МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ

МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ

КАТЕДРА ПО АНЕСТЕЗИОЛОГИЯ И ИНТЕНЗИВНО ЛЕЧЕНИЕ

Д-р Александър Василев Стратев

БЪБРЕЧНОЗАМЕСТИТЕЛНА ТЕРАПИЯ В ИНТЕЗИНВНОТО ЛЕЧЕНИЕ

АВТОРЕФЕРАТ

на дисертационен труд

за присъждане на образователна и научна степен „Доктор”

7. Здравеопазване и спорт

Професионално направление: 7.1. Медицина

Докторска програма: Анестезиология и интензивно лечение

НАУЧЕН РЪКОВОДИТЕЛ:

Проф. д-р Пламен Димитров Кенаров, дм

София, 2021 г.

Дисертационният труд съдържа 163 стандартни страници и е онагледен с 21 таблици и 44 фигури. Библиографският списък включва 364 литературни източници, от които 15 на кирилица и 349 на латиница.

Дисертационният труд е обсъден и насочен за публична защита на заседание на Катедрения съвет на Катедрата по анестезиология и интензивно лечение при Медицински факултет, Медицински университет – София, провело се на 29.03.2021 г.

Публичната защита на дисертацията ще се състои на 14.09.2021 г. в аудиторията на УМБАЛ „Св. Екатерина", 14:15 часа, пред **научно жури** в състав:

1. Доц. д-р Мая Цветанова Белитова, дм – вътрешен за МУ – София, Катедра по анестезиология и интензивно лечение на Медицински факултет при МУ – София
2. Доц. д-р Йорданка Тодорова Ямакова, дм – вътрешен за МУ – София, Катедра по анестезиология и интензивно лечение на Медицински факултет при МУ – София
3. Проф. д-р Вилиян Христов Платиканов, дм – външен за МУ – София, Катедра по анестезиология, спешна и интензивна медицина, Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов" – Варна
4. Доц. д-р Стефан Хинев Иванов, дм – външен за МУ – София, пенсиониран преподавател повече от пет години
5. Доц. д-р Румяна Русева Андонова, дм – външен за МУ – София, УМБАЛ „Н. И. Пирогов", София

Резервни членове:

1. Доц. д-р Маргарита Петрова Атанасова, дм – вътрешен за МУ – София, Катедра по анестезиология и интензивно лечение на Медицински факултет при МУ – София
2. Проф. д-р Дора Маринова Танчева, дмн – външен за МУ – София, пенсиониран преподавател повече от пет години

Материалите по защитата са на разположение в Катедрата по анестезиология и интензивно лечение при Медицински факултет, МУ – София.

СЪДЪРЖАНИЕ

I. ВЪВЕДЕНИЕ 5

II. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ 7

III. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ 8

1. Протокол на проучването 8

2. Изследвани пациенти 8

3. Режими на БЗТ 10

4. Диализни катетри (ДК) 10

5. Клинико-лабораторни изследвания 11

6. Микробиологични методи за диагностика на инфекции 13

7. Определяне на чувствителността на изолатите към АМЛС 16

8. Съвременни методи за диагностика и проучване на молекулярната епидемиология на инфекциите, причинени от *A. baumannii* 17

9. Статистически анализ 18

IV. РЕЗУЛТАТИ 19

1. Медико-демографски профил на изследваната популация пациенти и рискови фактори, водещи до бъбречна дисфункция 19

2. Диагностика на ОБУ чрез серумен креатинин и специфични биомаркери 28

3. Неинфекциозни усложнения, свързани с осигуряване на временен съдов достъп за провеждане на БЗТ 40

4. Микробиологични аспекти на инфекциите, свързани с ДК, при критично болни пациенти на БЗТ 42

5. Микробиологични и молекулярно-генетични проучвания върху епидемиологията на инфекциите, причинени от XDR/MDR *A. baumannii,* и терапевтичен подход 49

V. ОБСЪЖДАНЕ 57

VI. ИЗВОДИ 64

VII. СПРАВКА ЗА НАУЧНИТЕ ПРИНОСИ 67

VIII. ПРИЛОЖЕНИЕ 69

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ:

АМЛС – антимикробни лекарствени средства

БЗТ – бъбречнозаместителна терапия

ДК – диализен катетър

ИСМО – инфекции, свързани с медицинско обслужване

ЛРА – логистичен регресионен анализ

ОБУ – остра бъбречна увреда

ПБЗТ – продължителна бъбречнозаместителна терапия

ХБЗ – хронично бъбречно заболяване

ХБН – хронична бъбречна недостатъчност

ЦВК – централен венозен катетър

COL – colistin

CRAB – карбапенем-резистентен *Acinetobacter baumannii*

CysC – цистатин С

IMP – imipenem

MDR-AB – *A. baumannii* с множествена лекарствена резистентност

MEM – meropenem

NGAL – неутрофилен желатиназа-асоцииран липокалин

PCR – полимеразна верижна реакция

PENK – проенкефалин 119–159

RAPD – случайно амплифициране на полиморфна ДНК

SAM – ampicillin-sulbactam

SCr – серумен креатинин

SXT – trimethoprim-sulfamethoxazole

TGC – tigecycline

XDR-AB – *A. baumannii* с разширена лекарствена резистентност

I. ВЪВЕДЕНИЕ

Острата бъбречна увреда (ОБУ) се среща при около половината от критично болните пациенти (Hoste E. A. et al., 2015) и е свързана с висока заболеваемост и смъртност (De Corte W. et al., 2016).

ОБУ е комплексен синдром, протичащ с внезапна загуба на бъбречните функции (хомеостазна, екскреторна и регулаторна), който се определя като едно от най-драматичните и тежки усложнения в интензивната медицина. Често е обратимо състояние, но в зависимост от причината и тежестта, може да стане необратимо и да доведе до хронично бъбречно заболяване (ХБЗ). От своя страна, ХБЗ се счита за важен рисков фактор за развитие на ОБУ, предимно при пациенти със сепсис и септичен шок.

Приблизително 5–10% от пациентите с ОБУ се нуждаят от бъбречнозаместителна терапия (БЗТ) по време на престоя си в интензивното отделение, а смъртността в популацията варира от 30% до 70% (Tandukar S. & Palevsky P. M., 2019). За последните две десетилетия, честотата на ОБУ, нуждаеща се от БЗТ, нараства с около 10% на година (Hsu R. K. et al., 2013). Съвременното интензивно лечение, насочено към подобряване на клиничния изход, като вентилация с нисък обем при респираторен дистрес синдром и агресивна обем-възстановяваща реанимация при пациенти със сепсис, може да ускори започването на БЗТ при критично болните с ОБУ, тъй като предразполага към ацидемия и обемно претоварване (Rachoin J.-S. & Weisberg L. S., 2019).

Считана за извънредна мярка в миналото, БЗТ (включваща конвенционална интермитентна хемодиализа (ИХД), продължителна БЗТ (ПБЗТ) и пролонгирана интермитентна БЗТ (ПИБЗТ)) е важна част от съвременната интензивна медицина. Въпреки налагането на ПБЗТ през последните години, най-вече при хемодинамично нестабилни пациенти с тежка бъбречна дисфункция, няма

еднозначни данни за по-добър клиничен изход при нейното приложение, в сравнение с алтернативните ИХД и ПИБЗТ (Tandukar S. & Palevsky P. M., 2019).

Основните направления в управлението на БЗТ са фокусирани както върху оптималното време за нейното започване и прекратяване, така и върху контрола на потенциалните ранни (механични) и късни (инфекциозни и тромботични) усложнения, свързани с нейното провеждане.

Временният съдов достъп за извършване на БЗТ се осигурява най-често чрез двойнолуменен диализен катетър (ДК), поставен в централна вена. Клинико-лабораторните аспекти на ДК инфекциите са по-слабо проучени от характеристиките на инфекциите, свързани с централен венозен катетър. Успешната борба с тях изисква задълбочено познаване на етиологията, патогенезата и антимикробната чувствителност на етиологичните агенти, и не на последно място развитие на мерките за профилактика.

Клиничната вариабилност на ОБУ и нейните патофизиологични механизми, както и разнообразието от БЗТ-свързани усложнения, налагат комплексен подход за ранна диагностика и мониторинг на протичането и терапията при критично болните пациенти. Развитието на клиничните, рандомизирани проучвания и фундаменталните научни изследвания в областта на специфичните биомаркери за бъбречна дисфункция и молекулярната епидемиология на ДК-асоциираните инфекции несъмнено ще доведат до усъвършенстване на поведението при ОБУ и обострено ХБЗ.

II. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

Цел на настоящия дисертационен труд е да се представи алгоритъм за диагностика на остра бъбречна увреда и контрол на ранните и късни усложнения, свързани с осигуряване на временен съдов достъп за провеждане на бъбречнозаместителна терапия в интензивното лечение.

За осъществяване на тази цел бяха поставени следните **задачи:**

1. Да се анализират медико-демографският профил и потенциалните рискови фактори (придружаващи заболявания и ятрогенни въздействия) за развитие на бъбречна дисфункция, при две мониторирани групи критично болни пациенти:
   - нуждаещи се от бъбречнозаместителна терапия;
   - рискови за развитие на остра бъбречна увреда.
2. Да се оцени възможността за ранна диагностика на остра бъбречна увреда посредством специфични биологични маркери (цистатин С, неутрофилен желатиназа-асоцииран липокалин и проенкефалин 119–159) и да се сравнят тяхната чувствителност, специфичност и предиктивна стойност, както следва:
   - непосредствено при постъпване в интензивното отделение;
   - на 24. час от началото на интензивно лечение.
3. Да се проучат неинфекциозните усложнения, свързани с осигуряване на временен съдов достъп за провеждане на бъбречнозаместителна терапия.
4. Да се определят честотата, видовете и етиологичната структура на инфекциите, свързани с диализен катетър, сред изследваните пациенти на бъбречнозаместителна терапия.
5. Да се проучи молекулярната епидемиология на инфекциите, причинени от патогени с проблемна антибиотична резистентност, при мониторираните критично болни пациенти, и да се изготвят препоръки за тяхното лечение.

III. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

1. Протокол на проучването

За целите на проучването беше създаден работен протокол, в който въвеждахме данни за пациентите, нуждаещи се от БЗТ. Той се състои от 6 раздела – *Паспортна част, Лабораторни показатели при постъпване*, *Проведена БЗТ, Обща информация за съдовия достъп, Микробиологични изследвания* и *Антимикробна терапия* (**Таблица 1**).

2. Изследвани пациенти

В проучването бяха включени общо 95 критично болни пациенти, лекувани в КАИЛ на УМБАЛ "Александровска" и ОАИЛ на УМБАЛ "Св. Иван Рилски" – София, в периода октомври 2016 – юни 2020 г. Те бяха разделени в две основни групи: *провели БЗТ* и *рискови за развитие на ОБУ*.

2.1. Пациенти, провели БЗТ

Към групата бяха причислени 55 болни в критично състояние (33 мъже и 22 жени) на средна възраст 56.4 години (диапазон 21–85) и със среден APACHE II сбор 24.2 (диапазон 10–41).

От общия брой пациенти на БЗТ, поради наличието на изградена артериовенозна фистула, бяха изключени 3 болни и анализът на ранните усложнения, настъпили при осигуряването на временен съдов достъп, беше извършен върху популация от 52 пациенти. Поради настъпил смъртен изход в първите 24 часа от приемането в интензивното отделение бяха изключени още 2 болни, при извършването на анализа на инфекциите, свързани с ДК.

Таблица 1. Протокол на проучването.

Паспортна част:

№ **5**	*Име:* **И. Д. М.**	*Възраст:* **35** г.	*Пол:* М
ИЗ №: 34299/12	*Постъпил на:* 20.01.2018 г.	*Изписан/~~починал~~ на:* 09.02.2018 г.	

Диагноза: Cholecystopancreatitis acuta. Peritonitis generale. Sepsis.

Пред. заболявания: Отрича.

Оперативни интервенции: Laparotomia. Cholecystectomia. Relaparotomia. Lavage et drenage.

Лабораторни показатели при постъпването:

HGB	93	*Glu*	7.2	*ASAT*	45	*PT*	17.3	*pH*	7.38	*tCO_2*	19.7
WBC	23.5	*Creat*	68	*ALAT*	44	*INR*	1.4	*pCO_2*	4.75	*O_2 SAT*	91%
RBC	3.3	*Urea*	3.7	*GGT*	339	*Fibr*	6.2	*pO_2*	5.18		
HCT	0.29	*K^+*	4.27	*TProt*	51	*aPTT*	25.7	*SB*	21.3		
PLT	413	*Na^+*	143	*Albumin*	28			*BE*	-3.3		

Проведена бъбречнозаместителна терапия:

~~Intermittent HD~~ ✓ Continuous RRT

Blood Pump:	200 ml/min	*Effluent dose:*	36 ml/kg/h	*PA:*	-73
PBP:	100 ml/h	*UFR dose:*	33 ml/kg/h	*PV:*	151
Replacement:	3200 ml/h	*Filtration fraction:*	36 %	*Filter:*	198
Effluent:	3300 ml/h	*Fluid removal:*	80 ml/h	*TMP:*	60

Обща информация за съдовия достъп:

Съдов достъп: *Vena jugularis interna sin.*

Ехографски контрол: Да

Ранни усложнения: Няма

Микробиологични изследвания:

Ден 1ви ранев с-т: *Enterococcus faecalis*

Ден 3ти ранев с-т: *Acinetobacter baumannii*

Ден 7ми ранев с-т: *Klebsiella pneumoniae; Staphylococcus coagulase-negative; Candida krusei*

Хемокултура: *E. faecalis*

Връх дезиле: *A. baumannii*

Други: Няма.

Антимикробна терапия:

Ceftriaxone 2x1g ; Meronem 3x1g ; Colistin 3x1 mil E

2.2. Рискови пациенти за развитие на ОБУ

В групата бяха включени 40 критично болни пациенти (23 мъже и 17 жени) на средна възраст 60.3 години (диапазон 21–80) и със среден APACHE II сбор 23.6 (диапазон 11–40), от които 17 броя (42.5%) с доказан сепсис и 23 броя (57.5%), подложени на неврохирургична оперативна или ендоваскуларна интервенция с нефротоксично контрастно вещество. Основният критерий за причисляване на пациенти към тази група беше наличие на един или повече видове органна недостатъчност, която не е бъбречна, и липса на анамнеза за ХБН.

3. Режими на БЗТ

При преобладаващата част от пациентите на БЗТ (n=49) беше проведено интермитентно хемодиализно лечение със средна продължителност 4 астрономически часа на курс. Терапията беше осъществена посредством апарат за хемодиализа 4008S (Fresenius Medical Care, Germany).

При останалите 6 пациенти беше приложена продължителна вено-венозна хемодиафилтрация, като при 1 от тях тя беше редувана с бавна продължителна ултрафилтрация. За осъществяване на терапията бяха използвани апарат за ПБЗТ PrismaFlex (Baxter, USA) и филтри, както следва: ST150 (Baxter) (при 4 пациенти), oXiris мембрана с хепариново покритие (Baxter) (при двама), а при един от тях допълнително беше включен CytoSorb филтър (CytoSorbents, USA), заедно с основния.

4. Диализни катетри (ДК)

За осигуряване на временен съдов достъп, за провеждане на БЗТ, бяха използвани полиуретанови, двойнолуменни ДК ARROW (n=40) и ARROWg^{+}ard с

антимикробно покритие (n=12) (Teleflex, USA) с дължина 20 cm и дебелина 12 Fr, снабдени с допълнителни, странично разположени отвори. При поставянето им съблюдавахме процедури по осигуряване на асептика и антисептика, в съответствие с приетите в клиниките протоколи. При пациенти с анатомични особености и малформации и/или болестно затлъстяване използвахме ехографски контрол.

5. Клинико-лабораторни изследвания

5.1. Проби за изследване

Кръвта беше взета при стандартни условия – непосредствено след приема на пациента в интензивно отделение и на 24. час от лечението, от кубиталната вена. Пробите бяха разпределяни в три вакутейнера, два от които за серум със сепарационен гел за изследване на биохимични показатели, и един K_2EDTA със сепарационен гел за отделяне на плазма. Кръвните проби от първия бяха изпратени за изследване на серумен креатинин (по метода на Jaffe, основаващ се на неспецифична цветна реакция) и урея в същия ден. От втория и третия вакутейнер бяха отделени съответно серум и плазма (посредством центрофугиране), които бяха прехвърлени във вторични епруветки тип Eppendorf и дълбоко замразени при -70^{o} C до провеждане на анализа на специфичните биомаркери за ОБУ – цистатин С (CysC), неутрофилен желатиназа-асоцииран липокалин (NGAL) и проенкефалин 119–159 (PENK). Плазмен PENK беше изследван в специализираната лаборатория на SphingoTec GmbH (Germany).

5.2. Определяне на серумните CysC и NGAL при рискови пациенти за развитие на ОБУ

Серумните концентрации на CysC и NGAL бяха определени посредством Ензимно-свързан имуносорбентен анализ (ELISA) – тип „сандвич”, с използване

на следните търговски китове: Human Cystatin C ELISA и Human Lipocalin-2/NGAL C ELISA (BioVendor, Czech Republic).

Резултатите за CysC бяха отчетени като серумна концентрация, изразена в ng/ml, след което бяха преобразувани в по-удобните за практиката mg/L. Съгласно възприетите референтни граници, за патологично повишени приемахме всички стойности над 1.15 mg/L (Toffaletti J. G., 2017). Концентрацията на NGAL беше изразена в ng/ml. За патологично повишени приемахме всички стойности над 167 ng/ml (Negrin L. L. et al., 2018).

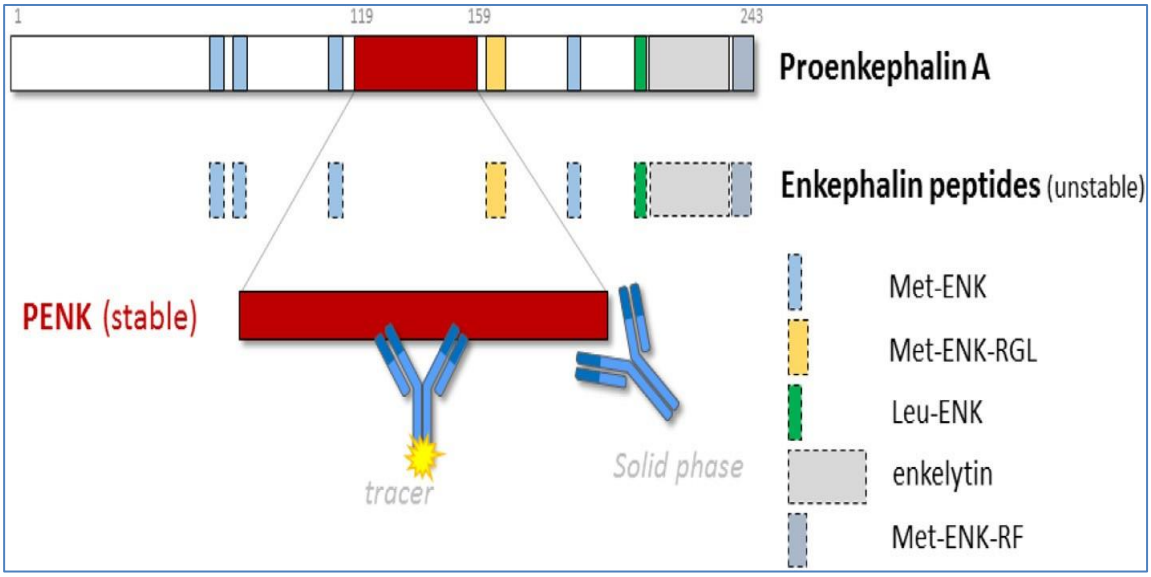
5.3. Имуноанализ за измерване на проенкефалин

Стабилността на биологично активните енкефалини след вземането на проби е кратка (15 минути полуживот), което прави лабораторното измерване на физиологичните концентрации почти невъзможно (Andersen M. B. et al., 2016). Пептидът проенкефалин А, в участъка на аминокиселини 119–159 (PENK), се произвежда в пропорционални концентрации спрямо активните пептиди и е стабилен след вземане на пробата в продължение на поне няколко дни (Ernst A. et al., 2006).

Беше извършен PENK имуноанализ с хемилуминисценция от ново поколение – тип „сандвич" (търговско наименование *sphingotest penKid*), който използва две силно специфични моноклонални антитела (Donato L. J. et al., 2018), насочени срещу PENK 129–144 (анти- PENK 129–144 mAb) и PENK 152–159 (анти- PENK 152–159 mAb) (**Фигура 1**). Пречистеното анти-PENK 129–144 mAb, белязано с MACN-Acridinium-NHS-естер, изпълнява ролята на проследяващо антитяло. Микротитърните полистиренови плаки (Greiner Bio-One Int., Austria) са покрити с анти-PENK 152–159 ("capture" антитяло).

Концентрацията на PENK беше определяна с помощта на 5-точкова калибрационна крива (30.8–2496 pmol/L) за 18-часовата версия и 6-точкова

калибрационна крива (0 [дефинирана като 5.5] – 1540 pmol/L) за 1-часовата версия на експеримента. Съгласно възприетите референтни граници, за патологично повишени приемахме всички стойности над 80 pmol/L (Marino R. et al., 2015).



Фигура 1. Схема, показваща структурата на проенкефалина и измерването на проенкефалин 119–159 (PENK). Протеолитичното разцепване на проенкефалин 1–243 води до получаване на четири копия на Met-ENK и по едно копие на Leu-ENK, Met-ENK-RGL, Met-ENK-RF и енкелитин, съответно. Описаният тук анализ използва моноклонални антитела, насочени срещу средната част на PENK (т. нар. проследяващо антитяло – "tracer") и срещу С-края (захванато антитяло върху твърда фаза – "capture"), съответно.

6. Микробиологични методи за диагностика на инфекции

6.1. Полуколичествено изследване на дисталния сегмент от ДК

Състои се в търкаляне на дисталните 3-5 cm от ДК (неговото връхче) по повърхността на кръвен агар – петрита с диаметър 9 cm, поне в 4 различни направления, извършено с помощта на стерилна пинсета (Maki D. G. et al., 1977). След култивиране в продължение на 18–24 часа на 35.5±1.0 °C се брояха поникналите колония-образуващи единици (CFUs) и се идентифицираха вида на изолата и неговата чувствителност към антимикробни лекарствени средства

(АМЛС). Наличието на 15 или повече CFUs от един микробен вид беше показател за значима колонизация на катетъра.

6.2. Културелно изследване на ранев секрет от пункционното място

За извършването му беше приложен оригинален протокол, въведен от екипа, позволяващ диференциране на ранна от късна локална инфекция, възникваща на пункционното място. Вземането на секретите ставаше при спазване на правилата за асептика и антисептика със стерилен памучен тампон или стерилна спринцовка с игла (при изтичащ ексудат) трикратно, както следва: на 1. ден (след 24 часа), 3. ден и 7. ден след поставяне на ДК. Материалите бяха инокулирани в транспортна среда на Stuart и подложени на стандартно културелно изследване.

6.3. Определяне на диференциалното време за позитивиране на чифтни проби хемокултури, взети едновременно от ДК и от периферна вена

Едновременно взимахме по 10 ml кръв от ДК и от периферна вена, след което инокулирахме по 5 ml кръв от двата източника в BACTEC среди за аеробно и анаеробно култивиране (BD, USA). Изследването беше провеждано планово на 3. ден след поставяне на ДК при всички пациенти, както и при всяка поява на симптоми, предполагащи инфекция на кръвта. Беше използвана автоматизирана система BACTEC 9050 (BD). За положителен резултат приемахме случаите, когато и двете хемокултури позитивираха до 72. час след поставяне в апарата, изолираният микроорганизъм беше еднакъв по вид и антибиотична чувствителност и хемокултурата с кръв, взета през ДК, даваше положителен резултат поне 120 минути преди другата (Blot F. et al., 1998)..

6.4. Културелно изследване на трахеобронхиални аспирати

Трахеобронхиалните аспирати бяха взети посредством стерилен аспирационен катетър в съответствие с прилагания в клиниката протокол за асептика и антисептика.

6.5. Идентификация на изолираните микробни видове

За видова идентификация бяха използвани търговските китове *BD BBL Crystal Gram-positive ID kit* и *BD BBL Crystal Enteric/Nonfermenter ID kit*.

6.6. Критерии за диагноза на ДК-свързани инфекции

Бяха възприети критериите на Центъра по контрол и предотвратяване на заболявания (CDC) (O'Grady N. P. et al., 2011), които са изложени по-долу:

Липса на колонизация на ДК: изолиране на <15 CFUs по метода на Maki *et al.* или липса на микробен растеж.

Значима ДК колонизация: положителен резултат по метода на Maki *et al.* (≥15 CFUs, изолирани от дисталния сегмент на ДК) и отсъствие на клинични симптоми на инфекция в мястото на поставяне на ДК.

Локална ДК инфекция (инфекция на пункционното място): клинични данни за възпаление на пункционното място (зачервяване, затопляне, болезненост, уплътняване с диаметър поне 1.5 cm, със или без отделяне на гноен ексудат), в съчетание със значима ДК колонизация. Локалните инфекции бяха разделяни на ранни (с проява до 3. ден след поставяне на ДК) и късни (отчетени на 7. ден според приложения протокол).

ДК бактериемия: значима ДК колонизация + изолиране на еднакъв микроорганизъм (идентичен вид и еднаква антимикробна чувствителност на щамовете) от двете хемокултури, с позитивиране на централната поне 2 часа по-рано от периферната.

ДК сепсис: Всяка ДК бактериемия, при която са налице клинични данни за сепсис, т. е. изпълнени са две или повече от следните условия: хипо- или хипертермия (телесна температура >38ºC или <36ºC), тахикардия (сърдечна честота >90 удара/мин), тахипнея (дихателна честота >20 вдишвания/мин) или

хипокапния ($PaCO_2$ <32 mm Hg) и левкоцитоза или левкопения (брой на левкоцитите в периферна кръв >12 000/ml или <4 000/ml).

7. Определяне на чувствителността на изолатите към АМЛС

Антимикробната чувствителност беше установена чрез градиентен тест за определяне на минимални потискащи концентрации на антибиотиците – MIC test strip (Liofilchem), изпълнен съгласно инструкциите на производителя и интерпретиран в съответствие с действащите критерии на Европейския комитет за тестване на антимикробната чувствителност (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) от 2020 г. (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST), 2020).

Дефиниране на изолати *Acinetobacter baumannii* с множествена лекарствена резистентност (MDR), разширена лекарствена резистентност (XDR) и пълна лекарствена резистентност (PDR)

За MDR бяха считани изолатите, показали нечувствителност към поне 1 препарат в 3 или повече категории/класове АМЛС. За XDR бяха приемани показалите нечувствителност към поне 1 препарат във всички, с изключение на 2 или 1 от подходящите за *Acinetobacter* spp. категории/класове, а за PDR – характеризиращите се с нечувствителност към всички представители на всички категории/класове (Magiorakos A. P. et al., 2012).

8. Съвременни методи за диагностика и проучване на молекулярната епидемиология на инфекциите, причинени от *A. baumannii*

8.1. Изолиране на бактериална ДНК чрез търговски кит

8.2. Молекулярно-генетичен метод за идентификация на щамове *A. baumannii*

Беше приложена полимеразна верижна реакция (PCR) за детекция на *gyrB* гена, която позволява успешно разграничаване на биохимично неразличимите видове от група *Acinetobacter calcoaceticus-Acinetobacter baumannii* complex (Higgins P. G. et al., 2007).

8.3. Епидемиологично типизиране посредством случайно амплифициране на полиморфна ДНК чрез полимеразна верижна реакция (Random amplification of polymorphic DNA-polymerase chain reaction, RAPD-PCR)

RAPD-PCR реакциите бяха осъществени в обем от 25 μl в буферна система с KCl при крайни концентрации на $MgCl_2$ 2 mM, на четирите dNTPs, съотв. по 0,2 mM от всяко, на M13 праймера (5'-GAGGGTGGCGGTTCT-3') 0.2 mM, общо количество на ДНК около 50 ng и 0.5 U JumpStart™ Taq-полимераза (Sigma-Aldrich). Протоколът за амплификация е представен на **Таблица 2.**

Таблица 2. RAPD-PCR протокол за епидемиологично типизиране на нозокомиални изолати *A. baumannii* от пациенти на БЗТ (Grundmann H. J. et al., 1997).

Протокол за амплификация:			
1	**Начална денатурация на ДНК**	94°C	2 min
2	**35 цикъла:** • ***денатурация*** • ***прикачване на праймера*** • ***синтез***	 94°C 50°C 72°C	 20 sec 1 min 20 sec
3	**Терминална елонгация на веригата**	72°C	5 min

9. Статистически анализ

Лабораторните показатели, отразяващи бъбречната функция, бяха подложени на софтуерна обработка чрез *Statistical Package for the Social Sciences* (IBM SPSS) *ver. 27* (SPSS Inc., USA) и Microsoft Excel (Microsoft Corp., USA) за софтуерна обработка на лабораторните показатели Резултатите бяха представени чрез графики от типа "ROC curve" и "box-plot", а числовите стойности – като медиани и интерквартилни диапазони. Бяха използвани следните параметрични тестове за проверка на хипотези при нормално и близко до нормалното разпределение на случаите: вариационен, корелационен, логистично-регресионен и дескриптивен анализ.

Чрез *t*-тест на Стюдънт бяха анализирани честотата на ДК-свързани инфекции в различни групи в настоящия дисертационен труд и спрямо резултати от предходни научни изследвания. Тестът беше приложен и при сравнение между данните, касаещи разпространението на ранни неинфекциозни усложнения в нашето изследване, и тези за антимикробната лекарствена резистентност на проблемни изолати, и аналогични такива при болни в критично състояние от други проучвания. За статистически значими бяха приемани стойности на *p* под 0.05.

UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) биоинформатичен анализ беше използван за определяне на филогенетичното родство между проучените нозокомиални щамове *A. baumannii* и за построяване на филогенетични дървета. За построяване на дендрограмите беше използван специализиран софтуер *Gene tools™ software ver. 4.01* (Syngene, UK).

IV. РЕЗУЛТАТИ

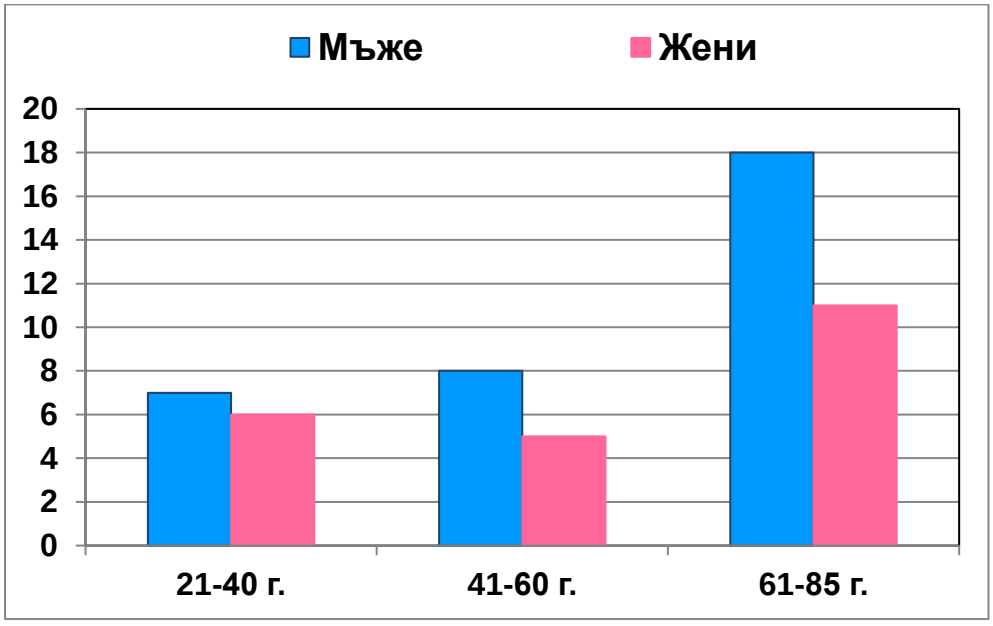
1. Медико-демографски профил на изследваната популация пациенти и рискови фактори, водещи до бъбречна дисфункция

1.1. Пациенти, провели БЗТ в интензивно отделение

1.1.1. Демографски характеристики

По-голяма част от пациентите в анализираната популация (60%, n=33) бяха от мъжки пол. Съответно, процентът на жените беше 40% (n=22).

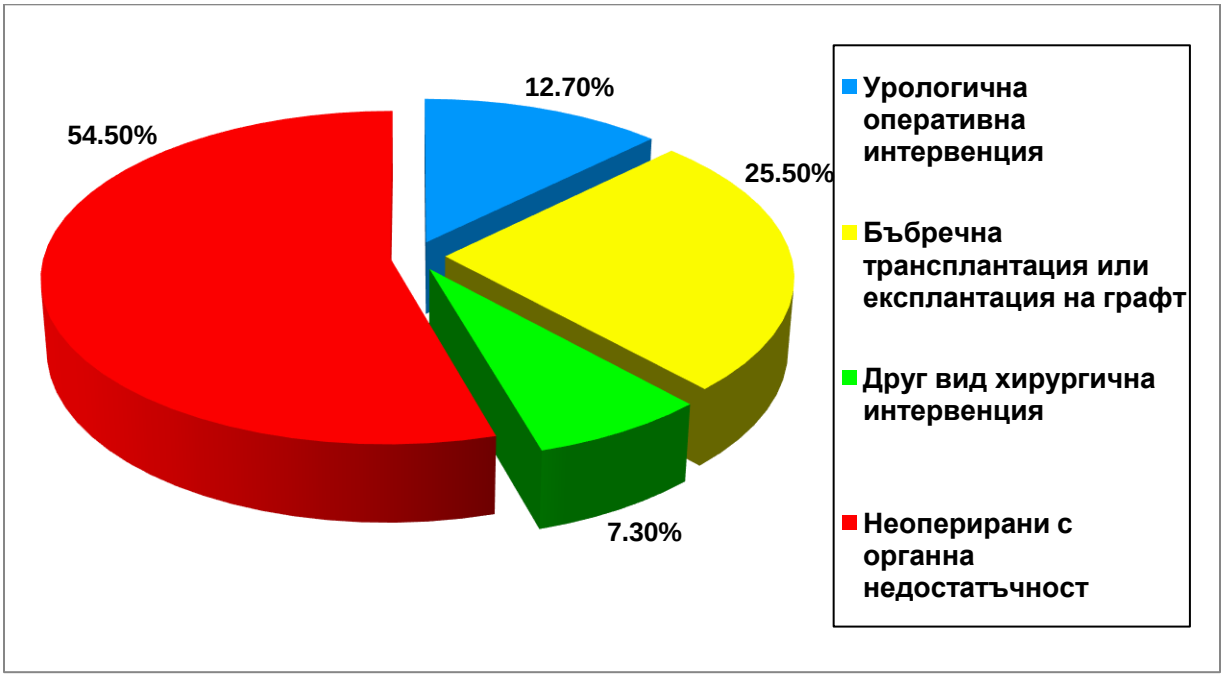
Възрастовият диапазон на проучените болни беше широк (от 21 до 85 години). Бяха обособени следните три категории: млади (21–40 г.), средна (41–60 г.) и напреднала възраст (61–85 г.). Разпределението е представено на **Фигура 2.** Повече от половината бяха в напреднала възраст (52.7%; n=29, от които 18 мъже и 11 жени), а относителните дялове на пациентите в средна и млада възраст бяха равни (23.6%; n=13, с преобладаване на мъжкия пол и в двете групи).



Фигура 2. Разпределение по възраст (брой) на пациентите, провели БЗТ.

1.1.2. Клиничен статус

Най-много от пациентите, провели БЗТ (n=30, 54.5%), бяха неоперирани с органна недостатъчност. Останалата част (n=25, 45.5%) претърпяха хирургична интервенция, както следва: бъбречна трансплантация или експлантация на графт (25.5%), урологична операция (12.7%) и друг вид хирургично лечение (7.3%) (**Фигура 3**). Тежестта на състоянието, оценено чрез APACHE II сбор, в четирите диагностично-терапевтични групи е демонстрирано в **Таблица 3.** При неоперираните с органна недостатъчност най-многочислена беше групата с висок APACHE II сбор (30–41 т.) – 17 от общо 30 пациенти (56.7%). При оперираните, независимо от вида на хирургичната интервенция, най-висок беше относителният дял на болните с нисък APACHE II (10–19 т.) – 85.7% (урологична), 71.4% (бъбречна трансплантация или експлантация) и 50% (друга).



Фигура 3. Процентно разпределение на пациентите, провели БЗТ, според основното заболяване.

Таблица 3. Съпоставяне тежестта на състоянието (APACHE II) в основните диагностично-терапевтични групи пациенти, провели БЗТ.

Диагностично-терапевтични групи	Брой пациенти	Сбор по APACHE II (точки)		
		10–19	20–29	30–41
Неоперирани с органна недостатъчност	30	4 (13.3%)	9 (30%)	17 (56.7%)
Бъбречна трансплантация или експлантация на графт	14	10 (71.4%)	3 (21.4%)	1 (7.1%)
Урологична оперативна интервенция	7	6 (85.7%)	1 (14.3%)	0 (0%)
Друг вид хирургична интервенция	4	2 (50%)	1 (25%)	1 (25%)
ОБЩО:	**55**	**22 (40%)**	**14 (25.5%)**	**19 (34.5%)**

При повече от половината от пациентите на БЗТ (52.7%) беше констатиран смъртен изход. При останалите се оформиха две подгрупи: с ранна преживяемост (до 1 година след изписване) – 21.8%, и късна преживяемост (след първата година) – 25.5%.

1.1.3. Рискови фактори за развитие на тежка бъбречна дисфункция, нуждаеща се от БЗТ

Обсъжданите в литературата основни рискови фактори, водещи до бъбречна дисфункция, бяха разгледани при нашите пациенти, като на **Таблица 4.** са показани тяхната честота и доверителен интервал.

Таблица 4. Рискови фактори развитие на тежка бъбречна дисфункция, нуждаеща се от БЗТ, при мониторираните 55 пациенти.

Рисков фактор	Групи/подгрупи: Брой пациенти (% от общия брой пациенти)	СО и ДИ в %
Хронична бъбречна недостатъчност*	Да: 17 (30.9)	±6.1 (24.8–37)
	Не: 38 (69.1)	±6.1 (63–75.2)
Захарен диабет	Да: 9 (16.4)	±4.9 (11.5–21.3)
	Не: 46 (83.6)	±4.9 (78.3–88.5)
Авансирал малигнен процес	Да: 12 (21.8) • Първичен: 7 (12.7) • Метастазирал: 5 (9.1)	±5.5 (16.3–27.3) ±4.4 (8.3–17.1) ±3.8 (5.3–12.9)
	Не: 43 (78.2)	±5.5 (72.7–83.7)
Тежко системно възпаление	Да: 17 (30.9)	±6.1 (24.8–37)
	Не: 38 (69.1)	±6.1 (63–75.2)
Тъканно страдание	Да: 36 (65.5) • Тежка нестабилност в ХД: 36 (65.5) • Хипоксемия: 29 (52.7)**	±6.3 (59.2–71.8) ±6.3 (59.2–71.8) ±6.6 (46.1–59.3)
	Не: 19 (34.5)	±6.3 (28.2–40.8)
Урологична операция	Да: 7 (12.7)	±4.4 (8.3–17.1)
	Не: 48 (87.3)	±4.4 (82.9–91.7)
Бъбречна трансплантация или експлантация на графт	Да: 14 (25.5)	±5.8 (19.7–31.3)
	Не: 41 (74.5)	±5.8 (68.7–80.3)
Друг вид хирургична интервенция с голям обем и сложност	Да: 4 (7.3)	±3.4 (3.9–10.7)
	Не: 51 (92.7)	±3.4 (89.3–96.1)

СО – стандартно отклонение, ДИ – доверителен интервал, ХД – хемодинамика.

* ХБН в стадий, неизискващ бъбречнозаместителна терапия преди хоспитализацията.

**** Сборът от броя (съотв. %) на пациентите в подгрупите надвишава общия брой (съотв. %) на пациентите в основната група, тъй като при някои от тях са констатирани двата типа тъканно страдание.

Като рискови фактори с най-висока честота сред изследваната популация пациенти са очертаха: тъканно страдание (65.5%), тежко системно възпаление (30.9%), ХБН (30.9%), бъбречна трансплантация или експлантация на графт (25.5%) и авансирал малигнен процес (21.8%).

Към фактора „тъканното страдание" бяха причислени всички исхемични състояния, възникнали при тежка хиповолемия, в това число и хеморагичен шок; екстремно ниски стойности на артериалното налягане (средно артериално налягане под 60 mmHg за дълъг период от време); нужда от инфузия на катехоламини във високи дози; и продължителна хипоксемия (pO_2<10.5 kPa и $SatO_2$<90%).

Рисковият фактор „авансирал малигнен процес" обедини първични бъбречни тумори (налични при 12.7% от всички проследени пациенти), довели до отстраняване на органа, и метастатични тумори (при 9.1% от тях).

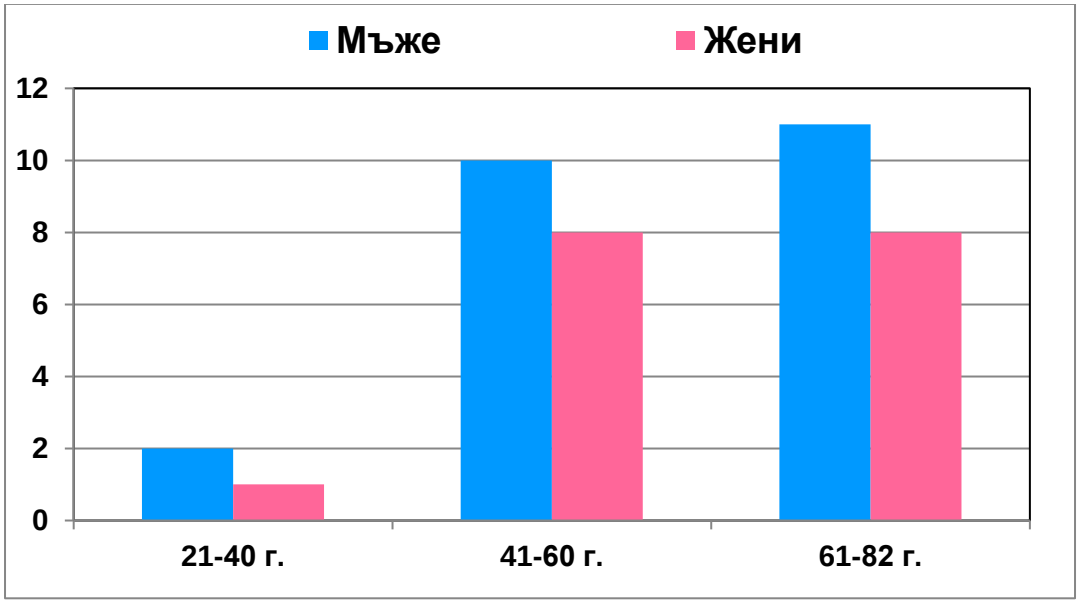
Като фактори с второстепенно значение за развитие на бъбречна дисфункция бяха определени захарният диабет с лош контрол (16.4%) и оперативните интервенции, различни от бъбречна трансплантация/експлантация (общо 20%).

1.2. Пациенти в риск за развитие на ОБУ

1.2.1. Демографски характеристики

При проследените пациенти, рискови за развитие на ОБУ, беше наблюдавано сходно разпределение по пол, както при популацията на БЗТ. Мъжете бяха доминиращата част (58%, n=23), а жените съставляваха 42% (n=17) от извадката.

Възрастовият диапазон отново беше в широки граници (от 21 до 82 години). Разпределението в трите категории е представено на **Фигура 4.** Най-ниският относителен дял беше на пациентите в млада възраст (7.5%; n=3, от които 2 мъже и 1 жена). Болните в средна и напреднала възраст бяха съответно 45% (n=18) и 47.5% (n=19), с преобладаване на мъжкия пол и в двете групи.



Фигура 4. Разпределение по възраст (брой) на рисковите пациенти за развитие на ОБУ.

1.2.2. Клиничен статус

Преобладаващата част от рисковите пациенти за развитие на ОБУ (n=23, 57.5%), бяха хоспитализирани в интензивното отделение след претърпяна неврохирургична оперативна или ендоваскуларна интервенция с нефротоксично контрастно вещество. Другите болни (n=17, 42.5%) постъпиха като неоперирани, с доказана органна недостатъчност, различна от бъбречна (**Фигура 5**).



Фигура 5. Процентно разпределение на пациентите, в риск от развитие на остра бъбречна увреда, според основното заболяване.

Тежестта на състоянието в двете диагностично-терапевтични групи е демонстрирано в **Таблица 5.** При оперираните, при които е използвано нефротоксично контрастно вещество, най-многочислена беше групата с нисък APACHE II сбор (10–19 т.) – 12 от общо 23 пациенти (52.2%). При неоперираните, най-висок беше относителният дял на болните с висок APACHE II (30–41 т.) – 47.1% (n=8), следван от тези със среден сбор (20–29 т.) – 35.3% (n=6).

За разлика от пациентите, провели БЗТ, голяма част от болните в тази популация бяха дехоспитализирани от лечебното заведение (80%; n=32). Само при една пета от тях беше констатиран смъртен изход (20%, n=8)

Таблица 5. Съпоставяне тежестта на състоянието (APACHE II) в двете диагностично-терапевтични групи пациенти, рискови за развитие на ОБУ.

Диагностично-терапевтични групи	Брой пациенти	Сбор по APACHE II (точки)		
		10–19	20–29	30–41
Неоперирани с органна недостатъчност, различна от бъбречна	17	3 (17.6%)	6 (35.3%)	8 (47.1%)
Неврохирургична оперативна или ендоваскуларна интервенция с нефротоксично контрастно вещество	23	12 (52.2%)	8 (34.8%)	3 (13%)
ОБЩО:	**40**	**15 (37.5%)**	**14 (35%)**	**11 (27.5%)**

1.2.3. Потенциални рискови фактори за развитие на ОБУ

В **Таблица 6.** са представени честота и доверителен интервал на основните придружаващи заболявания, патологичните състояния и ятрогенни въздействия, възникнали по време на интензивното лечение, които притежават потенциал да доведат до развитие на ОБУ при проучените пациенти.

Най-честите придружаващи заболявания, патологични състояния и ятрогенни въздействия сред мониторираната рискова популация бяха: авансирал малигнен процес (72.5%), оперативна интервенция с голям обем и сложност (57.5%), употребата на нефротоксични контрастни вещества (57.5%), тъканно страдание (55%) и тежко системно възпаление (42.5%). Захарният диабет с лош контрол беше установен в ¼ от тези пациенти.

Седем от всички 40 пациенти (17.5%) действително развиха ОБУ при престоя и лечението в интензивното отделение. На **Таблица 7.** са обобщени рисковите фактори за настъпване на ОБУ, на база на предварително определените потенциални фактори. Всички пациенти бяха с първичен или вторичен малигнен процес и при всички тях беше установено тъканно страдание. Като друг основен

рисков фактор се очерта тежкото системно възпаление, което възникна в хода на лечението, при 71.4% (n=5) от критично болните. Като фактори с второстепенно значение бяха оценени захарният диабет и оперативната интервенция с употреба на нефротоксично контрастно вещество (28.6%; n=2).

Таблица 6. Придружаващи заболявания, патологични състояния и ятрогенни въздействия с потенциал за развитие на ОБУ при проучените 40 рискови пациенти.

Анализиран фактор	**Групи/подгрупи: Брой пациенти (% от общия брой пациенти)**	**СО и ДИ в %**
Захарен диабет	Да: 10 (25)	±6.7 (18.3–31.7)
	Не: 30 (75)	±6.7 (81.7–81.7)
Авансирал малигнен процес	Да: 29 (72.5) • Първичен: 11 (27.5) • Метастазирал: 18 (45)	±6.9 (65.6–79.4) ±6.9 (20.6–34.4) ±7.7 (37.3–52.7)
	Не: 11 (27.5)	±6.9 (20.6–34.4)
Тежко системно възпаление	Да: 17 (42.5)	±7.6 (34.9–50.1)
	Не: 23 (57.5)	±7.6 (49.9–65.1)
Тъканно страдание	Да: 22 (55) • Тежка нестабилност в ХД: 22 (55) • Хипоксемия: 9 (22.5)*	±7.7 (47.3–62.7) ±7.7 (47.3–62.7) ±6.5 (16–29)
	Не: 18 (45)	±7.7 (37.3–52.7)
Нефротоксични контрастни вещества	Да: 23 (57.5)	±7.6 (49.9–65.1)
	Не: 17 (42.5)	±7.6 (34.9–50.1)
Оперативна интервенция с голям обем и сложност	Да: 23 (57.5)	±7.6 (49.9–65.1)
	Не: 17 (42.5)	±7.6 (34.9–50.1)

СО – стандартно отклонение, ДИ – доверителен интервал, ХД – хемодинамика.

***** Сборът от броя (съотв. %) на пациентите в подгрупите надвишава общия брой (съотв. %) на пациентите в основната група, тъй като при някои от тях са установени двата типа тъканно страдание.

Таблица 7. Рискови фактори за настъпване на бъбречна дисфункция при пациентите, развили остра бъбречна увреда (n=7).

Инициали	ЗД	АМП	ТСВ	ТС	НфТК	Операция
Г. Р. С.		✓	✓	✓	✓	✓
Й. Т. М.		✓	✓	✓		
В. Д. Г.		✓	✓	✓		
В. Г. К.	✓	✓		✓		
С. А. Д.		✓		✓		
А. С. М.		✓	✓	✓		
В. Б. Ш.	✓	✓	✓	✓	✓	✓

ЗД – захарен диабет, АМП – авансирал малигнен процес (първичен или метастазирал), ТСВ – тежко системно възпаление, ТС – тъканно страдание (нарушения в хемодинамиката и/или хипоксемия), НфТК – нефротоксични контрастни вещества.

2. Диагностика на ОБУ чрез серумен креатинин и специфични биомаркери

При 40 болни в критично състояние и с риск от развитие на бъбречна дисфункция, бяха определени следните показатели: серумен креатинин (SCr), серумен CysC, серумен NGAL и плазмен PENK.

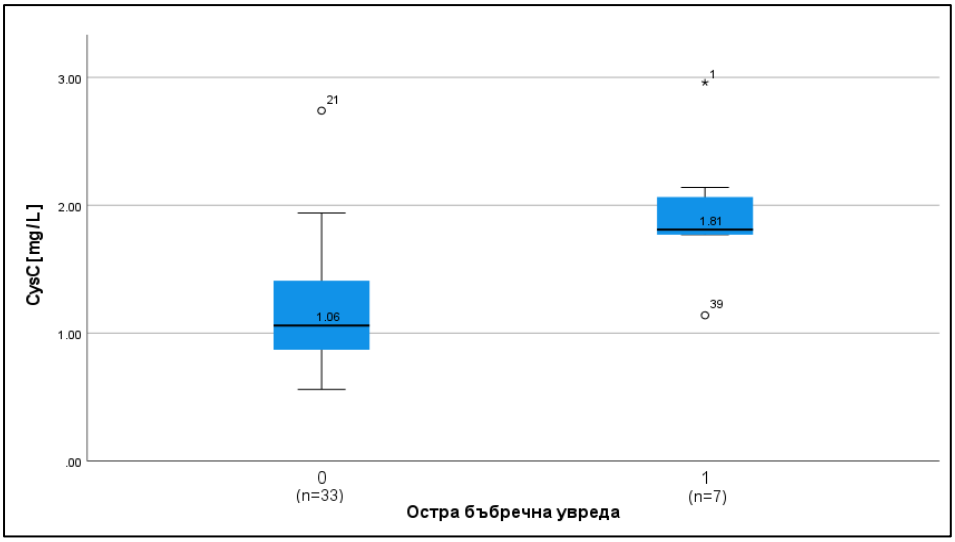
Диагнозата „ОБУ” беше поставена при 7 от изследваните 40 пациенти (17.5%) на база на действащите критерии, въведени от KDIGO (Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Acute Kidney Injury Work Group, 2012), при 4 от които (57.1%) настъпи смъртен изход. При останалите 33 болни (82.5%) не бяха установени клинични и лабораторни нарушения в бъбречната функция. На всички анализирани показатели бяха определени *чувствителност* (способност на теста за правилно идентифициране на доказаното заболяване) и *специфичност* (способност на теста за правилно идентифициране на здрави пациенти).

2.1. Ранна диагностика, непосредствено при постъпване в интензивното отделение

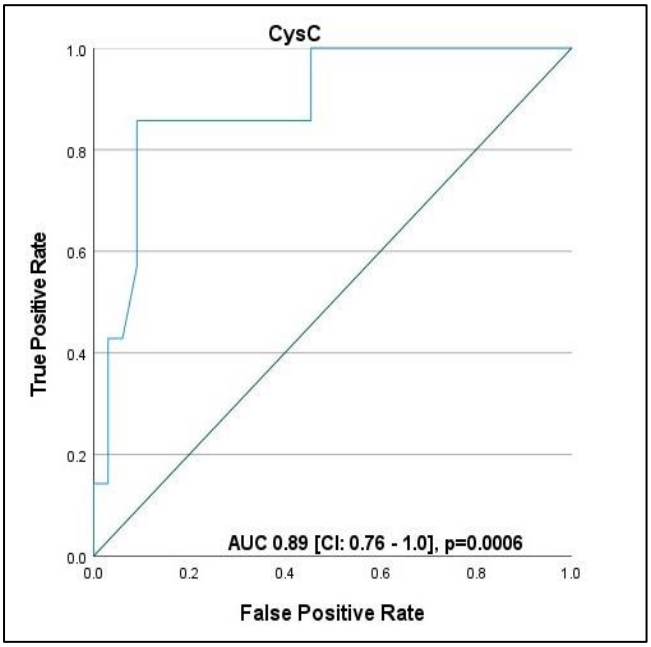
2.1.1. Нива на серумен CysC

Разпределението на серумните концентрации на CysC при изследваните критично болни е показано на **Фигура 6.** Сред пациентите, неразвили ОБУ, x_{min} беше 0.56 mg/L, Me – 1.06 mg/L, а x_{max} – 1.94 mg/L. CysC на пациент № 21 (2.74 mg/L) не попадна в размаха. При развилите ОБУ и трите стойности бяха по-високи от съответните при другата група пациенти: x_{min}=1.77 mg/L (3.2 пъти по-висока), Me=1.81 mg/L (1.7 пъти) и x_{max}=2.14 mg/L. Показателите на двама пациенти (№№ 1, 39) останаха извън диапазона: 1.14 mg/L (гранична стойност) и 2.96 (екстремно висока).

Беше установена висока чувствителност (86%), но ниска специфичност (55%). По тази причина, приложението на CysC като самостоятелен маркер в най-ранния етап от диагностиката на ОБУ е неподходящо. **Фигура 7.** изобразява прогностичната стойност на CysC в диагностиката на ОБУ. Изчислената AUC (95% CI) беше 0.89 [CI: 0.76–1.0]. Логистичният регресионен анализ (ЛРА) показа висока прогностична способност на показателя (p=0.0006).



Фигура 6. Петчислено представяне на серумните концентрации на цистатин С на 0. час според критерия „развитие на остра бъбречна увреда" в изследваната група пациенти: 0 – неразвили, 1 – развили.

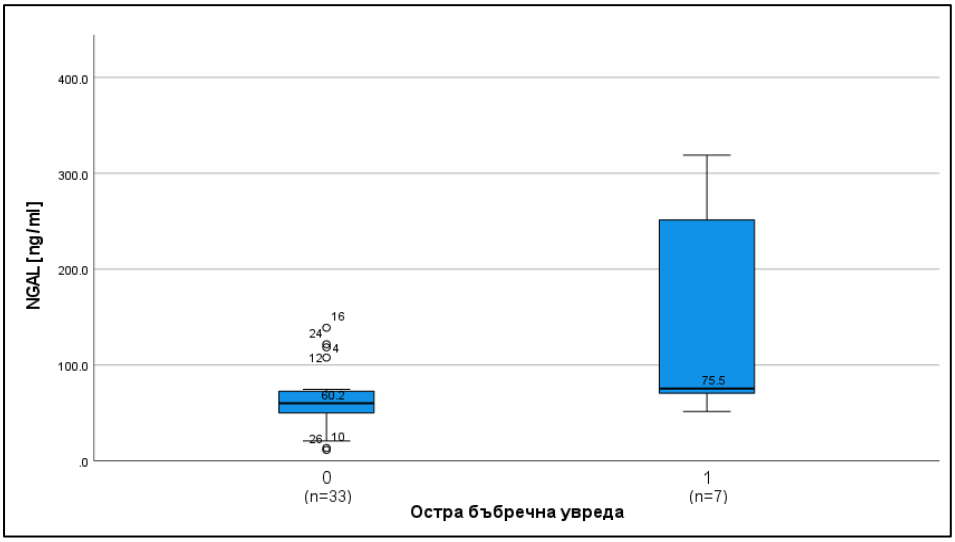


Фигура 7. Прогностична стойност на серумния цистатин С на 0. час – ROC curve графика.

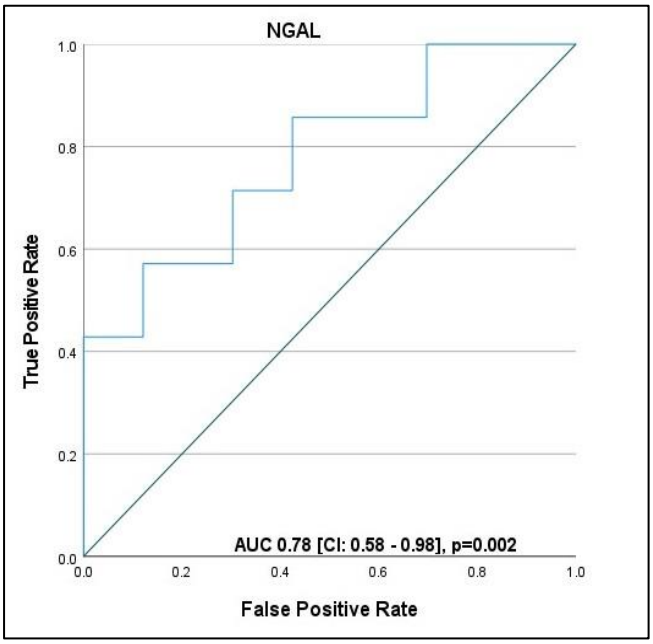
2.1.2. Нива на серумен NGAL

Групирането на серумните концентрации на NGAL при мониторираните пациенти е представено на **Фигура 8.** При неразвилите ОБУ, x_{min} беше 20.8 ng/ml, Me – 60.2 ng/ml, а x_{max} – 74.7 ng/ml. Стойностите на общо 6 пациенти не попаднаха в размаха – две под долния и четири над горния мустак. При развилите ОБУ, подобно на CysC, трите стойности бяха по-високи от съответните при противоположната група: x_{min}=51.6 ng/ml (2.5 пъти по-висока), Me=75.5 ng/ml (1.3 пъти) и екстремно висока x_{max}=303.6 ng/ml (4.1 пъти).

Беше установена ниска чувствителност (43%), но абсолютна специфичност (100%) на NGAL, което му отреди място в комплексния диагностичен подход на този етап. Предиктивната стойност на биомаркера за развитие на ОБУ е демонстрирана на **Фигура 9.** Изчислената AUC (95% CI) беше 0.78 [CI: 0.58–0.98], по-ниска от определената за CysC (95% CI=0.89). ЛРА показа висока прогностична способност (p=0.002), макар и по-ниска от тази на CysC (p=0.0006).



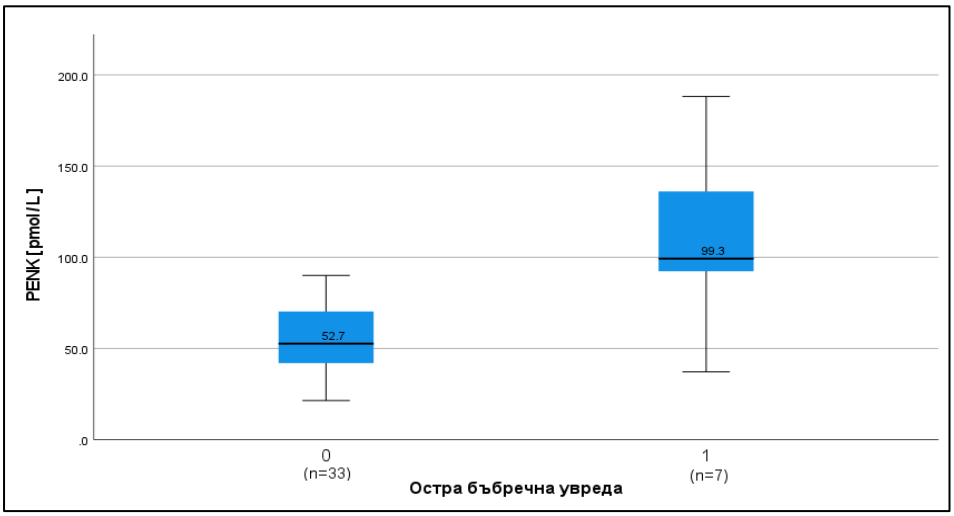
Фигура 8. Петчислено представяне на серумните концентрации на неутрофилен желатиназа-асоциран липокалин на 0. час според критерия „развитие на остра бъбречна увреда" в изследваната група пациенти: 0 – неразвили, 1 – развили.



Фигура 9. Прогностична стойност на серумния неутрофилен желатиназа-асоциран липокалин на 0. час – ROC curve графика.

2.1.3. Нива на плазмен PENK

Разпределението на плазмените концентрации на PENK при проследените пациенти е представено на **Фигура 10.** Сред групата, неразвили ОБУ, x_{min} беше 24.2 pmol/L, Me – 52.7 pmol/L, а x_{max} – 90.1 pmol/L. При групата с ОБУ, беше отчетена тенденция към увеличаване и на трите замервани стойности. Те бяха както следва: x_{min}=37.2 pmol/L (1.5 пъти по-висока), Me=99.3 pmol/L (1.9 пъти) и x_{max}=188.2 pmol/L (2.1 пъти).

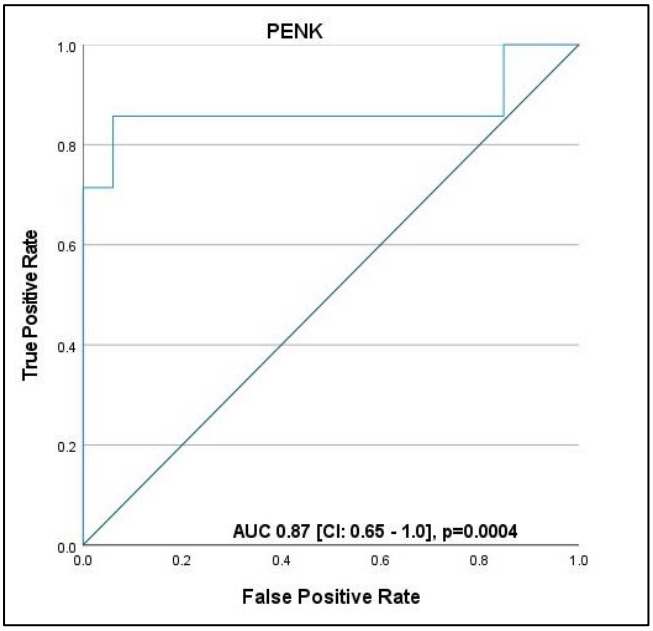


Фигура 10. Петчислено представяне на плазмените концентрации на проенкефалин 119–159 на 0. час според критерия „развитие на остра бъбречна увреда" в изследваната група пациенти: 0 – неразвили, 1 – развили.

Чувствителността на PENK беше идентична с тази на CysC (86%), но отчетената специфичност беше 1.5 пъти по-висока (82% срещу 55%), което прави този биомаркер най-надежден при самостоятелно приложение в най-ранния етап от диагностиката на ОБУ, непосредствено при хоспитализация в интензивното отделение. Прогностичната му стойност за развитие на ОБУ е демонстрирана на **Фигура 11.** Изчислената AUC (95% CI) беше 0.87 [CI: 0.65–1.0], т.е. незначително

по-ниска от определената за CysC (95% CI=0.89), но резултатът от ЛРА представи PENK като най-добър предиктор (p=0.0004) от трите специфични биомаркера.

Обобщените резултати от извършения статистически анализ на маркерите са представени в **Таблица 8.**



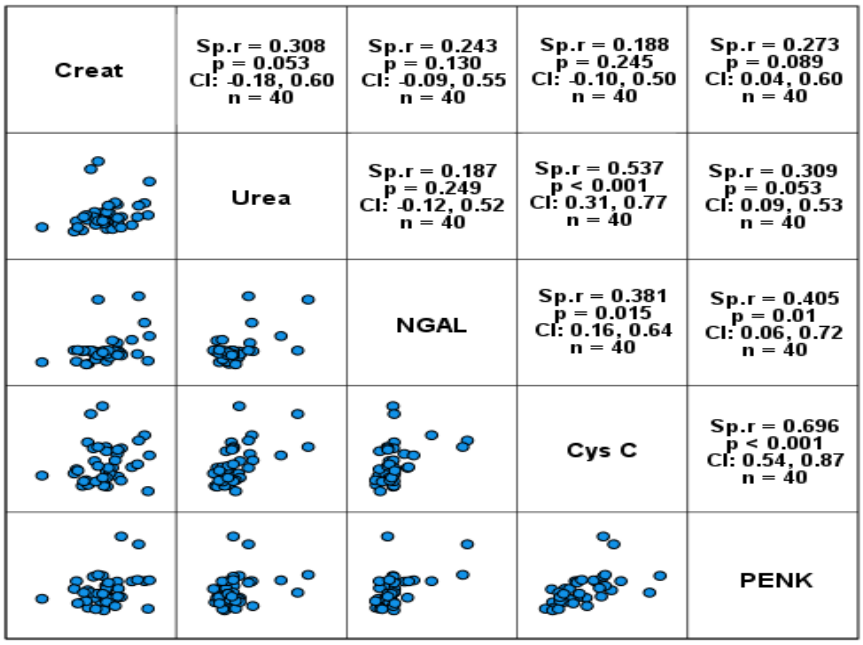
Фигура 11. Прогностична стойност на плазмения проенкефалин 119–159 на 0. час – ROC curve графика.

Таблица 8. Основни характеристики на биологичните маркери, демонстрирани на 0. час (постъпване в интензивно отделение).

Биомаркер	Чувствителност	Специфичност	AUC (95% CI)	ЛРА
CysC	86%	55%	0.89	p=0.0006
NGAL	43%	100%	0.78	p=0.002
PENK	86%	82%	0.87	p=0.0004

AUC – площ под кривата, CI – доверителен интервал, ЛРА – логистичен регресионен анализ, N/A – неприложимо.

Беше извършен корелационен анализ по метода на Spearman (**Фигура 12**), на който бяха подложени CysC, NGAL и PENK, както и SCr и урея, традиционно включвани в диагностичния алгоритъм на ОБУ. Беше установено най-силно сходство между PENK и CysC (с коефициент на Spearman Sp.r=0.696 и p<0.001).

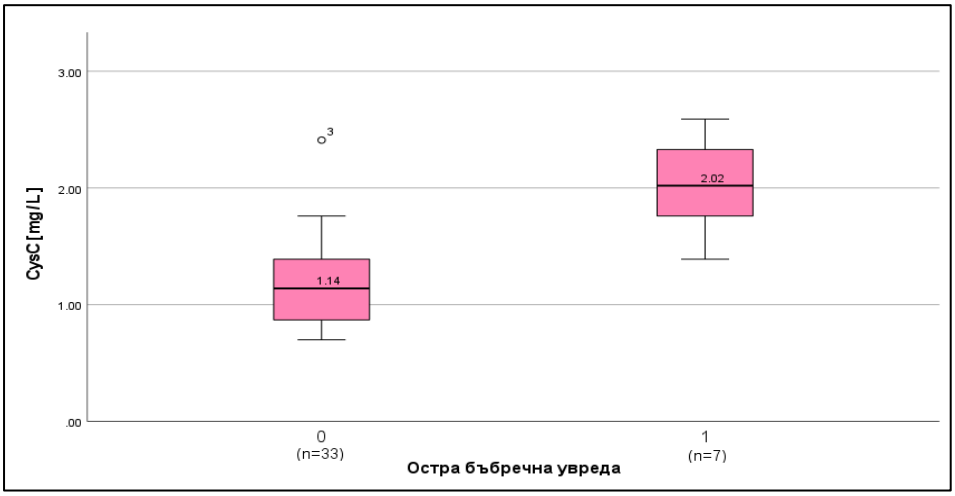


Фигура 12. Корелационен анализ между диагностичните маркери за остра бъбречна увреда при постъпване в интензивно отделение (0. час).

2.2. Ранна диагностика на 24. час след постъпване в интензивното отделение

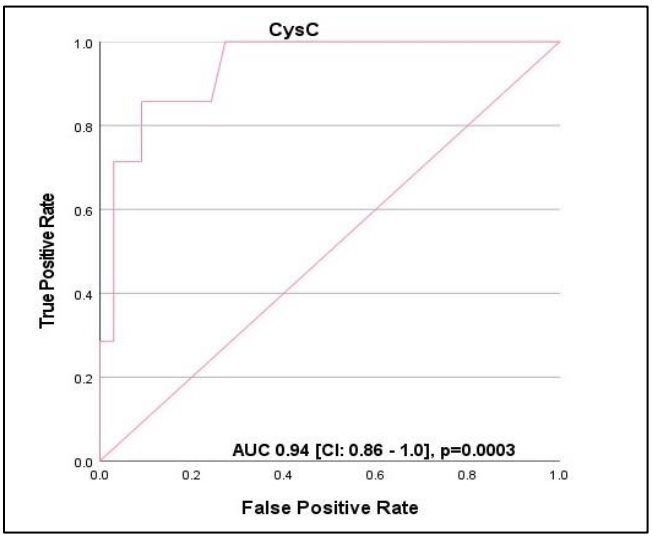
2.2.1. Нива на серумен CysC

Разпределението на серумните концентрации на CysC при изследваните критично болни на 24. час е показано на **Фигура 13.** Сред пациентите, неразвили ОБУ, x_{min}, Me и x_{max} са подобни на отчетените на 0. час. И при развилите ОБУ се забеляза сходство между отчетените стойности на 24. час и 0. час: x_{min}=1.39 mg/L, Me=2.02 mg/L и x_{max}=2.59 mg/L.



Фигура 13. Петчислено представяне на серумните концентрации на цистатин С на 24. час според критерия „развитие на остра бъбречна увреда" в изследваната група пациенти: 0 – неразвили, 1 – развили.

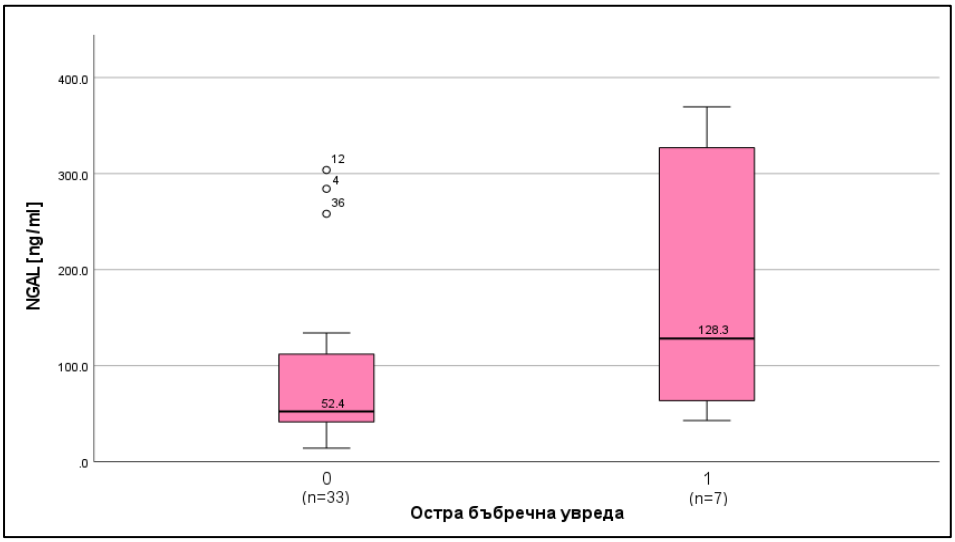
Чувствителността на CysC достигна абсолютна стойност (срещу 86% на 0. час), но определената специфичност остана ниска и на този етап от диагностиката (52%). На **Фигура 14.** е илюстрирана прогностичната стойност на CysC. Изчислената AUC (95% CI) беше 0.94 [CI: 0.86–1.0]. ЛРА показа още по-висока прогностична способност на показателя (p=0.0003) спрямо 0. час (p=0.0006).



Фигура 14. Прогностична стойност на серумния цистатин С на 24. час – ROC curve графика.

2.2.2. Нива на серумен NGAL

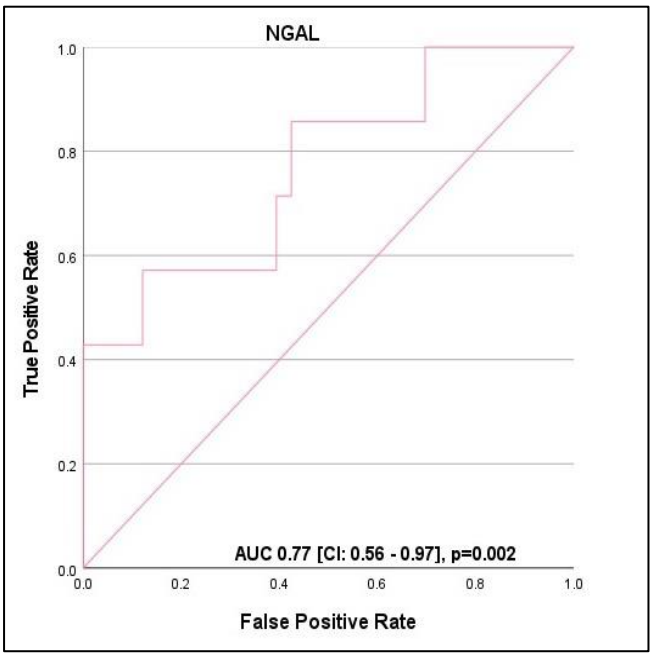
Групирането на серумните концентрации на NGAL при мониторираните пациенти на 24. час е представено на **Фигура 15.** При неразвилите ОБУ, x_{min} беше 14.1 ng/ml, Me – 52.4 ng/ml, а x_{max} – 134.2 ng/ml. Две ат тях (x_{min} и Me) бяха близки с измерените на 0. час, x_{max} – 1.8 пъти по-висока, но всички бяха в нормалните референтни граници за биомаркера. При развилите ОБУ, трите стойности бяха както следва: x_{min}=42,9 ng/ml, Me=128.3 ng/ml (по-висока от 0. час) и отново ексремно висока x_{max}=369.6 ng/ml.



Фигура 15. Петчислено представяне на серумните концентрации на неутрофилен желатиназа-асоцииран липокалин на 24. час според критерия „развитие на остра бъбречна увреда" в изследваната група пациенти: 0 – неразвили, 1 – развили.

Беше установена същата ниска чувствителност на NGAL, както на 0. час (43%), и леко намаляла специфичност (91%), което му отрежда място в комплексния диагностичен подход и на този етап. Предиктивната стойност на NGAL за развитие на ОБУ е демонстрирано на **Фигура 16.** Изчислената AUC

(95% CI) беше 0.77 [CI: 0.56–0.97], незначително по-ниска от определената на 0. час. Прогностичната способност беше идентична с тази от 0. час (p=0.002).

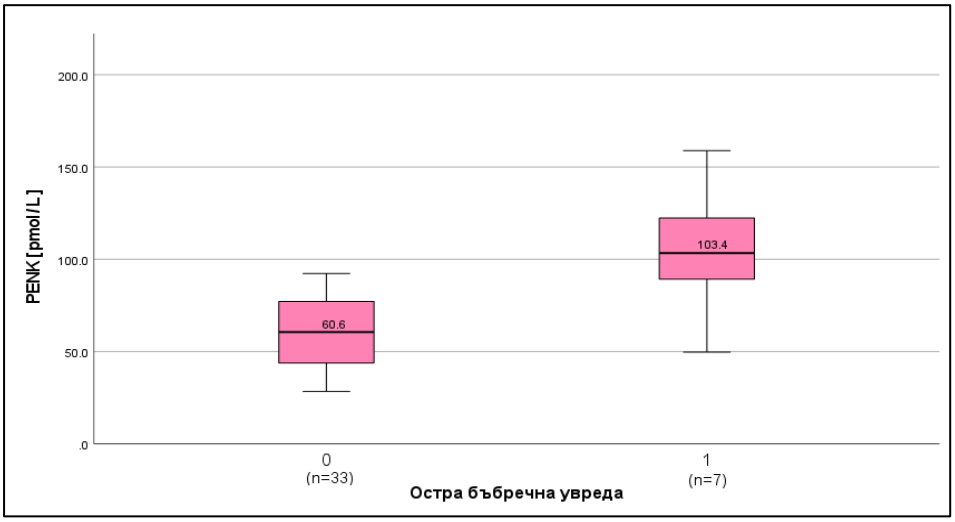


Фигура 16. Прогностична стойност на серумния неутрофилен желатиназа-асоцииран липокалин на 24. час – ROC curve графика.

2.2.3. Нива на плазмен PENK

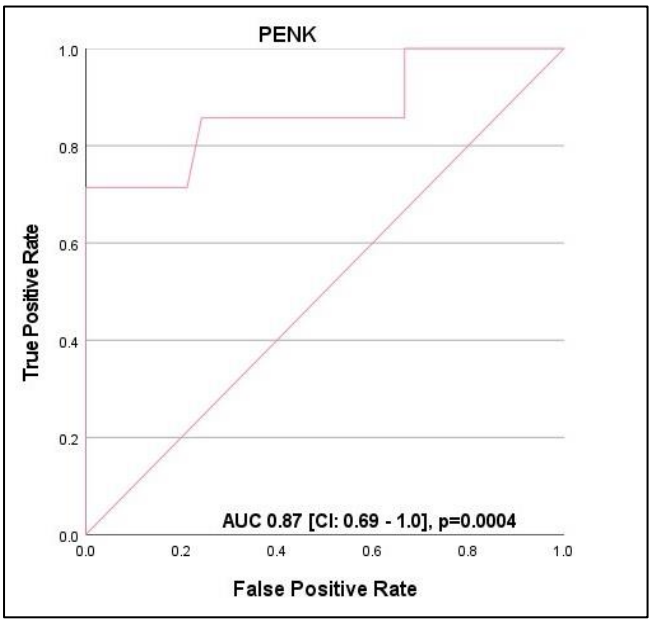
Разпределението на плазмените концентрации на PENK при проучените пациенти е представено на **Фигура 17.** При тези без ОБУ, x_{min}, Me и x_{max} бяха близки стойности до съответните на 0. час. При болните с ОБУ беше наблюдавано малко увеличение, с изключение на x_{max}, при която беше отчетен спад.

Чувствителността на PENK на 24. час беше по-ниска (71%) от отчетената на 0. час (86%), а специфичността остана непроменена (82%), което ни дава основание да определим този биомаркер като най-надежден при самостоятелно приложение в първите часове след постъпване.



Фигура 17. Петчислено представяне на плазмените концентрации на проенкефалин 119–159 на 24. час според критерия „развитие на остра бъбречна увреда" в изследваната група пациенти: 0 – неразвили, 1 – развили.

Прогностичната стойност на PENK за развитие на ОБУ на 24. час от хоспитализацията в интензивно отделение е показана на **Фигура 18.** Изчислената AUC (95% CI) беше 0.87 [CI: 0.69–1.0], непроменена спрямо 0. час. Резултатът от логистично регресионния анализ отново беше сред най-добрите (p=0.0004).



Фигура 18. Прогностична стойност на плазмения проенкефалин 119–159 на 24. час – ROC curve графика.

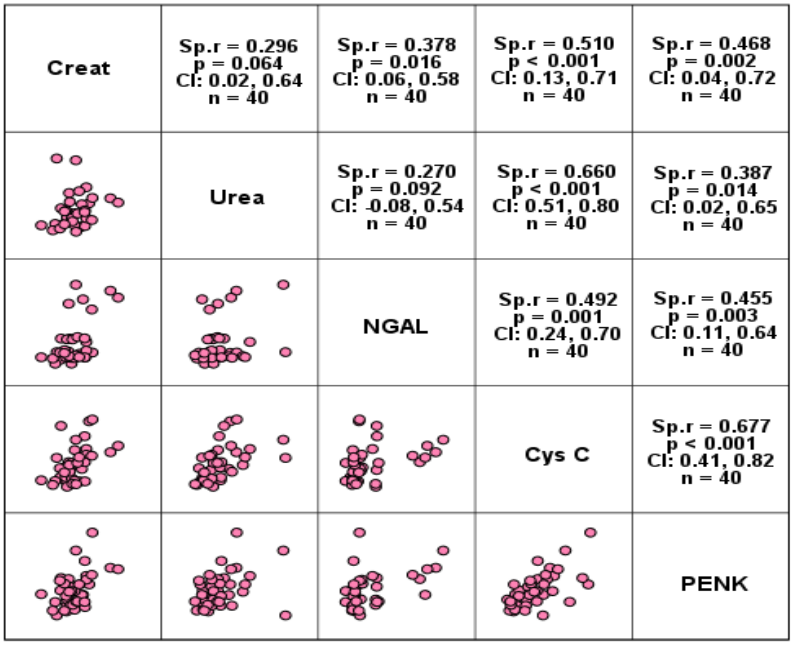
Обобщените резултати от извършения статистически анализ на маркерите на 24. час от начало на интензивното лечение са представени в **Таблица 9.**

ЛРА отново показа най-силно сходство между PENK и CysC (с коефициент на Spearman Sp.r=0.677 и p<0.001) – **Фигура 19.** На този етап от диагностичния процес направи впечатление и силната корелация между CysC и креатинин (Sp.r=0.510 и p<0.001).

Таблица 9. Основни характеристики на използваните маркери, демонстрирани на 24. час след постъпване в интензивното отделение.

Биомаркер	Чувствителност	Специфичност	AUC (95% CI)	ЛРА
CysC	**100%**	**52%**	**0.94**	**p=0.0003**
NGAL	**43%**	**91%**	**0.77**	**p=0.002**
PENK	**71%**	**82%**	**0.87**	**p=0.0004**

AUC – площ под кривата, CI – доверителен интервал, ЛРА – логистичен регресионен анализ.



Фигура 19. Корелационен анализ между диагностичните маркери за остра бъбречна увреда на 24. час след постъпване в интензивно отделение.

3. Неинфекциозни усложнения, свързани с осигуряване на временен съдов достъп за провеждане на БЗТ

При проучените 52 пациенти с поставен ДК бяха установени механични усложнения със сравнително ниска честота – в диапазона 1.9–15.4% (**Фигура 20**), както следва: 5 случая на неволна артериална пункция, 6 случая на ранно кървене, 8 хематома в пункционното място (d<4 cm) и 1 малпозиция на катетър (**Фигура 21**), наложила смяна и репозиция в друг венозен съд.



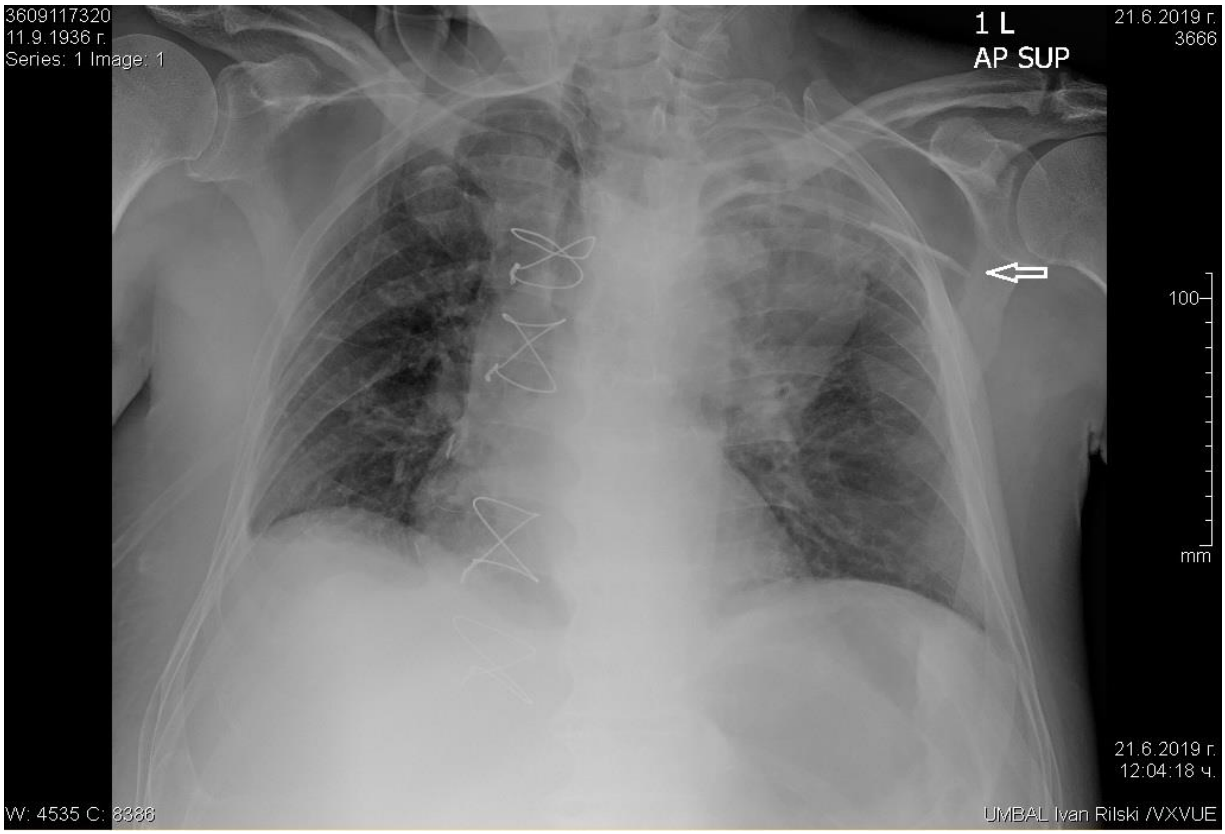
Фигура 20. Честота на неинфекциозните усложнения, свързани с осигуряване на временен съдов достъп, сред проучената популация пациенти, провели БЗТ.

Причина за наблюдаваното ранно кървене (11.5%) беше по-голям кожен разрез за поставяне на ДК при пациенти с доказана тромбоцитопения и нарушен коагулационен статус.

Най-честото механично усложнение – подкожен хематом (15.4%), се дължеше на артериална пункция (при 5 от пациентите) или на венозно кървене след извършена дилатация на съда (3 броя). При катетеризация на клоновете на *v. femoralis* не бяха установени клинично значими хематоми в ретроперитонеалното пространство.

При 16 от 36 пациенти (44.4%) с шиен съдов достъп беше използван ехографски контрол, което сведе механичните усложнения до минимум – 1 артериална пункция, придружена с ранно кървене.

В хода на проучването не бяха открити животозастрашаващи усложнения, като хемоторакс, пневмоторакс и въздушна емболия.



Фигура 21. Рентгенография, илюстрираща малпозиция на диализен катетър, поставен във *v. jugularis sin*. Със стрелка е обозначен върхът на катетъра, който се проследява на нивото на *v. axillaris*.

Зависимостта между вената, през която е въведен ДК, и неинфекциозните усложнения е представена в **Таблица 10.** Въпреки малкия брой катетри, попадащи в отделните групи, беше доказано, че съдовият достъп през *v. jugularis* е по-рисков за възникването им. Тяхната общата честота беше следната: 47.1% (*v. jugularis sin.*), 31.6% (*v. jugularis dex.*) и 33.3% (двата на клона на *v. femoralis*). При единствения пациент с катетеризирана *v. subclavia* беше регистрирано ранно кървене.

Таблица 10. Сравнителна честота на неинфекциозните усложнения в зависимост от съдовия достъп при проучените пациенти, провели БЗТ (n=52).

Групи според катетеризираната вена	**Брой ДК**	**Неинфекциозни усложнения, брой (% от групата)**			
		Артериална пункция	**Ранно кървене**	**Хематом**	**Малпозиция на ДК**
V. jug. int. dex.	**19**	1 (5.3)	2 (10.5)	3 (15.8)	0 (0)
V. jug. int. sin.	**17**	2 (11.8)	2 (11.8)	3 (17.6)	1 (5.9)
V. femoralis	**15**	2 (13.3)	1 (6.7)	2 (13.3)	0 (0)
V. subclavia*	**1**	0 (0)	1 (100)	0 (0)	0 (0)
ОБЩО:	**52**	**5 (9.6)**	**6 (11.5)**	**8 (15.4)**	**1 (1.9)**

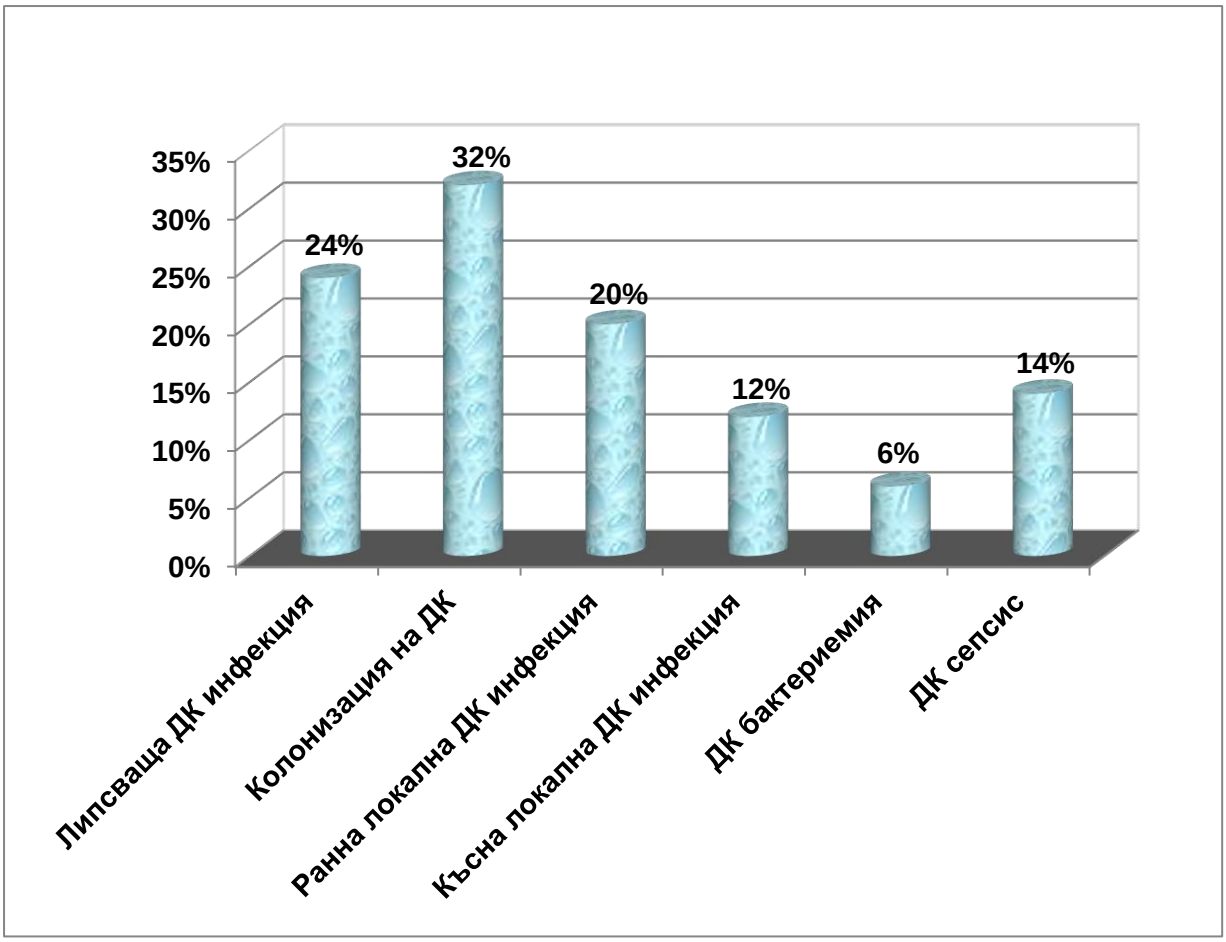
***Забележка:** Подключичните вени трябва да се избягват поради висок риск от дисфункция и венозна тромбоза или стеноза, което би компрометирало създаването на артерио-венозна фистула в случай на терминален стадий на бъбречното заболяване (Girardot et al., 2018).

4. Микробиологични аспекти на инфекциите, свързани с ДК, при критично болни пациенти на БЗТ

4.1. Видове и честота на ДК-свързаните инфекции

При 12 от анализираните общо 50 пациенти на БЗТ (24%) не беше доказана ДК-свързана инфекция. При останалите 38 болни (76%) бяха установени следните

видове ДК инфекции: значима колонизация на ДК (като изолирана инфекция), ранна локална инфекция (констатирана до 3 дни след поставяне на ДК), късна локална инфекция (доказана при изследване на 7. ден), ДК бактериемия и ДК сепсис. Честота на откритите инфекции сред изследваната популация от критично болни, провели БЗТ в съответния период, е представена на **Фигура 22.**



Фигура 22. Честота на ДК-свързани инфекции сред проучената популация пациенти, провели БЗТ.

При 2 пациенти бяха документирани случаи на два вида ДК инфекция, причинена от различни микроорганизми, а при други двама бяха наблюдавани късна локална инфекция и ДК сепсис с еднакъв етиологичен агент, поради което сборът от честотата на отделните видове инфекции надвишава 100%. Освен

генерализираните ДК инфекции (бактериемия и сепсис), при 10 пациенти (20%) беше установен епизод на сепсис с друго доказано инфекциозно огнище. Леталният изход при пациентите с ДК сепсис беше 100%.

Зависимостта между тежестта на състоянието на пациента (APACHE II сбор) и честотата на ДК инфекции е показана на **Таблица 11.** В таблицата е отразена и честотата на летален изход в отделните групи, която логично е най-висока в групата с най-висок APACHE II сбор (88.2%).

Таблица 11. Сравнителна честота на ДК инфекции в зависимост от сбора на APACHE II на проучените пациенти, провели БЗТ (n=50).

Групи според APACHE II сбор (летален изход)	**Брой пациенти**	**ДК инфекции, брой (% от групата)**				
		Липсваща	**Колонизация**	**Локална инфекция**	**Бактериемия**	**Сепсис**
10–19 точки (19%)	21	11 (52.4)	5 (23.8)	4 (19)	1 (4.8)	0 (0)
20–29 точки (41.7%)	12	0 (0)	5 (41.7)	4 (33.3)	2 (16.7)	3 (25)
30–41 точки (88.2%)	17	1 (5.9)	6 (35.3)	8 (47.1)	0 (0)	4 (23.5)
ОБЩО:	**50**	**12 (24)**	**16 (32)**	**16 (32)**	**3 (6)**	**7 (14)**

Забележка: Сборът от процентите в две от групите (20–29 и 30–41), съответно и в общата популация, надвишава 100% поради установяване на два вида инфекция при 4 пациенти.

Зависимостта между вената, през която е въведен ДК, и появата на ДК инфекция, е представена в **Таблица 12.** Въпреки малкия брой катетри, попадащи в отделните групи, беше доказано, че съдовият достъп през *v. jugularis* кореспондира по-рядко с проява на ДК-асоциирана инфекция (в приблизително

1/3 от пациентите с такъв тип катетеризация тя липсваше) спрямо *v. femoralis*, където при всички пациенти беше открита някакъв вид ДК инфекция. Също така, в 44.4% от болните със съдов достъп през *v. femoralis dex.* беше установена генерализирана инфекция, свързана с ДК, докато честотата на бактериемия и сепсис, общо при катетеризация на двата клона на *v. jugularis*, беше 28.3%.

Таблица 12. Сравнителна честота на ДК инфекции в зависимост от съдовия достъп при проучените пациенти, провели БЗТ (n=50).

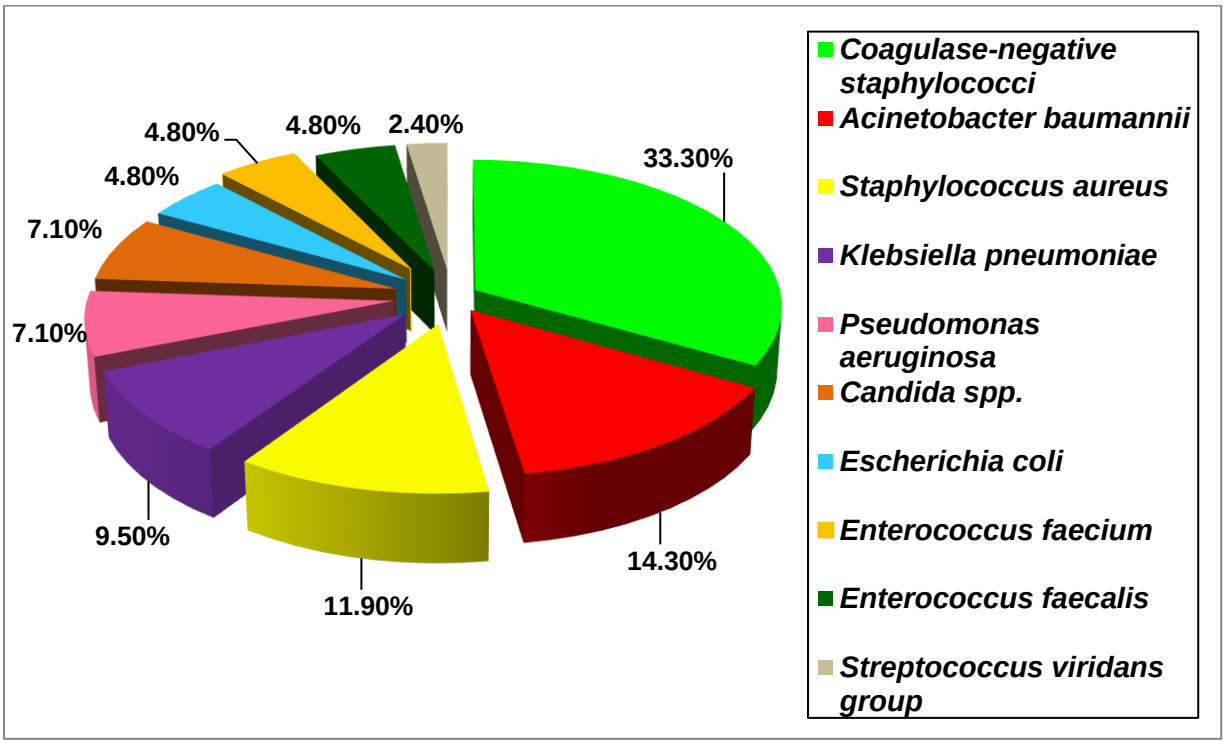
Групи според катетеризираната вена	**Брой ДК**	**ДК инфекции, брой (% от групата)**				
		Липсваща	**Колонизация**	**Локална инфекция**	**Бактериемия**	**Сепсис**
V. jug. int. dex.	**19**	7 (36.8)	4 (21.1)	6 (31.6)	1 (5.3)	2 (10.5)
V. jug. int. sin.	**16**	5 (31.3)	5 (31.3)	5 (31.3)	0 (0)	2 (12.5)
V. femoralis dex.	**9**	0 (0)	4 (44.4)	3 (33.3)	2 (22.2)	2 (22.2)
V. femoralis sin.	**5**	0 (0)	3 (60)	2 (40)	0 (0)	0 (0)
V. subclavia*	**1**	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (100)

Забележка: Сборът от процентите в първите три групи (*v. jug. int. dex.*, *v. jug. int. sin.* и *v. femoralis dex.*) надвишава 100% поради установяване на два типа инфекция при 4 пациенти. *Субклавийните (подключични) вени трябва да се избягват поради висок риск от дисфункция и венозна тромбоза или стеноза, което би компрометирало създаването на артерио-венозна фистула в случай на терминален стадий на бъбречното заболяване (Girardot et al., 2018).

4.2. Етиология на ДК-свързаните инфекции

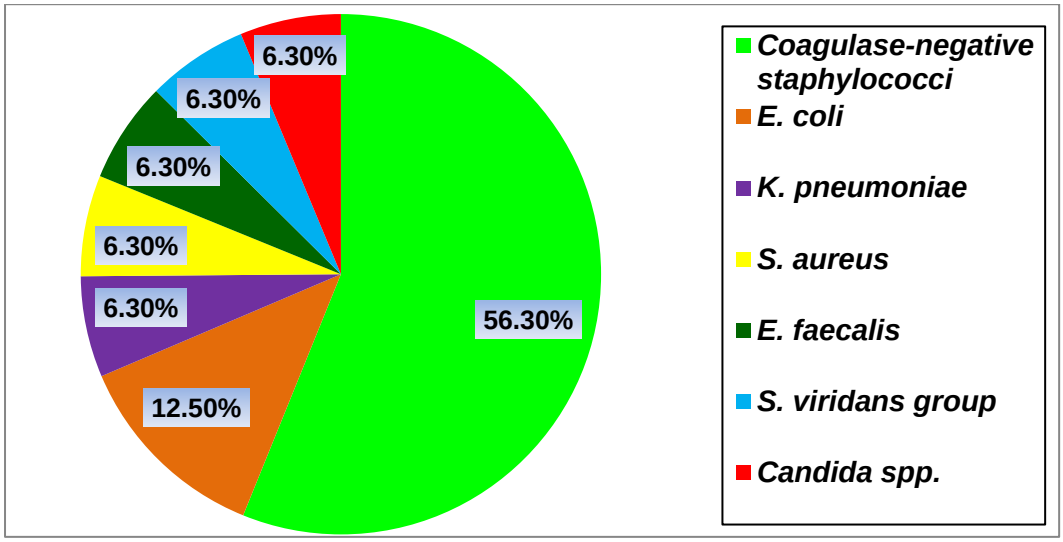
Беше установена разнообразна етиологична структура, в която 1/3 се падаше на коагулаза-отрицателните стафилококи (coagulase-negative staphylococci (CNS)) – най-често *Staphylococcus epidermidis* (**Фигура 23**). Относителният дял на ДК инфекции, причинени от Грам-отрицателни бактерии, беше 35.7%, като сред тях водещ етиологичен агент беше *A. baumannii* (14.3% от всички инфекции), следван

от *Klebsiella pneumoniae* (9.5%) и *Pseudomonas aeruginosa* (7.1%). Сред Грам-положителните бактерии, освен CNS, се откроияваше и *Staphylococcus aureus* (11.9%), а в 7.1% от случаите беше доказана микологична инфекция – гъбички от род *Candida*.

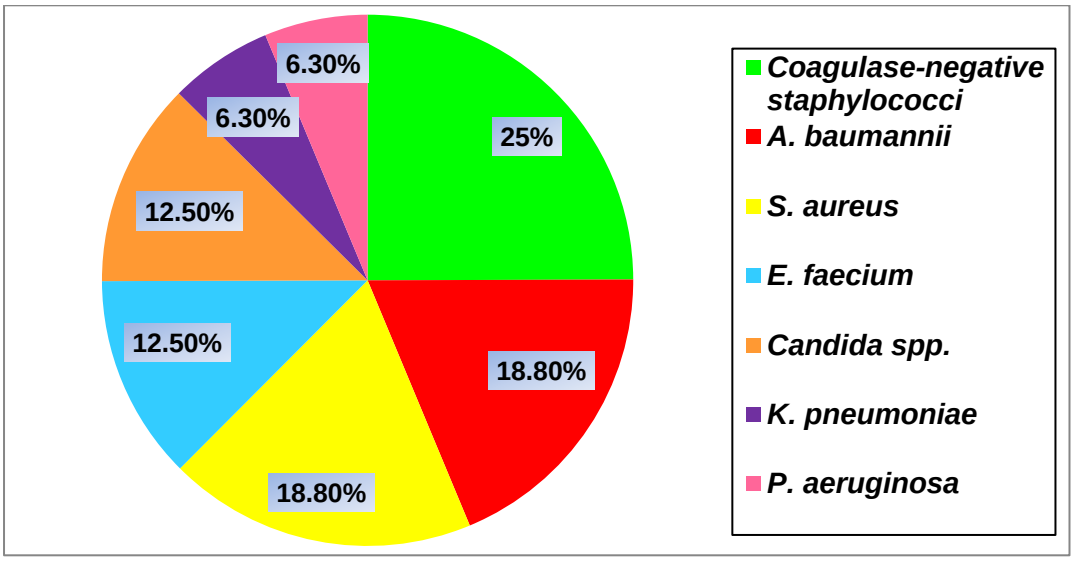


Фигура 23. Обща етиологична структура на установените ДК-свързани инфекции (n=42) при проучените пациенти, провели БЗТ.

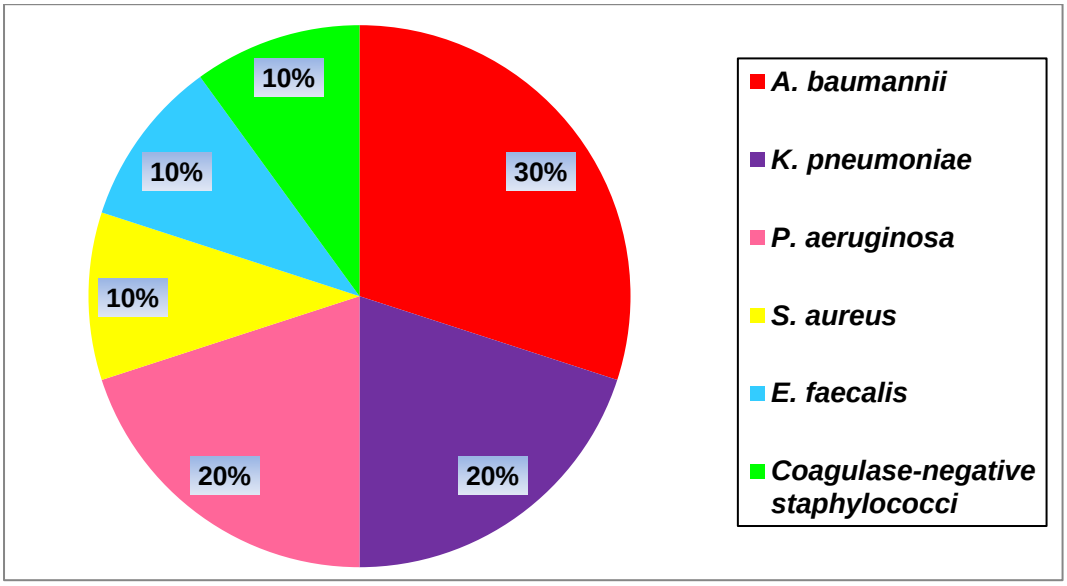
Допълнително, беше анализирана етиологията на отделните видове ДК инфекции – изолирана колонизация на ДК, локална инфекция на пункционно място (обединяваща ранна и късна) и генерализирана ДК инфекция (сепсис и бактериемия), като резултатите са представени съответно на **Фигури 24.–26.**



Фигура 24. Етиологична структура на установените ДК колонизации (n=16) при проучените пациенти, провели БЗТ.



Фигура 25. Етиологична структура на установените ДК локални (ранни и късни) инфекции (n=16) при проучените пациенти, провели БЗТ.



Фигура 26. Етиологична структура на установените ДК генерализирани инфекции (сепсис и бактериемия) (n=10) при проучените пациенти, провели БЗТ.

Очертаха се следните тенденции: (1) CNS бяха определени като водещи причинители на изолирана ДК колонизация (56.3%) и локална ДК инфекция (25%), и съставляващи едва 10% от генерализираните ДК инфекции; (2) *A. baumannii* беше основен етиологичен причинител на симптоматични ДК инфекции – първо място при генерализираните (30%) и второ място при локалните (18.8%); (3) *S. aureus* беше по-често асоцииран с локални инфекции на пункционното място (18.8%), но по-рядко доказван от Грам-отрицателните бактерии (*A. baumannii*, *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa*) като причинител на сепсиси и бактериемии (10%); (4) *K. pneumoniae* се нареди на четвърта позиция в общата етиологична структура (9.5%), като беше на челните места, както при симптоматичните инфекции – второ след *A. baumannii* при генерализираните инфекции на кръвта (20%), така и при изолираните колонизации на ДК (трето място – 6.3%).

При доказаните в настоящото проучване 10 епизода на сепсис, несвързани с поставения на пациента ДК, бяха изолирани следните патогени: *A. baumannii* (n=8), *Escherichia coli* (n=1) и *Enterococcus faecalis* (n=1).

5. Микробиологични и молекулярно-генетични проучвания върху епидемиологията на инфекциите, причинени от XDR/MDR *A. baumannii,* и терапевтичен подход

Като обект на поставената задача за проучване епидемиологията на инфекциите, причинени от патогени с проблемна антибиотична резистентност, сред пациентите на БЗТ, беше избран *A. baumannii* по две причини: (1) Симптоматичните ДК инфекции при тази група се асоциират най-често с този етиологичен агент, като на него се дължат близо ⅓ от инвазивните генерализирани инфекции; (2) Карбапенем-резистентните *A. baumannii* се отнасят към патогените с критичен приоритет според изготвения наскоро от Световната здравна организация (СЗО) списък от 12 MDR патогена, които представляват глобална заплаха за общественото здраве и налагат спешно откриване и разработване на нови антибиотици за борба с тях (Tacconelli E. et al., 2018).

Беше проведено епидемиологично типизиране на общо 23 изолата *A. baumannii*, от пациенти в критично състояние, лекувани в КАИЛ на УМБАЛ „Александровска" в периода 2016–2018. Изолатите произхождаха от следните материали: хемокултури (n=11), ТБА от пациенти с VAP (n=10) и връх на ДК (n=2).

5.1. Чувствителност на изолатите *A. baumannii* към АМЛС

Установените нива на антимикробна резистентност (**Таблица 13**) във възходящ ред бяха следните: colistin (0% резистентност) < ampicillin-sulbactam (43.5%) < tobramycin (60.9%) < tigecycline (69.7%) < trimethoprim-sulfamethoxazole (78.3%). Както е видно от таблицата, всички изолати бяха нечувствителни към трите антипсевдомонадни карбапенеми (imipenem, meropenem и doripenem) – от тях, 22 изолата (95.7%) резистентни и 1 (4.3%) резистентен на meropenem и doripenem, но интермедиерен на imipenem. Общо 17 от всички 23 *A. baumannii*

(73.9%) бяха класифицирани като изолати с разширена лекарствена резистентност (XDR-AB), в съответствие с дефинициите, въведени от *Magiorakos* et al. (2012), а останалите 6 (26.1%) – като изолати с множествена лекарствена резистентност (MDR-AB) (Magiorakos A. P. et al., 2012).

Таблица 13. Антимикробна чувствителност на 23 карбапенем-резистентни изолати *A. baumannii* от критично болни пациенти на БЗТ (EUCAST-2020).

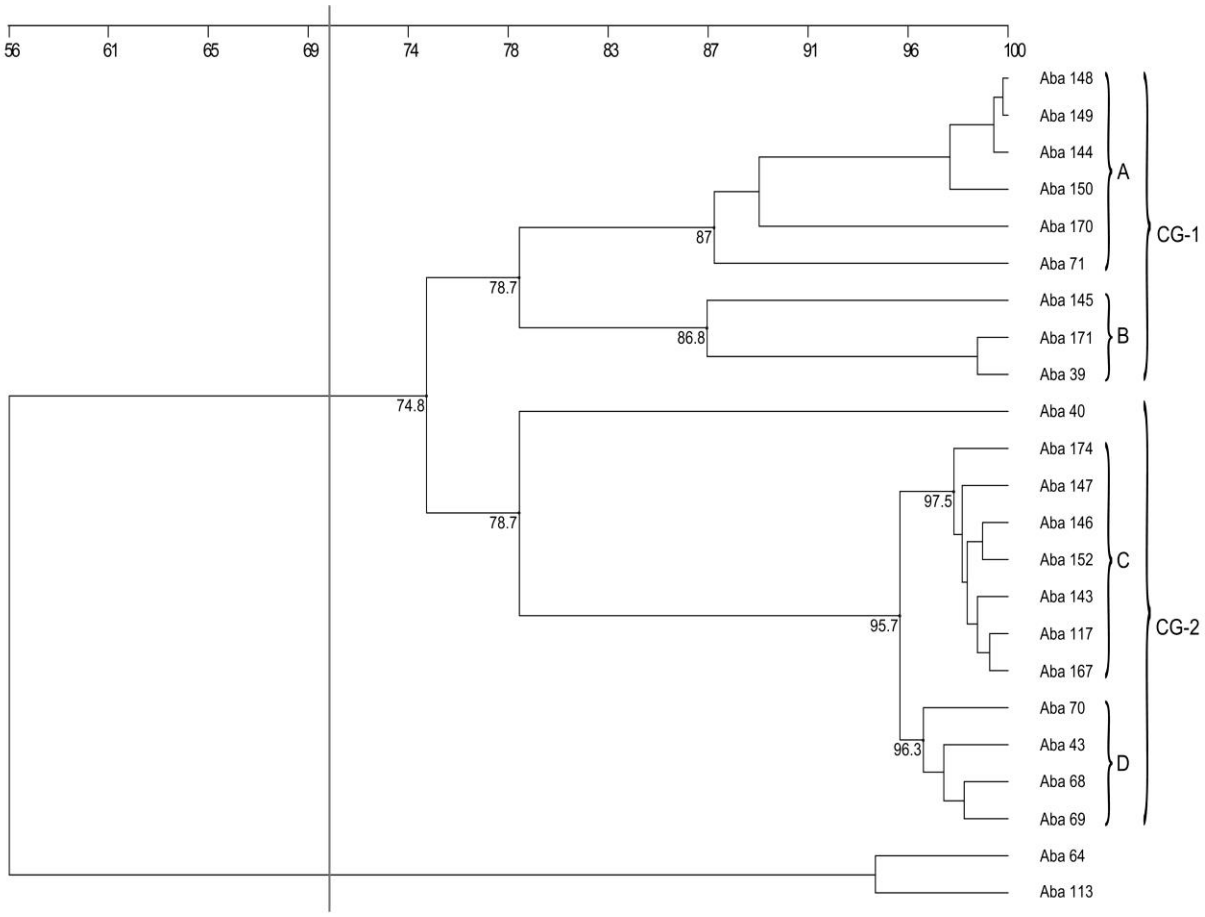
Антимикробни лекарствени средства	MIC диапазон (mg/L)	MIC_{50}[a] (mg/L)	MIC_{90}[a] (mg/L)	Брой (процент) изолати		
				S	I	R
Imipenem	4 – >32	>32	>32	0 (0)	1 (4.3)	22 (95.7)
Meropenem	>32	>32	>32	0 (0)	0 (0)	23 (100)
Doripenem	>32	>32	>32	0 (0)	0 (0)	23 (100)
Amikacin	48 – >256	>256	>256	0 (0)	0 (0)	23 (100)
Gentamicin	6 – >256	96	>256	0 (0)	0 (0)	23 (100)
Tobramycin	0.50 – >256	64	>256	9 (39.1)	0 (0)	14 (60.9)
Levofloxacin	>32	>32	>32	0 (0)	0 (0)	23 (100)
Trimethoprim-sulfamethoxazole (1:19)	0.38 – >256	64	>256	5 (21.7)	0 (0)	18 (78.3)
Tigecycline[b]	0.125 – >256	1.5	16	7 (30.4)	0 (0)	16 (69.6)
Colistin	0.75 – 1	1	1	23 (100)	0 (0)	0 (0)
Ampicillin-sulbactam (1:1)[c]	N/A	N/A	N/A	8 (34.8)	5 (21.7)	10 (43.5)

S – чувствителни, I – интермедиерни, R – резистентни, MIC – минимална инхибираща концентрация; [a] MIC_{50} и MIC_{90} – MIC, при които съответно 50% и 90% от изолатите се потискат; [b] *интерпретирано* според критериите за *Enterobacterales*; [c] тествано чрез дифузионен дисков метод и интерпретирано според критериите на CLSI (2018); N/A – неприложимо.

5.2. Молекулярна епидемиология на инфекциите, причинени от XDR-AB и MDR-AB, сред пациентите на БЗТ

Изолатите *A. baumannii,* етиологични агенти на нозокомиални инфекции при пациентите, провели БЗТ в КАИЛ на УМБАЛ „Александровска", бяха генотипизирани чрез RAPD-PCR метод. Дендрограмата, илюстрираща клоналната връзка между отделните щамове, базирана на коефициент на сходство (S_{AB}), или коефициент на Dice, е представена на **Фигура 27.**

Клъстерният анализ, използващ най-масово прилагания критерий за клонално сходство между типизираните изолати ($S_{AB} \geq 70\%$) (Grundmann H. J. et al., 1997), разпредели проучените XDR/MDR-AB изолати в две главни клъстерни групи (англ. cluster groups – CGs), с клонална връзка между тях 74.8%. CG-1 обедини 9 щама *A. baumannii* с проблемна антибиотична резистентност (78.7% клонално сходство между тях), а CG-2 включи 12 клонално свързани щама (също със 78.7% сходство). Два изолата (Aba 64 и Aba 113) не показаха принадлежност към двете главни CGs. От своя страна, CG-1 беше подразделена на два подклъстера: A (6 щама с 87% клонална връзка помежду им) и B (3 щама; 86.8%). CG-2 беше съставена от подклъстер C (7; 97.5%), подклъстер D (4; 96.3%) и щам Aba 40. Бяха открити два чифта изолати, Aba 148/Aba 149 (подклъстер A, 100% клонална връзка) и Aba 146/Aba 152 (подклъстер C, 99%), включващи съответно изолат от хемокултура и от връх на ДК, като всеки чифт произхождаше от един и същ пациент. Тези находки бяха интерпретирани като ДК-свързани инфекции на кръвта, причинени от карбапенем-резистентни *A. baumannii*, при пациенти на ПБЗТ. При 21 от всички 23 генотипизирани изолати (91.3%) беше установен висок коефициент на сходство (74.8%), което е индикатор за разпространение на ендемичен клон от XDR/MDR-AB в мониторираната интензивна клиника, за продължителен период (2016–2018).



Фигура 27. Дендрограма, илюстрираща връзката между 23 XDR/MDR-AB изолати от критично болни пациенти на БЗТ в КАИЛ, УМБАЛ „Александровска", базирана на коефициент на сходство (S_{AB}) между получените RAPD-профили (представен като процент).

5.3. Препоръки за лечение на ифекции, причинени от *A. baumannii* с проблемна антибиотична резистентност

С увеличаване честотата на клиничните карбапенем-резистентни *A. baumannii* (CRAB), възниква необходимост от търсене на ефективни антибиотици от други класове, както и комбинирана антимикробна терапия на инфекциите (Tuon F. F. et al., 2015). При нашите CRAB е налице кръстосана резистентност към други класове АМЛС, което ги превръща в MDR-AB или XDR-AB, а често

изборът на антибиотично лечение при такива инфекции е драстично ограничен и се свежда до приложението най-вече на полимиксини (colistin (COL) или polymyxin B) и tigecycline (TGC).

На **Фигура 28.** е представено нашето предложение за терапевтичен подход при CRAB инфекции с различна локализация, базирано на собствените резултати и съвременни литературни данни (Lin M. F. & Lan C. Y., 2014).

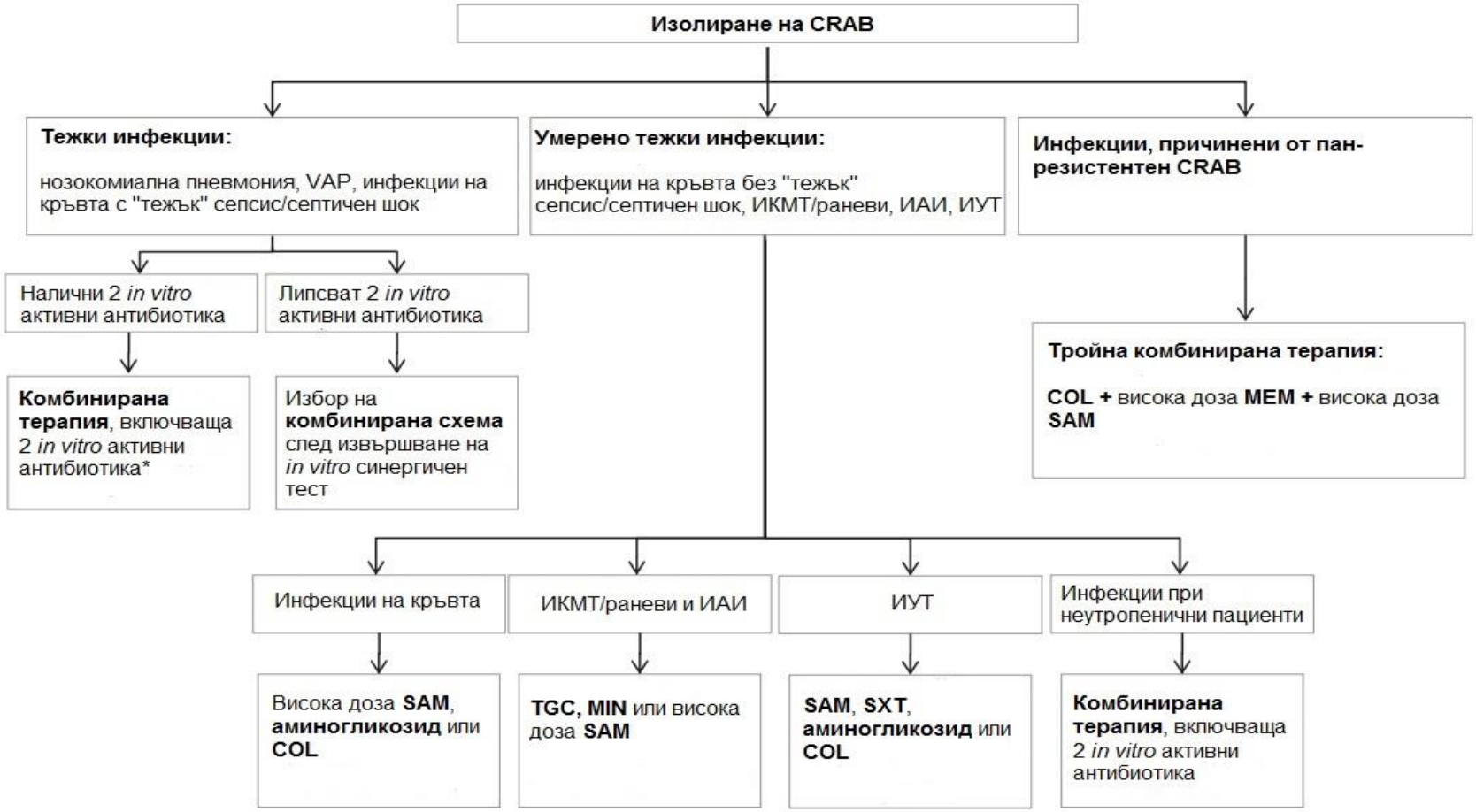
1. ***Умерено тежки CRAB инфекции, в това число: инфекции на кръвта без "тежък" сепсис/септичен шок, инфекции на кожа и меки тъкани (ИКМТ)/раневи инфекции, интраабдоминални инфекции (ИАИ) и инфекции на уринарен тракт (ИУТ).***
   - Препоръчителна е монотерапия с покриващо АМЛС, избрано в съответствие с антимикробната чувствителност на изолата, локализацията на инфекцията и клиничния статус на пациента (контраиндикации за приложение).
   - При инфекции на кръвта за монотерапия са подходящи следните антибиотици: ampicillin-sulbactam (SAM) във висока доза, аминогликозид или полимиксин (основно COL).
   - При неутропенични пациенти се предпочита прилагане на комбинация от два *in vitro* активни антибиотика поради отчетени високи нива на неуспех при монотерапия с полимиксини или аминогликозиди.
   - Лечението на ИКМТ и ИАИ може да се сведе до избор между TGC или SAM във висока доза, провеждано задължително с контрол върху източника на инфекция.
   - За ИУТ са подходящи някои от следните АМЛС: SAM, trimethoprim-sulfamethoxazole (SXT), аминогликозид (amikacin, gentamicin, tobramycin) или COL.
2. ***Тежки CRAB инфекци: нозокомиална пневмония, VAP, инфекции на кръвта с "тежък" сепсис/септичен шок.***

- За лечение на тези инфекции да се използва комбинация от две АМЛС, показали *in vitro* активност. Антибиотиците за комбинирана терапия могат да бъдат: аминогликозид или COL + висока доза SAM, висока доза TGC или висока доза minocycline.
- Да се избягват комбинациите на полимиксини с аминогликозиди поради повишена нефротоксичност.
- При липса на два активни агента, да се извършват *in vitro* проучвания за синергизъм, които са полезни при избора на най-подходяща комбинирана схема за лечение на XDR-AB.

3. Инфекции, причинени от пан-резистентни A. baumannii.

- В тези случаи многообещаваща клинична ефективност демонстрира cefiderocol – парентерален сидерофорен цефалоспорин от ново поколение, одобрен наскоро от *US Food and Drug Administration* (Lee Y. R. & Yeo S., 2020; Wu J. Y. et al., 2020) за лечение на усложнени ИУТ, който все още не е наличен и клинично приложим в България.
- Добър клиничен отговор може да се постигне с тройна комбинация, включваща COL, meropenem (MEM) във висока доза и високо дозиран SAM (Qureshi Z. A. et al., 2015; Lenhard J. R., 2017). MEM се предпочита пред imipenem поради повишения риск от токсичност към проксималните тубули на бъбреците, особено при приложение на високи дозировки на последния (Huo X. et al., 2019).

В **Таблица 14.** са показани дозировките на АМЛС, които са включени в предлагания подход за терапия на инфекции, причинени от *A. baumannii* с проблемна антибиотична резистентност. Поради специфичната популация от критично болни пациенти в настоящия дисертационен труд (с увредена бъбречна функция, довела до БЗТ), лечението беше проведено с коригирани дозировки, които също са изложени в таблицата.



Фигура 28. Предложение за терапевтичен подход при инфекции, причинени от карбапенем-резистентни *A. baumannii* (CRAB). VAP – пневмония, свързана с механична вентилация; ИКМТ – инфекции на кожа и меки тъкани; ИАИ – интраабдоминални инфекции; ИУТ – инфекции на уринарен тракт; SAM – ampicillin-sulbactam; MEM – meropenem; COL – colistin; TGC – tigecycline, MIN – minocycline, SXT – trimethoprim-sulfamethoxazole.

***Възможни комбинации:** аминогликозид или COL + висока доза SAM, висока доза TGC или висока доза MIN.

Таблица 14. Дозировки на антимикробните лекарствени средства, използвани в терапията на карбапенем-резистентни *A. baumannii* инфекции (Gilbert D. N. et al., 2016).

Антибиотик	**Дозировка при нормална бъбречна функция**	**Дозировка при бъбречна дисфункция,** при CrCl [ml/min]:			**Дозировка при хемодиализа**	**Дозировка при ПБЗТ**
		>50-90	**10-50**	**<10**		
Ampicillin-sulbactam	(2 g amp + 1 g sul) IV q6h	3 g q6h	3 g q8-12h	3 g q24h	3 g q24h, след диализа	3 g q12h
Meropenem	1g IV q8h	1 g q8h	CrCl 25-50: 1 g q12h; CrCl: 10-25: 0.5 g q12h	0.5 g q24h	0.5 g q24h, след диализа	1 g q12h
Amikacin	7.5 mg/kg IM/IV q12h **или** като ЕДД*	7.5 mg/kg q12h	7.5 mg/kg q24h	7.5 mg/kg q48h	7.5 mg/kg q48h (+ extra 3.5 mg/kg след диализа)	7.5 mg/kg q24h
Gentamicin, tobramycin	1.7-2.0 mg/kg IM/IV q8h **или** като ЕДД*	1.7-2.0 mg/kg q8h	1.7-2.0 mg/kg q12-24h	1.7-2.0 mg/kg q48h	1.7-2.0 mg/kg q48h (+ extra 0.85-1.0 mg/kg след диализа)	1.7-2.0 mg/kg q24h
Tigecycline	50 mg IV q12h след натоварваща доза от 100 mg	Не се налага корекция на дозата при пациенти с бъбречна дисфункция и провеждащи бъбречнозаместителна терапия.				
Trimethoprim-sulfamethoxazole	5-20 mg/kg/ден PO/IV q6-12h, базирано на SMX	5-20 mg/kg/ден q6-12h	5-20 mg/kg/ден q6-12h (30-50) и 5-10 mg/kg/ден q12h (10-29)	**Не се препоръчва.** Ако се използва, 5-10 mg/kg q24h	**Не се препоръчва.** Ако се използва, 5-10 mg/kg q24h след диализа	5 mg/kg q8h
Colistin*	**Натоварваща доза:** (2.5) x (2) x (теглото в кг); **поддържащата дневна доза** – 12 часа по-късно; **максимална дневна доза** 340mg.	**Поддържаща дневна доза:** 2.5 x [(1.5 x CrCln) + 30] q8-12h; **максимална дневна доза** 475 mg. CrCln = CrCl x (BSA в m^2 разделена на 1.73)			75 mg q12h в дни без диализа; 112.5 mg q12h след диализа	80 mg q12h

ЕДД – еднократна дневна доза; **ЕДД amikacin:** 15 mg/kg q24h (CrCl >80), 12 mg/kg q24h (CrCl 60-80), 7.5 mg/kg q24h (CrCl 40-60), 4 mg/kg q24h (CrCl 30-40), 7.5 mg/kg q48h (CrCl 20-30), 4 mg/kg q48h (CrCl 10-20) и 3 mg/kg q72h (CrCl 0-10); **ЕДД gentamicin и tobramycin:** 5.1 mg/kg q24h (CrCl >80), 4 mg/kg q24h (CrCl 60-80), 3.5 mg/kg q24h (CrCl 40-60), 2.5 mg/kg q24h (CrCl 30-40), 4 mg/kg q48h (CrCl 20-30), 3 mg/kg q48h (CrCl 10-20) и 2 mg/kg q72h (CrCl 0-10); BSA – body surface area; ***Colistin: 1 mg = 12 500 IU.**

V. ОБСЪЖДАНЕ

Критично болните, преживели ОБУ, са високорискови за развитие на ХБЗ и терминален стадий на бъбречна недостатъчност – състояние, изискващо дългосрочно хемодиализно лечение, което води до намаляване качеството на живот и увеличена смъртност (Rewa O. et al., 2014; Levey A. S. & James M. T., 2017). Въпреки че са създадени многобройни стратегии за предотвратяване и лечение на ОБУ, честотата ѝ продължава да се увеличава (Makris K. & Spanou L., 2016).

В настоящото проучване е анализиран медико-демографският профил на пациентите, провели БЗТ в клиниките за интензивни грижи на две университетски болници в София, за периода октомври 2016 – юни 2020 г. Наблюдаваният превес на мъжкия пол в тази популация (60%) е докладван и от други автори (Srisawat N. et al., 2015). След извършен мултивариационен ЛРА, *Wang* и съавтори определят напредналата възраст като независим рисков фактор за развитието на бъбречна дисфункция (Wang X. et al., 2020). Възрастовият диапазон на проучените от нас болни е голям (от 21 до 85 години), но повече от половината от тях са в напреднала възраст (52.7%).

Прави впечатление, че при мониторираните неоперирани пациенти с органна недостатъчност, провеждащи БЗТ и застрашени от развитие на ОБУ, преобладават тези в увредено общо състояние, измерено с висок APACHE II сбор (30–41 точки) – 56.7% и 47.1%, съответно. Наскоро проведено проспективно, кохортно проучване в Тайланд отрежда място на високия APACHE II сбор сред водещите рискови фактори за възникване на ОБУ (Trongtrakul K. et al., 2019).

Хирургичните интервенции с голям обем и сложност са признати за водеща причина в развитието на ОБУ при хоспитализирани пациенти

(Carmichael P. & Carmichael A. R., 2003). От нашите пациенти, 45.5% са развили ОБУ след проведено оперативно лечение.

Според *Bouchard* и колектив, тежкото системно възпаление е състояние, откривано при 28% от пациентите с бъбречна дисфункция в интензивното отделение (Bouchard J. et al., 2015). Честотата на сепсис/септичен шок при проследените от нас групи е 30.9% при пациентите, нуждаещи се от БЗТ, и 42.5% при критично болните с риск от развитие на ОБУ.

Пациентите с онкологични заболявания са с повишен риск от развитието на бъбречно увреждане поради комплексното им клинично състояние, което включва в себе си както директното влияние на първични и вторични неопластични образувания върху органите на отделителната система, така и общото имунокомпрометирано състояние на организма, употребата на нефротоксични цитостатици и наличието на синдром на туморния разпад (Rosner M. H. et al., 2017). Сред нашите болни, провели БЗТ в интензивното отделение, диагностицираните с малигнен процес са 21.8%. Следва да се отчете, че сред подбраните за проследяване рискови пациенти, авансирал малигнен процес е налице при 72.5%, при това всички, развили ОБУ, са онкологично болни.

Наред с активното търсене и анализиране на рискови фактори за развитие на ОБУ, нейната ранна диагностика е приоритетна при лечението на критично болните с органна недостатъчност и тежко системно възпаление. Налице са аналитични затруднения, свързани с прилаганите за диагностика на ОБУ биологични маркери. Също така, няма единно становище за референтен показател, спрямо който те да бъдат оценявани. Най-често SCr се използва като стандарт за клиничното им оценяване (Makris K. & Spanou L., 2016).

Въз основа на изследваните характеристики (чувствителност, специфичност и предиктивна стойност) на маркерите, отчитащи нарушения в

бъбречната функция, в нашето проучване плазменият PENK демонстрира качества на най-надежден за самостоятелна употреба в ранната диагностика. Също подходящ, с висока чувствителност, но сравнително ниска специфичност, е серумният CysC, което ни насочва към становище за неговото приложение в комбинация с поне още един маркер. Серумният NGAL се характеризира с най-ниска чувствителност, но за сметка на това всички отчетени повишени стойности са при пациенти с доказана ОБУ, което разкрива неговата потенциална роля в ранната диагностика на синдрома.

Понастоящем, все още липсват други български данни за оценка на PENK, но в литературата се откриват многообещаващи резултати за неговата диагностична стойност както при откриване на ОБУ, така и при обостряне на ХБЗ, в чуждестранни изследвания от последните пет години. KID-SSS е европейско мултицентрично, проспективно проучване, извършено в 5 държави (Франция, Белгия, Холандия, Италия и Германия) (Hollinger A. et al., 2018). То включва 583 критично болни, при които е измерена плазмената концентрация на PENK при постъпване в интензивното отделение. Средната стойност при пациентите без доказана ОБУ е 53 pmol/L, почти идентична с докладваната от нас (52.7 pmol/L). При пациентите с доказана бъбречна дисфункция се наблюдава сериозно увеличение в средната стойност – 133 pmol/L (по-висока от нашата – 99.3 pmol/L), което най-вероятно се обяснява с преобладаването на пациенти със септичен шок. Според изследователите, PENK предсказва успешно бъбречни инциденти, свързани със септичното състояние.

Наскоро проведено българско проучване, оценяващо потенциала на различни серумни и уринни биологични маркери при остро бъбречно увреждане (Тодорова В., 2017), демонстрира много висока чувствителност

(98.5%) на серумния CysC, измерена на 24. час от хоспитализацията. Нашите данни потвърждават абсолютната чувствителност (100%) на този маркер. Авторът изтъква силна корелация между нивата на CysC и SCr (Sp.r=0.650, p=0.001). При нас на 24. час най-силна корелация има между CysC и плазмения PENK (Sp.r=0.677, p<0.001), неизследван от цитирания автор.

В продължение на много години, NGAL се считаше за най-подходящия индикатор за ОБУ (Shang W. et al., 2017). Системното възпаление, често срещано при критично болни пациенти, и някои хронични съпътстващи заболявания, допринасят за освобождаването на NGAL от клетките на гранулоцитопоезата. Непредсказуемото освобождаване, сложният характер на молекулата и невъзможността за специфично измерване на NGAL, освободен конкретно от тубулните клетки, възпрепятстват използването му като специфичен маркер за бъбречно-тубулна увреда, при разнородна популация критично болни (Mårtensson J. et al., 2014).

Ранната диагностика посредством биологични маркери от ново поколение играе важна роля за идентифицирането на пациентите в риск от ОБУ. Настъпилата дисфункция може да бъде преходна, но при 4.1–13.5% от критично болните е необходимо започване на БЗТ (Ostermann M. et al., 2007). Осигуряването на временен съдов достъп за нейното провеждане е неизменна част от лечението. Катетеризацията на централен венозен съд е сложна, инвазивна процедура, свързана с ранни (механични) и късни (инфекциозни) усложнения.

Съвременно проучване, базирано в Клиниката по диализно лечение на УМБАЛ „Александровска” (Папазов В., 2019), представя следните данни за честота на настъпили ранни усложнения във връзка с осигуряването на временен съдов достъп за БЗТ: неволна артериална пункция (6.2%), ранно

кървене (5%) и малък подкожен хематом (8.3%). Докладваните резултати са сходни с нашите и не се открива статистически значима разлика.

В мащабно рандомизирано, мултицентрично проучване, включващо 8 болници в Швеция, се съобщава изключително ниска обща честота на настъпили механични усложнения (1.1%) при поставени 10 949 централни венозни катетри (ЦВК) (Björkander M. et al., 2018). Открива се статистически значима разлика между посочената от нас честота на ранно кървене и тази в публикацията (11.5% срещу 0.8%, $p<0.01$). Ранното кървене може да бъде свързано с наличието на тромбоцитопения и нарушения в коагулационния статус на нашите пациенти.

Мултицентричното, рандомизирано проучване на *3SITES Study Group* включва 3 471 ЦВК, в съотношение 1:1:1 спрямо използвания достъп (Parienti J. J. et al., 2015). Честотата на животозастрашаващите механични усложнения (пневмоторакс, хемоторакс, перикардна тампонада или ретроперитонеален кръвоизлив) са съответно 2.1% за *v. subclavia,* 1.4% за *v. jugularis int.,* и 0.7% за *v. femoralis.* По-леки усложнения (неволна артериална пункция, ранно кървене и локален хематом) не са докладвани. В хода на нашето проучване липсват тежки усложнения, като хемоторакс, пневмоторакс и въздушна емболия.

Вече цитираното проучване в Клиниката по диализно лечение на УМБАЛ „Александровска", извършено в периода 2011–2016 г (Папазов В., 2019), представя следните резултати за ДК инфекции сред пациентите на интермитентна диализа: 15.1% локална инфекция на пункционното място (по-ниска от докладваната от нас обща честота (32%) – $p<0.05$) и 11.4% сепсис/бактериемия (без значима разлика спрямо установените от нас). Като вероятни причини могат да се посочат по-дългото проследяване, с цел

микробиологично изследване, на пациентите в настоящото проучване, което дава възможност да се дефинират и късните локални инфекции, както и лечението в реанимация, което само по себе си е рисков фактор за възникване на инфекции, свързани с медицинското обслужване (ИСМО).

В настоящото проучване всички категории ДК-свързани инфекциозни усложнения на БЗТ се установяват по-често при съдов достъп чрез *v. femoralis* в сравнение с *v. jugularis*, както следва: изолирана ДК колонизация – 44.4% и 60% (при достъп чрез двата клона на феморалната вена) срещу 52.4% (при достъп чрез клоновете на югуларната вена); 73.3% / 62.9% при локалните инфекции; 44.4% / 28.3% при инфекциите на кръвта. Тези резултати са сходни с по-рано докладвани, касаещи както ДК (Parienti J. J. et al., 2008; Škofic N. et al., 2009; Parienti J. J. et al., 2015; Sahli F. et al., 2016), така и ЦВК (Goetz A. M. et al., 1998; Fortún Abete J. et al., 2000; Merrer J. et al., 2001). Катетеризацията на *v. femoralis* корелира по-често с ДК-свързани инфекции на кръвта, а като основен източник се счита бактериалната колонизация на перинеума (Cheng S. et al., 2019).

Според повечето автори, CNS (главно *S. epidermidids*) са най-честите причинители на ДК инфекции при пациенти, провеждащи БЗТ, следвани в различни съотношения от някои Грам-отрицателни бактерии (*A. baumannii, P. aeruginosa, Escherichia coli* и др.), *S. aureus* и *Candida* spp. (Parienti J. J. et al., 2010a; Knežević V. et al., 2018; Buetti N. et al., 2019; Zhang H. H. et al., 2019), което напълно корелира с находките от настоящата работа.

Определянето на *A. baumannii* като водещ етиологичен агент в настоящото проучване (18.8% от локалните, 30% от генерализираните ДК инфекции и 80% от сепсисите, произхождащи от друго инфекциозно огнище) не е изненадващо с оглед на широкото разпространение на патогена в

отделенията за интензивно лечение по света (Garnacho-Montero J. et al., 2016; Russo A. et al., 2019) и в българските болници. През последните години ИСМО, причинени от CRAB, се установяват с около 90% честота в двете болници, чиито структурни звена са мониторираните от нас клиники (Strateva T. et al., 2019).

Сравнителният анализ на антимикробната чувствителност на MDR-AB, изолирани в четири интензивни отделения на УМБАЛ „Александровска" през 2005–2011 г., и MDR/XDR-AB от нашето проучване (2016–2018) показва статистически значим хронологичен спад (p<0.001) в чувствителността на по-новите изолати за няколко АМЛС: карбапенеми (30% срещу 0% чувствителни); TGC (77.1% срещу 30.4%); SXT (64.3% срещу 21.7%); и levofloxacin (17.1% срещу 0%) (Strateva T. et al., 2012).

Епидемиологичното типизиране чрез RAPD-PCR показа групиране на XDR/MDR-AB в две главни клъстерни групи, отнасящи се към ендемичен, персистиращ клон (S_{AB}=74.8%). Предходни епидемиологични проучвания на CRAB ИСМО в УМБАЛ „Александровска" също показват циркулиране на клонално свързани щамове и наличие на ендемични клонове в болницата (Strateva T. et al., 2012; Strateva T. et al., 2019).

Общо 95.7% от MDR-AB, изолирани от пациенти на БЗТ със симптоматични ИСМО, бяха резистентни едновременно към трите карбапенеми, което определя патогена като терапевтично проблемен (Strateva T. et al., 2019). Въз основа на *in vitro* чувствителността, най-често използваните АМЛС за лечение на CRAB инфекции включват: полимиксини, TGC и SAM. Приложението на други антибиотици, като minocycline, SXT, аминогликозиди и rifampicin, е по-рядко и предимно в комбинирани схеми (Стратева Т. и съавт., 2017; Piperaki E.-T. et al., 2019).

VI. ИЗВОДИ

1. Сред проучената представителна извадка от критично болни пациенти на БЗТ, преобладаващият медико-демографски профил е следният: мъжки пол (60%); напреднала възраст (52.7%); неоперирани с органна недостатъчност (54.5%), над половината от които с висок APACHE II сбор; висока смъртност (52.7%). Като водещи рискови фактори за развитие на тежката бъбречна дисфункция са определени: тъканно страдание (65.5%); тежко системно възпаление (30.9%) и ХБН в стадий, неизискващ БЗТ преди хоспитализацията (30.9%).
2. Медико-демографският профил на извадката от критично болни с риск от ОБУ е сходен по отношение на по пол и възраст (58% мъже и 47.5% напреднала възраст), но отличаващ се в клиничен аспект (57.5% пациенти, претърпели оперативно лечение, над половината от които с нисък APACHE II сбор). Най-честите придружаващи заболявания и ятрогенни въздействия с потенциал за развитие на ОБУ са: авансирал малигнен процес (72.5%); оперативна интервенция с голям обем и сложност (57.5%); и употреба на нефротоксични контрастни вещества (57.5%).
3. Плазменият PENK демонстрира качества на най-надежден биомаркер за самостоятелна употреба в ранната диагностика на ОБУ поради своята висока чувствителност (86% → 71%), висока специфичност (82%) и отлична прогностична способност (AUC=0.87 [95% CI: 0.65–1.0], p=0.0004), както при постъпване в интензивното отделение, така и 24 часа след започване на лечението.
4. Серумните CysC и NGAL, наред с безспорните си качества, проявяват и някои недостатъци, което им отрежда място в комбинирания диагностичен алгоритъм на ОБУ. CysC проявява висока чувствителност (86% → 100%),

но ниска специфичност (55% → 52%), докато NGAL притежава реципрочни параметри (43% константна чувствителност и отлична специфичност, 100% → 91%).

5. Регистрираните механични усложнения, свързани с осигуряване на временен съдов достъп за провеждане на БЗТ, са със сравнително ниска честота, както следва: неволна артериална пункция (9.6%), ранно кървене (11.5%), хематом в пункционното място (15.4%) и малпозиция на ДК (1.9%).
6. При 24% от пациентите не е доказана ДК-свързана инфекция. При останалите са установени инфекции със следната честота: изолирана колонизация на катетъра – 32%, ранна локална инфекция в пункционното място – 20%, късна локална инфекция – 12%, ДК бактериемия – 6%, и ДК сепсис – 14%.
7. Съдовият достъп през *v. jugularis* по-рядко води до ДК-асоциирани инфекции в сравнение с *v. femoralis*. В 44.4% от достъпите през *v. femoralis dex.* е доказана генерализирана ДК инфекция, докато честотата на бактериемия и сепсис, общо при катетеризация на двата клона на *v. jugularis,* е едва 28.3%.
8. Основните тенденции, касаещи етиологията на ДК инфекциите, са: (1) Коагулаза-отрицателните стафилококи са водещи причинители на изолирана ДК колонизация (56.3%) и локална инфекция (25%), но съставляват едва 10% от генерализираните инфекции; (2) *Acinetobacter baumannii* е основен етиологичен причинител на симптоматични ДК инфекции – първо място при генерализираните (30%) и второ място при локалните (18.8%); (3) *Staphylococcus aureus* е по-често асоцииран с локални инфекции на пункционното място (18.8%), но по-рядко доказван

от Грам-отрицателните бактерии като причинител на сепсиси и бактериемии (10%).

9. *A. baumannii,* определен като водещ етиологичен агент на симптоматичните ДК-свързани инфекции, е терапевтично проблемен – всички изолати са карбапенем-резистентни (CRAB) и демонстрират кръстосана лекарствена резистентност (73.9% разширена и 26.1% множествена).

10. При умерено тежки CRAB инфекции се предпочита монотерапия с покриващо антимикробно лекарствено средство (АМЛС), избрано в съответствие с чувствителността на изолата, локализацията на инфекцията и клиничния статус на пациента. При инфекции на кръвта за монотерапия са подходящи ampicillin-sulbactam (SAM) във висока доза или colistin (COL). При тежки CRAB инфекции се използва комбинация от две АМЛС с *in vitro* активност. Най-прилаганите терапевтични схеми са: аминогликозид или COL + висока доза SAM или висока доза tigecycline. Дозировките се коригират спрямо тежестта на бъбречна дисфункция.

11. Проучване върху молекулярната епидемиология на инфекциите, причинени от CRAB, при пациентите на БЗТ, показва персистиране на ендемичен клон (коефициент на сходство между изолатите 74.8%) в КАИЛ на УМБАЛ „Александровска”, което е предпоставка за взривове от вътреболнични инфекции.

VII. СПРАВКА ЗА НАУЧНИТЕ ПРИНОСИ

Научни приноси с оригинален характер:

1. Проведено е първото за страната комплексно проучване върху клиничния проблем „ОБУ и обострено ХБЗ, нуждаещи се от БЗТ в интензивно отделение", включващо: анализ на медико-демографския профил и рисковите фактори сред представителна извадка пациенти; подобряване на ранната диагностика на бъбречната дисфункция чрез въвеждане на нови биологични маркери; задълбочено изследване на етиологията и епидемиологията на ДК-асоциираните инфекции и разработване на стратегии за тяхното лечение.
2. За първи път в България е използван биомаркер от ново поколение, плазмен проенкефалин 119-159, в ранната диагностика на ОБУ.
3. За първи път чрез RAPD-PCR е доказано персистиране на ендемичен клон, включващ проблемни изолати *Acinetobacter baumannii* от критично болни пациенти на БЗТ, в една от клиниките, което е предпоставка за взривове от вътреболнични инфекции.

Научни приноси с потвърдителен характер:

1. Потвърдено е мястото на серумните CysC и NGAL в комплексния диагностичен алгоритъм за ОБУ.
2. Доказана е ниската честота на механичните усложнения, свързани с осигуряване на временен съдов достъп за провеждане на БЗТ.
3. Потвърдено е, че съдовият достъп през *v. jugularis* по-рядко води до ДК-асоциирани инфекции в сравнение с *v. femoralis*.

4. Установена е водещата роля на коагулаза-отрицателните стафилококи, *A. baumannii* и *Staphylococcus aureus* в етиологичната структура на ДК-свързаните инфекции.

Научни приноси с приложен характер:

1. Разработен е протокол за проследяване на критично болни пациенти, провеждащи БЗТ в интензивно отделение, с приложна стойност при извършване на бъдещи проучвания върху този проблем.
2. В съответствие с получените резултати от антимикробната чувствителност и прегледа на актуални научни публикации са изготвени препоръки за лечение на карбапенем-резистентни *A. baumannii* инфекции при критично болни пациенти.

VIII. ПРИЛОЖЕНИЕ

1. ПУБЛИКАЦИИ, СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИЯТА

1. **Стратев А.**, А. Темелков. Продължителна бъбречно заместителна терапия – кратък преглед на номенклатурата. *Анестезиология и интензивно лечение*. 2017; XLVI (4): 25-27.
2. **Стратев А.**, И. Иванова, Р. Танова. Биомаркери за ранна диагностика и оценка на остра тубулна некроза. *Анестезиология и интензивно лечение*. 2019; XLVIII (2): 12-16.
3. **Стратев А.**, П. Кенаров, Р. Танова, Т. Стратева. Микробиологични аспекти на инфекции, свързани с диализен катетър, при критично болни пациенти на бъбречнозаместителна терапия. *Медицински преглед*. 2020; 56 (4): 31-38.
4. **Стратев А.**, П. Кенаров, Т. Стратева. Критично болни пациенти с бъбречна дисфункция – медико-демографски профил и рискови фактори. *Медицински преглед*. 2021; 57 (1): 34-41.
5. **Stratev A.**, Tanova R., Dimov S., Mitov I., Strateva T. Clonal spread of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates among Bulgarian critically ill patients undergoing renal replacement therapy (2016–2018). *Infect. Dis.* 2020; 52 (6): 430-433. **(IF_{2020}–3,404)**

2. СЪОБЩЕНИЯ В НАУЧНИ ФОРУМИ, СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИЯТА

1. **Stratev Al.**, Dimitrova B., Marinova R., Hubenova P., Temelkov At. Dialysis Disequilibrium Syndrome: a Case report. 20th Anniversary National Congress of Anaesthesiology and Intensive Care with International participation. 26–29 October 2017, Nessebar, Bulgaria: 79.
2. **Stratev A.**, Marinova R., Strateva T., Sirakov I., Temelkov A., Mitov I. Molecular epidemiology of *Acinetobacter baumannii* nosocomial infections in ICU hemodialysis patients. Second Young Scientists Seminar on Genetics with International Participation – SGIP 2018. Faculty of Biology, Sofia University "St. Kliment Ohridski", Sofia, 03.10.2018 – 05.10.2018. Book of Abstracts: 41.