

Статья

Система Molecular Mouse: Новый эффективный инструмент для управления антимикробной терапией у пациентов в критическом состоянии с сепсисом.

Carola Mauri ^{*,†}, Alessandra Consonni [†], Elena Briozzo, Chiara Giubbi, Elisa Meroni, Silvia Tonolo and Francesco Luzzaro

Отделение клинической микробиологии и вирусологии, больница "А. Манцони", 23900 Лекко, Италия

* Для переписки: c.mauri@asst-lecco.it

† Эти авторы внесли равный вклад в эту работу.

Резюме: Инфекции кровотока (ИК), вызываемые бактериями с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ), представляют серьезную угрозу для пациентов, особенно с ослабленным иммунитетом. Быстрое выявление патогена и определение его характеристик на основе положительных посевов крови имеют решающее значение в ведении пациентов с ИК для обеспечения адекватной и своевременной антимикробной терапии. Это исследование было направлено на изучение потенциальной роли системы Molecular Mouse - нового молекулярного теста CE IVD, предназначенного для быстрого выявления возбудителей бактериемии и факторов, определяющих их резистентность, в проведении терапии у пациентов в критическом состоянии. Также было рассмотрено соответствие результатов, полученных с помощью Molecular Mouse, и стандартного рутинного метода. В целом, с мая 2023 по январь 2024 года у пациентов в критическом состоянии с сепсисом было собрано 100 положительных культур крови, которые были проанализированы с использованием Molecular Mouse и стандартных протоколов. Новый инструмент неизменно соответствовал стандартным рутинным методам в случае мономикробных культур крови, в то время как в полимикробных образцах были получены некоторые расхождения. Гены устойчивости к противомикробным препаратам были обнаружены в 35 образцах, причем наиболее часто выявляемыми мишенями были *vanA* и группа CTX-M-1/9. Терапия была скорректирована у 42 пациентов в критическом состоянии, что подтверждает важность новых быстрых молекулярных тестов для исследования положительных посевов крови, для корректировки эмпирической терапии и точного применения новых антибиотиков.

Ключевые слова: культура крови; устойчивость к противомикробным препаратам; Molecular Mouse; инфекции кровотока; новые антибиотики



Цитирование: Mauri, C.; Consonni, A.; Briozzo, E.; Giubbi, C.; Meroni, E.; Tonolo, S.; Luzzaro, F. The Molecular Mouse System: A New Useful Tool for Guiding Antimicrobial Therapy in Critically Ill Septic Patients. *Antibiotics* 2024, 13, 517. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13060517>

Научный редактор: Daniela C. Pasero

Получено: 29 февраля 2024 г.

Исправлено: 24 мая 2024 г.

Принято: 28 мая 2024 г.

Опубликовано: 1 июня 2024 г.



Авторское право: © 2024 от авторов.
Лицензиат MDPI, Базель, Швейцария.
Эта статья находится в открытом доступе и распространяется на условиях лицензии Creative Commons Attribution (CC BY) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Введение

Инфекция кровотока (ИК) является серьезной проблемой для здравоохранения во всем мире. Она является причиной высоких показателей смертности, усугубляемых растущим распространением устойчивых к противомикробным препаратам патогенов, которые, по оценкам, стали причиной 33 110 смертей в 2015 году в Европе [1]. Наличие положительных посевов крови у пациентов с системными признаками инфекции может быть как первичным, так и вторичным по отношению к документально подтвержденному источнику инфекции и может привести к сепсису, органной недостаточности и смерти [2]. В случае сепсиса своевременное выявление ответственного возбудителя имеет важное значение для проведения соответствующей антимикробной терапии и улучшения результатов лечения пациентов [3]. Более того, растущая распространенность как грамположительных, так и грамотрицательных микроорганизмов с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) представляет собой одну из серьезнейших проблем, препятствующих эффективности терапевтических методов лечения ИК [4-7].

Традиционные методы, основанные на культивировании, остаются важными, но они постепенно дополняются более быстрыми фенотипическими методами (например, идентификация и тестирование на чувствительность к противомикробным препаратам, проводимые непосредственно из положительного посева крови или после кратковременного культивирования на твердой среде) и/или быстрыми молекулярными методами [8]. В частности, в рутинном рабочем процессе были применены новые молекулярные подходы, позволяющие быстро идентифицировать профили потенциальной резистентности и обеспечить адекватность целенаправленной терапии [9]. Расширенная характеристика генов резистентности представляет дополнительную ценность для соответствующей терапии, учитывая, что новые коммерчески доступные антимикробные препараты (включая цефтолозан/тазобактам, цефтазидим/авибактам, меропенем/ваборбактам, имипенем/релеобактам, цефидерокол и, совсем недавно, цефепим/таниборбактам) обладают специфической антимикробной активностью в

отношении грамотрицательных микроорганизмов, в зависимости от продуцируемого фермента (ов).

Важно отметить, что большинство из них включают ингибиторы, которые защищают ассоциированный препарат (например, цефалоспорин или карбапенем) от различных типов карбапенемаз (например, KPC, IMP, VIM, NDM или OXA-48-подобные типы). Цефтолозан/тазобактам - это новая комбинация бета-лактамов/бета-лактамазных ингибиторов, обладающая активностью в отношении некоторых грамотрицательных микроорганизмов, включая энтеробактерии, продуцирующие бета-лактамазу расширенного спектра действия (ESBL), а также MDR и *Pseudomonas aeruginosa* с широкой лекарственной устойчивостью, но не действующая на штаммы, продуцирующие карбапенемазу [10]. Другая комбинация бета-лактама и ингибитора бета-лактамазы представлена цефтазидимом/авибактамом. Эта молекула активна в отношении бета-лактамаз Ambler класса A, класса C и некоторых бета-лактамаз класса D, представляя собой средство первой линии против энтеробактерий, продуцирующих KPC или OXA-48, и альтернативу против энтеробактерий, продуцирующих ESBL или AmpC, и *P. aeruginosa* [11]. Аналогичным образом, меропенем/ваборбактам представляет собой комбинацию бета-лактамов/бета-лактамазных ингибиторов, которая действует против бета-лактамаз класса A (включая ESBL и KPC) и C, но неактивна в отношении ферментов класса B и D [12]. Имипенем/циластатин/релебактам представляет собой комбинацию из трех молекул (карбапенем, циластатин и ингибитор бета-лактамаз), активных в отношении грамотрицательных бактерий, как ферментирующих, так и неферментирующих лактозу, включая штаммы, продуцирующие ESBL, KPC и AmpC, но не в отношении тех, которые продуцируют OXA-48. Ранее описанные молекулы не активны в отношении *Acinetobacter baumannii* и продуцирующих металло-бета-лактамаз (MBL) грамотрицательных микроорганизмов [12]. Кроме того, цефидерокол - это новый антибиотик, сидерофорный цефалоспорин, активный в отношении широкого спектра грамотрицательных патогенов, таких как ESBL и штаммы, продуцирующие карбапенемазы (включая KPC, сериновые бета-лактамазы типа OXA и MBL). Цефидерокол состоит из комплекса лекарственного средства и железа, способного проникать в клетку патогена как с помощью поринов, так и с помощью системы переноса железа; на него не влияет избыточная экспрессия изотонического насоса. Таким образом, достигаются высокие концентрации в периплазматическом пространстве [13]. Последняя комбинация бета-лактамов/ингибиторов бета-лактамаз представлена цефепимом/таниборбактамом. Он активен в отношении бета-лактамаз класса A и класса C, а также металло-бета-лактамаз класса B, включая VIM и NDM, но не ферменты типа IMP. Таниборбактам действует как обратимый ковалентный ингибитор сериновых бета-лактамаз и как конкурентный ингибитор MBLs, восстанавливая активность антибиотика против многих МЛУ- и трудноизлечимых резистентных микроорганизмов (DTR) [14,15]. В таблице 1 приведены микробиологические мишени новых противомикробных средств, имеющих в продаже для борьбы с грамотрицательными организмами. Аналогичным образом, в случае грамположительных микроорганизмов оритаванцин и тедизолид являются новыми антимикробными средствами, обладающими активностью в отношении энтерококков, устойчивых к ванкомицину vanA и vanB (VRE) [16,17].

Таблица 1. Микробиологические мишени новых антимикробных средств для грамотрицательных организмов.

Противомикробное средство	Продуцирующие бета-лактамазу <i>Enterobacterales</i>				Неферментирующие грамотрицательные микроорганизмы	
	ESBL	KPC	MBL	OXA-48	DTR-PA	CRAB
Цефтолозан/тазобактам,	Да	Нет	Нет	Нет	+/- ^a	Нет
цефтазидим/авибактам	Да	Да	Нет	Да	+/- ^a	Нет
Меропенем/ваборбактам	Да	Да	Нет	Нет	Нет	Нет
Имипенем/релебактам	Да	Да	Нет	Нет	+/- ^a	Нет
Цефидерокол	Да	Да	Да	Да	Да	Да
Цефепим/таниборбактам	Да	Да	Да	Да	Да	Нет

DTR-PA: *P. aeruginosa*, трудно поддающаяся лечению; CRAB: *A. baumannii*, устойчивый к карбапенемам. ^a: активность зависит от типа производимой карбапенемазы.

В этом контексте мы оценили потенциальную роль системы Molecular Mouse в проведении антимикробной терапии пациентов в критическом состоянии с сепсисом, особенно в отношении штаммов МЛУ. Мы также изучили соответствие между результатами, полученными с помощью молекулярного теста, и результатами, полученными с помощью обычного микробиологического метода.

2. Результаты

С мая 2023 по январь 2024 года с помощью системы Molecular Mouse были исследованы 100 положительных культур крови, полученных от пациентов в критическом состоянии с сепсисом. Из них пять образцов были признаны отрицательными с использованием Molecular Mouse, поскольку мишень отсутствовала на панели (*Alkalihalobacillus clausii*, $n = 1$; *Bacteroides fragilis*, $n = 1$; *Parvimonas micra*, $n = 1$; *Pseudomonas oryzihabitans*, $n = 1$; *Sphingomonas paucimobilis*, $n = 1$), и они были исключены из исследования. Таким образом, было проанализировано в общей сложности 95 образцов.

2.1. Идентификация бактерий

В целом, 88 из 95 флаконов с гемокультурой, включенных в исследование, были мономикробного происхождения, а в 7 был выявлен рост смешанной культуры микроорганизмов.

Среди образцов монокультуры ($n = 88$) Molecular Mouse идентифицировала 78 микроорганизмов на видовом уровне (грамотрицательные, $n = 59$; грамположительные, $n = 19$) и 10 на уровне рода (грамположительные, $n = 7$; грамотрицательные, $n = 3$). Результаты, полученные с помощью системы Molecular Mouse, полностью соответствовали результатам, полученным при обычном протоколе культивирования образцов монокультуры как с помощью экспресс-, так и обычных тестов (таблица 2). Что касается идентификации на уровне рода, то Molecular Mouse не смогла идентифицировать восемь патогенов на уровне вида, поскольку они были микроорганизмами, не входящими в группу (четыре *Streptococcus viridans* и два *Streptococcus dysgalactiae equisimilis* из группы грамположительных микроорганизмов; *Raoultella ornithinolytica* и *Providencia rettgeri* из группы грамотрицательных микроорганизмов). Кроме того, система Molecular Mouse не идентифицировала ни одного *E. faecalis* и ни одного *K. oxytoca*. В этих двух случаях были представлены кривые амплификации соответствующих микроорганизмов; однако они находились за пределами диапазона обнаружения прибора, который имеет пороговое значение C_t для положительного образца, равное 45. Были обнаружены кривые амплификации для идентификации на уровне рода.

Таблица 2. Краткое описание мономикробных изолятов, выявленных с помощью системы Molecular Mouse и затем подтвержденных стандартными методами культивирования. Изоляты сгруппированы на основе результатов окрашивания по Граму.

Грамотрицательные ($n = 62$)	Грамположительные, исключая стафилококки ($n = 26$)
<i>Escherichia coli/Shigella</i> spp. ($n = 32$)	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ($n = 12$)	<i>Enterococcus faecium</i> ($n = 11$)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ($n = 7$)	<i>Streptococcus</i> spp. ^b ($n = 6$)
<i>Enterobacteriaceae</i> ^a ($n = 3$)	<i>Streptococcus pneumoniae</i> ($n = 3$)
<i>Haemophilus influenzae</i> ($n = 2$)	<i>Enterococcus faecalis</i> ($n = 2$)
<i>Klebsiella aerogenes</i> ($n = 2$)	<i>Streptococcus agalactiae</i> ($n = 2$)
<i>Acinetobacter baumannii</i> ($n = 1$)	<i>Streptococcus pyogenes</i> ($n = 1$)
<i>Klebsiella oxytoca</i> ($n = 1$)	<i>Enterococcus</i> spp. ^c ($n = 1$)
<i>Proteus mirabilis</i> ($n = 1$)	
<i>Serratia marcescens</i> ($n = 1$)	

Грамположительные, за исключением стафилококков: Грамположительные бактерии с морфологией бацилл, стрептококков или энтерококков при окрашивании по Граму; ^a: *Raoultella ornithinolytica*, *Providencia rettgeri* и *K. oxytoca* были идентифицированы как *Enterobacteriaceae*; ^b: группа *Streptococcus viridans* ($n = 4$) и *Streptococcus dysgalactiae equisimilis* ($n = 2$) были идентифицированы как энтеробактерии. идентифицирован на уровне рода как *Streptococcus* spp.; ^c: *E. faecalis* был идентифицирован на уровне рода как *Enterococcus* spp.

Рассматривая группу полимикробных образцов ($n = 7$), результаты, полученные методом Molecular Mouse, в пяти случаях соответствовали стандартным методам культивирования, в то время как в двух образцах были получены различия (Таблица 3).

В частности, Molecular Mouse идентифицировала 14 микроорганизмов (грамотрицательных, $n = 8$; грамположительных, $n = 6$) на уровне вида и один на уровне рода (группа *Streptococcus viridans*, не включенная в панель). Что касается образцов с расхождением, то система Molecular Mouse не смогла идентифицировать один *E. faecalis*, один образец *P. aeruginosa*, один образец группы *Streptococcus viridans* и один образец группы *Streptococcus viridans*, который не был идентифицирован даже на уровне рода.

Таблица 3. Краткое описание микроорганизмов, идентифицированных с помощью системы Molecular Mouse и стандартного метода культивирования в полимикробных образцах.

Molecular Mouse система	Обычный метод культивирования
<i>E. cloacae</i> , <i>E. faecium</i>	<i>E. cloacae</i> , <i>E. faecium</i>
<i>E. coli/Shigella</i> spp., <i>E. faecium</i>	<i>E. coli</i> , <i>E. faecium</i>
<i>E. coli/Shigella</i> spp., <i>E. faecium</i>	<i>E. coli</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>E. faecium</i> , <i>Streptococcus viridans</i> группа
<i>E. faecalis</i> , <i>K. oxytoca</i>	<i>E. faecalis</i> , <i>K. oxytoca</i> , <i>P. aeruginosa</i>
<i>E. faecalis</i> , <i>K. oxytoca</i> , <i>P. mirabilis</i>	<i>E. faecalis</i> , <i>K. oxytoca</i> , <i>P. mirabilis</i>
<i>E. faecium</i> , <i>K. oxytoca</i>	<i>E. faecium</i> , <i>K. oxytoca</i>
<i>P. aeruginosa</i> , <i>Streptococcus</i> spp.	<i>P. aeruginosa</i> , <i>Streptococcus viridans</i> группа

Выделены микроорганизмы, выявленные только рутинным методом посева.

2.2. Гены резистентности

Гены устойчивости к противомикробным препаратам были обнаружены в 35 образцах (Таблица 4). Среди грамотрицательных бактерий (обнаруженных в 69 образцах) гены резистентности были обнаружены только у Enterobacterales (24 из 58 образцов), в то время как гены резистентности не были обнаружены в образцах, в которых были идентифицированы *P. aeruginosa* ($n = 7$) и *A. baumannii* ($n = 1$). Среди изолятов *K. pneumoniae* была обнаружена только одна карбапенемаза (ОХА-48). Устойчивость к цефалоспорином, обусловленная генами СТХ-М, была выявлена у 17 штаммов. Другие детерминанты резистентности, включая фермент СМУ-2, были обнаружены в единичных случаях.

Таблица 4. Результаты определения генов устойчивости с помощью системы Molecular Mouse и результаты рутинных методов культивирования.

Molecular Mouse система	Обычный метод культивирования
<i>E. faecium</i> , <i>vanA</i> ($n = 11$)	Устойчивый к ванкомицину <i>E. faecium</i>
<i>E. coli/Shigella</i> spp. СТХ-М-1/9 группа ($n = 11$)	ESBL-продуцирующая <i>E. coli</i>
<i>K. pneumoniae</i> SHV ($n = 6$)	Дикий тип <i>K. pneumoniae</i>
<i>K. pneumoniae</i> СТХ-М-1/9 группа, SHV ($n = 5$)	ESBL-продуцирующая <i>K. pneumoniae</i>
<i>E. coli/Shigella</i> spp. СТХ-М-1/9 группа, СМУ-2 ($n = 1$) <i>K. pneumoniae</i> СТХ-М-1/9 группа, SHV, ОХА-48 ($n = 1$)	ESBL-продуцирующая <i>E. coli</i>
	Устойчивая к карбапенемам <i>K. pneumoniae</i> (ОХА-48)

В группе грамположительных штаммов (выявленных в 33 образцах) устойчивость к ванкомицину у штаммов *E. faecium* была обеспечена геном *vanA*. Другие гены *van* (*vanB*, *vanC1*, *vanC2/3*) не были обнаружены ни в одном образце.

2.3. Антимикробная терапия

Что касается терапевтического воздействия, то результаты исследования на Molecular Mouse оценивались с учетом проводимого эмпирического лечения, о котором сообщали клиницисты. Новая быстрая молекулярная система оказала решающее влияние у 58 из 95 (61,1%) пациентов, что позволило добиться существенных изменений по сравнению с неадекватной антимикробной терапией или предоставить полезную информацию для назначения таргетной терапии. В 26/58 (44,8%) случаях изменение терапии было обусловлено выявлением генов резистентности. Влияние результатов исследования Molecular Mouse на эффективность терапии показано в зависимости от эмпирического лечения (Таблица 5) и выявленных микроорганизмов (Таблица 6). Следует отметить, что в таких группах организмов, как энтеробактерии и энтерококки, где было обнаружено большое количество генов резистентности, изменения в терапии были в первую очередь обусловлены обнаружением этих мишеней (Таблица 6).

Таблица 5. Краткое описание эмпирической терапии и ее адекватности в сравнении с результатами Molecular Mouse.

Эмпирическая терапия	Итого	Никаких изменений в терапии	Назначенная или скорректированная терапия ^b
β-лактамы + ингибитор	28	15	13
Комбинированная терапия	24	9	15
Терапевтическое окно ^a	15	0	15
Цефалоспорины третьего поколения	13	6	7
Карбапенем (меропенем)	7	5	2
Гликопептид (ванкомицин)	4	2	2
Фторхинолон (ципрофлоксацин)	2	0	2
Аминогликозид (гентамицин)	1	0	1
Линкозамид (клиндамицин)	1	0	1
Итого	95	37	58

^a: 48 часов промывания перед приемом новых противомикробных препаратов;

^b: терапия была назначена или скорректирована в зависимости от результатов исследований на Molecular Mouse.

Таблица 6. Влияние результатов системы Molecular Mouse на выбор терапии.

Molecular Mouse результат	Никаких изменений в терапии	Назначена таргетная терапия ^a	Измененная или оптимизированная терапия	
			На основании микроорганизма	На основании гена
<i>Enterobacterales</i> (n = 52)	24	8	5	15
<i>Enterococci</i> (n = 14)	3	1	1	9
<i>Streptococci</i> (n = 12)	5	5	2	0
<i>P. aeruginosa</i> (n = 7)	3	1	3	0
<i>H. influenzae</i> (n = 2)	1	1	0	0
<i>A. baumannii</i> (n = 1)	0	0	1	0
Полимикробные образцы (n = 7)	1	0	4	2
Итого (n = 95)	37	16	16	26

^a: терапия была назначена в зависимости от результатов исследования на Molecular Mouse.

3. Обсуждение

Устойчивость к противомикробным препаратам (УПП) является серьезной проблемой общественного здравоохранения, имеющей серьезные клинические и экономические последствия. В последние десятилетия она приобрела такое глобальное значение, что побудила Всемирную организацию здравоохранения и Европейский союз принять скоординированные стратегии и действия, направленные на сдерживание этого явления. Ситуация с УПП у видов бактерий, о которой сообщается в сетях эпиднадзора за УПП, широко варьируется в зависимости от вида, группы противомикробных препаратов и географического региона [18]. В течение многих лет Италия была одной из стран Европы с самым высоким процентом устойчивости к основным классам антибиотиков, используемых в больницах. В Италии основными причинами УПП являются устойчивость к цефалоспорином третьего поколения у *K. pneumoniae* (53,3%) и *E. coli* (24,2%), а также устойчивость к карбапенемам у видов *Acinetobacter* (88,5%) и *K. pneumoniae* (24,9%). Более того, тенденция к значительному увеличению доли устойчивых к ванкомицину изолятов *E. faecium* еще больше возросла с 18,9% в 2018 году до 30,7% в 2022 году [19,20].

Несколько исследований уже продемонстрировали трудности, связанные с лечением микроорганизмов с МЛУ, ответственных за инфекцию кровотока, и их связь с высокими показателями смертности. Среди грамположительных бактерий выделение ванкомицин резистентного энтерококка рассматривается как независимый предиктор смертности у пациентов с энтерококковой инфекцией кровотока [21] по сравнению с инфекциями, вызванными чувствительными к ванкомицину энтерококками, а отсроченная соответствующая антибактериальная терапия рассматривается как фактор, определяющий неблагоприятный исход [22]. Таким образом, быстрая идентификация видов энтерококков и наличие приобретенных генов устойчивости к ванкомицину значительно сокращают время, необходимое для назначения соответствующей терапии, снижая уровень смертности [5]. В нескольких исследованиях описана связь инфекций, вызванных грамотрицательными микроорганизмами с МЛУ, с неблагоприятным исходом и увеличением продолжительности пребывания в стационаре [7,23-29]. Кроме того, было показано, что своевременная антибактериальная терапия является независимым предиктором 30-дневной смертности у пациентов с инфекцией кровотока, обусловленной

КРС-продуцирующим штаммом *K. pneumoniae*, и рекомендуется начинать соответствующую антибактериальную терапию в течение 24 часов после взятия посевов крови [24].

Характеристика генов устойчивости является ключевой информацией для клинического применения новых противомикробных соединений, особенно в отношении грамотрицательных микроорганизмов. Начиная с 2018 года, Итальянское национальное наблюдение (AR-ISS) ежегодно публикует отчет о типах карбапенемаз, обнаруженных у *K. pneumoniae* и *E. coli* при инфекциях кровотока (Таблица 7). Эти данные очень полезны для определения тенденции распространения карбапенемаз у этих микроорганизмов, но их недостаточно при обследовании одного пациента.

Таблица 7. Типы карбапенемаз, обнаруженные у *K. pneumoniae* и *E. coli* в исследованиях инфекций кровотока в Италии с 2018 по 2022 год [30–34].

Карбапенемазы	2018	2019	2020	2021	2022
КРС	93.1%	85.9%	83.7%	80.1%	82.5%
OXA-48	2.2%	1.3%	1.8%	2.2%	4.6%
MBL	3.4%	11.4%	7.4%	13.1%	8.4%
NDM	na	na	4.8%	10.6%	7.2%
IMP	na	na	na	1.9%	0.8%
VIM	na	na	2.0%	0.1%	0.1%
Двойные карбапенемазы, не поддающиеся интерпретации	0.6%	0.5%	4.4%	3.2%	2.6%
	0.6%	1.0%	2.7%	1.4%	1.9%

na: данные отсутствуют; не поддаются интерпретации: расхождение между генотипическими и фенотипическими результатами.

В этом случае экспресс молекулярные анализы представляют собой стандарт лечения при инфекции кровотока. Molecular Mouse - это недавно разработанная система CE IVD, которая может идентифицировать широкий спектр микроорганизмов (включая как грамположительные, так и грамотрицательные), а также несколько факторов, определяющих устойчивость. В частности, среди карбапенемаз Molecular Mouse система включает ферменты типа КРС, а также металло-бета-лактамазу (ферменты типа IMP, VIM и NDM) и оксациллиназы (не только типа OXA-48, но и типа OXA-23). С терапевтической точки зрения эта активность имеет решающее значение, поскольку цефтазидим-авибактам потенциально активен в отношении ферментов типа КРС и OXA-48, тогда как меропенем-ваборбактам и имипенем-релеобактам активны только в отношении ферментов типа КРС. Ни одна из этих комбинаций не действует против металло-бета-лактамаз и оксациллиназ, обычно продуцируемых *Acinetobacter baumannii* (т.е. карбапенемаз OXA-23). В этом контексте дополнительной ценностью Molecular Mouse является способность системы обнаруживать фермент OXA-23. Действительно, в Италии наблюдался постепенный переход от носительства гена blaOXA-58 к носительству гена blaOXA-23, причем штаммы *A. baumannii*, продуцирующие OXA-23, появились в 2007 году [35], и, как сообщается в национальном итальянском исследовании, устойчивость к карбапенемам у *A. baumannii* в первую очередь связана с ферментом OXA-23, которая является наиболее часто приобретаемой карбапенемазой [36]. Напротив, оксациллиназы OXA-58, о которых ранее сообщалось, что они широко распространены в Италии, были обнаружены в нескольких центрах, хотя они были распространены по всей стране [37–39]. Эти данные также согласуются с описанным всемирным распространением blaOXA-23-подобных генов [40]. Другие особенности Molecular Mouse системы включают обнаружение хромосомных генов, определяющих низкий уровень устойчивости к ванкомицину (vanC1 и vanC2/3) у *Enterococcus spp.* и целевые показатели как для групп CTX-M-1/9, так и для групп CTX-M-2/8, ESBL типа SHV и детерминанты CMY-2, что также позволяет лучше изучить местную эпидемиологию.

Основные преимущества молекулярных систем, безусловно, связаны с сокращением времени, необходимого для идентификации микроорганизмов, и, в конечном счете, с наличием генов устойчивости; информация о механизмах идентификации и устойчивости доступна, соответственно, по крайней мере, за 3 и 24 часа до получения результатов культивирования. В частности, три картриджа, протестированные на системе Molecular Mouse, продемонстрировали хорошие аналитические характеристики по сравнению с классическим методом культивирования. Кроме того, основное преимущество системы Molecular Mouse заключается в модульной конфигурации теста; с помощью одного программного обеспечения можно выполнять до шести анализов. Один образец можно тестировать одновременно на разных картриджах, а образцы, взятые у разных пациентов, можно тестировать вместе. Кроме того, возможность выбора чипов для тестирования на основе микроскопического исследования, безусловно, снижает затраты на анализ.

Помимо демонстрации аналитических характеристик метода, основной силой этого исследования является анализ влияния результатов тестирования на Molecular Mouse на клиническую практику у тяжелобольных пациентов (например, пациентов из отделений интенсивной терапии, онкологических больных). Было продемонстрировано, что быстрая идентификация микроорганизмов и, в конечном счете, генов резистентности в положительных культурах крови оказывает важное влияние на назначение соответствующей терапии более чем в 60% случаев.

С другой стороны, данное исследование имеет некоторые ограничения. Как сообщалось, мы исследовали аналитические характеристики трех картриджей, доступных для системы Molecular Mouse. Таким образом, у нас нет никакой информации о характеристиках прибора при обнаружении стафилококков и дрожжевых грибов. Выбор чипов для тестирования на выявление грамотрицательных бактерий, устойчивость у грамотрицательных бактерий и грамположительных бактерий, за исключением стафилококков, был обусловлен тем фактом, что в Италии основные проблемы, связанные с устойчивостью к противомикробным препаратам, обусловлены грамотрицательными бактериями, устойчивыми к третьему поколению цефалоспоринов, карбапенемам и энтерококками, устойчивыми к ванкомицину. Еще одно ограничение исследования может быть связано с отбором 100 положительных культур крови, полученных от пациентов в критическом состоянии. Выявленные микроорганизмы не являются полностью репрезентативными для эпидемиологии всех положительных посевов крови в нашей больнице; однако, с другой стороны, пациенты в критическом состоянии получают наибольшую пользу от быстрого выбора или корректировки терапии, связанной с молекулярным выявлением специфических патогенов и механизмов резистентности.

В заключение, наши данные демонстрируют, что Molecular Mouse система обладает потенциалом для ранней и точной диагностики возбудителей инфекции кровотока. В частности, молекулярное определение генов резистентности может быстро повысить эффективность выбора подходящей противомикробной терапии, всего за один час после получения положительного результата анализа крови. Дальнейшие исследования позволят оценить другие картриджи прибора и клинические результаты.

4. Материалы и методы

4.1. Условия проведения исследования и критерии отбора

Это проспективное исследование проводилось с мая 2023 по январь 2024 года на базе центра в Лекко (Италия), который состоит из двух больниц, в общей сложности на 950 коек. Были применены следующие критерии отбора: положительные образцы крови включались в исследование, если они были взяты у пациентов в критическом состоянии (например, пациентов из отделений интенсивной терапии, онкологических больных); образцы, с грамположительными бациллами или грамположительные кокки в смеси при окрашивании по Граму, а также дрожжи, не были взяты в исследование. Действительно, мы решили исследовать положительные образцы, имеющие микроорганизмы, которые представляют серьезную проблему с устойчивостью к противомикробным препаратам в Италии, такие как грамотрицательные бактерии и энтерококки. В общей сложности было исследовано 100 положительных культур крови с использованием как системы Molecular Mouse (Alifax S.r.l., Польверара, Италия), так и традиционных микробиологических методов.

4.2. Диагностика Посева Крови С Использованием Общепринятых Методов Посева

Флаконы для посева крови (VacT/Alert Plus аэробные/анаэробные, bioMérieux, Марси л'Этуаль, Франция) инкубировали в приборе VacT/AlertVirtuo® (bioMérieux, Марси л'Этуаль, Франция) при температуре 37 °C в течение максимум 5 дней (время для получения отрицательного результата). Когда флакон с посевом крови был отмечен как положительный, его извлекали из прибора и проводили окрашивание по Граму. Для всех положительных образцов использовали традиционный метод инкубации в течение ночи. В частности, одну каплю бульона из флакона для культивирования крови наносили на разные чашки с питательным агаром и инкубировали при температуре 36 °C в течение максимум 48 часов в различных условиях, таких как O₂, 5% CO₂ или анаэробная среда, для обеспечения роста бактерий. Питательные среды включали Колумбийский агар с 5%-ным содержанием бараньей крови, шоколадный агар с поливитексом, Колумбийский агар ANC с 5%-ным содержанием бараньей крови, агар Макконки и агар Шедлера с витамином K₁ и 5%-ным содержанием бараньей крови.

Если при микроскопическом исследовании обнаруживалась популяция мономикробных бактерий, к этим образцам применялся быстрый рабочий процесс. Протокол следующий: аликвоту (2,5 мл) мономикробного образца переносили в пробирку с гелевым сепаратором (BD Vacutainer® Пробирки для взятия крови, Франклин-Лейкс, Нью-Джерси, США) и центрифугировали при 3500 об/минуту в течение 10 минут. Надосадочную жидкость удаляли, а осадок высевали на чашку с шоколадным агаром polyvitex и инкубировали при 36°C в 5%-ой атмосфере CO₂ в течение 3 часов.

В обоих случаях микробиологическую идентификацию проводили с помощью MALDI-TOF MS (Vitek MS, bioMérieux) через 3 часа для быстрого процесса или после ночной инкубации для традиционного процесса исследования. Все колонии с различными морфотипами были идентифицированы на чашках после ночного инкубирования. Аналогичным образом, с точки зрения сроков, были проведены тесты на чувствительность к противомикробным препаратам (AST) в соответствии с идентифицированным микроорганизмом: прибор VITEK 2 (bioMérieux) применялся для неприхотливых бактерий, а диско-диффузионный метод чувствительности Кирби-Бауэра в соответствии с рекомендациями EUCAST применялся для прихотливых микроорганизмов [41,42]. При обнаружении микроорганизма с множественной лекарственной устойчивостью также проводилось тестирование на чувствительность к противомикробным препаратам методом микроразведений в бульоне (Sensititre, Thermo Fisher Scientific, Норристаун, Пенсильвания, США). Результаты были интерпретированы в соответствии с текущими критериями EUCAST за 2023 и 2024 годы [43,44].

Блок-схема этих двух традиционных методов диагностики и Molecular Mouse анализа представлена на Рисунке 1.

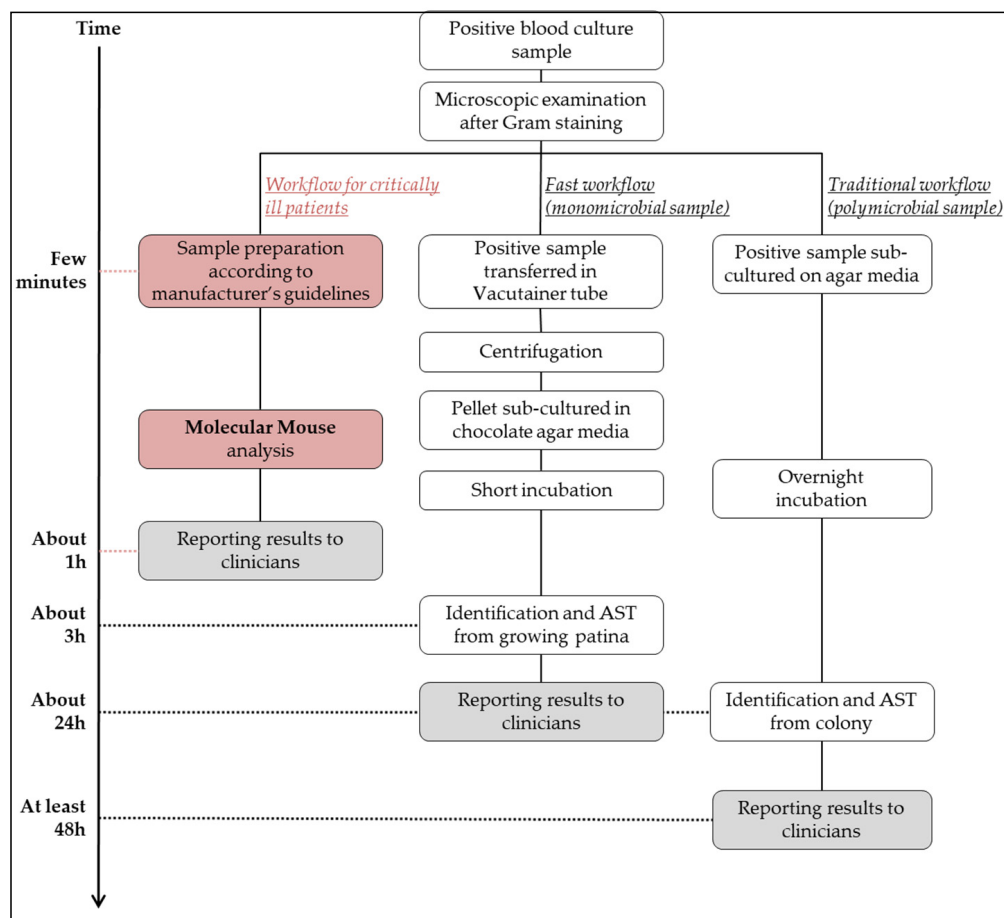


Рисунок 1. Краткое описание диагностики на основе посева крови по протоколу Molecular Mouse (выделено красным) и общепринятых методов посева. Время, необходимое для представления результатов клиницистам, также учитывается для трех различных рабочих процессов.

4.3. Molecular Mouse система

Система Molecular Mouse позволяет качественно определять ДНК-мишени с помощью ПЦР в режиме реального времени с помощью готовых к использованию картриджей (или чипов) с лиофилизированными реагентами.

Тестирование проводилось в соответствии с инструкциями производителя. Вкратце, для разделения плазмы и бактерий в первый раз центрифугировали 200 мкл положительной культуры крови. Затем бактерии осаждали на втором этапе центрифугирования, ресуспендировали в воде, не содержащей ДНКазы, и смешивали с загрузочным буфером. В итоге, аликвота (5 мкл) этой смеси помещалась в каждую специальную ячейку картриджа, где содержатся все необходимые реагенты в лиофилизированном виде. Затем картридж загружался в прибор для молекулярного анализа с использованием ПЦР в реальном времени; экстракция нуклеиновых кислот не требуется (за исключением картриджа для дрожжей). Менее чем за 60 минут этот экспресс-молекулярный тест позволяет выявить 65 мишеней: 44 для идентификации бактерий и грибов (грамотрицательные бактерии, $n = 15$; грамположительные бактерии, $n = 20$; дрожжи, $n = 9$), 21 мишень генов устойчивости к противомикробным препаратам (грамотрицательные бактерии, $n = 13$; грамположительные, $n = 8$). Молекулярные мишени были распределены по разным картриджам, как показано в Таблице 8. Для выбора подходящего картриджа для загрузки в систему Molecular Mouse требуется предварительное микроскопическое исследование положительной культуры крови. За один сеанс работы с программным обеспечением можно независимо управлять 6 приборами, что позволяет тестировать либо один положительный образец в нескольких картриджах, либо разные положительные образцы одновременно.

Таблица 8. Краткое описание мишеней, доступных для тестирования на Molecular Mouse системе.

Идентификация грамотрицательных бактерий	Устойчивость у грамотрицательных бактерий	Грамположительные бактерии, за исключением стафилококков	Грамположительные бактерии - стафилококки	Дрожжи
<i>Acinetobacter baumannii</i>		<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Staphylococcus</i> spp.	
<i>Enterobacteriaceae Klebsiella aerogenes Enterobacter cloacae</i>	KPC	<i>Enterococcus</i> spp.	<i>Staphylococcus aureus</i>	
<i>Escherichia coli/Shigella</i> spp.	VIM	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>	NDM	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	<i>Candida glabrata</i>
<i>Klebsiella oxytoca</i>	IMP	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	<i>Candida krusei</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-23-like	<i>Streptococcus</i> spp.	<i>Staphylococcus sciuri</i>	<i>Candida parapsilosis</i>
<i>Neisseria meningitidis</i>	OXA-48-like SHV	<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Staphylococcus hominis</i>	<i>Candida tropicalis</i>
<i>Proteus</i> spp.	SHV ESBL	<i>Streptococcus anginosus</i>	<i>Staphylococcus simulans</i>	<i>Candida auris</i>
<i>Proteus mirabilis</i>	CTX-M-1/9 группа	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Candida lusitanae</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CTX-M-2/8 группа	<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Staphylococcus xylosum</i>	<i>Candida dubliniensis</i>
<i>Salmonella typhi</i>	CMY-2	<i>vanA</i>	<i>mecA</i>	<i>Candida guilliermondii</i>
<i>Serratia marcescens</i>	mcr-1	<i>vanB</i>	<i>mecC</i>	
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	mcr-2	<i>vanC1</i>	<i>SCCmec-orfX</i>	
		<i>vanC2/3</i>	<i>vanA</i> и <i>vanB</i>	

В частности, в нашей работе мы сосредоточились на трех типах картриджей с точки зрения их влияния на эпидемиологический контекст: идентификация грамотрицательных бактерий, устойчивость у грамотрицательных бактерий и детекция грамположительных бактерий, за исключением стафилококков (идентификация и устойчивость включены в один картридж).

4.4. Влияние Molecular Mouse системы на назначение антимикробной терапии

Результаты, касающиеся идентификации микроорганизмов и генов устойчивости, полученные с помощью системы Molecular Mouse, а также идентификации и фенотипического профиля устойчивости к противомикробным препаратам с помощью традиционных методов культивирования, были занесены в стандартизированную базу данных. Надежность системы Molecular Mouse сравнивалась с традиционными микробиологическими методами. Также была записана информация о проводимой антимикробной терапии. Для каждого проанализированного образца регистрировалась эмпирическая антимикробная терапия, а также предполагаемый выбор скорректированной антимикробной терапии после сообщения результатов Molecular Mouse системы.

Вклад авторов: Концептуализация, А.С., С.М. и S.T.; методология, А.С., С.М. и S.T.; формальный анализ, С.М. и А.С.; исследование, А.С., С.Г., Е.В. и Е.М.; обработка данных, С.М., А.С., С.Г. и Е.В.; написание — подготовка первоначального проекта, С.М. и А.С.; написание —рецензирование и редактирование, S.T. и F.L.; визуализация, С.М. и А.С.; авторский надзор, F.L. Все авторы прочитали опубликованную версию рукописи и согласились с ней.

Финансирование: Часть исследования была проведена при поддержке Alifax S.r.l.
Утверждение наблюдательного совета учреждения: Неприменимо.

Заявление об информированном согласии: Не применимо.

Заявление о доступности данных: Все данные, относящиеся к исследованию, включены в статью.

Благодарности: Мы благодарим компанию Alifax S.r.l. за бесплатное предоставление системы Molecular Mouse и картриджей.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- Cassini, A.; Högberg, L.D.; Plachouras, D.; Quattrocchi, A.; Hoxha, A.; Simonsen, G.S.; Colomb-Cotinat, M.; Kretzschmar, M.E.; Devleeschauwer, B.; Cecchini, M.; et al. Burden of AMR Collaborative Group. Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015, a population-level modelling analysis. *Lancet Infect. Dis.* **2019**, *19*, 56–66. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] [[PubMed Central](#)]
- Martin-Loeches, I.; Pereira, J.G.; Teoh, T.K.; Barlow, G.; Dortet, L.; Carrol, E.D.; Olgemöller, U.; Boyd, S.E.; Textoris, J. Molecular antimicrobial susceptibility testing in sepsis. *Future Microbiol.* **2024**, *19*, 61–72. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Evans, L.; Rhodes, A.; Alhazzani, W.; Antonelli, M.; Coopersmith, C.M.; French, C.; Machado, F.R.; Mcintyre, L.; Ostermann, M.; Prescott, H.C.; et al. Surviving sepsis campaign: International guidelines for management of sepsis and septic shock 2021. *Intensive Care Med.* **2021**, *47*, 1181–1247. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] [[PubMed Central](#)]
- Robineau, O.; Robert, J.; Rabaud, C.; Bedos, J.P.; Varon, E.; Péan, Y.; Gauzit, R.; Alfandari, S. Management and outcome of bloodstream infections: A prospective survey in 121 French hospitals (SPA-BACT survey). *Infect. Drug Resist.* **2018**, *11*, 1359–1368. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Russo, A.; Picciarella, A.; Russo, R.; d’Ettorre, G.; Ceccarelli, G. Time to effective therapy is an important determinant of survival in bloodstream infections caused by vancomycin-resistant *Enterococcus* spp. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, 11925. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] [[PubMed Central](#)]
- Bassetti, M.; Kanj, S.S.; Kiratisin, P.; Rodrigues, C.; Van Duin, D.; Villegas, M.V.; Yu, Y. Early appropriate diagnostics and treatment of MDR Gram-negative infections. *JAC Antimicrob. Resist.* **2022**, *4*, dlac089. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] [[PubMed Central](#)]
- Bonine, N.G.; Berger, A.; Altincatal, A.; Wang, R.; Bhagnani, T.; Gillard, P.; Lodise, T. Impact of delayed appropriate antibiotic therapy on patient outcomes by antibiotic resistance status from serious Gram-negative bacterial infections. *Am. J. Med. Sci.* **2019**, *357*, 103–110. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Elbehiry, A.; Marzouk, E.; Abalkhail, A.; El-Garawany, Y.; Anagreyah, S.; Alnafea, Y.; Almuzaini, A.M.; Alwarhi, W.; Rawway, M.; Draz, A. The development of technology to prevent, diagnose, and manage antimicrobial resistance in healthcare-associated infections. *Vaccines* **2022**, *10*, 2100. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] [[PubMed Central](#)]
- Timbrook, T.T.; Morton, J.B.; McConeghy, K.W.; Caffrey, A.R.; Mylonakis, E.; LaPlante, K.L. The effect of molecular rapid diagnostic testing on clinical outcomes in bloodstream infections: A systematic review and meta-analysis. *Clin. Infect. Dis.* **2017**, *64*, 15–23. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Giacobbe, D.R.; Bassetti, M.; De Rosa, F.G.; Del Bono, V.; Grossi, P.; Menichetti, F.; Pea, F.; Rossolini, G.M.; Tumbarello, M.; Viale, P.; et al. Ceftolozane/tazobactam: Place in therapy. *Expert Rev. Anti. Infect. Ther.* **2018**, *16*, 307–320. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Shirley, M. Ceftazidime-avibactam: A review in the treatment of serious Gram-negative bacterial infections. *Drugs* **2018**, *78*, 675–692. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Zhanel, G.G.; Lawrence, C.K.; Adam, H.; Schweizer, F.; Zelenitsky, S.; Zhanel, M.; Lagacé-Wiens, P.R.S.; Walkty, A.; Denisuk, A.; Golden, A.; et al. Imipenem-relebactam and meropenem-vaborbactam: Two novel carbapenem-beta-lactamase inhibitor combinations. *Drugs* **2018**, *78*, 65–98. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Ong’uti, S.; Czech, M.; Robilotti, E.; Holubar, M. Cefiderocol: A new cephalosporin stratagem against multidrug-resistant Gram-negative bacteria. *Clin. Infect. Dis.* **2022**, *74*, 1303–1312. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] [[PubMed Central](#)]
- Hamrick, J.C.; Docquier, J.D.; Uehara, T.; Myers, C.L.; Six, D.A.; Chatwin, C.L.; John, K.J.; Vernacchio, S.F.; Cusick, S.M.; Trout, R.E.L.; et al. VNRX-5133 (Taniborbactam), a broad-spectrum inhibitor of serine- and metallo-β-lactamases, restores activity of cefepime in *Enterobacterales* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2020**, *64*, e01963-19. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] [[PubMed Central](#)]
- Karlowsky, J.A.; Hackel, M.A.; Wise, M.G.; Six, D.A.; Uehara, T.; Daigle, D.M.; Cusick, S.M.; Pevear, D.C.; Moeck, G.; Sahm, D.F. In vitro activity of cefepime-taniborbactam and comparators against clinical isolates of Gram-negative bacilli from 2018 to 2020, results from the Global Evaluation of Antimicrobial Resistance via Surveillance (GEARS) Program. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2023**, *67*, e01281-22. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] [[PubMed Central](#)]
- Carvalhoes, C.G.; Sader, H.S.; Streit, J.M.; Castanheira, M.; Mendes, R.E. Activity of oritavancin against Gram-positive pathogens causing bloodstream infections in the United States over 10 Years: Focus on drug-resistant enterococcal subsets (2010–2019). *Antimicrob. Agents Chemother.* **2022**, *66*, e0166721. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] [[PubMed Central](#)]
- Zhanel, G.G.; Love, R.; Adam, H.; Golden, A.; Zelenitsky, S.; Schweizer, F.; Gorityala, B.; Lagacé-Wiens, P.R.; Rubinstein, E.; Walkty, A.; et al. Tedizolid: A novel oxazolidinone with potent activity against multidrug-resistant gram-positive pathogens. *Drugs* **2015**, *75*, 253–270. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

18. WHO Regional Office for Europe and European Centre for Disease Prevention and Control. *Surveillance of Antimicrobial Resistance in Europe, 2022 Data: Executive Summary*; WHO Regional Office for Europe: Copenhagen, Denmark, 2023.
19. Iacchini, S.; Boros, S.; Pezzotti, P.; Caramia, A.; Errico, G.; Del Grosso, M.; Camilli, R.; Giufrè, M.; Pantosti, A.; Maraglino, F.; et al. *AR-ISS: Sorveglianza Nazionale Dell'antibiotico-Resistenza*; Dati 2022; Istituto Superiore di Sanità: Rome, Italy, 2023; (Rapporti ISS Sorveglianza RIS-4/2023).
20. European Centre for Disease Prevention and Control. *Antimicrobial Resistance in the EU/EEA (EARS-Net)*; Country summaries 2022; ECDC: Stockholm, Sweden, 2023.
21. Bartoletti, M.; Tedeschi, S.; Scudeller, L.; Pascale, R.; Rosselli Del Turco, E.; Trapani, F.; Tumietto, F.; Virgili, G.; Marconi, L.; Ianniruberto, S.; et al. Impact on mortality of a bundle for the management of enterococcal bloodstream infection. *Open Forum Infect. Dis.* **2019**, *6*, ofz473. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. DiazGranados, C.A.; Zimmer, S.M.; Klein, M.; Jernigan, J.A. Comparison of mortality associated with vancomycin-resistant and vancomycin-susceptible enterococcal bloodstream infections: A meta-analysis. *Clin. Infect. Dis.* **2005**, *41*, 327–333. [[CrossRef](#)]
23. Bassetti, M.; Peghin, M.; Vena, A.; Giacobbe, D.R. Treatment of infections due to MDR Gram-negative bacteria. *Front. Med.* **2019**, *6*, 74. [[CrossRef](#)]
24. Falcone, M.; Bassetti, M.; Tiseo, G.; Giordano, C.; Nencini, E.; Russo, A.; Graziano, E.; Tagliaferri, E.; Leonildi, A.; Barnini, S.; et al. Time to appropriate antibiotic therapy is a predictor of outcome in patients with bloodstream infection caused by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Crit. Care* **2020**, *24*, 29. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Giacobbe, D.R.; Giani, T.; Bassetti, M.; Marchese, A.; Viscoli, C.; Rossolini, G.M. Rapid microbiological tests for bloodstream infections due to multidrug resistant Gram-negative bacteria: Therapeutic implications. *Clin. Microbiol. Infect.* **2020**, *26*, 713–722. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Zilberberg, M.D.; Nathanson, B.H.; Sulham, K.; Fan, W.; Shorr, A.F. Multidrug resistance, inappropriate empiric therapy, and hospital mortality in *Acinetobacter baumannii* pneumonia and sepsis. *Crit. Care* **2016**, *20*, 221. [[CrossRef](#)]
27. Zilberberg, M.D.; Nathanson, B.H.; Sulham, K.; Fan, W.; Shorr, A.F. Carbapenem resistance, inappropriate empiric treatment and outcomes among patients hospitalized with *Enterobacteriaceae* urinary tract infection, pneumonia and sepsis. *BMC Infect. Dis.* **2017**, *17*, 279. [[CrossRef](#)]
28. Bassetti, M.; Vena, A.; Sepulcri, C.; Giacobbe, D.R.; Peghin, M. Treatment of bloodstream infections due to Gram-negative bacteria with difficult-to-treat resistance. *Antibiotics* **2020**, *9*, 632. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
29. Lodise, T.P.; Berger, A.; Altincatal, A.; Wang, R.; Bhagnani, T.; Gillard, P.; Bonine, N.G. Antimicrobial resistance or delayed appropriate therapy—does one influence outcomes more than the other among patients with serious infections due to carbapenem-resistant versus carbapenem-susceptible *Enterobacteriaceae*? *Open Forum Infect. Dis.* **2019**, *6*, ofz194. [[CrossRef](#)]
30. Iacchini, S.; D'Ancona, F.; Pezzotti, P.; Pantosti, A.; Iannazzo, S. *CPE, Sorveglianza Nazionale Delle Batteriemie da Enterobatteri Produttori di Carbapenemasi*; I dati 2018; Istituto Superiore di Sanità: Rome, Italy, 2019; CPE: Rapporto N. 1-I dati 2018.
31. Iacchini, S.; D'Ancona, F.; Bizzotti, V.; Giannitelli, S.; Monaco, M.; Errico, G.; Bellino, S.; Pezzotti, P.; Pantosti, A.; Iannazzo, S. *CPE: Sorveglianza Nazionale Delle Batteriemie da Enterobatteri Produttori di Carbapenemasi*; Dati 2019; Istituto Superiore di Sanità: Rome, Italy, 2019; Rapporti ISS Sorveglianza RIS2/2020.
32. Iacchini, S.; D'Ancona, F.; Pezzotti, P.; Sisi, S.; Monaco, M.; Errico, G.; Bellino, S.; Pantosti, A.; Sabbatucci, M.; Parodi, P. *CRE: Sorveglianza Nazionale Delle Batteriemie da Enterobatteri Resistenti ai Carbapenemi*; Dati 2020; Istituto Superiore di Sanità: Rome, Italy, 2021; Rapporti ISS Sorveglianza RIS-2/2021.
33. Iacchini, S.; Caramia, A.; Fadda, G.; Monaco, M.; Errico, G.; Del Grosso, M.; Giufrè, M.; Pantosti, A.; Sabbatucci, M.; Maraglino, F.; et al. *CRE: Sorveglianza Nazionale Delle Batteriemie da Enterobatteri Resistenti ai Carbapenemi*; Dati 2021; Istituto Superiore di Sanità: Rome, Italy, 2022; Rapporti ISS Sorveglianza RIS-2/2022.
34. Iacchini, S.; Caramia, A.; Fadda, G.; Giannitelli, S.; Monaco, M.; Errico, G.; Del Grosso, M.; Giufrè, M.; Pantosti, A.; Sabbatucci, M.; et al. *CRE: Sorveglianza Nazionale Delle Batteriemie da Enterobatteri Resistenti ai Carbapenemi*; Dati 2022; Istituto Superiore di Sanità: Rome, Italy, 2023; Rapporti ISS Sorveglianza RIS-3/2023.
35. Di Popolo, A.; Giannouli, M.; Triassi, M.; Brisse, S.; Zarrilli, R. Molecular epidemiological investigation of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* strains in four Mediterranean countries with a multilocus sequence typing scheme. *Clin. Microbiol. Infect.* **2011**, *17*, 197–201. [[CrossRef](#)]
36. Principe, L.; Piazza, A.; Giani, T.; Bracco, S.; Caltagirone, M.S.; Arena, F.; Nucleo, E.; Tammaro, F.; Rossolini, G.M.; Pagani, L.; et al. AMCLI-CRAB Survey Participants. Epidemic diffusion of OXA-23-producing *Acinetobacter baumannii* isolates in Italy: Results of the first cross-sectional countrywide survey. *J. Clin. Microbiol.* **2014**, *52*, 3004–3010. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] [[PubMed Central](#)]
37. D'Arezzo, S.; Principe, L.; Capone, A.; Petrosillo, N.; Petrucca, A.; Visca, P. Changing carbapenemase gene pattern in an epidemic multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* lineage causing multiple outbreaks in central Italy. *J. Antimicrob. Chemother.* **2011**, *66*, 54–61. [[CrossRef](#)]
38. Migliavacca, R.; Espinal, P.; Principe, L.; Drago, M.; Fugazza, G.; Roca, I.; Nucleo, E.; Bracco, S.; Vila, J.; Pagani, L.; et al. Characterization of resistance mechanisms and genetic relatedness of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolated from blood, Italy. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **2013**, *75*, 180–186. [[CrossRef](#)]
39. Mezzatesta, M.L.; D'Andrea, M.M.; Migliavacca, R.; Giani, T.; Gona, F.; Nucleo, E.; Fugazza, G.; Pagani, L.; Rossolini, G.M.; Stefani, S. Epidemiological characterization and distribution of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates in Italy. *Clin. Microbiol. Infect.* **2012**, *18*, 160–166. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

40. Mugnier, P.D.; Poirel, L.; Naas, T.; Nordmann, P. Worldwide dissemination of the blaO-XA-23 carbapenemase gene of *Acinetobacter baumannii*. *Emerg. Infect. Dis.* **2010**, *16*, 35–40. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
41. EUCAST Disk Diffusion Method for Antimicrobial Susceptibility Testing Version 11.0. January 2023. Available online: <http://www.eucast.org> (accessed on 1 February 2024).
42. EUCAST Disk Diffusion Method for Antimicrobial Susceptibility Testing Version 12.0. January 2024. Available online: <http://www.eucast.org> (accessed on 1 February 2024).
43. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint Tables for Interpretation of MICs and Zone Diameters. Version 13.1. 2023. Available online: <http://www.eucast.org> (accessed on 1 February 2024).
44. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint Tables for Interpretation of MICs and Zone Diameters. Version 14.0. 2024. Available online: <http://www.eucast.org> (accessed on 1 February 2024).

Отказ от ответственности/Примечание издателя: Заявления, мнения и данные, содержащиеся во всех публикациях, принадлежат исключительно отдельным авторам и соавторам, а не MDPI и/или редакторам. MDPI и/или редактор(ы) отказываются от ответственности за любой ущерб, причиненный людям или имуществу в результате использования любых идей, методов, инструкций или продуктов, упомянутых в содержании.