

Doctorand: Petra Cecilia Takacs

Titlu: „Prevalența infecțiilor bacteriene multirezistente și impactul acestora asupra prognosticului la pacienții cu ciroză hepatică decompensată”

CUPRINS

1.Introducere.....	3
2.Stadiul actual al cunașterii.....	3
2.1 Acute on chronic liver failure.....	3
2.2 Markerii surogat de infecție: noi și vechi.....	4
2.3 Infecția bacteriană și ciroza hepatică decompensată.....	4
3. Contribuția personală.....	5
3.1 Ipoteza de lucru/obiective.....	5
3.2 Rolul amprentei metabolomice în diagnosticul infecției bacteriene la pacienții cu ciroză hepatică decompensată.....	6
3.3 Evaluarea rezistenței și presepsinei ca markeri de diagnostic precoce a infecției bacteriene la pacienții cu ciroză hepatică decompensată.....	6
3.4 Prevalența infecțiilor bacteriene multirezistente și impactul acestora asupra prognosticului la pacienții cu ciroză hepatică decompensată internați în secția de terapie intensivă.....	7
3.5 Concluzii generale.....	7

CUVINTE CHEIE

- *ACLF*
- *CIROZĂ HEPATICĂ*
- *INFECȚII BACTERIENE*
- *TERAPIE INTENSIVĂ*
- *REZISTENȚĂ BACTERIANĂ*
- *CARBAPENEMI*

1. Introducere

Ciroza hepatică reprezintă stadiul final în evoluția hepatopatiilor cronice. În istoria naturală a cirozei hepatice recunoaștem un prim stadiu, cel compensat, și o tranziție în timp spre stadiul decompensat. Un sindrom nou descris în hepatologie, care poate să apară în orice stadiu al bolii, este insuficiența hepatică acută pe cronică (Acute on Chronic Liver Failure-ACLF), caracterizată prin prezența insuficiențelor de organ și mortalitate crescută la 28 de zile

Infecția bacteriană reprezintă unul dintre principalii factori de decompensare ai cirozei hepatice și responsabilă, cel mai frecvent, pentru apariția ACLF-lui. S-a demonstrat că infecțiile bacteriene severe cresc mortalitatea pacienților cu ciroză hepatică decompensată de patru ori. Există până în prezent puține date publicate referitoare la epidemiologia infecțiilor bacteriene la pacientul cirotic critic, internat pe secția de terapie intensivă. Mai mult, având în vedere că la nivel mondial infecțiile bacteriene cu germeni multirezistenți reprezintă triggerul major în apariția ACLF, iar prezența ACLF la pacientul cirotic este principalul motiv de preluare pe TI a acestuia, lucrarea de față și-a propus să evalueze prevalența infecțiilor bacteriene multirezistente la pacientul cirotic critic, internat pe TI.

Cercetarea din cadrul acestei teze de doctorat a abordat în special două aspecte principale. Primul este legat de diagnosticul rapid al acestor infecții, prin îmbunătățirea metodelor actuale de diagnostic bazat pe markerii surogat de infecție. S-a analizat astfel performanța metabolomicii, a presepinii și a rezistinei ca instrumente de diagnostic al infecției bacteriene și al sepsisului la pacientul cu ciroză hepatică decompensată.

Al doilea aspect abordat în teza de doctorat este epidemiologia infecțiilor bacteriene și spectrele de rezistență bacteriană la pacientul cu ciroză hepatică decompensată internat pe secția de TI.

2. Stadiul actual al cunoașterii

2.1 Acute on chronic liver failure

ACLF Cuprinde 3 grade: ACLF gradul 1 (insuficiență renală **SAU** insuficiență hepatică/a coagulării/circulatorie/respiratorie asociată cu o valoare serică a creatininei între 1.5-1.9 mg/dl și/sau encefalopatie hepatică gradul I sau II **SAU** insuficiență cerebrală asociată cu o valoare a

creatininei serice de 1.5-1.9 mg/dl); ACLF gradul 2-două insuficiențe de organ; ACLF gradul 3-trei sau mai multe insuficiențe de organ.

Există o diferență în ceea ce privește factorii precipitanți pentru apariția ACLF în lume. Astfel în Europa și America de Nord infecțiile bacteriene, mai ales cele cu tulpini multirezistente și consumul de alcool sunt cel mai frecvent incriminate.

2.2 Markerii surogat de infecție: noi și vechi

Tabloul clinic este adeseori frust la pacienții cirofici infectați, lipsind semnele generale de infecție, ca febra. Mai mult decât atât, în aproximativ jumătate din cazuri infecțiile bacteriene rămân asimptomatice, făcând diagnosticul cu atât mai dificil. Leucocitele, CRP și PCT au o performanță limitată la pacienții cirofici. Din acest motiv este nevoie de noi markeri precoce de infecție. Rezistina și presepsina sunt markeri de infecție cu performanță dovedită în diagnosticul infecțiilor bacteriene la populația noncirotică. Metabolomica este știința care permite identificarea tuturor metaboliților dintr-o probă biologică, cu aplicații multiple în domeniul hepatologiei. Studii recente au evaluat rolul metabolomicii în diagnosticul infecțiilor bacteriene și al sepsisului în rândul populației noncirotice și cirofice

2.3 Infecția bacteriană și ciroza hepatică decompensată

Disfuncția imună asociată cirozei (DIAC) se referă la totalitatea modificărilor sistemului imun care apare în ciroza hepatică și se caracterizează în principal prin imunodeficiență și inflamație sistemică. Pacienții cu ciroză hepatică prezintă o susceptibilitate crescută la infecțiile bacteriene, acestea fiind severe, asociate cu inflamație sistemică intensă și mortalitate crescută. Rata mortalității totale la 1 an de la diagnosticul infecției bacteriene atinge 60%. Antibioterapia precoce este crucială, deoarece fiecare oră de întârziere în inițierea tratamentului scade supraviețuirea cu 10%. Antibioterapia empirică fără a ține cont de patternul infecțiilor și prevalența locală a diferitelor bacterii multirezistente, respectiv neidentificarea pacienților cu risc crescut de infecții cu germeni multirezistenți, se traduce prin creșterea morbidității (disfuncție renală acută, IHAC, șoc septic) și mortalității intraspitalicești la pacientul cu ciroză avansată.

Infecțiile cu bacterii multirezistente au devenit o problemă de sănătate publică din ce în ce mai îngrijorătoare chiar și în rândul populației cirofice, fiind o amenințare în special în stadiile

decompensate ale bolii. Pacienții cu ciroză sunt o populație extrem de sensibilă la infecțiile multirezistente prin prisma spitalizărilor multiple, expunerii repetate la proceduri invazive și tratamentelor antibiotice frecvente. În studiul efectuat de Fernandez in 2012, pe un lot 223 de pacienți cirofici cu 507 infecții bacteriene identificate, 32% au fost infecții comunitare, 32% asociate cu îngrijirile de sănătate și 36% nosocomiale, în care infecțiile cu bacterii multirezistente au fost identificate cel mai frecvent, iar Enterobacteriile ESBL pozitive au fost cel mai frecvent incriminate. Un alt studiu a raportat infecția cu agenți multirezistenți la pacienții cirofici într-un procent de 27% din totalul infecțiilor diagnosticate, cu implicații severe asupra tratamentului antibiotic empiric de primă linie. Într-un studiu recent, dintre izolatele bacteriene responsabile de PBS sau bacteriemie spontană, 20.8 % au fost multirezistente, 10% extensiv rezistente, iar bacteria cea mai frecvent implicată a fost E. coli. Cocii Gram pozitivi au fost, în schimb, responsabili de peste 50% dintre infecții. În ultimii ani a crescut numărul studiilor care arată implicarea Enterobacteriilor rezistente la carbapenemi în etiologia infecțiilor bacteriene la pacienții cu ciroză decompensată, cu o prevalență extrem de heterogenă a acestora în diferite țări ale lumii: 70% în spitalele din Asia și 10-15% in Europa si America de nord. De aceea este de o importanță crucială cunoașterea epidemiologiei locale în vederea optimizării strategiilor de tratament antibiotic empiric.

3. Contribuția personală

3.1 Ipoteza de lucru/obiective

-identificarea unei amprente metabolomice a cirozei hepatice decompensate, prin compararea profilului metabolic al pacienților cu ciroză compensată cu cel al pacienților cu ciroză decompensată

-identificarea unor noi biomarkeri metabolici ai infecției bacteriene la pacienții cu ciroză hepatică decompensată

-identificarea unui biomarker metabolic din lichidul de ascită pentru diagnosticul PBS

-investigarea performanței presepsinei și rezistinei ca markeri de diagnostic precoce al infecției bacteriene și al sepsisului în comparație cu CRP și PCT la pacienții cu ciroză decompensată

-evaluarea relevanței prognostice a rezistinei și presepsinei pentru mortalitatea la 28 de zile a pacienților cu ciroză hepatică decompensată

-evaluarea prevalenței infecțiilor cu germeni multirezistenți la pacienții cu ciroză hepatică decompensată internați într-o unitate de TI dintr-un spital universitar

-evaluarea factorilor de risc asociați cu apariția rezistenței la carbapenemi la pacienții cu ciroză hepatică decompensată internați într-o unitate de TI dintr-un spital universitar

3.2 Rolul amprentei metabolomice în diagnosticul infecției bacteriene la pacienții cu ciroză hepatică decompensată

54 de pacienți cu ciroză decompensată au fost înrolați ca grup de studiu și 43 de pacienți cu ciroză compensată post-virală C ca grup control. Dintre cei decompensați 36 de pacienți au fost infectați (66%), Pentru a evidenția o diferență între amprenta metabolomică a serului pacienților cu ciroză decompensată față de cei cu ciroză compensată, ulterior pentru a diferenția cei infectați față de cei neinfecțiați, s-a efectuat o analiză multivariată bazată pe analiza componentelor principale (PCA), analiza parțială discriminantă a celor mai mici pătrate (PLSDA), respectiv algoritmul Random Forest. Căile metabolice centrale afectate la pacienții cu ciroză hepatică decompensată în comparație cu martorii sunt legate de metabolismul lipidic și implică fosfatidilcoline, acilcarnitine, derivați ai acidului stearic și 15 HETE-GABA. Markerii de infecție validați s-au dovedit a fi N-oleoiletanolamina, 2-hidroxioglutaratul, derivații de acizi grași și glutatiunul, care au avut o tendință de creștere, în timp ce ceramida (Cer)(d18:1)/20:0(2OH), lizofosfatidilcolina (LPC) (18:2/0:0) au avut o tendință de scădere în prezența infecției bacteriene.

3.3 Evaluarea rezistinei și presepsinei ca markeri de diagnostic precoce a infecției bacteriene la pacienții cu ciroză hepatică decompensată

114 pacienți consecutivi cu ciroză decompensată au fost internați în perioada ianuarie 2017–ianuarie 2018 și înrolați în studiul nostru, dintre aceștia 53 (46%) au prezentat infecții bacteriene la internare. Performanța presepsinei (AUROC=0,75; IC 95%: 0,67-0,84, p<0,001) pentru diagnosticul infecției bacteriene nu a fost semnificativ diferită de cea a CRP, PCT și rezistinei. Conform indicelui Youden, cea mai bună valoare cut-off a presepsinei în diagnosticul infecției și al sepsisului a fost similară, 1444 pg/ml. Cea mai bună valoare cut-off al rezistinei pentru

diagnosticul atât al infecției bacteriene, cât și al sepsisului a fost de 20 ng/ml. Supraviețuirea pacienților cu valori ale presepsinei <1444,5 pg/ml la internare a fost semnificativ mai mare decât a celor cu valori \geq 1444,5 pg/ml. Presepsina la 48 de ore de la internare a fost disponibilă la 67 de pacienți. Δ presepsina (presepsina la 48 h minus presepsina la internare) a fost asociată semnificativ cu mortalitatea la 28 de zile (HR=9,24; 95%CI: 3,66-23,27, $p<0,008$) și a avut performanțe bune în predicția acesteia: AUROC=0,85 (95%CI: 0.74-0.95) ($p<0,0001$).

3.4 Prevalența infecțiilor bacteriene multirezistente și impactul acestora asupra prognosticului la pacienții cu ciroză hepatică decompensată internați în secția de terapie intensivă

Între iulie 2017 și martie 2019, 75 de pacienți cu decompensarea acută a cirozei hepatice au fost înrolați în studiu. Principalul criteriu pentru preluarea în TI a fost necesitatea ventilației mecanice, fie pentru insuficiență respiratorie, fie pentru protecția căilor aeriene la pacienții cu encefalopatie hepatică manifestă clinic sau sângerare variceală activă. 42 (56%) de pacienți au fost infectați la preluarea în TI. Spitalizările anterioare și profilaxia cu antibiotice au fost asociate cu prezența infecției la internarea pe TI. Mai mult, a existat o corelație semnificativă statistic între infecție și ACLF la internarea în TI ($p=0,01$). ACLF gradele 2 și 3 au fost mai frecvente la pacienții infectați: 32% față de 9% și, respectiv, 64% față de 42%. Pacienții infectați au prezentat spitalizări mai lungi ($p=0,02$). Dobândirea unei noi infecții în timpul șederii în TI, a crescut semnificativ durata spitalizării în TI ($p=0,04$). Mortalitatea în timpul spitalizării a fost semnificativ mai mare la pacienții infectați ($p=0,01$). Dintre infecții, 21% au fost comunitare, 36% au fost legate îngrijirile de sănătate și 43% au fost nosocomiale. 46% din bacteriile izolate la preluarea pe terapie intensivă au fost MDR. În cazul infecțiilor apărute în timpul spitalizării în ATI, acest procent a crescut la 60%. Secreția de betalactamaze cu spectru extins a fost cel mai frecvent mecanism de rezistență observat la Enterobacteriile responsabile pentru infecțiile diagnosticate la internarea pe terapie intensivă (29%), în timp ce rezistența la carbapenemi a fost observată în 21% din cazuri. Tipul de rezistență bacteriană a organismelor responsabile de infecțiile diagnosticate în timpul spitalizării în ATI a fost rezistența fenotipică la carbapenemi atât la Enterobacterii, cât și la Gram negativi non-fermentativi. În cazul Enterobacteriilor fenotipic carbapenem rezistente, prezența genelor responsabile pentru secreția de carbapenemaze tip bla OXA-48 și bla KPC au fost prezente în 40% din cazuri.

3.5 Concluzii generale

Presepsina, rezistina, PCT și CRP sunt markeri precoce de infecție cu performanțe similare, dar cu valori prag diferite pentru diagnosticul infecției bacteriene la pacienții cu ciroză hepatică decompensată față de populația generală. Mai mult, presepsina și CRP, în special dinamica acestora în timpul spitalizării reprezintă factori prognostici independenți la pacienții cu ciroză

Modificarea metabolismului lipidic, mai ales cel al fosfolipidelor, carnitelor, al acizilor biliari, cel energetic implicând glutatiunea dar și neurotransmițătorii de tipul GABA și pregnenolonul oferă o fereastră pentru înțelegerea mecanismelor de la nivel celular, care stau la baza tranziției între stadiul compensat către cel decompensat al bolii hepatice.

Modificări în metabolismul endocanabinoizilor, responsabili pentru progresia hipertensiunii portale și apariția complicațiilor în ciroza hepatică, s-au dovedit a fi cel mai bine asociați cu prezența infecției bacteriene supraadăugate la pacienții cu ciroză hepatică decompensată.

Dintre insuficiențele de organ, cele mai frecvente la pacienții cirofici internați pe TI sunt encefalopatia hepatică manifestă (gradul 3 și 4) respectiv insuficiența respiratorie, impunând ventilația mecanică. Pneumonia s-a dovedit a fi cea mai frecventă infecție la pacienții cu ciroză hepatică care necesită preluare pe TI, dar și cea mai frecventă infecție care apare la pacienții deja internați pe TI, care dezvoltă o a doua infecție.

Spectrul infecțiilor bacteriene este dominat de germeni Gram negativi, multirezistenți. Tipul de rezistență bacteriană observată la preluarea pe terapie intensivă este secreția de betalactamaze cu spectru extins în cazul Enterobacteriilor dar și rezistența la carbapenemi a nonfermentativilor Gram negativi. Pentru infecțiile care survin în timpul urmăririi pe terapie intensivă, rezistența fenotipică la carbapenemi a Enterobacteriilor, în special a *Klebsiella pneumoniae* și a nonfermentativilor domină scena clinică. Prescrierea anterioară a carbapenemilor și durata spitalizării sunt asociate cu apariția acestora. Toate tulpinile de *Acinetobacter baumannii* și aproape jumătate dintre tulpinile de *Pseudomonas aeruginosa* izolate în studiul nostru au fost rezistente la carbapenemi în timp ce 80% dintre tulpinile de *Klebsiella* izolate pe terapie intensivă au fost rezistente la carbapenemi. Analiza moleculară a tulpinilor de Enterobacterii secretante de betalactamaze cu spectru extins precum și a tulpinilor de *Klebsiella pneumoniae* fenotipic carbapenem rezistente, a demonstrat prezența carbapenemazelor de tipul KPC și OXA 48 în 30% din cazuri.

PhD student: **Petra Cecilia Takacs**

Title: „**The prevalence of multidrug-resistant bacterial infections and their impact on prognosis in patients with decompensated cirrhosis**”

TABLE OF CONTENT

1.Introdction.....	3
2.The current state of knowledge.....	3
2.4 Acute on chronic liver failure.....	3
2.5 Surrogate markers of infection: new and old.....	4
2.6 Bacterial infections in decompensated liver cirrhosis.....	4
3. Personal contribution.....	5
3.6 Objectives.....	5
3.7 The role of the metabolomics in the diagnosis of bacterial infection in patients with decompensated liver cirrhosis.....	5
3.8 The role of resistin and presepsin as early diagnostic markers of bacterial infection in patients with decompensated liver cirrhosis.....	6
3.9 Prevalence of multidrug-resistant bacterial infections and their impact on prognosis in patients with decompensated liver cirrhosis admitted to the intensive care unit.....	7
3.10 General conclusions.....	7

KEY WORDS

- *ACLF*
- *LIVER CIRRHOSIS*
- *BACTERIAL INFECTION*
- *INTENSIVE CARE*
- *BACTERIAL RESISTANCE*
- *CARBAPENEMS*

4. Introduction

Liver cirrhosis is the final stage in the evolution of chronic liver diseases. In the natural history of liver cirrhosis we recognize a first stage, the compensated one, and a transition in time to the decompensated stage. A new syndrome described in hepatology, which can occur at any stage of the disease, is acute on chronic liver failure (ACLF), characterized by the presence of organ failures and increased mortality at 28 days. Bacterial infection is one of the main decompensating factor in liver cirrhosis and most often responsible for the onset of ACLF. Severe bacterial infections have been shown to increase the mortality of patients with decompensated liver cirrhosis fourfold. To date, there are few published data on the epidemiology of bacterial infections in critically ill cirrhotic patients admitted to the intensive care unit. Moreover, given that infections with multidrug-resistant organisms are the major trigger for the onset of ACLF, and the presence of ACLF in cirrhotic patients is the main reason for the need of intensive care, this paper aimed to assess the prevalence of multidrug-resistant bacterial infections in critically ill cirrhotic patients, admitted to the intensive care unit. The research in this doctoral thesis addressed in particular two main aspects. The first is related to the early diagnosis of these infections, by improving current methods of diagnosis based on surrogate infection markers. Thus, the performance of metabolomics, presepsine and resistin as diagnostic tools for bacterial infection and sepsis in patients with decompensated liver cirrhosis was analyzed.

The second aspect approached in the present doctoral thesis is the epidemiology of bacterial infections and the spectrum of bacterial resistance in patients with decompensated liver cirrhosis hospitalized on the ICU department.

2. Current state of knowledge

2.1 Acute on chronic liver failure

There are 3 grades of ACLF: grade 1 (renal or hepatic / coagulation / circulatory / respiratory failure associated with a serum creatinine value between 1.5-1.9 mg / dl and / or grade I or II hepatic encephalopathy OR cerebral insufficiency associated with a serum creatinine value of 1.5-1.9 mg / dl); grade 2-two organ failures; ACLF grade 3-three or more organ failures.

We can notice a difference worldwide between the precipitating factors for the appearance of ACLF. Thus in Europe and North America bacterial infections, especially those with multidrug

resistant strains and alcohol consumption are the most frequently incriminated precipitating factors.

2.2 Surrogate markers of infection, new and old

The clinical signs of bacterial infection, such as fever, are often lacking in patients with decompensated cirrhosis. Moreover, in about half of the cases they remain asymptomatic, making the diagnosis even more difficult. Leukocytes, CRP and PCT have limited diagnostic performance in patients with decompensated cirrhosis. For this reason, new, early markers of infection are needed. Resistin and presepsin are markers of infection with proven performance in diagnosing bacterial infections in the non-cirrhotic population. Metabolomics is the science that allows the identification of all metabolites in a biological sample, with multiple applications in the field of hepatology. Recent studies have evaluated the role of metabolomics in the diagnosis of bacterial infections and sepsis among the non-cirrhotic and cirrhotic population.

2.3 Bacterial infection in decompensated liver cirrhosis

Cirrhosis-associated immune dysfunction (CAID) refers to all changes in the immune system that occur in liver cirrhosis and is mainly characterized by immunodeficiency and systemic inflammation. Patients with cirrhosis have an increased susceptibility to bacterial infections, which are severe, associated with severe systemic inflammation and increased mortality. The overall mortality rate 1 year after the diagnosis of bacterial infection reaches 60%. Early antibiotic therapy is crucial, as every hour of delay in starting treatment decreases survival rate by 10%. Empirical antibiotic therapy without taking into account the pattern of infections and the local prevalence of various multidrug-resistant bacteria, results in increased morbidity (acute renal dysfunction, ACLF, septic shock) and mortality in patients with advanced cirrhosis. Infections with multidrug-resistant bacteria have become an increasing public health problem even among the cirrhotic population, being a threat especially in the decompensated stages of the disease. Patients with cirrhosis are exposed to multidrug-resistant infections due to multiple hospitalizations, exposure to invasive procedures and frequent antibiotic treatments. In a study by Fernandez in 2012, out of 223 cirrhotic patients with 507 identified bacterial infections, 32% were community acquired, 32% health care related and 36% nosocomial. Multidrug-resistant bacteria were associated especially with nosocomial infections, ESBL-producing Enterobacteria being the most frequently isolated strains. Another study reported infections with multidrug-resistant agents in cirrhotic patients in

27% of all diagnosed infections, with severe implications for the first-line empirical antibiotic treatment. In a recent study, of the bacterial isolates responsible for SBP or spontaneous bacteremia, 20.8% were multidrug-resistant, 10% extensively resistant, E. Coli being the most commonly involved. Gram-positive cocci, on the other hand, were responsible for over 50% of infections. In recent years, the number of studies showing the involvement of carbapenem-resistant Enterobacteria in the etiology of bacterial infections in patients with decompensated cirrhosis has increased, with an extremely heterogeneous prevalence in different countries of the world: 70% in Asian hospitals and 10-15% in Europe and North America. That is why it is crucial to know the local epidemiology in order to optimize empirical antibiotic treatment strategies.

3. Personal contribution

3.1 Objectives

- to identify a metabolic fingerprint of decompensated cirrhosis, by comparing the metabolic profile of patients with compensated cirrhosis with that of patients with decompensated cirrhosis
- to identify new metabolic biomarkers of bacterial infection in patients with decompensated liver cirrhosis
- to identify an ascitic metabolic biomarker for the diagnosis of SBP
- to evaluate the performance of presepsin and resistin as early diagnostic markers of bacterial infection and sepsis compared with CRP and PCT in patients with decompensated cirrhosis
- to assess the prognostic relevance of resistin and presepsin for 28-day mortality in patients with decompensated liver cirrhosis
- to assess the prevalence of multidrug-resistant infections in patients with decompensated liver cirrhosis hospitalised in intensive care of a university hospital
- to assess the risk factors associated with carbapenem-resistance in patients with decompensated liver cirrhosis hospitalized in intensive care of a university hospital

3.2 The role of the metabolomics in the diagnosis of bacterial infection in patients with decompensated liver cirrhosis

54 patients with decompensated cirrhosis were enrolled as a study group and 43 patients with compensated HCV-related cirrhosis as a control group. Among those with decompensation, 36 patients were infected (66%). In order to identify a difference between the serum metabolomics of patients with decompensated cirrhosis and those with compensated cirrhosis, and then to differentiate between infected and non-infected patients, a multivariate analysis was performed based on principal component analysis (PCA), partial least squares discriminant analysis (PLSDA), respectively the Random Forest algorithm. The central metabolic pathways affected in patients with decompensated liver cirrhosis compared to controls are related to lipid metabolism and involve phosphatidylcholines, acylcarnitines, stearic acid derivatives and HETE-GABA. The most important infection markers were found to be N-oleoylethanolamine, 2-hydroxyglutarate, fatty acid derivatives and glutathione, which had an increasing tendency while ceramide (Cer) (d18: 1) / 20: 0 (2OH), lysophosphatidylcholine (LPC) (18: 2/0: 0) had a decreasing tendency in the presence of bacterial infection.

3.3 The role of resistin and presepsin as early diagnostic markers of bacterial infection in patients with decompensated liver cirrhosis

114 consecutive patients with decompensated cirrhosis were hospitalized between January 2017 and January 2018 and enrolled in our study, among them 53 (46%) had bacterial infections at admission. The performance of presepsin (AUROC = 0.75; 95% CI: 0.67-0.84, $p < 0.001$) for the diagnosis of bacterial infection was not significantly different from that of CRP, PCT and resistin. According to the Youden index, the best cut-off value of presepsin for the diagnosis of infection and sepsis was similar, 1444 pg/ml. The best cut-off value of resistin for the diagnosis of both bacterial infection and sepsis was 20 ng/ml. The survival of patients with presepsin values < 1444.5 pg/ml at admission was significantly higher than those with values ≥ 1444.5 pg/ml. Presepsin at 48 hours after admission was available in 67 patients. Δ presepsin (presepsin at 48 h minus presepsin at admission) was associated significantly with 28 days mortality (HR = 9.24; 95% CI: 3.66-23.27, $p < 0.008$) and showed a good performance for its prediction: AUROC = 0.85 (95% CI: 0.74-0.95) ($p < 0.0001$).

3.4 Prevalence of multidrug-resistant bacterial infections and their impact on prognosis in patients with decompensated liver cirrhosis admitted to the intensive care unit

Between July 2017 and March 2019, 75 patients with acutely decompensated cirrhosis, admitted to ICU were enrolled in the study. The main reason for ICU admission was the need for mechanical ventilation, either for respiratory insufficiency or for airway protection in patients with overt hepatic encephalopathy or active variceal bleeding. 42 (56%) patients were infected at ICU admission. Previous hospitalizations and antibiotic prophylaxis have been associated with the presence of infection at admission. Moreover, there was a statistically significant correlation between infection and ACLF at ICU admission ($p = 0.01$). ACLF grades 2 and 3 were more common in infected patients: 32% versus 9% and 64% versus 42%, respectively. Infected patients had longer hospitalizations ($p = 0.02$). Acquiring a new infection during ICU stay, significantly increased the length of ICU hospitalization ($p = 0.04$). Mortality during admission was significantly higher in infected patients ($p = 0.01$). Of the infections, 21% were community-acquired, 36% were health care-related and 43% were nosocomial. 46% of the isolated bacteria on intensive care admission were MDR. For infections diagnosed during ICU follow-up, this percentage increased to 60%. Extended-spectrum beta-lactamase secretion was the most commonly observed resistance mechanism in Enterobacteria responsible for infections diagnosed at intensive care admission (29%), while carbapenem-resistance was observed in 21% of cases. The most prevalent resistance mechanism in bacteria responsible for infections diagnosed during ICU follow-up was phenotypic carbapenem-resistance in both Enterobacteria and non-fermentative Gram-negative agents. In the case of phenotypically carbapenem resistant Enterobacteria, the presence of genes, such as bla OXA-48 and bla KPC, responsible for the secretion of carbapenemases were present in 40% of cases.

3.5 General conclusions

Presepsin, resistin, PCT and CRP are early markers of infection with similar performances, but with different cut-off values as compared to the general population for the diagnosis of bacterial infection and sepsis in patients with decompensated cirrhosis. Furthermore, presepsin and CRP, especially their dynamical changes during hospitalization, are independent prognostic factors in patients with decompensated cirrhosis.

The changes of lipid metabolism, especially that of phospholipids, carnitines, bile acids, and energetic metabolism involving glutathione but also GABA-type neurotransmitters and pregnenolone provides a window for understanding the mechanisms at the cellular level that underlie the transition between the compensated to the decompensated stage of liver disease.

Changes in endocannabinoid metabolism, responsible for the progression of portal hypertension and the occurrence of complications in liver cirrhosis, have been shown to be associated with the presence of overlapping bacterial infection in patients with decompensated liver cirrhosis.

Among the organ failures, in this study, the most common in cirrhotic patients admitted to ICU were overt hepatic encephalopathy (grade 3 and 4) and respiratory failure requiring mechanical ventilation. Pneumonia has proven to be the most common infection in patients with cirrhosis that requires intensive care, but also the most common second infection that occurs in patients during ICU stay. The spectrum of bacterial infections is dominated by Gram-negative, multidrug-resistant germs. The type of bacterial resistance observed at intensive care admission is the secretion of extended-spectrum beta-lactamases in the case of Enterobacteria but also carbapenem-resistance in non-fermentative Gram-negative isolates. For infections that occur during ICU follow-up, the phenotypic carbapenem-resistance of nonfermentatives and Enterobacteria, especially *Klebsiella pneumoniae*, dominates the clinical scene. Previous prescription of carbapenems and the length of hospitalization are associated with its occurrence. All *Acinetobacter baumannii* strains and almost half of the *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated in our study were resistant to carbapenems while 80% of the isolated *Klebsiella* strains were resistant to carbapenems. Molecular analysis of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteria as well as of phenotypically carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains demonstrated the presence of KPC and OXA 48 carbapenemases associated genes in 30% of cases.