να μειωθεί μέσω επιπρόσθετων μεταλλάξεων χωρίς την απώλεια αντοχής, την εμφάνιση αντοχής χωρίς βιολογικό κόστος, καθώς και τη γενετική σύνδεση και την παράλληλη επιλογή γονιδίων αντοχής και άλλων επιλεγμένων γονιδίων. Το συγκεκριμένο ζήτημα είναι ασαφές και αποτελεί πεδίο ενεργούς έρευνας και οι σχετικές αναφορές είναι αντικρουόμενες.

Η σύγκριση ενός πανανθεκτικού στελέχους *A. baumannii* με ένα στέλεχος *A. baumannii* ATCC 19606 έδειξε ότι το πανανθεκτικό στέλεχος είχε πιο αργή ανάπτυξη, που θα μπορούσε να συμβάλει στη μερική αποφυγή της δράσης αντιβιοτικών που στοχεύουν στη βακτηριακή αύξηση και την κυτταρική διαίρεση. Επίσης, παρατηρήθηκε ότι το πανανθεκτικό στέλεχος εξέφραζε σε μικρότερο βαθμό τα γονίδια που κωδικοποιούσαν

τις πορίνες OprD και CarO, ενώ οι πρωτεϊνες της εξωτερικής του μεμβράνης βρέθηκε ότι ήταν λιγότερο κυτταροτοξικές σε σχέση με το ευαίσθητο στέλεχος. Αυτά τα αποτελέσματα υποστηρίζουν την υπόθεση της απόκτησης γονιδίων ή μεταλλάξεων που οδηγούν στην πανανθεκτικότητα με κόστος την μειωμένη λοιμογονικότητα και την προσαρμογή σε πιο αργή ανάπτυξη.(138) Αντίστοιχα, σε πειραματικά μοντέλα, το στέλεχος *A. baumannii* ATCC 19606 βρέθηκε ότι αποκτά μεταλλάξεις κατά την in vitro ανάπτυξη αντοχής στην κολιστίνη στο γονίδιο *pmrB*, εκδηλώνοντας όμως μειωμένη λοιμογονικότητα και in vivo φυσική κατάσταση.(139)

Από την άλλη πλευρά, εμφανίζονται μελέτες που αναφέρουν την ανάπτυξη στελεχών που εμφανίζουν αντοχή σε όλα τα αντιβιοτικά χωρίς να χάνουν τη λοιμογονικότητά τους. Αυτά συνήθως προέρχονται από εξαιρετικά πολυανθεκτικά (XDR) μικρόβια μετά από παρατεταμένη χορήγηση κολιστίνης. Η φαινοτυπική και γονοτυπική ανάλυση χαρακτηριστικών από διαδοχικά στελέχη *A. baumannii* που απομονώθηκαν από τον ίδιο ασθενή που βρισκόταν σε μακροχρόνια θεραπεία με κολιστίνη, είχαν τον ίδιο ST78 γονότυπο και, ενώ αρχικά ήταν ευαίσθητα στην κολιστίνη έγιναν αργότερα ανθεκτικά, ανέδειξε μετάλλαξη P233S στην PmrB κινάση. Αυτή η μετάλλαξη, σε αντίθεση με προηγούμενες αναφορές, δε σχετίστηκε με μετρήσιμη μείωση στη φυσική κατάσταση, τη λοιμογονικότητα και τα χαρακτηριστικά ανάπτυξης των πανανθεκτικών στελεχών.(140)

Ανησυχητικό φαινόμενο αποτελεί η εξέλιξη και εξάπλωση πανανθεκτικών στελεχών, που προέρχονται από λιγότερο ανθεκτικά στελέχη. Σε πρόσφατη μελέτη από τη

Βραζιλία,(141) αναφέρεται η εξέλιξη και εξάπλωση ενός κλώνου *K. pneumoniae* ST11 σε ένα τριτοβάθμιο νοσοκομείο. Διαπιστώθηκε ότι, ενώ τα πρώτα στελέχη που απομονώθηκαν ήταν απολύτως ευαίσθητα στις πολυμυξίνες, σύντομα αναδύθηκε αντοχή. Τα νέα ανθεκτικά στελέχη εμφάνιζαν νέα γονίδια αντοχής σε διάφορες κλάσεις αντιβιοτικών και είχαν διατηρήσει ακέραιους τους παράγοντες λοιμογονικότητάς τους.

Σημαντικός αριθμός γιατρών πιστεύει ότι τα πολυανθεκτικά και τα πανανθεκτικά βακτήρια δεν αποτελούν σημαντική αιτία θνητότητας, αλλά απλώς ένα επιφαινόμενο ενός ασθενούς με βαριές συνοσηρότητες. Οι ασθενείς που έχουν λοιμώξεις από PDR βακτήρια έχουν σημαντικές συνοσηρότητες και μακρούς χρόνους νοσηλείας πριν την απομόνωση του υπεύθυνου παθογόνου. Αυτή η διαμάχη υπάρχει και στην περίπτωση της αποδοτέας θνητότητας στο *A. baumannii*. Αν αυτό το βακτήριο δεν αποτελεί σημαντική αιτία θνητότητας, τότε η ακατάλληλη θεραπεία δε θα πρέπει να έχει αντίκτυπο στην επιβίωση. Εντούτοις, η θνητότητα αυξάνεται αν χορηγηθεί ακατάλληλη θεραπεία.(142)

Ο αντίκτυπος της καθολικής αντιμικροβιακής αντοχής στη θνητότητα δε μπορεί να αξιολογηθεί με ευκολία, καθώς είναι δύσκολο να συγκριθούν οι επιδράσεις της κατάλληλης και ακατάλληλης θεραπείας. Εξ ορισμού, δεν υπάρχει καμία κατάλληλη αντιβιοτική θεραπεία, τουλάχιστον in vitro, οπότε είναι αδύνατο να οριστεί τι αποτελεί «κατάλληλο» θεραπευτικό σχήμα σε αυτή την περίπτωση. Η αληθής αποδοτέα θνητότητα των λοιμώξεων από PDR *A. baumannii, P. aeruginosa* και *K. pneumoniae* μπορεί να αξιολογηθεί μόνο με την συμπερίληψη μιας εξομοιωμένης ομάδας ελέγχου, προκειμένου να μειωθεί η επίδραση διαφόρων συγχυτικών παραγόντων.

Ο αντίκτυπος της ακατάλληλης αντιμικροβιακής αγωγής στην έκβαση 116 ασθενών με νοσοκομειακή πνευμονία από *A. baumannii* αξιολογήθηκε σε μια αναδρομική μελέτη κοορτής.(143) Το 60.3% αυτών είχαν λοίμωξη από πολυανθεκτικά στελέχη, ενώ το 15.5% αυτών είχαν λοίμωξη από πανανθεκτικά στελέχη. Η ολική και η σχετιζόμενη με τη λοίμωξη θνητότητα ήταν 47.4% και 37.9%, αντίστοιχα. Οι παράγοντες κινδύνου που σχετίζονταν με την σχετιζόμενη με τη λοίμωξη θνητότητα ήταν η πολυανθεκτικότητα, η πανανθεκτικότητα, η υψηλή τιμή της κλίμακας APACHE II, η ακατάλληλη εμπειρική αντιμικροβιακή αγωγή και η ακαττάληλη οριστική αντιμικροβιακή αγωγή. Μετά την προσαρμογή για άλλες μεταβλητές, , η υψηλή τιμή της κλίμακας APACHE II και η ακατάλληλη οριστική αντιμικροβιακή αγωγή βρέθηκαν να είναι ανεξάρτητοι παράγοντες κινδύνου που σχετίζονταν με την υψηλή θνητότητα.

Μια άλλη πιθανή εξήγηση της σχετικά χαμηλής, αλλά σημαντικής θνητότητας, είναι ότι οι συνδυασμοί αντιβιοτικών που χρησιμοποιήθηκαν στη μελέτη μας μπορεί να έδρασαν συνεργιστικά in vivo. Σε μια μελέτη των Bratu et al.,(35) διάφοροι συνδυασμοί αντιβιοτικών φάνηκαν να είναι αποτελεσματικοί σε in vitro μελέτες προσδιορισμού του ρυθμού βακτηριοκτόνου δράσης (time-kill μελέτες). Για παράδειγμα, ο συνδυασμός πολυμυξίνης με ιμιπενέμη προκάλεσε μια λογαριθμική μείωση ≥3 στις μονάδες σχηματισμού αποικιών /mL σε 10 από τα 16 στελέχη *K. pneumoniae* που ήταν ανθεκτικά στις καρβαπενέμες, ενώ η ιμιπενέμη μόνη της και η πολυμυξίνη μόνη της (στην ίδια συγκέντρωση με αυτή που χρησιμοποιήθηκε στον συνδυασμό) μείωσε τα ανθεκτικά στις καρβαπενέμες στελέχη μόνο σε 0/16 και 2/16 των περιπτώσεων, αντίστοιχα.

Ο αυστηρός έλεγχος των λοιμώξεων και η σύνεση στη χρήση των αντιβιοτικών αποτελούν σαφώς τους πυλώνες κάθε θεραπευτικής διαχείρισης, καθώς αυτές οι πρακτικές θα βοηθήσουν στην αποφυγή της ανάδυσης και παρουσίας βακτηρίων με αντοχή σε όλα τα διαθέσιμα αντιβιοτικά. Η χρήση ενός συνδυαστικού αντιβιοτικού σχήματος που περιέχει κολιστίνη είναι πιθανώς αυτό με τις μεγαλύτερες πιθανότητες επιτυχίας σύμφωνα με in vitro δεδομένα.(133)

Συμπερασματικά, ενώ η θνητότητα των λοιμώξεων από PDR *K. pneumoniae, P. aeruginosa* και *A. baumannii* είναι σημαντική, δε μπορεί να γίνει μια οριστική δήλωση σχετικά με την αποδοτέα θνητότητα αυτών των λοιμώξεων. Θα πρέπει να πραγματοποιηθούν περαιτέρω μελέτες που να περιλαμβάνουν κατάλληλες ομάδες ελέγχου προκειμένου να σχηματιστεί μια πιο καθαρή άποψη της αποδοτέας θνητότητας των λοιμώξεων από PDR παθογόνα.

Ειδικό μέρος Γ'

Έχοντας αναλύσει τα πρότυπα αντοχής των ανθεκτικών στην κολιστίνη gram αρνητικών παθογόνων και τα χαρακτηριστικά και τις εκβάσεις των λοιμώξεων από πανανθεκτικά gram αρνητικά παθογόνα, αποτελεί λογική συνέχεια η μελέτη των παραγόντων κινδύνου που σχετίζονται με την απομόνωση τέτοιων παθογόνων. Για την επίτευξη αυτού του στόχου, πραγματοποιήθηκε μια μελέτη ασθενούς-μάρτυρα με εξομοίωση σε ένα γενικό τριτοβάθμιο νοσοκομείο της Αθήνας.

9. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΗΝ ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΑΝΘΕΚΤΙΚΩΝ ΣΤΗΝ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗ GRAM ΑΡΝΗΤΙΚΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ: ΜΙΑ ΜΕΛΕΤΗ ΑΣΘΕΝΟΥΣ-ΜΑΡΤΥΡΑ ΜΕ ΕΞΟΜΟΙΩΣΗ

9.1 Εισαγωγή

Η ανάδυση των gram αρνητικών βακτηρίων με πολλαπλούς μηχανισμούς αντοχής σε πολλά ευρέως χρησιμοποιούμενα αντιβιοτικά, μαζί με τον αργό ρυθμό ανάπτυξης νέων αποτελεσματικών αντιμικροβιακών παραγόντων ενάντια σε αυτή την κατηγορία βακτηρίων,(116) έχει οδηγήσει στην αναθεώρηση του θεραπευτικού ρόλου της κολιστίνης. Η κολιστίνη, που είναι επίσης γνωστή ως πολυμυξίνη Ε, παραμερίστηκε από την καθημερινή κλινική πράξη για πολλά χρονιά, με εξαίρεση τον εδραιωμένη θέση της στην πρόληψη και θεραπεία των λοιμωδών επιπλοκών από το αναπνευστικό σε ασθενείς με κυστική ίνωση.(2) Η κολιστίνη βρέθηκε ότι έχει διατηρήσει τη δραστικότητά της ενάντια σε στελέχη πολλών gram αρνητικών βακτηριακών ειδών.(25) Για την ακρίβεια, σε ορισμένες περιπτώσεις ενδέχεται να είναι ο μόνος διαθέσιμος αντιμικροβιακός παράγοντας που έχει δραστικότητα έναντι λοιμώξεων που προκαλούνται από πολυανθεκτικά στελέχη αυτών των παθογόνων σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς.(118)

Η συσσωρευμένη εμπειρία από την χρήση της κολιστίνης σε θεραπευτικά σχήματα μακράς διάρκειας σε ασθενείς με κυστική ίνωση έχει οδηγήσει στην υπόθεση ότι η ανάπτυξη βακτηριακής αντοχής σε αυτό το φάρμακο είναι μια αρκετά αργή διαδικασία.(64, 144) Εντούτοις, τα δεδομένα που αφορούν αυτή την ομάδα ενδέχεται να μην έχουν άμεση εφαρμογή σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς, επειδή η χρόνια βρογχοπνευμονική λοίμωξη στην κυστική ίνωση χαρακτηρίζεται από διακριτούς επιδημιολογικούς και παθογενετικούς μηχανισμούς.(145)

Έχουν ταυτοποιηθεί διάφοροι μηχανισμοί μέσω των οποίων μπορεί να αναπτυχθεί βακτηριακή αντοχή στην κολιστίνη.(2, 25) Έτσι, η αύξηση της κατανάλωσής της για τη θεραπεία των λοιμώξεων από gram αρνητικά βακτήρια (31) οδηγεί στην ανάπτυξη αντοχής στο φάρμακο. Υπάρχουν ήδη στη βιβλιογραφία αναφορές από πολυανθεκτικά νοσοκομειακά στελέχη *Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter baumannii*, και *Klebsiella pneumoniae* που είναι επίσης ανθεκτικά στην κολιστίνη.(31, 99, 100, 131)

Εκτός από την πίεση επιλογής από την χρήση αντιβιοτικών, πολλοί άλλοι παράγοντες έχουν συσχετιστεί με την απομόνωση πολυανθεκτικών παθογόνων. Αυτό το φαινόμενο παρατηρείται κυρίως σε ασθενείς που νοσηλεύονται και έχουν παρατεταμένη κλινική πορεία με επιπλοκές.(146) Επιπρόσθετα, η έκβαση ασθενών με αυτές τις λοιμώξεις μπορεί να σχετίζεται όχι μόνο με το πρότυπο αντοχής του παθογόνου που έχει απομονωθεί, αλλά και με διάφορες άλλες συνοσηρότητες. Σε αυτό το πλαίσιο, εξετάστηκαν οι παράγοντες κινδύνου για την απομόνωση ανθεκτικών στην κολιστίνη *P. aeruginosa, A. baumannii*, και *K. pneumoniae* από νοσηλευόμενους ασθενείς.

9.2 Μέθοδοι

9.2.1 Περιγραφή της μελέτης και επιλογή των ασθενών και των μαρτύρων

Πρόκειται για μια αναδρομική μελέτη ασθενών-μαρτύρων με εξομοίωση 1:1, που πραγματοποιήθηκε στο νοσοκομείο «Ερρίκος Ντυνάν», το οποίο είναι ένα γενικό τριτοβάθμιο νοσοκομείο δυναμικότητας 450 κλινών στην Αθήνα. Η έγκριση για την πραγματοποίηση της μελέτης δόθηκε από την επιτροπή ηθικής και δεοντολογίας του νοσοκομείου και την τριμελή επιτροπή των επιβλεπόντων τη διδακτορική διατριβή.

Όλοι οι νοσηλευόμενοι από τους οποίους απομονώθηκε κλινικό δείγμα που απέδωσε *K. pneumoniae*, *A. baumannii* ή *P. aeruginosa* με αντοχή στην κολιστίνη, κατά την χρονική περίοδο μεταξύ της 1ης Ιανουαρίου 2006 και της 31ης Μαρτίου 2007, ταυτοποιήθηκαν από τη βάση δεδομένων του μικροβιολογικού εργαστηρίου του νοσοκομείου και συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη ως ασθενείς.

Για κάθε νοσηλευόμενο που επιλεγόταν ως ασθενής, αναζητήθηκε ένας κατάλληλος μάρτυρας από μια δεξαμενή νοσηλευομένων που είχαν θετική καλλιέργεια από οποιαδήποτε εστία απομόνωσης που απομόνωσε στέλεχος *K. pneumoniae, A. baumannii,* ή *P. aeruginosa* ευαίσθητο στην κολιστίνη, κατά την χρονική περίοδο μεταξύ της 1ης Ιανουαρίου 2002 και της 31ης Δεκεμβρίου 2006. Η εξομοίωση σχεδιάστηκε σε δύο βήματα. Το πρώτο αφορούσε το είδος του απομονωμένου βακτηρίου και το δεύτερο την εστία απομόνωσης του κάθε παθογόνου.

9.2.2 Μελέτη αντιμικροβιακής ευαισθησίας

Η συνήθης μελέτη αντιμικροβιακής ευαισθησίας σε ευρέως χρησιμοποιούμενα αντιβιοτικά έγινε με τη χρήση μεθόδου αυτοματοποιημένης μικροαραίωσης με ζωμό (automated broth microdilution) (Vitek 2, bioMerieux, Hazelwood, MO). Η ευαισθησία των στελεχών *P. aeruginosa, K. pneumoniae* και *A. baumannii* στην κολιστίνη προσδιορίστηκε με τη χρήση ταινίας Etest (AB Biodisk, Solna, Sweden) σε άγαρ Mueller-Hinton που ενοφθαλμίστηκε με βακτήρια σε μέγεθος ίσο με 0.5 του προτύπου McFarland, σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή.(120) Θεωρήθηκε ότι ένα στέλεχος είναι ευαίσθητο στην κολιστίνη όταν η αντίστοιχη MIC <= 2μg/ml.(121) Σε αντίθετη περίπτωση, τα στελέχη χαρακτηρίστηκαν ως ανθεκτικά στην κολιστίνη.

9.2.3 Ορισμός της λοίμωξης και των εκβάσεων της μελέτης

Η διαφοροποίηση ανάμεσα στη λοίμωξη και τον αποικισμό με τα υπό μελέτη στελέχη και ο προσδιορισμός των εκβάσεων που σχετίζονταν με τη λοίμωξη έγινε από δύο ανεξάρτητους μελετητές που ήταν τυφλοί ως προς την κατηγοριοποίηση των συμμετεχόντων ως ασθενείς ή μάρτυρες. Λεπτομερέστερα, οι λοιμώξεις ταυτοποιήθηκαν σύμφωνα με τους ορισμούς των Centers for Disease Control and Prevention.(147) Εντούτοις, λόγω της αναδρομικής φύσης της μελέτης, στον προσδιορισμό των λοιμώξεων ελήφθησαν υπόψη επιπρόσθετοι παράγοντες, συμπεριλαμβανομένων της χορήγησης κατάλληλης αντιμικροβιακής αγωγής και της πιθανότητας οι κλινικές εκδηλώσεις των ασθενών να οφείλονται σε άλλα παθογόνα από διαφορετικές θέσεις απομόνωσης.

Οι εκβάσεις που εξετάστηκαν ήταν η ολική θνητότητα κατά την νοσηλεία αναφοράς (index hospitalization), καθώς και η αποδοτέα θνητότητα στα στελέχη που περιλαμβάνονται στη μελέτη. Ο θάνατος αποδιδόταν στη λοίμωξη με το υπό εξέταση παθογόνο αν επήλθε λόγω σοβαρής σήψης ή σηπτικής καταπληξίας ή οργανικής ανεπάρκειας, αν θεωρήθηκε ότι είναι επακόλουθο της λοίμωξης από το υπό εξέταση παθογόνο και δεν μπορούσε να αποδοθεί καλύτερα σε συμπαρομαρτούσες ή επακόλουθες λοιμώξεις από άλλα παθογόνα.

9.2.4 Συλλογή δεδομένων

Συλλέχθηκαν όλα τα διαθέσιμα ιατρικά διαγράμματα και τα σχετικά δεδομένα από το μικροβιολογικό εργαστήριο. Τα δεδομένα που συλλέχθηκαν περιλάμβαναν τα δημογραφικά χαρακτηριστικά, το ιατρικό ιστορικό και λοιπές συνοσηρότητες, τα απομονωμένα στελέχη, τις χορηγηθείσες αντιμικροβιακές και ειδικές θεραπείες, την εισαγωγή στη Μονάδα Εντατικής Θεραπείας (ΜΕΘ), την πραγματοποίηση επεμβατικών πράξεων και τις εκβάσεις των ασθενών. Τα μικροβιολογικά δεδομένα που συλλέχθηκαν αφορούσαν τον τύπο του απομονωμένου στελέχους, τα πρότυπα αντιμικροβιακής ευαισθησίας και την ημερομηνία και τη θέση λήψης του κλινικού δείγματος. Τα δεδομένα που αφορούσαν τις χορηγηθείσες αντιμικροβιακές αγωγές περιλάμβαναν τον τύπο των αντιβιοτικών καθώς και τη χρονική στιγμή και διάρκεια της θεραπείας. Ως ειδικές θεραπείες καταγράφηκε η χορήγηση αντινεοπλασματικών, ανοσοκατασταλτικών ή ανοσοτροποποιητικών θεραπειών, η μετάγγιση προϊόντων αίματος και η θεραπεία νεφρικής υποκατάστασης. Οι επεμβατικές πράξεις που καταγράφηκαν περιλάμβαναν τη διασωλήνωση, την τοποθέτηση κεντρικού φλεβικού καθετήρα ή καθετήρα ουροδόχου

κύστης και την τοποθέτηση ρινογαστρικού σωλήνα ή τραχειοστομίας. Επίσης, καταγράφηκαν οι ενδοσκοπικές ή ανοιχτές χειρουργικές επεμβάσεις. Ειδικά για τους νοσηλευόμενους στη ΜΕΘ, καταγράφηκαν επιπλέον η διάρκεια της παραμονής στη ΜΕΘ, η χρήση και η διάρκεια μηχανικού αερισμού και υπολογίστηκε το APACHE II κατά την εισαγωγή.

Όλα τα δεδομένα που συλλέχθηκαν μετατράπηκαν σε μεταβλητές και αναλύθηκαν ως παράγοντες κινδύνου για την απομόνωση Gram αρνητικών στελεχών ανθεκτικών στην κολιστίνη. Τα κλινικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά που αναλύθηκαν ως παράγοντες κινδύνου αφορούσαν μόνο τη νοσηλεία αναφοράς και μέχρι του χρονικού σημείου της απομόνωσης του υπό μελέτη παθογόνου. Στις περιπτώσεις κατά τις οποίες πολλαπλά παθογόνα απομονώνονταν από τον ίδιο ασθενή και ικανοποιούσαν τα κριτήρια συμπερίληψης στη μελέτη, μόνο το πρώτο στέλεχος λαμβανόταν υπόψη στη μελέτη.

9.2.5 Στατιστική ανάλυση

Η κανονικότητα της κατανομής των υπό μελέτη μεταβλητών εξετάστηκε με τις στατιστικές δοκιμασίες Kolmogorov-Smirnov ή Shapiro-Wilk, ανάλογα με το μέγεθος του αριθμού των ασθενών που έφεραν τα υπό μελέτη χαρακτηριστικά. Η συσχέτιση μεταξύ των μεταβλητών με κανονική κατανομή που χαρακτήριζαν τα εξομοιωμένα ζεύγη ασθενών-μαρτύρων και της απομόνωσης ενός Gram αρνητικού παθογόνου που ήταν ανθεκτικό στην κολιστίνη εξετάστηκε με εξομοιωμένη ανάλυση χρησιμοποιώντας το t-test του Student. Για τις μεταβλητές με μη κανονική κατανομή, χρησιμοποιήθηκαν το McNemar test ή το signed-rank test του Wilcoxon, στις περιπτώσεις των διχότομων ή των συνεχών μεταβλητών, αντίστοιχα. Οι μεταβλητές που βρέθηκαν να έχουν στατιστικά

σημαντική συσχέτιση με την ανάπτυξη αντοχής στην κολιστίνη, από τις παραπάνω αναφερθείσες μονοπαραγοντικές αναλύσεις, αναλύθηκαν περαιτέρω με τη χρήση ενός πολυπαραγοντικού σταδιακού προς τα πίσω και υπό όρους (backward, stepwise, conditional) μοντέλου λογαριθμικής παλινδρόμησης. Για όλες τις στατιστικές δοκιμασίες που πραγματοποιήθηκαν, η τιμή του αμφίδρομου (two-tailed) p που θεωρήθηκε ότι υποδηλώνει στατιστική σημαντικότητα ήταν ≤ 0.05. Το στατιστικό πακέτο λογισμικού που χρησιμοποιήθηκε σε όλες τις αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν ήταν το SPSS, έκδοση 15.0 (SPSS, Chicago, IL).

9.3 Αποτελέσματα

9.3.1 Ταυτοποίηση των ασθενών

Κατά τη διάρκεια της δεκαπεντάμηνης περιόδου, από τον Ιανουάριο του 2006 μέχρι τον Μάρτιο του 2007, ταυτοποιήθηκαν 41 ασθενείς, οι οποίοι είχαν κλινικό δείγμα από όπου απομονώθηκε Gram αρνητικό παθογόνο ανθεκτικό στην κολιστίνη που ανήκε σε ένα από τα τρία είδη που περιγράφονται παραπάνω. Τα αντίστοιχα στελέχη ήταν του είδους της *K. pneumoniae* σε 33 ασθενείς, του *A. baumannii* σε 6 και της *P. aeruginosa* σε 2. Από όλα τα στελέχη, τα 11 απομονώθηκαν από καλλιέργειες άκρου φλεβικού καθετήρα, τα 10 από αιμοκαλλιέργειες, τα 8 από καλλιέργειες τραχειοβρογχικών εκκρίσεων, τα 5 από πυώδεις συλλογές ή εκκρίσεις, τα 4 από καλλιέργειες ή δείγματα που προέρχονταν από στείρες υπό φυσιολογικές συνθήκες κοιλότητες ή διαστήματα και 3 από καλλιέργειες ούρων. Αυτά τα στελέχη θεωρήθηκε ότι αντιπροσώπευαν λοίμωξη σε 35 ασθενείς (85.4% όλων των ασθενών), ενώ στους υπόλοιπους 6 ασθενείς θεωρήθηκαν ως αποικιστές.

9.3.2 Επιλογή εξομοιωμένων μαρτύρων

Η ομάδα των μαρτύρων αποτελούνταν από 41 νοσηλευόμενους που εξομοιώθηκαν με τους ασθενείς σύμφωνα με τα βακτηριακά είδη και τη θέση απομόνωσης. Τα απομονωμένα παθογόνα κρίθηκε ότι αντιπροσώπευαν λοίμωξη σε παρόμοιο αριθμό νοσηλευομένων (36 από τους 41 μάρτυρες) όπως και στην ομάδα των ασθενών.

9.3.3 Παράγοντες κινδύνου για την απομόνωση παθογόνου ανθεκτικού στην κολιστίνη

Τα δεδομένα που αφορούν τη συσχέτιση των διαφόρων πιθανών παραγόντων κινδύνου με την απομόνωση Gram αρνητικών βακτηρίων ανθεκτικών στην κολιστίνη, από την

άποψη της έκθεσης και της διάρκειας έκθεσης, παρουσιάζονται στον Πίνακα 5. Στην μονοπαραγοντική ανάλυση, εφτά μεταβλητές βρέθηκαν να έχουν στατιστικά σημαντική συσχέτιση με την απομόνωση βακτηρίων ανθεκτικών στην κολιστίνη. Αυτές ήταν η προηγούμενη χορήγηση κολιστίνης ($p<0.001$), η ηλικία ($p=0.005$), το ιστορικό προηγούμενων χειρουργικών επεμβάσεων ($p=0.008$), η διάρκεια της προηγηθείσας χορήγησης κολιστίνης ($p<0.001$), η διάρκεια της νοσηλείας στη ΜΕΘ ($p=0.018$), η χορήγηση μονοβακταμών ($p=0.021$) και η διάρκεια χορήγησης αντιμυκητιασικών παραγόντων ($p=0.049$). Στην πολυπαραγοντική ανάλυση, μόνο η χορήγηση της κολιστίνης παρέμεινε ως ανεξάρτητος παράγων κινδύνου ($p=0.002$, adjusted odds ratio=7.78).

9.3.4 Εκβάσεις

Από τους 82 συνολικά ασθενείς που συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη, οι 33 πέθαναν κατά την νοσηλεία αναφοράς (συνολική ενδονοσοκομειακή θνητότητα=40.2%). Η θνητότητα δε διέφερε ανάμεσα στους ασθενείς με στέλεχος ανθεκτικό στην κολιστίνη και σε αυτούς με στέλεχος ευαίσθητο στην κολιστίνη (36.6% έναντι 43.9%, $p=0.58$) ή ανάμεσα στις υποομάδες των ασθενών που εκδήλωσαν λοίμωξη από ανθεκτικό στην κολιστίνη παθογόνο συγκριτικά με αυτούς που εκδήλωσαν λοίμωξη από ευαίσθητο στην κολιστίνη παθογόνο: 14/35 (40%) έναντι 15/36 (41.7%) ($p=0.78$).

Πίνακας 5. Μονοπαραγοντική ανάλυση παραγόντων κινδύνου που σχετίζονται με την απομόνωση ανθεκτικών στην κολιστίνη *K. pneumoniae*, *A. baumannii* και *P. aeruginosa*.

	CR* (N=41)	**CS+ (N=41)**		**CR***	**CS+**	
Όνομα μεταβλητής	**n(%)**	**n(%)**	***p***	**Μέσος όρος±SD**	**Μέσος όρος±SD**	***p***
Δημογραφικά						
Ηλικία, έτη				57±17	66±19	**0.005**
Φύλο (άρρενες)	23 (56.1%)	32 (78%)	0.06			
Χρόνος νοσηλείας, ημέρες				37.1±32.5	27.9±36.2	0.08
Συνοσηρότητα						
Καρδιαγγειακό	21 (51.2%)	26 (63.4%)	0.36			
Νεοπλασίες	10 (24.4%)	9 (22%)	1			
ΧΑΠ	10 (24.4%)	14 (34.1%)	0.45			
Σακχαρώδης διαβήτης	14 (34.1%)	12 (29.3%)	0.80			
Οξεία νεφρική ανεπάρκεια	4 (9.8%)	5 (12.2%)	1			
Χρόνια νεφρική ανεπάρκεια	1 (2.4%)	6 (14.6%)	0.13			
Νεφρική ανεπάρκεια (σύνολο)	5 (12.2%)	11 (26.8%)	0.21			
Ηπατοπάθειες	4 (9.8%)	8 (19.5%)	0.39			
Αιματολογικές διαταραχές	2 (4.9%)	1 (2.4%)	1			
Νευρολογικές διαταραχές	7 (17.1%)	12 (29.3%)	0.33			
Προηγούμενο χειρουργείο	8 (19.5%)	0 (0%)	**0.008**			
Προηγούμενη νοσηλεία	28 (68.3%)	22 (53.7%)	0.24			
Νοσηλεία στη ΜΕΘ/διάρκεια, ημέρες	39(95.1%)	38(92.7%)	1	29.6±26.2	18.2±21.9	**0.02**
APACHE II				18.9±7.4	18.8±7	0.76
Χρήση αντιβιοτικών πριν την απομόνωση του βακτηρίου/διάρκεια χρήσης, ημέρες						
Κολιστίνη	34(82.9%)	15(36.6%)	**<0.001**	25.1±23.8	16.3±20.4	**<0.001**
Αντιψευδομονασικές πενικιλίνες	29(70.7%)	28(68.3%)	1	8±6.1	13.9±13.1	0.14

Κεφαλοσπορίνες 2ης γενιάς	1(2.4%)	7(17.1%)	0.07	4.0	4.9±3.5	0.07
Κεφαλοσπορίνες 3ης γενιάς	21(51.2%)	18(43.9%)	0.66	6.6±4.5	6±4.5	0.35
Αμινογλυκοσίδες	24(58.5%)	18(43.9%)	0.31	9.5±8.2	7.1±9.9	0.06
Κινολόνες	25(61%)	33(80.5%)	0.1	14.1±13.5	14.8±13.1	0.19
Μετρονιδαζόλη	13(31.7%)	17(41.5%)	0.52	12.5±6.8	11.7±11.3	0.88
Γλυκοπεπτίδια	28(68.3%)	36(87.8%)	0.23	17±13	16.8±17	0.50
Καρβαπενέμες	34(82.9%)	28(68.3%)	0.26	19.9±17.1	16.9±20.5	0.13
Μονοβακτάμες	9(22%)	1(2.4%)	**0.02**	5.3±4.7	16	0.07
Αντιμυκητικά	7(17.1%)	16(31%)	0.06	8.9±7.1	19.8±23.4	**0.049**
β-λακτάμες/αναστολείς β-λακταμασών	10(24.4%)	5(12.2%)	0.23	6.2±4.5	5.6±5.1	0.17
Επεμβατικές διαδικασίες και τοποθέτηση συσκευών/διάρκεια, ημέρες						
Μηχανικός αερισμός	34(82.9%)	36(87.8%)	0.73	14.3±11	10.5±10.6	0.12
Κεντρικός φλεβικός καθετήρας	37(90.2%)	38(92.7%)	1	21±15.5	18.7±19.9	0.51
Καθετήρας Foley	38(92.7%)	38(92.7%)	1	24.9±16.8	18.9±19.9	0.1
Ρινογαστρικός καθετήρας	36(87.8%)	37(90.2%)	1	18.9±13.6	17.6±20.7	0.58
Ειδικές θεραπείες	32 (78%)	24 (58.6%)	0.06			
Άλλες παρεμβάσεις	8 (19.5%)	15 (36.6%)	0.12			
Προσθετικά υλικά	10 (24.4%)	11 (26.8%)	1			
Χειρουργικές επεμβάσεις μετά την εισαγωγή	26 (63.4%)	27 (65.9%)	1			
Τραχειοστομία	26(63.4%)	20(48.8%)	0.29	24.8±30.5	20.2±26.8	0.12
Εκβάσεις						
Ασθενείς με λοίμωξη	35(85.4%)	36(87.8%)	1			
Θνητότητα	15(36.6%)	18(43.9%)	0.58			
Αποδοτέα θνητότητα	10(24.4%)	6(14.6%)	0.39			

9.4 Συζήτηση

Το κύριο εύρημα της μελέτης είναι ότι η χρήση της κολιστίνης συσχετίστηκε ισχυρά και ανεξάρτητα με την απομόνωση ανθεκτικών στην κολιστίνη στελεχών *K. pneumoniae, A. baumannii*, και *P. aeruginosa* από τους νοσηλευόμενους ασθενείς της μελέτης. Η απομόνωση τέτοιων ανθεκτικών στελεχών σε νοσηλευόμενους ασθενείς μπορεί να αποδοθεί είτε στην ανάδυση αντοχής σε ένα προηγουμένως ευαίσθητο στέλεχος είτε σε διασταυρούμενη μετάδοση από ένα άλλο ήδη ανθεκτικό στέλεχος.(146)

Από τους 41 ασθενείς από τους οποίους απομονώθηκε ένα ανθεκτικό στην κολιστίνη gram αρνητικό παθογόνο, είχε απομονωθεί προηγουμένως ένα ευαίσθητο στην κολιστίνη στέλεχος του ίδιου είδους από οποιοδήποτε κλινικό δείγμα (κατά την ίδια εισαγωγή στο νοσοκομείο) στους 18 από αυτούς (43.9%). Εντούτοις, πρέπει να σημειωθεί ότι δεν πραγματοποιούνταν συστηματικά καλλιέργειες επιτήρησης, οπότε το πραγματικό ποσοστό των ασθενών που ήταν φορείς ενός ευαίσθητου στην κολιστίνη παθογόνου του ιδίου είδους πριν από την απομόνωση του ανθεκτικού ενδέχεται να ήταν υψηλότερο.

Η πλειοψηφία των ασθενών (88.2%), από την υποομάδα των 18 ασθενών από τους οποίους απομονώθηκε ένα ευαίσθητο στην κολιστίνη στέλεχος πριν από το ανθεκτικό, είχε λάβει κολιστίνη κατά το διάστημα ανάμεσα στην απομόνωση του ευαίσθητου και του ανθεκτικού στην κολιστίνη, με διάμεση διάρκεια 14 ημερών. Παρόλο που αυτά τα δεδομένα μπορεί να υπογραμμίζουν τον εν δυνάμει σημαντικό ρόλο της χρήσης της κολιστίνης ως παράγοντα που οδηγεί στην ανάδυση αντοχής σε αυτό το αντιβιοτικό, αποτελούν απλές υποθέσεις επί απουσίας γονοτυπικής επιδημιολογικής ανάλυσης των

παθογόνων.

Έχει παρατηρηθεί ότι η αντίσταση των gram αρνητικών βακτηρίων στις πολυμυξίνες μπορεί να αναπτυχθεί μέσω προσαρμοστικών μηχανισμών μετά από έκθεση σε αυτά τα αντιβιοτικά. Εντούτοις, αυτός ο τύπος αντοχής είναι ασταθής και υποχωρεί μετά την απόσυρση των πολυμυξινών.(70, 148) Παρόλα αυτά, η αντίσταση στην κολιστίνη μπορεί να αναπτυχθεί μέσω μηχανισμών μεταλλάξεων και αυτός ο τύπος αντοχής είναι σταθερός, κληρονομήσιμος και αναπτύσσεται ανεξάρτητα από την παρουσία του φαρμάκου.(81)

Επιπλέον, η ετεροαντοχή στην κολιστίνη έχει παρατηρηθεί in vitro σε στελέχη *A. baumannii*, υποδηλώνοντας την ύπαρξη στελεχών μέσα στον πληθυσμό μιας καλλιέργειας ενός ευαίσθητου βακτηρίου που μπορούν να αναπτυχθούν σε σημαντικά υψηλές συγκεντρώσεις κολιστίνης.(92) Αν και η κλινική σημασία αυτού του φαινομένου είναι ασαφής, μπορεί να σχετίζεται με την in vivo ανάδυση αντοχής στην κολιστίνη μετά τη χρήση κολιστίνης.

Η διάρκεια χορήγησης της κολιστίνης είναι ένας άλλος εν δυνάμει σημαντικός παράγοντας για την ανάδυση αντοχής στην κολιστίνη. Η μέση διάρκεια χρήσης της κολιστίνης στους ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με αυτό το φάρμακο ήταν 25 ημέρες, συγκριτικά με τους μάρτυρες για τους οποίους η μέση διάρκεια χρήσης της κολιστίνης ήταν 16 ημέρες. Η συνολική παρατεταμένη διάρκεια χορήγησης της κολιστίνης μπορεί να αποδοθεί στο γεγονός ότι σε αυτή την μελέτη, όπως και σε προηγούμενες

αναφορές,(100, 149) η κολιστίνη χρησιμοποιήθηκε πρωτίστως για τη θεραπεία βαρέως πασχόντων ασθενών, οι οποίοι συχνά έχουν επιπλεγμένη πορεία. Αντίστοιχα, οι Μεντζελόπουλος και συν.(100) αναφέρουν τη συνδυασμένη χρήση καρβαπενέμης για περισσότερες από 20 ημέρες και κολιστίνης για περισσότερο από 13 ημέρες ως τον μόνο ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για ανάπτυξη πνευμονίας σχετιζόμενη με τον αναπνευστήρα από πανανθεκτική *P. aeruginosa*.

Η ακατάλληλη δοσολόγηση, εκτός από την παρατεταμένη χορήγηση, ενδέχεται να είναι ένας παράγοντας που συμβάλλει στην ανάπτυξη βακτηριακής αντοχής μετά από την έκθεση σε κάποιο αντιβιοτικό. Στην περίπτωση της κολιστίνης, οι συστάσεις δοσολόγησης μέχρι πρόσφατα βασίζονταν σε δεδομένα που συγκεντρώθηκαν δεκαετίες πριν,(150) χωρίς να λαμβάνονται υπόψη τρέχουσες φαρμακοδυναμικές αρχές και ιδίως το γεγονός ότι η κολιστίνη ασκεί την αντιμικροβιακή της δράση με δοσοεξαρτώμενο τρόπο.(151) Με τα παρόντα δοσολογικά σχήματα, τα βακτήρια είναι πιθανό να εκτίθενται σε συγκεντρώσεις κολιστίνης που δε μπορούν να προκαλέσουν αναστολή για ένα σημαντικό μέρος του διαστήματος χορήγησης, διευκολύνοντας με αυτόν τον τρόπο την ανάπτυξη αντοχής.(19, 152) Αυτό μπορεί να είναι ιδιαίτερα σημαντικό για ορισμένες θέσεις λοίμωξης, όπου η διείσδυση της κολιστίνης μπορεί να είναι μειωμένη.

Ένα σημαντικό ζήτημα για τη βέλτιστη δοσολόγηση της κολιστίνης και την επίτευξη ικανοποιητικών επιπέδων στον ορό αφορά τη χορήγηση δόσης φόρτισης κατά την έναρξη της αντιμικροβιακής αγωγής. Κατά τη διάρκεια πραγματοποίησης της παρούσας μελέτης, η χορήγηση δόσης φόρτισης δεν ήταν μέρος της κλινικής πρακτικής. Πλέον,

όμως, αυτή θεωρείται επιβεβλημένη και τείνει να ενσωματωθεί στις τρέχουσες κατευθυντήριες οδηγίες. Υπάρχουν μελέτες που προκρίνουν τη χορήγηση δόσης φόρτισης 6 εκατομμυρίων IU κολιστίνης,(18, 21) ενώ έχει αναπτυχθεί αλγόριθμος προσδιορισμού των δόσεων φόρτισης και των ημερήσιων δόσεων συντήρησης για τη CMS για ασθενείς με διατηρημένη νεφρική λειτουργία, ασθενείς σε θεραπεία διαλείπουσας νεφρικής υποκατάστασης και λήψη συνεχούς νεφρικής υποκατάστασης.(19) Από αυτές τις μελέτες προκύπτει ότι σε αιμοκαθαιρόμενους ασθενείς η δοσολογία της δόσης φόρτισης θα πρέπει να παραμένει η ίδια με τους μη αιμοκαθαιρόμενους. Επίσης, ο στόχος της μέσης συγκέντρωσης σταθερής κατάστασης της κολιστίνης στο πλάσμα θα πρέπει να βασίζεται στην MIC, την εστία και την βαρύτητα της λοίμωξης. Για τον υπολογισμό θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη το σωματικό βάρος που είναι μικρότερο (ιδεώδες ή πραγματικό) υπολογισμένο σε kg και συνιστάται προσοχή στην χρήση δόσης φόρτισης μεγαλύτερης από 300 mg CBA. Για τον υπολογισμό της κάθαρσης κρεατινίνης μπορούν να χρησιμοποιηθούν διάφοροι τύποι υπολογισμού αρκεί να σταθμίζονται για επιφάνεια μάζας σώματος 1.73 m^2, ενώ όταν πρόκειται για ασθενείς με τιμές κάθαρσης κρεατινίνης > 70 ml/min/1.73 m^2 ή όταν ο στόχος είναι μια "υψηλή" μέση συγκέντρωση σταθερής κατάστασης κολιστίνης στο πλάσμα συνιστάται προσοχή στη χορήγηση, επειδή και στις δύο περιπτώσεις ενδέχεται να υπολογιστούν πολύ υψηλές δόσεις πάνω από τα όρια.

Το ζήτημα της αντοχής στην κολιστίνη μεταξύ των gram αρνητικών βακτηρίων σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς είναι σημαντικό, επειδή αυτά τα βακτήρια είναι συχνά ανθεκτικά και σε πολλά άλλα αντιβιοτικά εκτός της κολιστίνης, καθιστώντας εξαιρετικά

προβληματική την επιλογή ενός ορθολογικού αντιμικροβιακού θεραπευτικού σχήματος. (31, 131, 153) Στην παρούσα μελέτη, η πλειοψηφία (68%) των ανθεκτικών στην κολιστίνη βακτηρίων ήταν επίσης ανθεκτικά σε όλα τα άλλα αντιβιοτικά που ήταν διαθέσιμα τη δεδομένη χρονική περίοδο. Δεν είναι γνωστό αν η χρήση της κολιστίνης θα μπορούσε να συσχετιστεί με αυξημένα ποσοστά αντοχής σε άλλους αντιμικροβιακούς παράγοντες.

Σχετικά με τα στοιχεία της παρούσας μελέτης, στην υποομάδα των 15 ασθενών από τους οποίους απομονώθηκε ένα ευαίσθητο στην κολιστίνη πριν από το ανθεκτικό στην κολιστίνη παθογόνο του ίδιου είδους και που έλαβαν θεραπεία με κολιστίνη κατά το διάστημα παρέμβασης, οι ευαισθησίες σε άλλους αντιμικροβιακούς παράγοντες δεν είχαν στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στα στελέχη που ήταν ευαίσθητα και αυτά που ήταν ανθεκτικά στην κολιστίνη. Η ευαισθησία στη μεροπενέμη ήταν 60% έναντι 86.7% (p=.76), στην κεφταζιδίμη ήταν 93.3% έναντι 100%, στην αμικασίνη ήταν 80% έναντι 100% και στην σιπροφλοξασίνη 86.7% έναντι 100% για τα ευαίσθητα και τα ανθεκτικά στην κολιστίνη στελέχη, αντίστοιχα.

Επίσης, δεν έγινε έλεγχος ευαισθησίας των στελεχών που περιλαμβάνονται στην παρούσα μελέτη στην τιγκεκυκλίνη, καθώς αυτό το αντιβιοτικό δεν ήταν εμπορικά διαθέσιμο στην Ελλάδα κατά τη διάρκεια της περιόδου μελέτης. Παρόλο που η τιγκεκυκλίνη φαίνεται να είναι δραστική in vitro έναντι στελεχών *K. pneumoniae* που είναι ανθεκτικά στα υπόλοιπα αντιβιοτικά, δεν είναι δραστική έναντι της *P. aeruginosa*,(154) και ο ρόλος της στη θεραπεία των λοιμώξεων από πολυανθεκτικά *A.*

baumannii έχει αμφισβητηθεί.(155) Ακόμα και για την *K. pneumoniae*, έχουν αναφερθεί ποσοστά ευαισθησίας κάτω από 90% για πολυανθεκτικά στελέχη που ταυτοποιήθηκαν σε μια μελέτη επιτήρησης από τις ΗΠΑ.(156)

Ένα άλλο παλιό αντιβιοτικό που επανέρχεται στην κλινική πράξη και για το οποίο επίσης δεν έγινε έλεγχος ευαισθησίας των στελεχών της παρούσας μελέτης είναι η φωσφομυκίνη. Γενικώς, η χρήση της ως μονοθεραπεία δε συνιστάται ως μονοθεραπεία, λόγω του ισχυρού ενδεχόμενου ανάδυσης αντοχής στο φάρμακο και θα πρέπει να εξετάζεται το ενδεχόμενο αντοχής *A. baumannii* στην φωσφομυκίνη.(114) Ωστόσο, πρόσφατα στοιχεία που αφορούν τη συνέργεια της φωσφομυκίνης με την κολιστίνη είναι ενθαρρυντικά.(157) Μελετήθηκε η αντιβακτηριακή δράση της κολιστίνης και της φωσφομυκίνης σε μελέτες προσδιορισμού του ρυθμού βακτηριοκτόνου δράσης (time-kill μελέτες) διάρκειας 48 ωρών και σε in vitro φαρμακοκινητικά μοντέλα διάρκειας 96 ωρών ενάντια σε *Εντεροβακτηριοειδή* που παράγουν την NDM-1. Η αντιβακτηριακή δράση μετρήθηκε μέσω της μείωσης των ζωντανών βακτηριακών αποικιών, της περιοχής κάτωθεν της καμπύλης βακτηριακής θανάτωσης και μέσω προφίλ πληθυσμιακής ανάλυσης. Ο συνδυασμός της κολιστίνης με φωσφομυκίνη συγκριτικά με τη μονοθεραπεία με κάθε ένα από τα αντιβιοτικά έδειξε αυξημένη βακτηριακή θανάτωση και μειωμένη πιθανότητα ανάδυσης αντοχής. Επίσης, η αντιβακτηριακή δράση διατηρήθηκε για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα.

Ωστόσο, υπάρχουν και κάποια μικρότερα αντιμικροβιακά που προστέθηκαν στην θεραπευτική φαρέτρα, τα οποία φαίνεται να έχουν συνεργιστική δράση με την κολιστίνη,

όπως η πλαζομικίνη, που είναι μια αμινογλυκοσίδη νέας γενιάς. Μελέτη προσδιορισμού του ρυθμού βακτηριοκτόνου δράσης του συνδυασμού της πλαζομικίνης με άλλα αντιμικροβιακά, συμπεριλαμβανομένης της κολιστίνης, ενάντια σε στελέχη *K. pneumoniae* που έφεραν το ένζυμο VIM-1 κατέδειξε συνέργεια της πλαζομικίνης με την κολιστίνη ενάντια σε όλα τα στελέχη που ελέγχθηκαν.(158)

Τα ευρήματα της μελέτης δε θα πρέπει να ερμηνευθούν χωρίς να ληφθούν υπόψη διάφοροι δυνητικοί περιορισμοί. Σχετικά με το σχεδιασμό της μελέτης, έχει προταθεί ότι η επιλογή μιας ομάδας μαρτύρων που αποτελείται από ασθενείς που φέρουν μικροοργανισμούς που είναι ευαίσθητοι στο υπό μελέτη αντιβιοτικό μπορεί να οδηγήσει στην υπερεκτίμηση του ρόλου του αντιβιοτικού ως παράγων κινδύνου για την απομόνωση ενός ανθεκτικού παθογόνου.(159) Εντούτοις, έχει επίσης προταθεί ότι η επιλογή μιας τέτοιας ομάδας μαρτύρων μπορεί να είναι πιο κατάλληλη για την αναγνώριση παραγόντων κινδύνου για την ανάπτυξη αντοχής.(160) Εκτός αυτού, ο σχετικά μικρός των ασθενών στην παρούσα μελέτη οδήγησε στην επιλογή του σχεδιασμού με τη μεθοδολογία ασθενών-μαρτύρων με εξομοίωση αντί να επιλεχθεί τυχαία μια ομάδα μαρτύρων που δεν είχαν σχέση με τους ασθενείς, επειδή αυτοί θα μπορούσαν να διαφέρουν σημαντικά από τους ασθενείς σε βασικά τους χαρακτηριστικά.

Επιπλέον, εφόσον δεν πραγματοποιούνταν συστηματικά καλλιέργειες επιτήρησης στο νοσοκομείο όπου έγινε η μελέτη, η χρήση τυχαία επιλεγμένων ασθενών ως μάρτυρες θα μπορούσε δυνητικά να περιλαμβάνει περιστατικά που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως ασθενείς και έτσι θα οδηγούσε σε υποεκτίμηση της σχέσης

ανάμεσα στην χρήση της κολιστίνης με την απομόνωση ανθεκτικών στην κολιστίνη παθογόνων. Επίσης, ο ρόλος της κολιστίνης ως παράγων κινδύνου για την απομόνωση ανθεκτικών στην κολιστίνη βακτηρίων θα μπορούσε να υποεκτιμηθεί στην παρούσα μελέτη αν ένα σημαντικό ποσοστό των μαρτύρων είχε αποκτήσει ανθεκτικά στην κολιστίνη στελέχη μέσω οριζόντιας μετάδοσης, ασχέτως από την χρήση της κολιστίνης.

Είναι ενδιαφέρον ότι η προσπάθεια προσδιορισμού της ελάχιστης διάρκειας θεραπείας με κολιστίνη που οδηγεί σε αυξημένη πιθανότητα ανάπτυξης αντοχής στο αντιβιοτικό σε προηγουμένως ευαίσθητα στελέχη με τη χρήση μοντέλου ανάλυσης ROC δεν απέδωσε σαφές αποτέλεσμα και για αυτόν τον λόγο δεν συμπεριλήφθηκε στην παρούσα μελέτη. Μια πιθανή αιτία αποτελεί ακριβώς το ενδεχόμενο οριζόντιας μετάδοσης μεταξύ των ασθενών που προκαλούσε σύγχυση στα αποτελέσματα.

Ένας άλλος μεθοδολογικός περιορισμός της παρούσας μελέτης είναι ότι η μέθοδος με το Etest που επιλέχθηκε για τον προσδιορισμό ευαισθησίας στην κολιστίνη έχει αμφιλεγόμενη ακρίβεια στην περίπτωση της *P. aeruginosa*.(161) Όμως αυτός ο παράγοντας δε θα μπορούσε να επηρεάσει σημαντικά τα ευρήματα της παρούσας μελέτης, δεδομένου ότι τα στελέχη της *P. aeruginosa* αποτελούν τη μειοψηφία.

Ένας τελευταίος, αλλά εξίσου σημαντικός, περιορισμός είναι ότι η χρονική περίοδος για την επιλογή της ομάδας των μαρτύρων υπερβαίνει αυτή των ασθενών κατά 4 χρόνια. Αν και μικρή, αυτή η διαφορά θα μπορούσε θεωρητικά να επηρεάσει τα αποτελέσματα της μελέτης. Από την άλλη πλευρά, διευκόλυνε τη διαδικασία της εξομοίωσης και συνέβαλε

στην αποφυγή της εξαίρεσης κάποιων ασθενών λόγω δυνητικής αδυναμίας εξεύρεσης ενός κατάλληλου μάρτυρα.

Παρά τους προαναφερθέντες περιορισμούς, η παρούσα μελέτη ρίχνει φως στο φαινόμενο της πολλαπλής βακτηριακής αντοχής στα αντιβιοτικά και εφιστά την προσοχή στο γεγονός ότι η αδιάκριτη χρήση της κολιστίνης αυξάνει τον κίνδυνο ανάπτυξης αντοχής σε αυτόν τον παράγοντα, ο οποίος αποτελεί συχνά το τελευταίο καταφύγιο στην αντιμετώπιση των gram αρνητικών βακτηριακών παθογόνων.(162) Συνιστάται η διενέργεια κατάλληλων μελετών που να μελετούν τη βέλτιστη δοσολόγηση και διάρκεια θεραπείας της κολιστίνης, καθώς και τους συνδυασμούς αντιβιοτικών με βάση την κολιστίνη που θα μπορούσαν δυνητικά να βελτιστοποιήσουν τις εκβάσεις και να μειώσουν το ρυθμό ανάπτυξης αντοχής.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Kwa A, Kasiakou SK, Tam VH, Falagas ME. Polymyxin B: Similarities to and differences from colistin (polymyxin E). Expert Review of Anti-Infective Therapy. 2007;5(5):811-21.

2. Falagas ME, Kasiakou SK. Colistin: The revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. Clinical Infectious Diseases. 2005;40(9):1333-41.

3. Liu B, Liu Y, Di X, Zhang X, Wang R, Bai Y, et al. Colistin and anti-Gram-positive bacterial agents against Acinetobacter baumannii. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 2014;47(4):451-6.

4. Petrosillo N, Giannella M, Antonelli M, Antonini M, Barsic B, Belancic L, et al. Clinical experience of colistin-glycopeptide combination in critically ill patients infected with Gram-negative bacteria. Antimicrob Agents Chemother. 2014;58(2):851-8.

5. Raetz CRH, Whitfield C. Lipopolysaccharide endotoxins. Annual Review of Biochemistry2002. p. 635-700.

6. Brown DA, Tsang JC. Chemical and electrophoretic changes induced by polymyxin B on outer membrane components from Serratia marcescens. Journal of Antibiotics. 1978;31(6):603-9.

7. Clausell A, Garcia-Subirats M, Pujol M, Busquets MA, Rabanal F, Cajal Y. Gram-negative outer and inner membrane models: Insertion of cyclic cationic lipopeptides. Journal of Physical Chemistry B. 2007;111(3):551-63.

8. Davis SD, Iannetta A, Wedgwood RJ. Activity of colistin against Pseudomonas aeruginosa: inhibition by calcium. Journal of Infectious Diseases. 1971;124(6):610-2.

9. Newton BA. The properties and mode of action of the polymyxins. Bacteriological reviews. 1956;20(1):14-27.

10. Schindler M, Osborn MJ. Interaction of divalent cations and polymyxin B with lipopolysaccharide. Biochemistry. 1979;18(20):4425-30.

11. Rose F, Heuer KU, Sibelius U, Hombach-Klonisch S, Kiss L, Seeger W, et al. Targeting lipopolysaccharides by the nontoxic polymyxin B nonapeptide sensitizes resistant Escherichia coli to the bactericidal effect of human neutrophils. Journal of Infectious Diseases. 2000;182(1):191-9.

12. Tsubery H, Ofek I, Cohen S, Fridkin M. Structure - Function studies of Polymyxin B nonapeptide: Implications to sensitization of Gram-negative bacteria. Journal of Medicinal Chemistry. 2000;43(16):3085-92.

13. Warren HS, Kania SA, Siber GR. Binding and neutralization of bacterial lipopolysaccharide by colistin nonapeptide. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 1985;28(1):107-12.

14. Bergen PJ, Li J, Rayner CR, Nation RL. Colistin methanesulfonate is an inactive prodrug of colistin against Pseudomonas aeruginosa. Antimicrob Agents Chemother. 2006;50(6):1953-8.

15. Nation RL, Li J, Cars O, Couet W, Dudley MN, Kaye KS, et al. Consistent global approach on reporting of colistin doses to promote safe and effective use. Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America. 2014;58(1):139-41.

16. Theuretzbacher U. Product information for parenteral colistin varies substantially across Europe. J Antimicrob Chemother. 2014;69(7):1987-92.

17. Plachouras D, Karvanen M, Friberg LE, Papadomichelakis E, Antoniadou A, Tsangaris I, et al. Population pharmacokinetic analysis of colistin methanesulfonate and colistin after intravenous administration in critically ill patients with infections caused by gram-negative bacteria. Antimicrob Agents Chemother. 2009;53(8):3430-6.

18. Mohamed AF, Karaiskos I, Plachouras D, Karvanen M, Pontikis K, Jansson B, et al. Application of a loading dose of colistin methanesulfonate in critically ill patients: population pharmacokinetics, protein binding, and prediction of bacterial kill. Antimicrob Agents Chemother. 2012;56(8):4241-9.

19. Garonzik SM, Li J, Thamlikitkul V, Paterson DL, Shoham S, Jacob J, et al. Population pharmacokinetics of colistin methanesulfonate and formed colistin in critically ill patients from a

multicenter study provide dosing suggestions for various categories of patients. Antimicrob Agents Chemother. 2011;55(7):3284-94.

20. Couet W, Gregoire N, Gobin P, Saulnier PJ, Frasca D, Marchand S, et al. Pharmacokinetics of colistin and colistimethate sodium after a single 80-mg intravenous dose of CMS in young healthy volunteers. Clinical pharmacology and therapeutics. 2011;89(6):875-9.

21. Karvanen M, Plachouras D, Friberg LE, Paramythiotou E, Papadomichelakis E, Karaiskos I, et al. Colistin methanesulfonate and colistin pharmacokinetics in critically ill patients receiving continuous venovenous hemodiafiltration. Antimicrob Agents Chemother. 2013;57(1):668-71.

22. Castanheira M, Sader HS, Deshpande LM, Fritsche TR, Jones RN. Antimicrobial activities of tigecycline and other broad-spectrum antimicrobials tested against serine carbapenemase- and metallo-β-lactamase-producing Enterobacteriaceae: Report from the SENTRY antimicrobial surveillance program. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2008;52(2):570-3.

23. Fedler KA, Biedenbach DJ, Jones RN. Assessment of pathogen frequency and resistance patterns among pediatric patient isolates: Report from the 2004 SENTRY Antimicrobial Surveillance Program on 3 continents. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. 2006;56(4):427-36.

24. Gales AC, Jones RN, Sader HS. Global assessment of the antimicrobial activity of polymyxin B against 54 731 clinical isolates of Gram-negative bacilli: Report from the SENTRY antimicrobial surveillance programme (2001-2004). Clinical Microbiology and Infection. 2006;12(4):315-21.

25. Gales AC, Reis AO, Jones RN. Contemporary assessment of antimicrobial susceptibility testing methods for polymyxin B and colistin: Review of available interpretative criteria and quality control guidelines. Journal of Clinical Microbiology. 2001;39(1):183-90.

26. Jones RN, Stilwell MG, Rhomberg PR, Sader HS. Antipseudomonal activity of piperacillin/tazobactam: more than a decade of experience from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-2007). Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. 2009;65(3):331-4.

27. Mendes RE, Bell JM, Turnidge JD, Castanheira M, Jones RN. Emergence and widespread dissemination of OXA-23, -24/40 and -58 carbapenemases among Acinetobacter spp. in Asia-Pacific nations: Report from the SENTRY Surveillance Program. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2009;63(1):55-9.

28. Yau W, Owen RJ, Poudyal A, Bell JM, Turnidge JD, Yu HH, et al. Colistin hetero-resistance in multidrug-resistant Acinetobacter baumannii clinical isolates from the Western Pacific region in the SENTRY antimicrobial surveillance programme. Journal of Infection. 2009;58(2):138-44.

29. Hawley JS, Murray CK, Griffith ME, McElmeel ML, Fulcher LC, Hospenthal DR, et al. Susceptibility of Acinetobacter strains isolated from deployed U.S. military personnel. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2007;51(1):376-8.

30. Keen Iii EF, Robinson BJ, Hospenthal DR, Aldous WK, Wolf SE, Chung KK, et al. Prevalence of multidrug-resistant organisms recovered at a military burn center. Burns. 2010;36(6):819-25.

31. Landman D, Bratu S, Alam M, Quale J. Citywide emergence of Pseudomonas aeruginosa strains with reduced susceptibility to polymyxin B. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2005;55(6):954-7.

32. Manikal VM, Landman D, Saurina G, Oydna E, Lal H, Quale J. Endemic carbapenem-resistant Acinetobacter species in Brooklyn, New York: Citywide prevalence, interinstitutional spread, and relation to antibiotic usage. Clinical Infectious Diseases. 2000;31(1):101-6.

33. Tam VH, Chang KT, Abdelraouf K, Brioso CG, Ameka M, McCaskey LA, et al. Prevalence, resistance mechanisms, and susceptibility of multidrug-resistant bloodstream isolates of Pseudomonas aeruginosa. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2010;54(3):1160-4.

34. Bratu S, Mooty M, Nichani S, Landman D, Gullans C, Pettinato B, et al. Emergence of KPC-possessing Klebsiella pneumoniae in Brooklyn, New York: Epidemiology and recommendations for detection. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2005;49(7):3018-20.

35. Bratu S, Tolaney P, Karumudi U, Quale J, Mooty M, Nichani S, et al. Carbapenemase-producing Klebsiella pneumoniae in Brooklyn, NY: Molecular epidemiology and in vitro activity of polymyxin B and other agents. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2005;56(1):128-32.

36. Castanheira M, Sader HS, Jones RN. Antimicrobial susceptibility patterns of KPC-producing or CTX-M-producing Enterobacteriaceae. Microbial drug resistance (Larchmont, NY). 2010;16(1):61-5.

37. Walkty A, DeCorby M, Nichol K, Mulvey MR, Hoban D, Zhanel G. Antimicrobial susceptibility of Pseudomonas aeruginosa isolates obtained from patients in Canadian intensive care units as part of the Canadian National Intensive Care Unit study. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. 2008;61(2):217-21.

38. Cezário RC, Duarte De Morais L, Ferreira JC, Costa-Pinto RM, Da Costa Darini AL, Gontijo-Filho PP. Nosocomial outbreak by imipenem-resistant metallo-β-lactamase- producing pseudomonas aeruginosa in an adult intensive care unit in a Brazilian teaching hospital. Enfermedades Infecciosas y Microbiologia Clinica. 2009;27(5):269-74.

39. Fica Cubillos A, Céspedes J I, Gompertz G M, Jalón V M, Sakurada Z A, Sáez L E. Intravenous colistin in the treatment of infections due to pan-resistant Gram negative bacilli. Revista Chilena de Infectologia. 2007;24(5):360-7.

40. Tognim MCB, Gales AC, Penteado AP, Silbert S, Sader HS. Dissemination of IMP-1 metallo-β-lactamase-producing Acinetobacter species in a Brazilian Teaching Hospital. Infection Control and Hospital Epidemiology. 2006;27(7):742-7.

41. García-Peñuela E, Aznar E, Alarcón T, López-Brea M. Susceptibility pattern of Acinetobacter baumannii clinical isolates in Madrid vs. Hong Kong. Revista Espanola de Quimioterapia. 2006;19(1):45-50.

42. Hussein K, Sprecher H, Mashiach T, Oren I, Kassis I, Finkelstein R. Carbapenem resistance among klebsiella pneumoniae isolates: Risk factors, molecular characteristics, and susceptibility patterns. Infection Control and Hospital Epidemiology. 2009;30(7):666-71.

43. Lapteva TA, Bazhenov LG, Suiumova AS, Shabanova NG. Identification and sensitivity to antimicrobial drugs of enterobacteria isolated from patients with suppurative, inflammatory diseases. Antibiotiki i Khimioterapiya. 1993;38(6):35-40.

44. Lee YT, Huang LY, Chiang DH, Chen CP, Chen TL, Wang FD, et al. Differences in phenotypic and genotypic characteristics among imipenem-non-susceptible Acinetobacter isolates belonging to different genomic species in Taiwan. International Journal of Antimicrobial Agents. 2009;34(6):580-4.

45. Punpanich W, Tantichattanon W, Wongwatcharapaiboon S, Treeratweeraphong V. In vitro susceptibility pattern of cephalosporin-resistant Gram-negative bacteria. Journal of the Medical Association of Thailand = Chotmaihet thangphaet. 2008;91 Suppl 3:S21-7.

46. Sung H, Choi SJ, Yoo S, Kim MN. In vitro antimicrobial synergy against imipenem-resistant Acinetobacter baumannii. The Korean journal of laboratory medicine. 2007;27(2):111-7.

47. Yang QW, Xu YC, Chen MJ, Hu YJ, Ni YX, Sun JY, et al. Surveillance of antimicrobial resistance among nosocomial gram-negative pathogens from 15 teaching hospitals in China in 2005. National Medical Journal of China. 2007;87(39):2753-8.

48. Tan TY, Hsu LY, Koh TH, Ng LS, Tee NW, Krishnan P, et al. Antibiotic resistance in gram-negative bacilli: a Singapore perspective. Annals of the Academy of Medicine, Singapore. 2008;37(10):819-25.

49. Tan TY, Ng SY. The in-vitro activity of colistin in gram-negative bacteria. Singapore Medical Journal. 2006;47(7):621-4.

50. Varaiya A, Kulkarni M, Bhalekar P, Dogra J. Incidence of metallo-beta-lactamase-producing Pseudomonas aeruginosa in diabetes and cancer patients. Indian Journal of Pathology and Microbiology. 2008;51(2):200-3.

51. Eser OK, Ergin A, Hascelik G. [Antimicrobial resistance and existence of metallo-beta-lactamase in Acinetobacter species isolated from adult patients]. Mikrobiyol Bul. 2009;43(3):383-90.

52. Ko KS, Suh JY, Kwon KT, Jung SI, Park KH, Kang CI, et al. High rates of resistance to colistin and polymyxin B in subgroups of Acinetobacter baumannii isolates from Korea. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2007;60(5):1163-7.

53. Gomez-Garcés JL, Aracil B, Gil Y, Burillo A. Susceptibility of 228 non-fermenting Gram-negative rods to tigecycline and six other antimicrobial drugs. Journal of Chemotherapy. 2009;21(3):267-71.

54. Hejnar P, Kolár M, Hájek V. Characteristics of Acinetobacter strains (phenotype classification, antibiotic susceptibility and production of beta-lactamases) isolated from haemocultures from patients at the Teaching Hospital in Olomouc. Acta Universitatis Palackianae Olomucensis Facultatis Medicae. 1999;142:73-7.

55. Mezzatesta ML, Trovato G, Gona F, Nicolosi VM, Nicolosi D, Carattoli A, et al. In vitro activity of tigecycline and comparators against carbapenem-susceptible and resistant Acinetobacter baumannii clinical isolates in Italy. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials. 2008;7.

56. Souli M, Kontopidou FV, Koratzanis E, Antoniadou A, Giannitsioti E, Evangelopoulou P, et al. In vitro activity of tigecycline against multiple-drug-resistant, including pan-resistant, gram-negative and gram-positive clinical isolates from Greek hospitals. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2006;50(9):3166-9.

57. Dobrewski R, Savov E, Bernards AT, van Den Barselaar M, Nordmann P, van Den Broek PJ, et al. Genotypic diversity and antibiotic susceptibility of Acinetobacter baumannii isolates in a Bulgarian hospital. Clinical Microbiology and Infection. 2006;12(11):1135-7.

58. Miftode E, Dorneanu O, Leca D, Teodor A, Mihalache D, Filip O, et al. Antimicrobial resistance profile of E. coli and Klebsiella spp. from urine in the Infectious Diseases Hospital Iaşi. Revista medico-chirurgicală a Societă ţ&x031C;ii de Medici şi Naturalişti din Iaşi. 2008;112(2):47882.

59. Falagas ME, Maraki S, Karageorgopoulos DE, Kastoris AC, Mavromanolakis E, Samonis G. Antimicrobial susceptibility of multidrug-resistant (MDR) and extensively drug-resistant (XDR) Enterobacteriaceae isolates to fosfomycin. International Journal of Antimicrobial Agents. 2010;35(3):240-3.

60. Iroha EO, Kesah CN, Egri-Okwaji MT, Odugbemi TO. Bacterial eye infection in neonates, a prospective study in a neonatal unit. West African journal of medicine. 1998;17(3):168-72.

61. Igumbor EO, Gwanzura L, Chihara M, Obi CL, Muza D. Antibiotic sensitivity and plasmid profiles of Pseudomonas aeruginosa. Central African Journal of Medicine. 2000;46(11):296-300.

62. MacKenzie FM, Smith SV, Milne KE, Griffiths K, Legge J, Gould IM. Antibiograms of resistant Gram-negative bacteria from Scottish CF patients. Journal of Cystic Fibrosis. 2004;3(3):151-7.

63. Milne KE, Gould IM. Combination testing of multidrug-resistant cystic fibrosis isolates of Pseudomonas aeruginosa: use of a new parameter, the susceptible breakpoint index. The Journal of antimicrobial chemotherapy. 2010;65(1):82-90.

64. Pitt TL, Sparrow M, Warner M, Stefanidou M. Survey of resistance of Pseudomonas aeruginosa from UK patients with cystic fibrosis to six commonly prescribed antimicrobial agents. Thorax. 2003;58(9):794-6.

65. Hogardt M, Schmoldt S, Götzfried M, Adler K, Heesemann J. Pitfalls of polymyxin antimicrobial susceptibilty testing of Pseudomonas aeruginosa isolated from cystic fibrosis patients. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2004;54(6):1057-61.

66. Schülin T. In vitro activity of the aerosolized agents colistin and tobramycin and five intravenous agents against Pseudomonas aeruginosa isolated from cystic fibrosis patients in southwestern Germany. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2002;49(2):403-6.

67. Hill D, Rose B, Pajkos A, Robinson M, Bye P, Bell S, et al. Antibiotic susceptibilities of Pseudomonas aeruginosa isolates derived from patients with cystic fibrosis under aerobic, anaerobic, and biofilm conditions. Journal of Clinical Microbiology. 2005;43(10):5085-90.

68. Kline T, Trent MS, Stead CM, Lee MS, Sousa MC, Felise HB, et al. Synthesis of and evaluation of lipid A modification by 4-substituted 4-deoxy arabinose analogs as potential inhibitors of bacterial polymyxin resistance. Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters. 2008;18(4):1507-10.

69. Campos MA, Vargas MA, Regueiro V, Llompart CM, Albertí S, Bengoechea JA. Capsule polysaccharide mediates bacterial resistance to antimicrobial peptides. Infection and Immunity. 2004;72(12):7107-14.

70. Moore RA, Chan L, Hancock REW. Evidence for two distinct mechanisms of resistance to polymyxin B in Pseudomonas aeruginosa. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 1984;26(4):539-45.

71. Bengoechea JA, Skurnik M. Temperature-regulated efflux pump/potassium antiporter system mediates resistance to cationic antimicrobial peptides in Yersinia. Molecular Microbiology. 2000;37(1):67-80.

72. Ito-Kagawa M, Koyama Y. Selective cleavage of a peptide antibiotic, colistin by colistinase. Journal of Antibiotics. 1980;33(12):1551-5.

73. Reeves PR, Hobbs M, Valvano MA, Skurnik M, Whitfield C, Coplin D, et al. Bacterial polysaccharide synthesis and gene nomenclature. Trends in Microbiology. 1996;4(12):495-503.

74. Gatzeva-Topalova PZ, May AP, Sousa MC. Crystal structure of Escherichia coli ArnA (PmrI) decarboxylase domain. A key enzyme for lipid A modification with 4-amino-4-deoxy-L-arabinose and polymyxin resistance. Biochemistry. 2004;43(42):13370-9.

75. Gatzeva-Topalova PZ, May AP, Sousa MC. Crystal structure and mechanism of the Escherichia coli ArnA (PmrI) transformylase domain. An enzyme for lipid A modification with 4-amino-4-deoxy-L-arabinose and polymyxin resistance. Biochemistry. 2005;44(14):5328-38.

76. Yan A, Guan Z, Raetz CRH. An undecaprenyl phosphate-aminoarabinose flippase required for polymyxin resistance in Escherichia coli. Journal of Biological Chemistry. 2007;282(49):36077-89.

77. Gatzeva-Topalova PZ, May AP, Sousa MC. Structure and mechanism of ArnA: Conformational change implies ordered dehydrogenase mechanism in key enzyme for polymyxin resistance. Structure. 2005;13(6):929-42.

78. Gunn JS, Miller SI. PhoP-PhoQ activates transcription of pmrAB, encoding a two-component regulatory system involved in Salmonella typhimurium antimicrobial peptide resistance. Journal of Bacteriology. 1996;178(23):6857-64.

79. Breazeale SD, Ribeiro AA, McClerren AL, Raetz CRH. A formyltransferase required for polymyxin resistance in Escherichia coli and the modification of lipid A with 4-amino-4-deoxy-L-arabinose: Identification and function of UDP-4-deoxy-4-formamido-L-arabinose. Journal of Biological Chemistry. 2005;280(14):14154-67.

80. McPhee JB, Lewenza S, Hancock REW. Cationic antimicrobial peptides activate a two-component regulatory system, PmrA-PmrB, that regulates resistance to polymyxin B and cationic antimicrobial peptides in Pseudomonas aeruginosa. Molecular Microbiology. 2003;50(1):205-17.

81. Moskowitz SM, Ernst RK, Miller SI. PmrAB, a Two-Component Regulatory System of Pseudomonas aeruginosa that Modulates Resistance to Cationic Antimicrobial Peptides and Addition of Aminoarabinose to Lipid A. Journal of Bacteriology. 2004;186(2):575-9.

82. Fu W, Yang F, Kang X, Zhang X, Li Y, Xia B, et al. First structure of the polymyxin resistance proteins. Biochemical and Biophysical Research Communications. 2007;361(4):1033-7.

83. Kato A, Latifi T, Groisman EA. Closing the loop: The PmrA/PmrB two-component system negatively controls expression of its posttranscriptional activator PmrD. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2003;100(8):4706-11.

84. Winfield MD, Latifi T, Groisman EA. Transcriptional regulation of the 4-amino-4-deoxy-L-arabinose biosynthetic genes in Yersinia pestis. Journal of Biological Chemistry. 2005;280(15):14765-72.

85. Winfield MD, Groisman EA. Phenotypic differences between Salmonella and Escherichia coli resulting from the disparate regulation of homologous genes. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2004;101(49):17162-7.

86. Pamp SJ, Gjermansen M, Johansen HK, Tolker-Nielsen T. Tolerance to the antimicrobial peptide colistin in Pseudomonas aeruginosa biofilms is linked to metabolically active cells, and depends on the pmr and mexAB-oprM genes. Molecular Microbiology. 2008;68(1):223-40.

87. Adams MD, Nickel GC, Bajaksouzian S, Lavender H, Murthy AR, Jacobs MR, et al. Resistance to colistin in Acinetobacter baumannii associated with mutations in the PmrAB two-component system. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2009;53(9):3628-34.

88. Bell A, Hancock REW. Outer membrane protein H1 of Pseudomonas aeruginosa: Purification of the protein and cloning and nucleotide sequence of the gene. Journal of Bacteriology. 1989;171(6):3211-7.

89. Nicas TI, Hancock REW. Alteration of susceptibility to EDTA, polymyxin B and gentamicin in Pseudomonas aeruginosa by divalent cation regulation of outer membrane protein H1. Journal of General Microbiology. 1983;129(2):509-17.

90. Falagas ME, Makris GC, Dimopoulos G, Matthaiou DK. Heteroresistance: A concern of increasing clinical significance? Clinical Microbiology and Infection. 2008;14(2):101-4.

91. Hernan RC, Karina B, Gabriela G, Marcela N, Carlos V, Angela F. Selection of colistin-resistant Acinetobacter baumannii isolates in postneurosurgical meningitis in an intensive care unit with high presence of heteroresistance to colistin. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. 2009;65(2):188-91.

92. Li J, Rayner CR, Nation RL, Owen RJ, Spelman D, Tan KE, et al. Heteroresistance to colistin in multidrug-resistant Acinetobacter baumannii. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2006;50(9):2946-50.

93. Hawley JS, Murray CK, Jorgensen JH. Colistin heteroresistance in Acinetobacter and its association with previous colistin therapy. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2008;52(1):351-2.

94. Magiorakos AP, 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 : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. 2012;18(3):268-81.

95. Falagas ME, Karageorgopoulos DE. Pandrug resistance (PDR), extensive drug resistance (XDR), and multidrug resistance (MDR) among Gram-negative bacilli: need for international harmonization in terminology. Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America. 2008;46(7):1121-2; author reply 2.

96. Kuo LC, Yu CJ, Lee LN, Wang JL, Wang HC, Hsueh PR, et al. Clinical features of pandrug-resistant Acinetobacter baumannii bacteremia at a University Hospital in Taiwan. Journal of the Formosan Medical Association. 2003;102(9):601-6.

97. Wang CY, Jerng JS, Chen KY, Lee LN, Yu CJ, Hsueh PR, et al. Pandrug-resistant Pseudomonas aeruginosa among hospitalised patients: clinical features, risk-factors and outcomes. Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. 2006;12(1):63-8.

98. Inchai J, Liwsrisakun C, Theerakittikul T, Chaiwarith R, Khositsakulchai W, Pothirat C. Risk factors of multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant Acinetobacter baumannii ventilator-associated pneumonia in a Medical Intensive Care Unit of University Hospital in Thailand. Journal of infection and chemotherapy : official journal of the Japan Society of Chemotherapy. 2015;21(8):570-4.

99. Falagas ME, Bliziotis IA, Kasiakou SK, Samonis G, Athanassopoulou P, Michalopoulos A. Outcome of infections due to pandrug-resistant (PDR) Gram-negative bacteria. BMC Infectious Diseases. 2005;5.

100. Mentzelopoulos SD, Pratikaki M, Platsouka E, Kraniotaki H, Zervakis D, Koutsoukou A, et al. Prolonged use of carbapenems and colistin predisposes to ventilator-associated pneumonia by pandrug-resistant Pseudomonas aeruginosa. Intensive Care Medicine. 2007;33(9):1524-32.

101. Tsioutis C, Kritsotakis EI, Maraki S, Gikas A. Infections by pandrug-resistant gram-negative bacteria: clinical profile, therapeutic management, and outcome in a series of 21 patients. European journal of

clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology. 2010;29(3):301-5.

102. Elemam A, Rahimian J, Mandell W. Infection with panresistant Klebsiella pneumoniae: a report of 2 cases and a brief review of the literature. Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America. 2009;49(2):271-4.

103. Zhou Z, Ren J, Liu H, Gu G, Li J. Pandrug-resistant isolate of Klebsiella pneumoniae causes less damage than drug-susceptible isolates in a rabbit model. Clinical and investigative medicine Medecine clinique et experimentale. 2011;34(1):E38-44.

104. Falagas ME, Rafailidis PI, Matthaiou DK, Virtzili S, Nikita D, Michalopoulos A. Pandrug-resistant Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii infections: Characteristics and outcome in a series of 28 patients. International Journal of Antimicrobial Agents. 2008;32(5):450-4.

105. Falagas ME, Rafailidis PI, Ioannidou E, Alexiou VG, Matthaiou DK, Karageorgopoulos DE, et al. Colistin therapy for microbiologically documented multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections: a retrospective cohort study of 258 patients. International Journal of Antimicrobial Agents. 2010;35(2):194-9.

106. ZhaneL GG, Karlowsky JA, Rubinstein E, Hoban D. Tigecycline: A novel glycylcycline antibiotic. Expert Review of Anti-Infective Therapy. 2006;4(1):9-25.

107. Kelesidis T, Karageorgopoulos DE, Kelesidis I, Falagas ME. Tigecycline for the treatment of multidrug-resistant Enterobacteriaceae: A systematic review of the evidence from microbiological and clinical studies. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2008;62(5):895-904.

108. Anthony KB, Fishman NO, Linkin DR, Gasink LB, Edelstein PH, Lautenbach E. Clinical and microbiological outcomes of serious infections with multidrug-resistant gram-negative organisms treated with tigecycline. Clinical Infectious Diseases. 2008;46(4):567-70.

109. Karageorgopoulos DE, Kelesidis T, Kelesidis I, Falagas ME. Tigecycline for the treatment of multidrug-resistant (including carbapenem-resistant) Acinetobacter infections: A review of the scientific evidence. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2008;62(1):45-55.

110. Schafer JJ, Goff DA, Stevenson KB, Mangino JE. Early experience with tigecycline for ventilator-associated pneumonia and bacteremia caused by multidrug-resistant Acinetobacter baumannii. Pharmacotherapy. 2007;27(7):980-7.

111. Roussos N, Karageorgopoulos DE, Samonis G, Falagas ME. Clinical significance of the pharmacokinetic and pharmacodynamic characteristics of fosfomycin for the treatment of patients with systemic infections. International Journal of Antimicrobial Agents. 2009;34(6):506-15.

112. Michalopoulos A, Virtzili S, Rafailidis P, Chalevelakis G, Damala M, Falagas ME. Intravenous fosfomycin for the treatment of nosocomial infections caused by carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae in critically ill patients: A prospective evaluation. Clinical Microbiology and Infection. 2010;16(2):184-6.

113. Falagas ME, Kastoris AC, Karageorgopoulos DE, Rafailidis PI. Fosfomycin for the treatment of infections caused by multidrug-resistant non-fermenting Gram-negative bacilli: a systematic review of microbiological, animal and clinical studies. International Journal of Antimicrobial Agents. 2009;34(2):111-20.

114. Falagas ME, Giannopoulou KP, Kokolakis GN, Rafailidis PI. Fosfomycin: Use beyond urinary tract and gastrointestinal infections. Clinical Infectious Diseases. 2008;46(7):1069-77.

115. Li J, Nation RL, Owen RJ, Wong S, Spelman O, Franklin C. Antibiograms of multidrug-resistant clinical Acinetobacter baumannii: Promising therapeutic options for treatment of infection with colistin-resistant strains. Clinical Infectious Diseases. 2007;45(5):594-8.

116. Talbot GH, Bradley J, Edwards Jr JE, Gilbert D, Scheid M, Bartlett JG. Bad bugs need drugs: An update on the development pipeline from the Antimicrobial Availability Task Force of the Infectious Diseases Society of America. Clinical Infectious Diseases. 2006;42(5):657-68.

117. Falagas ME, Rafailidis PI. Re-emergence of colistin in today's world of multidrug-resistant organisms: Personal perspectives. Expert Opinion on Investigational Drugs. 2008;17(7):973-81.

118. Li J, Nation RL, Turnidge JD, Milne RW, Coulthard K, Rayner CR, et al. Colistin: the re-emerging antibiotic for multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. Lancet Infectious Diseases. 2006;6(9):589-601.

119. Markou N, Markantonis SL, Dimitrakis E, Panidis D, Boutzouka E, Karatzas S, et al. Colistin serum concentrations after intravenous administration in critically ill patients with serious multidrug-resistant, gram-negative bacilli infections: A prospective, open-label, uncontrolled study. Clinical Therapeutics. 2008;30(1):143-51.

120. Goldstein FW, Ly A, Kitzis MD. Comparison of Etest with agar dilution for testing the susceptibility of Pseudomonas aeruginosa and other multidrug-resistant bacteria to colistin [2]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2007;59(5):1039-40.

121. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Seventeenth Informational Supplement M100-S17: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2007. Available from: http://www.clsi.org/.

122. Gillespie SH, McHugh TD. The biological cost of antimicrobial resistance. Trends in microbiology. 1997;5(9):337-9.

123. Hocquet D, Berthelot P, Roussel-Delvallez M, Favre R, Jeannot K, Bajolet O, et al. Pseudomonas aeruginosa may accumulate drug resistance mechanisms without losing its ability to cause bloodstream infections. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2007;51(10):3531-6.

124. Rolain JM, Diene SM, Kempf M, Gimenez G, Robert C, Raoult D. Real-time sequencing to decipher the molecular mechanism of resistance of a clinical pan-drug-resistant Acinetobacter baumannii isolate from Marseille, France. Antimicrob Agents Chemother. 2013;57(1):592-6.

125. Lee SY, Shin JH, Lee K, Joo MY, Park KH, Shin MG, et al. Comparison of the Vitek 2, MicroScan, and Etest methods with the agar dilution method in assessing colistin susceptibility of bloodstream isolates of Acinetobacter species from a Korean university hospital. J Clin Microbiol. 2013;51(6):1924-6.

126. Lee SY, Shin JH, Park KH, Kim JH, Shin MG, Suh SP, et al. Identification, genotypic relation, and clinical features of colistin-resistant isolates of Acinetobacter genomic species 13BJ/14TU from bloodstreams of patients in a university hospital. J Clin Microbiol. 2014;52(3):931-9.

127. Nemec A, Dijkshoorn L. Variations in colistin susceptibility among different species of the genus Acinetobacter. J Antimicrob Chemother. 2010;65(2):367-9.

128. Coelho JM, Turton JF, Kaufmann ME, Glover J, Woodford N, Warner M, et al. Occurrence of carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii clones at multiple hospitals in London and Southeast England. Journal of Clinical Microbiology. 2006;44(10):3623-7.

129. Pop-Vicas AE, D'Agata EMC. The rising influx of multidrug-resistant gram-negative bacilli into a tertiary care hospital. Clinical Infectious Diseases. 2005;40(12):1792-8.

130. Wang CY, Jerng JS, Cheng KY, Lee LN, Yu CJ, Hsueh PR, et al. Pandrug-resistant Pseudomonas aeruginosa among hospitalised patients: Clinical features, risk-factors and outcomes. Clinical Microbiology and Infection. 2006;12(1):63-8.

131. Antoniadou A, Kontopidou F, Poulakou G, Koratzanis E, Galani I, Papadomichelakis E, et al. Colistin-resistant isolates of Klebsiella pneumoniae emerging in intensive care unit patients: First report of a multiclonal cluster. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2007;59(4):786-90.

132. Falagas ME, Koletsi PK, Bliziotis IA. The diversity of definitions of multidrug-resistant (MDR) and pandrug-resistant (PDR) Acinetobacter baumannii and Pseudomonas aeruginosa. Journal of Medical Microbiology. 2006;55(12):1619-29.

133. Woodford N, Hill RLR, Livermore DM. In vitro activity of tigecycline against carbapenemsusceptible and -resistant isolates of Klebsiella spp. and Enterobacter spp. [6]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2007;59(3):582-3.

134. Gaynes RP, Horan TC. Surveillance of nosocomial infections. Appendix A: CDC definitions of nosocomial infections. Hospital Epidemiology and Infection Control. 1996:1-14.

135. BSAC methods of antimicrobial susceptibility testing. [Electronic Document]. Version 6.1: British Society for Antimicrobial Chemotherapy.; 2007.

136. Landman D, Bratu S, Kochar S, Panwar M, Trehan M, Doymaz M, et al. Evolution of antimicrobial resistance among Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter baumannii and Klebsiella pneumoniae in Brooklyn, NY. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2007;60(1):78-82.

137. Beno P, Krcmery V, Demitrovicova A. Bacteraemia in cancer patients caused by colistin-resistant Gram-negative bacilli after previous exposure to ciprofloxacin and/or colistin [2]. Clinical Microbiology and Infection. 2006;12(5):497-8.

138. Fernandez-Cuenca F, Smani Y, Gomez-Sanchez MC, Docobo-Perez F, Caballero-Moyano FJ, Dominguez-Herrera J, et al. Attenuated virulence of a slow-growing pandrug-resistant Acinetobacter baumannii is associated with decreased expression of genes encoding the porins CarO and OprD-like. Int J Antimicrob Agents. 2011;38(6):548-9.

139. Lopez-Rojas R, Dominguez-Herrera J, McConnell MJ, Docobo-Perez F, Smani Y, Fernandez-Reyes M, et al. Impaired virulence and in vivo fitness of colistin-resistant Acinetobacter baumannii. The Journal of infectious diseases. 2011;203(4):545-8.

140. Durante-Mangoni E, Del Franco M, Andini R, Bernardo M, Giannouli M, Zarrilli R. Emergence of colistin resistance without loss of fitness and virulence after prolonged colistin administration in a patient with extensively drug-resistant Acinetobacter baumannii. Diagn Microbiol Infect Dis. 2015;82(3):222-6.

141. Andrade LN, Vitali L, Gaspar GG, Bellissimo-Rodrigues F, Martinez R, Darini AL. Expansion and evolution of a virulent, extensively drug-resistant (polymyxin B-resistant), QnrS1-, CTX-M-2-, and KPC-2-producing Klebsiella pneumoniae ST11 international high-risk clone. J Clin Microbiol. 2014;52(7):2530-5.

142. Falagas ME, Rafailidis PI. Attributable mortality of Acinetobacter baumannii: No longer a controversial issue. Critical Care. 2007;11(3).

143. Joung MK, Kwon KT, Kang CI, Cheong HS, Rhee JY, Jung DS, et al. Impact of inappropriate antimicrobial therapy on outcome in patients with hospital-acquired pneumonia caused by Acinetobacter baumannii. The Journal of infection. 2010;61(3):212-8.

144. Littlewood JM, Koch C, Lambert PA, HØiby N, Elborn JS, Conway SP, et al. A ten year review of Colomycin. Respiratory Medicine. 2000;94(7):632-40.

145. Driscoll JA, Brody SL, Kollef MH. The epidemiology, pathogenesis and treatment of Pseudomonas aeruginosa infections. Drugs. 2007;67(3):351-68.

146. Falagas ME, Kopterides P. Risk factors for the isolation of multi-drug-resistant Acinetobacter baumannii and Pseudomonas aeruginosa: a systematic review of the literature. Journal of Hospital Infection. 2006;64(1):7-15.

147. Horan TC, Gaynes RP. Surveillance of nosocomial infections. Hospital Epidemiology and Infection Control. 2004:1659-702.

148. Groisman EA, Kayser J, Soncini FC. Regulation of polymyxin resistance and adaptation to low-Mg2+ environments. Journal of Bacteriology. 1997;179(22):7040-5.

149. Falagas ME, Kasiakou SK, Tsiodras S, Michalopoulos A. The use of intravenous and aerosolized polymyxins for the treatment of infections in critically ill patients: A review of the recent literature. Clinical Medicine and Research. 2006;4(2):138-46.

150. Li J, Nation RL, Milne RW, Turnidge JD, Coulthard K. Evaluation of colistin as an agent against multi-resistant Gram-negative bacteria. International Journal of Antimicrobial Agents. 2005;25(1):11-25.

151. Tam VH, Schilling AN, Vo G, Kabbara S, Kwa AL, Wiederhold NP, et al. Pharmacodynamics of polymyxin B against Pseudomonas aeruginosa. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2005;49(9):3624-30.

152. Li J, Coulthard K, Milne R, Nation RL, Conway S, Peckham D, et al. Steady-state pharmacokinetics of intravenous colistin methanesulphonate in patients with cystic fibrosis. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2003;52(6):987-92.

153. Falagas ME, Bliziotis IA. Pandrug-resistant Gram-negative bacteria: the dawn of the post-antibiotic era? International Journal of Antimicrobial Agents. 2007;29(6):630-6.

154. Dean CR, Visalli MA, Projan SJ, Sum PE, Bradford PA. Efflux-mediated resistance to tigecycline (GAR-936) in Pseudomonas aeruginosa PAO1. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2003;47(3):972-8.

155. Navon-Venezia S, Leavitt A, Carmeli Y. High tigecycline resistance in multidrug-resistant Acinetobacter baumannii. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2007;59(4):772-4.

156. DiPersio JR, Dowzicky MJ. Regional variations in multidrug resistance among Enterobacteriaceae in the USA and comparative activity of tigecycline, a new glycylcycline antimicrobial. International Journal of Antimicrobial Agents. 2007;29(5):518-27.

157. Albur MS, Noel A, Bowker K, MacGowan A. The combination of colistin and fosfomycin is synergistic against NDM-1-producing Enterobacteriaceae in in vitro pharmacokinetic/pharmacodynamic model experiments. Int J Antimicrob Agents. 2015.

158. Rodriguez-Avial I, Pena I, Picazo JJ, Rodriguez-Avial C, Culebras E. In vitro activity of the next-generation aminoglycoside plazomicin alone and in combination with colistin, meropenem, fosfomycin or tigecycline against carbapenemase-producing Enterobacteriaceae strains. Int J Antimicrob Agents. 2015.

159. Harris AD, Samore MH, Lipsitch M, Kaye KS, Perencevich E, Carmeli Y. Control-group selection importance in studies of antimicrobial resistance: Examples applied to Pseudomonas aeruginosa, enterococci, and Escherichia coli. Clinical Infectious Diseases. 2002;34(12):1558-63.

160. Harris AD, Karchmer TB, Carmeli Y, Samore MH. Methodological principles of case-control studies that analyzed risk factors for antibiotic resistance: A systematic review. Clinical Infectious Diseases. 2001;32(7):1055-61.

161. Tan TY, Ng SY. Comparison of Etest, Vitek and agar dilution for susceptibility testing of colistin. Clinical Microbiology and Infection. 2007;13(5):541-4.

162. Falagas ME, Kasiakou SK, Michalopoulos A. Polymyxins: A word of caution for prudent use of valuable "old antibiotics" [2]. Infection Control and Hospital Epidemiology. 2006;27(9):995.

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ (09/2015)

ΜΑΤΘΑΙΟΥ Κ. ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ, MD, MBA

ΠΡΟΣΩΠΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

- Διεύθυνση: Ιάσονος 3Γ, Βριλήσσια, 152 35
- Ημ. γέννησης: 29/09/1978
- Κινητό: 6937130039
- Τηλέφωνο: 211 402 7974
- Φαξ: 211 402 7974
- E-mail: d.matthaiou@gmail.com
- GMC Reference Number: 7468761

ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

- 07/2013 – συνεχ. Εξιδικευόμενος Εντατικολογίας, Β' Πανεπιστημιακή κλινική Εντατικής Θεραπείας, ΠΓΝ «ΑΤΤΙΚΟΝ», Χαϊδάρι, Αθήνα
- 01/2013 – συνεχ. Επιστημονικός συνεργάτης, Β' Πανεπιστημιακή κλινική Εντατικής Θεραπείας, ΠΓΝ «ΑΤΤΙΚΟΝ», Χαϊδάρι, Αθήνα
- 04/2008 – 10/2012 Ειδικευόμενος Παθολογίας, ΓΝΘ «Γεώργιος Γεννηματάς», Θεσσαλονίκη
- 06/2005 – 04/2008 Επιστημονικός συνεργάτης, Άλφα Ινστιτούτο Βιοϊατρικών Επιστημών, Μαρούσι, (Νεαπόλεως 9, 151 23 Μαρούσι, Τηλ. 210 6839600)
- 05/2006 - 05/2007 Οπλίτης Ιατρός στα πλαίσια της στρατιωτικής θητείας (Δ' Μοίρα Καταδρομών)
- 05/2004 - 02/2006 Αγροτικός Ιατρός, Εθνικό Σύστημα Υγείας, Κέντρο Υγείας Λεωνιδίου, Αρκαδία

ΠΡΟΣΘΕΤΕΣ ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΕΣ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΕΣ

- 8/2004 Συμμετοχή σε 15ήμερο σεμινάριο του ΕΚΑΒ με θέμα «Διακομιδή βαρέος πάσχοντος» (θεωρητικό και πρακτικό σκέλος)

ΑΔΕΙΕΣ ΚΑΙ ΔΙΠΛΩΜΑΤΑ

- 2014 GMC UK (Πλήρης εγγραφή με άδεια άσκησης στην Παθολογία)
- 2013 Απόκτηση Τίτλου Ειδίκευσης Ειδικής Παθολογίας
- 2004 Άδεια άσκησης ιατρικού επαγγέλματος (Ελλάς)

ΕΤΑΙΡΙΕΣ ΚΑΙ ΣΥΛΛΟΓΟΙ

- Ιατρικός Σύλλογος Αθηνών
- Ευρωπαϊκή Εταιρία Κλινικής Μικροβιολογίας και Λοιμωδών Νοσημάτων (ESCMID)
- Ευρωπαϊκή Εταιρία Εντατικολογίας (ESICM)

ΚΛΙΝΙΚΗ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΟΡΦΩΣΗ

- 07/2013 – συνεχ. Εξιδικευόμενος Εντατικολογίας, Β' Πανεπιστημιακή κλινική Εντατικής Θεραπείας, ΠΓΝ «ΑΤΤΙΚΟΝ», Χαϊδάρι, Αθήνα

- 04/2008-10/2012 Ειδικευόμενος Παθολογίας, ΓΝΘ «Γεώργιος Γεννηματάς», Θεσσαλονίκη

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΟΡΦΩΣΗ

- 11/2007 - συνεχ. PhD, Πανεπιστήμιο Κρήτης, Ιατρική Σχολή, Ηράκλειο, με θέμα: "Συχνότητα, έκβαση και παράγοντες κινδύνου για λοιμώξεις από ανθεκτικούς στην κολιστίνη Gram αρνητικούς μικροοργανισμούς"

  Επιβλέπων καθηγητής: Γεώργιος Σαμώνης, Καθηγητής Παθολογίας, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Κρήτης
- 10/2010 -9/2014 MBA, Διατμηματικό Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών στη Διοίκηση Επιχειρήσεων με εξειδίκευση στη Διοίκηση Μονάδων Υγείας, Πανεπιστήμιο Μακεδονίας Οικονομικών και Κοινωνικών Επιστημών, Θεσσαλονίκη. Διπλωματική με θέμα: «Μοντέλο εκτίμησης της αποτελεσματικότητας στρατηγικών που στοχεύουν στη μείωση της θνησιμότητας από βιοτρομοκρατικό χτύπημα ή επιδημία»

  Επιβλέπων καθηγητής: Βασίλειος Αλετράς, Αναπληρωτής Καθηγητής Μάνατζμεντ και Οικονομικών της Υγείας, Τμήμα Οργάνωσης και Διοίκησης Επιχειρήσεων Πανεπιστημίου Μακεδονίας

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

- 1/2013 – cont. Κλινική έρευνα, Ερευνητής, Β' Πανεπιστημιακή κλινική Εντατικής Θεραπείας, ΠΓΝ "ΑΤΤΙΚΟΝ", Χαϊδάρι, Αθήνα
  - "Μια τυχαιοποιημένη τυφλή, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο, μελέτη φάσης 2 νεφελοποιημένης αμικασίνης και φωσφομυκίνης χορηγούμενης μέσω της υπό έρευνα eFlow® Inline System σε ασθενείς υπό μηχανικό αερισμό με Gram-αρνητική βακτηριακή πνευμονία (IASIS)" – Cardeas Pharma
  - "Magic Bullet – Ανοικτή, τυχαιοποιημένη, πολυκεντρική μελέτη Φάσης IV απόδειξης μη κατωτερότητας για τη σύγκριση της ασφάλειας και της αποτελεσματικότητας της κολιστίνης έναντι της μεροπενέμης στην εμπειρική θεραπεία της πνευμονίας που συνδέεται με τη χρήση αναπνευστήρα" – Seventh Framework Programme
- 2010 – 2012 Κλινική έρευνα, Μονάδα Εντατικής Θεραπείας, ΓΝΘ «Γ. Γεννηματάς», Θεσσαλονίκη

  Σχεδιασμός, εφαρμογή, ανάλυση και ερμηνεία κλινικών μελετών που ερευνούσαν κλινικά ερωτήματα σχετικά με λοιμώξεις σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς.
- 2005 – 2008 Κλινική έρευνα, Άλφα Ινστιτούτο Βιοϊατρικών Επιστημών, Μαρούσι, Αθήνα

  Σχεδιασμός, εφαρμογή, ανάλυση και ερμηνεία κλινικών μελετών που ερευνούσαν κλινικά ερωτήματα σχετικά με λοιμώξεις λόγω πολυανθεκτικών Gram αρνητικών παθογόνων, λοιμώξεις σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς και νοσοκομειακές λοιμώξεις.

ΟΜΑΔΕΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

- Μέλος της EPASG - Ομάδα μελέτης της ESCMID για την φαρμακοκινητική και φαρμακοδυναμική των αντιμικροβιακών φαρμάκων
- Μέλος της ESGCIP - Ομάδα μελέτης της ESCMID για λοιμώξεις σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς
- Μέλος του Systematic Review Study Group της ESICM

ΠΤΥΧΙΑΚΕΣ ΣΠΟΥΔΕΣ

- 04/2004 Απόφοιτος της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

- 08/2001 Πρακτική εξάσκηση σε κλινική Γεν. Χειρουργικής, νοσοκομείο "St. Giovanni Battista", Τορίνο, Ιταλία, στα πλαίσια προγράμματος ανταλλαγής φοιτητών

ΧΟΡΗΓΙΕΣ-ΥΠΟΤΡΟΦΙΕΣ

- 2010 – 2011 Υπότροφος Πανεπιστημίου Μακεδονίας Οικονομικών και Κοινωνικών Επιστημών
- 2010 Βραβείο Piero Periti για την ανασκόπηση "Trimethoprim-sulfamethoxazole for methicillin-resistant Staphylococcus aureus: a forgotten alternative?"
- 2002 1ο βραβείο στο 8ο Επιστημονικό Συνέδριο Φοιτητών Ιατρικής Ελλάδος για την παρουσίαση «Πειραματικό μοντέλο για την μελέτη ισχαιμίας του νωτιαίου μυελού μετά από αποκλεισμό της κατιούσας θωρακικής αορτής»

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟΣ ΚΡΙΤΗΣ ΣΕ ΙΑΤΡΙΚΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

- Clinical Infectious Diseases
- Clinical Microbiology and Infection
- Critical Care Medicine
- Journal of Antimicrobial Chemotherapy
- International Journal of Antimicrobial Agents
- PLoS One
- BMC Infectious Diseases
- BMC Medicine
- BMC Gastroenterology
- Expert Review of Anti-Infective Therapy
- Respiratory Care
- Journal of the American Board of Family Medicine
- Southern Medical Journal

ASSOCIATE EDITOR

- BMC Infectious Diseases

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ (PEER-REVIEWED)

1. Vardakas KZ, **Matthaiou DK**, Falagas ME, Antypa E, Koteli A, Antoniadou E. Tigecycline for carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae infections in the intensive care unit. Infect Dis (Lond). 2015; 47(10):755-7.
2. **Matthaiou DK**, Christodoulopoulou T, Dimopoulos G. How to treat fungal infections in ICU patients. BMC Infect Dis. 2015; 15:205.
3. 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. *J Infect* 2015; 70:592-9.
4. Dimopoulos G, Koulenti D, Tabah A, Poulakou G, Vesin A, Arvaniti K, Lathyris D, **Matthaiou DK**, Armaganidis A, Timsit JF. Bloodstream infections in ICUs with increased resistance: epidemiology and outcomes. *Minerva Anestesiol* 2015; 81:405-18.
5. Dimopoulos G, De Waele J, **Matthaiou DK.** What is new in the use of aminoglycosides in critically ill patients? *Intensive Care Med* 2014; 40:1553-55.
6. Dimopoulos G, **Matthaiou DK.** When the duration of infusion does matter: the case of

meropenem and piperacillin. *Minerva Anestesiol* 2014; 80:1258-60.

7. Dimopoulos GT, Kollef M, **Matthaiou DK**, Montgomery B. Aerolized antibiotics for the treatment of ventilator associated pneumonia: A new era! *Pneumon* 2014; 27:87-93.
8. Dimopoulos G, Poulakou G, Pneumatikos I, Armaganidis A, Kollef M, **Matthaiou DK**. Short- versus long-duration antibiotic regimens for ventilator-associated pneumonia: a systematic review and meta-analysis. *Chest* 2013; 144:1759-67.
9. Dimopoulos G, Armaganidis A, Poulakou G, **Matthaiou DK**. Rituximab in critically-ill patients. *Minerva Anestesiol* 2013; 79:185-93.
10. **Matthaiou DK**, Ntani G, Kontogeorgi M, Poulakou G, Armaganidis A, Dimopoulos G. An ESICM systematic review and meta-analysis of procalcitonin-guided antibiotic therapy algorithms in adult critically-ill patients. *Intensive Care Med* 2012; 38:940-9.
11. **Matthaiou DK**, Chasou E, Atmatzidis S, Tsolkas P. A case of bacteremia due to *Burkholderia cepacia* in a patient without cystic fibrosis. *Resp Med CME* 2011; 4:144-5.
12. Falagas ME, Rafailidis PI, **Matthaiou DK**. Resistance to polymyxins: mechanisms, frequency and treatment options. *Drug Resist Update* 2010; 13:132-8.
13. Samonis G, **Matthaiou DK**, Kofteridis D, Maraki S, Falagas ME. In vitro susceptibility to various antibiotics of colistin resistant Gram-negative bacterial isolates in a general tertiary hospital in Crete, Greece. *Clin Infect Dis* 2010 15; 50:1689-91.
14. Falagas ME, Rafailidis PI, Ioannidou E, Alexiou VG, **Matthaiou DK**, Karageorgopoulos DE, Kapaskelis A, Nikita D, Michalopoulos A. Colistin therapy for microbiologically documented multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections: a retrospective cohort study of 258 patients. *Int J Antimicrob Agents* 2010; 35:194-9.
15. Vardakas KZ, **Matthaiou DK**, Falagas ME. Comparison of community-acquired pneumonia due to methicillin-resistant and methicillin-susceptible Staphylococcus aureus producing the Panton-Valentine leukocidin. *Int J Tuberc Lung Dis* 2009; 13:1476-85.
16. Vardakas KZ, **Matthaiou DK**, Falagas ME. Incidence, characteristics and outcomes of patients with severe community acquired-MRSA pneumonia. *Eur Respir J* 2009; 34:1148-58.
17. **Matthaiou DK**, Peppas G, Falagas ME. Meta-analysis on surgical infections. *Infect Dis Clin North Am* 2009; 23:405-30.
18. Pappas G, Athanasoulia AP, **Matthaiou DK**, Falagas ME. Trimethoprim-sulfamethoxazole for methicillin-resistant Staphylococcus aureus: a forgotten alternative? *J Chemother* 2009; 21:115-26.
19. Vardakas KZ, **Matthaiou DK**, Falagas ME. Adjunctive dexamethasone therapy for bacterial meningitis in adults: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Eur J Neurol* 2009; 16:662-673.
20. Falagas ME, Peppas G, **Matthaiou DK**, Karageorgopoulos DE, Karalis N, Theocharis G. Effect of meteorological variables on the incidence of lower urinary tract infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2009; 28: 709-12.
21. Avgeri SG, **Matthaiou DK**, Dimopoulos G, Grammatikos AP, Falagas ME. Therapeutic options for Burkholderia cepacia infections beyond co-trimoxazole: a systematic review of the clinical evidence. *Int J Antimicrob Agents* 2009; 33:394-404.
22. Samonis G, Karageorgopoulos DE, Kofteridis DP, **Matthaiou DK**, Sidiropoulou V, Maraki S, Falagas ME. Citrobacter infections in a general hospital: characteristics and outcomes. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2009; 28:61-8.
23. Falagas ME, Valkimadi PE, Huang YT, **Matthaiou DK**, Hsueh PR. Therapeutic options for Stenotrophomonas maltophilia infections beyond co-trimoxazole: a systematic review. *J Antimicrob Chemother* 2008; 62:889-94.
24. Falagas ME, Karageorgopoulos DE, Grammatikos AP, **Matthaiou DK**. Effectiveness and

safety of short versus long duration of antibiotic therapy for acute bacterial sinusitis: A meta-analysis of randomised trials. *Br J Clin Pharmacol* 2009; 67:161-71.

25. Kyriakidou KG, Rafailidis P, **Matthaiou DK**, Athanasiou S, Falagas ME. Short versus long course antibiotic therapy for acute pyelonephritisin adolescents and adults: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Clin Ther* 2008; 30:1859-68.
26. Falagas ME, Rafailidis PI, **Matthaiou DK**, Virtzili S, Nikita D, Michalopoulos A. Pandrug-resistant (PDR) Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, and Acinetobacter baumannii infections: characteristics and outcome in a series of 28 patients. *Int J Antimicrob Agents* 2008; 32:450-54.
27. Rafailidis PI, **Matthaiou DK**, Varbobitis I, Falagas ME. Use of ACE inhibitors and risk of community-acquired pneumonia: a review. *Eur J Clin Pharmacol* 2008; 64:565-73.
28. Falagas ME, **Matthaiou DK**, Rafailidis PI, Panos G, Pappas G. Worldwide prevalence of head lice. *Emerg Infect Dis* 2008; 14:1493-1494.
29. Falagas ME, Vouloumanou EK, **Matthaiou DK**, Kapaskelis AM, Karageorgopoulos DE. Effectiveness and safety of short-course vs long-course antibiotic therapy for group A beta hemolytic streptococcal tonsillopharyngitis: A meta-analysis of randomized trials. *Mayo Clin Proc* 2008; 83:880-9.
30. Falagas ME, Avgeri SG, **Matthaiou DK**, Dimopoulos G, Siempos II. Short- versus long-duration antimicrobial treatment for exacerbations of chronic bronchitis: a meta-analysis. *J Antimicrob Chemother* 2008; 62:442-50.
31. Dimopoulos G, **Matthaiou DK**, Karageorgopoulos DE, Grammatikos AP, Athanassa Z, Falagas ME. Short- versus long-course antibacterial therapy for community-acquired pneumonia: a meta-analysis. *Drugs* 2008; 68:1841-54.
32. **Matthaiou DK**, Karamanis EM, Moraitis LI, Falagas ME. In Response: Re: Karamanis EM, Matthaiou DK, Moraitis LI, et al. Fluoroquinolones versus β-lactam based regimens for the treatment of osteomyelitis: a meta-analysis of randomized controlled trials. Spine 2008;33:E297–E304. *Spine (Phila Pa 1976)* 2009; 34: 420-1.
33. Karamanis EM, **Matthaiou DK**, Moraitis LI, Falagas ME. Fluoroquinolones versus β-lactam based regimens for the treatment of osteomyelitis. *Spine (Phila Pa 1976)* 2008; 33:E297-304.
34. Falagas ME, Peppas G, Makris GC, Karageorgopoulos DE, **Matthaiou DK**. Meta-analysis: ertapenem for complicated intra-abdominal infections. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 27:919-31.
35. Falagas ME, Makris GE, **Matthaiou DK**, Rafailidis PI. Statins for infection and sepsis: a systematic review of the clinical evidence. *J Antimicrob Chemother* 2008; 61:774-85.
36. **Matthaiou DK**, Panos G, Adamidi ES, Falagas ME. Albendazole versus praziquantel in the treatment of neurocysticercosis: a meta-analysis of comparative trials. *PLoS Negl Trop Dis* 2008; 2:e194.
37. **Matthaiou DK**, Michalopoulos A, Rafailidis PI, Karageorgopoulos DE, Papaioannou V, Ntani G, Samonis G, Falagas ME. Risk factors associated with the isolation of colistin-resistant Gram negative bacteria: a matched case-control study. *Crit Care Med* 2008; 36:807-11.
38. Falagas ME, Makris GC, Dimopoulos G, **Matthaiou DK**. Heteroresistance: a concern of increasing clinical significance? *Clin Microbiol Infect* 2008; 14:101-4.
39. Falagas ME, **Matthaiou DK**, Karveli EA, Peppas G. Meta-analysis: randomized controlled trials of clindamycin/aminoglycoside vs. beta-lactam monotherapy for the treatment of intra-abdominal infections.
Aliment Pharmacol Ther 2007; 25:537-56.
40. Falagas ME, **Matthaiou DK**, Bliziotis IA. Systematic review: fluoroquinolones for the treatment of intra-abdominal surgical infections. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 25:123-31.
41. Falagas ME, **Matthaiou DK**, Vardakas KZ. Fluoroquinolones vs beta-lactams for empirical

treatment of immunocompetent patients with skin and soft tissue infections: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Mayo Clin Proc* 2006; 81:1553-66.

42. **Matthaiou DK**, Peppas G, Bliziotis IA, Falagas ME. Ciprofloxacin/metronidazole versus beta-lactam based treatment of intra-abdominal infections: a meta-analysis of comparative trials. *Int J Antimicrob Agents* 2006; 28:159-65.
43. Athanasiou S, **Matthaiou DK**, Falagas ME. Vaginal mesh infection due to Bacteroides melaninogenicus: a case report of another emerging foreign body related infection. *Scand J Infect Dis* 2006; 38:1108-10.
44. Falagas ME, **Matthaiou DK**, Bliziotis IA. The role of aminoglycosides in combination with a β-lactam for the treatment of bacterial endocarditis: a meta-analysis of comparative trials. *J Antimicrob Chemother* 2006; 57:639-47.
45. Falagas ME, **Matthaiou DK**, Bliziotis IA. Aminoglycosides in combination with a β-lactam for the treatment of bacterial endocarditis: authors' response. *J Antimicrob Chemother* 2006; 57:1255-6.

ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

1. **Matthaiou DK**, Dimopoulos G, Christodoulopoulou T, Vogelaers D, Blot S and the AspICU investigators. Risk factors for mortality in elderly patients (>75 years old) with invasive aspergillosis. *ESICM LIVES 2014 27th Annual Congress*, Barcelona, Spain, September 2014.
2. Poulakou G., **Matthaiou D.K.**, Bassetti M., Erdem H., Dimopoulos G., Carlet J., Lipman J., Timsit J.F., Giamarellou H., Rello J. Definition and significance of salvage treatment for Gram-negative infections in critically ill patients: preliminary results of an ESGCIP survey. 24th *European Conference of Clinical Microbiology and Infection Diseases (ECCMID)*, Barcelona, Spain, May 2014.
3. Dimopoulos G., Christodoulopoulou T., **Matthaiou D.**, Vogelaers D., Blot S., and AspICU investigators. Elderly versus non-elderly patients with aspergillosis in the ICU. 24th *European Conference of Clinical Microbiology and Infection Diseases (ECCMID)*, Barcelona, Spain, May 2014.
4. **D. Matthaiou**, G. Poulakou, D. Koulenti, I. Pneumatikos, G. Dimopoulos. Short- versus long-duration antibiotic regimens for ventilator-associated pneumonia: a systematic review and meta-analysis. 23rd *European Conference of Clinical Microbiology and Infection Diseases (ECCMID)*, Berlin, Germany, April 2013.
5. Δημόπουλος Γ, Κουλέντη Δ, Πουλάκου Γ, **Ματθαίου Δ**, Αρβανίτη Κ, Ανθόπουλος Γ, και συν. Νοσοκομειακές λοιμώξεις αιματικής ροής σε ασθενείς που νοσηλεύονται στη ΜΕΘ: αποτελέσματα για την Ελλάδα της EUROBACT Study. *14ο Πανελλήνιο Συνέδριο Εντατικής Θεραπείας*, Αθήνα, Νοέμβριος 2012.
6. Lathyris DN, Tsioudis P, Kehagias S, **Mathaiou D**, Kontopoulou K, Mandraveli-Hatzikosta K, Antoniadou E. Prospective evaluation of Fosfomycin in Intensive Care Unit (ICU) patients with carbapenem-resistant K pneumoniae bacteremias. *22nd European Conference of Clinical Microbiology and Infection Diseases (ECCMID)*, London, UK, March 2012.
7. **DK Matthaiou**, A Ioannidis, G Gounti, D Lathyris, A Vathis, S Vasiliagkou, K Kontopoulou, K Mandraveli, E Antoniadou. Correlation of VAP diagnosis with parameters of critically-ill patients in a general ICU. *32nd International Symposium on Intensive Care and Emergency Medicine (ISICEM)*, Brussels, Belgium, March 2012.
8. K. Vardakas, **D. Matthaiou**, E. Antupa, E. Pappas, G. Kechagioglou, A. Koteli, E. Antoniadou. Characteristics and outcomes of intensive care unit patients with carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae bacteraemia. 20th European Conference of Clinical Microbiology and Infection Diseases (ECCMID), Vienna, Austria, April 2010.
9. KZ Vardakas, **DK Matthaiou**, E Antypa, A Grammatikos, E Chasou, E Antoniadou. Risk

factors for the development of carbapenem resistant Klebsiella pneumoniae infections in critically ill patients. 30th International Symposium on Intensive Care and Emergency Medicine (ISICEM), Brussels, Belgium, March 2010.

10. K. Vardakas, **D. Matthaiou**, M. Falagas. Comparison of clinical features and mortality risk associated with pneumonia due to community-acquired methicillin-resistant and methicillin-susceptible Staphylococcus aureus producing the Panton-Valentine leukocidin. 19th European Conference of Clinical Microbiology and Infection Diseases (ECCMID), Helsinki, Finland, May 2009.
11. Vardakas KZ, **Matthaiou DK**, Falagas ME. Adjunctive dexamethasone therapy for bacterial meningitis in adults: a meta-analysis of randomized controlled trials. 48th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC)/46th IDSA Annual Meeting, Washington DC, October 2008.
12. G. Dimopoulos, A. Velegraki, **D.K. Matthaiou**, E.C. Alexopoulos, A. Zannos, M.E. Falagas. In vitro susceptibility of intensive care unit (ICU) candidemia isolates by the eucast and commercial methods - A ten year survey. 21st European Society of Intensive Care Medicine (ESICM) Annual Congress, Lisbon, Portugal, September 2008.
13. M. Falagas, G. Makris, **D. Matthaiou**, P. Rafailidis. Statins for infection and sepsis – A systematic review of the clinical evidence. 18th European Conference of Clinical Microbiology and Infection Diseases (ECCMID), Barcelona, Spain, April 2008.
14. P. Rafailidis, **D. Matthaiou**, I. Varbobitis, M. Falagas. Use of ACE inhibitors and risk of community-acquired pneumonia. 18th European Conference of Clinical Microbiology and Infection Diseases (ECCMID), Barcelona, Spain, April 2008.
15. **D. Matthaiou**, G. Panos, E. Adamidi, M. Falagas. Albendazole versus praziquantel in the treatment of neurocysticercosis: a meta-analysis of comparative trials. 18th European Conference of Clinical Microbiology and Infection Diseases (ECCMID), Barcelona, Spain, April 2008.
16. M. Falagas, P. Rafailidis, **D. Matthaiou**, S. Virtzili, D. Nikita, A. Michalopoulos. Pandrug-resistant Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, and Acinetobacter baumannii infections: characteristics and outcomes in a series of 28 patients. 18th European Conference of Clinical Microbiology and Infection Diseases (ECCMID), Barcelona, Spain, April 2008.
17. M. Falagas, E. Vouloumanou, **D. Matthaiou**, A. Kapaskelis, D. Karageorgopoulos. Effectiveness and safety of short versus long duration of antibiotic therapy for group A streptococcal tonsillopharyngitis: a meta-analysis of randomised controlled trials. 18th European Conference of Clinical Microbiology and Infection Diseases (ECCMID), Barcelona, Spain, April 2008.
18. Falagas ME, **Matthaiou DK**, Karveli EA, Peppas G. Clindamycin/aminoglycoside versus beta-lactam monotherapy for the treatment of intra-abdominal infections: a meta-analysis of randomised controlled trials. 25th International Congress of Chemotherpy (ICC)/17th European Conference of Clinical Microbiology and Infection Diseases (ECCMID), Munich, Germany, April 2007.
19. Falagas ME, **Matthaiou DK**, Vardakas KZ. Fluoroquinolones versus β-lactams for the empirical treatment of immunocompetent patients with skin and soft tissue infections: a meta-analysis of randomized controlled trials. 46th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC), San Francisco, California, September 2006.
20. **Matthaiou DK**, Peppas G, Bliziotis IA, Falagas ME. Ciprofloxacin/metronidazole versus beta-lactam based treatment of intra-abdominal infections: a meta-analysis of comparative trials. 46th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC), San Francisco, California, September 2006.
21. Falagas ME, **Matthaiou D**, Papastamataki P, Bliziotis I. The role of aminoglycosides in

combination with a beta-lactam for the treatment of bacterial endocarditis: a meta-analysis of comparative trials. 16th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), Nice, France, April 2006.

ΚΕΦΑΛΑΙΑ ΣΕ ΒΙΒΛΙΑ

1. **Matthaiou DK**, Karampela I, Armaganidis A, Dimopoulos G. Biomarkers in the diagnosis and treatment of respiratory infections. In: *Textbook of Respiratory and Critical Care Infections*. Blasi F and Dimopoulos G, eds. Jaypee Brothers Medical Publishers, New Delhi, pp. 348-59.
2. Kopterides P, Nikitas N, **Matthaiou DK**, Armaganidis A, Dimopoulos G. Bioterrorism and respiratory infections. In: *Textbook of Respiratory and Critical Care Infections*. Blasi F and Dimopoulos G, eds. Jaypee Brothers Medical Publishers, New Delhi, pp 379-99.
3. G. Dimopoulos, **D.K. Matthaiou**, N. Moussas, O. Apostolopoulou, G. Arabatzis, A. Velegraki, G. Poulakou. Pathogenesis of Aspergillosis in humans. In: *Emerging and Re-Emerging Human Infections*. Singh S ed. John Wiley & Sons/Wiley Blackwell Press, Hoboken, NJ (in press)
4. Φ. Φραντζεσκάκη, **Δημήτριος Ματθαίου**. Διαταραχές πήξης και αιμόστασης στον καρδιοχειρουργικό ασθενή. Στο *ΕΝΤΑΤΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ & ΕΠΕΙΓΟΥΣΑ ΙΑΤΡΙΚΗ: ΚΑΡΔΙΑΚΗ & ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ*. Μπαλτόπουλος Γ. εκδ. CMYK GRAPHIC DESIGN STUDIO ΕΠΕ, Αθήνα (in press)
5. Φ. Φραντζεσκάκη, **Δ. Ματθαίου**. Αναιμία και μεταγγίσεις. Στο *ΕΝΤΑΤΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ & ΕΠΕΙΓΟΥΣΑ ΙΑΤΡΙΚΗ: ΚΑΡΔΙΑΚΗ & ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ*. Μπαλτόπουλος Γ. εκδ. CMYK GRAPHIC DESIGN STUDIO ΕΠΕ, Αθήνα (in press)
6. **Δ. Ματθαίου,** Φ. Φραντζεσκάκη. Λοίμωξη, σήψη και καρδιακή δυσλειτουργία. Στο *ΕΝΤΑΤΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ & ΕΠΕΙΓΟΥΣΑ ΙΑΤΡΙΚΗ: ΚΑΡΔΙΑΚΗ & ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ*. Μπαλτόπουλος Γ. εκδ. CMYK GRAPHIC DESIGN STUDIO ΕΠΕ, Αθήνα (in press)
7. **Δ. Ματθαίου,** Φ. Φραντζεσκάκη. HIV σε ασθενείς με καρδιακή και στεφανιαία ανεπάρκεια. Στο *ΕΝΤΑΤΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ & ΕΠΕΙΓΟΥΣΑ ΙΑΤΡΙΚΗ: ΚΑΡΔΙΑΚΗ & ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ*. Μπαλτόπουλος Γ. εκδ. CMYK GRAPHIC DESIGN STUDIO ΕΠΕ, Αθήνα (in press)

ΔΙΑΛΕΞΕΙΣ

1. Benefits and challenges of CRM – ERP – SCM. Applications in Healthcare. *CITY College – International Faculty of the University of Sheffield*, Thessaloniki, Greece, December 2013.
2. How to design a protocol for a systematic review. *«How to write a systematic review and meta-analysis» post-graduate course* during *ESICM LIVES 2012*, Lisbon, Portugal, October 2012.
3. How to write a high quality SR to maximise chance of publication. *«How to write a systematic review and meta-analysis» post-graduate course* during *ESICM LIVES 2012*, Lisbon, Portugal, October 2012.
4. Πηγές πληροφοριών για λοιμώξεις στο διαδίκτυο. *7ος Δεκάλογος για τις λοιμώξεις*, Αθήνα, Νοέμβριος 2011.
5. Benefits and challenges of CRM – ERP – SCM. Applications in Healthcare. *CITY College – International Faculty of the University of Sheffield*, Thessaloniki, Greece, November 2011.
6. Λοιμώξεις από πανανθεκτικά (PDR) βακτήρια. *6ος Δεκάλογος για τις λοιμώξεις*, Αθήνα, Νοέμβριος 2010.
7. **D. Matthaiou**, A. Michalopoulos, P. Rafailidis, D. Karageorgopoulos, V. Papaioannou, G. Ntani, G. Samonis, M. Falagas. Risk factors associated with the isolation of colistin-resistant Gram-negative bacteria: a matched case-control study. 18th European Congress of Clinical

Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), Barcelona, Spain, April 2008.

8. E. Karamanis, **D. Matthaiou**, L. Moraitis, M. Falagas. Fluoroquinolones versus beta-lactam-based regimens for the treatment of osteomyelitis: a meta-analysis of randomised controlled trials. 18th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), Barcelona, Spain, April 2008.
9. K. Kyriakidou, P. Rafailidis, S. Athanassiou, **D. Matthaiou**, M. Falagas. Short versus long course antibiotic therapy for acute pyelonephritis in adults: a meta-analysis of randomised controlled trials. 18th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), Barcelona, Spain, April 2008.
10. M. Falagas, D. Karageorgopoulos, A. Grammatikos, **D. Matthaiou**. Effectiveness and safety of short versus long duration of antibiotic therapy for acute bacterial sinusitis: a meta-analysis of randomised trials. 18th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), Barcelona, Spain, April 2008.
11. M. Falagas, G. Peppas, G. Makris, D. Karageorgopoulos, **D. Matthaiou**. Ertapenem for complicated intra-abdominal infections: a meta-analysis of randomised controlled trials. 18th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), Barcelona, Spain, April 2008.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

- Οι εργασίες μου έχουν λάβει περίπου **930 βιβλιογραφικές αναφορές** από άρθρα περιοδικών που είναι καταχωρημένα στο Thomson Scientific (Institute of Scientific Information - ISI, Philadelphia, Pennsylvania) και περίπου **1140 βιβλιογραφικές αναφορές** από άρθρα περιοδικών που είναι καταχωρημένα στο Scopus (h-index: 19)

ΓΛΩΣΣΕΣ

- Ελληνικά: μητρική γλώσσα
- Proficiency in English ("A" Level), Cambridge University, UK
- Γερμανικά: Grundstuffe, Göethe Institut

ΓΝΩΣΗ Η/Υ

- Microsoft Office
- SPSS, EndNote, Reference Manager, RevMan
- Γνώση διαφόρων γλωσσών προγραμματισμού Η/Υ

ΕΘΕΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

- Εθελοντής Παθολόγος, Κοινωνικό Ιατρείο Νέας Φιλαδέλφειας-Νέας Χαλκηδόνας-Νέας Ιωνίας και γύρω περιοχών

ΑΣΧΟΛΙΕΣ ΚΑΙ ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΝΤΑ

- Ιστορία, ταξίδια
- Η/Υ, σκάκι
- Μουσική

ΣΥΣΤΑΣΕΙΣ

Γεώργιος Δημόπουλος, Αναπ. Καθηγητής Εντατικολογίας, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών
Μονάδα Εντατικής Θεραπείας, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο «ΑΤΤΙΚΟΝ»

Τ.Κ. 124 62, Αθήνα
Τηλ.- Fax: 2105832182, e-mail: gdimop@med.uoa.gr

Γεώργιος Σαμώνης, Καθηγητής Παθολογίας, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Κρήτης
Διευθυντής Αιματολογικής Κλινικής, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Ηρακλείου
Τ.Θ. 1352, Τ.Κ. 711 10, Ηράκλειο - Κρήτη
Τηλ.: 2810392805, Fax: 2810392426, e-mail: samonis@med.uoc.gr

Βασίλειος Αλετράς, Αναπληρωτής Καθηγητής, Τμήμα Οργάνωσης και Διοίκησης Επιχειρήσεων – Μάνατζμεντ και Οικονομικά της Υγείας, Πανεπιστήμιο Μακεδονίας
Τ.Θ. 1591, Τ.Κ. 546 36, Θεσσαλονίκη
Τηλ.: 2310891505, e-mail: valetras@uom.gr

Ματθαίος Φαλάγγας, Αναπλ. Καθηγητής, Tufts University School of Medicine, USA
Διευθυντής Άλφα Ινστιτούτου Βιοϊατρικών Επιστημών
Νεαπόλεως 9, 151 23 Μαρούσι
Τηλ. 2106839600, Fax: 2106839605, e-mail: m.falagas@aibs.gr

ΚΙΝΗΤΟ +306937130039 • ΤΗΛ. +302310317062 • E-MAIL D.MATTHAIOU@GMAIL.COM

ΠΛΗΡΗ ΚΕΙΜΕΝΑ ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΩΝ

Risk factors associated with the isolation of colistin-resistant Gram-negative bacteria: A matched case-control study

Dimitrios K. Matthaiou, MD; Argyris Michalopoulos, MD, FCCP; Petros I. Rafailidis, MD, MRCP; Drosos E. Karageorgopoulos, MD; Vassiliki Papaioannou, MD; Georgia Ntani, BSc; George Samonis, MD, PhD; Matthew E. Falagas, MD, MSc, DSc

Objective: **The emergence of multidrug-resistant Gram-negative bacteria has led to the re-use of colistin, but resistance to this agent has already been reported. We aimed to investigate the potential risk factors for the isolation of colistin-resistant *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, and *Pseudomonas aeruginosa* from hospitalized patients.**

Design: **Matched case-control study.**

Setting: **Tertiary care hospital in Athens, Greece.**

Patients: **Case patients were those who had provided a clinical specimen from which a colistin-resistant *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, or *P. aeruginosa* was isolated. Controls were selected from a pool of patients who had susceptible to colistin isolates and were matched (1:1) to cases for species of microorganism and site of isolation. Susceptibility to colistin was determined with the Etest.**

Interventions: **None.**

Measurements and Main Results: **Data regarding patient demographics, comorbidities, admission to the intensive care unit, prior antibiotic use, and invasive procedures performed were analyzed as risk factors in a matched bivariable model. Variables significantly associated with colistin-resistant isolates ($p < .05$) were entered in a backward multivariable logistic regression model. Forty-one colistin-resistant unique patient isolates were identified from January 1, 2006, until March 31, 2007. These isolates represented infection in 35 of 41 patients. Risk factors significantly associated with the isolation of colistin-resistant isolates were age, duration of intensive care unit stay, duration of mechanical ventilation, surgical procedures, use of colistin, use of monobactams, and duration of use of third-generation cephalosporins. In the multivariable model, use of colistin was identified as the only independent risk factor (adjusted odds ratio = 7.78, $p = .002$).**

Conclusions: **Colistin-resistant *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, and *P. aeruginosa* pathogens may be encountered in clinical practice, in association with inappropriate colistin use. To prevent this phenomenon, colistin should be used judiciously, given that treatment options for colistin-resistant Gram-negative bacteria are limited. (Crit Care Med 2008; 36:807–811)**

KEY WORDS: *Klebsiella*; *Pseudomonas*; *Acinetobacter*; polymyxins; mortality; multiple drug resistance

The emergence of Gram-negative bacteria with multiple mechanisms of resistance against commonly used antibiotics, along with the slow pace of development of new effective antimicrobial agents against this class of pathogens (1), has led to the reconsideration of the therapeutic role of colistin. Colistin, otherwise known as polymyxin E, was eliminated from routine clinical use for many years, except for its well-established role in the prevention and treatment of infectious respiratory complications in patients with cystic fibrosis (2). Colistin was found to have retained activity against contemporary isolates of many Gram-negative bacterial species (3). In fact, in some cases, it may be the only available antimicrobial agent that is active against infections caused by multidrug-resistant strains of these pathogens in critically ill patients (4).

Accumulated experience with colistin use in long-duration regimens in patients with cystic fibrosis has led to the assumption that development of bacterial resistance to this drug is a rather slow process (5, 6). Nevertheless, data referring to this group of patients may not directly apply to critically ill hospitalized patients, because chronic bronchopulmonary infection in cystic fibrosis is characterized by discrete epidemiologic and pathogenetic mechanisms (7).

Several mechanisms have been identified through which bacterial resistance to colistin may develop (2, 3). Thus, the increasing (at least in some parts of the world) use of colistin for the treatment of Gram-negative bacterial infections (8) makes resistance development to this agent inevitable. In fact, some reports of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, and *Klebsiella pneumoniae* nosocomial isolates that are also resistant to colistin have already appeared in the literature (8–11).

Apart from the selective pressure from antibiotic use, numerous other factors have been related to the isolation of multidrug-resistant pathogens, a phenomenon that is observed mainly in patients who are hospitalized and

From the Alfa Institute of Biomedical Sciences (AIBS), Athens, Greece (DKM, AM, PIR, DEK, GN, MEF); Intensive Care Unit (AM), Department of Medicine (PIR, MEF), and Department of Microbiology (VP), Henry Dunant Hospital, Athens, Greece; National Technical University of Athens, Athens, Greece (GN); Department of Medicine, University Hospital of Heraklion, Heraklion, Greece (GS); and Department of Medicine, Tufts University School of Medicine, Boston, MA (MEF).

The authors have not disclosed any potential conflicts of interest.

For information regarding this article, E-mail: m.falagas@aibs.gr

Copyright © 2008 by the Society of Critical Care Medicine and Lippincott Williams & Wilkins

DOI: 10.1097/CCM.0B013E3181652FAE

Copyright © Lippincott Williams & Wilkins. Unauthorized reproduction of this article is prohibited.

have a complicated and prolonged clinical course (12). In addition, the outcome of patients with these infections may relate not only to the resistance pattern of the pathogen isolated but also to various other comorbid conditions and complicating factors.

In this context, we aimed to examine the risk factors for the isolation from hospitalized patients of colistin-resistant *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, and *K. pneumoniae* pathogens.

METHODS

Study Design. A retrospective matched 1:1 case-control study was performed at a general, 450-bed, tertiary-care hospital in Athens, Greece. Approval for the study was granted from the hospital's ethics review board.

Selection of Cases. All patients from whom a clinical specimen yielded a *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, or *P. aeruginosa* isolate resistant to colistin, in the time period between January 1, 2006, and March 31, 2007, were identified from the database of the microbiological laboratory of the hospital and were included in this study as cases.

Selection of Controls. For each patient representing a case, a patient serving as an appropriate control was sought from among a pool of patients who had a culture from any site positive for colistin-susceptible *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, or *K. pneumoniae*, from the year 2002 till the end of 2006. Matching was designed in a stepwise manner for two criteria, the first referring to the bacterial species isolated and the second to the clinical site from which each pathogen was isolated.

Microbiological Assays. Routine laboratory susceptibility testing procedures for commonly used antibiotics were performed with the use of an automated broth microdilution method (Vitek 2, bioMerieux, Hazelwood, MO). The susceptibility of *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, and *K. pneumoniae* isolates to colistin was determined by the use of the colistin Etest strip (AB Biodisk, Solna, Sweden), applied on Mueller-Hinton agar medium inoculated with bacteria at a size equivalent to 0.5 McFarland standard, as recommended by the manufacturer (13). Test results were interpreted as showing susceptibility of a bacterial isolate to colistin when the respective MIC ≤ 2 μg/mL (14). In the opposite case, isolates were characterized as colistin resistant.

Definition of Infection and Outcomes. Differentiation between infection and colonization with the studied isolates and determination of infection-related outcomes were performed by two independent investigators who were blinded to the categorization of patients as cases or controls. In detail, infections were identified in general accordance with the Centers for Disease Control and Prevention definitions (15). Due to the retrospective nature of our study, however, some additional factors were taken into consideration in the determination of infections: more specifically, whether appropriate treatment was instituted and whether other pathogens, isolated from different sites, could better account for the clinical manifestations of the patient.

The outcomes examined were all-cause in-hospital mortality of the included patients during the index hospitalization, as well as mortality attributed to the infections caused by the isolates included in our study. Death was attributed to infection with the studied pathogen, if it ensued because of severe sepsis or septic shock or organ dysfunction; deemed to be a sequela of the infection with the pathogen in regard; and was not best attributed to concurrent or subsequent infection with another pathogen.

Collection and Extraction of Data. All available patients' medical charts as well as relevant data from the microbiological laboratory were retrieved. Data extracted included demographic characteristics, medical history and comorbid conditions, pathogens isolated, antibiotics and special therapies administered, admission to the intensive care unit (ICU), invasive procedures performed, and patient outcomes. Extracted microbiological data referred to the type of pathogens isolated, the antibiotic susceptibility patterns, and date and site from which the clinical specimen was drawn. Extracted data regarding the antimicrobial treatments administered included the type of antibiotics as well as the time and duration of treatment. Antineoplastic, immunosuppressive, or immunomodulating therapies; transfusion of blood products; and renal replacement therapy were recorded as special treatments. Invasive procedures recorded included tracheal intubation and placement of central venous or bladder catheters and of nasogastric or tracheostomy tubes. Endoscopic or open surgical interventions were also recorded. Finally, for patients admitted to the ICU, the duration of stay was noted as well as the use and the duration of mechanical ventilation, and the Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II score on admission was calculated.

All of the extracted data were converted into variables and analyzed as risk factors for the isolation of colistin-resistant Gram-negative pathogens. The clinical and laboratory characteristics that were analyzed as risk factors referred only to the index hospitalization and up to the time point of the isolation of the studied pathogens. In cases where multiple pathogens satisfying the criteria for inclusion in this study were isolated from the same patient, only the first isolate was taken into account for this study.

Data Analysis. The normality of distribution of the variables was examined with the Kolmogorov-Smirnov or the Shapiro-Wilk test. The association of normally distributed variables characterizing the matched case-control pairs with the isolation of a colistin-resistant Gram-negative pathogen was examined in a matched analysis with the use of the Student's *t*-test. For nonnormally distributed variables, the McNemar test or Wilcoxon's signed-rank test was used, in the case of dichotomous or continuous variables, respectively. Variables found to be significantly associated with resistance to colistin, in the aforementioned bivariate analyses, were entered in a multivariable backward, stepwise (conditional), logistic regression model. For all tests performed, a two-tailed $p < .05$ was considered as denoting statistical significance. The statistical software SPSS, version 15.0 (SPPS, Chicago, IL) was employed for all the analyses performed.

RESULTS

Identified Cases. During the 15-month period, from January 2006 until March 2007, 41 patients were identified as having provided a clinical specimen from which a colistin-resistant Gram-negative pathogen, belonging to one of the three species studied herein, grew. The isolates in regard were *K. pneumoniae* species in 33 patients, *A. baumannii* in six, and *P. aeruginosa* in two patients. Of all isolates, 11 grew from cultures of removed catheter tips, ten from blood cultures, eight from cultures of tracheobroncheal secretions, five from purulent collections or secretions, four from cultures of specimens derived from normally sterile body cavities or spaces, and three from urine cultures. These isolates were deemed to represent infection in 35 patients (85.4% of all case patients), whereas in the remaining six patients they were considered as colonizers.

Selected Matched Controls. The control group consisted of 41 patients who were all matched to case patients for bacterial species and site of isolation. The isolated pathogens were judged to represent infection in a similar number of patients (36 of 41 of the control patients) as in the group of case patients.

Risk Factors for the Isolation of a Colistin-Resistant Pathogen. Data regarding the association of the several potential risk factors with the isolation of colistin-resistant Gram-negative pathogens, in terms both of exposure and duration of exposure, are presented in Table 1. Seven variables were found to be significantly associated with the isolation of colistin-resistant bacteria in the bivariate model, specifically prior use of colistin ($p < .001$), duration of prior use of colistin ($p < .001$), patient age ($p = .005$), history of prior surgical interventions ($p = .008$), duration of ICU stay ($p = .018$), use of

Copyright © Lippincott Williams & Wilkins. Unauthorized reproduction of this article is prohibited.

Table 1. Bivariate analysis of risk factors associated with isolation of colistin-resistant *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, and *Pseudomonas aeruginosa*

Variable Name	CR n (%)	CS n (%)	*p* Value	CR Mean ± SD	CS Mean ± SD	*p* Value[a]
Demographics						
Age, years				57 ± 17	66 ± 19	.005
Sex (male)	23 (56.1)	32 (78)	.06			
Hospital stay,[b] days				37.1 ± 32.5	27.9 ± 36.2	.08
Comorbidities						
Heart disease	21 (51.2)	26 (63.4)	.36			
Malignancy	10 (24.4)	9 (22)	1			
COPD	10 (24.4)	14 (34.1)	.45			
Diabetes mellitus	14 (34.1)	12 (29.3)	.80			
Acute renal failure	4 (9.8)	5 (12.2)	1			
Chronic renal failure	1 (2.4)	6 (14.6)	.13			
Renal failure (total)	5 (12.2)	11 (26.8)	.21			
Liver disease	4 (9.8)	8 (19.5)	.39			
Hematological disorders	2 (4.9)	1 (2.4)	1			
Neurological disorders	7 (17.1)	12 (29.3)	.33			
Prior surgery	8 (19.5)	0 (0)	.008			
Prior hospitalization	28 (68.3)	22 (53.7)	0.24			
ICU stay duration, days[c]	39 (95.1)	38 (92.7)	1	29.6 ± 26.2	18.2 ± 21.9	.02
APACHE II score				18.9 ± 7.4	18.8 ± 7	0.76
Prior antibiotic use/duration of use, days[c]						
Colistin	34 (82.9)	15 (36.6)	<.001	25.1 ± 23.8	16.3 ± 20.4	<.001
Antipseudomonal penicillins	29 (70.7)	28 (68.3)	1	8 ± 6.1	13.9 ± 13.1	0.14
2nd-generation cephalosporins	1 (2.4)	7 (17.1)	0.07	4.0	4.9 ± 3.5	0.07
3rd-generation cephalosporins	21 (51.2)	18 (43.9)	0.66	6.6 ± 4.5	6 ± 4.5	0.35
Aminoglycosides	24 (58.5)	18 (43.9)	0.31	9.5 ± 8.2	7.1 ± 9.9	0.06
Quinolones	25 (61)	33 (80.5)	0.1	14.1 ± 13.5	14.8 ± 13.1	0.19
Metronidazole	13 (31.7)	17 (41.5)	0.52	12.5 ± 6.8	11.7 ± 11.3	0.88
Glycopeptides	28 (68.3)	36 (87.8)	0.23	17 ± 13	16.8 ± 17	0.50
Carbapenems	34 (82.9)	28 (68.3)	0.26	19.9 ± 17.1	16.9 ± 20.5	0.13
Monobactams	9 (22)	1 (2.4)	.02	5.3 ± 4.7	16	0.07
Antifungals	7 (17.1)	16 (39)	0.06	8.86 ± 7.13	19.81 ± 23.38	.049
β-lactams/β-lactamase inhibitors	10 (24.4)	5 (12.2)	0.23	6.2 ± 4.5	5.6 ± 5.1	.17
Invasive procedures and device placement/duration, days[c]						
Mechanical ventilation	34 (82.9)	36 (87.8)	0.73	14.3 ± 11	10.5 ± 10.6	.12
Central venous catheter	37 (90.2)	38 (92.7)	1	21 ± 15.5	18.7 ± 19.9	.51
Foley catheter	38 (92.7)	38 (92.7)	1	24.9 ± 16.8	18.9 ± 19.9	.1
Nasogastric tube	36 (87.8)	37 (90.2)	1	18.9 ± 13.6	17.6 ± 20.7	.58
Special therapies	32 (78)	24 (58.6)	0.06			
Other interventions	8 (19.5)	15 (36.6)	0.12			
Foreign material in the body	10 (24.4)	11 (26.8)	1			
Surgical operations after admission	26 (63.4)	27 (65.9)	1			
Tracheotomy	26 (63.4)	20 (48.8)	0.29	24.8 ± 30.5	20.2 ± 26.8	.12
Outcomes						
Patients with infection	35 (85.4)	36 (87.8)	1			
Patient outcome: mortality	15 (36.6)	18 (43.9)	0.58			
Infection outcome: attributable mortality	10 (24.4)	6 (14.6)	0.39			

CR, colistin-resistant; CS, colistin-susceptible; COPD, chronic obstructive pulmonary disease; ICU, intensive care unit; APACHE, Acute Physiology and Chronic Health Evaluation.

[a]*p* value refers to the matched analysis in which patients, both exposed and unexposed to a potential risk factor, are included; [b]days of hospital stay prior to isolation of CR Gram-negative bacteria; [c]values of the duration of exposure to a potential risk factor are shown only for exposed patients. n = 41 for both CR and CS.

monobactams ($p = .021$), and duration of use of antifungal agents ($p = .049$). In the multivariable analysis, only use of colistin remained as an independent statistically significant risk factor ($p = .002$, adjusted odds ratio = 7.78).

Outcomes. Of the total of 82 patients included in this case-control study, 33 died during the index hospitalization (overall in-hospital mortality = 40.2%). Mortality was not different between patients harboring a colistin-resistant strain and those with a colistin-susceptible one (36.6% vs. 43.9%, $p = .58$) or among the subgroups of those infected with a colistin-resistant pathogen compared to those infected with a colistin-susceptible one: 14 of 35 (40%) vs. 15 of 36 (41.7%) ($p = .78$).

DISCUSSION

The main finding of our study is that colistin use was independently and strongly associated with the isolation of colistin-resistant *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, and *P. aeruginosa* pathogens from our group of hospitalized patients. The isolation of such resistant pathogens in hospitalized patients can be attributed either to the emergence of resistance in a previously susceptible strain or to cross-transmission of an already resistant one (12).

In our sample of 41 patients from whom a colistin-resistant Gram-negative

Copyright © Lippincott Williams & Wilkins. Unauthorized reproduction of this article is prohibited.

pathogen was isolated, a colistin-susceptible strain of the same species had previously been isolated from any clinical specimen (during the same hospital admission) in a subgroup of 18 patients (43.9%). However, surveillance cultures were not routinely performed, so the actual percentage of patients harboring a colistin-susceptible pathogen of the same species before the isolation of the resistant one may have been higher. Of the subgroup of 18 patients who had a colistin-susceptible strain isolated before the resistant one, the majority (88.2%) had received colistin in the time between the isolation of the colistin-susceptible and that of the colistin-resistant pathogen, for a median duration of 14 days. Although these data may highlight the potentially significant role of colistin use as a factor leading to the emergence of resistance to this agent, they are only presumptive in the absence of a genotypic epidemiologic analysis of the pathogens.

It has been noted that resistance to polymyxins in Gram-negative bacteria may develop through adaptive mechanisms after exposure to these agents. However, this type of resistance is unstable and regresses after withdrawal of polymyxins (16, 17). Nevertheless, resistance to colistin may also evolve through mutational mechanisms, and this type of resistance is stable, is inheritable, and develops irrespective of the presence of the drug (18). Moreover, heteroresistance to colistin has been observed *in vitro* in *A. baumannii* strains, denoting the existence of strains within a culture population of a susceptible isolate that are able to grow in substantially high concentrations of colistin (19). Even though the clinical significance of this phenomenon is unclear, it could relate to the *in vivo* emergence of colistin resistance after colistin use.

The duration of colistin administration is also a potentially significant factor for the emergence of colistin resistance. Among the case patients included in our study that received colistin treatment, the mean duration of colistin use was 25 days, compared to 16 days in the respective control patients. The overall prolonged duration of colistin administration can be attributed to the fact that in our study, as in previous reports (11, 20), colistin was used primarily for the treatment of severely ill patients, who often have a complicated course.

Apart from prolonged administration, inappropriate dosing may be a factor that contributes to the development of bacterial resistance after exposure to an antimicrobial agent. In the case of colistin, dosing recommendations are based on data acquired >3 decades ago (21), without taking into consideration current pharmacodynamic principles and particularly the fact that colistin exerts its antimicrobial effect in a concentration-dependent manner (22). It is plausible that with the currently recommended dosing regimens, bacteria may be exposed to subinhibitory concentrations of colistin for a substantial portion of the dosing interval, thus facilitating the evolution of resistance (23). This may be particularly important for certain sites of infection where the penetration of colistin might be compromised.

The issue of colistin resistance among Gram-negative bacteria in hospitalized severely ill patients is important, because these bacteria, apart from colistin, are often resistant to multiple other antibiotics as well, thus rendering the choice of a rational antimicrobial regimen extremely problematic (8, 10, 24). In fact, in our study, the majority (68%) of colistin-resistant bacteria were also resistant to all other antibiotics that were available at the time. It is not known whether colistin use could be associated with increased resistance rates to other antimicrobial agents. Regarding the data from our study, in the subset of 15 case patients in whom a colistin-susceptible pathogen was isolated before a colistin-resistant pathogen of the same species and who also received colistin treatment during the intervening time, susceptibilities to other antimicrobial agents were not statistically different between the colistin-susceptible and the colistin-resistant isolate: susceptibility to meropenem 60% vs. 86.7% ($p = .76$), ceftazidime 93.3% vs. 100%, amikacin 80% vs. 100%, and ciprofloxacin 86.7% vs. 100%, for the colistin-susceptible and the colistin-resistant isolates, respectively.

Yet, susceptibility testing of the isolates included in our study to tigecycline was not routinely performed, since this novel antibiotic was not commercially available in Greece during the study period. Although tigecycline appears active *in vitro* against otherwise pandrug-resistant *K. pneumoniae*, it is not active against *P. aeruginosa* (25), and its role for the treatment of multidrug-resistant *A. baumannii* infections has been disputed (26). Even for *K. pneumoniae*, susceptibility rates <90% have been reported for multidrug-resistant isolates identified in a U.S. surveillance study (27).

The findings of our study should not be interpreted without considering several potential limitations. Regarding study design, it has been suggested that the choice of a control group that consists of patients harboring microorganisms susceptible to the antibiotic under study might lead to an overestimation of the role of the antibiotic as a risk factor for the isolation of resistant pathogens (28). However, it has also been proposed that the selection of such a control group may be more appropriate for the identification of risk factors for the emergence of resistance (29). Besides, the relatively small number of cases in our study prompted us to select a matched case-control design rather than choose a control group of randomly selected unrelated patients, who might differ substantially from case patients in their basic characteristics. Moreover, since surveillance cultures were not routinely performed in our hospital, using randomly selected patients as controls could potentially constitute unidentified cases and thus lead to an underestimation of the association between colistin use and the isolation of colistin-resistant pathogens.

Furthermore, the role of colistin as a risk factor for the isolation of colistin-resistant organisms could have been underestimated in our study if a significant proportion of cases had acquired colistin-resistant isolates via cross-transmission, independently of the use of colistin.

Another methodologic caveat of our study is that the Etest method selected to determine susceptibility to colistin has disputed accuracy in the case of *P. aeruginosa* (30). Still, this factor could not have appreciably affected the findings of our study, since *P. aeruginosa* isolates constituted the minority. Last, but not least, the time period for the selection of the control group exceeded the one for the group of cases by 4 yrs. Even though small, this difference could theoretically confound the results of our analysis, but on the other hand, it facilitated the process of matching and obviated the exclusion of some case patients, due to potential inability to detect an appropriate control.

Despite the aforementioned limitations, our study sheds light to the phenomenon of multiple bacterial drug resistance and draws attention to the fact that indiscriminate use of colistin in-

Copyright © Lippincott Williams & Wilkins. Unauthorized reproduction of this article is prohibited.

creases the risk of development of resistance to this agent, which often is a last resort in the treatment of Gram-negative bacterial pathogens (31). We suggest that appropriate studies be undertaken on the optimal dosage and duration of colistin treatment as well as on combination colistin-based regimens that could potentially optimize treatment outcomes and decrease the rate of development of resistance.

REFERENCES

1. Talbot GH, Bradley J, Edwards JE Jr, et al: Bad bugs need drugs: An update on the development pipeline from the Antimicrobial Availability Task Force of the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2006; 42:657–668
2. Falagas ME, Kasiakou SK: Colistin: The revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. *Clin Infect Dis* 2005; 40:1333–1341
3. Gales AC, Reis AO, Jones RN: Contemporary assessment of antimicrobial susceptibility testing methods for polymyxin B and colistin: Review of available interpretative criteria and quality control guidelines. *J Clin Microbiol* 2001; 39:183–190
4. Li J, Nation RL, Turnidge JD, et al: Colistin: The re-emerging antibiotic for multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. *Lancet Infect Dis* 2006; 6:589–601
5. Littlewood JM, Koch C, Lambert PA, et al: A ten year review of colomycin. *Respir Med* 2000; 94:632–640
6. Pitt TL, Sparrow M, Warner M, et al: Survey of resistance of *Pseudomonas aeruginosa* from UK patients with cystic fibrosis to six commonly prescribed antimicrobial agents. *Thorax* 2003; 58:794–796
7. Driscoll JA, Brody SL, Kollef MH: The epidemiology, pathogenesis and treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Drugs* 2007; 67:351–368
8. Landman D, Bratu S, Alam M, et al: Citywide emergence of *Pseudomonas aeruginosa* strains with reduced susceptibility to polymyxin B. *J Antimicrob Chemother* 2005; 55: 954–957
9. Falagas ME, Bliziotis IA, Kasiakou SK, et al: Outcome of infections due to pandrug-resistant (PDR) Gram-negative bacteria. *BMC Infect Dis* 2005; 5:24
10. Antoniadou A, Kontopidou F, Poulakou G, et al: Colistin resistant isolates of *Klebsiella pneumoniae* emerging in intensive care unit patients: First report of a multiclonal cluster. *J Antimicrob Chemother* 2007; 59:786–790
11. Mentzelopoulos SD, Pratikaki M, Platsouka E, et al: Prolonged use of carbapenems and colistin predisposes to ventilator-associated pneumonia by pandrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Intensive Care Med* 2007; 33:1524–1532
12. Falagas ME, Kopterides P: Risk factors for the isolation of multi-drug-resistant *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*: A systematic review of the literature. *J Hosp Infect* 2006; 64:7–15
13. Goldstein FW, Ly A, Kitzis MD: Comparison of Etest with agar dilution for testing the susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* and other multidrug-resistant bacteria to colistin. *J Antimicrob Chemother* 2007; 59: 1039–1040
14. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Seventeenth Informational Supplement. Clinical and Laboratory Standards Institute, January 2007. http://www.clsi.org/. Retrieved June 15, 2007
15. Horan TC, Gaynes RP: Surveillance of nosocomial infections. *In:* Hospital Epidemiology and Infection Control. Third Edition. Mayhall CG (Ed). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004, pp 1659–702
16. Moore RA, Chan L, Hancock RE: Evidence for two distinct mechanisms of resistance to polymyxin B in Pseudomonas aeruginosa. *Antimicrob Agents Chemother* 1984; 26: 539–545
17. Groisman EA, Kayser J, Soncini FC: Regulation of polymyxin resistance and adaptation to low-Mg2+ environments. *J Bacteriol* 1997; 179:7040–7045
18. Moskowitz SM, Ernst RK, Miller SI: PmrAB, a two-component regulatory system of *Pseudomonas aeruginosa* that modulates resistance to cationic antimicrobial peptides and addition of aminoarabinose to lipid A. *J Bacteriol* 2004; 186:575–579
19. Li J, Rayner CR, Nation RL, et al: Heteroresistance to colistin in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50:2946–2950
20. Falagas ME, Kasiakou SK, Tsiodras S, et al: The use of intravenous and aerosolized polymyxins for the treatment of infections in critically ill patients: A review of the recent literature. *Clin Med Res* 2006; 4:138–146
21. Li J, Nation RL, Milne RW, et al: Evaluation of colistin as an agent against multi-resistant Gram-negative bacteria. *Int J Antimicrob Agents* 2005; 25:11–25
22. Tam VH, Schilling AN, Vo G, et al: Pharmacodynamics of polymyxin B against *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49:3624–3630
23. Li J, Coulthard K, Milne R, et al: Steady-state pharmacokinetics of intravenous colistin methanesulphonate in patients with cystic fibrosis. *J Antimicrob Chemother* 2003; 52: 987–992
24. Falagas ME, Bliziotis IA: Pandrug-resistant Gram-negative bacteria: The dawn of the post-antibiotic era? *Int J Antimicrob Agents* 2007; 29:630–636
25. Dean CR, Visalli MA, Projan SJ, et al: Efflux-mediated resistance to tigecycline (GAR-936) in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47:972–978
26. Navon-Venezia S, Leavitt A, Carmeli Y: High tigecycline resistance in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother* 2007; 59:772–774
27. DiPersio JR, Dowzicky MJ: Regional variations in multidrug resistance among Enterobacteriaceae in the USA and comparative activity of tigecycline, a new glycylcycline antimicrobial. *Int J Antimicrob Agents* 2007; 29:518–527
28. Harris AD, Samore MH, Lipsitch M, et al: Control-group selection importance in studies of antimicrobial resistance: Examples applied to *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococci*, and *Escherichia coli*. *Clin Infect Dis* 2002; 34:1558–1563
29. Harris AD, Karchmer TB, Carmelli Y, et al: Methodological principles of case-control studies that analyzed risk factors for antibiotic resistance: A systematic review. *Clin Infect Dis* 2001; 32:1055–1061
30. Tan TY, Ng SY: Comparison of Etest, Vitek and agar dilution for susceptibility testing of colistin. *Clin Microbiol Infect* 2007; 13: 541–544
31. Falagas ME, Kasiakou SK, Michalopoulos A: Polymyxins: A word of caution for prudent use of valuable "old antibiotics." *Infect Control Hosp Epidemiol* 2006; 27:995

Copyright © Lippincott Williams & Wilkins. Unauthorized reproduction of this article is prohibited.

International Journal of Antimicrobial Agents 32 (2008) 450–454

Contents lists available at ScienceDirect

International Journal of Antimicrobial Agents

journal homepage: http://www.elsevier.com/locate/ijantimicag

Short communication

Pandrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* infections: Characteristics and outcome in a series of 28 patients

Matthew E. Falagas[a,b,c,*], Petros I. Rafailidis[a,b], Dimitrios K. Matthaiou[a], Simona Virtzili[d], Dimitra Nikita[e], Argyris Michalopoulos[d]

[a] *Alfa Institute of Biomedical Sciences (AIBS), 9 Neapoleos Street, 151 23 Marousi, Athens, Greece*
[b] *Department of Medicine, 'Henry Dunant' Hospital, Athens, Greece*
[c] *Department of Medicine, Tufts University School of Medicine, Boston, MA, USA*
[d] *Intensive Care Medicine, 'Henry Dunant' Hospital, Athens, Greece*
[e] *Department of Microbiology, 'Henry Dunant' Hospital, Athens, Greece*

ARTICLE INFO

Article history:
Received 26 March 2008
Accepted 19 May 2008

Keywords:
Carbapenem
Meropenem
Imipenem
Ciprofloxacin
Colistin
Klebsiella pneumoniae
Pseudomonas aeruginosa
Acinetobacter baumannii
Gram-negative
Mortality
Polymyxins
Pandrug resistance
Multiple drug resistance

ABSTRACT

We describe the characteristics and outcome of pandrug-resistant (PDR) Gram-negative bacterial infections (23 *Klebsiella pneumoniae* isolates, 3 *Pseudomonas aeruginosa* and 3 *Acinetobacter baumannii*) of hospitalised patients at a tertiary-care centre (1 January 2006–31 May 2007). The site of infection was central venous catheter-related in 5 of 24 patients with clinical infection, bacteraemia in 5, the respiratory system in 5, surgical site in 5, the urinary system in 2, the ascitic fluid in 1 and the central nervous system in one. Twenty of 24 patients with infection received an antibiotic regimen containing colistin (in combination with meropenem in 8 patients). The overall in-hospital mortality was 41.7% (10/24); 8 patients died because of the PDR infection (infection-related mortality 33.3%). Significant co-morbidity was present not only in the patients who died but also in survivors. PDR Gram-negative bacterial infections are associated with considerable mortality, although not as high as expected given the fact that the isolates were resistant to all tested antibiotics, including polymyxins. Antibiotics that are ineffective in vitro may prove life-saving for some of these patients, especially combination regimens containing colistin.

© 2008 Elsevier B.V. and the International Society of Chemotherapy. All rights reserved.

1. Introduction

The incidence of infections caused by multidrug-resistant (MDR) Gram-negative bacteria is increasing worldwide [1,2]. The emergence of pandrug-resistant (PDR) bacteria, which are resistant to all classes of available antimicrobial agents, represents a worrying endpoint in the development of antimicrobial resistance [3]. Despite the rarity of isolation of such bacteria, there is a great concern in the medical community, as clinicians are practically left with no options for treating patients from whom PDR bacteria are isolated. There are clinical reports confirming that Gram-negative bacteria have developed resistance even to polymyxins [4,5], which are an old antibiotic class that recently became widely used in several countries as salvage antimicrobial therapy against Gram-negative bacteria resistant to all other classes of antibiotics [6].

It should be noted that the definition of PDR Gram-negative bacteria does not always include testing for polymyxins in some countries [7]. For example, in a study of *Acinetobacter baumannii* infections from Taiwan, a high mortality rate (60%) was reported [8]. However, colistin was not used in the in vitro susceptibility testing or as part of the treatment of these patients, obviously because this antibiotic was not available in this country. On the other hand, in a previous case series published by our research group, we described infections caused by PDR (including polymyxin-resistant) Gram-negative bacteria, which resulted in 29% mortality (2/7 studied patients), with colistin therapy being used in 6 of the 7 studied cases [9].

Although theoretically all bacteria have the potential to develop multidrug resistance and eventually pandrug resistance,

* Corresponding author. Tel.: +30 694 611 0000; fax: +30 210 683 9605.
E-mail address: m.falagas@aibs.gr (M.E. Falagas).

0924-8579/$ – see front matter © 2008 Elsevier B.V. and the International Society of Chemotherapy. All rights reserved.
doi:10.1016/j.ijantimicag.2008.05.016

fortunately the latter occurs in only a small proportion of patients. There are only three clinical reports regarding the outcome of infections due to PDR Gram-negative bacteria [4,9,10]. However, the issue of infections due to PDR Gram-negative bacteria is probably grossly underestimated from a global perspective; significant resistance to carbapenems is already reported worldwide [2,11] and one may rightfully assume that resistance to polymyxins and to tigecycline may be present in a significant proportion of these bacteria [12].

2. Methods

2.1. Study design and patient selection

This study was conducted at 'Henry Dunant' Hospital, a 450-bed tertiary-care centre with a 38-bed medical and surgical Intensive Care Unit. We report data regarding the outcome of PDR Gram-negative *A. baumannii, Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae* infections in patients without cystic fibrosis. The study was performed in adult patients admitted to the hospital over a 17-month period (1 January 2006 to 31 May 2007).

2.2. Data extraction

The computerised database of the hospital's bacteriology laboratory was used to identify all PDR Gram-negative *A. baumannii*, *P. aeruginosa* and *K. pneumoniae* infections. The medical records of patients with these isolates were then reviewed. Data for several variables, including demographic and clinical information, as well as results of laboratory and imaging tests of the patients were collected using a specially designed case report form.

2.3. Definitions

Acinetobacter baumannii, *P. aeruginosa* and *K. pneumoniae* strains were defined as PDR if they exhibited resistance to all seven antipseudomonal antimicrobial agents (antipseudomonal penicillins, cephalosporins, carbapenems, monobactams, quinolones, aminoglycosides and colistin). In addition, *A. baumannii* isolates should have decreased susceptibility to sulbactam to be considered PDR. Intermediate susceptibility of the isolated Gram-negative bacteria was considered as resistance. Susceptibility testing of *K. pneumoniae* isolates and *A. baumannii* to tigecycline was not performed as the drug was introduced in Greece in late April 2007 and thus was not available.

A patient was considered as having an infection or colonisation according to US Centers for Disease Control and Prevention (CDC) criteria [13].

The outcome of infection was defined as cure (total resolution of symptoms and signs), improvement (partial resolution of symptoms and signs) or deterioration.

2.4. Microbiological testing

Identification of all causative microorganisms was performed by classic microbiological methods. Susceptibility testing was performed by an automated broth microdilution method (VITEK II; bioMérieux, Hazelwood, MO). The breakpoints were those defined by the British Society for Antimicrobial Chemotherapy (BSAC). The following antimicrobial agents were tested: amikacin; gentamicin; netilmicin; tobramycin; ciprofloxacin; pefloxacin; aztreonam; ampicillin/sulbactam (for *A. baumannii*); ticarcillin; ticarcillin/clavulanic acid; piperacillin; piperacillin/tazobactam; ceftazidime; cefepime; cefpirome; imipenem; meropenem; trimethoprim/sulfamethoxazole (SXT); and colistin. Etest (AB BIODISK, Solna, Sweden) was performed to establish susceptibility to colistin. The minimum inhibitory concentration (MIC) breakpoint used to identify bacteria as resistant to colistin was 4 mg/L, i.e. bacteria for which the MIC was $\geq$4 mg/L were considered resistant [14]. No molecular biology testing was performed to clarify whether isolates of the same microbial species represented the same or different strains.

3. Results

Twenty-four patients were identified as having an infection due to PDR *K. pneumoniae* (20 patients), *P. aeruginosa* (2 patients) or *A. baumannii* (3 patients); a polymicrobial infection due to *K. pneumoniae* and *A. baumannii* was identified in one of these patients. Four additional patients were identified to have colonisation with PDR Gram-negative bacteria in cultures of their blood catheters and were not further taken into account in the analysis (three of these isolates were *K. pneumoniae* and one was *P. aeruginosa*). The following data are summarised in Table 1: patient age; sex; reason for admission and co-morbidity; isolated organism and the site of isolation; duration of hospitalisation until isolation; prior colistin use; antibiotic combination used for at least 3 days after the isolation; infection or colonisation of the patient with the organism; and outcome of the infection and whether the patient died (in-hospital and infection-related) mortality.

Of the 24 patients with a PDR infection, 14 were men. The mean age of the 24 patients was 54.6 years, the mean duration of colistin treatment before isolation of the PDR organisms was 21.7 days (7 patients did not receive any colistin before isolation) and the mean duration of hospital stay before isolation of the PDR organism was 44.3 days. The site of infection was central venous catheter-related in 5 of 24 patients, bacteraemia in 5 patients, the respiratory system in 5 patients, surgical site in 5 patients, the urinary system in 2 patients, ascitic fluid in 1 patient and the central nervous system in 1 patient.

Twenty of the 24 patients received colistin as part of the treatment for the PDR infection: 8 patients received colistin plus meropenem (one of them additionally received ciprofloxacin), 4 patients received colistin monotherapy, 4 received colistin plus piperacillin/tazobactam (one of them additionally received SXT, one received gentamicin and one received chloramphenicol), 1 patient received colistin and rifampicin, 1 patient received colistin and SXT and 1 patient received colistin and ampicillin/sulbactam and 1 patient received colistin plus aztreonam. Four patients received other antibiotic regimens not including colistin.

Cure or improvement of the infection was noted in 14 of the 24 patients, whilst deterioration was observed in 10 patients. Ten of the 24 patients died (overall in-hospital mortality 41.7%). Eight of these deaths were attributed to the PDR Gram-negative infection (infection-related mortality 33.3%).

4. Discussion

The main finding of our study is that the mortality of PDR infections is considerable, although not as high as one might expect. Whilst theories regarding the potential virulence of PDR bacteria exist, their effects on health at an international level cannot be disputed. The issue of resistance to almost all antibiotics available in a country is not limited to strict geographical areas but is an international phenomenon. In a very interesting study, the antimicrobial susceptibility of *P. aeruginosa*, *A. baumannii* and *K. pneumoniae* to a broad array of antibiotics was assessed in three different time periods (1999, 2001 and 2006, respectively) in Brooklyn, NY. *Klebsiella pneumoniae* emerged as the most common pathogen showing mul-

Table 1
Clinical characteristics of the studied patients and outcomes of the infections

Patient no.	Age/gender	Reason for admission/co-morbidity	Isolated organism	Site of isolation	Days in hospital until isolation of PDR strain	Prior colistin use (days)	Antibiotic combination used after isolation for more than 3 days	Infection/ colonisation	Outcome of infection	Death
1	72/M	Liver cancer/HBV, arterial hypertension, diabetes mellitus	*K. pneumoniae*	Catheter	15	0	Ciprofloxacin 3d: + imipenem/cilastatin 3d	Colonisation	N/A	–
2	62/M	Stroke, coma/chronic atrial fibrillation, CAD-PTCA, arterial hypertension, diabetes mellitus	*K. pneumoniae*	Bronchial secretions	127	0	Colistin 24d + meropenem 23d	Infection	Improvement	–
3	71/F	CABG × 3/CAD, heart failure, diabetes mellitus	*K. pneumoniae*	Blood	11	0	Colistin 8d	Infection	Deterioration	+
4	19/M	Multiple injuries	*A. baumannii*	CSF	13	10	Colistin 19d + meropenem 8d	Infection	Deterioration	+
5	47/M	Head trauma	*K. pneumoniae*	Catheter	54	38	Colistin 32d + meropenem 32d	Infection	Cure	–
6	67/M	Subarachnoid hemorrhage, cerebral aneurysm/arterial hypertension	*K. pneumoniae*	Urine	74	55	Colistin 10d + rifampicin 17d	Infection	Deterioration	+*
7	24/F	Multiple injuries	*A. baumannii*	Bronchial secretions	16	9	Colistin 6d + meropenem 9d	Infection	Improvement	–
8	43/F	Hypophyseal adenoma/Crohn's disease	*K. pneumoniae*	Urine	75	47	Nitrofurantoin 16d	Infection	Cure	–
9	70/F	Cardio-respiratory arrest/COPD, arterial hypertension, renal stones, diabetes mellitus, acute renal failure at admission	*K. pneumoniae*	Blood	8	0	Colistin 4d + meropenem 4d + ciprofloxacin 4d	Infection	Deterioration	+
10	58/M	Aortic valve stenosis/heart failure (LVEF = 20%), acute myocardial infarction, dyslipidaemia	*P. aeruginosa*	Bronchial secretions	60	40	Colistin 16d + gentamicin 4d + piperacillin/tazobactam 10d	Infection	Deterioration	+*
11	64/F	Multiple injuries, head trauma	*K. pneumoniae*	Catheter	48	40	Colistin 3d + SXT 7d	Colonisation	N/A	–
12	42/M	Multiple injuries	*K. pneumoniae*	Pus	12	2	Colistin 32d	Infection	Cure	–
13	62/M	Acute myelogenic leukaemia, respiratory failure/bowel cancer, colectomy	*K. pneumoniae*	Pus (Port-A-Cath)	17	7	Colistin 6d + SXT 3d	Infection	Deterioration	+
14	32/M	Haemorrhage of the brainstem, intraventricular haemorrhage	*K. pneumoniae*	Catheter	45	36	Colistin 13d	Infection	Improvement	–
15	65/F	Cardio-respiratory arrest after near drowning/arterial hypertension, diabetes mellitus, psychotic syndrome under treatment	*K. pneumoniae*	Catheter	28	8	Colistin 12d + meropenem 12d+ ampicillin/sulbactam 12d	Colonisation	N/A	–
16	71/F	Intracerebral haemorrhage, mechanical ventilation/arterial hypertension not regulated with drugs	*K. pneumoniae*	Blood	9	3	Colistin 10d + piperacillin/tazobactam 3d	Infection	Improvement	–

Table 1 (*Continued*)

Patient no.	Age/gender	Reason for admission/co-morbidity	Isolated organism	Site of isolation	Days in hospital until isolation of PDR strain	Prior colistin use (days)	Antibiotic combination used after isolation for more than 3 days	Infection/ colonisation	Outcome of infection	Death
17	74/M	Acute respiratory failure, respiratory infection/COPD type II	*P. aeruginosa*	Bronchial secretions	43	20	Colistin nebulised 5d	Infection	Cure	–
18	45/F	Community acquired pneumonia	*K. pneumoniae*	Catheter	44	32	Colistin 19d + SXT 8d + piperacillin/tazobactam 9d	Infection	Improvement	–
19	61/M	Hydrocele/arterial hypertension, chronic atrial fibrillation	*K. pneumoniae*	Blood	26	0	Ciprofloxacin 12d + imipenem/cilastatin 12d	Infection	Cure	–
20	84/F	Subdural haematoma drainage, head injury (GCS = 6/15)/mechanical ventilation, history of aortic valve substitution, diabetes mellitus, Alzheimer's disease	*K. pneumoniae*/*A. baumannii*	Catheter	8	0	Ceftriaxone 3d	Mixed infection	Deterioration	+
21	47/M	Alcoholic pancreatitis, pancreatic pseudocyst/chronic alcoholic pancreatitis	*K. pneumoniae*	Pus (drainage)	73	26	Colistin 12d+ ampicillin/sulbactam 4d	Infection	Deterioration	+
22	65/M	Septic shock, ruptured aneurysm/arterial hypertension, abdominal aortic aneurysm	*P. aeruginosa*	Catheter	21	20	Colistin 3d	Colonisation	N/A	–
23	24/M	Multiple injuries	*K. pneumoniae*	Bronchial secretions	18	13	Colistin 13d + chloramphenicol 5d + piperacillin/tazobactam 17d	Infection	Cure	–
24	72/M	Ileus, post-radiation enteritis/rectal cancer, arterial hypertension, abdominal aortic distension	*K. pneumoniae*	Trauma	15	0	Piperacillin/tazobactam 6d, then meropenem 5d	Infection	Deterioration	+
25	76/F	Intracerebral haemorrhage (GCS = 7/15), aspiration, acute respiratory failure/arterial hypertension, carotid stenosis, diabetes mellitus	*K. pneumoniae*	Catheter	121	101	Colistin 7d + aztreonam 5d	Infection	Deterioration	+
26	45/M	Bowel cancer, liver metastases, gastric resection/acute renal failure at admission	*K. pneumoniae*	Ascitic fluid	58	40	Colistin 7d + meropenem 7d	Infection	Cure	–
27	48/F	Urinary tract infection, renal colic/sleep-apnoea syndrome, morbid obesity, cardiac failure, arterial hypertension, renal stones, spastic paraplegy, diabetes mellitus	*K. pneumoniae*	Blood	88	43	Colistin 5d + meropenem 5d	Infection	Cure	–
28	68/F	Bowel cancer/diabetes mellitus, allergic asthma	*K. pneumoniae*	Pus	50	0	Colistin 32d + meropenem 32d	Infection	Cure	–

PDR, pandrug-resistant; M, male; F, female; HBV, hepatitis B virus; DM, diabetes mellitus; CAD, coronary artery disease; PTCA, percutaneous coronary angioplasty; CABG, coronary artery bypass grafting; COPD, chronic obstructive pulmonary disease; CSF, cerebrospinal fluid; SAH, subarachnoid haemorrhage; LVEF, left ventricular ejection fraction; AMI, acute myocardial infarction; SXT, trimethoprim/sulfamethoxazole; AML, acute myelogenous leukaemia; CAP, community-acquired pneumonia; GCS, Glasgow Coma Scale score; UTI, urinary tract infection; +, death attributable to infection mortality; +*, death not due to infection; –, alive; N/A, not applicable.

tidrug resistance; 22% of *K. pneumoniae* isolates showed resistance to carbapenems, fluoroquinolones and aminoglycosides. Looking further at the results of this study, 95% and 94% of *K. pneumoniae* isolates were susceptible to polymyxin B and tigecycline, respectively [11]. The finding of our study that PDR *K. pneumoniae* isolates causing infection were the most frequent is also in accordance with the findings of the study of Landman et al. [11].

The phenomenon of bacteria not susceptible to any of the available antibiotics, i.e. PDR bacteria, is a cause for concern. Few data exist regarding the outcome of truly PDR infections due to *P. aeruginosa*, *A. baumannii* and *K. pneumoniae*. In our previous report, five of seven patients with PDR infections due to *P. aeruginosa*, *A. baumannii* or *K. pneumoniae* survived [9]; in this study, 14 of 24 patients with PDR infections survived. From the 10 patients who died, 8 died because of the PDR Gram-negative infection, i.e. mortality due to the PDR infection was 33.3%. This result is in contrast to the higher mortality of patients with colistin-resistant Gram-negative bacilli in the study by Beno et al. [10] where a mortality of 80% was noted.

One could attempt to explain this lower mortality observed in our study by the biological cost of fitness due to antibiotic resistance; the growth rate of these bacteria may be slower or their virulence and transmission may be less. However, this biological cost can be ameliorated by additional mutation without loss of resistance, the occurrence of cost-free resistance as well as genetic linkage and co-selection of resistance markers and other selected markers. A significant number of physicians believe that MDR and PDR bacteria are probably not a significant cause of mortality but only an epiphenomenon of a patient with severe co-morbidities. This controversy also surrounds the case of *A. baumannii*-attributable mortality. If this bacterium is not a significant cause of mortality then inappropriate therapy should not really matter; however, mortality is increased if inappropriate treatment is employed in the case of this bacterium [15]. The impact of pandrug resistance on mortality cannot easily be assessed as it is difficult to compare the effects of inappropriate and appropriate treatment; by definition there is no single effective antibiotic treatment at least in vitro and thus it is impossible to define what constitutes an 'appropriate' therapeutic regimen in this setting. The true attributable mortality of PDR *A. baumannii*, *P. aeruginosa* and *K. pneumoniae* infections may only be assessed by including a matched control group. Patients who have PDR infections have significant co-morbidities and lengthy hospital stays before isolation of the responsible pathogen.

Another possible explanation regarding the relatively low, although considerable, mortality is that the combinations of antibiotics used in our study may have worked synergistically in vivo. In a study by Bratu et al. [16], various antibiotic combinations proved successful in time–kill studies in vitro; for example, the combination of polymyxin and imipenem caused a $\geq$3 log decrease in colony-forming units/mL in 10 of 16 carbapenem-resistant *K. pneumoniae* isolates, whilst imipenem alone and polymyxin alone (at the same concentration as used in the combination) decreased the carbapenem-resistant *K. pneumoniae* in only 0/16 and 2/16, respectively [16].

Strict infection control and prudence in the use of antibiotics are certainly the pillars of any therapeutic management, as these practices will help to avoid the presence of bacteria with resistance to all available antibiotics. Use of a combination of a colistin antibiotic regimen or tigecycline [12] are probably the ones with better chances based on in vitro data.

5. Conclusion

In summary, whilst the mortality of PDR *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* and *A. baumannii* infections is considerable, a definite statement regarding the attributable mortality of these infections cannot be made. Further trials encompassing appropriate controls should be employed to gain a clearer picture of the attributable mortality of PDR infections.

Funding: No funding sources.
Competing interests: None declared.
Ethical approval: Not required.

References

[1] Pop-Vicas AE, D'Agata EM. The rising influx of multidrug-resistant gram-negative bacilli into a tertiary care hospital. Clin Infect Dis 2005;40:1792–8.
[2] Coelho JM, Turton JF, Kaufmann ME, Glover J, Woodford N, Warner M, et al. Occurrence of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* clones at multiple hospitals in London and Southeast England. J Clin Microbiol 2006;44:3623–7.
[3] Wang CY, Jerng JS, Chen KY, Lee LN, Yu CJ, Hsueh PR, et al. Pandrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* among hospitalised patients: clinical features, risk-factors and outcomes. Clin Microbiol Infect 2006;12:63–8.
[4] Mentzelopoulos SD, Pratikaki M, Platsouka E, Kraniotaki H, Zervakis D, Koutsoukou A, et al. Prolonged use of carbapenems and colistin predisposes to ventilator-associated pneumonia by pandrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. Intensive Care Med 2007;33:1524–32.
[5] Antoniadou A, Kontopidou F, Poulakou G, Koratzanis E, Galani I, Papadomichelakis E, et al. Colistin-resistant isolates of *Klebsiella pneumoniae* emerging in intensive care unit patients: first report of a multiclonal cluster. J Antimicrob Chemother 2007;59:786–90.
[6] Falagas ME, Kasiakou SK. Colistin: the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. Clin Infect Dis 2005;40:1333–41.
[7] Falagas ME, Koletsi PK, Bliziotis IA. The diversity of definitions of multidrug-resistant (MDR) and pandrug-resistant (PDR) *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. J Med Microbiol 2006;55:1619–29.
[8] Kuo LC, Yu CJ, Lee LN, Wang JL, Wang HC, Hsueh PR, et al. Clinical features of pandrug-resistant *Acinetobacter baumannii* bacteremia at a university hospital in Taiwan. J Formos Med Assoc 2003;102:601–6.
[9] Falagas ME, Bliziotis IA, Kasiakou SK, Samonis G, Athanassopoulou P, Michalopoulos A. Outcome of infections due to pandrug-resistant (PDR) Gram-negative bacteria. BMC Infect Dis 2005;5:24.
[10] Beno P, Krcmery V, Demitrovicova A. Bacteraemia in cancer patients caused by colistin-resistant Gram-negative bacilli after previous exposure to ciprofloxacin and/or colistin. Clin Microbiol Infect 2006;12:497–8.
[11] Landman D, Bratu S, Kochar S, Panwar M, Trehan M, Doymaz M, et al. Evolution of antimicrobial resistance among *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* and *Klebsiella pneumoniae* in Brooklyn, NY. J Antimicrob Chemother 2007;60:78–82.
[12] Woodford N, Hill RL, Livermore DM. In vitro activity of tigecycline against carbapenem-susceptible and -resistant isolates of *Klebsiella* spp. and *Enterobacter* spp. J Antimicrob Chemother 2007;59:582–3.
[13] Gaynes RP, Horan TC. Surveillance of nosocomial infections. Appendix A: CDC definitions of nosocomial infections. In: Mayhall CG, editor. Hospital epidemiology and infection control. Baltimore, MD: Williams & Wilkins; 1996. p. 1–14.
[14] British Society for Antimicrobial Chemotherapy. BSAC methods of antimicrobial susceptibility testing. [Electronic Document]. Version 6.1, February 2007. http://www.bsac.org.uk/ [cited 15-06-07].
[15] Falagas ME, Rafailidis PI. Attributable mortality of *Acinetobacter baumannii*: no longer a controversial issue. Crit Care 2007;11:134.
[16] Bratu S, Tolaney P, Karumudi U, Quale J, Mooty M, Nichani S, et al. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Brooklyn NY: molecular epidemiology and in vitro activity of polymyxin B and other agents. J Antimicrob Chemother 2005;56:128–32.

ber of the advisory board for Merck and Schering-Plough. L.C.-Z: no conflicts.

Lizbeth Cahuayme-Zuniga and Dimitrios P. Kontoyiannis

Department of Infectious Diseases, Infection Control and Employee Health, University of Texas M. D. Anderson Cancer Center, Houston

References

1. Kontoyiannis DP, Peitsch WK, Reddy BT, et al. Cryptococcosis in patients with cancer. Clin Infect Dis **2001**; 32:e145–e150.
2. Kontoyiannis DP, Marr KA, Park BJ, et al. Prospective surveillance for invasive fungal infections in hematopoietic stem cell transplant recipients, 2001–2006: overview of the Transplant-Associated Infection Surveillance Network (TRANSNET) database. Clin Infect Dis **2010**; 50:1091–1100.
3. Sun H-Y, Wagener MM, Singh N. Cryptococcosis in solid-organ, hematopoietic stem cell, and tissue transplant recipients: evidence-based evolving trends. Clin Infect Dis **2009**; 48:1566–1576.
4. Perfect JR, Dismukes WE, Dromer F, et al. Clinical practice guidelines for the management of cryptococcal disease: 2010 update by the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis **2010**; 50:291–322.
5. De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, et al. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG). Clin Infect Dis **2008**; 46(12):1813–1821.

Reprints or correspondence: Dr Dimitrios P. Kontoyiannis, Dept of Infectious Diseases, Infection Control and Employee Health, Unit 402, University of Texas M. D. Anderson Cancer Center, 1515 Holcombe Blvd, Houston, TX 77030 (dkontoyi@mdanderson.org).

Clinical Infectious Diseases 2010; 50(12):1687–1689
© 2010 by the Infectious Diseases Society of America. All rights reserved.
1058-4838/2010/5012-0027$15.00
DOI: 10.1086/653010

In Vitro Susceptibility to Various Antibiotics of Colistin-Resistant Gram-Negative Bacterial Isolates in a General Tertiary Hospital in Crete, Greece

To the Editor—Resistance to the majority of available antibiotics has been observed with increasing frequency among *Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa,* and *Acinetobacter baumannii* strains isolated currently in various parts of the world [1]. Colistin is often used as salvage therapy for the treatment of infection caused by such multidrug-resistant, gram-negative pathogens [2, 3]. However, colistin resistance has also emerged. The use of colistin itself is associated with the isolation of colistin-resistant pathogens [4]. A suboptimal dosage of colistin may further contribute to unsuccessful treatment of infection caused by multidrug-resistant bacteria that are susceptible to colistin [5] and may lead to the emergence of resistance.

We analyzed the patterns of drug resistance that were exhibited by colistin-resistant *K. pneumoniae, P. aeruginosa,* and *Acinetobacter* species isolates that were recovered from patients hospitalized at the 700-bed university hospital of Heraklion, Greece, from October 2002 through July 2007. The identification of the pathogens was performed using the API 20E system (bioMérieux) or the Vitek 2 system (bioMérieux). The susceptibility of the pathogens to colistin was determined using the colistin Etest strip (AB Biodisk; Solna) applied on Mueller-Hinton agar medium that was inoculated with bacteria at a size of 0.5 McFarland standard [6]. Susceptibility to antimicrobial agents was determined by the disk diffusion method or the Vitek 2 system, in accordance with the interpretative breakpoints recommended by the Clinical and Laboratory Standards Institute [7].

The mean age (± standard deviation) of the patients was 56.7 ± 20.5 years. Of 28 total patients, 19 (68%) were male. Underlying diseases included diabetes mellitus (in 8 patients [29%]), cancer (in 7 [25%]), cardiovascular disease (in 7 [25%]), renal disease (in 5 [18%]), and hepatic disease (in 3 [11%]). Eleven patients (39%) were hospitalized in medical wards and yielded a total of 11 isolates, 10 (36%) were hospitalized in the intensive care unit and yielded a total of 12 isolates, and 7 (25%) were hospitalized in surgical wards and yielded a total of 7 isolates. There were 22 *K. pneumoniae,* 4 *P. aeruginosa,* 2 *A. baumannii,* and 2 *Acinetobacter junii* colistin-resistant isolates. Of the 30 total isolates, 7 (23%) were obtained from urine specimens, 6 (20%) from pus specimens, 6 (20%) from bronchial secretions, 4 (13%) from bronchoalveolar lavage, 4 (13%) from intravenous catheters, and 3 (10%) from blood. Three isolates were recovered from the same patient but were isolated from different sites on different days. Five (18%) of the 28 patients died because of infection caused by the isolated pathogens.

The results of the in vitro susceptibility testing of colistin-resistant isolates are presented separately for each isolate in Table 1, along with the site of isolation and the sex of the patients. Of the 30 isolated pathogens, 30 (100%) were resistant to colistin, 28 (93%) to trimethoprim-sulphamethoxazole, 27 (90%) to cefotaxime, 25 (83%) to ciprofloxacin, 24 (80%) to ceftazidime, 24 (80%) to cefepime, 22 (73%) to piperacillin-tazobactam, 21 (70%) to gentamicin, 16 (53%) to imipenem, 16 (53%) to chloramphenicol, 15 (50%) to tetracycline, and 8 (27%) to fosfomycin.

The main finding of our study is that a considerable proportion of colistin-resistant gram-negative bacterial isolates (mainly *K. pneumoniae*) from patients in our hospital retained susceptibility to various other antimicrobial agents. This is a noteworthy pattern of resistance that is only occasionally reported in the global literature; in fact, most studies have documented that the great majority of colistin-resistant gram-negative bacterial pathogens are resistant to virtually all available antibiotics. Thus, it is interesting that in vitro susceptibility to imipenem, tetracycline, fosfomycin, and chloramphenicol was considerably high in isolates from inpatients from this hospital. Their potency may be attributed to the fact that these antibiotics, excluding imipenem, are scarcely used in Greece.

The noteworthy results of this study are not unique in the literature. Two recent articles reported data on colistin-resistant *A. baumannii* isolates that had considerable susceptibility to other antimicrobial classes that are active against gram-negative bacteria [8, 9]. In one of these studies

Downloaded from http://cid.oxfordjournals.org/ by guest on January 31, 2014

Table 1. Results of In Vitro Susceptibility Testing of Colistin-Resistant Isolates against Various Antibiotics

Identifier	Isolate	Site of isolation	Sex	COL	IMI	CPFX	GM	CZID	CTAX	CFP	PIP-TAZ	TET	FM	TMP-SMZ	CHL
1	*Klebsiella pneumoniae*	Urine	M	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R
2	*Pseudomonas aeruginosa*	Pus	F	R	S	S	S	S	R	S	S	R	S	R	R
3	*P. aeruginosa*	Bronchial	M	R	S	S	S	S	R	S	S	R	S	R	R
4	*Acinetobacter junii*	Pus	F	R	S	S	S	S	R	S	S	S	R	R	S
5	*A. junii*	Pus	M	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
6	*K. pneumoniae*	Urine	M	R	S	R	S	S	S	S	S	R	S	R	S
7	*K. pneumoniae*	Urine	M	R	S	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S
8	*P. aeruginosa*	Pus	M	R	S	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R
9	*P. aeruginosa*	Bronchial	F	R	R	S	S	R	R	R	R	R	S	R	R
10	*Acinetobacter baumannii*	Pus	M	R	S	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R
11	*A. baumannii*[a]	Bronchial	M	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
12	*K. pneumoniae*	Urine	M	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S
13	*K. pneumoniae*	BAL	M	R	S	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S
14	*K. pneumoniae*	Catheter	M	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S
15	*K. pneumoniae*	Bronchial	M	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	S
16	*K. pneumoniae*	Urine	M	R	S	R	S	R	R	R	R	R	S	R	S
17	*K. pneumoniae*	Femoral catheter	M	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R
18	*K. pneumoniae*	Catheter	F	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	S
19	*K. pneumoniae*[a,b]	BAL	M	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
20	*K. pneumoniae*[b]	Pus from surgical trauma	M	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R
21	*K. pneumoniae*	Femoral catheter	M	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R
22	*K. pneumoniae*[b]	Blood	M	R	S	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
23	*K. pneumoniae*	Bronchial	M	R	S	R	R	R	R	R	R	S	S	R	S
24	*K. pneumoniae*	BAL	F	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	S
25	*K. pneumoniae*	Urine	F	R	S	R	R	R	R	R	R	S	S	R	S
26	*K. pneumoniae*	Blood	F	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R
27	*K. pneumoniae*	Bronchial	M	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	S
28	*K. pneumoniae*	Blood	F	R	S	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R
29	*K. pneumoniae*	BAL	M	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R
30	*K. pneumoniae*	Urine	M	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R

NOTE. BAL, bronchoalveolar lavage; CFP, cefepime; CHL, chloramphenicol; COL, colistin; CPFX, ciprofloxacin; CTAX, cefotaxime; CZID, ceftazidime; F, female; FM, fosfomycin; GM, gentamicin; IMI, imipenem; M, male; PIP-TAZ, piperacillin-tazobactam; R, resistant; S, susceptible; TET, tetracycline; TMP-SMZ, trimethoprim-sulphamethoxazole.

[a] These isolates were pan-drug resistant.

[b] These isolates were from the same patient.

[8], colistin-resistant isolates were found to be more susceptible to penicillins and carbapenems, as well as to cephalosporins, than were colistin-susceptible isolates. However, it is very interesting that these isolates were also susceptible to antibiotic classes that are normally not potent against gram-negative pathogens. In the other study [9], *Acinetobacter* isolates were identified after the determination of the partial *rpoB* gene sequence. According to the variability of the regions in the *rpoB* gene sequence, the susceptibility of *A. baumannii* isolates to other antimicrobial classes increased as their resistance to polymyxins increased.

This observed phenomenon of maintenance of susceptibility to various antimicrobial agents among colistin-resistant isolates in this study may be explained by assuming that the biological cost of antibiotic resistance to colistin led to suppression or loss of resistance genes to other antibiotic classes [10]. However, compensatory mutations may cause the accumulation of numerous drug resistance mechanisms in a pathogen without any reduction in its virulence [11].

In summary, this analysis showed that a considerable proportion of colistin-resistant gram-negative bacterial isolates (mainly *K. pneumoniae*) from patients in this hospital retained susceptibility to various other antimicrobial agents. By presenting patterns of in vitro susceptibility testing of these colistin-resistant isolates, our data constitute a useful addition to the literature on multidrug-resistant gram-negative bacteria.

Acknowledgments

Potential conflicts of interest. M.E.F. is a member of the speakers' bureau for Merck, Wyeth, AstraZeneca, Cipla, Novartis, and Grunenthal and a member of the advisory board for Pfizer and Bayer. All other authors: no conflicts.

George Samonis,[1] Dimitrios K. Matthaiou,[3] Diamantis Kofteridis,[1] Sofia Maraki,[2] and Matthew E. Falagas[3,4]

[1]Departments of Internal Medicine and [2]Microbiology, University Hospital of Heraklion, Heraklion, and [3]Alfa Institute of Biomedical Sciences, Athens, Greece; and [4]Department of Medicine, Tufts University School of Medicine, Boston, Massachusetts

Downloaded from http://cid.oxfordjournals.org/ by guest on January 31, 2014

References

1. Talbot GH, Bradley J, Edwards JE, Gilbert D, Scheld M, Bartlett JG. Bad bugs need drugs: an update on the development pipeline from the Antimicrobial Availability Task Force of the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis **2006**; 42:657–668.
2. Li J, Nation RL, Turnidge JD, et al. Colistin: the re-emerging antibiotic for multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. Lancet Infect Dis **2006**; 6:589–601.
3. Falagas ME, Rafailidis PI. Re-emergence of colistin in today's world of multidrug-resistant organisms: personal perspectives. Expert Opin Investig Drugs **2008**; 17:973–981.
4. Matthaiou DK, Michalopoulos A, Rafailidis PI, et al. Risk factors associated with the isolation of colistin-resistant gram-negative bacteria: a matched case-control study. Crit Care Med **2008**; 36:807–811.
5. Markou N, Markantonis SL, Dimitrakis E, et al. Colistin serum concentrations after intravenous administration in critically ill patients with serious multidrug-resistant, gram-negative bacilli infections: a prospective, open-label, uncontrolled study. Clin Ther **2008**; 30: 143–151.
6. Goldstein FW, Ly A, Kitzis MD. Comparison of Etest with agar dilution for testing the susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* and other multidrug-resistant bacteria to colistin. J Antimicrob Chemother **2007**; 59:1039–1040.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 17th informational supplement. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, **2007**.
8. Li J, Nation RL, Owen RJ, Wong S, Spelman D, Franklin C. Antibiograms of multidrug-resistant clinical *Acinetobacter baumannii:* promising therapeutic options for treatment of infection with colistin-resistant strains. Clin Infect Dis **2007**; 45:594–598.
9. Ko KS, Suh JY, Kwon KT, et al. High rates of resistance to colistin and polymyxin B in subgroups of *Acinetobacter baumannii* isolates from Korea. J Antimicrob Chemother **2007**; 60:1163–1167.
10. Gillespie SH, McHugh TD. The biological cost of antimicrobial resistance. Trends Microbiol **1997**; 5:337–339.
11. Hocquet D, Berthelot P, Roussel-Delvallez M, et al. *Pseudomonas aeruginosa* may accumulate drug resistance mechanisms without losing its ability to cause bloodstream infections. Antimicrob Agents Chemother **2007**; 51:3531–3536.

Reprints or correspondence: Dr Matthew E. Falagas, Alfa Institute of Biomedical Sciences (AIBS), 9 Neapoleos St, 15 123, Marousi, Greece (m.falagas@aibs.gr).

Clinical Infectious Diseases 2010; 50(12):1689–1691

© 2010 by the Infectious Diseases Society of America. All rights reserved.

1058-4838/2010/5012-0028$15.00
DOI: 10.1086/653009

Downloaded from http://cid.oxfordjournals.org/ by guest on January 31, 2014

Drug Resistance Updates 13 (2010) 132–138

Contents lists available at ScienceDirect

Drug Resistance Updates

journal homepage: www.elsevier.com/locate/drup

Resistance to polymyxins: Mechanisms, frequency and treatment options

Matthew E. Falagas[a,b,c,*], Petros I. Rafailidis[a,b], Dimitrios K. Matthaiou[a,d]

[a] Alfa Institute of Biomedical Sciences (AIBS), Athens, Greece
[b] Department of Medicine, Henry Dunant Hospital, Athens, Greece
[c] Department of Medicine, Tufts University School of Medicine, Boston, Massachusetts, USA
[d] Department of Medicine, "G. Gennimatas" General Hospital, Thessaloniki, Greece

ARTICLE INFO

Article history:
Received 27 April 2010
Received in revised form 24 May 2010
Accepted 24 May 2010

Keywords:
Colistin
Multidrug-resistance
Polymyxin
Pandrug-resistance
Fosfomycin
Tigecycline

ABSTRACT

Polymyxins act by binding to lipid A moiety of the bacterial lipopolysaccharide and subsequently disintegrating the bacterial membranes. The most important mechanism of resistance includes modifications of the bacterial outer membrane structure, including lipopolysaccharide. Lipopolysaccharide modification is mostly mediated by PmrA/PmrB and PhoP/PhoQ two-component regulatory systems. These mechanisms exist with some differences in many gram-negative bacterial species. Resistance to polymyxins is generally less than 10%. In specific regions, such as the Mediterranean basin, Korea and Singapore, they tend to be higher. Heteroresistance to polymyxins is associated with exposure to polymyxins and especially suboptimal therapeutic dosage. Polymyxin combination regimens, tigecycline and fosfomycin may be useful options for the treatment of polymyxin-resistant gram-negative infections.

© 2010 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Polymyxins include polymyxin B and colistin (polymyxin E), and are derivatives of the *Bacillus polymyxa* subspecies *colistinus*. They belong to a diverse group of natural antimicrobials found in eucariotic cells called cationic antimicrobial peptides. Structurally, they are decapeptides bound to a fatty acid chain. They consist of a seven-member cyclic ring of aminoacids with a tripeptide side chain. The side chain links to the lipidic part of the molecule. The heptapeptide ring is the same between the two polymyxins with the exception of a single aminoacid, which is phenylalalanine in polymyxin B and leucine in colistin (Kwa et al., 2007).

Polymyxins were discovered in the late 1940's and were widely used until the mid-1980's when they were forsaken due to the reported adverse events, namely nephrotoxicity. They remained in clinical practice for the management of pseudomonal lung infections in patients with cystic fibrosis and in topical solutions with other antimicrobials for the treatment of ear or eye infections. They reappeared as an option for the management of gram-negative infections (administration by the intravenous, and/or nebulized or intrathecal route) for non-cystic fibrosis patients after the emergence of multidrug-resistant pathogens and the subsequent restriction of possible alternatives (Falagas and Kasiakou, 2005). Despite their relatively recent reintegration in clinical practice, resistance to polymyxins constitutes already an issue of significance.

Polymyxins are active against gram-negative pathogens including *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella* spp., *Escherichia coli* and other enterobacteriaceae. However, there are species possessing intrinsic resistance, such as *Providencia* spp., *Neisseria* spp., *Proteus* spp., *Serratia marcescens* and *Burkholderia cepacia*. Polymyxins are not active against gram-positive bacteria nor against anaerobes.

2. Mechanism of action

Lipopolysaccharide (LPS) is a structural component of the bacterial outer membrane consisting of O antigen, a core polysaccharide and lipid A, which anchors in the outer membrane (Raetz and Whitfield, 2002). It bears negative charge and confers to the integrity and stability of the bacterial outer membrane. Polymyxins, having positive charge, displace Mg^{2+} or Ca^{2+} and bind on lipid A component resulting in the destabilization and disruption of the outer and inner membranes (Brown and Tsang, 1978; Clausell et al., 2007; Davis et al., 1971; Newton, 1956; Schindler and Osborn, 1979). The most potent part of the polymyxin molecule is the hydrophobic lipid tail. Polymyxin nonapeptide, which is the acyl part remaining after the removal of the lipidic component, exerts antimicrobial properties though to a lesser extent. It has lesser affinity than the hydrophobic tail, but sensitizes bacteria to the

* Corresponding author at: Alfa Institute of Biomedical Sciences (AIBS), 9 Neapoleos Street, 15 123, Marousi, Greece. Tel.: +30 694 611 0000; fax: +30 210 683 9605.
E-mail address: m.falagas@aibs.gr (M.E. Falagas).

1368-7646/$ – see front matter © 2010 Elsevier Ltd. All rights reserved.
doi:10.1016/j.drup.2010.05.002

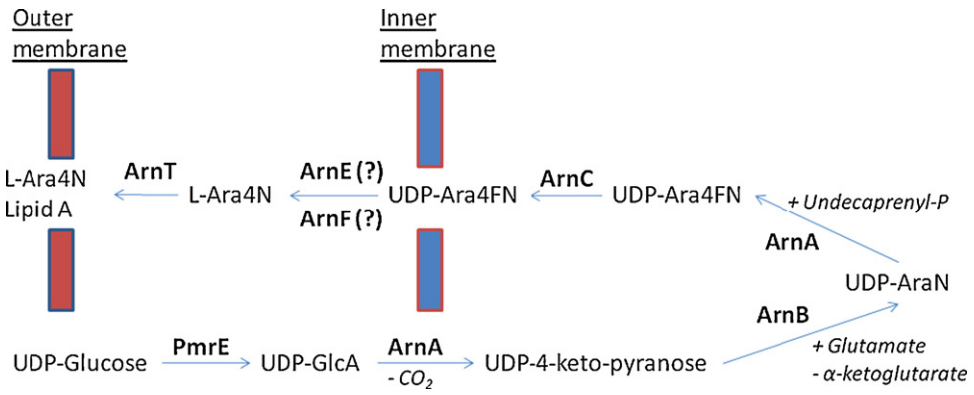


Fig. 1. Biosynthesis of L-Ara4N and modification of lipid A.

effect of other antibiotics and human neutrophils (Rose et al., 2000; Tsubery et al., 2000; Warren et al., 1985).

3. Mechanisms of resistance

Gram-negative bacteria may develop resistance through mechanisms that are common for colistin and polymyxin B. The most important mechanism involves modifications of the bacterial outer membrane, mainly through the alteration of the LPS moiety (Kline et al., 2008; Raetz and Whitfield, 2002). However, further modifications of the bacterial outer membrane may confer to polymyxin resistance (Campos et al., 2004; Moore et al., 1984). Another mechanism includes the development of an efflux pump/potassium system found in *Yersinia* spp. (Bengoechea and Skurnik, 2000). Although no enzymatic mechanisms of resistance has been reported so far, strains of *B. polymyxa* are known to produce colistinase (Ito-Kagawa and Koyama, 1980).

The modification of the LPS occurs with the addition of 4-amino-4-deoxy-L-arabinose (LAra4N) to a phosphate group in lipid A. This addition causes an absolute increase in lipid A charge, thus lowering the affinity of positively charged polymyxins (Kline et al., 2008).

The biosynthesis of LAra4N (Fig. 1) depends on the genes of polymyxin resistance operon, formerly known as *pmr*, which has been renamed as *arn* (Reeves et al., 1996). This operon includes *pmrHFIJKLM* genes. First, UDP-glucose is dehydrogenated to UDP-glucuronic acid (UDP-GlcA) by PmrE dehydrogenase. UDP-GlcA is subsequently decarboxylated and transaminated by ArnA(PmrI) and ArnB(PmrH) to UDP-AraN (Gatzeva-Topalova et al., 2005a, 2004). UDP-Ara4N is formylated by ArnA to UDP-Ara4FN and transferred to the bacterial inner membrane by ArnC(PmrF). UDP-Ara4FN is deformylated and transferred from the inner to the outer bacterial membrane by mechanisms that are not fully understood, although ArnE(PmrM) and ArnF(PmrL) may have a role in the transportation of UDP-Ara4FN across the bacterial inner membrane (Yan et al., 2007). Finally, ArnT(PmrK) tranfers LAra4N to lipid A (Gatzeva-Topalova et al., 2005b; Raetz and Whitfield, 2002). These genes were first studied in *S. enterica serotype Typhimurium* and *E. coli* (Gunn and Miller, 1996). However, similar pathways exist in other gram-negative bacteria, such as *P. aeruginosa*, *B. cepacia*, *Salmonella* spp., and *Yersinia pestis* (Breazeale et al., 2005).

The biosynthesis of LAra4N is mediated by PmrA/PmrB and PhoP/PhoQ two-component regulatory systems (Fig. 2). PmrB is a sensor cytoplasmic membrane-bound kinase with a histidine residue in its cytoplasmic domain. It is activated by high concentrations of Fe^{3+} or by low pH. Upon activation, it phosphorylates the aspartate residue of PmrA, which is a regulator protein of *arn* operon (McPhee et al., 2003). PhoQ is another sensor cytoplasmic membrane-spanning kinase, which is activated by low concentrations of Mg^{2+} or Ca^{2+} (Gunn and Miller, 1996; Moskowitz et al., 2004). Upon activation, it phosphorylates PhoP regulator, which in turn activates *pmrD* transcription. PrmD has a protective role by inhibiting PmrA dephosphorylation, thus conferring in the promotion of *arn* transcription (Fu et al., 2007). PmrA, in turn, exerts a negative feedback effect by repressing *pmrD* transcription under conditions that activate PmrA, such us high Fe^{3+} concentrations (Kato et al., 2003).

These mechanisms, although common in gram-negative bacteria, exhibit interspecies variation. PmrA/PmrB and PhoP/PhoQ systems, as described, are present in *Salmonella* spp. and were well studied in *S. enterica serotype typhimurium* (Gunn and Miller, 1996). In *Y. pestis*, PmrD is not present. Both systems may directly promote the transcription of *arn* operon (Winfield et al., 2005). In *E. coli*, although PhoP/PhoQ exists and promotes the transcription of *pmrD*, it does not activate PmrA/PmrB system (Winfield and Groisman, 2004). In *P. aeruginosa*, Mg^{2+} concentrations directly regulate PmrA/PmrB system (McPhee et al., 2003). Furthermore, *P. aeruginosa* biofilm cells exhibiting high metabolic activity were reported to develop tolerance to colistin, as they upregulated *arn* transcription (Pamp et al., 2008). In *A. baumannii*, resistance mechanisms are not well understood. However, mutations in the PmrA/PmrB encoding genes are linked to polymyxin resistance (Adams et al., 2009).

Further modifications of the bacterial outer membrane include the increased production of capsule polysaccharide (CPS) in *K. pneumoniae*. CPS limits the interaction of polymyxins with their target sites. Thus, upregulation of CPS productions confers to increased polymyxin resistance (Campos et al., 2004). Furthermore, increased levels of the outer membrane protein H1 inhibits the action of

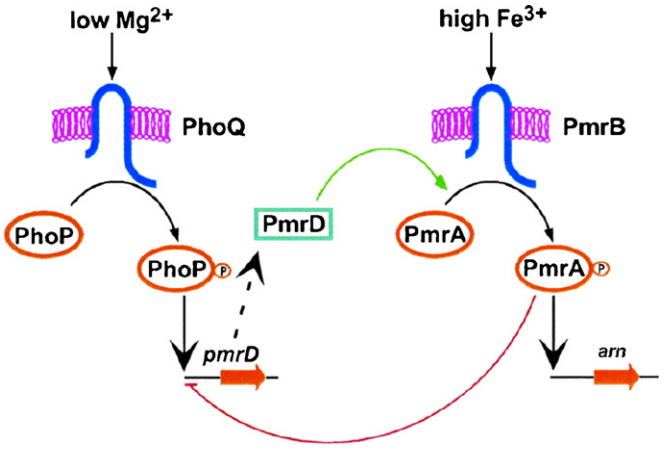


Fig. 2. PmrA/PmrB and PhoP/PhoQ two-component regulatory systems (Figure adapted from Kato A et al. PNAS 2003;100:4706-4711©).

Table 1
Summary of polymyxin resistance mechanisms.

Resistance mechanism	Pathogen
Modification of lipopolysaccharide moiety of the bacterial outer membrane	*E. coli–S. enterica serotype typhimurium among others*
Efflux pump/potassium system	*Y. pestis*
Increased production of capsule polysaccharide of the bacterial outer membrane	*K. pneumoniae*
Increased levels of the outer membrane protein H1	*P. aeruginosa*
Colistinase production	*B. polymyxa*

polymyxins by replacing Mg^{2+} or Ca^{2+} at binding sites on LPS (Bell and Hancock, 1989; Nicas and Hancock, 1983). A summary of the resistance mechanisms is presented in Table 1.

4. Worldwide antimicrobial susceptibility rates

Resistance to polymyxins varies in different parts of the world and in different settings. Typical settings in which polymyxins are widely used include patients with cystic fibrosis and patients admitted in the intensive care unit (ICU). The last two decades there have been numerous reports regarding polymyxin resistance rates. We concentrate on reports presenting relevant data for *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, and *A. baumannii*, excluding those presenting no resistance at all (Table 2). Reports presenting data for patients with cystic fibrosis are summarized in Table 3.

The most collective reports are those of SENTRY antimicrobial surveillance program that monitor resistance patterns of various pathogens gathered throughout the world on a regular basis. The reported resistance rates are less than 5% for *P. aeruginosa* and *Acinetobacter* spp., and 6.7% for *K. pneumoniae* (Castanheira et al., 2008; Fedler et al., 2006; Gales et al., 2006; Gales et al., 2001; Jones et al., 2009; Mendes et al., 2009; Yau et al., 2009). Likewise the majority of the remaining reports present resistance rates ranging from virtually zero to 10%. However, there are also studies that report high resistance rates. It should be noted that these variations could exist due to differences in methodology. Some laboratories use disk diffusion, and polymyxins diffuse poorly due to the high molecular weight. Hence, one could underestimate resistance when using disk diffusion.

In North America, most reports come from the USA. Resistance rates for both *P. aeruginosa* and *A. baumannii* are less than 5.5% (Hawley et al., 2007; Keen et al., 2010; Landman et al., 2005; Manikal et al., 2000; Tam et al., 2010). However, studies of resistance in *K. pneumoniae* report higher rates from 9% to 27% (Bratu et al., 2005a, 2005b; Castanheira et al., in press) A study from Canada reports resistance rates of 4% for *P. aeruginosa* (Walkty et al., 2008). In South America, studies form Brazil and Chile report resistance rates of up to 9% for *P. aeruginosa* and *A. baumannii* (Cezario et al., 2009; Fica et al., 2007; Tognim et al., 2006).

In Asia, most studies report resistance rates less than 10% (Garcia-Penuela et al., 2006; Hussein et al., 2009; Lapteva et al., 1993; Lee et al., 2009; Punpanich et al., 2008; Sung et al., 2007; Yang et al., 2007). However, there are reports presenting alarmingly high rates of resistance. There are studies for *P. aeruginosa* from Singapore and India reporting rates of 33% and 38.3%, respectively (Tan et al., 2008; Tan and Ng, 2006; Varaiya et al., 2008). Studies for *A. baumannii* from Turkey and Korea report resistance rates of 27.5% and 27.9%, respectively (Eser et al., 2009; Ko et al., 2007). In the Korean study, further subgrouping according to *rpoB* gene sequences of the analyzed isolates yielded rates of up to 64.8% in one of the subgroups (Ko et al., 2007).

In Europe, reports present variable resistance rates. Regarding *A. baumannii*, most reports present rates less than 6% (Garcia-Penuela et al., 2006; Gomez-Garces et al., 2009; Hejnar et al., 1999; Mezzatesta et al., 2008; Souli et al., 2006) with the exception of a report from Bulgaria presenting rates of 16.7% (Dobrewski et al., 2006). *K. pneumoniae* resistance rates were 17% in a Romanian study (Miftode et al., 2008), while studies from Greece report rates from 15.3% to 27.6% (Souli et al., 2006; Falagas et al., 2010a). However, in interpreting these relatively high resistance rates, one has to notice that they refer to multidrug-resistant or even pandrug-resistant gram-negative bacteria, for which very limited or no therapeutic options exist. The pathogen with the highest rate of resistance to colistin (40.2%) in European reports was *P. aeruginosa* in a study from Spain (Gomez-Garces et al., 2009).

African reports are scarce. Nigerian data report resistant rates for *P. aeruginosa* and *K. pneumoniae* of less than 10% (Iroha et al., 1998). However, there is a study from Zimbabwe reporting cumulative data for *P. aeruginosa* from two different hospitals reporting resistance rates of 53% (Igumbor et al., 2000). Data from Oceania and Pacific can be indirectly estimated from SENTRY studies and report very low resistance rates.

Most studies reporting data for *P. aeruginosa* in patients with cystic fibrosis come from Europe and vary notably. There are studies from Scotland reporting variable rates from 16% to 40% (MacKenzie et al., 2004; Milne and Gould, 2010). It is noteworthy that a report from the rest of the United Kingdom presents rates of only 3.1% (Pitt et al., 2003). Relevant reports from Germany present rates from 6.7% to 58.7% (Hogardt et al., 2004; Schulin, 2002). A study from Australia reporting susceptibilities of *P. aeruginosa* isolates under aerobic, anaerobic, and biofilm conditions presents resistance rates of 0%, 25% and 75%, respectively (Hill et al., 2005).

5. Heteroresistance

Heteroresistance may be defined as the emergence of resistance to a specific antibiotic by a subpopulation of an otherwise susceptible population to this antibiotic according to susceptibility testing (Falagas et al., 2008a). Heteroresistance to polymyxins was not reported until recently. Topical reports present data of heteroresistant *A. baumannii* strains from patients admitted to the ICU (Hernan et al., 2009; Li et al., 2006). Colistin use is known to be a risk factor for the isolation of colistin-resistant gram-negative bacteria (Matthaiou et al., 2008). Heteroresistant bacterial subpopulations, in particular, were found to be significantly higher among isolates recovered from patients who were previously treated with colistin (Hawley et al., 2008). Emergence of heteroresistance is associated with exposure to suboptimal polymyxin dosage. However, its clinical significance remains to be determined.

6. Treatment options for polymyxin-resistant gram-negative bacilli

The lack of options for the treatment of infections due to polymyxin-resistant gram-negative pathogens necessitates the pursuit of other solutions. Combination therapy of polymyxins with other antibiotics may be a feasible alternative. There are studies reporting encouraging data regarding the outcomes of patients with such infections after treatment with various combinations of colistin with other antibiotics (Falagas et al., 2005, 2008b). The most frequently used colistin combination was that with meropenem. Yet, imipenem/cilastatin and ampicillin/sulbactam were also administered in combination with colistin. A recent large cohort study of patients with multidrug-resistant gram-negative infections reported favourable outcomes in over 75% of the patients, when the therapeutic regimen included a combination

Table 2
Studies reporting polymyxin resistance rates in various settings excluding patients with cystic fibrosis.

Author (year)	Country	Agent	Resistance (%)	Pathogen
Castanheira et al. (2010)	USA	PB	9.4	Enterobacteriaceae
Falagas et al. (2010a)	Greece	CS	27.6	*Klebsiella pneumoniae*
Keen et al. (2010)	USA	CS	0.1	*Acinetobacter baumannii*
			0.2	*Pseudomonas aeruginosa*
Tam et al. (2010)	USA	PB - CS	0*–5.5#	*Pseudomonas aeruginosa*
Cezario et al. (2009)	Brazil	PB	5	*Pseudomonas aeruginosa*
Eser et al. (2009)	Turkey	CS	27.5	*Acinetobacter baumannii*
				Acinetobacter lwoffii
Gomez-Garces et al. (2009)	Spain	CS	40	*Pseudomonas aeruginosa*
			1.2	*Acinetobacter baumannii*
Hussein et al. (2009)	Israel	CS	4.5	*Klebsiella pneumoniae*
Jones et al. (2009)	SENTRY	PB	0.5	*Pseudomonas aeruginosa*
Lee et al. (2009)	Taiwan	CS	1	*Acinetobacter baumannii*
Mendes et al. (2009)	SENTRY	Polymyxins	0.9	*Acinetobacter s*
Yau et al. (2009)	SENTRY	CS	3.3	*Acinetobacter baumannii*
Castanheira et al. (2008)	SENTRY	PB	11.9	*Enterobacteriaceae*
			6.7	*Klebsiella pneumoniae*
Mezzatesta et al. (2008)	Italy	CS	1	*Acinetobacter baumannii*
Miftode et al. (2008)	Romania	CS	17	Klebsiella s
Punpanich et al. (2008)	Thailand	CS	7.3	*Klebsiella pneumoniae*
Tan et al. (2008)	Singapore	PB	33	*Pseudomonas aeruginosa*
			1	*Acinetobacter baumannii*
Varaiya et al. (2008)	India	CS	38.3	*Pseudomonas aeruginosa*
Walkty et al. (2008)	Canada	CS	4	*Pseudomonas aeruginosa*
Fica et al. (2007)	Chile	CS	9	*Acinetobacter baumannii–Pseudomonas aeruginosa*
Hawley et al. (2007)	USA	PB–CS	1.4*–2.1#	*Acinetobacter baumannii*
Ko et al. (2007)	Korea	PB–CS	18.1*–27.9#	*Acinetobacter baumannii* (total)
			2.1*–7#	*Acinetobacter baumannii* subgroup I
			38.9–64.8#	*Acinetobacter baumannii* subgroup II
			13*–16.7#	*Acinetobacter baumannii* subgroup III
Sung et al. (2007)	Korea	CS	9.1	*Acinetobacter baumannii*
Yang et al. (2007)	China	PB	4.4	*Pseudomonas aeruginosa*
			1.7	*Acinetobacter baumannii*
Dobrewski et al. (2006)	Bulgaria	CS	16.7	*Acinetobacter baumannii*
Fedler et al. (2006)	SENTRY	PB	0.7	*Pseudomonas aeruginosa*
Gales et al. (2006)	SENTRY	PB	1.1–2.9	*Pseudomonas aeruginosa*
			1.7–2.7	Acinetobacter s
Garcia-Penuela et al. (2006)	Spain-Hong Kong	CS	1.4–3.3	*Acinetobacter baumannii*
Souli et al. (2006)	Greece	CS	15.3	*Klebsiella pneumoniae*
			3	*Acinetobacter baumannii*
Tan et al. (2006)	Singapore	CS	33	*Pseudomonas aeruginosa*
			6	*Klebsiella pneumoniae*
Tognim et al. (2006)	Brazil	CS	3	*Acinetobacter baumannii*
Bratu et al. (2005a)	USA	PB	27	*Klebsiella pneumoniae*
Bratu et al. (2005b)	USA	PB	9	*Klebsiella pneumoniae*
Landman et al. (2005)	USA	PB	5	*Pseudomonas aeruginosa*
Gales et al. (2001)	SENTRY	PB - CS	5*–3.3#	*Acinetobacter s*
Igumbor et al. (2000)	Zimbabwe	PB	53	*Pseudomonas aeruginosa*
Manikal et al. (2000)	USA	PB	1	*Acinetobacter baumannii*
Hejnar et al. (1999)	Czech Republic	CS	5.9	*Acinetobacter baumannii*
Iroha et al. (1998)	Nigeria	CS	<10	*Pseudomonas aeruginosa–Klebsiella pneumoniae*
Lapteva et al. (1993)	Former USSR	PB	7.1	Enterobacteriaceae

CS: colistin; PB: polymyxin B, *: resistance to polymyxin B, #: resistance to colistin.

of colistin-meropenem or colistin-ampicillin/sulbactam (Falagas et al., 2010b).

Tigecycline is a novel antimicrobial and the first member of glycylcycline class, which are tetracycline derivatives. It has a wide spectrum of antimicrobial activity including gram-positive and gram-negative bacteria. However, *P. aeruginosa* possesses intrinsic resistance to tigecycline (Zhanel et al., 2006). In addition, Proteae have also natural low-grade resistance to tigecycline. Recent studies report very good microbiological activity of tigecycline against Enterobacteriaceae, and *K. pneumoniae* in particular. It should be noted that according to EUCAST breakpoints many *K. pneumoniae* strains are intermediate to tigecycline. Clinical studies, although

Table 3
Studies reporting polymyxin resistance rates in patients with cystic fibrosis.

Author (year)	Country	Agent	Resistance (%)	Pathogen
Milne et al. (2010)	Scotland	CS	16	*Pseudomonas aeruginosa*
Hill et al. (2005)	Australia	CS	0 aerobic, 25 anaerobic, 75 biofilm	*Pseudomonas aeruginosa*
Hogardt et al. (2004)	Germany	PB	6.7	*Pseudomonas aeruginosa*
MacKenzie et al. (2004)	Scotland	CS	40	*Pseudomonas aeruginosa*
Pitt et al. (2003)	UK	CS	3.1	*Pseudomonas aeruginosa*
Schülin et al. (2002)	Germany	CS	58.2	*Pseudomonas aeruginosa*

CS: Colistin; PB: Polymyxin B.

with a small patient sample, report favorable outcomes in almost 70% of patients with a carbapenem-resistant or ESBL-producing or multidrug-resistant Enterobacteriaceae infection (Kelesidis et al., 2008). Relevant data of multidrug-resistant *A. baumannii* infections are scarce. Although tigecycline had good antimicrobial activity, depending on the breakpoints used, there are already studies reporting resistance. The majority of relevant data came from infections due to *A. baumannii*. Data from other species are even scarcer to allow meaningful conclusions regarding outcomes (Anthony et al., 2008; Karageorgopoulos et al., 2008; Schafer et al., 2007). Although it is a useful alternative, its large distribution volume, resulting in very low free serum concentrations of the drug, renders it inappropriate for the treatment of bloodstream infections. Thus, tigecycline should be used prudently, for specific infections. Fosfomycin is an antibiotic to which interest has been renewed and could be a useful alternative, either in combination with other antibiotics or as monotherapy (keeping in mind its potential for emergence of resistance). It may be administered orally as tromethamine or calcium salt, or intravenously in a dosage of 50 mg/kg of body weight. However, the degree of enteral absorption of tromethamine salt is higher compared to calcium salt. Oral bioavailability of the two salts is 40% and 12% to 28%, respectively (Roussos et al., 2009). Until recently, it was mostly used for the treatment of urinary tract infections. However, it has been used for the treatment of critically-ill patients with carbapenem-resistant *K. pneumoniae* infections with promising results (Michalopoulos et al., 2010). Recent published data also suggest that fosfomycin may also have a role in the treatment of infections due to multidrug-resistant *P. aeruginosa* (Falagas et al., 2009). One has to consider that *Acinetobacter baumannii* is resistant to fosfomycin (Falagas et al., 2008).

In vitro data showed an increased susceptibility to rifampicin, even at the lowest rifampicin concentration tested, for colistin-resistant *A. baumannii*. Interestingly, increased susceptibility was also noted for other antibiotics (teicoplanin, quinupristin-dalfopristin, fusidic acid) that are usually inactive against gram-negative bacteria. A likely explanation of the phenomenon may be that the alteration of the bacterial outer membrane of the colistin-resistant strains led to increased permeability to antibiotics that normally do not penetrate through gram-negative outer membrane. Colistin-resistance in *A. baumannii* strains seems to induce a biological cost with a decreased ability to form biofilms. The significance of these findings has to be evaluated further in clinical settings (Li et al., 2007).

7. Conclusion

Polymyxins are old antibiotics that returned to clinical practice due to the lack of options for the treatment of multidrug-resistant gram-negative infections. They act by disrupting the bacterial membranes resulting in cellular death. The main mechanism of resistance is the modification of the bacterial outer membrane, which is mainly mediated by PmrA/PmrB and PhoP/PhoQ two-component regulatory systems. Resistance to polymyxins is generally less than 10%, but is higher in the Mediterranean and in South-East Asia. Heteroresistance to polymyxins is an emerging threat associated with exposure to suboptimal polymyxin dosage and with unknown clinical significance. Other options for the treatment of polymyxin-resistant gram-negative infections are polymyxin combination regimens, tigecycline and fosfomycin.

References

Adams, M.D., Nickel, G.C., Bajaksouzian, S., Lavender, H., Murthy, A.R., Jacobs, M.R., Bonomo, R.A., 2009. Resistance to colistin in *Acinetobacter baumannii* associated with mutations in the PmrAB two-component system. Antimicrob. Agents Chemother. 53, 3628–3634.

Anthony, K.B., Fishman, N.O., Linkin, D.R., Gasink, L.B., Edelstein, P.H., Lautenbach, E., 2008. Clinical and microbiological outcomes of serious infections with multidrug-resistant gram-negative organisms treated with tigecycline. Clin. Infect Dis. 46, 567–570.

Bell, A., Hancock, R.E., 1989. Outer membrane protein H1 of *Pseudomonas aeruginosa*: purification of the protein and cloning and nucleotide sequence of the gene. J. Bacteriol. 171, 3211–3217.

Bengoechea, J.A., Skurnik, M., 2000. Temperature-regulated efflux pump/potassium antiporter system mediates resistance to cationic antimicrobial peptides in Yersinia. Mol. Microbiol. 37, 67–80.

Bratu, S., Mooty, M., Nichani, S., Landman, D., Gullans, C., Pettinato, B., Karumudi, U., Tolaney, P., Quale, J., 2005a. Emergence of KPC-possessing *Klebsiella pneumoniae* in Brooklyn, New York: epidemiology and recommendations for detection. Antimicrob. Agents Chemother. 49, 3018–3020.

Bratu, S., Tolaney, P., Karumudi, U., Quale, J., Mooty, M., Nichani, S., Landman, D., 2005b. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Brooklyn, NY: molecular epidemiology and in vitro activity of polymyxin B and other agents. J. Antimicrob. Chemother. 56, 128–132.

Breazeale, S.D., Ribeiro, A.A., McClerren, A.L., Raetz, C.R., 2005. A formyltransferase required for polymyxin resistance in *Escherichia coli* and the modification of lipid A with 4-amino-4-deoxy-L-arabinose. Identification and function of UDP-4-deoxy-4-formamido-L-arabinose. J. Biol. Chem. 280, 14154–14167.

Brown, D.A., Tsang, J.C., 1978. Chemical and electrophoretic changes induced by polymyxin B on outer membrane components from *Serratia marcescens*. J. Antibiot (Tokyo) 31, 603–609.

Campos, M.A., Vargas, M.A., Regueiro, V., Llompart, C.M., Alberti, S., Bengoechea, J.A., 2004. Capsule polysaccharide mediates bacterial resistance to antimicrobial peptides. Infect Immun. 72, 7107–7114.

Castanheira, M., Sader, H.S., Deshpande, L.M., Fritsche, T.R., Jones, R.N., 2008. Antimicrobial activities of tigecycline and other broad-spectrum antimicrobials tested against serine carbapenemase- and metallo-beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. Antimicrob. Agents Chemother. 52, 570–573.

Castanheira, M., Sader, H.S., Jones, R.N., Antimicrobial susceptibility patterns of KPC-producing or CTX-M-producing Enterobacteriaceae. Microb Drug Resist.

Cezario, R.C., Duarte De Morais, L., Ferreira, J.C., Costa-Pinto, R.M., da Costa Darini, A.L., Gontijo-Filho, P.P., 2009. Nosocomial outbreak by imipenem-resistant metallo-beta-lactamase-producing Pseudomonas aeruginosa in an adult intensive care unit in a Brazilian teaching hospital. Enferm Infect. Microbiol. Clin. 27, 269–274.

Clausell, A., Garcia-Subirats, M., Pujol, M., Busquets, M.A., Rabanal, F., Cajal, Y., 2007. Gram-negative outer and inner membrane models: insertion of cyclic cationic lipopeptides. J. Phys. Chem. B 111, 551–563.

Davis, S.D., Iannetta, A., Wedgwood, R.J., 1971. Activity of colistin against *Pseudomonas aeruginosa*: inhibition by calcium. J. Infect. Dis. 124, 610–612.

Dobrewski, R., Savov, E., Bernards, A.T., van den Barselaar, M., Nordmann, P., van den Broek, P.J., Dijkshoorn, L., 2006. Genotypic diversity and antibiotic susceptibility of Acinetobacter baumannii isolates in a Bulgarian hospital. Clin. Microbiol. Infect. 12, 1135–1137.

Eser, O.K., Ergin, A., Hascelik, G., 2009. Antimicrobial resistance and existence of metallo-beta-lactamase in Acinetobacter species isolated from adult patients. Mikrobiyol Bul. 43, 383–390.

Falagas, M.E., Bliziotis, I.A., Kasiakou, S.K., Samonis, G., Athanassopoulou, P., Michalopoulos, A., 2005. Outcome of infections due to pandrug-resistant (PDR) Gram-negative bacteria. BMC Infect. Dis. 5, 24.

Falagas, M.E., Kasiakou, S.K., 2005. Colistin: the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. Clin. Infect. Dis. 40, 1333–1341.

Falagas, M.E., Kastoris, A.C., Karageorgopoulos, D.E., Rafailidis, P.I., 2009. Fosfomycin for the treatment of infections caused by multidrug-resistant non-fermenting Gram-negative bacilli: a systematic review of microbiological, animal and clinical studies. Int. J. Antimicrob. Agents 34, 111–120.

Falagas, M.E., Makris, G.C., Dimopoulos, G., Matthaiou, D.K., 2008a. Heteroresistance: a concern of increasing clinical significance? Clin. Microbiol. Infect. 14, 101–104.

Falagas, M.E., Maraki, S., Karageorgopoulos, D.E., Kastoris, A.C., Mavromanolakis, E., Samonis, G., 2010a. Antimicrobial susceptibility of multidrug-resistant (MDR) and extensively drug-resistant (XDR) Enterobacteriaceae isolates to fosfomycin. Int. J. Antimicrob. Agents 35, 240–243.

Falagas, M.E., Rafailidis, P.I., Ioannidou, E., Alexiou, V.G., Matthaiou, D.K., Karageorgopoulos, D.E., Kapaskelis, A., Nikita, D., Michalopoulos, A., 2010b. Colistin therapy for microbiologically documented multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections: a retrospective cohort study of 258 patients. Int. J. Antimicrob. Agents 35, 194–199.

Falagas, M.E., Rafailidis, P.I., Matthaiou, D.K., Virtzili, S., Nikita, D., Michalopoulos, A., 2008b. Pandrug-resistant Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii infections: characteristics and outcome in a series of 28 patients. Int. J. Antimicrob. Agents 32, 450–454.

Falagas, M.E., Giannopoulou, K.P., Kokolakis, G.N., Rafailidis, P.I., 2008. Fosfomycin: use beyond urinary tract and gastrointestinal infections. Clin. Infect. Dis. 46, 1069–1077.

Fedler, K.A., Biedenbach, D.J., Jones, R.N., 2006. Assessment of pathogen frequency and resistance patterns among pediatric patient isolates: report from the 2004

SENTRY Antimicrobial Surveillance Program on 3 continents. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 56, 427–436.
Fica, C.A., Cespedes, J.I., Gompertz, G.M., Jalon, V.M., Sakurada, Z.A., Saez, L.E., 2007. Intravenous colistin in the treatment of infections due to pan-resistant Gram negative bacilli. Rev. Chilena Infectol. 24, 360–367.
Fu, W., Yang, F., Kang, X., Zhang, X., Li, Y., Xia, B., Jin, C., 2007. First structure of the polymyxin resistance proteins. Biochem. Biophys. Res. Commun. 361, 1033–1037.
Gales, A.C., Jones, R.N., Sader, H.S., 2006. Global assessment of the antimicrobial activity of polymyxin B against 54 731 clinical isolates of Gram-negative bacilli: report from the SENTRY antimicrobial surveillance programme (2001–2004). Clin. Microbiol. Infect. 12, 315–321.
Gales, A.C., Reis, A.O., Jones, R.N., 2001. Contemporary assessment of antimicrobial susceptibility testing methods for polymyxin B and colistin: review of available interpretative criteria and quality control guidelines. J. Clin. Microbiol. 39, 183–190.
Garcia-Penuela, E., Aznar, E., Alarcon, T., Lopez-Brea, M., 2006. Susceptibility pattern of Acinetobacter baumannii clinical isolates in Madrid vs. Hong Kong. Rev. Esp Quimioter. 19, 45–50.
Gatzeva-Topalova, P.Z., May, A.P., Sousa, M.C., 2005a. Crystal structure and mechanism of the *Escherichia coli* ArnA (PmrI) transformylase domain. An enzyme for lipid A modification with 4-amino-4-deoxy-L-arabinose and polymyxin resistance. Biochemistry 44, 5328–5338.
Gatzeva-Topalova, P.Z., May, A.P., Sousa, M.C., 2004. Crystal structure of *Escherichia coli* ArnA (PmrI) decarboxylase domain. A key enzyme for lipid A modification with 4-amino-4-deoxy-L-arabinose and polymyxin resistance. Biochemistry 43, 13370–13379.
Gatzeva-Topalova, P.Z., May, A.P., Sousa, M.C., 2005b. Structure and mechanism of ArnA: conformational change implies ordered dehydrogenase mechanism in key enzyme for polymyxin resistance. Structure 13, 929–942.
Gomez-Garces, J.L., Aracil, B., Gil, Y., Burillo, A., 2009. Susceptibility of 228 non-fermenting gram-negative rods to tigecycline and six other antimicrobial drugs. J. Chemother. 21, 267–271.
Gunn, J.S., Miller, S.I., 1996. PhoP-PhoQ activates transcription of pmrAB, encoding a two-component regulatory system involved in *Salmonella typhimurium* antimicrobial peptide resistance. J. Bacteriol. 178, 6857–6864.
Hawley, J.S., Murray, C.K., Griffith, M.E., McElmeel, M.L., Fulcher, L.C., Hospenthal, D.R., Jorgensen, J.H., 2007. Susceptibility of acinetobacter strains isolated from deployed U.S. military personnel. Antimicrob. Agents Chemother. 51, 376–378.
Hawley, J.S., Murray, C.K., Jorgensen, J.H., 2008. Colistin heteroresistance in acinetobacter and its association with previous colistin therapy. Antimicrob. Agents Chemother. 52, 351–352.
Hejnar, P., Kolar, M., Hajek, V., 1999. Characteristics of Acinetobacter strains (phenotype classification, antibiotic susceptibility and production of beta-lactamases) isolated from haemocultures from patients at the Teaching Hospital in Olomouc. Acta Univ. Palacki Olomuc Fac. Med. 142, 73–77.
Hernan, R.C., Karina, B., Gabriela, G., Marcela, N., Carlos, V., Angela, F., 2009. Selection of colistin-resistant Acinetobacter baumannii isolates in postneurosurgical meningitis in an intensive care unit with high presence of heteroresistance to colistin. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 65, 188–191.
Hill, D., Rose, B., Pajkos, A., Robinson, M., Bye, P., Bell, S., Elkins, M., Thompson, B., Macleod, C., Aaron, S.D., Harbour, C., 2005. Antibiotic susceptabilities of Pseudomonas aeruginosa isolates derived from patients with cystic fibrosis under aerobic, anaerobic, and biofilm conditions. J. Clin. Microbiol. 43, 5085–5090.
Hogardt, M., Schmoldt, S., Gotzfried, M., Adler, K., Heesemann, J., 2004. Pitfalls of polymyxin antimicrobial susceptibility testing of Pseudomonas aeruginosa isolated from cystic fibrosis patients. J. Antimicrob. Chemother. 54, 1057–1061.
Hussein, K., Sprecher, H., Mashiach, T., Oren, I., Kassis, I., Finkelstein, R., 2009. Carbapenem resistance among Klebsiella pneumoniae isolates: risk factors, molecular characteristics, and susceptibility patterns. Infect. Control Hosp. Epidemiol. 30, 666–671.
Igumbor, E., Gwanzura, L., Chirara, M., Obi, C., Muza, D., 2000. Antibiotic sensitivity and plasmid profiles of Pseudomonas aeruginosa. Cent. Afr. J. Med. 46, 296–300.
Iroha, E.O., Kesah, C.N., Egri-Okwaji, M.T., Odugbemi, T.O., 1998. Bacterial eye infection in neonates, a prospective study in a neonatal unit. West Afr. J. Med. 17, 168–172.
Ito-Kagawa, M., Koyama, Y., 1980. Selective cleavage of a peptide antibiotic, colistin by colistinase. J. Antibiot. (Tokyo) 33, 1551–1555.
Jones, R.N., Stilwell, M.G., Rhomberg, P.R., Sader, H.S., 2009. Antipseudomonal activity of piperacillin/tazobactam: more than a decade of experience from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997–2007). Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 65, 331–334.
Karageorgopoulos, D.E., Kelesidis, T., Kelesidis, I., Falagas, M.E., 2008. Tigecycline for the treatment of multidrug-resistant (including carbapenem-resistant) Acinetobacter infections: a review of the scientific evidence. J. Antimicrob. Chemother. 62, 45–55.
Kato, A., Latifi, T., Groisman, E.A., 2003. Closing the loop: the PmrA/PmrB two-component system negatively controls expression of its posttranscriptional activator PmrD. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 100, 4706–4711.
Keen 3rd, E.F., Robinson, B.J., Hospenthal, D.R., Aldous, W.K., Wolf, S.E., Chung, K.K., Murray, C.K., 2010. Prevalence of multidrug-resistant organisms recovered at a military burn center. Burns.
Kelesidis, T., Karageorgopoulos, D.E., Kelesidis, I., Falagas, M.E., 2008. Tigecycline for the treatment of multidrug-resistant Enterobacteriaceae: a systematic review of the evidence from microbiological and clinical studies. J. Antimicrob. Chemother. 62, 895–904.
Kline, T., Trent, M.S., Stead, C.M., Lee, M.S., Sousa, M.C., Felise, H.B., Nguyen, H.V., Miller, S.I., 2008. Synthesis of and evaluation of lipid A modification by 4-substituted 4-deoxy arabinose analogs as potential inhibitors of bacterial polymyxin resistance. Bioorg. Med. Chem. Lett. 18, 1507–1510.
Ko, K.S., Suh, J.Y., Kwon, K.T., Jung, S.I., Park, K.H., Kang, C.I., Chung, D.R., Peck, K.R., Song, J.H., 2007. High rates of resistance to colistin and polymyxin B in subgroups of Acinetobacter baumannii isolates from Korea. J. Antimicrob. Chemother. 60, 1163–1167.
Kwa, A., Kasiakou, S.K., Tam, V.H., Falagas, M.E., 2007. Polymyxin B: similarities to and differences from colistin (polymyxin E). Expert Rev. Anti Infect. Ther. 5, 811–821.
Landman, D., Bratu, S., Alam, M., Quale, J., 2005. Citywide emergence of Pseudomonas aeruginosa strains with reduced susceptibility to polymyxin B. J. Antimicrob. Chemother. 55, 954–957.
Lapteva, T.A., Bazhenov, L.G., Suiumova, A.S., Shabanova, N.G., 1993. Identification and sensitivity to antimicrobial drugs of enterobacteria isolated from patients with suppurative, inflammatory diseases. Antibiot. Khimioter. 38, 35–40.
Lee, Y.T., Huang, L.Y., Chiang, D.H., Chen, C.P., Chen, T.L., Wang, F.D., Fung, C.P., Siu, L.K., Cho, W.L., 2009. Differences in phenotypic and genotypic characteristics among imipenem-non-susceptible Acinetobacter isolates belonging to different genomic species in Taiwan. Int. J. Antimicrob. Agents 34, 580–584.
Li, J., Rayner, C.R., Nation, R.L., Owen, R.J., Spelman, D., Tan, K.E., Liolios, L., 2006. Heteroresistance to colistin in multidrug-resistant Acinetobacter baumannii. Antimicrob. Agents Chemother. 50, 2946–2950.
Li, J., Nation, R.L., Owen, R.J., Wong, S., Spelman, D., Franklin, C., 2007. Antibiograms of multidrug-resistant clinical Acinetobacter baumannii: promising therapeutic options for treatment of infection with colistin-resistant strains. Clin. Infect. Dis. 45, 594–598.
MacKenzie, F.M., Smith, S.V., Milne, K.E., Griffiths, K., Legge, J., Gould, I.M., 2004. Antibiograms of resistant Gram-negative bacteria from Scottish CF patients. J. Cyst. Fibros. 3, 151–157.
Manikal, V.M., Landman, D., Saurina, G., Oydna, E., Lal, H., Quale, J., 2000. Endemic carbapenem-resistant Acinetobacter species in Brooklyn, New York: citywide prevalence, interinstitutional spread, and relation to antibiotic usage. Clin. Infect. Dis. 31, 101–106.
Matthaiou, D.K., Michalopoulos, A., Rafailidis, P.I., Karageorgopoulos, D.E., Papaioannou, V., Ntani, G., Samonis, G., Falagas, M.E., 2008. Risk factors associated with the isolation of colistin-resistant gram-negative bacteria: a matched case-control study. Crit. Care Med. 36, 807–811.
McPhee, J.B., Lewenza, S., Hancock, R.E., 2003. Cationic antimicrobial peptides activate a two-component regulatory system, PmrA-PmrB, that regulates resistance to polymyxin B and cationic antimicrobial peptides in Pseudomonas aeruginosa. Mol. Microbiol. 50, 205–217.
Mendes, R.E., Bell, J.M., Turnidge, J.D., Castanheira, M., Jones, R.N., 2009. Emergence and widespread dissemination of OXA-23, -24/40 and -58 carbapenemases among Acinetobacter s in Asia-Pacific nations: report from the SENTRY Surveillance Program. J. Antimicrob. Chemother. 63, 55–59.
Mezzatesta, M.L., Trovato, G., Gona, F., Nicolosi, V.M., Nicolosi, D., Carattoli, A., Fadda, G., Nicoletti, G., Stefani, S., 2008. In vitro activity of tigecycline and comparators against carbapenem-susceptible and resistant Acinetobacter baumannii clinical isolates in Italy. Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob. 7, 4.
Michalopoulos, A., Virtzili, S., Rafailidis, P., Chalevelakis, G., Damala, M., Falagas, M.E., 2010. Intravenous fosfomycin for the treatment of nosocomial infections caused by carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae in critically ill patients: a prospective evaluation. Clin. Microbiol. Infect. 16, 184–186.
Miftode, E., Dorneanu, O., Leca, D., Teodor, A., Mihalache, D., Filip, O., Luca, V., 2008. Antimicrobial resistance profile of E. coli and Klebsiella s from urine in the Infectious Diseases Hospital Iasi. Rev. Med. Chir Soc. Med. Nat. Iasi. 112, 478–482.
Milne, K.E., Gould, I.M., 2010. Combination testing of multidrug-resistant cystic fibrosis isolates of Pseudomonas aeruginosa: use of a new parameter, the susceptible breakpoint index. J. Antimicrob. Chemother. 65, 82–90.
Moore, R.A., Chan, L., Hancock, R.E., 1984. Evidence for two distinct mechanisms of resistance to polymyxin B in Pseudomonas aeruginosa. Antimicrob. Agents Chemother. 26, 539–545.
Moskowitz, S.M., Ernst, R.K., Miller, S.I., 2004. PmrAB, a two-component regulatory system of Pseudomonas aeruginosa that modulates resistance to cationic antimicrobial peptides and addition of aminoarabinose to lipid A. J. Bacteriol. 186, 575–579.
Newton, B.A., 1956. The properties and mode of action of the polymyxins. Bacteriol. Rev. 20, 14–27.
Nicas, T.I., Hancock, R.E., 1983. Alteration of susceptibility to EDTA, polymyxin B and gentamicin in Pseudomonas aeruginosa by divalent cation regulation of outer membrane protein H1. J. Gen. Microbiol. 129, 509–517.
Pamp, S.J., Gjermansen, M., Johansen, H.K., Tolker-Nielsen, T., 2008. Tolerance to the antimicrobial peptide colistin in Pseudomonas aeruginosa biofilms is linked to metabolically active cells, and depends on the pmr and mexAB-oprM genes. Mol. Microbiol. 68, 223–240.
Pitt, T.L., Sparrow, M., Warner, M., Stefanidou, M., 2003. Survey of resistance of Pseudomonas aeruginosa from UK patients with cystic fibrosis to six commonly prescribed antimicrobial agents. Thorax 58, 794–796.
Punpanich, W., Tantichattanon, W., Wongwatcharapaiboon, S., Treeratweeraphong, V., 2008. In vitro susceptibility pattern of cephalosporin-resistant Gram-negative bacteria. J. Med. Assoc. Thai. 91 (Suppl 3), S21–27.
Raetz, C.R., Whitfield, C., 2002. Lipopolysaccharide endotoxins. Annu. Rev. Biochem. 71, 635–700.

Reeves, P.R., Hobbs, M., Valvano, M.A., Skurnik, M., Whitfield, C., Coplin, D., Kido, N., Klena, J., Maskell, D., Raetz, C.R., Rick, P.D., 1996. Bacterial polysaccharide synthesis and gene nomenclature. Trends Microbiol. 4, 495–503.

Rose, F., Heuer, K.U., Sibelius, U., Hombach-Klonisch, S., Kiss, L., Seeger, W., Grimminger, F., 2000. Targeting lipopolysaccharides by the nontoxic polymyxin B nonapeptide sensitizes resistant *Escherichia coli* to the bactericidal effect of human neutrophils. J. Infect. Dis. 182, 191–199.

Roussos, N., Karageorgopoulos, D.E., Samonis, G., Falagas, M.E., 2009. Clinical significance of the pharmacokinetic and pharmacodynamic characteristics of fosfomycin for the treatment of patients with systemic infections. Int. J. Antimicrob. Agents 34, 506–515.

Schafer, J.J., Goff, D.A., Stevenson, K.B., Mangino, J.E., 2007. Early experience with tigecycline for ventilator-associated pneumonia and bacteremia caused by multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. Pharmacotherapy 27, 980–987.

Schindler, M., Osborn, M.J., 1979. Interaction of divalent cations and polymyxin B with lipopolysaccharide. Biochemistry 18, 4425–4430.

Schulin, T., 2002. In vitro activity of the aerosolized agents colistin and tobramycin and five intravenous agents against Pseudomonas aeruginosa isolated from cystic fibrosis patients in southwestern Germany. J. Antimicrob. Chemother. 49, 403–406.

Souli, M., Kontopidou, F.V., Koratzanis, E., Antoniadou, A., Giannitsioti, E., Evangelopoulou, P., Kannavaki, S., Giamarellou, H., 2006. In vitro activity of tigecycline against multiple-drug-resistant, including pan-resistant, gram-negative and gram-positive clinical isolates from Greek hospitals. Antimicrob. Agents Chemother. 50, 3166–3169.

Sung, H., Choi, S.J., Yoo, S., Kim, M.N., 2007. In vitro antimicrobial synergy against imipenem-resistant Acinetobacter baumannii. Korean J. Lab. Med. 27, 111–117.

Tam, V.H., Chang, K.T., Abdelraouf, K., Brioso, C.G., Ameka, M., McCaskey, L.A., Weston, J.S., Caeiro, J.P., Garey, K.W., 2010. Prevalence, resistance mechanisms, and susceptibility of multidrug-resistant bloodstream isolates of Pseudomonas aeruginosa. Antimicrob. Agents Chemother. 54, 1160–1164.

Tan, T.Y., Hsu, L.Y., Koh, T.H., Ng, L.S., Tee, N.W., Krishnan, P., Lin, R.T., Jureen, R., 2008. Antibiotic resistance in gram-negative bacilli: a Singapore perspective. Ann. Acad. Med. Singapore 37, 819–825.

Tan, T.Y., Ng, S.Y., 2006. The in-vitro activity of colistin in gram-negative bacteria. Singapore Med. J. 47, 621–624.

Tognim, M.C., Gales, A.C., Penteado, A.P., Silbert, S., Sader, H.S., 2006. Dissemination of IMP-1 metallo- beta -lactamase-producing Acinetobacter species in a Brazilian teaching hospital. Infect. Control Hosp. Epidemiol. 27, 742–747.

Tsubery, H., Ofek, I., Cohen, S., Fridkin, M., 2000. Structure-function studies of polymyxin B nonapeptide: implications to sensitization of gram-negative bacteria. J. Med. Chem. 43, 3085–3092.

Varaiya, A., Kulkarni, M., Bhalekar, P., Dogra, J., 2008. Incidence of metallo-beta-lactamase-producing Pseudomonas aeruginosa in diabetes and cancer patients. Indian J. Pathol. Microbiol. 51, 200–203.

Walkty, A., Decorby, M., Nichol, K., Mulvey, M.R., Hoban, D., Zhanel, G., 2008. Antimicrobial susceptibility of Pseudomonas aeruginosa isolates obtained from patients in Canadian intensive care units as part of the Canadian National Intensive Care Unit study. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 61, 217–221.

Warren, H.S., Kania, S.A., Siber, G.R., 1985. Binding and neutralization of bacterial lipopolysaccharide by colistin nonapeptide. Antimicrob. Agents Chemother. 28, 107–112.

Winfield, M.D., Groisman, E.A., 2004. Phenotypic differences between Salmonella and Escherichia coli resulting from the disparate regulation of homologous genes. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 101, 17162–17167.

Winfield, M.D., Latifi, T., Groisman, E.A., 2005. Transcriptional regulation of the 4-amino-4-deoxy-L-arabinose biosynthetic genes in Yersinia pestis. J. Biol. Chem. 280, 14765–14772.

Yan, A., Guan, Z., Raetz, C.R., 2007. An undecaprenyl phosphate-aminoarabinose flippase required for polymyxin resistance in *Escherichia coli*. J. Biol. Chem. 282, 36077–36089.

Yang, Q.W., Xu, Y.C., Chen, M.J., Hu, Y.J., Ni, Y.X., Sun, J.Y., Yu, Y.S., Kong, H.S., He, L., Wu, W.Y., Ye, H.F., Yang, Y.M., Zhu, L.N., Guo, S.H., Ji, P., Zhu, Z.H., Ren, J.K., Zhang, L.X., Sun, Z.Y., Zhu, X.H., Tong, M.Q., Zhao, W.S., Mei, Y.N., Liu, Y., Zhang, Z.J., Duan, Q., Li, D., Liu, P.P., Wang, J., Han, L.X., Wang, H., Xie, X.L., 2007. Surveillance of antimicrobial resistance among nosocomial gram-negative pathogens from 15 teaching hospitals in China in 2005. Zhonghua Yi Xue Za Zhi 87, 2753–2758.

Yau, W., Owen, R.J., Poudyal, A., Bell, J.M., Turnidge, J.D., Yu, H.H., Nation, R.L., Li, J., 2009. Colistin hetero-resistance in multidrug-resistant Acinetobacter baumannii clinical isolates from the Western Pacific region in the SENTRY antimicrobial surveillance programme. J. Infect. 58, 138–144.

Zhanel, G.G., Karlowsky, J.A., Rubinstein, E., Hoban, D.J., 2006. Tigecycline: a novel glycylcycline antibiotic. Expert Rev. Anti Infect. Ther. 4, 9–25.