

Univerzita Palackého v Olomouci
Lékařská Fakulta

Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny



MUDr. Jan Papajk

**Epidemiologie a prevence vzniku ventilátorových
pneumonií /VAP/ s ohledem na předchozí
antibiotickou terapii**

Dizertační práce

Školitel: doc. MUDr. Radovan Uvízl, Ph.D.

Studijní obor: Chirurgie

Olomouc 2023

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem disertační práci vypracoval samostatně a že jsem uvedl veškeré odborné literární zdroje.

V Olomouci 31. 03. 2023

.....

MUDr. Jan Papajk

Poděkování

Děkuji doc. MUDr. Radovanu Uvízlovi, Ph.D. za odborné vedení při realizaci výzkumu, zpracování dat a průběžnou motivaci i konzultace při vzniku disertační práce.

Poděkování patří i prof. MUDr. Milanu Kolářovi, Ph.D. za odborné vedení při zpracování dat, publikaci výsledků a konzultace během přípravy disertační práce.

Rád bych poděkoval Mgr. Kateřině Langové, Ph.D. za trpělivost při statistickém zpracování dat.

Poděkovat chci také paní Lence Prokopové za pomoc s grafickými úpravami disertační práce.

Na závěr bych rád velmi poděkoval mým nejbližším za trpělivost a podporu v průběhu celého studia.

Anotace

Ventilátorová pneumonie (VAP) je vůbec nejčastější nozokomiální infekcí (HAI) v intenzivní péči. Samotný vznik VAP prodlužuje dobu umělé plicní ventilace a délku hospitalizace. Navzdory posunu v ATB léčbě, podpůrné péči a opatřením pro kontrolu infekce jsou VAP nadále nejčastější příčinou morbidit a mortality nemocných v intenzivní péči. Většina VAP je způsobena Gram-negativními bakteriemi. V poslední době dochází k nárůstu HAI způsobených multirezistentními (MDR) patogeny. Přispívají k tomu některé specifické faktory. Jedním z nich je i předchozí aplikace antibiotik. Recentní prameny zmiňují vliv předchozího užití ATB zejména v souvislosti s léčbou komunitních infekcí na epidemiologii VAP. Tato práce se zabývá určením vlivu veškeré aplikace ATB předcházející vzniku VAP, a to včetně profylaxe a léčby HAI.

Obsah

1. Úvod	7
1.1 Nozokomiální infekce – problém veřejného zdravotnictví	7
1.2 Nozokomiální infekce v intenzivní péči	7
1.3 Nozokomiální pneumonie – definice pojmů	8
2. Současné poznatky ventilátorových pneumonií	10
2.1 Etiologie a patogeneze	10
2.1.1 Etiologická agens VAP	10
2.1.1.1 Multirezistentní kmeny	11
2.1.1.1.1 Mechanismus vzniku antibiotické rezistence bakteriálních patogenů ..	11
2.1.1.1.2 Míra antibiotické rezistence	12
2.1.1.1.3 Standardy testování EUCAST	14
2.1.1.2 Kolonizace	15
2.1.2 Patogeneze – mechanismy vzniku VAP	16
2.2 Rizikové faktory	17
2.3 Epidemiologie ventilátorových pneumonií	19
2.4 Diagnostika	22
2.4.1 Zobrazovací metody	23
2.4.2 Klinické projevy	25
2.4.3 Skórovací systémy	26
2.4.4 Biochemické markery	29
2.4.5 Mikrobiologické metody	29
2.5 Terapie	32
2.5.1 Současná doporučení léčby ventilátorových pneumonií	32
2.5.2 Zahájení léčby	32
2.5.3 Racionalizace ATB preskripce a lokální mikrobiologická surveillance	33
2.6 Prevence	37
2.6.1 Základní opatření	38
2.6.2 Specifická opatření	39
3. Cíl práce	42
4. Materiál a metodika	43
4.1 Design studie	43
4.2 Pacienti	43

4.3	Odběr a zpracování materiálu	44
4.4	Genotypizace vybraných bakteriálních izolátů.....	44
4.5	Klinické hodnocení	45
4.6	Statistická analýza.....	46
5.	Výsledky	47
5.1	Pilotní studie	47
5.1.1	Hodnocení souboru pilotní studie	47
5.1.2	Skupina VAP prvotní výsledky	47
5.1.3	Etiologická agens, včetně MDR patogenů - prvotní data	48
5.2	Finální studie	49
5.2.1	Hodnocení souboru kompletní data	49
5.2.2	Skupina VAP kompletní výsledky	50
5.2.3	Etiologická agens vč. MDR patogenů - kompletní data	54
5.3	Speciální část studie - vyšetření klonality	55
5.3.1	PFGE analýza izolátů <i>Klebsiella</i> spp.....	55
5.3.2	PFGE analýza izolátů <i>Escherichia</i> spp.	57
6.	Diskuze	59
7.	Závěr	63
8.	Souhrn	64
9.	Summary	66
10.	Seznam zkratek.....	68
11.	Seznam tabulek	71
12.	Seznam grafů	71
13.	Seznam obrázků.....	72
14.	Přehled publikací	73
15.	Reference	74
16.	Přílohy.....	87

1. Úvod

1.1 Nozokomiální infekce – problém veřejného zdravotnictví

Nozokomiální infekce (healthcare-associated infection, HAI) jsou infekce spojené s poskytováním zdravotní péče. Vznikají nejdříve po 48 hodinách či později od přijetí do zdravotnického zařízení [1]. V poslední dekádě činí prevalence nozokomiálních nemocí v rozvinutých zemích 4,5–12 %. To potvrzuje i evropská průřezová studie z let 2016–2017 s údajem prevalence nozokomiálních nákaz 5,2 % (interval 2,9–10,0 %). V rozvojových zemích se pak pohybuje mezi 5,7–19,1 % [2, 3]. HAI představují celosvětový problém při poskytování zdravotní péče. Nutnost přeléčení těchto infekcí prodlužuje dobu hospitalizace a zvyšuje náklady na zdravotní péči. Signifikantně zhoršují morbiditu a mortalitu pacientů [4]. Řada preventivních opatření přispívá ke snížení incidence HAI, nelze je však zcela eliminovat [2, 5].

Sledování výskytu HAI v jednotlivých zařízeních slouží k porovnání kvality poskytované péče. V souladu s platnou legislativou nemocnice spolupracují s orgánem ochrany veřejného zdraví a předkládají mu zprávy o výskytu infekčních onemocnění a opatřeních ke snížení rizik nemocničních a profesionálních infekcí viz 3. vydání Akreditačních standardů pro nemocnice Spojené Akreditační Komise o.p.s., platné od 1. 1. 2014 [6]. Způsob „Hlášení infekčních nemocí spojených se zdravotní péčí“ definuje § 2 vyhlášky MZ 306/2012 Sb.

1.2 Nozokomiální infekce v intenzivní péči

Zastoupení HAI je vyšší v intenzivní péči (19,2 % vs. 5,2 %) [3]. Dlouhodobě udávaná prevalence HAI v intenzivní péči se pohybuje v rozmezí 9–37 % [2, 7]. To potvrdila i poslední multicentrická studie s údajem výše uvedené prevalence 22 % [8].

Většina těchto infekcí vzniká v souvislosti s používáním invazivních procedur (endotracheální kanyla, močový či cévní katetr, nasogastrická sonda a jiné). Dále v souvislosti s častým předepisováním iniciální empirické antibiotické (ATB) terapie v prostředí intenzivní péče s ohledem na závažnost klinického stavu či rizikovým faktorům pacienta. Důvodem je také vyšší záchyt multirezistentních patogenů v prostředí intenzivní péče [9].

K nejčastějším HAI celosvětově patří infekce močového traktu, infekty respiračního traktu, katérové infekce a ranné infekce. V segmentu intenzivní péče jsou nejčastějšími

nozokomiálními nákazami infekty respiračního traktu (pneumonie 21,4 % a jiné infekty dolních cest dýchacích 4,3 %) [3].

1.3 Nozokomiální pneumonie – definice pojmů

Nozokomiální pneumonie (hospital-acquired pneumonia, HAP) je pneumonie, jejíž příznaky se objeví nejdříve 48 hodin od přijetí do nemocnice, a které v době přijetí nejsou vyjádřeny. Její průběh může být komplikován akutní respirační nedostatečností s nutností napojit pacienta na umělou plicní ventilaci (UPV).

Ventilátorová pneumonie (ventilator-associated pneumonia, VAP) odpovídá pneumonii, která vznikne nejdříve po 48 hodinách od zahájení UPV, kdy v okamžiku napojení nejsou přítomny známky pneumonie [10].

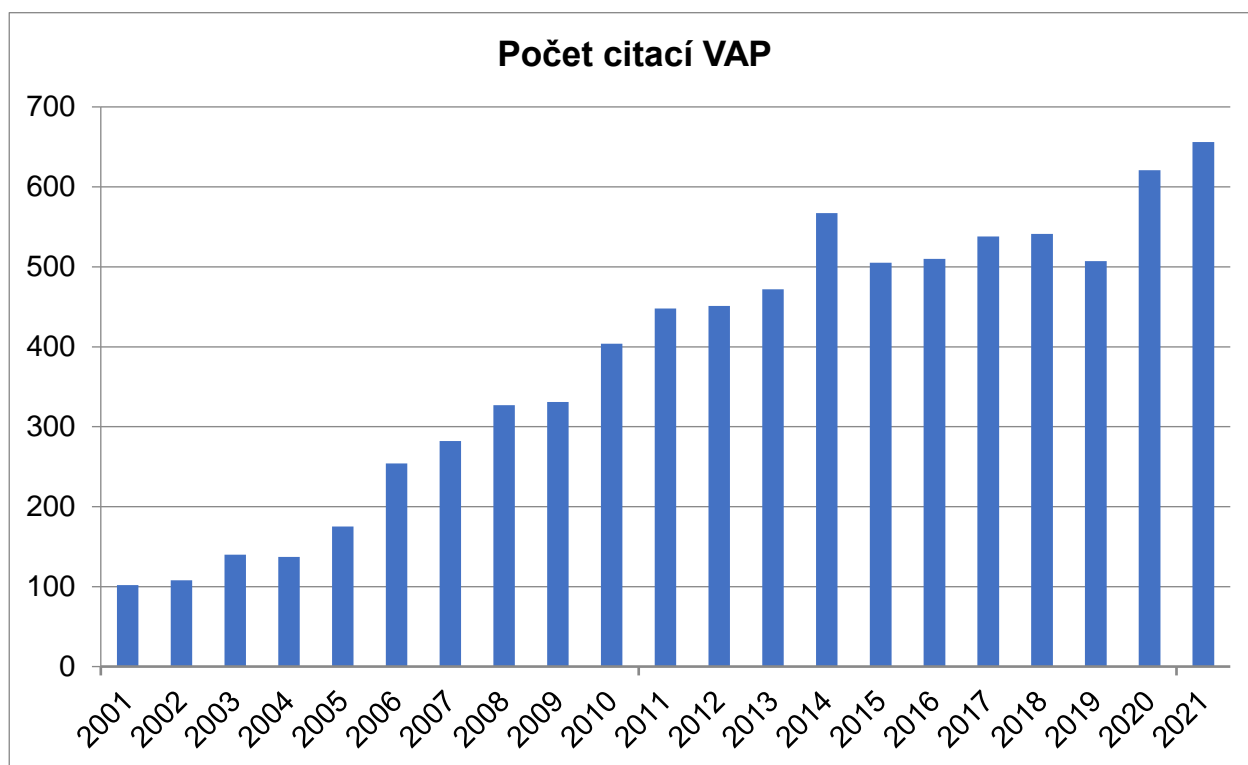
Dále rozlišujeme **ventilátorovou tracheobronchitidu** (ventilator-associated tracheobronchitis, VAT), kdy u pacientů ventilovaných déle než 48 hodin sledujeme podobné klinické známky plicní infekce, ale nejsou zachyceny nové infiltráty na skiagramu hrudníku [11]. Některé práce uvádí, že jejich léčbou můžeme snížit riziko k vzniku VAP [12, 13]. V úvodní fázi onemocnění může být obtížné je od sebe vzájemně odlišit. Zatím poslední přehledovou prací zabývající se problematikou léčby či sledování VAT byla publikována Koulenti et al. v časopise Antibiotics 2020 [14].

Od těchto nozokomiálních nákaz musíme odlišit **komunitní pneumonii** (community-acquired pneumonia, CAP). Její příznaky jsou klinicky přítomny již v prvních dvou dnech hospitalizace. Management diagnostiky a léčby vychází z příslušných doporučení a je mimo rámec této práce [15].

Aktuálnost problematiky dokládá vysoká frekvence prací, publikovaných na toto téma. V posledních 5 letech je ročně publikováno více než 500 článků týkající se ventilátorových pneumonií.

Graf 1: Výsledky vyhledávání citací VAP za posledních 20let k 9. 1. 2022

/zdroj dat: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/ventilator-associated+pneumonia/>.



Je však nutno uvést, že i přes výše uvedenou klasifikaci nelze zcela oddělit VAP od HAP. I přes zřejmé rozdíly v definici obou pojmů vidíme regionální odlišnosti v hodnocení těchto nozokomiálních pneumonií. V doporučení z roku 2016 vydané společnostmi Infectious Disease Society of America (IDSA) a American Thoracic Society (ATS) je termín HAP vyhrazen pouze pneumoniím, které nejsou spojeny s UPV. Dochází tedy k určitému zjednodušení definice pojmu. HAP a VAP jsou tu považovány za dvě zcela odlišné skupiny nozokomiálních pneumonií, které se vzájemně vylučují. Avšak pacienti s těžkou nozokomiální pneumonií, kteří v průběhu léčby této infekce dospějí do respirační insuficience s nutností UPV, kritéria pro VAP nespĺňují. Aktuální evropská guidelines z roku 2017 nadále považují VAP za podskupinu HAP. Tyto rozdíly je třeba mít na paměti při hodnocení závěrů některých studií [11, 16]. Tento problém narůstá u studií věnovaných antibiotické terapii nozokomiálních pneumonií způsobených multirezistentními (MDR) patogeny. Při designu těchto studií nelze provést zaslepení vzhledem k rezistenci MDR patogenů k většině antibiotik. Na tuto skutečnost upozorňuje Niederman ve svém článku Definitions and Challenges in Clinical Trial Design [17]. Většina prací tak zahrnuje sdílenou problematiku VAP/HAP. Z další diskuze pak můžeme zcela vyloučit pouze práce týkající se VAT.

2. Současné poznatky ventilátorových pneumonií

2.1 Etiologie a patogeneze

2.1.1 Etiologická agens VAP

Většina (více než 60 %) VAP je způsobena Gram-negativními bakteriemi (GNB). Vincent et al. ve své poslední prevalenční studii uvádí 67 % GNB. Dominantními bývají *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* a *Klebsiella pneumoniae*. V posledním období narůstá podíl Gram-pozitivních bakterií, zejména methicilin-rezistentních kmenů *Staphylococcus aureus* (MRSA) [8, 18]. Nelze opomenout houbovité původce (kvasinky a *Aspergillus fumigatus*). Jejich záchyt byl v 16 % případů [8].

Spektrum bakteriálních původců VAP se díky různým populacím pacientů, přítomnosti specifických rizikových faktorů či samotném prostředí intenzivní péče v jednotlivých zařízeních liší.

Dle doby vzniku dělíme VAP na časnou a pozdní. Při vzniku pneumonie do 4. dne od intubace mluvíme o časnou VAP. U pacientů bez rizikových faktorů bývá nejčastěji způsobena kmeny citlivými k ATB – *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* s citlivostí na methicilin. Pozdní VAP se objevuje nejdříve od 5. dne UPV. Bývá častěji způsobena MDR patogeny. Velmi často jsou zmiňované *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* a *Escherichia coli*, včetně kmenů produkujících širokospektré betalaktamázy (ESBL) [9, 10].

V poslední době dochází k nárůstu nozokomiálních infekcí způsobených MDR patogeny. Týká se to i VAP [19, 20]. K této skutečnosti přispívají některé specifické faktory: předchozí aplikace širokospektrých ATB, Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS) předcházející VAP, septický šok v okamžiku vzniku VAP, hospitalizace více než 5 dní aj. [16]. Na základě tohoto doporučení je nutno modifikovat přístup k diagnostice a léčbě nozokomiálních pneumonií pacientů ve zvýšeném riziku MDR patogenů. V současnosti se tak stírá dělení na časnou a pozdní VAP. Klasifikace VAP striktně vázaná na délku hospitalizace může potenciálně vést k opožděné či nedostatečně vedené léčbě pneumonie u osob s vyšším rizikem výskytu rezistentních patogenů. Na druhou stranu může empirická terapie vyústit i k přeléčení pacientů neinfikovaných rezistentními patogeny. Empirická léčba VAP by měla být založena na znalosti rizikových faktorů a místní prevalenci rezistentních patogenů [21]. V doporučeních Kalil Management HAP/VAP 2016 se tak již toto dělení neuplatňuje.

2.1.1.1 Multirezistentní kmeny

V literatuře se setkáváme s několika pojmy vyjadřujícími míru získané rezistence patogenů k antibiotikům. Na základě konsenzu expertů European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) a Centers for Disease Control and Prevention (CDC) vznikla mezinárodní standardizovaná terminologie. Pro každou bakterii byly stanoveny epidemiologicky významné antimikrobiální kategorie. Seznamy těchto kategorií navržených pro testování citlivosti k antibiotikům byly vytvořeny na základě dokumentů a mezních hodnot z Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI), European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) a United States Food and Drug Administration (FDA). Mezi nozokomiálními rezistentními bakteriálními kmeny rozlišujeme multirezistentní patogeny (MDR), extenzivně rezistentní patogeny (XDR) a panrezistentní patogeny (PDR). MDR je definována jako získaná rezistence k alespoň jedné látce ve 3 nebo více antimikrobiálních kategoriích, XDR je definována jako získaná necitlivost vůči všem kromě jedné či dvou antimikrobiálních skupin. Jako PDR označujeme získanou rezistenci patogena na všechna antibiotika, tedy ve všech kategoriích [22]. Nejvíce je antimikrobiální rezistence (AMR) vyjádřena a studována u těchto patogenů - *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Enterobacter* spp.) Narůstající podíl rezistentních patogenů bude vyžadovat pravidelnou surveillance AMR a hledání nových alternativ léčby [23].

2.1.1.1.1 Mechanismus vzniku antibiotické rezistence bakteriálních patogenů

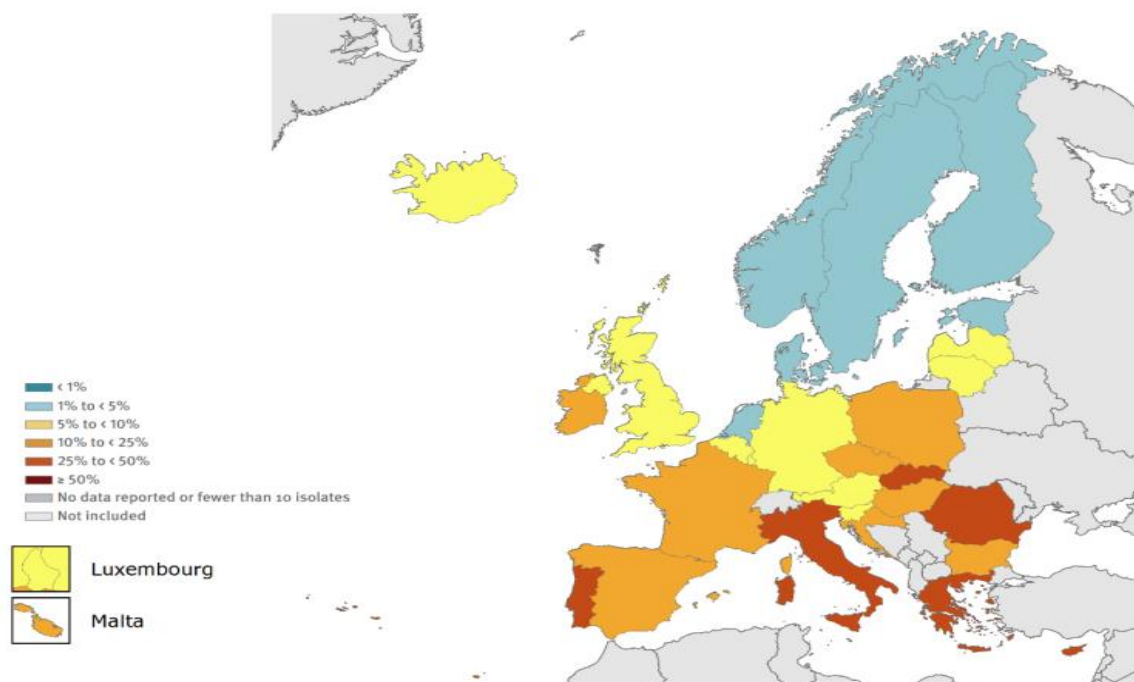
Geny zodpovědné za AMR mohou být nesené na bakteriálním chromozomu, plazmidech či transpozonech. Samotná exprese antibiotické rezistence spadá do několika širokých kategorií. Mnohé bakterie produkují enzymy, které irreverzibilně modifikují či inaktivují antibiotika (např. beta-laktamázy, aminoglykosid-modifikující enzymy). Případně se vyhýbají účinku antibiotik úpravou svých cílových míst. Změnou permeability buněčné membrány a bakteriálním efluxem dosáhnou snížené akumulace léčiva uvnitř buňky. Další možností je tvorba biofilmu [24].

2.1.1.1.2 Míra antibiotické rezistence

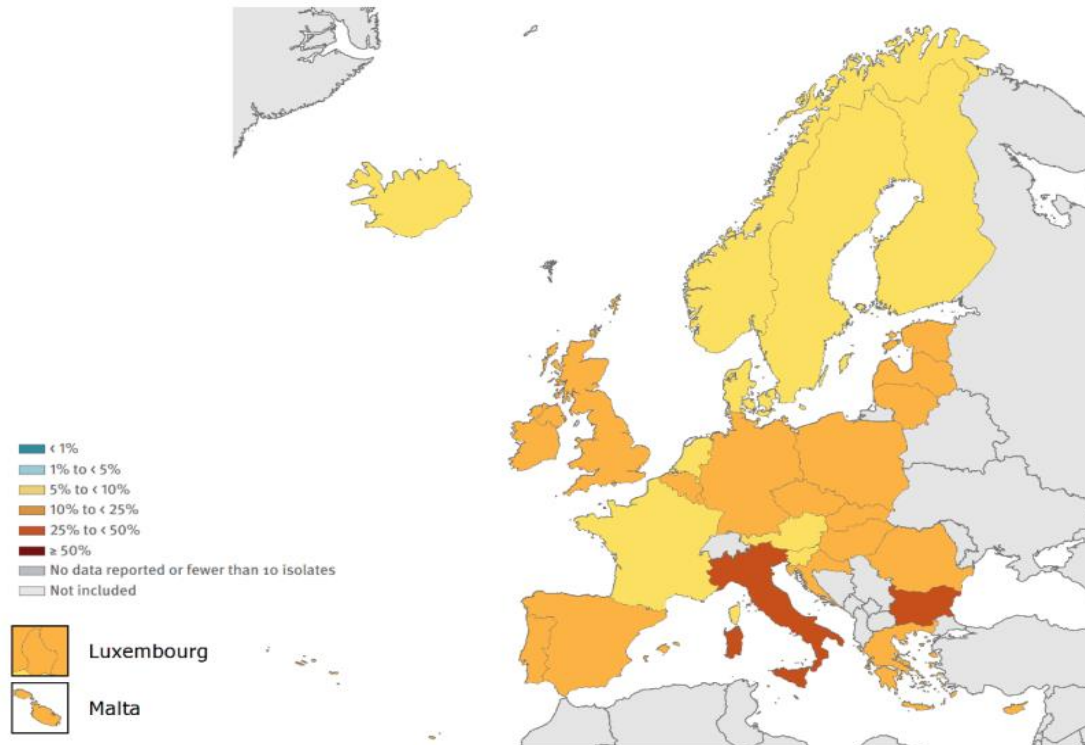
ATB rezistence představuje celosvětový problém. Zejména neadekvátní užívání antibiotik přispívá ve všech regionech světa k této potenciální hrozbě. Při cestování do zemí s vyšší prevalencí AMR mohou být tyto lidé kolonizováni MDR patogeny [25, 26, 27, 28]. V Evropě byl vytvořen veřejně přístupný systém ke sledování AMR pod záštitou ECDC. Databáze European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net) zobrazuje aktuální data či trend AMR v celém regionu či jednotlivých zemích. Tyto údaje pak lze využít při implementaci národních programů k racionalizaci preskripce a užívání antibiotik [29, 30].

Obr. 1: Rozšíření MRSA

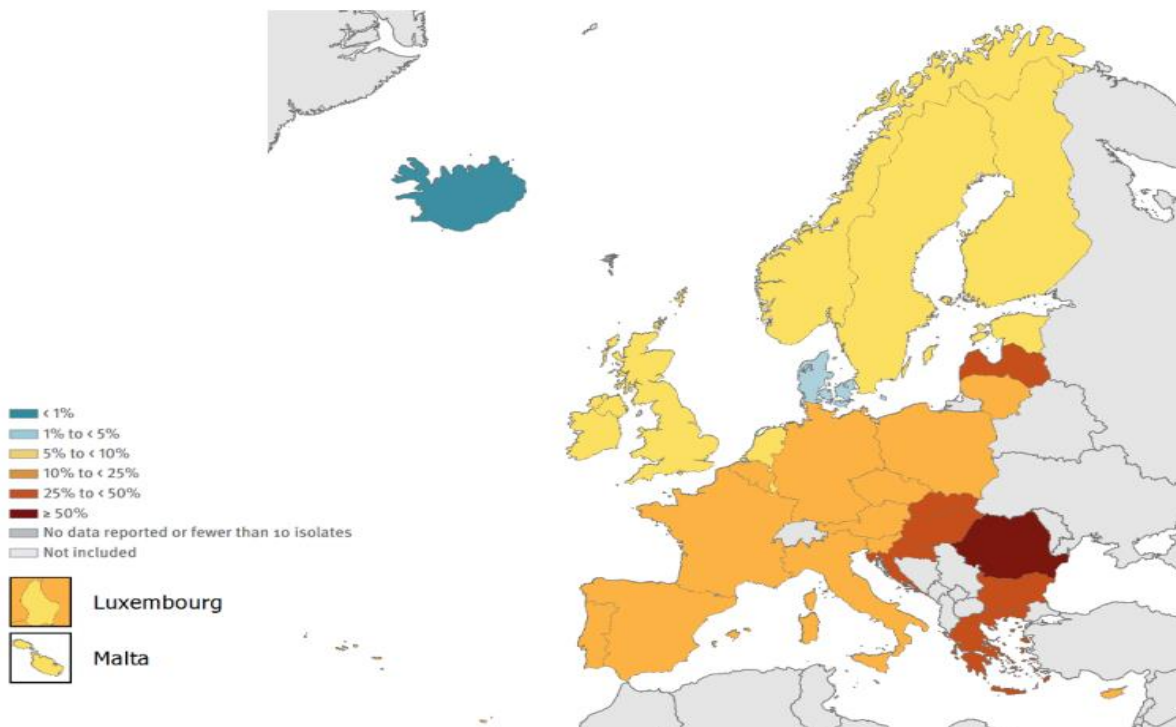
(převzato z Antimicrobial resistance in the EU/EEA (EARS-Net) - Annual Epidemiological Report for 2019 [31])



Obr. 2: Rozšíření *Escherichia coli* rezistentní k třetí generaci cefalosporinů
 (převzato z Antimicrobial resistance in the EU/EEA (EARS-Net) - Annual Epidemiological Report for 2019 [31])



Obr. 3: Rozšíření *Pseudomonas aeruginosa* rezistentní ke karbapenemům
 (převzato z Antimicrobial resistance in the EU/EEA (EARS-Net) - Annual Epidemiological Report for 2019 [31])



2.1.1.1.3 Standardy testování EUCAST

Testování antimikrobiální citlivosti se provádí fenotypovými (např. diluční mikro-metoda a E-test) nebo genotypovými metodami. Základem uvedených fenotypových metod je stanovení minimální inhibiční koncentrace (MIC) příslušného antibiotika. Klinické hraniční hodnoty (breakpoints) určují, zda bude patogen hodnocen jako citlivý, citlivý při vysoké expozici či rezistentní vůči ATB. Ostatní metody by měly být kalibrovány k těmto referenčním MIC metodám [32, 33]. Produkci širokospektrých betalaktamáz typu ESBL, AmpC a karbapenemáz lze detekovat diskovými difúzními testy příslušnými pro daný typ enzymu [34, 35]. U pozitivních fenotypových výsledků lze pomocí PCR detekovat geny specifické pro daný typ beta-laktamázy [36, 37]. Nezbytnou součástí testování citlivosti/rezistence bakterií k ATB je kontrola kvality za použití standardních referenčních bakteriálních kmenů (tab. 1).

Tab. 1: Bakteriální kmeny doporučené pro rutinní kontrolu kvality testování EUCAST (převzato z Development of the EUCAST disk diffusion antimicrobial susceptibility testing method and its implementation in routine microbiology laboratories [33])

Organism	Strain collection number	Characteristics
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	Susceptible, wild type
	NCTC 12241	
	CIP 76.24	
	DSM 1103	
	CCUG 17620	
	CECT 434	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	Susceptible, wild type
	NCTC 12903	
	CIP 76.110	
	DSM 1117	
	CCUG 17619	
	CECT 108	
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 29213	Weak β -lactamase producer
	NCTC 12973	
	CIP 103429	
	DSM 2569	
	CCUG 15915	
	CECT 794	
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212	Susceptible, wild type
	NCTC 12697	
	CIP 103214	
	DSM 2570	
	CCUG 9997	
	CECT 795	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ATCC 49619	Low-level, chromosomally mediated penicillin resistant
	NCTC 12977	
	CIP 104340	
	DSM 11967	
	CCUG 33638	
	CECT 795	
<i>Haemophilus influenzae</i>	NCTC 8468	Susceptible, wild type
	CIP 54.94	
	CCUG 23946	

ATCC, American Type Culture Collection, USA; NCTC, National Collection of Type Cultures, UK; CIP, Collection de Institut Pasteur, France; DSM, Deutsche Stammsammlung für Mikroorganismen und Zellkulturen, Germany; CCUG, The Culture Collection University of Gothenburg, Sweden; CECT, Colección Española de Cultivos Tipo, Spain.

2.1.1.2 Kolonizace

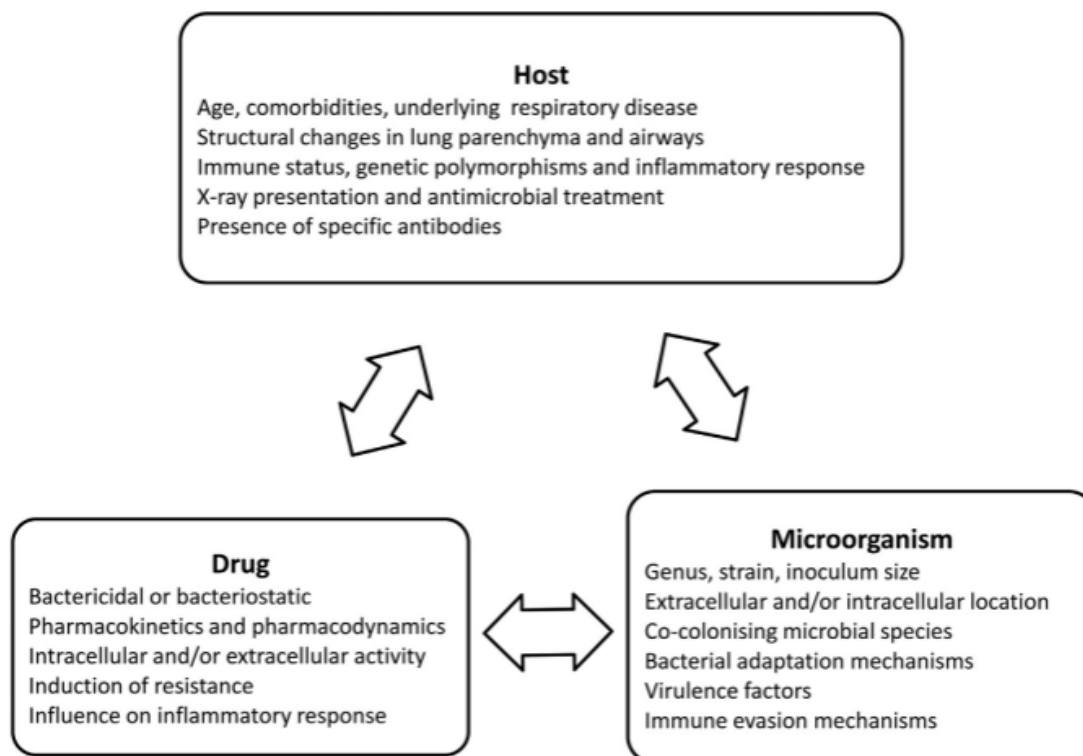
Přítomnost patogena v mikrobiologickém materiálu neznámá vždy jen aktivní infekci. Může se jednat o tzv. kolonizaci. To znamená, že zachycený patogen v daném místě, i přes zvýšené množství (např. vyjádřeno v colony-forming units na mililitr roztoku, CFU/ml), nezpůsobuje příznaky infekce. V tomto případě se jedná o součást primární či sekundární bakteriální mikroflóry. Zcela jiným případem je kontaminace. Jedná se o záchyt patogena ve vzorku, který byl kontaminován bakteriemi zavlečenými z jiného místa. Terapeutickou výzvou je léčba VAP při kolonizaci dýchacích cest více bakteriálními druhy. Bývá pak těžké

označit skutečného původce pneumonie. Mezi faktory usnadňující kolonizaci dýchacích cest patří zavedení nasogastrické sondy, změna pH žaludku a užívání antibiotik [38].

2.1.2 Patogeneze – mechanismy vzniku VAP

U zdravého jedince za normálních okolností dochází k samočisticí schopnosti dýchacích cest a eliminaci potenciálních patogenů. Uplatňují se zde jednak anatomické bariéry (hlasivky a hrtan), kašlací reflex, tracheobronchiální sekrece, mukociliární výstelka, a zejména buněčná a humorální imunita. Pneumonie vzniká po proniknutí mikrobů do dýchacích cest, jejich kolonizací a následně přerůstáním patogena při snížené obranyschopnosti hostitele či zvýšené virulenci mikroorganismu [39, 40].

Obr. 4: Klíčové faktory při vzniku respirační infekce (převzato z Bacteria in the respiratory tract-how to treat? Or do not treat? [39])



Při vzniku VAP se nejčastěji uplatňuje nežádoucí mikroaspirace potenciálně-patogenních bakterií do dolních dýchacích cest. K mikroaspiracím přispívají nejen invazivní výkony v dýchacích cestách včetně intubace či bronchoskopie, ale dochází k nim i pasivně při zatékání stagnujících sekretů (původem z paranasálních dutin, nasofaryngu, orofaryngu či žaludku) z prostoru nad obturačním balonkem endotracheální kanyly. Samotná inzerce

kanyly narušuje přirozenou bariérovou ochranu dýchacích cest [41] a vytvoření biofilmu na jejím povrchu se může stát zdrojem bakteriální kontaminace dolních dýchacích cest [42]. Další možností je inhalace kontaminovaného aerosolu. Patogen z kontaminovaného přístrojového vybavení vniká do dolních cest dýchacích a poté způsobí pneumonii. Mezi vzácné mechanismy vzniku VAP patří hematogenní rozsev a translokace bakterií. K tomuto rozsevu potenciálních patogenů dochází nejčastěji při těžké hypoperfúzi organismu během šokových stavů. Všechny tyto mechanismy se samostatně či společně podílejí na endogenním původu VAP.

Exogenním zdrojem bakteriálních původců VAP v prostředí intenzivní péče může být zdravotnický personál, přístroje, pomůcky, voda (např. *Legionella* spp.), vzduch (např. *Aspergillus* spp. a virová respirační onemocnění) aj. [43].

2.2 Rizikové faktory

Rizikové faktory vzniku VAP můžeme rozdělit na faktory hostitele a intervenční faktory. Mezi významné faktory hostitele patří věk (nad 60 let), křehkost pacienta (Clinical Frailty Scale, CFS nad 5), chronické plicní onemocnění (CHOPN), syndrom akutní dechové tísně (Acute Respiratory Distress Syndrome, ARDS), porucha vědomí (kóma), popáleniny či trauma, závažnost akutního onemocnění a sepse s multiorgánovým selháním. K intervenčním faktorům patří sedace (benzodiazepiny, propofol, opioidy), a případně podávání relaxace. Při samotné intubaci s následným napojením na umělou plicní ventilaci může dojít ke kolonizaci dýchacích cest potenciálními patogeny a následnému vzniku VAP. Nutnost reintubace toto riziko ještě zvyšuje. Časté rozpojování dýchacího okruhu či frekventní výměny jeho součástí (heat-moisture exchanger filters, HME filtry) mohou vést ke kolonizaci dýchacích cest bakteriálními patogeny. Široké použití nasogastrické sondy (NGS) k podávání stravy u kriticky nemocných, užití antacid a H₂ blokátorů v prevenci stresového vředu významně zvyšuje kolonizaci žaludku Gram-negativními bakteriemi. Navíc zavedení NGS přispívá k opakovaným mikrospiracím obsahu žaludku ztrátou integrity jícnových svěračů či vyřazením ochranných reflexů [44]. Velká rezidua žaludečního sekretu při časně enterální výživě, horizontální poloha horní poloviny těla pacienta zejména při transportu nemocného k diagnostickému či terapeutickému výkonu přispívají k opakovaným mikrospiracím kontaminovaného sekretu a následně vzniku VAP. Mezi rizikové faktory přispívající obecně ke vzniku infekčních komplikací patří pozitivní tekutinová bilance (plicní edém, plicní výpotky, ascites), nadměrné podávání transfúzních přípravků (transfusion-associated lung injury,

TRALI) a nedostatečná kontrola glykemií (vliv inzulínové rezistence) [45]. Kolonizaci potenciálních patogenů nejvíce modifikuje předchozí aplikace širokospektrých antibiotik či péče o dutinu ústní [10]. Koncept selektivní orální dekontaminace chlorhexidinem nepřinesl jednoznačné výsledky. Přestože samotná aplikace vedla k významnému snížení incidence VAP, byla provázena nesignifikantním zvýšením mortality [46]. Po předchozí aplikaci antibiotik dochází vlivem jejich selektivního tlaku k častějšímu záchytu potenciálně-patogenních MDR kmenů [16].

Některé z uvedených faktorů mohou mít s ohledem na incidenci VAP vliv protektivní, většina z nich však riziko zvyšuje. Z rizikových faktorů se při vzniku VAP způsobené MDR patogeny nejvíce uplatňují předchozí aplikace antibiotik (odds ratio (OR) 5,11, 95% interval spolehlivosti (confidence interval, CI) 1,38 až 18,89, $p = 0,01$) a přidružená onemocnění pacienta tzv. Charlson index comorbidity (OR 1,38, 95% CI 1,08 až 1,75, $p = 0,01$) [10, 16, 47].

Tab. 2: Přehled vybraných rizikových faktorů (upraveno z Nosocomial infections in adult intensive-care units [7] a/nebo Barriers to the adoption of ventilator-associated events surveillance and prevention [45])

Rizikové faktory VAP	
Neovlivnitelné	
Pokročilý věk pacienta (nad 65let)	
Chronické onemocnění plic (CHOPN)	
Diabetes mellitus	
Malnutrice	
Trauma	
Porucha vědomí	
Popáleniny	
Velké chirurgické výkony (břišní, hrudní, velkých cév)	
Potenciálně ovlivnitelné	
Sedace (benzodiazepiny, opioidy...)	
Svalová relaxace	
Pozitivní tekutinová bilance (plicní edém, pleurální výpotky...)	
Předchozí ATB terapie	
Profylaxe stresového vředu	
Imunosupresiva (kortikoidy)	
Transfúzní přípravky (TRALI)	
Urgentní intubace či nutnost reintubace	
Tracheostomie	
Bronchoskopie	
Stagnující sekret z paranasálních dutin, naso- či orofaryngu a žaludku	
Poloha vleže na zádech při transportu pacienta	
Časté rozpojování dýchacího okruhu během UPV	

2.3 Epidemiologie ventilátorových pneumonií

Ventilátorová pneumonie je vůbec nejčastější nozokomiální infekcí v intenzivní péči. Až polovina aplikovaných antibiotik v intenzivní péči souvisí s léčbou VAP [42]. Samotný vznik VAP prodlužuje dobu UPV i hospitalizace, čímž se zvyšují náklady na její léčbu [48].

Riziko incidence VAP je nejvyšší v prvních 5 dnech, poté se snižuje [49]. Zavedení preventivních opatření přispívá ke snížení incidence VAP [50, 51]. Dlouhodobě udávaná incidence VAP se pohybuje 9–27 % [10]. ECDC ve své výroční zprávě za rok 2017 udává při sledování pacientů průměrnou frekvenci 9,5 epizod pneumonií na 1000 ventilátorových dní. Tato frekvence závisí na podílu intubovaných pacientů na JIP [9].

Navzdory posunu v ATB léčbě, podpůrné péči a opatřením pro kontrolu infekce jsou VAP nadále nejčastější příčinou morbidit a mortality nemocných v intenzivní péči. Celkově

udávaná mortalita spojená s VAP se pohybuje 33–50 % v závislosti na bakteriálním původci, adekvátnosti ATB terapie a přidružených onemocnění pacienta [10, 52]. Samotná mortalita VAP je odhadována na 9–13 %. [53].

Stavy spojené s UPV

Recentní data prokázala, že je nezbytné používání balíčků opatření pro kontrolu a prevenci infekcí v prostředí intenzivní péče, včetně VAP. Jejich cílem je dlouhodobě snižovat incidenci VAP [54]. Sledování pomocí tradiční definice VAP je však složité a časově náročné. Navíc obsahuje několik parametrů, které podléhají subjektivnímu hodnocení („nové či progresse stávajících infiltrátů“, „změna charakteru sputa“ či „zvýšená potřeba kyslíku“) [55].

V roce 2013 CDC nahradila definici VAP pro potřebu surveillance definicí stavů spojených s umělou plicní ventilací (Ventilator-associated events, VAE). V této nové definici se stává klíčovým bodem zhoršené dýchání zahrnující veškeré procesy (infekčního nebo neinfekčního původu), které mohou být příčinou tohoto zhoršení u ventilovaného pacienta. Na základě tohoto algoritmu lze sledovat veškeré komplikace u pacientů na UPV. Tyto nežádoucí události jsou v USA hlášeny do systému Národní sítě pro bezpečnost zdravotní péče (National Healthcare Safety Network, NHSN, dostupné z <https://www.cdc.gov/nhsn/index.html>). V ČR nozokomiální pneumonie evidují pracovníci oddělení nemocniční hygieny (ONH) v jednotlivých zdravotnických zařízeních. Ve Fakultní nemocnici Olomouc (FNOL) je hlášení HAI definováno vnitřní směrnici č. Sm-L012-01: Hlášení infekčních onemocnění, infekcí spojených se zdravotní péčí, FNOL, platná od 9. 4. 2018. Ošetřující lékař je povinen hlásit výskyt HAI prostřednictvím elektronického formuláře při stanovení diagnózy, nejpozději však při překladu či propuštění pacienta. Přehled hlášených či aktivně vyhledaných nozokomiálních infekcí je zasílán zaměstnanci ONH měsíčně na jednotlivé kliniky či oddělení. Dále bývá zveřejněn jejich přehled jako indikátor celonemocniční kvality poskytované péče [Směrnice Sm-L012-01: Hlášení infekčních onemocnění, infekcí spojených se zdravotní péčí, FNOL, platná od 9. 4. 2018]. Hlášená nozokomiální pneumonie se zachyceným potenciálním patogenem může být spojena s UPV. Z těchto dat však nelze spolehlivě určit, zda se jedná o HAP či VAP.

Definice VAE 2013 (převzato z Ventilator-Associated Events: Definitions and Uses [56])

1. Stav spojený s UPV (Ventilator-associated condition, VAC) je situace, kdy nejméně po dvou dnech stability či zlepšení dechových funkcí dojde k opětovnému zhoršení

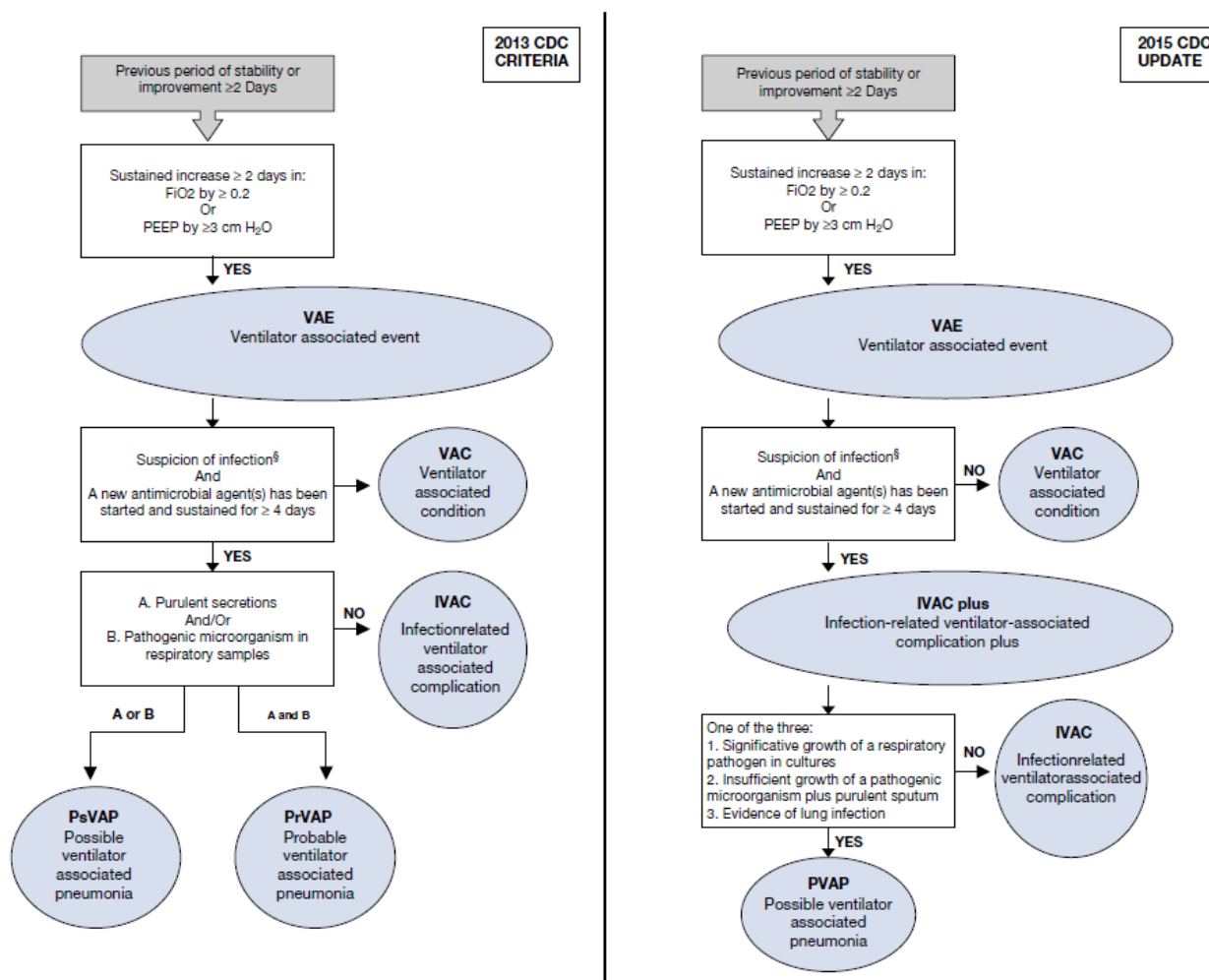
oxygenace: měřeno jako zvýšení denního minima pozitivního endexpiračního tlaku (PEEP) o 3 cmH₂O nebo FiO₂ o 0,2 po dobu nejméně 2 dnů.

2. Stav spojený s infekční komplikací UPV (Infection-related ventilator-associated complication, IVAC) vzniká při výše uvedených kritériích a přítomnosti známek zánětu:
 - leukocytóza (≥ 12 tis. buněk/mm³) nebo leukopenie (≤ 4 tis. buněk/mm³) a/nebo tělesná teplota >38 °C nebo <36 °C
 - dále byla aplikována nová ATB terapie po dobu nejméně 4 dnů.
3. A. Možná VAP (Possible VAP, PsVAP), pokud kromě výše uvedeného je splněno alespoň jedno z následujících kritérií:
 - hnisavá sekrece z dolních dýchacích cest /sekret obsahující ≥ 25 neutrofilů a ≤ 10 buněk dlaždicového epitelu na pole s nízkým rozlišením (100 \times)
 - pozitivní kultivační nález (kvalitativní, semikvantitativní nebo kvantitativní hodnocení) v endotracheálním aspirátu $\geq 10^5$ CFU/ml,
 - bronchoalveolární laváž $\geq 10^4$ CFU/ml,
 - chráněný kartáčový stěr (PSB) $\geq 10^3$ CFU/ml,
 - plicní tkáň $\geq 10^4$ CFU/g.
3. B. Pravděpodobná VAP (Probable VAP, PrVAP) v případě, že kromě výše uvedených kritérií jsou splněna obě kritéria (hnisavá sekrece z dolních cest dýchacích a kvantitativní hodnocení pozitivního kultivačního nálezu) s výjimkou:
 - pozitivní plicní histopatologie
 - pozitivní kultivační nález pleurální tekutiny
 - další pozitivní diagnostické testy /*Legionella* spp., viry aj./

V aktualizaci definice z roku 2015 byly PsVAP a PrVAP klasifikovány společně jako možná ventilátorová pneumonie (PVAP). Byla vytvořena nová kategorie IVAC-plus zahrnující celkové události splňující alespoň kategorii IVAC (IVAC + PVAP události) viz obrázek níže. Nově bylo doporučeno sledování doby UPV.

I přes tyto korekce však nelze tento algoritmus využít pro rychlou diagnostiku a management VAP [57, 58]. Na základě takto získaných dat byly ve všech nemocnicích Spojených států amerických (USA) vytvořeny a postupně implementovány balíčky preventivních opatření aplikované od samotného zahájení UPV [59].

Obr. 5: CDC kritéria 2013 a update 2015 (převzato z Ventilator-Associated Events: Definitions and Uses [56])



Vysvětlivky: §podezření na infekci: leukocytóza (≥ 12 tis. buněk/mm³) či leukopenie (≤ 4 tis. buněk/mm³) a/nebo horečka (TT >38 °C) či hypotermie (TT <36 °C).

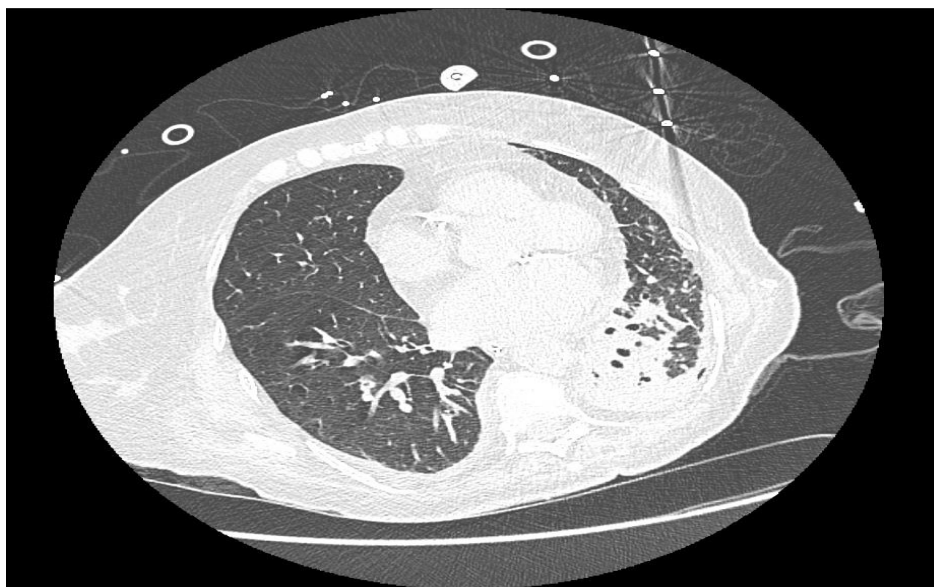
2.4 Diagnostika

Při diagnostice VAP vycházíme z její definice [10, 16]. Vždy hodnotíme u pacienta klinické známky infekce se zhoršením plicních funkcí. Opíráme se také o nález zobrazovacích metod. Aktivní infekci hodnotíme vždy v souladu s mikrobiologickým záchytem. Samotná diagnostika VAP může být obtížná či dokonce komplikovaná v terénu jiných onemocnění /městnavé srdeční selhání, ARDS/. Velmi často tak využíváme laboratorní ukazatele zánětu nejen k hodnocení efektu léčby antibiotik, ale i k prvotní diagnostice infekcí.

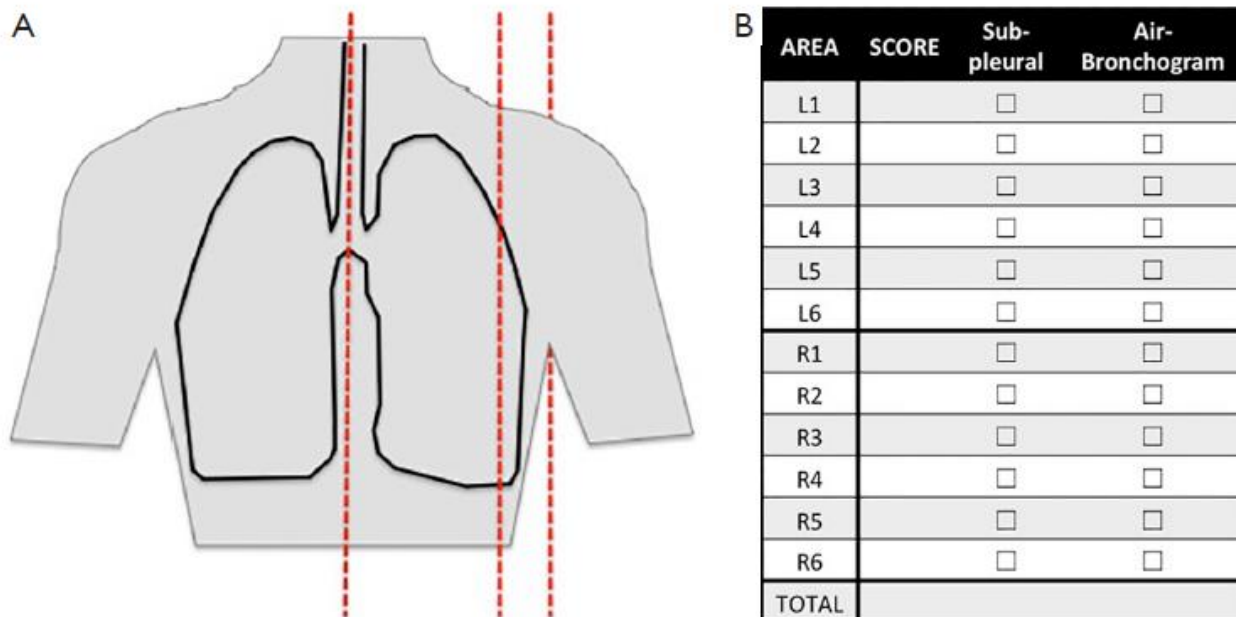
2.4.1 Zobrazovací metody

Základním zobrazovacím vyšetřením k diagnóze VAP je RTG snímek hrudníku. Jeho interpretace u kriticky nemocných však bývá obtížná. Známé komplikace jako ARDS, kardiální edém plic, atelektáza a plicní embolie mohou vést k nesprávné interpretaci možné infekce a zbytečné antibiotické terapii [60]. V těchto případech by měla být u pacientů doplněna výpočetní tomografie či výpočetní tomografie s vysokým rozlišením (CT nebo HRCT). V současnosti se poměrně rychle rozšiřuje využití ultrazvukového vyšetření hrudníku u lůžka nemocného [61]. V kombinaci s klinickými parametry a laboratorními markery zánětu by se mohlo jednat o vysoce prediktivní diagnostický nástroj, což také G. Zagli prezentoval ve své pilotní práci the Chest Echography and Procalcitonin Pulmonary Infection Score (CEPPIS) 2014 [62]. Nemocný není vystaven nežádoucím účinkům ionizujícího záření. Navíc se vyhneme možným komplikacím během transportu pacienta na CT vyšetřovnu. Ultrazvukové vyšetření hrudníku se postupně stává nedílnou součástí iniciální diagnostiky ventilátorových komplikací. Limitací metody je snížená transparence při přítomnosti podkožního emfyzému či adhesivního krytí po úrazech nebo operačních výkonech. V aktuálních doporučeních diagnostiky VAP však nadále zůstává zlatým standardem RTG snímek hrudníku [11, 16].

Obr. 6: CT hrudníku pneumonie

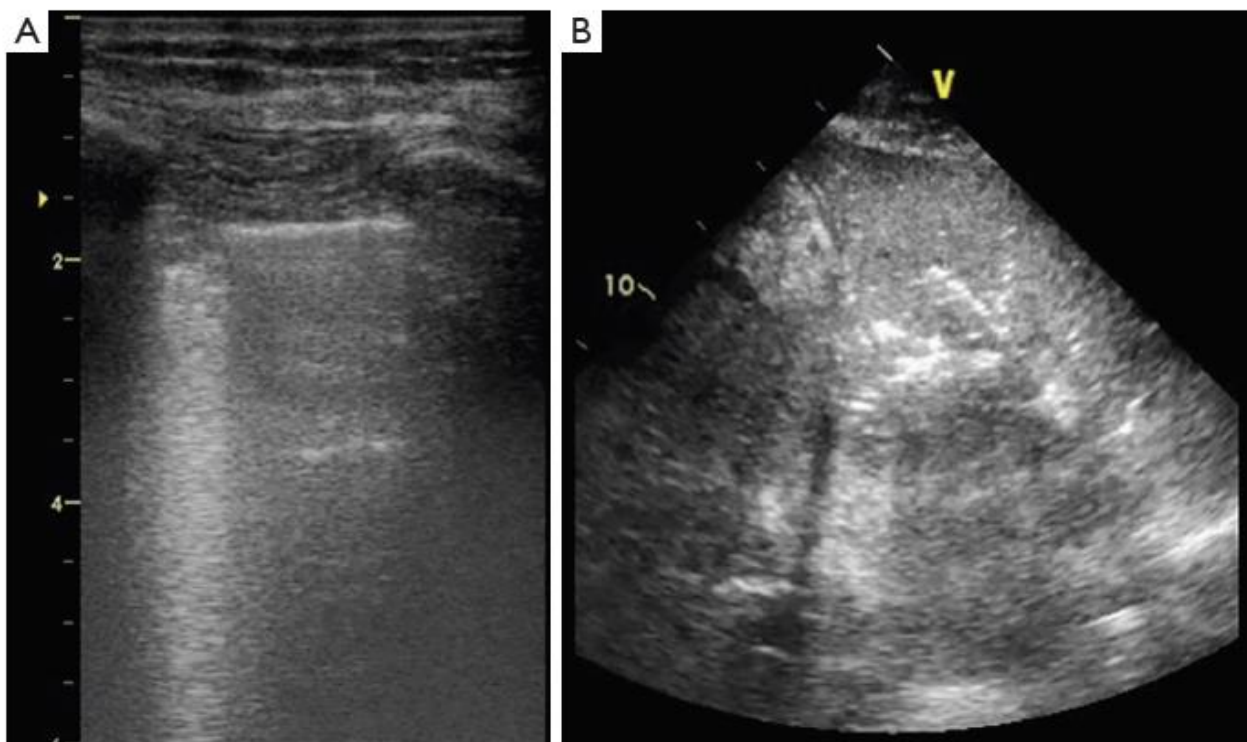


Obr. 7: Ultrazvukové vyšetření a hodnocení postižení plic (převzato z Lung ultrasound for diagnosis and monitoring of ventilator-associated pneumonia [63])



- A. Každý hemitorax je rozdělen do 6 regionů: 2 přední, 2 bočné a 2 zadní. Tyto oblasti jsou vymezené předními a zadními axilárními liniemi (červené tečkované čáry). Každý region je rozdělen na horní a dolní polovinu. K provedení komplexního vyšetření musí být v každé oblasti vyšetřeny všechny přilehlé mezižební prostory posouváním sondy v daném prostoru.
- B. Příklad zjednodušeného formuláře pro rychlé hlášení a monitorování. V každé oblasti je zaznamenán nejhorší nález v jednoduchých zaškrťovacích políčkách podle následujícího hodnocení: normální: 0; dobře oddělené B-linie: 1; splývající B-linie: 2; a konsolidace: 3. Kumulativní skóre UZ plic odpovídá součtu skóre dosažených ve všech vyšetřovaných regionech (minimální skóre 0 – normální plíce; maximální skóre 36 – obě konsolidované plíce).

Obr. 8: Ultrazvukové známky VAP (převzato z Lung ultrasound for diagnosis and monitoring of ventilator-associated pneumonia [63])



2.4.2 Klinické projevy

Klinická diagnóza VAP je dána průkazem nového či progredujícího infiltrátu na skia-gramu hrudníku a nejméně 2 známkami respirační infekce: horečka $>38\text{ }^{\circ}\text{C}$, hnisavé sputum, leukocytóza (white blood cell, $\text{WBC} >10 \cdot 10^3\text{ mm}^3$) nebo leukopenie ($\text{WBC} <4 \cdot 10^3\text{ mm}^3$), poslechový nález, kašel a/nebo dechová nedostatečnost s poklesem $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 \leq 300\text{ mmHg}$. Tato kritéria byla navržena již v roce 1972 Johansonem et al. a jsou dodnes užívaná v diagnostice VAP [10, 64]. Shannon M. Fernando et al. ve své metaanalýze z r. 2020 uvádí souhrnou citlivost a specifitu fyzikálních nálezů u kašle (66 %, resp. 54 %) a u hnisavé produkce sputa (77 %, resp. 39 %) [65]. Podobné výsledky publikoval již v roce 1999 Fabregas et al., který ve své práci použil jako referenční standard histologický nález a zároveň pozitivní mikrobiologické kultury ze vzorků plic odebraných okamžitě post mortem [66]. Při hodnocení RTG nálezů infiltrátu a pouze jedné klinické známky získáme vysokou senzitivitu, avšak nízkou specifitu (33 %). Kombinací všech symptomů se specifita zvyšuje (92 %). Tyto klinické indikátory mohou vést k nesprávné interpretaci klinického stavu a zbytečnému užívání antibiotik [65]. Naopak senzitivita klinických kritérií VAP u pacientů s ARDS je velmi nízká. Meduri et al. uvádí, že u pacientů s ARDS a suspektní VAP měly při bilaterální BAL

kvantitativní bakteriální kultury významný růst pouze u 19 % na jedné straně a na obou stranách u 13 % [67]. Předností strategie diagnostiky VAP na základě klinických kritérií je její obecná dostupnost a technická nenáročnost.

2.4.3 Skórovací systémy

Ve snaze zlepšit účinnost klinické diagnózy vytvořil Pugin se svými spolupracovníky tzv. klinické skóre plicní infekce (Clinical Pulmonary Infection Score, CPIS). Při výpočtu kombinuje klinické údaje (tělesná teplota, počet leukocytů, objem a charakter tracheální sekrece), radiologické (infiltráty na skiagramu hrudníku), fyziologické (arteriální oxygenace) a mikrobiologické údaje (barvení dle Grama, kultivace tracheálního aspirátu) do jedné hodnoty. Nabývá hodnot 0–12 /viz tab. 3 níže/. V případě hodnoty vyšší než 6 byla pozorována dobrá korelace v zachycení VAP mezi klinickým skóre a kvantitativní bakteriologií. Pro kvantifikaci bakterií v BAL byl použit tzv. bakteriální index (BI), definovaný jako součet logaritmu počtu bakterií kultivovaných na mililitr tekutiny BAL [68]. Použití skóre umožňuje časně zahájení antibiotické terapie. Singh se svými spolupracovníky dále díky modifikovanému CPIS ukázal, že je možné omezit zbytečné užívání antibiotické léčby u suspektních VAP. V sérii případů prokázali, že je možno bezpečně ukončit ATB léčbu při opakované hodnotě CPIS pod 6 s odstupem 3 dnů [69]. Fartoukh ve své prospektivní studii porovnal zachycení VAP pomocí CPIS s diagnózou stanovenou na základě kultivací BAL jako referenční metodou. Senzitivita i specifita samotného skóre byla nízká (senzitivita 60 %, specifita 59 %). Blížila se klinickému odhadu (senzitivita 50 %, specifita 58 %). Ovšem doplněním výsledků Gramova barvení tracheálního aspirátu se může zvýšit diagnostická hodnota CPIS (senzitivita 78 %, specifita 56 %) [70]. Shan et al. ve své metaanalýze publikovali celkovou senzitivitu a specifitu CPIS 65 %, resp. 64 % [71]. Shannon M. Fernando et al. ve své metaanalýze z r. 2020 uvádí u CPIS >6 senzitivitu 74 % a specifitu 66 % [65]. Z výše uvedených údajů vyplývá, že samotné skóre CPIS má v diagnostice VAP omezenou roli. Je to dáno zejména rozdílnou variabilitou výpočtu skóre mezi pozorovateli. Nelze jej ani rutinně použít při provádění randomizovaných klinických studií [72, 73].

Tab. 3: Hodnocení CPIS (převzato z Ventilator-associated pneumonia: the clinical pulmonary infection score as a surrogate for diagnostics and outcome [72])

Parameter	Points
Temperature, °C	
36.5–38.4	0
38.5–38.9	1
≥39.0 and ≤36.0	2
Blood leukocyte level, leukocytes/mm⁻³	
4000–11,000	0
<4000 or >11000	1
Plus band forms ≥500	2
Tracheal secretions	
<14+	0
≥14+	1
Plus purulence	2
Oxygenation, PaO₂:FiO₂, mm Hg	
>240 or ARDS	0
≤240 and no ARDS	2
Pulmonary radiograph finding	
No infiltrate	0
Diffuse or patchy infiltrate	1
Localized infiltrate	2
Culture of tracheal aspirate specimen (semiquantitative: 0–1, –2, or 3+)	
Pathogenic bacteria cultured ≤1 or no growth	0
Pathogenic bacteria cultured >1+	1
Plus same pathogenic bacteria on Gram stain >1+	2

Vysvětlivky: PaO₂:FiO₂ – tzv. oxygenační index vyjadřující závažnost oxygenační poruchy daný podílem parciálního tlaku arteriálního kyslíku k inspirační frakci kyslíku

V roce 2014 Zagli et al. vytvořili na základě retrospektivních dat nové skóre k diagnostice VAP zvané Chest Echography and Procalcitonin Pulmonary Infection Score (CEPPIS). Kromě hodnocení infiltrátů ultrazvukem zahrnuje také zhodnocení klinických parametrů, hladiny prokalcitoninu a kvantitativní mikrobiologické analýzy endotracheálního aspirátu [62]. Samotné zachycení infiltrátů ultrazvukem má přijatelnou senzitivitu (85 %) ke stanovení diagnózy VAP, avšak nízkou specifitu (59 %). Rozšířením o kvantitativní mikrobiologickou analýzu se zvýší specifita tohoto skóre (85 %) [63]. Další možností je VAP Lung Ultrasound Score (VPLUS). Jedná se o post-hoc testované skóre, které lze snadno vypočítat u lůžka nemocného. Doplněním vyšetření o barvení dle Grama či kvantitativní mikrobiologické analýzy endotracheálního aspirátu lze dosáhnout vyšší prediktivní hodnoty skóre než pomocí CPIS. Hodnoty VPLUS ≥ 2 identifikují VAP se senzitivitou 71 % a specifitou 69 % [63]. Ukazuje se, že některé známky ultrazvukového

vyšetření hrudníku jsou specifické pro infekci a v kombinaci s jednoduchými klinickými parametry mohou predikovat VAP.

Tab. 4: Výpočet CEPPIS (převzato z Lung ultrasound for diagnosis and monitoring of ventilator-associated pneumonia [63])

Parameter	CEPPIS
Temperature (°C)	
≥36.0 and <38.4	0
≥38.5 and <38.9	1
≥39 and <36.0	2
Procalcitonin (ng/mL)	
<0.5	0
≥0.5 and <1	1
≥1	2
Tracheal secretions	
Non purulent	0
Purulent	2
Oxygenation PaO₂/FiO₂, mmHg	
>240 or presence of ARDS	0
≤240 and absence of ARDS	2
Infiltrates on LUS	
Negative	0
Positive	2
EA quantitative culture	
≤10 ⁴ CFU/mL	0
>10 ⁴ CFU/mL	2

Vysvětlivky: PaO₂/FiO₂ - tzv. oxygenační index vyjadřující závažnost oxygenační poruchy dany podílem parciálního tlaku arteriálního kyslíku k inspirační frakci kyslíku;

Tab. 5: Hodnocení VPLUS (převzato z Lung ultrasound for diagnosis and monitoring of ventilator-associated pneumonia [63])

Parameter	VPLUS
Purulent tracheal secretions	1
≥ Areas with subpleural consolidations	1
≥ Area with dynamic linear/ arborescent air-bronchogram	2
EA positive quantitative/ qualitative culture*	1

Vysvětlivky: *další parametry mohou být přidány v upravených verzích skóre

2.4.4 Biochemické markery

Využití prokalcitoninu (PCT) či jiných biochemických markerů (C-reaktivní protein, CRP; soluble triggering receptor expressed on myeloid cells, sTREM-1) k zahájení iniciální antibiotické léčby není v současnosti doporučeno [16]. Studie hodnotící výše uvedené biomarkery jsou zatíženy chybějícím standardem k laboratorní diagnostice VAP. Gibot et al. ve své studii porovnával sTREM-1 s klinickými parametry [74], PCT bylo porovnáno k mini-BAL [75] a CRP k Johansonovým kritériím [76]. Biochemické markery lze však využít k hodnocení odpovědi na antibiotickou terapii a prognózy přežití nemocných [77, 78]. Již zmíněná práce Povoa et al. hodnotila adekvátnost antibiotické terapie na základě rychlosti poklesu CRP a také samotný klinický průběh onemocnění [76]. Jiná prospektivní studie Moreno et al. hodnotila adekvátnost antibiotické terapie na základě naměřených denních hodnot CRP. Pacienti s neadekvátní terapií měli horší outcome [79].

2.4.5 Mikrobiologické metody

Dolní cesty dýchací většiny ventilovaných pacientů jsou osídleny potenciálně patogenními mikroorganismy. Mikrobiologickým vyšetřením lze odhalit skutečného původce infekce. Etiologické agens lze identifikovat pomocí přímé či nepřímé metody. Při přímém průkazu se provádí mikroskopie a kulturační vyšetření. Základem je barvení dle Grama, které zvyšuje senzitivitu i specificitu mikrobiologických vyšetření [80]. Při mikroskopii se v preparátu hodnotí množství polymorfonukleárů ke stanovení přítomnosti a aktivity zánětu.

Jejich nepřítomnost významně snižuje pravděpodobnost infekce. Avšak určité zastoupení intracelulárních bakterií (buňky obsahující fagocytované mikroorganismy) podporuje diagnózu infekce. Studie Sirvent et al. uvádí při užití mezní hodnoty nad 2 % zachycených buněk celkovou senzitivitu 80 % a specifickou 82 % této metody [81]. Hodnocení mikroskopie se udává semikvantitativně [82].

Následně se provádí kultura vyšetření. Kultura obvyklých patogenů bývá dostupná do 24–48 hodin včetně stanovení citlivosti. Negativní kultura má silnou negativní prediktivní hodnotu (94 %) [80]. Nevylučuje však jinou etiologii (viry, *Legionella* spp.). Hodnocení se nejčastěji uvádí kvalitativní či semikvantitativní. Při tomto hodnocení však nelze spolehlivě odlišit infekci od kolonizace. Kvantitativní analýza mikrobiologických vzorků umožní zvýšit specifickou diagnostických kritérií a snížit tak pravděpodobnost falešně pozitivní diagnózy VAP [83].

Z hlediska metody odběru lze nejčastěji provést neinvazivní odběr endotracheálního aspirátu (endotracheal aspirate, ETA). K invazivním technikám řadíme bronchoalveolární laváž (bronchoalveolar lavage, BAL) prováděnou v řadě modifikací cíleně bronchoskopicky nebo tzv. naslepo nechráněnými nebo teleskopickými chráněnými katétry, a tzv. chráněný kartáčový stěr (protected specimen brush, PSB) [16, 84]. Při tzv. chráněném způsobu odběru je cílem snížit riziko kontaminace odebíraného vzorku. Popis jednotlivých metod přesahuje rámec této práce. K odlišení kolonizace dýchacích cest od infekce jsou vždy u jednotlivých metod stanoveny hraniční hodnoty tzv. počtů jednotek vytvářejících kolonie na mililitr roztoku (CFU/ml). Diagnóza plicní infekce na základě bakteriálního růstu odpovídá $\geq 10^5$ CFU/ml pro endotracheální aspirát, $\geq 10^4$ CFU/ml pro vzorek BAL a $\geq 10^3$ CFU/ml pro vzorek PSB [16, 85].

Nejvyšší senzitivitu z výše jmenovaných kvantitativních metod má ETA s hodnotou 76 % (95% CI, 52%–90%) a specifickou 68 % (95% CI, 41%–87%). Nejvíce specifickou metodou je PSB a BAL s hodnotou 77 %, resp. 80 % při nižší senzitivě 61 %, resp. 71 % [65]. Torres et al. prokázali, že předchozí užívání antibiotik vede ke značnému snížení senzitivity u vzorků BAL [86]. Sirvent et al. ve své studii hodnotící senzitivu a specifickou zastoupení intracelulárních buněk v mini-BAL prokázali, že provedení odběru do 72 hodin od poslední změny antibiotik významně snižuje výpovědní hodnotu výsledků [81]. Následná prospektivní studie Linssen et al. však tento závěr nepotvrdila [87].

Vzorky je nutno vždy odebrat před zahájením antibiotické léčby [30, 40]. Porovnáním metod nebyl dosud jednoznačně prokázán přínos použití invazivních metod s kvantitativní

analýzou oproti užití neinvazivních technik s kvantitativní či semikvantitativní analýzou vzorků. Navíc použití bronchoskopu u invazivních technik vyžaduje zvláštní erudici personálu a je zatíženo určitými komplikacemi. V poslední letech tak dochází k určitému odklonu od invazivních technik.

V současných doporučeních je standardem semikvantitativní zpracování mikrobiologických vzorků odebraných z dolních cest dýchacích neinvazivní technikou [16]. Torres et al. v mezinárodním doporučení preferuje kvantitativní analýzu mikrobiologických vzorků při diagnostice VAP [11].

Na základě dostupných výsledků mikrobiologických vzorků můžeme stanovit původce infekce včetně jeho citlivosti k antibiotikům, a poté zahájit či modifikovat antibiotickou terapii, příp. rozhodnout o jejím ukončení.

Nepřímý průkaz původce VAP se provádí stanovením množství protilátek. Jedná se o velmi rychlou a dostupnou diagnostickou metodu. Provádí se zejména u atypických původců pneumonie /mykoplasmata, chlamydofilily/ [82].

Další alternativou jsou metody molekulární biologie. Nejznámější je polymerázová řetězová reakce (polymerase chain reaction, PCR). Nejvíce je užívána pro nekultivovatelné či obtížně a pomalu rostoucí bakterie (legionely, mykobakteria, chlamydofilily, mykoplasmata) a viry. V rutinní diagnostice má multiplexová PCR metoda řadu omezení. Poskytuje falešně negativní i falešně pozitivní nálezy. Falešně pozitivní jsou dány následkem amplifikace volné DNA uvolněné z mrtvých bakterií a kvasinek [82, 88]. Důsledkem je zbytečná aplikace širokospektrých antibiotik. Optimální je spojení PCR s kultivací. Zejména při detekci genů odpovědných za rezistenci k antibiotikům.

Slibnou technologií pro diagnostiku a léčbu infekčních nemocí je hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpcí a ionizací za účasti matrice s průletovým analyzátozem (matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, MALDI-TOF). Princip metody přesahuje obsah této práce – blíže viz odkaz: https://is.muni.cz/el/sci/podzim2009/Bi6700c/um/MALDI_TOF_MS.pdf

Uvedená metoda je schopna identifikovat, mimo jiné, i mykobakterie, což jsou mikroorganismy obtížně detekovatelné konvenčními metodami [89]. Díky metodě je možné zkrátit dobu od odběru vzorku k určení patogena na pouhých 24 hodin.

2.5 Terapie

2.5.1 Současná doporučení léčby ventilátorových pneumonií

V roce 2016 bylo vydáno IDSA/ATS Guidelines k diagnostice a léčbě nozokomiální i ventilátorové pneumonie [16].

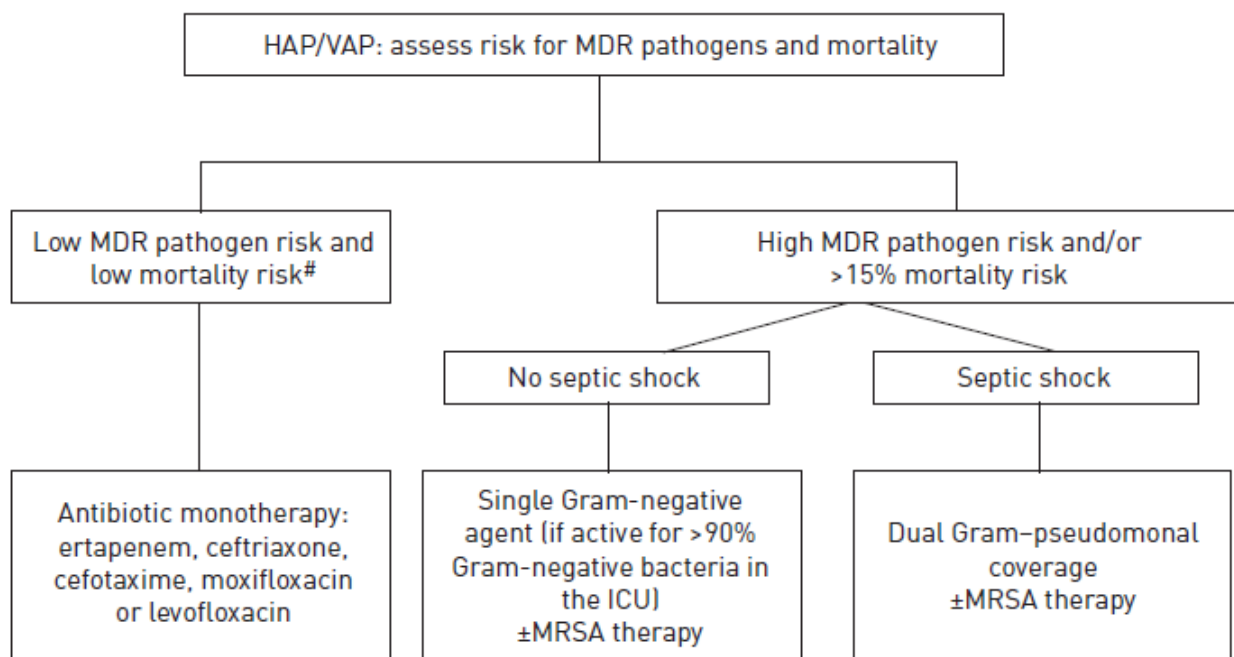
V následujícím roce 2017 byl vydán doporučený postup evropských odborných společností European Respiratory Society (ERS), European Society of Intensive Care Medicine (ESICM), European Society of Clinical Microbiology and Infectious Disease (ESCMID) a Asociación Latinoamericana del Tórax (ALAT) k managementu VAP/HAP [11]. Oba tyto dokumenty si kladou za cíl poskytnout všem lékařům specialistům návod, založený na důkazech, na nejúčinnější způsob diagnostiky a léčby VAP/HAP u pacientů bez primárního či sekundárního imunodeficitu. Avšak s ohledem na rozdílné regionální zastoupení MDR patogenů a účinnost k některým antibiotikům se mohou lišit. Imunokompromitovaní pacienti ve vyšším riziku oportunních infekcí vyžadují specifický přístup v diagnostice a léčbě těchto infekcí. U těchto pacientů tak konkrétní doporučení chybí.

Ověřování vědeckých důkazů probíhalo v obou doporučeních pomocí metodologie zvané Grading of Recommendation, Assessment, Development and Evaluation (GRADE), kde rozlišujeme 4 úrovně kvality důkazů: vysoká, střední, nízká a velmi nízká. Všechny související dotazy byly formulovány ve formátu PICO (Population-Intervention-Comparison-Outcome). Vydaná doporučení se dle váhy dělí na silné a slabé. Autoři však nevycházejí jen z kvality dostupných důkazů. Dalšími jimi uvažovanými faktory může být možnost vyhnout se neúměrně vynaloženým nákladům či poškození pacienta při intervenci [90, 91].

2.5.2 Zahájení léčby

Základem léčby ventilátorových pneumonií je iniciální antibiotická terapie. Její načasování závisí na závažnosti klinického stavu. Opožděná či neadekvátní terapie VAP je spojena se zvýšenou mortalitou nemocných. Kuti et al. v metaanalýze udává, že neadekvátní terapie signifikantně zvyšuje riziko úmrtí u VAP (OR 2,34, 95% CI 1,51–3,63, $p = 0,001$), což potvrzují i další publikované práce [92, 93, 94].

Obr. 9: Doporučený algoritmus pro rozhodování k iniciální ATB léčbě HAP/VAP (převzato z International ERS/ESICM/ESCMID/ALAT guidelines 2017 [11]).



Vysvětlivky: #nízké riziko úmrtí je definováno jako pravděpodobnost úmrtí nižší než 15%

U pacientů s nízkým rizikem rezistence a mortality je možno zahájit léčbu monoterapií s užším spektrem účinku. Naopak bylo prokázáno, že kombinovaná terapie přispívá k nižší mortalitě pacientů s vyšším rizikem rezistence či těžkém průběhu onemocnění [95, 96].

2.5.3 Racionalizace ATB preskripce a lokální mikrobiologická surveillance

V poslední dekádě vzrůstá spotřeba antibiotik pro systémové použití k léčbě komunitních a nozokomiálních infekcí [97, 98]. Vlivem selekčního tlaku dochází k nárůstu podílu MDR patogenů [25, 26, 27, 28]. S tím souvisí i vyšší riziko selhání iniciální ATB léčby VAP. Horší outcome pacientů u VAP komplikované sepsí a současná epidemiologie MDR patogenů nutí ke zlepšení managementu antibiotické terapie v intenzivní péči [99].

Tab. 6: Deset zásadních bodů při užití ATB terapie (upraveno z Ten key points for the appropriate use of antibiotics in hospitalized patients [30])

1. Před nasazením antibiotik odeberte vhodné mikrobiologické vzorky a pečlivě interpretujte jejich výsledky. V případě chybějících klinických příznaků infekce nevyžaduje kolonizace antimikrobiální léčbu.
 2. Vyhněte se užívání antibiotik k léčbě horečky: Vždy je nutné vyšetřit hlavní příčinu horečky a léčit pouze významné bakteriální infekce
 3. Pokud je to indikováno, zahajte empirickou antibiotickou léčbu po odebrání kultur, s ohledem na místo infekce, rizikové faktory MDR patogenů a lokální záchyt možných patogenů s určením jejich citlivosti.
 4. Předepisujte léčiva v jejich optimální dávce, způsobu podávání a po přiměřeně dlouhou dobu s ohledem na klinickou situaci a charakteristiku pacienta.
 5. Používejte kombinace antibiotik pouze v případech, kdy současná doporučení naznačují možný přínos.
 6. Pokud je to možné, vyhněte se antibiotikům, u kterých je vyšší pravděpodobnost vzniku lékové rezistence nebo nozokomiálních infekcí. Používejte je pouze jako poslední možnost.
 7. Kontrolujte zdroj infekce: Vypusťte infikovaná ohniska a odstraňte všechny potenciální či prokázané infikované invazivní vstupy.
 8. Vždy se snažte deeskalovat léčbu antibiotiky dle klinické situace a na základě mikrobiologických výsledků. Co nejdříve se snažte přejít na perorální způsob podání.
 9. Vysadte antibiotika, pokud je bakteriální infekce nepravděpodobná.
 10. Sestavte lokální tým odborníků se specialisty na infekční nemoci, klinickým mikrobiologem, nemocničním lékárníkem a epidemiologem. Cílem by mělo být nastavení nemocniční antibiotické politiky a dodržování směrnic ošetřujícími lékaři.
-

Lokální guidelines pro léčbu VAP by měla vycházet z doporučení klinického mikrobiologa a ze znalosti místní mikrobiologické situace v daném zdravotnickém zařízení, případně v regionu. Becher et al. prokázali, že lokálně odvozená guidelines mají výrazně vyšší účinnost krytí patogena než obecná doporučení [100]. Vždy totiž zohledňují rizikové faktory pro vznik VAP způsobenou MDR patogeny a zejména výsledky lokální surveillancie bakteriálních patogenů včetně jejich rezistence k ATB [16, 40].

Obr. 10: Doporučený postup pro iniciální léčbu VAP ve FNOL (upraveno ze Sm-L034 Antibiotická léčba pneumonií ve FNOL, platná od 5.8.2015, aktualizace 15.5.2018)

3.4 Antibiotická léčba nozokomiálních pneumonií

3.4.1 Úspěšnost antibiotické léčby je podmíněna především:

- adekvátností antibiotické léčby podmíněné důkladnou znalostí frekvence nejčastějších bakteriálních původců a jejich rezistence k antimikrobním přípravkům v příslušných epidemiologických jednotkách,
- včasností antibiotické léčby – antibiotikum je nutné nasadit ihned po zjištění diagnózy (do 1 hodiny),
- optimálním dávkováním.

Možnosti antibiotické léčby nozokomiálních pneumonií u dospělých pacientů jsou uvedeny v tabulce 2. Navržené režimy jsou platné pro iniciální antibiotickou léčbu, kdy nejsou k dispozici výsledky stanovení etiologického agens a jeho citlivosti/rezistence k antimikrobním přípravkům. Pokud jsou tyto údaje stanoveny, je nutná cílená antibiotická léčba.

Uvedené režimy neplatí pro vysoce imunokompromitované pacienty s poruchami krve tvorby.

Tabulka 2: Iniciální antibiotická léčba nozokomiálních pneumonií ve FNOL, včetně standardního dávkování

Pneumonie / Klinická forma	Terapie
nozokomiální pneumonie časná (menší riziko etiologické role multirezistentních bakterií)	amoxicilin/kys.klavulanová 3-4x1,2 g (event. + gentamicin 1x240 mg) ampicilin/sulbactam 3-4x1,5 - 3 g (event. + gentamicin 1x240 mg)
nozokomiální pneumonie pozdní (vyšší riziko etiologické role multirezistentních bakterií)	piperacilin/tazobaktam 3-4x4,5 g + gentamicin 1x240 mg meropenem 3x1 g nebo imipenem 4x1 g + gentamicin 1x240 mg ceftazidim 3x2 g + gentamicin 1x240 mg <i>v odůvodněných případech kolistin (parenterálně a inhalačně)</i> Poznámka: Po stanovení etiologického agens je nutné antibioterapii deeskalovat. Pokud je potvrzena citlivost na beta-laktamové antibiotikum – vysadit gentamicin. V případě etiologické role enterobakterie s produkcí širokospektrých beta-laktamáz (ESBL, AmpC) je vhodná aplikace ertapenemu z důvodu nižšího selekčního tlaku na vývoj odolnosti Pseudomonas aeruginosa ke karbapenemům (pokud je aplikována kombinace meropenem nebo imipenem + gentamicin – obě antibiotika vysadit a pokračovat aplikací ertapenemu 1x1 g).
pneumonie související s aspirací (pozdní aspirační pneumonie)	piperacilin/tazobaktam 3-4x4,5 g + gentamicin 1x240 mg meropenem 3x1 g nebo imipenem 4x1 g + gentamicin 1x240 mg Viz výše uvedená poznámka.

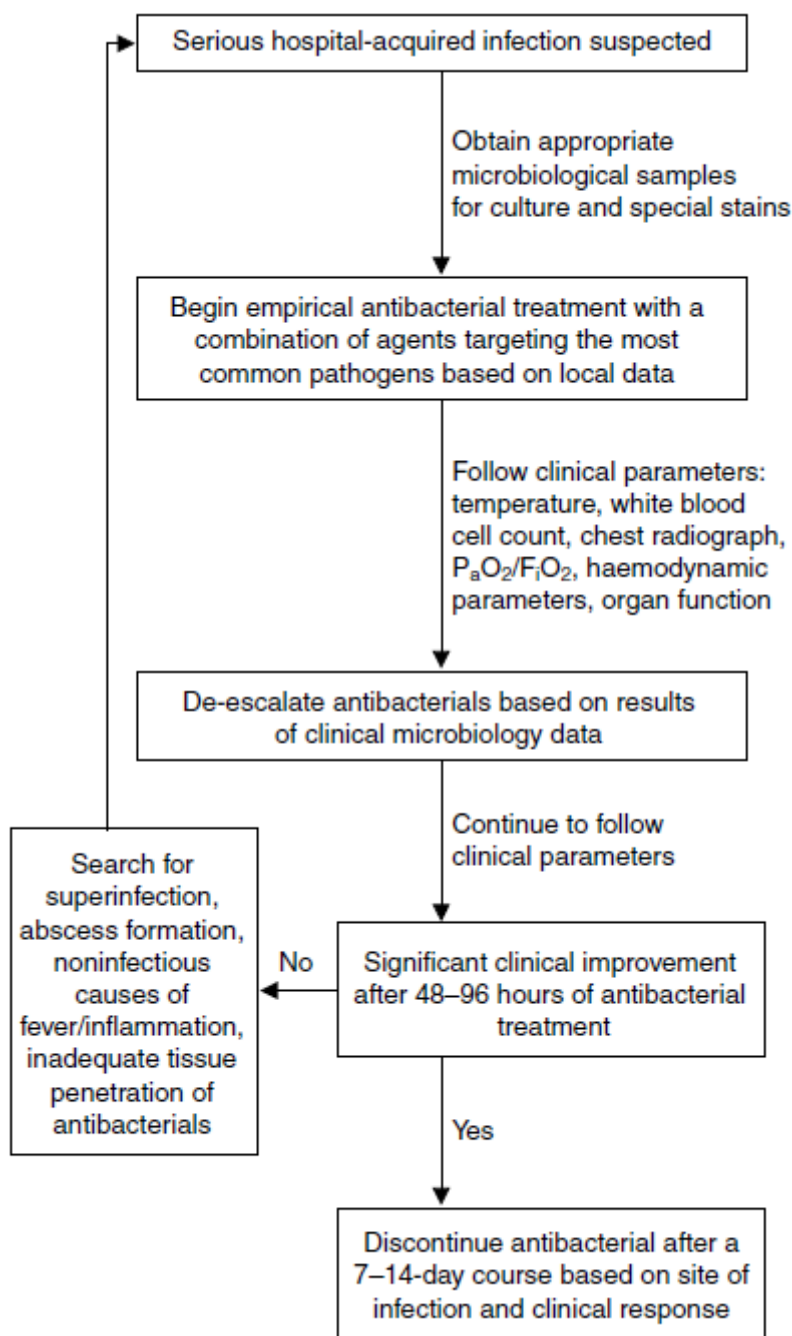
Modifikaci ATB léčby provádíme při znalosti výsledků kultivací a citlivosti pravděpodobného etiologického agens VAP k antibiotikům. Případnou změnu ATB léčby je vhodné provádět ve spolupráci s klinickým mikrobiologem. Díky konzultaci se vyhneme aplikaci ATB, ke kterým je izolované agens primárně či sekundárně rezistentní [82]. Účinnost ATB léčby se odvíjí i od adekvátní dávky léčiva při znalosti farmakokinetických a farmakodynamických vlastností antibiotik [16, 96].

Zvyklá doba léčby je 7 dní u nekomplikovaných stavů a při dobré klinické odpovědi na terapii. Delší doba léčení zpravidla bývá při neadekvátní iniciální ATB terapii. Dále by

měla být upravena při nedostatečné klinické či laboratorní odpovědi a záchytu specifických patogenů (MDR patogeny, MRSA, VRE aj.) [11, 16]. Jinou alternativou v léčbě VAP je doplňkové inhalační podávání kolistinu. Na základě výsledků retrospektivních studií se ukázalo, že cílená aplikace tohoto antibiotika přispívá k eradikaci gramnegativních MDR bakterií v dýchacích cestách (zejména *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*). Vliv na celkovou mortalitu VAP však nebyl jednoznačně prokázán [101, 102].

Vzhledem k neustále narůstajícímu podílu MDR patogenů VAP bychom měli u stabilních pacientů uvažovat o deeskalaci ATB terapie – tj. časně ukončení aplikace iniciální necílené antibiotické terapie. Leone et al. ve své práci uvádí, že i přes delší dobu hospitalizace nezaznamenali žádný rozdíl mortality nemocných v obou léčebných režimech [103]. V širší odborné společnosti je deeskalace považována za kvalifikovaný přístup v antimikrobiální léčbě a také jedním ze základních pilířů racionalizace užití antibiotik (Antimicrobial Stewardship, AMS) [104].

Obr. 11: Flow-diagram znázorňující přístup k deeskalaci ATB terapie nemocničních infekcí (převzato z Appropriate empirical antibiotic therapy in nosocomial infections [105])



2.6 Prevence

Zavedení preventivních opatření, vycházející z doporučení Institute of Healthcare Improvement (IHI) přispívá ke snížení incidence VAP [50, 51]. Více než polovině případů VAP lze předejít dodržováním aktuálních preventivních doporučení založených na důkazech včetně dopadu na mortalitu [106]. Nadále platná zůstávají doporučení z roku 2014 Strategies to Prevent VAP in Acute Care Hospitals vydaná Americkou společností

epidemiologie pro zdravotnictví (Society for Healthcare Epidemiology of America, SHEA) a Americkou společností infekčních nemocí (IDSA) [107]. Nejnovější americká guidelines managementu VAP konstatují, že není nutné zařazovat preventivní strategie do svých doporučení s odkazem na výše zmíněná [16].

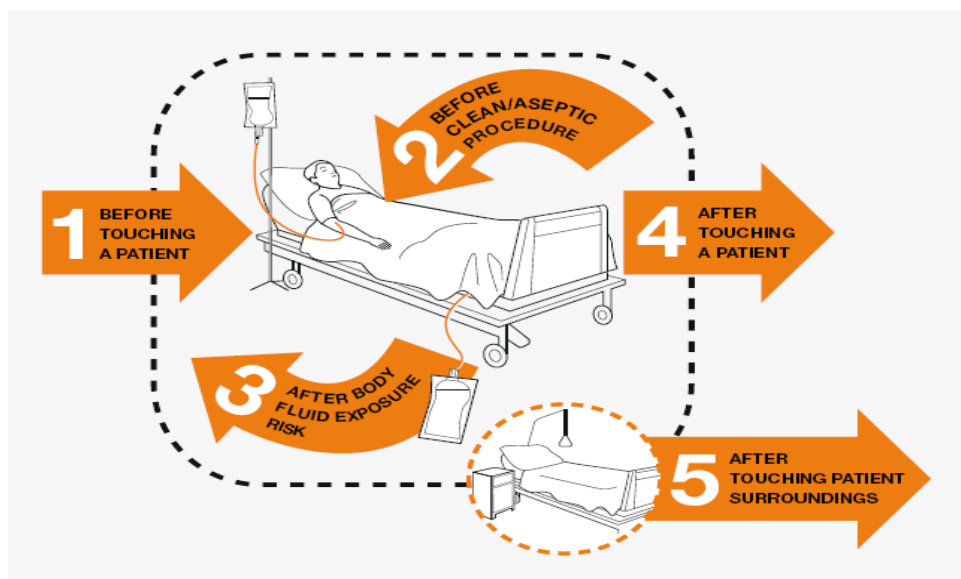
2.6.1 Základní opatření

Mezi základní doporučovaná preventivní opatření s prokázaným vlivem na snížení incidence VAP či klinický outcome pacientů patří (upraveno z ISID Guide Bundles in Infection Prevention Safety [5] a/nebo Strategies to Prevent VAP in Acute Care Hospitals [107]):

- zvýšená poloha hlavy 30° až 45°,
- optimalizace analgosedace, denně provádět test bdělosti (Spontaneous awakening trial, SAT) a test spontánní dechové aktivity (Spontaneous breathing trial, SBT)
- u pacientů ventilovaných déle než 48 hodin používat endotracheální kanyly se subglotickým odsáváním
- časná rehabilitace a mobilizace pacientů

Nezbytnou součástí těchto doporučení je také hygiena rukou personálu, používání rukavic při odsávání sekretu z dolních cest dýchacích a pravidelná dezinfekce a péče o dýchací přístroje a jejich součásti.

Obr. 12: Pět momentů hygieny rukou ve zdravotní péči (převzato z WHO guidelines on hand hygiene in health care: a summary [2])



K dalším obecným opatřením u pacientů v intenzivní péči patří prevence stresového vředu. Marik et al. ve své metanalýze z roku 2010 uvádí, že by měla být aplikována pouze u pacientů s rizikem gastrointestinálního krvácení bez možnosti časného podávání enterální výživy. V jiných případech může tato intervence riziko pneumonie a mortalitu pacientů zvyšovat. Dále Alhazzani ve své práci nezjistil statisticky významný rozdíl mezi inhibitory protonové pumpy a antagonisty H₂ receptorů v riziku incidence nozokomiální pneumonie [108, 109]. Nejpozději 24 - 48 hodin od přijetí je vhodné zahájit podávání enterální výživy při sledování rezidua žaludečního objemu [110]. U těchto opatření však nebyl prokázán jednoznačný vliv na snížení incidence VAP či mortalitu nemocných, zkrácení doby UPV a délky hospitalizace [107].

2.6.2 Specifická opatření

Ke snížení výskytu infekčních komplikací u pacientů na UPV byly navrženy 2 hlavní přístupy antibiotické profylaxe. Při selektivní orofaryngeální dekontaminaci (SOD) se antibiotická pasta či antiseptikum aplikuje pouze na orofarynx. U selektivní digestivní dekontaminace (SDD) se zavádí nevstřebatelné antibiotikum do orofaryngu či sondou do žaludku spolu s i.v. antibiotiky [11].

U těchto speciálních přístupů byl prokázán vliv na snížení incidence VAP, avšak nejsou k dispozici dostatečné údaje o možných rizicích jejich užití [111]. V současnosti doporučovaná pravidelná péče o dutinu ústní s chlorhexidinem může snižovat podíl VAP, chybí však dostatečné údaje pro určení dopadu na dobu trvání UPV, délku hospitalizace a mortalitu nemocných [112, 113]. Chlebicki et al. uvádí ve své metaanalýze snížení rizika VAP za použití modelu s fixními účinky (relativní riziko 0,74, 95% interval spolehlivosti 0,56–0,96, $p = 0,02$). Obdobné výsledky jsou i při použití konzervativnějšího modelu náhodných efektů (relativní riziko 0,7, 95% interval spolehlivosti 0,47–1,04, $p = 0,07$), ale nedosáhly statistické významnosti [114]. Pozn. Tyto výše uvedené modely jsou zásadní pro metaanalýzu. Model s fixními efekty se využívá při malém počtu studií [115]. Další metaanalýza Klompase et al. udává jednoznačný efekt na nižší incidenci VAP za cenu nesignifikantně vyšší mortality (relativní riziko 1,13, 95% interval spolehlivosti 0,99–1,29) u nekardiochirurgických pacientů [46]. Podobné závěry předkládá i metaanalýza Price R et al. porovnávající tyto přístupy antibiotické profylaxe mezi sebou [116]. Tyto profylaktické přístupy mohou zvyšovat riziko antibiotické rezistence či ovlivňovat střevní mikrobiom pacienta. Nežádoucí vlivy SOD nebo SDD byly hodnoceny v několika randomizovaných

klinických studiích. Daneman et al. ve své studii neprokázali žádnou souvislost mezi použitím SDD nebo SOD a rozvojem antimikrobiální rezistence bakteriálních patogenů na JIP [117]. Oostdijk et al. ve své práci studovali dopad SOD a SDD na mikrobiom pacientů. Prokázali, že SDD sice přispívá k nižšímu záchytu rezistentních gramnegativních bakterií či mortalitě nemocných, nicméně negativně ovlivňuje mikrobiom jedince postupným přerůstáním bakterií rezistentních na aminoglykosidy [118].

Panel expertů A. Torres et al. International ERS/ESICM/ESCMID/ALAT guidelines 2017 uvádí, že se rozhodl nevydat závazné doporučení k použití chlorhexidinu k provádění SOD až do získání dalších údajů o bezpečnosti jeho užití kvůli nejasnostem mezi potenciálem snížení podílu VAP a potenciálním zvýšením mortality. Aplikaci SOD, avšak ne SDD, lze bezpečně provádět jen v prostředí s nízkým zastoupením MDR patogenů a nízkou spotřebou antibiotik na JIP tj. <1000denních dávek na 1000 příjmových dnů [11]. Již samotná pravidelná péče o dutinu ústní pravděpodobně přispívá ke snížení kolonizace orofaryngu potenciálními patogeny a jejich následné aspiraci do dolních cest dýchacích [119, 120].

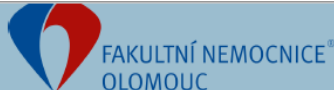
K usnadnění implementace a zlepšení spolupráce personálu při dodržování preventivních postupů se provádí strategické změny v doporučených postupech v jednotlivých zdravotnických zařízeních. Vytváří se edukativní materiály, probíhají pravidelná vzdělávací školení či sezení přímo u lůžka. Nakonec se zavádí seznam kontrolních bodů, který zároveň slouží ke kontrole dodržování těchto opatření. Je prokázáno, že implementací a důsledným dodržováním těchto preventivních opatření lze postupem času dosáhnout nižší incidence VAP, avšak bez vlivu na délku pobytu na JIP či mortalitu nemocných [121].

Obr. 13: Preventivní opatření vzniku VAP na KARIM JIP FNOL (převzato ze Směrnice Sm-L009 Lékařská a ošetrovatelská dokumentace, 9. vydání, platná od 2.5.2018)

KARIM JIRP

Prevence VAP je komplexní proces, ve kterém hraje zásadní úlohu především kvalitní ošetrovatelská péče, která spadá do rukou sester. Vzniká minimálně po 48 hodinách od zahájení UPV, je příčinou vyšší mortality a morbidity, přibližně pětinasobně zvyšuje finanční náklady na léčbu a prodlužuje délku hospitalizace. Druhá nejčastější infekce spojená s nemocniční péčí.


PREVENCE VAP



**FAKULTNÍ NEMOCNICE[®]
OLOMOUC**


RESPIRAČNÍ FYZIOTERAPIE

- vibrační masáže
- masáž stimulační dýchání
- míčkování
- pronační poloha



ODSÁVNÍ ZE SUBGLOTICKÉHO PROSTORU

- odsát sekretu 20ml stříkačkou intermitentně
- standardně ETK/TSK se subglotickou drenáží




PÉČE O DUTINU ÚSTNÍ

- negativní dopad snížené salivace, špatného stavu sliznice a zubního plaku
- změny v dutině ústní již po 48 hod od přijetí
- čištění zubů 2x/den měkkým kartáčkem s odsáváním/bez
- čištění dásní a jazyka pěnovými štětčičkami každé 2hodiny
- roztoky pro péči o DÚ, cyklické střídání dle rozpisu KARIM

SEMIREKUMBENTNÍ POLOHA

- elevace horní poloviny těla pacienta min. o 30°- 60°
- jen u pacientů, kde tato poloha není kontraindikována



PÉČE O ETK


- prevence zalomení, skousnutí, nechtěné extubace, změna polohy ETK posun z koutku do koutku, na střed 2x24h (kontrola dekubitů, výměna fixační náplasti, kontrola hloubky zavedení, zápis do dokumentace)
- měření tlaku v obturační manžetě vždy při změně polohy pacienta levý, pravý bok, pronace (20-25 mmHg/27-34cmH2O)
- auskultační kontrola plic bilaterálně

PÉČE O TSK

- očištění okolí tracheostomatu
- a) klidné – 0,9% NaCl
- b) zarudlé –dezinfekce kůže, dle dezinf.programu
- ošetření ve směru hodinových ručiček sterilními tampóny
- ochranný film ve spreji (Secura, Cavilon)
- pěnové krytí , výměna min. 1x/den (také fixační páska)
- měření tlaku v obturační manžetě vždy při změně polohy pacienta - levý, pravý bok, pronace(20-25mmHg/27-34cmH2O)

PÉČE O VENTILAČNÍ OKRUH

- za aseptických podmínek provádět kompletaci a výměnu okruhu
- minimalizovat rozpojování
- šetrné odstraňování kondenzátu z okruhu
- při odpojení pacienta kryt okruh umělou plicní uzavřený systém (filtr, nebulizace, trach-care) výměna po 72 hod, okruh a HME filtr každý 6den



TRACHEÁLNÍ ODSÁVNÍ

- pouze v případě potřeby (kašel, viditelné nebo slyšitelné sekrety v ETK/TSK, hrubé nebo vymizelé dýchací zvuky, desaturace < 90%, zvýšená dechová práce, změna dechového objemu, frekvence, Zvýšení PaCO2, pokles pO2
- délka odsávání max. 10 - 15 s za přerušovaného sání, pouze když je odsávací cévka vytahována
- OOP –používat sterilní plášť, rukavice, ústenka (čepice)

3. Cíl práce

V pilotní fázi práce bylo primárním cílem určení vlivu předchozí antibakteriální léčby na incidenci VAP. Ve finální studii jsme sledovali vliv předchozí antibakteriální léčby na 30denní mortalitu a spektrum bakteriálních původců včetně výskytu MDR patogenů.

Ve speciální části práce bylo cílem potvrzení předpokladu, zda se v etiologii VAP uplatňují etiologická agens z bakteriální mikroflóry horních cest dýchacích výrazněji, resp. dochází častěji k vertikálnímu šíření patogenů než k jejich horizontálnímu šíření mezi pacienty.

4. Materiál a metodika

4.1 Design studie

Tato observační, retrospektivní studie byla schválena etickou komisí FNOL (číslo jednací 173/2018). Informovaný souhlas byl získán od všech subjektů zapojených do studie. V případě, že nebylo možné získat informovaný souhlas se zařazením do studie přímo od pacienta vzhledem ke kontinuálnímu podávání analgosedace v průběhu UPV, byli o to požádáni blízcí příbuzní a náležitě informováni. Pracovištěm bylo lůžkové oddělení Kliniky anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny (KARIM) FNOL, referenčním obdobím leden 2018 až květen 2020. Prvotní data pilotní epidemiologické studie VAP byla referována za období listopad 2017 až říjen 2018.

4.2 Pacienti

Do této klinicko-mikrobiologické studie byli zařazeni nemocní starší 18let s respirační insuficiencí vyžadující napojení na UPV bez známek pneumonie. Jiný infekční (např. neuroinfekt, ranná infekce hluboká či povrchová, uroinfekt) byl možný.

Do studie nebyli zařazeni pacienti se známkami pneumonie v okamžiku napojení na UPV, s neutropenií, dárce orgánů a pacienti, u kterých v dalším průběhu hospitalizace došlo ke změně kategorie léčby na zadrženu či paliativní péči. Pacienti s akutním respiračním selháním na UPV při prokázané COVID-19 pneumonii nebyli zařazeni vzhledem k obtížnému klinickému hodnocení bakteriální superinfekce. Na našem území byl 1. potvrzený případ SARS-CoV-2 zachycen dne 1.3.2020.

Mezi sledované byli zařazeni pacienti splňující klinická kritéria VAP. Klinické příznaky pneumonie jsou definovány jako přítomnost nových nebo zhoršených infiltrátů na rentgenových snímcích hrudníku plus nejméně dva další příznaky infekce dýchacích cest: teplota $>38\text{ }^{\circ}\text{C}$, hnisavé sputum, leukocytóza (bílé krvinky, $\text{WBC} >10 \times 10^3/\text{mm}^3$) nebo leukopenie ($\text{WBC} <4 \times 10^3/\text{mm}^3$), známky zánětu při poslechu, kašel a/nebo respirační insuficience s poměrem $\text{paO}_2/\text{FiO}_2 \leq 300\text{ mmHg}$. Definitivní potvrzení VAP na základě klinických a laboratorních známek bylo provedeno dodatečným skiagramem hrudníku. Kontrolní skupinu pak tvořili pacienti vyžadující UPV déle než 48 hodin bez známek pneumonie.

U všech pacientů byla po klinickém stanovení diagnózy VAP zahájena iniciální empirická ATB léčba dle doporučeného postupu pro iniciální léčbu VAP ve FNOL [Směrnice

Sm-L034: Antibiotická léčba pneumonií ve FNOL, platná od 5.8.2015, aktualizace 15.5.2018]. Během hospitalizace byla antibakteriální terapie korigována na základě konzultací s klinickým mikrobiologem Antibiotického střediska FNOL s ohledem na identifikovanou etiologickou agens a jejich citlivost/rezistenci k ATB. V případě, že se nepodařilo izolovat etiologickou agens z endotracheálního aspirátu (ETA), bylo přihlédnuto k mikrobiologickému nálezu ve stěru z orofaryngu.

4.3 Odběr a zpracování materiálu

Všem pacientům byl při přijetí a následně 2x týdně (vždy v pondělí a čtvrtek) odebrán stěr z orofaryngu a endotracheální aspirát dle standardu oddělení. Vzorky orofaryngeálních stěrů (OS) byly odebrány ze zadní stěny orofaryngu pomocí komerčně dostupné soupravy pro odběr vzorků s transportním médiem (Copan Diagnostics). Vzorky endotracheálního aspirátu (ETA) byly odebrány aspirací sekretu z orotracheální rourky za použití sterilního uzavřeného sběrného systému s následným propláchnutím odsávacího katetru 10 ml sterilního fyziologického roztoku a uzavřením zkumavky sterilní zátkou.

Každý vzorek byl zpracován běžnými mikrobiologickými postupy. Identifikace mikroorganismů byla provedena za použití MALDI-TOF MS (Biotyper Microflex, Bruker Daltonics). Citlivost k antibiotikům byla testována diluční mikrometodou dle doporučení EUCAST [32]. Referenční kmeny *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 byly použity k protokolované kontrole kvality. Produkce širokospektrých beta-laktamáz typu ESBL, AmpC a karbapenemáz byla detekována diskovými difúzními testy příslušnými pro daný typ enzymu [34, 35]. Pozitivní fenotypové výsledky byly ověřeny pomocí PCR detekující geny specifické pro daný typ beta-laktamázy [36, 37].

4.4 Genotypizace vybraných bakteriálních izolátů

Klonální vztahy bakteriálních izolátů byly stanoveny porovnáním jejich makrorestrikčních profilů získaných gelovou elektroforézou v pulzním poli (PFGE). Bakteriální DNA byla izolována podle protokolu dříve popsaného ve studii Husičkové et al. [122]. Stručně řečeno, DNA byla izolována z bakteriální kultury inkubované při 37 °C po dobu 16 hodin v Mueller-Hintonově bujónu. Buňky byly třikrát promyty promývacím pufrem s následným zředěním bakterií na optickou hustotu 1,0–1,5 při 600 nm a následně smíchány

s 2% agarózou s nízkou teplotou tání (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) za vzniku bloků. Připravené agarózové bloky byly inkubovány při 37 °C v lyzačním pufru obsahujícím lysozym. Po 24 hodinách byly bloky přeneseny do deproteinačního pufru s proteinázou K a inkubovány při 55 °C dalších 24 hodin. Získané bloky byly nakonec promyty v TE pufru a skladovány při 4 °C. Podle pokynů výrobce byly pro restrikci DNA použity enzymy XbaI a SpeI (New England Biolabs, Ipswich, MA, USA). Izoláty *Escherichia coli* byly štěpeny XbaI, zatímco genomová DNA štěpená SpeI byla použita pro získání restrikčních profilů *Klebsiella* spp. izoláty. Získané fragmenty DNA byly separovány pomocí PFGE, která byla provedena v 1,2% agarózovém gelu při 6 V cm⁻¹ a pulzních časech 2–35 s po dobu 24 hodin. Thiomočovina (konečná koncentrace 50 μM) byla přidána do elektroforetického pufru, aby se zlepšila typovatelnost kmenů. Pro barvení gelu byl použit ethidium bromid, získané restrikční profily byly dokumentovány zobrazovacím zařízením a porovnávány softwarem GelCompar II (Applied Maths, Kortrijk, Belgie). Dendrogramy byly konstruovány metodou skupin nevážených párů s aritmetickým průměrem v kombinaci s metodou hierarchického shlukování s Diceovým koeficientem. Tolerance optimalizace a přizpůsobení pásma byla nastavena na 2 %. Restrikční profily dosahující 97% podobnosti byly považovány za identické.

4.5 Klinické hodnocení

Klinické hodnocení obou skupin bylo provedeno na základě níže zvolených kritérií:

1. demografické údaje (věk, pohlaví, APACHE II skóre, BMI),
2. aplikace ATB v předchozích 90 dnech,
3. doba vzniku VAP,
4. etiologické agens VAP,
5. mortalita (30denní),
6. ostatní parametry (doba UPV, délka pobytu na KARIM, délka pobytu v nemocnici).

Data byla získána ze zdravotnické dokumentace (nemocniční informační systém, zdravotnické záznamy registrujících praktických lékařů).

4.6 Statistická analýza

Ke statistickému zpracování byl použit statistický software IBM SPSS Statistics for Windows, Version 23.0. Armonk, NY: IBM Corp. Soubor byl popsán pomocí absolutních a relativních četností, kvantitativní veličiny byly vyjádřeny jako medián, minimální a maximální hodnota, průměr a směrodatná odchylka (SD). Shapiro-Wilkovými testy normality bylo ověřeno, že většina veličin nemá normální distribuci (normální distribuci měl jen věk). Srovnání skupin pacientů v kvantitativních znacích (věk, BMI, APACHE II skóre) bylo provedeno vzhledem k malým velikostem vzorků pomocí Mann-Whitney *U*-testu. V kvalitativních veličinách (vliv ATB terapie, mortalita) byly skupiny porovnány Fisherovým přesným testem. Za statisticky významnou byla považována hladina signifikance $p < 0,05$.

5. Výsledky

5.1 Pilotní studie

5.1.1 Hodnocení souboru pilotní studie

V referenčním období bylo napojeno na UPV 354 pacientů. Do studie bylo zařazeno 49 pacientů (29 mužů, 20 žen). Předchozí ATB terapii užívalo 32 pacientů (65 %). Obě ramena se v demografických údajích (věk, APACHE II skóre, BMI) statisticky významně nelišila.

Pacienti s předchozí ATB terapií měli delší dobu hospitalizace (medián 13, IQR, 5-90) než pacienti bez předchozí aplikace ATB (medián 9, IQR 4-47), ($p = 0,059$). Doba UPV i délka pobytu na KARIM se významně nelišily (medián 6 vs. 7 dní, resp. 8 vs. 7 dní). Nejčastěji podávanými antibiotiky v předcházejících 90 dnech byly aminopeniciliny s inhibitory bakteriálních beta-laktamáz (amoxicilin/kys. klavulanová, ampicilin/sulbaktam), amoxicilin, ampicilin, azitromycin, piperacilin/tazobaktam, cefazolin, cefuroxim, ciprofloxacin, kotrimoxazol, metronidazol, gentamicin a jejich případné kombinace.

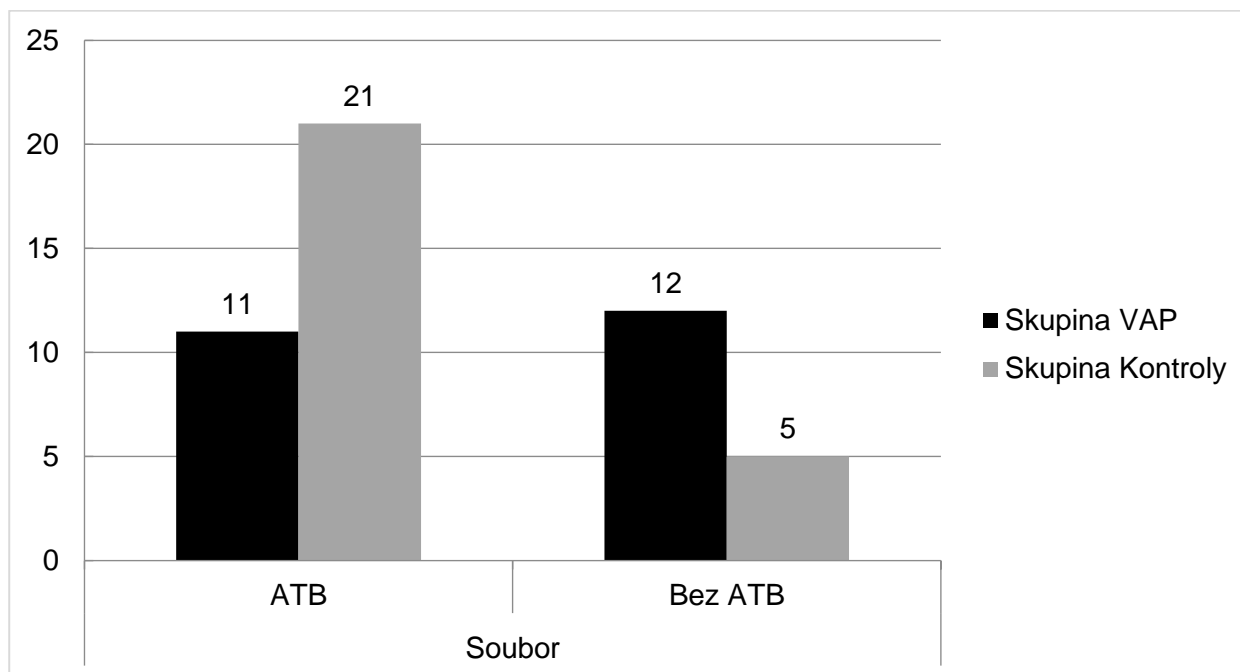
V prvotní studii se výsledky mortality souboru v závislosti na předchozí ATB terapii významněji nelišily (předchozí ATB terapie 22 % vs. bez předchozí ATB terapie 24 %, $p = 1,000$).

5.1.2 Skupina VAP prvotní výsledky

Kritéria VAP splnilo 23 pacientů. Předchozí ATB terapii ve skupině VAP mělo 11 pacientů oproti 12 pacientům bez předchozí aplikace ATB. Četnost VAP byla u pacientů s předchozím podáváním ATB v souboru signifikantně nižší (34 %) než bez předchozí aplikace antibiotik (66 %), ($p = 0,02$) /graf 2/. U pacientů s předcházející ATB léčbou došlo častěji k pozdnímu nástupu VAP. Předchozí ATB terapie u pacientů s VAP prodloužila dobu UPV (medián 9, IQR 5-44) oproti pacientům bez předchozí léčby (medián 7, IQR 4–31). Statisticky významný rozdíl prokázán nebyl ($p = 0,322$). Délka pobytu na KARIM a zejména délka pobytu v nemocnici, byla rovněž delší u pacientů s předchozí ATB terapií (medián 13, IQR 7–44, vs. medián 9,5, IQR 4–36), ($p = 0,164$).

V prvotní studii byla mortalita VAP s předchozí aplikací ATB nižší, avšak bez statistické významnosti (18 %, $n = 2$ vs. 33 %, $n = 4$), ($p = 0,640$).

Graf 2: Vliv ATB na incidenci VAP v pilotní studii



Legenda: VAP – ventilátorová pneumonie,

Kontroly – pacienti na umělé plicní ventilace více než 48 hodin bez známek pneumonie,

ATB – ATB terapie podaná v předchozích 90 dnech,

Bez ATB – absence ATB terapie v předchozích 90 dnech

5.1.3 Etiologická agens, včetně MDR patogenů - prvotní data

Nejčastěji izolovanými etiologickými agens byly enterobakterie, včetně kmenů produkujících širokospektré beta-laktamázy, a *Pseudomonas aeruginosa*. U pacientů bez předcházející ATB léčby byl spíše časný nástup VAP. Nejčastěji pak byly izolovány *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* a *Haemophilus influenzae*. Byl prokázán statisticky významný vyšší podíl MDR patogenů u pacientů s předchozí aplikací antibiotik ($p = 0,047$), z celkového počtu 13 identifikovaných bakteriálních patogenů bylo 10 MDR (77 %). V případě pacientů bez ATB byly pouze 4 bakteriální kmeny z 12 klasifikovány jako MDR (33 %) /tab. 7/.

Tab. 7: Vliv předchozí aplikace antibiotik na spektrum etiologických agens VAP – data pilotní studie

Etiologické agens	ATB	Bez ATB	Celkem
<i>Burkholderia multivorans</i>	1	1	2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	1	2
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	0	1
<i>Escherichia coli</i>	0	1	1
<i>Escherichia coli</i> ESBL+	2	1	3
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ESBL+	4	1	5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	2	2
<i>Morganella morganii</i>	1	0	1
<i>Serratia marcescens</i>	1	1	2
<i>Enterococcus faecalis</i>	1	0	1
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	1	1
<i>Klebsiella aerogenes</i> AmpC+	1	0	1
<i>Enterobacter cloacae</i>	0	2	2
<i>Haemophilus influenzae</i>	0	1	1
Celkem	13	12	25
Počet MDR bakterií	10	4	14

Vysvětlivky: ESBL+, AmpC+ – kmeny produkující širokospektré beta-laktamázy,

MDR – multirezistentní

ATB - ATB terapie podaná v předchozích 90 dnech

Bez ATB - absence ATB terapie v předchozích 90 dnech

5.2 Finální studie

5.2.1 Hodnocení souboru kompletní data

V referenčním období bylo napojeno na UPV déle než 48hodin 697 pacientů. Do studie bylo zahrnuto na základě výše uvedených kritérií 104 pacientů (66 mužů, 38 žen). Předchozí ATB užívalo 39 pacientů (38 %). Při porovnání demografických údajů (věk, index body mass, APACHE II skóre) se skupiny s předchozí aplikací ATB vs. bez předchozí aplikace ATB statisticky významně nelišily /tab. 8/. Nejčastěji podávanými antibiotiky byly aminopeniciliny s inhibitory bakteriálních beta-laktamáz (amoxicilin/kys. klavulanová, ampicilin/sulbaktam), ampicilin, piperacilin/tazobaktam, cefazolin, cefuroxim, ceftazidim, ciprofloxacín, pefloxacín, klaritromycin, kotrimoxazol, meropenem, metronidazol, gentamicin a jejich případné kombinace. Pacienti s předchozí aplikací ATB měli delší dobu hospitalizace (medián 17 dní, interquartile range, IQR 5-60) než pacienti bez předchozí aplikace ATB

(medián 14, IQR 3-71), ($p = 0,053$). Doba UPV a délka pobytu na KARIM se významně nelišily (medián 6 vs. 6 dní, resp. 12 vs. 11 dní).

30denní mortalita v souboru byla nižší u pacientů s předchozí aplikací antibiotik (15 % vs. 19 %), bez statistické významnosti ($p = 0,793$).

Tab. 8: Demografické údaje kompletního souboru

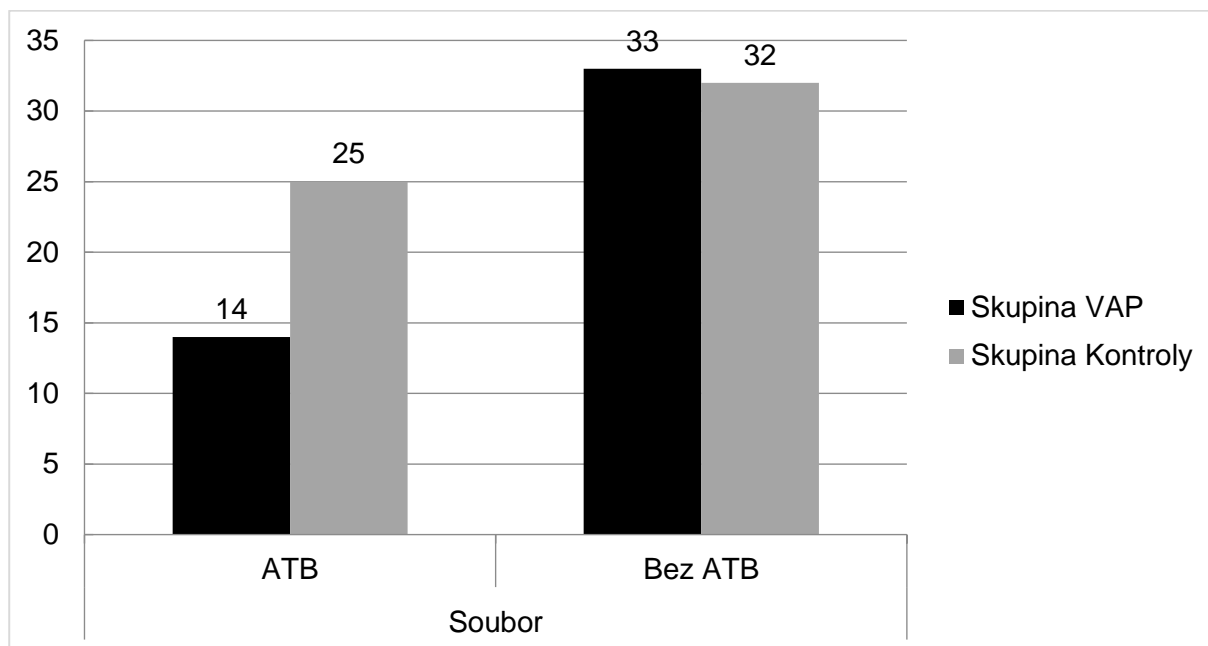
	Soubor										p
	ATB					Bez ATB					
	Median	Min	Max	Mean	SD	Median	Min	Max	Mean	SD	
Věk	62	26	85	61,2	14,2	58	19	92	58	16,6	0,349
BMI	29	19	48	28,7	6,6	27	20	50	28,4	5,5	0,538
APACHE II	23	12	40	24,3	7,3	24	12	39	24,5	6,3	0,593

Vysvětlivky: BMI – Index Body Mass, APACHE II – Acute Physiology And Chronic Health Evaluation II skóre

5.2.2 Skupina VAP kompletní výsledky

Kritéria VAP splnilo 47 pacientů (14 pacientů s údajem o předchozí ATB terapii, 33 pacientů ne). Četnost VAP byla u pacientů s předchozí aplikací ATB nižší (36 %) oproti skupině bez předchozí aplikace ATB (51 %), ($p = 0,159$) /graf 3/. Bez statisticky významného rozdílu došlo častěji k pozdnímu nástupu VAP (u 11 z 14 celkových pacientů po předchozí ATB vs. 20 z 33 celkových pacientů bez ATB před přijetím, $p = 0,241$) /tab. 9 a 10/. U VAP s předchozí aplikací ATB měli pacienti statisticky významně delší dobu pobytu v nemocnici (medián 22 vs. 15 dní, $p = 0,049$) /graf 4/. Doba UPV a délka pobytu na KARIM se významně nelišily (medián 10 vs. 9 dní, resp. 12,5 vs. 12 dní) /tab. 11/.

Graf 3: Vliv ATB na incidenci VAP ve finální studii



Tab. 9: Den vzniku VAP u pacientů s předchozí ATB terapií – kompletní data

Předchozí ATB terapie		Den vzniku VAP		Celkem
		3-4 dny	5 a více	
Etiologické agens	<i>Escherichia coli</i>	1	0	1
	<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	0	1
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	2	2
	<i>Klebsiella</i> spp. ESBL+	1	5	6
	<i>Burkholderia multivorans</i>	0	1	1
	<i>Acinetobacter baumannii</i>	0	1	1
	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	0	1	1
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	1	1
Celkem		3	11	14
Počet MDR patogenů		1	9	10

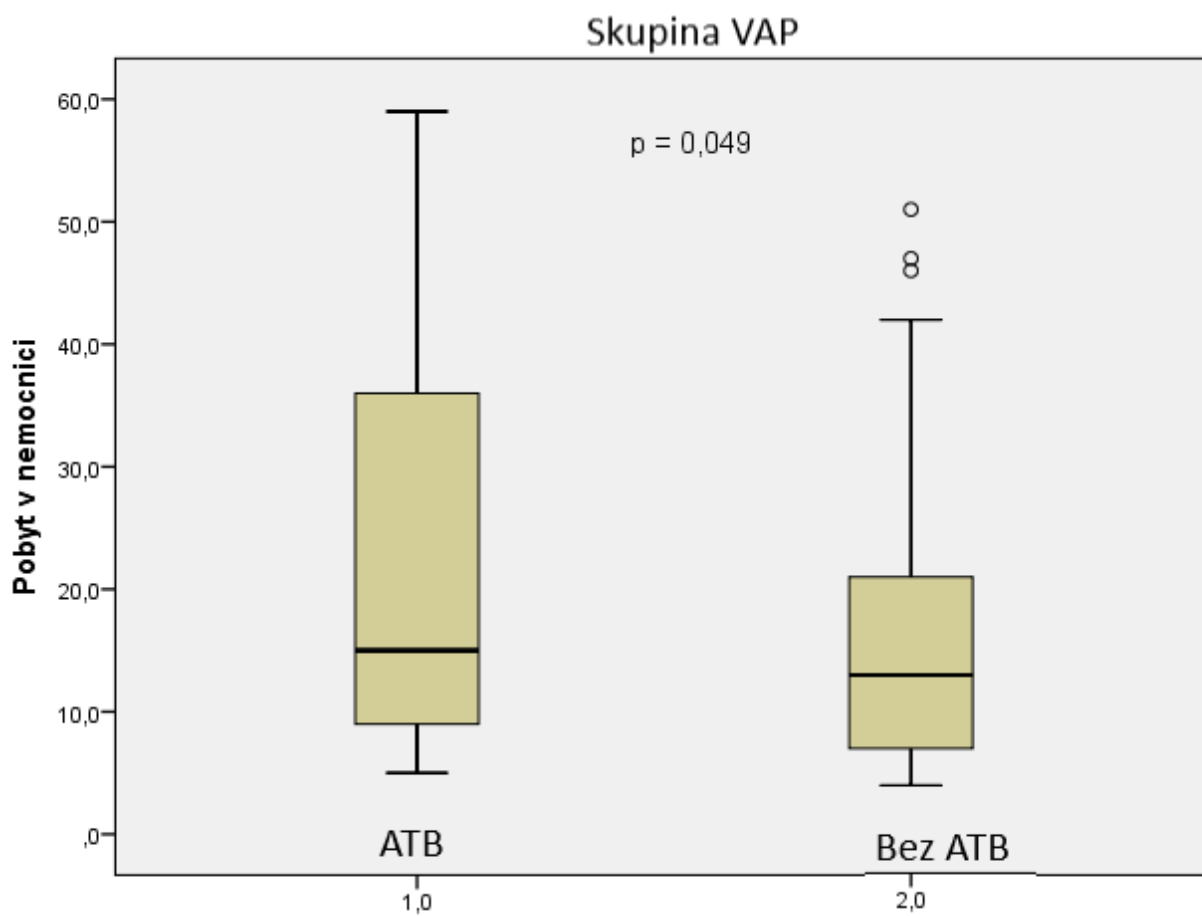
Tab. 10: Den vzniku VAP u pacientů bez předchozí ATB terapie – kompletní data

Bez předchozí ATB terapie		Den vzniku VAP		Celkem
		3-4 dny	5 a více	
Etiologické agens	<i>Morganella morganii</i>	1	1	2
	<i>Enterobacter cloacae</i>	1	1	2
	<i>Enterococcus faecium</i>	1	1	2
	<i>Escherichia coli</i>	3	1	4
	<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	2	3
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	2	3
	<i>Klebsiella</i> spp. ESBL+	2	7	9
	<i>Enterobacter asburiae</i> ESBL+	0	1	1
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	3	4
	<i>Serratia marcescens</i>	0	1	1
	<i>Staphylococcus aureus</i>	1	0	1
	<i>Haemophilus influenzae</i>	1	0	1
Celkem		13	20	33
Počet MDR patogenů		6	15	21

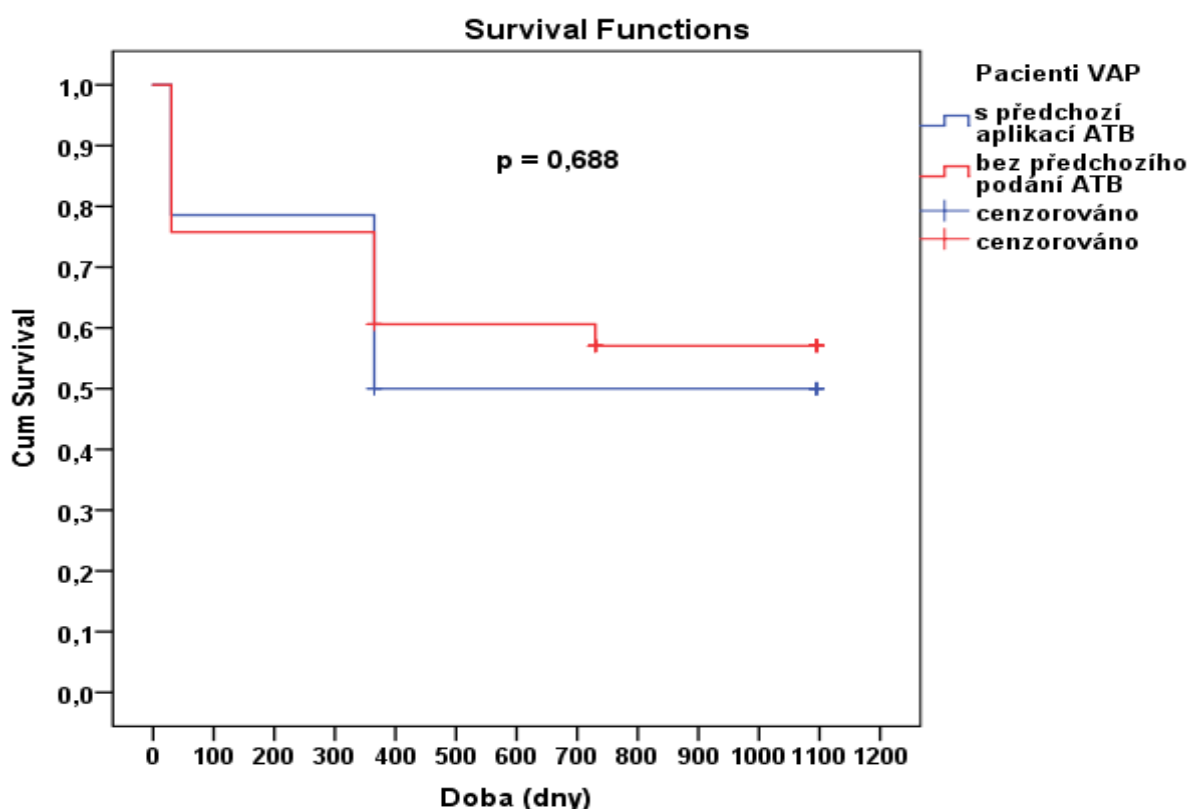
Tab. 11: Klinické hodnocení skupiny VAP – kompletní data

	Skupina VAP										p
	ATB					Bez ATB					
	Median	Min	Max	Mean	SD	Median	Min	Max	Mean	SD	
Doba UPV	10	6	24	11,4	4,6	9	3	43	11,1	7,7	0,408
Délka pobytu na KARIM	12,5	6	45	18,9	12,4	12	3	44	14,8	9,7	0,294
Délka pobytu v nemocnici	22	6	60	25,3	16	15	3	71	17,3	13,4	0,049

Graf 4: Signifikantně delší pobyt v nemocnici u pacientů s VAP po předchozí aplikaci ATB.



Graf 5: Vliv předchozí aplikace ATB na 30denní mortalitu u pacientů s VAP



Legenda: Skupiny pacientů VAP bez ohledu na předchozí aplikaci ATB se v 30denní mortalitě neliší, $p = 0,688$. Ověřeno long-rank testem.

Třicetidenní mortalita VAP činila 23 %. Ve skupině s předchozí aplikací ATB byla nižší (21 % s předchozí ATB vs. 24 % bez předchozí ATB), bez statistické významnosti ($p = 0,688$).

5.2.3 Etiologická agens vč. MDR patogenů - kompletní data

Vliv předchozí aplikace antibiotik na spektrum etiologických agens VAP ukazuje tabulka 12. Nejčastěji izolovanými patogeny byly enterobakterie, včetně kmenů produkujících širokospektré beta-laktamázy (ESBL, AmpC), a kmeny *Pseudomonas aeruginosa*. Podíl MDR patogenů se v závislosti na předchozí ATB terapii statisticky nelišil (MDR po předchozí ATB 71 % vs. MDR bez předchozí aplikace ATB 64 %, $p = 0,742$).

Tab. 12: Vliv předchozí aplikace antibiotik na spektrum etiologických agens VAP – kompletní data

Etiologické agens	ATB	Bez ATB	Celkem
<i>Burkholderia multivorans</i>	1	0	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	4	5
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	0	1
<i>Escherichia coli</i>	1	4	5
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	3	4
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	3	5
<i>Klebsiella aerogenes</i> AmpC+	1	0	1
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ESBL+	4	7	11
<i>Klebsiella varicola</i> ESBL+	1	2	3
<i>Morganella morganii</i>	0	2	2
<i>Serratia marcescens</i>	0	1	1
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1	0	1
<i>Enterococcus faecalis</i>	0	2	2
<i>Enterobacter asburiae</i> ESBL+	0	1	1
<i>Enterobacter cloacae</i>	0	2	2
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	1	1
<i>Haemophilus influenzae</i>	0	1	1
Celkem	14	33	47
Počet MDR bakterií	10	21	31

5.3 Speciální část studie - vyšetření klonality

Do studie vyšetření klonality bylo zařazeno 20 pacientů (18 mužů, 2 ženy), u nichž byla VAP vyvolána kmeny *Klebsiella* spp. a *Escherichia* spp. Z demografických údajů měl normální distribuci jen věk (medián 58, interquartile range, IQR, 23-83). Ostatní parametry, index body mass (medián 28, IQR 19-48) a APACHE II skóre (medián 24, IQR 14–32) neměly normální rozvržení. Doba UPV i celkového pobytu na JIP měla medián 11dní (IQR 5–43), resp. 13dní (IQR 6–44). 30denní mortalita byla u studované skupiny 20 %.

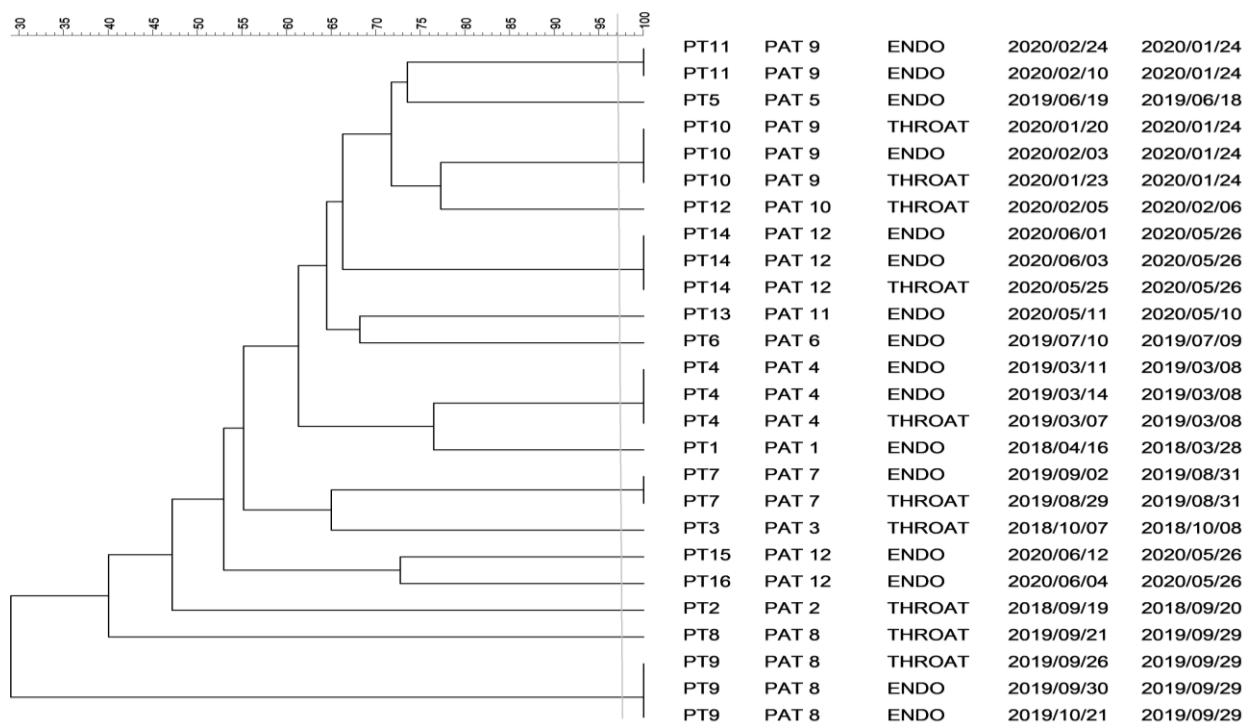
Celkem bylo získáno 49 izolátů *Klebsiella* spp. a *Escherichia* spp. Z toho bylo 40 izolátů identifikováno jako *Klebsiella* spp. patřící 17 pacientům a 9 izolátů jako *Escherichia* spp. získané od 5 pacientů. Z nich 4 izoláty *Klebsiella pneumoniae* patřily pacientům, od kterých byla získána také *Klebsiella variicola* nebo izoláty *Escherichia* spp.

5.3.1 PFGE analýza izolátů *Klebsiella* spp.

Mezi 26 izoláty *Klebsiella pneumoniae* izolovanými od 12 pacientů byly mezi pacienty pozorovány různé restriční profily získané štěpením DNA SpeI, což vedlo k 16 pulsotypům.

Izoláty s identickými restrikčními profily byly dokumentovány mezi různými typy vzorků odebraných pacientům (obr. 14). Kromě toho byl pozorován více než jeden klon mezi izoláty pocházejícími od pacientů s označením PAT 8, PAT 9 a PAT 12.

Obr. 14: Dendrogram pro restrikční vzory izolátů *Klebsiella pneumoniae*

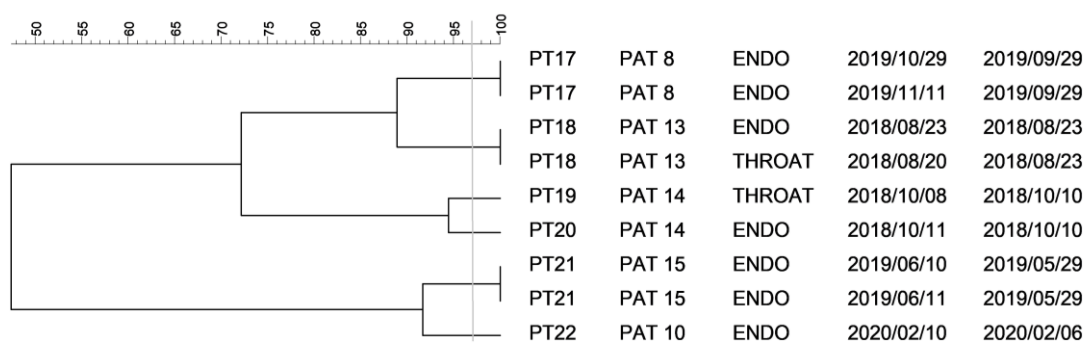


Legenda: vodorovná osa – podobnost izolátů (%); vertikální osa – typ pulso typu, kód pacienta, typ vzorku, datum odběru vzorku, datum diagnózy VAP; PT - pulso typ, PAT – pacient, ENDO - vzorek endotracheálního aspirátu, THROAT - stěž z orofaryngu. Svislá čára označuje práh podobnosti nastavený na 97 %.

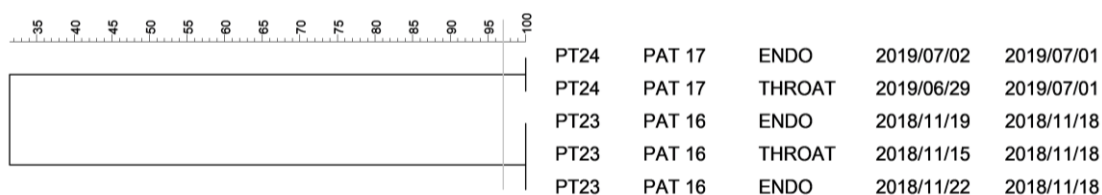
Shluková analýza devíti izolátů identifikovaných jako *Klebsiella variicola* pocházejících od pěti pacientů přispěla k našemu zjištění, že mezi pacienty na Klinice anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny nedošlo ke klonálnímu šíření. Kromě toho byl u pacienta PAT 2 pozorován více než jeden klon (obr. 15).

Dendrogram vytvořený pro pět izolátů *Klebsiella oxytoca* pocházejících od 2 pacientů podporoval klonální diverzitu mezi různými pacienty (obr. 16). Nicméně fylogenetický strom založený na profilech PFGE odhalil identické kmény izolované z různých typů vzorků odebraných od každého pacienta.

Obr. 15: Dendrogram pro restriční vzory izolátů *Klebsiella variicola*



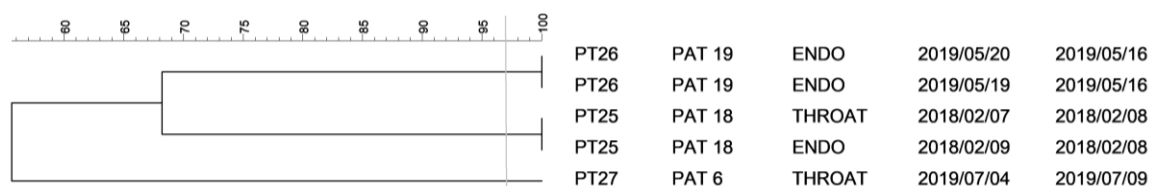
Obr. 16: Dendrogram pro restriční vzory izolátů *Klebsiella oxytoca*



5.3.2 PFGE analýza izolátů *Escherichia* spp.

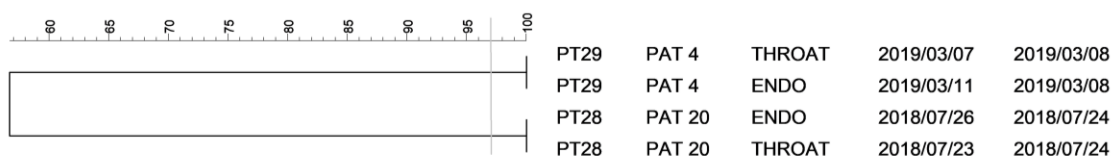
PFGE identifikovala tři pulstypy mezi pěti izoláty *Escherichia coli* patřících třem pacientům (obr. 17), což podporuje klonální diverzitu mezi různými pacienty. Stejně výsledky byly získány restričními profily DNA *Escherichia hermannii*, protože čtyři izoláty byly kategorizovány do dvou fylotypů odpovídajícím kódům pacientů (obr. 18).

Obr. 17: Dendrogram pro restriční vzory izolátů *Escherichia coli*



Legenda: vodorovná osa – podobnost izolátů (%); vertikální osa – pulstyp, kód pacienta, typ vzorku, datum odběru vzorku, datum diagnózy VAP; PT - Pulstyp, PAT - pacient, ENDO - vzorek endotra-cheálního aspirátu, THROAT - stěr z orofaryngu. Svislá čára označuje práh podobnosti nastavený na 97 %.

Obr. 18: Dendrogram pro restriční vzorce izolátů *Escherichia hermannii*



U 15 pacientů (75 %) byl zachycený bakteriální patogen, jako etiologické agens VAP, izolován z horních cest dýchacích před rozvojem VAP, nebo bakteriální kmeny identifikované ze vzorků horních cest dýchacích a ETA vykazovaly identické restriční profily u daného pacienta. U zbývajících pěti pacientů jsme přítomnost detekovaného patogenu potvrdili pouze ve vzorcích ETA až po vzniku VAP.

6. Diskuze

Tato monocentrická studie je první prací v rámci ČR, která hodnotí vliv předchozí antibakteriální léčby na epidemiologii VAP.

Recentní prameny sice zmiňují vliv předchozího užití ATB v souvislosti s léčbou komunitních infekcí na epidemiologii VAP [123], avšak naším cílem bylo určit vliv veškeré aplikace ATB předcházející vzniku VAP, a to včetně profylaxe a léčby nozokomiálních infekcí.

Předložená práce se mezi epidemiologickými daty soustřeďuje zejména na incidenci VAP, 30denní mortalitu a spektrum bakteriálních původců včetně výskytu MDR patogenů v souvislosti s předchozí aplikací ATB.

Výsledky předkládané práce mj. potvrdily v souladu se závěry např. belgické studie Depuydt et al., že předchozí aplikace antibiotik přispívá k nárůstu rezistence bakteriálních původců VAP [47].

Aktuálnost tématu je zvýrazněna i nedostatkem prací, které by přinášely recentní data. Jednou z nich je např. podobně designovaná monocentrická retrospektivní práce francouzských autorů, porovnávající vliv předchozí aplikace antibiotik na mikrobiologický záchyt etiologických agens VAP v definovaných časových intervalech od poslední aplikace ATB do vzniku VAP [124]. V naší studii nebylo možné tuto skutečnost dostatečně ověřit rozdělením skupiny VAP na podobně definované podskupiny ve vztahu k předchozí aplikaci ATB vzhledem k relativně malému souboru (104 vs. 230). Zmíněná francouzská práce byla navíc publikována v únoru 2018. V té době již byla naše studie designována a probíhal sběr dat.

Předchozí aplikace antibiotik byla v naší studii spojena s nižší incidencí VAP (7 %). Odhadovaná incidence VAP bez ohledu na předchozí aplikaci ATB je vyšší, činí 9–27 % [10, 42]. Přestože Dudeck et al. poukazuje ve srovnávací studii dat z NHSN na sestupný trend incidence VAP, recentně publikovaná data v klinických doporučeních společností IDSA/ATS referují stacionární podíl VAP (přibližně 10 %) u ventilovaných pacientů [16, 125, 126]. Možným vysvětlením je důsledná aplikace preventivních opatření k eliminaci rizikových faktorů vzniku VAP [51]. Další možné vysvětlení lze nalézt v zastoupení antibakteriálních přípravků u předchozí ATB léčby. Nejčastěji podávanými antibiotiky v předchozích 90 dnech byly aminopeniciliny s inhibitory beta-laktamáz (ampicilin/sulbaktam či amoxicilin/klavulanová), které jsou zároveň i součástí obecných doporučení iniciální ATB terapie těžce probíhajících komunitních pneumonií u rizikových pacientů dle Fineho kritérií [15]. Nelze však ani vyloučit,

že předchozí aplikace antibiotik může vést k falešně negativnímu záchytu etiologických agens VAP v kultivačním materiálu. Retrospektivní práce Litijos et al. hodnotící vliv předchozí aplikace antibiotik na záchyt etiologických agens VAP uvádí nejnižší podíl pozitivních kultur zejména u pacientů se stávající ATB terapií oproti předchozí antibiotické léčbě a pacientům bez léčby (42 %, 68 %, resp. 86 %) [124]. Aplikace širokospektrých antibiotik u pacientů s respiračním selháním na UPV představuje riziko vzniku dalších nozokomiálních infekcí. Bogdanová et al. ve své retrospektivní studii hodnotí vliv předchozí aplikace antibiotik na riziko vzniku infekce způsobené *Clostridioides difficile*, resp. Vankomycin-rezistentní enterokoky (VRE) u těchto pacientů. Toto riziko snižují především přísná hygienická opatření a včasná deeskalace antibiotické terapie [127].

V naší práci byly nejčastěji izolovanými patogeny (79 %) enterobakterie, včetně kmenů produkujících širokospektré beta-laktamázy (ESBL, AmpC), a kmeny *Pseudomonas aeruginosa*. Při porovnání s předchozími výsledky z našeho pracoviště publikované v rámci multicentrické studie Uvízl et al z roku 2017, která hodnotila optimální nastavení iniciální empirické antimikrobiální terapie u nozokomiálních pneumonií je zastoupení těchto patogenů přibližně stacionární (88 %) [128]. Velmi podobné zastoupení těchto etiologických agens VAP uvádí i Gupta et al. v indické prevalenční studii [20]. Odlišné zastoupení uvedených etiologických agens VAP však referují jiné nadregionální studie [129, 130], a zřejmě tak odrážejí odlišnou regionální mikrobiologickou situaci.

Kumulativní záchyt MDR patogenů po předchozí aplikaci antibiotik byl v naší studii 71 %, což je podobné zastoupení (72 %) těchto etiologických agens VAP jako v prevalenční studii publikované Guptou et al. v roce 2017. Pokud však porovnáme podíl kmenů produkujících ESBL u *Klebsiella* spp., pak je v našem souboru toto zastoupení nižší (43 % vs. 55 %) [20]. Zcela odlišné výsledky pak uvádí ve své práci Litijos et al. u pacientů s VAP po předchozí aplikaci ATB. Celkový podíl MDR patogenů je nižší (19 % vs. 71 %). Významně se liší i v zastoupení MDR patogenů (kmeny produkující ESBL 3 % vs. 43 %) [124]. Rozdíly jsou velmi pravděpodobně dány senzitivitou použité metody k analýze vzorků (ETA vs. PSB). Odběr ETA má výrazně vyšší četnost záchytu patogenů (93%), ve srovnání nejen s OS (59%) a gastric aspiration (57%), ale zejména s protected specimen brushing (PSB, 36%) [131]. V souladu s výsledky metaanalýzy Fernando et al. má PSB nejvyšší senzitivitu z invazivních technik odběru, a proto již není rutinně prováděn [65]. Samotná předchozí aplikace antibiotik vede k značnému snížení senzitivity u vzorků odebraných invazivní technikou [86].

Třicetidenní mortalita v souvislosti s VAP činila v našem souboru 23 %. Melsen et al. ve své meta-analýze uvádí nižší údaj (13 %) [53]. Pokud však porovnáme srovnatelné podskupiny pacientů (APACHE II skóre 20-29), byla mortalita v naší studii nižší (23 % vs. 36 %). Porovnání údajů o mortalitě v jednotlivých studiích je však limitováno také rozdílnou metodikou jejího vyjádření. Forel et al. stanovili 28denní mortalitu u pacientů s VAP na hodnotě 27 % a 90denní na 42 % [130]. Werarak dokumentuje 46 % 30denní mortalitu a Litjos et al. mortalitu na úrovni 32 % časově nespecifikuje vůbec [124, 132]. V multicentrické studii Herkel et al. hodnotili autoři 30denní mortalitu v závislosti na adekvátnosti, resp. neadekvátnosti empirické antibiotické terapie (27 % vs. 45 %) [94]. Mortalita pacientů VAP s předchozí aplikací ATB byla jen mírně nižší. Možným vysvětlením je zohlednění předchozích mikrobiologických nálezů. Následná ATB terapie již byla cíleně zaměřená a příznivě ovlivnila celkovou mortalitu.

Toto tvrzení jsme ověřili v následné studii klonalit. V patogenezi VAP hraje hlavní roli mikroaspirace bakterií ze sekretů v prostoru nad manžetou endotracheální rourky nebo orofaryngu. Méně často je infekce způsobena exogenně získanými patogeny. Většina případů VAP je tedy endogenního původu [43, 133]. Zavedení rutinního hodnocení bakteriální flóry v horních i dolních cestách dýchacích nám umožnilo včasnou identifikaci bakteriálních patogenů odpovědných za VAP [131]. Litjos JF et. al. ve svém doporučení uvádí, že je vhodné v dalších studiích ověřit vliv periodického hodnocení mikrobiologických nálezů z plic na vedení antibiotické léčby u pacientů na UPV [124]. Podle našich výsledků je frekvence odběrů OS a ETA 2x týdně vyhovující.

Studie klonalit je jednou z mála dosud publikovaných prací, která srovnává klonalitu izolátů *Klebsiella* a *Escherichia* spp. z různých typů vzorků u každého konkrétního pacienta s VAP. Mezi 20 pacienty jsme pozorovali celkem 29 pulsotypů PFGE. Restrikční profily získané z 26 izolátů *Klebsiella pneumoniae* odhalily 16 pulsotypů u 12 pacientů. Izoláty *Klebsiella variicola* také vykazovaly vysokou variabilitu klonů, protože bylo získáno 6 pulsotypů z izolátů patřících 5 pacientům. V případě izolátů *Klebsiella oxytoca*, *Escherichia coli* a *Escherichia hermannii*, analyzovaných pomocí PFGE, počet pulsotypů vždy odpovídal počtu pacientů, což dokazuje, že mezi hospitalizovanými pacienty nedochází k cirkulaci patogenů. Srovnání pulsotypů PFGE získaných v této studii také ukázalo vysokou variabilitu bakteriálních klonů mezi různými pacienty, což koreluje s výsledky studie Hanulika et. al. demonstrující klonální diverzitu mezi 23 izoláty *Klebsiella pneumoniae* s pouze třemi páry klonů patřících šesti různým pacientům [134]. Pozdější studie Pudové et al. uvádí jedinečné

restrikční profily analyzovaných izolátů (74 %) od pacientů s HAP, což naznačuje pouze omezené klonální šíření bakteriálních patogenů HAP mezi jednotlivými pacienty [135]. K odlišnému závěru potvrzeném PFGE analýzou vedlo sledování multirezistentních izolátů *Klebsiella pneumoniae* způsobujících VAP v Egyptě. Studie Mohameda et al. zahrnovala 19 klinických izolátů od různých pacientů a čtyři environmentální izoláty, což vedlo k určení 17 pulsotypů. Restrikční profily klinických a environmentálních izolátů byly v této egyptské studii podobné, což naznačuje exogenní původ infekce VAP [136]. Identické klony *Klebsiella pneumoniae* byly také detekovány u 29 % pacientů s VAP v Číně. Klonální vztah kmenů *Klebsiella pneumoniae* byl studován náhodně amplifikovanou polymorfní DNA (RAPD) a typizací multilokusových sekvencí, přičemž bylo odhaleno 21 různých RAPD vzorů a 25 typů sekvencí (ST) mezi 49 izoláty *Klebsiella pneumoniae*. Nejčastější klon, ST23 (42,8% prevalence) odpovídající hypervirulentní *Klebsiella pneumoniae* (hvKP), prokázal identický RAPD vzorec pro všechny analyzované izoláty, což naznačuje jejich epidemiologický vztah [137]. Podle studie Tabriziho et al. byl hvKP izolovaný u pacientů na UPV s otravou drogami příbuzný ST23 se stejným pulsotypem PFGE, což také zdůrazňuje jeho epidemiologický význam [138]. Na základě našich výsledků PFGE analýzy nebyl mezi vyšetřovanými pacienty detekován žádný epidemiologický kmen.

U 75 % pacientů byl identifikovaný bakteriální patogen nejprve izolován z horních cest dýchacích jako součást bakteriální flóry. Následně byla potvrzena jeho přítomnost v endotracheálním sekretu pacienta s klinicky manifestovanou VAP. Toto zjištění potvrzuje rozvoj VAP nejčastěji v důsledku bakteriální mikroaspirace, tedy endogenní cestou. K podobnému závěru dospěla i studie Pudové et al. [135].

Limitací studie je její retrospektivní design, hodnocení pouze dvou nejčastěji zastoupených bakteriálních kmenů a relativně malý soubor pacientů.

7. Závěr

Předchozí podávání ATB je spojeno s nižší incidencí VAP a současně mírně vyšším výskytem MDR bakteriálních kmenů. 30denní mortalita pacientů VAP s předchozí aplikací ATB je mírně nižší. Vysoká variabilita bakteriálních patogenů izolovaných od různých pacientů svědčí pro převažující endogenní původ infekce VAP.

Znalost předchozí aplikace antibiotik a výsledků mikrobiologických nálezů může časně modifikovat antibiotickou léčbu VAP a příznivě ovlivnit 30denní mortalitu pacientů. Další studie by měly prozkoumat, zda je tento rozdíl spojen s prokazatelným účinkem na mortalitu pacientů.

8. Souhrn

Disertační práce je zaměřena na zhodnocení vlivu předchozí ATB léčby na incidenci VAP, 30denní mortalitu a spektrum etiologických agens VAP, včetně výskytu MDR bakteriálních patogenů. Recentní prameny zmiňují vliv předchozího užití ATB zejména v souvislosti s léčbou komunitních infekcí na epidemiologii VAP. Cílem naší studie však bylo určit vliv veškeré aplikace ATB předcházející vzniku VAP, a to včetně profylaxe a léčby nozokomiálních infekcí.

V pilotní části studie jsme nejprve ověřili samotný vliv předchozí ATB terapie na incidenci VAP. Četnost VAP byla u pacientů s předchozím podáváním antibiotik v souboru signifikantně nižší než bez předchozí aplikace. Předchozí aplikace antibiotik tak byla spojena s nižší incidencí VAP (7 %). Možné vysvětlení lze nalézt v zastoupení antibakteriálních přípravků u předchozí ATB léčby. Nejčastěji podávanými antibiotiky v předchozích 90 dnech byly aminopeniciliny s inhibitory beta-laktamáz (ampicilin/sulbaktam či amoxicilin/klavulanová). Nejčastěji zachycenými patogeny byly enterobakterie, včetně kmenů produkujících širokospektré beta-laktamázy (ESBL, AmpC), a kmeny *Pseudomonas aeruginosa*. U pacientů s předchozí aplikací antibiotik jsme evidovali statisticky významný podíl MDR patogenů (77 %).

Ve finální studii dané hodnoty již tak přesvědčivé nebyly. Předchozí ATB užívalo méně pacientů (38 % vs. 65 %). Při porovnání demografických údajů (věk, index body mass, APACHE II skóre) se skupiny s předchozí aplikací ATB vs. bez předchozí aplikace ATB nelišily. Četnost VAP byla u pacientů s předchozí aplikací ATB nižší (36 %) oproti skupině bez předchozí aplikace ATB (51 %), ($p = 0,159$). Nejčastěji zachycenými patogeny byly nadále enterobakterie, včetně kmenů produkujících širokospektré beta-laktamázy (ESBL, AmpC), a kmeny *Pseudomonas aeruginosa*. Podíl MDR patogenů se v závislosti na předchozí aplikaci antibiotik však statisticky nelišil (MDR po předchozí ATB 71 % vs. MDR bez předchozí aplikace ATB 64 %, $p = 0,742$). 30denní mortalita VAP s předchozí aplikací ATB byla nižší, bez statistické významnosti ($p = 0,688$).

V následné studii klonalit byla ověřena hypotéza, zda se v etiologii VAP uplatňují etiologická agens z bakteriální mikroflóry horních cest dýchacích výrazněji, resp. dochází častěji k vertikálnímu šíření patogenů než k jejich horizontálnímu šíření mezi pacienty. Do studie vyšetření klonality bylo zařazeno 20 pacientů, u nichž byla VAP vyvolána kmeny *Klebsiella* spp. a *Escherichia* spp. Celkem bylo získáno 49 izolátů. Klonální vztahy bakteriálních izolátů byly stanoveny porovnáním jejich makrorestrikčních profilů získaných

gelovou elektroforézou v pulzním poli (PFGE). Restrikční profily dosahující 97% podobnosti byly považovány za identické. U 75 % byl zachycený bakteriální patogen, jako etiologické agens VAP, izolován z horních cest dýchacích před rozvojem VAP nebo bakteriální kmeny identifikované ze vzorků horních cest dýchacích a endotracheálního aspirátu (ETA) vykazovaly identické restrikční profily u daného pacienta. U zbývajících pěti pacientů jsme přítomnost detekovaného patogenu potvrdili pouze ve vzorcích ETA až po vzniku VAP. To bylo spojeno i s nižší 30denní mortalitou u studované skupiny (20 %).

Předchozí podávání ATB je spojeno s nižší incidencí VAP a současně mírně vyšším výskytem MDR bakteriálních kmenů. 30denní mortalita pacientů VAP s předchozí aplikací ATB byla mírně nižší. Vysoká variabilita bakteriálních patogenů izolovaných od různých pacientů svědčí pro převažující endogenní původ infekce VAP. Znalost předchozí aplikace antibiotik a výsledků mikrobiologických nálezů může časně modifikovat antibiotickou léčbu VAP a příznivě ovlivnit 30denní mortalitu pacientů. Další studie by měly prozkoumat, zda je tento rozdíl spojen s prokazatelným účinkem na mortalitu pacientů.

9. Summary

This dissertation focuses on evaluating the effect of previous antibiotic therapy on the incidence of ventilator-associated pneumonia (VAP), 30-day mortality and the spectrum of etiologic agents causing VAP, including multidrug-resistant (MDR) bacterial pathogens. Recent literature mentions the effect of previous antibiotic therapy on VAP epidemiology mainly in association with community-acquired infections. Our study, however, aimed to determine the effect of all antibiotics used in the pre-VAP period, including prophylaxis and healthcare-associated infection therapy.

The pilot phase of the study started with our verifying the very effect of previous antibiotic therapy on VAP incidence. The frequency of VAP was significantly lower in a group with previous antibiotic use compared to a group without the therapy. Thus, previous antibiotic use was associated with lower VAP incidence (7%). This may be explained by the selection of antibacterials used for previous therapy. In the previous 90 days, the most frequently administered antibiotics were aminopenicillins with beta-lactamase inhibitors (ampicillin/sulbactam or amoxicillin/ clavulanic acid). The most frequently identified pathogens were enterobacteria, including strains producing broad-spectrum beta-lactamases (ESBL, AmpC), and *Pseudomonas aeruginosa* strains. There was a statistically significant proportion of MDR pathogens (77%) in the group with previous antibiotic therapy.

The final study failed to yield such convincing results. Previous antibiotic therapy was noted in fewer patients (38% v. 65%). There were no significant differences between the groups with or without previous antibiotic therapy in terms of demographic data (age, body mass index, APACHE II score). The frequency of VAP was lower in the group with previous antibiotic therapy (36%) compared to the group without the therapy (51%; $p = 0.159$). Once again, the most frequent pathogens were enterobacteria, including strains producing broad-spectrum beta-lactamases (ESBL, AmpC), and *Pseudomonas aeruginosa* strains. However, there was no statistically significant difference in the proportion of MDR pathogens between the group with previous antibiotic therapy (71%) and the group without the therapy (64%; $p = 0.742$). The 30-day mortality was lower in the group with previous antibiotic therapy, but no statistical significance was shown ($p = 0.688$).

Subsequently, clonality was studied to verify a hypothesis that bacteria originating from upper respiratory tract flora play a more prominent role in the etiology of VAP, or that vertical pathogen transmission is more frequent than horizontal transmission among patients. The clonality study comprised 20 patients whose VAP was caused by *Klebsiella*

spp. and *Escherichia* spp. strains. A total of 49 bacterial isolates were collected. Their clonal relationship was determined by comparing their macrorestriction profiles obtained by pulsed-field gel electrophoresis. Restriction profiles reaching 97% similarity were considered identical. In 75% of cases, bacterial pathogens causing VAP had been isolated from the upper airways before the onset of VAP or bacterial strains identified in upper airway and endotracheal aspirate (ETA) samples showed identical restriction profiles in the patient. In the remaining five patients, we were able to detect the pathogen in ETA samples only after the onset of VAP. This phenomenon was associated with lower 30-day mortality in the studied group (20%).

Previous antibiotic therapy is associated with lower incidence of VAP and slightly higher frequency of MDR bacterial strains. The 30-day mortality was slightly lower in VAP patients with previous antibiotic therapy. The wide variety of bacterial pathogens isolated from different patients is suggestive of predominantly endogenous etiology of VAP infection. The knowledge of previous antibiotic therapy and microbiology test results may contribute to early modification of VAP therapy and more favorable 30-day mortality. Future studies should aim to prove the effect this difference has on patient mortality.

10. Seznam zkratk

ALAT – Asociación Latinoamericana del Tórax

AMR – antimikrobiální rezistence

AMS – Antimicrobial Stewardship

APACHE II – Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II

ARDS – Acute Respiratory Distress Syndrome, Syndrom akutní dechové tísně

AST – Antimicrobial susceptibility Testing, testování antimikrobiální citlivosti

ATB – antibiotická

ATCC – American Type Culture Collection, USA

ATS – The American Thoracic Society

BAL – bronchoalveolární laváž

BI – tzv. bakteriální index

BMI – Index Body Mass, index tělesné hmotnosti

CAP – Community-Acquired Pneumonia, komunitní pneumonie

CDC – Centers for Disease Control and Prevention

CEPPIS – Chest Echography and Procalcitonin Pulmonary Infection Score

CFS – Clinical Frailty Scale

CFU – colony-forming unit

CI – Confidence Interval, interval spolehlivosti

CLSI – Clinical Laboratory Standards Institute

CPIS – Clinical Pulmonary Infection Score

CRP – C-reaktivní protein

CT – výpočetní tomografie

ČPFS – Česká pneumologická a ftizeologická společnost

DNA – Deoxyribonucleic acid, Kyselina deoxyribonukleová

EARS-Net – European Antimicrobial Resistance Surveillance Network

ECDC – European Centre for Disease Prevention and Control

ERS – European Respiratory Society

ESBL, AmpC – Extended Spectrum Beta-Lactamase, kmeny produkující širokospektrou betalaktamázu

ESCMID – European Society of Clinical Microbiology and Infectious Disease

ESICM – European Society of Intensive Care Medicine

EA, ETA – endotracheální aspirát

EUCAST – European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

FDA – United States Food and Drug Administration

FNOL – Fakultní nemocnice Olomouc

GNB – Gram-negativními bakterie

GRADE – Grading of Recommendation, Assessment, Development and Evaluation

HAI – Healthcare-Associated Infection, nozokomiální infekce

HAP – Healthcare-Associated Pneumonia, nozokomiální pneumonie

HME filtry – heat-moisture exchanger filtry

HRCT – výpočetní tomografie s vysokým rozlišením

CHOPN – Chronická obstrukční plicní nemoc

IDSA – Infectious Diseases Society of America

IHI – Institute for Healthcare Improvement

ISID – International Society for Infectious Disease

JIP – Jednotka intenzivní péče

KARIM – Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny

Kys. – kyselina

LUS – Lung ultrasound, ultrazvukové vyšetření plic

MALDI-TOF – Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-Of-Flight mass spektrometry

MDR – MultiDrug-Resistant, multirezistentní

MIC – minimální inhibiční koncentrace

MRSA – Methicillin-rezistentní kmeny *Staphylococcus aureus*

NHSN – National Healthcare Safety Network

O.P.S. – obecně prospěšná společnost

OR – Odds Ratio, vyjadřuje míru rizika určité události či jevu

OS – orofaryngeální stěr

PaO₂/FiO₂ – tzv. oxigenační index vyjadřující závažnost oxigenační poruchy

PCR – Polymerase Chain Reaction, polymerázová řetězová reakce

PCT – prokalcitonin

PDR – PanDrug-Resistant, panrezistentní

PEEP – Positive End-Expiratory Pressure, pozitivní tlak na konci expira

PICO – Population-Intervention-Comparison-Outcome

PSB – Protected Specimen Brush, tzv. chráněný kartáčový stěr

RAPD – Random Amplification of Polymorphic DNA, náhodně amplifikovanou polymorfní DNA

RTG – skiografie, diagnostická metoda využívající rentgenové záření

SDD – Selektivní digestivní dekontaminace

SHEA – The Society for Healthcare Epidemiology of America

SOD – Selektivní orofaryngeální dekontaminace

STREM-1 – Soluble Triggering Receptor Expressed on Myeloid cells

TRALI – Transfusion-Associated Lung Injury

TT – tělesná teplota

UPV – umělá plicní ventilace

VAE – Ventilator-associated events, stavy či události spojené s UPV

VAP – Ventilator-Associated Pneumonia, ventilátorová pneumonie

VAT – Ventilator-Associated Tracheobronchitis, ventilátorová tracheobronchitida

VPLUS – Ventilator-associated Pneumonia Lung Ultrasound Score

VRE – Vancomycin-Resistant Enterococci

WBC – White Blood Cell, leukocyty

WHO – World Health Organization, Světová zdravotnická organizace

XDR – eXtensively Drug-Resistant, extenzivně rezistentní

11. Seznam tabulek

Tabulka 1: Bakteriální kmeny doporučené pro rutinní kontrolu kvality testování European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)

Tabulka 2: Přehled vybraných rizikových faktorů

Tabulka 3: Hodnocení CPIS

Tabulka 4: Výpočet CEPPIS

Tabulka 5: Hodnocení VPLUS

Tabulka 6: Deset zásadních bodů při užití ATB terapie

Tabulka 7: Vliv předchozí aplikace antibiotik na spektrum etiologických agens VAP – data pilotní studie

Tabulka 8: Demografické údaje kompletního souboru

Tabulka 9: Den vzniku VAP u pacientů s předchozí ATB terapií – kompletní data

Tabulka 10: Den vzniku VAP u pacientů bez předchozí ATB terapie – kompletní data

Tabulka 11: Klinické hodnocení skupiny VAP – kompletní data

Tabulka 12: Vliv předchozí aplikace antibiotik na spektrum etiologických agens VAP – kompletní data

12. Seznam grafů

Graf 1: Výsledky vyhledávání citací VAP za posledních 20let

Graf 2: Vliv ATB na incidenci VAP v pilotní studii

Graf 3: Vliv ATB na incidenci VAP ve finální studii

Graf 4: Signifikantně delší pobyt v nemocnici u pacientů s VAP po předchozí aplikaci ATB

Graf 5: Vliv předchozí aplikace ATB na 30denní mortalitu u pacientů s VAP

13. Seznam obrázků

Obrázek 1: CDC kritéria 2013 a update 2015

Obrázek 2: Rozšíření MRSA

Obrázek 3: Rozšíření *Escherichia coli* rezistentní k třetí generaci cefalosporinů

Obrázek 4: Rozšíření *Pseudomonas aeruginosa* rezistentní ke karbapenemům

Obrázek 5: Klíčové faktory při vzniku respirační infekce

Obrázek 6: CT hrudníku pneumonie

Obrázek 7: Ultrazvukové vyšetření a hodnocení postižení plic

Obrázek 8: Ultrazvukové známky VAP

Obrázek 9: Doporučený algoritmus pro rozhodování k iniciální ATB léčbě HAP/VAP

Obrázek 10: Doporučený postup pro iniciální léčbu VAP ve FNOL

Obrázek 11: Flow-diagram znázorňující přístup k deeskalaci ATB terapie nemocničních infekcí

Obrázek 12: Pět momentů hygieny rukou ve zdravotní péči

Obrázek 13: Preventivní opatření vzniku VAP na KARIM JIP FNOL

Obrázek 14: Dendrogram pro restriční vzory izolátů *Klebsiella pneumoniae*

Obrázek 15: Dendrogram pro restriční vzory izolátů *Klebsiella variicola*

Obrázek 16: Dendrogram pro restriční vzory izolátů *Klebsiella oxytoca*

Obrázek 17: Dendrogram pro restriční vzory izolátů *Escherichia coli*

Obrázek 18: Dendrogram pro restriční vzorce izolátů *Escherichia hermannii*

14. Přehled publikací

Práce související s disertační prací

1. **Papajk J.**, Mezerová K., Uvízl R., Štosová T. a Kolář M. Clonal Diversity of *Klebsiella* spp. and *Escherichia* spp. Strains Isolated from Patients with Ventilator-Associated Pneumonia. *Antibiotics* **2021**, 10:674. doi: 10.3390/antibiotics10060674. ISSN 2079-6382. [IF 5.222]
2. **Papajk J.**, Uvízl R., Kolář M. Vliv předchozí antibiotické terapie na epidemiologii ventilátorových pneumonií. *Klin. Mikrobiol. Infekc. Lek.* **2019**, 25:7-11. ISSN 1211-264X.
3. **Papajk J.**, Uvízl R., Kolář M. Modifikuje předchozí antibiotická terapie epidemiologii ventilátorové pneumonie? In: Beneš J., Kosinová M. (eds.) Abstrakty XXVI. kongresu ČSARIM Brno 2019. *Anest. Intenziv. Med.* **2019**, 30:195-221. ISSN 1214-2158.
4. **Papajk J.**, Uvízl R., Kolář M. Epidemiologie ventilátorových pneumonií s ohledem na předchozí antibiotickou terapii. In: Kolář M. (eds.) XXVII. moravsko-slovenské mikrobiologické dny. Luhačovice, 2021, s. 11-48. ISBN 8088379059.
5. Bogdanová K., Doubravská L., Vágnerová I., Hricová K., Pudová V., Röderová M., **Papajk J.**, Uvízl R., Langová K., Kolář M. *Clostridioides difficile* and Vancomycin-Resistant Enterococci in COVID-19 Patients with Severe Pneumonia. *Life* **2021**, 11:1127. doi: 10.3390/life11111127. ISSN 2075-1729. [IF 3.251]

Ostatní publikace

1. **Papajk J.** CRRT – dostupné přístrojové vybavení v ČR a charakteristiky jednotlivých technik. *XXII. Colours of Sepsis*. Ostrava, 2020.
2. **Papajk J.** Je asymptomatická bakteriurie důvodem k odložení operace? *Přednáškový večer Spolku lékařů ČLS JEP v Olomouci na téma Aktuální otázky v anestezií a intenzivní medicíně*. Olomouc, 2018.

15. Reference

1. Haque, M.; Sartelli, M.; McKimm, J.; Bakar, M.A. Health care-associated infections - an overview. *Infect Drug Resist.* **2018**, 11:2321-2333. doi: 10.2147/IDR.S177247. ISSN 1178-6973.
2. World Health Organization & WHO Patient Safety. WHO guidelines on hand hygiene in health care: a summary. World Health Organization. 2009. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/70126>
3. Suetens, C.; Latour, K.; Kärki, T.; Ricchizzi, E.; Kinross, P.; Moro, M.L.; Jans, B.; Hopkins, S.; Hansen, S.; Monnet, D.L.; et al: Prevalence of healthcare-associated infections, estimated incidence and composite antimicrobial resistance index in acute care hospitals and long-term care facilities: results from two European point prevalence surveys, 2016 to 2017. *Euro Surveill.* **2018**, 23:1800516. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2018.23.46.1800516. ISSN 1560-7917.
4. Report on the Burden of Endemic Health Care-Associated Infection Worldwide. World Health Organization. 2011. [cited: 2013 Apr 23]. Available from: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/80135/9789241501507_eng.pdf
5. Wasserman, S.; Messina, A. Guide to infection control in the healthcare setting, Bundles in Infection Prevention and Safety. International Society for Infectious Diseases [last updated: 2018 Feb]. Available from: <https://isid.org/guide/infectionprevention/bundles/>
6. Akreditační standardy pro nemocnice Spojené Akreditační Komise o.p.s., 3. vydání účinné od 1.1.2014. Dostupný z: <https://www.sakcr.cz/files/2e6e410b84857cf84cf734275644446f/nemsak-standardy-nemocnice-2014.pdf>
7. Vincent, J.L. Nosocomial infections in adult intensive-care units. *Lancet.* **2003**, 361:2068-77. doi: 10.1016/S0140-6736(03)13644-6. ISSN 0140-6736.
8. Vincent, J.L.; Sakr, Y.; Singer, M.; Martin-Loeches, I.; Machado, F.R.; Marshall, J.C.; Finfer, S.; Pelosi, P.; Brazzi, L.; Angus, D.C.; et al. Prevalence and Outcomes of Infection Among Patients in Intensive Care Units in 2017. *JAMA.* **2020**, 323:1478-1487. doi: 10.1001/jama.2020.2717. ISSN 1538-3598.
9. Healthcare-associated infections in intensive care units - Annual Epidemiological Report for 2017. Surveillance report European Center for Disease Prevention and Control [cited 2019 Oct 10]. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/healthcare-associated-infections-intensive-care-units-annual-epidemiological-1>
10. American Thoracic Society; Infectious Diseases Society of America. Guidelines for the Management of Adults with Hospital-acquired, Ventilator-associated, and Healthcare-associated Pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med.* **2005**, 171, 388–416. doi: 10.1164/rccm.200405-644ST. ISSN 1535-4970.

16. Torres, A.; Niederman, M.S.; Chastre, J.; Ewig, S.; Fernandez-Vandellos, P.; Hanberger, H.; Kollef, M.; Li Bassi, G.; Luna, C.M.; Wunderink, R.; et al.: International ERS/ESICM/ESCMID/ALAT guidelines for the management of hospital-acquired pneumonia and ventilator-associated pneumonia: Guidelines for the management of hospital-acquired pneumonia (HAP)/ventilator-associated pneumonia (VAP) of the European Respiratory Society (ERS), European Society of Intensive Care Medicine (ESICM), European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) and Asociación Latinoamericana del Tórax (ALAT). *Eur Respir J.* **2017**, 50:1700582. doi: 10.1183/13993003.00582-2017. ISSN 1399-3003.
17. Nseir, S.; Favory, R.; Jozefowicz, E.; Decamps, F.; Dewavrin, F.; Brunin, G.; Di Pompeo, C.; Mathieu, D.; Durocher, A. Antimicrobial treatment for ventilator-associated tracheobronchitis: a randomized, controlled, multicenter study. *Crit Care.* **2008**, 12:R62. doi: 10.1186/cc6890. ISSN 1364-8535.
18. Palmer, L.B.; Smaldone, G.C.; Chen, J.J.; Baram, D.; Duan, T.; Monteforte, M.; Varela, M.; Tempone, A.K.; O'Riordan, T.; Richman, P.; et al. Aerosolized antibiotics and ventilator-associated tracheobronchitis in the intensive care unit. *Crit Care Med.* **2008**, 36:2008-13. doi: 10.1097/CCM.0b013e31817c0f9e. ISSN 1530-0293.
19. Koulenti, D.; Arvaniti, K.; Judd, M.; Lalos, N.; Tjoeng, I.; Xu, E.; Armaganidis, A.; Lipman, J. Ventilator-Associated Tracheobronchitis: To Treat or Not to Treat? *Antibiotics.* **2020**, 9:51. doi: 10.3390/antibiotics9020051. ISSN 2079-6382.
20. Kolek, V.; Kolář, M.; Kašák, V.; Beneš, J.; Dindoš, J. Diagnostika a léčba komunitní pneumonie dospělých. Doporučený postup v pneumologii 3. vydání, 2019. Česká pneumologická a ftizeologická společnost a Společnost infekčního lékařství. Dostupné z: <http://www.pneumologie.cz/guidelines/>
21. Kalil, A.C.; Metersky, M.L.; Klompas, M.; Muscedere, J.; Sweeney, D.A.; Palmer, L.B.; Napolitano, L.M.; O'Grady, N.P.; Bartlett, J.G.; Carratalà, J.; et al. Management of Adults With Hospital-acquired and Ventilator-associated Pneumonia: 2016 Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society. *Clin Infect Dis.* **2016**, 63, e61–e111. doi: 10.1093/cid/ciw353. ISSN 1058-4838.
22. Niederman, M.S. Hospital-acquired pneumonia, health care-associated pneumonia, ventilator-associated pneumonia, and ventilator-associated tracheobronchitis: definitions and challenges in trial design. *Clin Infect Dis.* **2010**, 51(Suppl 1):12-7. doi: 10.1086/653035. ISSN 1058-4838.
23. Chastre, J.; Fagon, J.Y. Ventilator-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med.* **2002**, 165:867–903. doi: 10.1164/ajrccm.2105078. ISSN 1535-4970.
24. Fridkin, S.K. Increasing prevalence of antimicrobial resistance in intensive care units. *Crit Care Med.* **2001**, 29(4 Suppl):64-8. doi: 10.1097/00003246-200104001-00002. ISSN 1530-0293.
25. Gupta, R.; Malik, A.; Rizvi, M.; Ahmed, M.; Singh, A. Epidemiology of multidrug-resistant Gram-negative pathogens isolated from ventilator-associated pneumonia in

- ICU patients. *J Glob Antimicrob Resist.* **2017**, 9:47-50. doi: 10.1016/j.jgar.2016.12.016. ISSN 2213-7173.
26. Nair, G.B.; Niederman, M.S. Ventilator-associated pneumonia: present understanding and ongoing debates. *Intensive Care Med.* **2015**, 41:34-48. doi: 10.1007/s00134-014-3564-5. ISSN 1432-1238.
 27. Magiorakos, A.P.; Srinivasan, A.; Carey, R.B.; Carmeli, Y.; Falagas, M.E.; Giske, C.G.; Harbarth, S.; Hindler, J.F.; Kahlmeter, G.; Olsson-Liljequist, B.; et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect.* **2012**, 18:268-81. doi: 10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x. ISSN 1469-0691.
 28. De Oliveira, D.M.P.; Forde, B.M.; Kidd, T.J.; Harris, P.N.A.; Schembri, M.A.; Beatson, S.A.; Paterson, D.L.; Walker M.J. Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. *Clin Microbiol Rev.* **2020**, 33:e00181-19. doi: 10.1128/CMR.00181-19. ISSN 1098-6618.
 29. Sintajit, S.; Indrawatana, N. Mechanisms of Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. *Biomed Res Int.* **2016**, 2016:2475067. doi: 10.1155/2016/2475067. ISSN 2314-6141.
 30. Surveillance of antimicrobial resistance in Europe, 2020 data. Surveillance report. European Center for Disease Prevention and Control [cited 2021 Nov 18]. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/surveillance-antimicrobial-resistance-europe-2020>
 31. Surveillance of antimicrobial resistance in Europe 2017. Surveillance report. European Center for Disease Prevention and Control [cited 2018 Nov 15]. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/surveillance-antimicrobial-resistance-europe-2017>
 32. Versporten, A.; Zarb, P.; Caniaux, I.; Gros, M.F.; Drapier, N.; Miller, M.; Jarlier, V.; Nathwani, D.; Goossens, H. Antimicrobial consumption and resistance in adult hospital inpatients in 53 countries: results of an internet-based global point prevalence survey. *Lancet Glob Health.* **2018**, 6:e619-e629. doi: 10.1016/S2214-109X(18)30186-4. ISSN 2214-109X.
 33. Naghavi, M.; Murray, C.J.L.; Ikuta, K.S.; Sharara, F.; Swetschinski, L.; Aguilar, G.R.; Gray, A.; Han, C.; Bisignano, C.; Johnson, S.C.; et al: Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *Lancet.* **2022**, 399:629-655. doi: 10.1016/S0140-6736(21)02724-0. ISSN 0140-6736.
 34. Antimicrobial Stewardship Interventions: a practical guide. World Health Organization. Regional Office for Europe. **2021**. Available from: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/340709/9789289054980-eng.pdf>
 35. Hara, G.L.; Kanj, S.S.; Pagani, L.; Abbo, L.; Endimiani, A.; Wertheim, H.F.L.; Amabile-Cuevas, C.; Tattavin, P.; Mehtar, S.; Gould, I.; et al. Ten key points for the appropriate use of antibiotics in hospitalised patients: a consensus from the Antimicrobial Stewardship and Resistance Working Groups of the International Society of

- Chemotherapy. *Int J Antimicrob Agents*. **2016**, 48:239-46. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2016.06.015. ISSN 1872-7913.
36. Antimicrobial resistance in the EU/EEA (EARS-Net) - Annual Epidemiological Report for 2019. Surveillance report European Center for Disease Prevention and Control [cited 2020 Nov 18]. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/surveillance-antimicrobial-resistance-europe-2019>
 37. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 7.1 and new versions, 2017. Available from: https://www.eucast.org/ast_of_bacteria
 38. Matuschek, E.; Brown, D.F.J; Kahlmeter, G. Development of the EUCAST disk diffusion antimicrobial susceptibility testing method and its implementation in routine microbiology laboratories. *Clin Microbiol Infect*. **2014**, 20: O255-66. doi: 10.1111/1469-0691.12373. ISSN 1469-0691.
 39. Htoutou Sedlakova, M.; Hanulik, V.; Chroma, M.; Hricova, K.; Kolar, M.; Latal, T.; Schaumann, R.; Rodloff, A.C. Phenotypic detection of broad-spectrum beta-lactamases in microbiological practice. *Med Sci Monit*. **2011**, 17: BR147–BR152. doi: 10.12659/MSM.881761. ISSN 1643-3750.
 40. Htoutou Sedláková, M.; Hanulík, V.; Chromá, M.; Hricová, K.; Šenkyříková, M. Kolář, M. Rezistence enterobakterií ke karbapenemům. *Klin Mikrobiol Inf Lek*. **2011**, 17:12-18. ISSN 1211-264X.
 41. Perez-Perez, F.J.; Hanson, N.D. Detection of plasmid-mediated AmpC beta-lactamase genes in clinical isolates by using multiplex PCR. *J Clin Microbiol*. **2002**, 40:2153-62. doi: 10.1128/JCM.40.6.2153-2162.2002. ISSN 1098-660X.
 42. Pagani, L.; Dell'Amico, E.; Migliavacca, R.; Maria D'Andrea, M.; Giacobone, E.; Amicosante, G.; Romero, E.; Rossolini, G.M.: Multiple CTX-M-type extended-spectrum beta-lactamases in nosocomial isolates of Enterobacteriaceae from a hospital in northern Italy. *J Clin Microbiol*. **2003**, 41:4264-9. doi: 10.1128/JCM.41.9.4264-4269.2003. ISSN 1098-660X.
 43. Robinson, J. Colonization and infection of the respiratory tract: What do we know? *Paediatr Child Health*. **2004**, 9:21-24. doi:10.1093/pch/9.1.21. ISSN 1918-1485.
 44. Prat, C.; Lacombe, A. Bacteria in the respiratory tract-how to treat? Or do not treat? *Int J Infect Dis*. **2016**, 51:113-122. doi: 10.1016/j.ijid.2016.09.005. ISSN 1878-3511.
 45. Kolář, M. Respirační infekce a jejich léčba. Maxdorf; 2016. ISBN 978-80-7345-481-4.
 46. Zolfaghari, P.S.; Wyncoll, D.L.A. The tracheal tube: Gateway to ventilator-associated pneumonia. *Crit Care*. **2011**, 15:310. doi: 10.1186/cc10352. ISSN 1364-8535.
 47. Hunter, J.D. Ventilator associated pneumonia. *BMJ* **2012**, 344:e3325. doi: 10.1136/bmj.e3325. ISSN 2044-6055.
 48. Safdar, N.; Crnich, C.J.; Maki, D.G. The pathogenesis of ventilator-associated pneumonia: Its relevance to developing effective strategies for prevention. *Respir Care*. **2005**, 50: 725–741. ISSN 1943-3654.

49. Gomes, G.F.; Pisani, J.C.; Macedo, E.D.; Campos, A.C. The nasogastric feeding tube as a risk factor for aspiration and aspiration pneumonia. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. **2003**, 6:327-33. doi: 10.1097/01.mco.0000068970.34812.8b. ISSN 1535-3885.
50. Klompas, M. Barriers to the adoption of ventilator-associated events surveillance and prevention. *Clin Microbiol Infect*. **2019**, 25:1180-1185. doi: 10.1016/j.cmi.2019.03.027. ISSN 1469-0691.
51. Klompas, M.; Speck, K.; Howell, M.D.; Greene, L.R.; Berenholtz, S.M. Reappraisal of routine oral care with chlorhexidine gluconate for patients receiving mechanical ventilation: systematic review and meta-analysis. *JAMA Intern Med*. **2014**, 174:751-61. doi: 10.1001/jamainternmed.2014.359. ISSN 2168-6114.
52. Depuydt, P.O.; Vandijck, D.M.; Bekaert, M.A.; Decruyenaere, J.M.; Blot, S.I.; Vogelaers, D.P.; Benoit, D.D. Determinants and impact of multidrug antibiotic resistance in pathogens causing ventilator-associated-pneumonia. *Crit Care*. **2008**, 12: R142. doi: 10.1186/cc7119. ISSN 1364-8535.
53. Warren, D.K.; Shukla, S.J.; Olsen, M.A.; Kollef, M.H.; Hollenbeak, C.S.; Cox, M.J.; Cohen, M.M.; Fraser, V.J. Outcome and attributable cost of ventilator-associated pneumonia among intensive care unit patients in a suburban medical center. *Crit Care Med*. **2003**, 31:1312-7. doi: 10.1097/01.CCM.0000063087.93157.06. ISSN 1530-0293.
54. Cook, D.J.; Walter, S.D.; Cook, R.J.; Griffith, L.E.; Guyatt, G.H.; Leasa, D.; Jaeschke, R.Z.; Brun-Buisson, C. Incidence of and risk factors for ventilator-associated pneumonia in critically ill patients. *Ann Intern Med*. **1998**, 129:433-40. doi: 10.7326/0003-4819-129-6-199809150-00002. ISSN 1539-3704.
55. How-to Guide: Prevent Ventilator-Associated Pneumonia. Institute for Healthcare Improvement. Cambridge, Massachusetts, USA [last updated: 2012 Feb], Available from: <http://www.ihl.org/resources/Pages/Tools/HowtoGuidePreventVAP.aspx>
56. Eom, J.S.; Lee, M.S.; Chun, H.K.; Choi, H.J.; Jung, S.Y.; Kim, Y.S.; Yoon, S.J.; Kwak, Y.G.; Oh, G.B.; Lee, J.S.; et al. The impact of a ventilator bundle on preventing ventilator-associated pneumonia: a multicenter study. *Am J Infect Control*. **2014**, 42:34-7. doi: 10.1016/j.ajic.2013.06.023. ISSN 1527-3296.
57. Cosgrove, S.E. The relationship between antimicrobial resistance and patient outcomes: mortality, length of hospital stay, and health care costs. *Clin Infect Dis*. **2006**, 42(Suppl 2):82-9. doi: 10.1086/499406. ISSN 1058-4838.
58. Melsen, W.G.; Rovers, M.M.; Groenwold, R.H.; Bergmans, D.C.; Camus, C.; Bauer, T.T.; Hanisch, E.; Klarin, B.; Koeman, M.A.; Krueger, W.; et al. Attributable mortality of ventilator-associated pneumonia: A meta-analysis of individual patient data from randomised prevention studies. *Lancet Infect Dis*. **2013**, 13, 665–671. doi: 10.1016/S1473-3099(13)70081-1. ISSN 1473-3099.
59. Heck, K. Decreasing ventilator-associated pneumonia in the intensive care unit: a sustainable comprehensive quality improvement program. *Am J Infect Control*. **2012**, 40:877-9. doi: 10.1016/j.ajic.2011.11.010. ISSN 1527-3296.

60. Klompas, M. Ventilator-Associated Events: New Outcome Measure, Available from: http://www.clinicalfoundations.org/assets/cf_212.pdf
61. Peña-Lopez, Y.; Ramírez-Estrada, S.; Rello, J.: Ventilator-Associated Events: Definitions and Uses. In: Janes S.M. (Editor-in-chef). Encyclopedia of Respiratory Medicine. 2nd ed. Academic Press; 2022. p. 523-529. doi: 10.1016/B978-0-12-801238-3.11482-5. ISBN 978-0-08-102724-0.
62. Klompas, M. Ventilator-Associated Events: What They Are and What They Are Not. *Respir Care*. **2019**, 64:953-961. doi: 10.4187/respcare.07059. ISSN 1943-3654.
63. Pouly, O.; Lecailtel, S.; Six, S.; Préau, S.; Wallet, F.; Nseir, S.; Rouzé, A. Accuracy of ventilator-associated events for the diagnosis of ventilator-associated lower respiratory tract infections. *Ann Intensive Care*. **2020**, 10:6. doi: 10.1186/s13613-020-0624-6. ISSN 2110-5820.
64. Raouf, S.; Baumann, M.H. Ventilator-Associated Events: The New Definition. *Am J Crit Care*. **2014**, 23:7-9. doi: 10.4037/ajcc2014469. ISSN 1937-710X.
65. Ramirez-Estrada, S.; Peña-Lopez, Y.; Eshwara, V.K.; Rello, J. Ventilator-associated events versus ventilator-associated respiratory infections-moving into a new paradigm or merging both concepts, instead? *Ann Transl Med*. **2018**, 6:425. doi: 10.21037/atm.2018.10.54. ISSN 2305-5847.
66. Lichtenstein, D.A.; Mezière, G.A. Relevance of lung ultrasound in the diagnosis of acute respiratory failure: the BLUE protocol. *Chest*. **2008**, 134:117-25. doi: 10.1378/chest.07-2800. ISSN 1931-3543.
67. Zagli, G.; Cozzolino, M.; Terreni, A.; Biagioli, T.; Caldini, A.L.; Peris, A. Diagnosis of ventilator-associated pneumonia: a pilot, exploratory analysis of a new score based on procalcitonin and chest echography. *Chest*. **2014**, 146:1578-1585. doi: 10.1378/chest.13-2922. ISSN 1931-3543.
68. Bouhemad, B.; Dransart-Rayé, O.; Mojoli, F.; Mongodi, S. Lung ultrasound for diagnosis and monitoring of ventilator-associated pneumonia. *Ann Transl Med*. **2018**, 6:418. doi: 10.21037/atm.2018.10.46. ISSN 2305-5847.
69. Johansson Jr, W.G.; Pierce, A.K.; Sanford, J.P.; Thomas, G.D. Nosocomial respiratory infections with gram-negative bacilli. The significance of colonization of the respiratory tract. *Ann Intern Med*. **1972**, 77:701-6. doi: 10.7326/0003-4819-77-5-701. ISSN 1539-3704.
70. Fernando, S.M.; Tran, A.; Cheng, W.; Klompas, M.; Kyeremanteng, K.; Mehta, S.; English, S.W.; Muscedere, J.; Cook, D.J.; Rochweg, B.; et al. Diagnosis of ventilator-associated pneumonia in critically ill adult patients-a systematic review and meta-analysis. *Intensive Care Med*. **2020**, 46:1170-1179. doi: 10.1007/s00134-020-06036-z. ISSN 1432-1238.
71. Fabregas, N.; Ewig, S.; Torres, A.; El-Ebiary, M.; Ramirez, J.; de La Bellacasa, J.P.; Bauer, T.; Cabello, H. Clinical diagnosis of ventilator associated pneumonia revisited: comparative validation using immediate post-mortem lung biopsies. *Thorax*. **1999**, 54:867-73. doi: 10.1136/thx.54.10.867. ISSN 1468-3296.

72. Meduri, G.U.; Reddy, R.C.; Stanley, T.; El-Zeky, F. Pneumonia in acute respiratory distress syndrome. A prospective evaluation of bilateral bronchoscopic sampling. *Am J Respir Crit Care Med.* **1998**, 158:870-5. doi: 10.1164/ajrccm.158.3.9706112. ISSN 1535-4970.
73. Pugin, J.; Auckenthaler, R.; Mili, N.; Janssens, J.P.; Lew, P.D.; Suter, P.M. Diagnosis of ventilator-associated pneumonia by bacteriologic analysis of bronchoscopic and nonbronchoscopic "blind" bronchoalveolar lavage fluid. *Am Rev Respir Dis.* **1991**, 143:1121-9. doi: 10.1164/ajrccm/143.5_Pt_1.1121. ISSN 1073-449X.
74. Singh, N.; Rogers, P.; Atwood, C.W.; Wagener, M.M.; Yu, V.L. Short-course empiric antibiotic therapy for patients with pulmonary infiltrates in the intensive care unit. A proposed solution for indiscriminate antibiotic prescription. *Am J Respir Crit Care Med.* **2000**, 162:505-11. doi: 10.1164/ajrccm.162.2.9909095. ISSN 1535-4970.
75. Fartoukh, M.; Maitre, B.; Honoré, S.; Cerf, C.; Zahar, J.R.; Brun-Buisson, C. Diagnosing pneumonia during mechanical ventilation: the clinical pulmonary infection score revisited. *Am J Respir Crit Care Med.* **2003**, 168:173-9. doi: 10.1164/rccm.200212-1449OC. ISSN 1535-4970.
76. Shan, J.; Chen H.L.; Zhu, J.H. Diagnostic Accuracy of Clinical Pulmonary Infection Score for Ventilator-Associated Pneumonia: A Meta-analysis. *Respir Care.* **2011**, 56:1087-1094. doi: 10.4187/respcare.01097. ISSN 1943-3654.
77. Zilberberg, M.D.; Shorr, A.F. Ventilator-associated pneumonia: the clinical pulmonary infection score as a surrogate for diagnostics and outcome. *Clin Infect Dis.* **2010**, 51(Suppl 1):131-5. doi: 10.1086/653062. ISSN 1058-4838.
78. Napolitano, L.M. Use of severity scoring and stratification factors in clinical trials of hospital-acquired and ventilator-associated pneumonia. *Clin Infect Dis.* **2010**, 51(Suppl 1):67-80. doi: 10.1086/653052. ISSN 1058-4838.
79. Gibot, S.; Cravoisy, A.; Levy, B.; Bene, M.C.; Faure, G.; Bollaert, P.E. Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells and the diagnosis of pneumonia. *N Engl J Med.* **2004**, 350:451-8. doi: 10.1056/NEJMoa031544. ISSN 1533-4406.
80. Duflo, F.; Debon, R.; Monneret, G.; Bienvenu, J.; Chassard, D.; Allaouchiche, B. Alveolar and serum procalcitonin: diagnostic and prognostic value in ventilator-associated pneumonia. *Anesthesiology.* **2002**, 96:74-9. doi: 10.1097/00000542-200201000-00018. ISSN 1528-1175.
81. Póvoa, P.; Coelho, L.; Almeida, E.; Fernandes, A.; Mealha, R.; Moreira, P.; Sabino, H. C-reactive protein as a marker of ventilator-associated pneumonia resolution: a pilot study. *Eur Respir J.* **2005**, 25:804-12. doi: 10.1183/09031936.05.00071704. ISSN 1399-3003.
82. Luyt, C.E.; Guérin, V.; Combes, A.; Trouillet, J.L.; Ayed, S.B.; Bernard, M.; Gibert, C.; Chastre, J. Procalcitonin kinetics as a prognostic marker of ventilator-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med.* **2005**, 171:48-53. doi: 10.1164/rccm.200406-746OC. ISSN 1535-4970.
83. Seligman, R.; Meisner, M.; Lisboa, T.C.; Hertz, F.T.; Filippin, T.B.; Fachel, J.M.G.; Teixeira, P.J.Z. Decreases in procalcitonin and C-reactive protein are strong

- predictors of survival in ventilator-associated pneumonia. *Crit Care*. **2006**, 10:R125. doi: 10.1186/cc5036. ISSN 1364-8535.
84. Moreno, M.S.; Nietmann, H.; Matias, C.M.; Lobo, S.Z. C-reactive protein: a tool in the follow-up of nosocomial pneumonia. *J Infect*. **2010**, 61:205-11. doi: 10.1016/j.jinf.2010.06.005. ISSN 1532-2742.
85. Blot, F.; Raynard, B.; Chachaty, E.; Tancrede, C.; Antoun, S.; Nitenberg, G. Value of gram stain examination of lower respiratory tract secretions for early diagnosis of nosocomial pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med*. **2000**, 162:1731-7. doi: 10.1164/ajrccm.162.5.9908088. ISSN 1535-4970.
86. Sirvent, J.M.; Vidaur, L.; Gonzalez, S.; Castro, P.; de Batlle, J.; Castro, A.; Bonet, A. Microscopic examination of intracellular organisms in protected bronchoalveolar mini-lavage fluid for the diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Chest*. **2003**, 123:518-23. doi: 10.1378/chest.123.2.518. ISSN 1931-3543.
87. Chytra, I.; Bergerová, T. Léčba ventilátorové pneumonie - spolupráce intenzivisty a mikrobiologa (XII. Postgraduální kurz). Abstrakt 6. Celostátní konference Umělá plicní ventilace; 16.-18.2.2010; Mladá Boleslav, Česká Republika. *Anest. intenziv. Med.*, **2010**, 6: 351-373. ISSN 1214-2158.
88. Giuliano, C.; Patel, C.R.; Kale-Pradhan, P.B. A Guide to Bacterial Culture Identification And Results Interpretation. *P T*. **2019**, 44:192-200. ISSN 1052-1372.
89. Dostál P: Nozokomiální pneumonie a pneumonie ventilovaných nemocných. In: Ševčík, P.; Matějovič, M.; Černý, V.; Cvachovec, K.; Chytra, I. (eds). *Intenzivní medicína*. 3. přepracované a rozšířené vydání. Galén; 2014. s. 428-433. ISBN 978-80-7492-066-0.
90. Kollef, M.H.; Burnham, C.A.D. Ventilator-Associated Pneumonia: The Role of Emerging Diagnostic Technologies. *Semin Respir Crit Care Med*. **2017**, 38:253-263. doi: 10.1055/s-0037-1599224. ISSN 1069-3424.
91. Torres, A.; Fàbregas, N.; Ewig, S.; de la Bellacasa, J.P.; Bauer, T.T.; Ramirez, J. Sampling methods for ventilator-associated pneumonia: validation using different histologic and microbiological references. *Crit Care Med*. **2000**, 28:2799-804. doi: 10.1097/00003246-200008000-00020. ISSN 1530-0293.
92. Linssen, C.F.M.; Jacobs, J.A.; Schouten, J.S.A.G.; van Mook, W.N.K.A.; Ramsay, G.; Drent, M. Influence of antibiotic therapy on the cytological diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Intensive Care Med*. **2008**, 34:865-72. doi: 10.1007/s00134-008-1015-x. ISSN 1432-1238.
93. Baudel, J.L.; Tankovic, J.; Dahoumane, R.; Carrat, F.; Galbois, A.; Ait-Outfella, H.; Offenstadt, G.; Guidet, B.; Maury, E. Multiplex PCR performed of bronchoalveolar lavage fluid increases pathogen identification rate in critically ill patients with pneumonia: a pilot study. *Ann Intensive Care*. **2014**, 4:35. doi: 10.1186/s13613-014-0035-7. ISSN 2110-5820.
94. Mitsuma, S.F.; Mansour, M.K.; Dekker, J.P.; Kim, J.; Rahman, M.Z.; Tweed-Kent, A.; Schuetz, P. Promising New Assays and Technologies for the Diagnosis and

- Management of Infectious Diseases. *Clin Infect Dis.* **2013**, 56:996–1002. doi: 10.1093/cid/cis1014. ISSN 1058-4838.
95. Gyatt, G.H.; Oxman, A.D.; Vist, G.E.; Kunz, R.; Falck-Ytter, Y.; Alonso-Coello, P.; Schünemann, H.J. GRADE: an emerging consensus on rating quality of evidence and strength of recommendations. *BMJ.* **2008**, 336:924-6. doi: 10.1136/bmj.39489.470347.AD. ISSN 2044-6055.
 96. Granholm, A.; Alhazzani, W.; Møller, M.H. Use of the GRADE approach in systematic reviews and guidelines. *Br J Anaesth.* **2019**, 123:554-559. doi: 10.1016/j.bja.2019.08.015. ISSN 1471-6771.
 97. Kuti, E.L.; Patel, A.A.; Coleman, C.I. Impact of inappropriate antibiotic therapy on mortality in patients with ventilator-associated pneumonia and blood stream infection: a meta-analysis. *J Crit Care.* **2008**, 23:91-100. doi: 10.1016/j.jcrc.2007.08.007. ISSN 1557-8615.
 98. Zahar, J.R.; Timsit, J.F.; Garrouste-Orgeas, M.; François, A.; Vesin, A.; Descorps-Declere, A.; Dubois, Y.; Souweine, B.; Haouache, H.; Adrie, C.; et al. Outcomes in severe sepsis and patients with septic shock: pathogen species and infection sites are not associated with mortality. *Crit Care Med.* **2011**, 39:1886-95. doi: 10.1097/CCM.0b013e31821b827c. ISSN 1530-0293.
 99. Herkel, T.; Uvizl, R.; Doubravska, L.; Adamus, M.; Gabrhelik, T.; Htoutou Sedlakova, M.; Kolar, M.; Hanulik, V.; Pudova, V.; Langova, K.; et al. Epidemiology of hospital-acquired pneumonia: Results of a Central European multicenter, prospective, observational study compared with data from the European region. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* **2016**, 160:448-55. doi: 10.5507/bp.2016.014. ISSN 1804-7521.
 100. Kumar, A.; Safdar, N.; Kethireddy, S.; Chateau, D. A survival benefit of combination antibiotic therapy for serious infections associated with sepsis and septic shock is contingent only on the risk of death: a meta-analytic/meta-regression study. *Crit Care Med.* **2010**, 38:1651-64. doi: 10.1097/CCM.0b013e3181e96b91. ISSN 1530-0293.
 101. Leekha, S.; Terrell, C.L.; Edson, R.S. General principles of antimicrobial therapy. *Mayo Clin Proc.* **2011**, 86:156-67. doi: 10.4065/mcp.2010.0639. ISSN 0025-6196.
 102. Antimicrobial consumption - Annual Epidemiological Report for 2017. Surveillance report European Center for Disease Prevention and Control [cited 2018 Nov 15]. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/antimicrobial-consumption-annual-epidemiological-report-2017>
 103. Antimicrobial consumption - Annual Epidemiological Report for 2019. Surveillance report European Center for Disease Prevention and Control [cited 2020 Nov 18]. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/surveillance-antimicrobial-consumption-europe-2019>
 104. Timsit, J.F.; Bassetti, M.; Cremer, O.; Daikos, G.; de Waele, J.; Kallil, A.; Kipnis, E.; Kollef, M.; Laupland, K.; Barbier, F.; et al. Rationalizing antimicrobial therapy in the ICU: a narrative review. *Intensive Care Med.* **2019**, 45:172-189. doi: 10.1007/s00134-019-05520-5. ISSN 1432-1238.

105. Becher, R.D.; Hoth, J.J.; Rebo, J.J.; Kendall, J.L.; Miller, P.R. Locally derived versus guideline-based approach to treatment of hospital-acquired pneumonia in the trauma intensive care unit. *Surg Infect.* **2012**, 13:352-9. doi: 10.1089/sur.2011.056. ISSN 1557-8674.
106. Doshi, N.M.; Cook, C.H.; Mount, K.L.; Stawicki, S.P.; Frazee, E.N.; Personett, H.A.; Schramm, G.E.; Arnold, H.M.; Murphy, C.V. Adjunctive aerosolized colistin for multi-drug resistant gram-negative pneumonia in the critically ill: a retrospective study. *BMC Anesthesiol.* **2013**, 13:45. doi: 10.1186/1471-2253-13-45. ISSN 1471-2253.
107. Tumbarello, M.; De Pascale, G.; Trecarichi, E.M.; De Martino, S.; Bello, G.; Maviglia, R.; Spanu, T.; Antonelli, M. Effect of aerosolized colistin as adjunctive treatment on the outcomes of microbiologically documented ventilator-associated pneumonia caused by colistin-only susceptible gram-negative bacteria. *Chest.* **2013**, 144:1768-1775. doi: 10.1378/chest.13-1018. ISSN 1931-3543.
108. Leone, M.; Bechis, C.; Baumstarck, K.; Lefrant, J.Y.; Albanèse, J.; Jaber, S.; Lepape, A.; Constantin, J.M.; Papazian, L.; Bruder, N.; et al. De-escalation versus continuation of empirical antimicrobial treatment in severe sepsis: a multicenter non-blinded randomized noninferiority trial. *Intensive Care Med.* **2014**, 40:1399-408. doi: 10.1007/s00134-014-3411-8. ISSN 1432-1238.
109. Dyar, O.J.; Huttner, B.; Schouten, J.; Pulcini, C. What is antimicrobial stewardship? *Clin Microbiol Infect.* **2017**, 23:793-798. doi: 10.1016/j.cmi.2017.08.026. ISSN 1469-0691.
110. Kollef, M. Appropriate empirical antibacterial therapy for nosocomial infections: getting it right the first time. *Drugs.* **2003**, 63:2157-68. doi: 10.2165/00003495-200363200-00001. ISSN 1179-1950.
111. Umscheid, C.A.; Mitchell, M.D.; Doshi, J.A.; Agarwal, R.; Williams, K.; Brennan, P.J. Estimating the proportion of healthcare-associated infections that are reasonably preventable and the related mortality and costs. *Infect Control Hosp Epidemiol.* **2011**, 32:101-14. doi: 10.1086/657912. ISSN 1559-6834.
112. Klompas, M.; Branson, R.; Eichenwald, E.C.; Greene, L.R.; Howell, M.D.; Lee, G.; Magill, S.S.; Maragakis, L.L.; Berenholtz, S.M. Strategies to prevent ventilator-associated pneumonia in acute care hospitals: 2014 update. *Infect Control Hosp Epidemiol.* **2014**, 35:915-36. doi: 10.1086/677144. ISSN 1559-6834.
113. Marik, P.E.; Vasu, T.; Hirani, A.; Pachinburavan, M. Stress ulcer prophylaxis in the new millennium: a systematic review and meta-analysis. *Crit Care Med.* **2010**, 38:2222-8. doi: 10.1097/CCM.0b013e3181f17adf. ISSN 1530-0293.
114. Alhazzani, W.; Alenezi, F.; Jaeschke, R.Z.; Moayyedi, P.; Cook, D.J. Proton pump inhibitors versus histamine 2 receptor antagonists for stress ulcer prophylaxis in critically ill patients: a systematic review and meta-analysis. *Crit Care Med.* **2013**, 41:693-705. doi: 10.1097/CCM.0b013e3182758734. ISSN 1530-0293.
115. Reignier, J.; Mercier, E.; Le Gouge, A.; Boulain, T.; Desachy, A.; Bellec, F.; Clavel, M.; Frat, J.P.; Plantefeve, G.; Lascarrou, J.B.; et al. Effect of not monitoring residual gastric volume on risk of ventilator-associated pneumonia in adults receiving

- mechanical ventilation and early enteral feeding: a randomized controlled trial. *JAMA*. **2013**, 309:249-56. doi: 10.1001/jama.2012.196377. ISSN 1538-3598.
116. Pileggi, C.; Bianco, A.; Flotta, D.; Nobile, C.G.A.; Pavia, M. Prevention of ventilator-associated pneumonia, mortality and all intensive care unit acquired infections by topically applied antimicrobial or antiseptic agents: a meta-analysis of randomized controlled trials in intensive care units. *Crit Care*. **2011**, 15:R155. doi: 10.1186/cc10285. ISSN 1364-8535.
117. Chan, E.Y.; Ruest, A.; Meade, M.O.; Cook, D.J. Oral decontamination for prevention of pneumonia in mechanically ventilated adults: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. **2007**, 334:889. doi: 10.1136/bmj.39136.528160.BE. ISSN 2044-6055.
118. Li, J.; Xie, D.; Li, A.; Yue, J. Oral topical decontamination for preventing ventilator-associated pneumonia: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Hosp Infect*. **2013**, 84:283-93. doi: 10.1016/j.jhin.2013.04.012. ISSN 1532-2939.
119. Chlebicki, M.P.; Safdar, N. Topical chlorhexidine for prevention of ventilator-associated pneumonia: a meta-analysis. *Crit Care Med*. **2007**, 35:595-602. doi: 10.1097/01.CCM.0000253395.70708.AC. ISSN 1530-0293.
120. Yang, K.; Kwan, H. Y.; Yu, Z.; Tong, T. Model selection between the fixed-effects model and the random-effects model in meta-analysis. *Statistics and its Interface*. **2020**, 13:501-510. doi: 10.4310/SII.2020.v13.n4.a7. ISSN 1938-7997.
121. Price, R.; MacLennan, G.; Glen, J. Selective digestive or oropharyngeal decontamination and topical oropharyngeal chlorhexidine for prevention of death in general intensive care: systematic review and network meta-analysis. *BMJ*. **2014**, 348:g2197. doi: 10.1136/bmj.g2197. ISSN 2044-6055.
122. Daneman, N.; Sarwar, S.; Fowler, R.A.; Cuthbertson, B.H. Effect of selective decontamination on antimicrobial resistance in intensive care units: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. **2013**, 13:328-41. doi: 10.1016/S1473-3099(12)70322-5. ISSN 1473-3099.
123. Oostdijk, E.A.N.; Kesecioglu, J.; Schultz, M.J.; Visser, C.E.; de Jonge, E.; van Essen, E.H.R.; Bernardis, A.T.; Purmer, I.; Brimicombe, R.; Bergmans, D.; et al. Effects of decontamination of the oropharynx and intestinal tract on antibiotic resistance in ICUs: a randomized clinical trial. *JAMA*. **2014**, 312:1429-1437. doi: 10.1001/jama.2014.7247. ISSN 1538-3598.
124. De Lacerda Vidal, C.F.; de Lacerda Vidal, A.K.; de Moura Monteiro Jr, J.G.; Cavalcanti, A.; da Costa Henriques, A.P.; Oliveira, M.; Godoy, M.; Coutinho, M.; Sobral, P.D.; Lacerda, H.R. et al. Impact of oral hygiene involving toothbrushing versus chlorhexidine in the prevention of ventilator-associated pneumonia: a randomized study. *BMC Infect Dis*. **2017**, 17:112. doi: 10.1186/s12879-017-2188-0. ISSN 1471-2334.
125. Marino, P.J.; Wise, M.P.; Smith, A.; Marchesi, J.R.; Riggio, M.P.; Lewis, M.A.O.; Williams, D.W. Community analysis of dental plaque and endotracheal tube biofilms

- from mechanically ventilated patients. *J Crit Care*. **2017**, 39:149-155. doi: 10.1016/j.jcrc.2017.02.020. ISSN 1557-8615.
126. Sinuff, T.; Muscedere, J.; Cook, D.J.; Dodek, P.M.; Anderson, W.; Keenan, S.P.; Wood, G.; Tan, R.; Haupt, M.T.; Heyland, D.K.; et al. Implementation of clinical practice guidelines for ventilator-associated pneumonia: a multicenter prospective study. *Crit Care Med*. **2013**, 41:15-23. doi: 10.1097/CCM.0b013e318265e874. ISSN 1530-0293.
127. Husickova, V.; Cekanova, L.; Chroma, M.; Htoutou-Sedlakova, M.; Hricova, K.; Kolář, M. Carriage of ESBL- and AmpC-positive Enterobacteriaceae in the gastrointestinal tract of community subjects and hospitalized patients in the Czech Republic. *Biomed. Pap. Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*. **2012**, 156, 348–353. doi: 10.5507/bp.2012.039. ISSN 1804-7521.
128. Ramsamy, Y.; Muckart, D.J.J.; Han, K.S.S.; Mlisana, K.P. The effect of prior antimicrobial therapy for community acquired infections on the aetiology of early and late onset ventilator-associated pneumonia in a level I trauma intensive care unit. *S Afr J Infect Dis*. **2017**, 32:91-95. doi:10.4102/sajid.v32i3.45. ISSN 2313-1810.
129. Llitjos, J.F.; Amara, M.; Benzarti, A.; Lacave, G.; Bedos, J.P.; Pagon, B. Prior antimicrobial therapy duration influences causative pathogens identification in ventilator-associated pneumonia. *J Crit Care*. **2018**, 43:375-377. doi: 10.1016/j.jcrc.2017.10.027. ISSN 1557-8615.
130. Dudeck, M.A.; Weiner, L.M.; Allen-Bridson K.; Malpiedi, P.J.; Peterson, K.D.; Pollock, D.A.; Sievert, D.A.; Edwards, J.R. National Healthcare Safety Network (NHSN) report, data summary for 2012, Device-associated module. *Am J Infect Control*. **2013**, 41:1148-66. doi: 10.1016/j.ajic.2013.09.002. ISSN 1527-3296.
131. Dudeck, M.A.; Horan, T.C.; Peterson, K.D.; Allen-Bridson, K.; Morrell, G.C.; Pollock, D.A.; Edwards, J.R. National Healthcare Safety Network (NHSN) report, data summary for 2009, device-associated module. *Am J Infect Control*. **2011**, 39:349-67. doi: 10.1016/j.ajic.2011.04.011. ISSN 1527-3296.
132. Bogdanová, K.; Doubravská, L.; Vágnerová, I.; Hricová, K.; Pudová, V.; Röderová, M.; Papajk, J.; Uvízl, R.; Langová, K.; Kolář, M. *Clostridioides difficile* and Vancomycin-Resistant Enterococci in COVID-19 Patients with Severe Pneumonia. *Life* **2021**, 11:1127. doi: 10.3390/life11111127. ISSN 2075-1729.
133. Uvízl, R.; Herkel, T.; Kolář, M.; Htoutou Sedláková, M.; Adamus, M.; Doubravská, L.; Gabrhelík, T.; Pudová, V.; Langová, K.; Paterová, P.; et al. Nozokomiální pneumonie – optimální nastavení iničiální empirické antimikrobiální terapie. *Interní Med*. **2017**, 19:225-229. doi: 10.36290/int.2017.035. ISSN 1803-5256.
134. Chung, D.R.; Song, J.H.; Kim, S.H.; Thamlikitkul, V.; Huang, S.G.; Wang, H.; Man-Kit So, T.; Yasin, R.M.D.; Hsueh, P.R.; Peck, K.R.; et al. High prevalence of multidrug-resistant nonfermenters in hospital-acquired pneumonia in Asia. *Am J Respir Crit Care Med*. **2011**, 184:1409-17. doi: 10.1164/rccm.201102-0349OC. ISSN 1535-4970.
135. Forel, J.M.; Voillet, F.; Pulina, D.; Gacouin, A.; Perrin, G.; Barrau, K.; Jaber, S.; Arnal, J.M.; Fathallah, M.; Papazian, L.; et al. Ventilator-associated pneumonia and ICU

- mortality in severe ARDS patients ventilated according to a lung-protective strategy. *Crit Care*. **2012**, 16:R65. doi: 10.1186/cc11312. ISSN 1364-8535.
136. Doubravská, L.; Uvízl, R.; Herkel', T.; Kolář, M.; Gabrhelík, T.; Röderová, M.; Htoutou Sedláková, M.; Langová, K.; Kolek, V.; Jakubec, P.; et al. Detection of the etiological agents of hospital-acquired pneumonia—Validity and comparison of different types of biological sample collection: A prospective, observational study in intensive care patients. *Epidemiol Mikrobiol Imunol*. **2017**, 66:155–162. ISSN 1210-7913.
137. Werarak, P.; Kiratisin, P.; Thamlikitkul, V. Hospital-acquired pneumonia and ventilator-associated pneumonia in adults at Siriraj Hospital: Etiology, clinical outcomes, and impact of antimicrobial resistance. *J Med Assoc Thai*. **2010**, 93:S126–S138. ISSN 2408-1981.
138. Berthelot, P.; Grattard, F.; Mahul, P.; Pain, P.; Jospé, R.; Venet, C.; Carricajo, A.; Aubert, G.; Ros, A.; Pozzetto, B.; et al. Prospective study of nosocomial colonization and infection due to *Pseudomonas aeruginosa* in mechanically ventilated patients. *Intensive Care Med*. **2001**, 27:503-12. doi: 10.1007/s001340100870. ISSN 1432-1238.
139. Hanulík, V.; Uvízl, R.; Husičková, V.; Htoutou Sedláková, M.; Kolář, M. Pneumonia-causing bacterial pathogens in intensive care patients. *Klin Mikrobiol Infekc Lek*. **2011**, 17:135–140. ISSN 1211-264X.
140. Pudová, V.; Working Group; Sedláková, M.H.; Kolář, M. Clonality of Bacterial Pathogens Causing Hospital-Acquired Pneumonia. *Curr Microbiol*. **2016**, 73:312–316. doi: 10.1007/s00284-016-1058-0. ISSN 1432-0991.
141. Mohamed, E.R.; Aly, S.A.; Halby, H.M.; Ahmed, S.H.; Zakaria, A.M.; El-Asheer, O.M. Epidemiological typing of multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*, which causes paediatric ventilator-associated pneumonia in Egypt. *J Med Microbiol*. **2017**, 66:628–634. doi: 10.1099/jmm.0.000473. ISSN 0022-2615.
142. Yan, Q.; Zhou, M.; Liu, W.-E.; Zou, M. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* induced ventilator-associated pneumonia in mechanically ventilated patients in China. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. **2016**, 35:387–396. doi: 10.1007/s10096-015-2551-2. ISSN 1435-4373.
143. Tabrizi, A.M.A.; Badmasti, F.; Shahcheraghi, F.; Azizi, O. Outbreak of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* harbouring blaVIM-2 among mechanically-ventilated drug-poisoning patients with high mortality rate in Iran. *J Glob Antimicrob Resist*. **2018**, 15:93–98. doi: 10.1016/j.jgar.2018.06.020. ISSN 2213-7173.

16. Přílohy

Přehled publikací autora

1. **Papajk J.**, Uvízl R., Kolář M. Vliv předchozí antibiotické terapie na epidemiologii ventilátorových pneumonií. *Klin. Mikrobiol. Infekc. Lek.* **2019**, 25:7-11. ISSN 1211-264X.
2. **Papajk J.**, Mezerová K., Uvízl R., Štosová T., Kolář M. Clonal Diversity of *Klebsiella* spp. and *Escherichia* spp. Strains Isolated from Patients with Ventilator-Associated Pneumonia. *Antibiotics* **2021**, 10:674. doi: 10.3390/antibiotics10060674. ISSN 2079-6382.
3. **Papajk J.**, Uvízl R., Kolář M. Modifikuje předchozí antibiotická terapie epidemiologii ventilátorové pneumonie? In: Beneš J., Kosinová M. (eds.) Abstrakty XXVI. kongresu ČSARIM Brno 2019. *Anest. Intenziv. Med.* **2019**, 30:195-221. ISSN 1214-2158.
4. **Papajk J.**, Uvízl R., Kolář M. Epidemiologie ventilátorových pneumonií s ohledem na předchozí antibiotickou terapii. In: Kolář M. (eds.) XXVII. moravsko-slovenské mikrobiologické dny. Luhačovice, 2021, s. 11-48. ISBN 8088379059.
5. Bogdanová K., Doubravská L., Vágnerová I., Hricová K., Pudová V., Röderová M., **Papajk J.**, Uvízl R., Langová K., Kolář M. *Clostridioides difficile* and Vancomycin-Resistant Enterococci in COVID-19 Patients with Severe Pneumonia. *Life* **2021**, 11:1127. doi: 10.3390/life11111127. ISSN 2075-1729.

Vliv předchozí antibiotické terapie na epidemiologii ventilátorových pneumonií

J. PAPAJK¹, R. UVÍZL¹, M. KOLÁŘ²

¹Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny, Fakultní nemocnice Olomouc

²Ústav mikrobiologie, Lékařská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci a Fakultní nemocnice Olomouc

SOUHRN

Papajk J., Uvízl R., Kolář M.: **Vliv předchozí antibiotické terapie na epidemiologii ventilátorových pneumonií**

Cíl práce: Ventilátorová pneumonie (VAP) je nejčastější nozokomiální infekcí u pacientů v intenzivní péči. Cílem této práce bylo určení vlivu předchozí antibakteriální léčby na incidenci VAP, mortalitu a spektrum bakteriálních původců.

Materiál a metody: Do retrospektivní, observační studie byli zařazeni nemocní starší 18 let splňující klinická kritéria VAP a dále kontrolní skupinu tvořili pacienti vyžadující umělou plicní ventilaci déle než 48 hodin bez známek pneumonie. Obě ramena byla stratifikována dle ordinace či absence předchozí aplikace antibiotik (ATB). Stěry z orofaryngu a endotracheální aspiráty (ETA) odebrané u všech pacientů byly zpracovány standardními mikrobiologickými postupy. Citlivost k ATB byla stanovena dle doporučení European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). V souboru byla hodnocena 28denní mortalita, 90denní mortalita a frekvence multirezistentních (MDR) bakteriálních patogenů.

Výsledky: Celkem bylo zařazeno 49 pacientů (32 s předchozí aplikací ATB, 17 bez předchozí aplikace). Četnost předchozího podání ATB u pacientů s VAP byla signifikantně nižší (34 %) než u kontrolní skupiny bez VAP (66 %), ($p = 0,02$). Kritéria VAP splnilo 23 pacientů (11 s předchozí aplikací ATB, 12 bez předchozí aplikace). Jako etiologická agens byly nejčastěji izolovány enterobakterie, včetně kmenů produkujících širokospektré beta-laktamázy, a *Pseudomonas aeruginosa*. Byl prokázán statisticky významně vyšší výskyt MDR patogenů u pacientů s předchozí aplikací antibiotik (77 % vs. 33 %, $p = 0,047$). 28denní mortalita byla nižší u pacientů s předchozí aplikací ATB (18 %, $n = 2$) než bez předchozí ATB terapie (33 %, $n = 4$), ($p = 0,640$). V 90denní mortalitě byl rozdíl ještě výraznější, avšak na nízké hladině statistické významnosti (18 %, $n = 2$, resp. 58 %, $n = 7$), ($p = 0,089$).

Závěr: Předchozí aplikace ATB je spojena s nižší incidencí VAP a současně s vyšším výskytem MDR bakterií. Antibiotická léčba VAP modifikovaná znalostí předchozí aplikace antibiotik a výsledky mikrobiologických nálezů přispěla k nižší 28denní i 90denní mortalitě pacientů.

Klíčová slova: ventilátorová pneumonie, předchozí antibiotická terapie, incidence, multirezistentní bakterie

SUMMARY

Papajk J., Uvízl R., Kolář M.: **Effect of previous antibiotic therapy on the epidemiology of ventilator-associated pneumonia**

Objectives: Ventilator-associated pneumonia (VAP) is the most common nosocomial infection in intensive care patients. The aim of the study was to evaluate the effect of previous antibiotic therapy on the incidence of VAP, mortality and spectrum of bacterial pathogens.

Material and methods: The retrospective, observational study comprised patients over 18 years of age meeting the clinical criteria of VAP. Controls were patients requiring mechanical ventilation for more than 48 hours with no signs of VAP. Each group was divided into two arms according to previous antibiotic therapy. Tracheal aspirates and oropharyngeal swabs were taken from all patients. Cultured isolates were identified using standard microbiological techniques. Antimicrobial susceptibility testing was performed according to the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing guidelines. In both groups, 28-day mortality, 90-day mortality and multidrug-resistant (MDR) bacterial pathogen frequency were evaluated.

Results: The study included 49 patients (32 patients with previous antibiotic therapy, 17 antimicrobial-naïve patients). The proportion of individuals with previous antibiotic therapy was significantly lower in VAP patients (34%) than among controls group (66%; $p = 0.02$). The VAP criteria were met by 23 patients (11 with previous antibiotic therapy, 12 without the therapy). The *Enterobacteriaceae* including extended-spectrum beta-lactamase-producing strains and *Pseudomonas aeruginosa* were the most common pathogens isolated. MDR pathogens were statistically significantly more frequent in patients with previous antibiotic therapy (77% vs. 33%; $p = 0.047$). In patients with previous antibiotic therapy, 28-day mortality was lower (18%, $n = 2$) than in antimicrobial-naïve patients (33%, $n = 4$; $p = 0.640$). The difference was more pronounced in 90-day mortality, albeit with low statistical significance (18%, $n = 2$ vs. 58%, $n = 7$; $p = 0.089$).

Conclusions: Previous antibiotic therapy was associated with a lower incidence of VAP and a higher frequency of MDR bacterial pathogens. VAP antibiotic therapy modified according to knowledge of previous antibiotic therapy and cultured isolates was correlated with lower 28-day and 90-day mortality rates.

Keywords: ventilator-associated pneumonia, previous antibiotic therapy, incidence, multidrug-resistant pathogen

Klin mikrobiol inf lék 2019;25(1):7–11

Adresa: MUDr. Jan Papajk, Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny, Fakultní nemocnice Olomouc, I. P. Pavlova 6, 779 00 Olomouc, e-mail: jan.papajk@fnol.cz

Došlo do redakce: 19. 3. 2019

Přijato k tisku: 9. 5. 2019

Úvod

Ventilátorová pneumonie (ventilator-associated pneumonia, VAP) je nejčastější nozokomiální infekcí v intenzivní péči. Až polovina aplikovaných antibiotik (ATB) v intenzivní péči souvisí s léčbou VAP [1]. VAP je nozokomiální pneumonií, která se projevuje po více než 48 hodinách od napojení na umělou plicní ventilaci (UPV). Je definována přítomností nového či zhoršeného infiltrátu na skiagramu hrudníku, systémovými příznaky infekce (horečka, leukocytóza), hnisavou tracheobronchiální sekrecí a záchytem etiologického agens [2]. Samotný vznik VAP prodlužuje dobu UPV i hospitalizace, a navyšuje tak celkové náklady na léčbu [3]. Jako časnou VAP označujeme pneumonii s nástupem do 4. dne od napojení na UPV. Zpravidla bývá způsobena kmeny citlivějšími k ATB. Naopak pozdní VAP (od 5. dne) bývá častěji zapříčiněna multirezistentními (MDR) bakteriemi [1,2]. Etiologická agens VAP a jejich citlivost k ATB mohou být předchozí aplikací ATB výrazně modifikovány [4]. Riziko incidence VAP je nejvyšší v prvních pěti dnech UPV, a poté se postupně snižuje [5]. Zavedení preventivních opatření vychází z doporučení Institute for Healthcare Improvement (IHI), jako jsou například zvýšená poloha hlavy, omezení profylaxe stresového vředu, profylaxe hluboké žilní trombózy, ústní hygiena a odsávání sekretů ze subglotického prostoru, a přispívá tak k celkovému snížení incidence VAP [6,7].

V současné době dochází k celosvětovému nárůstu nozokomiálních infekcí způsobených MDR bakteriemi, a to se týká i VAP [8]. K této skutečnosti přispívají některé specifické faktory, především předchozí aplikace ATB, acute respiratory distress syndrome (ARDS) předcházející VAP, septický šok v okamžiku vzniku VAP, hospitalizace 5 a ví-

ce dní před vznikem VAP aj. [9]. V naší práci jsme se zaměřili na epidemiologii VAP s ohledem na vliv předchozí antibakteriální terapie. Dále byl hodnocen vliv na 28denní i 90denní mortalitu a frekvenci záchytu MDR bakteriálních patogenů.

Materiál a metody

Studie byla schválena etickou komisí Fakultní nemocnice Olomouc (číslo jednacích 173/2018). Pracovištěm bylo lůžkové oddělení Kliniky anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny Fakultní nemocnice Olomouc (KARIM), referenčním obdobím listopad 2017 až říjen 2018.

Do této klinicko-mikrobiologické, observační, retrospektivní a srovnávací studie byli zařazeni nemocní starší 18 let s respirační insuficiencí vyžadující UPV, kdy v okamžiku napojení nevykazovali klinické známky pneumonie. Jiný infekční (např. neuroinfekt, ranná infekce hluboká či povrchová, uroinfekt) byl možný. Do studie nebyli zařazeni pacienti se známkami pneumonie v okamžiku napojení na UPV, s neutropenií a pacienti, u kterých během hospitalizace došlo ke změně kategorie léčby na zadrženu či paliativní péči. Zcela pak byli vyloučeni orgánoví dárči. Kontrolní skupinu pak tvořili pacienti vyžadující UPV déle než 48 hodin bez známek pneumonie.

Všem pacientům byl při přijetí a následně 2× týdně (vždy v pondělí a čtvrtek) odebrán sůl z orofaryngu a endotracheální aspirát (ETA) dle standardu oddělení. Každý vzorek byl zpracován běžnými mikrobiologickými postupy.

Identifikace mikroorganismů byla provedena za použití MALDI-TOF MS (Biotyper Microflex, Bruker Daltonics). Citlivost k antibiotikům byla testována diluční mikrome-

Tabulka 1
Demografické údaje pacientů souboru

	Skupina										p
	ATB					bez ATB					
	medián	min	max	mean	SD	medián	min	max	mean	SD	
Věk	61,5	26	80	58,3	15,6	59	22	92	59,8	19,2	0,842
BMI	29	19	48	29,7	6,3	28	20	35	27,4	4,5	0,264
APACHE II	26	11	40	26,5	7,7	24	9	34	24,1	5,5	0,343

*ATB – předchozí ATB terapie, bez ATB – bez předchozí ATB terapie, BMI – Body Mass Index, APACHE II skóre

todou dle doporučení EUCAST [10]. Referenční kmeny *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 byly použity k protokolované kontrole kvality. Produkce širokospektrých beta-laktamáz typu ESBL, AmpC a karbapenemáz byla detekována diskovými difuzními testy příslušnými pro daný typ enzymu [11,12]. Pozitivní fenotypové výsledky byly ověřeny pomocí PCR detekující geny specifické pro daný typ beta-laktamázy [13,14].

Během hospitalizace byla antibakteriální terapie korigována na základě konzultací s Antibiotickým střediskem Fakultní nemocnice Olomouc s ohledem na identifikovaná etiologická agens a jejich citlivost/rezistenci k ATB. V případě, že se nepodařilo izolovat etiologické agens z ETA, bylo přihlédnuto k mikrobiologickému nálezu ve sěru z orofaryngu.

Definitivní potvrzení VAP na základě klinických a laboratorních známek bylo provedeno dodatečným skiagramem hrudníku. Následovalo klinické hodnocení obou skupin na základě zvolených kritérií:

- demografické údaje (věk, pohlaví, APACHE II skóre, index body mass),
- aplikace ATB v předchozích 90 dnech,
- doba vzniku VAP,
- etiologické agens VAP,
- mortalita (28denní, 90denní),
- ostatní parametry (doba UPV, délka pobytu na KARIM, délka pobytu v nemocnici).

Data byla získána ze zdravotnické dokumentace (nemocniční informační systém, zdravotnické záznamy registrujících praktických lékařů).

Statistické zpracování

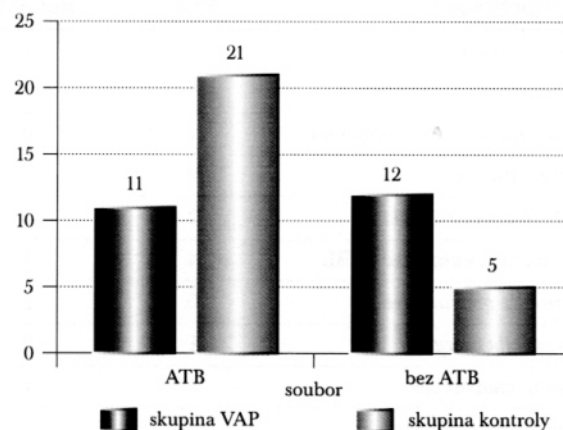
Ke statistickému zpracování byl použit statistický software IBM SPSS Statistics for Windows, Version 23.0. Armonk, NY: IBM Corp. Soubor byl popsán pomocí absolutních a relativních četností, kvantitativní veličiny byly vyjádřeny jako medián, minimální a maximální hodnota, průměr a směrodatná odchylka (SD). Srovnání skupin pacientů v kvantitativních znacích (věk, BMI, APACHE) bylo provedeno vzhledem k malým velikostem vzorků pomocí Mann-Whitney *U*-testu. V kvalitativních veličinách (vliv ATB terapie, mortalita) byly skupiny porovnány Fisherovým přesným testem. Za statisticky významnou byla považována hladina signifikance $p < 0,05$.

Výsledky

V referenčním období bylo napojeno na UPV 354 pacientů. Do studie bylo zařazeno 49 pacientů (29 mužů, 20 žen). Předchozí ATB terapii užívalo 32 pacientů (65 %). Obě ramena se v demografických údajích (věk, APACHE II skóre, index body mass) statisticky významně nelišila (tabulka 1).

Pacienti s předchozí ATB terapií měli delší dobu hospitalizace (medián 13, interquartile range, IQR, 5-90) než pacienti bez předchozí aplikace ATB (medián 9, IQR 4-47), ($p = 0,059$). Doba UPV i délka pobytu na KARIM se vý-

Graf 1
Rozdělení pacientů souboru



*VAP – ventilator-associated pneumonia

ATB – ATB terapie v předchozích 90dnech před přijetím na KARIM

Bez ATB – bez ATB terapie v intervalu 90dnů před přijetím na KARIM

znamně nelišily (medián 6 vs. 7 dní, resp. 8 vs. 7 dní). Nejčastěji podávanými antibiotiky v předcházejících 90 dnech byly aminopeniciliny s inhibitory bakteriálních beta-laktamáz (amoxicilin/kys. klavulanová, ampicilin/sulbaktam), amoxicilin, ampicilin, azitromycin, piperacilin/tazobaktam, cefazolin, cefuroxim, ciprofloxacin, kotrimoxazol, metronidazol, gentamicin a jejich případné kombinace. 28denní mortalita byla nižší u pacientů s předchozí ATB terapií (22 % vs. 24 %, $p = 1,000$). Statisticky významný rozdíl nebyl zaznamenán ani u 90denní mortality (22 % vs. 41 %, $p = 0,193$).

Kritéria VAP splnilo 23 pacientů. Předchozí ATB terapii ve skupině VAP mělo 11 pacientů oproti 12 pacientům bez předchozí aplikace ATB. Četnost podání ATB u pacientů s VAP byla v souboru signifikantně nižší (34 %) než u kontrolní skupiny bez VAP (66 %), ($p = 0,02$) (graf 1). U pacientů s předcházející ATB léčbou došlo častěji k pozdnímu nástupu VAP. Nejčastěji izolovanými etiologickými agensy byly enterobakterie, včetně kmenů produkujících širokospektré beta-laktamázy, a *Pseudomonas aeruginosa*. U pacientů bez předcházející ATB léčby byl spíše časný nástup VAP. Nejčastěji byly izolovány *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* a *Haemophilus influenzae*. Byl prokázán statisticky významný vyšší podíl MDR patogenů u pacientů s předchozí aplikací antibiotik ($p = 0,047$), z celkového počtu 13 identifikovaných bakteriálních patogenů bylo 10 MDR (77 %). V případě pacientů bez ATB byly pouze 4 bakteriální kmeny z 12 klasifikovány jako MDR (33 %) (tabulka 2). Předchozí ATB terapie u pacientů s VAP prodloužila dobu UPV (medián 9, IQR 5-44) oproti pacientům bez předchozí léčby (medián 7, IQR 4-31). Statisticky významný rozdíl prokázán nebyl ($p = 0,322$).

Tabulka 2

Četnost záchytu etiologických agens VAP v závislosti na předchozí ATB terapii

Etiologické agens	ATB	Bez ATB	Celkem
<i>Burkholderia multivorans</i>	1	1	2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	1	2
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	0	1
<i>Escherichia coli</i>	0	1	1
<i>Escherichia coli</i> ESBL	2	1	3
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ESBL	4	1	5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	2	2
<i>Morganella morganii</i>	1	0	1
<i>Serratia marcescens</i>	1	1	2
<i>Enterococcus faecalis</i>	1	0	1
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	1	1
<i>Klebsiella aerogenes</i> AmpC	1	0	1
<i>Enterobacter cloacae</i>	0	2	2
<i>Haemophilus influenzae</i>	0	1	1
Celkem	13	12	25
Počet MDR bakterií	10	4	14

ESBL, AmpC – širokospektré beta-laktamázy

ATB – ATB terapie v intervalu 90 dnů před přijetím na KARIM

Bez ATB – bez ATB terapie v intervalu 90 dnů před přijetím na KARIM

MDR – multirezistentní

Délka pobytu na KARIM a zejména délka pobytu v nemocnici byla rovněž delší u pacientů s předchozí ATB terapií (medián 13, IQR 7-44, vs. medián 9,5, IQR 4-36), ($p = 0,164$). Nižší 28denní mortalita byla zaznamenána u pacientů s předchozí ATB léčbou (18 %, $n = 2$ vs. 33 %, $n = 4$) ($p = 0,640$). U 90denní mortality byl rozdíl ještě výraznější, avšak na nízké hladině statistické významnosti (18 %, $n = 2$, resp. 58 %, $n = 7$), ($p = 0,089$).

Diskuze

Předložená práce hodnotí vliv předchozí antibakteriální terapie (v intervalu 90 dnů) na incidenci VAP, bakteriální etiologická agens, včetně jejich citlivosti či rezistence k ATB, a mortalitu.

Četnost předchozího podání ATB u pacientů s VAP byla v souboru signifikantně nižší než u kontrolní skupiny bez VAP. Možné vysvětlení lze nalézt v zastoupení antibakteriálních přípravků u předchozí ATB léčby. Nejčastěji podávanými antibiotiky v předchozích 90 dnech byly aminopeniciliny s inhibitory beta-laktamáz (ampicilin/sulbaktam či amoxicilin/kys. klavulanová), které jsou zároveň i součástí obecných doporučení iniciální ATB terapie těžce probíha-

jících komunitních pneumonií u rizikových pacientů dle Fineho kritérií [15]. V souladu s klinickými guideline managementu nozokomiální a ventilátorové pneumonie vydaných v roce 2016 společnostmi Infectious Diseases Society of America a American Thoracic Society se tak podařilo ověřit vliv předchozí ATB terapie na incidenci VAP [9].

Odhadovaná prevalence VAP u všech nemocných napojených na UPV činí 9–27 % [1,2]. V našem souboru činila pouze 7 %. Možným vysvětlením je malá velikost souboru, event. relativně krátká doba UPV. Incidence VAP kolísá od 2,0 do 6,4 na 1 000 ventilátorových dní v závislosti na podílu intubovaných pacientů na JIP [16]. Incidence VAP v naší studii byla 3 případy na 1 000 ventilátorových dní.

Nejčastěji izolovanými bakteriálními původci VAP jsou *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* a *Escherichia coli* [16]. V našem souboru byly nejčastěji izolovány enterobakterie, včetně kmenů produkujících širokospektré beta-laktamázy, a *Pseudomonas aeruginosa*. Nepodařilo se prokázat statisticky významnou souvislost mezi etiologickým agens, dobou vzniku VAP a předchozí ATB terapií. U pacientů s předcházející ATB léčbou však došlo častěji k pozdnímu nástupu VAP.

K důležitým parametrům hodnocení léčby VAP patří mortalita. Atributivní

riziko úmrtí v souvislosti s VAP se v současnosti pohybuje kolem 9 % (3–17 %) [17]. V naší studii bylo toto riziko 12 %. I přes nižší hladinu statistické významnosti ($p = 0,089$) výsledky naznačují, že pacienti s VAP a předchozí ATB terapií mají nižší nejen 28denní, ale zejména 90denní mortalitu.

U pacientů s předchozí aplikací antibiotik byly častěji prokázány MDR bakterie, ale mortalita je nižší. Pravděpodobně u těchto pacientů byly vzaty v úvahu předcházející mikrobiologické nálezy a antibiotická léčba. Následná ATB terapie již byla tedy cíleněji zaměřena. U pacientů bez předchozí aplikace antibiotik a znalosti předchozího antibiogramu tak mohlo častěji dojít k selhání iniciální ATB terapie z důvodu bakteriální rezistence. V této souvislosti práce Planquette et al. hodnotila prediktivní faktory rekurence VAP způsobené *Pseudomonas aeruginosa* s ohledem na předchozí antibakteriální terapii [18]. Užití fluorochinolonů v předchozí léčbě bylo jednoznačně rizikovým faktorem rekurence VAP. Antibakteriální léčbu je tedy nutné modifikovat s ohledem na předchozí ATB terapii a výsledky předcházejících mikrobiologických vyšetření, čili aplikovat individualizovanou léčbu. Pokud výsledky nejsou k dispozici, je vhodné postupovat podle obecných doporučení ini-

ciální antibiotické terapie VAP, které však musí vycházet z výsledků lokální surveillance bakteriálních patogenů a jejich rezistence k ATB [19].

Nejvýraznějším limitem studie je nízký počet pacientů, nicméně jedná se o pilotní studii, jejímž úkolem bylo ověření metodiky pro následnou klinickou studii.

Závěr

Předchozí podávání ATB je spojeno s nižší incidencí VAP, současně však s vyšším výskytem MDR bakterií. ATB léčba VAP modifikovaná znalostí předchozí aplikace ATB a výsledky mikrobiologických nálezů přispěla k nižší 28denní i 90denní mortalitě pacientů.

Práce byla podpořena grantem IGA_LF_2019_21.

Literatura

- Hunter JD. Ventilator associated pneumonia. *BMJ* 2012;344:e3325.
- American Thoracic Society, Infectious Diseases Society of America: Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;171(4):388–416.
- Warren DK, Shukla SJ, Olsen MA, et al. Outcome and attributable cost of ventilator-associated pneumonia among intensive care unit patients in a suburban medical center. *Crit Care Med* 2003;31:1312–1317.
- Herkel T, Uvizl R, Doubravská L, et al. Epidemiology of hospital-acquired pneumonia: results of a Central European multicenter, prospective, observational study compared with data from the European region. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2016;160(3):448–455.
- Cook DJ, Walter SD, Cook RJ, et al. Incidence of and risk factors for ventilator-associated pneumonia in critically ill patients. *Ann Intern Med* 1998;129:433–440.
- Institute for Healthcare Improvement. Ventilator-Associated Pneumonia bundle, cited: 2016 January 22, Available from: <http://www.ihp.org>
- Eom JS, Lee M, Chun H, et al. The impact of a ventilator bundle on preventing ventilator-associated pneumonia: a multicenter study. *Am J Infect Control* 2014;42:34–378.
- Gupta R, Malik A, Rizvi M, et al. Epidemiology of multidrug-resistant Gram-negative pathogens isolated from ventilator-associated pneumonia in ICU patients. *J Glob Antimicrob Resist* 2017;9:47–50.
- Kalil AC, Metersky ML, Klompas M, et al. Management of adults with hospital-acquired and ventilator-associated pneumonia: 2016 clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society. *Clin Infect Dis* 2016;63:e61.
- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Antimicrobial susceptibility testing, revised: 2010 December 01, Available from: <http://www.eucast.org>
- Htoutou-Sedlakova M, Hanulík V, Chroma M, et al. Phenotypic detection of broad-spectrum beta-lactamases in microbiological practice. *Med Sci Monit* 2011;17:BR147–152.
- Htoutou-Sedláková M, Hanulík V, Chromá M, et al. Rezistence enterobakterií ke karbapenemům. *Klin Mikrobiol Inf Lek* 2011;17:12–18.
- Perez-Perez FJ, Hanson ND. Detection of plasmid-mediated AmpC β -lactamase genes in clinical isolates by using multiplex PCR. *J Clin Microbiol* 2002;40:2153–2162.
- Pagani L, Dell'Amico E, Migliavacca R, et al. Multiple CTX-M-type extended-spectrum β -lactamases in nosocomial isolates of Enterobacteriaceae from a hospital in northern Italy. *J Clin Microbiol* 2003;41:4264–4269.
- Kolek V, Kolář M, Kašák V, Beneš J, Dindoš J. Diagnostika a léčba komunitní pneumonie dospělých, (Klinické doporučení) vydané ČPFS a Společností infekčního lékařství, updated 2016, Available from: www.pneumologie.cz
- European Centre for Disease Prevention and Control. Annual Epidemiological Report 2016 – Healthcare-associated infections acquired in intensive care units. Stockholm: ECDC; 2016. Available online: <https://ecdc.europa.eu/en/publications-data/health>
- Melsen WG, Rovers MM, Koeman M, Bonten MJM. Estimating the attributable mortality of ventilator-associated pneumonia from randomized prevention studies. *Crit Care Med* 2011;39:2736–2742.
- Planquette B, Timsit JF, Misset BY, et al. OUTCOMEREA Study Group. *Pseudomonas aeruginosa* ventilator-associated pneumonia: predictive factors of treatment failure. *Am J Respir Crit Care Med* 2013;188:69–76.
- Kolář M. Respirační infekce a jejich léčba. Maxdorf Jessenius, 2016.



Article

Clonal Diversity of *Klebsiella* spp. and *Escherichia* spp. Strains Isolated from Patients with Ventilator-Associated Pneumonia

Jan Papajk ¹, Kristýna Mezerová ^{2,*}, Radovan Uvízl ¹, Taťána Štosová ³ and Milan Kolář ³

¹ Department of Anesthesiology, Resuscitation and Intensive Care Medicine, University Hospital Olomouc, 77900 Olomouc, Czech Republic; jan.papajk@fnol.cz (J.P.); radovan.uvizl@fnol.cz (R.U.)

² Department of Microbiology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University Olomouc, 77515 Olomouc, Czech Republic

³ Department of Microbiology, University Hospital Olomouc, 77515 Olomouc, Czech Republic; tatana.stosova@fnol.cz (T.Š.); milan.kolar@fnol.cz (M.K.)

* Correspondence: kristyna.mezerova@upol.cz

Abstract: Ventilator-associated pneumonia (VAP) is one of the most severe complications affecting mechanically ventilated patients. The condition is caused by microaspiration of potentially pathogenic bacteria from the upper respiratory tract into the lower respiratory tract or by bacterial pathogens from exogenous sources such as healthcare personnel, devices, aids, fluids and air. The aim of our prospective, observational study was to confirm the hypothesis that in the etiology of VAP, an important role is played by etiological agents from the upper airway bacterial microflora. At the same time, we studied the hypothesis that the vertical spread of bacterial pathogens is more frequent than their horizontal spread among patients. A total of 697 patients required mechanical ventilation for more than 48 h. The criteria for VAP were met by 47 patients. Clonality of bacterial isolates from 20 patients was determined by comparing their macrorestriction profiles obtained by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE). Among these 20 patients, a total of 29 PFGE pulsotypes of *Klebsiella* spp. and *Escherichia* spp. strains were observed. The high variability of clones proves that there was no circulation of bacterial pathogens among hospitalized patients. Our finding confirms the development of VAP as a result of bacterial microaspiration and therefore the endogenous origin of VAP.

Keywords: ventilator-associated pneumonia; *Klebsiella* spp.; *Escherichia* spp.; pulsed-field gel electrophoresis (PFGE); clonality; endogenous infection



Citation: Papajk, J.; Mezerová, K.; Uvízl, R.; Štosová, T.; Kolář, M. Clonal Diversity of *Klebsiella* spp. and *Escherichia* spp. Strains Isolated from Patients with Ventilator-Associated Pneumonia. *Antibiotics* **2021**, *10*, 674. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10060674>

Academic Editor: Michele Bartoletti

Received: 14 May 2021

Accepted: 3 June 2021

Published: 5 June 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Ventilator-associated pneumonia (VAP) is one of the most severe complications affecting mechanically ventilated patients. VAP has a considerable impact on patient prognosis due to longer ventilation time and higher mortality. The incidence of VAP is reported to be 9–27% [1]. The risk of developing VAP is highest in the first five days of mechanical ventilation and then gradually decreases [2]. Mortality associated with VAP is 33–50%, depending on the bacterial pathogen, adequacy of the antibiotic therapy and comorbidities of the patient [1]. With strict preventive measures in place, the death rate may decrease to approximately 9–13% [3]. The incidence of VAP is influenced by a range of risk factors contributing to undesirable microaspiration of potentially pathogenic bacteria into the lower respiratory tract. Microaspirations occur not only due to respiratory invasive procedures, including intubation or bronchoscopy, but also passively due to leakage of pooled secretions (from the paranasal sinuses, nasopharynx, oropharynx or stomach) from the space above the endotracheal tube cuff. Even insertion of the tube itself disrupts the natural barrier protecting the airways [4] and a biofilm forming on its surface may become a source of bacterial contamination of the lower respiratory tract [5]. All these mechanisms, individually or together, participate in the endogenous origin of VAP. The independent risk

factors for VAP are mainly previous administration of antibiotics and patient comorbidities [1]. The exogenous sources of bacterial pathogens responsible for VAP in the intensive care setting may include healthcare personnel, devices, aids, fluids or air [6].

The study aimed to confirm the hypothesis that in the etiology of VAP, an important role is played by etiological agents from the upper airway bacterial flora, and that vertical spread of bacterial pathogens is more common than their horizontal spread among patients.

2. Results

Patients over 18 years of age hospitalized at the Department of Anesthesiology, Resuscitation and Intensive Care Medicine, University Hospital Olomouc, Czech Republic, between 11 January 2018 and 22 May 2020 were involved in this prospective, observational study.

Over the study period, a total of 697 patients required mechanical ventilation for more than 48 h. The criteria for VAP were met by 47 patients. The clonality study included 20 patients (18 males, 2 females) whose VAP was caused by *Klebsiella* spp. and *Escherichia* spp. As for demographic data, only age was normally distributed (median 58, interquartile range, IQR, 23–83). The other parameters showed non-normal distribution. The mean body mass index was 28 ± 5 (median 28, IQR 19–48). The median Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II (APACHE II) score on admission was 24 (IQR 14–32). The median duration of mechanical ventilation and intensive care unit (ICU) stay was 11 days (IQR 5–43) and 13 days (IQR 6–44), respectively. The patients had a 30-day mortality rate of 20%.

A total of 49 *Klebsiella* spp. and *Escherichia* spp. isolates were obtained from 20 patients. Of those, nine *Escherichia* spp. isolates came from five patients and 40 *Klebsiella* spp. isolates from 17 patients; the latter included four isolates from patients from whom *Klebsiella variicola* or *Escherichia* spp. isolates were also obtained.

2.1. PFGE Analysis of *Klebsiella* spp. Isolates

For 26 *Klebsiella pneumoniae* isolates from 12 patients, different restriction profiles obtained with SpeI digestion of DNAs were observed, resulting in 16 pulsotypes. Isolates with identical restriction profiles were documented among different types of samples collected from the patients (Figure 1). Additionally, more than one clone was observed among isolates coming from patients referred to as PAT 8, PAT 9 and PAT 12.

Clustering analysis of nine isolates identified as *Klebsiella variicola* coming from five patients contributed to our finding that there was no clonal spread among patients in the Department of Anesthesiology, Resuscitation and Intensive Care Medicine. Furthermore, more than one clone was observed in the patient PAT 2 (Figure 2). A dendrogram constructed for five *Klebsiella oxytoca* isolates coming from 2 patients supported clonal diversity among different patients (Figure 3). Nevertheless, the phylogenetic tree based on PFGE profiles revealed identical strains isolated from different types of samples collected from each patient.

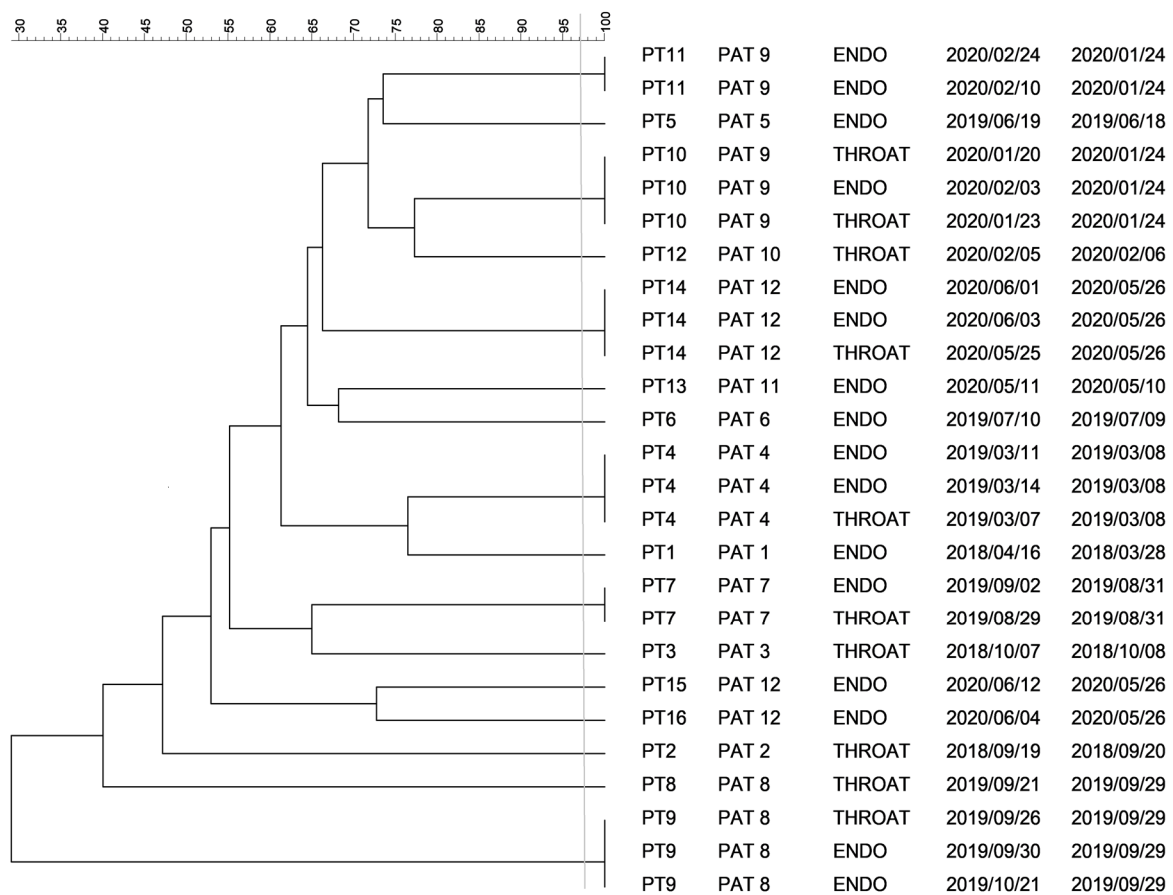


Figure 1. Dendrogram for restriction patterns of *K. pneumoniae* isolates. Legend: horizontal axis—similarity of isolates (%); vertical axis—pulsotype, patient code, type of sample, date of sample collection, date of VAP diagnosis; PT pulsotype, PAT patient, ENDO endotracheal aspirate sample, THROAT throat swab. The vertical line indicates the similarity threshold set at 97%.

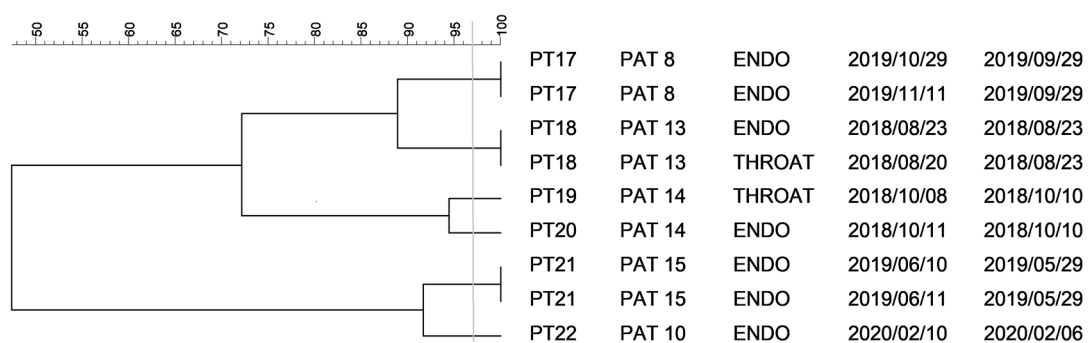


Figure 2. Dendrogram for restriction patterns of *K. variicola* isolates. Legend: horizontal axis—similarity of isolates (%); vertical axis—pulsotype, patient code, type of sample, date of sample collection, date of VAP diagnosis; PT pulsotype, PAT patient, ENDO endotracheal aspirate sample, THROAT throat swab. The vertical line indicates the similarity threshold set at 97%.

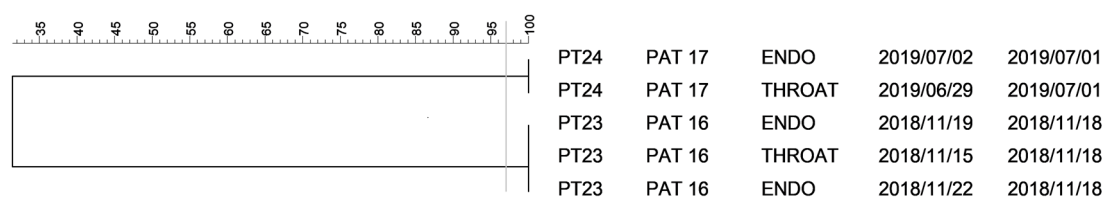


Figure 3. Dendrogram for restriction patterns of *K. oxytoca* isolates. Legend: horizontal axis—similarity of isolates (%); vertical axis—pulsotype, patient code, type of sample, date of sample collection, date of VAP diagnosis; PT pulsotype, PAT patient, ENDO endotracheal aspirate sample, THROAT throat swab. The vertical line indicates the similarity threshold set at 97%.

2.2. PFGE Analysis of *Escherichia* spp. Isolates

PFGE identified three pulsotypes among five *Escherichia coli* isolates belonging to three patients (Figure 4), supporting clonal diversity among different patients. The same results were obtained by restriction profiles of *Escherichia hermannii* DNA as four isolates were categorized to two phylotypes corresponding with patient codes (Figure 5).

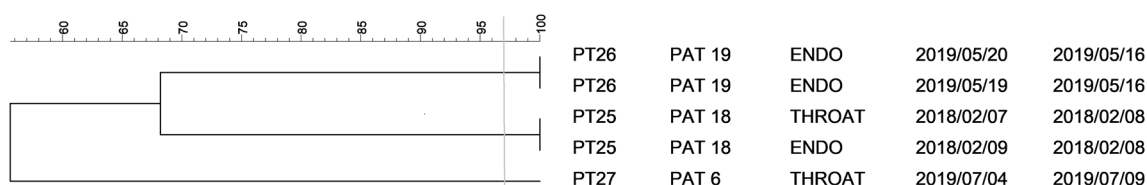


Figure 4. Dendrogram for restriction patterns of *E. coli* isolates. Legend: horizontal axis—similarity of isolates (%); vertical axis—pulsotype, patient code, type of sample, date of sample collection, date of VAP diagnosis; PT pulsotype, PAT patient, ENDO endotracheal aspirate sample, THROAT throat swab. The vertical line indicates the similarity threshold set at 97%.

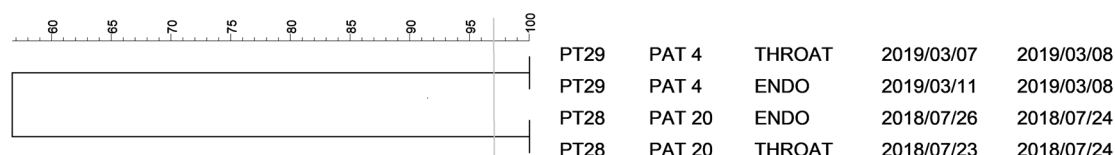


Figure 5. Dendrogram for restriction patterns of *E. hermannii* isolates. Legend: horizontal axis—similarity of isolates (%); vertical axis—pulsotype, patient code, type of sample, date of sample collection, date of VAP diagnosis; PT pulsotype, PAT patient, ENDO endotracheal aspirate sample, THROAT throat swab. The vertical line indicates the similarity threshold set at 97%.

In 15 patients (75%), the bacterial pathogen that caused VAP was isolated from the upper respiratory tract before the development of VAP, or bacterial strains identified from the upper respiratory tract and endotracheal aspirate (ETA) samples showed identical restriction profiles in the same patient. In the remaining five patients, we confirmed the presence of the detected pathogen only in ETA samples after VAP had occurred.

3. Discussion

Over the study period, the incidence of VAP in the Department of Anesthesiology, Resuscitation and Intensive Care Medicine reached 7%, a lower rate compared to long-term reports [1]. The incidence was compared to 2018 data (1 January–31 December 2018) showing 20 cases of VAP among 291 patients mechanically ventilated for over 48 h (unpublished data). The 2018 rate was also 7%, suggesting a stable incidence of VAP in the department. In their comparison of data from the National Healthcare Safety Network, Dudeck et al. reported a downward trend in the incidence of VAP [7,8]. However, recent guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society state a stable VAP rate (approx. 10%) in mechanically ventilated patients [9]. The present study found a mortality rate of 20% among VAP patients. A meta-analysis

by Melsen et al. reported lower overall mortality (13%). However, the opposite was true for comparable patient subgroups (APACHE II score 20–29), with rates of 20% and 36%, respectively [3]. Mortality rates in different studies are also difficult to compare due to various methodologies. According to Forel et al., 28-day and 90-day mortality of patients with VAP was 27% and 42%, respectively [10]. While a study from Thailand documented 30-day mortality of 46% [11], Tejada et al. reported a rate of 44% without time specification [12]. A multi-center study by Herkel et al. assessed 30-day mortality with regard to adequate or inadequate empirical antibiotic therapy (27% vs. 45%) [13].

In the pathogenesis of VAP, microaspiration of bacteria from secretions in the space above the endotracheal tube cuff or the oropharynx plays the major role. Less frequently, the infection is caused by exogenously acquired pathogens. Thus, most VAP cases are of endogenous origin [6,14]. The risk factors for the development of VAP are mainly urgent tracheal intubation, reintubation, bronchoscopy and intolerance of enteral feeding, that is, situations representing a higher risk of microaspiration [15]. The introduction of routine assessment of the bacterial flora in both the upper and lower respiratory tract has allowed early identification of bacterial pathogens responsible for VAP. ETA sample collection results in more frequently detected pathogens (93%) compared to not only oropharyngeal swab (OS) and gastric aspiration samples (59% and 57%, respectively), but especially to protected specimen brushing (36%) [16]. The latter approach has the lowest sensitivity of all invasive techniques and is therefore not routinely performed, as stated in a meta-analysis by Fernando et al. [17]. Our results suggest that taking OS and ETA samples twice a week is sufficient.

To the best of our knowledge, this is the first study comparing the clonality of *Klebsiella* and *Escherichia* spp. strains isolated from different types of samples in each patient with VAP. Among 20 patients, a total of 29 PFGE pulsotypes were observed. Restriction profiles obtained from 26 *K. pneumoniae* isolates revealed 16 pulsotypes among 12 patients. *K. variicola* isolates also showed high variability of clones, as six pulsotypes were obtained from isolates belonging to five patients. Where *K. oxytoca*, *E. coli* and *E. hermannii* isolates were analyzed by PFGE, the number of pulsotypes always corresponded with the number of patients, proving that there was no circulation of pathogen among hospitalized patients.

Comparison of PFGE pulsotypes obtained in this study also showed high variability of bacterial clones among different patients, which correlates with a study by Hanulík et al. demonstrating clonal diversity among 23 *K. pneumoniae* isolates with only three pairs of clones belonging to six different patients [18]. A later study by Pudova et al. observed unique restriction profiles of analyzed isolates (74%) from hospital-acquired pneumonia (HAP) patients, suggesting only rare clonal spread of HAP bacterial pathogens among individual patients [19]. Unlike our study, circulation of multidrug-resistant *K. pneumoniae* isolates causing VAP in Egypt was confirmed by PFGE analysis. A study by Mohamed et al. included 19 clinical isolates from different patients and four environmental isolates, resulting in 17 pulsotypes. The restriction profiles of clinical and environmental isolates were similar, suggesting the exogenous origin of VAP infection [20]. Identical clones of *K. pneumoniae* were also detected in 29% of VAP patients in China. Clonal relationship of the *K. pneumoniae* strains was studied by random amplified polymorphic DNA (RAPD) and multilocus sequence typing, revealing 21 different RAPD patterns and 25 sequence types (ST) among 49 *K. pneumoniae* isolates. The most frequent clone, ST23 (43% prevalence) corresponding to hypervirulent *K. pneumoniae* (hvKP), evinced an identical RAPD pattern for all analyzed isolates, suggesting their epidemiological relationship [21]. According to a study by Tabrizi et al., hvKP isolated from mechanically-ventilated drug-poisoning patients was related to ST23 with the same PFGE pulsotype pattern, also underlining its epidemiological importance [22]. Based on our PFGE results, no epidemiologic strain was detected among the investigated patients.

In 75% of patients, the identified bacterial pathogen was first isolated from the upper respiratory tract as part of the bacterial flora. Subsequently, its presence in the endotracheal

secretion of a patient with clinically expressed VAP was confirmed. This finding confirms the development of VAP resulting from bacterial microaspiration as reported by Pudova et al. [19].

The study limitations are its retrospective design, evaluation of only two bacterial species, and inclusion of only one center.

4. Materials and Methods

4.1. Patients and Clinical Material

All patients over 18 years of age who required mechanical ventilation for more than 48 h at the Department of Anesthesiology, Resuscitation and Intensive Care Medicine over the study period were involved in the study. Biological samples for microbiology testing, collected as described below, were a routine part of standard care for mechanically ventilated patients.

4.2. Sample Processing

The study included patients who met the clinical criteria for VAP caused by strains of *Klebsiella* spp. and *Escherichia* spp. The clinical signs of pneumonia are defined as the presence of newly developed or progressive infiltrates on chest radiographs plus at least two other signs of respiratory tract infection: temperature $> 38\text{ }^{\circ}\text{C}$, purulent sputum, leukocytosis (white blood cell, $\text{WBC} > 10 \times 10^3/\text{mm}^3$) or leukopenia ($\text{WBC} < 4 \times 10^3/\text{mm}^3$), signs of inflammation on auscultation, cough and/or respiratory insufficiency with a $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ ratio of ≤ 300 mm Hg that develop after more than 48 h of mechanical ventilation.

Excluded were patients with signs of pneumonia at the time of initiation of mechanical ventilation or with neutropenia, organ donors, those who later switched to withhold therapy or palliative care, and patients with VAP caused by bacterial pathogens other than *Klebsiella* spp. and *Escherichia* spp.

4.3. Collection of Samples for Microbiological Culture and Identification of Isolated Bacteria

In all patients, OS samples were taken on admission and then twice weekly, and ETA samples were taken twice weekly following the initiation of mechanical ventilation. OS samples were collected from the back wall of the oropharynx using a commercially available sample collection kit with a transport medium (Copan Diagnostics, Murrieta, CA, USA). ETA samples were collected by aspiration of secretions from an orotracheal tube using a sterile closed collecting system, with subsequent rinsing of the suction catheter with 10 mL of sterile saline and closing of the test tube with a sterile stopper. The identification of bacteria was performed by MALDI-TOF MS (Biotyper Microflex, Bruker Daltonics, Bremen, Germany) [23]. The study analyzed all *Escherichia* spp. and *Klebsiella* spp. strains isolated from OS and ETA collected from the enrolled patients. Table S1 in Supplementary data summarizes isolated bacterial species, dates of sample collection and VAP diagnosis of the enrolled patients.

4.4. Genotyping of Selected Bacterial Isolates

Clonal relationships of bacterial isolates were determined by comparing their macrorestriction profiles obtained by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE). Bacterial DNA was isolated according to a protocol previously described in a study by Husickova et al. [24]. Briefly, DNA was isolated from a bacterial culture incubated at $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 16 h in Mueller–Hinton broth. The cells were washed three times with washing buffer followed by dilution of bacteria for optical density of 1.0–1.5 at 600 nm. The cells were subsequently mixed with 2% low melting point agarose (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) to form blocks. The prepared agarose blocks were incubated at $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ in lysis buffer containing lysozyme. After 24 h, the blocks were transferred into deproteination buffer with proteinase K and incubated at $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ for another 24 h. The obtained blocks were finally washed in TE buffer and stored at $4\text{ }^{\circ}\text{C}$. According to manufacturer's instructions, enzymes XbaI and SpeI (New England Biolabs, Ipswich, MA, USA) were used for DNA restriction. *Escherichia* spp. isolates were digested by XbaI while SpeI-digested genomic DNA was used for obtaining restriction

profiles of *Klebsiella* spp. isolates. The obtained DNA fragments were separated by PFGE, which was carried out in 1.2% agarose gel at 6 V cm⁻¹ and pulse times of 2–35 s for 24 h. Thiourea (final concentration 50 µM) was added to an electrophoresis buffer in order to improve the typeability of the strains. Ethidium bromide was used for staining the gel, the obtained restriction profiles were documented by an imaging device and compared by the GelCompar II software (Applied Maths, Kortrijk, Belgium). Dendrograms were constructed by the unweighted pair group method with arithmetic mean combined with a hierarchical clustering method with Dice's coefficient. Optimization and band matching tolerance was set at 2%. Restriction profiles reaching 97% similarity were considered identical.

4.5. Statistical Analysis

Data were analyzed with IBM SPSS Statistics for Windows version 23.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA). Quantitative variables are presented as means and standard deviations (SD), minimum and maximum values and medians. The Shapiro–Wilk test for normality was used to verify that most data are not normally distributed (the only exception being age). Qualitative data (males/females, 30-day mortality) are presented as counts and percentages.

5. Conclusions

The results of this study, namely unique profiles confirming high variability of bacterial pathogens isolated from different patients, led us to conclude that the isolates did not spread among the hospitalized patients, suggesting that all VAP infections were endogenously acquired. At the same time, the results prove that strict adherence to hygiene and epidemiological precautions and careful surveillance of bacterial pathogens causing VAP, including assessment of the upper respiratory tract microflora, in clinical practice, may effectively prevent the horizontal spread of bacterial pathogens among mechanically ventilated patients. The observations of the study also indicate that bacterial microflora of the upper respiratory tract might predict the pathogens implicated in VAP. Thus, regular screening of a patient's oral microflora might guide empirical antibiotic treatment when the patient subsequently develops VAP, possibly increasing the rate of appropriate antibiotic treatment.

Supplementary Materials: The following are available online at <https://www.mdpi.com/article/10.3390/antibiotics10060674/s1>, Table S1: ENDO endotracheal aspirate sample, ESCO *E. coli*, ESHE *E. hermannii*, KLOX *K. oxytoca*, KLPN *K. pneumoniae*, KLVA *K. variicola*, PAT patient, THROAT throat swab.

Author Contributions: Conceptualization, M.K. and J.P.; Methodology, K.M., T.Š. and R.U.; Formal Analysis, K.M. and R.U.; Investigation, J.P.; Resources, J.P.; Data Curation, K.M., T.Š. and J.P.; Writing—original draft preparation, K.M., M.K. and J.P.; Writing—review and editing, K.M., M.K. and J.P.; Visualization, K.M. and J.P.; Supervision, M.K. and R.U. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the grant IGA_LF_2021_022 and project MH CZ—DRO (FNOL, 00098892).

Institutional Review Board Statement: This study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki and approved by the Joint Institutional Ethics Committee of University Hospital Olomouc Ethics Committee (no. 173/2018).

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study. (In case informed consent to participation in the study could not be obtained due to the provision of continuous analgesia/sedation to mechanically ventilated patients, close relatives were asked for it and properly informed).

Data Availability Statement: The data presented in this study are available on request from the corresponding author. The data are not publicly available due to protection of privacy of patients included in the study.

Acknowledgments: The authors are thankful to K. Langová for performing statistical analyses.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. American Thoracic Society; Infectious Diseases Society of America. Guidelines for the Management of Adults with Hospital-acquired, Ventilator-associated, and Healthcare-associated Pneumonia. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2005**, *171*, 388–416. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Chastre, J.; Fagon, J.-Y. Ventilator-associated Pneumonia. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2002**, *165*, 867–903. [[CrossRef](#)]
3. Melsen, W.G.; Rovers, M.M.; Groenwold, R.H.; Bergmans, D.C.; Camus, C.; Bauer, T.T.; Hanisch, E.; Klarin, B.; Koeman, M.A.; Krueger, W.; et al. Attributable mortality of ventilator-associated pneumonia: A meta-analysis of individual patient data from randomised prevention studies. *Lancet Infect. Dis.* **2013**, *13*, 665–671. [[CrossRef](#)]
4. Zolfaghari, P.S.; La Wyncoll, D. The tracheal tube: Gateway to ventilator-associated pneumonia. *Crit. Care* **2011**, *15*, 310. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Hunter, J.D. Ventilator associated pneumonia. *BMJ* **2012**, *344*, e3325. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Safdar, N.; Crnich, C.J.; Maki, D.G. The pathogenesis of ventilator-associated pneumonia: Its relevance to developing effective strategies for prevention. *Respir. Care* **2005**, *50*, 725–739.
7. Dudeck, M.A.; Weiner, L.M.; Allen-Bridson, K.; Malpiedi, P.J.; Peterson, K.D.; Pollock, D.A.; Sievert, D.M.; Edwards, J.R. National Healthcare Safety Network (NHSN) report, data summary for 2012, Device-associated module. *Am. J. Infect. Control* **2013**, *41*, 1148–1166. [[CrossRef](#)]
8. Dudeck, M.A.; Horan, T.C.; Peterson, K.D.; Allen-Bridson, K.; Morrell, G.; Pollock, D.A.; Edwards, J.R. National Healthcare Safety Network (NHSN) Report, data summary for 2010, device-associated module. *Am. J. Infect. Control* **2011**, *39*, 798–816. [[CrossRef](#)]
9. Kalil, A.C.; Metersky, M.L.; Klompas, M.; Muscedere, J.; Sweeney, D.A.; Palmer, L.B.; Napolitano, L.M.; O’Grady, N.P.; Bartlett, J.G.; Carratalà, J.; et al. Management of Adults With Hospital-acquired and Ventilator-associated Pneumonia: 2016 Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society. *Clin. Infect. Dis.* **2016**, *63*, e61–e111. [[CrossRef](#)]
10. Forel, J.-M.; Voillet, F.; Pulina, D.; Gacouin, A.; Perrin, G.; Barrau, K.; Jaber, S.; Arnal, J.-M.; Fathallah, M.; Auquier, P.; et al. Ventilator-associated pneumonia and ICU mortality in severe ARDS patients ventilated according to a lung-protective strategy. *Crit. Care* **2012**, *16*, R65. [[CrossRef](#)]
11. Werarak, P.; Kiratisin, P.; Thamlikitkul, V. Hospital-acquired pneumonia and ventilator-associated pneumonia in adults at Siriraj Hospital: Etiology, clinical outcomes, and impact of antimicrobial resistance. *J. Med. Assoc. Thai.* **2010**, *93*, S126–S138.
12. Artigas, A.T.; Dronda, S.B.; Vallés, E.C.; Marco, J.M.; Usón, M.C.V.; Figueras, P.; Suarez, F.J.; Hernández, A. Risk factors for nosocomial pneumonia in critically ill trauma patients. *Crit. Care Med.* **2001**, *29*, 304–309. [[CrossRef](#)]
13. Herkel, T.; Uvizl, R.; Doubravská, L.; Adamus, M.; Gabrhelik, T.; Sedlakova, M.H.; Kolar, M.; Hanulik, V.; Pudova, V.; Langova, K.; et al. Epidemiology of hospital-acquired pneumonia: Results of a Central European multicenter, prospective, observational study compared with data from the European region. *Biomed. Pap.* **2016**, *160*, 448–455. [[CrossRef](#)]
14. Berthelot, P.; Grattard, F.; Mahul, P.; Pain, P.; Jospé, R.; Venet, C.; Carricajo, A.; Aubert, G.; Ros, A.; Dumont, A.; et al. Prospective study of nosocomial colonization and infection due to *Pseudomonas aeruginosa* in mechanically ventilated patients. *Intensiv. Care Med.* **2001**, *27*, 503–512. [[CrossRef](#)]
15. Uvizl, R.; Kolar, M.; Herkel, T.; Vobrova, M.; Langova, K. Possibilities for modifying risk factors for the development of hospital-acquired pneumonia in intensive care patients: Results of a retrospective, observational study. *Biomed. Pap.* **2017**, *161*, 303–309. [[CrossRef](#)]
16. Doubravská, L.; Uvizl, R.; Herkel, T.; Kolář, M.; Gabrhelik, T.; Röderová, M.; Htoutou Sedláková, M.; Langová, K.; Kolek, V.; Jakubec, P.; et al. Detection of the etiological agents of hospital-acquired pneumonia—Validity and comparison of different types of biological sample collection: A prospective, observational study in intensive care patients. *Epidemiol. Mikrobiol. Imunol.* **2017**, *66*, 155–162. [[PubMed](#)]
17. Fernando, S.M.; Tran, A.; Cheng, W.; Klompas, M.; Kyeremanteng, K.; Mehta, S.; English, S.; Muscedere, J.; Cook, D.J.; Torres, A.; et al. Diagnosis of ventilator-associated pneumonia in critically ill adult patients—A systematic review and meta-analysis. *Intensiv. Care Med.* **2020**, *46*, 1170–1179. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
18. Hanulik, V.; Uvizl, R.; Husičková, V.; Htoutou Sedláková, M.; Kolář, M. Pneumonia-causing bacterial pathogens in intensive care patients. *Klin. Mikrobiol. Infekc. Lek.* **2011**, *17*, 135–140.
19. Pudová, V.; Working Group; Sedláková, M.H.; Kolář, M. Clonality of Bacterial Pathogens Causing Hospital-Acquired Pneumonia. *Curr. Microbiol.* **2016**, *73*, 312–316. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
20. Mohamed, E.R.; Aly, S.A.; Halby, H.M.; Ahmed, S.H.; Zakaria, A.M.; El-Asheer, O.M. Epidemiological typing of multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*, which causes paediatric ventilator-associated pneumonia in Egypt. *J. Med. Microbiol.* **2017**, *66*, 628–634. [[CrossRef](#)]
21. Yan, Q.; Zhou, M.; Liu, W.-E.; Zou, M. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* induced ventilator-associated pneumonia in mechanically ventilated patients in China. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **2016**, *35*, 387–396. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Tabrizi, A.M.A.; Badmasti, F.; Shahcheraghi, F.; Azizi, O. Outbreak of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* harbouring blaVIM-2 among mechanically-ventilated drug-poisoning patients with high mortality rate in Iran. *J. Glob. Antimicrob. Resist.* **2018**, *15*, 93–98. [[CrossRef](#)]

-
23. Croxatto, A.; Prod'hom, G.; Greub, G. Applications of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical diagnostic microbiology. *FEMS Microbiol. Rev.* **2012**, *36*, 80–407. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
 24. Husickova, V.; Cekanova, L.; Chroma, M.; Htoutou-Sedlakova, M.; Hricova, K.; Kolář, M. Carriage of ESBL- and AmpC-positive Enterobacteriaceae in the gastrointestinal tract of community subjects and hospitalized patients in the Czech Republic. *Biomed. Pap.* **2012**, *156*, 348–353. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

EDITORIAL

Abstrakty XXVI. kongresu ČSARIM

Brno 2019

Editoři: Beneš J.¹, Kosinová M.², Mach D.³, Klincová M.², Skříšiovská T.², Říhová M.², Štourač P.²¹Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova a Fakultní nemocnice Plzeň²Klinika dětské anesteziologie a resuscitace, Fakultní nemocnice Brno³Oddělení anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny, Nemocnice Nové Město na Moravě*Anest intenziv Med. 2019;30:195–224*

Volná sdělení jsou často zatlačována do pozadí vyzvaných přednášek eminentních expertů oboru. Přiznejme si, že ne zcela oprávněně. Volná sdělení, připravená většinou mladými a jistě nadějnými autory, do spektra aktivit jakéhokoli kongresu bezesporu patří. Přinášejí nám zásadní informace o tom, jaký výzkum se děje „v podhoubí“, co nás možná v budoucnu čeká a v neposlední řadě také – koho budeme poslouchat na vyzvaných přednáškách za několik let. Posluchači volných sdělení mají možnost se také naprosto volně a skutečně „horizontálně“ pobavit o zajímavých kazuistikách nebo auditech svých pracovišť. To vše dává kongresu další rozměr – nikoli se jen pobavit, poslechnout si někoho, kdo je etablovaná autorita, ale také interagovat s jinými lékaři o tématech, která mohou „pálit“, a jsou řešena všude – od posledního malého oddělení až po největší kliniku.

Z tohoto a mnoha jiných důvodů jsme rádi, že volná sdělení jsou nedílnou součástí kongresů ČSARIM a že se jejich počet a kvalita každoročně zvyšují. V tomto roce počítadlo automatického číslování přihlášených abstrakt překročilo osmdesátku – skutečně „volných sdělení“, tedy nevyzvaných přednášek lékařské sekce bylo 45 a nelékařů 29. Vědecký výbor kongresu měl tedy díky vám a vašim kolegům skutečně obtížný úkol vybrat ta sdělení, která mají více co říci, která jsou lepší než jiná. Z lékařských abstrakt byla po zaslepení a vyloučení konfliktu zájmů vybrána šestice nejlepších – těch, kteří své práce měli šanci představit nikoli u e-posteru, ale přednáškou spojenou s hlasováním publika o nejlepší volné sdělení. Tento rok si toto ocenění odnesla

Tereza Bartošová a tým Kliniky anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze za práci *Chirurgické podmínky při použití rokuronia versus sukcinylcholinu u císařského řezu: randomizovaná studie*. Vedle toho měli posluchači bloku volných sdělení možnost vyslechnout výsledky pěti dalších excelentních přednášek, na kterých se podíleli autoři z celé republiky. V nelékařích byla oceněna práce Lenky Škardové a Pavly Trískové z týmu Kliniky anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny Lékařské fakulty v Plzni a Fakultní nemocnice Plzeň *Adenosin, využití při operačním řešení aneurysma v neurochirurgii z pohledu anesteziologické sestry*.

Co víc: rostoucí počet abstraktů jasně poukazuje na to, že náš obor se čím dál tím více emancipuje a vedle „poskytování servisu“ zde začíná růst to, co bychom mohli nazvat „akademickou anestezií“ – obor, který se nebojí vlastního samostatného výzkumu, rozšiřuje hranice poznání a na podkladě vlastních dat kultivuje své další počínání. V příštím roce, kdy se podařilo do Čech dostat Světový kongres anesteziologů (WFSA), budou mít autoři volných sdělení ještě těžší úkol. Kongres ČSARIM bude probíhat jako integrální součást WFSA, proto budou i volná sdělení probíhat nikoli v konkurenci českých (a slovenských) luhů a hájů, ale v konkurenci světové. K naší – české – verzi se vrátíme opět za rok.

Na závěr nám dovoluňte, abychom poděkovali všem autorům, kteří našli odvahu a přihlásili se letos o slovo formou aktivní – volné účasti. I díky nim byl náš kongres v Brně o něco pestřejší!

diskomfortu. Výsledky jsou vyjádřeny jako průměr ± směrodatná odchylka, medián (IQR), nebo jako procenta.

Výsledky: Ve skupině C byla zjištěna vyšší iniciální hloubka zavedení tracheální rourky (22 (21; 23) vs. 21 (20; 22) cm, $P = 0,010$) a vyšší výskyt známek endobronchiální intubace (15,6 % vs. 0,0 %, $P = 0,012$) ve srovnání se skupinou V. Mezi skupinami C a V nebyly pozorovány rozdíly ve výskytu pooperační bolesti krku (20,0 %, vs. 17,8 %, $P = 1,000$), chraptotu (31,1 % vs. 24,4 %, $P = 0,488$). Skupiny se nelišily výškou (172,7 ± 10,3 vs. 173,5 ± 8,7 cm, $P = 0,692$) ani zastoupením žen ve skupině (24/45 vs. 19/45, $P = 0,165$).

Závěr: Použití videolaryngoskopie bylo spojeno s menší iniciální hloubkou zavedení tracheální rourky a nižším výskytem nechtěné endobronchiální intubace.

Modifikuje předchozí antibiotická terapie epidemiologii ventilátorové pneumonie?

Papajk J.¹, Uvízl R.¹, Kolář M.²

¹Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny, Fakultní nemocnice Olomouc

²Ústav mikrobiologie, Lékařská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci a Fakultní nemocnice Olomouc

Úvod: Spektrum bakteriálních původců ventilátorové pneumonie (VAP), jejich citlivost k antibiotikům (ATB) a epidemiologie VAP může být ovlivněna předchozím podáním ATB.

Cíl a metody: Cílem této práce bylo hodnocení vlivu předchozí aplikace ATB na incidenci VAP, etiologická agens VAP vč. frekvence multirezistentních (MDR) bakteriálních patogenů a 28denní mortalita. Do retrospektivní observační studie byli v období 11/2017 - 10/2018 zařazeni dospělí nemocní splňující klinická kritéria VAP. Kontrolní skupinou byli pacienti vyžadující umělou plicní ventilaci (UPV) déle než 48 hodin, bez známek pneumonie. Obě ramena byla stratifikována podle ordinace či absence předchozí aplikace ATB. Stěry z orofaryngu a endotracheální aspiráty (ETA) byly zpracovány standardními mikrobiologickými postupy.

Výsledky: Bylo zařazeno 49 pacientů. Předchozí ATB terapii užívalo 32 pacientů (65 %). Obě ramena se v demografických údajích (věk, body mass index, APACHE II skóre) statisticky významně nelišila. Četnost předchozího podání ATB u pacientů s VAP byla signifikantně nižší (tab.). Kritéria VAP splnilo 23 pacientů. Nejčastěji izolovány byly enterobakterie včetně kmenů produkujících širokospektré beta-laktamázy (ESBL) a *Pseudomonas aeruginosa*. Statisticky významně vyšší byl výskyt MDR patogenů u pacientů s předchozí aplikací ATB

(77 % vs. 33 %, $p = 0,047$). 28denní mortalita byla nižší u pacientů s předchozí aplikací ATB (18 % vs. 33 %, $p = 0,640$).

Závěr: Předchozí aplikace ATB je spojena s nižší incidencí VAP a současně s vyšším výskytem MDR bakteriálních kmenů. Antibiotická léčba VAP modifikovaná znalostí předchozí aplikace antibiotik a výsledky mikrobiologických nálezů přispěly k nižší 28denní mortalitě pacientů.

p = 0,020		Skupina		Total
		ATB	Bez ATB	
Soubor	VAP	11	12	23
	Kontroly	21	5	26
Total		32	17	49

ATB - antibiotická terapie podaná v předchozích 90 dnech; bez ATB - absence antibiotické terapie v předchozích 90 dnech; kontroly - pacienti na umělé plicní ventilaci více než 48 h bez známek pneumonie; VAP - ventilator-associated pneumonia, ventilátorová pneumonie

Korelace mezi hemodynamickou účinností kardiopulmonální resuscitace a mírou komprese srdečních komor měřenou transtorakální echokardiografií - experimentální studie

Pakostová B.¹, Škulec R.¹⁻³, Pařízek T.^{1,4}, Astapenko D.^{2,3}, Černý V.^{1,5,6}

¹Klinika anesteziologie, perioperační a intenzivní medicíny, Univerzita J. E. Purkyně v Ústí nad Labem, Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem

²Zdravotnická záchraná služba Středočeského kraje, Kladno

³Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny, Univerzita Karlova, Lékařská fakulta v Hradci Králové, Fakultní nemocnice Hradec Králové

⁴Zdravotnická záchraná služba Ústeckého kraje, Ústí nad Labem

⁵Centrum pro výzkum a vývoj, Fakultní nemocnice Hradec Králové

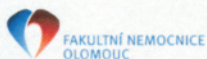
⁶Department of Anesthesia, Pain Management and Perioperative Medicine, Dalhousie University, Halifax, Nova Scotia

Úvod: Optimalizace kardiopulmonální resuscitace (KPR) pomocí monitorování hemodynamické účinnosti v reálném čase může zlepšit prognózu pacientů [1]. Není známo, jestli pro toto monitorování může být použito Point-of-Care transtorakální echokardiografické vyšetření (POC-TTE).

Cíl a metody: Provedli jsme experimentální observační studii, abychom zhodnotili, jestli míra komprese levé (LV) a pravé komory (RV) indukovaná nepřímou srdeční masáží během experimentální srdeční zástavy stanovená POC-TTE koreluje s ko-

Modifikuje předchozí antibiotická terapie epidemiologii ventilátorové pneumonie?

Papajk J.¹, Uvízl R.¹, Kolář M.²



¹Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny, Fakultní nemocnice Olomouc
²Ústav mikrobiologie, Lékařská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci a Fakultní nemocnice Olomouc



Lékařská
fakulta

Úvod

Podávání antibiotik je jedním z faktorů, ovlivňujících epidemiologii ventilátorové pneumonie (VAP, Ventilator-associated pneumonia) [1]. Práce hodnotí vliv předchozí aplikace antibiotik (ATB) na incidenci VAP, spektrum etiologických agens včetně frekvence multirezistentních (MDR) bakteriálních patogenů a 28denní mortalitu.

Materiál a metody

Studie byla schválena etickou komisí Fakultní nemocnice Olomouc (číslo jednací 173/2018). Klinickým pracovištěm bylo lůžkové oddělení Kliniky anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny Fakultní nemocnice Olomouc (JIRP KARIM).

Do retrospektivní, observační studie byli v období 11/2017 – 10/2018 zařazeni dospělí nemocní s respirační insuficiencí vyžadující napojení na umělou plicní ventilaci (UPV) déle než 48 hodin bez klinických a rtg známek pneumonie v okamžiku napojení. Nebyli zařazeni pacienti se známkami pneumonie při napojení na UPV, s neutropenií, orgánoví dárči a pacienti s následnou změnou kategorie léčby na zadrženu či paliativní péči. Kontrolní skupinou byli pacienti, vyžadující UPV déle než 48 hodin, bez známek pneumonie po dobu UPV.

Všem pacientům byl při přijetí a následně 2x týdně odebrán stěr z orofaryngu a endotracheální aspirát (ETA) dle standardu oddělení. Vzorky byly zpracovány běžnými mikrobiologickými postupy dle doporučení EUCAST [2]. Konfirmace VAP na základě klinických a laboratorních známek byla provedena dodatečným skiagramem hrudníku.

Sledované údaje:

- demografie (věk, pohlaví, APACHE II skóre, index body mass),
- aplikace ATB v předchozích 90 dnech,
- doba vzniku VAP,
- etiologické agens VAP, frekvence MDR kmenů
- mortalita (28denní),
- ostatní parametry (doba UPV, délka pobytu na JIRP, délka pobytu v nemocnici).

Výsledky

V referenčním období vyžadovalo UPV 354 pacientů. Do studie bylo zařazeno 49 pacientů (29 mužů, 20 žen). Předchozí ATB terapii užívalo 32 pacientů (65 %), bez ATB 17 pacientů (35%) (tab. 1). Nejčastěji podávanými antibiotiky v předcházejících 90 dnech byly aminopeniciliny s inhibitory bakteriálních beta-laktamáz (amoxicilin/kys. klavulanová, ampicilin/sulbaktam), amoxicilin, ampicilin, azitromycin, piperacilin/tazobaktam, cefazolin, cefuroxim, ciprofloxacín, kotrimoxazol, metronidazol, gentamicin a jejich případné kombinace.

Obě ramena se v demografických údajích (věk, APACHE II skóre, index body mass) statisticky významně nelišila. Pacienti s předchozí ATB terapií měli delší dobu hospitalizace (medián 13, interquartile range, IQR, 5-90) než pacienti bez předchozí aplikace ATB (medián 9, IQR 4-47), ($p = 0,059$). Doba UPV i délka pobytu na JIRP se významně nelišily (medián 6 vs. 7 dní, resp. 8 vs. 7 dní).

VAP

Kritéria VAP splnilo 23 pacientů, z nich 11 mělo předchozí ATB terapii, 12 nikoli.

Četnost předchozí aplikace ATB byla u pacientů s VAP nižší (34 %) než u kontrolní skupiny (66 %), ($p = 0,02$) (tab. 1). U pacientů s předchozí ATB léčbou došlo častěji k pozdnímu nástupu VAP (8 z celkových 11 pacientů), naopak u pacientů bez předcházející ATB léčby převažoval časný nástup VAP (8 z celkových 12 pacientů).

Vliv předchozí aplikace antibiotik na spektrum etiologických agens VAP ukazuje tab. 2. Nejčastěji byly izolovány enterobakterie včetně kmenů produkujících širokospektré beta-laktamázy (ESBL) a *Pseudomonas aeruginosa*. Byl prokázán statisticky významně vyšší podíl MDR patogenů u pacientů s předchozí aplikací ATB (77 % vs. 33 %, $p = 0,047$).

Předchozí ATB terapie u pacientů s VAP prodloužila jak dobu UPV, tak délku pobytu na JIRP a zejména délku pobytu v nemocnici (tab. 3). Byla však zaznamenána nižší 28denní mortalita (18 % vs. 33 %), ($p = 0,640$).

Diskuse

Předchozí aplikace antibiotik je spojena s nižší incidencí VAP. Možné vysvětlení lze nalézt v zastoupení antibakteriálních přípravků předchozí ATB léčby. Nejčastěji podávanými antibiotiky v předchozích 90 dnech byly aminopeniciliny s inhibitory beta-laktamáz (ampicilin/sulbaktam či amoxicilin/klavulanová), které jsou zároveň součástí obecných doporučení iniciální ATB terapie těžce probíhajících komunitních pneumonií u rizikových pacientů dle Fineho kritéria [3].

U pacientů s předchozí aplikací ATB byly častěji prokázány MDR bakteriální kmeny, avšak mortalita byla nižší. Vysvětlením může být to, že u těchto pacientů byly vzaty v úvahu předcházející mikrobiologické nálezy a antibiotická léčba. Následná ATB terapie již byla cíleněji zaměřena. U pacientů bez předchozí aplikace antibiotik a znalosti předchozího antibiogramu tak mohlo častěji dojít k selhání iniciální empirické ATB terapie [4]. Pokud mikrobiologické výsledky nejsou k dispozici, je vhodné postupovat podle obecných doporučení iniciální antibiotické terapie VAP, které však musí vycházet z výsledků lokální surveillance bakteriálních patogenů a jejich rezistence k ATB [5].

Nejvýraznějším limitem studie je nízký počet pacientů, nicméně jedná se o pilotní studii, jejímž úkolem bylo ověření metodiky pro následnou klinickou studii.

Závěr

Předchozí podávání ATB je spojeno s nižší incidencí VAP a současně s vyšším výskytem MDR bakteriálních kmenů. Antibiotická léčba VAP modifikovaná znalostí předchozí aplikace antibiotik a výsledky mikrobiologických nálezů přispívá k nižší 28denní mortalitě pacientů.

Literatura

1. Kallil AC, Metersky ML, Klompas M, et al. Management of adults with hospital-acquired and ventilator-associated pneumonia: 2016 clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society. *Clin Infect Dis* 2016; 63: e61
2. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Antimicrobial susceptibility testing, revised: 2010 December 01. Available from: <http://www.eucast.org>
3. Kolek V, Kolář M, Kašák V, Beneš J, Dindoš J. Diagnostika a léčba komunitní pneumonie dospělých. (Klinické doporučení) vydané ČPFS a Společnost infekčního lékařství, updated 2016. Available from: www.pneumologie.cz
4. Herkel T, Uvízl R, Doubravská L, et al. Epidemiology of hospital-acquired pneumonia: results of a Central European multicenter, prospective, observational study compared with data from the European region. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2016; 160: 448-455
5. Kolář M. Respirační infekce a jejich léčba. Maxdorf Jessenius, 2016

Tab. 1 Rozdělení pacientů souboru

p = 0,020	Skupina		Total	
	ATB	Bez ATB		
Soubor	VAP	11	12	23
	Kontroly	21	5	26
Total	32	17	49	

*VAP – ventilator-associated pneumonia, ventilátorová pneumonie
Kontroly – pacienti na umělé plicní ventilaci více než 48 hod. bez známek pneumonie
ATB – ATB terapie podaná v předchozích 90 dnech
Bez ATB – absence ATB terapie v předchozích 90 dnech

Tab. 2 Spektrum etiologických agens VAP v závislosti na předchozí ATB terapii

Etiologické agens	ATB	Bez ATB	Celkem
<i>Burkholderia multivorans</i>	1	1	2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	1	2
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	0	1
<i>Escherichia coli</i>	0	1	1
<i>Escherichia coli ESBL+</i>	2	1	3
<i>Klebsiella pneumoniae ESBL+</i>	4	1	5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	2	2
<i>Morganella morganii</i>	1	0	1
<i>Serratia marcescens</i>	1	1	2
<i>Enterococcus faecalis</i>	1	0	1
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	1	1
<i>Klebsiella aerogenes AmpC+</i>	1	0	1
<i>Enterobacter cloacae</i>	0	2	2
<i>Haemophilus influenzae</i>	0	1	1
Celkem	13	12	25
Počet MDR bakterií	10	4	14

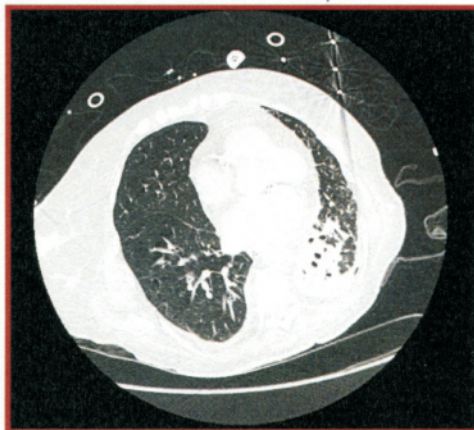
*ESBL, AmpC - širokospektré beta-laktamázy
ATB – ATB terapie podaná v předchozích 90 dnech
Bez ATB – absence ATB terapie v předchozích 90 dnech

Tab. 3 Sledované parametry u pacientů s VAP

	Skupina VAP										p
	ATB					Bez ATB					
	Median	Min	Max	Mean	SD	Median	Min	Max	Mean	SD	
Doba UPV	9	5	44	13	11,4	7	4	31	9,8	7,7	0,322
Délka pobytu na JIRP	9	7	44	14,4	10,8	8,5	4	31	10,6	7,3	0,165
Délka pobytu v nemocnici	13	7	44	17,6	11,5	9,5	4	36	13,1	10,1	0,164

*VAP – ventilátorová pneumonie, UPV – umělá plicní ventilace, JIRP – jednotka intenzivní a resuscitační péče
ATB – ATB terapie podaná v předchozích 90 dnech
Bez ATB – absence ATB terapie v předchozích 90 dnech

Obr. 1 CT sken hrudníku – ventilátorová pneumonie



Práce byla podpořena grantem IGA_LF_2019_21. Prezentovaná data jsou součástí výsledků studie „Epidemiologie a prevence VAP u pacientů na KARIM s ohledem na předchozí ATB terapii“ a byla již publikována kolektivem autorů v časopise *Klinická mikrobiologie a infekční lékařství* 2019;25:7-11



Produkce BPP s.r.o.

pořádá ve spolupráci s

Ústavem mikrobiologie LF UP Olomouc

XXVII. moravsko-slovenské mikrobiologické dny

7. - 9. října 2021

DK Elektra
Luhačovice

odborný program
**SBORNÍK
ABSTRAKT**

hlavní partner



The Diagnostic Specialist

partneři



Epidemiologie ventilátorových pneumonií s ohledem na předchozí antibiotickou terapii

Papajk Jan¹⁾

Uvízil R.¹⁾, Kolář M.²⁾

1) *Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny, Fakultní nemocnice Olomouc*

2) *Ústav mikrobiologie, Lékařská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci a Fakultní nemocnice Olomouc*

Úvod

Předchozí aplikace antibiotické (ATB) terapie se může uplatnit ve změně spektra etiologických agens ventilátorové pneumonie (VAP), jejich citlivosti k antibiotikům či samotné epidemiologii VAP. Nejvyšší riziko vzniku VAP je v prvních pěti dnech umělé plicní ventilace (UPV), a poté se postupně snižuje. Samotná VAP významně zhoršuje prognózu pacienta. Nepříznivě ovlivňuje délku UPV, celkovou dobu hospitalizace a mortalitu.

Cíl a metody

Cílem práce bylo zhodnocení vlivu předchozí perhospitalizační aplikace antibiotik na incidenci VAP, 30denní mortalitu a spektrum etiologických agens včetně výskytu multirezistentních (MDR) patogenů. Do klinicko-mikrobiologické, observační, retrospektivní studie byli v období 1/2018 až 5/2020 zařazeni dospělí pacienti splňující kritéria VAP. Kontrolní skupinu tvořili nemocní s respiračním selháním vyžadující UPV déle než 48hodin bez známek pneumonie. Obě skupiny byly porovnávány dle aplikace antibiotik za hospitalizace v předchozích 90 dnech. Všem pacientům byly odebrány stěry z orofaryngu a endotracheální aspiráty (ETA) a následně zpracovány běžnými mikrobiologickými postupy.

Výsledky

Do studie bylo zařazeno 104 pacientů (66 mužů, 38 žen). Předchozí ATB užívalo 39 pacientů (38 %). Při porovnání demografických údajů (věk, index body mass, APACHE II skóre) se skupiny s předchozí aplikací ATB vs. bez předchozí aplikace ATB nelišily. Kritéria VAP splnilo 47 pacientů. Četnost VAP byla u pacientů s předchozí aplikací ATB nižší (36 %) oproti skupině bez předchozí aplikace ATB (51 %), ($p = 0,159$). Nejčastěji izolovanými patogeny byly enterobakterie včetně kmenů produkujících širokospektré beta-laktamázy (ESBL, AmpC) a kmeny *Pseudomonas aeruginosa*. Podíl MDR patogenů se v závislosti na předchozí ATB terapii statisticky nelišil (MDR po předchozí ATB 71 % vs. MDR bez předchozí aplikace ATB 64 %, $p = 0,742$). 30denní mortalita VAP s předchozí aplikací ATB byla nižší (21 % s předchozí ATB vs. 24 % bez předchozí ATB), bez statistické významnosti ($p = 1,000$).





Závěr

Předchozí podávání ATB je spojeno s nižší incidencí VAP a současně mírně vyšším výskytem MDR bakteriálních kmenů. 30denní mortalita pacientů VAP s předchozí aplikací ATB byla mírně nižší. Antibiotická léčba VAP modifikovaná znalostí předchozí aplikace antibiotik a výsledky mikrobiologických nálezů příznivě ovlivňuje 30denní mortalitu pacientů.

Podpořeno projektem CZ—DRO FNOL, 00098892.

Article

Clostridioides difficile and Vancomycin-Resistant Enterococci in COVID-19 Patients with Severe Pneumonia

Kateřina Bogdanová¹, Lenka Doubravská^{2,*} , Iva Vágnerová¹, Kristýna Hricová³ , Vendula Pudová³,
Magdaléna Röderová³, Jan Papajk² , Radovan Uvřzl², Kateřina Langová⁴ and Milan Kolář¹ 

¹ Department of Microbiology, University Hospital Olomouc, I. P. Pavlova 6, 779 00 Olomouc, Czech Republic; katerina.bogdanova@fnol.cz (K.B.); iva.vagnerova@fnol.cz (I.V.); milan.kolar@fnol.cz (M.K.)

² Department of Anesthesiology, Resuscitation and Intensive Care, University Hospital Olomouc, I. P. Pavlova 6, 779 00 Olomouc, Czech Republic; jan.papajk@fnol.cz (J.P.); radovan.uvřzl@fnol.cz (R.U.)

³ Department of Microbiology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University Olomouc, Hnevotinska 3, 779 00 Olomouc, Czech Republic; kristyna.hricova@upol.cz (K.H.); vendula.pudova@upol.cz (V.P.); magdalena.roderova@upol.cz (M.R.)

⁴ Department of Medical Biophysics, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University Olomouc, Hnevotinska 3, 779 00 Olomouc, Czech Republic; katerina.langova@upol.cz

* Correspondence: lenka.doubravska@fnol.cz; Tel.: +420-588-445-979

Abstract: Broad-spectrum antibiotics administered to patients with severe COVID-19 pneumonia pose a risk of infection caused by *Clostridioides difficile*. This risk is reduced mainly by strict hygiene measures and early de-escalation of antibiotic therapy. Recently, oral vancomycin prophylaxis (OVP) has also been discussed. This retrospective study aimed to assess the prevalence of *C. difficile* in critical COVID-19 patients staying in an intensive care unit of a tertiary hospital department of anesthesiology, resuscitation, and intensive care from November 2020 to May 2021 and the rates of vancomycin-resistant enterococci (VRE) after the introduction of OVP and to compare the data with those from controls in the pre-pandemic period (November 2018 to May 2019). During the COVID-19 pandemic, there was a significant increase in toxigenic *C. difficile* rates to 12.4% of patients, as compared with 1.6% in controls. The peak rates were noted in February 2021 (25% of patients), immediately followed by initiation of OVP, changes to hygiene precautions, and more rapid de-escalation of antibiotic therapy. Subsequently, toxigenic *C. difficile* detection rates started to fall. There was a nonsignificant increase in VRE detected in non-gastrointestinal tract samples to 8.9% in the COVID-19 group, as compared to 5.3% in the control group. Molecular analysis confirmed mainly clonal spread of VRE.

Keywords: COVID-19; *Clostridioides difficile*; oral vancomycin prophylaxis; vancomycin-resistant enterococci; molecular typing of VRE; ICU



Citation: Bogdanová, K.; Doubravská, L.; Vágnerová, I.; Hricová, K.; Pudová, V.; Röderová, M.; Papajk, J.; Uvřzl, R.; Langová, K.; Kolář, M. *Clostridioides difficile* and Vancomycin-Resistant Enterococci in COVID-19 Patients with Severe Pneumonia. *Life* **2021**, *11*, 1127. <https://doi.org/10.3390/life11111127>

Academic Editor: Daniele Focosi

Received: 12 September 2021

Accepted: 20 October 2021

Published: 22 October 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

For coronavirus disease 2019 (COVID-19) patients with critical pneumonia requiring high-flow oxygen therapy (HFOT), mechanical ventilation, or even extracorporeal membrane oxygenation (ECMO), broad-spectrum antibiotic therapy is recommended by the World Health Organization (WHO) [1]. However, the role of antibiotic therapy in these most severe patients remains unclear. Studies published so far suggest that the incidence of secondary bacterial infections is lower than originally expected based on previous respiratory disease epidemics (severe acute respiratory syndrome, Middle East respiratory syndrome, H1N1 influenza) [2,3]. Questions persist as to whether antibacterial therapy should be immediately initiated in COVID-19 inpatients requiring invasive oxygen therapy, mechanical ventilation, or ECMO.

Administration of broad-spectrum antibiotics, often necessary in critical COVID-19 patients suspected of bacterial superinfection, poses a high risk for *Clostridioides difficile* infection (CDI), with some antibiotic classes being more strongly associated with

CDI [4]. Several reports have already been published concerning CDI occurrence during the COVID-19 pandemic with contradictory findings: a decrease or stable number of cases [5–9] as opposed to a minor [10] or significant [11] increase in the incidence of CDI. Some authors also admitted or warned against the possibility of underdiagnosing CDI during the COVID-19 pandemic, as the gastrointestinal symptoms and diarrhea typical for CDI could have been attributed to COVID-19 [8,11].

CDI is growing in incidence in Europe and USA and contributes to morbidity and mortality [12,13] despite the efforts to reduce this healthcare-associated infection, mostly by effective antimicrobial stewardship and strategies that are necessary to prevent the spread of bacterial spores. However, the main CDI risk factor, administration of antibiotics, remains necessary for patient treatment. Another possible strategy for preventing CDI, antibiotic prophylaxis such as the application of oral vancomycin, has been evaluated in several studies with mixed results [14]. The use of oral vancomycin prophylaxis may also be seen as controversial, as it can potentially lead to the selection of vancomycin-resistant enterococci (VRE) and gut dysmicrobia that by itself increases the risk of *C. difficile* and other multidrug-resistant (MDR) bacteria colonization even weeks after vancomycin administration [15].

The present study aimed to analyze detection of *C. difficile* and VRE in hospital patients with severe COVID-19 requiring HFOT or mechanical ventilation.

2. Materials and Methods

2.1. Study Design, Population and Setting

The study was designed as observational and retrospective and performed in the intensive care unit (ICU) of the Department of Anesthesiology, Resuscitation and Intensive Care (KARIM), University Hospital Olomouc and Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University Olomouc. The study group comprised patients hospitalized over a 7-month period during the COVID-19 pandemic. Individuals staying in KARIM ICU over the same seven months before the pandemic were used as controls. Ethics committee approval was not needed as all patients underwent standard diagnostic and therapeutic procedures.

The University Hospital Olomouc is a 1200-bed tertiary medical center with a 10-bed general KARIM ICU providing the highest level of intensive care. The unit consists of one suite with four private beds and six in an open space. During the COVID-19 pandemic, the capacity of the department was extended to as many as 4 to 5 adjacent suites with up to 35 beds (350% of the normal capacity), mostly (approximately 70%) in the open-space arrangement, connected by doors or hallways with shared staff changing and equipment rooms.

2.2. Inclusion Criteria

The study group comprised patients admitted to KARIM ICU between 1 November 2020 and 31 May 2021 for critical COVID-19 with acute respiratory failure and need for HFOT or mechanical ventilation, receiving initial antibiotic treatment based on combination cefotaxime or amoxicillin/clavulanic acid with clarithromycin. The control group included patients with acute respiratory failure and need for HFOT or mechanical ventilation admitted to KARIM ICU between 1 November 2018 and 31 May 2019, that is, before the COVID-19 pandemic. Patient data were obtained from electronic medical records.

2.3. Detection of *C. difficile* (Positive Cases)

Stool samples, or deep rectal swabs in the case of patients with gastrointestinal tract (GIT) paralysis, were tested for *C. difficile* antigen (glutamate dehydrogenase) and toxins A/B (Rapid-VIDITEST, Vidia, Vestec, Czech Republic). Positive cases were patients with positive *C. difficile* antigen and/or toxin. Due to the increasing frequency of positive cases, most ICU patients were tested for the presence of *C. difficile* after 1 March 2021.

2.4. Isolation of VRE

Clinical samples (tracheal aspirate, urine, blood) were collected from all patients staying in KARIM ICU to isolate potential pathogens, including VRE. All samples were inoculated onto culture agar plates (TRIOS, Praha, Czech Republic) and processed by standard procedures. Starting from April 2021, patients tested for *C. difficile* were parallelly tested for VRE colonization. Stool and rectal swab samples were collected and inoculated onto selective media for the isolation of VRE (Brilliance VRE Agar, Oxoid, Brno, Czech Republic). Species identification of isolates was carried out by MALDI-TOF MS (Biotyper Microflex, Bruker Daltonics, Billerica, MA, USA). From each patient, only one isolate identified as the first one from one type of clinical sample was included. Resistance to vancomycin was detected by the microdilution method according to the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 reference strain was used for quality control. Resistance to vancomycin was confirmed by detecting the relevant resistance genes as described by Hricova et al. [16]. Isolated strains were stored in cryotubes at -80°C (Cryobank B, ITEST, Hradec Kralove, Czech Republic).

2.5. Molecular Typing of VRE

Molecular typing of all isolated VRE was performed using pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) as described by Hricová et al. [16]. The coefficient of similarity (CS) was calculated using the Dice algorithm. Individual clusters were analyzed with the unweighted pair group method with arithmetic mean algorithm and the results were interpreted using criteria defined by Tenover et al. [17]. Optimization and band matching tolerance was set at 1.5%. Restriction profiles reaching 95% similarity were considered identical.

2.6. Vancomycin Consumption Assessment

For the two study periods, the data on vancomycin use were extracted from hospital electronic records. Data are expressed as defined daily doses (DDD_{ATB}) according to the criteria of the WHO Collaboration Centre for Drug Statistics Methodology—the 2020 ATC/DDD system [18] (WHO).

2.7. Statistical Analysis

Qualitative data were compared using the χ^2 test. The Mann–Whitney U-test was used to compare ages in the groups. Statistical analyses were performed with IBM SPSS Statistics for Windows, version 23.0 (Armonk, NY, USA: IBM Corp.).

3. Results

3.1. Patient Data Analysis—The Study and Control Groups

During the COVID-19 pandemic, the number of patients staying in KARIM ICU was nearly double (196.8%) the average. There were no statistically significant differences in age, gender, primary and secondary admissions, or mortality between the COVID-19 group (2020–2021) and pre-pandemic controls (2018–2019). The characteristics of both groups including statistical data are shown in Table 1.

Table 1. Characteristics and statistical analysis of the pre-pandemic and COVID-19 groups.

Variable	Control Group 2018–2019 (n = 189)	COVID-19 Group 2020–2021 (n = 372)	p-Value
Gender—males (%)	136 (72)	241 (64.2)	0.087
Age (median, range, IQR)	65, 18–97, 20	67, 22–90, 16	0.753
Admission up to 48 h after admission to hospital (%)	82 (43.4)	186 (50)	0.138
Transfer from another hospital or department	107 (56.6)	186 (50)	0.138
No. of patients on mechanical ventilation only	180 (95.2)	78 (21.0)	<0.0001
No. of patients on HFOT only	3 (1.6)	112 (30.1)	<0.0001
No. of patient on both mechanical ventilation and HFOT	6 (3.2)	182 (48.9)	<0.0001
No. of patients on ECMO	0 (0.0)	24 (6.5)	0.004
ICU mortality	74 (39.2)	158 (42.5)	0.450

HFOT: high-flow oxygen therapy; ECMO: extracorporeal membrane oxygenation; IQR: interquartile range.

3.2. *C. difficile* Detection

The results of *C. difficile* detection and statistical analysis are shown in Table 2 and Figure 1, respectively. Over the pre-pandemic period (1 November 2018 to 31 May 2019), CDI was clinically suspected and tested in 20 out of 189 hospitalized patients (10.6%). In five cases (2.6%), the presence of *C. difficile* was confirmed and toxin production was found in three patients (1.6%). There was a significant increase in the number of *C. difficile* detection tests performed ($p < 0.0001$) during the pandemic (1 November 2020 to 31 May 2021)—192 out of 372 patients (51.6%) were tested for the presence of *C. difficile*, with 102 cases (27.4%) being positive. Toxin production was detected in 46 patients (12.4%). Both positive cases of *C. difficile* detection and toxin detection were significantly higher compared to the control group ($p < 0.0001$). Taking into consideration all risk factors and the possibility of higher exogenous spread of bacterial spores, the frequency of *C. difficile* examination increased considerably. The proportion of patients tested rose to 62.5% in February and more than 80% in the following months (March to May 2021). A time analysis (Table 2) revealed that the detection rates of toxigenic *C. difficile* started to elevate in January (14.4% of patients) and peaked in February 2021 (25% of patients).

Table 2. *C. difficile* antigen and toxin detection and number of tests performed before and during the COVID-19 pandemic.

Month	Control Group 2018–2019				COVID-19 Group 2020–2021			
	No. of Admitted Patients	No. (%) of CD-Tested Patients	No. (%) of CD-Positive Cases among Admitted Patients	No. (%) of CD Toxin-Positive Cases among Admitted Patients	No. of Admitted Patients	No. (%) of CD-Tested Patients	No. (%) of CD-Positive Cases among Admitted Patients	No. (%) of CD Toxin-Positive Cases among Admitted Patients
November	23	2 (8.7)	0	0	55	8 (14.5)	3 (5.5)	2 (3.6)
December	28	2 (7.14)	0	0	56	7 (12.5)	5 (8.9)	3 (5.4)
January	30	4 (13.3)	1 (3.3)	1 (3.3)	64	20 (31.2)	15 (23.4)	9 (14.1)
February	35	5 (14.3)	1 (2.9)	1 (2.9)	40	25 (62.5)	16 (40)	10 (25)
March	28	3 (10.7)	1 (3.6)	0	84	71 (84.5)	40 (47.6)	13 (15.5)
April	22	2 (9.1)	2 (9.1)	1 (4.5)	52	44 (84.6)	16 (30.8)	7 (13.5)
May	23	2 (8.7)	0	0	21	17 (81)	7 (33.3)	2 (9.5)
Total	189	20 (10.6)	5 (2.6)	3 (1.6)	372	192 (51.6)	102 (27.4)	46 (12.4)

CD: Clostridioides difficile.

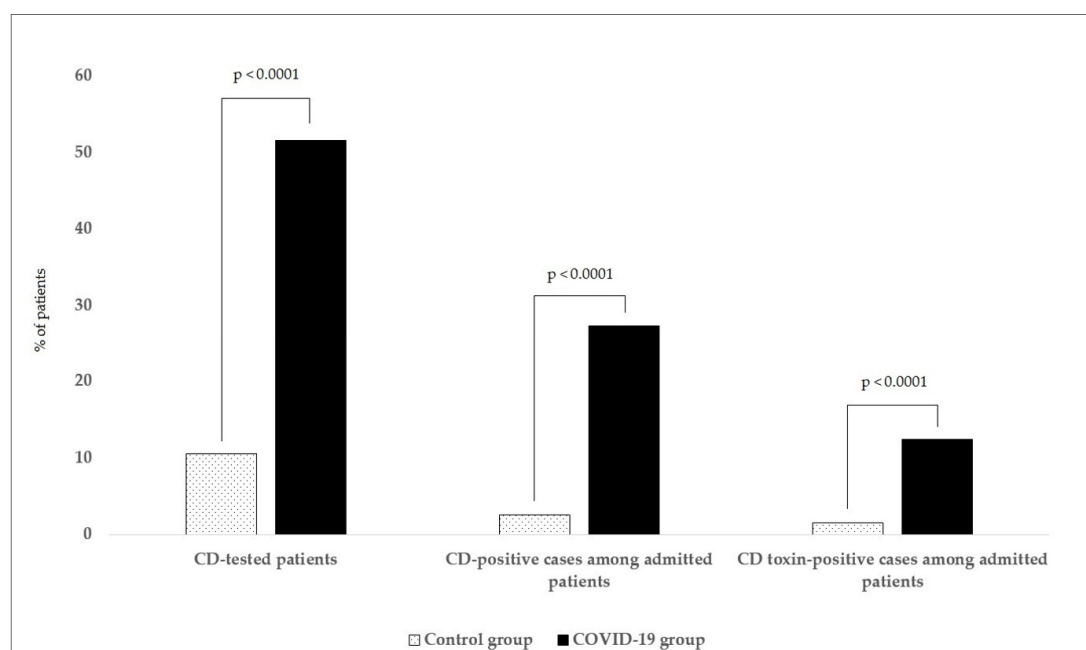


Figure 1. *C. difficile* statistical analysis. We compared the numbers of performed *C. difficile* detection tests and the numbers *C. difficile* positive cases (antigen-positive) and *C. difficile*-toxin positive cases among hospitalized patients. We detected a significant increase ($p < 0.0005$) in COVID-19 compared to the control group in all three aspects (number of performed tests, number of CD positive cases, and number of positive CD-toxins). CD: Clostridioides difficile.

As a result, apart from therapeutic doses of oral vancomycin 125 mg four times daily (also occasionally combined with metronidazole 500 mg three times daily intravenously) given to patients positive for *C. difficile* toxin or suspected of CDI, prophylactic doses of oral vancomycin 125 mg once daily were administered to the other hospitalized patients. Moreover, organizational precautions were implemented in the department and initial broad-spectrum antibiotics were more rapidly de-escalated as suggested by newly developed guidelines on antibiotic therapy of COVID-19 patients. Subsequently, the *C. difficile* rates dropped to 30.8% in April and 33.3% in May 2021. Similarly, the percentages of toxigenic strains decreased to 13.5% and 9.5%, respectively.

3.3. VRE Detection

Table 3 documents the development over time of the frequency of VRE detected in various clinical samples obtained from critical COVID-19 patients compared to the pre-pandemic period, without VRE isolated from the GIT. Figure 3 shows statistical analysis. If VRE were detected in various clinical samples collected from a single patient, that patient was counted as one only.

Table 3. VRE detected in various clinical samples, excluding GIT samples, collected from the pre-pandemic and COVID-19 groups. The absolute numbers do not include repeatedly detected VRE (VRE detected in multiple clinical samples from a single patient were counted as one only).

Month	Control Group 2018–2019					COVID-19 Group 2020–2021				
	No. of Admitted Patients	No. of VRE in ETA	No. of VRE in Blood Cultures	No. of VRE in Urine	Absolute no. (%) of VRE-Positive Patients	No. of Admitted Patients	No. of VRE in ETA	No. of VRE in Blood Cultures	No. of VRE in Urine	Absolute no. (%) of VRE-Positive Patients
November	23	2	0	1	3 (13.1)	55	2	0	1	3 (5.5)
December	28	0	0	0	0	56	1	0	0	1 (1.8)
January	30	1	1	0	2 (6.7)	64	0	0	1	1 (1.6)
February	35	0	0	0	0	40	0	0	1	1 (2.5)
March	28	3	1	0	4 (14.3)	84	5	0	5	10 (11.9)
April	22	0	0	0	0	52	6	1	4	11 (21.2)
May	23	0	1	0	1 (4.3)	21	4	0	2	6 (28.6)
Total	189	6	2	1	10 (5.3)	372	18	1	14	33 (8.9)

VRE: vancomycin-resistant enterococci; ETA: endotracheal aspirate.

In the pre-pandemic period, a total of 10 VRE were isolated from endotracheal aspirate, urine, and positive blood cultures (Table 3). During the COVID-19 pandemic, 33 VRE were detected in non-GIT samples and 25 in samples obtained from the GIT (Table 3 and Figure 2). From November 2020 to March 2021, the positive VRE detection was mainly from endotracheal aspirate and urine. In March 2021, the rate of VRE detection was considerably higher than in the previous months. Therefore, a decision was made to start active VRE screening using patient stool and rectal swab samples during April and May 2021. The increase in VRE detection in April and May was mainly attributable to positive samples from the GIT. However, even after excluding the GIT-VRE positivity, the proportion of VRE-positive patients was 21.2% and 28.6% in April and May, respectively. Only 7 out of 21 patients admitted in May were not infected or colonized with VRE.

Because VRE screening was not performed in the control group, only non-GIT VRE-positive cases were compared to the COVID-19 group and statistically evaluated (Figure 3). There was a slight, nonsignificant increase in VRE incidence between the control and COVID-19 groups ($p = 0.132$).

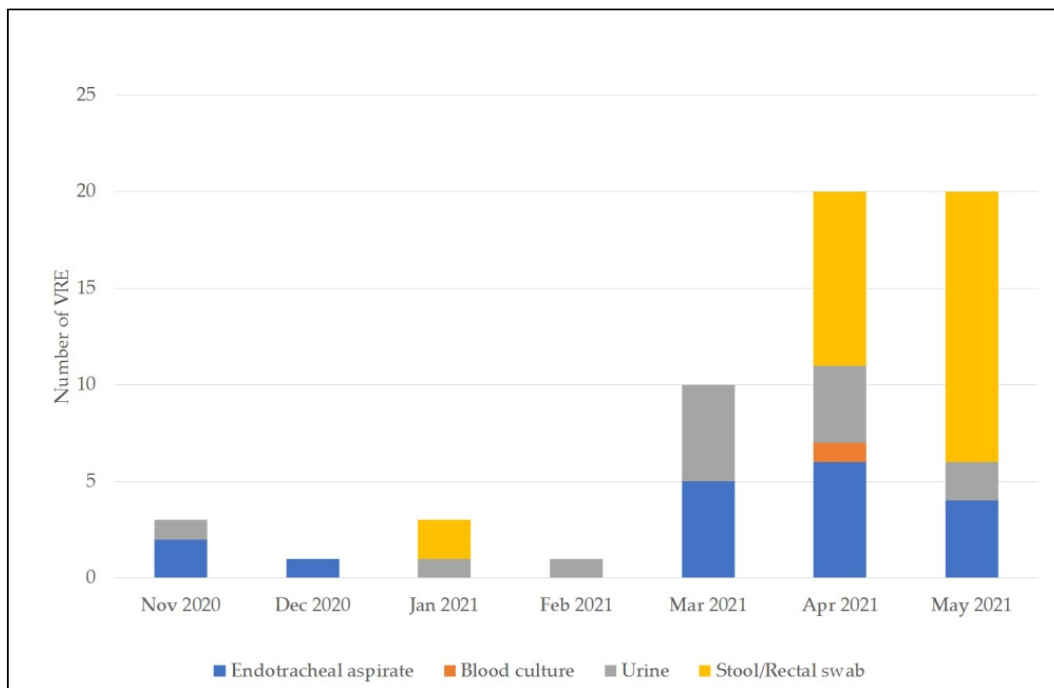


Figure 2. VRE cases between 1 November 2020 and 31 May 2021. For April and May, when the VRE screening was performed, the total number of detected VRE is shown, including VRE detected in both GIT and non-GIT samples collected from the same patient.

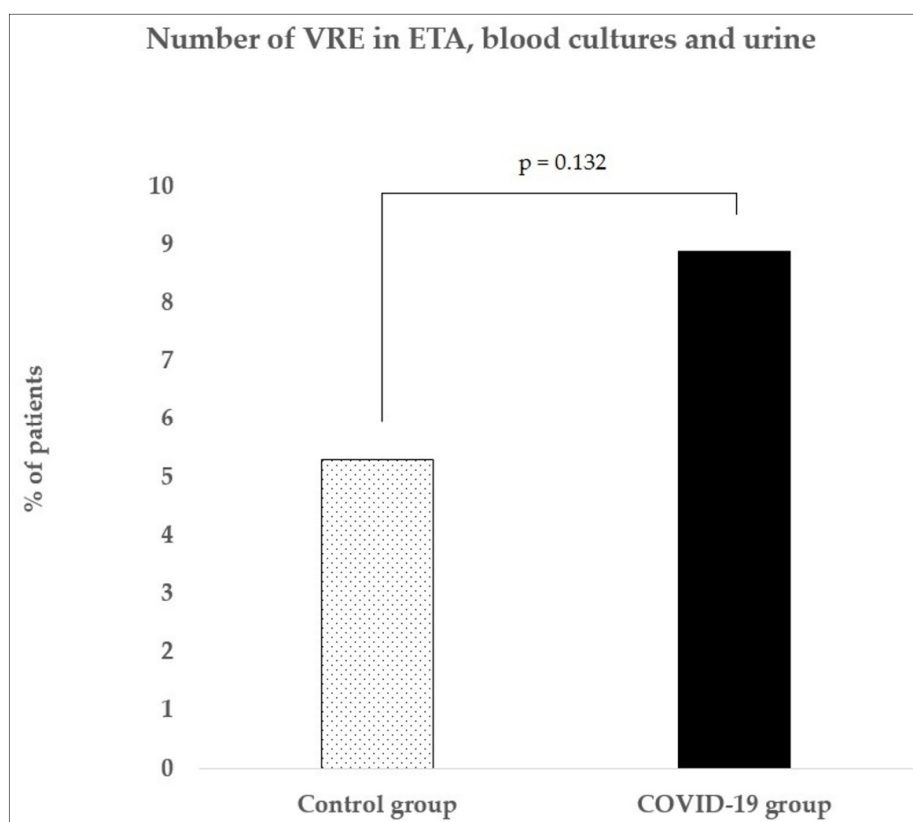


Figure 3. Vancomycin-resistant enterococci (VRE) statistical analysis. We performed the statistical analysis of VRE detected in non-GIT: endotracheal aspirate, blood cultures, and urine. According to our findings, there was no statistically significant increase in the COVID-19 group compared to the control group ($p = 0.132$). VRE: vancomycin-resistant enterococci; ETA: endotracheal aspirate.

3.4. Molecular Typing of VRE

VRE for molecular typing were collected from January to May 2021. In all VRE-positive patients hospitalized during the COVID-19 pandemic, a strain of *Enterococcus faecium* was isolated; the *vanA* gene was found in all isolates while the *vanB* gene was not detected. Similarity or identity was assessed in 50 isolates of VRE; three isolates could not be cultured again. Comparison of whole-genome DNA restriction profiles revealed identical or very similar restriction profiles, suggestive of clonal spread. In five patients, identical VRE isolated were obtained from various samples; therefore, only one isolate from each patient was included. In one case, a VRE strain isolated from a rectal swab was different from that detected in sputum so both were included. Only six (12%) out of 50 isolates had unique restriction profiles; the remaining 44 were divided into five groups based on comparison of their macrorestriction profiles. PFGE revealed various sizes of the clonal groups, with 12, 12, 11, 6, and 3 isolates. The results of strain comparison by PFGE are shown in Figure 4. Twelve, six, and three identical isolates showed a CS of 100%, whereas 12 and 11 isolates showed a CS exceeding 95% and were thus considered identical as well. The timeline of the prevalence of VRE clones throughout the study duration is shown in Figure 5.

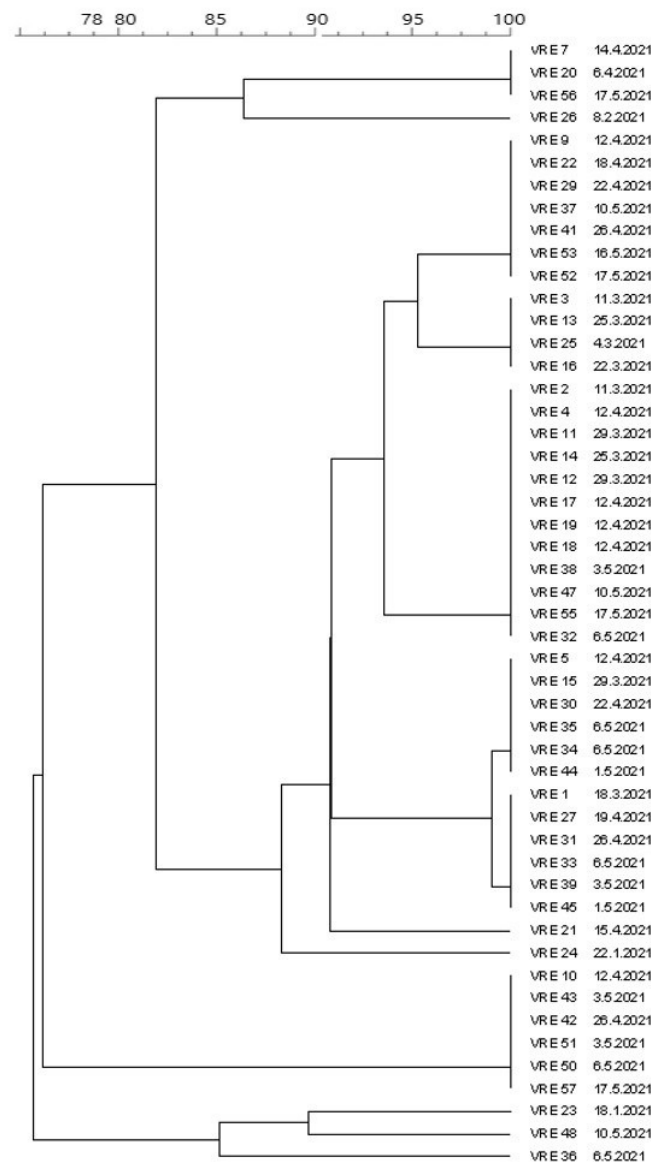


Figure 4. Dendrogram of 50 vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* isolates.

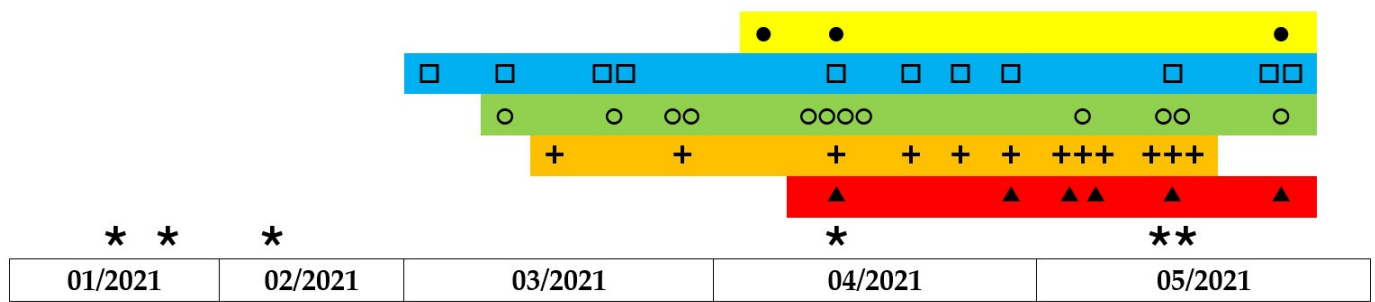


Figure 5. Timeline of the prevalence of VRE clones throughout the study duration. The grey rectangles represent 5 clonal groups of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* based on their similarity. Individual isolates are represented by the symbols ●□○+▲ within clusters. Six strains with unique profiles are marked with *.

3.5. Vancomycin Consumption

Vancomycin consumption was shown to increase from 103 DDD_{ATB} in the pre-pandemic period to 169 DDD_{ATB} during the COVID-19 pandemic. However, the percentage of vancomycin among all antibacterials administered remained roughly the same (2.9% and 2.3%, respectively).

4. Discussion

Intensive care patients have several risk factors for the development of CDI, namely antibiotic therapy, intestinal dysmotility, immobility, older age, stress ulcer prophylaxis with proton pump inhibitors resulting in low stomach acid, and comorbidities. Their level of mucosal immunity may also play a role [19]. According to Zuo et al. [20] SARS-CoV-2 infection results in gut microbiome disruption with an increase in opportunistic pathogens and depletion of beneficial commensals persisting even after clearance of virus.

The present study aimed to analyze the presence of *C. difficile* and VRE in patients with severe COVID-19. Compared with pre-pandemic controls, there was a significant increase in detection of *C. difficile* that started in January 2021 and peaked in February (40% of patients) and March 2021 (47.6% of patients). Toxigenic strains of *C. difficile* were detected in 25% and 13.3% of patients in February and March 2021, respectively. In the following months, *C. difficile* rates slowly decreased; at the end of the study in May 2021, the toxin was confirmed in 9.5% of patients. With the increasing prevalence of *C. difficile*, numerous measures were implemented in the department, namely faster de-escalation of antibiotic therapy, hygiene measures, and primary prophylaxis with oral vancomycin at a dose of 125 mg once daily.

Infections caused by *C. difficile* during the COVID-19 pandemic have been investigated by many authors [5–11,21]. Some, for example, Allegretti et al. [9] and Hazel et al. [21], reported lower rates of CDI, attributing them to the implementation of strict hygiene precautions as well as to the isolation of patients with CDI, which was impossible in our department during the COVID-19 pandemic. A study by Lewandowski et al. [11] is one of few to describe a significant increase in CDI, stressing that the disease may be underdiagnosed. In the aforementioned studies, CDI tests were performed due to repeated diarrhea. However, gastrointestinal symptoms are also present in COVID-19 and CDI may not always have been suspected.

While most symptomatic COVID-19 patients present with fever, cough, shortness of breath, and/or loss of the sensation of taste and smell, according to Up-To-Date [22], up to one-third of patients present with gastrointestinal complaints, including critical patients with acute respiratory distress syndrome (ARDS) requiring intensive care. Published systematic reviews suggest that diarrhea is seen in 11.5% to 12.5% of COVID-19 patients [23,24]. Another systematic review found high variability of diarrhea prevalence in COVID-19 patients, ranging from 2% to 50% [25].

Although the most prominent and frequent clinical sign of CDI is diarrhea, the symptoms may range from mild gastrointestinal discomfort to severe pseudomembranous colitis and to toxic megacolon with paralytic ileus [26]. Gastrointestinal motility disorders which include gastroparesis, ileus, and acute colonic pseudo-obstruction are common in critically ill ICU patients [27], another possible reason for CDI underdiagnosis among these patients. The issue of underdiagnosing *C. difficile* was highlighted by Davies et al. [28]. As in the present study, GIT paralysis was found in the majority of patients, the diagnosis of CDI could not rely on the presence of diarrhea as the main symptom of the disease; on the contrary, paralysis had to be considered as a potential symptom and these patients had to be examined. This was also one of the reasons for an increase in the number of tests performed (over 80% in the last three months of the study). From patients with GIT paralysis, samples were collected by deep rectal swabs. We must admit that more frequent detection of *C. difficile* resulted from the greater numbers of tests.

A known risk factor for the development of CDI is the use of broad-spectrum antibiotics. In COVID-19 patients, it is recommended to administer antibiotics when bacterial coinfection is suspected and then de-escalate antibiotic therapy as early as possible based on microbiology tests [29,30]. This approach stems from concerns about delayed antibiotic therapy with potentially serious consequences including the development of sepsis and death [31–33].

Opinions on antibiotic therapy in patients with critical COVID-19, that is, with ARDS or sepsis or septic shock, have gradually developed. However, according to recent data, only 3% to 7% of patients with COVID-19 staying in general wards have community-acquired bacterial coinfections [34–39]. In ICUs, the proportion is reported to be higher, ranging from 14% to 28% [40,41]. It seems that while community-acquired coinfections are not so common in critical COVID-19 patients, the risk for bacterial nosocomial superinfection is increased due to many factors (prolonged hospital stay, mechanical ventilation, inserted invasive devices, but also immunosuppression with frequent lymphopenia).

Despite these results, many studies have documented the administration of antibiotics to more than 50% of hospitalized patients. The lowest proportion (43%) was reported by Aggarwal et al. [42]. Most studies, however, state that antibiotics are administered to 60% to 90% of patients [43–48] or even all patients [49–51]. Two meta-analyses [35,36] found that on average, 72% of patients received antibiotics. The duration of antibiotic therapy is rarely specified in studies [49,52,53]. The above studies mention the use of cephalosporins, fluoroquinolones including moxifloxacin and macrolides, mostly azithromycin. Other antibiotics were less frequently administered.

Recommendations from both international and national societies are rather general. For example, the Surviving Sepsis Campaign statement entitled “Guidelines on the management of critically ill adults with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)” [54] recommends that in mechanically ventilated patients with COVID-19 and respiratory failure, empiric antimicrobials/antibacterial agents should only be administered if bacterial coinfection is suspected. However, no specific antibiotic regimen is stated there. According to German National Guidelines, empiric broad-spectrum antibiotic therapy should be started as soon as possible in patients suspected to have bacterial superinfection [55]. Some national societies suggest that the approach should be identical to that in common community-acquired pneumonia [29,30].

In the present study, the group of critical COVID-19 patients comprised 50% of primary admissions (hospital stay of less than 48 h). Here, a small proportion of bacterial coinfections could surely be expected. In these clinically very complicated cases, however, intensive care clinicians have a very hard time initially recognizing whether bacterial superinfection is present, without knowing microbiology test results. In that situation, the recommendations are consistent. Antibiotic therapy is initiated when bacterial pneumonia is clinically suspected and discontinued if microbiology tests yield negative results. Therefore, nearly all our patients were initially treated with antibiotics. This could have been one of the factors contributing to the increased detection of *C. difficile*. In this group

of patients, the incidence of common bacterial pathogens was low but atypical pathogens were more frequent. The other half of the patients, those transferred to our department after staying in another department or hospital for more than 48 h, were already at risk for healthcare-associated pneumonia and thus received appropriate care. Changes in the spectrum of pathogens causing healthcare-associated pneumonia and their resistance to antibiotics in critical COVID-19 patients are addressed in another original article.

Recommendations for initial therapy of COVID-19 patients including critically ill individuals in ICUs were gradually updated as more evidence was available. This resulted in, among others, shorter duration of antibiotic therapy and earlier de-escalation which may have contributed to the later decrease in *C. difficile* rates.

Another important factor contributing to increased detection of *C. difficile* was the overall situation in the KARIM ICU and hospital alike. During the COVID-19 pandemic, bed transformation was performed at all levels of care. The capacity of ICU beds was increased, partly by transforming other wards and units and partly by creating new ones. Day-to-day adjustments to the construction and equipment of the units could not be made so it was impossible to provide enough private beds necessary for the isolation of patients with *C. difficile*. The staff of the extended ICU consisted of professionals working in ICUs, an emergency department, or general wards, as well as medical students and temporary external workers. During the pandemic, the number of KARIM ICU beds rose 3.5-fold compared to the usual capacity. At that time, the situation was unique in that all patients were admitted for coronavirus positivity and the overwhelming majority (97.5%) were those with critical COVID-19 manifestations as defined by the WHO [1], that is, severe course of the disease with clinical manifestations of ARDS, sepsis, or septic shock.

The higher numbers of both patients and staff members meant increased movement of people throughout the department. The staff comprised workers from other departments not completely acquainted with their new workplace. Working in protective equipment was considerably more difficult, potentially leading to unnoticed contamination of coveralls or other aids. Under such circumstances, sterility is difficult to maintain during all invasive procedures, infusion preparation, and other activities. Moreover, one of the key therapeutic procedures provided to patients with critical COVID-19 pneumonia is regular prone and supine positioning. This maneuver is performed twice daily and requires approximately six health workers directly touching the patient and devices.

Once the rise of *C. difficile* positive cases was noticed, an inspection was performed by workers from the hospital hygiene department and the regional public health authority, followed by implementation of the following measures. Efforts were made to reserve one unit for this group of patients due to a lack of cubicles. All premises were treated with sporicidal agents. The staff were re-trained in hygiene issues, focusing on the prevention of *C. difficile* transmission. The workers wore an additional piece of protective clothing, a disposable plastic apron. The frequency of surface cleaning was increased, and disinfectants were replaced with agents active against *C. difficile* spores. After contact with each patient, the staff wiped their coveralls with soapy water and dried them thoroughly, as stated in general recommendations [56].

Given the significant increase in toxigenic strains of *C. difficile* in February (25%), primary oral vancomycin prophylaxis (OVP) was implemented in the department, with a dose of 125 mg once daily being administered to all patients not receiving oral vancomycin at a therapeutic dose of 125 mg four times daily or other anti-*C. difficile* antibiotics. The administration of OVP has been investigated in numerous studies. It was reported as effective by Johnson et al. [57] and Ganetsky et al. [58]. In those two retrospective studies, no CDI was detected in patients receiving OVP. Similarly, a meta-analysis by Babar et al. [59] documented a reduction in CDI in high-risk patients following OVP administration. In their meta-analysis, Tariq et al. [14] suggested a positive effect of vancomycin to prevent CDI recurrence (secondary prophylaxis). However, there was no benefit for primary prevention. Another issue is the dosage of OVP; the most common dose was 125 mg twice daily, but doses of 125–250 mg four times daily or 125 mg once a day were also

administered [57,58,60–65]. Our decision was to administer 125 mg once daily, assuming that the dose would ensure sufficient vancomycin concentration in stools, with minimum damage to the intestinal flora and subsequent reduction of the resistance of the GIT to colonization with multidrug-resistant bacteria including *C. difficile* [66–71].

We were aware of the risk of selection pressure affecting the prevalence of VRE. Prior to the initiation of OVP, we detected six VRE strains in endotracheal aspirate and urine samples, a rate similar to that in the pre-pandemic period (5 VRE strains). In March 2021, when OVP administration was started, slightly more VRE (10 strains) were detected in extra-intestinal samples, which prompted active screening for VRE in samples collected from the GIT. In April and May, 17 and 23 VRE were detected in non-GIT and GIT samples, respectively. When compared to the control group, the VRE numbers in non-GIT materials were slightly, but not significantly, elevated in the COVID-19 group. Similarly, three of the above studies on OVP monitored newly detected VRE but none reported their significant increase [57,58,64].

It may be stated that the present study found an increase in VanA phenotype VRE of *Enterococcus faecium*, particularly in GIT samples. When calculating isolates obtained from the GIT only, as many as 66.7% of patients were identified as VRE carriers in May 2021. However, this was mainly due to the clonal spread of VRE. PFGE revealed several groups of isolates with identical profiles or very high coefficients of similarity (>95%), suggesting very likely clonal spread and transmission of VRE among patients. As the difference in restriction profiles between the tree largest clusters was very small (CS > 91%), isolates in these groups may be assumed to be closely related, similar to a study by Tenover et al. [17]. Genetically related VRE isolates in COVID-19 patients in the ICU were also reported by Kampmeier et al. [72]. Their study describes the genetic relationship of VRE isolates collected from patients and several strains isolated from the environment, stressing possible surface contamination. The important role played by the environment in VRE transmission in hospitals was noted by Correa-Martinez [73] and others.

There are several limitations to our work. The character of the study is retrospective. There was considerable heterogeneity between the control and COVID-19 groups of patients. As already mentioned, the situation in KARIM ICU was constantly evolving during the COVID-19 pandemic, including changes in antibiotic therapy, hygiene strategies, and frequency of *C. difficile* and VRE detection tests performed, so the conditions of the study were highly variable. We were also unable to perform any kind of VRE follow-up of discharged patients. This could have led to an underestimation of VRE colonization. Moreover, only the number of VRE detected in non-GIT samples in the COVID-19 group could be weighed against the control group because of the absence of screening performed at that time. In the case of *C. difficile*, we did not isolate the bacterial strains for molecular typing to further investigate clonal similarities, which could have possibly allowed us to assess whether the source of *C. difficile* infection/colonization was mainly exogenous or endogenous.

5. Conclusions

During the COVID-19 pandemic, there was a significant increase in *C. difficile* in KARIM ICU. This was likely due to not only the initial administration of broad-spectrum antibiotic agents but also, unfortunately, the limited possibility to adhere to strict hygiene measures in that situation. The highest rates of toxigenic *C. difficile*, noticed in February 2021, started to decline in March. This may be attributed to several factors: earlier diagnosis of *C. difficile* (screening), adjustments and adherence to hygiene and epidemiological measures, earlier de-escalation of broad-spectrum antibiotic therapy, and prophylactic administration of vancomycin. The exact contribution of individual measures to *C. difficile* reduction cannot be defined accurately. During the administration of oral vancomycin prophylaxis, higher VRE rates were noted, mainly due to the clonal spread of these strains. It may be assumed that vancomycin prophylaxis caused the selection of VRE already present in the GIT and

their subsequent clonal spread. However, it cannot be definitely concluded that vancomycin prophylaxis alone results in an increased prevalence of vancomycin-resistant enterococci.

Author Contributions: Conceptualization: K.B., M.K. and L.D.; methodology: M.K., K.B., L.D. and V.P.; validation: M.K., K.B., L.D. and V.P.; formal analysis: K.L.; investigation: K.B., I.V., L.D., J.P., R.U., K.H., V.P., M.R. and K.L.; resources: K.B., L.D., J.P. and V.P.; data curation: L.D., K.B., I.V., V.P. and K.L.; writing—original draft preparation: M.K., K.B., L.D. and V.P.; writing—review and editing: M.K., K.B., L.D., V.P., J.P., R.U. and I.V.; visualization: K.B., L.D. and V.P.; supervision: M.K.; project administration: M.K., K.B. and L.D.; funding acquisition: M.K. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the Czech Health Research Council (project no. NV18-05-00340), project IGA_LF_2021_022 and by MH CZ—DRO (FNOL, 00098892).

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: All data presented in this study are included in this article.

Acknowledgments: The authors thank to Pavel Kurfürst for English editing.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript, or in the decision to publish the results.

References

1. World Health Organization. Clinical Management of COVID-19: Interim Guidance, 27 May 2020. Available online: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/332196> (accessed on 29 August 2021).
2. Martín-Loeches, I.; Sanchez-Corral, A.; Diaz, E.; Granada, R.; Zaragoza, R.; Villavicencio, C.; Albaya, A.; Cerdá, E.; Catalán, R.; Luque, P.; et al. Community-Acquired Respiratory Coinfection in Critically Ill Patients with Pandemic 2009 Influenza A(H1N1). *Virus. Chest.* **2011**, *139*, 555–562. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Manohar, P.; Loh, B.; Nachimuthu, R.; Hua, X.; Welburn, S.; Leptihn, S. Secondary Bacterial Infections in Patients with Viral Pneumonia. *Front. Med.* **2020**, *7*, 420. [[CrossRef](#)]
4. Brown, K.; Langford, B.; Schwartz, K.; Diong, C.; Garber, G.; Daneman, N. Antibiotic Prescribing Choices and Their Comparative C. Difficile Infection Risks: A Longitudinal Case-Cohort Study. *Clin. Infect. Dis.* **2021**, *72*, 836–844. [[CrossRef](#)]
5. Ponce-Alonso, M.; Sáez de la Fuente, J.; Rincón-Carlavilla, A.; Moreno-Nunez, P.; Martínez-García, L.; Escudero-Sánchez, R.; Pintor, R.; García-Fernández, S.; Cobo, J. Impact of the coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic on nosocomial *Clostridioides difficile* infection. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.* **2021**, *42*, 406–410. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Bentivegna, E.; Alessio, G.; Spuntarelli, V.; Luciani, M.; Santino, I.; Simmaco, M.; Martelletti, P. Impact of COVID-19 prevention measures on risk of health care-associated *Clostridium difficile* infection. *Am. J. Infect. Control* **2021**, *49*, 640–642. [[CrossRef](#)]
7. Ochoa-Hein, E.; Rajme-López, S.; Rodríguez-Aldama, J.; Huertas-Jiménez, M.; Chávez-Ríos, A.; de Paz-García, R.; Haro-Osnaya, A.; González-Colín, K.; González-González, R.; González-Lara, M.; et al. Substantial reduction of healthcare facility-onset *Clostridioides difficile* infection (HO-CDI) rates after conversion of a hospital for exclusive treatment of COVID-19 patients. *Am. J. Infect. Control* **2021**, *49*, 966–968. [[CrossRef](#)]
8. Luo, Y.; Grinspan, L.; Fu, Y.; Adams-Sommer, V.; Willey, D.; Patel, G.; Grinspan, A. Hospital-onset *Clostridioides difficile* infections during the COVID-19 pandemic. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* **2020**, *1–2*. [[CrossRef](#)]
9. Allegretti, J.; Nije, C.; McClure, E.; Redd, W.; Wong, D.; Zhou, J.; Bazarbashi, A.; McCarty, T.; Hathorn, K.; Shen, L.; et al. Prevalence and impact of *Clostridioides difficile* infection among hospitalized patients with coronavirus disease 2019. *JGH Open* **2021**, *5*, 622–625. [[CrossRef](#)]
10. Sandhu, A.; Tillotson, G.; Polistico, J.; Salimnia, H.; Cranis, M.; Moshos, J.; Cullen, L.; Jabbo, L.; Diebel, L.; Chopra, T. *Clostridioides difficile* in COVID-19 Patients, Detroit, Michigan, USA, March–April 2020. *Emerg. Infect. Dis.* **2020**, *26*, 2272–2274. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
11. Lewandowski, K.; Rosołowski, M.; Kaniewska, M.; Kucha, P.; Meler, A.; Wierzba, W.; Rydzewska, G. *Clostridioides difficile* infection in coronavirus disease 2019: An underestimated problem? *Pol. Arch. Intern. Med.* **2020**, *131*, 121–127. [[CrossRef](#)]
12. European Centre for Disease Prevention and Control. Healthcare-associated infections: *Clostridium difficile*. In *ECDC Annual Epidemiological Report for 2016*; ECDC: Stockholm, Sweden, 2018. Available online: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/healthcare-associated-infections-clostridium-difficile-infections-annual> (accessed on 29 August 2021).
13. Lessa, F.; Mu, Y.; Bamberg, W.; Beldavs, Z.; Dumyati, G.; Dunn, J.; Farley, M.; Holzbauer, S.; Meek, J.; Phipps, E.; et al. Burden of *Clostridium difficile* Infection in the United States. *N. Engl. J. Med.* **2015**, *372*, 825–834. [[CrossRef](#)]

14. Tariq, R.; Laguio-Vila, M.; Tahir, M.; Orenstein, R.; Pardi, D.; Khanna, S. Efficacy of oral vancomycin prophylaxis for prevention of *Clostridioides difficile* infection: A systematic review and meta-analysis. *Ther. Adv. Gastroenterol.* **2021**, *23*, 1756284821994046. [CrossRef]
15. Isaac, S.; Scher, J.; Djukovic, A.; Jiménez, N.; Littman, D.; Abramson, S.; Pamer, E.; Ubeda, C. Short- and long-term effects of oral van-comycin on the human intestinal microbiota. *J. Antimicrob. Chemother.* **2016**, *72*, 128–136. [CrossRef] [PubMed]
16. Hricová, K.; Štosová, T.; Kučová, P.; Fišerová, K.; Bardoň, J.; Kolář, M. Analysis of Vancomycin-Resistant Enterococci in Hemato-Oncological Patients. *Antibiotics* **2020**, *9*, 785. [CrossRef]
17. Tenover, F.; Arbeit, R.; Goering, R.; Mickelsen, P.; Murray, B.; Persing, D.; Swaminathan, B. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: Criteria for bacterial strain typing. *J. Clin. Microbiol.* **1995**, *33*, 2233–2239. [CrossRef]
18. WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology. *ATC Classification Index with DDDs, 2021*; WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology: Oslo, Norway, 2020.
19. Yacyshyn, B. Pathophysiology of *Clostridium difficile*-Associated Diarrhea. *Gastroenterol. Hepatol.* **2016**, *12*, 558–560. Available online: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27917094> (accessed on 29 August 2021).
20. Zuo, T.; Zhang, F.; Lui, G.C.; Yeoh, Y.K.; Li, A.Y.; Zhan, H.; Wan, Y.; Chung, A.C.; Cheung, C.P.; Chen, N.; et al. Alterations in Gut Microbiota of Patients With COVID-19 During Time of Hospitalization. *Gastroenterology* **2020**, *159*, 944–955.e8. [CrossRef] [PubMed]
21. Hazel, K.; Skally, M.; Glynn, E.; Foley, M.; Burns, K.; O’Toole, A.; Boland, K.; Fitzpatrick, F. The other ‘C’: Hospital-acquired *Clostridioides difficile* infection during the coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* **2021**, *1–2*, 1–2. [CrossRef]
22. Kaafarani, H.M. COVID-19: Gastrointestinal Symptoms and Complications. Available online: <https://www.uptodate.com/contents/covid-19-gastrointestinal-symptoms-and-complications/print> (accessed on 4 August 2021).
23. Cheung, K.; Hung, I.; Chan, P.; Lung, K.; Tso, E.; Liu, R.; Ng, Y.; Chu, M.; Chung, T.; Tam, A.; et al. Gastrointestinal Manifestations of SARS-CoV-2 Infection and Virus Load in Fecal Samples from a Hong Kong Cohort: Systematic Review and Meta-analysis. *Gastroenterology* **2020**, *159*, 81–95. [CrossRef]
24. Silva, F.; Brito, B.; Santos, M.; Marques, H.; Silva Júnior, R.; Carvalho, L.; Vieira, E.; Oliveira, M.; Melo, F. COVID-19 gastrointestinal manifestations: A systematic review. *Rev. Da Soc. Bras. De Med. Trop.* **2020**, *53*. [CrossRef]
25. D’Amico, F.; Baumgart, D.; Danese, S.; Peyrin-Biroulet, L. Diarrhea during COVID-19 Infection: Pathogenesis, Epidemiology, Prevention, and Management. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* **2020**, *18*, 1663–1672. [CrossRef] [PubMed]
26. Norén, T. *Clostridium Difficile and the Disease it Causes*. *Clostridium Difficile*; Humana Press: Totowa, NJ, USA, 2010; Volume 646, pp. 9–35. [CrossRef]
27. Govil, D.; Pal, D. Gastrointestinal Motility Disorders in Critically Ill. *Indian J. Crit. Care Med.* **2020**, *24*, S179–S182. [CrossRef] [PubMed]
28. Davies, K.; Longshaw, C.; Davis, G.; Bouza, E.; Barbut, F.; Barna, Z.; Delmée, M.; Fitzpatrick, F.; Ivanova, K.; Kuijper, E.; et al. Underdiagnosis of *Clostridium difficile* across Europe: The European, multicentre, prospective, biannual, point-prevalence study of *Clostridium difficile* infection in hospitalised patients with diarrhoea (EUCLID). *Lancet Infect. Dis.* **2014**, *14*, 1208–1219. [CrossRef]
29. Sieswerda, E.; de Boer, M.; Bonten, M.; Boersma, W.; Jonkers, R.; Aleva, R.; Kullberg, B.; Schouten, J.; van de Garde, E.; Verheij, T.; et al. Recommendations for antibacterial therapy in adults with COVID-19—An evidence based guideline. *Clin. Microbiol. Infect.* **2021**, *27*, 61–66. [CrossRef]
30. National Institutes of Health (NIH) COVID-19 Treatment Guidelines Panel. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Treatment Guidelines. Available online: <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/> (accessed on 1 August 2021).
31. Kalil, A.; Metersky, M.; Klompas, M.; Muscedere, J.; Sweeney, D.; Palmer, L.; Napolitano, L.; O’Grady, N.; Bartlett, J.; Carratalà, J.; et al. Management of Adults with Hospital-acquired and Ventilator-associated Pneumonia: 2016 Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society. *Clin. Infect. Dis.* **2016**, *63*, e61–e111. [CrossRef] [PubMed]
32. Uvizl, R.; Adamus, M.; Cerny, V.; Dusek, L.; Jarkovsky, J.; Sramek, V.; Matejovic, M.; Stourac, P.; Kula, R.; Malaska, J.; et al. Patient survival, predictive factors and disease course of severe sepsis in Czech intensive care units: A multicentre, retrospective, observational study. *Biomed. Pap.* **2016**, *160*, 287–297. [CrossRef] [PubMed]
33. Herkel, T.; Uvizl, R.; Doubravská, L.; Adamus, M.; Gabrhelík, T.; Sedlakova, M.H.; Kolář, M.; Hanulík, V.; Pudová, V.; Langová, K.; et al. Epidemiology of hospital-acquired pneumonia: Results of a Central European multicenter, prospective, observational study compared with data from the European region. *Biomed. Pap. J. Fac. Med. Dent. Palacky Univ. Olomouc* **2016**, *160*, 448–455. Available online: <http://www.medvik.cz/link/bmc16028823> (accessed on 29 August 2021). [CrossRef]
34. Rawson, T.; Moore, L.; Zhu, N.; Ranganathan, N.; Skolimowska, K.; Gilchrist, M.; Satta, G.; Cooke, G.; Holmes, A. Bacterial and Fungal Coinfection in Individuals With Coronavirus: A Rapid Review To Support COVID-19 Antimicrobial Prescribing. *Clin. Infect. Dis.* **2020**, *71*, 2459–2468. [CrossRef]
35. Langford, B.; So, M.; Raybardhan, S.; Leung, V.; Westwood, D.; MacFadden, D.; Soucy, J.; Daneman, N. Bacterial co-infection and secondary infection in patients with COVID-19: A living rapid review and meta-analysis: A living rapid review and meta-analysis. *Clin. Microbiol. Infect.* **2020**, *26*, 1622–1629. [CrossRef]

36. Lansbury, L.; Lim, B.; Baskaran, V.; Lim, W. Co-infections in people with COVID-19: A systematic review and meta-analysis: A systematic review and meta-analysis. *J. Infect.* **2020**, *81*, 266–275. [[CrossRef](#)]
37. Hughes, S.; Troise, O.; Donaldson, H.; Mughal, N.; Moore, L. Bacterial and fungal coinfection among hospitalized patients with COVID-19: A retrospective cohort study in a UK secondary-care setting. *Clin. Microbiol. Infect.* **2020**, *26*, 1395–1399. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
38. Garcia-Vidal, C.; Sanjuan, G.; Moreno-García, E.; Puerta-Alcalde, P.; Garcia-Pouton, N.; Chumbita, M.; Fernandez-Pittol, M.; Pitart, C.; Inciarte, A.; Bodro, M.; et al. Incidence of co-infections and superinfections in hospitalised patients with COVID-19: A retrospective cohort study. *Clin. Microbiol. Infect.* **2021**, *27*, 83–88. [[CrossRef](#)]
39. Vaughn, V.; Gandhi, T.; Petty, L.; Patel, P.; Prescott, H.; Malani, A.; Ratz, D.; McLaughlin, E.; Chopra, V.; Flanders, S. Empiric Antibacterial Therapy and Community-onset Bacterial Coinfection in Patients Hospitalized with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Multi-hospital Cohort Study. *Clin. Infect. Dis.* **2021**, *72*, e533–e541. [[CrossRef](#)]
40. Youngs, J.; Wyncoll, D.; Hopkins, P.; Arnold, A.; Ball, J.; Bicanic, T. Improving antibiotic stewardship in COVID-19: Bacterial co-infection is less common than with influenza. *J. Infect.* **2020**, *81*, e55–e57. [[CrossRef](#)]
41. Clancy, C.; Nguyen, M. Coronavirus Disease 2019, Superinfections, and Antimicrobial Development: What Can We Expect? *Clin. Infect. Dis.* **2020**, *71*, 2736–2743. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
42. Aggarwal, S.; Garcia-Telles, N.; Aggarwal, G.; Lavie, C.; Lippi, G.; Henry, B. Clinical features, laboratory characteristics, and outcomes of patients hospitalized with coronavirus disease 2019 (COVID-19): Early report from the United States. *Diagnosis* **2020**, *7*, 91–96. [[CrossRef](#)]
43. Guan, W.; Ni, Z.; Hu, Y.; Liang, W.; Ou, C.; He, J.; Liu, L.; Shan, H.; Lei, C.; Hui, D.; et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N. Engl. J. Med.* **2020**, *382*, 1708–1720. [[CrossRef](#)]
44. Pan, L.; Mu, M.; Yang, P.; Sun, Y.; Wang, R.; Yan, J.; Li, P.; Hu, B.; Wang, J.; Hu, C.; et al. Clinical Characteristics of COVID-19 Patients with Digestive Symptoms in Hubei, China: A Descriptive, Cross-Sectional, Multicenter Study. *Am. J. Gastroenterol.* **2020**, *115*, 766–773. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
45. Cao, B.; Wang, Y.; Wen, D.; Liu, W.; Wang, J.; Fan, G.; Ruan, L.; Song, B.; Cai, Y.; Wei, M.; et al. A Trial of Lopinavir–Ritonavir in Adults Hospitalized with Severe COVID-19. *N. Engl. J. Med.* **2020**, *382*, 1787–1799. [[CrossRef](#)]
46. Chen, T.; Wu, D.; Chen, H.; Yan, W.; Yang, D.; Chen, G.; Ma, K.; Xu, D.; Yu, H.; Wang, H.; et al. Clinical characteristics of 113 deceased patients with coronavirus disease 2019: Retro-spective study. *BMJ* **2020**, *368*, m1091. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
47. Zhou, F.; Yu, T.; Du, R.; Fan, G.; Liu, Y.; Liu, Z.; Xiang, J.; Wang, Y.; Song, B.; Gu, X.; et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: A retrospective cohort study. *Lancet* **2020**, *395*, 1054–1062. [[CrossRef](#)]
48. Wang, Z.; Yang, B.; Li, Q.; Wen, L.; Zhang, R. Clinical Features of 69 Cases with Coronavirus Disease 2019 in Wuhan, China. *Clin. Infect. Dis.* **2020**, *71*, 769–777. [[CrossRef](#)]
49. Borba, M.; Val, F.; Sampaio, V.; Alexandre, M.; Melo, G.; Brito, M.; Mourão, M.; Brito-Sousa, J.; Baía-da-Silva, D.; Guerra, M.; et al. Effect of High vs Low Doses of Chloroquine Diphosphate as Adjunctive Therapy for Patients Hospitalized with Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Infection. *Jama Netw. Open* **2020**, *3*, e208857. [[CrossRef](#)]
50. Huang, C.; Wang, Y.; Li, X.; Ren, L.; Zhao, J.; Hu, Y.; Zhang, L.; Fan, G.; Xu, J.; Gu, X.; et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* **2020**, *395*, 497–506. [[CrossRef](#)]
51. Zhao, X.; Xu, X.; Yin, H.; Hu, Q.; Xiong, T.; Tang, Y.; Yang, A.; Yu, B.; Huang, Z. Clinical characteristics of patients with 2019 coronavirus disease in a non-Wuhan area of Hubei Province, China: A retrospective study. *BMC Infect. Dis.* **2020**, *20*, 311. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
52. Chen, N.; Zhou, M.; Dong, X.; Qu, J.; Gong, F.; Han, Y.; Qiu, Y.; Wang, J.; Liu, Y.; Wei, Y.; et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: A descriptive study. *Lancet* **2020**, *395*, 507–513. [[CrossRef](#)]
53. Pedersen, H.P.; Hildebrandt, T.; Poulsen, A.; Uslu, B.; Knudsen, H.H.; Roed, J.; Poulsen, T.D.; Nielsen, H.B. Initial experiences from patients with COVID-19 on ventilatory support in Denmark. *Dan. Med. J.* **2020**, *67*, A04200232. [[PubMed](#)]
54. Alhazzani, W.; Møller, M.; Arabi, Y.; Loeb, M.; Gong, M.; Fan, E.; Oczkowski, S.; Levy, M.; Derde, L.; Dzierba, A.; et al. Surviving Sepsis Campaign: Guidelines on the management of critically ill adults with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): Guidelines on the management of critically ill adults with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *Intensive Care Med.* **2020**, *46*, 854–887. [[CrossRef](#)]
55. Kluge, S.; Janssens, U.; Welte, T.; Weber-Carstens, S.; Marx, G.; Karagiannidis, C. German recommendations for critically ill patients with COVID 19. *Med. Klin.—Intensivmed. Und Notfallmedizin.* **2020**, *115*, 111–114. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
56. Strategies to Prevent *Clostridioides difficile* Infection in Acute Care Facilities. Available online: <https://www.cdc.gov/hai/prevent/cdi-prevention-strategies.html> (accessed on 29 August 2021).
57. Johnson, S.; Brown, S.; Priest, D. Effectiveness of Oral Vancomycin for Prevention of Healthcare Facility–Onset *Clostridioides difficile* Infection in Targeted Patients during Systemic Antibiotic Exposure. *Clin. Infect. Dis.* **2020**, *71*, 1133–1139. [[CrossRef](#)]
58. Ganetsky, A.; Han, J.; Hughes, M.; Babushok, D.; Frey, N.; Gill, S.; Hexner, E.; Loren, A.; Luger, S.; Mangan, J.; et al. Oral Vancomycin Prophylaxis Is Highly Effective in Preventing *Clostridium difficile* Infection in Allogeneic Hematopoietic Cell Transplant Recipients. *Clin. Infect. Dis.* **2019**, *68*, 2003–2009. [[CrossRef](#)]

59. Babar, S.; El Kurdi, B.; El Iskandarani, M.; Haddad, I.; Imam, Z.; Alomari, M.; Myers, J.; Moorman, J. Oral vancomycin prophylaxis for the prevention of *Clostridium difficile* infection: A systematic review and meta-analysis. *Infect Control Hosp Epidemiol.* **2020**, *41*, 1302–1309. [[CrossRef](#)]
60. Van Hise, N.; Bryant, A.; Hennessey, E.; Crannage, A.; Khoury, J.; Manian, F. Efficacy of Oral Vancomycin in Preventing Recurrent *Clostridium difficile* Infection in Patients Treated With Systemic Antimicrobial Agents: Table 1. *Clin. Infect. Dis.* **2016**, *63*, 651–653. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
61. Carignan, A.; Poulin, S.; Martin, P.; Labbé, A.; Valiquette, L.; Al-Bachari, H.; Montpetit, L.; Pépin, J. Efficacy of Secondary Prophylaxis with Vancomycin for Preventing Recurrent *Clostridium difficile* Infections. *Am. J. Gastroenterol.* **2016**, *111*, 1834–1840. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
62. Splinter, L.; Kerstenetzky, L.; Jorgenson, M.; Descourouez, J.; Levenson, G.; Saddler, C.; Smith, J.; Safdar, N.; Redfield, R. Vancomycin Prophylaxis for Prevention of *Clostridium difficile* Infection Recurrence in Renal Transplant Patients. *Ann. Pharmacotherapy* **2017**, *52*, 113–119. [[CrossRef](#)]
63. Papic, N.; Maric, L.; Vince, A. Efficacy of oral vancomycin in primary prevention of *Clostridium Difficile* infection in elderly patients treated with systemic antibiotic therapy. *Infect. Dis.* **2018**, *50*, 483–486. [[CrossRef](#)]
64. Morrisette, T.; Van Matre, A.; Miller, M.; Mueller, S.; Bajrovic, V.; Abidi, M.; Benamu, E.; Kaiser, J.; Barber, G.; Chase, S.; et al. Oral Vancomycin Prophylaxis as Secondary Prevention Against *Clostridioides difficile* Infection in the Hemato-poietic Stem Cell Transplantation and Hematologic Malignancy Population. *Biol. Blood Marrow Transplant.* **2019**, *25*, 2091–2097. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
65. Knight, E.; Schiller, D.; Fulman, M.; Rastogi, R. Long-Term Efficacy of Oral Vancomycin Prophylaxis for the Prevention of *Clostridium difficile* Recurrence. *J. Pharm. Pract.* **2020**, *33*, 633–639. [[CrossRef](#)]
66. McDonald, L.; Gerding, D.; Johnson, S.; Bakken, J.; Carroll, K.; Coffin, S.; Dubberke, E.; Garey, K.; Gould, C.; Kelly, C.; et al. Clinical Practice Guidelines for *Clostridium difficile* Infection in Adults and Children: 2017 Update by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA). *Clin. Infect. Dis.* **2018**, *66*, e1–e48. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
67. Gonzales, M.; Pepin, J.; Frost, E.; Carrier, J.; Sirard, S.; Fortier, L.; Valiquette, L. Faecal pharmacokinetics of orally administered vancomycin in patients with suspected *Clostridium difficile* infection. *BMC Infect. Dis.* **2010**, *10*, 363. [[CrossRef](#)]
68. Johnson, S. Editorial Commentary: Potential Risks and Rewards with Prophylaxis for *Clostridium difficile* Infection. *Clin. Infect. Dis.* **2016**, *63*, 654–655. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
69. Abujamel, T.; Cadnum, J.; Jury, L.; Sunkesula, V.; Kundrapu, S.; Jump, R.; Stintzi, A.; Donskey, C.; Paredes-Sabja, D. Defining the Vulnerable Period for Re-Establishment of *Clostridium difficile* Colonization after Treatment of *C. difficile* Infection with Oral Vancomycin or Metronidazole. *PLoS ONE* **2013**, *8*, e76269. [[CrossRef](#)]
70. Lewis, B.; Buffie, C.; Carter, R.; Leiner, I.; Toussaint, N.; Miller, L.; Gouborne, A.; Ling, L.; Pamer, E. Loss of Microbiota-Mediated Colonization Resistance to *Clostridium difficile* Infection with Oral Vancomycin Compared with Metronidazole. *J. Infect. Dis.* **2015**, *212*, 1656–1665. [[CrossRef](#)]
71. Johnson, S. Treatment of Asymptomatic *Clostridium difficile* Carriers (Fecal Excretors) with Vancomycin or Metronidazole. *Ann. Intern. Med.* **1992**, *117*, 297–302. [[CrossRef](#)]
72. Kampmeier, S.; Tönnies, H.; Correa-Martinez, C.; Mellmann, A.; Schwierzeck, V. A nosocomial cluster of vancomycin resistant enterococci among COVID-19 patients in an intensive care unit. *Antimicrob. Resist. Infect. Control.* **2020**, *9*, 154. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
73. Correa-Martinez, C.L.; Stollenwerk, V.B.; Kossow, A.; Schaumburg, F.; Mellmann, A.; Kampmeier, S. Risk Factors for Long-Term Vancomycin-Resistant Enterococci Persistence—A Prospective Longitudinal Study. *Microorganisms* **2019**, *7*, 400. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]