



**Università degli Studi di Padova**  
**Corso di laurea in Medicina e Chirurgia**

**DIPARTIMENTO DI MEDICINA**

Direttore: Prof. Roberto Vettor

**ISTITUTO DI ANESTESIA E RIANIMAZIONE**

Direttore: Prof. Paolo Navalesi

**TESI DI LAUREA**

**BATTERI GRAM-NEGATIVI *MULTI-DRUG-RESISTANT* ED ECMO  
VENO-VENOSO: INCIDENZA ED IMPATTO SUGLI OUTCOME.  
STUDIO OSSERVAZIONALE MULTICENTRICO.**

**RELATRICE:** Dott.ssa Annalisa Boscolo Bozza

**LAUREANDA:** Ida Caregnato

Anno Accademico 2023/2024



# INDICE

## RIASSUNTO-ABSTRACT

<b>1. INTRODUZIONE.....</b>	<b>pag. 5</b>
<b>1.1. Definizioni.....</b>	<b>pag. 5</b>
1.1.1. Definizione di infezione e colonizzazione	
1.1.2. Definizione di resistenza antibiotica	
1.1.3. Definizione di infezione nosocomiale	
<b>1.2. ARDS (Sindrome da distress respiratorio acuto).....</b>	<b>pag. 7</b>
1.2.1. Definizione di insufficienza respiratoria e ARDS	
1.2.2. Fisiopatologia	
1.2.3. Diagnosi e terapia	
<b>1.3. ECMO (Extracorporeal membrane oxygenation).....</b>	<b>pag. 12</b>
1.3.1. ECMO V-V: indicazione e controindicazioni	
1.3.1. Ruolo delle colonizzazioni nei pazienti sottoposti ad ECMO	
1.3.2. Ruolo delle infezioni nei pazienti sottoposti ad ECMO	
<b>2. OBIETTIVI DELLO STUDIO.....</b>	<b>pag. 24</b>
<b>3. MATERIALI E METODI.....</b>	<b>pag. 25</b>
<b>3.1. Disegno dello studio.....</b>	<b>pag. 25</b>
3.1.1. Protocollo per la prevenzione e il controllo delle infezioni	
<b>3.2. Raccolta dati.....</b>	<b>pag. 29</b>
<b>3.3. Analisi statistica.....</b>	<b>pag. 30</b>
<b>3.4. Tabelle riassuntive.....</b>	<b>pag. 32</b>
3.4.1. Caratteristiche dei pazienti alla connessione ECMO V-V, mortalità ed outcome	
3.4.2. Caratteristiche microbiologiche	
<b>4. RISULTATI.....</b>	<b>pag. 41</b>
<b>4.1. Incidenza degli isolamenti di batteri MDR GN durante il trattamento         con ECMO V-V.....</b>	<b>pag. 41</b>
<b>4.2. Mortalità ad 1 anno.....</b>	<b>pag. 45</b>
4.2.1. Analisi statistica della mortalità ad 1 anno	
<b>4.3. Volume ospedaliero annuo di ECMO V-V.....</b>	<b>pag. 55</b>

5. DISCUSSIONE.....	pag. 57
6. CONCLUSIONI.....	pag. 61
Bibliografia.....	pag. 62
Ringraziamenti.....	pag. 68

## RIASSUNTO

**Premessa.** L'ossigenazione extracorporea a membrana veno-venosa (V-V ECMO) è una tecnica di supporto vitale in rapida diffusione in tutto il mondo. Le indicazioni più comuni al trattamento con V-V ECMO sono l'ipossiemia grave e/o l'ipercapnia non responsiva al trattamento convenzionale, prevalentemente nei casi di sindrome da distress respiratorio acuto. Per quanto riguarda le possibili controindicazioni, non vi è alcuna menzione in merito alla storia microbiologica precedente al posizionamento dell'ECMO V-V, in particolare quella legata ai batteri multi-resistenti (MDR).

**Scopo dello studio.** Questo studio multicentrico mira a investigare:

- (i) La ricorrenza degli isolamenti di batteri Gram-negativi *multi-drug-resistant* (MDR GN) in una coorte di pazienti sottoposti a ECMO veno-venosa (V-V);
- (ii) il rischio di mortalità ad 1 anno per ogni gruppo individuato sulla base del momento dell'isolamento dei batteri MDR GN (ovvero: il gruppo 'precolonizzato da MDR GN', che include pazienti con MDR GN isolati prima della connessione a V-V ECMO; il gruppo 'MDR GN acquisiti durante V-V ECMO', e il gruppo 'non-MDR GN');
- (iii) l'impatto che il volume annuo di pazienti sottoposti a V-V ECMO all'interno dell'ospedale ha sulla probabilità di contrarre batteri MDR GN.

**Materiali e metodi.** Sono stati esaminati tutti i pazienti adulti che necessitavano di ECMO veno-venosa (V-V) per insufficienza respiratoria e che erano stati ammessi nelle unità di terapia intensiva di cinque ospedali universitari italiani nel periodo compreso tra gennaio 2017 e dicembre 2022. I criteri di esclusione sono stati: età <18 anni, gravidanza, configurazione mista dell'ECMO (V-V e veno-arteriosa), cartelle cliniche incomplete (sorveglianza microbiologica e/o mortalità assenti) e sopravvivenza inferiore a 24 ore dopo la connessione all'ECMO.

È stato applicato un protocollo di sorveglianza microbiologica di routine e i batteri MDR GN sono stati identificati mediante test di suscettibilità in vitro.

Sono stati forniti modelli di regressione di Cox e analisi statistiche adeguate al caso in esame.

**Risultati.** Sono stati arruolati 279 pazienti (età media 52 anni; 72% maschi). La percentuale complessiva di batteri MDR GN è stata del 51%, inclusi 49 pazienti precolonizzati (18%) e 90 soggetti con batteri MDR GN acquisiti durante V-V ECMO (33%). La mortalità complessiva a 1 anno è stata del 42%, con un rischio più elevato di mortalità nei pazienti precolonizzati in confronto, rispettivamente, al gruppo 'batteri non-MDR GN' (aHR 2.50 [1.53- 4.10], p-value <0.001) e al gruppo 'batteri MDR GN acquisiti durante V-V ECMO' (aHR 1.72 [1.05- 2.84], p-value 0.032). Inoltre, un maggior numero di pazienti sottoposti a V-V ECMO ogni anno nell'ospedale è stato associato a una minore probabilità di contrarre batteri MDR GN (aOR 0.89, 95% IC 0.84- 0.94, p<0.001).

**Conclusioni.** In questo studio multicentrico, la prevalenza dei batteri MDR GN era del 18% prima della connessione a V-V ECMO, mentre l'incidenza di MDR GN acquisiti durante il trattamento è stata del 33%. L'isolamento di batteri MDR GN prima dell'ECMO V-V è risultato essere un fattore di rischio indipendente per la mortalità ad 1 anno. Un volume ospedaliero annuo più basso di pazienti sottoposti a V-V ECMO è stato identificato come un fattore di rischio per l'acquisizione di batteri MDR GN.

## ABSTRACT

**Background.** Veno-venous extracorporeal membrane oxygenation (V-V ECMO) is a rapidly increasing life-support technique worldwide. The most common indications are severe hypoxemia and/or hypercapnia, unresponsive to conventional treatment, predominantly in cases of acute respiratory distress syndrome. In terms of possible contraindications, no mention is made of the microbiological history, especially related to multi-drug resistant (MDR) bacteria, prior to V-V ECMO placement.

**Aim of the study.** Our multicenter study aims to investigate:

- (i) the incidence of MDR Gram-negative (GN) bacteria isolation in a cohort of V-V ECMOs;
- (ii) the risk of 1-year mortality, adjusted for the time of MDR GN bacteria isolation (i.e., 'precolonized MDR GN bacteria' group, which includes patients with MDR GN bacteria prior to V-V ECMO connection; 'V-V ECMO-acquired MDR GN bacteria' group, and 'non-MDR GN bacteria' group);
- (iii) the impact of annual hospital V-V ECMO volume on the probability of acquiring MDR GN bacteria.

**Material and methods.** All consecutive adult patients requiring V-V ECMO for respiratory failure and admitted to the Intensive Care Units of 5 Italian university-affiliated hospitals (01/2017-12/2022) were screened. Exclusion criteria were age < 18 years, pregnancy, mixed ECMO-setting (V-V and veno-arterial), incomplete records (absent mortality and/or microbiological surveillance), and survival < 24 hours after ECMO connection.

A routine protocol of microbiological surveillance was applied and MDR GN bacteria were identified using *in vitro* susceptibility tests.

Cox-regression models and case-adjusted analysis were provided.

**Results.** Two hundred and seventy-nine patients (mean age 52 years; 72% male) were enrolled. The overall incidence of MDR GN bacteria was 51%, including 49 (18%) precolonized patients and 90 (33%) subjects with V-V ECMO-acquired MDR GN bacteria. The overall 1-year mortality was 42%, with a higher risk of mortality in precolonized patients compared to 'non-MDR GN bacteria' group (aHR 2.50 [1.53-4.10], p-value <0.001) and 'V-V ECMO-acquired MDR GN bacteria' group (aHR 1.72 [1.05 – 2.84], p-value 0.032), respectively. A larger number of hospital V-V ECMOs per year was associated with a lower probability of acquiring MDR GN bacteria (aOR 0.89, 95% CI 0.84- 0.94, p<0.001).

**Conclusions.** In this multicenter study the incidence of MDR GN bacteria was 18% before and 33% after V-V ECMO connection. The isolation of MDR GN bacteria before V-V ECMO was an independent risk factor for 1-year mortality. A smaller annual hospital V-V ECMO volume was a risk factor for the acquisition of MDR GN bacteria.



# 1. INTRODUZIONE

## 1.1. DEFINIZIONI

### 1.1.1. DEFINIZIONE DI INFEZIONE E COLONIZZAZIONE

Infezione e colonizzazione batterica sono due concetti correlati ma distinti; un'infezione si ha quando i batteri o altri agenti patogeni invadono l'organismo determinando l'attivazione del sistema immunitario. Durante un'infezione, i batteri proliferano attivamente causando dei danni cellulari all'ospite. L'infezione viene definita come  $\geq 10^4$  CFU/ml (dove CFU sta per unità formanti colonie) con segni clinici di sepsi o shock settico, secondo i criteri Sepsis-3.

Si parla invece di colonizzazione quando si ha  $< 10^4$  CFU/ml e assenza di segni clinici d'infezione. La colonizzazione batterica può avvenire in diverse parti del corpo (narici, orofaringe, trachea, ulcere cutanee, retto, urine), ma può anche interessare dispositivi ad uso medico. Questa può essere transitoria o persistente ed è importante sottolineare che può costituire un fattore di rischio per lo sviluppo di future infezioni nel caso in cui si verificano condizioni che compromettano il sistema immunitario o soprattutto se i batteri in questione sono resistenti agli antibiotici. (1)

### 1.1.2. DEFINIZIONE DI RESISTENZA ANTIBIOTICA

L'ampio utilizzo, spesso non appropriato, degli antibiotici nella gestione delle infezioni, ha portato all'antibiotico-resistenza. (1) Per antibiotico-resistenza si intende la progressiva diffusione di patogeni resistenti a molte classi di antibiotici. (1,2)

L'antibiotico-resistenza si distingue in:

- o naturale: è una condizione intrinseca, può essere legata all'assenza nel batterio della struttura bersaglio dell'antibiotico o all'impermeabilità della parete cellulare/membrana plasmatica del batterio all'antibiotico.

- acquisita: condizione dovuta alla pressione selettiva esercitata dall'antibiotico, che a sua volta può essere:
  - cromosomiale o mutazionale (10% dei casi), legata a mutazioni spontanee del locus cromosomico alla base delle sensibilità del farmaco e trasmessa verticalmente alle cellule figlie;
  - extracromosomiale o plasmidica (90% dei casi), dovuta a trasposoni che catturano geni e a plasmidi che li veicolano orizzontalmente anche a specie batteriche diverse. (1)

Basandosi sul concetto di antibiotico-resistenza, i ceppi microbici si classificano in:

- Multi-Drug Resistance (MDR), definiti come microbi non suscettibili ad almeno 1 agente in 3 categorie antimicrobiche. Tra i microbi MDR si trovano i germi ESBL (Beta-Lattamasi a Spettro Esteso), ovvero dotati di un enzima in grado di idrolizzare l'anello  $\beta$ -lattamico, che conferisce loro la resistenza a molti degli antibiotici a disposizione per trattare le infezioni, come le penicilline, alcune cefalosporine e i monobattami.
- Extensively-Drug Resistance (XDR), definiti come organismi non suscettibili ad almeno 1 agente in tutte le categorie antimicrobiche tranne due o meno.
- Total-Drug Resistance (TDR), ovvero microbi non suscettibili a nessuno degli agenti in tutte le categorie antimicrobiche.

Ad oggi, lo sviluppo di programmi di "antimicrobial stewardship" rappresenta la migliore arma per combattere le infezioni gravi da germi MDR e l'insorgenza di ulteriori resistenze. (3)

Da un punto di vista epidemiologico in Italia la resistenza agli antibiotici si mantiene tra le più elevate in Europa e risulta, nella maggior parte dei casi, al di sopra della media europea. Nel nostro Paese ogni anno, dal 7% al 10% dei pazienti va incontro a un'infezione batterica multi-resistente con migliaia di decessi. Le infezioni correlate all'assistenza colpiscono ogni anno circa 284.100 pazienti causando circa 4.500-7.000 decessi. (4)

L'aspetto più rilevante connesso ai patogeni multi-resistenti è la loro capacità di diffondersi in ambito ospedaliero, determinando le cosiddette infezioni nosocomiali (NI).

### 1.1.1. DEFINIZIONE DI INFEZIONE NOSOCOMIALE

Si definisce infezione nosocomiale o ospedaliera un'infezione che insorge 48 ore dopo l'ingresso in ospedale o dopo la dimissione del paziente e che al momento del ricovero non era presente né in incubazione. (1,2)

Dal punto di vista epidemiologico il 5% dei pazienti che accedono in ospedale, svilupperà un'infezione nosocomiale nel corso della propria degenza, per un totale di 1,7 milioni di casi di infezione ogni anno ed un numero di decessi pari a quasi 100.000. La frequenza di infezioni nosocomiali nei reparti di terapia intensiva è del 20-30%, i decessi in Italia sono più di 10.000 ed è particolarmente elevato anche il burden di disabilità ovvero di anni persi a causa della malattia. (1,2)

L'incidenza delle infezioni varia a seconda dell'affollamento del reparto, dal tipo di terapia praticata e dal tipo di procedure invasive a cui è sottoposto il paziente.

Le infezioni nosocomiali in rianimazione hanno la peculiarità di essere trasmesse per via endogena e nella maggior parte dei casi sono infezioni date da microrganismi multi-resistenti.

I fattori di rischio in terapia intensiva sono:

- intrinseci: età, sesso, comorbidità, pregresse infezioni e malnutrizione;
- estrinseci: tipo di intervento e durata dello stesso, presidi (cateteri urinari, respiratori, cateteri intravascolari), terapia antibiotica o immunosoppressiva e durata della degenza. (1,2)

## 1.2. ARDS (SINDROME DA DISTRESS RESPIRATORIO ACUTO)

### 1.2.1. DEFINIZIONE DI INSUFFICIENZA RESPIRATORIA E ARDS

Una delle maggiori cause di ricovero in terapia intensiva è l'insufficienza respiratoria, ovvero quando il polmone non è in grado di garantire un'adeguata ossigenazione del sangue arterioso e/o non è in grado di prevenire la ritenzione di CO<sub>2</sub>.

Il livello di PaO<sub>2</sub> (pressione parziale di ossigeno nel sangue arterioso) sotto il quale si parla di insufficienza respiratoria è 60 mmHg. Questo limite è stato scelto perché è strettamente legato al punto critico sulla curva di dissociazione dell'emoglobina,

sotto il quale la curva diventa più ripida e bastano piccoli cambiamenti di  $\text{PaO}_2$  per far variare grandemente il contenuto di ossigeno nel sangue. Per quanto riguarda la  $\text{PaCO}_2$  si prende come limite quello di 45 mmHg.

Sulla base delle caratteristiche l'insufficienza respiratoria è stata distinta in:

- ipossiémica (Tipo I):  $\text{PaO}_2 < 60\text{mmHg}$
- ipossiémica ed ipercapnica (Tipo II):  $\text{PaO}_2 < 60\text{mmHg}$  e  $\text{PaCO}_2 > 45\text{mmHg}$ .

Inoltre, come si legge in Tabella I, l'insufficienza respiratoria è stata classificata a seconda delle caratteristiche di insorgenza in: acuta, cronica e cronica riacutizzata.

ACUTA	CRONICA	CRONICA RIACUTIZZATA
Si instaura in tempi molto brevi, spesso con quadri di severa entità.	A lenta insorgenza, con minore severità del quadro clinico.	Ulteriore rapido aumento della $\text{PaCO}_2$ (con acidosi respiratoria per mancato compenso renale dell'incremento di $\text{PaCO}_2$ )
Può essere ipossiémica o ipossiémica- ipercapnica (con acidosi respiratoria)	Può essere ipossiémica o ipossiémica- ipercapnica (senza acidosi per compenso renale)	Una volta risolta la riacutizzazione, si ripristina il quadro di insufficienza respiratoria cronica compensata.
$\text{PaO}_2 < 60\text{ mmHg}$ $\text{PaCO}_2 > 45\text{ mmHg}$ $\text{pH} < 7.35$ (non compensato)	$\text{PaO}_2 < 60\text{ mmHg}$ $\text{PaCO}_2 > 45\text{ mmHg}$ $\text{pH} < 7.35$ (compensato)	

Tabella I.

Una forma grave di insufficienza respiratoria è l'ARDS (sindrome da distress respiratorio acuto). (5) L'ARDS è una condizione clinica ad esordio acuto caratterizzata da un danno polmonare diffuso che causa ipossiémia associata o meno ad ipercapnia, grave dispnea a rapida insorgenza, riduzione della compliance polmonare e atelettasie.

Per l'ARDS si riconoscono due tipologie di fattori di rischio:

- Fattori di rischio diretti: polmonite, aspirazione di materiale gastrico, danno da inalazione, contusione polmonare e annegamento.

- Fattori di rischio indiretti: sepsi non polmonare, politrauma, pancreatite, ustione severa, trasfusione massiva e shock non cardiogeno. (5,6)

L'ARDS è caratterizzato da danni diffusi agli alveoli e dalla perdita della funzione di barriera e di scambio dei gas nel polmone. Ci sono due tipi di alterazioni: una strutturale, causata dal danno alveolare diffuso, e una funzionale, causata dalla distruzione della barriera endoteliale.

### 1..2.2. FISIOPATOLOGIA

La storia naturale della ARDS consiste di tre fasi: essudativa, proliferativa e fibrotica. Ciascuna è associata a determinate caratteristiche clinico- patologiche. (7,8) Durante la fase essudativa si verifica un danno alveolare diffuso che coinvolge le cellule endoteliali dei capillari alveolari e gli pneumociti di tipo I, portando prima ad un aumento della permeabilità ed infine alla rottura della membrana alveolo-capillare. (9,10) Seguono poi la fuoriuscita di liquido ricco di proteine, il reclutamento di neutrofilo e macrofagi nello spazio alveolare e la formazione di membrana ialina. (10,11) In seguito al rilascio di mediatori pro-infiammatori si verifica una propagazione dell'infiammazione e un ulteriore danno polmonare. (9,12) L'accumulo di essudato proteico nell'interstizio polmonare, l'inattivazione del surfactante alveolare, l'atelettasia e l'alterazione degli scambi gassosi possono ulteriormente alimentare il danno. (10,12) La fase essudativa da un punto di vista clinico è caratterizzata da marcata ipossiemia e ridotta compliance del sistema respiratorio totale per via della riduzione del contenuto aereo polmonare.

Questo determina infatti uno shunt di sangue che non partecipa agli scambi gassosi portando ad una condizione di ipossiemia. In risposta a ciò si attiva un sistema protettivo di vasocostrizione ipossica che devia il circolo sanguigno verso alveoli ventilati e quindi riduce lo shunt. Tuttavia, la malattia severa rende insufficiente tale sistema e dunque permane una quota di shunt. (13)

La fase essudativa del danno polmonare può risolversi completamente durante la successiva fase proliferativa oppure progredire fino alla fase fibrotica.

Durante la fase proliferativa inizia il processo di riparazione del danno polmonare con organizzazione dell'essudato alveolare e dell'infiltrato leucocitario, che passa da prevalentemente neutrofilico a linfocitario. Gli pneumociti di tipo II proliferano lungo la membrana basale alveolare sintetizzando nuovo surfactante e differenziandosi in pneumociti di tipo I. Tutto ciò avviene solitamente dal settimo giorno al ventunesimo giorno di malattia e comporta un importante miglioramento del quadro clinico, nonostante molti pazienti continuino a manifestare dispnea, tachipnea e ipossiemia. (8)

La fase fibrotica si caratterizza per l'evoluzione di edema ed essudato infiammatorio formati nelle fasi precedenti in fibrosi interstiziale e dotto- alveolare. Il marcato sovvertimento dell'architettura degli acini polmonari porta ad una condizione simil- enfisematosa. La proliferazione fibroblastica nell'intima dei vasi sanguigni del microcircolo polmonare porta ad occlusione vascolare progressiva ed ipertensione polmonare. I pazienti che raggiungono questa fase avanzata richiedono assistenza ventilatoria meccanica e ossigenoterapia a lungo termine. (8)

### 1.2.3. DIAGNOSI E TERAPIA

Per la diagnosi si utilizzano i criteri di Berlino 2012:

- Criterio temporale: esordio entro 1 settimana da un evento clinico rilevante o dall'insorgenza o peggioramento dei sintomi respiratori.
- Origine dell'edema: insufficienza respiratoria non pienamente giustificata da insufficienza cardiaca o sovraccarico idrico con necessità di valutazione oggettiva (es. ecocardiografia) per escludere l'edema idrostatico in caso di assenza di fattori di rischio. Di fatto l'edema deve essere di origine non cardiogena, cioè non correlato a una causa cardiaca primaria.
- Imaging: radiografia toracica o tomografia computerizzata (TC) del torace che mostri opacità bilaterali. I possibili quadri radiologici sono: opacità a vetro smerigliato, consolidamenti, alveolite, opacità a carattere interstiziale o altre anomalie polmonari compatibili con l'edema polmonare.

- Rapporto pressione parziale di ossigeno ( $\text{PaO}_2$ ) /frazione inspirata di ossigeno ( $\text{FiO}_2$ ): deve essere misurato per valutare l'ipossiemia. Questo rapporto, noto come rapporto P/F, deve essere inferiore a 300 mmHg, a una pressione positiva di fine espirazione (PEEP) o al livello di pressione positiva di sostegno (CPAP) di almeno 5 cmH<sub>2</sub>O. (5,14)

Utilizzando il rapporto P/F si valuta la gravità dell'ipossiemia, di conseguenza l'ARDS viene definita:

- lieve, quando il rapporto  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$  è compreso tra 200 e 300 mmHg con PEEP o CPAP  $\geq 5$  cmH<sub>2</sub>O.
- moderata, quando  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$  è compreso tra 100 e 200 mmHg PEEP  $\geq 5$  cmH<sub>2</sub>O.
- severa, quando  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$  è inferiore a 100 mmHg con PEEP  $\geq 5$  cmH<sub>2</sub>O.

La TC fornisce informazioni importanti. Nei pazienti con ARDS c'è un coinvolgimento polmonare eterogeneo, coesistono infatti zone normalmente areate e zone poco o per nulla areate. Si ha una riduzione della quota di polmone ventilabile che coincide con il concetto di "baby lung", così definito in quanto, in questi pazienti, il tessuto normalmente areato ha le dimensioni del polmone di un bambino. Dal punto di vista fisiopatologico il baby lung è dovuto all'edema polmonare e all'effetto di compressione gravitaria esercitato dalle porzioni antideclivi del parenchima polmonare su quelle declivi, motivo per cui il contenuto aereo polmonare si riduce, soprattutto nelle porzioni declivi, e rimane solo una quota ridotta di polmone aerato. (15) Inoltre il concetto di baby lung aiuta a comprendere la patogenesi del danno polmonare indotto dal ventilatore. (13,16)

I pazienti con ARDS vanno ventilati in "modalità protettiva" (Figura 1). (17)

- Forma lieve: è possibile utilizzare la NIV in pazienti selezionati e gestiti in terapia intensiva, utilizzando una PEEP bassa/moderata.
- Forma moderata: è possibile utilizzare una ventilazione invasiva con PEEP elevate.
- Forma severa: è possibile utilizzare la prone position o l'ECMO. (17,18)

È intuibile capire che l'ARDS è una forma pericolosa di insufficienza respiratoria associata a un tasso di mortalità che si aggira intorno al 40-45%. Nonostante diversi studi abbiano confermato i benefici reali dell'utilizzo dell'ECMO nei pazienti con ARDS, che non rispondono alle terapie convenzionali, l'ECMO rimane un

trattamento complesso e costoso che può essere soggetto a potenziali complicazioni, come le infezioni nosocomiali (NI).

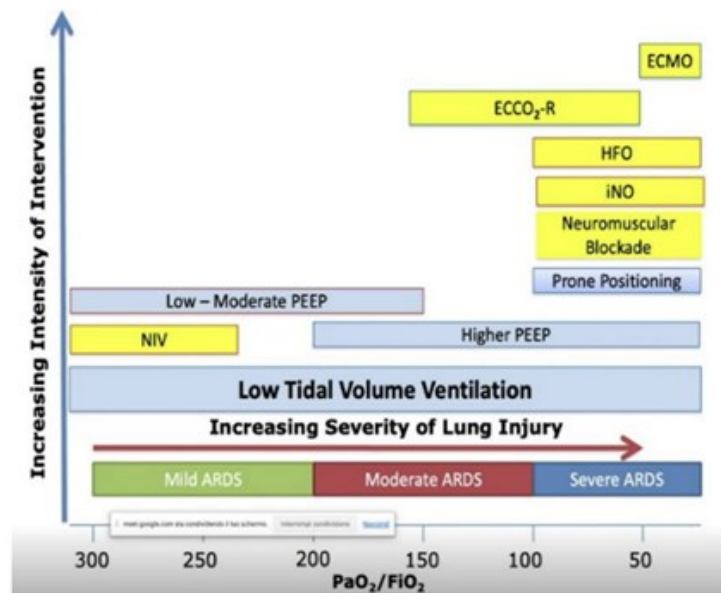


Figura 1: l'intensità del trattamento (NIV, IMV, Prone Position, ECMO) correla con il grado di severità dell'ARDS.

### 1.3. ECMO (EXTRACORPOREAL MEMBRANE OXYGENATION)

L'Extracorporeal Membrane Oxygenation è una tecnica di circolazione extracorporea che utilizza una pompa per prelevare il sangue dal paziente attraverso un circuito, spingerlo attraverso un ossigenatore e poi restituirlo al paziente, arricchito di ossigeno e liberato dall'anidride carbonica in eccesso. (14)

Il concetto fondamentale dell'ECMO è quello di utilizzare un ossigenatore che permetta di raggiungere il corretto contenuto di ossigeno nel sangue arterioso, quando il polmone del paziente non è più in grado di garantirlo adeguatamente.

Una macchina ECMO è costituita dai tubi di drenaggio, da una pompa sangue che garantisce una portata massima di almeno 5 L/min, da un ossigenatore e dai tubi di reinfusione.

I tubi sono eparinizzati per evitare la formazione di trombi. Inoltre, sono trasparenti per permettere al clinico di vedere sia il colore del sangue che l'eventuale presenza di coaguli.



L'elemento più importante è l'ossigenatore; semplicisticamente ci si può immaginare l'ossigenatore come una "scatola" in cui vi siano immerse delle cavità formanti canali ove passano i gas. Il sangue vi viene sospinto ed entra in contatto con i materiali di rivestimento di tali cavità che permettono lo scambio gassoso attraverso la loro superficie permeabile.

Secondo le linee guida dell'*Extracorporeal Life Support Organization (ELSO)*, (19) la circolazione extracorporea dovrebbe essere considerata come opzione terapeutica nei casi di insufficienza respiratoria acuta, sia di origine primaria che secondaria, in cui il rischio di mortalità supera il 50% (ad esempio, quando il rapporto  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$  è  $<150$  con  $\text{FiO}_2 >90\%$ ) e in tutti i casi in cui il rischio di mortalità supera l'80% (ad esempio, quando il rapporto  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$  è  $<100$  con  $\text{FiO}_2 >90\%$ ) per almeno 6 ore nonostante le cure ottimali.

Esistono diverse configurazioni di circolazione extracorporea che differiscono per il tipo di cannulazione e l'indicazione terapeutica:

- L'ECMO veno-arteriosa (V-A ECMO) prevede il drenaggio del sangue da un accesso venoso centrale e la sua reinfusione in un vaso arterioso. In questo caso, oltre all'ossigenazione del sangue, viene fornito anche un supporto cardiocircolatorio. Attualmente, questa tecnica viene principalmente utilizzata nei pazienti che necessitano di supporto emodinamico. (20)
- L'ECMO veno-venoso (V-V ECMO) prevede il drenaggio e la reinfusione da vasi venosi centrali. Le cannule utilizzate nell' ECMO V-V possono avere due tipi di configurazioni, di cui la prima è dotata di due vie separate (una per il drenaggio e una per la reinfusione), mentre la seconda è costituita da una singola cannula bilume (con due lumi distinti, uno dedicato al drenaggio e l'altro alla reinfusione). Nel caso delle due vie separate, le posizioni comuni per l'inserimento delle cannule sono la femorale-femorale o la femorale-giugulare. Questo significa che una cannula viene posizionata in una vena femorale per il drenaggio del sangue dal paziente, mentre l'altra cannula viene inserita o nell'altra vena femorale o in una vena giugulare per la reinfusione del sangue ossigenato e depurato. Nel caso della cannula bilume, viene utilizzata una singola cannula con due lumi separati.

### 1.3.1. ECMO V-V: INDICAZIONI E CONTROINDICAZIONI

Il trattamento con ECMO V-V è in rapida diffusione a livello mondiale e prevede l'utilizzo di un ossigenatore extracorporeo che lavora in serie con il polmone nativo in difficoltà, sostituendo completamente la funzione di scambio gassoso fisiologico del polmone del paziente. Il compito dell'ossigenatore è dunque quello di rimuovere la CO<sub>2</sub> e di ossigenare il sangue. (19)

Per quanto riguarda l'eliminazione dell'anidride carbonica, il trattamento con ECMO V-V risulta molto più efficiente rispetto all'ossigenazione. Questo dipende per lo più dalle proprietà del gas stesso; infatti, la CO<sub>2</sub> ha una capacità di diffusione notevolmente maggiore rispetto all'ossigeno, la cui capacità di diffondere dipende invece da tre variabili:

- dalla qualità intrinseca della membrana dell'ossigenatore e della sua superficie;
- dal gradiente di pressione parziale di ossigeno che si crea tra il sangue e la macchina, regolato dall'operatore mediante la modifica della FiO<sub>2</sub>;
- dal flusso di sangue che viene fatto passare attraverso la membrana, che rappresenta il maggior determinante dell'ossigenazione. Esiste infatti una correlazione lineare tra aumento del flusso e aumento dell'ossigenazione. (13,21,22)

Fino al 2020 il registro dell'*Extracorporeal Life Support Organisation* (ELSO) ha registrato oltre 24.000 casi di ECMO respiratoria negli adulti, principalmente dovuti a una grave sindrome da distress respiratorio acuto (ARDS). (19,23–25)

Le indicazioni più comuni per l'utilizzo dell'ECMO V-V sono le seguenti:

- ipossiemia refrattaria, valutata da una pressione parziale arteriosa di ossigeno (PaO<sub>2</sub>) rapportata alla frazione di concentrazione di ossigeno inspiratoria (FiO<sub>2</sub>) < 80 mmHg o da un punteggio di Murray > 3, (26) nonostante una gestione medica ottimale, compresa l'individualizzazione del livello di PEEP (27) e una prova di posizionamento prono; (19)
- ipercapnia non compensata con acidosi, valutata da un pH arterioso < 7,25, (28) nonostante l'ottimizzazione delle impostazioni del ventilatore con una frequenza respiratoria fino a 35 atti per minuto;

- o Pressioni del ventilatore non protettive con una pressione di plateau di fine inspirazione eccessivamente alta (> 30 cmH<sub>2</sub>O). (28)

Al contrario, l'identificazione delle potenziali controindicazioni per l'uso dell'ECMO V-V è ancora oggetto di dibattito. (19,29) Sebbene non siano state stabilite controindicazioni assolute per l'ECMO V-V, alcune condizioni, associate a un esito sfavorevole, sono considerate controindicazioni relative, tra cui la ventilazione meccanica con impostazioni non protettive per più di 7 giorni, emorragie recenti o in espansione nel sistema nervoso centrale, età avanzata, comorbilità irreversibili e neoplasie terminali. (19)

Fino ad oggi, la pregressa storia microbiologica del paziente non è considerata una controindicazione al trattamento con ECMO V-V, nonostante i risultati di un'analisi retrospettiva del registro internazionale dell'ELSO su 2.355 pazienti adulti, trattati con ECMO V-V e V-A, mostrino che le infezioni acute pre-ECMO costituiscano una variabile associata in modo indipendente ad una scarsa sopravvivenza ospedaliera. (30) La situazione diventa ancora più complessa nei casi di isolamento di batteri Gram-negativi (GN) multi-resistenti (MDR). (31–33)

Effettivamente, è stato dimostrato che l'isolamento di batteri MDR GN costituisce un rischio indipendente di morte in diversi studi che coinvolgono popolazioni miste in Unità di Terapia Intensiva (UTI). (34–36) Tuttavia, i dati riguardo alla reale prevalenza di batteri MDR GN nei pazienti affetti da ARDS che necessitano di ECMO V-V risultano ancora contrastanti. Tra i batteri MDR GN di interesse sono compresi gli Enterobacterales produttori di  $\beta$ -lattamasi a spettro esteso (ESBL), gli Enterobacterales produttori di  $\beta$ -lattamasi di tipo AmpC, gli Enterobacterales resistenti ai carbapenemi (CRE), *Pseudomonas aeruginosa* e *Stenotrophomonas maltophilia* difficult-to-treat resistance (DTR) e *Acinetobacter baumannii* resistente ai carbapenemi (CRAB). (31,37–39)

### 1.3.2. RUOLO DELLE COLONIZZAZIONI NEI PAZIENTI SOTTOPOSTI AD ECMO

La colonizzazione può interessare il paziente sottoposto ad ECMO e, a tal proposito, è necessario menzionare lo studio *“Gastrointestinal colonization with multidrug-resistant Gram-negative bacteria during extracorporeal membrane oxygenation:*

*effect on the risk of subsequent infections and impact on patient outcome*" (40) effettuato dal gruppo Grasselli et al. dell'ospedale san Gerardo di Monza su pazienti sottoposti ad ECMO ricoverati presso la terapia intensiva dello stesso nosocomio. Con questo studio hanno valutato l'incidenza, l'eziologia, i fattori di rischio e l'impatto delle colonizzazioni gastrointestinali da batteri MDR Gram-negativi sui pazienti sottoposti ad ECMO. Sono stati considerati "colonizzati" i pazienti con tamponi rettali o perineali positivi per batteri MDR Gram-negativi. Sono stati considerati "infetti" i pazienti con criteri diagnostici per polmonite associata alla ventilazione (VAP), infezione del tratto urinario associata a catetere (UTI), infezione del flusso sanguigno (BSI) e infezione del flusso sanguigno correlata a catetere (CRBSI) causate da batteri MDR Gram-negativi.

I risultati dello studio hanno evidenziato che i pazienti colonizzati presentavano una permanenza più lunga in terapia intensiva, una durata prolungata di ventilazione meccanica e di supporto ECMO. Inoltre, la colonizzazione aumentava il rischio di necessità di tracheostomia. I pazienti colonizzati avevano oltre dieci volte la probabilità di sviluppare successive infezioni da batteri MDR Gram-negativi, e queste infezioni (principalmente VAP causata da *Acinetobacter baumannii*) erano associate a un aumentato rischio di mortalità.

La colonizzazione microbica può anche interessare i dispositivi dell'ECMO: le cannule e l'ossigenatore. La colonizzazione dell'ossigenatore nell'ECMO è definita come la presenza di almeno 15 CFU su una coltura semiquantitativa dell'ossigenatore. Allo stesso modo, la colonizzazione del catetere ECMO è definita come la presenza di almeno 15 CFU su una coltura semiquantitativa dell'estremità del catetere intravascolare.

Merita ulteriore menzione lo studio del gruppo Kim et al. pubblicato nel 2021 sul *Clinical Critical Care "Microbial Colonization of Oxygenator and Clinical Outcomes in Extracorporeal Membrane Oxygenation"*. (41)

Nel gruppo di pazienti in cui era presente una colonizzazione dell'ossigenatore, si è osservato un tasso di insuccesso elevato nella fase di svezzamento dall'ECMO e una sopravvivenza alla dimissione significativamente ridotta rispetto al gruppo non

colonizzato. È emerso anche un legame significativo tra la colonizzazione dell'ossigenatore e la colonizzazione del catetere, e una tendenza ad associarsi alle infezioni del flusso sanguigno. La colonizzazione dell'ossigenatore è stata associata ad un aumento della mortalità. È stato evidenziato che la maggior parte dei microrganismi che colonizzano l'ossigenatore sono resistenti ai farmaci, quindi si renderebbe necessaria la sostituzione dell'ossigenatore nei pazienti con infezioni intrattabili. È importante sottolineare che la colonizzazione dell'ossigenatore può verificarsi anche in pazienti non settici ed è stata correlata a un aumento del rischio di mortalità. Queste evidenze indicano la necessità di monitorare attentamente la colonizzazione dell'ossigenatore nell'ECMO e di adottare misure preventive e terapeutiche appropriate per ridurre il rischio di infezioni e migliorare l'esito clinico dei pazienti.

Si può quindi intuire come la colonizzazione abbia un ruolo importante nel determinare l'infezione nel paziente sottoposto ad ECMO e nell'influenzarne l'outcome.

Di conseguenza il paziente sottoposto ad ECMO è un paziente a rischio di infezioni nosocomiali.

A tal proposito merita una citazione lo studio pubblicato nel 2019 sull' *Annals of Intensive Care* "Nosocomial Infections During Extracorporeal Membrane Oxygenation: Incidence, Etiology, and Impact on Patients' Outcome" (42) effettuato dal gruppo Grasselli et al. dell'ospedale San Gerardo di Monza su pazienti sottoposti ad ECMO ricoverati presso la terapia intensiva dello stesso nosocomio. Lo scopo dello studio è quello di valutare l'incidenza, il tipo di infezione, l'eziologia, i fattori di rischio e l'impatto sull'outcome delle infezioni nosocomiali durante l'ECMO. Sono stati inclusi nello studio tutti i pazienti sottoposti ad ECMO per più di 24 ore. I criteri di esclusione sono stati: durata della degenza in terapia intensiva (LOS) <24 ore; utilizzo dell'ECMO <24 h; presenza di una infezione nosocomiale prima della connessione ECMO; cartelle cliniche mancanti. Dei pazienti inclusi nello studio sono stati raccolti i seguenti dati: dati demografici (sesso, età); comorbidità, stato immunologico (terapie immunosoppressive croniche, neoplasie ematologiche attive, malattie autoimmuni); diagnosi al momento del ricovero; infezioni al

momento del ricovero; terapia renale sostitutiva prima dell'incannulamento ECMO; punteggi di gravità (punteggio Sequential Organ Failure Assessment—SOFA e Simplified Acute Physiology Score II—SAPS II delle prime 24 ore di degenza in terapia intensiva); PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> alla connessione ECMO; configurazione ECMO (veno-venosa, veno-arteriosa, altro); trasferimento dall'ospedale periferico; durata della ventilazione meccanica invasiva (IMV) prima della connessione ECMO; terapia antimicrobica (es. esposizione a penicilline a spettro esteso con inibitore della β-lattamasi o carbapenemi).

Sono state analizzate tutte le colture microbiche positive prelevate dal momento in cui è iniziato il supporto ECMO fino a 48 ore dopo la rimozione delle cannule.

Tra i 92 pazienti presi in considerazione, il 55% (52 soggetti) ha sviluppato un'infezione durante il periodo di trattamento con ECMO. Le infezioni si sono manifestate in media dopo 9 giorni (intervallo 4-18,5) dall'inizio dell'ECMO. La polmonite associata alla ventilazione meccanica (VAP) è stata l'infezione più comunemente riscontrata, spesso causata da batteri Gram-negativi. I pazienti che hanno sviluppato un'infezione presentavano una durata prolungata di ECMO e ventilazione meccanica, un periodo più lungo di degenza in terapia intensiva e tassi di sopravvivenza più bassi. È stato osservato un alto tasso di isolati batterici multi-resistenti (MDR), e il primo episodio di infezione causato da organismi MDR è stato identificato come un fattore di rischio indipendente per la mortalità.

### 1.3.3. RUOLO DELLE INFEZIONI NEI PAZIENTI SOTTOPOSTI AD ECMO

Le infezioni associate all'ECMO sono state definite come infezioni che si sono verificate più di 24 ore dopo la connessione ECMO ed entro 48 ore dallo svezzamento dall'ECMO. È stato riportato che le infezioni nosocomiali si verificano nel 45% dei pazienti sottoposti ad ECMO, molto più frequentemente nell' ECMO V-V che nell' ECMO V-A.

Tra i fattori di rischio riconosciuti, (43,44) oltre la colonizzazione, si annoverano:

- o l'età avanzata, in quanto può essere correlata a una maggiore fragilità e compromissione del sistema immunitario.

- Le comorbidità del paziente: la presenza di altre condizioni mediche preesistenti, immunocompromissione, malattie croniche. Inoltre, un elevato SOFA Score al momento del posizionamento dell'ECMO risulta essere un fattore di rischio indipendente di sviluppare BSI determinate da batteri Gram-negativi.
- La durata della ventilazione meccanica: una ventilazione meccanica prolungata prima della connessione ad ECMO (>3 giorni) o durante la connessione all'ECMO
- La durata del trattamento con ECMO, che, quando superiore a 250 ore aumenta significativamente il rischio di BSI.
- Il numero di giorni di ospedalizzazione.
- L'insufficienza renale acuta, in quanto aumenta maggiormente il rischio di NI in ECMO e, anche l'eventuale terapia renale sostitutiva. Infatti, entrambe si correlano a una maggiore durata dell'ECMO in questi pazienti e, a prelievi di sangue più frequenti per il monitoraggio degli elettroliti.

Di conseguenza tra le possibili NI che si possono riscontrare nel paziente sottoposto ad ECMO si ritrovano:

- (i) Polmonite associata al ventilatore (VAP) (45): si tratta di un'inflammazione o infezione del polmone che si sviluppa a distanza di oltre 48 ore dall'intubazione. Le VAP possono essere precoci (meno di 96 ore dall'ammissione in rianimazione) o tardive (dopo 96 ore dall'ammissione in terapia intensiva). Le prime si associano a patogeni non multi-resistenti e le seconde a microorganismi antibiotico-resistenti. Questa classificazione è importante per decidere la terapia empirica più efficace. (1,2) La VAP si sospetta quando si verifica un infiltrato radiografico nuovo o progressivo, combinato con secrezioni purulente, peggioramento dell'ossigenazione e almeno un elemento tra: febbre, leucopenia o leucocitosi. Quando vengono soddisfatti i criteri del test di imaging e dei segni/sintomi, la VAP potrebbe essere diagnosticata dai risultati positivi della coltura semi-quantitativa di campioni ottenuti tramite lavaggio bronco-alveolare o aspirato endotracheale. (46)

La diagnosi di polmonite associata al ventilatore e l'infezione da batteri multiresistenti sono stati associati in modo indipendente ad un aumento del tasso di mortalità. (42)

Nel 2017 il National Healthcare Safety Network ha introdotto una definizione più moderna e oggettiva che include la polmonite associata al ventilatore all'interno dei Ventilator-Associated Events (VAE), che possono essere non infettivi (ad esempio VILI, atelettasie, ARDS, edema polmonare) o infettivi (VAP). Come si può osservare nelle Figure 2 e 3, i VAE comprendono al loro interno le Ventilator-Associated Conditions (VAC), di cui le Infection-related Ventilator-Associated Complications (IVAC) costituiscono un ulteriore sottogruppo. Inoltre, ulteriori criteri oggettivi sono stati identificati per distinguere nel sottogruppo delle IVAC le condizioni, rispettivamente, di Possible-Pneumonia e Probable-Pneumonia. (47)

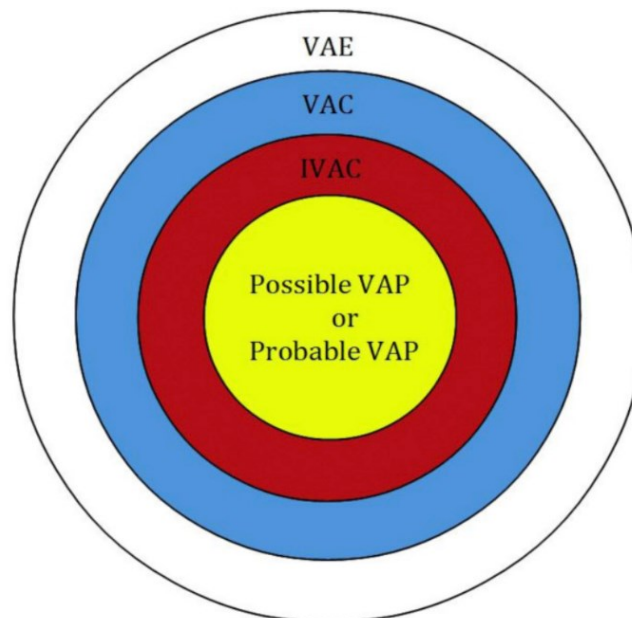


Figura 2.



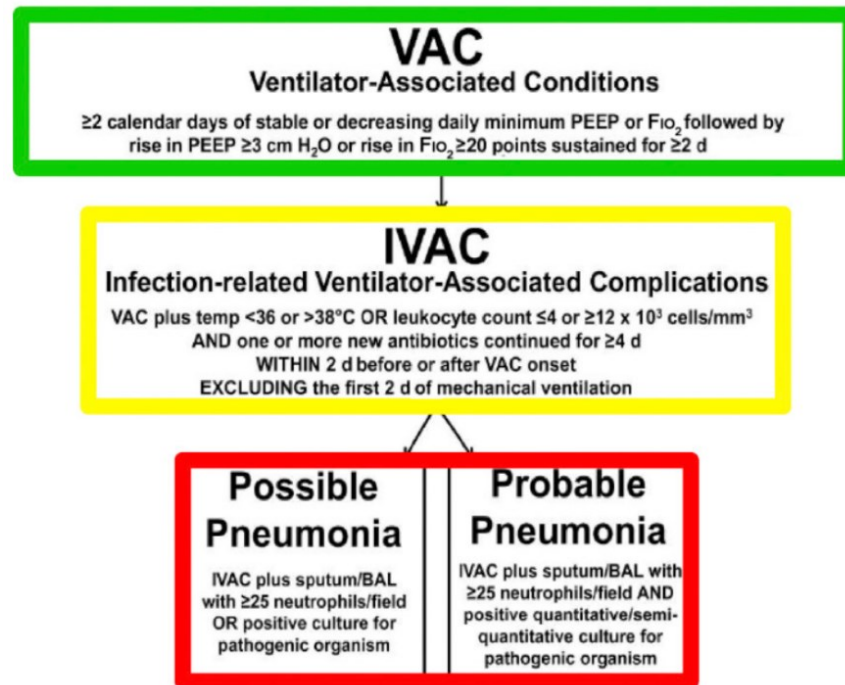


Figura 3.

- (ii) L'infezione delle vie urinarie (IVU) è stata definita da almeno un'urinocoltura positiva (>10<sup>5</sup> microrganismi/ml) con una o due specie di microrganismi e almeno uno di questi sintomi (febbre >38°C, disuria, pollachiuria, urgenza minzionale o dolorabilità sovrapubica) senza altre cause riconosciute. (46)

Le IVU si possono associare all'ECMO in quanto durante il trattamento, il paziente può essere dotato di un catetere vescicale per valutare la diuresi. Dunque, il catetere vescicale può rappresentare un veicolo per l'eventuale batterio e la probabilità di avere una IVU in ECMO è strettamente correlata alla durata del mantenimento del catetere. (45)

- (iii) Infezione del flusso sanguigno (BSI- Blood Stream Infection): è determinata da almeno un'emocoltura positiva per un microbo noto o la positività di due emocolture raccolte entro 48 ore per un comune saprofita cutaneo. In quest'ultimo caso è richiesta anche la positività ad almeno uno dei seguenti elementi: febbre >38°C, ipertensione e brividi. (48,49)

La BSI può essere primaria, se il microrganismo nell'emocoltura non causa infezione localizzata in un organo, mentre è secondaria se quel

patogeno si trova anche in un organo dove causa infezione localizzata. Inoltre, la BSI può essere associata a catetere vascolare, condizione che si verifica quando il microrganismo riscontrato in emocoltura si trova anche nel CVC, che deve essere stato posizionato da almeno 24h. (45) In questo caso le piccole colonie dei microrganismi possono diventare resistenti agli antibiotici o agli antisettici perché creano un biofilm sulla superficie del dispositivo stesso e si isolano da sostanze comunemente in grado di distruggerli.

I pazienti in ECMO richiedono spesso cateteri venosi centrali (CVC) per i farmaci vasoattivi e cateteri arteriosi per il monitoraggio emodinamico, entrambi fattori che aumentano il rischio di BSI. (49)

L'utilizzo dell'ECMO in pazienti settici è oggetto di dibattito in quanto l'associazione tra BSI e infezioni da catetere ECMO è motivo di preoccupazione, poiché i cateteri ECMO possono essere colonizzati da patogeni multi-resistenti in presenza di BSI. (49)

La mediana per lo sviluppo di BSI durante l'ECMO è di otto giorni. (46)

È importante sottolineare anche che la presenza di BSI influisce negativamente sullo svezzamento dall'ECMO e prolunga la durata complessiva del trattamento. (50)

Inoltre, le BSI durante l'ECMO sono associate a un aumento della mortalità e della morbilità. (42)

- (iv) Infezione del sito di inserimento della cannula ECMO (41): l'infezione può verificarsi nel punto in cui la cannula viene inserita nel corpo per consentire il flusso sanguigno attraverso il circuito ECMO, in particolare modo se la procedura di inserimento della cannula risulta essere quella chirurgica. Tali infezioni rappresentano il 12-34% di tutte le infezioni nosocomiali, costituendo la terza infezione per frequenza, e si associano ad un alto tasso di morbilità e mortalità dei pazienti ospedalizzati, con un aumento della degenza di 6,5 giorni e un raddoppio dei costi ospedalieri. (1)

Tra gli agenti eziologici (51–53) di più frequente riscontro nei pazienti che sviluppano infezione correlata all' ECMO ci sono i batteri Gram-negativi, di cui *Acinetobacter baumannii* e *Klebsiella pneumoniae* sono stati i patogeni più comunemente rilevati nelle BSI durante il trattamento con ECMO. Entrambi questi organismi sono noti per la loro resistenza multifarmaco. Invece, tra i microorganismi Gram-positivi, i germi più comunemente identificati come responsabili di infezioni correlate all'ECMO, sono gli stafilococchi coagulasi-negativi resistenti alla meticillina e gli enterococchi resistenti alla vancomicina. È preoccupante notare un aumento significativo della resistenza ai carbapenemi in diverse specie batteriche, tra cui *K. pneumoniae* (7,9% degli isolati), *P. aeruginosa* (16,5% degli isolati) e *A. baumannii* (>30% degli isolati). Da notare che l'isolamento di organismi resistenti ai farmaci (MDRO) rappresenta un rischio indipendente di mortalità e infezioni successive non solo nei pazienti critici, ma anche in quelli sottoposti a ECMO V-V, con un tasso di mortalità compreso tra il 56% e il 68%.

Tuttavia, i dati disponibili sono ancora contrastanti riguardo alla prevalenza esatta degli organismi resistenti ai farmaci, al rischio di infezioni successive e all'impatto delle colonizzazioni da MDRO sul breve e medio termine nei pazienti trattati con ECMO V-V.

## 2. OBIETTIVI DELLO STUDIO

Il presente studio retrospettivo multicentrico ha l'obiettivo di investigare le caratteristiche cliniche e gli outcome di una vasta coorte di pazienti sottoposti ad ECMO veno-venosa (V-V) per ARDS refrattaria a terapia convenzionale e in cui sono stati isolati batteri Gram-negativi *multi-drug-resistant*.

Gli outcome primari sono:

- (i) La ricorrenza degli isolamenti di batteri Gram-negativi *multi-drug-resistant*.
- (ii) l'associazione tra l'isolamento di batteri MDR GN e il rischio di mortalità ad 1 anno per ogni gruppo di pazienti, individuato sulla base del momento in cui è avvenuta la rilevazione dei batteri stessi (ovvero: il gruppo 'precolonizzato da MDR GN', che include i pazienti con batteri MDR GN prima della cannulazione V-V ECMO; il gruppo 'MDR GN acquisiti durante V-V ECMO'; e il gruppo 'non-MDR GN');
- (iii) l'impatto che il volume annuo di pazienti sottoposti a V-V ECMO all'interno dell'ospedale esercita sulla probabilità di contrarre batteri MDR GN.

Gli outcome secondari includono:

- (i) mortalità a 90 giorni;
- (ii) la percentuale di successi dello svezzamento (definito come estubazione e assenza di supporto ventilatorio invasivo entro 48 ore dall'estubazione) e di fallimenti dello svezzamento (definito come fallimento del primo tentativo spontaneo di respirazione, e/o reintubazione o ripresa del supporto ventilatorio entro 48 ore dopo l'estubazione e/o morte entro 48 ore dall'estubazione); (54)
- (iii) giorni liberi da ventilazione a 28 giorni (VFDs – Ventilator-Free Days), (55) durata complessiva della V-V ECMO, necessità di terapia sostitutiva renale dopo l'inizio della V-V ECMO e durata del soggiorno in terapia intensiva.

### 3. MATERIALI E METODI

#### 3.1. DISEGNO DELLO STUDIO

Lo studio è multicentrico retrospettivo, di natura osservazionale. È stato condotto tra il 1° gennaio 2017 e il 31 dicembre 2022 in 5 unità di terapia intensiva (UTI) di ospedali universitari italiani, contando complessivamente un totale di 70 letti di UTI (ossia, Ospedale Mater Domini di Catanzaro; Ospedale Universitario di Padova; Ospedale Universitario di Verona; Ospedale Giovanni XXIII di Bari e Ospedale San Gerardo di Monza).

Come si osserva nel Grafico 1 sono stati arruolati in totale 279 pazienti, di cui 58 nell'UTI dell'Ospedale Mater Domini di Catanzaro; 48 nell'UTI dell'Azienda Ospedale – Università di Padova; 32 nell'UTI del Policlinico di Verona; 35 nell'UTI del Policlinico di Bari Giovanni XXIII e 106 nell'UTI dell'Ospedale San Gerardo di Monza.

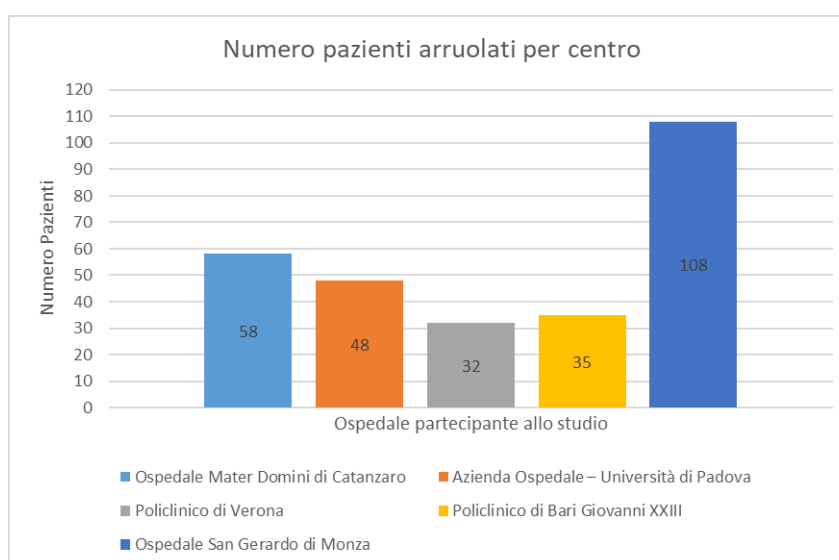


Grafico 1.

Sono stati inclusi pazienti adulti di età superiore ai 18 anni che hanno ricevuto ECMO V-V per il supporto respiratorio durante il periodo dello studio. I criteri di esclusione sono stati: età < 18 anni, gravidanza, configurazione mista di ECMO (veno-venoso e veno-arterioso), cartelle cliniche incomplete per gli outcome principali (mortalità ad 1 anno e/o sorveglianza microbiologica assenti). Dopo aver

esaminato 285 pazienti in terapia intensiva trattati con ECMO V-V per insufficienza respiratoria grave, ne sono stati inclusi nell'analisi 279. 2 pazienti sono stati esclusi a causa dell'incompletezza delle cartelle cliniche, 2 per configurazione mista di ECMO e 2 per sopravvivenza inferiore a 24 ore dall'inizio dell'ECMO V-V. (Figura 4)

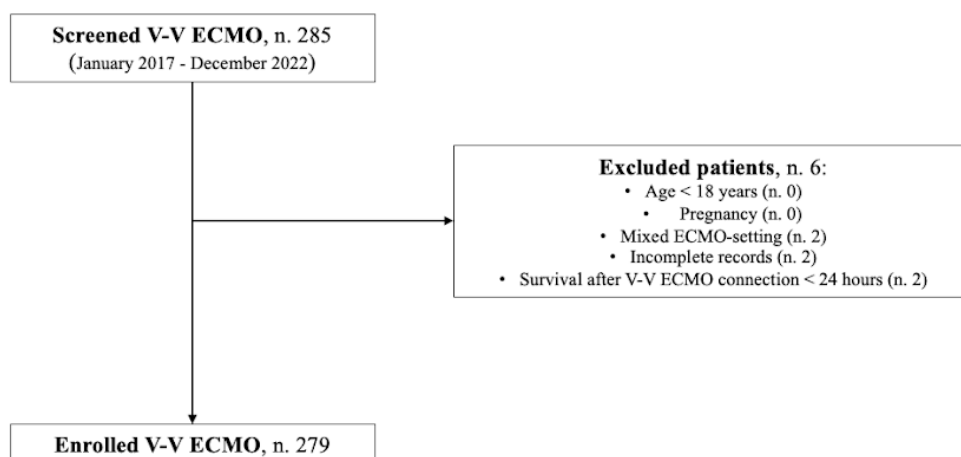


Figura 4. Flow-chart.

Lo studio è stato condotto in conformità con la Dichiarazione di Helsinki e l'approvazione per lo stesso è stata concessa dal Comitato Etico locale "Comitato Etico Territoriale Regione Calabria" (Approvazione n. 22 del 27 settembre 2023), il quale ci ha esentato dalla necessità di ottenere il consenso informato per via della natura retrospettiva osservazionale dello studio. Tutti i dati dei pazienti sono stati anonimizzati e de-identificati prima dell'analisi. Inoltre, questo studio ha seguito le linee guida della dichiarazione STROBE (Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology) per gli studi osservazionali di coorte. (56) La decisione di iniziare il trattamento con ECMO V-V è stata presa da intensivisti senior, in conformità alle linee guida/raccomandazioni dell'ELSO (Extracorporeal Life Support Organization). (19) I pazienti sono stati cannulati con la tecnica percutanea di Seldinger sotto guida ecografica e connessi a circuiti dotati di tubazioni rivestite di eparina, pompa centrifuga e ossigenatori a membrana in polimetilpentene a fibre cave.

La sorveglianza microbiologica di routine è stata uniformemente condotta in tutti i centri: tamponi rettali e campioni prelevati dalle vie respiratorie (solitamente tramite lavaggio bronco-alveolare) sono stati raccolti ogni 48-72 ore dopo

l'ammissione in terapia intensiva, mentre campioni di sangue e urine sono stati raccolti in caso di sospetto clinico, così come campioni biologici provenienti da altri siti (cute, tessuti molli, inserzione della cannula). (31,57)

L'infezione è stata definita come  $\geq 10^4$  CFU/ml e segni clinici di sepsi o shock settico, in conformità ai criteri Sepsis-3; (58) mentre la colonizzazione si è verificata in presenza di meno di  $10^4$  CFU/ml e in assenza di segni clinici di infezione. (58) Inoltre i patogeni MDR GN (ad esempio, ESBL, AmpC, CRE, profili DTR e CRAB) sono stati classificati in base alla definizione del Centro per il Controllo delle Malattie (Center for Disease Control- CDC). (37,59)

In tutti gli ospedali partecipanti è stato applicato un protocollo standardizzato per il controllo e la prevenzione delle infezioni descritto nel dettaglio al paragrafo 3.1.1.

In aggiunta, per prevenire l'insorgenza di pattern *multi-drug-resistant*, ciascun centro ha adottato un programma di antimicrobial stewardship, che includeva test diagnostici molecolari rapidi, una comunicazione tempestiva tra le unità di terapia intensiva e i laboratori di microbiologia, e una revisione giornaliera delle terapie antibiotiche da parte di uno specialista infettivologo, al fine di favorire la selezione del regime antimicrobico ottimale, della dose e della durata della terapia. (60)

La terapia antimicrobica è stata somministrata 'empiricamente' quando è stata avviata prima di qualsiasi evidenza microbiologica; mentre è stata definita 'mirata' nel momento in cui è stata avviata dopo aver ottenuto l'evidenza microbiologica in accordo con i test di suscettibilità *in vitro*. (61)

I pazienti sono stati suddivisi in tre gruppi in base al momento della rilevazione di batteri Gram-negativi *multi-drug-resistant* (MDR GN):

- (i) gruppo 'precolonizzati da MDR GN', che comprende pazienti con una storia di isolamento di batteri MDR GN entro 24 ore dopo la cannulazione dell'ECMO;
- (ii) gruppo 'MDR GN acquisiti durante V-V ECMO', che include pazienti con isolamento di batteri MDR GN dopo 24 ore dall'inizio dell'ECMO e 48 ore dopo la disconnessione;
- (iii) gruppo 'non-MDR GN', che comprende pazienti che non hanno avuto alcun isolamento di batteri MDR GN durante il periodo dello studio.

### 3.1.1. PROTOCOLLO PER LA PREVENZIONE E IL CONTROLLO DELLE INFEZIONI (62)

In tutte le UTI partecipanti allo studio è stato applicato il seguente protocollo standardizzato per il controllo e la prevenzione delle infezioni:

- (i) nessun antibiotico profilattico è stato somministrato durante la cannulazione dell'ECMO;
- (ii) tutti i pazienti sono stati mantenuti in posizione semi-seduta per prevenire l'inalazione;
- (iii) è stata effettuata la decontaminazione orale con clorexidina (0,15%) almeno 3 volte al giorno;
- (iv) è stata somministrata la profilassi sistematica delle ulcere da stress quotidianamente;
- (v) è stata utilizzata un'alimentazione enterale precoce;
- (vi) è stata fortemente raccomandata l'igiene delle mani a base di alcol e il lavaggio dell'intero corpo con clorexidina;
- (vii) precauzioni di contatto individuali rigorose e l'isolamento dei pazienti secondo coorte sono stati applicati a tutti i pazienti con isolamento di batteri MDR GN. (63)

La polmonite associata al ventilatore (VAP) è stata sospettata al verificarsi di un nuovo o progressivo infiltrato radiografico, combinato con secrezioni purulente, peggioramento dell'ossigenazione e almeno un elemento tra: febbre, leucopenia o leucocitosi (almeno 48 ore dopo l'intubazione). Quando sono stati soddisfatti i criteri del test di imaging e dei segni/sintomi, la VAP è stata diagnosticata dai risultati positivi della coltura semi-quantitativa di campioni ottenuti da lavaggio bronco-alveolare o aspirato endotracheale. In caso di infezione disseminata, sono state diagnosticate le complicanze correlate all'infezione associata al ventilatore. (31,37,57)

La polmonite acquisita in comunità (CAP) identifica invece le infezioni polmonari contratte nella comunità, al di fuori dell'ospedale. (31,37,57)

L'infezione del flusso sanguigno (BSI- Blood Stream Infection) è stata determinata da almeno un'emocoltura positiva per un microbo noto o dalla positività di due emocolture raccolte entro 48 ore per un comune saprofito cutaneo. (31,57) In



quest'ultimo caso è richiesta anche la positività per almeno uno dei seguenti sintomi: febbre  $>38^{\circ}\text{C}$ , ipertensione e brividi.

L'infezione delle vie urinarie (IVU) è stata definita da almeno una urinocoltura positiva ( $>10^5$  microrganismi/ml) con una o due specie di microrganismi e almeno uno di questi sintomi (febbre  $>38^{\circ}\text{C}$ , disuria, pollachiuria, urgenza minzionale o dolorabilità sovrapubica) senza altre cause riconosciute (almeno 48 ore dopo la cateterizzazione).

Le infezioni dei tessuti molli e altre forme di infezioni (o isolamento) sono state denominate "altre". (31,37,57)

### 3.2. RACCOLTA DATI

Le cartelle mediche elettroniche e cartacee sono state esaminate retrospettivamente e sono state raccolte le seguenti variabili:

- (i) caratteristiche demografiche e di base, indice di comorbidità di Charlson, punteggio Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) all'ammissione in terapia intensiva;
- (ii) inizio della ventilazione meccanica invasiva (IMV) e  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$  prima dell'inizio della V-V ECMO;
- (iii) indicazioni per V-V ECMO e punteggio SOFA alla cannulazione dell'ECMO V-V;
- (iv) risultati delle colture durante il soggiorno in terapia intensiva, tipo di batteri isolati, sede di isolamento, profili di resistenza e dati sull'utilizzo degli antibiotici;
- (v) necessità di terapia sostitutiva renale, sospensione della IMV;
- (vi) durata del supporto V-V ECMO, della IMV e della permanenza in terapia intensiva;
- (vii) mortalità a 90 giorni e ad 1 anno.

### 3.3. ANALISI STATISTICA

Le variabili continue sono presentate come mediane e range interquartile (IQR) mentre le variabili categoriche sono presentate come numeri (percentuali).

Le caratteristiche di base dei pazienti e le variabili di outcome sono state confrontate tra le tre sottopopolazioni predefinite, come segue: 1) gruppo 'precolonizzati da MDR GN', 2) gruppo 'batteri MDR GN acquisiti durante V-V ECMO', e 3) gruppo 'non-MDR GN'. Solo il primo isolamento di batteri MDR GN è stato considerato per l'analisi.

Il t-test, il test ANOVA o il test non parametrico sono stati utilizzati per confrontare le variabili continue, mentre il test del Chi-quadro o il test esatto di Fisher sono stati utilizzati per le variabili categoriche.

Successivamente, tutte le variabili incluse nelle Tabelle II e III, con un valore di  $p < 0,10$ , sono state inserite nei modelli univariati successivi, come descritto di seguito. Per quanto riguarda la mortalità ad 1 anno, le curve di Kaplan-Meier sono state riportate solo a scopo descrittivo. Il tasso di rischio non aggiustato (HR) e il tasso di rischio aggiustato (aHR), con relativi intervalli di confidenza al 95% (IC), sono stati calcolati utilizzando un modello di regressione di Cox proporzionale. L'aggiustamento è stato effettuato in base ai fattori confondenti significativi (valore di  $p < 0,05$ ) identificati da due modelli di regressione di Cox univariati che investigavano:

- (i) il rischio di isolamento di batteri MDR GN;
- (ii) il rischio di mortalità ad 1 anno.

La stessa analisi è stata eseguita per la mortalità a 90 giorni.

Per quanto riguarda la variabile tempo-dipendente, l'inizio è stato definito a partire dalla connessione dell'ECMO V-V per i pazienti non-MDR GN e precolonizzati da MDR GN; mentre, per i pazienti che acquisivano batteri MDR GN dopo la connessione V-V ECMO, l'inizio della variabile tempo-dipendente coincide con la data dell'isolamento dei patogeni MDR GN (per evitare un immortal time bias).

Per indagare l'impatto del volume ospedaliero annuo di pazienti sottoposti a ECMO V-V (64) sul verificarsi di isolamenti di batteri MDR GN dopo la connessione V-V ECMO (i pazienti precolonizzati sono stati esclusi da questa analisi), è stata applicata

una regressione logistica, dopo l'aggiustamento per potenziali fattori confondenti (valore di  $p < 0,05$ ) identificati da un modello di regressione logistica univariato.

Inoltre, sono stati calcolati i tassi grezzi di incidenza (IR) degli isolamenti di batteri MDR GN per 1.000 giorni-paziente di ECMO V-V (IR/1.000 V-V ECMO-pd) e sono stati presi in considerazione solo i giorni di V-V ECMO privi di batteri MDR GN. (40,42)

Tutti i test sono stati eseguiti a due code e i valori di  $p < 0,05$  sono stati considerati statisticamente significativi. Le analisi sono state eseguite utilizzando Prism (versione 5.0; GraphPad Software, Inc, La Jolla, CA, USA) e R (versione 4.0.3, R foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

### 3.4. TABELLE RIASSUNTIVE

#### 3.4.1. CARATTERISTICHE DEI PAZIENTI ALLA CONNESSIONE AD ECMO V-V, MORTALITA' ED OUTCOME.

Tabella IIa. *Caratteristiche di base e Indicazioni per il supporto ECMO V-V.*

	Overall population (N=279, 100%)	Precolonized MDR GN <sup>(1)</sup> (N=49, 18%)	V-V ECMO- acquired MDR GN <sup>(2)</sup> (N=90, 33%)	Non- MDR GN <sup>(3)*</sup> (N=140, 52%)
<b><i>Baseline characteristics</i></b>				
Age, years	52 ± 12	49 ± 13	52 ± 12	51 ± 11
Gender (male), n (%)	200 (72)	34 (69)	65 (77)	101 (72)
IBW, Kg/m <sup>2</sup>	65 ± 9	64 ± 8	66 ± 8	65 ± 9
Charlson Comorbidity Index (w/o age)	1 [0-2]	1 [0-2]	1 [0-1]	1 [0-2]
Sepsis Organ Failure Assessment				
• at ICU admission	8 [6-11]	8 [6-12]	8 [7-10]	8 [5-12]
• at V-V ECMO connection	9 [7-12]	10 [8-13]	9 [7-12]	8 [6-12]
IMV prior to V-V ECMO connection (days)	2 [1-5]	3 [1-5]	3 [1-6]	2 [1-6]
PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> < 100 mmHg prior to V-V ECMO connection, n (%)	171 (61)	29 (59)	54 (60)	88 (63)
Annual hospital V-V ECMO volume <sup>a</sup> , n	13 ± 6	12 ± 5	12 ± 6	15 ± 5
<b><i>Indications for V-V ECMO support</i></b>				
Acute respiratory distress syndrome, n (%)	233 (84)	42 (86)	74 (82)	117 (84)
Trauma, major burn, autoimmune disease, CLAD, n (%)	46 (16)	7 (14)	16 (18)	23 (16)

Tabella IIa *p-value*.

	<i>Overall p-value</i>	<i>p-value (1) vs (2)</i>	<i>p-value (1) vs (3)</i>	<i>p-value (2) vs (3)</i>
<b><i>Baseline characteristics</i></b>				
Age, years	0.071	0.171	<b>0.033</b>	0.369
Gender (male), n (%)	0.926	0.845	0.716	0.999
IBW, Kg/m <sup>2</sup>	0.628	0.344	0.700	0.506
Charlson Comorbidity Index (w/o age)	0.282	0.098	0.351	0.397
Sepsis Organ Failure Assessment	0.866			
• at ICU admission		0.984	0.647	0.669
• at V-V ECMO connection	0.138	0.167	<b>0.048</b>	0.507
IMV prior to V-V ECMO connection (days)	<b>0.045</b>	0.307	0.542	<b>0.010</b>
PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> < 100 mmHg prior to V-V ECMO connection, n (%)	0.861	0.925	0.649	0.663
Annual hospital V-V ECMO volume <sup>a</sup> , n	<b>&lt;0.001</b>	0.412	<b>0.002</b>	<b>0.004</b>
<b><i>Indications for V-V ECMO support</i></b>				
Acute respiratory distress syndrome, n (%)	0.867	0.642	0.823	0.858
Trauma, major burn, autoimmune disease, CLAD, n (%)	0.867	0.642	0.823	0.858

Tabella IIb. *Outcome.*

	<b>Overall population</b> (N=279, 100%)	<b>Precolonized MDR GN <sup>(1)</sup></b> (N=49, 18%)	<b>V-V ECMO-acquired MDR GN <sup>(2)</sup></b> (N=90, 33%)	<b>Non-MDR GN <sup>(3)*</sup></b> (N=140, 52%)
<b><i>Outcomes</i></b>				
1-year mortality, n (%)	118 (42)	32 (65)	40 (44)	46 (33)
• with MDR GN bacteria infection, n (%)	55 (20)	23 (72)	32 (65)	-
• with MDR GN bacteria colonization, n (%)	27 (10)	9 (28)	18 (37)	-
90-day mortality, n (%) (from ECMO connection)	113 (41)	29 (59)	39 (43)	45 (32)
• with MDR GN bacteria infection, n (%)	47 (17)	20 (69)	27 (69)	-
• with MDR GN bacteria colonization, n (%)	21 (75)	9 (31)	12 (31)	-
Overall V-V ECMO duration, days	12 [8-22]	13 [7-27]	17 [12-27]	11 [6-16]
• with a MDR GN bacteria isolation, days	11 [6-20]	13 [7-27]	10 [5-18]	-
Ventilator free days ( <i>reference</i> : 28 days)	0 [0-8]	0 [0-0]	0 [0-2]	0 [0-12]
Weaning success <sup>b</sup> , n (%)	95 (34)	12 (25)	19 (21)	64 (45)
Weaning failure <sup>b</sup> , n (%)	119 (43)	19 (38)	50 (56)	50 (36)
Never extubated, n (%)	65 (23)	18 (37)	21 (23)	26 (19)
RRT after V-V ECMO connection, n (%)	99 (35)	24 (49)	31 (34)	44 (31)
ICU LOS, days	27 [18-44]	22 [15-45]	35 [25-53]	24 [17-36]

Tabella IIb *p-value*.

	<i>Overall p-value</i>	<i>p-value (1) vs (2)</i>	<i>p-value (1) vs (3)</i>	<i>p-value (2) vs (3)</i>
<b>Outcomes</b>				
1-year mortality, n (%)	<b>&lt;0.001</b>	<b>0.022</b>	<b>&lt;0.001</b>	0.094
• with MDR GN bacteria infection, n (%)	-	0.459	-	-
• with MDR GN bacteria colonization, n (%)	-	0.459	-	-
90-day mortality, n (%) (from ECMO connection)	<b>0.003</b>	0.079	<b>0.001</b>	0.094
• with MDR GN bacteria infection, n (%)	-	0.981	-	-
• with MDR GN bacteria colonization, n (%)	-	0.981	-	-
Overall V-V ECMO duration, days	<b>&lt;0.001</b>	0.054	0.078	<b>&lt;0.001</b>
• with a MDR GN bacteria isolation, days	-	<b>0.028</b>	-	-
Ventilator free days ( <i>reference:</i> 28 days)	<b>&lt;0.001</b>	0.519	<b>0.004</b>	<b>&lt;0.001</b>
Weaning success <sup>b</sup> , n (%)	<b>&lt;0.001</b>	0.136	<b>0.010</b>	<b>&lt;0.001</b>
Weaning failure <sup>b</sup> , n (%)	<b>&lt;0.001</b>	0.136	<b>0.010</b>	<b>&lt;0.001</b>
Never extubated, n (%)	<b>&lt;0.001</b>	0.136	<b>0.010</b>	<b>&lt;0.001</b>
RRT after V-V ECMO connection, n (%)	0.084	0.276	<b>0.038</b>	0.467
ICU LOS, days	<b>&lt;0.001</b>	<b>0.005</b>	<b>0.014</b>	<b>&lt;0.001</b>

*Nelle Tabelle IIa, IIa p-value, IIb, IIb p-value i dati sono presentati come frequenza assoluta (% dei pazienti inclusi) o come mediana e [intervallo interquartile] o come media±deviazione standard. \*: 89 su 140 (64%) pazienti hanno isolato solo batteri Gram-positivi/funghi/virus e mai batteri Gram-negativi. <sup>a</sup>: il volume ospedaliero annuo di ECMO V-V è definito come il numero specifico di pazienti trattati con ECMO veno-venosa ogni anno. <sup>b</sup>: il successo dello svezzamento è definito come l'estubazione e l'assenza di supporto ventilatorio entro 48 ore dall'estubazione. Il fallimento dello svezzamento è definito come uno dei seguenti: 1) SBT fallito; 2) reintubazione e/o ripresa del supporto ventilatorio dopo un'estubazione riuscita; o 3) morte entro 48 ore dall'estubazione. Abbreviazioni: ICU: Unità di Terapia Intensiva; RRT: terapia di sostituzione renale; IMV: ventilazione meccanica invasiva; IBW: peso corporeo ideale; PaO<sub>2</sub>: pressione parziale arteriosa di ossigeno; FIO<sub>2</sub>: frazione inspiratoria di ossigeno; ECMO: ossigenazione extracorporea a membrana; MDR: batteri multi-resistenti; GN: batteri Gram-negativi; N o n: numero; w/o: senza; VV: veno-venosa; CLAD: disfunzione cronica del trapianto di polmone.*



## 3.4.2 CARATTERISTICHE MICROBIOLOGICHE

Tabella IIIa. *Siti di isolamento dei batteri MDR GN; Altre infezioni.*

	Overall population (N=279, 100%)	Precolonized MDR GN <sup>(1)</sup> (N=49, 18%)	V-V ECMO- acquired MDR GN <sup>(2)</sup> (N=90, 33%)	Non- MDR GN <sup>(3)*</sup> (N=140, 52%)
Infections due to MDR GN bacteria, n (%)	-	36 (73)	63 (70)	-
Colonizations due to MDR GN bacteria, n (%)	-	13 (27)	27 (30)	-
<b>Site of MDR GN bacteria isolations</b>				
<ul style="list-style-type: none"> <li>● Respiratory tract, n (%) (CAP or VAP, n (%))</li> <li>● Respiratory tract plus other sites, n (%) (IVAC, n (%))</li> <li>● Blood stream, n (%) (BSI, n (%))</li> <li>● Rectal swab, skin, urine etc., n (%) (Other infections, n (%))</li> </ul>	-	19 (39) 16 (33)	40 (44) 27 (30)	-
	-	18 (37)	20 (22)	-
	-	13 (27)	17 (19)	-
	-	4 (8) 4 (8)	6 (7) 6 (7)	-
	-	8 (16)	26 (29)	-
	-	3 (6)	11 ( )	-
<b>Other infections</b>				
Concomitant infections due to virus (i.e., Sars-Cov-2) or fungi, n (%)	154 (55)	33 (67)	53 (59)	86 (61)
Concomitant infections due to Gram-positive bacteria, n (%)	103 (37)	17 (35)	34 (38)	52 (37)
Resistance pattern° (only Gram- positive bacteria)				
<ul style="list-style-type: none"> <li>● VRE, n (%)</li> <li>● Multi-sensitive, n (%)</li> <li>● Other resistances (i.e. LRE), n (%)</li> </ul>	29 (10) 91 (33) 32 (11)	6 (12) 14 (29) 7 (14)	12 (13) 31 (34) 12 (13)	11 (8) 46 (33) 13 (9)

Tabella IIIa *p-value*.

	<i>Overall p-value</i>	<i>p-value (1) vs 7(2)</i>	<i>p-value (1) vs (3)</i>	<i>p-value (2) vs (3)</i>
Infections due to MDR GN bacteria, n (%)	-	0.699	-	-
Colonizations due to MDR GN bacteria, n (%)	-	0.699	-	-
<b>Site of MDR GN bacteria isolations</b>				
<ul style="list-style-type: none"> <li>● Respiratory tract, n (%) (CAP or VAP, n (%))</li> <li>● Respiratory tract plus other sites, n (%) (IVAC, n (%))</li> <li>● Blood stream, n (%) (BSI, n (%))</li> <li>● Rectal swab, skin, urine etc., n (%) (Other infections, n (%))</li> </ul>	-	0.183	-	-
	-	0.183	-	-
	-	0.183	-	-
	-	0.183	-	-
<b>Other infections</b>				
Concomitant infections due to virus (i.e., Sars-Cov-2) or fungi, n (%)	0.617	0.365	0.496	0.783
Concomitant infections due to Gram-positive bacteria, n (%)	0.934	0.854	0.863	0.474
Resistance pattern <sup>a</sup> (only Gram- positive bacteria)				
<ul style="list-style-type: none"> <li>● VRE, n (%)</li> <li>● Multi-sensitive, n (%)</li> <li>● Other resistances (i.e. LRE), n (%)</li> </ul>	0.718	0.905	0.452	0.542
	0.718	0.905	0.452	0.542
	0.718	0.905	0.452	0.542

Tabella IIIb. *Antibiotici ad ampio spettro utilizzati empiricamente.*

	Overall population (N=279, 100%)	Precolonized MDR GN <sup>(1)</sup> (N=49, 18%)	V-V ECMO- acquired MDR GN <sup>(2)</sup> (N=90, 33%)	Non- MDR GN <sup>(3)*</sup> (N=140, 52%)
<b><i>Empirical broad-spectrum antibiotics</i></b>				
Penicillins, $\beta$ -lactam-inhibitor/III, IV cephalosporins or fluoroquinolones, n (%)	132 (47)	25 (51)	41 (46)	66 (47)
Carbapenems, ceftazidime-avibactam, ceftolozane-tazobactam, cefiderocol, imipenem-relebactam etc., n (%)	82 (29)	14 (29)	24 (27)	44 (32)
Only targeted therapy or nothing, n (%)	65 (24)	10 (20)	25 (27)	30 (21)

Tabella IIIb p-value.

	Overall p-value	p-value (1) vs 7(2)	p-value (1) vs (3)	p-value (2) vs (3)
<b><i>Empirical broad-spectrum antibiotics</i></b>				
Penicillins, $\beta$ -lactam-inhibitor/III, IV cephalosporins or fluoroquinolones, n (%)	0.773	0.629	0.892	0.503
Carbapenems, ceftazidime-avibactam, ceftolozane-tazobactam, cefiderocol, imipenem-relebactam etc., n (%)	0.773	0.629	0.892	0.503
Only targeted therapy or nothing, n (%)	0.773	0.629	0.892	0.503

*I dati sono presentati come frequenza assoluta (% dei pazienti inclusi) o come mediana e [intervallo interquartile]. \*: 89 su 140 (64%) pazienti hanno isolato solo batteri Gram-positivi/funghi/virus e mai batteri Gram-negativi multisensibili. °: in caso di isolamento batterico multiplo, è stato conteggiato solo il modello di resistenza peggiore. Nove (8%) pazienti appartenenti al gruppo GN-MDR pre-colonizzato e 16 (8%) pazienti appartenenti al gruppo GN-MDR acquisiti durante ECMO veno-venosa hanno registrato un profilo di resistenza agli ESBL.*

*Abbreviazioni: ECMO: ossigenazione extracorporea a membrana; MDR: batteri multi-resistenti; GN: Gram-negativi; N o n: numero; ESBL: beta-lattamasi a spettro esteso; VRE: enterococco resistente alla vancomicina; LRE: enterococco resistente alla linezolid; pd: persona-giorni; VV: veno-venosa; CAP: polmonite acquisita in comunità.*

## 4. RISULTATI

Dal gennaio 2017 a dicembre 2022 sono stati esaminati 285 pazienti in terapia intensiva trattati con V-V ECMO per insufficienza respiratoria grave. Dopo l'esclusione di 2 pazienti a causa dell'incompletezza delle cartelle cliniche, 2 per configurazione mista di ECMO e 2 per sopravvivenza inferiore a 24 ore dall'inizio dell'ECMO V-V, sono stati inclusi nell'analisi 279 pazienti (età media 52 anni; 72% di sesso maschile). Le caratteristiche di base dei pazienti, il punteggio SOFA, le impostazioni della ventilazione meccanica invasiva (IMV), la PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> prima dell'avvio dell'ECMO V-V, le indicazioni per il supporto ECMO V-V e gli outcome di interesse sono riassunti nelle Tabelle: IIa, IIa p-value, IIb, IIb p-value.

### 4.1. INCIDENZA DEGLI ISOLAMENTI DI BATTERI MDR GN DURANTE IL TRATTAMENTO CON ECMO V-V

Al momento della connessione dell'ECMO V-V, 49 (18%) pazienti erano precolonizzati da batteri MDR GN; 90 (33%) pazienti hanno acquisito batteri MDR GN dopo la cannulazione dell'ECMO V-V e in 140 (52%) soggetti non sono mai stati rilevati batteri MDR GN.

I pazienti appartenenti al gruppo 'precolonizzati da batteri MDR GN' erano più giovani ( $49 \pm 13$  vs  $52 \pm 12$  anni,  $p 0.033$ ) e avevano un punteggio SOFA più elevato al momento della connessione all'ECMO V-V ( $10 [8-13]$  vs  $8 [6-12]$ ,  $p 0.048$ ) rispetto a coloro in cui non sono mai stati isolati batteri MDROs (Tabelle: IIa, IIa p-value). Inoltre, quest'ultimo gruppo è stato sottoposto ad una ventilazione meccanica invasiva (IMV), prima della connessione dell'ECMO V-V, meno prolungata rispetto a coloro in cui sono stati rilevati batteri MDR GN durante il trattamento con ECMO V-V. ( $2 [1-6]$  vs  $3 [1-6]$  giorni,  $p 0.010$ ) (Tabelle: IIa, IIa p-value).

È stato osservato un totale di 779 giorni di ECMO V-V privi di batteri MDR GN. Il tasso grezzo complessivo di incidenza di isolamenti di batteri MDR in questa coorte è stato di 178/1.000 V-V ECMO-pd. Di questi, l'IR (incidence rate) grezzo nei pazienti che hanno acquisito batteri MDR GN durante il trattamento ECMO V-V è stato di

156/1.000 V-V ECMO-pd, con un intervallo mediano di isolamento di batteri MDR GN di 7 giorni a partire dalla cannulazione con ECMO V-V.

Riguardo alle infezioni da batteri MDR GN, 36 su 49 (73%) pazienti precolonizzati e 63 su 90 (70%) di quelli in cui sono stati isolati MDR GN durante la cannulazione, hanno sviluppato sepsi o shock settico (valore di p 0,699) (Tabelle: IIIa, IIIa p-value, IIIb, IIIb p-value).

CAP/VAP e IVAC sono state entrambe riscontrate più frequentemente sia nei pazienti precolonizzati (35% e 24%) sia nei soggetti che acquisivano batteri MDR GN dopo la connessione dell'ECMO V-V (32% e 17%) (Tabelle: IIIa, IIIa p-value). I microrganismi resistenti ai farmaci più prevalenti erano specie di *Klebsiella* resistenti ai carbapenemi (appartenenti a CRE), *Acinetobacter baumannii* resistente ai carbapenemi (CRAB) e DTR (difficult-to-treat resistance)-*Pseudomonas aeruginosa*, principalmente isolati da campioni respiratori e/o gastrointestinali (Tabella IV).

➤ **Tabella IV. Batteri MDR GN complessivi: sito di isolamento.**

MDR GN bacteria	N. of patients for site				
	<i>Blood stream</i>	<i>Respiratory tract</i>	<i>Urynary tract</i>	<i>Rectal swab</i>	<i>Other</i>
<i>Klebsiella pneumoniae, oxytoca (CRE)</i>	12 (9)	49 (35)	2 (1)	27 (19)	2 (1)
<i>Acinetobacter baumannii (CRAB)</i>	15 (11)	43 (31)	5 (4)	10 (7)	1 (1)
<i>Pseudomonas aeruginosas (DTR)</i>	5 (4)	24 (17)	2 (1)	11 (8)	7 (5)
<i>Escherichia Coli (ESBL %, AmpC % or DTR %)</i>	3 (2)	10 (7)	4 (3)	5 (4)	3 (2)
<i>Enterobacter cloacae, aerogenes (DTR)</i>	1 (1)	11 (8)	-	4 (3)	2 (1)
<i>Others<sup>a</sup> (DTR)</i>	7 (5)	10 (7)	-	3 (2)	2 (1)

*I valori sono espressi come numero di pazienti con isolamento di batteri Gram-negativi multi-resistenti (MDR) o come (percentuale) del totale di 139 pazienti in cui si è verificato l'isolamento di batteri Gram-negativi multi-resistenti. <sup>a</sup>: Citrobacter freundii o pauculus, stenotrophomonas maltophilia, Serratia marcescens, Proteus mirabilis, Ralstonia insidiosa. Abbreviazioni: GN, Gram-negativi; MDR, batteri multi-resistenti; N o n, numero; ESBL: produttori di beta-lattamasi a spettro esteso; AmpC-C: produttori di AmpC beta-lattamasi; CRE: Enterobatteri resistenti ai carbapenemi; DTR: difficult-to-treat resistance; CRAB: Acinetobacter baumannii resistente ai carbapenemi.*

In merito alle concomitanti infezioni da virus/funghi (valore di p 0,617) o batteri Gram-positivi (valore di p 0,934) non sono state riscontrate differenze tra i gruppi. Ulteriori informazioni sui risultati microbiologici sono riportate nelle Tabelle V e VI. Inoltre, il trattamento empirico prevalente (> 45%), distribuito in modo equo tra i tre sottogruppi (valore di p 0,773), era basato su farmaci  $\beta$ -lattamici/ $\beta$ -lattamasi inibitori, come mostrato nella Tabelle IIIb, IIIb p-value. Ulteriori dettagli sono riportati nella Tabella VII.

➤ **Tabella V. Batteri GP multisensibili: sito di isolamento.**

MS GN bacteria	N. of patients for site				
	<i>Blood stream</i>	<i>Respiratory tract</i>	<i>Urynary tract</i>	<i>Rectal swab</i>	<i>Other</i>
<i>Pseudomonas auruginosas</i>	2 (1)	11 (8)	1 (1)	1 (1)	-
<i>Klebsiella pneumoniae, oxytoca</i>	3 (2)	12 (9)	-	1 (1)	1 (1)
<i>Escherichia coli</i>	-	3 (2)	4 (2)	-	2 (1)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1 (1)	2 (1)	-	1 (1)	-
<i>Haemofilus influenzae</i>	-	3 (2)	-	-	-
<i>Enterobacter cloacae, aerogenes</i>	-	5 (4)	-	1 (1)	-
<i>Others<sup>a</sup></i>	1 (1)	15 (11)	5 <sup>o</sup> (4)	-	1 (1)

*I valori sono espressi come numero di pazienti con isolamento di batteri Gram-negativi multi-resistenti (MDR) o come (percentuale) dei 140 pazienti che non hanno mai sperimentato l'isolamento di batteri Gram-negativi multi-resistenti. a: Stenothrophomonas, Achromobacter xylosoxidans, Citrobacter species, Serratia marcescens, Legionella (\*antigene urinario). Abbreviazioni: GN, Gram-negativi; MDR, multi-drug-resistant; MS, multi-sensibili; N o n, numero.*

➤ Tabella VI. *Batteri MDR GP: sito di isolamento.*

MDR GP bacteria	N. of patients for site				
	<i>Blood stream</i>	<i>Respiratory tract</i>	<i>Urynary tract</i>	<i>Rectal swab</i>	<i>Other</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	16 (6)	2 (1)	6 (2)	-	3 (1)
<i>Enterococcus faecium</i>	17 (6)	4 (2)	10 (4)	14 (5)	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	22 (8)	1 (1)	1 (1)	1 (1)	2 (1)
<i>Staphylococcus aureus</i>	8 (3)	39 (1)	-	-	1 (1)
<i>Staphylococcus hominis, haemolyticus</i>	14 (5)	-	-	-	-
<i>Others<sup>a</sup></i>	5 (2)	10 (4)	8 (3)	-	-

I valori sono espressi come numero di pazienti con isolamento di batteri Gram-positivi (GP) o come (percentuale) della popolazione complessiva (n. 279). a: *Streptococcus pneumoniae, pyogenes, parasanguinis, etc.* Abbreviazioni: GP, Gram-positivi; N o n, numero.

➤ Tabella VII. *Utilizzo empirico o mirato degli antibiotici durante il trattamento ECMO V-V.*

	Precolonized	V-V ECMO-acquired	Non-MDR GN
	MDR GN (N=49, 18%)	MDR GN (N=90, 33%)	(N=140, 52%)
Penicillins, $\beta$ -lactam-inhibitor/III, IV cephalosporins or fluoroquinolones, n (%)			
• <i>Empirical treatment</i>	25 (51)	41 (46)	66 (47)
• <i>Targeted treatment</i>	10 (20)	7 (8)	23 (9)
Carbapenems, ceftazidime-avibactam, ceftolozane-tazobactam, cefiderocol, imipenem-relebactam etc., n (%)			
• <i>Empirical treatment</i>	14 (29)	24 (27)	44 (32)
• <i>Targeted treatment</i>	28 (57)	51 (57)	22 (16)



Colistin, fosfomicin, n (%)	-	-	-
● Empirical treatment	-	-	-
● Targeted treatment	5 (10)	10 (11)	2 (1)
Others <sup>a</sup> , n (%)			
● Empirical treatment	4 (8)	19 (21)	67 (48)
● Targeted treatment	11 (22)	21 (23)	15 (11)

*I valori sono espressi come numero assoluto di pazienti o come (percentuale). a: macrolidi, aminoglicosidi, metronidazolo, penicilline antistafilococciche o trimetoprim-sulfametoxazolo. Abbreviazioni: ECMO: ossigenazione extracorporea a membrana; MDR: batteri multi-resistenti; GN: batteri Gram-negativi; VV: vena-venosa.*

## 4.2. MORTALITÀ AD 1 ANNO

Come mostrato nelle Tabelle IIb, IIb p-value, la mortalità complessiva ad 1 anno è stata del 42% (118 soggetti): 32 (65%) pazienti appartenevano al gruppo 'precolonizzati' da batteri MDR GN', 40 (44%) soggetti appartenevano al gruppo 'MDR GN acquisiti durante V-V ECMO'; e solo 46 (33%) pazienti appartenevano al gruppo 'non- batteri MDR GN'. L'analisi della curva di sopravvivenza di Kaplan-Meier ha mostrato una differenza significativa ad 1 anno tra i tre gruppi (valore di p log-rank < 0,001) (Figura 5A).

In particolare, il gruppo precolonizzato da batteri MDR GN ha registrato un rischio di mortalità non aggiustato (HR 2,29 [0,44- 1,44], valore di p < 0,001) e aggiustato (aHR 2,50 [1,53- 4,10], valore di p < 0,001) significativamente più alto, rispetto ai pazienti in cui non sono mai stati isolati batteri MDR GN (Figura 5A-B, Tabella VIII); e, in secondo luogo, rispetto al gruppo che ha acquisito batteri MDR GN durante il trattamento con V-V ECMO (aHR 1,72 [1,05- 2,84], valore di p 0,032) (Tabella IX).

Al contrario, i pazienti in cui sono stati rilevati batteri MDR GN dopo la connessione dell'ECMO V-V hanno avuto una performance simile a quelli appartenenti al gruppo 'non-batteri MDR GN' (aHR 1,36 [0,86- 2,12], valore di p 0,194) (Figura 5A-B, Tabella VIII). Per ulteriori informazioni sulle covariate utilizzate per l'aggiustamento, vedere le Tabelle X e XI.

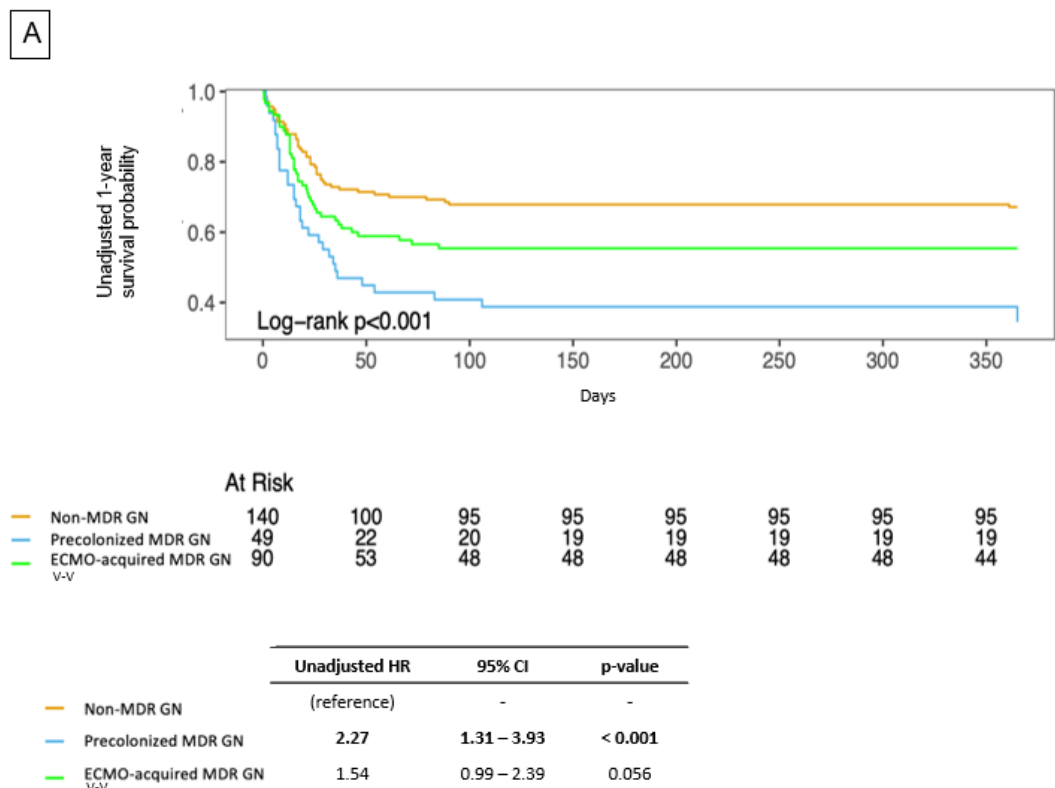
Per quanto riguarda la mortalità a 90 giorni, ancora una volta, il gruppo precolonizzato da batteri MDR GN ha registrato un rischio più elevato di morte

rispetto ai pazienti in cui non sono mai stati isolati batteri MDR GN durante il trattamento con ECMO V-V (aHR 2,31 [1,39- 3,85], valore di p 0,001); e rispetto al gruppo che ha acquisito batteri MDR GN dopo la cannulazione. (aHR 1,65 [0,99- 2,74], valore di p 0,049) (Tabelle XII, XIII, XIV).

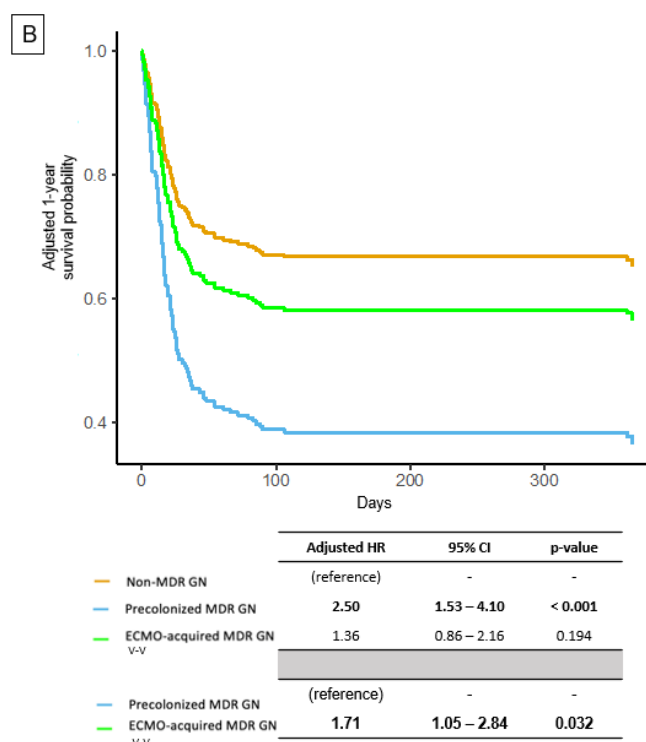
Considerando il rischio di morte tra i pazienti che hanno un'infezione o colonizzazione da parte di batteri MDR GN, la Figura 6 ha mostrato solo una tendenza alla sopravvivenza a favore dei soggetti colonizzati, ma in assenza di significatività statistica (aHR 1,28 [0,71- 2,30], valore di p 0,418) (Tabella XV).

#### 4.2.1. ANALISI STATISTICA DELLA MORTALITA' AD 1 ANNO

- *Figura 5A-B. Curva di sopravvivenza Kaplan-Meier ad 1 anno (non corretta e corretta) tra tre gruppi predefiniti.*



A: Curva di sopravvivenza Kaplan-Meier non corretta a 1 anno. B: Curva di sopravvivenza corretta a 1 anno, in base alle variabili significative identificate da due modelli univariati (età, punteggio SOFA al momento della connessione V-V ECMO, ventilazione meccanica invasiva prima della connessione V-V ECMO, volume annuale di V-V ECMO in ospedale e durata complessiva di V-V ECMO). I dati sono presentati come aHR e [95% CI].



Abbreviazioni: ECMO: ossigenazione extracorporea a membrana; SOFA: valutazione sequenziale della disfunzione d'organo; MDR: multi-drug-resistant; GN: Gram-negativi; HR: hazard ratio; CI: intervallo di confidenza; IMV: ventilazione meccanica invasiva; V-V: veno-venosa.

- **Tabella VIII. Regressione di Cox proporzionale (o modello di rischio proporzionale) per la mortalità ad 1 anno (analisi multivariabile tra tre gruppi predefiniti).**

Multivariable analysis for 1-year mortality			
Characteristics	aHR	95% CI	p-value
Precolonized MDR GN	2.50	1.53- 4.10	< 0.001
V-V ECMO-acquired MDR GN	1.36	0.86- 2.16	0.194
Non-MDR GN	1	-	-
Age, year	1.03	1.01- 1.04	0.003
Sepsis Organ Failure Assessment at V-V ECMO connection	1.06	1.01- 1.12	0.032
IMV prior to V-V ECMO connection, days	1.02	0.99 – 1.04	0.145
Annual hospital V-V ECMO volume, n	0.97	0.94 – 1.01	0.122
Overall V-V ECMO duration, days	1.00	0.98- 1.01	0.920

I dati sono presentati come aHR e [95% CI]. L'adattamento è stato effettuato in base alle variabili significative ( $p < 0.005$ ) identificate nei due modelli univariati precedenti, come mostrato nelle Tabelle X e XI. Abbreviazioni: ECMO: ossigenazione extracorporea a membrana; MDR: multi-drug-resistant; GN: Gram-negativi; CI: intervallo di confidenza; IMV: ventilazione meccanica invasiva; V-V: veno-venosa.

- **Tabella IX. Dati aggiuntivi sulla mortalità ad 1 anno (analisi multivariabile tra 'precolonizzati da MDR GN' vs 'MDR GN acquisiti durante ECMO V-V).**

Multivariable analysis for 1-year mortality			
Characteristics	aHR	95% CI	p-value
Precolonized MDR GN	<b>1.72</b>	<b>1.05- 2.84</b>	<b>0.032</b>
V-V ECMO-acquired MDR GN	1	-	-
Age, year	1.02	1.00- 1.04	0.047
Sepsis Organ Failure Assessment at V-V	<b>1.09</b>	<b>1.02- 1.16</b>	<b>0.013</b>
ECMO connection			
IMV prior to V-V ECMO connection, days	1.02	0.99 – 1.04	0.192
Annual hospital V-V ECMO volume, n	0.97	0.93- 1.02	0.246
Overall V-V ECMO duration, days	1.00	0.98- 1.01	0.690

I dati sono presentati come aHR e [95% CI]. L'adattamento è stato effettuato in base alle variabili significative ( $p < 0.005$ ) identificate nei due modelli univariati precedenti, come mostrato nelle Tabelle X e XI. Abbreviazioni: ECMO: ossigenazione extracorporea a membrana; MDR: multi-drug-resistant; GN: Gram-negativi; CI: intervallo di confidenza; IMV: ventilazione meccanica invasiva; V-V: veno-venosa.

- **Tabella X. Regressione di Cox proporzionale (o modello di rischio proporzionale) per l'isolamento di batteri MDR GN (analisi univariata).**

Univariable analysis for MDR GN isolation			
Characteristics	HR	95% CI	p-value
Age, year	0.99	0.98- 1.01	0.337
Sepsis Organ Failure Assessment at V-V ECMO connection	1.05	0.99- 1.10	0.053
IMV prior to V-V ECMO connection, days	1.01	0.98- 1.03	0.600
Annual hospital V-V ECMO volume, n	<b>0.62</b>	<b>0.43- 0.91</b>	<b>0.013</b>
Overall V-V ECMO duration, days	<b>0.98</b>	<b>0.96- 0.99</b>	<b>&lt; 0.001</b>

*I dati sono presentati come aHR e [95% CI]. Abbreviazioni: ECMO: ossigenazione extracorporea a membrana; MDR: multi-drug-resistant; GN: Gram-negativi; CI: intervallo di confidenza; IMV: ventilazione meccanica invasiva; V-V: veno-venosa.*

- **Tabella XI. Regressione di Cox proporzionale (o modello di rischio proporzionale) per la mortalità ad 1 anno (analisi univariata).**

Univariable analysis for 1-year mortality			
Characteristics	HR	95% CI	p-value
Precolonized MDR GN	<b>2.27</b>	<b>1.31- 3.93</b>	<b>&lt; 0.001</b>
V-V ECMO-acquired MDR GN	1.54	0.99- 2.39	0.056
Non-MDR GN	1	-	-
Age, year	<b>1.01</b>	<b>1.01- 1.04</b>	<b>0.008</b>
Sepsis Organ Failure Assessment at V-V ECMO connection	<b>1.09</b>	<b>1.03- 1.14</b>	<b>0.003</b>
IMV prior to V-V ECMO connection, days	<b>1.03</b>	<b>1.01- 1.06</b>	<b>0.003</b>
Annual hospital V-V ECMO volume, n	<b>0.95</b>	<b>0.92 – 0.99</b>	<b>0.006</b>
Overall V-V ECMO duration, days	1.00	0.99- 1.02	0.208

I dati sono presentati come aHR e [95% CI]. Abbreviazioni: ECMO: ossigenazione extracorporea a membrana; MDR: multi-drug-resistant; GN: Gram-negativi; CI: intervallo di confidenza; IMV: ventilazione meccanica invasiva; V-V: veno-venosa.

- **Tabella XII. Regressione di Cox proporzionale (o modello di rischio proporzionale) per la mortalità a 90 giorni (analisi multivariabile tra tre gruppi predefiniti).**

<b>Multivariable analysis for 90-day mortality</b>			
<b>Characteristics</b>	<b>aHR</b>	<b>95% CI</b>	<b>p-value</b>
Precolonized MDR GN	<b>2.31</b>	<b>1.39- 3.85</b>	<b>0.001</b>
V-V ECMO-acquired MDR GN	1.31	0.82- 2.10	0.251
Non-MDR GN	1	-	-
Age, year	<b>1.03</b>	<b>1.01- 1.05</b>	<b>0.003</b>
Sepsis Organ Failure Assessment at V-V ECMO connection	1.05	0.99- 1.11	0.092
IMV prior to V-V ECMO connection, days	1.01	0.99- 1.04	0.374
Annual hospital V-V ECMO volume, n	0.97	0.94- 1.01	0.138
Overall V-V ECMO duration, days	0.99	0.98- 1.02	0.965

I dati sono presentati come aHR e [95% CI]. L'adattamento è stato effettuato in base alle variabili significative ( $p < 0.005$ ) identificate nei due modelli univariati precedenti, come mostrato nelle Tabelle X e XIII. Abbreviazioni: ECMO: ossigenazione extracorporea a membrana; MDR: multi-drug-resistant; GN: Gram-negativi; CI: intervallo di confidenza; IMV: ventilazione meccanica invasiva; V-V: veno-venosa.

- Tabella XIII. *Regressione di Cox proporzionale (o modello di rischio proporzionale) per la mortalità a 90 giorni (analisi univariata).*

Univariable analysis for 90-day mortality			
Characteristics	HR	95% CI	p-value
Precolonized MDR GN	<b>2.27</b>	<b>1.42- 3.62</b>	<b>&lt; 0.001</b>
V-V ECMO-acquired MDR GN	1.52	0.98- 2.33	0.052
Non-MDR GN	<b>1</b>	-	-
Age, year	<b>1.02</b>	<b>1.01- 1.04</b>	<b>0.006</b>
Sepsis Organ Failure Assessment at V-V ECMO connection	<b>1.09</b>	<b>1.03- 1.14</b>	<b>0.003</b>
IMV prior to V-V ECMO connection, days	1.03	1.00- 1.05	0.037
Annual hospital V-V ECMO volume, n	<b>0.95</b>	<b>0.92- 0.99</b>	<b>0.006</b>
Overall V-V ECMO duration, days	1.00	0.99- 1.02	0.208

*I dati sono presentati come aHR e [95% CI]. Abbreviazioni: ECMO: ossigenazione extracorporea a membrana; MDR: multi-drug-resistant; GN: Gram-negativi; CI: intervallo di confidenza; IMV: ventilazione meccanica invasiva; V-V: veno-venosa.*

- Tabella XIV. *Dati aggiuntivi sulla mortalità a 90 giorni (analisi multivariabile tra 'precolonizzati da MDR GN' e 'MDR GN acquisiti durante ECMO V-V').*

Multivariable analysis for 90-day mortality			
Characteristics	aHR	95% CI	p-value
Precolonized MDR GN	<b>1.65</b>	<b>0.99- 2.74</b>	<b>0.049</b>
V-V ECMO-acquired MDR GN	1	-	-
Age, year	1.02	0.99- 1.04	0.071
Sepsis Organ Failure Assessment at V-V	<b>1.06</b>	<b>0.99- 1.14</b>	<b>0.049</b>
ECMO connection			
IMV prior to V-V ECMO connection, days	1.01	0.98- 1.04	0.428
Annual hospital V-V ECMO volume, n	0.97	0.93- 1.02	0.265
Overall V-V ECMO duration, days	0.99	0.98- 1.02	0.678

*I dati sono presentati come aHR e [95% CI]. L'adattamento è stato effettuato in base alle variabili significative ( $p < 0.005$ ) identificate nei due modelli univariati precedenti, come mostrato nelle Tabelle X e XIII. Abbreviazioni: ECMO: ossigenazione extracorporea a membrana; MDR: multi-drug-resistant; GN: Gram-negativi; CI: intervallo di confidenza; IMV: ventilazione meccanica invasiva; V-V: veno-venosa.*



- **Tabella XV. Regressione di Cox proporzionale (o modello di rischio proporzionale) per la mortalità a 1 anno (analisi multivariabile tra infezioni e colonizzazioni da MDR GN).**

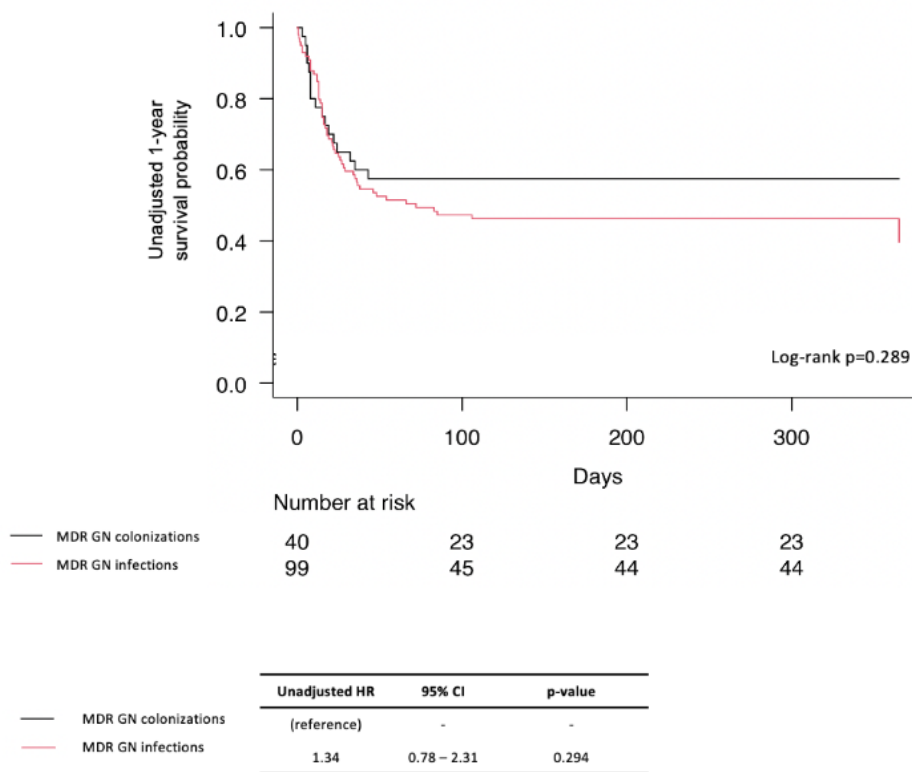
Univariable analysis for 1-year mortality			
Characteristics	aHR	95% CI	p-value
MDR GN infections	1.34	0.78 – 2.31	0.294
MDR GN colonizations	1	-	-
Multivariable analysis for 1-year mortality			
Characteristics	aHR	95% CI	p-value
MDR GN infections	1.28	0.71 – 2.30	0.418
MDR GN colonizations	1	-	-
Age, year	1.02	1.00- 1.04	0.093
Sepsis Organ Failure Assessment at V-V ECMO connection	<b>1.10</b>	<b>1.03- 1.17</b>	<b>0.007</b>
IMV prior to V-V ECMO connection, days	1.01	0.99 – 1.04	0.292
Annual hospital V-V ECMO volume, n	0.97	0.93- 1.02	0.259
Overall V-V ECMO duration, days	1.00	0.98- 1.02	0.786

*I dati sono presentati come aHR e [95% CI]. L'adattamento è stato effettuato in base alle variabili significative ( $p < 0.005$ ) identificate nei due modelli univariati precedenti, come mostrato nelle Tabelle X e XIII. Abbreviazioni: ECMO: ossigenazione extracorporea a membrana; MDR: multi-drug-resistant; GN: Gram-negativi; CI: intervallo di confidenza; IMV: ventilazione meccanica invasiva; V-V: veno-venosa.*

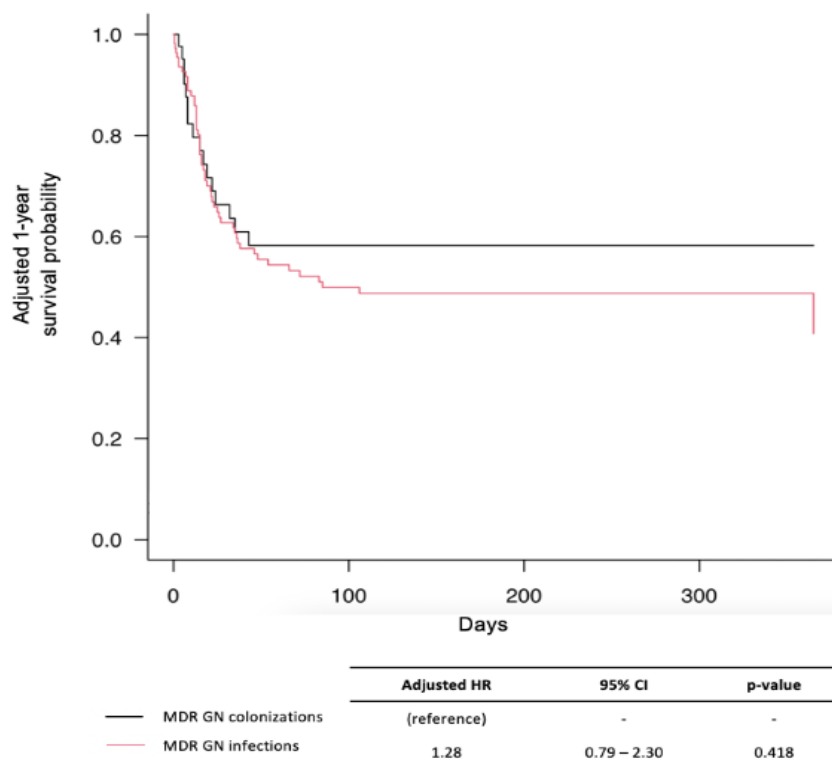
- **Figura 6A-B. Curve (non corrette e corrette) di sopravvivenza a 1 anno per infezioni e colonizzazioni da MDR GN.**

*A: Curva di sopravvivenza Kaplan-Meier non corretta a 1 anno. B: Curva di sopravvivenza corretta a 1 anno, in base alle variabili significative identificate da due modelli univariati (età, punteggio SOFA al momento della connessione V-V ECMO, ventilazione meccanica invasiva prima della connessione V-V ECMO, volume annuale di V-V ECMO in ospedale e durata complessiva di V-V ECMO), come mostrato nelle tabelle X e XI. I dati sono presentati come aHR e [95% CI]. Abbreviazioni: ECMO: ossigenazione extracorporea a membrana; SOFA: valutazione sequenziale della disfunzione d'organo; MDR: multi-drug-resistant; GN: Gram-negativi; HR: hazard ratio; CI: intervallo di confidenza; IMV: ventilazione meccanica invasiva; V-V: veno-venosa.*

A



B



### 4.3. VOLUME OSPEDALIERO ANNUO DI ECMO V-V

Il volume annuo ospedaliero medio di V-V ECMO nell'ospedale è stato di  $13 \pm 6$ , con una differenza significativa tra i sottogruppi (valore di  $p < 0,001$ ). In particolare, il volume ospedaliero annuo di ECMO V-V è stato più basso nel gruppo precolonizzato da batteri MDR GN (valore di  $p 0,002$ ) e nel caso di batteri MDR GN acquisiti durante il trattamento con V-V ECMO (valore di  $p 0,004$ ). Infatti, è stata trovata un'associazione significativa tra il volume annuo ospedaliero di V-V ECMO e la probabilità di acquisire batteri multiresistenti dopo la connessione dell'ECMO V-V (OR non aggiustato 0,87 [0,82- 0,92], valore di  $p < 0,001$ ) (Tabella XVI).

- **Tabella XVI. Modello di regressione logistica per la probabilità di acquisire batteri MDR GN durante il trattamento con ECMO V-V.**

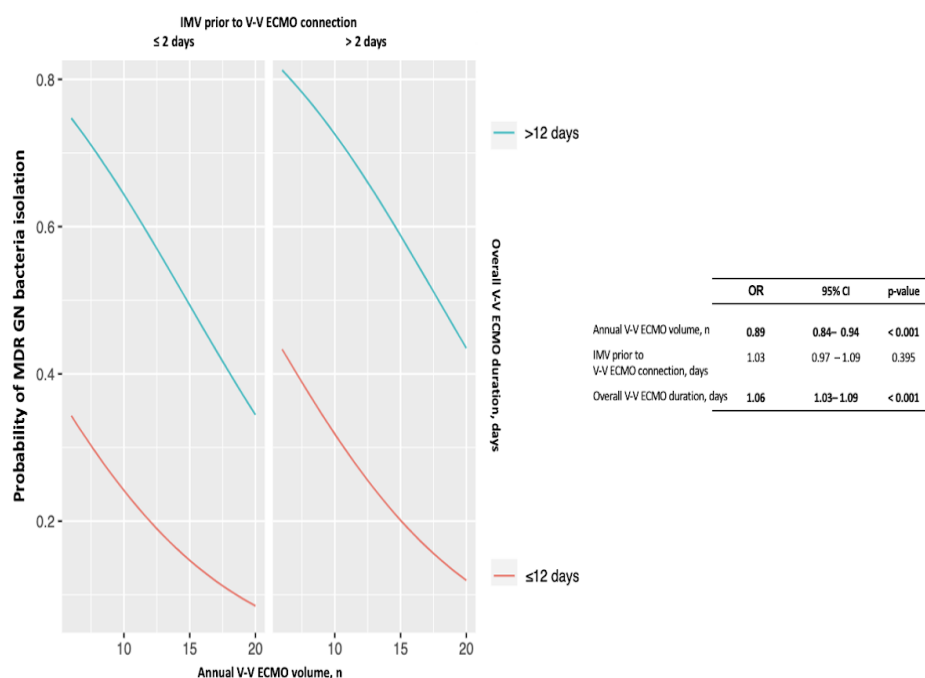
Univariable analysis for the risk of V-V ECMO-acquired MDR GN bacteria			
Characteristics	OR	95% CI	p-value
Age, year	1.00	0.97 – 1.01	0.361
Sepsis Organ Failure Assessment at V-V ECMO connection	1.02	0.95 – 1.10	0.603
IMV prior to V-V ECMO connection, days	<b>1.07</b>	<b>1.01 – 1.14</b>	<b>0.020</b>
Annual hospital V-V ECMO volume, n	<b>0.90</b>	<b>0.85 – 0.94</b>	<b>&lt; 0.001</b>
Overall V-V ECMO duration, days	<b>1.06</b>	<b>1.03 – 1.09</b>	<b>&lt; 0.001</b>
Multivariable analysis for the risk of V-V ECMO-acquired MDR GN bacteria			
Characteristics	OR	95% CI	p-value
Annual hospital V-V ECMO volume, n	<b>0.89</b>	<b>0.84 – 0.94</b>	<b>&lt; 0.001</b>
IMV prior to V-V ECMO connection, days	1.03	0.97 – 1.09	0.395
Overall V-V ECMO duration, days	<b>1.06</b>	<b>1.03 – 1.09</b>	<b>&lt; 0.001</b>

*I dati sono presentati come aHR e [95% CI]. L'adattamento in Figura 7 è stato effettuato in base alle variabili significative ( $p < 0.005$ ) identificate nei due modelli univariati precedenti. Abbreviazioni: ECMO: ossigenazione extracorporea a membrana; MDR: multi-drug-resistant; GN: Gram-negativi; CI: intervallo di confidenza; IMV: ventilazione meccanica invasiva; V-V: veno-venosa.*

Gli stessi risultati sono stati confermati dopo l'aggiustamento per potenziali fattori confondenti, come descritto nella Figura 7. Infatti, il rapporto di odds (aOR) per l'acquisizione di batteri MDR GN, in relazione al volume ospedaliero annuo di V-V ECMO, è stato di 0,89 [0,84- 0,94], con un valore di  $p < 0,001$ . Inoltre, secondo l'analisi univariata, il volume ospedaliero annuo di V-V ECMO è stato confermato come un fattore di rischio per la mortalità a 1 anno (HR 0,95 [0,92- 0,99], valore di  $p < 0,006$ ) (Tabella XVI).

Una descrizione completa di altri esiti a breve termine è riportata nella Tabella IIb, IIb p-value.

- **Figura 7. Probabilità adattate di isolare batteri MDR GN a seconda del volume ospedaliero annuo di ECMO V-V.**



Probabilità adattate di isolare batteri MDR GN tra i pazienti che ricevono supporto VV ECMO quando il volume è modellato in modo continuo, nel periodo 2017-2022. Il volume ospedaliero di ECMO V-V è definito come il numero specifico di pazienti trattati con ECMO V-V ogni anno. Le probabilità adattate di riscontro di batteri MDR GN sono presentate in relazione alla durata complessiva del trattamento ECMO V-V e alla durata della IMV precedente alla connessione ECMO V-V (come descritto nella tabella XVI). Le durate di ECMO e IMV precedente alla cannulazione sono state considerate come variabili continue nell'analisi statistica e categorizzate solo a fini grafici. L'OR non corretto è 0,90 [0,85 - 0,94],  $p$ -value < 0,001. Abbreviazioni: ECMO: ossigenazione extracorporea a membrana; MDR: multi-drug-resistant; GN: Gram-negativi; OR: odds ratio; CI: intervallo di confidenza; IMV: ventilazione meccanica invasiva; V-V: veno-venosa.

## 5. DISCUSSIONE

In questo studio osservazionale multicentrico, si è riscontrato che tra 279 pazienti adulti supportati da ECMO V-V per insufficienza respiratoria acuta, il 18% è stato cannulato con una pregressa colonizzazione da batteri MDR GN, mentre il 33% ha acquisito batteri MDR GN dopo la connessione dell'ECMO V-V.

Nell'intera popolazione, la mortalità ad 1 anno è stata del 42%, con un rischio di morte maggiore nei pazienti con colonizzazione da batteri MDR GN precedente alla cannulazione dell'ECMO V-V, rispetto ai pazienti senza o con acquisizione successiva di batteri MDR GN. Inoltre, il rischio di acquisire batteri MDR GN dopo il posizionamento dell'ECMO è stato maggiore nei centri con un volume annuo più basso di ECMO V-V.

Nell'ultimo decennio, è stata segnalata una crescente preoccupazione legata all'incremento di riscontri di batteri Gram-negativi con alti livelli di resistenza agli antimicrobici, specialmente nell'ambito delle aree dedicate alle cure intensive, dove batteri MDR GN vengono isolati nel 70% dei pazienti. (61,65,66) Confermando questa tendenza allarmante, questo studio ha mostrato che batteri MDR GN sono stati isolati in quasi la metà dei pazienti, sia prima che dopo la connessione dell'ECMO V-V.

Ad oggi, in base alla letteratura più recente, l'incidenza di patogeni MDR GN durante il supporto con ECMO V-V è ancora poco chiara e non sono disponibili dati epidemiologici su questa specifica popolazione per fornire un confronto affidabile con questo studio. Secondo il registro dell'ELSO che include dati sia sull'ECMO V-A che su quella V-V da tutti i centri ELSO nel mondo, i patogeni GN, in particolare *Pseudomonas aeruginosa* e le *Enterobacteriaceae*, sono tra i batteri più comunemente isolati durante il supporto ECMO, secondi solo agli stafilococchi coagulasi-negativi (più prevalenti nell'ECMO V-A). (67)

In linea con i nostri risultati, Grasselli et al. hanno riportato, in una coorte di 90 pazienti non chirurgici sottoposti a ECMO V-A e V-V, un'incidenza complessiva del 21% di batteri MDR GN dopo la connessione dell'ECMO e un'incidenza del 23% di

infezioni nosocomiali dovute a patogeni GN ad alta resistenza (40,68) Un'incidenza ancora più elevata è stata descritta da Gao et al. (69) che hanno analizzato retrospettivamente una coorte cinese di 109 pazienti sottoposti a ECMO dal 2014 al 2022: nel sottogruppo di 29 pazienti supportati da V-V ECMO, l'incidenza di batteri MDR-GN era del 78%.

Secondo il nostro studio, in cui i batteri MDR GN sono stati principalmente isolati da campioni delle vie respiratorie, diverse precedenti esperienze nei singoli centri hanno mostrato che i batteri GN, in particolare le Enterobacteriaceae, costituiscono il determinante principale delle infezioni respiratorie nei pazienti che necessitano di ECMO. (70,71) D'altro canto i patogeni MDR GN sono la causa del 35% dei casi di polmonite associata al ventilatore (VAP) durante il supporto ECMO. (42)

Questi risultati epidemiologici non dovrebbero sorprendere, poiché i pazienti in ECMO presentano diversi fattori di rischio per lo sviluppo di infezioni e, in particolare, infezioni da batteri MDR GN. Infatti, la gravità estrema della malattia è associata al rischio di isolamento di batteri MDR GN. (72) Sia l'invasività delle cure, con diversi dispositivi paracorporei (ad esempio, intubazione tracheale, linee vascolari, catetere urinario, drenaggi), (73) che la severità stessa della malattia (74) alterano il microbiota dei pazienti e ne aumentano la suscettibilità alle infezioni. (75) Inoltre, i pazienti in ECMO sono frequentemente esposti ad antibiotici ad ampio spettro, che impongono una pressione selettiva favorendo l'emergere della resistenza agli antimicrobici. (29,40,76) Tuttavia, in linea con i risultati di Grasselli et al., (40) nella nostra coorte l'esposizione a carbapenemi e  $\beta$ -lattami/ $\beta$ -lattamasi inibitori ad ampio spettro non è stato associato ad un aumentato (significativo) rischio di isolamento di batteri GN MDR.

Questo risultato potrebbe essere attribuibile sia alla promozione di una terapia mirata risparmiatrice di carbapenemi, piuttosto che a una terapia empirica a largo spettro, (77) sia all'implementazione di un programma di antimicrobial stewardship dedicato alle terapie intensive in tutti i centri partecipanti al nostro studio, con l'obiettivo di promuovere la selezione del regime antimicrobico ottimale, della dose e della durata della terapia. (61,78)

È interessante notare che in popolazioni eterogenee, comprendenti sia pazienti adulti che pediatrici e sia ECMO V-A che V-V, le complicanze infettive durante il supporto extracorporeo sembrano essere associate ad un aumento del rischio di morte, con valori compresi tra il 38% e il 63%. (42,67,79) Al contrario, questo studio, focalizzato esclusivamente su una coorte omogenea di pazienti adulti in ECMO V-V, ha identificato una tendenza alla sopravvivenza a favore dei pazienti colonizzati, ma senza raggiungere una significatività rilevante.

Nonostante questi dati contrastanti, si è riscontrato un rischio di morte più elevato nei pazienti con batteri MDR GN preesistenti, indipendentemente dallo stato settico, perciò si ritiene che la novità di questi risultati, sottolinei l'estrema importanza di prevenire, in qualsiasi condizione, lo sviluppo di batteri MDR GN.

Al meglio delle nostre conoscenze, le colonizzazioni preesistenti da batteri MDR GN non sono mai state dimostrate come un fattore correlato a una scarsa sopravvivenza nei pazienti in ECMO V-V. Inoltre, in linea con studi precedenti che hanno riportato un'associazione tra lo sviluppo di infezioni e la durata dell'ECMO, (42,45,71,80,81) i risultati dello studio confermano che i pazienti in cui sono stati isolati batteri MDR GN, soprattutto in caso di pre-colonizzazione, hanno richiesto una durata più lunga dell'ECMO V-V e hanno mostrato una maggiore ricorrenza di fallimento dello svezzamento dal supporto ventilatorio, un minor numero di giorni senza ventilatore (VFD) e una più lunga permanenza in terapia intensiva (ICU LOS). Probabilmente, questi risultati riflettono la necessità di una maggiore invasività del trattamento in questi sottogruppi di pazienti a causa di un grado più elevato di severità della malattia, come già mostrato in studi precedenti. (40,71,80)

Infine, in linea con Barbaro et al., (64) che hanno riportato, in 10.588 pazienti adulti in ECMO, un significativo aumento delle probabilità di mortalità per i pazienti trattati in ospedali con un volume annuo di ECMO < 6 casi all'anno, si è riscontrato che un basso volume annuo di ECMO V-V aumenta la probabilità di acquisire batteri MDR GN durante il trattamento. Inoltre, lo studio ha confermato un'associazione tra la mortalità a lungo termine e l'esperienza del centro valutata come volume annuale di ECMO. (64)

Questo studio presenta diverse limitazioni. In primo luogo, è uno studio osservazionale retrospettivo, il che comporta i limiti di questo tipo di progettazione. In secondo luogo, nonostante una popolazione omogenea e ampia comprendente solo pazienti adulti in ECMO V-V, la categorizzazione della coorte in base allo stato di isolamento dei batteri MDR GN ha inevitabilmente portato a sottogruppi di piccole dimensioni. Si ritiene che una coorte più ampia in futuro possa meglio delineare gli outcome e convalidare questi risultati. In terzo luogo, non è stata indagata l'incidenza di batteri gram-positivi, come gli enterococchi resistenti alla vancomicina, perché il loro impatto sembra essere in calo nei pazienti in terapia intensiva. (82,83) Infine, non è stato indagato se il sito di cannulazione possa influenzare il rischio di infezione.



## 6. CONCLUSIONI

In conclusione, in questo studio multicentrico che indaga la ricorrenza di batteri MDR GN nei pazienti adulti in ECMO V-V, la percentuale di isolamenti di batteri MDR GN è stato del 18% prima e del 33% dopo la connessione V-V ECMO. È stata riportata una mortalità complessiva ad 1 anno del 42%, con un rischio significativamente più elevato di mortalità nei pazienti precolonizzati, sia rispetto a coloro che hanno acquisito batteri MDR GN durante il trattamento con V-V ECMO, sia rispetto a coloro in cui non sono mai stati isolati MDROs. Infine, un volume ospedaliero annuo più basso di ECMO V-V è stato un fattore di rischio per l'acquisizione di batteri MDR GN.

## BIBLOGRAFIA

1. M. Moroni, S. A., V. Vullo. Manuale di Malattie infettive. 2015.
2. Coppola I. G., G. B. Gaeta. Malattie infettive & tropicali: per studenti e medici di medicina generale. 2021.
3. <https://doctorline.it/antibiotico-resistenza-emergenza-globale/> [Internet]. Antibiotico Resistenza: un'emergenza globale. DoctorLine.
4. notizia | Agenzia Italiana del Farmaco <https://www.aifa.gov.it/-/antibiotico-resistenza-un-rischio-globale-che-richiede-strategie-condicvisecondivise>
5. Landsberg, J. W., Richeldi, L., Sofia, C., Comes, A., & Schiavi, E. (2022). Manuale di pneumologia e Terapia intensiva. Piccin.
6. Robbins, S. L., Cotran, R. S., Abbas, A. K., Amorosi, A., Aster, J. C., & Kumar, V. (2022). Robbins e Cotran Patologia Generale, Anatomia Patologica. Edra.
7. N. Rebellato, T. Pettenuzzo, P. Navalesi. Funzione ventricolare destra durante la titolazione della pressione positiva di fine espirazione basata sulla tomografia a impedenza elettrica in pazienti con sindrome da distress respiratorio acuto: uno studio fisiologico pilota.
8. Baron RM, Levy BD. Acute Respiratory Distress Syndrome. In: Jameson JL, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Loscalzo J, curatori. Harrison's Principles of Internal Medicine 20<sup>a</sup> ed. New York, NY: McGraw-Hill Education; 2018
9. Katzenstein AL, Bloor CM, Leibow AA. Diffuse alveolar damage--the role of oxygen, shock, and related factors. A review. Am J Pathol. 1976 Oct;85(1):209–28.
10. Piantadosi CA, Schwartz DA. The acute respiratory distress syndrome. Ann Intern Med. 2004 Sep 21;141(6):460–70.
11. Bachofen M, Weibel ER. Alterations of the gas exchange apparatus in adult respiratory insufficiency associated with septicemia. Am Rev Respir Dis. 1977 Oct;116(4):589–615.
12. Pierrakos C, Karanikolas M, Scolletta S, Karamouzos V, Velissaris D. Acute respiratory distress syndrome: pathophysiology and therapeutic options. J Clin Med Res. 2012 Feb;4(1):7–16.
13. De Gaudio AR. Anestesia, Rianimazione, Terapia intensiva, Dolore. Vol. II. IdelsonGnocchi; 2020.
14. Mauri T, Lazzeri M, Bellani G, Zanella A, Grasselli G. Respiratory mechanics to understand ARDS and guide mechanical ventilation. Physiol Meas. 2017 Nov 30;38(12):R280-H303.
15. Gattinoni L, Marini JJ, Pesenti A, Quintel M, Mancebo J, Brochard L. The “baby lung” became an adult. Intensive Care Med. 2016 May;42(5):663–73.
16. Ferrari AM, BC, & CG. Medicina di Emergenza-Urgenza: Il sapere e il saper fare del medico di Emergenza Tra Linee Guida, Percorsi Clinico Assistenziali e Rete Dell'emergenza. Elsevier; 2017.
17. Rassu P, & SG (n. d. ). La ventilazione meccanica non invasiva in Pazienti con ards.

18. Torri G, & CE. Ventilazione Artificiale Meccanica: Invasiva e non invasiva. A. Delfino, editor. 2013.
19. Tonna JE, Abrams D, Brodie D, Greenwood JC, Rubio Mateo-Sidron JA, Usman A, et al. Management of Adult Patients Supported with Venovenous Extracorporeal Membrane Oxygenation (VV ECMO): Guideline from the Extracorporeal Life Support Organization (ELSO). *ASAIO J.* 2021 Jun 1;67(6):601–10.
20. Extracorporeal Life Support Organization (ELSO) General Guidelines for all ECLS Cases. 2017 Aug;
21. Nardi GM, BED, & CR. Linee Guida per un centro di rianimazione ... vent'anni dopo. A. Delfino, editor. 2020.
22. Vuylsteke A, BD, CA, FJA, & J, PGGJ. ECMO in the adult patient. Cambridge University Press., editor. 2017.
23. Bellani G, Laffey JG, Pham T, Fan E, Brochard L, Esteban A, et al. Epidemiology, Patterns of Care, and Mortality for Patients With Acute Respiratory Distress Syndrome in Intensive Care Units in 50 Countries. *JAMA.* 2016 Feb 23;315(8):788–800.
24. Grasselli G, Calfee CS, Camporota L, Poole D, Amato MBP, Antonelli M, et al. ESICM guidelines on acute respiratory distress syndrome: definition, phenotyping and respiratory support strategies. *Intensive Care Med.* 2023 Jul;49(7):727–59.
25. ARDS Definition Task Force, Ranieri VM, Rubenfeld GD, Thompson BT, Ferguson ND, Caldwell E, et al. Acute respiratory distress syndrome: the Berlin Definition. *JAMA.* 2012 Jun 20;307(23):2526–33.
26. Peek GJ, Mugford M, Tiruvoipati R, Wilson A, Allen E, Thalanany MM, et al. Efficacy and economic assessment of conventional ventilatory support versus extracorporeal membrane oxygenation for severe adult respiratory failure (CESAR): a multicentre randomised controlled trial. *Lancet.* 2009 Oct 17;374(9698):1351–63.
27. Sella N, Pettenuzzo T, Zarantonello F, Andreatta G, De Cassai A, Schiavolin C, et al. Electrical impedance tomography: A compass for the safe route to optimal PEEP. *Respir Med.* 2021 Oct; 187:106555.
28. Brodie D, Bacchetta M. Extracorporeal membrane oxygenation for ARDS in adults. *N Engl J Med.* 2011 Nov 17;365(20):1905–14.
29. Biffi S, Di Bella S, Scaravilli V, Peri AM, Grasselli G, Alagna L, et al. Infections during extracorporeal membrane oxygenation: epidemiology, risk factors, pathogenesis and prevention. *Int J Antimicrob Agents.* 2017 Jul;50(1):9–16.
30. Schmidt M, Bailey M, Sheldrake J, Hodgson C, Aubron C, Rycus PT, et al. Predicting survival after extracorporeal membrane oxygenation for severe acute respiratory failure. The Respiratory Extracorporeal Membrane Oxygenation Survival Prediction (RESP) score. *Am J Respir Crit Care Med.* 2014 Jun 1;189(11):1374–82.
31. Tiseo G, Brigante G, Giacobbe DR, Maraolo AE, Gona F, Falcone M, et al. Diagnosis and management of infections caused by multidrug-resistant bacteria: guideline endorsed by the

- Italian Society of Infection and Tropical Diseases (SIMIT), the Italian Society of Anti-Infective Therapy (SITA), the Italian Group for Antimicrobial Stewardship (GISA), the Italian Association of Clinical Microbiologists (AMCLI) and the Italian Society of Microbiology (SIM). *Int J Antimicrob Agents*. 2022 Aug;60(2):106611.
32. Paul M, Carrara E, Retamar P, Tängdén T, Bitterman R, Bonomo RA, et al. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) guidelines for the treatment of infections caused by multidrug-resistant Gram-negative bacilli (endorsed by European society of intensive care medicine). *Clin Microbiol Infect*. 2022 Apr;28(4):521–47.
  33. Rossolini GM, Bochenska M, Fumagalli L, Dowzicky M. Trends of major antimicrobial resistance phenotypes in enterobacterales and gram-negative non-fermenters from ATLAS and EARS-net surveillance systems: Italian vs. European and global data, 2008-2018. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2021 Dec;101(4):115512.
  34. Grasselli G, Scaravilli V, Mangioni D, Scudeller L, Alagna L, Bartoletti M, et al. Hospital-Acquired Infections in Critically Ill Patients With COVID-19. *Chest*. 2021 Aug;160(2):454–65.
  35. Azim A, Dwivedi M, Rao PB, Baronia AK, Singh RK, Prasad KN, et al. Epidemiology of bacterial colonization at intensive care unit admission with emphasis on extended-spectrum beta-lactamase- and metallo-beta-lactamase-producing Gram-negative bacteria--an Indian experience. *J Med Microbiol*. 2010 Aug;59(Pt 8):955–60.
  36. Barbier F, Bailly S, Schwebel C, Papazian L, Azoulay É, Kallel H, et al. Infection-related ventilator-associated complications in ICU patients colonised with extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae. *Intensive Care Med*. 2018 May;44(5):616–26.
  37. Tamma PD, Aitken SL, Bonomo RA, Mathers AJ, van Duin D, Clancy CJ. Infectious Diseases Society of America 2023 Guidance on the Treatment of Antimicrobial Resistant Gram-Negative Infections. *Clin Infect Dis*. 2023 Jul 18;
  38. <https://www.idsociety.org/practice-guideline/amr-guidance/>
  39. [https://www.eucast.org/clinical\\_breakpoints](https://www.eucast.org/clinical_breakpoints).
  40. Grasselli G, Scaravilli V, Alagna L, Bombino M, De Falco S, Bandera A, et al. Gastrointestinal colonization with multidrug-resistant Gram-negative bacteria during extracorporeal membrane oxygenation: effect on the risk of subsequent infections and impact on patient outcome. *Ann Intensive Care*. 2019 Dec 18;9(1):141.
  41. Kim T, Cho WH, Kim D, Jeon D, Kim YS, Yeo HJ. Microbial Colonization of Oxygenator and Clinical Outcomes in Extracorporeal Membrane Oxygenation. *ASAIO J*. 2021 Aug 1;67(8):930–4.
  42. Grasselli G, Scaravilli V, Di Bella S, Biffi S, Bombino M, Patroniti N, et al. Nosocomial Infections During Extracorporeal Membrane Oxygenation: Incidence, Etiology, and Impact on Patients' Outcome. *Crit Care Med*. 2017 Oct;45(10):1726–33.
  43. Wang JR, Huang JY, Hu W, Cai XY, Hu WH, Zhu Y. Bloodstream infections in patients undergoing extracorporeal membrane oxygenation. *Pak J Med Sci*. 2020;36(6):1171–6.

44. Li ZJ, Zhang DF, Zhang WH. Analysis of Nosocomial Infection and Risk Factors in Patients with ECMO Treatment. *Infect Drug Resist.* 2021;14:2403–10.
45. Sun HY, Ko WJ, Tsai PR, Sun CC, Chang YY, Lee CW, et al. Infections occurring during extracorporeal membrane oxygenation use in adult patients. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2010 Nov;140(5):1125-32.e2.
46. Xu W, Fu Y, Yao Y, Zhou J, Zhou H. Nosocomial Infections in Nonsurgical Patients Undergoing Extracorporeal Membrane Oxygenation: A Retrospective Analysis in a Chinese Hospital. *Infect Drug Resist.* 2022;15:4117–26.
47. Spalding MC, Cripps MW, Minshall CT. Ventilator-Associated Pneumonia: New Definitions. *Crit Care Clin.* 2017 Apr;33(2):277–92.
48. Wang J, Christensen C, Siddique A, Merritt H, Cawcutt K. Characteristics of venous-venous extracorporeal membrane oxygenation related bloodstream infections. *J Card Surg.* 2022 May;37(5):1431–4.
49. Menaker J, Galvagno S, Rabinowitz R, Penchev V, Hollis A, Kon Z, et al. Epidemiology of blood stream infection in adult extracorporeal membrane oxygenation patients: A cohort study. *Heart Lung.* 2019;48(3):236–9.
50. Kim DW, Yeo HJ, Yoon SH, Lee SE, Lee SJ, Cho WH, et al. Impact of bloodstream infections on catheter colonization during extracorporeal membrane oxygenation. *J Artif Organs.* 2016 Jun;19(2):128–33.
51. De Rosa FG, Corcione S, Pagani N, Stella ML, Urbino R, Di Perri G, et al. High rate of respiratory MDR gram-negative bacteria in H1N1-ARDS treated with ECMO. *Intensive Care Med.* 2013 Oct;39(10):1880–1.
52. Ko RE, Huh K, Kim DH, Na SJ, Chung CR, Cho YH, et al. Nosocomial infections in in-hospital cardiac arrest patients who undergo extracorporeal cardiopulmonary resuscitation. *PLoS One.* 2020;15(12):e0243838.
53. Han Y, Zhang J, Zhang HZ, Zhang XY, Wang YM. Multidrug-resistant organisms in intensive care units and logistic analysis of risk factors. *World J Clin Cases.* 2022 Feb 26;10(6):1795–805.
54. Heunks LM, van der Hoeven JG. Clinical review: the ABC of weaning failure--a structured approach. *Crit Care.* 2010;14(6):245.
55. Renard Triché L, Futier E, De Carvalho M, Piñol-Domenech N, Bodet-Contentin L, Jabaudon M, et al. Sample size estimation in clinical trials using ventilator-free days as the primary outcome: a systematic review. *Crit Care.* 2023 Aug 1;27(1):303.
56. Cuschieri S. The STROBE guidelines. *Saudi J Anaesth.* 2019 Apr;13(Suppl 1):S31–4.
57. Klompas M, Branson R, Cawcutt K, Crist M, Eichenwald EC, Greene LR, et al. Strategies to prevent ventilator-associated pneumonia, ventilator-associated events, and nonventilator hospital-acquired pneumonia in acute-care hospitals: 2022 Update. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2022 Jun;43(6):687–713.

58. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016 Feb 23;315(8):801–10.
59. <https://www.cdc.gov/infectioncontrol/index.html>.
60. Pickens CI, Wunderink RG. Principles and Practice of Antibiotic Stewardship in the ICU. *Chest*. 2019 Jul;156(1):163–71.
61. Boscolo A, Sella N, Pettenuzzo T, De Cassai A, Crociani S, Schiavolin C, et al. Multidrug-Resistant and Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase Gram-Negative Bacteria in Bilateral Lung Transplant Recipients: Incidence, Risk Factors, and In-Hospital Mortality. *Chest*. 2022 Dec;162(6):1255–64.
62. [https://www.cdc.gov/nhsn/PDFs/pscManual/17pscNosInfDef\\_current.pdf](https://www.cdc.gov/nhsn/PDFs/pscManual/17pscNosInfDef_current.pdf) [Internet]. 2021. CDC/NHSN Surveillance Definitions for Specific Types of Infections. .
63. Haneke F, Schildhauer TA, Schlebess AD, Strauch JT, Swol J. Infections and Extracorporeal Membrane Oxygenation: Incidence, Therapy, and Outcome. *ASAIO J*. 2016;62(1):80–6.
64. Barbaro RP, Odetola FO, Kidwell KM, Paden ML, Bartlett RH, Davis MM, et al. Association of hospital-level volume of extracorporeal membrane oxygenation cases and mortality. Analysis of the extracorporeal life support organization registry. *Am J Respir Crit Care Med*. 2015 Apr 15;191(8):894–901.
65. Vincent JL, Rello J, Marshall J, Silva E, Anzueto A, Martin CD, et al. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *JAMA*. 2009 Dec 2;302(21):2323–9.
66. Gupta R, Malik A, Rizvi M, Ahmed M, Singh A. Epidemiology of multidrug-resistant Gram-negative pathogens isolated from ventilator-associated pneumonia in ICU patients. *J Glob Antimicrob Resist*. 2017 Jun; 9:47–50.
67. Bizzarro MJ, Conrad SA, Kaufman DA, Rycus P, Extracorporeal Life Support Organization Task Force on Infections EMO. Infections acquired during extracorporeal membrane oxygenation in neonates, children, and adults. *Pediatr Crit Care Med*. 2011 May;12(3):277–81.
68. O’Neill JM, Schutze GE, Heulitt MJ, Simpson PM, Taylor BJ. Nosocomial infections during extracorporeal membrane oxygenation. *Intensive Care Med*. 2001 Aug;27(8):1247–53.
69. Gao X, Wang W. The Etiological and Drug Resistance Characteristics of Multidrug-Resistant Pathogens in Patients Requiring Extracorporeal Membrane Oxygenation: A Retrospective Cohort Study. *Infect Drug Resist*. 2023; 16:4929–41.
70. Aubron C, Cheng AC, Pilcher D, Leong T, Magrin G, Cooper DJ, et al. Infections acquired by adults who receive extracorporeal membrane oxygenation: risk factors and outcome. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2013 Jan;34(1):24–30.
71. Schmidt M, Bréchet N, Hariri S, Guiguet M, Luyt CE, Makri R, et al. Nosocomial infections in adult cardiogenic shock patients supported by venoarterial extracorporeal membrane oxygenation. *Clin Infect Dis*. 2012 Dec;55(12):1633–41.

72. Gasink LB, Edelstein PH, Lautenbach E, Synnestvedt M, Fishman NO. Risk factors and clinical impact of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae*. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2009 Dec;30(12):1180–5.
73. Zhou HY, Yuan Z, Du YP. Prior use of four invasive procedures increases the risk of *Acinetobacter baumannii* nosocomial bacteremia among patients in intensive care units: a systematic review and meta-analysis. *Int J Infect Dis*. 2014 May; 22:25–30.
74. Lankelma JM, van Vught LA, Belzer C, Schultz MJ, van der Poll T, de Vos WM, et al. Critically ill patients demonstrate large interpersonal variation in intestinal microbiota dysregulation: a pilot study. *Intensive Care Med*. 2017 Jan;43(1):59–68.
75. Wolff NS, Hugenholtz F, Wiersinga WJ. The emerging role of the microbiota in the ICU. *Crit Care*. 2018 Mar 20;22(1):78.
76. Kao LS, Fleming GM, Escamilla RJ, Lew DF, Lally KP. Antimicrobial prophylaxis and infection surveillance in extracorporeal membrane oxygenation patients: a multi-institutional survey of practice patterns. *ASAIO J*. 2011;57(3):231–8.
77. Sherwin J, Heath T, Watt K. Pharmacokinetics and Dosing of Anti-infective Drugs in Patients on Extracorporeal Membrane Oxygenation: A Review of the Current Literature. *Clin Ther*. 2016 Sep;38(9):1976–94.
78. Pickens CI, Wunderink RG. Principles and Practice of Antibiotic Stewardship in the ICU. *Chest*. 2019 Jul;156(1):163–71.
79. Vogel AM, Lew DF, Kao LS, Lally KP. Defining risk for infectious complications on extracorporeal life support. *J Pediatr Surg*. 2011 Dec;46(12):2260–4.
80. Falkov NN, Bagdasarova AM, Maksimova EA. [Conditions for the standardization of the process of cephalosporin biosynthesis]. *Antibiot Med Biotekhnol*. 1985 Jan;30(1):30–2.
81. Pieri M, Agracheva N, Fumagalli L, Greco T, De Bonis M, Calabrese MC, et al. Infections occurring in adult patients receiving mechanical circulatory support: the two-year experience of an Italian National Referral Tertiary Care Center. *Med Intensiva*. 2013 Oct;37(7):468–75.
82. Lemmen SW, Häfner H, Zolldann D, Stanzel S, Lütticken R. Distribution of multi-resistant Gram-negative versus Gram-positive bacteria in the hospital inanimate environment. *J Hosp Infect*. 2004 Mar;56(3):191–7.
83. Vincent JL, Sakr Y, Singer M, Martin-Loeches I, Machado FR, Marshall JC, et al. Prevalence and Outcomes of Infection Among Patients in Intensive Care Units in 2017. *JAMA*. 2020 Apr 21;323(15):1478–87.

*Desidero ringraziare la mia famiglia per il supporto incondizionato che mi ha dato durante questo lungo percorso di studi. Ringrazio Jacopo per aver creduto in me come un tifoso del Leicester. Ringrazio i miei amici che mi sono stati accanto, nonostante le distanze. Infine, ringrazio la dott.ssa Boscolo per la passione e l'entusiasmo che mostra per il suo lavoro.*