

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
ORIGINAL PAPER

Προοπτική μελέτη βακτηριαιμίας
από *Klebsiella pneumoniae*
Παράγοντες κινδύνου και κλινική σημασία
των μεταλλο-β-λακταμασών τύπου VIM-1

ΣΚΟΠΟΣ Στελέχη *K. pneumoniae* που παράγουν μεταλλο-β-λακταμάσες (MBL) τύπου VIM έχουν περιγραφεί πρόσφατα ως αίτια απειλητικών για τη ζωή λοιμώξεων. Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν ο προσδιορισμός των παραγόντων κινδύνου για βακτηριαιμία από VIM-θετικά στελέχη και η αξιολόγηση της κλινικής σημασίας της παραγωγής MBL τύπου VIM. ΥΛΙΚΟ-ΜΕΘΟΔΟΣ Πραγματοποιήθηκε προοπτική μελέτη σε τρία νοσοκομεία της Αθήνας από 2004–2006. Ασθενείς με βακτηριαιμία από *K. pneumoniae* εντοπίστηκαν και παρακολουθήθηκαν μέχρι το τέλος της νοσηλείας τους, ενώ οι κλινικές πληροφορίες καταγράφηκαν σε προσχεδιασμένο ερωτηματολόγιο. Η ευαισθησία στα αντιβιοτικά προσδιορίστηκε με Etest. Εξετάστηκαν η παραγωγή μεταλλο-β-λακταμασών και ευρέος φάσματος β-λακταμασών με τη δοκιμασία διάχυσης των δίσκων, η παρουσία του υπεύθυνου γονιδίου *bla*_{VIM-1} με PCR και η κλωνικότητα των στελεχών με PFGE. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ Συμπεριλήφθησαν 178 ασθενείς με βακτηριαιμία από *K. pneumoniae*, 67 (37,6%) από VIM-θετικά και 111 (62,4%) από VIM-αρνητικά στελέχη. Οι MIC της ιμιπενέμης για τα VIM-θετικά στελέχη κυμαίνονταν από πλήρη ευαισθησία έως υψηλού επιπέδου αντοχή: 19 VIM-θετικά στελέχη ήταν ανθεκτικά στην ιμιπενέμη και 48 ευαίσθητα, ενώ κανένα από τα VIM-αρνητικά στελέχη δεν παρουσίαζε αντοχή στις καρβαπενέμες. Όλα τα VIM-θετικά στελέχη ήταν πολυανθεκτικά. Η προηγούμενη χρήση καρβαπενέμης (OR 4,14, 95% CI 1,75–9,81, P=0,001) και η νοσηλεία σε μονάδα εντατικής θεραπείας (OR 9,32, 95% CI 3,91–22,20, P<0,001) ήταν ανεξάρτητοι παράγοντες κινδύνου για βακτηριαιμία από VIM-θετικό στέλεχος. Οι ασθενείς με λοίμωξη από VIM-θετικά και VIM-αρνητικά στελέχη είχαν συγκρίσιμη θνητότητα. Η ηλικία (OR 1,03, 95% CI 1,00–1,05, P=0,03), η MIC της ιμιπενέμης >4 µg/mL (OR 4,27, 95% CI 1,41–12,95, P=0,01) και η παρουσία ταχέως θανατηφόρου υποκείμενου νοσήματος (OR 3,15, 95% CI 1,23–8,04, P=0,016) ήταν ανεξάρτητοι παράγοντες κινδύνου για θνητότητα στις 14 ημέρες. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ Τα στελέχη *K. pneumoniae* που παράγουν μεταλλο-β-λακταμάσες τύπου VIM αποτελούν κύρια νοσοκομειακά παθογόνα στην Ελλάδα και προκαλούν θανατηφόρες λοιμώξεις, ειδικά σε ασθενείς των μονάδων εντατικής θεραπείας και σε ασθενείς με προηγούμενη έκθεση στις καρβαπενέμες. Η βακτηριαιμία από VIM-θετικά στελέχη χαρακτηρίζεται από αυξημένη θνητότητα όταν το στέλεχος είναι ανθεκτικό στις καρβαπενέμες.

ΑΡΧΕΙΑ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ 2009, 26(3):374–383
ARCHIVES OF HELLENIC MEDICINE 2009, 26(3):374–383

Π. Πετρίκκος,¹
Χ. Κοσμίδης,¹
Μ. Ψυχογιού,¹
Π. Τάσσιος,²
Λ. Τζουβελέκης,²
Α. Αυλάμη,³
Ι. Στεφάνου,³
Ε. Πλατσούκα,⁴
Ο. Πανιάρα,⁴
Α. Ξανθάκη,⁵
Μ. Τούτουζα,⁵
Ε. Βρυώνης,⁶
Α. Σκουτέλης,⁶
Κ. Γεωργούση,⁷
Χ. Μπάμια,⁸
Γ. Πετρίκκος,¹
Γ.Λ. Δαΐκος¹

¹Α΄ Προπαιδευτική Παθολογική Κλινική, Πανεπιστήμιο Αθηνών, «Λαϊκό» Νοσοκομείο, Αθήνα

²Εργαστήριο Μικροβιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

³Εργαστήριο Μικροβιολογίας, «Λαϊκό» Νοσοκομείο, Αθήνα

⁴Εργαστήριο Μικροβιολογίας, Νοσοκομείο «Ευαγγελισμός», Αθήνα

⁵Εργαστήριο Μικροβιολογίας, Νοσοκομείο «Ιπποκράτειο», Αθήνα

⁶Ε΄ Παθολογική Κλινική, Νοσοκομείο «Ευαγγελισμός», Αθήνα

⁷Β΄ Παθολογική Κλινική, Νοσοκομείο «Ιπποκράτειο», Αθήνα

⁸Εδρα Υγιεινής και Επιδημιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

Prospective study of *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: Risk factors and clinical significance of type VIM-1 metallo-beta-lactamases

Abstract at the end of the article

Λέξεις ευρετηρίου

Βακτηριαιμία
Klebsiella
Μεταλλο-β-λακταμάσες

Υποβλήθηκε 11.6.2008
Εγκρίθηκε 24.6.2008

Οι καρβαπενέμες αποτελούν την πλέον αξιόπιστη θεραπευτική επιλογή για σοβαρές νοσοκομειακές λοιμώξεις από Gram-αρνητικούς μικροοργανισμούς. Τα τελευταία χρόνια, η αξιοπιστία τους έχει κλονιστεί λόγω της διάδοσης στελεχών που παράγουν μεταλλο-β-λακταμάσες (MBL).¹⁻⁵ Οι συχνότεροι τύποι MBL είναι οι IMP και VIM. Τα ένζυμα αυτά υδρολύουν τις καρβαπενέμες και όλες τις υπόλοιπες β-λακτάμες, με εξαίρεση την αζτρεονάμη. Επιπλέον, τα γονίδια των MBL συχνά συνυπάρχουν στο ίδιο ιντεγκρόνιο ή πλασμίδιο με άλλα γονίδια αντοχής, με αποτέλεσμα οι μικροοργανισμοί που παράγουν MBL να είναι συχνά πολυανθεκτικοί, γεγονός που ελαττώνει ακόμη περισσότερο τις θεραπευτικές μας επιλογές.⁶⁻⁸

MBL έχουν περιγραφεί παγκοσμίως, αρχικά στην *Pseudomonas aeruginosa* και στη συνέχεια σε *Enterobacteriaceae*.^{6,9-12} Πρόσφατα, έχει περιγραφεί η εμφάνιση στελεχών *Klebsiella pneumoniae* που παράγει VIM, κυρίως σε χώρες της νότιας Ευρώπης.^{3,11} Στην Ελλάδα, τα VIM-θετικά στελέχη ενδημούν σε αρκετά νοσοκομεία και προκαλούν σοβαρές λοιμώξεις.^{8,13} Σύμφωνα με προηγούμενες μελέτες,¹⁴ αλλά και από στοιχεία του WHONET, η διάδοση αυτών των στελεχών φαίνεται να έχει συμβεί σε σχετικά βραχεία χρονική περίοδο στην Ελλάδα, πιθανότατα μεταξύ 2002 και 2003.

Αν και υπάρχουν αρκετές αναφορές για τη διασπορά των μικροοργανισμών που παράγουν MBL,^{8,11,15-17} δεν έχει διευκρινιστεί η κλινική σημασία της παραγωγής MBL σε λοιμώξεις που προκαλούνται από *K. pneumoniae*. Με δεδομένη τη σπουδαιότητα της *K. pneumoniae* ως πολυανθεκτικού μικροβίου, πραγματοποιήθηκε μια προοπτική μελέτη για να διερευνηθούν (α) τα μικροβιολογικά χαρακτηριστικά των βακτηριακών στελεχών από VIM-θετικά στελέχη, (β) οι παράγοντες κινδύνου για βακτηριαιμία από τέτοια στελέχη και (γ) η επίδραση της παραγωγής VIM στην έκβαση αυτών των λοιμώξεων. Τα μικροβιολογικά δεδομένα της μελέτης έχουν ήδη παρουσιαστεί.¹⁸ Περιληπτικά, ποσοστό 37,6% των στελεχών *K. pneumoniae* παρήγαν VIM, τα οποία ήταν πολυανθεκτικά και ανήκαν σε 12 διαφορετικούς κλώνους. Στην παρούσα μελέτη παρουσιάζονται τα επιδημιολογικά ευρήματα και η κλινική σημασία της παραγωγής MBL τύπου VIM.

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

Σχεδιασμός της μελέτης

Πραγματοποιήθηκε μια προοπτική μελέτη σε τρία τριτοβάθμια νοσοκομεία της Αθήνας: στο Νοσοκομείο Α, 500 κλινών, από Φεβρουάριο 2004 έως Μάρτιο 2006 και στα Νοσοκομεία Β και Γ, 1000 και 400 κλινών, αντίστοιχα, από Φεβρουάριο 2005 έως Μάρτιο 2006. Από τα μικροβιολογικά εργαστήρια γινόταν καθημερινή

ενημέρωση για επεισόδια βακτηριαιμίας από *K. pneumoniae*. Όλοι οι ασθενείς με μία ή περισσότερες θετικές καλλιέργειες αίματος για *K. pneumoniae* εντάσσονταν στη μελέτη. Παρακολούθηση της κλινικής πορείας γινόταν δύο φορές εβδομαδιαίως μέχρι την έξοδο ή το θάνατο του ασθενούς. Σχετικές πληροφορίες, όπως δημογραφικά χαρακτηριστικά, υποκείμενα νοσήματα, βαρύτητα νόσου, χρήση ανοσοκατασταλτικών φαρμάκων, επεμβατικοί χειρισμοί και προηγούμενη χρήση αντιβιοτικών, καταγράφηκαν σε προσχεδιασμένο ερωτηματολόγιο. Το σημείο σύγκρισης ήταν η θνητότητα στις 14 ημέρες από την έναρξη της βακτηριαιμίας. Ασθενείς που εξήλθαν από το νοσοκομείο πριν από τις 14 ημέρες θεωρήθηκαν επιβιώσαντες. Η μελέτη εγκρίθηκε από τις επιτροπές δεοντολογίας των νοσοκομείων.

Μικροβιολογία

Οι καλλιέργειες αίματος πραγματοποιήθηκαν με το αυτοματοποιημένο σύστημα Wider I (Dade Behring MicroScan, West Sacramento, CA, USA) και η ταυτοποίηση έγινε με το API 20E (BioMerieux, Marcy L' Etoile, France). Οι ευαισθησίες στα αντιβιοτικά προσδιορίστηκαν με Etest (AB Biodisk, Solna, Sweden). Ο προσδιορισμός των υπολοίπων χαρακτηριστικών των στελεχών, όπως η παραγωγή ευρέος φάσματος β-λακταμάσης (ESBL), οι τύποι PFGE και η παρουσία του γονιδίου *bla_{VIM}*, έχουν παρουσιαστεί σε άλλη εργασία.¹⁸

Ορισμοί

Τα επεισόδια βακτηριαιμίας κατατάχθηκαν σε μία από τις τρεις κατηγορίες σύμφωνα με την ταξινόμηση κατά Friedman:¹⁹ νοσοκομειακές (θετικές αιμοκαλλιέργειες από ασθενείς που ήδη νοσηλεύονταν για 48 ώρες ή περισσότερο), σχετιζόμενες με τις υπηρεσίες υγείας (θετικές αιμοκαλλιέργειες εντός 48 ωρών από την εισαγωγή, σε ασθενή που είχε νοσηλεία κατά τους προηγούμενους 3 μήνες, διέμενε σε γηροκομείο, υποβαλλόταν σε αιμοκάθαρση ή είχε λάβει ενδοφλέβια χημειοθεραπεία) και της κοινότητας (θετικές αιμοκαλλιέργειες εντός 48 ωρών από την εισαγωγή, σε ασθενείς που δεν πληρούσαν τα ανωτέρω κριτήρια). Η εστία της λοίμωξης ήταν μία από τις ακόλουθες: ουροποιητικό, κοιλία, ενδοφλέβιοι καθετήρες, αναπνευστικό, μαλακά μόρια και πρωτοπαθής (άγνωστη), σύμφωνα με την ταξινόμηση του CDC.²⁰ Προκειμένου να γίνουν συγκρίσεις με βάση τη βαρύτητα του υποκείμενου νοσήματος, χρησιμοποιήθηκε η ταξινόμηση κατά McCabe και Jackson,²¹ σύμφωνα με την οποία το υποκείμενο νόσημα ταξινομείται ως ταχέως θανατηφόρο, δυνητικά θανατηφόρο και μη θανατηφόρο. Ως ανοσοκατασταλμένοι θεωρήθηκαν οι ασθενείς που ελάμβαναν ανοσοκατασταλτικά φάρμακα, οι ασθενείς με AIDS και οι ουδετεροπενικοί (<1000 ουδετερόφιλα/μL). Η βαρύτητα της βακτηριαιμίας καταγράφηκε με τη βαθμολόγηση Pitt bacteremia.²² Ως κατάλληλη εμπειρική αντιμικροβιακή θεραπεία για ένα επεισόδιο βακτηριαιμίας ορίστηκε η θεραπεία με τουλάχιστον ένα δραστικό αντιβιοτικό σε επαρκή δοσολογία και έναρξη εντός 48 ωρών από τη λήψη της αιμοκαλλιέργειας. Ως κατάλληλη οριστική θεραπεία ορίστηκε η θεραπεία με δραστικό αντιβιοτικό, που άρχισε εντός τουλάχιστον 48 ωρών. Η ταξινόμηση

των στελεχών ως ευαίσθητων ή ανθεκτικών έγινε με βάση τα αποτελέσματα του Etest (σε ορισμένες περιπτώσεις τα αποτελέσματα διέφεραν από εκείνα που αναφέρονταν από το μικροβιολογικό εργαστήριο) και τα όρια ευαισθησίας όπως καθορίζονται από το CLSI.²³ Για ασθενείς με πολυμικροβιακή βακτηριαμία, η θεραπεία θα έπρεπε να είναι δραστική για όλα τα απομονωθέντα στελέχη για να χαρακτηριστεί ως κατάλληλη.

Στατιστική ανάλυση

Τα δεδομένα αναλύθηκαν με το πρόγραμμα SPSS 12.0 για Windows. Η σύγκριση των μεταβλητών έγινε με το χ^2 ή το Fisher's exact test για κατηγορικές μεταβλητές και με το Student's t-test ή το Mann-Whitney U test για συνεχείς μεταβλητές. Έγινε πολυπαραγοντική ανάλυση (logistic regression analysis) για τον προσδιορισμό παραγόντων με ανεξάρτητη συσχέτιση με τη βακτηριαμία από VIM-θετικά στελέχη. Μεταβλητές για τις οποίες η τιμή του P ήταν $\leq 0,20$ περιελήφθησαν στο μοντέλο. Διαγράμματα επιβίωσης σχεδιάστηκαν με τη μέθοδο Kaplan-Meier και η σύγκρισή τους έγινε με το log-rank test.

Η επίδραση της αντοχής στις καρβαπενέμες (MIC της ιμιπενέμης >4 $\mu\text{g}/\text{mL}$) στη θνητότητα αξιολογήθηκε με πολυπαραγοντική ανάλυση (logistic regression analysis) με τη χρήση ιεραρχικού μοντέλου, όπως έχει περιγραφεί σε άλλες μελέτες.^{24,25} Οι μεταβλητές εισήχθησαν στο μοντέλο ως εξής: Βήμα 1: μεταβλητές σχετιζόμενες με τον ασθενή, βήμα 2: μεταβλητές σχετιζόμενες με τη λοίμωξη και σημαντικές μεταβλητές από το βήμα 1, βήμα 3: μεταβλητές σχετιζόμενες με τη θεραπεία και σημαντικές μεταβλητές από τα βήματα 1 και 2. Τιμή του $P \leq 0,05$ ήταν το όριο για την αποδοχή ή μη μιας μεταβλητής σε κάθε βήμα. Η αντοχή στην ιμιπενέμη (MIC >4 $\mu\text{g}/\text{mL}$), ως μεταβλητή, παρέμενε στο μοντέλο ανεξάρτητα από την τιμή του P. Υπολογίστηκαν επίσης ο σχετικός κίνδυνος (OR) και το 95% διάστημα αξιοπιστίας (CI). Όλες οι αναλύσεις ήταν two-tailed και $P \leq 0,05$ θεωρήθηκε ως σημαντικό.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Ασθενείς

Συνολικά, μελετήθηκαν 178 ασθενείς με βακτηριαμία από *Klebsiella pneumoniae*. Ενενήντα (50,6%) από το Νοσοκομείο Α, 62 (34,8%) από το Νοσοκομείο Β και 26 (14,6%) από το Νοσοκομείο Γ. Οι 96 (53,9%) προέρχονταν από παθολογικές κλινικές, οι 54 (30,3%) από μονάδες εντατικής θεραπείας και οι 28 (15,7%) από χειρουργικές κλινικές. Τα κλινικά και τα επιδημιολογικά δεδομένα των ασθενών παρουσιάζονται στον πίνακα 1. Εκατόν εννέα (61,2%) ασθενείς ήταν άνδρες και 69 (38,8%) ήταν γυναίκες. Η μέση ηλικία των ασθενών ήταν 60,6 έτη (17–97 έτη). Εκατόν τριάντα πέντε (75,8%) βακτηριαμίες ήταν νοσοκομειακές, 27 (15,2%) σχετιζόνταν με προηγούμενη νοσηλεία σε νοσοκομείο και 16 (9,0%) προέρχονταν από την κοινότητα. Η μέση διάρκεια νοσηλείας πριν από την εμφάνιση της βακτηριαμίας ήταν $23,6 \pm 36,8$ ημέρες. Η πιθανή εστία της βακτηριαμίας ήταν το

Πίνακας 1. Χαρακτηριστικά 178 ασθενών με βακτηριαμία από *K. pneumoniae*.

Χαρακτηριστικό	n (%)
Ηλικία, μέση \pm SD, έτη	60,34 \pm 18,46
Φύλο	
Άνδρες	109 (61,2)
Γυναίκες	69 (38,8)
Είδος λοίμωξης	
Λοίμωξη κοινότητας	16 (9)
Σχετιζόμενη με τις υπηρεσίες υγείας	27 (15,2)
Νοσοκομειακή	135 (75,8)
Εστία βακτηριαμίας	
Ουροποιητικό	30 (16,9)
Πνεύμονας	46 (25,8)
Κοιλία	34 (19,1)
Ενδοφλέβιος καθετήρας	11 (6,2)
Μαλακά μόρια	8 (4,5)
Άγνωστη	49 (27,5)
Υποκείμενο νόσημα	
Αιματολογική κακοήθεια	34 (19,1)
Συμπαγής όγκος	36 (20,2)
Καρδιακή νόσος	37 (20,8)
Πνευμονική νόσος	23 (12,9)
Διαβήτης	38 (21,3)
Νεφρική ανεπάρκεια	33 (18,6)
Κίρρωση	13 (7,3)
Ανοσοκαταστολή	50 (28,1)
Κανένα	8 (4,5)
Βαρύτητα υποκείμενου νοσήματος*	
Μη θανατηφόρο	11 (6,5)
Τελικώς θανατηφόρο	126 (74,1)
Ταχέως θανατηφόρο	33 (19,4)
Βαθμολόγηση Pitt bacteremia	
0–2	89 (50)
3–5	52 (29,2)
>5	37 (20,8)

*Σύμφωνα με την ταξινόμηση McCabe-Jackson²¹

ουροποιητικό σύστημα σε 30 περιπτώσεις, η κοιλία σε 34, οι ενδοφλέβιοι καθετήρες σε 11, το δέρμα και τα μαλακά μόρια σε 8 και το αναπνευστικό σε 46. Σε 49 περιπτώσεις η πύλη εισόδου του μικροβίου δεν προσδιορίστηκε. Εκατόν εβδομήντα ασθενείς έπασχαν από κάποιο υποκείμενο νόσημα. Το υποκείμενο νόσημα ήταν ταχέως θανατηφόρο σε 33 ασθενείς, δυνητικά θανατηφόρο σε 126 ασθενείς και μη θανατηφόρο σε 11. Οι υπόλοιποι 8 ασθενείς δεν έπασχαν από κάποιο υποκείμενο νόσημα.

Μικροοργανισμοί

Εξήντα επτά (37,6%) από τα 176 στελέχη περιείχαν το γονίδιο *bla_{VIM-1}*. Οι MIC της ιμιπενέμης για 67 VIM-θετικά στελέχη κυμαίνονταν από 0,125–32 µg/mL. Δέκα εννέα στελέχη ήταν ανθεκτικά στην ιμιπενέμη (MIC >4 µg/mL) και 48 ευαίσθητα (MIC ≤4 µg/mL). Οι MIC της μεροπενέμης ήταν μία έως δύο φορές μικρότερες. Όλα τα VIM-θετικά στελέχη ήταν ανθεκτικά στην αμοξικιλίνη-κλαβουλανικό, τικαρκιλίνη-κλαβουλανικό, πιπερακιλίνη, πιπερακιλίνη-ταζομπακτάμη, κεφοξιτίνη και στις τρίτης γενεάς κεφαλοσπορίνες. Ένα VIM-θετικό στέλεχος ήταν ευαίσθητο στην πιπερακιλίνη-ταζομπακτάμη και δύο στην κεφεπίμη. Σαράντα επτά από τα VIM-θετικά στελέχη παρουσίαζαν ανθεκτικότητα ή χαμηλή ευαισθησία στην αζτρεονάμη λόγω παραγωγής ευρέος φάσματος β-λακταμασών. Υψηλά ποσοστά αντοχής διαπιστώθηκαν επίσης για τα ακόλουθα αντιβιοτικά:

τομπραμυκίνη (100%), γενταμικίνη (47,8%), αμικασίνη (86,6%), κοτριμοξαζόλη (100%), τετρακυκλίνη (85,1%) και σιπροφλοξασίνη (86,6%). Με βάση τα παραπάνω, τα VIM-θετικά στελέχη χαρακτηρίζονται ως πολυανθεκτικά. Κανένα από τα 111 VIM-αρνητικά στελέχη δεν παρουσίασε αντοχή στις καρβαπενέμες (MIC της ιμιπενέμης από 0,064–0,5 µg/mL). Ωστόσο, 18 (16,2%) από τα VIM-αρνητικά στελέχη ήταν ESBL-θετικά και είχαν πολυανθεκτικό φαινότυπο. Τα υπόλοιπα 93 στελέχη ήταν ευαίσθητα στις νεότερες β-λακτάμες.

Παράγοντες κινδύνου

Στον πίνακα 2 παρουσιάζονται οι παράγοντες κινδύνου που σχετίζονταν με λοίμωξη από μικροοργανισμούς που παρήγαν VIM-1. Στην πολυπαραγοντική ανάλυση, ανεξάρτητοι παράγοντες κινδύνου για εμφάνιση μικροβι-

Πίνακας 2. Μονοπαραγοντική ανάλυση των παραγόντων κινδύνου για βακτηριαμία από *K. pneumoniae* που παράγει VIM-1.

	VIM-θετικά (n=67)	VIM-αρνητικά (n=111)	OR (95% CI)	P
Ηλικία, μέση±SD, έτη	59,25±18,44	61,43±18,48	0,99 (0,98–1,01)	0,447
Φύλο			1,22 (0,65–2,29)	0,634
Άνδρες	43/109 (39,4)	66/109 (60,6)		
Γυναίκες	24/69 (34,8)	45/69 (65,2)		
Τύπος βακτηριαμίας				<0,001
Κοινότητας	0/16 (0)	16/16 (100)		
Σχετιζόμενη με υπηρεσίες υγείας	3/27 (11,1)	24/27 (88,9)		
Νοσοκομειακή	64/135 (47,4)	71/135 (52,6)		
Χρήση αντιβιοτικών τους προηγούμενους 3 μήνες			10,45 (2,40–45,54)	<0,001
Ναι	65/149 (43,6)	84/149 (56,4)		
Όχι	2/29 (6,9)	27/29 (93,1)		
Χρήση καρβαπενέμης τους προηγούμενους 3 μήνες			6,82 (3,37–13,82)	<0,001
Ναι	37/54 (68,5)	17/54 (31,5)		
Όχι	30/124 (24,2)	94/124 (75,8)		
Τομέας νοσηλείας				<0,001
Χειρουργικός	8/28 (28,6)	20/28 (71,4)	1,86 (0,70–4,92)	0,21
Μονάδα εντατικής θεραπείας	42/54 (77,8)	12/54 (22,2)	16,26 (7,10–37,24)	<0,001
Παθολογικός	17/96 (17,7)	79/96 (82,3)	1	
Ημέρες νοσηλείας έως τη βακτηριαμία, μέση±SD	32,21±42,82	18,39±31,79	1,01 (1,00–1,02)	<0,001
Συνοδά νοσήματα			0,98 (0,53–1,79)	0,940
>2	31/83 (37,3)	52/83 (62,7)		
≤2	36/95 (37,9)	59/95 (62,1)		
Επεμβατικοί χειρισμοί				
Κεντρική γραμμή	53/91 (58,2)	38/91 (41,8)	7,27 (3,58–14,76)	<0,001
Ουροκαθετήρας	58/107 (54,2)	49/107 (45,8)	8,15 (3,68–18,07)	<0,001
Διασωλήνωση	46/64 (71,9)	18/64 (28,1)	11,32 (5,50–23,29)	<0,001

αιμίας από VIM-θετικά στελέχη ήταν η προηγηθείσα λήψη καρβαπενέμης (OR 4,14, 95% CI 1,75–9,81, P=0,001) και η νοσηλεία σε μονάδα εντατικής θεραπείας (OR 9,32, 95% CI 3,91–22,2, P<0,001).

Θεραπεία

Από τους 67 ασθενείς με λοίμωξη από VIM-θετικό στέλεχος, 51 (76,1%) έλαβαν κατάλληλη εμπειρική θεραπεία και 16 (23,9%) ακατάλληλη. Από αυτούς που έλαβαν κατάλληλη εμπειρική θεραπεία, οι 16 έλαβαν μονοθεραπεία με καρβαπενέμη, 19 έλαβαν συνδυασμό φαρμάκων με βάση την καρβαπενέμη και 16 έλαβαν θεραπευτικό σχήμα που δεν περιείχε καρβαπενέμη, αλλά περιελάμβανε τουλάχιστον ένα δραστικό φάρμακο. Από τους 111 ασθενείς που είχαν λοίμωξη από VIM-αρνητικό μικροοργανισμό, 98 έλαβαν κατάλληλη εμπειρική θεραπεία και 13 ακατάλληλη. Αξιοσημείωτο είναι ότι οι ασθενείς που είχαν λοίμωξη από ανθεκτικό στην ιμιπενέμη μικροοργανισμό (MIC >4 μg/mL) έλαβαν σε μεγαλύτερο ποσοστό (OR 5,36, 95% CI 1,91–15,00, P=0,003) ακατάλληλη εμπειρική θεραπεία σε σύγκριση με τους ασθενείς με λοίμωξη από ευαίσθητο στην ιμιπενέμη μικροοργανισμό (MIC ≤4 μg/mL).

Έκβαση

Η θνητότητα στις 14 ημέρες για τους ασθενείς με λοίμωξη από VIM-θετικό στέλεχος ήταν 23,9% (απεβίωσαν 16 από τους 67 ασθενείς), ενώ για τους ασθενείς με λοίμωξη από VIM-αρνητικό μικροοργανισμό ήταν 17,1% (απεβίωσαν 19 από τους 111 ασθενείς). Η θνητότητα από VIM-θετικά στελέχη, ανάλογα με την αντιμικροβιακή θεραπεία, ήταν: 18,8% (3/16) για τους ασθενείς που έλαβαν μονοθεραπεία με καρβαπενέμη, 21,1% (4/19) γι' αυτούς που έλαβαν συνδυασμό φαρμάκων με βάση την καρβαπενέμη, 25% (4/16) γι' αυτούς που έλαβαν άλλη θεραπεία χωρίς καρβαπενέμη με τουλάχιστον ένα δραστικό αντιβιοτικό, 31,2% (5/16) για τους ασθενείς που έλαβαν ακατάλληλη εμπειρική αντιμικροβιακή αγωγή και 28,6% (4/14) γι' αυτούς που έλαβαν ακατάλληλη οριστική θεραπεία. Στον πίνακα 3 παρουσιάζονται οι παράγοντες κινδύνου που σχετίζονται με τη θνητότητα. Η παρουσία VIM ή ESBL δεν επηρέασε τη θνητότητα. Η ομάδα των ασθενών με μικροβιαμία από VIM-θετική, ιμιπενέμη-ανθεκτική *Klebsiella pneumoniae* είχε μεγαλύτερη θνητότητα σε σχέση με την ομάδα των ασθενών με μικροβιαμία από VIM-αρνητικό μικροοργανισμό. Επίσης, η βαρύτητα του υποκείμενου νοσήματος, η εστία της μικροβιαμίας και η βαθμολόγηση Pitt bacteremia ≥4 σχετιζόνταν με μεγαλύτερη θνητότητα. Οι ασθενείς που είχαν πολυμικροβιακή βακτηριαιμία καθώς και αυτοί που έλαβαν ακατάλληλη εμπειρική ή οριστική θεραπεία παρου-

σίαζαν επίσης τάση για μεγαλύτερη θνητότητα. Στην εικόνα 1 παρουσιάζεται η καμπύλη επιβίωσης Kaplan-Meier των ασθενών με βάση την παραγωγή VIM-1 και την ευαισθησία του παθογόνου στην ιμιπενέμη. Οι ασθενείς με μικροβιαμία από VIM-θετικά, ιμιπενέμη-ανθεκτικά στελέχη (MIC της ιμιπενέμης >4 μg/mL) είχαν μεγαλύτερη θνητότητα από εκείνους με VIM-αρνητικά στελέχη (P=0,03), ενώ οι ασθενείς με βακτηριαιμία από VIM-θετικά, ιμιπενέμη-ευαίσθητα στελέχη (MIC ≤4 μg/mL) είχαν παρόμοια ποσοστά θνητότητας σε σχέση με εκείνους που είχαν λοίμωξη από VIM-αρνητικό παθογόνο. Μετά από πολυπαραγοντική ανάλυση, με τη χρήση ιεραρχικού μοντέλου, ανεξάρτητοι παράγοντες που επηρέασαν τη θνητότητα στις 14 ημέρες ήταν: MIC της ιμιπενέμης >4 μg/mL (OR 1,03, 95% CI 1,00–1,05, P=0,03) και ταχέως θανατηφόρο υποκείμενο νόσημα (OR 3,15, 95% CI 1,23–8,04, P=0,016).

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

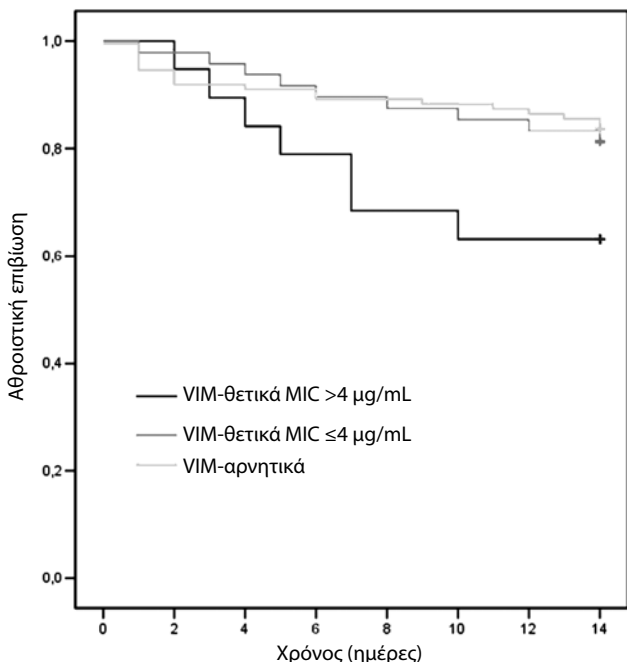
Στην παρούσα μελέτη περιγράφονται τα χαρακτηριστικά των βακτηριαιμιών από *Klebsiella pneumoniae* που παράγουν MBL τύπου VIM και υπογραμμίζεται η κλινική σημασία των ενζύμων αυτών για την έκβαση των λοιμώξεων. Η αυξημένη θνητότητα που παρατηρήθηκε σε ασθενείς με λοίμωξη από στελέχη ανθεκτικά στις καρβαπενέμες είναι ένα νέο και μείζον θεραπευτικό πρόβλημα.

Η ανάλυση των δεδομένων προσδιόρισε παράγοντες κινδύνου για εμφάνιση βακτηριαιμίας από VIM-θετικά στελέχη. Οι ασθενείς της μονάδας εντατικής θεραπείας και οι ασθενείς που είχαν εκτεθεί σε καρβαπενέμες είχαν μεγαλύτερη πιθανότητα να εμφανίσουν βακτηριαιμία από στελέχη που παράγουν VIM. Αν και η προηγούμενη χρήση οποιουδήποτε αντιμικροβιακού παράγοντα είχε συσχέτιση με VIM-θετικά στελέχη, μόνο η έκθεση σε καρβαπενέμες είχε ισχυρή συσχέτιση και παρέμεινε ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου στην πολυπαραγοντική ανάλυση. Αυτό το εύρημα συμφωνεί με μια πρόσφατη αναφορά από την Αυστραλία, σύμφωνα με την οποία το 75% των ασθενών με αποικισμό ή λοίμωξη από στελέχη που παρήγαν IMP καρβαπενεμάση είχαν προηγούμενη χρήση καρβαπενέμης.¹² Εντούτοις, σε άλλες αναφορές, στελέχη που παράγουν MBL απομονώθηκαν από ασθενείς χωρίς προηγούμενη χρήση καρβαπενεμών ή άλλων αντιμικροβιακών,¹⁵ υποδηλώνοντας ότι στο νοσοκομειακό περιβάλλον ενεργούν και άλλοι παράγοντες που ευνοούν τη διασπορά των VIM-θετικών βακτηρίων σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς.

Δύο τρόποι μετάδοσης των VIM-θετικών στελεχών διαπιστώθηκαν, όπως έχει ήδη αναφερθεί σε προηγούμενη δημοσίευση: ο πρώτος ήταν με οριζόντια μεταφορά του

Πίνακας 3. Παράγοντες σχετιζόμενοι με τη θνητότητα στις 14 ημέρες για 178 ασθενείς με βακτηριαμία από *Klebsiella pneumoniae*.

Παράγοντες	Επιβίωσαν, n=144 Αριθμός ασθενών/σύνολο (%)	Κατέληξαν, n=34 Αριθμός ασθενών/σύνολο (%)	OR (95% CI)	P
Ηλικία, μέση±SD, έτη	59,62±18,38	64,82±18,39	1,02 (0,99–1,04)	0,139
Φύλο			0,76 (0,36–1,62)	0,558
Άνδρες	90/109 (82,6)	19/109 (17,4)		
Γυναίκες	54/69 (78,3)	15/69 (21,7)		
Συνοδά νοσήματα			1,58 (0,75–3,36)	0,255
>2	64/83 (77,1)	19/83 (22,9)		
≤2	80/95 (84,2)	15/95 (15,8)		
Ανοσοκαταστολή			1,29 (0,57–2,89)	0,531
Ναι	39/50 (78)	11/50 (22)		
Όχι	105/128 (82)	23/128 (18)		
Ταχέως θανατηφόρο υποκείμενο νόσημα			2,19 (0,93–5,19)	0,086
Ναι	23/33 (69,7)	10/33 (30,3)		
Όχι	121/145 (83,4)	24/145 (16,6)		
Βαθμολόγηση			2,95 (1,36–6,37)	0,006
Pitt bacteremia	51/72 (70,8)	21/72 (29,2)		
≥4	93/106 (87,7)	13/106 (12,3)		
<4				
Παραγωγή ESBL			0,99 (0,45–2,17)	0,989
Ναι	51/63 (81)	12/63 (19)		
Όχι	93/115 (80,9)	22/115 (19,1)		
Παραγωγή VIM-1			1,62 (0,76–3,45)	0,240
Ναι	51/67 (76,1)	16/67 (23,9)		
Όχι	93/111 (83,8)	18/111 (16,2)		
MIC ιμιπενέμης				0,123
VIM-θετικά				
≤4 μg/mL	39/48 (81,3)	9/48 (18,8)	1,19 (0,49–2,88)	0,696
>4 μg/mL	12/19 (63,2)	7/19 (36,8)	3,01 (1,04–8,70)	0,041
VIM-αρνητικά	93/111 (83,8)	18/111 (16,2)	1	
Εστία				0,004
Άγνωστη	36/49 (73,5)	13/49 (26,5)	5,06 (1,05–24,26)	0,043
Κοιλία	28/34 (82,4)	6/34 (17,6)	3,00 (0,56–16,16)	0,201
Ενδοφλέβιος καθετήρας	9/11 (81,8)	2/11 (18,2)	3,11 (0,38–25,38)	0,289
Μαλακά μόρια	6/8 (75)	2/8 (25)	4,67 (0,54–40,03)	0,16
Πνεύμονες	37/46 (80,4)	9/46 (19,6)	3,40 (0,68–17,02)	0,136
Ουροποιητικό	28/30 (93,3)	2/30 (6,7)	1	
Πολυμικροβιακή λοίμωξη				0,054
Ναι	24/35 (68,6)	11/35 (31,4)	2,39 (1,03–5,55)	
Όχι	120/143 (83,9)	23/143 (16,1)	1	
Νοσοκομειακή ή σχετιζόμενη με υπηρεσίες υγείας λοίμωξη			1,02 (0,27–3,82)	0,97
Ναι	131/162 (80,9)	31/162 (19,1)		
Όχι	13/16 (81,3)	3/16 (18,8)		
Κατάλληλη εμπειρική θεραπεία			2,23 (0,91–5,47)	0,118
Όχι	20/29 (69)	9/29 (31)		
Ναι	124/149 (83,2)	25/149 (16,8)		
Κατάλληλη οριστική θεραπεία			2,30 (0,90–5,89)	0,098
Όχι	17/25 (68)	8/25 (32)		
Ναι	127/153 (83)	26/153 (17)		



Εικόνα 1. Καμπύλες επιβίωσης Kaplan-Meier ασθενών με βακτηριαιμία από *Klebsiella pneumoniae* σε σχέση με την ευαισθησία στις καρβαπενέμες. Ασθενείς με λοίμωξη από VIM-θετικό στέλεχος με MIC ιμιπενέμης >4 µg/mL είχαν μεγαλύτερη πιθανότητα να καταλήξουν από ασθενείς με VIM-αρνητικό στέλεχος (P=0,03).

*bla*_{VIM-1} γονιδίου μεταξύ διαφορετικών κλώνων *K. pneumoniae* και ο δεύτερος με κλωνική διασπορά μεταξύ των ασθενών. Συγκεκριμένα, το γονίδιο *bla*_{VIM-1} είχε διεισδύσει σε 12 διακριτούς κλώνους, και κάποιοι από αυτούς (c, d και e) είχαν μεταδοθεί από ασθενή σε ασθενή και στα τρία νοσοκομεία.¹⁸ Το γεγονός ότι το γονίδιο *bla*_{VIM-1} περιέχεται σε ιντεγκρόνιο τάξης 1, το οποίο εντοπίζεται σε συζευκτικό πλασμίδιο, μπορεί να εξηγήσει την ταχεία διασπορά σε στελέχη *K. pneumoniae*, τα οποία χαρακτηρίζονται από ιδιαίτερη ικανότητα απόκτησης γονιδίων αντοχής.^{8,26,27} Πράγματι, σημαντικό ποσοστό (37,6%) των λοιμώξεων από *K. pneumoniae* προκλήθηκαν από VIM-θετικούς μικροοργανισμούς.

Συνολικά, οι ασθενείς με λοίμωξη από VIM-θετικά στελέχη είχαν παρόμοια θνητότητα με εκείνους που είχαν λοίμωξη από VIM-αρνητικά στελέχη. Η υποκατηγορία, όμως, των ασθενών με VIM-θετικό, ιμιπενέμη-ανθεκτικό στέλεχος είχαν μεγαλύτερη θνητότητα από τους μάρτυρες (VIM-αρνητικά). Αυτά τα ευρήματα συμφωνούν με προηγούμενες αναφορές και οδηγούν στο συμπέρασμα ότι η παραγωγή VIM επηρεάζει την έκβαση της βακτηριαιμίας από *K. pneumoniae* μόνον όταν το στέλεχος είναι ανθεκτικό στις καρβαπενέμες.¹³ Στην πολυπαραγοντική ανάλυση, ανεξάρτητοι παράγοντες κινδύνου για αυξημένη θνητότητα παρέμειναν η αντοχή στις καρβαπενέμες (MIC

>4 µg/mL), η ηλικία και η παρουσία ταχέως θανατηφόρου νοσήματος. Η μεταβλητή «βαρύτητα της βακτηριαιμίας» (όπως εκφράζεται από τη βαθμολόγηση Pitt bacteremia) δεν περιελήφθη στο τελικό στατιστικό μοντέλο, εφόσον εκφράζει το αποτέλεσμα της βακτηριαιμίας και όχι την αρχική κατάσταση του ασθενούς πριν από τη λοίμωξη, όπως έχει προταθεί και από άλλους ερευνητές.²⁸

Στην αξιολόγηση των ευρημάτων αυτών προέκυψε ένα σημαντικό ερώτημα: γιατί η αντοχή στις καρβαπενέμες σχετίζεται με αυξημένη θνητότητα; Υποθέτοντας ότι η βαρύτητα της βακτηριαιμίας μπορεί να οφείλεται στη λοιμογόνο δύναμη των μικροβίων, είναι πιθανόν τα ανθεκτικά στελέχη να ήταν περισσότερο λοιμογόνα από τα ευαίσθητα και να προκάλεσαν υψηλότερα ποσοστά θνητότητας. Αυτή η υπόθεση υποστηρίζεται από ευρήματα προηγούμενης μελέτης, η οποία απέδωσε τη δυσμενή έκβαση ασθενών με λοίμωξη από *P. aeruginosa* που παρήγε MBL σε πιθανή αυξημένη λοιμογόνο δύναμη των στελεχών.^{24,19,30} Εναντίον της υπόθεσης αυτής, όμως, είναι το εύρημα προηγούμενης μελέτης μας ότι η γενετική ανάλυση των στελεχών ανέδειξε ίδιους κλώνους μεταξύ VIM-θετικών ιμιπενέμη-ανθεκτικών, VIM-θετικών ιμιπενέμη-ευαίσθητων και VIM-αρνητικών στελεχών.¹⁸ Περιλαμβάνοντας στο στατιστικό μοντέλο την παράμετρο «κατάλληλη θεραπεία», η επίδραση της αντοχής στις καρβαπενέμες στη θνητότητα ελαττώθηκε (OR από 4,3 σε 3,5), υποδηλώνοντας ότι, σε κάποιο βαθμό, η δυσμενής έκβαση της λοίμωξης από ανθεκτικά στην ιμιπενέμη μικρόβια οφείλεται στην ακαταλληλότητα της θεραπείας. Αυτή η υπόθεση υποστηρίζεται και από το εύρημα ότι οι ασθενείς με λοίμωξη από VIM-θετικό ιμιπενέμη-ανθεκτικό στέλεχος είχαν 5,36 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα να λάβουν ακατάλληλη θεραπεία.

Η κλινική αποτελεσματικότητα των καρβαπενεμών κατά των στελεχών που παράγουν VIM δεν μπορούσε να μελετηθεί ευθέως, λόγω της φύσης της μελέτης και της συγχρόνησης άλλων αντιμικροβιακών φαρμάκων. Ωστόσο, είναι άξιο αναφοράς ότι από 13 ασθενείς με λοίμωξη από VIM-θετικά, ευαίσθητα στην ιμιπενέμη στελέχη, οι οποίοι έλαβαν μονοθεραπεία με καρβαπενέμη, οι 10 επέζησαν. Για το συγκεκριμένο θέμα έχουν εκφραστεί διαφορετικές απόψεις στη βιβλιογραφία. Αρκετοί ερευνητές υποστηρίζουν την άποψη ότι οι μικροοργανισμοί που παράγουν MBL πρέπει να θεωρούνται ανθεκτικοί στις καρβαπενέμες και να αναφέρονται από το εργαστήριο ως ανθεκτικοί, ανεξάρτητα από την *in vitro* ευαισθησία τους σε αυτές.³¹ Το ισχυρό inoculum effect αυτών των στελεχών και η απομόνωσή τους από ασθενείς που έχουν εκτεθεί σε καρβαπενέμες ενισχύουν την προηγούμενη άποψη και αποτελούν επιχειρήματα κατά της χρήσης των καρβαπενεμών για τη θεραπεία των λοιμώξεων αυτών.^{11,12} Αντίθετα, και σε συμ-

φωνία με τα δικά μας ευρήματα, σε άλλη μελέτη 3 ασθενείς με βακτηριαιμία από *K. pneumoniae* που παρήγε IMP για τις οποίες η MIC της ιμιπενέμης ήταν εντός των ορίων ευαισθησίας και έλαβαν μονοθεραπεία με καρβαπενέμη, επέζησαν.³² Επιπλέον, σε ένα πειραματικό μοντέλο, υπήρξε ισχυρή συσχέτιση μεταξύ των *in vitro* δοκιμασιών ευαισθησίας και της *in vivo* δράσης της ιμιπενέμης. Ειδικότερα, η βακτηριοκτόνος δράση της ιμιπενέμης ήταν ισχυρότερη σε στέλεχος VIM-αρνητικό (MIC=0,25 µg/mL), ενδιάμεση σε VIM-θετικά, ιμιπενέμη-ευαίσθητα στελέχη (MIC 2–4 µg/mL) και ασθενέστερη σε VIM-θετικό, ιμιπενέμη-ανθεκτικό στέλεχος (MIC=32 µg/mL).³³ Επομένως, είναι πιθανό οι καρβαπενέμες να διατηρούν τη δραστηριότητά τους έναντι VIM-θετικών, ευαίσθητων στις καρβαπενέμες στελεχών και να παραμένουν χρήσιμες για τη θεραπεία λοιμώξεων που προκαλούνται από αυτά.

Συμπερασματικά, τα στελέχη *K. pneumoniae* που πα-

ράγουν VIM καρβαπενεμάση έχουν διαδοθεί ευρέως στην Ελλάδα και προκαλούν απειλητικές για τη ζωή λοιμώξεις σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς. Αυτές οι λοιμώξεις προσβάλλουν κατά κανόνα ασθενείς της μονάδας με προηγούμενη έκθεση στις καρβαπενέμες και συνοδεύονται από αυξημένη θνητότητα, όταν το στέλεχος είναι ανθεκτικό στις καρβαπενέμες. Τα χρησιμοποιούμενα όρια ευαισθησίας για τις καρβαπενέμες ίσως παραμένουν χρήσιμα για την επιλογή κατάλληλης θεραπείας λοιμώξεων που προκαλούνται από VIM-θετικούς μικροοργανισμούς.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η μελέτη αυτή χρηματοδοτήθηκε εν μέρει από το Κέντρο Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων (ΚΕΕΛΠΝΟ) (αρ. πρωτ. 2252, 26.1.2006).

ABSTRACT

Prospective study of *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: Risk factors and clinical significance of type VIM-1 metallo-beta-lactamases

P. PETRIKKOS,¹ C. KOSMIDIS,¹ M. PSICHOGIOU,¹ P. TASSIOS,² L. TZOUVELEKIS,² A. AVLAMIS,³ I. STEFANOY,³ E. PLATSOUKA,⁴ O. PANIARA,⁴ A. XANTHAKI,⁵ M. TOUTOUZA,⁵ E. VRIONIS,⁶ A. SKOUTELIS,⁶ K. GEORGIOUSI,⁷ C. BAMIA,⁸ G. PETRIKKOS,¹ G.L. DAIKOS¹

¹1st Department of Propedeutic Medicine, University of Athens, Athens, ²Laboratory of Microbiology, University of Athens, Athens, ³Laboratory of Microbiology, "Laiko" General Hospital, Athens, ⁴Laboratory of Microbiology, "Evangelismos" General Hospital, Athens, ⁵Laboratory of Microbiology, "Ippokrateion" General Hospital, Athens, ⁶5th Department of Medicine, "Evangelismos" General Hospital, Athens, ⁷2nd Department of Medicine, "Ippokrateion" General Hospital, Athens, ⁸Department of Hygiene and Epidemiology, University of Athens, Athens, Greece

Archives of Hellenic Medicine 2009, 26(3):374–383

OBJECTIVE VIM-1-producing *K. pneumoniae* (VPKP) is an emerging pathogen causing life-threatening infections. This study was conducted to identify the factors associated with bloodstream infections (BSI) caused by VPKP and to evaluate the importance of VIM production on outcome. **METHOD** A prospective observational study was conducted in three tertiary care hospitals located in Athens, Greece, from 2004 to 2006. Consecutive patients with *K. pneumoniae* BSI were identified and monitored until discharge or death. Pertinent information was abstracted in a pre-designed form. Antimicrobial susceptibility testing was performed by Etest. Microbial characteristics, including MBL production, *bla*_{VIM} gene carriage and chromosomal types were examined. The data were analyzed to assess for risk factors associated with VPKP BSIs and 14-day mortality. **RESULTS** A total of 178 patients with *Klebsiella pneumoniae* BSIs were identified; 67 (37.6%) were infected with a VPKP and 111 with a non-VPKP. MICs of imipenem for VPKP varied from the susceptible range to high-level resistance; 19 isolates were resistant to imipenem and 48 susceptible, whereas none of the non-VPKP exhibited resistance to carbapenems. VPKP were invariably multi-drug resistant. Prior use of carbapenems (OR 4.14; 95% CI 1.75–9.81; P=0.001) and stay in an intensive care unit (ICU) (OR 9.32; 95% CI 3.91–22.20; P<0.01) were independently associated with VPKP BSIs. Overall, patients infected with a VPKP had mortality rates similar to those infected with a non-VPKP. MIC of imipenem >4 µg/mL (OR 4.27; 95% CI 1.41–12.95; P=0.01), older age (OR 1.03; 95% CI 1.00–1.05; P=0.03) and rapidly fatal underlying disease (OR 3.15; 95% CI 1.23–8.04; P=0.016) were independently associated with 14-day mortality. **CONCLUSIONS** VPKP have spread widely in Greece and cause

life-threatening infections, mainly in ICU patients who have had prior exposure to carbapenems. VPKP BSIs are associated with high mortality rates when the infecting organism is resistant to carbapenems.

Key words: Bacteremia, *Klebsiella*, Metallo-beta-lactamases

Βιβλιογραφία

- BUSH K. New beta-lactamases in Gram-negative bacteria: Diversity and impact on the selection of antimicrobial therapy. *Clin Infect Dis* 2001, 32:1085–1089
- JACOBY GA, MUNOZ-PRICE LS. The new beta-lactamases. *N Engl J Med* 2005, 352:380–391
- NORDMANN P, POIREL L. Emerging carbapenemases in Gram-negative aerobes. *Clin Microbiol Infect* 2002, 8:321–331
- WALSH TR, TOLEMAN MA, POIREL L, NORDMANN P. Metallo-beta-lactamases: The quiet before the storm? *Clin Microbiol Rev* 2005, 8:306–325
- QUEENAN AM, BUSH K. Carbapenemases: The versatile beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev* 2007, 20:440–458
- SCOULICA EV, NEONAKIS IK, GIKAS AI, TSELENTIS YJ. Spread of bla(VIM-1)-producing *E. coli* in a university hospital in Greece. Genetic analysis of the integron carrying the bla(VIM-1) metallo-beta-lactamase gene. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2004, 48:167–172
- RICCIO ML, PALLECCHI L, FONTANA R, ROSSOLINI GM. In 70 of plasmid pAX22, a bla(VIM-1)-containing integron carrying a new aminoglycoside phosphotransferase gene cassette. *Antimicrob Agents Chemother* 2001, 45:1249–1253
- GIKKOUPIS P, XANTHAKI A, KANELOPOULOU M, VLAHAKI A, MIRIAGOU V, KONTOU S ET AL. VIM-1 metallo-beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* strains in Greek hospitals. *J Clin Microbiol* 2003, 41:3893–3896
- ITO H, ARAKAWA Y, OHSUKA S, WACHAROTAYANKUN R, KATO N, OHTA M. Plasmid-mediated dissemination of the metallo-beta-lactamase gene blaIMP among clinically isolated strains of *Serratia marcescens*. *Antimicrob Agents Chemother* 1995, 39:824–829
- POIREL L, PHAM JN, CABANNE L, GATUS BJ, BELL SM, NORDMANN P. Carbapenem-hydrolyzing metallo-beta-lactamases from *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* isolated in Australia. *Pathology* 2004, 36:366–367
- LUZZARO F, DOCQUIER JD, COLINON C, ENDIMIANI A, LOMBARDI G, AMICOSANTE G ET AL. Emergence in *Klebsiella pneumoniae* and *Enterobacter cloacae* clinical isolates of the VIM-4 metallo-beta-lactamase encoded by a conjugative plasmid. *Antimicrob Agents Chemother* 2004, 48:648–650
- PELEG AY, FRANKLIN C, BELL JM, SPELMAN DW. Dissemination of the metallo-beta-lactamase gene blaIMP-4 among Gram-negative pathogens in a clinical setting in Australia. *Clin Infect Dis* 2005, 41:1549–1556
- DAIKOS GL, KARABINIS A, PARAMYTHIOTOU E, SYRIOPOULOU VP, COSMIDIS C, AVLAMI A ET AL. VIM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections: Analysis of 28 cases. *Int J Antimicrob Agents* 2007, 29:471–473
- TZELEPI E, MAGANA C, PLATSOUKA E, SOFIANOU D, PANIARA O, LEGAKIS NJ ET AL. Extended-spectrum beta-lactamase types in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in two Greek hospitals. *Int J Antimicrob Agents* 2003, 21:285–288
- CORNAGLIA G, MAZZARIOL A, LAURETTI L, ROSSOLINI GM, FONTANA R. Hospital outbreak of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing VIM-1, a novel transferable metallo-beta-lactamase. *Clin Infect Dis* 2000, 31:1119–1125
- CONCEICAO T, BRIZIO A, DUARTE A, BARROS R. First isolation of bla(VIM-2) in *Klebsiella oxytoca* clinical isolates from Portugal. *Antimicrob Agents Chemother* 2005, 49:476
- LARTIGUE MF, POIREL L, NORDMANN P. First detection of a carbapenem hydrolyzing metalloenzyme in an *Enterobacteriaceae* isolate in France. *Antimicrob Agents Chemother* 2004, 48:4929–4930
- PSICHOGIOU M, TASSIOS PT, AVLAMIS A, STEFANOI I, KOSMIDIS C, PLATSOUKA E ET AL. Ongoing epidemic of blaVIM-1-positive *Klebsiella pneumoniae* in Athens, Greece: A prospective survey. *J Antimicrob Chemother* 2007, 61:59–63
- FRIEDMAN ND, KAYE KS, STOUT JE, MCGARRY SA, TRIVETTE SL, BRIGGS JP ET AL. Health care-associated bloodstream infections in adults: A reason to change the accepted definition of community-acquired infections. *Ann Intern Med* 2002, 137:791–797
- GARNER JS, JARVIS WR, EMORI TG, HORAN TC, HUGHES JM. CDC definitions for nosocomial infections, 1988. *Am J Infect Control* 1988, 16:128–140
- MCCABE W, JACKSON G. Gram-negative bacteremia. I. Etiology and ecology. *Arch Intern Med* 1962, 110:847–855
- PATERSON DL, KO WC, VON GOTTBURG A, MOHAPATRA S, CASELLAS JM, GOOSSENS H ET AL. International prospective study of *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: Implications of extended-spectrum beta-lactamase production in nosocomial infections. *Ann Intern Med* 2004, 140:26–32
- CLSI. *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; fourteenth informational supplement*. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa, 2004
- ZAVASCKI AP, BARTH AL, GONCALVES AL, MORO AL, FERNANDES JF, MARTINS AF ET AL. The influence of metallo-beta-lactamase production on mortality in nosocomial *Pseudomonas aeruginosa* infections. *J Antimicrob Chemother* 2006, 58:387–392
- VICTORA CG, HUTTLY SR, FUCHS SC, OLINTO MT. The role of conceptual frameworks in epidemiological analysis: A hierarchical approach. *Int J Epidemiol* 1997, 26:224–227
- MIRIAGOU V, TZELEPI E, DAIKOS GL, TASSIOS PT, TZOUVELEKIS LS. Panresistance in VIM-1-producing *Klebsiella pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother* 2005, 55:810–811
- LOLI A, TZOUVELEKIS LS, TZELEPI E, CARATTOLI A, VATOPOULOS AC, TASSIOS PT ET AL. Sources of diversity of carbapenem re-

- sistance levels in *Klebsiella pneumoniae* carrying blaVIM-1. *J Antimicrob Chemother* 2006, 58:669–672
28. MCGREGOR JC, RICH SE, HARRIS AD, PERENCEVICH EN, OSIH R, LODISE TP Jr ET AL. A systematic review of the methods used to assess the association between appropriate antibiotic therapy and mortality in bacteremic patients. *Clin Infect Dis* 2007, 45:329–337
29. LAUPLAND KB, PARKINS MD, CHURCH DL, GREGSON DB, LOUIE TJ, CONLY JM ET AL. Population-based epidemiological study of infections caused by carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in the Calgary Health Region: Importance of metallo-beta-lactamase (MBL)-producing strains. *J Infect Dis* 2005, 192:1606–1612
30. HIRAKATA Y, YAMAGUCHI T, NAKANO M, IZUMIKAWA K, MINE M, AOKI S ET AL. Clinical and bacteriological characteristics of IMP-type metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Infect Dis* 2003, 37:26–32
31. CORNAGLIA G, AKOVA M, AMICOSANTE G, CANTON R, CAUDA R, DOCQUIER JD ET AL. Metallo-beta-lactamases as emerging resistance determinants in Gram-negative pathogens: Open issues. *Int J Antimicrob Agents* 2007, 29:380–388
32. LEE NY, YAN JJ, LEE HC, LIU KH, HUANG ST, KO WC. Clinical experiences of bacteremia caused by metallo-beta-lactamase-producing Gram-negative organisms. *J Microbiol Immunol Infect* 2004, 37:343–349
33. DAIKOS GL, PANAGIOTAKOPOULOU A, TZELEPI E, LOLI A, TZOUVELEKIS LS, MIRIAGOU V. Activity of imipenem against VIM-1 metallo-beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in the murine thigh infection model. *Clin Microbiol Infect* 2007, 13:202–205

Corresponding author:

G.L. Daikos, First Department of Propedeutic Medicine, "Lai-ko" General Hospital, 75 Mikras Asias street, GR-115 26 Athens, Greece
e-mail: gdaikos@med.uoa.gr