



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
UNIVERSITY OF CRETE

ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
FACULTY OF MEDICINE



**Κλινικοεπιδημιολογική μελέτη και έλεγχος της
πολυαντοχής των βακτηριδίων στο Πανεπιστημιακό
Γενικό Νοσοκομείο Ηρακλείου**

Διδακτορική διατριβή
Κωνσταντίνος Τσιούτης
Ιατρός

Ηράκλειο 2016

Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή

Αχιλλέας Γκίκας, Καθηγητής Παθολογίας (επιβλέπων)

Γεώργιος Σαμώνης, Καθηγητής Παθολογίας (συνεπιβλέπων)

Εμμανουήλ Γαλανάκης, Αν.Καθηγητής Παιδιατρικής (συνεπιβλέπων)

Δημήτριος Γεωργόπουλος, Καθηγητής Εντατικολογίας

Έυσταθία Σκούλικα, Επ.Καθηγήτρια Μικροβιολογίας

Διαμαντής Κοφτερίδης, Επ.Καθηγητής Παθολογίας

Ιωάννα Μοσχανδρέα, Επ.Καθηγήτρια Βιοστατιστικής

Ευχαριστίες

Η παρούσα διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε στο ΠαΓΝΗ σε στενή συνεργασία με την Επιτροπή Ελέγχου Νοσοκομειακών Λοιμώξεων του ΠαΓΝΗ, με επιβλέποντα τον Καθηγητή κ.Αχιλλέα Γκίκα και συνεπιβλέποντες τους Καθηγητές κ.Γεώργιο Σαμώνη και κ.Εμμανουήλ Γαλανάκη.

Θα ήθελα να εκφράσω πρωτίστως την ευγνωμοσύνη μου στον Καθηγητή κ.Γκίκα, ο οποίος πίστεψε στις ικανότητές μου, με στήριξε σε όλες τις φάσεις της ιατρικής μου πορείας και διέυρνε τους ορίζοντες των γνώσεών μου, τόσο σε επιστημονικό, όσο και σε ακαδημαϊκό επίπεδο.

Ιδιαίτερη αναφορά και ευχαριστίες στην Μαρία Ρουμπελάκη, νοσηλεύτρια ελέγχου λοιμώξεων, της οποίας οι γνώσεις και πείρα με βοήθησαν όχι μόνο στο έργο της διατριβής, αλλά και σε πρακτικά προβλήματα.

Δεν θα μπορούσα να παραλείψω τις νοσηλεύτριες ελέγχου λοιμώξεων Αργυρώ Μεσσαριτάκη και Ειρήνη Αστρινάκη για την επικοινωνιακή συνεργασία και τις ατέλειωτες συζητήσεις μας.

Ευχαριστώ τη στενή μου φίλη, Ιωάννα Μαρκάκη, για τη βοήθειά της όλα αυτά τα χρόνια.

Επίσης θερμές ευχαριστίες στους Καθηγητές κ. Σαμώνη Γεώργιο και Εμμανουήλ Γαλανάκη για τις συμβουλές που μου προσέφεραν.

Ευχαριστώ τους συνεργάτες στο Εργαστήριο Μικροβιολογίας ΠαΓΝΗ, στο Φαρμακείο και στο Γραφείο Στατιστικής ΠαΓΝΗ για την παροχή όλων των απαραίτητων δεδομένων για την εκπόνηση της εργασίας αυτής.

Ευχαριστίες στους συνεργάτες στο Εργαστήριο Μικροβιολογίας του University Medical Center Groningen, Prof.Alexander W. Friedrich και Erik Bathoorn, οι οποίοι με φιλοξένησαν και με βοήθησαν να κατανοήσω την εφαρμογή της μοριακής βάσης της αντοχής στην καθημερινή κλινική πράξη.

Φυσικά θέλω να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στους γονείς μου που μου χάρισαν όλα τα απαραίτητα εφόδια, που πάντα πίστευαν σ'εμένα και στήριξαν όλες τις επιλογές μου με κάθε μέσο.

Τέλος, ευχαριστώ τη Ζαφείρη, χάρη στην οποία όλα είναι πάντα όμορφα.

Αφιερώνω τη διατριβή αυτή στους κόπους μου.

Περιεχόμενα

Κατάλογος Πινάκων	7
Κατάλογος Εικόνων	8
Εκτενής Περίληψη	10
Extended summary	14
Γενικό Μέρος	17
1. Η κλινική σημασία της πολυαντοχής των βακτηριδίων.....	18
<u>1.1. Παθογένεια λοιμώξεων από ανθεκτικά μικρόβια.....</u>	<u>18</u>
<u>1.2. Παράγοντες που επηρεάζουν τη μετάδοση ανθεκτικών μικροοργανισμών.....</u>	<u>19</u>
<u>1.3. Αντοχές των νοσοκομειακών παθογόνων.....</u>	<u>19</u>
<u>1.4. Διαθέσιμα αντιβιοτικά για λοιμώξεις από ανθεκτικούς μικροοργανισμούς.....</u>	<u>24</u>
<u>1.5. Η σημασία της επιτήρησης των αντοχών.....</u>	<u>26</u>
<u>1.6. Επιτήρηση κατανάλωσης αντιβιοτικών.....</u>	<u>28</u>
<u>1.7. Οδηγίες ελέγχου και πρόληψης μετάδοσης πολυανθεκτικών μικροβίων.....</u>	<u>30</u>
<u>1.8. Βιβλιογραφικές αναφορές.....</u>	<u>31</u>
Ειδικό Μέρος.....	35
2. Μελέτη της μικροβιακής αντοχής και της κατανάλωσης αντιβιοτικών στο Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Ηρακλείου.....	36
<u>2.1. Μεθοδολογία της μελέτης</u>	<u>36</u>
<u>2.1.1. Χρονική διάρκεια.....</u>	<u>36</u>
<u>2.1.2. Κατανομή στελεχών ανά κλινικό δείγμα.....</u>	<u>36</u>
<u>2.1.3. Κατανομή στελεχών ανά κλινικές - διαχωρισμός εξωτερικών ασθενών.....</u>	<u>36</u>
<u>2.1.4. Καταγραφή αντοχών.....</u>	<u>36</u>
<u>2.1.5. Μικροβιολογικός έλεγχος.....</u>	<u>37</u>
<u>2.1.6. Μέτρηση κατανάλωσης αντιβιοτικών.....</u>	<u>38</u>
<u>2.1.7. Στατιστικοί δείκτες.....</u>	<u>38</u>
<u>2.1.8. Σύγκριση αντοχών με άλλες μελέτες από τη διεθνή βιβλιογραφία.....</u>	<u>39</u>
<u>2.1.9. Σύγκριση κατανάλωσης αντιβιοτικών με μελέτες από τη διεθνή βιβλιογραφία.....</u>	<u>40</u>
<u>2.2. Αποτελέσματα και Συμπεράσματα μελέτης αντοχών.....</u>	<u>40</u>
<u>2.3. Κατανάλωση αντιβιοτικών</u>	<u>50</u>
<u>2.3.1. Κατανομή χορηγούμενων αντιβιοτικών.....</u>	<u>50</u>
<u>2.3.2. Κατανάλωση αντιβιοτικών σε DDD/100 ασθενοημέρες.....</u>	<u>51</u>
<u>2.3.3. Σύγκριση κατανάλωσης αντιβιοτικών με άλλες μελέτες.....</u>	<u>53</u>
<u>2.3.4. Συμπεράσματα πάνω στην κατανάλωση αντιβιοτικών</u>	<u>58</u>

<u>2.4. Συζήτηση - Συμπεράσματα.....</u>	<u>61</u>
<u>2.5. Μελέτη της μικροβιακής αντοχής και κατανάλωσης αντιβιοτικών στη ΜΕΘ Ενηλίκων ΠαΓΝΗ.....</u>	<u>64</u>
2.5.1. Συνολικές απομονώσεις στη ΜΕΘ.....	64
2.5.2. Αντοχές παθογόνων στη ΜΕΘ.....	64
2.5.3. Κατανάλωση αντιβιοτικών στη ΜΕΘ.....	68
<u>2.6. Αντιμικροβιακή αντοχή και κατανάλωση αντιβιοτικών στη ΜΕΘ: Συμπεράσματα - Συζήτηση.....</u>	<u>72</u>
<u>2.7. Βιβλιογραφικές αναφορές.....</u>	<u>74</u>
3. Λοιμώξεις από πανανθεκτικά gram-αρνητικά βακτήρια: κλινικά χαρακτηριστικά, θεραπευτική αντιμετώπιση και έκβαση, σε μια σειρά 21 ασθενών.....	78
<u>3.1. Περίληψη.....</u>	<u>78</u>
<u>3.2. Εισαγωγή.....</u>	<u>78</u>
<u>3.3. Σκοπός μελέτης.....</u>	<u>79</u>
<u>3.4. Μέθοδοι.....</u>	<u>79</u>
3.4.1. Χώρος μελέτης.....	79
3.4.2. Σχεδιασμός μελέτης και συλλογή δεδομένων.....	79
3.4.3. Ορισμοί.....	79
3.4.4. Μικροβιολογικός έλεγχος.....	80
3.4.5. Ανάλυση δεδομένων.....	80
<u>3.5. Αποτελέσματα.....</u>	<u>80</u>
3.5.1. Χαρακτηριστικά ασθενών.....	80
3.5.2. Πανανθεκτικά στελέχη και λοιμώξεις.....	81
3.5.3. Θεραπευτική αντιμετώπιση λοιμώξεων.....	81
3.5.4. Έκβαση λοιμώξεων.....	84
<u>3.6. Συζήτηση - Συμπεράσματα.....</u>	<u>85</u>
<u>3.7. Βιβλιογραφικές αναφορές.....</u>	<u>86</u>
4. Εξέλιξη της πολυαντοχής σε στελέχη <i>Klebsiella pneumoniae</i> στα νοσοκομεία της Κρήτης.....	89
<u>4.1. Περίληψη.....</u>	<u>89</u>
<u>4.2. Εισαγωγή.....</u>	<u>89</u>
<u>4.3. Σκοπός.....</u>	<u>90</u>

<u>4.4. Μέθοδοι.....</u>	90
<u>4.5. Αποτελέσματα.....</u>	91
<u>4.6. Συζήτηση - Συμπεράσματα.....</u>	96
<u>4.7. Βιβλιογραφικές αναφορές.....</u>	97
5. Εφαρμογή διεθνών οδηγιών για τον έλεγχο της μετάδοσης των πολυανθεκτικών μικροβίων: Το παράδειγμα της επιδημίας από πανανθεκτικό <i>Acinetobacter baumannii</i>	99
<u>5.1 Περίληψη.....</u>	99
<u>5.2 Εισαγωγή.....</u>	99
<u>5.3 Μεθοδολογία.....</u>	100
<u>5.3.1. Νοσοκομείο.....</u>	<u>100</u>
<u>5.3.2. Ορισμοί.....</u>	<u>100</u>
<u>5.3.3. Μικροβιολογική και μοριακή ανάλυση.....</u>	<u>100</u>
<u>5.3.4. Ανάλυση δεδομένων.....</u>	<u>101</u>
<u>5.4 Αποτελέσματα.....</u>	101
<u>5.4.1. Περιγραφή επιδημίας και παρεμβάσεων.....</u>	<u>101</u>
<u>5.4.2. Χαρακτηρισμός βακτηριακών στελεχών.....</u>	<u>103</u>
<u>5.4.3. Γονιδιακά χαρακτηριστικά των PDR-AB στελεχών.....</u>	<u>104</u>
<u>5.4.4. Κλινικά χαρακτηριστικά, λοιμώξεις, έκβαση.....</u>	<u>105</u>
<u>5.5 Συζήτηση-Συμπεράσματα.....</u>	105
<u>5.6 Βιβλιογραφία.....</u>	107
6. Αξιοποίηση της παρούσας διδακτορικής διατριβής και συνέχιση της έρευνας	110
 Παρουσιάσεις - Ομιλίες σε συνέδρια, ελληνικά και διεθνή	114
 Δημοσιεύσεις στο διεθνή τύπο	115

Κατάλογος Πινάκων

Αριθμός	Τίτλος	Σελίδα
2.1	Συγκρίσεις των αντοχών στο ΠαΓΝΗ με αντίστοιχες πολυκεντρικές μελέτες	48
2.2	Κατανάλωση αντιβιοτικών σε DDD /100 ασθενοημέρες στο ΠαΓΝΗ σε διαφορετικές χρονικές περιόδους	52
2.3	Σύγκριση της κατανάλωσης αντιβιοτικών σε DDD / 100 ασθενοημέρες στο ΠαΓΝΗ για τις περιόδους 1998-2002, 2004-2006 και 2008-2009 με διεθνείς μελέτες	54
2.4	Σύγκριση των αντοχών των κυριότερων παθογόνων ΜΕΘ με τα αντίστοιχα του συνόλου των νοσοκομειακών στελεχών ΠαΓΝΗ	65
2.5	Σύγκριση των ποσοστών αντοχών των κυριότερων παθογόνων της ΜΕΘ ΠαΓΝΗ με αντίστοιχα ποσοστά αντοχών από διεθνείς μελέτες	66
2.6	Σύγκριση των ποσοστών αντοχών των κυριότερων παθογόνων της ΜΕΘ ΠαΓΝΗ με αντίστοιχα ποσοστά αντοχών από ελληνικά νοσοκομεία	68
2.7	Σύγκριση της κατανάλωσης αντιβιοτικών σε DDD / 100 ασθενοημέρες στη ΜΕΘ ΠαΓΝΗ για τις περιόδους 2004-2006 και 2008-2009 με διεθνείς μελέτες	70
3.1	Χαρακτηριστικά των 21 ασθενών με λοίμωξη από πανανθεκτικά gram-αρνητικά βακτήρια, θεραπευτική αντιμετώπιση και έκβαση λοίμωξης	82
3.2	Χαρακτηριστικά των ασθενών που ιάθηκαν και των ασθενών που απεβίωσαν λόγω της λοίμωξης από πανανθεκτικά gram-αρνητικά βακτήρια	84
3.3	Χαρακτηριστικά των ασθενών με ίαση της λοίμωξης από πανανθεκτικό βακτήριο, ανάλογα με λήψη θεραπείας με τιγκεκυκλίνη ή όχι	85
4.1	Ποσοστό ευαισθησίας των στελεχών KPC-KP σε διάφορα αντιβιοτικά	90
4.2	Μοριακά χαρακτηριστικά των 34 στελεχών KPC-KP	92
4.3	Χαρακτηριστικά των 34 στελεχών KPC-KP της μελέτης	94
5.1	Σύγκριση μεταξύ συστάσεων ESCMID και παρεμβάσεων που εφαρμόστηκαν στην επιδημία από PDR-AB στο νοσοκομείο	103

Κατάλογος Εικόνων

Αριθμός	Τίτλος	Σελίδα
2.1	Επίπτωση/1000 ασθενοημέρες στο ΠαΓΝΗ της αντοχής των στελεχών <i>K. pneumoniae</i> στις κεφαλοσπορίνες 3ης γενιάς κεφαλοσπορίνες, φθοριοκινολόνες και μιπενέμη την περίοδο 2005-09	41
2.2	Σύγκριση των αντοχών των στελεχών <i>K. pneumoniae</i> που απομονώθηκαν σε αιμοκαλλιέργειες: στο ΠαΓΝΗ (Ιανουάριος 2009-Μάρτιος 2010), στο EARSS (2008), σε ελληνικά νοσοκομεία του EARSS (2008), στο δίκτυο DANMAP 2009 της Δανίας, στο Network for Antimicrobial Resistance Surveillance της Σιγκαπούρης (2006-08) και σε βακτηριαίμιες από το NHSN των ΗΠΑ (2006-07) και από το δίκτυο BSAC από το Ηνωμένο Βασίλειο και την Ιρλανδία το 2008	44
2.3	Σύγκριση των αντοχών των στελεχών <i>E. coli</i> που απομονώθηκαν σε αιμοκαλλιέργειες: στο ΠαΓΝΗ (Ιανουάριος 2009-Μάρτιος 2010), στο EARSS (2008), σε ελληνικά νοσοκομεία του EARSS (2008), στο δίκτυο DANMAP 2009 της Δανίας, στο Network for Antimicrobial Resistance Surveillance της Σιγκαπούρης (2006-08), σε χώρες της Νοτιοανατολικής Μεσογείου της μελέτης ARMed (διάμεσος το 2003-05) και σε βακτηριαίμιες από το NHSN των ΗΠΑ (2006-07) και από το δίκτυο BSAC από το Ηνωμένο Βασίλειο και την Ιρλανδία το 2008	44
2.4	Σύγκριση των αντοχών των στελεχών <i>P. aeruginosa</i> που απομονώθηκαν σε αιμοκαλλιέργειες: στο ΠαΓΝΗ (Ιανουάριος 2009-Μάρτιος 2010), στο EARSS (2008), στα ελληνικά νοσοκομεία του EARSS (2008), στο δίκτυο DANMAP 2009 της Δανίας και σε βακτηριαίμιες από το NHSN των ΗΠΑ (2006-07), από το δίκτυο BSAC στο Ηνωμένο Βασίλειο και Ιρλανδία (2008) και από τη μελέτη SCOPE (1995-2002) των ΗΠΑ	46
2.5	Σύγκριση των αντοχών των στελεχών Εντερόκοκκου στη βανκομυκίνη (VRE) και <i>S. aureus</i> στη μεθικιλίνη (MRSA) που απομονώθηκαν σε αιμοκαλλιέργειες: στο ΠαΓΝΗ (Ιανουάριος 2009-Μάρτιος 2010), στο EARSS (2008), στα ελληνικά νοσοκομεία του EARSS (2008), στο δίκτυο DANMAP 2009 της Δανίας, σε χώρες της Νοτιοανατολικής Μεσογείου της μελέτης ARMed (για τον MRSA, διάμεσος το 2003-05) και σε βακτηριαίμιες: από το NHSN των ΗΠΑ (2006-07), από το δίκτυο BSAC στο Ηνωμένο Βασίλειο και Ιρλανδία (2008) και από τη μελέτη SCOPE (1995-2002) των ΗΠΑ	47
2.6	Κατανομή των χορηγούμενων αντιβιοτικών στο ΠαΓΝΗ για την περίοδο 2008-09	51
2.7	Σύγκριση της κατανάλωσης των κυριότερων ομάδων β-λακταμών σε DDD/100 ασθενοημέρες στο ΠαΓΝΗ την περίοδο 2008-09 με την κατανάλωση αντιβιοτικών στην Ολλανδία (2006), Σουηδία (2008) και	56

	Δανία (2009)	
2.8	Σύγκριση της κατανάλωσης των κεφαλοσπορινών και καρβαπενεμών σε DDD/100 ασθενοημέρες στο ΠαΓΝΗ την περίοδο 2008-09 με την κατανάλωση αντιβιοτικών στην Ολλανδία (2006), Σουηδία (2008), Δανία (2009) και Γαλλία (2008)	57
2.9	Σύγκριση της κατανάλωσης των μακρολιδών και φθοριοκινολονών σε DDD/100 ασθενοημέρες στο ΠαΓΝΗ την περίοδο 2008-09 με την κατανάλωση αντιβιοτικών στην Ολλανδία (2006), Σουηδία (2008), Δανία (2009) και Γαλλία (2008)	57
2.10	Σύγκριση της κατανάλωσης των νεότερων αντιβιοτικών σε DDD/100 ασθενοημέρες στο ΠαΓΝΗ την περίοδο 2008-09 με την κατανάλωση αντιβιοτικών στην Ολλανδία (2006), Σουηδία (2008), Δανία (2009) και Γαλλία (2008)	58
2.11	Συσχέτιση της επίπτωσης της ανθεκτικής στις καρβαπενέμες <i>K. pneumoniae</i> στο ΠαΓΝΗ με την κατανάλωση καρβαπενεμών και πολυμυξινών	60
2.12	Επίπτωση αντοχής του <i>A. baumannii</i> στην ιμipενέμη την περίοδο 2005-09 στο ΠαΓΝΗ και στα τμήματα: ΜΕΘ Ενηλίκων, Νευροχειρουργικής, Αιματολογίας, Νεφρολογίας, και Γενικής Παθολογίας	72
5.1	Εξέλιξη της επιδημίας από PDR-AB στο χρόνο, νοσοκομείο και ΜΕΘ	103

Εκτενής Περίληψη

Μελέτη 1: Μελέτη της μικροβιακής αντοχής και της κατανάλωσης αντιβιοτικών στο Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Ηρακλείου

Σκοπός: η μελέτη των επικρατέστερων μικροοργανισμών, των κυριότερων αντοχών και της εξέλιξής τους στο χρόνο, καθώς και της εξέλιξης της κατανάλωσης των αντιβιοτικών στο ΠαΓΝΗ και ανά τμήμα.

Μέθοδοι: Κατά το διάστημα Ιανουάριος 2009 - Μάρτιος 2010 (15 μήνες), προοπτική καθημερινή καταγραφή όλων των μικροβίων που απομονώθηκαν στο μικροβιολογικό εργαστήριο του νοσοκομείου και των αντοχών τους. Για την αποτύπωση της εξέλιξης της αντοχής συσχετίστηκαν με δεδομένα καταγραφών των αντοχών κατά την πενταετία 2005–2009. Επιπλέον συλλέχθηκαν και αναλύθηκαν αθροιστικά δεδομένα από την κατανάλωση αντιβιοτικών για δύο διακριτές χρονικές περιόδους, 2004-06 και 2008-09. Η ταξινόμηση της κατανάλωσης αντιβιοτικών έγινε σύμφωνα με την ομάδα J01 του συστήματος ταξινόμησης Anatomical Therapeutic Chemical (ATC) 2006 του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας. Τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν με αντίστοιχα δεδομένα του ΠαΓΝΗ και της διεθνούς βιβλιογραφίας.

Αποτελέσματα: απομονώθηκαν 6364 μοναδικά (non duplicate) στελέχη, εκ των οποίων 4705 (73.9%) προέρχονταν από τμήματα του νοσοκομείου. Από αυτά, το 39.1% προέρχονταν από παθολογικά τμήματα, το 26.6% από χειρουργικά τμήματα, το 17.8% από τη ΜΕΘ και το 16.5% από παιδιατρικά τμήματα. Οι συχνότεροι μικροοργανισμοί ήταν κοαγκουλάση-αρνητικοί σταφυλόκοκκοι (CNS, 18.4% του συνόλου), *Escherichia coli* (16.0%), *Enterococcus spp* (11.1%), *Klebsiella pneumoniae* (8.5%) και *Pseudomonas aeruginosa* (7.4%). Οι CNS ήταν οι συχνότεροι μικροοργανισμοί σε καλλιέργειες αίματος (46.6% του συνόλου των αιμοκαλλιεργειών), τα *E. coli* ήταν τα συχνότερα απομονωθέντα στα ούρα (54.4%), ενώ από τα δείγματα κατώτερου αναπνευστικού συχνότερα ήταν τα στελέχη *Acinetobacter baumannii* (19.9%), *P. aeruginosa* (13.5%), *K. pneumoniae* (11.1%) και *Staphylococcus aureus* (10.6%). Σε σχέση με τα προηγούμενα έτη, οι περισσότερες αντοχές εμφανίζουν σταθερή ή μειούμενη επίπτωση, με την εξαίρεση των στελεχών *K. pneumoniae* που παρουσιάζουν σαφή αύξηση των αντοχών σε όλα τα αντιβιοτικά (56.7% ποσοστό παραγωγής ESBL, 42.2% αντοχή στην ιμιπενέμη, 51.7% στις φθοριοκινολόνες, 7.1% στην κολιστίνη). Επίσης παρατηρήθηκε αύξηση της αντοχής των στελεχών *E. coli* στις φθοριοκινολόνες, σταθερά υψηλό ποσοστό αντοχής (82.9%) των *A. baumannii* στις καρβαπενέμες, με ιδιαίτερη αύξηση στα τμήματα ΜΕΘ, Γενικής Παθολογίας, Αιματολογίας, Νεφρολογίας, Νευροχειρουργικής. Οι αντοχές της *P. aeruginosa* είναι σταθερές, σε επίπεδα συγκρίσιμα με τη διεθνή βιβλιογραφία (19.8% στην ιμιπενέμη, 12.4% στις φθοριοκινολόνες, 7.2% στη γενταμικίνη). Η επίπτωση των κυριότερων αντοχών των gram-θετικών παθογόνων (εντερόκοκκου στη βανκομυκίνη, *S. aureus* και CNS στη μεθικιλίνη) εμφανίζουν μείωση το 2009 σε σχέση με τα προηγούμενα έτη, με αντίστοιχα ποσοστά παρόμοια ή και χαμηλότερα από διεθνείς μελέτες. Στη ΜΕΘ, οι CNS επικρατούσαν στις απομονώσεις στο αίμα (53.7% των αιμοκαλλιεργειών), ενώ στις απομονώσεις κατώτερου αναπνευστικού ήταν συχνότερα τα *A. baumannii* (25.6%) και *K. pneumoniae* (13.2%). Στη ΜΕΘ παρατηρήθηκαν υψηλά ποσοστά αντοχών στα στελέχη *K. pneumoniae* και *A. baumannii*, ενώ οι αντοχές των σταφυλοκόκκων, εντερόκοκκων, *E. coli* και *P. aeruginosa* ήταν σε επίπεδα παρόμοια ή χαμηλότερα από αυτά της διεθνούς βιβλιογραφίας.

Όσον αφορά στην κατανάλωση αντιβιοτικών, οι κεφαλοσπορίνες ήταν τα συχνότερα χορηγούμενα αντιβιοτικά (20% της συνολικής κατανάλωσης), ακολουθούμενες από τις φθοριοκινολόνες (15%) και συνδυασμούς β-λακταμών/αναστολέων (13%), με σημαντική αύξηση της συνολικής κατανάλωσης

αντιβιοτικών (αύξηση κατά 73% το 2009 σε σχέση με το 1998) και ιδιαίτερα αυτών με ευρύ φάσμα. Σε σχέση με τις περισσότερες μελέτες, στο ΠαΓΝΗ παρατηρείται ίση ή χαμηλότερη κατανάλωση πενικιλινών, αλλά αρκετά υψηλότερη κατανάλωση κεφαλοσπορινών, καρβαπενεμών, και νεότερων αντιβιοτικών όπως φθοριοκινολόνες, γλυκοπεπτίδια, λινεζολίδη, πολυμυξίνες, δαπτομυκίνη και τιγκεκυκλίνη. Η συνολική κατανάλωση αντιβιοτικών στη ΜΕΘ ήταν πολύ υψηλή σε σύγκριση τόσο με τη συνολική κατανάλωση στο ΠαΓΝΗ, όσο και με άλλες ΜΕΘ από το διεθνή χώρο.

Συμπεράσματα: τα κυριότερα προβλήματα που εντοπίστηκαν είναι τα υψηλά ποσοστά αντοχών στα συχνότερα απομονωθέντα gram-αρνητικά. Επιπλέον, παρατηρείται αυξημένη κατανάλωση αντιβιοτικών ευρέως φάσματος και νεότερων, τελευταίας γραμμής αντιβιοτικών, ενώ αντίθετα παρατηρείται μείωση της κατανάλωσης αντιβιοτικών με ειδικότερο ή στενότερο φάσμα. Στη ΜΕΘ ΠαΓΝΗ, λόγω των υψηλών ποσοστών αντοχής στα στελέχη *K. pneumoniae* και *A. baumannii* και της μεγάλης κατανάλωσης αντιβιοτικών, είναι απαραίτητη η ενίσχυση των μέτρων ελέγχου της αντοχής και η εφαρμογή προγράμματος βελτίωσης των πρακτικών χορήγησης αντιβιοτικών.

Μελέτη 2: Λοιμώξεις από πανανθεκτικά gram-αρνητικά βακτήρια: κλινικά χαρακτηριστικά, θεραπευτική αντιμετώπιση και έκβαση, σε μια σειρά 21 ασθενών

Σκοπός: η περιγραφή και ανάλυση των κλινικών χαρακτηριστικών, του θεραπευτικού χειρισμού και της έκβασης των λοιμώξεων από πανανθεκτικά gram-αρνητικά μικρόβια στο ΠαΓΝΗ.

Μέθοδοι: προοπτική μελέτη παρατήρησης σειράς ασθενών με λοίμωξη από πανανθεκτικά gram-αρνητικά βακτήρια από τον Απρίλιο 2006 έως και τον Απρίλιο 2008 στο ΠαΓΝΗ. Τα απομονωθέντα στελέχη *A. baumannii*, *K. pneumoniae* και *P. aeruginosa* θεωρούνταν πανανθεκτικά εάν εμφάνιζαν αντοχή σε όλες τις ομάδες αντιβιοτικών που χρησιμοποιούνταν για εμπειρική θεραπεία.

Αποτελέσματα: Βρέθηκαν 21 ασθενείς με λοίμωξη από 23 πανανθεκτικά gram-αρνητικά βακτήρια. Η μέση τιμή APACHE II score ήταν 18.8, η μέση τιμή δείκτη συννοσηροτήτων Charlson ήταν 2.9 και 20 (95.2%) ασθενείς είχαν ιστορικό νοσηλείας στη ΜΕΘ. Όλοι οι ασθενείς είχαν πρόσφατη λήψη πολλαπλών αντιβιοτικών (διάμεσος 6 ομάδες αντιβιοτικών). Οι λοιμώξεις εμφανίστηκαν 41.5 ημέρες (μέση τιμή) μετά την εισαγωγή στο νοσοκομείο. Η μέση διάρκεια νοσηλείας μετά τη λοίμωξη ήταν 54.6 ημέρες και 5 ασθενείς (23.8%) απεβίωσαν λόγω της λοίμωξης. Η θεραπεία των λοιμώξεων βασιζόταν κυρίως σε σχήματα που περιείχαν κολιστίνη (47.6%) ή τιγκεκυκλίνη (33.3%). Παρόλο που είχαν παρόμοια κλινικά και δημογραφικά χαρακτηριστικά με τους υπόλοιπους ασθενείς, οι 7 ασθενείς που έλαβαν τιγκεκυκλίνη ιάθηκαν και είχαν στατιστικά σημαντικά μικρότερη διάρκεια νοσηλείας μετά τη λοίμωξη.

Συμπεράσματα: ασθενείς με λοίμωξη από πανανθεκτικά gram-αρνητικά βακτήρια χαρακτηρίζονται από πολλαπλές και σοβαρές συννοσηρότητες, μακρά νοσηλεία και προηγούμενη έκθεση σε πολλαπλά αντιβιοτικά και παρεμβάσεις. Υπάρχει σημαντική παράταση της νοσηλείας μετά τη λοίμωξη, αλλά η θνητότητα δεν είναι όσο υψηλή θα αναμενόταν. Η χορήγηση τιγκεκυκλίνης σχετίστηκε με ίαση και με χαμηλότερη διάρκεια νοσηλείας, όμως χρειάζεται προσοχή στη χρήση της για τη διατήρηση του αντιβιοτικού αυτού σαν επιλογή σε λοιμώξεις από πανανθεκτικά στελέχη.

Μελέτη 3: Εξέλιξη της πολυαντοχής σε στελέχη *Klebsiella pneumoniae* στα νοσοκομεία της Κρήτης

Εισαγωγή: Η *Klebsiella pneumoniae* τύπου ST258 που παράγει την καρβαπενεμάση KPC-2 μεταδίδεται ταχέως και συχνά σχετίζεται με σοβαρές νοσοκομειακές λοιμώξεις, με αποτέλεσμα ως μοναδικές θεραπευτικές επιλογές να παραμένουν τελευταίας γραμμής αντιβιοτικά, όπως κολιστίνη και τιγκεκυκλίνη.

Σκοπός: Η περιγραφή της γονιδιακής βάσης επίκτητης αντοχής σε στελέχη *K. pneumoniae* ανθεκτικά στις καρβαπενέμες και η μελέτη της εξέλιξής τους στο χρόνο, στα νοσοκομεία της Κρήτης.

Μέθοδοι: Συλλέχθηκαν 34 στελέχη *K. pneumoniae* με αντοχή στις καρβαπενέμες από ασθενείς νοσηλευόμενους σε 3 νοσοκομεία της Κρήτης (ΠαΓΝΗ, Βενιζέλιο Γενικό Νοσοκομείο Ηρακλείου, Γενικό Νοσοκομείο Ρεθύμνου) τις περιόδους 2010 και 2013/14. Πραγματοποιήθηκε φαινοτυπική ανάλυση, ταυτοποίηση στελεχών και ανάλυση γονιδιώματος (whole genome sequencing) για ανίχνευση μηχανισμών επίκτητης αντοχής. Επίσης έγινε σύγκριση των ποσοστών αντοχής και της εξέλιξης του γονιδιώματος στις δύο χρονικές περιόδους.

Αποτελέσματα: Το 2013/14, βρέθηκαν 6/23 στελέχη ανθεκτικά σε όλα τα αντιβιοτικά που ελέγχθηκαν. Όλα τα στελέχη KPC-KP ήταν θετικά για παραγωγή της καρβαπενεμάσης KPC-2 που θεωρείται ενδημική στον ελληνικό χώρο. Όλα τα στελέχη πλην ενός ανήκαν στον τύπο ST258. Σημαντικά υψηλότερα ποσοστά αντοχής στην κολιστίνη και τιγκεκυκλίνη ανιχνεύθηκαν την περίοδο 2013/14 σε σχέση με το 2010. Η αντοχή στην κολιστίνη σχετίζεται με μεταλλάξεις στο γονίδιο *mgrB*, ενώ η αντοχή στην τιγκεκυκλίνη σχετίζεται με μεταλλάξεις στο γονίδιο *ramR* ή με απουσία γονιδίων του οπερονίου *RamRA*. Αναγνωρίστηκαν πολλαπλά γονίδια επίκτητης αντοχής σε διάφορα αντιβιοτικά και μεταλλάξεις, τα οποία καταδεικνύουν υψηλή δυναμική μεταδοτικότητας.

Συμπεράσματα: Η παρούσα μελέτη είναι μία αναφορά των γενετικών καθοριστών επίκτητης αντοχής σε β-λακταμικά και μη-λακταμικά αντιβιοτικά σε ανθεκτικά στις καρβαπενέμες *K. pneumoniae* σε 3 νοσοκομεία της Κρήτης. Περιγράφονται οι μοριακοί μηχανισμοί πίσω από τις αντοχές αυτές καθώς και η εμφάνιση πανανθεκτικών στελεχών. Η εξέλιξη της αντοχής μεταξύ των 2 περιόδων που μελετήθηκαν δείχνει την ταχύτητα με την οποία πολλαπλασιάζονται οι μηχανισμοί αντοχής σε ένα στέλεχος. Η ανάλυση με core genome-MLST θα μπορούσε στο μέλλον να χρησιμοποιηθεί σαν εργαλείο ταχείας αναγνώρισης μοριακών δεικτών της KPC-KP ST258. Επιπλέον, καθίσταται προφανής η ανάγκη εφαρμογής παρεμβάσεων για την αποτροπή της περαιτέρω μετάδοσης του φαινότυπου αυτού, που κρύβει σοβαρές επιπτώσεις στο σύστημα υγείας.

Μελέτη 4: Εφαρμογή διεθνών οδηγιών για τον έλεγχο μίας νοσοκομειακής επιδημίας από πολυανθεκτικά μικρόβια: Το παράδειγμα της επιδημίας από πανανθεκτικό *Acinetobacter baumannii*

Εισαγωγή: Η εμφάνιση και μετάδοση πανανθεκτικών βακτηρίων στο νοσοκομειακό χώρο θα είχε σοβαρές επιπτώσεις τόσο στο σύστημα υγείας, όσο και στην αντιμετώπιση και έκβαση των ασθενών.

Σκοπός: Η μελέτη αυτή παρουσιάζει την αποτελεσματικότητα της εφαρμογής δέσμης μέτρων που εφαρμόστηκαν για τον περιορισμό μίας επιδημίας από πανανθεκτικό *A. baumannii* (PDR-AB) στο τριτοβάθμιο Βενιζέλιο Γενικό Νοσοκομείο, ενώ περιγράφονται οι μικροβιολογικοί, μοριακοί και κλινικοί χαρακτήρες του επιδημικού στελέχους.

Μέθοδοι: Βάσει των παρεμβάσεων που εφαρμόστηκαν, η επιδημία εξελίχθηκε σε 3 φάσεις από το Φεβρουάριο μέχρι τον Οκτώβριο 2014. Πραγματοποιήθηκε μοριακή και γονιδιακή ανάλυση του υπεύθυνου για την επιδημία στελέχους, ενώ παράλληλα καταγράφηκαν τα

κλινικά χαρακτηριστικά και η έκβαση των λοιμώξεων. Παρά τα αρχικά μέτρα που αφορούσαν σε ενίσχυση της υγιεινής χειρών και εκπαίδευση, η επιδημία συνεχίστηκε, με αποτέλεσμα να κριθεί αναγκαία η εφαρμογή πλέον μίας δέσμης μέτρων ελέγχου και πρόληψης λοιμώξεων, σύμφωνα με τις πρόσφατα δημοσιευμένες οδηγίες της European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID). Οι παρεμβάσεις αυτές περιλάμβαναν: ενίσχυση της υγιεινής χειρών, απομόνωση επαφής ασθενών, έλεγχο (screening) ασθενών και περιβάλλοντος για αποικισμό από PDR-AB, πλύσιμο ασθενών με χλωρεξιδίνη, σηματοδότηση ασθενών για έγκαιρη αναγνώριση, προληπτική (pre-emptive) απομόνωση επαφής ασθενών στη ΜΕΘ, συνεχή και υποχρεωτική εκπαίδευση προσωπικού σε θέματα ελέγχου λοιμώξεων, εντατικό περιβαλλοντικό καθαρισμό και τροποποίηση υποδομών.

Αποτελέσματα: Συνολικά κατά την 9-μηνιαία διάρκεια της επιδημίας, απομονώθηκε PDR-AB σε 39 ασθενείς, εκ των οποίων οι 22 ήταν στη ΜΕΘ. Η ανάλυση με Rep-PCR έδειξε ότι η επιδημία οφειλόταν σε κλωνική διασπορά. Πλήρης γονιδιακή ανάλυση αποκάλυψε τη γονιδιακή βάση της αντοχής του υπεύθυνου στελέχους. Η αντοχή στις καρβαπενέμες οφειλόταν στο ενδογενές *bla*_{OXA-66} και στο επίκτητο *bla*_{OXA-23}. Ο περιορισμός της επιδημίας ήταν επιτυχής μόνο όταν εφαρμόστηκε πλήρως όλη η δέσμη παρεμβάσεων. Η θνητότητα στις λοιμώξεις από PDR-AB έφτασε το 57.1%.

Συμπεράσματα: Η μελέτη αυτή ανέδειξε τη σημασία της εφαρμογής δέσμης παρεμβάσεων βάσει διεθνών συστάσεων στον περιορισμό της επιδημίας από PDR-AB.

Extended summary

Study 1: Antimicrobial resistance and antibiotic consumption in the University Hospital of Heraklion

Objective: to study the most common isolates, their main resistance patterns, the consumption of antibiotics, as well as related timely trends in the university hospital of Heraklion.

Methods: During a 15-month period (January 2009 through March 2010), microorganisms isolated in the hospital per sample and their respective resistance patterns were recorded on a daily basis. Aggregate data concerning antibiotic consumption were analyzed for two different time periods, 2004-06 and 2008-09. Antibiotic consumption was classified according to the J01 group of the Anatomical Therapeutic Chemical 2006 of the World Health Organization. Results were compared to other studies from the literature.

Results: 6364 non duplicate isolates were recorded and 4705 (73.9%) were nosocomial, of which 39.1% were isolated in medical departments, 26.6% in surgical departments, 17.8% in the ICU and 16.5% in pediatric departments. The most commonly isolated microorganisms were coagulase-negative staphylococci (CNS, 18.4% of total), *E. coli* (16.0%), *Enterococcus* spp (11.1%), *K. pneumoniae* (8.5%) and *P. aeruginosa* (7.4%). CNS were the most common microorganisms in blood cultures (46.6% of positive blood cultures), *E. coli* was the most common microorganism cultured from urine (54.4%), and from the lower respiratory tract the most common isolates were *A. baumannii* (19.9%), *P. aeruginosa* (13.5%), *K. pneumoniae* (11.1%) and *S. aureus* (10.6%). Compared to previous years, most resistance rates were similar or decreasing, with the exclusion of *K. pneumoniae* isolates which presented a clear increase in resistance to all tested antibiotics (56.7% production of ESBL, 42.2% resistance to imipenem, 51.7% to fluoroquinolones, 7.1% to colistin). Increasing resistance to fluoroquinolones was also observed among *E. coli* isolates, whereas *A. baumannii* were overall resistant to carbapenems (82.9%), with isolates from the ICU, Internal Medicine, Hematology, Nephrology and Neurosurgery departments being increasingly resistant compared to previous years. Resistance patterns of *P. aeruginosa* were steady compared to previous years (19.8% to imipenem, 12.4% to fluoroquinolones, 7.2% to gentamicin) and similar to rates presented in the literature. Resistance rates of gram-positive microorganisms, particularly vancomycin-resistant enterococci (5%), methicillin-resistant *S. aureus* (39.1%) and methicillin-resistant CNS (66.1%), were lower in 2009 compared to previous years and were also similar or lower than rates reported in the literature. In the ICU, the most common blood isolates were CNS (isolated in 53.7% of blood cultures), while *A. baumannii* (25.6%) and *K. pneumoniae* (13.2%) prevailed in lower respiratory tract samples. High resistance rates were observed among *K. pneumoniae* and *A. baumannii* isolates, whereas resistance rates of staphylococci, enterococci, *E. coli* and *P. aeruginosa* were similar or lower compared to the literature.

Concerning antibiotic consumption, cephalosporins were the most commonly prescribed antibiotics in the hospital (20% of total consumption), followed by fluoroquinolones (15%) and b-lactam/inhibitor combinations (13%). Total antibiotic consumption had a 73% increase in 2009 compared to 1998 and mainly involved extended spectrum antibiotic groups. Compared to most studies, there is similar or lower consumption of b-lactams, but a significantly higher consumption of cephalosporins, carbapenems and new antibiotics such as macrolides, fluoroquinolones, glycopeptides, linezolid, polymyxins, daptomycin and tigecycline. Total antibiotic consumption in the ICU was significantly higher compared to the hospital overall and the literature.

Conclusions: this study highlights the most important areas for improvement: high resistance rates among the most commonly isolated gram-negative microorganisms and

an increasing consumption of extended spectrum and of novel, last resort antibiotics, accompanied by a decrease in consumption of narrow-spectrum antibiotics. In the ICU, enhancement of infection control interventions, as well as antimicrobial stewardship are required due to high resistance rates among *K. pneumoniae* and *A. baumannii* isolates and increased antibiotic consumption.

Study 2: Infections by pandrug-resistant gram-negative bacteria: clinical profile, therapeutic management, and outcome in a series of 21 patients

Objective: to describe and analyze the clinical characteristics, therapeutic management and outcome of infections due to pandrug-resistant (PDR) gram-negative bacteria which occurred over a 2-year period in the University Hospital of Heraklion.

Methods: observational case series study of infections due to PDR gram-negative bacteria from April 2006 through April 2008 in the university hospital of Heraklion. Isolated *A. baumannii*, *K. pneumoniae* and *P. aeruginosa* strains were considered PDR if they were resistant to all classes of antibiotics used for empirical treatment.

Results: A total of 21 patients infected by 23 PDR gram-negative bacteria were recorded. The mean APACHE II score on admission was 18.8, the mean Charlson comorbidity index was 2.9, and 20 (95.2%) patients had previous ICU hospitalization. All patients had recent exposure to multiple antibiotics (median, 6 antibiotic groups). Infections occurred on a mean of 41.5 days after admission. The mean length of stay after infection was 54.6 days and 5 (23.8%) patients died due to the infection. Treatment was mainly based on a colistin-containing regimen (47.6%) or tigecycline (33.3%). Although clinical and demographic characteristics were similar between the two groups, all 7 patients treated with tigecycline had total resolution of the infection and a significantly shorter length of hospital stay after infection.

Conclusions: patients who suffered an infection by a PDR gram-negative organism were characterized by severe underlying diseases, significant comorbidity, long hospital stay and previous exposure to multiple antimicrobials and invasive devices. The prolongation of hospitalization after PDR infection was notable, but mortality was not as high as expected. Administration of tigecycline was associated with successful treatment and decreased length of hospital stay. Prudent use of tigecycline is needed to preserve it as an option for successful treatment of infections caused by PDR microorganisms.

Study 3: Evolution of multidrug resistance in *Klebsiella pneumoniae* isolates in hospitals of Crete

Background: KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* sequence type (ST)-258 has been rapidly expanding and is often associated with serious infectious carrying a high mortality, necessitating the use of last-line antibiotics including colistin and tigecycline.

Objective: To describe the genetic determinants of acquired resistance in carbapenem-resistant *K. pneumoniae* isolates and to assess the evolution of resistance through time, in hospitals of Crete.

Methods: Randomly selected, single-patient carbapenem-resistant *K. pneumoniae* strains recovered during 2 periods, 2010 and 2013/14, in three hospitals of Crete (University Hospital of Heraklion, Venizelio General Hospital and General Hospital Rethymnon) were collected and analyzed. Phenotypic, molecular and whole genome analysis were performed, in order to define the molecular mechanisms of acquired resistance. Furthermore, resistance patterns between the 2 time periods were compared.

Results: Among 34 collected strains (11 in 2010 and 23 in 2013/14), six were panresistant in 2013/14. All KPC-KP isolates produced the KPC-2 carbapenemase which is considered endemic in Greece. All isolates but one belonged to ST258. Notable higher resistance rates to colistin and tigecycline were detected in 2013/14 compared to 2010. Resistance to colistin is associated with mutations in mgrB, while resistance to tigecycline is associated to ramR or to absence of the RamRA operon. A high diversity of multiple resistance genes that were detected, indicate complex transmission dynamics.

Conclusions: This study reports the genetic determinants of antibiotic resistance to beta-lactam and non-beta-lactam antibiotics among clinical isolates of *K. pneumoniae* from hospitals of Crete. Molecular resistance mechanisms as well as the emergence of pan-resistant strains are described. Comparison between 2 time periods showed that the outbreak strain evolves and disseminates rapidly. In addition, core genome-MLST is shown as a promising tool for molecular fingerprinting of KPC-KP ST258. Interventions are needed to withstand further transmission of this phenotype, which holds grave implications for the healthcare system.

Study 4: Application of international guidelines for the control of a nosocomial outbreak: The example of an outbreak due to pandrug resistant *Acinetobacter baumannii*

Background: The emergence and spread of pandrug-resistant (PDR) pathogens in hospitals is of great concern, with severe potential consequences for the healthcare system and patient outcomes.

Objective: This study reports the effectiveness of a bundle of interventions applied for the management of an outbreak due to PDR *A. baumannii* (PDR-AB) in a tertiary-care hospital in Crete. The microbiological, molecular and clinical characteristics of the epidemic strain are also described.

Methods: The outbreak evolved in 3 phases from February through October 2014, according to applied interventions. Molecular and genomic analysis of the outbreak strains was performed, and clinical characteristics of patients were retrospectively retrieved. As PDR-AB spread continued despite initial measures, a bundle of interventions according to ESCMID recommendations was applied. These included enhanced hand hygiene, patient isolation, environmental and patient screening cultures, chlorhexidine bathing, alert codes, pre-emptive contact precautions in the ICU, continuous staff education, thorough environmental cleaning, and structural modifications.

Results: PDR-AB was identified in 39 patients, of which 22 were in the ICU. Rep-PCR analysis revealed that the outbreak was due to clonal dissemination. Full genome sequencing revealed the antimicrobial resistance gene content. Carbapenem-resistance was correlated with an intrinsic *bla*_{OXA-66} copy and the acquired *bla*_{OXA-23} gene. The outbreak was contained only after implementation of the extensive bundle of interventions. Mortality among the PDR-AB infected patients was 57.1%.

Conclusions: This study illustrates that only the application of an extensive bundle of measures according to international recommendations enabled containment of the PDR-AB outbreak.

Γενικό Μέρος

1. Η κλινική σημασία της πολυαντοχής των βακτηριδίων

Η εισαγωγή και χρήση των αντιβιοτικών στην κλινική πράξη βοήθησε στην ταχεία μείωση της νοσηρότητας και θνητότητας από λοιμώδη νοσήματα. Ωστόσο η διάδοση ανθεκτικών βακτηριακών στελεχών σταδιακά απειλεί την αποτελεσματικότητα της αντιμικροβιακής θεραπείας. Μετά από έλεγχο για συγχυτικούς παράγοντες (confounders), οι λοιμώξεις από πολυανθεκτικά βακτήρια σχετίζονται με χειρότερες εκβάσεις [Rottier 2012]. Αυτό μπορεί να οφείλεται σε διάφορα αίτια: συνύπαρξη γονιδίων αντοχής και αυξημένης λοιμογονικότητας (αν και σπάνια), καθυστέρηση χορήγησης κατάλληλης αγωγής (λόγω της αυξημένης πιθανότητας ύπαρξης αντοχής στην εμπειρική αγωγή), μειωμένη δραστικότητα ή αυξημένη τοξικότητα αντιβιοτικών δεύτερης γραμμής.

Η εμφάνιση πολυανθεκτικών μικροβίων σε ένα νοσοκομείο σχετίζεται άμεσα με την εμφάνιση νοσοκομειακών λοιμώξεων. Οι νοσοκομειακές λοιμώξεις είναι σημαντικό αίτιο νοσηρότητας και θνητότητας των νοσηλευόμενων ασθενών. Αφορούν κυρίως σε ευπαθείς ομάδες ασθενών, όπως άτομα με χρόνια νοσήματα, που έχουν υποστεί πρόσφατα χειρουργεία ή ιατρικές παρεμβάσεις όπως καθετηριασμούς, νοσηλευόμενους σε χώρους με αυξημένη επίπτωση λοιμώξεων (π.χ. Μονάδες Εντατικής Θεραπείας), ηλικιωμένους και ανοσοκατεσταλμένους (καρκινοπαθείς, άτομα υπό ανοσοκατασταλτική αγωγή, ουδετεροπενικοί) [Blot 2007, Goossens 2005, Gravel 2007, NNIS 2003].

Στις ΗΠΑ, στην προσπάθεια διατήρησης υψηλού δείκτη υποψίας και με τελικό στόχο την ενίσχυση του ενδιαφέροντος για προώθηση της φαρμακευτικής έρευνας στη δημιουργία νέων αντιβιοτικών, έχει τονισθεί από επίσημους οργανισμούς το θέμα της αυξανόμενης επίπτωσης αντοχής διάφορων νοσοκομειακών παθογόνων και συγκεκριμένα της λεγόμενης ομάδας ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp) [Boucher 2009].

1.1. Παθογένεια λοιμώξεων από ανθεκτικά μικρόβια

Η κλασική αλληλουχία γεγονότων που ακολουθείται για να αποικισθεί ένα άτομο και, στη συνέχεια, να εμφανίσει λοίμωξη από ένα πολυανθεκτικό παθογόνο είναι η εξής [Ramirez 2006]:

- Αρχικά ένα ανθεκτικό παθογόνο που ήδη υπάρχει στο νοσοκομειακό περιβάλλον, γίνεται μέρος της μικροβιακής χλωρίδας του ασθενούς λόγω ανεπαρκών μέτρων ασηψίας.
- Στη συνέχεια το ανθεκτικό στέλεχος επικρατεί σε βάρος των υπόλοιπων, συνήθως λόγω πίεσης επιλογής που προκύπτει από τη χορήγηση ακατάλληλης αντιβιοτικής αγωγής, η οποία δηλαδή δεν είναι αποτελεσματική κατά των ανθεκτικών στελεχών.
- Αργότερα το ανθεκτικό μικρόβιο εισέρχεται σε στείρο υλικό του οργανισμού, ή σε ευπαθή ιστό, είτε από μόνο του είτε λόγω παρεμβατικών τεχνικών. Τέτοια παραδείγματα είναι η μεταφορά του ανθεκτικού στη μεθικιλίνη χρυσίζοντος σταφυλόκοκκου (MRSA) από το ρινοφάρυγγα στο κατώτερο αναπνευστικό μετά από βρογχοσκόπηση και η μεταφορά του ανθεκτικού στη βανκομυκίνη εντερόκοκκου (VRE) από το γαστρεντερικό σωλήνα στο ουροποιητικό σύστημα μετά από εισαγωγή ουροκαθετήρα.
- Τέλος η λοίμωξη από το ανθεκτικό μικρόβιο εγκαθίσταται. Στο σημείο αυτό και μέχρι να γνωστοποιηθεί ο υπεύθυνος μικροοργανισμός από την καλλιέργεια, χορηγείται εμπειρική αγωγή, συχνά ακατάλληλη και αναποτελεσματική, γεγονός που συμβάλλει στην καθυστέρηση της χορήγησης κατάλληλης αντιβίωσης,

αυξάνοντας έτσι την πιθανότητα αρνητικής έκβασης της λοίμωξης και κατ'επέκτασιν οδηγώντας σε αυξημένη νοσηρότητα και/ή θνητότητα.

Οι κυριότεροι μηχανισμοί αντοχής που αναπτύσσει ένα παθογόνο έναντι των αντιβιοτικών είναι: παραγωγή ενζύμων αδρανοποίησης (π.χ. β-λακταμάσες), προαγωγή μηχανισμών αδιαβατότητας (π.χ. αδιαβατότητα μεμβρανικών πορινών), ενεργοποίηση αντλίας αποβολής (efflux) και αλλοίωση του σημείου-στόχου (π.χ. δεσμευτικές πρωτεΐνες των πενικιλινών – PBPs, τροποποίηση της αλληλουχίας D-ala-D-ala για αντοχή στη βανκομυκίνη, τροποποίηση τοποϊσομερασών για αντοχή στις κινολόνες) [Giamarellou 2006].

1.2. Παράγοντες που επηρεάζουν τη μετάδοση ανθεκτικών μικροοργανισμών

Από τη στιγμή που θα εμφανισθεί ένας ανθεκτικός μικροοργανισμός σε ένα χώρο, η παραμονή και η μετάδοσή του εξαρτώνται από διάφορους παράγοντες:

- Ποσοστό ευάλωτων ασθενών: οι ασθενείς με αυξημένο κίνδυνο αποικισμού ή/και λοίμωξης από ανθεκτικά παθογόνα είναι αυτοί με βαρύτερη νόσο, ειδικά με ανοσοκαταστολή, με πρόσφατα χειρουργεία και παρεμβατικές πράξεις (όπως ουροκαθετήρες, μηχανικός αερισμός, κεντρικοί αγγειακοί καθετήρες). Οι ασθενείς που νοσηλεύονται στη ΜΕΘ έχουν περισσότερους παράγοντες κινδύνου από ασθενείς άλλων τμημάτων και γι'αυτό έχουν και υψηλότερα ποσοστά λοίμωξης [Siegel 2007].
- Πίεση επιλογής από τη χρήση αντιβιοτικών.
- Πίεση αποικισμού (colonization pressure) που αντανακλά το ποσοστό των ασθενών που είναι ήδη αποικισμένοι με ένα ανθεκτικό στέλεχος, και η οποία έχει άμεση συσχέτιση με την ευκολία περαιτέρω αποικισμού νέων ασθενών [Merrer 2000, Bonten 1998].
- Ο βαθμός επίδρασης και το ποσοστό συμμόρφωσης σε πρακτικές πρόληψης: υπάρχει πληθώρα δεδομένων που υποστηρίζουν τη μετάδοση ανθεκτικών μικροοργανισμών με τα χέρια των επαγγελματιών υγείας. Τα χέρια επιμολύνονται άμεσα και εύκολα μετά από άμεση επαφή με τον ασθενή ή μέσω επαφής με το άμεσο περιβάλλον του (κρεβάτι, κομοδίνο, κλινοσκεπάσματα). Για το λόγο αυτό τα μέτρα πρόληψης μετάδοσης λοιμώξεων και ανθεκτικών μικροβίων, πρέπει κατά πρώτο λόγο να στοχεύουν στην ορθή υγιεινή των χεριών και χρήση γαντιών όπου ενδείκνυται [CDC 2002, WHO 2009].
- Η τακτική διακίνηση αποικισμένων ασθενών μεταξύ νοσηλευτικών ιδρυμάτων, και ειδικά ιδρυμάτων χρόνιας θεραπείας και αποκατάστασης (γνωστά ως long-term care facilities) [Siegel 2007].

Οδηγίες ελέγχου των πολυανθεκτικών μικροοργανισμών σε χώρους παροχής υγείας έχουν δημοσιευθεί από επίσημους φορείς των ΗΠΑ [Siegel 2007, Tacconelli 2014].

1.3. Αντοχές των νοσοκομειακών παθογόνων

Gram-θετικά

Τα συχνότερα gram-θετικά νοσοκομειακά παθογόνα είναι οι σταφυλόκοκκοι και οι εντερόκοκκοι. Από τους σταφυλοκόκκους συχνότεροι είναι ο χρυσίζων (*S. aureus*) και ο *S. epidermidis* [Vincent 2000, Rupp 2004, Giamarellou 2006, Rice 2006].

Οι χρυσίζοντες σταφυλόκοκκοι είναι οι συχνότεροι παθογόνοι μικροοργανισμοί στις ΜΕΘ στην Ευρώπη (περίπου 30% του συνόλου των λοιμώξεων), εκ των οποίων 60% είναι

ανθεκτικοί στη μεθικιλίνη (MRSA) [Vincent 2000]. Ο *S. aureus* συναντάται στην κοινότητα κυρίως σε λοιμώξεις του αναπνευστικού, του δέρματος και των μαλακών μορίων. Επίσης είναι μέρος της φυσιολογικής χλωρίδας του δέρματος και των ρωθώνων [Rice 2006]. Ο *S. epidermidis*, αν και δίνει πολλά ψευδώς θετικά αποτελέσματα καλλιεργειών, κυρίως σε αιμοκαλλιέργειες (έως 2-3% των αιμοκαλλιεργειών), θεωρείται σημαντικό αίτιο νοσοκομειακών βακτηριαμιών [Rupp 2005]. Η πιο συχνά μελετούμενη αντοχή είναι του σταφυλόκοκκου έναντι των β-λακταμών, που θεωρούνται αντιβιοτικά πρώτης επιλογής (συγκεκριμένα η κλασική πενικιλίνη και αργότερα οι αντισταφυλοκοκκικές μεθικιλίνη και οξακιλλίνη). Ο πρώτος ανθεκτικός στη μεθικιλίνη σταφυλόκοκκος απομονώθηκε το 1961, δύο χρόνια μετά την εισαγωγή της μεθικιλίνης στο εμπόριο [Rice 2006]. Από τότε ο MRSA έχει διαδοθεί τόσο στο νοσοκομειακό χώρο όσο και στην κοινότητα, κάτι που οδήγησε στην ευρεία χρήση των γλυκοπεπτιδίων (βανκομυκίνη και τεϊκοπλανίνη). Παρόλο που ο MRSA, ειδικά της κοινότητας, είναι ευαίσθητος σε άλλα αντιβιοτικά, συχνά - και ιδιαίτερα ο νοσοκομειακός MRSA - παρουσιάζει πολλαπλές αντοχές, όπως σε κινολόνες, αμινογλυκοσίδες, ριφαμπικίνη, τετρακυκλίνη και μακρολίδες [Rice 2006]. Το 1997 εντοπίστηκε ο πρώτος *S. aureus* με ενδιάμεση ευαισθησία στη βανκομυκίνη (vancomycin intermediate-resistant *S. aureus* - VISA) και το 2002 ο πρώτος ανθεκτικός στη βανκομυκίνη (VRSA) [CDC 2004, Hancock 2005].

Ο εντερόκοκκος προκαλεί συχνότερα λοιμώξεις στο νοσοκομειακό χώρο, κυρίως βακτηριαμίες και ουρολοιμώξεις, ενώ στην κοινότητα δεν απαντάται τόσο συχνά. Λόγω χαμηλότερης λοιμογόνου δύναμης, για να καταστεί αποικιστής από παθογόνο, χρειάζεται να εκπέσει η ανοσολογική ικανότητα του ασθενούς [Rupp 2005]. Αυτός είναι και ένας σημαντικός λόγος που καθιστά αναγκαία τη γνώση της επιδημιολογίας του στο νοσοκομείο, ώστε να προληφθεί αφ' ενός η περαιτέρω ενδονοσοκομειακή διασπορά, κυρίως των ανθεκτικών στελεχών, αλλά και η μετάδοσή του στην κοινότητα. Η φυσική του αντοχή σε αρκετούς αντιμικροβιακούς παράγοντες, όπως οι κεφαλοσπορίνες, περιορίζει ακόμα περισσότερο τις θεραπευτικές επιλογές όταν πρόκειται για λοιμώξεις από ανθεκτικά στελέχη [Torres-Viera 2004]. Τα αντιβιοτικά πρώτης επιλογής σε λοιμώξεις από εντεροκόκκους είναι οι πενικιλίνες ευρέως φάσματος και τα γλυκοπεπτιδία. Άλλα διαθέσιμα αντιβιοτικά, κυρίως για ανεπίπλεκτες ουρολοιμώξεις, είναι η νιτροφουραντοΐνη, η φωσφομυκίνη, οι κινολόνες, οι τετρακυκλίνες και η χλωραμφενικόλη. Τα τέσσερα πρώτα εμφάνισαν απογοητευτικά αποτελέσματα σε συστηματικές λοιμώξεις, ενώ η χρήση της χλωραμφενικόλης σχετίζεται με την ανάπτυξη ανθεκτικών στελεχών [Lautenbach 2004].

Οι εντερόκοκκοι φτάνουν το 12% των απομονώσεων στις ΜΕΘ στην Ευρώπη, ενώ στις ΗΠΑ υπολογίζεται ότι το ένα τρίτο περίπου του συνόλου των εντεροκόκκων είναι ανθεκτικοί στη βανκομυκίνη (VRE) [Rice 2006, Torres-Viera 2004, Vincent 2000]. Ο πρώτος VRE εντοπίστηκε το 1986 και έκτοτε οι αναφορές τον καθιστούν παγκόσμιο φαινόμενο και από τα συχνότερα παθογόνα σε νοσοκομειακές λοιμώξεις [CDC 2004, Torres-Viera 2004]. Η πλειοψηφία των VRE είναι *Enterococcus faecium* [Ramirez 2006, Rice 2006]. Πρόκειται για αντοχή μέσω αλλοίωσης του μορίου-στόχου της βανκομυκίνης (από D-αλανίνη-D-αλανίνη σε D-αλανίνη-D-γαλακτικό), που οδηγεί σε αποτυχία της αναστολής της σύνθεσης της βακτηριακής πεπτιδογλυκάνης [Rice 2006]. Έχει αποδειχθεί ότι η αντοχή αυτή μπορεί να μεταβιβασθεί όχι μόνο σε άλλα στελέχη εντεροκόκκων, αλλά και σε σταφυλοκόκκους [Paterson 2006]. Όταν πρωτοεντοπίστηκε, ο VRE ήταν το πρώτο παθογόνο με αντοχή σε όλες τις τότε διαθέσιμες αντιμικροβιακές ουσίες. Πλέον η θεραπευτική φαρέτρα περιλαμβάνει νεότερες επιλογές, όπως λινεζολίδη, δαπτομυκίνη, τιγκεκυκλίνη και κινόπριστίνη/δαλφοπριστίνη [Fiona 2004].

Gram-αρνητικά

Από τα gram-αρνητικά βακτήρια, αυτά που εντοπίζονται συχνότερα με ανθεκτικούς χαρακτήρες είναι το *A. baumannii*, η *P. aeruginosa* και τα gram-αρνητικά εντεροβακτηριοειδή (κυρίως *Escherichia coli*, *K. pneumoniae*, *Enterobacter spp*). Τα δύο πρώτα εμφανίζουν αντοχή στις β-λακτάμες μέσω δύο κύριων μηχανισμών: παραγωγή υδρολυτικών ενζύμων (β-λακταμάσες, κεφαλοσπορινάσες, καρβαπενεμάσες) και αδιαβατότητα του τοιχώματος (μείωση του αριθμού των πορινών του βακτηριακού τοιχώματος) [Fiona 2004]. Οι β-λακταμάσες είναι μεταβιβαζόμενα ένζυμα, γεγονός που διευκολύνει τη μεταβίβαση της αντοχής στο νοσοκομειακό περιβάλλον, μέσω των επιφανειών ή μεταξύ των ασθενών, ιδίως σε χώρους όπου υπάρχει συνωστισμός και περιορισμός των προφυλάξεων επαφής.

Η *P. aeruginosa* συναντάται στο περιβάλλον και σπάνια στη φυσιολογική χλωρίδα του ανθρώπου. Η προτίμηση για σημεία με υγρασία την καθιστά επικίνδυνο αποικιστή σημείων όπως βρογχοσκόπια, βρύσες και υδατικά διαλύματα [Paterson 2006]. Προκαλεί επικίνδυνες για τη ζωή λοιμώξεις κυρίως σε ανοσοκατεσταλμένους και βαρέως πάσχοντες, όπως πνευμονίες σχετιζόμενες με μηχανικό αερισμό (VAP) [Giamarellou 2006, Paterson 2006]. Χαρακτηριστική είναι η ικανότητά της να αναπτύσσει αντοχή σε οποιοδήποτε αντιβιοτικό εκτίθεται. Επιπλέον, πολύ συχνά εμφανίζει έναν ιδιαίτερο τύπο αντοχής, αυτόν της αντλίας αποβολής (efflux pump), μέσω της οποίας αποβάλλει το αντιβιοτικό από τον ενδοκυττάριο χώρο [Fiona 2004, Giamarellou 2006]. Η ταχεία ανάπτυξη αντοχής έχει ως αποτέλεσμα υψηλά ποσοστά θνητότητας, κυρίως λόγω αποτυχίας της εμπειρικής θεραπείας. Στη μελέτη SENTRY σε ΜΕΘ από 20 Πανεπιστημιακά Νοσοκομεία της Ευρώπης τα έτη 2000-2002, φάνηκε ότι η αντοχή της *P.aeruginosa* έναντι κινολονών, αντιψευδομοναδικών κεφαλοσπορινών και καρβαπενεμών, παρέμενε σταθερή και κυμαινόταν στο 25-35% του συνόλου [Goossens 2005]. Παρόμοια ποσοστά ανέφερε και το διεθνές δίκτυο επιτήρησης νοσοκομειακών λοιμώξεων (NNISS) των ΗΠΑ για το 2001, με τη διαφορά ότι είχαν αυξανόμενη τάση από το 1997 [NNIS 2003].

Το *A. baumannii* είναι διαδεδομένο στη φύση και έχει την ικανότητα να επιβιώνει σε υλικά για περισσότερο από 3 μήνες, ενώ μπορεί και να αποτελέσει μέρος της φυσιολογικής ανθρώπινης χλωρίδας [van Looveren 2004, Paterson 2006]. Έτσι απαντάται μεγάλος αριθμός ολιγοκλωνικών μικροεπιδημιών (oligoclonal outbreaks) από *A. baumannii*, κυρίως πνευμονίες σχετιζόμενες με μηχανικό αερισμό (VAP) και βακτηριαμίες [van Looveren 2004]. Έχει ευαισθησία στις καρβαπενέμες, αμινογλυκοσίδες, κινολόνες και πολυμυξίνες. Οι αμινογλυκοσίδες ήταν τα πιο δραστικά αντιμικροβιακά κατά του *A.baumannii*, όμως από το 1970 τα ανθεκτικά στελέχη έχουν αυξηθεί σημαντικά και πλέον αντιβιοτικά πρώτης γραμμής θεωρούνται οι καρβαπενέμες [Goossens 2005]. Ο συνδυασμός της ικανότητας επιβίωσής του στο νοσοκομειακό περιβάλλον με την αυξημένη έκθεσή του σε πολλαπλές ομάδες αντιβιοτικών, το οποίο συμβαίνει κυρίως σε ΜΕΘ, έχει οδηγήσει στην απομόνωση στελεχών με πολλαπλούς μηχανισμούς αντοχής [Goossens 2005]. Οι κυριότεροι μηχανισμοί αντοχής είναι παραγωγή τροποποιητικών ενζύμων (αντοχή σε β-λακτάμες, καρβαπενέμες, αμινογλυκοσίδες), μειωμένη διαβατότητα ή/και μείωση του αριθμού των βακτηριακών πορινών, αλλοίωση μορίου-στόχου (π.χ. της τοποϊσομεράσης IV για αντοχή στις κινολόνες και τροποποίηση της 30S ριβοσωμικής υπομονάδας για αντοχή στις τετρακυκλίνες), τροποποίηση της βακτηριακής μεμβράνης και αντλία αποβολής (efflux pump) [van Looveren 2004].

Οι ευρέως φάσματος β-λακταμάσες (extended spectrum b-lactamases – ESBL) είναι ένζυμα που παράγονται από μεγάλο αριθμό gram-αρνητικών βακτηρίων (συχνότερα *K. pneumoniae*, *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella spp*, *Enterobacter spp*, *Morganella morganii*). Προσδίδουν αντοχή σε όλες τις β-λακτάμες εκτός των καρβαπενεμών και των κεφαμυσινών (κεφοξιτίνη, κετοτετάνη), αλλά επειδή τα περισσότερα στελέχη που

παράγουν ESBL παρουσιάζουν και απώλεια των μεμβρανικών πορινών, θεωρούνται επίσης ανθεκτικά στις κεφαμυσίνες. Η πρώτη απομόνωση ESBL ήταν το 1983 στη Γερμανία σε στέλεχος *K. pneumoniae* και έκτοτε έχουν απομονωθεί περισσότερα από 280 διαφορετικά ένζυμα, με συχνότερα αυτά των κατηγοριών TEM, SHV και CTX-M [Giamarellou 2006, Goossens 2005]. Επειδή η αντοχή αυτή είναι πλασμιδιακή, είναι εύκολο να μεταδοθεί κυρίως στο νοσοκομειακό περιβάλλον. Γενικά η πλασμιδιακή αντοχή στις β-λακτάμες μέσω των ESBL έχει εξαπλωθεί παγκοσμίως, με υψηλά ποσοστά παραγωγής από *K. pneumoniae* να αναφέρονται στη Νότια και Ανατολική Ευρώπη και Νότια Αμερική, και χαμηλότερα ποσοστά στη Βόρεια Ευρώπη και Βόρειο Αμερική [Giamarellou 2006].

Έχει φανεί στη βιβλιογραφία ότι το πρόβλημα της επιλογής, επικράτησης και εξάπλωσης των κυρίαρχων ESBL πλασμιδιακών κλώνων μπορεί να περιοριστεί με τη μείωση της χρήσης ευρέως φάσματος κεφαλοσπορινών και φθοριοκινολονών. Επιπλέον, η πίεση που ασκείται από τα αντιβιοτικά ευνοεί τη συσσώρευση πολλαπλών γονιδίων αντιμικροβιακής αντοχής πάνω σε κοινά γενετικά στοιχεία, τα οποία μεταδίδονται μεταξύ των μικροβιακών στελεχών, με αποτέλεσμα να ανευρίσκονται πολλαπλοί μηχανισμοί αντοχής στα κυρίαρχα νοσοκομειακά στελέχη. Με τη μείωση της χρήσης αντιβιοτικών, ιδίως αυτών με ευρύ φάσμα, δεν θα μειωθεί μόνο ο αριθμός των φορέων ESBL αλλά και ο βαθμός συσσώρευσης των γονιδίων αυτών [Coque 2008].

Ένας νέος τύπος αντοχής που έχει εμφανισθεί τις τελευταίες 2 δεκαετίες, με ταχεία διάδοση σε παγκόσμιο επίπεδο και κινητοποίηση διαφόρων φορέων ελέγχου λοιμώξεων, συμπεριλαμβανομένων ΗΠΑ και χωρών της Ασίας, είναι η αντοχή στις καρβαπενέμες. Τα πρώτα στελέχη εξέφραζαν αντοχή με διάφορους μηχανισμούς, όπως απώλεια ή αλλαγή της δομής των πρωτεϊνών-στόχων και παραγωγή υδρολυτικών ενζύμων [MacKenzie 1997]. Στη συνέχεια απομονώθηκαν στελέχη που παρήγαγαν καρβαπενεμάσες, ένζυμα που υδρολύουν ειδικά τις καρβαπενέμες: κάποια ένζυμα τις υδρολύουν ταχέως, ενώ άλλα είναι πιο αδύναμα. Μερικά ένζυμα είναι ευαίσθητα σε αναστολές β-λακταμασών, ενώ άλλα είναι ανθεκτικά [Nordmann 2014].

Όσον αφορά στην μοριακή κατηγοριοποίησή τους, οι καρβαπενεμάσες ταξινομούνται στις κλάσεις A,B,D κατά Ambler [Ambler 1991]:

- Κλάσης A: οι κλινικά σημαντικότερες καρβαπενεμάσες αυτής της ομάδας είναι οι KPC (*K. pneumoniae* carbapenemases), οι οποίες αναγνωρίζονται κυρίως στην *K. pneumoniae*, και επιφέρουν υψηλού βαθμού αντοχή σε όλες τις β-λακτάμες και κεφαλοσπορίνες. Η πρώτη KPC (σε μία KPC-2-θετική *K. pneumoniae*) απομονώθηκε το 1996 στις ΗΠΑ και έκτοτε έχουν αναγνωρισθεί πολλαπλά ένζυμα της ομάδας, αν και η KPC-2 είναι η επικρατέστερη [Yigit 2001]. Η KPC είναι η κυριότερη καρβαπενεμάση σε στελέχη *K. pneumoniae* σε ΗΠΑ, Ισραήλ, Ελλάδα και Ιταλία.
- Μεταλλο-β-λακταμάσες (MBLs) Κλάσης B: τα ένζυμα αυτά θεωρούνται ενδογενή σε πολλά είδη, αλλά έχουν αναγνωρισθεί ως επίκτητα σε εντεροβακτηριοειδή και *Pseudomonas* από το 1990. Οι πιο κοινές ομάδες είναι οι VIM και IMP, μαζί με τις πρόσφατα αναγνωρισμένες NDM [Walsh 2005]. Παρά την παγκόσμια διασπορά τους, οι VIM συναντώνται συχνά στα εντεροβακτηριοειδή στη Νότια Ευρώπη και Μεσόγειο, με την VIM-2 να είναι η συχνότερα απαντώμενη MBL, ενώ οι IMP είναι κυρίως στην Ασία [Walsh 2005, Nordmann 2014]. Η NDM έχει απασχολήσει τα τελευταία χρόνια τη βιβλιογραφία λόγω της ταχείας διασποράς των στελεχών *E. coli* και *K. pneumoniae* που την παράγουν, από την Ινδική χερσόνησο όπου συναντάται συχνά, μέχρι τη Βόρειο Αμερική και Νότιο Αφρική, με αποτέλεσμα να αναμένονται επιδημίες σε διάφορα γεωγραφικά σημεία της υφηγής [Nordmann 2014].

- Κλάσης D: στη μεγάλη αυτή ομάδα ενζύμων, που επίσης ονομάζονται OXA (οξακιλινάσες), υπάγονται ένζυμα με χαμηλή ικανότητα υδρόλυσης των καρβαπενεμών, ενώ σχεδόν όλα είναι ευαίσθητα στις κεφαλοσπορίνες. Ως αποτέλεσμα, για να εκφρασθεί υψηλού βαθμού αντοχή στις καρβαπενέμες, απαιτείται η παρουσία κι άλλου μηχανισμού αντοχής, όπως μειωμένη διαπερατότητα, [Poirel 2010, Nordmann 2014]. Παρόλο που οι περισσότερες OXA έχουν αναγνωρισθεί στο *Acinetobacter*, η OXA-48 και τα παράγωγά της αναγνωρίζονται στα εντεροβακτηριοειδή. Οι OXA-48 έχουν διασπαρεί σε όλη την Ευρώπη και έχουν σημαντικές εστίες στην Τουρκία, Βόρειο Αφρική και χώρες της Μεσογείου [Nordmann 2014, Schwaber 2008].

Ποια όμως είναι τα βασικότερα χαρακτηριστικά της επιδημιολογίας των καρβαπενεμασών [Nordmann 2014], ο συνδυασμός των οποίων καθορίζει τη μεταδοτικότητά τους:

1. Η εστία μετάδοσης: το πιθανότερο είναι ότι η εμφάνιση και μετάδοσή τους συμβαίνει σε περιοχές με ευνοϊκές συνθήκες: συνωστισμός, πτωχή υγιεινή, πίεση επιλογής λόγω αυξημένης και μη-ορθολογικής χρήσης αντιβιοτικών.
2. Η γενετική βάση των καρβαπενεμασών: ορισμένες γονιδιακές δομές, όπως τρανσποζόνια και πλασμίδια, ευνοούν την οριζόντια μετάδοση γονιδίων. Ορισμένα πλασμίδια ευνοούν τη μετάδοση μεταξύ ειδών, ενώ άλλα έχουν υψηλή ικανότητα σύζευξης.
3. Η πυκνότητα ενός πληθυσμού, όταν έχει εμφανισθεί μία αντοχή: αν για παράδειγμα πρόκειται για κινητό πληθυσμό (πχ. διασπορά με τουρισμό), τότε αυξάνεται η πιθανότητα διασποράς σε άλλες γεωγραφικές περιοχές.

Η αντοχή που προκαλείται από την παραγωγή καρβαπενεμασών είναι ανησυχητική για διάφορους λόγους:

- Η παρουσία των ενζύμων αυτών προσδίδει αντοχή σε ένα από τα τελευταίας γραμμής αντιβιοτικά έναντι των πολυανθεκτικών gram-αρνητικών παθογόνων.
- Η παρουσία της αντοχής αυτής έχει φανεί ότι συνυπάρχει συχνά με αντοχή σε επιπλέον ομάδες αντιβιοτικών, προσδίδοντας έτσι στους μικροοργανισμούς που τις φέρουν, αυξημένα ποσοστά πολυαντοχής.
- Τόσο οι MBL όσο και οι KPC έχουν ενοχοποιηθεί στην επιδημική μετάδοση πολυανθεκτικής *K. pneumoniae*, κυρίως σε χώρους όπως είναι οι ΜΕΘ.
- Η δυνατότητα μετάδοσης των γονιδίων των καρβαπενεμασών μεταξύ ειδών.
- Η δυνατότητα των αυτοματοποιημένων συστημάτων να ανιχνεύουν καρβαπενεμάσες είναι περιορισμένη. Για το λόγο αυτό οι οδηγίες του Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) των ΗΠΑ συνιστούν σε *Enterobacteriaceae* ευαίσθητα στις καρβαπενέμες που εμφανίζουν αυξημένη MIC ή μειωμένη ζώνη διάχυσης, να εφαρμόζεται το τροποποιημένο Hodge test (modified Hodge test) για έλεγχο της παραγωγής καρβαπενεμάσης [CLSI 2009].

Λόγω των ανησυχητικών διαστάσεων που έχει λάβει η αντοχή των εντεροβακτηριακών στις καρβαπενέμες σε παγκόσμια κλίμακα, έχουν εκδοθεί οδηγίες και συστάσεις για τον περιορισμό και έλεγχο του τύπου αυτού της αντοχής σε υγειονομικούς χώρους [CDC 2009, Tacconelli 2014], ενώ ανάλογα εργαλεία είναι άμεσα διαθέσιμα για επαγγελματίες υγείας στο διαδίκτυο (<http://www.cdc.gov/hai/organisms/cre/cre-toolkit/index.html>).

Η εμφάνιση αντοχής σε πολλαπλούς αντιμικροβιακούς παράγοντες έχει σημαντική επιβάρυνση στη δημόσια υγεία, καθώς πλέον οι κλινικοί ιατροί καλούνται να αντιμετωπίσουν λοιμώξεις με όλο και λιγότερα διαθέσιμα αντιβιοτικά. Η ανάδυση της

πολυαντοχής αφορά τόσο στα gram-αρνητικά, όσο και στα gram-θετικά μικρόβια. Τα προηγούμενα χρόνια είχαν εμφανισθεί αρκετοί όροι στη βιβλιογραφία και σε μελέτες επιτήρησης, οι οποίοι βασίζονταν στο εύρος της αντοχής των υπό μελέτη μικροοργανισμών, δηλαδή στον αριθμό των ομάδων αντιβιοτικών στα οποία ήταν ανθεκτικοί. Ωστόσο υπήρχε μεγάλη απόκλιση μεταξύ των ορισμών με αποτέλεσμα να δυσχεραίνεται η σύγκριση σε επίπεδο επιτήρησης [Falagas 2006]. Η ανάγκη σύνταξης ορισμών βασισμένων σε επιδημιολογικά δεδομένα επιτήρησης από το διεθνή χώρο, οδήγησε στη δημοσίευση ενός κειμένου υπό την αιγίδα του Ευρωπαϊκού και του Αμερικανικού Κέντρου Ελέγχου Λοιμώξεων (European Centre for Disease Prevention and Control, ECDC, Centers for Disease Control and Prevention, CDC), στο οποίο προτείνονται συγκεκριμένα κριτήρια για τον καθορισμό **πολυανθεκτικών (multidrug-resistant, MDR)**, **εξαιρετικά ανθεκτικών (extensively drug-resistant, XDR)** και **πανανθεκτικών (pandrug-resistant, PDR)** βακτηρίων [Magiorakos 2012]: ως MDR ορίζεται η επίκτητη πολυαντοχή σε τουλάχιστον ένα αντιβιοτικό από 3 ή περισσότερες κατηγορίες αντιβιοτικών, ως XDR ορίζεται η αντοχή σε τουλάχιστον ένα αντιβιοτικό σε όλες εκτός από 2 κατηγορίες αντιβιοτικές (δηλ.στελέχη ευαίσθητα μόνο σε μία ή δύο κατηγορίες αντιβιοτικών) και ως PDR ορίζεται η αντοχή σε όλους τους αντιμικροβιακούς παράγοντες σε όλες τις κατηγορίες αντιβιοτικών. Για την ορθή διατύπωση των ορισμών αυτών, η ευαισθησία των μικροβίων πρέπει να ελέγχεται για όλες τις κατηγορίες αντιβιοτικών.

1.4. Διαθέσιμα αντιβιοτικά για λοιμώξεις από ανθεκτικούς μικροοργανισμούς

Για την αντιμετώπιση των λοιμώξεων από ανθεκτικά στελέχη έχουν επιστρατευθεί, τόσο γνωστά από ετών αντιβιοτικά των οποίων η χρήση ήταν περιορισμένη (πολυμυξίνες, φωσφομυκίνη), όσο και νεότερα αντιβιοτικά (λινεζολίδη, δαπτομυκίνη, τιγκεκυκλίνη). Ωστόσο, με την αυξανόμενη εμφάνιση ανθεκτικών στελεχών σε όλο και περισσότερα αντιβιοτικά, η διαθεσιμότητα κατάλληλων αντιβιοτικών στο μέλλον προβλέπεται περιορισμένη [Boucher 2009].

Η **λινεζολίδη** παρεμβαίνει στην πρωτεϊνοσύνθεση με ένα νέο μηχανισμό δράσης: μέσω σύνδεσης με το τμήμα 23S της ριβοσωμικής υπομονάδας 50S, παρεμποδίζει τη σύνδεσή της με την υπομονάδα 30S που απαιτείται για τη σύνθεση της υπομονάδας 70S και την έναρξη της πρωτεϊνοσύνθεσης. Ωστόσο, από πολύ νωρίς υπάρχουν αναφορές ανθεκτικών στη λινεζολίδη σταφυλόκοκκων και εντερόκοκκων. Ο πρώτος ανθεκτικός στη λινεζολίδη *S. aureus* εντοπίστηκε το 2001, μόλις 15 μήνες μετά την εισαγωγή του αντιβιοτικού στο εμπόριο, ενώ *in vitro* έχει δημιουργηθεί αντοχή στη λινεζολίδη μέσω σημειακών μεταλλάξεων στο 23S rRNA της 50S ριβοσωμικής υπομονάδας [CDC 2004, Vincent 2000].

Η **δαπτομυκίνη** είναι ένα λιποπεπτίδιο που εγκρίθηκε για χρήση από τον FDA το 2003. Ο τρόπος δράσης δεν έχει πλήρως ξεκαθαρισθεί, αλλά συμβάλλει στη διαταραχή της ηλεκτροχημικής ισορροπίας της κυτταρικής μεμβράνης και πιθανώς παρεμβαίνει στον κυτταρικό μεταβολισμό [Hancock 2005]. Παρόλο που εμφανίζει ταχεία βακτηριοκτονία και ίση αποτελεσματικότητα με άλλα αντισταφυλόκοκκικά αντιβιοτικά και έχει το πλεονέκτημα της μοναδικής ημερήσιας δόσης, έχει δύο σημαντικά μειονεκτήματα: είναι μυτοξική (κίνδυνος ραβδομύλωσης) και δεν είναι αποτελεσματική σε πνευμονίες (αδρανοποιείται από τον επιφανειοδραστικό παράγοντα) [Chambers 2007, Vincent 2000]. Η αντοχή είναι σπάνια και αναπτύσσεται βραδέως, πιθανώς λόγω των πολλαπλών μηχανισμών δράσης που έχει, αν και απαιτείται υψηλός δείκτης υποψίας σε ασθενείς που λαμβάνουν το αντιβιοτικό για μεγάλα διαστήματα [Hancock 2005, Micek 2007, Eliopoulos 2009].

Η **κινόπριστίνη/δαλφοπριστίνη** (Synercid) είναι συνδυασμός δύο αντιβιοτικών που χορηγούνται παρεντερικά και δρουν συνεργειακά στην αρχική και τελική φάση της πρωτεϊνοσύνθεσης. Είναι βακτηριοκτόνα για τα περισσότερα gram-θετικά βακτήρια και για άλλα παθογόνα του αναπνευστικού (π.χ. *Mycoplasma* spp, *Legionella* spp, *Chlamydia* spp). Η αποτελεσματικότητά τους είναι κατώτερη των γλυκοπεπτιδίων έναντι του σταφυλόκοκκου, είναι βακτηριοστατικά κατά του *E. faecium* και αναποτελεσματικά κατά του *E. faecalis*. Η χρήση τους το 1999 εγκρίθηκε από τον FDA σε λοιμώξεις από ανθεκτικούς στα γλυκοπεπτιδία *E. faecium* [Hancock 2005, Vincent 2000]. Οι ανεπιθύμητες ενέργειες όμως είναι συχνές, όπως αρθραλγίες, μυαλγίες και θρομβοφλεβίτιδα [Chambers 2007]. Οι αναφορές ανθεκτικών στελεχών είναι ελάχιστες.

Η αυξημένη επίπτωση νοσοκομειακών λοιμώξεων από πολυανθεκτικά gram-αρνητικά στελέχη έχει επαναφέρει σε κλινική χρήση την κολιστίνη, ένα αντιβιοτικό γνωστό από δεκαετίες, του οποίου αναφορές για νεφροτοξικότητα και νευροτοξικότητα είχαν περιορίσει τη χρήση. Το αντιβιοτικό αυτό ανήκει στην ομάδα των **πολυμυξινών** και δρα μέσω απομάκρυνσης κατιόντων μαγνησίου και ασβεστίου από το μεμβρανικό λιποπολυσακχαρίτη, οδηγώντας σε αποσταθεροποίηση της βακτηριακής μεμβράνης, αύξηση της διαπερατότητας, εκροή του κυτταρικού περιεχομένου και σε βακτηριακό θάνατο. Χρησιμοποιείται ως αντιβιοτικό τελευταίας επιλογής σε λοιμώξεις από gram-αρνητικά, αν και σε χώρους με αυξημένη επίπτωση πολυανθεκτικών στελεχών χορηγείται πλέον εμπειρικά, ή και προφυλακτικά με νεφελοποιητή για πρόληψη νοσοκομειακής πνευμονίας [Conly 2006]. Υπάρχουν αρκετές αναφορές αντοχής στην κολιστίνη, τόσο σε πειραματικά μοντέλα (μετά από έκθεση προηγούμενως ευαίσθητων στελεχών στο αντιβιοτικό) όσο και σε κλινικές σειρές, όπου φαίνεται ότι η προηγούμενη έκθεση στην κολιστίνη είναι σημαντικός παράγοντας κινδύνου για λοίμωξη από ανθεκτικά στελέχη [Conly 2006, Hawley 2008].

Ένα ακόμα παλιό αντιβιοτικό με gram-αρνητική και gram-θετική κάλυψη, του οποίου η χρήση είχε περιορισθεί λόγω αρχικής αδυναμίας αναπαραγωγής in vitro αποτελεσματικότητας, είναι η **φωσφομυκίνη**. Με χρήση σε αρκετές χώρες σε λοιμώξεις μαλακών μορίων, οστεομυελίτιδες, βακτηριαιμίες, ενδοκοιλιακές λοιμώξεις, και έχοντας λάβει στις ΗΠΑ ως μοναδική ένδειξη για χρήση τις λοιμώξεις ουροποιητικού, η φωσφομυκίνη είναι ο μοναδικός εκπρόσωπος μίας ομάδας ευρέως φάσματος αντιμικροβιακών που δρα μέσα στο κυτταρόπλασμα αναστέλλοντας μόνιμα τη σύνθεση του βακτηριακού τοιχώματος σε πρωιμότερο στάδιο από τις β-λακτάμες και τα γλυκοπεπτιδία [Porovic 2010]. Η περιορισμένη έως τώρα χρήση της, την καθιστά αποτελεσματική εναλλακτική επιλογή σε συνδυασμούς για την αντιμετώπιση σοβαρών λοιμώξεων από ανθεκτικά στελέχη MRSA και εντεροβακτηριοειδών με παραγωγή ESBL [Porovic 2010].

Ενώ έχουν διατεθεί στο εμπόριο αρκετοί νέοι αντιμικροβιακοί παράγοντες για λοιμώξεις από πολυανθεκτικά gram-θετικά παθογόνα, δεν ισχύει το ίδιο για το διαθέσιμο θεραπευτικό οπλοστάσιο σε λοιμώξεις από πολυανθεκτικά gram-αρνητικά [Livermore 2007]. Η **τιγκεκυκλίνη** (tigecycline), παράγωγο της γλυκυλκυκλίνης και δομικό ανάλογο των τετρακυκλινών, εγκρίθηκε για χρήση στις ΗΠΑ τον Ιούνιο του 2005 σε λοιμώξεις δέρματος και μαλακών μορίων και σε ενδοκοιλιακές λοιμώξεις [Rice 2006, Eliopoulos 2009]. Έχει ευρύ φάσμα βακτηριοκτόνου δράσης έναντι gram-αρνητικών (εκτός *P. aeruginosa* και *P. mirabilis*), gram-θετικών βακτηρίων και αναεροβίων, μέσω αναστολής της ριβοσωμικής 30S υπομονάδας [Hancock 2005, Livermore 2007]. Η τιγκεκυκλίνη παρουσιάζει πολύ καλή δραστηριότητα έναντι των gram-θετικών βακτηρίων· σε έλεγχο από τον ελλαδικό χώρο ήταν βακτηριοκτόνος στο 100% των στελεχών *E. faecium* (συμπεριλαμβανομένων στελεχών VRE και ανθεκτικών στη λινεζολίδη) και στο 98.9% των MRSA [Tacconelli 2006]. Ωστόσο οι ρυθμοί ανάπτυξης αντοχής υπερτερούν των

ρυθμών σύνθεσης νέων αντιμικροβιακών παραγόντων, άρα χρειάζεται προσοχή στη χρήση της ώστε να παραμείνει δραστική. Τα περισσότερα βακτηριακά στελέχη που εμφανίζουν αντοχή στην κολιστίνη και στις τετρακυκλίνες είναι ευαίσθητα στην τιγκεκυκλίνη, αν και αναφορές επισημαίνουν την απομόνωση ανθεκτικών στελεχών *A. baumannii* και *K. pneumoniae*, και από την Ελλάδα [Navon-Venezia 2007, Souli 2006, Tacconelli 2006].

Πρόσφατα έχουν εγκριθεί για χρήση δύο ακόμα αντιβιοτικά. Η **τελεβανσίνη** (telavancin) είναι ένα ημισυνθετικό παράγωγο της βανκομυκίνης, με διπλό μηχανισμό δράσης: αναστολή της σύνθεσης του κυτταρικού τοιχώματος και διαταραχή της δομής της κυτταρικής μεμβράνης [Micek 2007]. Τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες δείχνουν αντίστοιχη αποτελεσματικότητα με τη βανκομυκίνη σε επιπλεγμένες λοιμώξεις μαλακών μορίων και νοσοκομειακές πνευμονίες από gram-θετικά, αλλά μεγαλύτερα ποσοστά νεφρικής βλάβης [Polyzos 2012]. Η **κεφτραρολίνη** (ceftrazoline), η οποία μαζί με την κεφτομπιπρόλη θεωρούνται νέα υποκατηγορία κεφαλοσπορινών (στη βιβλιογραφία συχνά αναφέρονται ως κεφαλοσπορίνες 5ης γενιάς), έλαβε το 2010 έγκριση από τον αμερικανικό FDA για χρήση σε λοιμώξεις μαλακών μορίων και πνευμονία της κοινότητας [Laudano 2011]. Έχει ιδιαίτερο αντιμικροβιακό φάσμα, με ευρεία δράση έναντι gram-θετικών (συμπεριλαμβανομένου του MRSA), *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, ενώ in vitro εμφανίζει συνέργεια με τις αμινογλυκοσίδες έναντι ανθεκτικών gram-αρνητικών, συμπεριλαμβανομένων στελεχών *P. aeruginosa*, *E. coli* και *K. pneumoniae* που παράγουν ESBL [Laudano 2011].

Η **τεμοκιλίνη** είναι συνθετικό παράγωγο της τικαρσιλίνης που κυκλοφορεί στο Ηνωμένο Βασίλειο από το 1980 [Slocombe 1981], όμως τα τελευταία χρόνια χρησιμοποιείται και σε άλλα ευρωπαϊκά κράτη. Η δομή της την καθιστά σταθερή έναντι β-λακταμασών και ESBL, όμως δεν είναι δραστική έναντι *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. και αναεροβίων. Ωστόσο, δεν υπάρχουν μελέτες της αποτελεσματικότητας της τεμοκιλίνης έναντι εντεροβακτηριακών με παραγωγή KPC [Karaiskos 2014].

Άλλα αντιβιοτικά με υποσχόμενες ιδιότητες, τα οποία βρίσκονται σε κλινικές μελέτες Φάσης 3, είναι η πλαζομικίνη (plazomicin) και η αβιμπακτάμη (avibactam). Η **πλαζομικίνη** είναι μία ημισυνθετική μη-νεφροτοξική αμινογλυκοσίδα, με in vitro δραστηριότητα έναντι των gram-αρνητικών με παραγωγή ESBL και καρβαπενεμασών, ακόμα και ανθεκτικών στις αμινογλυκοσίδες [Galani 2014]. Έως τώρα υπάρχουν αποτελέσματα σε λοιμώξεις ουροποιητικού, ενώ αυτή τη στιγμή τρέχουν μελέτες σύγκρισης με κολιστίνη σε ασθενείς με βακτηριαμία και νοσοκομειακή πνευμονία [Karaiskos 2014]. Η **αβιμπακτάμη** είναι ένας συνθετικός αναστολέας, ο οποίος σε συνδυασμό με κεφταζιδίμη έχει αποτελεσματική δράση έναντι β-λακταμασών, ESBL, KPC, OXA-48, αλλά όχι έναντι των μεταλλο-β-λακταμασών (VIM, IMP, NDM) [Zhanel 2013]. Βρίσκεται σε μελέτες Φάσης 3 σε λοιμώξεις ουροποιητικού, νοσοκομειακές πνευμονίες και επιπλεγμένες ενδοκοιλιακές λοιμώξεις [Karaiskos 2014].

Μία ακόμα στρατηγική που γίνεται πιο ελκυστική τα τελευταία χρόνια είναι ο **συνδυασμός καρβαπενεμών**, με αποτελεσματικότητα τόσο σε in vitro όσο και in vivo μοντέλα [Wiskirchen 2013], ενώ άλλες μελέτες σε κλινικές σειρές με λοιμώξεις από *K. pneumoniae* ανθεκτικές στις καρβαπενέμες δείχνουν επίσης θετικά αποτελέσματα [Giamarellou 2013, Daikos 2014, Karaiskos 2014].

1.5. Η σημασία της επιτήρησης των αντοχών

Σημαντική θέση στον περιορισμό της διάδοσης των αντοχών έχει η αναγνώριση, τόσο των επιδημιολογικών παραμέτρων όσο και των κλινικών χαρακτηριστικών των εμπλεκόμενων ασθενών. Η γνώση της επιδημιολογίας των αντοχών σε τοπικό επίπεδο θα

βοηθήσει σε ανάπτυξη και εφαρμογή οδηγιών, και κατ'επέκταση σε έγκαιρη και στοχευμένη εφαρμογή μέτρων ελέγχου λοιμώξεων, μεταξύ των οποίων και η αντιμικροβιακή αγωγή. Με τον τρόπο αυτό βελτιώνεται η pre-test probability της εμπειρικής αγωγής, δηλ. η εκ των προτέρων πιθανότητα η εμπειρική αγωγή να είναι κατάλληλη και αποτελεσματική. Δεύτερον, η γνώση των παραγόντων κινδύνου για λοίμωξη από ανθεκτικά στελέχη θα βοηθήσει στην αναγνώριση αυτών των ασθενών με λοίμωξη, με μεγαλύτερη πιθανότητα να έχουν προσβληθεί από ανθεκτικό στέλεχος, κάνοντας έτσι πιθανότερη τη χορήγηση κατάλληλης εμπειρικής αγωγής στους ασθενείς αυτούς. Επιπλέον, έχει φανεί ότι η έγκαιρη ανίχνευση ανθεκτικών στελεχών μέσω στοχευμένης επιτήρησης (targeted surveillance) των ομάδων αυξημένου κινδύνου, μπορεί να βοηθήσει στον περιορισμό της διάδοσης της αντοχής [CDC 2009]. Τρίτον, η μελέτη σε επίπεδο ασθενούς, της βαρύτητας της νόσου που προκαλείται από ανθεκτικά μικρόβια θα βοηθήσει στον εντοπισμό των ασθενών στους οποίους η άμεση χορήγηση κατάλληλης εμπειρικής αγωγής είναι αναγκαία. Ακόμα, η γνώση αυτή, εξασφαλίζει την έγκαιρη ανίχνευση και τον περιορισμό της μετάδοσης νέων ανθεκτικών στελεχών σε ένα δεδομένο χώρο [Giamarellou 2006]. Τέλος, η επιτήρηση παρέχει άμεσα στοιχεία σχετικά με την αποτελεσματικότητα των στοχευμένων παρεμβάσεων, ενώ παράλληλα έχει ρόλο feedback τόσο προς τους επαγγελματίες ελέγχου λοιμώξεων, όσο και προς τους ίδιους τους κλινικούς ιατρούς [WHO 2001].

Η κλινική σημασία της επιτήρησης των αντοχών καθίσταται εμφανής όταν τα παραπάνω τεθούν εντός πλαισίων κλινικών σεναρίων [Kaye 2005]:

Σενάριο 1 – Εμπειρική αγωγή σε ασθενή με άγνωστο μικροοργανισμό. Ο ασθενής έχει μία λοίμωξη, όμως ο παθογόνος μικροοργανισμός είναι άγνωστος. Είναι απαραίτητη η χορήγηση εμπειρικής αγωγής και ο θεράπων ιατρός πρέπει να μπορεί να εκτιμήσει την πιθανότητα να εμπλέκεται συγκεκριμένο παθογόνο, καθώς και τις πιθανότερες αντοχές.

Σενάριο 2 – Εμπειρική αγωγή σε ασθενή με γνωστό μικροοργανισμό. Ο θεράπων ιατρός έχει ένα αρχικό αποτέλεσμα από το εργαστήριο μικροβιολογίας που αφορά σε απομόνωση κάποιου συγκεκριμένου μικροοργανισμού, όμως το αποτέλεσμα του αντιβιογράμματος εκκρεμεί. Ο ιατρός πρέπει να μπορεί να εκτιμήσει την πιθανότητα αντοχής του μικροοργανισμού στην εμπειρική αγωγή που θα επέλεγε.

Σενάριο 3 – Η εκτίμηση ενός περιστατικού από την πλευρά του ελέγχου λοιμώξεων και της δημόσιας υγείας. Ο επαγγελματίας δημόσιας υγείας θέλει να μπορεί να αναγνωρίσει τους νοσηλεύομενους ασθενείς που είναι σε μεγαλύτερο κίνδυνο να προσβληθούν από κάποιο ανθεκτικό μικροοργανισμό, ώστε να εφαρμόσει ανάλογες πρακτικές περιορισμού της μετάδοσης της αντοχής.

Κατά την εφαρμογή και τήρηση ενός προγράμματος επιτήρησης αντοχών, πρέπει να λαμβάνονται υπόψιν οι εξής παράμετροι [Cohen 2008]:

- Παθογόνα: οι μικροοργανισμοί και οι αντίστοιχες αντοχές κυριότερου ενδιαφέροντος είναι ο MRSA, VRE, πολυανθεκτικά gram-αρνητικά βακτήρια (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *Enterobacter* spp) με παραγωγή ESBL, με αντοχή στις καρβαπενέμες, αλλά και άλλοι μικροοργανισμοί βάσει τοπικών δεδομένων.
- Λοίμωξη και αποικισμός: η καταγραφή της συμπτωματικής νόσου προσφέρει διαφορετικά δεδομένα από την ασυμπτωματική φορεία. Ωστόσο, για τη διευκόλυνση της επιτήρησης, είναι ορθότερο να τεθούν κριτήρια που περιορίζουν την ανάγκη κλινικής ερμηνείας, όπως για παράδειγμα η επιτήρηση μόνο των θετικών καλλιεργειών από στείρα υλικά (πχ. αίμα, βρογχοκυψελιδικό έκκριμα).
- Ενδονοσοκομειακές και λοιμώξεις κοινότητας: λοιμώξεις που εμφανίζονται 48-72 ώρες μετά την εισαγωγή ή εντός 48-72 ωρών από το εξιτήριο, ονομάζονται συχνά νοσοκομειακές χωρίς να αναζητώνται περαιτέρω στοιχεία. Ως εκ τούτου, βάσει

χρονικών ορίων και μόνο, η κατηγοριοποίηση των λοιμώξεων ή των θετικών καλλιιεργειών ως νοσοκομειακής έναρξης (hospital-onset) είναι μεν λιγότερο ειδική στην αναγνώριση αμιγώς νοσοκομειακών συμβαμάτων, όμως διευκολύνει σε μεγάλο βαθμό την επιτήρηση.

- Ασθενείς με ιστορικό λοίμωξης ή αποικισμού από πολυανθεκτικό μικροοργανισμό: καθώς το χρονικό διάστημα που παραμένει κάποιος αποικισμένος από έναν ανθεκτικό μικροοργανισμό δεν είναι πάντα σαφές και ποικίλει ανάλογα το στέλεχος, είναι ευκολότερο να υπάρξει μία κοινή στρατηγική στην επιτήρηση, πχ. κάθε ασθενής με ιστορικό λοίμωξης ή αποικισμού, να θεωρείται πάντα αποικισμένος.
- Χρονική διάρκεια επιτήρησης: η επιτήρηση της αντοχής πρέπει να είναι συνεχής, με τακτική εξαγωγή αναφορών, πχ. σε μηνιαία βάση για τη συνεχή παρακολούθηση, έγκαιρη ανίχνευση και αντιμετώπιση μικροεπιδημιών και νεοεμφανιζόμενων αντοχών.
- Επανειλημμένες απομονώσεις: είναι ευκολότερο να συμπεριλαμβάνεται στην επιτήρηση και ανάλυση μόνο η πρώτη απομόνωση κάθε πολυανθεκτικού στελέχους, ανεξαρτήτως υλικού απομόνωσης. Προσοχή χρειάζεται σε καλλιέργειες αίματος, οι οποίες θα μπορούσαν να αντιπροσωπεύουν ξεχωριστά επεισόδια βακτηριαμίας.
- Χώρος και πληθυσμός επιτήρησης: η επιτήρηση θα μπορούσε να αφορά σε όλους τους χώρους ενός κέντρου, ή σε συγκεκριμένους χώρους με αυξημένο επιπολασμό αντοχών (πχ. ΜΕΘ), με αυξημένες ανάγκες επιτήρησης (πχ. τμήμα ογκολογίας, αιματολογίας, μονάδα τεχνητού νεφρού), ή σε χώρους όπου σχεδιάζεται η πραγματοποίηση παρεμβάσεων (πχ. μετά από επιδημία). Η επιτήρηση σε επίπεδο νοσοκομείου θα καταδείξει τη συνολική επίδραση των αντοχών επιπλέον των τμημάτων υψηλού κινδύνου.
- Επιπολασμός και επίπτωση: ο επιπολασμός είναι ο συνολικός αριθμός ασθενών με αποικισμό ή λοίμωξη, προς το σύνολο του πληθυσμού των ασθενών, σε μία δεδομένη περίοδο. Η επίπτωση είναι ο αριθμός των νέων περιπτώσεων αποικισμού ή λοίμωξης προς το σύνολο του πληθυσμού των ασθενών, σε μία δεδομένη περίοδο. Ο ρυθμός επιπολασμού και ο ρυθμός επίπτωσης (prevalence rate, incidence rate αντίστοιχα) χρησιμοποιούν στον παρονομαστή τον αριθμό των εισαγωγών σε ένα χώρο σε μία δεδομένη χρονική διάρκεια. Η πυκνότητα επιπολασμού και η πυκνότητα επίπτωσης (prevalence density, incidence density αντίστοιχα) χρησιμοποιούν ως παρονομαστή το γινόμενο του αριθμού των ασθενών και των συνολικών ημερών επιτήρησης. Έτσι, απεικονίζουν καλύτερα τον κίνδυνο αποικισμού ή λοίμωξης που διατρέχει ένας ασθενής κατά τη διάρκεια της νοσηλείας του, καθώς ο παρονομαστής αντιστοιχεί στο φορτίο που επιφέρει η διάρκεια της ενδονοσοκομειακής παραμονής του.
- Καλλιέργειες επιτήρησης (active surveillance testing): δεδομένου ότι ο αποικισμός είναι πάντα ασυμπτωματικός, η λήψη ειδικών καλλιιεργειών επιτήρησης ενισχύει τη δυνατότητα αναγνώρισης ανθεκτικών στελεχών, βοηθώντας έτσι στην ανίχνευση φωλεών αντοχών που διαδράμουν υποκλινικά, ενώ παράλληλα από επιδημιολογικής άποψης ανιχνεύονται έγκαιρα οι αποικισμένοι και δεν κατηγοριοποιούνται αργότερα ως νέα περιστατικά. Ωστόσο, η μέθοδος αυτή αυξάνει το κόστος και το φόρτο εργασίας, ενώ μελέτες δείχνουν ότι οι απομονώσεις ανθεκτικών στελεχών από κλινικά δείγματα ακολουθούν σε συχνότητα και τάση τις απομονώσεις από δείγματα επιτήρησης.

1.6. Επιτήρηση κατανάλωσης αντιβιοτικών

Η μετάδοση ενός ανθεκτικού μικροοργανισμού είναι συνέπεια δύο κύρων μηχανισμών: της οριζόντιας μετάδοσης και της πίεσης επιλογής που προκαλείται από τα αντιβιοτικά. Δεδομένης της σχέσης αυτής, η συχνότητα της ακατάλληλης χρήσης αντιμικροβιακών

χρησιμοποιείται συχνά ως δείκτης των επιπτώσεων που έχει πάνω στην αντιμικροβιακή αντοχή. Σε όλες τις μελέτες ασθενών-μαρτύρων θεωρείται ότι οι ασθενείς με αποικισμό ή λοίμωξη από ανθεκτικά μικρόβια έχουν προσβληθεί μέσω είτε του ενός, είτε μέσω του άλλου τρόπου μετάδοσης, και για το λόγο αυτό μελετώνται όλοι ως μία ομάδα. Για να φανεί όμως, εάν η χρήση αντιβιοτικών επηρεάζει την οριζόντια μετάδοση, χρειάζεται να μελετηθούν μονήρεις κλώνοι ανθεκτικών μικροβίων.

Με ποιο τρόπο όμως επηρεάζει η χρήση αντιμικροβιακών την εμφάνιση και μετάδοση της αντοχής [Shlaes 1997];

- οικολογικές μελέτες έχουν δείξει ότι αλλαγές στη χρήση αντιβιοτικών επηρεάζουν τον επιπολασμό συγκεκριμένων αντοχών.
- οι νοσοκομειακές λοιμώξεις σχετίζονται συχνότερα με ανθεκτικά παθογόνα.
- σε σύγκριση με μάρτυρες, ασθενείς με νοσοκομειακές λοιμώξεις από ανθεκτικά μικρόβια είναι πιθανότερο να έχουν λάβει αντιβιοτικά.
- χώροι και τμήματα με τα μεγαλύτερα ποσοστά αντοχών, έχουν και την υψηλότερη κατανάλωση αντιβιοτικών.
- έχει φανεί ότι η πιθανότητα αποικισμού με ανθεκτικούς οργανισμούς αυξάνεται παράλληλα με τη διάρκεια έκθεσης σε αντιβιοτικά.

Συνεπώς, η εφαρμογή στρατηγικής ελέγχου και βελτίωσης της καταλληλότητας των χρησιμοποιούμενων αντιμικροβιακών παραγόντων έχει γίνει το επίκεντρο της ασφάλειας των ασθενών και διασφάλισης της ποιότητας περίθαλψης. Τι σημαίνει όμως *καταλληλότητα* της χρήσης αντιμικροβιακών; Σύμφωνα με τον επίσημο ορισμό του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας, θεωρείται η κοστοαποδοτική (cost-effective) χρήση αντιμικροβιακών που μεγιστοποιεί το κλινικό θεραπευτικό αποτέλεσμα, ενώ παράλληλα ελαχιστοποιεί την τοξικότητα από το φάρμακο και την ανάπτυξη αντιμικροβιακής αντοχής [WHO 2001]. Φαίνεται λοιπόν ότι η καταλληλότητα της αντιμικροβιακής αγωγής, ακολουθεί τις ίδιες αρχές με άλλες κατηγορίες φαρμάκων, με δύο σημαντικά επιπλέον στοιχεία: πρώτον ότι η ακατάλληλη αντιμικροβιακή αγωγή, μέσω της πίεσης επιλογής, έχει αρνητικές συνέπειες σε συνολικό επίπεδο, και δεύτερον, θεραπευτική αποτυχία λόγω ανθεκτικών στελεχών ενέχει το σημαντικό κίνδυνο της μετάδοσης της αντοχής.

Δυστυχώς, η χρήση αντιβιοτικών στα νοσοκομεία συχνά δεν ακολουθεί κάποια λογική. Η ανεξέλεγκτη χορήγηση αντιβιοτικών σε ένα κλειστό χώρο που δεν ακολουθεί μία προκαθορισμένη κατεύθυνση (όπως για παράδειγμα, όταν απουσιάζουν επίσημες οδηγίες), τότε ασκείται μεγάλη πίεση που οδηγεί στην εγκατάσταση αντίστοιχων αντοχών. Για πολλούς κλινικούς ιατρούς, η βασικότερη πηγή πληροφορίας σχετικά με τη χρήση αντιβιοτικών είναι η βιβλιογραφία που παρέχεται από τη φαρμακευτική βιομηχανία, η οποία είναι συνήθως υποκειμενική και δεν συμβαδίζει με τις οδηγίες για καταλληλότητα αγωγής. Επιπλέον, η έλλειψη συντονισμού στη χορήγηση χειρουργικής προφύλαξης είναι ακόμα ένας λόγος υπερβολικής κατανάλωσης αντιβιοτικών σε πολλά νοσοκομεία [WHO 2001].

Αναγνωρίζοντας ότι η καταλληλότητα της χρήσης αντιβιοτικών σχετίζεται άμεσα με την εμφάνιση και διάδοση της αντιμικροβιακής αντοχής, η Infectious Diseases Society of America (IDSA) δημοσίευσε αρχικά το 1988 οδηγίες για τη βελτίωση της χρήσης αντιμικροβιακών παραγόντων και στη συνέχεια το 1997 δημοσίευσε οδηγίες μαζί με την Society of Healthcare Epidemiology of America (SHEA) για την πρόληψη της αντιμικροβιακής αντοχής στα νοσοκομεία [Marr 1988, Shlaes 1997]. Ωστόσο, επόμενες μελέτες σε νοσοκομεία έδειξαν ότι οι πρακτικές βελτίωσης της χρήσης αντιμικροβιακών συχνά δεν είναι ικανοποιητικές και δεν εφαρμόζονται ως ρουτίνα. Για το λόγο αυτό, το 2007 δημιουργήθηκαν νέες οδηγίες των IDSA και SHEA, που έχουν σκοπό να παρέχουν βασισμένες σε ενδείξεις (evidence-based) συστάσεις για την ανάπτυξη προγράμματος

ενίσχυσης της διαχείρισης αντιμικροβιακών (antimicrobial stewardship) σε ένα νοσοκομείο, με τελικό σκοπό τη βελτίωση της ποιότητας περίθαλψης [Dellit 2007].

Ο κύριος στόχος του προγράμματος διαχείρισης αντιμικροβιακών είναι η βελτιστοποίηση των κλινικών εκβάσεων και η ελαχιστοποίηση των ακούσιων συνεπειών της χρήσης αντιμικροβιακών, όπως τοξικότητα, πίεση επιλογής παθογόνων μικροοργανισμών και ανάπτυξη αντοχών. Συνεπώς, η κατάλληλη χρήση αντιμικροβιακών είναι απαραίτητο τμήμα της ασφάλειας των ασθενών και αξίζει προσεκτικού ελέγχου και κατεύθυνσης. Ο απώτερος στόχος του προγράμματος είναι η βελτίωση της ποιότητας περίθαλψης και της έκβασης των ασθενών. Για το λόγο αυτό, σε κάθε νοσηλευτικό ίδρυμα είναι απαραίτητη η αναλυτική γνώση της κατανάλωσης αντιβιοτικών και της σχέσης με τον επιπολασμό της αντοχής.

1.7. Οδηγίες ελέγχου και πρόληψης μετάδοσης πολυανθεκτικών μικροβίων

Τα μέτρα ελέγχου και πρόληψης λοιμώξεων που έχουν εφαρμοσθεί σε μελέτες στη βιβλιογραφία ποικίλουν σε μεγάλο βαθμό μεταξύ τους [Ofner-Agostini 2007]. Μία ομοιογενής προσέγγιση, προερχόμενη από πρακτικές βασισμένες σε δεδομένα (evidence-based) και προσαρμοσμένη σε τοπικές ιδιαιτερότητες, θα βοηθούσε περισσότερο, τόσο στην επιλογή των παρεμβάσεων, όσο και σε μελλοντικές συγκρίσεις. Ωστόσο, μέχρι τώρα δεν υπήρχε ομοφωνία ως προς τις αποτελεσματικότερες παρεμβάσεις ή τον καλύτερο συνδυασμό, για τη μείωση της μετάδοσης MDR-GNB. Επιπλέον, δεν υπήρχε ομοφωνία ως προς τα μέτρα που φαίνεται να είναι αποτελεσματικότερα ανά είδος μικροβίου. Αν και υπάρχουν προηγούμενες οδηγίες, όπως αυτές του (HICPAC)/CDC το 2006, παρέχουν μόνο γενικές οδηγίες [Siegel 2007]. Υπάρχουν επίσης οδηγίες για τον έλεγχο συγκεκριμένα των ανθεκτικών στις καρβαπενέμες Εντεροβακτηριακών, όμως δεν παρέχουν πληροφορίες σχετικά με την ισχύ των παρεμβάσεων ή τη βαθμονόμηση των δεδομένων που τις υποστηρίζουν [CDC 2009, <http://www.cdc.gov/hai/organisms/cre/cre-toolkit/index.html>].

Η αυξανόμενη συχνότητα νοσοκομειακών λοιμώξεων και επιδημιών από πολυανθεκτικά gram-αρνητικά βακτήρια (multidrug-resistant Gram-negative bacteria, MDR-GNB) έχει ωθήσει την Ευρωπαϊκή Εταιρεία Λοιμώξεων (European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, ESCMID) στη σύνταξη επίσημων οδηγιών για τον έλεγχο της μετάδοσης των MDR-GNB. Οι οδηγίες αυτές προέρχονται από συστηματική ανασκόπηση της βιβλιογραφίας και αναζήτηση μελετών με παρεμβάσεις που στόχευαν στη μείωση της μετάδοσης των MDR-GNB.

Σε σχέση με άλλες οδηγίες, οι οδηγίες της ESCMID έχουν τις εξής ιδιαιτερότητες που τις καθιστούν χρήσιμες και πιο πρακτικές:

- Αναλύουν τον κάθε τύπο παρέμβασης ξεχωριστά ως προς την αποδεδειγμένη αποτελεσματικότητά του στον έλεγχο μετάδοσης MDR-GNB
- Είναι κατηγοριοποιημένες ανά παθογόνο
- Είναι χωρισμένες σε δύο μεγάλες ομάδες ανά παθογόνο: Βασικές πρακτικές, που συνιστώνται για όλα τα υγειονομικά κέντρα ανεξαρτήτως συχνότητας MDR-GNB, και Ειδικές επιπλέον προσεγγίσεις για εφαρμογή, όταν υπάρχουν κλινικές/επιδημιολογικές/μοριακές ενδείξεις συνεχούς μετάδοσης, παρά την εφαρμογή των βασικών προσεγγίσεων

Στις οδηγίες αυτές χρησιμοποιούνται ξεχωριστά 2 όροι: «επιδημία» (outbreak) είναι η ασυνήθης ή απρόσμενη αύξηση των περιστατικών λοίμωξης από MDR-GNB που ήδη υπάρχουν σε ένα νοσοκομείο, ή η εμφάνιση νέων MDR-GNB, με ή χωρίς μοριακή ανάλυση των στελεχών. Και «ενδημία» είναι η συνεχής εμφάνιση νέων ασθενών που είναι

αποικισμένοι (ή με λοίμωξη) με MDR-GNB, αλλά χωρίς ιδιαίτερη αλλαγή στη συχνότητα απομόνωσης MDR-GNB. Οι τύποι των παρεμβάσεων έχουν επίσης ομαδοποιηθεί: Μέτρα υγιεινής χεριών, Καλλιέργειες ανίχνευσης (screening), Προφυλάξεις επαφής, Περιβαλλοντικός καθαρισμός, και Στρατηγική αντιβιοτικών (antimicrobial stewardship). Η βαθμονόμηση των μέτρων είναι δύσκολη λόγω της εφαρμογής τους σε διαφορετικούς συνδυασμούς στις μελέτες.

1.8. Βιβλιογραφικές αναφορές

1. Ambler RP, Coulson AF, Frere JM, et al. A standard numbering scheme for the class A β -lactamases. *Biochem J* 276: 269–270; 1991.
2. Blot S, Depuydt P, Vandewoude K, De Bacquer D. Measuring the impact of multidrug resistance in nosocomial infection. *Curr Opin Infect Dis* 20:391–396; 2007.
3. Bonten MJ, Slaughter S, Ambergen AW, Hayden MK, van Voorhis J, Nathan C, Weinstein RA. The role of "colonization pressure" in the spread of vancomycin-resistant enterococci: an important infection control variable. *Arch Intern Med* 158(10):1127–1132; 1998.
4. Boucher HW, Talbot GH, Bradley JS, et al. Bad bugs, no drugs: no ESKAPE! An update from the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 48 (1):1–12; 2009.
5. Centers for Disease Control and Prevention. Guideline for Hand Hygiene in Health-Care Settings: Recommendations of the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee and the HICPAC/SHEA/APIC/IDSA Hand Hygiene Task Force. *MMWR* 51(RR.16): 1-44; 2002.
6. Centers for Disease Control and Prevention definitions for nosocomial infections. From: Horan TC, Gaynes RP. Surveillance of nosocomial infections. In: Hospital Epidemiology and Infection Control, 3rd ed., Mayhall CG, editor. Philadelphia:Lippincott Williams & Wilkins, 2004:1659-1702.
Available online at: http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/nnis_pubs.html
7. Centers for Disease Control and Prevention. Guidance for Control of Infections with Carbapenem-Resistant or Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae in Acute Care Facilities. *MMWR* 58: 256-260; 2009.
8. Chambers HF, Hegde SS. Combating the growing problem of methicillin-resistant of *Staphylococcus aureus*. *Expert Rev Anti Infect Ther* 5(3):333-335; 2007.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2009 performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 19th information supplement (M100-S19). Wayne, PA.
10. Cohen AL, Calfee D, Fridkin SK, Huang SS, Jernigan JA, Lautenbach E, Oriola S, Ramsey KM, Salgado CD, Weinstein RA; Society for Healthcare Epidemiology of America and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. Recommendations for metrics for multidrug-resistant organisms in healthcare settings: SHEA/HICPAC Position paper. *Infect Control Hosp Epidemiol* 29(10):901-913; 2008.
11. Conly JM, Johnston BL. Colistin: the phoenix arises. *Can J Infect Dis Med Microbiol* 17(5):267-269; 2006.
12. Coque TM, Baquero F, Canton R. Increasing prevalence of ESBL-producing Enterobacteriaceae in Europe. *Euro Surveill.* 13(47). pii: 19044; 2008. Review. Erratum in: *Euro Surveill.* 13(48). pii: 19051; 2008.
13. Daikos GL, Tsaousi S, Tzouvelekis LS, Anyfantis I, Psychogiou M, Argyropoulou A, Stefanou I, Sypsa V, Miriagou V, Nepka M, Georgiadou S, Markogiannakis A, Goukos D, Skoutelis A. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections:

- lowering mortality by antibiotic combination schemes and the role of carbapenems. *Antimicrob Agents Chemother* 58(4):2322-8; 2014.
14. D'Agata EM. Methodologic issues of case-control studies: a review of established and newly recognized limitations. *Infect Control Hosp Epidemiol* 26(4):338-341; 2005.
 15. Dellit TH, Owens RC, McGowan JE Jr, Gerding DN, Weinstein RA, Burke JP, Huskins WC, Paterson DL, Fishman NO, Carpenter CF, Brennan PJ, Billeter M, Hooton TM; Infectious Diseases Society of America; Society for Healthcare Epidemiology of America. Infectious Diseases Society of America and the Society for Healthcare Epidemiology of America guidelines for developing an institutional program to enhance antimicrobial stewardship. *Clin Infect Dis.* 44(2):159-177; 2007.
 16. Eliopoulos GM. Microbiology of drugs for treating multiply drug-resistant Gram-positive bacteria. *J Infect* 59(S1): S17-S24; 2009.
 17. Fiona M Walsh and Sebastian GB Amyes. Microbiology and drug resistance mechanisms of fully resistant pathogens. *Curr Opin Microbiol* 7:439-444; 2004.
 18. Galani I. Plazomicin. *Drugs Future* 39:25-35;2014.
 19. Giamarellou H. Treatment options for multidrug-resistant bacteria. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* 4(4); 2006.
 20. Giamarellou H, Galani L, Baziaka F, Karaiskos I. Effectiveness of a double carbapenem regimen for infections in humans due to carbapenemase-producing pandrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 57:2388-90;2013.
 21. Goossens H. European Status of Resistance in Nosocomial Infections. *Chemotherapy* 26:177-181;2005.
 22. Gravel D, Taylor G, Ofner M, Johnston L, Loeb M, Roth VR, Stegenga J, Bryce E, the Canadian Nosocomial Infection Surveillance Program, Matlow A. Point prevalence survey for healthcare-associated infections within Canadian adult acute-care Hospitals. *J Hosp Infect* 66:243-248; 2007.
 23. Falagas ME, Koletsi PK, Bliziotis IA. The diversity of definitions of multidrug-resistant (MDR) and pandrug-resistant (PDR) *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. *J Med Microbiol* 55(Pt 12):1619-29;2006.
 24. Hancock REW. Mechanisms of action of newer antibiotics for Gram-positive Pathogens. *Lancet Infect Dis* 5:209-18; 2005.
 25. Harris AD, Karchmer TB, Carmeli Y, Samore MH. Methodological principles of case-control studies that analyzed risk factors for antibiotic resistance: a systematic review. *Clin Infect Dis.* 32(7):1055-1061; 2001.
 26. Hawley JS, Murray CK, Jorgensen JH. Colistin heteroresistance in acinetobacter and its association with previous colistin therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 52(1):351-352; 2008.
 27. Karaiskos I, Giamarellou H. Multidrug-resistant and extensively drug-resistant Gram-negative pathogens: current and emerging therapeutic approaches. *Expert Opin Pharmacother* 15(10):1351-1370;2014.
 28. Kaye KS, Harris AD, Samore M, Carmeli Y. The case-case-control study design: addressing the limitations of risk factor studies for antimicrobial resistance. *Infect Control Hosp Epidemiol* 26(4):346-351; 2005.
 29. Laudano JB. Ceftaroline fosamil: a new broad-spectrum cephalosporin. *J Antimicrob Chemother* 66 Suppl 3:iii11-18; 2011.
 30. Lautenbach E, Gould CV, La Rosa LA, et al. Emergence of resistance to chloramphenicol among vancomycin-resistant enterococcal (VRE) bloodstream isolates. *Int J Antimicrob Agents* 23:200-203; 2004.
 31. Livermore DM. Introduction: the challenge of multiresistance. *Int J Antimicrob Agents* 29(Suppl.3):S1-S7; 2007.

32. van Looveren M, Goossens H, and the ARPAC Steering Group. Antimicrobial resistance of *Acinetobacter* spp. in Europe. *Clin Microbiol Infect* 10: 684–704; 2004.
33. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, Harbarth S, Hindler JF, Kahlmeter G, Olsson-Liljequist B, Paterson DL, Rice LB, Stelling J, Struelens MJ, Vatopoulos A, Weber JT, Monnet DL. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect* 18(3):268-281; 2012.
34. Marr JJ, Moffet HL, Kunin CM. Guidelines for improving the use of antimicrobial agents in hospitals: a statement by the Infectious Diseases Society of America. *J Infect Dis* 157:869–876; 1988.
35. MacKenzie FM, Forbes KJ, Dorai-John T, Amyes SG, Gould IM. Emergence of a carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Lancet* 350:783; 1997.
36. Merrer J, Santoli F, Appéré de Vecchi C, Tran B, De Jonghe B, Outin H. "Colonization pressure" and risk of acquisition of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a medical intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol* 21(11):718-723; 2000.
37. Micek ST. Alternatives to vancomycin for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. *Clin Infect Dis* 45 Suppl 3:S184-190; 2007.
38. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, data summary from January 1992 through June 2003, issued August 2003. *Am J Infect Control* 31:481-498; 2003.
39. Navon-Venezia S, Leavitt A, Carmeli Y. High tigecycline resistance in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother* 59:772–774; 2007.
40. Ofner-Agostini M, Varia M, Johnston L, Green K, Simor A, Amihod B, Bryce E, Henderson E, Stegenga J, Bergeron F; Canadian Nosocomial Infection Surveillance Program, Gravel D. Infection control and antimicrobial restriction practices for antimicrobial-resistant organisms in Canadian tertiary care hospitals. *Am J Infect Control* 2007; 35:563–568.
41. Paterson DL. Looking for risk factors for the acquisition of antibiotic resistance: a 21st-century approach. *Clin Infect Dis*. 34(12):1564-1567; 2002.
42. Paterson DL. The Epidemiological Profile of Infections with Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* Species. *Clin Infect Dis* 43:S43–8; 2006.
43. Poirel L, Naas T, Nordmann P. Diversity, epidemiology, and genetics of class D β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 54: 24–38;2010.
44. Polyzos KA, Mavros MN, Vardakas KZ, Makris MC, Rafailidis PI, Falagas ME. Efficacy and safety of telavancin in clinical trials: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 7(8):e41870; 2012.
45. Popovic M, Steinort D, Pillai S, Joukhadar C. Fosfomycin: an old, new friend? *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 29:127–142; 2010.
46. Ramirez JA. Controlling multiple-drug-resistant organisms at the hospital level. *Expert Opin Pharmacother* 7(11): 1449-1455; 2006.
47. Rice LB. Antimicrobial resistance in gram-positive bacteria. *Am J Infect Control* 34:S11-9; 2006.
48. Rottier WC, Ammerlaan HS, Bonten MJ. Effects of confounders and intermediates on the association of bacteraemia caused by extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae and patient outcome: a meta-analysis. *J Antimicrob Chemother* 67(6):1311-1320; 2012.
49. Rupp M.E. Nosocomial bloodstream infections. In: Mayhall GC, ed. Hospital epidemiology and infection control, 3rd ed. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins:253-265;2005.
50. Schwaber MJ, Klarfeld-Lidji S, Navon-Venezia S, Schwartz D, Leavitt A, Carmeli Y. Predictors of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* acquisition among

- hospitalized adults and effect of acquisition on mortality. *Antimicrob Agents Chemother* 52(3):1028-1033; 2008.
51. Shlaes DM, Gerding DN, John JF Jr, Craig WA, Bornstein DL, Duncan RA, Eckman MR, Farrer WE, Greene WH, Lorian V, Levy S, McGowan JE Jr, Paul SM, Ruskin J, Tenover FC, Watanakunakorn C. Society for Healthcare Epidemiology of America and Infectious Diseases Society of America joint committee on the prevention of antimicrobial resistance: guidelines for the prevention of antimicrobial resistance in hospitals. *Clin Infect Dis* 25:584–599; 1997.
 52. Siegel JD, Rhinehart E, Jackson M, Chiarello L; Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. Management of multidrug-resistant organisms in health care settings, 2006. *Am J Infect Control* 35 (10 Suppl 2):S165-193; 2007.
 53. Slocombe B, Basker MJ, Bentley PH, Clayton JP, Cole M, Comber KR, Dixon RA, Edmondson RA, Jackson D, Merrikin DJ, Sutherland R. BRL 17421, a novel beta-lactam antibiotic, highly resistant to betalactamases, giving high and prolonged serum levels in humans. *Antimicrob Agents Chemother* 20:38-46;1981.
 54. Souli M, Kontopidou FV, Koratzanis E, Antoniadou A, Giannitsioti E, Evangelopoulou P, Kannavaki S, Giamarellou H. In Vitro Activity of Tigecycline against Multiple-Drug-Resistant, Including Pan-Resistant, Gram-Negative and Gram-Positive Clinical Isolates from Greek Hospitals. *Antimicrob Agents Chemother* 50(9):3166–3169; 2006.
 55. Tacconelli E. New strategies to identify patients harbouring antibiotic-resistant bacteria at hospital admission. *Clin Microbiol Infect* 12 (2): 102-109; 2006.
 56. Tacconelli E, Cataldo MA, Dancer SJ, De Angelis G, Falcone M, Frank U, et al; European Society of Clinical Microbiology. ESCMID guidelines for the management of the infection control measures to reduce transmission of multidrug-resistant Gram-negative bacteria in hospitalized patients. *Clin Microbiol Infect* 20(Suppl 1):1-55; 2014.
 57. Torres-Viera C, Dembry LM. Approaches to vancomycin-resistant enterococci. *Curr Opin Infect Dis* 17:541–547;2004.
 58. Uttley, AHC, Collins CH, Naidoo J, George RC. Vancomycin-resistant enterococci. *Lancet* 57-58;1988.
 59. Vincent JL. Microbial resistance: lessons from the EPIC study. *Intensive Care Med* 26: S3-S8;2000.
 60. Walsh TR, Toleman MA, Poirel L, Nordmann P. Metallo- β -lactamases: the quiet before the storm? *Clin Microbiol Rev* 18: 306–325; 2005.
 61. Wiskirchen DE, Crandon JL, Nicolau DP. Impact of various conditions on the efficacy of dual carbapenem therapy against KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Int J Antimicrob Agents* 41:582-5;2013.
 62. World Health Organization global strategy for containment of antibiotic resistance. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 2001.
 63. WHO Guidelines on Hand Hygiene in Health Care, 2009. Available at: http://whqlibdoc.who.int/publications/2009/9789241597906_eng.pdf.
 64. Yigit H, Queenan AM, Anderson GJ et al. Novel carbapenem-hydrolyzing β -lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 45: 1151–1161; 2001.
 65. Zhanel GG, Lawson CD, Adam H, Schweizer F, Zelenitsky S, Lagacé-Wiens PR, Denisuik A, Rubinstein E, Gin AS, Hoban DJ, Lynch JP 3rd, Karlowsky JA. Ceftazidime-avibactam: a novel cephalosporin/ β -lactamase inhibitor combination. *Drugs* 73:159-77;2013.

Ειδικό Μέρος

2. Μελέτη της μικροβιακής αντοχής και της κατανάλωσης αντιβιοτικών στο Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Ηρακλείου

2.1. Μεθοδολογία της μελέτης

2.1.1. Χρονική διάρκεια

A. Μελέτη εξέλιξης των αντοχών

Κατά το διάστημα Ιανουάριος 2009 - Μάρτιος 2010 (15 μήνες), πραγματοποιήθηκε προοπτική καθημερινή καταγραφή όλων των μικροβίων που απομονώθηκαν στο μικροβιολογικό εργαστήριο του νοσοκομείου, καθώς επίσης και των αντοχών τους. Για την αποτύπωση της εξέλιξης της αντοχής (σε ορισμένες περιπτώσεις και όπου υπήρχαν επαρκή στοιχεία), συσχετίστηκαν και με δεδομένα καταγραφών των αντοχών κατά την πενταετία 2005-2009.

Η καταγραφή των απομονωθέντων μικροβίων σε βάση δεδομένων έγινε στα πλαίσια της καθημερινής επιτήρησης των αποτελεσμάτων των καλλιέργειών των κλινικών δειγμάτων του νοσοκομείου για την αναγνώριση ανθεκτικών στελεχών.

B. Μελέτη καταγραφής της κατανάλωσης αντιβιοτικών

Συλλέχθηκαν και αναλύθηκαν αθροιστικά δεδομένα από την κατανάλωση αντιβιοτικών για την περίοδο Ιανουάριος 2004 - Μάρτιος 2010 για το σύνολο του νοσοκομείου όσο και ανά τμήμα.

2.1.2. Κατανομή στελεχών ανά κλινικό δείγμα

Έγινε επίσης καταγραφή των μικροοργανισμών που απομονώθηκαν στο μικροβιολογικό εργαστήριο ΠαΓΝΗ στο χρονικό διάστημα 2005-2009. Παρακάτω παρουσιάζονται οι απομονώσεις από το αίμα, από δείγματα του κατώτερου αναπνευστικού (βρογχικό έκπλυμα, βρογχικές εκκρίσεις) και από τα ούρα. Δεν ελέγχθηκαν τα δείγματα που στις καταχωρήσεις του εργαστηρίου έφεραν την ένδειξη «πύον» γιατί δεν είναι βέβαια η προέλευση του δείγματος (στο εργαστήριο στον όρο «πύον» περιλαμβάνονται δείγματα προς καλλιέργεια από το δέρμα, τα μαλακά μόρια, διάφορα όργανα, και δείγμα από χειρουργική τομή).

2.1.3. Κατανομή στελεχών ανά κλινικές - διαχωρισμός εξωτερικών ασθενών

Για τη διευκόλυνση της ανάλυσης, καλλιέργειες που είχαν ένδειξη ότι προέρχονται από τμήματα εξωτερικής βάσης (ΤΕΠ, εξωτερικά ιατρεία, κτλ), θεωρήθηκε ότι είχαν προέλευση από την κοινότητα. Αυτά θεωρήθηκαν παθογόνα της κοινότητας και κατά συνέπεια μελετήθηκαν χωριστά.

Για σκοπούς περαιτέρω απλούστευσης, οι απομονώσεις από ασθενείς της Νεφρολογικής κλινικής, της Μονάδας Τεχνητού Νεφρού και της Μονάδας Περιτοναϊκής Κάθαρσης συμπεριλήφθηκαν σε μία ομάδα, καθώς τα τμήματα αυτά μοιράζονται κοινούς ασθενείς και ιατρικό προσωπικό. Επιπλέον η Αιματολογική και η Νεφρολογική κλινική αναφέρονται ως μία κοινή πτέρυγα καθώς την περίοδο εκείνη συστεγάζονταν. Το ίδιο ισχύει και για την κλινική Παθολογίας-Ογκολογίας με την Μονάδα Χημειοθεραπείας.

Σε περιπτώσεις πολλαπλής απομόνωσης του ίδιου στελέχους από τον ίδιο ασθενή (duplicates), υπολογίστηκε μόνο το στέλεχος που απομονώθηκε την πρώτη φορά.

2.1.4. Καταγραφή αντοχών

Για την καταγραφή της εξέλιξης των αντοχών των σημαντικότερων παθογόνων στα

αντιβιοτικά χρησιμοποιήθηκαν ως δείκτες συγκεκριμένα αντιβιοτικά. Η επιλογή αυτών των αντιβιοτικών-δεικτών βασίστηκε α) στις συχνότερα καταγεγραμμένες αντοχές του νοσοκομείου όπως έχουν αναγνωρισθεί από προηγούμενες κλινικοεπιδημιολογικές μελέτες και β) στις αντοχές που έχουν καταγραφεί στο εθνικό πολυκεντρικό δίκτυο καταγραφής νοσοκομειακών λοιμώξεων των ΗΠΑ (National Healthcare Safety Network – NHSN) και στο ευρωπαϊκό δίκτυο επιτήρησης αντιμικροβιακής αντοχής (European Antimicrobial Resistance Surveillance System – EARSS) (http://www.rivm.nl/earss/Images/Earss%20manual2005_tcm61-21261.pdf).

Για την αντοχή της *P. aeruginosa* στις αμινογλυκοσίδες, επιλέχθηκε σαν δείκτης η αντοχή στη γενταμικίνη σύμφωνα με το ερευνητικό πρωτόκολλο του EARSS. Οι κοαγκουλάση-αρνητικοί σταφυλόκοκκοι (*S. epidermidis*, *S. lugdunensis*, *S. hominis*, *S. haemolyticus*, κτλ) δεν είχαν διαφορές στα ποσοστά αντοχών όταν μελετήθηκαν χωριστά, γι' αυτό και μελετήθηκαν και αναφέρονται ως μία ομάδα (http://www.rivm.nl/earss/Images/Earss%20manual2005_tcm61-21261.pdf).

Συγκεκριμένα, καταγράφηκαν και αναλύθηκαν τα παθογόνα με αντοχές στα παρακάτω αντιβιοτικά:

- *Acinetobacter baumannii* στην ιμιπενέμη
- *Enterococcus* spp στη βανκομυκίνη
- *Escherichia coli* με παραγωγή ευρέως φάσματος β-λακταμάσης (extended spectrum b-lactamase – ESBL)
- *Escherichia coli* με αντοχή στις φθοριοκινολόνες
- *Klebsiella pneumoniae* με παραγωγή ESBL
- *Klebsiella pneumoniae* με παραγωγή ESBL και αντοχή στην ιμιπενέμη
- *Klebsiella pneumoniae* με παραγωγή ESBL και αντοχή στις φθοριοκινολόνες
- *Klebsiella pneumoniae* με παραγωγή ESBL και αντοχή στην κολιστίνη
- *Pseudomonas aeruginosa* στην ιμιπενέμη
- *Pseudomonas aeruginosa* στις φθοριοκινολόνες
- *Pseudomonas aeruginosa* στη γενταμικίνη
- *Staphylococcus aureus* στη μεθικιλίνη (methicillin-resistant *S. aureus* – MRSA)
- *Staphylococcus aureus* στις φθοριοκινολόνες
- κοαγκουλάση-αρνητικοί σταφυλόκοκκοι στη μεθικιλίνη
- κοαγκουλάση-αρνητικοί σταφυλόκοκκοι στις φθοριοκινολόνες

2.1.5. Μικροβιολογικός έλεγχος

Η ταυτοποίηση των στελεχών έγινε με το σύστημα API 20E (bioMérieux SA, Marcy L'Etoile, France) ή το Vitek 2 (bioMérieux). Ο έλεγχος της αντιμικροβιακής αντοχής των στελεχών στα αντιβιοτικά της παρούσης μελέτης έγινε φαινοτυπικά σύμφωνα με την μέθοδο διάχυσης δίσκου (disk diffusion) ή με το σύστημα Vitek 2 σύμφωνα με τα κριτήρια του Clinical and Laboratory Standards Institute [CLSI 2007], εκτός από την αντοχή του εντερόκοκκου στα γλυκοπεπτίδια, η οποία ταυτοποιήθηκε με το Etest (AB Biodisk, Solna, Sweden). Πιο συγκεκριμένα η φαινοτυπική ταυτοποίηση της αντοχής του σταφυλόκοκκου στην οξακιλίνη/μεθικιλίνη έγινε με το τεστ της κεφοξιτίνης και η ταυτοποίηση της παραγωγής ευρέως φάσματος β-λακταμάσης (ESBL) έγινε με το τεστ του κλαβουλανικού οξέως.

2.1.6. Μέτρηση κατανάλωσης αντιβιοτικών

Για την περίοδο Ιανουάριος 2004 – Μάρτιος 2010 συλλέχθηκαν αναδρομικά και αναλύθηκαν αθροιστικά δεδομένα από τη διανομή των αντιβιοτικών σε όλο το νοσοκομείο και ανά τμήμα. Λόγω μετάβασης του ηλεκτρονικού αρχείου και των προμηθειών του νοσοκομείου σε νέο ηλεκτρονικό σύστημα το 2007, τα δεδομένα για το έτος 2007 δεν καταχωρήθηκαν με ακριβεία γι' αυτό και δεν περιλήφθηκαν στη μελέτη. Για το λόγο αυτό, η παρουσίαση της κατανάλωσης αντιβιοτικών αυτά θα εστιασθεί στις περιόδους 2004-06 και 2008-09. Επιπλέον, παρουσιάζονται και δεδομένα για την περίοδο 1998-2002 από προηγούμενη δημοσίευση στον επιστημονικό τύπο [Kritsotakis 2006].

Τα αντιβιοτικά που μελετήθηκαν είναι τα «αντιβιοτικά για συστηματική χρήση» σύμφωνα με την ομάδα J01 του συστήματος ταξινόμησης Anatomical Therapeutic Chemical (ATC) 2006 [WHO 2006]. Τα τοπικά αντιμικροβιακά, τα αντιφυματικά, τα αντιμυκητιασικά και τα αντιϊικά φάρμακα εξαιρέθηκαν από την ανάλυση. Τονίζεται πως ενώ η ταξινόμηση αυτή δεν έχει εφαρμογή σε παιδιατρικούς πληθυσμούς, τα παιδιατρικά τμήματα συμπεριλήφθηκαν στην μέτρηση της συνολικής κατανάλωσης αντιβιοτικών για σκοπούς σύγκρισης με άλλα τμήματα και μόνο, σύμφωνα με τις οδηγίες του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας [WHO 2006].

Τα δεδομένα για τη χρήση αντιβιοτικών λήφθηκαν από τα αρχεία του Φαρμακευτικού τμήματος του νοσοκομείου, τα οποία μετατράπηκαν και ταξινομήθηκαν σε αριθμό καθορισμένων ημερήσιων δόσεων (defined daily doses - DDDs) σύμφωνα με την έκδοση 2006 του συστήματος ATC/DDD. Σύμφωνα με τις συστάσεις του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας, σαν παρονομαστής των δεικτών κατανάλωσης αντιβιοτικών χρησιμοποιήθηκε ο αριθμός των ασθενοημερών (κρεβατοημερών) όπως περιγράφεται πιο κάτω. Τα δεδομένα αυτά παραχωρήθηκαν από το Γραφείο Στατιστικής ΠαΓΝΗ.

Για την καταγραφή και ανάλυση της κατανάλωσης αντιβιοτικών χρησιμοποιήθηκε η εφαρμογή ABC Calc 3.1 [Monnet 2006]. Τα δεδομένα παρουσιάζονται σε ετήσια βάση για όλο το νοσοκομείο ή ανά τμήμα και συγκρίνονται με μελέτες από τη διεθνή βιβλιογραφία που ακολούθησαν παρόμοια μεθοδολογία.

2.1.7. Στατιστικοί δείκτες

Για τον υπολογισμό των διαφόρων δεικτών, χρησιμοποιούνται παρονομαστές όπως α) το σύνολο των αντίστοιχων μετρήσεων (είτε σε επίπεδο νοσοκομείου ή στο εκάστοτε τμήμα),

β) ο αριθμός των ασθενοημερών (δηλ. το γινόμενο του αριθμού των ασθενών επί τις ημέρες νοσηλείας τους για το συγκεκριμένο διάστημα και τμήμα), και

γ) ο αριθμός των εισαγωγών για το εκάστοτε τμήμα ή για όλο το νοσοκομείο.

Τα 2 τελευταία στοιχεία παραχωρήθηκαν από το Γραφείο Στατιστικής ΠαΓΝΗ.

Η πυκνότητα επίπτωσης (συχνότητα/1000 ασθενοημέρες) είναι πιο αξιόπιστος δείκτης γιατί βασίζεται στον αριθμό των εισαγωγών και στη διάρκεια νοσηλείας των ασθενών και δεν επηρεάζεται από αυξομειώσεις στον πληθυσμό των ασθενών ή στον αριθμό των καλλιέργειών. Η επίπτωση (συχνότητα/100 εισαγωγές) είναι δείκτης του οποίου η βαρύτητα είναι ευκολότερο να εκτιμηθεί. Το ποσοστό επί των συνολικών καλλιέργειών είναι λιγότερο αξιόπιστος δείκτης, όμως είναι αρκετά χρήσιμος γιατί δείχνει το ακριβές ποσοστό των στελεχών που είναι ανθεκτικά.

Προσοχή απαιτείται στον τρόπο που εκτιμώνται οι δείκτες αυτοί γιατί έχουν διαφορετική βαρύτητα. Για παράδειγμα, όπως θα παρουσιασθεί πιο κάτω, λόγω μεγάλου αριθμού εισαγωγών και νοσηλευόμενων ασθενών σε κάποια τμήματα, εμφανίζονται με μεγάλο αριθμό καλλιέργειών, αλλά με μικρή αντίστοιχη πυκνότητα επίπτωσης καλλιέργειών (ανά 1000 ασθενοημέρες). Αντίθετα, άλλα τμήματα έχουν μικρή συμβολή στο συνολικό ποσοστό των καλλιέργειών (μικρός αριθμός καλλιέργειών) αλλά μεγάλη

πυκνότητα επίπτωσης, λόγω του μικρού αριθμού νοσηλευόμενων ασθενών. Για το λόγο αυτό, χρειάζεται προσοχή στον τρόπο ερμηνείας των αποτελεσμάτων, αφού τμήματα με χαμηλή συχνότητα απομονώσεων στο αίμα μπορεί να έχουν υψηλή επίπτωση απομονώσεων στο αίμα (και άρα βακτηριαϊμών), η οποία συνήθως οφείλεται στη μεγαλύτερη βαρύτητα νόσου των ασθενών και στον αυξημένο αριθμό ιατρονοσηλευτικών παρεμβάσεων.

2.1.8. Σύγκριση αντοχών με άλλες μελέτες από τη διεθνή βιβλιογραφία

Προκειμένου να γίνει σύγκριση των ποσοστών αντοχών του ΠαΓΝΗ με δεδομένα άλλων εθνικών ή πολυεθνικών μελετών έγινε αναζήτηση στη διεθνή βιβλιογραφία και βρέθηκαν οι ακόλουθες μελέτες:

1. Ένα σημαντικό **ευρωπαϊκό δίκτυο** επιτήρησης της αντιμικροβιακής αντοχής είναι το European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS), που διαθέτει δεδομένα προοπτικής καταγραφής αντοχών σε περισσότερες από 30 ευρωπαϊκές χώρες από το 1999 μέχρι σήμερα. Τα δεδομένα αυτά είναι διαθέσιμα στην ιστοσελίδα <http://www.rivm.nl/earss>. Η σύγκριση των δεδομένων της παρούσας μελέτης με τα δεδομένα του EARSS, γίνεται είτε με τα ποσοστά αντοχών των άλλων χωρών είτε με τα δεδομένα που το EARSS παρουσιάζει για την Ελλάδα, κυρίως για το 2008 αλλά και για προηγούμενα έτη. Τα ποσοστά αντοχών του EARSS προέρχονται από στελέχη που απομονώθηκαν το 2008 από το αίμα και το εγκεφαλονωτιαίο υγρό (ENY). Επειδή όμως η συμβολή των στελεχών του ENY ήταν πολύ μικρότερη και αφορούσε κυρίως στον *S. pneumoniae*, στις συγκρίσεις θα αναφέρονται μόνο σαν στελέχη που απομονώθηκαν από το αίμα.

Το αντίστοιχο **ελληνικό σύστημα** επιτήρησης αντοχών (Greek System for Surveillance of Antimicrobial Resistance) που συμμετέχει στο EARSS δημοσιεύει τα δεδομένα του μέσω του δικτύου WHONET Greece, τα οποία είναι διαθέσιμα στην ιστοσελίδα www.mednet.gr/whonet. Τα ποσοστά αντοχών του ΠαΓΝΗ συγκρίνονται με αντίστοιχα ποσοστά αντοχών του WHONET και αφορούν σε στελέχη από κλινικά δείγματα.

2. Μελέτες από τις **ΗΠΑ** οι οποίες θα αναφερθούν για σκοπούς σύγκρισης είναι δύο: α) η Surveillance and Control of Pathogens of Epidemiological Importance (**SCOPE**) με δεδομένα από περισσότερες από 24,000 βακτηριαϊμίες σε 49 νοσοκομεία από το 1995 έως το 2002 και β) το National Healthcare Safety Network – **NHSN**, με καταγραφές νοσοκομειακών λοιμώξεων και περισσότερα από 26,000 παθογόνα σε περισσότερα από 400 νοσοκομεία των ΗΠΑ από τον Ιανουάριο 2006 έως και τον Οκτώβριο 2007 [Wisplinghoff 2004. Hidron 2008.].

3. Μία ακόμα πολυεθνική πολυκεντρική μελέτη είναι η μελέτη αντιμικροβιακής επιτήρησης **SENTRY**, η οποία μελετά την εξέλιξη διαφόρων αντοχών και την αποτελεσματικότητα νέων αντιβιοτικών σε παθογόνα από όλες τις ηπείρους. Στην αναφορά αυτή θα γίνει σύγκριση με δεδομένα της SENTRY από 2 μελέτες: του 1997-2002 από βακτηριαϊμίες στην Ευρώπη, στη Νότια και στη Βόρεια Αμερική και του 2001 από λοιμώξεις σε Μονάδες Εντατικής Θεραπείας της Βόρειας Αμερικής [Biedenbach 2004. Streit 2004.].

4. Δεδομένα αντοχών από το **Ηνωμένο Βασίλειο και την Ιρλανδία** είναι διαθέσιμα στο πρόγραμμα British Society for Antimicrobial Chemotherapy (BSAC) Resistance Surveillance Project, για απομονωθέντα παθογόνα σε βακτηριαϊμίες το έτος 2008 [<http://www.bsacsurv.org/>]. Επειδή για το *A. baumannii* δεν υπάρχουν δεδομένα από βακτηριαϊμίες, θα συσχετισθούν οι αντοχές σε στελέχη που απομονώθηκαν σε νοσοκομειακές λοιμώξεις του κατώτερου αναπνευστικού την περίοδο 2008-09.

5. Περιλαμβάνονται για σύγκριση δεδομένα αντοχών από το δίκτυο επιτήρησης DANMAP

της **Δανίας**, σε στελέχη απομονωθέντα από το αίμα για το έτος 2009 [DANMAP 2009].

6. Η πολυκεντρική μελέτη **ARMed** ακολουθώντας τη μεθοδολογία του δικτύου EARSS, παρέχει δεδομένα αντοχών στα στελέχη *S. aureus* και *E. coli* από νοσοκομεία χωρών της Νοτιοανατολικής Μεσογείου (Αλγερία, Αίγυπτος, Ιορδανία, Κύπρος, Λίβανος, Μάλτα, Μαρόκο, Τουρκία, Τυνησία) την περίοδο 2003-05 [Borg 2007. *Borg Clin Microbiol Infect* 2008].

7. Συγκρίνονται επίσης δεδομένα από απομονώσεις σε αιμοκαλλιέργειες για την περίοδο 2006-08, από 4 δημόσια νοσοκομεία στα πλαίσια του Network for Antimicrobial Resistance Surveillance της **Σιγκαπούρης** [Hsu 2010].

2.1.9. Σύγκριση κατανάλωσης αντιβιοτικών με μελέτες από τη διεθνή βιβλιογραφία

Μελέτες από τη διεθνή βιβλιογραφία με στοιχεία κατανάλωσης αντιβιοτικών σε επίπεδο νοσοκομείου ήταν παλιές, ελάχιστες σε αριθμό ή είχαν περιορισμένα στοιχεία. Αναζητήθηκαν πρόσφατες μελέτες πάνω στην κατανάλωση αντιβιοτικών για να είναι πιο έγκυρες οι συγκρίσεις, δεδομένης της συνεχούς αλλαγής της επιδημιολογίας της νοσοκομειακής αντοχής και της διαρκούς τροποποίησης του αντιμικροβιακού οπλοστασίου με εμφάνιση νέων αντιβιοτικών και περιορισμό της χρήσης άλλων [NethMap 2008, SWEDRES 2008, SWEDRES 2009, DANMAP 2009. *ATB-Raisin 2008, Borg J Antimicrob Chemother 2008. Jacoby 2010*].

2.2. Αποτελέσματα και Συμπεράσματα μελέτης αντοχών

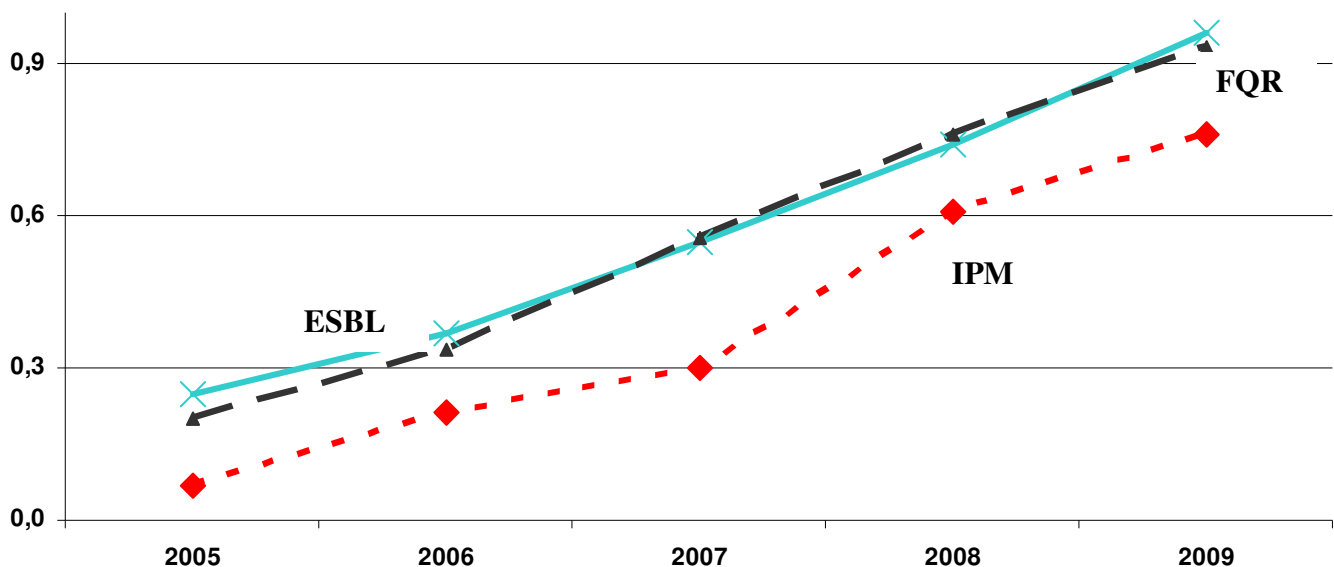
Για συντομία, παρουσιάζονται συνοπτικά τα αποτελέσματα της συχνότητας απομόνωσης των παθογόνων και των κυριότερων αντίστοιχων αντοχών τους (Πίνακας 2.1).

- Το *A. baumannii*, ένα αμιγώς νοσοκομειακό παθογόνο που είναι το κυρίαρχο παθογόνο στις εκκρίσεις του κατώτερου αναπνευστικού (19.9% των απομονώσεων κατώτερου αναπνευστικού) στο ΠαΓΝΗ, εμφανίζει πολύ υψηλά ποσοστά αντοχής στην ιμιπενέμη (82.9%), τα οποία είναι πολύ υψηλότερα από τα ποσοστά άλλων μελετών (Πίνακας 2.1). Επιπλέον φαίνεται να είναι από τα συχνότερα παθογόνα της ΜΕΘ με ανοδική τάση αντοχής στην ιμιπενέμη τα τελευταία χρόνια. Στη βιβλιογραφία έχει υποστηριχθεί ότι η έκθεση σε ευρέως φάσματος αντιβιοτικά, όπως κινολόνες, κεφαλοσπορίνες και καρβαπενέμες είναι παράγοντας κινδύνου για ανάπτυξη αντοχής στο *A. baumannii* [Dijkshoorn 2007].
- Η *K. pneumoniae* στο ΠαΓΝΗ είναι το τέταρτο συχνότερο παθογόνο στο σύνολο (8.5%), και το δεύτερο συχνότερο παθογόνο στο αίμα (7.6%). Είναι επίσης το τρίτο συχνότερο παθογόνο στη ΜΕΘ (13.2% των απομονώσεων της ΜΕΘ). Οι αντοχές της *K. pneumoniae* στο ΠαΓΝΗ και σε επιλεγμένα παθολογικά τμήματα αυξάνονται ταχέως τα τελευταία χρόνια και πλέον βρίσκονται σε ανησυχητικά επίπεδα (Εικόνες 2.1 και 2.2). Είναι φανερό ότι υφίσταται μία εξελισσόμενη επιδημία από πολυανθεκτική *K. pneumoniae* στο ΠαΓΝΗ η οποία χρήζει συντονισμένης αντιμετώπισης και ελέγχου.
Συγκεκριμένα, 42.2% των *K. pneumoniae* παρουσιάζουν αντοχή στις β-λακτάμες/κεφαλοσπορίνες (μέσω παραγωγής ESBL) και στην ιμιπενέμη, ενώ η αντοχή αυτή φτάνει το 55.3% σε απομονώσεις από το αίμα, με αντίστοιχα ποσοστά αντοχής στις φθοριοκινολόνες στο 53.9%. Στη ΜΕΘ όπου παρατηρείται σημαντικός αριθμός λοιμώξεων από *K. pneumoniae*, η αντοχή στην ιμιπενέμη και στις φθοριοκινολόνες

ξεπερνά το 70%.

Αυτά τα ποσοστά οδηγούν σε σημαντική έλλειψη θεραπευτικών επιλογών, τόσο σε εμπειρική όσο και σε αιτιολογική θεραπεία: πιθανές εναλλακτικές επιλογές αποτελούν η τριμεθοπρίμη/σουλφαμεθοξαζόλη (Τ/Σ), οι αμινογλυκοσίδες, η κολιστίνη και η τιγκεκυκλίνη. Ωστόσο στο ΠαΓΝΗ η αντοχή στην τετρακυκλίνη ξεπερνά το 60%, ένα μεγάλο ποσοστό (>85%) των στελεχών είναι ανθεκτικά στην Τ/Σ και στις αμινογλυκοσίδες, ενώ η αντοχή στις φθοριοκινολόνες στάνει το 98%, αφήνοντας ως μοναδικές αποτελεσματικές επιλογές τα τελευταίας γραμμής αντιβιοτικά κολιστίνη και τιγκεκυκλίνη.

Η αντοχή της *K. pneumoniae* στην κολιστίνη στο νοσοκομείο ήταν 7.1% (στη ΜΕΘ ήταν 20.3%) και στις περισσότερες περιπτώσεις μόνο η τιγκεκυκλίνη παραμένει δραστική. Αυτό ενέχει την πιθανότητα αποτυχίας της κολιστίνης ως εμπειρική θεραπεία μέχρι και σε 1 στις 5 λοιμώξεις από *K. pneumoniae* στη ΜΕΘ.



Εικόνα 2.1 Επίπτωση/1000 ασθενοημέρες στο ΠαΓΝΗ της αντοχής των στελεχών *K. pneumoniae* στις κεφαλοσπορίνες 3ης γενιάς κεφαλοσπορίνες (φαινότυπος ESBL, γαλάζια συνεχής γραμμή), φθοριοκινολόνες (FQR, μαύρη διακεκομμένη γραμμή) και ιμιπενέμη (IPM, κόκκινες τελείες), την περίοδο 2005-09

- Η *E. coli* είναι πολύ συχνό παθογόνο στα ούρα (54.4%) και εμφανίζει φαινότυπο αντοχής με χαμηλά ποσοστά παραγωγής ESBL (5.4% συνολικά και 4.0% στο αίμα), τα οποία είναι χαμηλότερα από δεδομένα των ΗΠΑ και του EARRS από άλλα ελληνικά νοσοκομεία, ενώ είναι περίπου στα ίδια επίπεδα με δεδομένα από αρκετές ευρωπαϊκές χώρες. Το ίδιο ισχύει και για την αντοχή του *E. coli* στις φθοριοκινολόνες, παρόλο που το ποσοστό αντοχής είναι σημαντικό (14.7% συνολικά και 20.0% στο αίμα) και δείχνει αύξηση τα τελευταία χρόνια (Εικόνα 2.3). Σε συνάρτηση αυτού, ανησυχητική είναι και η αυξητική τάση της αντοχής στις φθοριοκινολόνες σε ευρωπαϊκό επίπεδο, ενώ παράλληλα τονίζεται ότι λόγω αυξανόμενης αντοχής στις αμινοπενικιλίνες

(αμπικικιλίνη, αμοξικιλίνη), η εμπειρική χορήγησή τους σε λοιμώξεις με υποψία *E. coli* δεν θεωρείται πλέον δόκιμη [<http://www.rivm.nl/earss>]. Όσον αφορά στο *E. coli* από εξωτερικά τμήματα, εμφανίζει χαμηλότερα ποσοστά αντοχών (3.9% παραγωγή ESBL και 9.6% αντοχή στις φθοριοκινολόνες).

Συμπερασματικά σε λοιμώξεις από *E. coli*, οι κεφαλοσπορίνες μπορούν να χρησιμοποιηθούν αποτελεσματικά, ενώ οι φθοριοκινολόνες έχουν θέση εναλλακτικά, παρόλο που η χρήση τους αποφεύγεται λόγω του ευρέως φάσματός τους και της ενοχοποίησής τους ως παράγοντες κινδύνου για εμφάνιση αντοχής [Falagas 2009, Paterson Clin Infect Dis 2004].

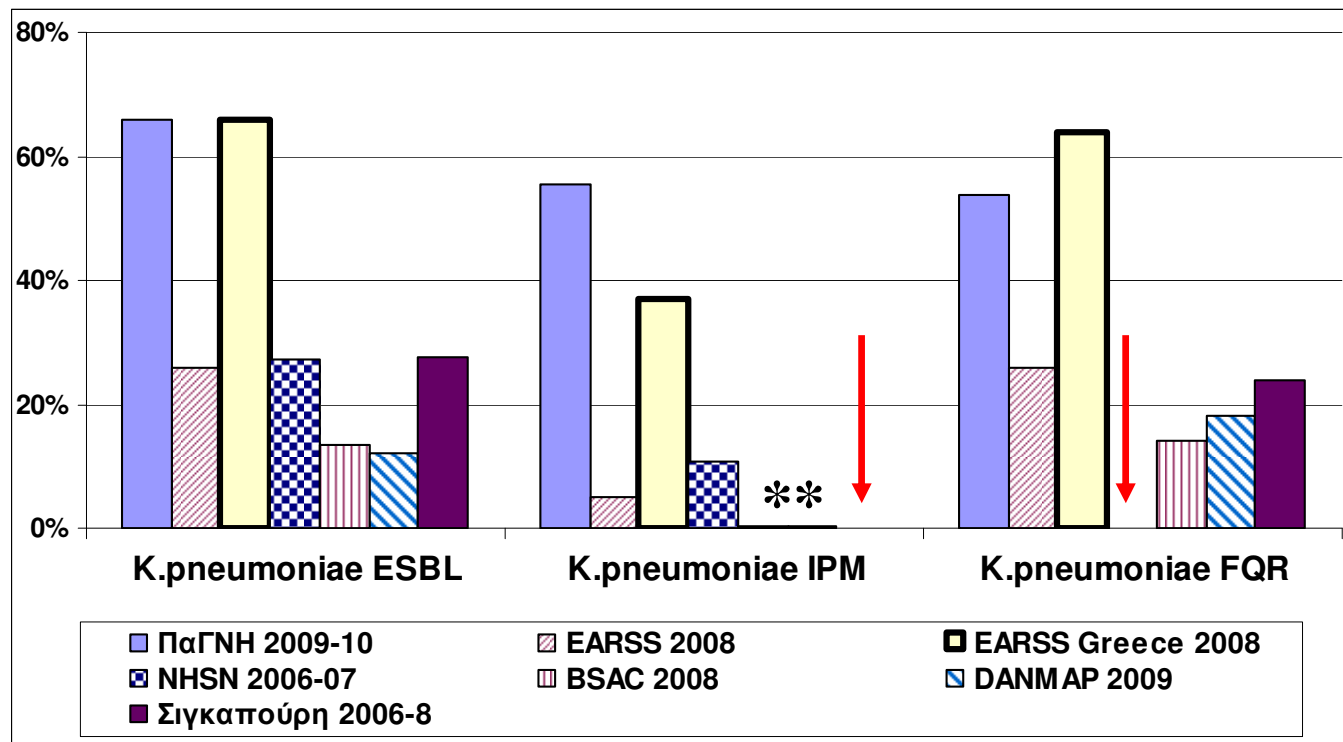
- Η *P. aeruginosa* ήταν το πέμπτο συχνότερο παθογόνο που απομονώθηκε στο νοσοκομείο (7.4%) και το δεύτερο συχνότερο (13.5%) στις απομονώσεις του κατώτερου αναπνευστικού μετά το *A. baumannii*. Η αντοχή της *P. aeruginosa* στην ιμιπενέμη, στις φθοριοκινολόνες και στις αμινογλυκοσίδες (19.8%, 12.4% και 7.2% αντίστοιχα) βρίσκεται σε καλά επίπεδα συγκριτικά με άλλες ευρωπαϊκές χώρες, τις ΗΠΑ και τα ελληνικά νοσοκομεία του EARSS. Ωστόσο, πιθανότητα αποτυχίας της εμπειρικής θεραπείας με καρβαπενέμες είναι 20% σε βακτηραιμία και 31% σε πνευμονία από *P. aeruginosa*, ενώ σε τμήματα με υψηλή συχνότητα απομόνωσης (Αιματολογική/Νεφρολογική, ΜΕΘ, Πνευμονολογία, Γενικής Παθολογίας, Νευροχειρουργική), η πιθανότητα αυτή είναι ακόμα υψηλότερη. Αξίζει να αναφερθεί ότι τα ποσοστά αντοχής της *P. aeruginosa* στα Παιδιατρικά τμήματα (όπου απομονώθηκαν 67/404 στελέχη *P. aeruginosa*) ήταν πολύ χαμηλότερα, παρατήρηση η οποία πάλι πιθανώς να σχετίζεται με τη μειωμένη κατανάλωση αντιβιοτικών ευρέως φάσματος όπως οι καρβαπενέμες και οι κινολόνες [Pena 2009, Montero 2010, Tacconelli 2009].
- Η συχνότητα του **ανθεκτικού στη βανκομυκίνη εντερόκοκκου (VRE)** είναι πολύ χαμηλή και φαίνεται να εμφανίζει πτωτική τάση (Εικόνα 2.5). Βάσει των παρατηρήσεων αυτών, στα περισσότερα τμήματα του νοσοκομείου δεν συνίσταται η τακτική εμπειρική κάλυψη VRE, παρά μόνο όταν υπάρχει σαφής υποψία.
- Στο νοσοκομείο μας η συχνότητα του ανθεκτικού στη μεθικιλίνη *S. aureus* (MRSA) είναι στα ίδια περίπου επίπεδα (39.1%) με τις περισσότερες χώρες της Ευρώπης και σημαντικά χαμηλότερη από τα νοσοκομεία των ΗΠΑ (Εικόνα 2.5). Εναλλακτικά των γλυκοπεπτιδίων αντιβιοτικά για την αντιμετώπιση του MRSA είναι οι τετρακυκλίνες, μακρολίδες, ριφαμπικίνη, ενώ οι φθοριοκινολόνες επίσης διατηρούνται ως εναλλακτική επιλογή σε περίπτωση πολυανθεκτικού MRSA, καθώς μόνο 19/162 MRSA (11.7%) είναι ανθεκτικοί και στις φθοριοκινολόνες.

Ο *S. aureus* απομονώθηκε τόσο από το αίμα όσο και από το κατώτερο αναπνευστικό, γι'αυτό χρειάζεται προσοχή όταν επιλέγεται εμπειρική θεραπεία σε νοσοκομειακές λοιμώξεις. Για παράδειγμα η βιβλιογραφία θεωρεί τη λινεζολίδα ανώτερη των γλυκοπεπτιδίων σε MRSA πνευμονία, η δαπτομυκίνη δεν χορηγείται σε λοιμώξεις αναπνευστικού αλλά έχει ένδειξη σε επιπλεγμένες λοιμώξεις δέρματος-μαλακών μορίων και βακτηραιμίες, ενώ η τιγκεκυκλίνη δεν επιτυγχάνει ικανοποιητικά επίπεδα στο αίμα αλλά έχει λάβει επίσημα έγκριση για χορήγηση σε λοιμώξεις δέρματος και μαλακών μορίων και σε ενδοκοιλιακές λοιμώξεις [Rice 2006, Eliopoulos 2009].

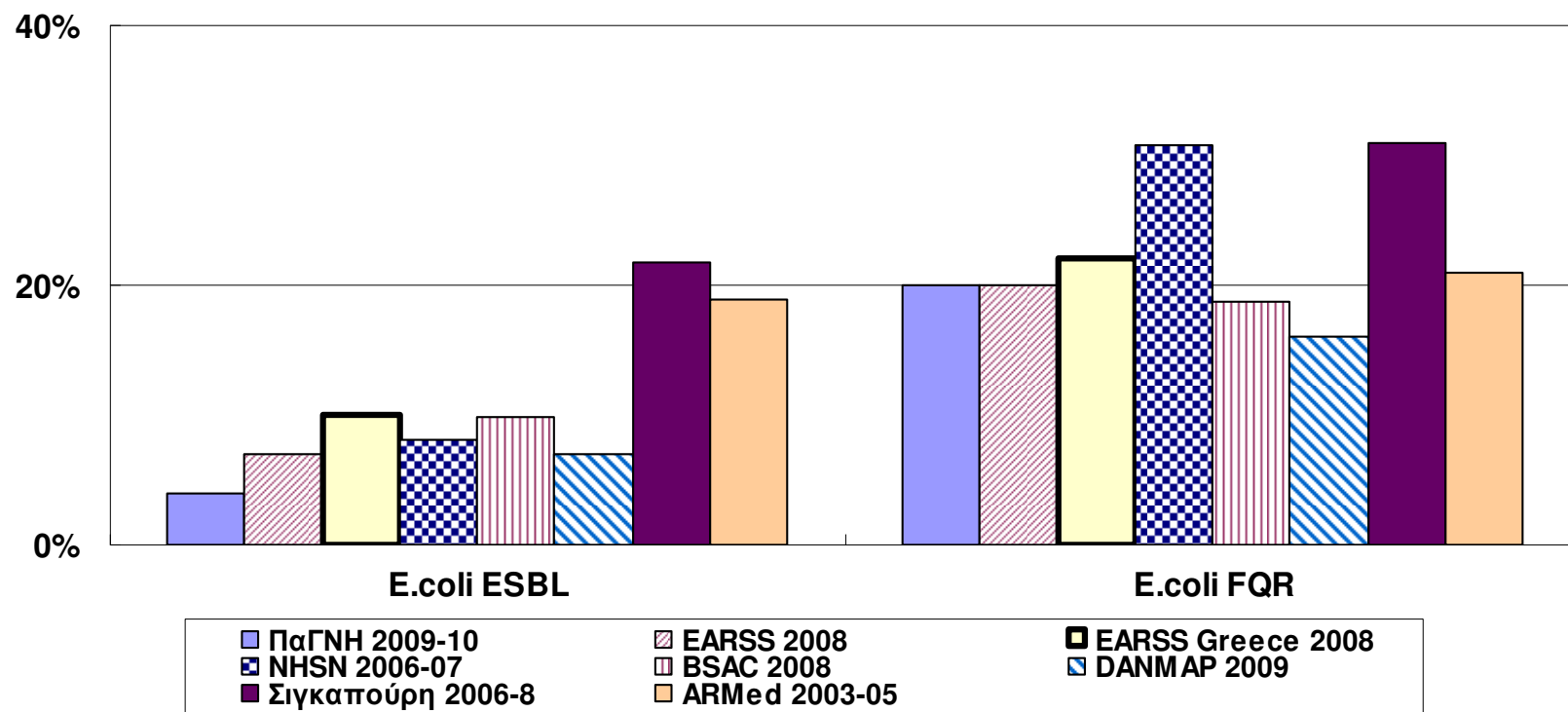
- Η σημαντική συμβολή των **κοαγκουλάση-αρνητικών σταφυλοκόκκων (CNS)** στις

βακτηριαμίες φαίνεται από το ποσοστό απομόνωσής τους στο αίμα (48.1%). Οι CNS εμφανίζουν υψηλότερα ποσοστά αντοχών από τον *S. aureus*: 66.1% αντοχή στη μεθικιλίνη, 21.3% στις φθοριοκινολόνες και >20% ταυτόχρονη αντοχή σε μεθικιλίνη και φθοριοκινολόνες. Όπως ήταν αναμενόμενο, έχουν πολύ υψηλή συχνότητα απομόνωσης σε Παθολογικά τμήματα και ιδίως στο αίμα (38.1% των απομονώσεων στο αίμα στην Αιματολογική/Νεφρολογική, 43.9% στη Γενική Παθολογική, 54.9% στη Νευρολογική, 64.3% στην Καρδιολογική/ΜΕΠΚ, 46.2% στην Παθολογική Ογκολογική) και στη ΜΕΘ (53.7%). Τα αντίστοιχα ποσοστά είναι χαμηλότερα σε CNS εξωτερικής προέλευσης, αν και παραμένουν αρκετά υψηλά (45.4% αντοχή στη μεθικιλίνη και 11.1% αντοχή στις φθοριοκινολόνες).

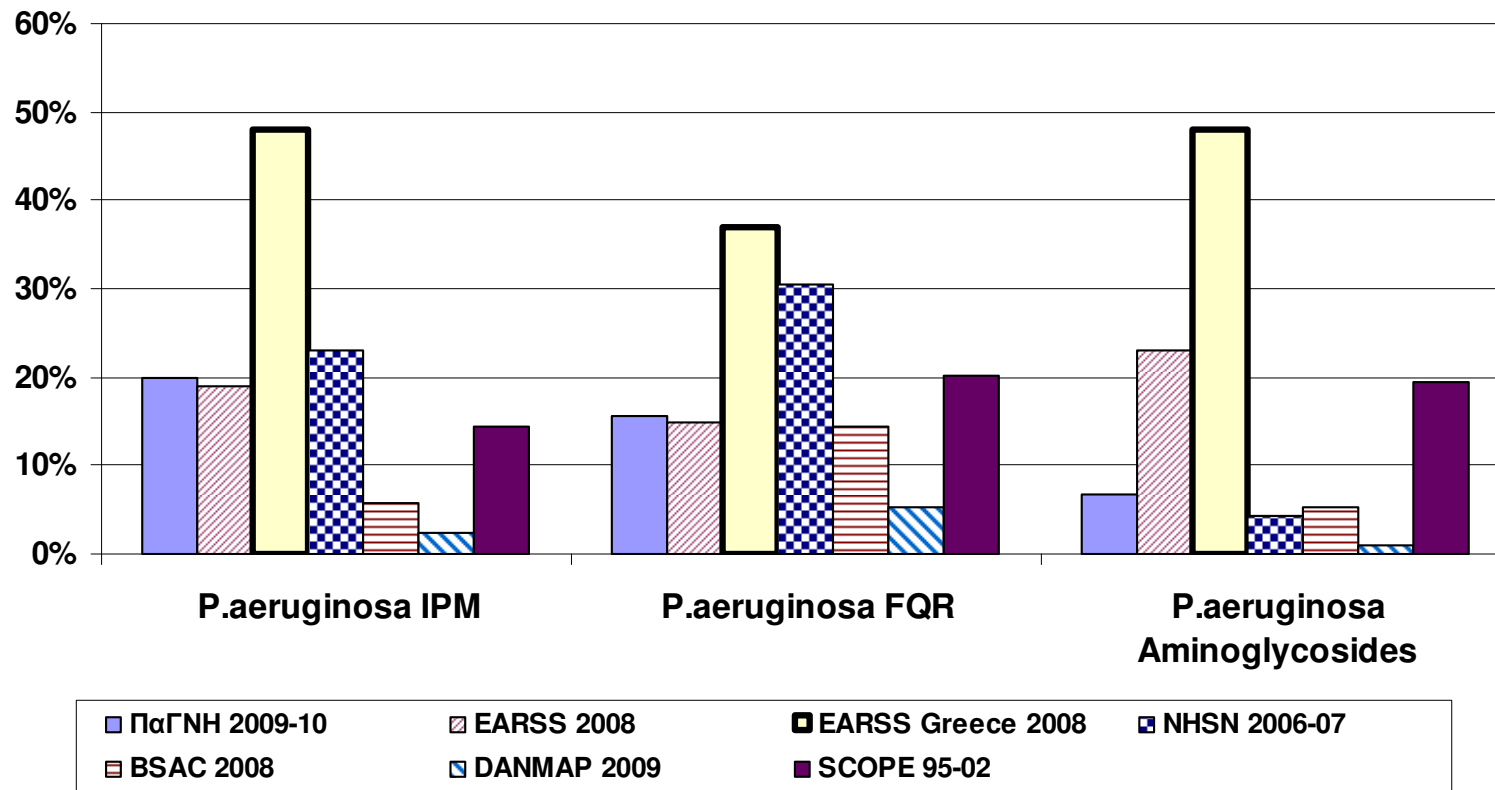
Συνεπώς χρειάζεται προσοχή σε υποψία λοίμωξης (βακτηριαμίας) από CNS, ιδίως όταν είναι νοσοκομειακής προέλευσης (π.χ. ασθενείς με μακρά ενδονοσοκομειακή παραμονή σε Παθολογικά τμήματα, ασθενείς με παρουσία ενδαγγειακών καθετήρων), καθώς είναι πιθανό να χρειάζεται εμπειρική θεραπεία με δεύτερης γραμμής αντιβιοτικά όπως γλυκοπεπτίδια.



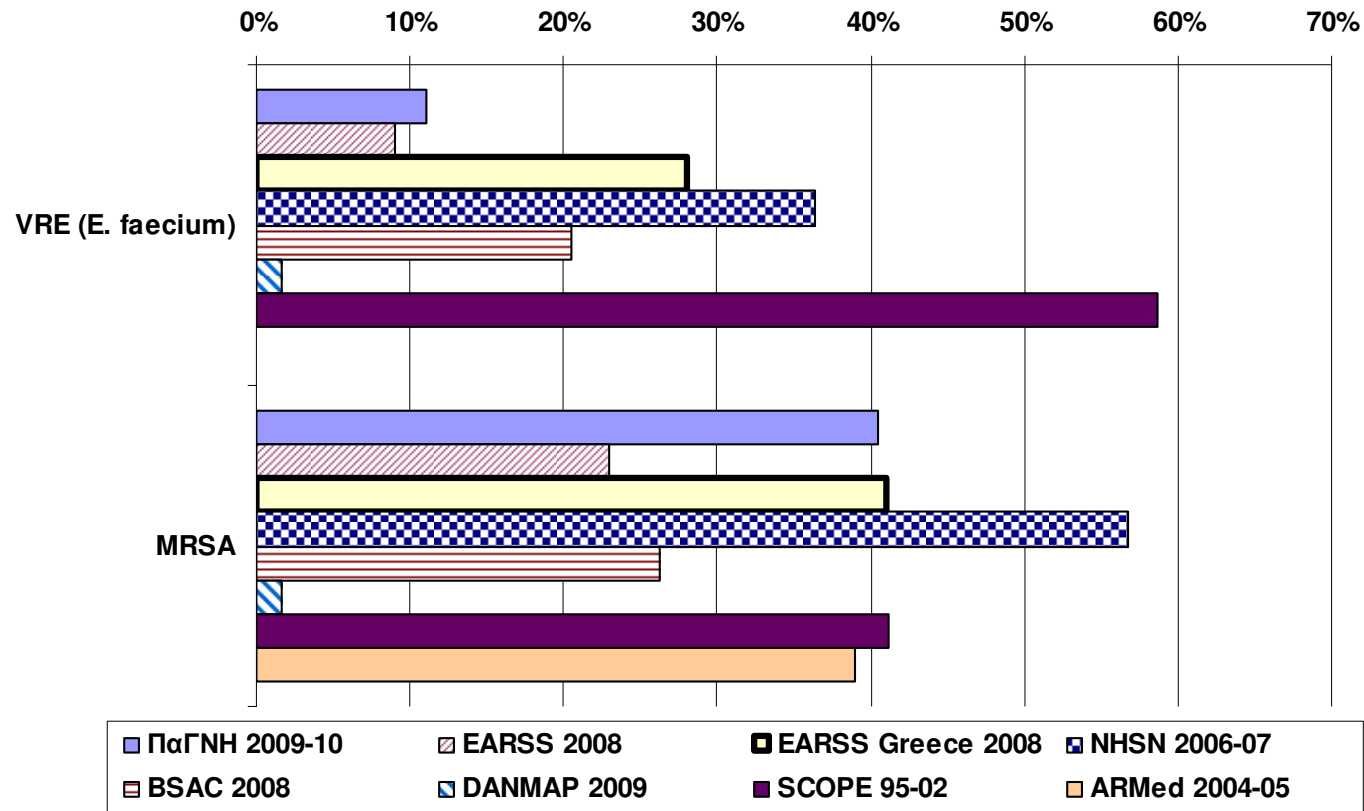
Εικόνα 2.2 Σύγκριση των αντοχών των στελεχών *K. pneumoniae* που απομονώθηκαν σε αιμοκαλλιέργειες: στο ΠαΓΝΗ (Ιανουάριος 2009-Μάρτιος 2010), στο EARSS (μέσος όρος χωρών που συμμετείχαν το 2008), σε ελληνικά νοσοκομεία του EARSS (2008), στο δίκτυο DANMAP 2009 της Δανίας, στο Network for Antimicrobial Resistance Surveillance της Σιγκαπούρης (2006-08) και σε βακτηριαμίες από το NHSN των ΗΠΑ (2006-07) και από το δίκτυο BSAC από το Ηνωμένο Βασίλειο και την Ιρλανδία το 2008. ESBL: παραγωγή ευρέως φάσματος β-λακταμάσης, IPM: αντοχή στην ιμιπενέμη, FQR: αντοχή στις φθοριοκινολόνες, ↓: δεν υπάρχουν δεδομένα, *: 0.0% (BSAC και DANMAP, αντοχή *K. pneumoniae* στις φθοριοκινολόνες)



Εικόνα 2.3 Σύγκριση των αντοχών των στελεχών *E. coli* που απομονώθηκαν σε αιμοκαλλιέργειες: στο ΠαΓΝΗ (Ιανουάριος 2009-Μάρτιος 2010), στο EARSS (μέσος όρος χωρών που συμμετείχαν το 2008), σε ελληνικά νοσοκομεία του EARSS (2008), στο δίκτυο DANMAP 2009 της Δανίας, στο Network for Antimicrobial Resistance Surveillance της Σιγκαπούρης (2006-08), σε χώρες της Νοτιοανατολικής Μεσογείου της μελέτης ARMed (διάμεσος το 2003-05) και σε βακτηριαμίες από το NHSN των ΗΠΑ (2006-07) και από το δίκτυο BSAC από το Ηνωμένο Βασίλειο και την Ιρλανδία το 2008. ESBL: παραγωγή ευρέως φάσματος β-λακταμάσης, FQR: αντοχή στις φθοριοκινολόνες



Εικόνα 2.4 Σύγκριση των αντοχών των στελεχών *P. aeruginosa* που απομονώθηκαν σε αιμοκαλλιέργειες: στο ΠαΓΝΗ (Ιανουάριος 2009-Μάρτιος 2010), στο EARSS (μέσος όρος χωρών που συμμετείχαν 2008), στα ελληνικά νοσοκομεία του EARSS (2008), στο δίκτυο DANMAP 2009 της Δανίας και σε βακτηριαμίες από το NHSN των ΗΠΑ (2006-07), από το δίκτυο BSAC στο Ηνωμένο Βασίλειο και Ιρλανδία (2008) και από τη μελέτη SCOPE (1995-2002) των ΗΠΑ. IPM: αντοχή στην ιμιπενέμη, FQR: αντοχή στις φθοριοκινολόνες



Εικόνα 2.5 Σύγκριση των αντοχών των στελεχών Εντερόκοκκου στη βανκομυκίνη (VRE) και *S. aureus* στη μεθικιλίνη (MRSA) που απομονώθηκαν σε αιμοκαλλιέργειες: στο ΠαΓΝΗ (Ιανουάριος 2009-Μάρτιος 2010), στο EARSS (μέσος όρος χωρών που συμμετείχαν 2008), στα ελληνικά νοσοκομεία του EARSS (2008), στο δίκτυο DANMAP 2009 της Δανίας, σε χώρες της Νοτιοανατολικής Μεσογείου της μελέτης ARMed (για τον MRSA, διάμεσος το 2003-05) και σε βακτηριαμίες: από το NHSN των ΗΠΑ (2006-07), από το δίκτυο BSAC στο Ηνωμένο Βασίλειο και Ιρλανδία (2008) και από τη μελέτη SCOPE (1995-2002) των ΗΠΑ

Πίνακας 2.1. Συγκρίσεις των αντοχών στο ΠαΓΝΗ με αντίστοιχες πολυκεντρικές μελέτες

	ΠαΓΝΗ συνολικές απομονώσεις 2009-10	ΠαΓΝΗ απομονώσεις στο αίμα 2009-10	EARSS 2008 (1)*	EARSS 2008 μέσος όρος (εύρος) (1)*	Ελληνικά νοσοκομεία EARSS 2008 (1)*	WHONET Greece Ιουλ-Δεκ 2009 (2) †	DANMAP 2009* (3)	NHSN 2006-07 (4)**	BSAC 2008 (5)**	Άλλες μελέτες
<i>A. baumannii</i> - Ιμπενέμη	82.9%	92.9%				75.7% (Π) 67.2% (X)		29.2%	36.6%‡	Σιγκαπούρη 2006-08* (6): 50.0%
<i>E. coli</i> - Κεφαλοσπορίνες γ' γενιάς (φαινότυπος ESBL)	5.4%	4.0%	14/33 χώρες <5% Ισραήλ 16%, Κύπρος 18%	7% (0-42%)	10%	7.3% (Π) 9.4% (X)	7.0%	8.1%	9.9%	Σιγκαπούρη 2006-08* (6): 21.7%
<i>E. coli</i> - Φθοριοκινολόνες	14.7%	20.0%	Αυστρία 23%, Γερμανία 23%, Τσεχία 26%, Ισραήλ 27%, Πορτογαλία 27%, Μάλτα 34%, Ιταλία 38%, Κύπρος 45%	20% (6-52%)	22%	24.4% (Π) 29.9% (X)	16.0%	30.8%	18.8%	Σιγκαπούρη 2006-08* (6): 31.0%
<i>K. pneumoniae</i> - Κεφαλοσπορίνες γ' γενιάς (φαινότυπος ESBL)	56.7%	65.8%	Χαμηλότερο μόνο από Βουλγαρία (73%)	26% (0-73%)	66%	48.9% (Π) 62.5% (X)	12.0%	27.1%	13.4%	Σιγκαπούρη 2006-08* (6): 27.4% SENTRY 97- 02** (7): Ευρώπη 21.7%, Β.Αμερική 5.8%, Ν.Αμερική 42.7%
<i>K. pneumoniae</i> - Ιμπενέμη	42.2%	55.3%	Κύπρος (10%), Ισραήλ (19%), Ελλάδα (37%)	5% (0-37%)	37%	28.3% (Π) 39.5% (X)	0.0%	10.8%	0.0%	
<i>K. pneumoniae</i> - Φθοριοκινολόνες	51.7%	53.9%	Μέσος όρος 26%, Βουλγαρία 52%, Τσεχία 52%, Ελλάδα 64%	26% (2-64%)	64%	46.9% (Π) 62.2% (X)	18.1%		14.1%	Σιγκαπούρη 2006-08* (6): 24.0%
<i>K. pneumoniae</i> - Κολιστίνη	7.1%	10.5%								SENTRY 2001- 04** (7): Ευρώπη, Ασία, Αμερική 1.8%

<i>P. aeruginosa</i> - Ιμιπενέμη	20.0%	20.0%	Παρόμοιο ή χαμηλότερο από 17/33 χώρες	19% (0-48%)	48%	34.1% (Π) 33.8% (X)	2.5%	23.0%	5.8%	Σιγκαπούρη 2006-08* (6): 12.8% SCOPE**(8): 14.3%
<i>P. aeruginosa</i> - Φθοριοκινολόνες	12.4%	15.6%	Παρόμοιο ή χαμηλότερο από 13/33 χώρες	15% (0-55%)	37%	36.6% (Π) †† 28.1% (X)	5.3%	30.5%	14.3%	SCOPE 95-02**(8): 20.2%
<i>P. aeruginosa</i> - γενταμικίνη	7.2%	6.7%	Χαμηλότερο από 24/33 χώρες	23% (0-48%)	48%	34.4% (Π) 27.1% (X)	<1.0%	4.3%	5.3%	SCOPE 95-02**(8): 19.5%
VRE	5.0% (<i>E. faecium</i> : 11.1%)	7.7% (<i>E. faecium</i> : 11.1%)	<i>E. faecium</i> : Απουσία αντοχής σε 10 χώρες, υψηλή αντοχή σε Σλοβενία (13%), Ισραήλ (20%), Κύπρος (20%), Πορτογαλία (24%), Ελλάδα (28%), Ηνωμένο Βασίλειο (28%), Ιρλανδία (35%)	<i>E. faecium</i> : 9% (0-35%)	7% των <i>E. faecalis</i> , 28% των <i>E. faecium</i>	14.5% (Π) 7.6% (X)	<i>E. faecium</i> : 1.6%	36.4% (<i>E. faecium</i> : 78.9%)	10.2% (<i>E. faecium</i> : 20.5%)	SCOPE 95-02**(8) (<i>E. faecium</i>): 58.7%
MRSA	39.1%	40.5%	Παρόμοιο ή χαμηλότερο από τις περισσότερες νότιες χώρες	23% (1-56%)	41%	34.9% (Π) 45.5% (X)	1.6%	56.8%	26.3%	SCOPE 95-02**(8): 41.1%
<i>S. aureus</i> - Φθοριοκινολόνες	5.1%	2.7%				27.8% (Π) 35.0% (X)	2.0%		35.1%	
CNS - Μεθικιλίνη	66.1%	44.4%							67.6%	SCOPE 95-02**(8): 75.4%
CNS - Φθοριοκινολόνες	21.3%	18.4%							55.3%	

*Απομονώσεις από το αίμα. **Απομονώσεις σε βακτηριαίμιες. †Απομονώσεις από αιμοκαλλιέργειες σε Παθολογικά (Π) και Χειρουργικά (X) τμήματα, ††Όλα τα κλινικά δείγματα.

‡Απομονώσεις από νοσοκομειακές λοιμώξεις του κατώτερου αναπνευστικού

[(1) www.rivm.nl/earss. (2) www.mednet.gr/wh@net. (3) DANMAP 2009. (4) Hidron 2008. (5) www.bsacsurv.org (6) Hsu 2010. (7) Biedenbach 2004. (8) Wisplinghoff 2004.]

2.3. Κατανάλωση αντιβιοτικών

2.3.1. Κατανομή χορηγούμενων αντιβιοτικών

Στην πιο κάτω Εικόνα παρουσιάζεται η κατανομή των χορηγούμενων αντιβιοτικών στο ΠαΓΝΗ για την περίοδο 2008-09. Οι κεφαλοσπορίνες, φθοριοκινολόνες, συνδυασμοί β-λακταμών, μακρολίδες και καρβαπενέμες ξεπερνούν το 60% της συνολικής κατανάλωσης. Συγκεκριμένα η κατάταξη της κατανάλωσης των αντιβιοτικών ήταν

- κεφαλοσπορίνες (J01DA, 19.7% του συνόλου),
- φθοριοκινολόνες (J01MA, 15.3%),
- συνδυασμοί β-λακταμών (J01CR, 12.6%),
- μακρολίδες (J01FA, 7.9%),
- καρβαπενέμες (J01DH, 7.0%),
- πενικιλίνες ευρέως φάσματος (J01CA, 6.0%),
- πολυμυξίνες (J01XB, 6.0%),
- γλυκοπεπτίδια (J01XA, 5.5%),
- δαπτομυκίνη (J01XX09, 4.6%),
- ιμιδαζόλες (J0XD, 3.9%),
- λινκοσαμίδες (J01FF, 2.5%),
- αμινογλυκοσίδες (J01GB, 2.3%),
- λινεζολίδη (J01XX08, 2.3%), και
- τετρακυκλίνες (J01AA, 2.1%).
- Η ομάδα Other περιλαμβάνει συνδυασμούς τριμεθοπρίμης/σουλφοναμιδών (J01EE, 2.0%), πενικιλίνες ευαίσθητες στις β-λακτάμες (J01CE, <0.5%), πενικιλίνες ανθεκτικές στις β-λακταμάσες (J01CF, <0.1%), μονομπακτάμες (J01DF, <0.1%) και στεροειδή αντιβιοτικά (J01XC, <0.1%).

Σύγκριση της κατανάλωσης των αντιβιοτικών στο ΠαΓΝΗ με άλλες μελέτες

Για το σκοπό της σύγκρισης των ποσοστών κατανάλωσης χρησιμοποιήθηκαν δεδομένα κατανάλωσης δημοσιευμένα από τα δίκτυα DANMAP της Δανίας, SWEDRES της Σουηδίας, NethMAP της Ολλανδίας και από την πολυκεντρική μελέτη ARMed σε Μεσογειακές χώρες (25 νοσοκομεία από Κύπρο, Αίγυπτο, Ιορδανία, Λίβανο, Μάλτα, Τυνησία, Τουρκία).

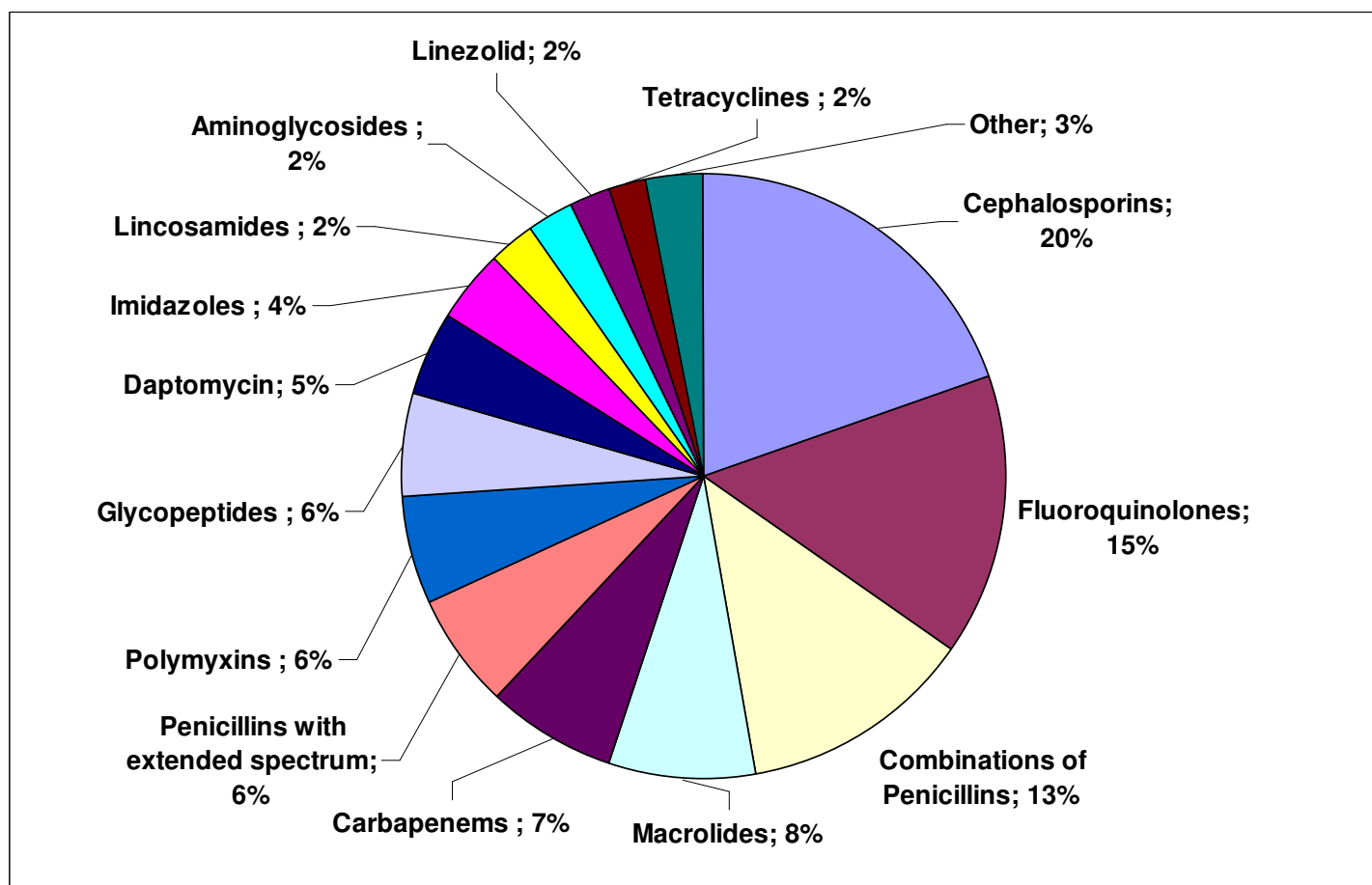
Οι κεφαλοσπορίνες (J01DA) ήταν τα συχνότερα χορηγούμενα αντιβιοτικά, τόσο στο ΠαΓΝΗ το 2008-09 (20%) όσο και στις μελέτες από τη Δανία το 2009 και Σουηδία το 2008, με ποσοστά 21% και 15% αντίστοιχα, ενώ στην Ολλανδία η συχνότητα χορήγησης κεφαλοσπορινών ήταν δεύτερη (14%) μετά τους συνδυασμούς πενικιλινών με αναστολείς (J01CR, 24%) [SWEDRES 2008, DANMAP 2009, NethMAP 2008]. Στη μελέτη ARMed η κατανάλωση ευρέως φάσματος πενικιλινών (J01CA, 18.6%) ήταν συχνότερη αλλά με μικρή διαφορά από την κατανάλωση κεφαλοσπορινών (J01DA, 18.0%) [Borg J Antimicrob Chemother 2008]. Η κατανομή της κατανάλωσης φθοριοκινολονών (J01MA) στο ΠαΓΝΗ προς το σύνολο (15%) είναι παρόμοια με αυτήν στην Ολλανδία (13%) και Δανία (13%) και υψηλότερη από τη μελέτη ARMed (8.9%), όπου όμως η κατανάλωση στα νοσοκομεία της Κύπρου, του Λιβάνου και της Ιορδανίας ξεπερνούσε το 15%. Τονίζεται επίσης το υψηλότερο ποσοστό χορήγησης καρβαπενεμών (J01DH) στο ΠαΓΝΗ (7%) σε σύγκριση με τη Δανία (4%), την Ολλανδία (1%) και τη μελέτη ARMed (διάμεσος 1.4%).

Τα πιο πάνω ποσοστά δεν πρέπει να λαμβάνονται ως απόλυτοι δείκτες σύγκρισης, αλλά βοηθούν στην κατανόηση των πρακτικών χρήσης αντιμικροβιακών στο ΠαΓΝΗ. Οι τέσσερις από τις 5 συχνότερα χορηγούμενες ομάδες αντιβιοτικών (πάνω από 50% της συνολικής κατανάλωσης) είναι αυτές με το πιο ευρύ αντιμικροβιακό φάσμα (κεφαλοσπορίνες, φθοριοκινολόνες, συνδυασμοί β-λακταμών, καρβαπενέμες) και αυτές που ενοχοποιούνται συχνότερα ως παράγοντες κινδύνου για ανάπτυξης αντοχής.

2.3.2. Κατανάλωση αντιβιοτικών σε DDD/100 ασθενοημέρες

Στον Πίνακα 2.2 συγκρίνονται τα δεδομένα κατανάλωσης αντιβιοτικών στο ΠαΓΝΗ για τις περιόδους 1998 – 2002, 2004, 2005, 2006, 2008, 2009 και Ιανουάριος – Μάρτιος 2010 (βλ. μεθοδολογία μελέτης).

Είναι φανερή η αύξηση της συνολικής κατανάλωσης συστηματικά χορηγούμενων αντιβιοτικών από την περίοδο 1998-2002 μέχρι το 2006 κατά 13.8%, με μία μικρή πτώση τα επόμενα έτη. Η κατανάλωση αντιβιοτικών σε απόλυτη τιμή DDDs παρουσιάζει **αύξηση** 73% από το 1998 (133,526 DDDs) έως το 2009 (230,419 DDDs).



Εικόνα 2.6 Κατανομή των χορηγούμενων αντιβιοτικών στο ΠαΓΝΗ για την περίοδο 2008-09

Πίνακας 2.2. Κατανάλωση αντιβιοτικών σε DDD /100 ασθενοήμερες στο ΠαΓΝΗ σε διαφορετικές χρονικές περιόδους ^α

Ομάδα αντιμικροβιακών για συστηματική χορήγηση	1998-2002	2004	2005	2006	2008	2009	Ιαν - Μαρ 2010
J01AA-Tetracyclines	2,0	1,6	1,6	1,2	2,0	2,7	3,2
J01AA12-Tigecycline	0,0	0,0	0,0	0,0	1,1	1,5	2,5
J01CA-Penicillins with extended spectrum	11,3	7,3	7,2	7,7	6,5	6,9	6,6
Without anti-pseudomonal activity	11,2	7,3	7,2	7,7	6,5	6,9	6,6
With anti-pseudomonal activity	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
J01CE-β-Lactamase-sensitive penicillins	2,9	1,2	1,1	1,0	0,6	0,4	0,3
J01CF-β-Lactamase-resistant penicillins	0,3	0,3	0,2	0,3	0,1	0,1	0,6
J01CR-Combinations of Penicillins, including enzyme inhibitors	19,9	19,2	20,2	20,4	13,5	14,4	12,4
Without anti-pseudomonal activity	17,6	13,3	13,3	13,8	8,6	8,9	7,9
With anti-pseudomonal activity	2,3	5,8	6,9	6,6	4,9	5,6	4,5
J01DA - Cephalosporins	22,9	27,5	24,8	23,1	22,0	21,8	21,5
J01DB-1st Generation	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
J01DC-2nd Generation	14,6	17,4	16,8	15,0	16,5	16,5	16,5
J01DD-3rd Generation	8,2	9,5	6,8	7,3	4,7	5,0	4,7
J01DE-4th Generation		0,6	1,2	0,8	0,7	0,4	0,4
J01DF-Monobactams	0,2	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,2
J01DH-Carbapenems	2,5	4,3	5,7	6,0	7,7	7,9	9,0
J01EE - Combinations of sulfonamides & trimethoprim					2,3	2,2	1,5
J01FA-Macrolides	12,2	14,3	12,0	11,6	10,1	7,5	7,3
J01FF-Lincosamides	3,9	3,4	3,5	3,4	2,9	2,6	2,6
J01FG-Streptogramins	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
J01GA-Streptomycins	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2
J01GB-Aminoglycosides	4,3	2,8	3,3	3,0	2,7	2,5	2,4
J01MA-Fluoroquinolones	8,7	17,5	18,0	19,8	16,8	17,1	16,3
J01XA-Glycopeptides	4,0	5,8	5,3	5,4	6,0	6,3	5,3
J01XB-Polymyxins	0,1	1,0	3,0	3,2	7,4	5,8	2,6
J01XC-Steroid Antibacterials	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1
J01XD-Imidazoles	3,4	5,1	5,7	5,6	4,2	4,4	4,4
J01XE-Nitrofurans derivatives	0,0	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0
J01XX-Other Antibacterials	0,0	0,7	1,5	2,2	7,2	8,1	10,1
J01XX08-Linezolid	0,0	0,7	1,5	2,2	2,8	2,3	0,9
J01XX09-Daptomycin	0,0	0,0	0,0	0,0	4,4	5,8	9,2
J01. Antibacterials for systemic use (Total)	98,7	112,3	113,7	114,3	110,9	110,9	106,8

^α Σύμφωνα με την ταξινόμηση ATC/DDD 2006 εκτός την περίοδο 1998-2002 (ATC/DDD 2002).

2.3.3. Σύγκριση κατανάλωσης αντιβιοτικών με άλλες μελέτες

Όπως προαναφέρθηκε, ο αριθμός των πρόσφατων μελετών με αξιόπιστα δεδομένα στην κατανάλωση αντιβιοτικών είναι περιορισμένος. Στον Πίνακα 2.3 παρουσιάζεται η κατανάλωση αντιβιοτικών στο ΠαΓΝΗ σε DDDs για τις περιόδους 1998-2002, 2004-06 και 2008-09 και συγκρίνεται με τη βιβλιογραφία [*ATB-Raisin 2008, Jacoby 2010, NethMap 2008, SWEDRES 2009, DANMAP 2009, Iosifidis 2008*]. Η σύγκριση της κατανάλωσης κατά DDD/100 ασθενοημέρες είναι ένας αξιόπιστος τρόπος να φανούν σημαντικές διαφορές στις πρακτικές συνταγογράφησης εντός του νοσοκομείου.

Η συνολική κατανάλωση αντιβιοτικών συστηματικής χορήγησης στο ΠαΓΝΗ είναι πολύ υψηλότερη σε σχέση με αντίστοιχες μελέτες από τη Γαλλία, (διάμεσος 58.2 DDD/100 ασθενοημέρες) Βραζιλία (38.2 DDD/100 ασθενοημέρες), Ολλανδία (62.2 DDD/100 ασθενοημέρες), Σουηδία (57.6 DDD/100 ασθενοημέρες) και Δανία (78.1 DDD/100 ασθενοημέρες) [*ATB-Raisin 2008, Jacoby 2010, NethMap 2008, SWEDRES 2009, DANMAP 2009*]. Η συνολική κατανάλωση αντιβιοτικών στο ΠαΓΝΗ ήταν επίσης υψηλότερη από την αντίστοιχη σε μία πολυκεντρική μελέτη σε 130 νοσοκομεία στις ΗΠΑ το 2002-03 (μέση συνολική κατανάλωση 79.2 ± 14.7 DDD/100 ασθενοημέρες) και στην πολυκεντρική πολυεθνική μελέτη ARMed από Μεσογειακές χώρες το 2004-05 (μέση συνολική κατανάλωση 97.3 DDD/100 ασθενοημέρες) [*Polk 2007, Borg J Antimicrob Chemother 2008*].

Σε σύγκριση με τη μελέτη κατανάλωσης αντιβιοτικών από τη Θεσσαλονίκη, το ΠαΓΝΗ παρουσιάζει παρόμοιο επίπεδο κατανάλωσης κεφαλοσπορινών τρίτης γενιάς και λίγο υψηλότερη κατανάλωση αμινογλυκοσιδών, φθοριοκινολονών, καρβαπενεμών και γλυκοπεπτιδίων [*Iosifidis 2008*].

Πίνακας 2.3. Σύγκριση της κατανάλωσης αντιβιοτικών σε DDD / 100 ασθενοημέρες στο ΠαΓΝΗ για τις περιόδους 1998-2002, 2004-2006 και 2008-2009 με διεθνείς μελέτες

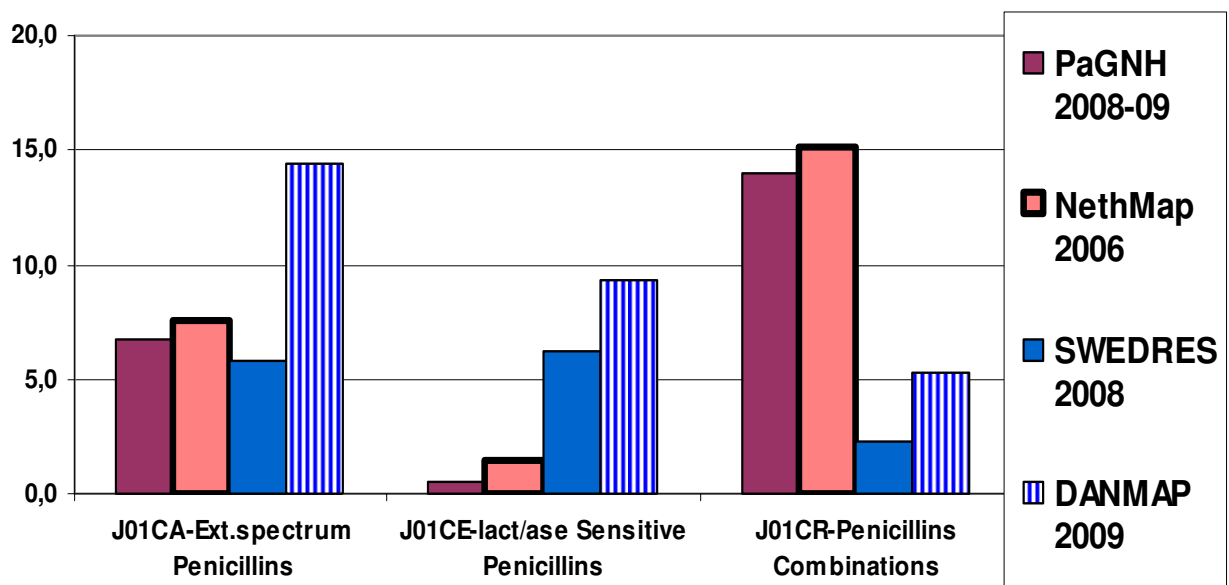
Ομάδα αντιμικροβιακών για συστηματική χορήγηση	ΠαΓΝΗ 1998 - 2002 (1)	ΠαΓΝΗ 2004-06	ΠαΓΝΗ 2008-09	Γαλλία, 30 Πανεπιστημιακά Νοσοκομεία 2008 (2)	Τριτοβάθμιο νοσοκομείο Βραζιλία 2004 -06 (3)	Ολλανδία 2006 (4)	Σουηδία 2008 (5)	Δανία 2009 (6)	Τριτοβάθμιο νοσοκομείο Θεσσαλονίκη, 2001-04 (7)*
J01AA-Tetracyclines	2,0	1,5	2,4	0,4		1,6	5,5	1,0	
J01AA12-Tigecycline	0,0	0,0	1,3						
J01CA-Penicillins with extended spectrum	11,3	7,4	6,7			7,6	5,8	14,4	
Without anti-pseudomonal activity	11,2	7,4	6,7						
With anti-pseudomonal activity	0,1	0,0	0,0						
J01CE-β-Lactamase-sensitive penicillins	2,9	1,1	0,5			1,4	6,2	9,3	
J01CF-β-Lactamase-resistant penicillins	0,3	0,3	0,1			5,9	9,6	6,9	
J01CR-Combinations of Penicillins, including enzyme inhibitors	19,9	19,9	14,0			15,1	2,3	5,3	
Without anti-pseudomonal activity	17,6	13,5	8,8						
With anti-pseudomonal activity	2,3	6,4	5,3						
J01DA-Cephalosporins	22,9	25,1	21,9	5,7	12,1-16,4	8,4	9,5		
J01DB-1st Generation	0,1	0,0	0,0					0,1	
J01DC-2nd Generation	14,6	16,4	16,5					14,7	
J01DD-3rd Generation	8,2	7,9	4,9	4,4				1,3	8,5
J01DE-4th Generation		0,9	0,6						
J01DF-Monobactams	0,2	0,1	0,1			0,0		0,1	
J01DH-Carbapenems	2,5	5,3	7,8	1,4		0,6	2,3	2,9	2,2
J01EE - Combinations of sulfonamides & trimethoprim		0,0	2,3	1,4		2,1	1,9	2,1	

J01FA-Macrolides	12,2	12,6	8,8			2,5	1,0	3,2	
J01FF-Lincosamides	3,9	3,4	2,8			2,0	1,7	0,5	
J01FG-Streptogramins	0,0	0,0	0,0						
J01GA-Streptomycins	0,1	0,0	0,0						
J01GB-Aminoglycosides	4,3	3,0	2,6	1,9	4,7-4,4	2,5	0,9	1,5	6,0
J01MA-Fluoroquinolones	8,7	18,4	17,0	7,2	4,7-10,3	8,0	6,1	10,0	8,5
J01XA-Glycopeptides	4,0	5,5	6,1	2,1		0,7	0,7	0,9	2,3
J01XB-Polymyxins	0,1	2,4	6,6			0,2		0,1	
J01XC-Steroid Antibacterials	0,2	0,2	0,1			0,0		0,3	
J01XD-Imidazoles	3,4	5,5	4,3	1,8		1,7	1,5	2,2	
J01XE-Nitrofurans derivatives	0,0	0,1	0,0			1,0		0,3	
J01XX-Other Antibacterials	0,0	1,5	7,7						
J01XX08-Linezolid	0,0	1,5	2,5			0,0	0,1	0,2	
J01XX09-Daptomycin	0,0	0,0	5,1					0,0	
J01. Antibacterials for systemic use (Total)	98,7	113,4	110,9	58,2	38,2	62,2	57,6	78,1	

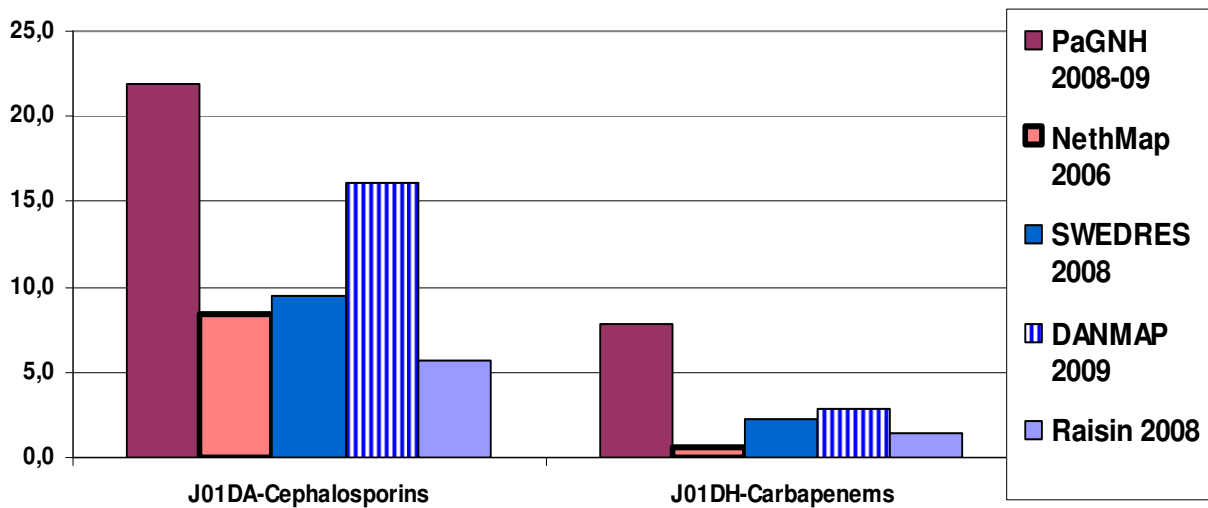
(1) Kritsotakis 2006. (2) ATB-Raisin 2008. (3) Jacoby 2010. (4) NethMap 2008. (5) SWEDRES 2009. (6) DANMAP 2009. (7) Iosifidis 2008.

*Εξαιρέθηκαν 7 τμήματα λόγω μικρού αριθμού απομονώσεων

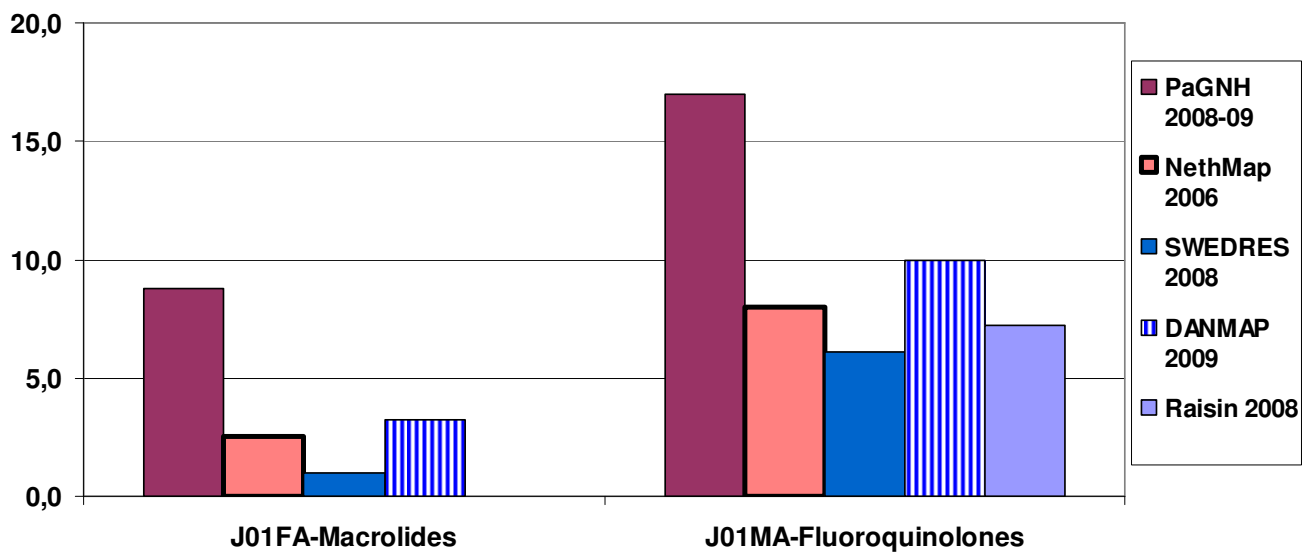
Στις Εικόνες 2.7 έως 2.10 συγκρίνεται η κατανάλωση των κυριότερων ομάδων των β-λακταμών και των νεότερων αντιβιοτικών στο ΠαΓΝΗ (2008-09) με τις προαναφερθείσες μελέτες [*NethMap 2008, SWEDRES 2009, DANMAP 2009, ATB-Raisin 2008*]. Σε σχέση με τις περισσότερες μελέτες, στο ΠαΓΝΗ παρατηρείται ίση ή χαμηλότερη κατανάλωση πενικιλινών, αλλά αρκετά υψηλότερη κατανάλωση κεφαλοσπορινών, καρβαπενεμών και νεότερων αντιβιοτικών όπως μακρολίδες, φθοριοκινολόνες, γλυκοπεπτίδια, λινεζολίδη και πολυμυξίνες. Σημειώνεται επίσης ότι η συνολική κατανάλωση πενικιλινών είναι πολύ χαμηλότερη στο ΠαΓΝΗ, ενώ διαθέσιμα δεδομένα για την κατανάλωση της δαπτομυκίνης υπήρχαν μόνο από τη Δανία, όπου παρατηρήθηκε κατά πολύ χαμηλότερη κατανάλωση (0.02 DDD/100 ασθενοημέρες το 2009) σε σχέση με το ΠαΓΝΗ (5.1 DDD/100 ασθενοημέρες το 2008-09).



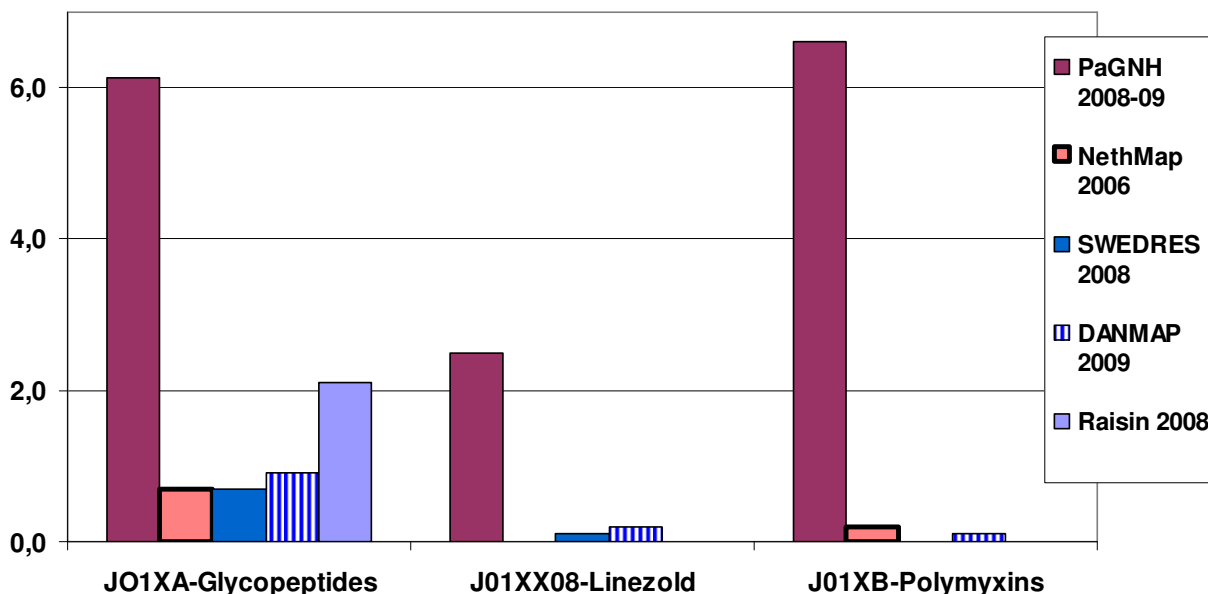
Εικόνα 2.7 Σύγκριση της κατανάλωσης των κυριότερων ομάδων β-λακταμών σε DDD/100 ασθενοημέρες στο ΠαΓΝΗ την περίοδο 2008-09 με την κατανάλωση αντιβιοτικών στην Ολλανδία (2006), Σουηδία (2008) και Δανία (2009)



Εικόνα 2.8 Σύγκριση της κατανάλωσης των κεφαλοσπορινών και καρβαπενεμών σε DDD/100 ασθενοημέρες στο ΠαΓΝΗ την περίοδο 2008-09 με την κατανάλωση αντιβιοτικών στην Ολλανδία (2006), Σουηδία (2008), Δανία (2009) και Γαλλία (2008)



Εικόνα 2.9 Σύγκριση της κατανάλωσης των μακρολιδών και φθοριοκινολονών σε DDD/100 ασθενοημέρες στο ΠαΓΝΗ την περίοδο 2008-09 με την κατανάλωση αντιβιοτικών στην Ολλανδία (2006), Σουηδία (2008), Δανία (2009) και Γαλλία (2008)



Εικόνα 2.10 Σύγκριση της κατανάλωσης των νεότερων αντιβιοτικών σε DDD/100 ασθενοημέρες στο ΠαΓΝΗ την περίοδο 2008-09 με την κατανάλωση αντιβιοτικών στην Ολλανδία (2006), Σουηδία (2008), Δανία (2009) και Γαλλία (2008)

2.3.4. Συμπεράσματα πάνω στην κατανάλωση αντιβιοτικών

Τα ευρήματα της παρούσας μελέτης δείχνουν πολύ υψηλή συνολική κατανάλωση αντιβιοτικών στο ΠαΓΝΗ σε σχέση με διεθνείς αναφορές, με τα ακόλουθες επιμέρους παρατηρήσεις:

- υψηλή κατανάλωση αντιμικροβιακών ευρέως φάσματος, όπως κεφαλοσπορίνες (J01DA-DE), φθοριοκινολόνες (J01MA) και καρβαπενέμες (J01DH)
- αυξημένη κατανάλωση νεότερων ή τελευταίας επιλογής αντιβιοτικών, όπως τιγκεκυκλίνης (J01AA12), γλυκοπεπτιδίων (J01XA), πολυμυξινών (J01XB) και δαπτομυκίνης (J01XX09)
- μείωση της κατανάλωσης αντιβιοτικών με ειδικότερο ή στενότερο φάσμα, όπως τετρακυκλίνες (J01AA, εκτός της τιγκεκυκλίνης) πενικιλίνες ευρέως φάσματος χωρίς αντιψευδομοναδική δράση (J01CA), ευαίσθητες στις β-λακταμάσες πενικιλίνες (J01CE), ανθεκτικές στις β-λακταμάσες πενικιλίνες (J01CF), συνδυασμοί πενικιλινών χωρίς αντιψευδομοναδική δράση με αναστολείς (J01CR) και μακρολίδες (J01FA)

Συγκεκριμένες διαφορές δεν παρατηρούνται μόνο στην κατανάλωση κατά DDD/100 ασθενοημέρες, αλλά και στην κατανομή ομάδων αντιβιοτικών επί του συνόλου. Για παράδειγμα, οι καρβαπενέμες είναι η πέμπτη συνηθέστερα συνταγογραφούμενη ομάδα αντιβιοτικών στο ΠαΓΝΗ, ενώ σε Ολλανδία και Δανία είναι ανάμεσα στις τελευταίες. Αντίστοιχη παρατήρηση ισχύει και για άλλες ομάδες όπως πολυμυξίνες, γλυκοπεπτιδία και δαπτομυκίνη. Αντίθετα, χαμηλή θέση στη συνολική κατανομή έχουν οι πενικιλίνες ευρέως φάσματος (J01CA), οι ευαίσθητες στις β-λακταμάσες πενικιλίνες (J01CE), οι ανθεκτικές στις β-λακταμάσες πενικιλίνες (J01CF) και οι συνδυασμοί τριμεθοπρίμης/σουλφοναμιδών (J01EE).

Η συχνότητα χορήγησης των **κεφαλοσπορινών** τρίτης και τέταρτης γενιάς φαίνεται να μειώνεται μετά το 2006, και πιθανόν να οφείλεται στον περιορισμό της χορήγησής τους λόγω διασποράς ανθεκτικών gram-αρνητικών μικροοργανισμών και

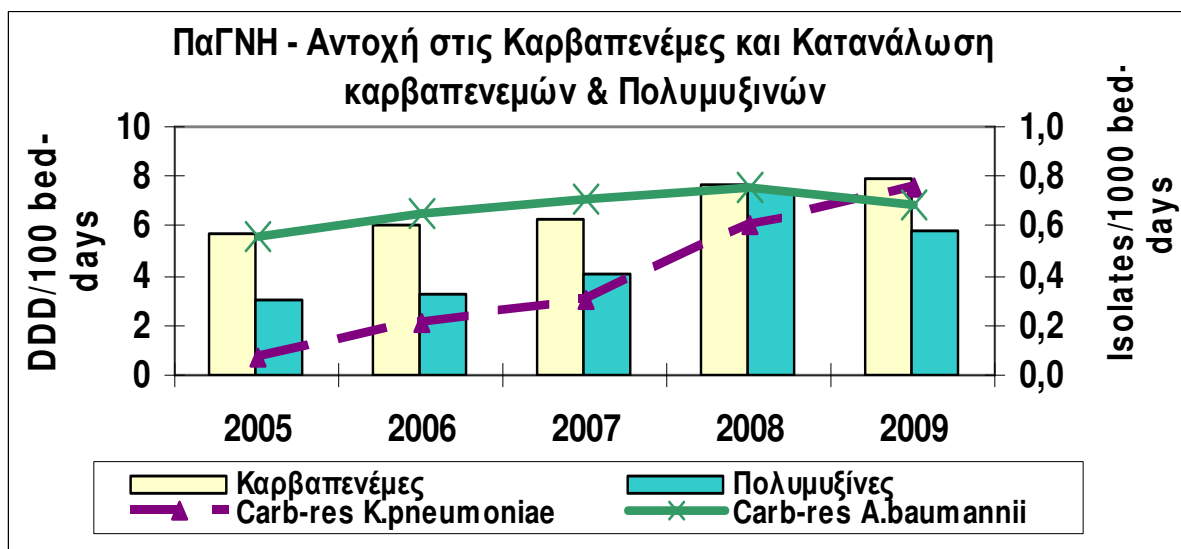
την επακόλουθη χρήση εναλλακτικών δραστικών αντιβιοτικών. Σε άλλα κράτη όπως η Σουηδία, για τη μείωση της διασποράς ανθεκτικών gram-αρνητικών γίνονται προσπάθειες μείωσης της χορήγησης κεφαλοσπορινών με την εναλλακτική χορήγηση β-λακταμών [Swedres 2008, <http://en.strama.se/dyn/84,,.html>]. Στο ΠαΓΝΗ αντίθετα μεγάλη χρήση αντιβιοτικών ευρέως φάσματος.

Για παράδειγμα οι **φθοριοκινολόνες** έχουν ευρύ αντιμικροβιακό φάσμα, εύκολη χορήγηση και δοσολογία, μικρό ποσοστό παρενεργειών και σχετικά χαμηλό κόστος, οδηγώντας σε ευρεία χορήγησή τους (15% της συνολικής αντιβιοτικής αγωγής στο ΠαΓΝΗ). Η υψηλότερη κατανάλωση φθοριοκινολονών παρατηρείται στη Γενική Παθολογική κλινική (13.4% των φθοριοκινολονών του νοσοκομείου), ενώ υψηλά ποσοστά κατανάλωσης παρατηρούνται παρατηρείται στις κλινικές Γενικής Χειρουργικής/Χειρουργικής Ογκολογικής (19% της κατανάλωσης αντιβιοτικών), Γαστρεντερολογική κλινική (18%), Καρδιολογική – ΜΕΠΚ (17%), Αιματολογική (16%) και Ορθοπεδική κλινική (15%). Οι παρατηρήσεις αυτές θα μπορούσαν να εξηγήσουν εν μέρει τα υψηλά ποσοστά αντοχής στις φθοριοκινολόνες που παρατηρούνται σε ορισμένα από τα τμήματα αυτά καθώς υπάρχουν αρκετές μελέτες στις οποίες προηγούμενη έκθεση στις φθοριοκινολόνες είναι παράγοντας κινδύνου για απομόνωση ανθεκτικών στελεχών [Paterson Clin Infect Dis 2004]. Θα μπορούσαν εν μέρει να εξηγήσουν και το υψηλό ποσοστό VRE που παρατηρείται σε ορισμένα από αυτά τα τμήματα [Kritsotakis 2008].

Στην Εικόνα 2.11 παρουσιάζεται η επίπτωση της ανθεκτικής στις καρβαπενέμες *K. pneumoniae* (μωβ διακεκομμένη γραμμή) η οποία εμφανίστηκε το 2005, σε σχέση με τη χρήση καρβαπενεμών (μπλε στήλες). Επακόλουθο αυτής της αύξησης της ανθεκτικής *K. pneumoniae* ήταν η αυξανόμενη κατανάλωση πολυμυξινών (μπλε στήλες), που το 2008 ήταν υπερδιπλάσια σε σχέση με το 2006. Παράλληλα η επίπτωση των περιστατικών ανθεκτικής στις καρβαπενέμες *K. pneumoniae* υπερδιπλασιάστηκε μεταξύ 2006 και 2008. Αντίθετα η επίπτωση του ανθεκτικού *A. baumannii* (πράσινη συμπαγής γραμμή) την περίοδο αυτή παρέμεινε σχετικά σταθερή και αποτελεί πιθανότερα το λόγο για τον οποίον χορηγούνταν κολιστίνη πριν την εξάπλωση της ανθεκτικής *K. pneumoniae*.

Σχεδόν το 60% της συνολικής χορήγησης **καρβαπενεμών** παρατηρείται στα ίδια 4 τμήματα: Γενική Παθολογική (16.5%), ΜΕΘ Ενηλίκων (15.6%), Νευροχειρουργική (14.2%) και Αιματολογική κλινική (13.4%). Η παρατήρηση αυτή ενισχύει την υπόθεση της πίεσης επιλογής, στην οποία το μεγαλύτερο ποσοστό ανθεκτικών στις καρβαπενέμες στελεχών *K. pneumoniae* και *A. baumannii* βρέθηκε τρία από τα 4 αυτά τμήματα.

Μετά την εισαγωγή της **τιγκεκυκλίνης** στο νοσοκομείο το 2007, παρατηρείται αύξηση από 0,06 DDD/1000 ασθενοημέρες το 2007 στις 2,5 DDD/1000 ασθενοημέρες το πρώτο τρίμηνο του 2010. Η αύξηση αυτή μπορεί να αποδοθεί στην εμφάνιση και διασπορά εξαιρετικά ανθεκτικών (XDR) gram-αρνητικών βακτηριδίων. Αυτή η υπόθεση ενισχύεται κι από τη σημαντική αύξηση της χρήσης πολυμυξινών (J01XB) μεταξύ 2004 και 2008, ενώ στη συνέχεια η χρήση τους μειώνεται σημαντικά παράλληλα με την αύξηση της χρήσης της τιγκεκυκλίνης.



Εικόνα 2.11 Συσχέτιση της επίπτωσης της ανθεκτικής στις καρβαπενέμες *K. pneumoniae* στο ΠαΓΝΗ (μωβ διακεκομμένη γραμμή) με την κατανάλωση καρβαπενεμών (μπεζ στήλη) και πολυμυξινών (μπλε στήλη). Πράσινη συνεχόμενη γραμμή: Ανθεκτικό στις καρβαπενέμες *A. baumannii*. Carb-res: αντοχή στις καρβαπενέμες

Το 22.8% της συνολικής κατανάλωσης **λινεζολίδης** γίνεται στη Γενική Παθολογική κλινική, το 14.4% στην Καρδιολογική κλινική/ΜΕΠΚ και το 13.0% στη ΜΕΘ Ενηλίκων. Η μεγάλη αυτή χορήγηση λινεζολίδης σε σχέση με την αντίστοιχη επίπτωση αντοχών θα μπορούσε να μερικώς να εξηγηθεί στη ΜΕΘ όπου το ποσοστό απομόνωσης του VRE είναι σχετικά υψηλό (14%). Όσον αφορά στη **δαπτομυκίνη**, αυξάνεται προοδευτικά και το 70% της κατανάλωσης παρατηρείται στην Αιματολογική (35.7%), στη Γενική Παθολογική κλινική (14.2%), στην ΠΟΓΚ (11.6%) και στην Ορθοπαιδική κλινική (10.9%). Η αυξημένη χρήση των αντιβιοτικών αυτών πιθανά να μπορεί να αποδοθεί και στην αύξηση του ποσοστού των μη-χειρουργικών ιατρικών παρεμβάσεων.

Απο τα δεδομένα αντοχών και κατανάλωσης στο ΠαΓΝΗ, η βασικότερη περίπτωση στην οποία θα μπορούσε να χορηγηθεί εμπειρικά λινεζολίδη είναι η υποψία πνευμονίας από MRSA, ενώ αντίστοιχα η δαπτομυκίνη που δεν έχει ένδειξη για λοιμώξεις αναπνευστικού θα μπορούσε να χορηγηθεί εναλλακτικά σε επιπλεγμένες λοιμώξεις δέρματος-μαλακών μορίων, σε ενδοκαρδίτιδα, και σε σοβαρές βακτηριαμίες από ανθεκτικά gram-θετικά (π.χ. σε ασθενή με ενδοφλέβιους καθετήρες, με προηγούμενη νοσηλεία σε Παθολογικά τμήματα) [Rice 2006, Manfredi 2006, Eliopoulos 2009].

Η μελέτη αυτή εντόπισε **σημαντικές διαφορές** από άλλα κέντρα στις πρακτικές συνταγογράφησης αλλά και συγκεκριμένα σημεία που επιδέχονται παρέμβασης. Παρά τις λίγες διαθέσιμες μελέτες για σύγκριση, η ανάγκη βελτίωσης των πρακτικών κατανάλωσης αντιβιοτικών στο ΠαΓΝΗ καθίσταται προφανής από δύο σημαντικά ευρήματα: την πολύ υψηλή συνολική κατανάλωση αντιβιοτικών (σε DDD και DDD/1000 ασθενοημέρες) και τα υψηλότερα ποσοστά συγκεκριμένων αντοχών και πολυαντοχών, των οποίων η επικράτηση και διασπορά σχετίζεται στη βιβλιογραφία με τη χρήση αντιβιοτικών.

Προηγούμενες μελέτες έχουν δείξει άμεση συσχέτιση μεταξύ της κατανάλωσης αντιβιοτικών στην κοινότητα και της κατανάλωσης αντιβιοτικών στο νοσοκομείο. Παρόλο που η κατανάλωση αντιβιοτικών στα νοσοκομεία έχει σχετικά μικρή

συμβολή στη συνολική κατανάλωση, η πολύ συγκεντρωμένη συνολική έκθεση των ασθενών και της νοσοκομειακής χλωρίδας στα αντιμικροβιακά ασκεί πολύ μεγαλύτερη οικολογική πίεση [Vander Stichele 2006]. Συνεπώς, μελλοντικές προσπάθειες θα πρέπει να καταδείξουν κοινά πεδία βελτίωσης της χρήσης αντιβιοτικών στην κοινότητα και στο νοσοκομείο.

2.4. Συζήτηση - Συμπεράσματα

Πρόκειται για την πρώτη προσπάθεια κοινοποίησης των αποτελεσμάτων των καλλιεργειών και της κατανάλωσης αντιβιοτικών του ΠαΓΝΗ. Επίσημες οδηγίες διεθνών οργανισμών συνιστούν την περιοδική αναφορά ανάλογων δεδομένων προς τα τμήματα και τη διοίκηση [Siegel 2007]. Σημειώνεται ότι επιπλέον της παραπάνω αναφοράς που αφορά στο σύνολο του νοσοκομείου και παρουσιάζεται στην παρούσα διδακτορική διατριβή, υπάρχουν διαθέσιμα δεδομένα υπό μορφή αναφοράς, τα οποία αφορούν στις αντοχές και στην κατανάλωση αντιβιοτικών σε κάθε τμήμα του νοσοκομείου ξεχωριστά.

Σύνταξη αναφορών σαν την παραπάνω εξυπηρετούν στη γνωστοποίηση της τοπικής χλωρίδας και των αντίστοιχων αντοχών και αποτελούν οδηγό για ανάλογη αναθεώρηση και τροποποίηση της εμπειρικής αγωγής, στον έγκαιρο εντοπισμό και περιορισμό επιδημιών από ανθεκτικά στελέχη, στον έγκαιρο εντοπισμό της εμφάνισης νέων αντοχών, στη γνωστοποίηση των πρακτικών συνταγογράφησης αντιβιοτικών και στην παροχή συστάσεων για βελτίωση των πρακτικών αυτών.

Για την καταγραφή της συχνότητας και της εξέλιξης των αντοχών καλύφθηκε ένα ευρύ χρονικό διάστημα 15 μηνών ώστε να περιληφθούν όσο το δυνατόν περισσότερα τμήματα του νοσοκομείου και να ενισχυθεί η εγκυρότητα των αποτελεσμάτων μέσω μεγαλύτερων αριθμών απομονώσεων και παθογόνων. Παράλληλα έγινε σύγκριση των αποτελεσμάτων του διαστήματος αυτού με δεδομένα αντοχών της προηγούμενης πενταετίας 2005-09 για να συσχετισθεί η εξέλιξη της αντοχής των μικροοργανισμών με την κατανάλωση αντιβιοτικών..

Περίπου το ένα τέταρτο των συνολικών καλλιεργειών προέρχονται από τμήματα εξωτερικής βάσης, όπου κυριαρχούν οι καλλιέργειες ούρων, ενώ η χλωρίδα των εξωτερικών αυτών τμημάτων εμφανίζει διαφορετικό προφίλ απομόνωσης από τα νοσοκομειακά στελέχη. Οι απομονώσεις από τα νοσοκομειακά τμήματα προέρχονται κυρίως από τη ΜΕΘ, από Παθολογικά τμήματα (Γενικής Παθολογίας, Αιματολογίας-Νεφρολογίας, Παθολογίας-Ογκολογίας) και το τμήμα Γενικής Παιδιατρικής. Η χλωρίδα στα παιδιατρικά τμήματα επίσης παρουσιάζει διαφορές από τα υπόλοιπα τμήματα του νοσοκομείου, με χαμηλότερες συχνότητες αντοχών κυρίως στα gram-αρνητικά, πιθανότατα λόγω χαμηλότερης κατανάλωσης αντιβιοτικών ευρέως φάσματος.

Όπως έχει ήδη τονισθεί, οι απομονώσεις και αντοχές των παθογόνων στις αιμοκαλλιέργειες θεωρούνται αξιόπιστος δείκτης της εξέλιξης των αντοχών των παθογόνων σε ένα νοσοκομείο [Cohen 2008]. Για το λόγο αυτό πρέπει να δοθεί ιδιαίτερη σημασία στα τμήματα με υψηλή επίπτωση απομονώσεων στο αίμα (Πίνακας 2.1).

Χαμηλά ποσοστά αντοχών βρέθηκαν στον ανθεκτικό στη βανκομυκίνη εντερόκοκκο και στο *E. coli*. Στην *P. aeruginosa* βρέθηκαν αξιοσημείωτα ποσοστά αντοχών τα οποία όμως είναι χαμηλά συγκριτικά με άλλες μελέτες επιτήρησης. Τα ποσοστά αντοχών των σταφυλόκοκκων στη μεθικιλίνη ήταν παρόμοια με αυτά από αρκετές διεθνείς μελέτες και χαμηλότερα από μελέτες των ΗΠΑ.

Τα κυριότερα προβλήματα εντοπίστηκαν στα συχνότερα για το ΠαΓΝΗ νοσοκομειακά παθογόνα. Συγκεκριμένα το *A. baumannii*, το συχνότερο παθογόνο του κατώτερου αναπνευστικού και ιδιαίτερα συχνό στη ΜΕΘ, εμφανίζει εξαιρετικά υψηλά ποσοστά αντοχής στην ιμιπενέμη. Η *K. pneumoniae* που είναι ανάμεσα στα συχνότερα παθογόνα του νοσοκομείου και το δεύτερο συχνότερο παθογόνο στο αίμα, εμφανίζει πολύ υψηλά ποσοστά αντοχής σε όλες τις β-λακτάμες συμπεριλαμβανομένων των καρβαπενεμών και στις φθοριοκινολόνες. Τα 2 αυτά παθογόνα καθιστούν αναγκαία την εμπειρική χρήση κολιστίνης, τιγκεκυκλίνης και αμινογλυκοσιδών σε ασθενείς με παράγοντες κινδύνου, όπως είναι: οι νοσηλεύόμενοι στη ΜΕΘ, Γενική Παθολογική, Αιματολογική κλινική (σημ. οι αμινογλυκοσίδες αποφεύγονται σε νεφροπαθείς), σε ασθενείς σε βαριά γενική κατάσταση (π.χ. πολλαπλά συνυπάρχοντα νοσήματα, ανοσοκαταστολή, APACHE II score >10-15), σε ασθενείς με παρατεταμένη ενδονοσοκομειακή παραμονή, σε ασθενείς με ιστορικό πολλαπλών παρεμβατικών διαδικασιών (π.χ. κεντρικός αγγειακός καθετήρας, μηχανικός αερισμός) και με ιστορικό χορήγησης πολλαπλών αντιβιοτικών.

Η κατανάλωση προωθημένων αντιβιοτικών για πολυανθεκτικά παθογόνα (κολιστίνη, τιγκεκυκλίνη) βρέθηκε εξαιρετικά υψηλή σε τμήματα όπου παράλληλα εμφανίζουν υψηλό ποσοστό αντοχών. Ταυτόχρονα όμως βρέθηκε μεγάλη κατανάλωση επιπλέον ομάδων αντιβιοτικών (καρβαπενέμες, φθοριοκινολόνες, κεφαλοσπορίνες τρίτης γενιάς), που αποδεδειγμένα ενισχύουν τον κίνδυνο διασποράς ανθεκτικών παθογόνων, δημιουργώντας έτσι ένα φαύλο κύκλο, όπου η αυξημένη πίεση επιλογής από αντιβιοτικά ευρέως φάσματος ευνοεί τη διασπορά πολυανθεκτικών μικροβίων, των οποίων η αντιμετώπιση απαιτεί τη χορήγηση τελευταίας γραμμής αντιβιοτικών. Αυτή η υπόθεση έχει παρουσιαστεί εκτενέστερα και έχει υποστηριχθεί και σε άλλες μελέτες [Meyer 2010].

Οι σταφυλόκοκκοι είναι επίσης συχνά παθογόνα στο ΠαΓΝΗ και συγκεκριμένα οι κοαγκουλάση-αρνητικοί σταφυλόκοκκοι (CNS) ήταν τα συχνότερα παθογόνα στο αίμα. Αν και οι αντοχές των CNS είναι χαμηλότερες από τις περισσότερες χώρες που συγκρίθηκαν, και πάλι καθιστούν την οξακιλίνη και τις φθοριοκινολόνες αναποτελεσματικές στις μισές περίπου περιπτώσεις απομόνωσης CNS. Γι' αυτό η εμπειρική θεραπεία κυρίως σε βακτηριαμίες σε ασθενείς με παράγοντες κινδύνου (π.χ. με ενδαγγειακούς καθετήρες, με μακρά διάρκεια νοσηλείας κυρίως στη ΜΕΘ και σε Παθολογικά τμήματα) πρέπει να βασίζεται σε άλλα αντισταφυλοκοκκικά αντιβιοτικά έως ότου γνωστοποιηθεί το αντιβιογράμμα. Θα ήταν επίσης ορθότερη η αποφυγή εμπειρικής χορήγησης νεότερων αντιβιοτικών, όπως λινεζολίδη και δαπτομυκίνη, με σκοπό τη διατήρησή τους στην αντιμετώπιση επιπλεγμένων λοιμώξεων.

Υπάρχουν διαθέσιμες οδηγίες για την ανάπτυξη και εφαρμογή προγράμματος βελτίωσης των πρακτικών αντιβιοθεραπείας (antimicrobial stewardship) σε ένα νοσοκομείο. Γενικά μέτρα τα οποία μπορούν να εφαρμοσθούν για τη βελτίωση της κατανάλωσης αντιμικροβιακών είναι [Dellit 2007, Archer 2005, Bratzler 2004]:

- Αποφυγή εμπειρικής αγωγής όπου είναι δυνατόν, εν αναμονή των αποτελεσμάτων της καλλιέργειας, σε ασθενείς χωρίς σοβαρές συννοσηρότητες και σε λοιμώξεις μικρής ή ήπιας βαρύτητας
- Αποφυγή χορήγησης μονοθεραπείας (πχ. φωσφομυκίνη ή τιγκεκυκλίνη γενικά, φθοριοκινολόνες ή ριφαμπικίνη σε λοιμώξεις από σταφυλόκοκκο, φθοριοκινολόνες ή καρβαπενέμες σε λοιμώξεις από *Pseudomonas spp*)
- Εμπειρική αγωγή σύμφωνα με το ιστορικό του ασθενούς (παράγοντες κινδύνου, προηγούμενη αντιβίωση, τοπική επιδημιολογία αντοχών) για την κάλυψη των πιο πιθανών παθογόνων

- Καθημερινός έλεγχος της αντιβιοθεραπείας και τροποποίηση σύμφωνα με το αντιβιογράμμα:
 - Αντικατάσταση ευρέως φάσματος αντιβιοτικών όταν το αντιβιογράμμα είναι γνωστό (π.χ. αντικατάσταση γλυκοπεπτιδίων με οξακιλίνη, κεφαλοσπορινών τρίτης γενιάς με πενικιλίνες ευρέως φάσματος)
 - Μείωση της χορήγησης αντιβιοτικών τελευταίας επιλογής όσο το δυνατόν περισσότερο (καρβαπενεμών, πολυμυξινών, τιγκεκυκλίνης, λινεζολίδης, δαπτομυκίνης)
 - Καθημερινός έλεγχος για διακοπή της αντιβιοθεραπείας
- Καθημερινός έλεγχος και αφαίρεση παρεμβατικών συσκευών (ενδοφλέβιοι καθετήρες, ουροκαθετήρες) όταν δεν είναι πλέον αναγκαίες
- Μετάβαση από ενδοφλέβια σε από του στόματος θεραπεία όταν ο ασθενής ανταποκρίνεται στην αντιβίωση
- Συνέχιση της αντιβιοθεραπείας κατ'οίκον όταν ο ασθενής έχει ανταποκριθεί επαρκώς και δεν είναι απαραίτητο να παραμένει στο νοσοκομείο
- Χορήγηση της χειρουργικής προφύλαξης σύμφωνα με τις υπάρχουσες οδηγίες: η διάρκεια της χειρουργικής προφύλαξης να μην ξεπερνά τις 24 ώρες από την επέμβαση, με την εξαίρεση των καρδιοχειρουργικών επεμβάσεων (μέχρι 72 ώρες)
- Επικοινωνία με λοιμωξιολόγο και με την Επιτροπή Ελέγχου Νοσοκομειακών Λοιμώξεων όταν υπάρχει δυσκολία στον έλεγχο μίας λοίμωξης

Είναι σημαντικό να υπογραμμισθεί ότι η επίπτωση των αντοχών σε ένα δεδομένο χώρο δεν μπορεί να μειωθεί μόνο με την ελάττωση της πίεσης που ασκείται από τα αντιβιοτικά. Όπως φάνηκε στη μελέτη αυτή, σε πολλές περιπτώσεις η αυξημένη κατανάλωση αντιβιοτικών δεν μπορούσε να εξηγήσει την ύπαρξη υψηλών ποσοστών αντοχών. Χρειάζονται συμπληρωματικά μέσα όπως ενίσχυση των μέτρων ελέγχου λοιμώξεων και περιορισμός των επαφών με αποικισμένους ασθενείς.

Συμπερασματικά, οι πολυαντοχές της *K. pneumoniae* και του *A. baumannii* (σε β-λακτάμες, κεφαλοσπορίνες, καρβαπενέμες, φθοριοκινολόνες) περιορίζουν σημαντικά τις διαθέσιμες θεραπευτικές επιλογές και ενέχουν τον κίνδυνο αποτυχίας της εμπειρικής θεραπείας, κυρίως σε τμήματα με υψηλή συχνότητα και με ασθενείς υψηλού κινδύνου. Η αντοχή των σταφυλόκοκκων στη μεθικιλίνη κάνει σχεδόν απαγορευτική την εμπειρική χρήση της, ενώ οι φθοριοκινολόνες διατηρούν την αποτελεσματικότητά τους έναντι του *S. aureus* αλλά ενοχοποιούνται στην ανάδυση διαφόρων τύπων αντοχής.

Συνεπώς, για τη μείωση της επίπτωσης των σοβαρών αυτών αντοχών, τον περιορισμό της διασποράς τους και τη βελτίωση των πρακτικών χορήγησης αντιβιοτικών απαιτούνται πολλαπλά παράλληλα μέτρα. Επιγραμματικά:

- ενίσχυση των μέτρων ελέγχου λοιμώξεων και κυρίως της υγιεινής των χεριών,
- εφαρμογή μέτρων απομόνωσης επαφής σε αποικισμένους ασθενείς,
- διατήρηση της αποτελεσματικότητας των αντιβιοτικών τελευταίας επιλογής και βελτίωση των πρακτικών αντιβιοθεραπείας
- έλεγχος της κατάστασης αποικισμού νεοεισαχθέντων ασθενών σε τμήματα υψηλού κινδύνου (admission screening).

Οι βασικές προφυλάξεις επαφής πρέπει να εφαρμόζονται σε όλους τους ασθενείς ανεξαρτήτως κατάστασης αποικισμού, ενώ τα μέτρα απομόνωσης επαφής πρέπει να εφαρμόζονται σε αποικισμένους με πολυανθεκτικά ασθενείς: απομόνωση του ασθενούς για περιορισμό της επαφής του με μη αποικισμένους, εφαρμογή γαντιών και ποδιών πριν από κάθε επαφή με τον ασθενή και υγιεινή των χεριών πριν και μετά

από κάθε επαφή. Για περισσότερες λεπτομέρειες υπάρχουν διεθνείς οδηγίες για έλεγχο των πολυανθεκτικών μικροοργανισμών [Siegel 2007, HICPAC 1995, Tacconelli 2014].

2.5. Μελέτη της μικροβιακής αντοχής και κατανάλωσης αντιβιοτικών στη ΜΕΘ Ενηλίκων ΠαΓΝΗ

2.5.1. Συνολικές απομονώσεις στη ΜΕΘ

Για το διάστημα Ιανουάριος 2009 – Μάρτιος 2010 η ΜΕΘ είχε 600 μοναδικές απομονώσεις που αντιστοιχούν στο 12.8% των νοσοκομειακών απομονώσεων. Οι 190 απομονώσεις (31.7%) ήταν στο αίμα, 30 ήταν στα ούρα και 227 ήταν από το κατώτερο αναπνευστικό. Τα συχνότερα παθογόνα της ΜΕΘ ήταν:

- CNS 23.2% (139/600)
- *A. baumannii* 15.3% (92/600)
- *K. pneumoniae* 13.2% (79/600)
- *P. aeruginosa* 9.5% (57/600)
- *Enterococcus spp* 7.2% (43/600)
- *Escherichia coli* 5.5% (33/600)
- *S. aureus* 5.3% (32/600)
- *Proteus mirabilis* 3.8% (23/600)
- *Enterobacter spp* 3.3% (20/600)

Τα gram-θετικά ήταν πιο συχνά στο αίμα (66.8%) με τους CNS να επικρατούν (53.7%), ακολουθούμενοι από *K. pneumoniae* (8.4%), *A. baumannii* (6.8%), *Enterococcus spp* (6.3%), *P. aeruginosa* (5.3%), και *S. aureus* (3.7%).

Τα gram-αρνητικά ήταν κατά πολύ συχνότερα στις απομονώσεις στα ούρα (86.7%), με την *K. pneumoniae* να επικρατεί στο 1/3 των απομονώσεων, αντίθετα από τα αποτελέσματα του συνόλου του ΠαΓΝΗ όπου επικρατούσε το *E. coli*.

Σε αντίθεση με τα περισσότερα τμήματα όπου οι απομονώσεις στο κατώτερο αναπνευστικό (βρογχικό έκπλυμα και βρογχικές εκκρίσεις) ήταν ελάχιστες σε αριθμό, στη ΜΕΘ ήταν οι συχνότερες απομονώσεις (37.8% του συνόλου της ΜΕΘ και 50.2% των συνολικών απομονώσεων κατώτερου αναπνευστικού του ΠαΓΝΗ). Τα gram-αρνητικά ήταν πολύ πιο συχνά (78.9%) με το *A. baumannii* να επικρατεί.

2.5.2. Αντοχές παθογόνων στη ΜΕΘ

Στον Πίνακα 2.4 συγκρίνονται τα ποσοστά αντοχών των κυριότερων παθογόνων της ΜΕΘ με αυτά των νοσοκομειακών στελεχών ΠαΓΝΗ.

Πίνακας 2.4. Σύγκριση των αντοχών των κυριότερων παθογόνων ΜΕΘ με τα αντίστοιχα του συνόλου των νοσοκομειακών στελεχών ΠαΓΝΗ

	ΜΕΘ	ΠαΓΝΗ	P
<i>E. coli</i> ESBL	6.1%	6.6%	0.657
<i>E. coli</i> FQ-R	15.2%	18.8%	0.397
<i>K. pneumoniae</i> ESBL	75.9%	61.8%	0.010
<i>K. pneumoniae</i> IPM	70.9%	47.0%	<0.001
<i>K. pneumoniae</i> FQ-R	72.2%	56.8%	0.007
<i>K. pneumoniae</i> Colistin-R	20.3%	8.0%	0.002
<i>P. aeruginosa</i> FQ-R	21.4%	13.9%	0.105
<i>P. aeruginosa</i> IPM	33.9%	21.7%	0.036
<i>P. aeruginosa</i> genta-R	12.5%	7.8%	0.178
<i>A. baumannii</i> IPM	96.7%	83.6%	0.001
CNS Met-R	87.8%	71.2%	<0.001
CNS FQ-R	28.8%	22.5%	0.068
<i>S. aureus</i> MRSA	28.1%	40.8%	0.114
<i>S. aureus</i> FQ-R	6.3%	6.1%	0.608
<i>Enterococcus</i> VRE	14.0%	5.8%	0.047

ESBL: παραγωγή ευρέως φάσματος β-λακταμάσης, FQ-R: αντοχή στις φθοριοκινολόνες, IPM: μιπενέμη, genta-R: αντοχή στη γενταμικίνη, CNS: κοαγκουλάση-αρνητικοί σταφυλόκοκκοι, Met-R: αντοχή στη μεθικιλίνη, MRSA: μεθικιλίνη-ανθεκτικός *S. aureus*, VRE: ανθεκτικός στη βανκομυκίνη εντερόκοκκος. Σε σκούρο κελί οι στατιστικά σημαντικές συγκρίσεις (one-tailed p <0.10).

Σε σύγκριση με τα δεδομένα άλλων ΜΕΘ από τη διεθνή βιβλιογραφία (Πίνακας 2.5), παρατηρούνται τα παρακάτω στη ΜΕΘ ΠαΓΝΗ:

- πολύ υψηλότερα ποσοστά αντοχής σε *K. pneumoniae* και *A. baumannii*
- χαμηλότερα ποσοστά αντοχής στα στελέχη *E. coli*
- ίσα ή χαμηλότερα ποσοστά αντοχής στα στελέχη *P. aeruginosa*
- ίσα ή χαμηλότερα ποσοστά αντοχής των gram-θετικών κόκκων
- χαμηλότερα ποσοστά αντοχής στις φθοριοκινολόνες σε όλα σχεδόν τα παθογόνα

Σε σύγκριση με τις Ελληνικές μελέτες (Πίνακας 2.6), η ΜΕΘ ΠαΓΝΗ εμφανίζει χαμηλότερα ποσοστά παραγωγής ESBL, χαμηλότερες αντοχές στα στελέχη *P. aeruginosa*, αλλά πολύ υψηλότερες αντοχές *K. pneumoniae* στις φθοριοκινολόνες και καρβαπενέμες και των στελεχών *A. baumannii* στις καρβαπενέμες. Όσον αφορά στα gram-θετικά, και πάλι η ΜΕΘ ΠαΓΝΗ εμφανίζει χαμηλότερα ποσοστά αντοχής *S. aureus* στις φθοριοκινολόνες, MRSA και VRE. Φαίνεται λοιπόν πως ο κοινός παρονομαστής μεταξύ όλων των ελληνικών ΜΕΘ και που χρήζει άμεσης αντιμετώπισης στη ΜΕΘ ΠαΓΝΗ, είναι οι υψηλές αντοχές της *K. pneumoniae* και *A. baumannii*.

Πίνακας 2.5. Σύγκριση των ποσοστών αντοχών των κυριότερων παθογόνων της ΜΕΘ ΠαΓΝΗ με αντίστοιχα ποσοστά αντοχών από διεθνείς μελέτες

	ΜΕΘ ΠαΓΝΗ 2009 – 10	Γερμανία (SARI), 53 ΜΕΘ 2008 (1)	Ολλανδία (NethMap) 15 ΜΕΘ 2006 (2) §	Σουηδία (ICU-STRAMA), 29 ΜΕΘ 1999-2000 (3) §	Σιγκαπούρη 6 ΜΕΘ 2006 (4) §	Β.Αμερική (SENTRY), λοιμώξεις σε 25 ΜΕΘ 2001 (5)	ΗΠΑ, λοιμώξεις σε 42-99 ΜΕΘ 2002-04 (6)	Κύπρος, 4 ΜΕΘ, στελέχη από λοιμώξεις, 2007 (7)	Ηνωμένο Βασίλειο, βακτηριαιμίες 2001-06 (8)	EARSS, στελέχη από αίμα&ENY 2007-08 (9)	Κεντρική Ευρώπη (Care-ICU) 2005 (10) §
<i>E. coli</i> ESBL	6.1%	10.5%*		<5%*	33.4%*	8.2%	2.8%*				10.5%
<i>E. coli</i> FQ	15.2%	24.2%		5-7%	41.6%	12.7%	17.5%			22.9%	13.2%
<i>K. pneumoniae</i> ESBL	75.9%	15.1%*	2%*	<5%*	37.2%*	16.2%	4.6%*	38.5%*		50.3%	26.4%
<i>K. pneumoniae</i> IPM	70.9%	1.1%		<5%		0%	1.7%	0.0%			1.2%
<i>K. pneumoniae</i> FQ	72.2%		12%	5-7%	36.7%	15.4%	18.2%				2.3%
<i>K. pneumoniae</i> Colistin	20.3%										
<i>P. aeruginosa</i> FQ	21.4%	16.0%		15%		30.4%	33.7%	36.1%	24.2%		26.3%
<i>P. aeruginosa</i> IPM	33.9%	25.5%	<2%	30%	18.3%	21.7%	18.3%	29.8%	14.9%	33.3%	23.6%
<i>P. aeruginosa</i> genta	12.5%		6%§§	0-9%***		19.3%	15.5%§§		9.5%		28.7%
<i>A. baumannii</i> IPM	96.7%	4.5%		<5%	59.7%	18.9%	12.1%	0.0%			25.1%
CNS Met	87.8%		90%**	71%		83.9%		86.7%			
CNS FQ	28.8%		60%**	85-100%		65.6%					
<i>S. aureus</i> MRSA	28.1%	19.5%	0-4%	2%	46.7%	51.4%		68.2%	63.5%	30.5%	29.9%
<i>S. aureus</i> FQ	6.3%		7%	85-100%		52.4%					

Enterococcus VRE	14.0%	8.2%	0%		1.2%	28.4%		3.4%		0.9%	
-------------------------	-------	------	----	--	------	--------------	--	------	--	------	--

FQ: αντοχή στις φθοριοκινολόνες. IPM: αντοχή στην ιμιπενέμη. genta: γενταμικίνη. Met: αντοχή στη μεθικιλίνη.

*ανθεκτικά στις κεφαλοσπορίνες τρίτης γενιάς. ** *S. epidermidis*. ***Netilmicin. §όλα τα κλινικά δείγματα. §§ Tobramycin.

[(1) Meyer 2010 (2) SWAB 2008 (3) Hanberger 2004 (4) Hsu 2007 (5) Streit 2004 (6) Lockhart 2007 (7) Gikas 2010 (8) Hope 2008 & Livermore 2008 (9) EARSS 2008 (10) Hanberger 2009]

Πίνακας 2.6. Σύγκριση των ποσοστών αντοχών των κυριότερων παθογόνων της ΜΕΘ ΠαΓΝΗ με αντίστοιχα ποσοστά αντοχών από ελληνικά νοσοκομεία

	ΜΕΘ ΠαΓΝΗ 1/2009 – 3/2010	Κρήτη 5 ΜΕΘ λοιμώξεις, 2007 (1)	WHONET Greece, 2009 (2) §	Θεσσαλονίκη, 2001-04 (3)	Αθήνα Βακτηριαμίες 2004-05 (4)	Αθήνα λοιμώξεις Ιαν-Ιουν 2005 (5)
<i>E. coli</i> ESBL	6.1%		10.7%*	19%*		
<i>E. coli</i> FQ	15.2%		27.2%			
<i>K. pneumoniae</i> ESBL	75.9%	85.3%*	86.0%*	>90%*	92.0%	82.0%
<i>K. pneumoniae</i> IPM	70.9%	57.6%	63.7%	4-8%	18.0%	30.0%
<i>K. pneumoniae</i> FQ	72.2%		83.4%	36%		61.0%
<i>K. pneumoniae</i> Colistin	20.3%					
<i>P. aeruginosa</i> FQ	21.4%	24.4%	59.7%§	>60%	96.0%	72.0%
<i>P. aeruginosa</i> IPM	33.9%	45.2%	60.5%	74%	79.0%	35.0%
<i>P. aeruginosa</i> genta	12.5%		49.1%		86.0%	58.0%
<i>A. baumannii</i> IPM	96.7%	79.3%	91.0%	>50%	8.0%	60.0%
CNS Met	87.8%	81.5%				
CNS FQ	28.8%					
<i>S. aureus</i> MRSA	28.1%	33.3%	46.7%		90.0%	
<i>S. aureus</i> FQ	6.3%		47.0%			
<i>Enterococcus</i> VRE	14.0%	28.6%	19.9%			

FQ: αντοχή στις φθοριοκινολόνες. IPM: αντοχή στην ιμιπενέμη. genta: γενταμικίνη. Met: αντοχή στη μεθικιλίνη.

*ανθεκτικά στις κεφαλοσπορίνες τρίτης γενιάς. §όλα τα κλινικά δείγματα. §§ Tobramycin.

[(1) Κριτσωτάκης. 14ο Παγκρήτιο Ιατρικό Συνέδριο 2008. (2) <http://www.mednet.gr/whonet>. (3) Iosifidis 2008 (4) Pratikaki 2009 (5) Ntagiopoulos 2007]

2.5.3. Κατανάλωση αντιβιοτικών στη ΜΕΘ

Η ΜΕΘ ΠαΓΝΗ είχε σημαντική συμμετοχή στη συνολική κατανάλωση αντιμικροβιακών. Η κατανάλωση αντιβιοτικών παρουσιάζεται για δύο διακριτές χρονικές περιόδους, 2004-06 και 2008-09.

Η κατανομή των χορηγούμενων αντιβιοτικών στη ΜΕΘ Ενηλίκων ΠαΓΝΗ για την περίοδο 2008-09 ήταν:

- J01XB – Πολυμυξίνες (31.2% της κατανάλωσης αντιβιοτικών στη ΜΕΘ)
- J01DH – Καρβαπενέμες (17.6%)
- J01XA – Γλυκοπεπτίδια (10.3%)
- J01MA – Φθοριοκινολόνες (8.1%)
- J01CR – Συνδυασμοί πενικιλινών (7.1%)
- J01AA12 – Τιγκεκυκλίνη (5.7%)
- J01XX08 – Λινεζολίδη (4.8%)
- J01XX09 – Δαπτομυκίνη (4.0%)
- J01DA – Κεφαλοσπορίνες (3.3%)

- J01GB – Αμινογλυκοσίδες (2.4%)
- Άλλα 5.7% (J01EE–Συνδυασμοί τριμεθοπρίμης/σουλφοναμιδών 1.9%, J01FA–Μακρολίδες 1.4%, J01FF–Λινκοσαμίδες 0.9%, J01XD–Ιμιδαζόλες 0.6%, J01CA–Πενικιλίνες ευρέως φάσματος 0.6%, J01DF–Μονοπακτάμες 0.1%, J01CE–Πενικιλίνες ευαίσθητες στις β-λακταμάσες 0.1%, J01FC–Στρεπτογκραμίνες 0.1%).

Η αυξημένη κατανάλωση πολυμυξινών, τιγκεκυκλίνης και καρβαπενεμών στη ΜΕΘ μάλλον σχετίζονται άμεσα με τις υψηλές αντοχές των *A. baumannii* και *K. pneumoniae* σε σχέση με το υπόλοιπο νοσοκομείο, που είναι ανάμεσα στα συχνότερα απομονωθέντα παθογόνα στη ΜΕΘ. Η αυξημένη κατανάλωση λινεζολίδης και γλυκοπεπτιδίων μάλλον σχετίζεται με την υψηλή συχνότητα VRE και με την ανάγκη κάλυψης των λοιμώξεων από MRSA και ανθεκτικούς CNS.

Στον Πίνακα 2.7 παρουσιάζεται η κατανάλωση των κυριότερων ομάδων αντιβιοτικών για συστηματική χορήγηση στη ΜΕΘ ΠαΓΝΗ σε DDD/100 ασθενοημέρες και συγκρίνεται με αντίστοιχες μελέτες από το διεθνή χώρο. Η συνολική κατανάλωση αντιβιοτικών στη ΜΕΘ ΠαΓΝΗ αυξήθηκε από το 2004 κατά 68.6% το 2009. Σε σχέση με τις διεθνείς μελέτες, στη ΜΕΘ ΠαΓΝΗ παρατηρείται υψηλή κατανάλωση ευρέως φάσματος β-λακταμών και νεότερων αντιβιοτικών. Συγκεκριμένες ομάδες αντιβιοτικών στις οποίες επισημαίνεται σημαντικά υψηλότερη κατανάλωση σε σχέση με άλλες μελέτες είναι οι τετρακυκλίνες (δηλ. η τιγκεκυκλίνη), οι καρβαπενέμες, οι αμινογλυκοσίδες, οι φθοριοκινολόνες, τα γλυκοπεπτίδια και οι πολυμυξίνες. Σημαντικά χαμηλότερη κατανάλωση παρατηρείται στις πενικιλίνες ευρέως φάσματος, στις ευαίσθητες στις β-λακταμάσες πενικιλίνες, στις ανθεκτικές στις β-λακταμάσες πενικιλίνες, στις κεφαλοσπορίνες και στις ιμιδαζόλες

Τα παραπάνω δεδομένα σύγκρισης επιβεβαιώνουν τα προηγούμενα ευρήματα της πολύ υψηλής κατανάλωσης αντιβιοτικών στη ΜΕΘ ΠαΓΝΗ που αποδίδεται στα υψηλά ποσοστά αντοχών που παρατηρούνται. Ωστόσο καθίσταται αναγκαία η εφαρμογή πρακτικών ελάττωσης της χορήγησης αντιμικροβιακών, όπως αναλύθηκαν πιο πάνω.

Πίνακας 2.7. Σύγκριση της κατανάλωσης αντιβιοτικών σε DDD / 100 ασθενοημέρες στη ΜΕΘ ΠαΓΝΗ για τις περιόδους 2004-2006 και 2008-2009 με διεθνείς μελέτες

	ΜΕΘ ΠαΓΝΗ 2004-06	ΜΕΘ ΠαΓΝΗ 2008- 09	Σουηδία (ICU- STRAMA), 29 ΜΕΘ, 1999-2000 (1)	ΗΠΑ (ICARE) 61 ΜΕΘ, 1/1998- 6/2004 (2)	Γερμανία , 34 ΜΕΘ, 2004 (3)	Ολλανδία (NethMap) 13 ΜΕΘ, 2006 (4)	Γερμανία , 53 ΜΕΘ, 2004 (5)	Γερμανία, 53 ΜΕΘ, 2008 (5)	Θεσσαλονίκη, μικτή ΜΕΘ, 2001-04 (6)
J01AA-Tetracyclines	1,0	19,0	1,3		0,1	0,9			
J01AA12-Tigecycline	0,0	19,0							
J01CA-Penicillins with extended spectrum	4,0	1,9	2,7		10,2	10,6			
Without anti-pseudomonal activity	4,0	1,9							
With anti-pseudomonal activity	0,0	0,0							
J01CE-β-Lactamase-sensitive penicillins	0,1	0,2			1,7	5,1			
J01CF-β-Lactamase-resistant penicillins	0,1	0,0			2,1	9,8			
J01CR-Combinations of Penicillins, including enzyme inhibitors	67,6	23,7			19,2	21,5			
Without anti-pseudomonal activity	43,3	10,9							
With anti-pseudomonal activity	24,3	12,9							
J01DA - Cephalosporins	20,7	11,0	28,7			25,8			
J01DB-1st Generation	0,0	0,0		10,3	0,4		15,0	11,7	
J01DC-2nd Generation	8,2	6,1		3,4	10,5				
J01DD-3rd Generation	6,0	2,4		14,4	11,3		11,3	11,9	34,9
J01DE-4th Generation	6,5	2,6			0,0				
J01DH-Carbapenems	39,9	58,4	11,3	3,8	6,6	4,6	0,8	15,1	27,7
J01EE - Sulfonamides & trimethoprim	5,4	6,3	1,4	6,7	0,9	4,2			
J01FA-Macrolides	7,5	4,7	3,8		5,6	10,1			
J01FF-Lincosamides	2,3	3,0	3,4		1,2	3,0			
J01GB-Aminoglycosides	8,1	8,1	2,3		2,8	6,0	4,6	2,4	58,8

J01MA-Fluoroquinolones	33,2	27,1	9,2	20,6	13,8	18,4	15,5	16,3	24,1
J01XA-Glycopeptides	24,3	34,2	1,9		3,0		3,5	3,6	18,1
J01XB-Polymyxins	38,1	103,8							
J01XD-Imidazoles	2,0	2,0	6,4		5,1				
J01XX-Other Antibacterials	19,9	29,0							
J01XX08-Linezolid	19,9	15,9							
J01XX09-Daptomycin	0,0	13,2							
J01. Antibacterials for systemic use (Total)	285,9	332,5	114,7 (60,5-214,3)		138,5	132,0		116,7	

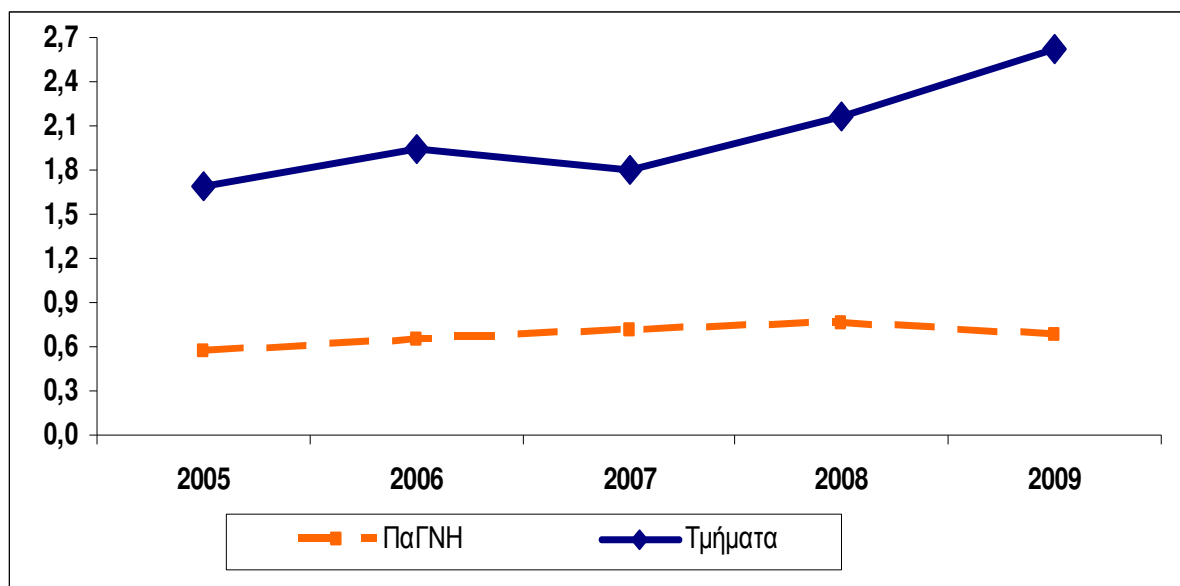
[(1) Hanberger 2004 (2) NNIS System Report 2004 (3) Meyer 2006 (4) SWAB 2008 (5) Meyer 2010 (6) Iosifidis 2008]

2.6. Αντιμικροβιακή αντοχή και κατανάλωση αντιβιοτικών στη ΜΕΘ: Συμπεράσματα - Συζήτηση

Η ΜΕΘ Ενηλίκων ΠαΓΝΗ εμφανίζει γενικά υψηλότερα ποσοστά αντοχών από το σύνολο των τμημάτων του ΠαΓΝΗ τόσο σε gram-θετικά όσο και σε gram-αρνητικά. Οι αντοχές αυτές είναι μεταδιδόμενες και περιορίζουν σημαντικά τη χρήση αντιβιοτικών τελευταίας γραμμής. Επιπλέον, παρατηρείται επικράτηση των κοαγκουλάση-αρνητικών σταφυλόκοκκων στις απομονώσεις αίματος και πολυανθεκτικών gram-αρνητικών όπως *A. baumannii*, *K. pneumoniae* και *P. aeruginosa*. Προηγούμενες μελέτες έχουν δείξει την ανάγκη ενίσχυσης της συμμόρφωσης με μέτρα ελέγχου λοιμώξεων, όμως η παρούσα μελέτη είναι η πρώτη που δείχνει την εξέλιξη της κατανάλωσης αντιβιοτικών στο χρόνο, η οποία ευνοεί τη διασπορά ανθεκτικών κλώνων.

Το *A. baumannii* είναι το επικρατών παθογόνο στις απομονώσεις κατώτερου αναπνευστικού και το εύρημα αυτό έρχεται να επιβεβαιώσει αποτελέσματα προηγούμενων μελετών στις οποίες ήταν το κυρίαρχο παθογόνο στις πνευμονίες που σχετιζόνταν με μηχανικό αερισμό (VAP). Στη ΜΕΘ σχεδόν όλα τα στελέχη *A. baumannii* ήταν ανθεκτικά στην μιπενέμη, περιορίζοντας σημαντικά τις επιλογές εμπειρικής αντιμετώπισης λοίμωξης του κατώτερου αναπνευστικού και αφήνοντας ως πιθανές θεραπευτικές επιλογές τις αμινογλυκοσίδες, κολιστίνη και τιγκεκυκλίνη.

Στο πιο κάτω γράφημα φαίνεται η αύξηση της επίπτωσης της αντοχής του *A. baumannii* στην μιπενέμη την περίοδο 2005-09 σε τμήματα με συχνή απομόνωση *A. baumannii*: ΜΕΘ, Γενικής Παθολογίας, Αιματολογίας, Νεφρολογίας, Νευροχειρουργικής. Είναι προφανές ότι τα τμήματα αυτά πρέπει να αποτελέσουν άμεσο στόχο των μέτρων ελέγχου λοιμώξεων.



Εικόνα 2.12 Επίπτωση αντοχής του *A. baumannii* στην μιπενέμη την περίοδο 2005-09 στο ΠαΓΝΗ (διακεκομμένη γραμμή) και στα τμήματα: ΜΕΘ Ενηλίκων, Νευροχειρουργικής, Αιματολογίας, Νεφρολογίας, και Γενικής Παθολογίας

Η *K. pneumoniae* ήταν το τρίτο συχνότερο παθογόνο της ΜΕΘ, το δεύτερο συχνότερο σε απομονώσεις κατώτερου αναπνευστικού και αίματος και το συχνότερο σε απομονώσεις ούρων. Εμφανίζει πολύ υψηλά ποσοστά αντοχών τόσο σε επίπεδο νοσοκομείου όσο και συγκριτικά με διεθνείς μελέτες: όλες οι β-λακτάμες συμπεριλαμβανομένων των καρβαπενεμών και οι φθοριοκινολόνες είναι αναποτελεσματικές στα 3/4 των λοιμώξεων, ενώ ακόμα πιο ανησυχητικό είναι το επίπεδο αντοχής 20% στην κολιστίνη. Δεδομένων των παραπάνω, η εμπειρική χρήση β-λακταμών, καρβαπενεμών και φθοριοκινολονών περιορίζεται σημαντικά ενώ προσοχή απαιτείται και στη χρήση της κολιστίνης.

Η *P. aeruginosa* ήταν το τέταρτο συχνότερο παθογόνο της ΜΕΘ και το τρίτο συχνότερο στα ούρα και στο κατώτερο αναπνευστικό. Οι αντοχές της *P. aeruginosa* στη ΜΕΘ ήταν υψηλότερες από το σύνολο του νοσοκομείου, με ιδιαίτερα υψηλή η αντοχή στην ιμιπενέμη (33.9%).

Οι **CNS** ήταν τα συχνότερα παθογόνα στο αίμα και το πολύ υψηλό ποσοστό αντοχής στη μεθικιλίνη (87.8%) αποκλείει την εμπειρική χρήση της. Προσοχή χρειάζεται και στη χρήση φθοριοκινολονών αφού το 1/3 των CNS εμφανίζει αντοχή. Αντίθετα ο *S. aureus* αντιστοιχεί σε πολύ χαμηλό ποσοστό των απομονώσεων, αλλά τα ποσοστά αντοχής του στη μεθικιλίνη και στις φθοριοκινολόνες είναι συγκρίσιμα με του νοσοκομείου και διεθνών μελετών.

Η υψηλή συχνότητα του **VRE** στη ΜΕΘ τη στιγμή που στο υπόλοιπο νοσοκομείο παρατηρείται σημαντική μείωση, μπορεί να εξηγηθεί με την υπόθεση του ρεζερβουάρ, ότι δηλαδή κάποιοι ασθενείς είναι ασυμπτωματικοί φορείς ή ότι υπάρχει κάποια περιβαλλοντική πηγή μετάδοσης. Η υποψία αυτή ενισχύεται και από τα αποτελέσματα παλαιότερης μελέτης στο ΠαΓΝΗ, στην οποία εντοπίστηκαν ασυμπτωματικοί φορείς VRE σε τμήματα όπου δεν υπήρχαν περιστατικά λοίμωξης [Christidou 2004.].

Η ΜΕΘ ΠαΓΝΗ εμφανίζει πολύ υψηλή συνολική κατανάλωση αντιβιοτικών, ενώ συγκεκριμένα υψηλή κατανάλωση εμφανίζουν αντιβιοτικά ευρέως φάσματος και τελευταίας επιλογής όπως τιγκεκυκλίνη, καρβαπενέμες, αμινογλυκοσίδες, φθοριοκινολόνες, γλυκοπεπτίδια, πολυμυξίνες, λινεζολίδη και δαπτομυκίνη. Αντίθετα παρατηρείται χαμηλή κατανάλωση αντιβιοτικών μικρότερου φάσματος όπως οι πενικιλίνες. Συνίσταται η αναζήτηση εναλλακτικών επιλογών για αντιβιοθεραπεία έναντι gram-θετικών, ενώ η εμπειρική χρήση αντιβιοτικών τελευταίας επιλογής (κολιστίνη, τιγκεκυκλίνη) πρέπει να διαφυλάσσεται σε υποψία λοιμώξεων από πολυανθεκτικά *A. baumannii* και *K. pneumoniae*.

Η υψηλή επίπτωση των λοιμώξεων από σοβαρά νοσοκομειακά παθογόνα, σε συνδυασμό με τα υψηλά ποσοστά αντοχής, τονίζουν την ανάγκη ενίσχυσης των μέτρων ελέγχου λοιμώξεων και ελέγχου της ορθότητας της χορηγούμενης αντιβιοθεραπείας. Αναγκαία μέτρα για να επιτευχθεί αυτό είναι η ενίσχυση της συμμόρφωσης του προσωπικού με τις πρακτικές υγιεινής χεριών, με την προώθηση της χρήσης αλκοολούχων διαλυμάτων πριν και μετά κάθε επαφή με τον ασθενή και ο καθημερινός έλεγχος της ορθότητας της χορηγούμενης αντιβίωσης και η εκτίμηση της πιθανότητας αντικατάστασης βάσει του αντιβιογράμματος.

2.7. Βιβλιογραφικές αναφορές

1. Archer GL, Polk RE. Treatment and prophylaxis of bacterial infections. In: Harrison's Principles of Internal Medicine, 16th ed, McGraw-Hill: pp.789-806; 2005.
2. Biedenbach DJ, Moet GJ, Jones RN. Occurrence and antimicrobial resistance pattern comparisons among bloodstream infection isolates from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997–2002). *Diagn Microbiol Infect Dis* 50: 59–69; 2004.
3. Bratzler DW, Houck PM, for the Surgical Infection Prevention Guidelines Writers Workgroup. Antimicrobial prophylaxis for surgery: an advisory statement from the National Surgical Infection Prevention Project. *Clin Infect Dis* 38(12):1706-1715; 2004.
4. Borg MA, de Kraker M, Scicluna E, van de Sande-Bruinsma N, Tiemersma E, Monen J, Grundmann H, the ARMed Project members and collaborators. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in invasive isolates from southern and eastern Mediterranean countries. *J Antimicrob Chemother* 60: 1310–1315; 2007.
5. Borg MA, van de Sande-Bruinsma N, Scicluna E, de Kraker M, Tiemersma E, Monen J, Grundmann H, the ARMed Project members and collaborators. Antimicrobial resistance in invasive strains of *Escherichia coli* from southern and eastern Mediterranean laboratories. *Clin Microbiol Infect* 14: 789–796; 2008.
6. Borg MA, Zarb P, Ferech M, Goossens H; ARMed Project Group. Antibiotic consumption in southern and eastern Mediterranean hospitals: results from the ARMed project. *J Antimicrob Chemother* 62:830-836; 2008.
7. British Society for Antimicrobial Chemotherapy (BSAC) Resistance Surveillance Project. Bacteremia Data available at <http://www.bsacsurv.org>.
8. Christidou A, Gikas A, Scoulica E, Padiaditis J, Roumelaki M, Georgiladakis A, Tselentis Y.. Emergence of vancomycin-resistant enterococci in a tertiary hospital in Crete, Greece: a cluster of cases and prevalence study on intestinal colonisation. *Clin Microbiol Infect* 10: 999–1005; 2004.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Seventeenth informational supplement. CLSI document M100-S17. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA, 2007.
10. Cohen AL, Calfee D, Fridkin SK, et al. Recommendations for Metrics for Multidrug-Resistant Organisms in Healthcare Settings: SHEA/HICPAC Position Paper. *Infect Control Hosp Epidemiol* 29(10)901-913; 2008.
11. Coque TM, Baquero F, Canton R. Increasing prevalence of ESBL-producing Enterobacteriaceae in Europe. *Euro Surveill.* 13(47). pii: 19044; 2008. Review. Erratum in: *Euro Surveill.* 13(48). pii: 19051; 2008.
12. DANMAP 2009. Use of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from food animals, foods and humans in Denmark. ISSN 1600-2032. Available at: www.danmap.org. Accessed October 2010.
13. Dellit TH, Owens RC, McGowan JE Jr, et al. Infectious Diseases Society of America and the Society of Healthcare Epidemiology of America guidelines for developing an institutional program to enhance antimicrobial stewardship. *Clin Infect Dis* 44:159-177; 2007.
14. Dijkshoorn L, Nemec A, Seifert H. An increasing threat in hospitals:

- multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Nat Rev Microbiol* 5: 939-951; 2007.
15. Dohnhammar U, Olsson-Liljequist B, eds. SWEDRES 2009 – A report on Swedish antibiotic utilization and resistance in human medicine. Available at: www.strama.se. Accessed July 2010.
 16. Eliopoulos GM. Microbiology of drugs for treating multiply drug-resistant Gram-positive bacteria. *J Infect* 59(S1): S17-S24; 2009.
 17. European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS) Network. Data available at <http://www.rivm.nl/earss>.
 18. Falagas ME, Karageorgopoulos DE. Extended-spectrum b-lactamase-producing organisms. *J Hosp Infect* 73(4):345-354; 2009.
 19. Gikas A, Roubelaki M, Bagatzouni-Pieridou D, Alexandrou M, Zinieri V, Dimitriadis I, Kritsotakis EI. Device-associated infections in the intensive care units of Cyprus: results of the first national incidence study. *Infection*. 38(3):165-71; 2010.
 20. Hanberger H, Arman D, Gill H, Jindrák V, Kalenic S, Kurcz A, Licker M, Naaber P, Scicluna EA, Vanis V, Walther SM. Surveillance of microbial resistance in European Intensive Care Units: a first report from the Care-ICU programme for improved infection control. *Intensive Care Med*. 35(1):91-100; 2009.
 21. Hanberger H, Erlandsson M, Burman LG, Cars O, Gill H, Lindgren S, Nilsson LE, Olsson-Liljequist B, Walther S; ICU-STRAMA Study Group. High antibiotic susceptibility among bacterial pathogens in Swedish ICUs. Report from a nation-wide surveillance program using TA90 as a novel index of susceptibility. *Scand J Infect Dis*. 36(1):24-30; 2004.
 22. HICPAC. Recommendations for preventing the spread of vancomycin resistance. Recommendations of the Hospital Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). *MMWR Recomm Rep* 44(RR-12):1-13; 1995.
 23. Hidron AI, Edwards JR, Patel J, et al. Antimicrobial-Resistant Pathogens Associated With Healthcare-Associated Infections: Annual Summary of Data Reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006–2007. *Infect Control Hosp Epidemiol* 29:996-1011; 2008.
 24. Hope R, Livermore DM, Brick G, Lillie M, Reynolds R; BSAC Working Parties on Resistance Surveillance. Non-susceptibility trends among staphylococci from bacteraemias in the UK and Ireland, 2001-06. *J Antimicrob Chemother*. 62 Suppl 2:ii65-74; 2008.
 25. Hsu LY, Tan TY, Jureen R, Koh TH, Krishnan P, Tzer-Pin Lin R, Wen-Sin Tee N, Tambyah PA. Antimicrobial drug resistance in Singapore hospitals. *Emerg Infect Dis*. 13(12):1944-7; 2007.
 26. Hsu LY, Tan TY, Tam VH, et al. Surveillance and Correlation of Antibiotic Prescription and Resistance of Gram-Negative Bacteria in Singaporean Hospitals. *Antimicrob Agents Chemother* 54(3): 1173–1178; 2010.
 27. Iosifidis E, Antachopoulos C, Tsivitanidou M, Katragkou A, Farmaki E, Tsiakou M, Kyriazi T, Sofianou D, Roilides E. Differential correlation between rates of antimicrobial drug consumption and prevalence of antimicrobial resistance in a tertiary care hospital in Greece. *Infect Control Hosp Epidemiol* 29(7):615-622; 2008.
 28. Jacoby TS, Kuchenbecker RS, Dos Santos RP, Magedanz L, Guzzatto P, Moreira LB. Impact of hospital-wide infection rate, invasive procedures use and

- antimicrobial consumption on bacterial resistance inside an intensive care unit. *J Hosp Infect* 75(1):23-27; 2010.
29. Kritsotakis EI, Assithianakis P, Kanellos P, Tzagarakis N, Ioannides MC, Gikas A. Surveillance of monthly antimicrobial consumption rates stratified by patient-care area: a tool for triggering and targeting antibiotic policy changes in the hospital. *J Chemother* 18(4):394-401; 2006.
 30. Kritsotakis EI, Christidou A, Roubelaki M, Tselentis Y, Gikas A. The dynamic relationship between antibiotic use and the incidence of vancomycin-resistant *Enterococcus*: time-series modelling of 7-year surveillance data in a tertiary-care hospital. *Clin Microbiol Infect* 14: 747–754; 2008.
 31. Livermore DM, Hope R, Brick G, Lillie M, Reynolds R; BSAC Working Parties on Resistance Surveillance. Non-susceptibility trends among *Pseudomonas aeruginosa* and other non-fermentative Gram-negative bacteria from bacteraemias in the UK and Ireland, 2001-06. *J Antimicrob Chemother.* 62 Suppl 2:ii55-63; 2008.
 32. Lockhart SR, Abramson MA, Beekmann SE, Gallagher G, Riedel S, Diekema DJ, Quinn JP, Doern GV. Antimicrobial Resistance among Gram-Negative Bacilli Causing Infections in Intensive Care Unit Patients in the United States between 1993 and 2004. *J Clin Microbiol* 45(10) : 3352–9; 2007.
 33. Manfredi R. Update on the appropriate use of linezolid in clinical practice. *Ther Clin Risk Manag* 2(4): 455–464; 2006.
 34. Meyer E, Schwab F, Gastmeier P, Rueden H, Daschner FD. Surveillance of antimicrobial use and antimicrobial resistance in German intensive care units (SARI): a summary of the data from 2001 through 2004. *Infection.* 34(6):303-9; 2006.
 35. Meyer E, Schwab F, Schroeren-Boersch B, Gastmeier P. Dramatic increase of third-generation cephalosporin resistant *E. coli* in German intensive care units: secular trends in antibiotic drug use and bacterial resistance, 2001-2008. *Crit Care* 14(3):R113; 2010.
 36. Monnet DL. ABC Calc – Antibiotic consumption calculator [Microsoft Excel application]. Version 3.1. Copenhagen (Denmark) Statens Serum Institut; 2006.
 37. Montero M, Sala M, Riu M, Belvis F, Salvado M, Grau S, Horcajada JP, Alvarez-Lerma F, Terradas R, Orozco-Levi M, Castells X, Knobel H. Risk factors for multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* acquisition. Impact of antibiotic use in a double case-control study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 29(3):335-339; 2010.
 38. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, data summary from January 1992 to June 2004, issued October 2004. *Am J Infect Control* 32:470–485; 2004.
 39. Paterson DL. “Collateral Damage” from Cephalosporin or Quinolone Antibiotic Therapy. *Clin Infect Dis* 38(Suppl 4):S341–345; 2004.
 40. Pena C, Suarez C, Tubau F, Dominguez A, Sora M, Pujol M, Gudiol F, Ariza J. Carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: factors influencing multidrug-resistant acquisition in non-critically ill patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 28(5):519-522; 2009.
 41. Polk RE, Fox C, Mahoney A, Letcavage J, MacDougall C. Measurement of adult antibacterial drug use in 130 US hospitals: comparison of defined daily dose and days of therapy. *Clin Infect Dis* 1;44(5):664-670; 2007.

42. Réseau d'alerte, d'investigation et de surveillance des infections nosocomiales (Raisin). Surveillance de la consommation des antibiotiques – Réseau ATB-Raisin – Résultats 2008. Saint-Maurice (Fra) : Institut de veille sanitaire, août 2010, 65 p. Disponible sur: www.invs.sante.fr.
43. Rice LB. Antimicrobial resistance in gram-positive bacteria. *Am J Infect Control* 34:S11-19; 2006.
44. Schwaber MJ, Klarfeld-Lidji S, Navon-Venezia S, Schwartz D, Leavitt A, Carmeli Y. Predictors of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* acquisition among hospitalized adults and effect of acquisition on mortality. *Antimicrob Agents Chemother* 52(3):1028-1033; 2008.
45. Siegel JD, Rhinehart E, Jackson M, Chiarello L; Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. Management of multidrug-resistant organisms in health care settings, 2006. *Am J Infect Control* 35 (10 Suppl 2):S165-193; 2007.
46. Streit JM, Jones RN, Sader HS, Fritsche TR. Assessment of pathogen occurrences and resistance profiles among infected patients in the intensive care unit: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (North America, 2001). *Int J Antimicrob Agents* 24: 111–118; 2004.
47. Struwe U, Olsson-Liljequist B, eds. SWEDRES 2008 – A report on Swedish antibiotic utilization and resistance in human medicine. Available at: www.strama.se. Accessed July 2010.
48. SWAB. NethMap 2008 – Consumption of antimicrobial agents and antimicrobial resistance among medically important bacteria in the Netherlands. Available at: <http://www.swab.nl>. Accessed July 2010.
49. Tacconelli E, De Angelis G, Cataldo MA, Mantengoli E, Spanu T, Pan A, Corti G, Radice A, Stolzuoli L, Antinori S, Paradisi F, Carosi G, Bernabei R, Antonelli M, Fadda G, Rossolini GM, Cauda R. Antibiotic usage and risk of colonization and infection with antibiotic-resistant bacteria: a hospital population-based study. *Antimicrob Agents Chemother* 53(10):4264-4269; 2009.
50. Tacconelli E, Cataldo MA, Dancer SJ, De Angelis G, Falcone M, Frank U, et al; European Society of Clinical Microbiology. ESCMID guidelines for the management of the infection control measures to reduce transmission of multidrug-resistant Gram-negative bacteria in hospitalized patients. *Clin Microbiol Infect* 20(Suppl 1):1-55; 2014.
51. Vander Stichele RH, Elseviers MM, Ferech M, Blot S, Goossens H; European Surveillance of Antibiotic Consumption (ESAC) Project Group. Hospital consumption of antibiotics in 15 European countries: results of the ESAC Retrospective Data Collection (1997-2002). *J Antimicrob Chemother* 58(1):159-67; 2006.
52. WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology. Guidelines for ATC classification and DDD assignment (6th Edition). WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology, Oslo, 2006.
53. Whonet Greece. Greek System for the Surveillance of Antimicrobial Resistance. Available at <http://www.mednet.gr/whonet>.
54. Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, et al. Nosocomial Bloodstream Infections in US Hospitals: Analysis of 24,179 Cases from a Prospective Nationwide Surveillance Study. *Clin Infect Dis* 39:309–317; 2004.

3. Λοιμώξεις από πανανθεκτικά gram-αρνητικά βακτήρια: κλινικά χαρακτηριστικά, θεραπευτική αντιμετώπιση και έκβαση, σε μια σειρά 21 ασθενών

3.1. Περίληψη

Στη βιβλιογραφία παρατηρούνται πολύ λίγες κλινικές σειρές λοιμώξεων από πανανθεκτικά βακτήρια. Στην παρούσα μελέτη παρατήρησης, καταγράφηκαν τα χαρακτηριστικά ασθενών με λοίμωξη από πανανθεκτικά gram-αρνητικά βακτήρια σε μία περίοδο 2 ετών. Τα παθογόνα χαρακτηρίστηκαν πανανθεκτικά εάν εμφάνιζαν αντοχή σε όλες τις ομάδες αντιβιοτικών που χρησιμοποιούνταν ως εμπειρική θεραπεία. Βρέθηκαν 21 ασθενείς με λοίμωξη από πανανθεκτικά gram-αρνητικά βακτήρια. Η μέση ηλικία των ασθενών ήταν 63.7 ± 14.4 έτη και 16 (76.2%) ήταν άρρενες. Η μέση τιμή APACHE II score ήταν 18.8 ± 7.7 , η μέση τιμή δείκτη συννοσηροτήτων Charlson ήταν 2.9 ± 2.7 και 20 (95.2%) ασθενείς είχαν ιστορικό νοσηλείας στην Μονάδα Εντατικής Θεραπείας. Όλοι οι ασθενείς είχαν πρόσφατη λήψη πολλαπλών αντιβιοτικών (διάμεσος αριθμός 6 αντιβιοτικών). Οι λοιμώξεις εμφανίστηκαν 41.5 ημέρες (μέση τιμή) μετά την εισαγωγή στο νοσοκομείο. Η μέση διάρκεια νοσηλείας μετά τη λοίμωξη ήταν 54.6 ± 54.8 ημέρες και 5 ασθενείς (23.8%) απεβίωσαν λόγω της λοίμωξης. Η θεραπεία των λοιμώξεων βασιζόταν κυρίως σε σχήματα που περιείχαν κολιστίνη (47.6%) ή τιγκεκυκλίνη (33.3%). Όσοι ασθενείς έλαβαν τιγκεκυκλίνη εμφάνισαν κλινική ίαση και μικρότερη διάρκεια νοσηλείας μετά τη λοίμωξη. Συμπερασματικά, οι λοιμώξεις από πανανθεκτικά gram-αρνητικά βακτήρια σχετίζονται με σημαντικά μεγαλύτερη διάρκεια νοσηλείας και θνητότητα, παρόλο που τα ποσοστά θνητότητας είναι χαμηλότερα από τα αναμενόμενα. Η τιγκεκυκλίνη φαίνεται αποτελεσματική στην αντιμετώπιση των λοιμώξεων αυτών και πρέπει να γίνουν προσπάθειες διατήρησης της αποτελεσματικότητάς της ως επιλογή.

3.2. Εισαγωγή

Η εμφάνιση και διασπορά πολυανθεκτικών gram-αρνητικών βακτηριδίων είναι παγκόσμιο φαινόμενο και αποτελεί πρόκληση για ειδικούς στη δημόσια υγεία, για κλινικούς ιατρούς και για τη φαρμακευτική βιομηχανία [Siegel 2007, Cohen 2008, Souli 2008, Paterson 2007]. Ως αποτέλεσμα των λοιμώξεων από πολυανθεκτικά στελέχη, χρησιμοποιούνται όλο και περισσότερο εναλλακτικά αντιβιοτικά, όπως κεφαλοσπορίνες ευρέως φάσματος, καρβαπενέμες, φθοριοκινολόνες, κολιστίνη, καθώς και νεότεροι παράγοντες όπως η τιγκεκυκλίνη. Ακόμα πιο ανησυχητική είναι η εμφάνιση λοιμώξεων από πανανθεκτικά στελέχη, ένας όρος που χρησιμοποιείται κυρίως για στελέχη *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, και *Pseudomonas aeruginosa*, τα οποία (αν και οι ορισμοί πριν τη δημοσίευση συγκεκριμένων κριτηρίων, διέφεραν μεταξύ μελετών και κέντρων) εμφανίζουν αντοχή σε όλους τους ευρέως διαθέσιμους αντιμικροβιακούς παράγοντες [Falagas 2005, Falagas 2008, Magiorakos 2012].

Παρά τις αναφορές σε παθογόνα με αντοχή σε όλες τις γνωστές ομάδες αντιβιοτικών, λίγες μόνο μελέτες έως τώρα περιγράφουν τα κλινικά χαρακτηριστικά και την έκβαση των λοιμώξεων από πανανθεκτικά μικρόβια [Falagas 2005, Beno 2006, Mentzelopoulos 2007, Falagas 2008, Elemam 2009]. Ως αποτέλεσμα, οι γνώσεις σχετικά με τη νοσηρότητα και θνητότητα από τις λοιμώξεις αυτές, καθώς και οι πιθανές θεραπευτικές επιλογές, είναι αρκετά περιορισμένες.

3.3. Σκοπός μελέτης

Σκοπός της μελέτης αυτής είναι η περιγραφή και ανάλυση των κλινικών χαρακτηριστικών, του θεραπευτικού χειρισμού και της έκβασης των λοιμώξεων από πανανθεκτικά gram-αρνητικά μικρόβια σε μία περίοδο 2 ετών στο ΠαΓΝΗ.

3.4. Μέθοδοι

3.4.1. Χώρος μελέτης

Η μελέτη έλαβε χώρα από τον Απρίλιο 2006 έως και τον Απρίλιο 2008 στο ΠαΓΝΗ. Η ομάδα ελέγχου νοσοκομειακών λοιμώξεων (ΟΕΝΛ) του νοσοκομείου επιτηρεί καθημερινά τα αποτελέσματα των καλλιιεργειών των κλινικών δειγμάτων του νοσοκομείου για την αναγνώριση ανθεκτικών στελεχών. Όποτε θεωρείται απαραίτητο, γίνεται άμεση ενημέρωση των τμημάτων για την εφαρμογή μέτρων απομόνωσης επαφής.

3.4.2. Σχεδιασμός μελέτης και συλλογή δεδομένων

Πρόκειται για μελέτη παρατήρησης μίας σειράς περιστατικών (observational case series), στην οποία ασθενείς με λοίμωξη από πανανθεκτικό gram-αρνητικό βακτήριο συνιστούν την κοόρτη. Ο κάθε ασθενής παρακολουθούνταν καθημερινά από ένα μέλος της ΟΕΝΛ μέχρι την έξοδο ή το θάνατο του ασθενούς. Τα στοιχεία που συλλέχθηκαν για τον κάθε ασθενή ήταν: δημογραφικά στοιχεία, βαρύτητα νόσου σύμφωνα με το APACHE II score εισόδου [Knaus 1985], ο δείκτης συννοσηροτήτων Charlson κατά την εισαγωγή του ασθενούς [Charlson 1987], χειρουργεία τις τελευταίες 30 ημέρες πριν την εμφάνιση της λοίμωξης, έκθεση σε παρεμβατικές τεχνικές (κεντρικός αγγειακός καθετήρας, κυστεοουρηθρικός καθετήρας, μηχανικός αερισμός) τις τελευταίες 7 ημέρες πριν την εμφάνιση της λοίμωξης, χορήγηση αντιβιοτικών για τουλάχιστον 24 ώρες το τελευταίο έτος πριν την εμφάνιση της λοίμωξης, και αντιβιοτικά που χορηγήθηκαν για την αντιμετώπιση της λοίμωξης.

3.4.3. Ορισμοί

Τα απομονωθέντα στελέχη *A. baumannii*, *K. pneumoniae* και *P. aeruginosa* θεωρούνταν πανανθεκτικά όταν εμφάνιζαν αντοχή σε όλες τις ομάδες αντιβιοτικών που χρησιμοποιούνταν για εμπειρική θεραπεία: αντιψευδομοναδικές β-λακτάμες, κεφαλοσπορίνες, καρβαπενέμες, μονομπακτάμες, κινολόνες, αμινογλυκοσίδες και πολυμυξίνες [Falagas 2005, Mentzelopoulos 2007, Falagas 2007, Falagas 2008, Magiorakos 2012]. Το *A. baumannii* θεωρούνταν πανανθεκτικό όταν εμφάνιζε αντοχή επιπλέον στην

αμπικιλίνη/σουλμπακτάμη και στην τετρακυκλίνη [Falagas 2007, Falagas 2008]. Η ενδιάμεση ευαισθησία θεωρούνταν αντοχή. Η λοίμωξη ορίστηκε σύμφωνα με τα κριτήρια του Center for Diseases Control and Prevention (CDC) για τον ορισμό των νοσοκομειακών λοιμώξεων [Horan 2004].

3.4.4. Μικροβιολογικός έλεγχος

Η απομόνωση και αναγνώριση των στελεχών έγινε με το API 20E system (bioMérieux SA, Marcy L'Etoile, France) ή με το Vitek 2 (bioMérieux), στα πλαίσια της καθημερινής επεξεργασίας των κλινικών δειγμάτων του νοσοκομείου στο Εργαστήριο Μικροβιολογίας ΠαΓΝΗ. Όλα τα στελέχη ελέγχθηκαν για ευαισθησία στα ακόλουθα αντιβιοτικά: αμοξικιλίνη, αμοξικιλίνη/κλαβουλανικό, αμπικιλίνη, αζτρεονάμη, πιπερακιλλίνη, πιπερακιλλίνη/ταζομπακτάμη, τικαρκιλίνη, τικαρκιλίνη/κλαβουλανικό, κεφεπίμη, κεφοξιτίνη, κεφοταξίμη, κεφταζιδίμη, κεφτριαξόνη, ιμιπενέμη, μεροπενέμη, σιπροφλοξασίνη, μοξιφλοξασίνη, οφλοξασίνη, πεφλοξασίνη, αμικασίνη, γενταμικίνη, νετιμικίνη, τομπραμυκίνη, κολιστίνη, τετρακυκλίνη, τιγκεκυκλίνη, τριμεθοπρίμη/σουλφαμεθοξαζόλη. Η ευαισθησία των στελεχών ορίστηκε με την μέθοδο διάχυσης δίσκου (disk diffusion) ή με το σύστημα Vitek 2 σύμφωνα με τα κριτήρια του Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) [CLSI 2007] για όλα τα αντιβιοτικά εκτός της τιγκεκυκλίνης, στην οποία η ευαισθησία ορίστηκε με το Etest (AB Biodisk, Solna, Sweden) και ερμηνεύθηκε σύμφωνα με τα όρια εγκεκριμένα από τον US Food and Drug Administration και την Ευρωπαϊκή EUCAST για τα Εντεροβακτηριακά [EUCAST 2006].

3.4.5. Ανάλυση δεδομένων

Τα δεδομένα παρουσιάζονται σαν τιμή (%) για ποιοτικές μεταβλητές και μέση τιμή \pm σταθερή απόκλιση (standard deviation, SD) για συνεχείς μεταβλητές. Οι συνεχείς μεταβλητές συγκρίθηκαν σε διάφορες ομάδες ασθενών με το Student's t-test για κανονικά κατανομημένες μεταβλητές και με το Mann-Whitney U-test για μη-κανονικά κατανομημένες μεταβλητές. Για τη σύγκριση ποιοτικών μεταβλητών χρησιμοποιήθηκε το Pearson's chi-square test και το Fisher's exact test. Όλες οι συγκρίσεις ήταν αμφίδρομες (two-tailed) και οι τιμές $p < 0.05$ θεωρήθηκαν στατιστικά σημαντικές. Για την ανάλυση χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα EpiInfo version 3.4.1 (CDC, Atlanta, GA, USA).

3.5. Αποτελέσματα

3.5.1. Χαρακτηριστικά ασθενών

Στα 2 έτη της μελέτης, βρέθηκαν και καταγράφηκαν 21 ασθενείς με λοίμωξη από πανανθεκτικό gram-αρνητικό βακτήριο. Τα χαρακτηριστικά των ασθενών, η αντιμετώπιση και έκβαση των λοιμώξεων συνοψίζονται στον Πίνακα 3.1. Η μέση ηλικία των ασθενών ήταν 63.7 ± 14.4 έτη και 16 (76.2%) ήταν άρρενες. Η μέση τιμή APACHE II score κατά την εισαγωγή (υπολογίστηκε σε 18 ασθενείς) ήταν 18.8 ± 7.7 , η μέση τιμή δείκτη συννοσηρότητας Charlson ήταν 2.9 ± 2.7 , ενώ 20 ασθενείς (95.2%) είχαν νοσηλευθεί στη ΜΕΘ για 24.8 ± 18 ημέρες πριν τη λοίμωξη. Όλοι οι ασθενείς είχαν τουλάχιστον μία παρεμβατική συσκευή και 18 (85.7%) ασθενείς είχαν τουλάχιστον 2 παρεμβατικές συσκευές τις τελευταίες 7 ημέρες πριν την εμφάνιση της λοίμωξης. Επτά ασθενείς (33.3%) είχαν

υποβληθεί σε χειρουργική παρέμβαση εντός 30 ημερών προ της εμφάνισης της λοίμωξης. Όλοι είχαν λάβει 3 έως 8 ομάδες αντιβιοτικών τη προηγούμενο έτος, συχνότερα καρβαπενέμες (81%), γλυκοπεπτίδια (71.4%), κινολόνες (66.7%), ενδοφλέβια κολιστίνη (61.9%), κεφαλοσπορίνες (57.1%) και λινεζολίδη (52.4%).

3.5.2. Πανανθεκτικά στελέχη και λοιμώξεις

Από τα 23 πανανθεκτικά στελέχη που απομονώθηκαν (η μία λοίμωξη ήταν πολυμικροβιακή), τα 18 ήταν *K. pneumoniae*, τα 4 ήταν *A. baumannii* και ένα ήταν *P. aeruginosa*. Όλα τα στελέχη *K. pneumoniae* και ένα στέλεχος *A. baumannii* ήταν ευαίσθητα στην τιγκεκυκλίνη (MIC <2 mg/L). Τρία στελέχη *A. baumannii* είχαν ενδιάμεση ευαισθησία στην τιγκεκυκλίνη (MIC 3 mg/L). Οι εστίες λοίμωξης ήταν το κατώτερο αναπνευστικό (10 ασθενείς, 46.7%), βακτηριαιμία (5 ασθενείς, 23.8%), ουροποιητικό (4 ασθενείς, 19%), δέρμα και μαλακά μόρια (1 ασθενής, 4.8%), χειρουργική τομή (1 ασθενής, 4.8%). Οι λοιμώξεις εμφανίσθηκαν 41.5 ± 24.2 ημέρες μετά την εισαγωγή.

3.5.3. Θεραπευτική αντιμετώπιση λοιμώξεων

Εννέα ασθενείς (42.9%) έλαβαν μονοθεραπεία (6 με τιγκεκυκλίνη, 2 με μεροπενέμη και ένας με κολιστίνη). Δώδεκα ασθενείς (57.1%) έλαβαν συνδυασμό αντιβιοτικών, κυρίως με κολιστίνη (με μεροπενέμη σε 6 ασθενείς, με δοξυκυκλίνη σε 1 ασθενή, με ριφαμπικίνη σε 1 ασθενή και με σιπροφλοξασίνη σε 1 ασθενή). Από ένας ασθενής έλαβαν συνδυασμό μεροπενέμης με σιπροφλοξασίνη, μεροπενέμης με αμπικιλίνη/σουλμπακτάμη και τιγκεκυκλίνης με σιπροφλοξασίνη.

Πίνακας 3.1. Χαρακτηριστικά των 21 ασθενών με λοίμωξη από πανανθεκτικά gram-αρνητικά βακτήρια, θεραπευτική αντιμετώπιση και έκβαση λοίμωξης

Ασθενής	Ηλικία / Φύλο	Δείκτης Charlson	APACHE II score	Διάρκεια παραμονής σε ΜΕΘ προ λοίμωξης ^a	Απομονωθείς μικροοργανισμός	Εστία λοίμωξης	Διάρκεια νοσηλείας προ λοίμωξης ^a	Αγωγή που χορηγήθηκε για τη λοίμωξη	Έκβαση λοίμωξης	Διάρκεια νοσηλείας μετά τη λοίμωξη ^a
1.	67/A	2	15	33	<i>K. pneumoniae</i>	Αναπνευστικό	51	Κολιστίνη & Σιπροφλοξασίνη	Θάνατος	1
2.	74/A	3	-	13	<i>K. pneumoniae</i>	Αναπνευστικό	60	Κολιστίνη & Δοξυκυκλίνη	Ίαση	121
3.	77/A	2	-	21	<i>K. pneumoniae</i>	Αναπνευστικό	21	Κολιστίνη & Μεροπενέμη	Ίαση	44
4.	67/A	9	30	29	<i>K. pneumoniae</i>	Αναπνευστικό	29	Κολιστίνη & Μεροπενέμη	Ίαση	65
5.	59/Θ	7	-	8	<i>K. pneumoniae</i>	Βακτηριαμία	48	Μεροπενέμη	Ίαση	26
6.	75/Θ	5	21	8	<i>K. pneumoniae</i>	Ουροποιητικό	12	Τιγκεκυκλίνη	Ίαση	21
7.	27/Θ	1	15	25	<i>K. pneumoniae</i>	Ουροποιητικό	35	Τιγκεκυκλίνη	Ίαση	59
8.	62/A	6	17	12	<i>K. pneumoniae</i>	Αναπνευστικό	76	Μεροπενέμη & Σιπροφλοξασίνη	Θάνατος	4
9.	69/A	8	23	13	<i>K. pneumoniae</i>	Αναπνευστικό	84	Τιγκεκυκλίνη & Σιπροφλοξασίνη	Ίαση	14
10.	64/A	4	11	52	<i>K. pneumoniae</i>	Ουροποιητικό	59	Κολιστίνη	Ίαση	6
11.	45/A	1	24	19	<i>K. pneumoniae</i>	Ουροποιητικό	83	Κολιστίνη & Μεροπενέμη	Ίαση	103
12.	75/A	1	19	6	<i>K. pneumoniae</i>	Αναπνευστικό	30	Τιγκεκυκλίνη	Ίαση	53
13.	73/A	2	5	12	<i>K. pneumoniae</i>	Χειρουργική τομή	28	Τιγκεκυκλίνη	Ίαση	38
14.	70/Θ	0	17	23	<i>K. pneumoniae</i>	Βακτηριαμία	21	Κολιστίνη & Μεροπενέμη	Θάνατος	46
15.	60/Θ	3	30	43	<i>A. baumannii</i>	Αναπνευστικό	43	Μεροπενέμη	Θάνατος	3
16.	81/A	1	23	79	<i>A. baumannii</i>	Βακτηριαμία	18	Μεροπενέμη & Αμπικιλλίνη / Σουλμπακτάμη	Ίαση	162

17.	82/A	1	14	36	<i>K. pneumoniae</i>	Βακτηριαμία	52	Τιγκεκυκλίνη	Ίαση	19
18.	44/A	0	10	32	<i>K. pneumoniae</i> , <i>A. baumannii</i> , <i>P. aeruginosa</i>	Αναπνευστικό	76	Κολιστίνη & ΡΙφαμπικίνη	Ίαση	171
19.	54/A	1	9	0	<i>A. baumannii</i>	Αναπνευστικό	14	Κολιστίνη & Μεροπενέμη	Θάνατος	1
20.	72/A	4	25	8	<i>K. pneumoniae</i>	Βακτηριαμία	9	Τιγκεκυκλίνη	Ίαση	39
21.	41/A	0	31	23	<i>K. pneumoniae</i>	Δέρμα - μαλακά μόρια	23	Κολιστίνη & Μεροπενέμη	Ίαση	151

APACHE=Acute Physiology and Chronic Health Evaluation, ΜΕΘ=μονάδα εντατικής θεραπείας, Α=άρρην, Θ=θήλυ.

^a Σε ημέρες.

3.5.4. Έκβαση λοιμώξεων

Η μέση διάρκεια νοσηλείας μετά την εμφάνιση της λοίμωξης ήταν 54.6 ± 54.8 ημέρες. Ίαση της λοίμωξης παρατηρήθηκε σε 16 (76.2%) ασθενείς, ενώ 5 (23.8%) ασθενείς επιδεινώθηκαν και απεβίωσαν λόγω της λοίμωξης. Τα χαρακτηριστικά των ασθενών που ιάθηκαν και των ασθενών που απεβίωσαν από τη λοίμωξη συγκρίνονται στον Πίνακα 3.2. Από τους 10 ασθενείς που έλαβαν αγωγή περιέχουσα κολιστίνη, οι 3 (30%) απεβίωσαν, ενώ και οι 7 ασθενείς που έλαβαν τιγκεκυκλίνη ιάθηκαν. Από τους ιαθέντες ασθενείς, αυτοί που έλαβαν τιγκεκυκλίνη είχαν παρόμοια χαρακτηριστικά σε σχέση με αυτούς που έλαβαν άλλα αντιβιοτικά, όσον αφορά σε ηλικία (67.6 ± 18.3 έναντι 61.3 ± 15.1 έτη, $p=0.467$), φύλο (άρρενες 71.4% έναντι 88.9%, $p=0.550$), APACHE II score εισαγωγής (17.4 ± 6.8 έναντι 21.5 ± 9.1 , $p=0.375$), δείκτη συννοσηρότητας Charlson (3.1 ± 2.7 έναντι 3.0 ± 3.2 , $p=0.925$), διάρκεια νοσηλείας προ λοίμωξης (35.7 ± 25.7 έναντι 46.3 ± 24.6 ημέρες, $p=0.416$), και κατανομή εστιών λοίμωξης ($p=0.653$). Ωστόσο, όσοι έλαβαν τιγκεκυκλίνη είχαν σημαντικά μικρότερη διάρκεια νοσηλείας μετά την εμφάνιση της λοίμωξης (34.7 ± 17.4 έναντι 94.3 ± 61.6 ημέρες, $p=0.021$) (Πίνακας 3.3).

Πίνακας 3.2. Χαρακτηριστικά των ασθενών που ιάθηκαν και των ασθενών που απεβίωσαν λόγω της λοίμωξης από πανανθεκτικά gram-αρνητικά βακτήρια

Χαρακτηριστικό	Έκβαση λοίμωξης		P
	Ίαση (n = 16)	Θάνατος (n = 5)	
Ηλικία, έτη	64.1 ± 16.3	62.6 ± 6.2	0.85
Άρρεν φύλο	13 (81.3)	3 (60.0)	0.55
APACHE II score ^a	19.3 ± 7.9	17.6 ± 7.7	0.68
Δείκτης συννοσηρότητας Charlson ^a	3.1 ± 2.9	2.4 ± 2.3	0.64
Διάρκεια νοσηλείας σε ΜΕΘ πριν την έναρξη της λοίμωξης, ημέρες	24.0 ± 19.2	22.2 ± 16.9	0.85
Διάρκεια νοσηλείας στο νοσοκομείο πριν την έναρξη της λοίμωξης, ημέρες	41.7 ± 24.9	41.0 ± 24.8	0.96
Προηγούμενο χειρουργείο ^b	5 (31.3)	2 (40.0)	1.00
Εστία λοίμωξης			0.50
Κατώτεροι αεραγωγοί	6 (37.5)	4 (80.0)	
Βακτηριαμία	4 (25.0)	1 (20.0)	
Ουροποιητικό	4 (25.0)	0 (0.0)	
Χειρουργική τομή	1 (6.3)	0 (0.0)	
Δέρμα και μαλακά μόρια	1 (6.3)	0 (0.0)	
Θεραπεία συνδυασμού	8 (50.0)	4 (80.0)	0.34
Θεραπεία βασισμένη σε			0.14
Τιγκεκυκλίνη	7 (43.8)	0 (0.0)	
Κολιστίνη	7 (43.8)	3 (60.0)	
Άλλα αντιβιοτικά	2 (12.5)	2 (40.0)	

Τα δεδομένα παρουσιάζονται είτε ως no. (%) των ασθενών είτε ως μέσος \pm SD.

APACHE=Acute Physiology and Chronic Health Evaluation; ΜΕΘ= Μονάδα Εντατικής Θεραπείας.

^a Τη στιγμή της εισαγωγής στο νοσοκομείο. ^b Τις τελευταίες 30 ημέρες πριν την έναρξη της λοίμωξης.

Πίνακας 3.3. Χαρακτηριστικά των ασθενών με ίαση της λοίμωξης από πανανθεκτικό βακτήριο, ανάλογα με λήψη θεραπείας με τιγκεκυκλίνη ή όχι

Χαρακτηριστικό	Λήψη τιγκεκυκλίνης		P
	Ναι (n= 7)	Όχι (n = 9)	
Ηλικία, έτη	67.6 ± 18.3	61.3 ± 15.1	0.47
Άρρεν φύλο	5 (71.4)	8 (88.9)	0.55
APACHE II score ^a	17.4 ± 6.8	21.5 ± 9.1	0.38
Δείκτης συννοσηρότητας Charlson ^a	3.1 ± 2.7	3.0 ± 3.2	0.93
Διάρκεια νοσηλείας πριν την έναρξη της λοίμωξης, ημέρες	35.7 ± 25.7	46.3 ± 24.6	0.42
Προηγούμενο χειρουργείο ^b	2 (28.6)	3 (33.3)	1.00
Εστία λοίμωξης			0.65
Κατώτεροι αεραγωγοί	2 (28.6)	4 (44.4)	
Βακτηριαμία	2 (28.6)	2 (22.2)	
Ουροποιητικό	2 (28.6)	2 (22.2)	
Χειρουργική τομή	1 (14.3)	0 (0.0)	
Δέρμα και μαλακά μόρια	0 (0.0)	1 (11.1)	
Διάρκεια νοσηλείας μετά την έναρξη της λοίμωξης, ημέρες	34.7 ± 17.4	94.3 ± 61.6	0.02

Τα δεδομένα παρουσιάζονται είτε ως no. (%) των ασθενών είτε ως μέσος ± SD.

APACHE=Acute Physiology and Chronic Health Evaluation.

^a Τη στιγμή της εισαγωγής στο νοσοκομείο.

^b Τις τελευταίες 30 ημέρες πριν την έναρξη της λοίμωξης.

3.6. Συζήτηση - Συμπεράσματα

Πρόκειται για μία μελέτη παρατήρησης σειράς 21 ασθενών με λοίμωξη από πανανθεκτικά gram-αρνητικά βακτήρια σε μία περίοδο 2 ετών. Τα κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών είναι παρόμοια με αυτά σε άλλες σειρές λοιμώξεων από πανανθεκτικά gram-αρνητικά βακτήρια [Falagas 2005, Beno 2006, Mentzelopoulos 2007, Falagas 2008, Elemam 2009]. Οι ασθενείς αυτοί χαρακτηρίζονταν από σημαντικές συννοσηρότητες, μακρά παραμονή στο νοσοκομείο και στη ΜΕΘ και έκθεση σε πολλαπλές ομάδες αντιβιοτικών και παρεμβατικές συσκευές.

Όπως και σε άλλες σειρές [Falagas 2005, Beno 2006, Mentzelopoulos 2007, Falagas 2008], οι λοιμώξεις αυτές οδηγούσαν σε σημαντική παράταση της νοσηλείας (μέση διάρκεια 54.6 ημέρες μετά την λοίμωξη), αλλά η θνητότητα ήταν χαμηλότερη από την αναμενόμενη (23.8%). Επιπλέον, στο 56% των ασθενών που αντιμετωπίστηκαν επιτυχώς, τα πανανθεκτικά παθογόνα ήταν ανθεκτικά στα αντιβιοτικά που χορηγήθηκαν θεραπευτικά. Επομένως, στη μελέτη αυτή τίθεται υπό αμφισβήτηση ο πραγματικός ρόλος που έχουν τα πανανθεκτικά gram-αρνητικά μικρόβια στη θνητότητα των ασθενών [Falagas 2005, Falagas 2008].

Μένει να εξηγηθεί ο λόγος που η in vitro αντοχή σε ένα αντιβιοτικό δεν οδηγεί πάντα σε κλινική αποτυχία της θεραπείας. Έχει υποτεθεί ότι κάποιες λοιμώξεις είναι αυτοπεριοριζόμενες, ίσως λόγω χαμηλής λοιμογόνου δράσης και μειωμένου ρυθμού ανάπτυξης των πολυανθεκτικών στελεχών [Falagas 2005, Falagas 2008]. Άλλες πιθανές εξηγήσεις περιλαμβάνουν την υψηλή συγκέντρωση των αντιβιοτικών στους ιστούς, σε επίπεδα πολύ υψηλότερα από την MIC των παθογόνων [Falagas 2005] και ενισχυμένη δράση των συνδυασμών αντιβιοτικών μέσω συνέργειας [Falagas 2008].

Δεν υπάρχει αγωγή που να έχει αποδειχθεί αποτελεσματική σε ασθενείς με λοίμωξη από πανανθεκτικά στελέχη και τα περιορισμένα κλινικά δεδομένα στη βιβλιογραφία δεν προσφέρουν επαρκή στοιχεία [Falagas 2007]. Οι συνδυασμοί αντιβιοτικών με κολιστίνη έχουν προταθεί, παρά την *in vitro* έκθεση αντοχής των παθογόνων στην κολιστίνη [Falagas 2005, Falagas 2008]. Παρόμοια με την παρούσα μελέτη ποσοστά θνητότητας σε ασθενείς που έλαβαν κολιστίνη, παρατηρήθηκαν και σε άλλη σειρά 24 ασθενών με λοίμωξη από πανανθεκτικά gram-αρνητικά βακτήρια [Falagas 2008]. Αντίθετα όμως, στην παρούσα μελέτη, ασθενείς που έλαβαν τιγκεκυκλίνη είχαν σημαντικά μικρότερη διάρκεια νοσηλείας μετά τη λοίμωξη, συγκριτικά με ασθενείς που έλαβαν άλλα αντιβιοτικά, γεγονός που υποστηρίζει ταχύτερη υποχώρηση της λοίμωξης με την τιγκεκυκλίνη. Παρόλο που πρόκειται για μελέτη παρατήρησης και δεν μπορεί να αποκλεισθεί η σύγχυση από ένδειξη (confounding by indication, δηλαδή η θεραπεία που χορηγήθηκε ίσως να επηρεάστηκε και από την πρόγνωση του εκάστοτε ασθενούς), τα δεδομένα αυτά υποστηρίζουν ότι, όταν είναι αποτελεσματική *in vitro*, η τιγκεκυκλίνη μπορεί να συνιστά αποτελεσματική επιλογή για την αντιμετώπιση λοιμώξεων από πανανθεκτικά gram-αρνητικά βακτήρια.

Η χρήση της τιγκεκυκλίνης έχει συσχετισθεί με επιτυχή αντιμετώπιση σοβαρών λοιμώξεων από πολυανθεκτικά στελέχη στη βιβλιογραφία, όπως βακτηραιμία, πνευμονία και λοίμωξη ουροποιητικού [Kelesidis 2008, Vasilev 2008]. Ωστόσο, έχουν επίσης αναφερθεί στελέχη ανθεκτικά στην τιγκεκυκλίνη, ακόμα και σε κέντρα όπου δεν είχε χρησιμοποιηθεί το αντιβιοτικό αυτό [Navon-Venezia 2007]. Επιπλέον, έχει αναφερθεί η εμφάνιση αντοχής στην τιγκεκυκλίνη κατά τη διάρκεια χορήγησής της [Peleg 2007, Elemam 2009]. Για τους λόγους αυτούς, είναι σημαντική η χρήση του αντιβιοτικού αυτού με προσοχή και μόνο όταν είναι απολύτως απαραίτητη.

Συμπερασματικά, ασθενείς με λοίμωξη από πανανθεκτικά gram-αρνητικά βακτήρια χαρακτηρίζονται από πολλαπλές και σοβαρές συννοσηρότητες, μακρά νοσηλεία και προηγούμενη έκθεση σε πολλαπλά αντιβιοτικά και παρεμβάσεις. Υπάρχει σημαντική παράταση της νοσηλείας μετά τη λοίμωξη, αλλά η θνητότητα δεν είναι όσο υψηλή θα αναμενόταν. Χρειάζονται περισσότερες καλά σχεδιασμένες μελέτες σύγκρισης ώστε να εξακριβωθεί η αποδιδόμενη θνητότητα σε πανανθεκτικά βακτήρια. Η χορήγηση τιγκεκυκλίνης σχετίστηκε με ίαση και με χαμηλότερη διάρκεια νοσηλείας, όμως χρειάζεται προσοχή στη χρήση της για τη διατήρηση του αντιβιοτικού αυτού σαν επιλογή σε λοιμώξεις από πανανθεκτικά στελέχη.

3.7. Βιβλιογραφικές αναφορές

1. Beno P, Krcmery V, Demitrovicova A. Bacteraemia in cancer patients caused by colistin-resistant Gram-negative bacilli after previous exposure to ciprofloxacin and/or colistin. *Clin Microbiol Infect* 12:497–498; 2006.
2. Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chronic Dis* 40(5):373–383; 1987
3. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Seventeenth informational supplement. CLSI document M100-S17. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, 2007.
4. Cohen AL, Calfee D, Fridkin SK, Huang SS, Jernigan JA, Lautenbach E, Oriola S, Ramsey KM, Salgado CD, Weinstein RA; Society for Healthcare Epidemiology of America and Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. Recommendations for Metrics for Multidrug-Resistant Organisms in Healthcare Settings: SHEA/HICPAC Position Paper. *Infect Control Hosp Epidemiol* 29 (10): 901-913;2008.

5. Elemam A, Rahimian J, Mandell W. Infection with panresistant *Klebsiella pneumoniae*: a report of 2 cases and a brief review of the literature. *Clin Infect Dis* 49(2):271–274; 2009.
6. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) Steering Committee. EUCAST technical note on tigecycline. *Clin Microbiol Infect* 12:1147–1149; 2006.
7. Falagas ME, Bliziotis IA, Kasiakou SK, Samonis G, Athanassopoulou P, Michalopoulos A. Outcome of infections due to pandrug-resistant (PDR) Gram-negative bacteria. *BMC Infect Dis* 5:24–30; 2005.
8. Falagas ME, Bliziotis IA. Pandrug-resistant Gram-negative bacteria: the dawn of the post-antibiotic era? *Int J Antimicrob Agents* 29:630–636; 2007.
9. Falagas ME, Rafailidis PI, Matthaïou DK, Virtzili S, Nikita D, Michalopoulos A. Pandrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* infections: characteristics and outcome in a series of 28 patients. *Int J Antimicrob Agents* 32(5):450–454; 2008.
10. Horan TC, Gaynes RP. CDC definitions for nosocomial infections. In: Mayhall CG (ed) *Hospital epidemiology and infection control*, 3rd edn. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, pp 1659–1702; 2004.
11. Kelesidis T, Karageorgopoulos DE, Kelesidis I, Falagas ME. Tigecycline for the treatment of multidrug-resistant Enterobacteriaceae: a systematic review of the evidence from microbiological and clinical studies. *J Antimicrob Chemother* 62:895–904; 2008.
12. Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med* 13(10):818–829; 1985.
13. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, Harbarth S, Hindler JF, Kahlmeter G, Olsson-Liljequist B, Paterson DL, Rice LB, Stelling J, Struelens MJ, Vatopoulos A, Weber JT, Monnet DL. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect* 18(3):268–281; 2012.
14. Mentzelopoulos SD, Pratikaki M, Platsouka E, Kraniotaki H, Zervakis D, Koutsoukou A, Nanas S, Paniara O, Roussos C, Giamarellos-Bourboulis E, Routsis C, Zakyntinos SG. Prolonged use of carbapenems and colistin predisposes to ventilator-associated pneumonia by pandrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Intensive Care Med* 33:1524–1532; 2007.
15. Navon-Venezia S, Leavitt A, Carmeli Y. High tigecycline resistance in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother* 59:772–774; 2007.
16. Paterson DL, Doi Y. A step closer to extreme drug resistance (XDR) in gram-negative bacilli. *Clin Infect Dis* 45:1179–1181; 2007.
17. Peleg AY, Potoski BA, Rea R, Adams J, Sethi J, Capitano B, Husain S, Kwak EJ, Bhat SV, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii* bloodstream infection while receiving tigecycline: a cautionary report. *J Antimicrob Chemother* 59:128–131; 2007.
18. Siegel JD, Rhinehart E, Jackson M, Chiarello L; Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. Management of multidrug-resistant organisms in health care settings, 2006. *Am J Infect Control* 35 (10 Suppl 2):S165–193; 2007.
19. Souli M, Galani I, Giamarellou H. Emergence of extensively drug-resistant and pandrug-resistant Gram-negative bacilli in Europe. *Euro Surveill*. 2008;13(47):pii=19045. Available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19045>
20. Vasilev K, Reshedko G, Orasan R, Sanchez M, Teras J, Babinchak T, Dukart G, Cooper A, Dartois N, Gandjini H, Orrico R, Ellis-Grosse E; 309 Study Group. A Phase 3, open-label, noncomparative study of tigecycline in the treatment of patients with selected serious

infections due to resistant Gram-negative organisms including *Enterobacter* species, *Acinetobacter baumannii* and *Klebsiella pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother* 62(Suppl 1): i29-i40; 2008.

4. Εξέλιξη της πολυαντοχής σε στελέχη *Klebsiella pneumoniae* στα νοσοκομεία της Κρήτης

4.1. Περίληψη

Η *Klebsiella pneumoniae* τύπου αλληλούχισης ST258 που παράγει την καρβαπενεμάση KPC-2 μεταδίδεται ταχέως και συχνά σχετίζεται με σοβαρές νοσοκομειακές λοιμώξεις. Ως αποτέλεσμα, τελευταίας γραμμής αντιβιοτικά, όπως κολιστίνη και τιγκεκυκλίνη, συχνά είναι οι μοναδικές θεραπευτικές επιλογές. Η παρούσα μελέτη περιγράφει τους γενετικούς καθοριστές επίκτητης αντοχής 34 ανθεκτικών στις καρβαπενέμες στελεχών *K. pneumoniae* από ασθενείς νοσηλευόμενους σε 3 νοσοκομεία της Κρήτης (ΠαΓΝΗ, Βενιζέλιο Γενικό Νοσοκομείο και Γενικό Νοσοκομείο Ρεθύμνου) τις περιόδους 2010 και 2013/14. Το 2013/14, παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση των αντοχών σε πολλαπλά αντιβιοτικά και εμφάνιση στελεχών ανθεκτικών σε όλα τα αντιβιοτικά που ελέγχθηκαν. Η αντοχή στην κολιστίνη σχετίζεται με μεταλλάξεις στο γονίδιο mgrB, ενώ η αντοχή στην τιγκεκυκλίνη σχετίζεται με μεταλλάξεις στο γονίδιο ramR ή με απουσία γονιδίων του οπερονίου RamRA. Αναγνωρίστηκαν πολλαπλά γονίδια επίκτητης αντοχής σε διάφορα αντιβιοτικά και μεταλλάξεις, τα οποία καταδεικνύουν υψηλή δυναμική μεταδοτικότητας.

4.2. Εισαγωγή

Η αντιμικροβιακή αντοχή απειλεί την ορθή παροχή υγειονομικής περίθαλψης σε παγκόσμιο επίπεδο. Πρόσφατα, ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας χαρακτήρισε την εμφάνιση αντοχής στις καρβαπενέμες στα Εντεροβακτηριακά σαν προάγγελο μίας εποχής όπου τα αντιβιοτικά δεν θα έχουν χρησιμότητα (post-antibiotic era) [WHO 2014]. Οι θεραπευτικές επιλογές στην αντιμετώπιση λοιμώξεων από ανθεκτικά στις καρβαπενέμες στελέχη είναι πολύ περιορισμένες, ενώ επιφέρουν τον κίνδυνο τοξικότητας, ανεπιθύμητων ενεργειών και εμφάνισης επιπλέον αντοχών [Rafailidis 2014, Daikos 2014].

Η *Klebsiella pneumoniae* που παράγει την *K. pneumoniae* carbapenemase (KPC-KP) είναι σημαντικό νοσοκομειακό παθογόνο και έχει εμπλακεί σε τοπικές αλλά και εθνικές επιδημίες σε Ευρωπαϊκές χώρες [Grundmann 2010]. Πιο συγκεκριμένα, ο επιδημικός κλώνος τύπου αλληλούχισης ST-258, που φέρει την KPC-2, έχει επεκταθεί ταχέως την τελευταία δεκαετία και προκαλεί σοβαρές λοιμώξεις με υψηλή θνητότητα [Giakkouri 2011]. Το γονίδιο αντοχής που κωδικοποιεί το υδρολυτικό αυτό ένζυμο (blaKPC-2), μεταφέρεται σε τρανσποζόνιο που αλληλεπιδρά συχνά με διάφορα άλλα γονίδια αντοχής σε πλασμίδια, με αποτέλεσμα αυτά να μεταφέρονται μεταξύ διαφορετικών ειδών [Chmelnitsky 2014]. Προηγούμενη εμπειρία στον Ελληνικό χώρο έδειξε ότι κλινικά στελέχη αυτού του κλώνου παρέμεναν ευαίσθητα μόνο σε τελευταίας γραμμής αντιβιοτικά, όπως κολιστίνη και τιγκεκυκλίνη [Pournaras 2009]. Και ενώ η εθνική επιδημία παραμένει ανεξέλεγκτη, τα στελέχη αναπτύσσουν επιπλέον αντοχή ακόμα και στα αντιβιοτικά αυτά [Souli 2010]. Ως εκ τούτου, αναγνωρίζονται KPC-KP στελέχη με μειωμένη ευαισθησία σε τελευταίας γραμμής αντιβιοτικά, με τον κίνδυνο εμφάνισης και διασποράς της παναντοχής να βρίσκεται πολύ κοντά.

4.3. Σκοπός

Η ανθεκτική στις καρβαπενέμες *K. pneumoniae* θεωρείται ενδημική σε όλα τα νοσοκομεία της Κρήτης και απομονώνεται κυρίως σε Παθολογικά τμήματα και στις Μονάδες Εντατικής Θεραπείας. Μεταφορά ασθενών μεταξύ των νοσοκομείων της Κρήτης είναι επίσης πολύ συχνό φαινόμενο. Η παρούσα ανάλυση στοχεύει στη μελέτη του φαινοτύπου αντοχής και των γονιδιακών χαρακτηριστικών, καθώς και της εξέλιξης στο χρόνο της αντοχής σε τελευταίας γραμμής αντιβιοτικά, των στελεχών KPC-KP σε 3 νοσοκομεία της Κρήτης.

4.4. Μέθοδοι

Πραγματοποιήθηκε τυχαία δειγματοληψία ανθεκτικών στις καρβαπενέμες στελεχών *K. pneumoniae* (1 στέλεχος ανά ασθενή) από ασθενείς που νοσηλεύθηκαν σε 3 νοσοκομεία της Κρήτης: ΠαΓΝΗ, Βενιζέλιο Νοσοκομείο Ηρακλείου και Γενικό Νοσοκομείο Ρεθύμνου την περίοδο Ιούλιος 2013 – Αύγουστος 2014. Τα στελέχη αυτά θα αναφέρονται ως το δείγμα 2013/14. Παράλληλα συλλέχθηκαν στελέχη από το ΠαΓΝΗ την περίοδο Φεβρουάριος – Ιούλιος 2010, τα οποία χρησιμοποιήθηκαν σαν ιστορικό δείγμα μάρτυρα. Δημογραφικά στοιχεία σχετικά με τους ασθενείς και την έκβαση νοσηλείας ελήφθησαν αναδρομικά από τους ηλεκτρονικούς φακέλους των ασθενών.

Η μικροβιολογική και μοριακή ανάλυση έλαβαν χώρα στο Εργαστήριο Μικροβιολογίας του University Medical Center Groningen στην Ολλανδία. Έγινε ανάλυση γονιδιώματος (whole genome sequencing), de novo ανασύσταση, και ανάλυση τύπων MLST σε 3664 προσχηματισμένα (ad hoc scheme) γονίδια [Weterings 2015]. Η ταυτοποίηση των στελεχών και ο έλεγχος ευαισθησίας στα αντιβιοτικά έγιναν με τα συστήματα MalDI-TOF και Vitek2. Οι MIC σε κολιστίνη, τιγκεκυκλίνη, αμικασίνη, χλωραμφενικόλη και φωσφομυκίνη υπολογίστηκαν με το E-test (AB Biodisk, Mannheim, Germany) σε άγαρ Mueller Hinton και η αντιμικροβιακή ευαισθησία εκτιμήθηκε σύμφωνα με τα όρια της EUCAST. Η παραγωγή καρβαπενεμάσης αναγνωρίστηκε με τη συνδυασμένη μέθοδο της διάχυσης δίσκου με τη χρήση των μεταλλο-β-λακταμασών KPC/MBL και OXA-48 Confirm Kit (Rosco Diagnostica A/S, Taastrup, Denmark).

Η εξαγωγή DNA έγινε απευθείας από αποικίες (Ultrapure Microbial DNA Isolation Kit, MO BIO Laboratories, Carlsbad, CA, US) σύμφωνα με το πρωτόκολλο του κατασκευαστή. Οι συγκεντρώσεις DNA υπολογίστηκαν με Φθοριόμετρο Qubit® 2.0 Fluorometer με τη χρήση dsDNA HS και BR assay kit (Life technologies, Carlsbad, CA, US). Στη συνέχεια σχηματίστηκαν βιβλιοθήκες DNA με το Nextera XT v3 kit (Illumina, San Diego, CA, US) και δημιουργήθηκαν ζεύγη 250-bp με το Illumina Miseq System και το CLC Genomics Workbench v7.5 (QIAGEN, Hilden, Germany) μετά από quality trimming (Qs ≥ 20). Τα γονίδια επίκτητης αντοχής και οι τύποι MLST αναγνωρίστηκαν με τη μεταφόρτωση των συναρμολογημένων γονιδιωμάτων στον Resfinder server v2.1. [Zankari 2012] και στον MLST 1.7 server [Larsen 2012], αντίστοιχα.

Τα γονιδιώματα σηματοδοτήθηκαν με το RAST version 2.0 [McNeil 2007]. Τα γονίδια RamR (GI 573005858) και RamA (GI 573005860) χρησιμοποιήθηκαν ως γονίδια αναφοράς για την ανίχνευση μεταλλάξεων σχετικών με αντοχή στην τιγκεκυκλίνη [Sheng 2014]. Τα γονίδια mgrB (GI 695277517) και PhoQ (GI 6938724) χρησιμοποιήθηκαν ως γονίδια αναφοράς για την ανεύρεση μεταλλάξεων σχετικών με αντοχή στην κολιστίνη [Cannatelli 2014]. Οι μεταλλάξεις νουκλεοτιδικών αλληλουχιών αναγνωρίστηκαν με το MEGA6, ενώ οι αλληλουχίες ένθεσης (insertion sequences) αναγνωρίστηκαν με τον

ISfinder [Siguier 2006]. Η στατιστική σημασία των διαφορών MIC εκτιμήθηκε με το Mann-Whitney U τεστ ή το t-test (GraphPad Prism 5). Τα δεδομένα παρουσιάζονται σαν τιμή (%) για ποιοτικές μεταβλητές και μέση τιμή ± σταθερή απόκλιση (standard deviation, SD) για συνεχείς μεταβλητές.

4.5. Αποτελέσματα

Αναλύθηκαν 23 κλινικά στελέχη KPC-KP από το δείγμα 2013/14 και 11 στελέχη από το 2010. Όλα τα στελέχη είχαν παραγωγή KPC και ανήκαν στον τύπο αλληλούχισης ST258 εκτός ενός που ήταν ST147. Στον Πίνακα 4.1 απεικονίζονται τα ποσοστά αντοχής σε διάφορα αντιβιοτικά. Όλα τα στελέχη ήταν ανθεκτικά στις κεφαλοσπορίνες δεύτερης και τρίτης γενιάς, και στις καρβαπενέμες με MIC στη μεροπενέμη > 16 µg/ml. Όλα τα στελέχη ήταν ανθεκτικά στις κινολόνες και μόνο ένα ήταν ευαίσθητο στην αμικασίνη και τομπραμυκίνη. Από το σύνολο των 34 στελεχών, 7 (20.6%) ήταν ευαίσθητα στην trimethoprim/sulphonamide και 15 (44.1%) ήταν ευαίσθητα στη γενταμικίνη. Παρατηρήθηκε μείωση των ποσοστών ευαισθησίας από το 2010 στο 2013/14. Αυτό ήταν ιδιαίτερα σημαντικό για την κολιστίνη (31% από 73%, $p=0.03$) και την τιγκεκυκλίνη (13% από 63%, $p=0.05$). Επιπλέον, βρέθηκαν 6 (19%) πανανθεκτικά στελέχη (αντοχή σε όλα τα αντιβιοτικά που ελέγχθηκαν), τα οποία ήταν όλα στο δείγμα 2013/14 και συγκεκριμένα σε ασθενείς με προηγούμενη νοσηλεία σε ΜΕΘ.

Πίνακας 4.1. Ποσοστό ευαισθησίας των στελεχών KPC-KP σε διάφορα αντιβιοτικά

	Ποσοστό ευαισθησίας των στελεχών		
	2010 (n=11)	2013/14 (n=23)	p
Meropenem	0	0	-
Ciprofloxacin	0	0	-
Amikacin	9	0	0.323
Gentamicin	45	43	1.000
Trimethoprim/ Sulphonamide	18	17	1.000
Fosfomycin	73	43	0.152
Colistin	73	31	0.03
Tigecycline	63	13	0.05
Chloramphenicol	9	0	0.323

Στον Πίνακα 4.2 παρουσιάζονται τα μοριακά χαρακτηριστικά των στελεχών KPC-KP. Η μέθοδος διάχυσης δίσκων έδειξε συνέργεια μεροπενέμης και φαινυλβορονικού, ενδεικτική παραγωγής KPC σε όλα τα στελέχη. Κανένα στέλεχος δεν είχε υψηλού βαθμού αντοχή στην τεμοκυκλίνη, εύρημα το οποίο ήταν αρνητικό για παραγωγή OXA-48. Όλες οι φαινοτυπικές μέθοδοι ήταν συμβατές με τα γονίδια επίκτητης αντοχής στον Resfinder, δηλ. όλα τα στελέχη έφεραν το γονίδιο blaKPC-2 και κανένα άλλο γονίδιο καρβαπενεμάσης. Επιπλέον, βρέθηκαν γονίδια β-λακταμασών: τα συχνότερα ήταν συνδυασμός blaTEM1A, blaOXA-9 και blaSHV-12, ακολουθούμενα από συνδυασμό blaTEM1A, blaOXA-9 και blaSHV-11.

Όσον αφορά στην αντοχή στην κολιστίνη, ανιχνεύθηκαν μεταλλάξεις ή αλληλουχίες ένθεσης στα γονίδια *mgrB* και *PhoQ* σε 19 στελέχη, ενώ στελέχη χωρίς τα γονίδια αυτά ή χωρίς μεταλλάξεις είχαν σημαντικά χαμηλότερη MIC στην κολιστίνη. Σε 15 στελέχη όπου δεν ανιχνεύθηκαν μεταλλάξεις, μόνο ένα ήταν ανθεκτικό στην κολιστίνη. Μεταλλάξεις στο *mgrB* ήταν συχνότερες στο δείγμα 2013/14 (61%) σε σχέση με το δείγμα 2010 (27%).

Τα γονίδια *RamR* και *RamA* αναλύθηκαν για μεταλλάξεις σε σχέση με αντοχή στην τιγκεκυκλίνη. Το οπερόνιο *RamRA* βρέθηκε σε 21 στελέχη: 6 από αυτά είχαν μεταλλάξεις στο *RamR*, εκ των οποίων 4 ήταν ανθεκτικά στην τιγκεκυκλίνη. Επιπλέον, 11/13 αρνητικά για το οπερόνιο *Ram* είχαν MIC για τιγκεκυκλίνη που θεωρούνταν ενδιάμεσης ευαισθησίας σύμφωνα με τα κριτήρια της EUCAST [EUCAST 2006].

Άλλα γονίδια επίκτητης αντοχής που βρέθηκαν, συμπεριλαμβάνουν τα *aac(6')-Ib*, *aadA2*, ή *aph(3')-Ia* αντοχής στις αμινογλυκοσίδες, *aac-(6')Ib-cr*, *oqxB*, *oqxA* αντοχής στις κινολόνες (παρόντα σε όλα τα στελέχη), *dfpA12* και *sul1* αντοχής στην trimethoprim/sulphonamide (σε 27 στελέχη).

Όσον αφορά στα χαρακτηριστικά των ασθενών με απομόνωση KPC-KP (Πίνακας 4.3), η μέση ηλικία ήταν 66.5 ± 15.1 έτη, προηγούμενη νοσηλεία σε ΜΕΘ είχαν 18 ασθενείς, για 21.1 ± 14.4 ημέρες, ενώ τα συχνότερα δείγματα απομόνωσης ήταν ούρα (9/34, 26.5%), αίμα (5/34, 14.7%) και πύον (5/34, 14.7%). Η θνητότητα ήταν σημαντική, αφού 15 ασθενείς (44.1%) απεβίωσαν στη διάρκεια της νοσηλείας τους: 4/11 την περίοδο 2010 και 11/23 την περίοδο 2013/14 ($p=0.715$). Η μονοπαραγοντική ανάλυση για θνητότητα κατέδειξε τη σημασία της απομόνωσης KPC-KP σε ΜΕΘ ($p=0.03$) και της παναντοχής ($p=0.066$), ενώ το νοσοκομείο απομόνωσης δεν έπαιζε κάποιο ρόλο ($p=1.000$).

Πίνακας 4.2. Μοριακά χαρακτηριστικά των 34 στελεχών KPC-KP

Στέλεχος	Νοσοκομείο	Προηγ. ημέρες ΜΕΘ	Ημερομηνία απομόνωσης	MIC MER (mg/L)	MIC IMP (mg/L)	Ευαισθησία GN/SXT/CIPX /FOS/CA	MIC COL (mg/L)	MIC TIG (mg/L)	<i>Bla</i> -γονίδια	Μεταλλάξεις <i>mgrB</i> ή <i>phoQ</i>	Μεταλλάξεις <i>ramR</i>
509	A	0	12-02-10	>16 R	>16 R	I/R/R/S/R	0.19 S	0.094 S	KPC-2 OXA-9 SHV-12	-	-
510	A	34	17-02-10	>16 R	>16 R	I/R/R/S/R	4 R	6 R	KPC-2 OXA-9 LEN-11	IS5 19	C47G
506	A	25	18-02-10	>16 R	8 I	I/S/R/R/R	24 R	1.5 I	KPC-2 OXA-9 LEN-11	ISL3 143	-
505	A	0	24-02-10	>16 R	>16 R	S/R/R/S/R	0.5 S	0.5 S	KPC-2 OXA-9 SHV-12	-	-
523	A	12	25-02-10	>16 R	>16 R	I/R/R/S/R	3 R	3 R	KPC-2 SHV-12	IS5 19	C47G
512	A	0	26-02-10	>16 R	>16 R	S/S/R/S/R	0.75 S	1.5 I	KPC-2 OXA-9 SHV-11	-	-
500	A	30	23-04-10	>16 R	>16 R	I/R/R/R/R	0.125 S	0.75 S	KPC-2 OXA-9 SHV-12	-	-
513*	A	40	02-06-10	>16 R	4 I	S/S/R/R/R	2 S	1 S	KPC-2 SHV-11	A297C, C1173T, και C1182T στο <i>phoQ</i>	Διαγραφή 6 bp στη θέση 205
514	A	0	02-06-10	>16 R	>16 R	I/R/R/S/R	0.38 S	1 S	KPC-2 OXA-9 SHV-12	-	Εισαγωγή c στη θέση 510
517	A	0	02-06-10	>16 R	>16 R	S/R/R/S/R	0.38 S	0.38 S	KPC-2 OXA-9 LEN-11	-	-
519	A	0	03-06-10	>16 R	>16 R	S/R/R/S/R	0.50 S	0.75 S	KPC-2 OXA-9 SHV-12	-	-
548	C	0	12-07-13	>16 R	8 I	S/R/R/R/R	0.094 S	1.5 I	KPC-2 OXA-9 SHV-12	-	-
545	C	5	31-08-13	>16 R	>16 R	I/R/R/R/R	16 R	1.5 I	KPC-2 OXA-9 SHV-12	IS5 91	-
529	C	15	17-09-13	>16 R	8 I	S/R/R/S/R	96 R	2 I	KPC-2 OXA-9 SHV-12	Διαγραφή 12 bp στο <i>PhoQ</i>	-
542	C	0	21-09-13	>16 R	8 I	S/R/R/S/R	12 R	1 S	KPC-2 OXA-9 SHV-12	ISL3 12	-
525	C	0	30-11-13	>16 R	2 S	S/R/R/S/R	0.25 S	2 I	KPC-2 OXA-9 SHV-11	-	-
537	C	0	15-12-13	>16 R	>16 R	S/R/R/R/R	0.125 S	2 I	KPC-2 OXA-9 SHV-12	-	-
532	C	6	02-03-14	>16 R	8 I	I/R/R/S/R	0.19 S	1.5 I	KPC-2 OXA-9 SHV-12	-	-
534	C	6	10-03-14	>16 R	8 I	S/R/R/R/R	0.125 S	1 S	KPC-2 OXA-9 SHV-12	-	-
551	C	18	17-03-14	>16 R	>16 R	I/R/R/R/R	12 R	1.5 I	KPC-2 OXA-9 SHV-11	ISL3 11	-
550	C	54	23-03-14	>16 R	2 S	S/R/R/R/R	12 R	2 I	KPC-2 OXA-9 SHV-11	Σημειακή μετάλλαξη C35A	-
538	A	2	09-04-14	>16 R	>16 R	R/R/R/S/R	256 R	2 I	KPC-2 OXA-9 SHV-12	IS5 76	-
535	A	0	11-04-14	>16 R	8 I	I/R/R/S/R	12 R	2 I	KPC-2 OXA-9 SHV-12	ISL3 12	-
541	A	13	14-04-14	>16 R	4 I	I/R/R/R/R	6 R	2 I	KPC-2 OXA-9 SHV-12	ISL3 12	-
543	A	35	14-04-14	>16 R	8 I	I/R/R/R/R	4 R	2 I	KPC-2 OXA-9 SHV-12	ISL3 12	-
531	A	30	16-04-14	>16 R	8 I	I/R/R/R/R	32 R	2 I	KPC-2 OXA-9 SHV-12	ISL3 12	-
528	A	0	17-04-14	>16 R	8 I	I/R/R/S/R	8 R	1.5 I	KPC-2 OXA-9 SHV-12	ISL3 12	-
536	C	34	06-05-14	>16 R	>16 R	S/R/R/S/R	8 R	12 R	KPC-2 OXA-9 SHV-11	Σημειακή μετάλλαξη C35A	G452A
540	C	30	08-05-14	>16 R	>16 R	S/R/R/S/R	8 R	1,5 I	KPC-2 OXA-9 SHV-11	Σημειακή	-

										μετάλλαξη C35A	
555	B	0	18-06-14	>16 R	>16 R	I/R/R/R/R	8 / R	1 / S	KPC-2 OXA-9 SHV-12	ISL3 12	-
549	B	15	19-06-14	>16 R	8 I	I/R/R/S/R	16 R	3 R	KPC-2 OXA-9 SHV-12	-	-
552	B	10	03-07-14	>16 R	>16 R	I/R/R/R/R	12 R	2 I	KPC-2 OXA-9 SHV-12	ISL3 12	-
554	B	0	07-07-14	>16 R	>16 R	S/R/R/R/R	0.125 S	6 R	KPC-2 OXA-9 SHV-12	-	-
546	B	0	11-07-14	>16 R	>16 R	I/R/R/R/R	0.125 S	1.5 I	KPC-2 OXA-9 SHV-11	-	-

MER: Μεροπενέμη, IMP: ιμπενέμη, GN: γενταμικίνη, SXT: τριμεθοπρίμη/σουλφαμεθοξαζόλη, CIPX: σιπροφλοξασίνη, FOS: φωσφομυκίνη, CA: χλωραμφαινικόλη, COL: κολιστίνη, TIG: τιγκεκυκλίνη, A. ΠαΓΝΗ, Β.ΒΝΗ, C.ΓΝ Ρεθύμνου, R: αντοχή, I: ενδιάμεση ευαισθησία, S: ευαισθησία

Πίνακας 4.3. Χαρακτηριστικά των 34 στελεχών ΚΡC-ΚΡ της μελέτης

Νοσοκομείο	Ημερομηνία απομόνωσης	Τμήμα απομόνωσης	Δείγμα	Ηλικία	Προηγούμενη ΜΕΘ (ημέρες)	Θάνατος
ΠαΓΝΗ	23-04-10	ΜΕΘ	Καθετήρας	71	30	Ναι
ΠαΓΝΗ	24-02-10	Ουρολογία	Ούρα	73	0	Όχι
ΠαΓΝΗ	18-02-10	ΜΕΘ	BAL	75	25	Ναι
ΠαΓΝΗ	12-02-10	Παθολογία	Ούρα	64	0	Όχι
ΠαΓΝΗ	17-02-10	ΜΕΘ	Ασκιτικό	58	34	Ναι
ΠαΓΝΗ	26-02-10	Ογκολογία	Ούρα	67	0	Όχι
ΠαΓΝΗ	02-06-10	Νευροχειρουργική	BAL	77	40	Όχι
ΠαΓΝΗ	02-06-10	Παθολογία	Πύον	57	0	Όχι
ΠαΓΝΗ	02-06-10	Αιματολογία	Ούρα	53	0	Όχι
ΠαΓΝΗ	03-06-10	Αιματολογία	Ούρα	75	0	Όχι
ΠαΓΝΗ	25-02-10	ΜΕΘ	Ασκιτικό	58	12	Ναι
ΠαΓΝΗ	17-04-14	Παθολογία	Αίμα	82	0	Όχι
ΠαΓΝΗ	16-04-14	Νευροχειρουργική	Πύον	22	30	Όχι
ΠαΓΝΗ	11-04-14	Παθολογία	Πύον	76	0	Όχι
ΠαΓΝΗ	09-04-14	Αιματολογία	Αίμα	59	2	Ναι
ΠαΓΝΗ	14-04-14	ΜΕΘ	Αίμα	63	13	Ναι
ΠαΓΝΗ	14-04-14	Νευροχειρουργική	BAL	75	35	Ναι
Βενιζέλειο	11-07-14	Πνευμονολογία	Πτύελα	82	0	Ναι
Βενιζέλειο	19-06-14	Παθολογία	Πύον	44	0	Όχι
Βενιζέλειο	03-07-14	Παθολογία	Πύον	75	10	Ναι
Βενιζέλειο	18-06-14	Παθολογία	Αίμα	78	0	Όχι
Βενιζέλειο	07-07-14	Επείγοντα	Ούρα	66	0	Όχι
Ρεθύμνου	17-03-14	ΜΕΘ	Αίμα	66	18	Ναι
Ρεθύμνου	23-03-14	ΜΕΘ	Καθετήρας	46	14	Όχι
		Γεν.Χειρουργική	Stent			Όχι
Ρεθύμνου	12-07-13		χοληφόρων	28	0	
Ρεθύμνου	31-08-13	Γεν.Χειρουργική	Άγνωστο	66	5	Ναι
Ρεθύμνου	21-09-13	Παθολογία	Ούρα	73	0	Όχι
Ρεθύμνου	08-05-14	ΜΕΘ	Ούρα	60	30	Ναι
Ρεθύμνου	17-09-13	ΜΕΘ	Καθετήρας	81	15	Ναι
Ρεθύμνου	06-05-14	ΜΕΘ	Πτύελα	60	54	Όχι
Ρεθύμνου	10-03-14	Γεν.Χειρουργική	Ούρα	76	6	Όχι
Ρεθύμνου	02-03-14	ΜΕΘ	Άγνωστο	83	6	Ναι
Ρεθύμνου	15-12-13	Πνευμονολογία	Άγνωστο	82	0	Ναι
Ρεθύμνου	30-11-13	Παθολογία	Άγνωστο	89	0	Όχι

4.6. Συζήτηση – Συμπεράσματα

Η παρούσα μελέτη είναι μία αναφορά των γενετικών καθοριστών επίκτητης αντοχής σε β-λακταμικά και μη-λακταμικά αντιβιοτικά, σε ανθεκτικά στις καρβαπενέμες στελέχη *K. pneumoniae* που απομονώθηκαν σε ασθενείς από 3 νοσοκομεία της Κρήτης. Επιπλέον, αναδείχθηκε η εξέλιξη της αντοχής αυτής, τόσο φαινοτυπικά όσο και γονιδιακά μεταξύ δύο διακριτών χρονικών περιόδων.

Όσον αφορά στα β-λακταμικά, όλα τα στελέχη ήταν θετικά για παραγωγή καρβαπενεμάσης KPC-2, ενώ φαίνεται ότι πριν αποκτήσουν την KPC, έφεραν επίσης τις β-λακταμάσες (ESBL) SHV-11/12 και TEM-1. Επιπλέον των υδρολυτικών ενζύμων των β-λακταμασών, βρέθηκε ένα ευρύ φάσμα γονιδίων επίκτητης αντοχής σε μη-λακταμικά αντιβιοτικά, τα οποία απέκτησαν πρόσφατα. Ειδικότερα, αναγνωρίστηκαν μεταλλάξεις που επιφέρουν αντοχή στην κολιστίνη και τιγκεκυκλίνη, γεγονός που οδηγεί ταχέως στη δημιουργία και μετάδοση στελεχών πανανθεκτικών. Η μεγάλη ποικιλία μηχανισμών αντοχής υποδεικνύει ότι η κλωνική επέκταση των KPC-KP είχε μικρή συμμετοχή στην εξέλιξη της παναντοχής, και μεγαλύτερο ρόλο φαίνεται να έπαιξε η υψηλή δυναμική μετάδοσης γενετικών καθοριστών μεταξύ των νοσοκομειακών στελεχών, ένδειξη ύπαρξης ρήξεων στα μέτρα πρόληψης και ελέγχου λοιμώξεων.

Η κολιστίνη προκαλεί βακτηριοκτονία μέσω μετακίνησης των δισθενών κατιόντων από το λιποπολυσακχαρίτη της κυτταρικής μεμβράνης, οδηγώντας σε κυτταρική λύση. Η αντοχή στην κολιστίνη σχετίζεται με τροποποιήσεις στο λιποπολυσακχαρίτη, οι οποίες ρυθμίζονται από τα δύο διμερή συστήματα PmrA/PmrB και PhoP/PhoQ. Η απενεργοποίηση με αλληλουχίες ένθεσης του γονιδίου mgrB, που είναι ανασταλτής του PhoP/PhoQ, είναι ο συχνότερος μηχανισμός αντοχής στην κολιστίνη [Cannatelli 2014, Olaitan 2014]. Στη μελέτη αυτή φάνηκε η άμεση σχέση μεταξύ διαταραχής του mgrB και αντοχής στην κολιστίνη, οδηγώντας σε σημαντική αύξηση του ποσοστού αντοχής από το 2010 μέχρι το 2013/14.

Μεταλλάξεις στο γονίδιο RamR σχετίζονται με αντοχή στην τιγκεκυκλίνη [Horiyama 2011, Villa 2014]. Το RamR καταστέλλει το RamA, το οποίο ρυθμίζει την αντλία (efflux pump) AcrRAB που σχετίζεται με την αποβολή της τιγκεκυκλίνης. Μεταλλάξεις στο RamR οδηγούν σε απο-καταστολή (derepression) του RamA και συνεπώς σε αυξημένη ενεργότητα της αντλίας AcrRAB [Sheng 2014]. Στην παρούσα μελέτη αναγνωρίστηκαν 3 στελέχη ανθεκτικά στην τιγκεκυκλίνη με πανομοιότυπη αντικατάσταση βάσεων στο γονίδιο του RamR. Επιπλέον, βρέθηκαν στελέχη στα οποία απουσίαζε ολόκληρο το ρυθμιστικό σύστημα RamRA. Αυτά τα στελέχη δεν βρέθηκαν το 2010, αλλά υπήρχαν στο δείγμα 2013/14, υπονοώντας πρόσφατο φαινόμενο. Ουσίες που να κατευθύνονται εναντίον συγκεκριμένων αντλιών θα μπορούσαν να αποτελέσουν μελλοντική αντιμικροβιακή επιλογή σε περιπτώσεις ύπαρξης αυτών των μηχανισμών αντοχής [Blair 2014]. Σημειωτέον ότι ο μοριακός μηχανισμός αυξημένης MIC στην τιγκεκυκλίνη στα RamRA-αρνητικά στελέχη δεν έχει ακόμα διαλευκανθεί.

Στην παρούσα μελέτη περιγράφεται η εμφάνιση πανανθεκτικών στελεχών και οι μοριακοί μηχανισμοί πίσω από τις αντοχές τους. Είναι προφανώς απαραίτητη η άμεση εφαρμογή παρεμβάσεων για την αποτροπή της περαιτέρω μετάδοσης των πανανθεκτικών μικροοργανισμών. Η ανάλυση με core genome-MLST θα μπορούσε στο μέλλον να χρησιμοποιηθεί σαν εργαλείο ταχείας αναγνώρισης μοριακών δεικτών της KPC-KP ST258. Η χρήση ταχέων διαγνωστικών μέτρων για την έγκαιρη ανίχνευση των στελεχών αυτών θα είχε θέση, ώστε να βελτιστοποιείται η εφαρμογή μέτρων ελέγχου λοιμώξεων στους αποικισμένους ασθενείς. Για παράδειγμα, η ταχεία αναγνώριση φορέας KPC μέσω screening, σε συνδυασμό με την απομόνωση των ασθενών και τον έλεγχο της συμμόρφωσης του προσωπικού με μέτρα απομόνωσης επαφής, ήταν αποτελεσματικά

στον περιορισμό της εθνικής επιδημίας από KPC-KP στο Ισραήλ [Schwaber 2011]. Στην επιδημία αυτή, αναπτύχθηκε ειδική real time PCR για την ανίχνευση γενετικών δεικτών απευθείας σε κλινικά δείγματα [Mangold 2011]. Εναλλακτικά της μοριακής επιτήρησης, έχουν αναπτυχθεί ταχέα συστήματα βασισμένα σε καλλιέργειες, εμποτισμένα με μεροπενέμη ή με αναστολείς καρβαπενεμασών [Pournaras 2013].

Συμπερασματικά, τα πιο πάνω δεδομένα δείχνουν την εξέλιξη των στελεχών KPC-KP προς την παναντοχή, μέσω μεταλλάξεων και μετάδοσης πληθώρας γονιδίων αντοχής. Η εξέλιξη της αντοχής μεταξύ των 2 χρονικών περιόδων που μελετήθηκαν δείχνει την ταχύτητα με την οποία αυξάνονται οι μηχανισμοί αντοχής σε ένα στέλεχος. Η αδυναμία περιορισμού μετάδοσης των στελεχών αυτών ενέχει τον κίνδυνο εμφάνισης επιδημιών, με σοβαρές επιπτώσεις στα συστήματα υγείας.

4.7. Βιβλιογραφικές αναφορές

1. Blair JM, Richmond GE, Piddock LJ. Multidrug efflux pumps in Gram-negative bacteria and their role in antibiotic resistance. *Future Microbiol* 9:1165-1177; 2014.
2. Cannatelli A, Giani T, D'Andrea MM, Di Pilato V, Arena F, Conte V, Tryfinopoulou K, Vatopoulos A, Rossolini GM, COLGRIT Study Group. MgrB inactivation is a common mechanism of colistin resistance in KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* of clinical origin. *Antimicrob Agents Chemother*. 58:5696-5703; 2014.
3. Chmelnitsky I, Shklyar M, Leavitt A, Sadovsky E, Navon-Venezia S, Ben Dalak M, Edgar R, Carmeli Y. Mix and match of KPC-2 encoding plasmids in Enterobacteriaceae-comparative genomics. *Diagn Microbiol Infect Dis* 79:255-260; 2014.
4. Daikos GL, Tsaousi S, Tzouveleki LS, Anyfantis I, Psychogiou M, Argyropoulou A, Stefanou I, Sypsa V, Miriagou V, Nepka M, Georgiadou S, Markogiannakis A, Goukos D, Skoutelis A. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections: lowering mortality by antibiotic combination schemes and the role of carbapenems. *Antimicrob. Agents Chemother*. 58:2322-2328; 2014.
5. Giakkoupi P, Papagiannitsis CC, Miriagou V, Pappa O, Polemis M, Tryfinopoulou K, Tzouveleki LS, Vatopoulos AC. An update of the evolving epidemic of blaKPC-2-carrying *Klebsiella pneumoniae* in Greece (2009-10). *J Antimicrob Chemother* 66:1510-1513; 2011.
6. Grundmann H, Livermore DM, Giske CG, Canton R, Rossolini GM, Campos J, Vatopoulos A, Gniadkowski M, Toth A, Pfeifer Y, Jarlier V, Carmeli Y, CNSE Working Group. Carbapenem-non-susceptible Enterobacteriaceae in Europe: conclusions from a meeting of national experts. *Euro Surveill* 15:19711; 2010.
7. Horiyama T, Nikaido E, Yamaguchi A, Nishino K. Roles of Salmonella multidrug efflux pumps in tigecycline resistance. *J Antimicrob Chemother* 66:105-110; 2011.
8. Larsen MV, Cosentino S, Rasmussen S, Friis C, Hasman H, Marvig RL, Jelsbak L, Sicheritz-Ponten T, Ussery DW, Aarestrup FM, Lund O. Multilocus sequence typing of total-genome-sequenced bacteria. *J Clin Microbiol* 50:1355-1361; 2012.
9. Mangold KA, Santiano K, Broekman R, Krafft CA, Voss B, Wang V, et al. Real-time detection of blaKPC in clinical samples and surveillance specimens. *J Clin Microbiol* 49:3338-3339; 2011.
10. McNeil LK, Reich C, Aziz RK, Bartels D, Cohoon M, Disz T, et al. The National Microbial Pathogen Database Resource (NMPDR): a genomics platform based on subsystem annotation. *Nucleic Acids Res* 35:D347-53; 2007.
11. Olaitan AO, Diene SM, Kempf M, Berrazeg M, Bakour S, Gupta SK, et al. Worldwide emergence of colistin resistance in *Klebsiella pneumoniae* from healthy humans and

- patients in Lao PDR, Thailand, Israel, Nigeria and France owing to inactivation of the PhoP/PhoQ regulator mgrB: an epidemiological and molecular study. *Int J Antimicrob Agents* 44:500-507; 2014.
12. Pournaras S, Protonotariou E, Voulgari E, Kristo I, Dimitroulia E, Vitti D, Tsalidou M, Maniatis AN, Tsakris A, Sofianou D. Clonal spread of KPC-2 carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* strains in Greece. *J Antimicrob Chemother* 64:348-352; 2009.
 13. Pournaras S, Zarkotou O, Poulou A, Kristo I, Vrioni G, Themeli-Digalaki K, Tsakris A. A combined disk test for direct differentiation of carbapenemase-producing enterobacteriaceae in surveillance rectal swabs. *J Clin Microbiol* 51:2986-2990; 2013.
 14. Rafailidis PI, Falagas ME. Options for treating carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. *Curr Opin Infect Dis* 27:479-483; 2014.
 15. Schwaber MJ, Lev B, Israeli A, Solter E, Smollan G, Rubinovitch B, Shalit I, Carmeli Y, Israel Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae Working Group. Containment of a country-wide outbreak of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in Israeli hospitals via a nationally implemented intervention. *Clin Infect Dis* 52:848-855; 2011.
 16. Sheng ZK, Hu F, Wang W, Guo Q, Chen Z, Xu X, Zhu D, Wang M. Mechanisms of tigecycline resistance among *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 58:6982-6985; 2014.
 17. Siguier P, Perochon J, Lestrade L, Mahillon J, Chandler M. ISfinder: the reference centre for bacterial insertion sequences. *Nucleic Acids Res.* 34:D32-6; 2006.
 18. Souli M, Galani I, Antoniadou A, Papadomichelakis E, Poulakou G, Panagea T, Vourlic S, Zerva L, Armaganidis A, Kanellakopoulou K, Giamarellou H. An outbreak of infection due to beta-Lactamase *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase 2-producing *K. pneumoniae* in a Greek University Hospital: molecular characterization, epidemiology, and outcomes. *Clin Infect Dis* 50:364-373; 2010.
 19. Villa L, Feudi C, Fortini D, Garcia-Fernandez A, Carattoli A. Genomics of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* sequence type 512 clone highlights the role of RamR and ribosomal S10 protein mutations in conferring tigecycline resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 58:1707-1712; 2014.
 20. Weterings V, Zhou K, Rossen JW et al. An outbreak of colistin-resistant *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *klebsiella pneumoniae* in the Netherlands (July to December 2013), with inter-institutional spread. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 34(8):1647-55;2015.
 21. World Health Organisation. Antimicrobial Resistance. Global Report on Surveillance. 2014. Available at: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112642/1/9789241564748_eng.pdf?ua=1.
 22. Zankari E, Hasman H, Cosentino S, Vestergaard M, Rasmussen S, Lund O, Aarestrup FM, Larsen MV. Identification of acquired antimicrobial resistance genes. *J Antimicrob Chemother* 67:2640-2644; 2012.

5. Εφαρμογή διεθνών οδηγιών για τον έλεγχο της μετάδοσης των πολυανθεκτικών μικροβίων: Το παράδειγμα της επιδημίας από πανανθεκτικό *Acinetobacter baumannii*

5.1 Περίληψη

Η εμφάνιση και μετάδοση πανανθεκτικών βακτηρίων στο νοσοκομειακό χώρο είναι ένα επίφοβο σενάριο, με σοβαρές επιπτώσεις τόσο στο σύστημα υγείας, όσο και στην έκβαση των ασθενών. Η μελέτη αυτή παρουσιάζει την αποτελεσματικότητα της εφαρμογής μίας δέσμης παρεμβάσεων που εφαρμόστηκε για τον περιορισμό μίας επιδημίας από πανανθεκτικό *Acinetobacter baumannii* (PDR-AB) στο τριτοβάθμιο Βενιζέλιο Γενικό Νοσοκομείο και περιγράφονται οι μικροβιολογικοί, μοριακοί και κλινικοί χαρακτήρες του επιδημικού στελέχους. Βάσει των παρεμβάσεων που εφαρμόστηκαν, η επιδημία εξελίχθηκε σε 3 φάσεις από το Φεβρουάριο μέχρι τον Οκτώβριο 2014. Πραγματοποιήθηκε μοριακή και γονιδιακή ανάλυση του υπεύθυνου για την επιδημία στελέχους, ενώ παράλληλα καταγράφηκαν τα κλινικά χαρακτηριστικά και η έκβαση των ασθενών που προσβλήθηκαν. Παρά τα αρχικά μέτρα που αφορούσαν σε ενίσχυση της υγιεινής χεριών και εκπαίδευση, η επιδημία συνεχίστηκε, με αποτέλεσμα να κριθεί αναγκαία η εφαρμογή πλέον μίας δέσμης μέτρων ελέγχου και πρόληψης λοιμώξεων, σύμφωνα με τις πρόσφατα δημοσιευμένες οδηγίες της European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID). Οι παρεμβάσεις αυτές περιλάμβαναν: ενίσχυση της υγιεινής χεριών, απομόνωση επαφής ασθενών, έλεγχο (screening) ασθενών και περιβάλλοντος για αποικισμό από PDR-AB στη ΜΕΘ, καθημερινό πλύσιμο ασθενών, σηματοδότηση ασθενών για έγκαιρη αναγνώριση, προληπτική (pre-emptive) απομόνωση επαφής ασθενών στη ΜΕΘ, συνεχή και υποχρεωτική εκπαίδευση προσωπικού πάνω σε θέματα προφυλάξεων επαφής, εντατικό περιβαλλοντικό καθαρισμό, και τροποποίηση υποδομών. Συνολικά κατά την 9-μηνη διάρκεια της επιδημίας, απομονώθηκε PDR-AB σε 39 ασθενείς, εκ των οποίων οι 22 ήταν στη ΜΕΘ. Η ανάλυση με Rep-PCR έδειξε ότι η επιδημία οφειλόταν σε κλωνική διασπορά. Πλήρης γονιδιακή ανάλυση (whole genome sequencing) αποκάλυψε τη γονιδιακή βάση της αντοχής του υπεύθυνου στελέχους. Η αντοχή στις καρβαπενέμες οφειλόταν στο ενδογενές *bla_{OXA-66}* και στο επίκτητο *bla_{OXA-23}*. Ο πλήρης περιορισμός της επιδημίας ήταν επιτυχής όταν εφαρμόστηκε όλη η δέσμη των παρεμβάσεων. Η θνητότητα στις λοιμώξεις από PDR-AB έφτασε το 57.1%. Η μελέτη αυτή ανέδειξε τη σημασία της εφαρμογής δέσμης παρεμβάσεων βάσει διεθνών συστάσεων για τον περιορισμό της επιδημίας από PDR-AB.

5.2 Εισαγωγή

Το *A. baumannii* είναι ένας αερόβιος μη-ζυμωτικός οξειδάση-αρνητικός gram-αρνητικός κοκκοβάκιλος, με ικανότητα επιβίωσης για μεγάλα χρονικά διαστήματα σε ξηρές και υγρές επιφάνειες. Είναι πλέον σημαντικό παθογόνο σε νοσοκομειακές λοιμώξεις και συχνά οδηγεί σε επιδημίες, ειδικά σε τμήματα βαρέως πασχόντων ασθενών που εκτίθενται σε αντιβιοτικά ευρέως φάσματος [Munoz-Price 2008, Towner 2009]. Μερικά στελέχη *A. baumannii* εξελίχθηκαν σε πολυανθεκτικά και έχουν πλέον διασπαρεί σε παγκόσμιο επίπεδο [Mugnier 2010].

Στην Ελλάδα, η πολυαντοχή των νοσοκομειακών gram-αρνητικών είναι γνωστό πρόβλημα [Tsakris 2003, Markogiannakis 2008, Tsakris 2008, Giakoupi 2009, Miyakis 2011].

Οι λοιμώξεις από πολυανθεκτικά *A. baumannii* παρατηρούνται κυρίως σε ΜΕΘ και εμφανίζουν σημαντικά ποσοστά νοσηρότητας και θνητότητας, ενώ χρήζουν αντιμετώπισης με τελευταίας γραμμής αντιβιοτικά [Tsakris 2003, Markogiannakis 2008, Tsakris 2008]. Στην πορεία, εμφανίστηκαν λοιμώξεις από πανανθεκτικά στελέχη, κυρίως σε ασθενείς με συννοσηρότητα, μεγάλη διάρκεια νοσηλείας και προηγούμενη έκθεση σε πολλαπλά αντιβιοτικά [Falagas 2005, Beno 2006, Mentzelopoulos 2007, Falagas 2008, Valencia 2009, Elemam 2009, Tsioutis 2010, Pontikis 2014]. Παρόλο που οι δημοσιευμένες σειρές έχουν μικρό αριθμό ασθενών, η συνέπειες που μπορεί έχουν οι λοιμώξεις από πανανθεκτικά μικρόβια στη δημόσια υγεία οφείλονται στην έλλειψη αποτελεσματικών θεραπευτικών επιλογών.

Η παρούσα μελέτη παρουσιάζει μία από τις πρώτες νοσοκομειακές επιδημίες από PDR-AB, η οποία καταγράφηκε στο Βενιζέλειο Γενικό Νοσοκομείο Ηρακλείου (ΒΓΝΗ). Στόχος της μελέτης είναι να τονισθεί η επιτυχής εφαρμογή (δέσμης) μέτρων σύμφωνα με διεθνείς συστάσεις, για τον έλεγχο της επιδημίας [Taccconelli 2014]. Για την καλύτερη κατανόηση της επιδημιολογίας του πανανθεκτικού στελέχους, αναλύεται επίσης η γενετική βάση της αντοχής και τα κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών.

5.3 Μεθοδολογία

5.3.1. Νοσοκομείο

Η επιδημία καταγράφηκε μεταξύ Φεβρουαρίου και Οκτωβρίου 2014 στο ΒΓΝΗ, το οποίο έχει 500 ενεργές κλίνες και δέχεται περίπου 35,000 εισαγωγές ετησίως. Η μικτή ΜΕΘ δέχεται περισσότερες από 300 εισαγωγές ετησίως και πλήρως ανεπτυγμένη, έχει 11 ενεργές κλίνες σε 3 θαλάμους. Τα ανθεκτικά στις καρβαπενέμες gram-αρνητικά μικρόβια (*A. baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*) είναι ενδημικά στο ΒΓΝΗ, με πυκνότητα επίπτωσης 1.5 νέων απομονώσεων /1000 ασθενοημέρες το 2013.

5.3.2. Ορισμοί

Σύμφωνα με δημοσιευμένες συστάσεις, το στέλεχος *A. baumannii* θεωρείται πανανθεκτικό (PDR-AB) όταν εμφανίζει αντοχή σε όλες τις ομάδες αντιβιοτικών που χρησιμοποιούνται για θεραπεία, συμπεριλαμβανομένων των: αμικιλίνη/σουλμπακτάμη, αμινογλυκοσίδες, καρβαπενέμες, κολιστίνη [Magiorakos 2014]. Η ενδιάμεση ευαισθησία θεωρούνταν αντοχή. Η τιγκεκυκλίνη δεν συμπεριλαμβάνεται στον ορισμό αυτό, καθώς δεν υπάρχουν συγκεκριμένα όρια καθορισμού ευαισθησίας στο *Acinetobacter* spp [Magiorakos 2012]. Ορισμός κρούσματος (case definition): Ασθενής με απομόνωση (λοίμωξη ή αποικισμό) PDR-AB κατά τη διάρκεια της επιδημίας. Οι ασθενείς αυτοί συνιστούν την κοόρτη της μελέτης. Ο αποικισμός ήταν η θετική καλλιέργεια κλινικού δείγματος χωρίς συνοδά κλινικά ή εργαστηριακά σημεία λοίμωξης. Η λοίμωξη ορίστηκε σύμφωνα με τα κριτήρια του CDC για τον ορισμό των νοσοκομειακών λοιμώξεων [Horan 2004].

5.3.3. Μικροβιολογική και μοριακή ανάλυση

Η απομόνωση και αναγνώριση των στελεχών έγινε με το MicroScan (MicroScan WalkAway plus System, Siemens, Germany) στα πλαίσια της καθημερινής επεξεργασίας των κλινικών δειγμάτων του νοσοκομείου στο Εργαστήριο Μικροβιολογίας ΒΓΝΗ, σύμφωνα με τα κριτήρια του Clinical and Laboratory Standards Institute [CLSI 2007] για όλα τα αντιβιοτικά πλην της τιγκεκυκλίνης. Η μοριακή και γονιδιακή ανάλυση έλαβαν χώρα στο Εργαστήριο Μικροβιολογίας του University Medical Center Groningen στην Ολλανδία. Όλα τα στελέχη ελέγχθηκαν για ευαισθησία στα ακόλουθα αντιβιοτικά: αμικιλίνη/σουλμπακτάμη, πιπερακιλίνη, πιπερακιλίνη/ταζομπακτάμη, τικαρσιλίνη,

τικαρσιλίνη/κλαβουλανικό, κεφεπίμη, κεφοταξίμη, κεφταζιδίμη, κεφτριαξόνη, ιμιπενέμη, μεροπενέμη, σιπροφλοξασίνη, λεβοφλοξασίνη, αμικασίνη, γενταμικίνη, τομπραμυκίνη, κολιστίνη, τετρακυκλίνη, τριμεθοπρίμη/σουλφαμεθοξαζόλη. Τα στελέχη που ήταν ανθεκτικά στις καρβαπενέμες ή στην κολιστίνη, ελέγχθηκαν επιπλέον με το Etest (AB Biodisk, Solna, Sweden). Ορισμένα στελέχη ελέγχθηκαν και για ευαισθησία στην τιγκεκυκλίνη με το Etest (AB Biodisk) [EUCAST 2006]. Τα περιβαλλοντικά δείγματα καλλιεργήθηκαν αρχικά σε θρεπτικό υλικό εγκεφάλου-καρδιάς και στη συνέχεια σε άγαρ MacConkey. Περιβαλλοντικές καλλιέργειες ελήφθησαν στη ΜΕΘ από κρεβάτια, ατομικά καροτσάκια, λεκάνες πλύσης ασθενών, πληκτρολόγια, τηλεφωνικές συσκευές, πόμολα και αντλίες έγχυσης.

Πραγματοποιήθηκε ανάλυση με repetitive sequence-based PCR fingerprinting και ανάλυση γονιδιώματος (whole genome sequencing, WGS). Η εξαγωγή DNA έγινε με το UltraClean® microbial DNA isolation kit (MO BIO Laboratories, Carlsbad, CA, USA) σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή.

Το απομονωμένο DNA ενισχύθηκε με το DiversiLab *Acinetobacter* kit σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, France). Τα προϊόντα του rep-PCR ανιχνεύθηκαν και αναλύθηκαν με την τεχνολογία lab-on-a-chip microfluidics σε Βιοαναλυτή Agilent 2100 (Agilent, Santa Clara, CA, USA). Περαιτέρω ανάλυση έγινε με το web-based πρόγραμμα DiversiLab (v.3.4) και με τη χρήση του συντελεστή συσχέτισης Pearson για ομοιότητες μεταξύ των δειγμάτων. Στη μελέτη αυτή, χρησιμοποιήθηκε το όριο του 95% για εκτίμηση ομοιοτήτων.

Η βιβλιοθήκη DNA αναλύθηκε με το MiSeq (Illumina, San Diego, CA, USA) [Zhou 2015]. Πραγματοποιήθηκε σύσταση *de novo* για ανάλυση με το CLC Genomics Workbench v7.0.4 (QIAGEN, Hilden, Germany) μετά από αποκοπή των άκρων ($Q_s \geq 20$). Τα γονίδια επίκτητης αντοχής αναγνωρίστηκαν μέσω φόρτωσης των συναρμολογημένων γονιδιωμάτων στον Resfinder server v2.1 (<http://cge.cbs.dtu.dk/services/ResFinder-2.1/>). Επιπλέον, τα γονιδιώματα αυτά αναλύθηκαν χειροκίνητα με BLASTP αφού φορτώθηκαν στον RAST server [Aziz 2008]. Τα γονιδιακά χαρακτηριστικά αναγνωρίστηκαν μέσω έρευνας στον BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> and <http://img.jgi.doe.gov>) με τη χρήση των υπαρχόντων αλληλουχιών *A. baumannii*. Αλληλουχίες ένθεσης (insertion sequences, IS) αναγνωρίστηκαν με τον IS finder και αλληλουχίες προφάγων ανιχνεύθηκαν με το εργαλείο έρευνας φάγων PHAST [Zhou 2011]. Οι αλληλουχίες MLST εξήχθησαν από το WGS με την μέθοδο που υπάρχει στην ιστοσελίδα www.cbs.dtu.dk/services/MLST.

5.3.4. Ανάλυση δεδομένων

Έγινε αναδρομική καταγραφή των χαρακτηριστικών των ασθενών, θεραπείας και εκβάσεων, από τους ιατρικούς και νοσηλευτικούς φακέλους. Τα δεδομένα παρουσιάζονται σαν τιμή (%) για ποιοτικές (categorical) μεταβλητές και μέση τιμή \pm σταθερή απόκλιση (standard deviation, SD) για συνεχείς μεταβλητές. Για την ανάλυση χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα EpiInfo version 7.1.2.0 (CDC, Atlanta, GA, USA).

5.4 Αποτελέσματα

5.4.1. Περιγραφή επιδημίας και παρεμβάσεων

Κατά τη διάρκεια των 9 μηνών από Φεβρουάριο μέχρι Οκτώβριο 2014, απομονώθηκαν PDR-AB σε 39 ασθενείς, εκ των οποίων οι 22 στη ΜΕΘ (Εικόνα 5.1). Η πυκνότητα επίπτωσης απομόνωσης PDR-AB για το διάστημα αυτό ήταν 0.61 περιστατικά/1000 ασθενοημέρες στο νοσοκομείο και 10.17 περιστατικά/1000 ασθενοημέρες στη ΜΕΘ. Η

επιδημία εξελίχθηκε σε 3 διακριτές περιόδους βάσει της έντασης των παρεμβάσεων που εφαρμόστηκαν.

Φάση 1 (Φεβρουάριος 2014): Αναγνώριση των PDR-AB και εφαρμογή κοινών μέτρων πρόληψης

Το πρώτο PDR-AB απομονώθηκε σε μία ασθενή 61 ετών με ιστορικό άνοιας χωρίς προηγούμενες νοσηλείες, η οποία διασωληνώθηκε και εισήχθη στη ΜΕΘ λόγω οξείας αναπνευστικής ανεπάρκειας σε έδαφος πνευμονίας από εισρόφηση. Μετά από 11 ημέρες νοσηλείας η ασθενής μεταφέρθηκε στο Παθολογικό τμήμα. Το PDR-AB απομονώθηκε σε άκρο κεντρικού φλεβικού καθετήρα, θεωρήθηκε αποικισμός. η ασθενής δεν έλαβε καμία αγωγή και στη συνέχεια εξήλθε του νοσοκομείου. Μετά την απομόνωση του PDR-AB, εφαρμόστηκαν κοινά μέτρα προφυλάξεων επαφής.

Μέχρι το τέλος του Φεβρουαρίου 2014, απομονώθηκαν στελέχη PDR-AB σε 5 επιπλέον ασθενείς.

Φάση 2 (Μάρτιος έως και Ιούλιος 2014): ενίσχυση μέτρων

Λόγω της αύξησης του αριθμού των περιστατικών PDR-AB το Φεβρουάριο, ενισχύθηκαν τα μέτρα υγιεινής χεριών, προφυλάξεων επαφής και περιβαλλοντικού καθαρισμού στα τμήματα όπου νοσηλεύονταν οι αντίστοιχοι ασθενείς, ενώ παράλληλα ξεκίνησαν εκπαιδευτικές παρουσιάσεις σε θέματα προφυλάξεων επαφής.

Τον Απρίλιο παρατηρήθηκε μικρή μείωση στην πυκνότητα επίπτωσης των PDR-AB (από 0.77 περιστατικά/1000 ασθενοημέρες το Μάρτιο, στα 0.46 περιστατικά/1000 ασθενοημέρες τον Απρίλιο). Ωστόσο το Μάιο, η πυκνότητα επίπτωσης αυξήθηκε στα 0.96 περιστατικά/1000 ασθενοημέρες (Εικόνα 5.1). Συνολικά στη Φάση 2 της επιδημίας, απομονώθηκαν PDR-AB σε 30 ακόμα ασθενείς, γεγονός που δείχνει ότι τα μέτρα που εφαρμόστηκαν ήταν ανεπαρκή για τον περιορισμό της επιδημίας.

Φάση 3 (Αύγουστος έως και Οκτώβριος 2014): Δέσμη παρεμβάσεων

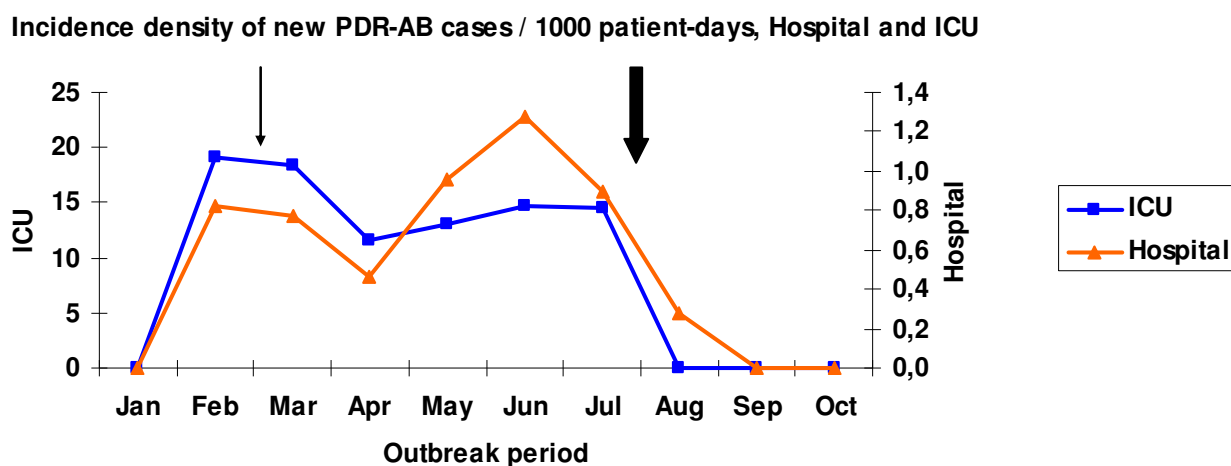
Κατά τη φάση αυτή έλαβαν χώρα 2 μεγάλης έκτασης επιχειρησιακές συναντήσεις, με τη συμμετοχή εκπροσώπων από όλα τα εμπλεκόμενα τμήματα (όπως η Επιτροπή Ελέγχου Νοσοκομειακών Λοιμώξεων, ΕΕΝΛ, και η ΜΕΘ) και της Διοίκησης του νοσοκομείου, και της Νοσηλευτικής Υπηρεσίας. Κατά τη διάρκεια των συναντήσεων αυτών περιγράφηκε η εξέλιξη της επιδημίας, ενώ αναγνωρίστηκε ως σοβαρό πρόβλημα που έχριζε άμεσης αντιμετώπισης. Ως εκ τούτου, σχεδιάστηκε μία δέσμη μέτρων βασισμένη στις πρόσφατα δημοσιευμένες οδηγίες της ESCMID για τον έλεγχο των πολυανθεκτικών βακτηρίων [Tacconelli 2014]. Τα μέτρα αυτά εφαρμόστηκαν άμεσα. Ο Πίνακας 5.1 παρουσιάζει συνοπτικά τα μέτρα αυτά και τα συσχετίζει με τα μέτρα που συνίστανται από την ESCMID.

- i. Συνεχής εκπαίδευση προσωπικού σε θέματα υγιεινής χεριών και προφυλάξεων επαφής από την ΕΕΝΛ, με έμφαση στη σημασία των μέτρων αυτών για τον περιορισμό της επιδημίας.
- ii. Προληπτικά μέτρα προφυλάξεων επαφής σε όλους τους ασθενείς της ΜΕΘ, τα οποία συνεχίστηκαν και μετά τη μεταφορά των ασθενών σε άλλα τμήματα. Οι επισκέψεις από άλλα τμήματα στη ΜΕΘ περιορίστηκαν στο απόλυτα απαραίτητο. Οι ασθενείς σηματοδοτήθηκαν για έγκαιρη αναγνώριση. Οι προφυλάξεις επαφής εφαρμόστηκαν για όλους τους ασθενείς με PDR-AB σε όλα τα τμήματα και σε όλη τη διάρκεια της νοσηλείας τους.
- iii. Απομόνωση ασθενών: Στη ΜΕΘ δημιουργήθηκε δίκλιнос θάλαμος απομόνωσης με αποκλειστικό νοσηλευτικό προσωπικό. Στο υπόλοιπο νοσοκομείο, σχηματίστηκαν

- 9 θάλαμοι απομόνωσης για νοσηλεία ασθενών με PDR-AB και πολυανθεκτικά μικρόβια.
- iv. Ενίσχυση περιβαλλοντικού καθαρισμού: Ορίστηκε αποκλειστικό προσωπικό για τον καθαρισμό της ΜΕΘ. Η συχνότητα καθαρισμού κρεβατιών, καροτσιών και περιβάλλοντος αυξήθηκε. Η ΕΕΝΑ και η διεύθυνση της ΜΕΘ επέβλεπαν τις διαδικασίες καθαρισμού.
 - v. Καλλιέργειες: σε όλους τους ασθενείς της ΜΕΘ λαμβάνονταν καλλιέργειες εισαγωγής (βρογχικό, αίμα, ούρα) και μετά εβδομαδιαία. Σε περίπτωση θετικής καλλιέργειας για PDR-AB, ο ασθενής απομονώνονταν. Σε άλλα τμήματα δεν λαμβάνονταν συστηματικά καλλιέργειες παρακολούθησης.
 - vi. Πλύσιμο ασθενών με αντιμικροβιακό σαπούνι καθημερινά στην πρωινή βάρδια.
 - vii. Εβδομαδιαίες περιβαλλοντικές καλλιέργειες στη ΜΕΘ.
 - viii. Επιπρόσθετα μέτρα/τροποποίηση υποδομών στη ΜΕΘ: Δημιουργήθηκαν φυσικοί φραγμοί (πόρτες) μεταξύ των θαλάμων/τμημάτων της ΜΕΘ. Όλα τα φάρμακα φυλάσσονταν σε συγκεκριμένους αποθηκευτικούς χώρους εκτός των θαλάμων ασθενών. Όλα τα φάρμακα ετοιμάζονταν αμέσως πριν τη χρήση τους πάνω στα ατομικά καρότσια. Οι φάκελοι παρέμεναν έξω από τους θαλάμους των ασθενών. Τα ατομικά καρότσια περιείχαν εξοπλισμό που αναμένονταν να διαρκέσει μόνο 1-2 ημέρες, ώστε να ανακυκλώνεται συχνά και να μην αποικίζεται από τη χλωρίδα του ασθενούς.
 - ix. Δεν εφαρμόστηκε πολιτική χρήσης αντιβιοτικών.
- Μετά την εφαρμογή των μέτρων αυτών, απομονώθηκαν μόνο 3 επιπλέον PDR-AB, τον Αύγουστο 2014.

Περίοδος παρακολούθησης (Νοέμβριος 2014 έως και Απρίλιος 2015)

Κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου, συνεχίστηκαν τα μέτρα αυτά, με εξαίρεση τις περιβαλλοντικές καλλιέργειες. Δεν ανιχνεύθηκαν νέα περιστατικά PDR-AB.



Εικόνα 5.1 Εξέλιξη της επιδημίας από PDR-AB στο χρόνο, νοσοκομείο και ΜΕΘ. Τα βέλη δείχνουν τις παρεμβάσεις που εφαρμόστηκαν, στην έναρξη της Φάσης 2 και της Φάσης 3 της επιδημίας

5.4.2. Χαρακτηρισμός βακτηριακών στελεχών

Απομονώθηκαν συνολικά 51 PDR-AB σε 39 ασθενείς. Τα δείγματα προέρχονταν από εκκρίσεις αναπνευστικού (29/51, 56.8%), άκρο καθετήρα (9/51, 17.7%), πύον (6/51,

11.8%), αίμα (3/51, 5.9%), πύον χειρουργικής τομής (2/51, 3.9%), ούρα (1/51, 2.0%), κόπρανα (1/51, 2.0%). Σε 14 στελέχη έγινε έλεγχος ευαισθησίας στην τιγκεκυκλίνη και όλα βρέθηκαν να έχουν MIC > 8 µg/mL. Όλες οι καλλιέργειες εισαγωγής ήταν αρνητικές.

Απομονώθηκε PDR-AB σε 4 (10.5%) από τις 38 περιβαλλοντικές καλλιέργειες που λήφθηκαν: μία σε ατομικό καρότσι και 3 σε κλίνες. Δύο εβδομάδες μετά την έναρξη της φάσης 3, όλες οι επόμενες περιβαλλοντικές καλλιέργειες ήταν αρνητικές για PDR-AB.

Για ανάλυση με PCR χρησιμοποιήθηκαν 12 κλινικά στελέχη PDR-AB. Για σύγκριση χρησιμοποιήθηκαν 14 στελέχη *A. baumannii*: 10 μη-κλινικά στελέχη και 4 κλινικά στελέχη από ασθενείς εκτός της επιδημίας. Από την ανάλυση προέκυψε ότι όλα τα επιδημικά στελέχη είχαν >95% ομοιότητα μεταξύ τους.

Πίνακας 5.1. Σύγκριση μεταξύ συστάσεων ESCMID και παρεμβάσεων που εφαρμόστηκαν στην επιδημία από PDR-AB στο νοσοκομείο [Tacconelli 2014]

Παρέμβαση	Σύσταση ESCMID	Εφαρμογή παρέμβασης στην επιδημία από PDR-AB
Εκπαιδευτικό πρόγραμμα	Ισχυρή	Ναι
Προφυλάξεις επαφής σε όλους τους αποικισμένους ασθενείς σε όλα τα τμήματα του νοσοκομείου	Ισχυρή	Ναι. Προληπτικές προφυλάξεις επαφής σε όλους τους ασθενείς της ΜΕΘ και σε ασθενείς με PDR-AB
Θάλαμος απομόνωσης	Ισχυρή	Ναι
Περιβαλλοντικός καθαρισμός	Ισχυρή	Ναι
Καλλιέργειες (screening) εισαγωγής ακολουθούμενες από απομόνωση επαφής	Ισχυρή	Ναι. Προληπτικά μέτρα απομόνωσης επαφής σε όλους τους ασθενείς της ΜΕΘ
Απομόνωση (cohort) ασθενών	Υπό όρους	Ναι
Εκπαίδευση προσωπικού	Υπό όρους	Ναι
Περιβαλλοντικός έλεγχος (screening)	Υπό όρους	Ναι
Υποδομές πρόληψης και ελέγχου λοιμώξεων	Υπό όρους	Ναι, διοικητική υποστήριξη
Απομόνωση (cohort) προσωπικού	Υπό όρους	Μόνο στο θάλαμο απομόνωσης ΜΕΘ
Έλεγχος αντιβιοτικών (stewardship)	Υπό όρους	No
Έλεγχος (screening) κατάστασης αποικισμού προσωπικού	Υπό όρους	No
Σηματοδότηση ασθενών και προληπτικά μέτρα απομόνωσης επαφής	Άγνωστο	Ναι
Πλύσιμο ασθενών με αντιμικροβιακό σαπούνι	Άγνωστο	Ναι
Τροποποίηση υποδομών νοσοκομείου	Άγνωστο	Ναι
Αποκλειστικό προσωπικό καθαρισμού	Άγνωστο	Ναι
Περιορισμός επισκέψεων στη ΜΕΘ από άλλα τμήματα	Άγνωστο	Ναι

5.4.3. Γονιδιακά χαρακτηριστικά των PDR-AB στελεχών

Επιλέγηκαν τυχαία 2 επιδημικά στελέχη PDR-AB για πλήρη γονιδιακή ανάλυση (WGS). Η γονιδιακή ανάλυση ανέδειξε >99% ομοιότητα σε επίπεδο γονιδιώματος. Η ανάλυση με

MLST των γειτονικών τμημάτων (contigs) έδειξε ότι τα 2 στελέχη ανήκουν στον τύπο αλληλούχισης ST436. Με τη χρήση των εργαλείων Refseq και Blast ανιχνεύθηκαν και στα 2 στελέχη το ενδογενές γονίδιο *bla*_{OXA-66} (που ανήκει στην ομάδα των ενδογενών ενζύμων *bla*_{OXA-51}) και το επίκτητο γονίδιο *bla*_{OXA-23} (που ανήκει στις επίκτητες β-λακταμάσες τάξης D). Επίσης ανιχνεύθηκε το γονίδιο β-λακταμάσης *bla*_{TEM-1D} και το *bla*_{ADC} που κωδικοποιεί μία ενδογενή κεφαλοσπορινάση. βρέθηκε υψηλού επιπέδου αντοχή στις αμινογλυκοσίδες με το γονίδιο μεθυλάσης *armA*, καθώς και οι φωσφοτρανσφεράσες *aph3''-Ic*, *aph3''-Ib* (*strA*), *aph3''-Id* (*strB*). Η αντοχή στις σουλφοναμίδες εκφράζεται με το γονίδιο *sul2* και στις τετρακυκλίνες με το γονίδιο *tetB*.

5.4.4. Κλινικά χαρακτηριστικά, λοιμώξεις, έκβαση

Απομονώθηκε PDR-AB σε ένα σύνολο 39 ασθενών. Η μέση ηλικία ήταν 61.0±17.7 έτη. Δέκα ασθενείς (25.6%) ήταν γυναίκες. Προ απομόνωσης PDR-AB, η συνολική διάρκεια νοσηλείας ήταν 13.2±10.2 ημέρες. Προηγούμενη νοσηλεία στη ΜΕΘ είχαν (77.5%) ασθενείς. Ο μέσος δείκτης νοσηρότητας Charlson, που υπολογίστηκε σε 25 ασθενείς, ήταν 4.1±2.1. Όλοι οι ασθενείς είχαν λάβει αντιβιοτικά τον προηγούμενο μήνα.

Από τους 39 ασθενείς, οι 28 (71.8%) θεωρήθηκε ότι είχαν λοίμωξη: 23 λοιμώξεις αναπνευστικού (18 σχετιζόμενη με μηχανικό αερισμό), 4 με βακτηριαμία και ένας με ουρολοίμωξη. Οι λοιμώξεις έλαβαν αγωγή με 2.3±0.9 αντιβιοτικά: συνδυασμοί κολιστίνης/τιγκεκυκλίνης (18 ασθενείς, 64.3%), συνδυασμοί καρβαπενεμών (4 ασθενείς, 10.7%), συνδυασμοί κεφεπίμης (3 ασθενείς, 10.7%), μονοθεραπεία με τιγκεκυκλίνη (2 ασθενείς, 7.2%), και μονοθεραπεία με κολιστίνη (1 ασθενής, 3.6%).

Όσον αφορά στην έκβαση των λοιμώξεων, 16/28 ασθενείς με λοίμωξη απεβίωσαν (57.1%), από τους ασθενείς με αποικισμό μόνο ένας θάνατος καταγράφηκε (9.1%). Η συνολική διάρκεια νοσηλείας μετά την απομόνωση PDR-AB ήταν 19.5±20.1 ημέρες.

5.5 Συζήτηση-Συμπεράσματα

Στην παρούσα μελέτη παρουσιάζεται η διερεύνηση και ο έλεγχος μίας επιδημίας PDR-AB σε ένα μεγάλο τριτοβάθμιο νοσοκομείο. Βρέθηκαν 39 ασθενείς, των οποίων τα χαρακτηριστικά και η έκβαση περιγράφεται. Η μοριακή ανάλυση έδειξε ότι η επιδημία οφειλόταν στην κλωνική διασπορά ενός στελέχους PDR-AB.

Ενώ όλες οι καλλιέργειες εισαγωγής στη ΜΕΘ ήταν αρνητικές, βρέθηκαν στη συνέχεια αρκετοί ασθενείς αποικισμένοι με PDR-AB, γεγονός που καταδεικνύει ρήξεις στα μέτρα πρόληψης και ελέγχου λοιμώξεων, και οριζόντια μετάδοση. Η υποστήριξη από τη διοίκηση του νοσοκομείου και η ταυτόχρονη εμπλοκή διάφορων ειδικοτήτων για τον έλεγχο της επιδημίας, όπως συνίσταται από διεθνείς οργανισμούς [Tacconelli 2014], έπαιξαν σημαντικό ρόλο. Η επιδημία εξελίχθηκε σε 3 διακριτές χρονικές φάσεις βάσει των εφαρμοζόμενων παρεμβάσεων: εκπαίδευση και ενίσχυση υγιεινής χεριών και προφυλάξεων επαφής στη φάση 2, δεν ήταν αρκετά για να προληφθεί η μετάδοση του PDR-AB μέσα στο νοσοκομείο. Μετά την εφαρμογή όλων των εντατικών μέτρων στη φάση 3, όπως υγιεινή χεριών, απομόνωση ασθενών, προληπτικά μέτρα προφυλάξεων επαφής, έλεγχος με καλλιέργειες περιβάλλοντος και ασθενών, πλύσιμο ασθενών, σηματοδότηση αποικισμένων ασθενών, συνεχής και υποχρεωτική εκπαίδευση προσωπικού, εντατικός περιβαλλοντικός καθαρισμός και τροποποίηση υποδομών, παρατηρήθηκε πλήρης εξάλειψη του επιδημικού κλώνου. Ο μεγαλύτερος όγκος παρεμβάσεων εφαρμόστηκε στη ΜΕΘ, καθώς ήταν το τμήμα με την πλειοψηφία των απομονώσεων PDR-AB.

Όπως δείχνει ο Πίνακας 5.1, η δέσμη των παρεμβάσεων της φάσης 3 είναι σύμφωνη με τις πρόσφατες συστάσεις της ESCMID για τον έλεγχο του πολυανθεκτικού *A. baumannii* σε καταστάσεις επιδημίας [Tacconelli 2014]. Εφαρμόστηκαν και οι 5 ισχυρά συνιστώμενες και οι 5/7 υπό όρους συνιστώμενες παρεμβάσεις. Ωστόσο, εφαρμόστηκαν επιπλέον μέτρα προσαρμοσμένα στη λειτουργία της ΜΕΘ: προληπτικά μέτρα επαφής σε όλους τους ασθενείς της ΜΕΘ, τροποποίηση στις υποδομές της ΜΕΘ (πχ. φυσικοί φραγμοί, μεταφορά φαρμάκων) και περιορισμός επισκέψεων από άλλα τμήματα. Αντίστοιχα μέτρα αναφέρονται και σε ορισμένες άλλες μελέτες [Enoch 2008, Jamal 2009, Kassis-Chikhani 2010, Consales 2011, Poulou 2012].

Στην Ελλάδα, η οικονομική κρίση έχει σημαντικές επιπτώσεις στο χώρο της υγείας, όπως έλλειψη προσωπικού ακόμα και σε ΜΕΘ, περιορισμός απαραίτητου ιατρονοσηλευτικού εξοπλισμού και αύξηση των ωρών εργασίας. Ο έλεγχος και πρόληψη λοιμώξεων είναι μεταξύ των τομέων που έχει πληγεί σε μεγαλύτερο βαθμό, με αποτέλεσμα να απαντώνται σε μεγαλύτερο βαθμό φαινόμενα που ευνοούν την εμφάνιση και μετάδοση πολυανθεκτικών στελεχών, όπως αυξημένη κατανάλωση αντιβιοτικών, ανεπαρκής αριθμός θαλάμων απομόνωσης και αυξημένη χρήση παρεμβατικών πράξεων [Miyakis 2010, Tsioutis 2010]. Συνεπώς, η εφαρμογή επαρκών μέτρων πρόληψης και ελέγχου λοιμώξεων κάτω από αυτές τις συνθήκες, ειδικά σε καταστάσεις επιδημίας, είναι τόσο δύσκολη όσο και απαιτητική [Giakoupi 2009, Miyakis 2010, Tsiatsiou 2015]. Παρόλο που εμφανίζονται όλο και περισσότερες αναφορών επιδημιών από πολυανθεκτικά μικρόβια, η παρούσα μελέτη είναι από τις λίγες που περιγράφει επιδημία από πανανθεκτικά μικρόβια [Mentzelopoulos 2007, Valencia 2009].

Η εμφάνιση παναντοχής, δηλ. στελεχών ανθεκτικών σε όλες τις κατηγορίες αντιμικροβιακών, είναι σποραδικό φαινόμενο στα ελληνικά νοσοκομεία και συνήθως αφορά σε ασθενείς με νοσηρότητα, μακριά διάρκεια νοσηλείας και έκθεση σε πολλαπλά αντιβιοτικά [Mentzelopoulos 2007, Falagas 2008, Tsioutis 2010]. Για την ευκολότερη σύγκριση μεταξύ μελετών, έχουν δημοσιευθεί επίσημοι ορισμοί της παναντοχής [Magiorakos 2012]. Όσον αφορά στο *A. baumannii*, η παναντοχή περιλαμβάνει την αντοχή στις πολυμυξίνες, όχι όμως και την τιγκεκυκλίνη, για την οποία δεν υπάρχουν επίσημα όρια καθορισμού ευαισθησίας [Magiorakos 2012]. Ωστόσο στην παρούσα μελέτη, 14 στελέχη ελέγχθηκαν για ευαισθησία στην τιγκεκυκλίνη και βρέθηκαν να έχουν υψηλή MIC (> 8 µg/mL).

Η ενδονοσοκομειακή θνητότητα στις λοιμώξεις από PDR-AB ήταν 57.1%, ενώ σε άλλες μελέτες με πανανθεκτικά βακτήρια η θνητότητα λόγω λοίμωξης κυμαίνεται μεταξύ 20-77.8% [Falagas 2005, Beno 2006, Mentzelopoulos 2007, Falagas 2008, Valencia 2009, Elemam 2009, Tsioutis 2010, Pontikis 2014]. Δεδομένης της πλήρους έλλειψης ενεργών *in vitro* αντιβιοτικών, διάφορες πιθανές στη βιβλιογραφία προσπαθούν να αποδώσουν εξηγήσεις για αυτή τη χαμηλότερη από αναμενόμενη θνητότητα: κατανάλωση περισσότερης ενέργειας στην έκφραση των μηχανισμών αντοχής, με αποτέλεσμα χαμηλή λοιμογονικότητα και χαμηλότερος χρόνος αναπαραγωγής των πανανθεκτικών στελεχών [Falagas 2005, Beno 2006, Falagas 2008, Valencia 2009]. Συγκέντρωση των αντιβιοτικών στους ιστούς πολύ υψηλότερη από την MIC των παθογόνων [Falagas 2005], συνέργεια συνδυασμών αντιβιοτικών [Falagas 2008], χαμηλή βαρύτητα νόσου των ασθενών κατά τη στιγμή της λοίμωξης [Elemam 2009]. Χρειάζονται καλά σχεδιασμένες μελέτες ασθενών μαρτύρων για την εξακρίβωση της πραγματικής θνητότητας οφειλόμενης σε λοιμώξεις από πανανθεκτικά [Elemam 2009].

Η μελέτη αυτή είναι η πρώτη αναφορά PDR-AB που ανήκει στον τύπο αλληλούχισης ST436. Ο τύπο αλληλούχισης αυτός ανήκει στο παγκόσμιο κλωνικό σύμπλεγμα CC92 (πρότερος διεθνής κλώνος II), στον οποίο ανήκει επίσης ο υπερλοιμογόνος τύπος ST10 μαζί με ακόμα 102 συγγενικούς STs [Wang 2013]. Η

παρουσία του γονιδίου *bla*_{OXA-23} είναι συχνή σε πολυανθεκτικά *A. baumannii* διαφόρων τύπων ST που ανήκουν στον CC92 και στον CCI [Mugnier 2010, Lean 2014, Zowawi 2015].

Η μελέτη αυτή έχει ορισμένους περιορισμούς: η αδυναμία καταγραφής του ποσοστού συμμόρφωσης του προσωπικού στην υγιεινή χεριών και στις προφυλάξεις επαφής. Ωστόσο, ο επιτυχής έλεγχος της επιδημίας υπονοεί τη βελτίωση αυτών των μέτρων μέσω της συνεχούς εκπαίδευσης και της εμπλοκής των διευθύνσεων των τμημάτων. Δεύτερον, δεν λήφθηκαν δείγματα ορθικού ή κοπράνων για καλλιέργειες ανίχνευσης (screening). Επιπλέον, λόγω του μικρού αριθμού απομονώσεων PDR-AB, καλλιέργειες ανίχνευσης δεν λαμβάνονταν συστηματικά στα τμήματα εκτός της ΜΕΘ. Ως εκ τούτου δεν μπορεί να αποκλειστεί σφάλμα ανίχνευσης (detection bias). Τρίτον, λόγω του μικρού αριθμού ασθενών, δεν έγινε περισσότερη στατιστική ανάλυση.

Συμπερασματικά, πρόκειται για μία από τις λίγες μελέτες που αναφέρουν επιτυχή έλεγχο μίας νοσοκομειακής επιδημίας από πανανθεκτικό μικρόβιο. Η επιτυχής προσέγγιση της επιδημίας περιελάμβανε εντατικοποιημένα μέτρα ελέγχου και πρόληψης λοιμώξεων, βασισμένα σε διεθνείς συστάσεις. Μοριακός χαρακτηρισμός του επιδημικού στελέχους έδειξε ότι επρόκειτο για κλωνική διασπορά PDR-AB τύπου ST436. Επιπλέον, αναγνωρίστηκαν οι μοριακοί μηχανισμοί πίσω από την επίκτητη παναντοχή. Κρίνεται πλέον απαραίτητη η εγρήγορση όλων των αρμόδιων φορέων για την έγκαιρη αναγνώριση και πρόληψη της μετάδοσης αυτού του τύπου αντοχής, που κρύβει σοβαρές επιπτώσεις για τη δημόσια υγεία.

5.6 Βιβλιογραφία

1. Towner KJ. *Acinetobacter*: an old friend, but a new enemy. *J Hosp Infect* 73(4):355-63; 2009.
2. Munoz-Price LS, Weinstein RA. *Acinetobacter* infection. *N Engl J Med* 358(12):1271-81; 2008.
3. Mugnier PD, Poirel L, Naas T, Nordmann P. Worldwide dissemination of the *bla*_{OXA-23} carbapenemase gene of *Acinetobacter baumannii*. *Emerg Infect Dis* 16(1):35-40; 2010.
4. Giakoupi P, Maltezou H, Polemis M, Pappa O, Saroglou G, Vatopoulos A; Greek System for the Surveillance of Antimicrobial Resistance. KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* infections in Greek hospitals are mainly due to a hyperepidemic clone. *Euro Surveill* 14(21):pii:19218; 2009.
5. Miyakis S, Pefanis A, Tsakris A. The challenges of antimicrobial drug resistance in Greece. *Clin Infect Dis* 53(2):177-84; 2011.
6. Markogiannakis A, Fildisis G, Tsiplakou S, Ikonomidis A, Koutsoukou A, Pournaras S, et al. Cross-transmission of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clonal strains causing episodes of sepsis in a trauma intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol* 29(5):410-7; 2008.
7. Tsakris A, Ikonomidis A, Poulou A, Spanakis N, Vrizas D, Diomidous M, et al. Clusters of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* clones producing different carbapenemases in an intensive care unit. *Clin Microbiol Infect* 14(6):588-94; 2008.
8. Tsakris A, Tsioni C, Pournaras S, Polyzos S, Maniatis AN, Sofianou D. Spread of low-level carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in a tertiary care Greek hospital. *J Antimicrob Chemother* 52:1046-7; 2003.
9. Tsiatsiou O, Iosifidis E, Katragkou A, Dimou V, Sarafidis K, Karampatakis T, et al. Successful management of an outbreak due to carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in a neonatal intensive care unit. *Eur J Pediatr* 174(1):65-74; 2015.

10. Mentzelopoulos SD, Pratikaki M, Platsouka E, Kraniotaki H, Zervakis D, Koutsoukou A, et al. Prolonged use of carbapenems and colistin predisposes to ventilator-associated pneumonia by pandrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Intensive Care Med* 33:1524–32; 2007.
11. Tsioutis C, Kritsotakis EI, Maraki S, Gikas A. Infections by pandrug-resistant gram-negative bacteria: clinical profile, therapeutic management, and outcome in a series of 21 patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 29(3):301-5; 2010.
12. Falagas ME, Rafailidis PI, Matthaïou DK, Vartzili S, Nikita D, Michalopoulos A. Pandrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* infections: characteristics and outcome in a series of 28 patients. *Int J Antimicrob Agents* 32(5):450-4 ; 2008.
13. Valencia R, Arroyo LA, Conde M, Aldana JM, Torres MJ, Fernández-Cuenca F, Garnacho-Montero J, et al. Nosocomial outbreak of infection with pan-drug-resistant *Acinetobacter baumannii* in a tertiary care university hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol* 30(3):257-63 ; 2009.
14. Beno P, Krcmery V, Demitrovicova A. Bacteraemia in cancer patients caused by colistin-resistant Gram-negative bacilli after previous exposure to ciprofloxacin and/or colistin. *Clin Microbiol Infect* 12:497–8; 2006.
15. Falagas ME, Bliziotis IA, Kasiakou SK, Samonis G, Athanassopoulou P, Michalopoulos A. Outcome of infections due to pandrug-resistant (PDR) gram-negative bacteria. *BMC Infect Dis* 5:24-30; 2005.
16. Elemam A, Rahimian J, Mandell W. Infection with panresistant *Klebsiella pneumoniae*: a report of 2 cases and a brief review of the literature. *Clin Infect Dis* 49(2):271-4; 2009.
17. Pontikis K, Karaiskos I, Bastani S, Dimopoulos G, Kalogirou M, Katsiari M, et al. Outcomes of critically ill intensive care unit patients treated with fosfomycin for infections due to pandrug-resistant and extensively drug-resistant carbapenemase-producing Gram-negative bacteria. *Int J Antimicrob Agents* 43(1):52-9; 2014.
18. Tacconelli E, Cataldo MA, Dancer SJ, De Angelis G, Falcone M, Frank U, et al; European Society of Clinical Microbiology. ESCMID guidelines for the management of the infection control measures to reduce transmission of multidrug-resistant Gram-negative bacteria in hospitalized patients. *Clin Microbiol Infect* 20(Suppl 1):1-55; 2014.
19. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect* 18(3):268-81; 2012.
20. Horan TC, Gaynes RP. CDC definitions for nosocomial infections. In: Mayhall CG, editor. Hospital epidemiology and infection control. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2004, p. 1659--1702.
21. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; seventeenth informational supplement. Document M100-S17; 2007. Wayne, Philadelphia: Clinical and Laboratory Standards Institute.
22. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) Steering Committee. EUCAST technical note on tigecycline. *Clin Microbiol Infect* 12:1147–9; 2006.
23. Zhou K, Ferdous M, de Boer RF, Kooistra-Smid AM, Grundmann H, Friedrich AW, et al. The mosaic genome structure and phylogeny of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 is driven by short-term adaptation. *Clin Microbiol Infect* 21(5):468.e7-18; 2015.
24. Aziz RK, Bartels D, Best AA, DeJongh M, Disz T, Edwards RA, et al, et al. The RAST Server: Rapid Annotations using Subsystems Technology. *BMC Genomics* 9:75; 2008.

25. Zhou Y, Liang Y, Lynch KH, Dennis JJ, Wishart DS. PHAST: a fast phage search tool. *Nucleic Acids Res* 39(Web Server issue):W347-52;2011.
26. Poulou A, Voulgari E, Vrioni G, Xidopoulos G, Pliagos A, Chatzipantazi V, et al. Imported *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae* clones in a Greek hospital: impact of infection control measures for restraining their dissemination. *J Clin Microbiol* 50(8):2618-23; 2012.
27. Enoch DA, Summers C, Brown NM, Moore L, Gillham MI, Burnstein RM, et al. Investigation and management of an outbreak of multidrug-carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in Cambridge, UK. *J Hosp Infect* 70(2):109-18; 2008.
28. Consales G, Gramigni E, Zamidei L, Bettocchi D, De Gaudio AR. A multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* outbreak in intensive care unit: antimicrobial and organizational strategies. *J Crit Care* 26(5):453-9 ; 2011.
29. Kassis-Chikhani N, Saliba F, Carbonne A, Neuville S, Decre D, Sengelin C, et al. Extended measures for controlling an outbreak of VIM-1 producing imipenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in a liver transplant centre in France, 2003-2004. *Euro Surveill* 15(46):pii:19713; 2010.
30. Jamal W, Salama M, Dehrab N, Al Hashem G, Shahin M, Rotimi VO. Role of tigecycline in the control of a carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* outbreak in an intensive care unit. *J Hosp Infect* 72(3):234-42; 2009.
31. Wang X, Qiao F, Yu R, Gao Y, Zong Z. Clonal diversity of *Acinetobacter baumannii* clinical isolates revealed by a snapshot study. *BMC Microbiology* 13:234; 2013.
32. Zowawi HM, Sartor AL, Sidjabat HE, Balkhy HH, Walsh TR, Al Johani SM, et al. Molecular epidemiology of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates in the Gulf Cooperation Council States: dominance of OXA-23-Type producers. *J Clin Microbiol* 53(3):896-903; 2015.
33. Lean SS, Suhaili Z, Ismail S, Rahman NI, Othman N, Abdullah FH, et al. Prevalence and genetic characterization of carbapenem- and polymyxin-resistant *Acinetobacter baumannii* isolated from a tertiary hospital in Terengganu, Malaysia. *ISRN Microbiol* 953417; 2014.

6. Αξιοποίηση της παρούσας διδακτορικής διατριβής και συνέχιση της έρευνας

Η μελέτη αυτή αποτελεί την πρώτη προσπάθεια καταγραφής των σημαντικότερων νοσοκομειακών αντοχών και κατανάλωσης αντιβιοτικών όχι μόνο στο Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Ηρακλείου, ένα τριτοβάθμιο νοσοκομείο αναφοράς, αλλά και στον ευρύτερο χώρο των νοσοκομείων της Κρήτης, που καλύπτουν ένα μεγάλο πληθυσμό στη Νότια Ελλάδα. Η μελέτη κινήθηκε σε δύο παράλληλους άξονες: σε τοπικό επίπεδο επιτήρησης και σε επίπεδο ασθενούς. Ο πρώτος άξονας στοχεύει στην εγκαθίδρυση μίας βασικής πληροφορίας αναφοράς, για άμεση χρήση και σχεδιασμό παρεμβάσεων, αλλά και για μελλοντική σύγκριση. Ο δεύτερος άξονας έχει σκοπό το χαρακτηρισμό του ασθενούς υψηλού κινδύνου για λοίμωξη από πολυανθεκτικό μικρόβιο, που θα οδηγήσει σε έγκαιρη αναγνώριση και εφαρμογή μέτρων απομόνωσης επαφής, και σε ορθή χορήγηση εμπειρικής αντιμικροβιακής αγωγής.

Πραγματοποιήθηκε καθημερινή επιτήρηση των ανθεκτικών βακτηριδίων που απομονώνονταν στα κλινικά δείγματα του ΠαΓΝΗ και παράλληλα, προοπτική καταγραφή των κλινικών και δημογραφικών δεδομένων των υπό μελέτη ασθενών. Επιπλέον, καταγράφηκε η κατανάλωση των συστηματικά χορηγούμενων αντιβιοτικών. Στη συνέχεια έγινε σύγκριση με αντίστοιχα δεδομένα από τη διεθνή βιβλιογραφία, με σκοπό την ανάδειξη των σημαντικότερων στόχων για παρέμβαση. Τονίζεται ότι συγκρίσιμα δεδομένα αντοχών από εθνικά δίκτυα επιτήρησης είναι διαθέσιμα κυρίως από την Ευρώπη και τη Βόρεια Αμερική. Όσον αφορά στην κατανάλωση αντιβιοτικών, τα δεδομένα είναι περιορισμένα, ενώ σε πολλές περιπτώσεις διαφορές στη μεθοδολογία και στον τρόπο καταγραφής (πχ. καταγραφή σε γραμμάρια και όχι σε DDD) καθιστούν τη σύγκριση δύσκολη έως αδύνατη.

Από τις συγκρίσεις που έγιναν, προέκυψε ότι το σημαντικότερο σημείο που χρήζει άμεσης παρέμβασης στο ΠαΓΝΗ είναι οι πολυαντοχές των gram-αρνητικών μικροβίων και συγκεκριμένα των στελεχών *K. pneumoniae* και *A. baumannii*, δύο συχνά απαντώμενα ενδοноσοκομειακά παθογόνα κυρίως σε τμήματα που νοσηλεύουν βαρέως πάσχοντες και ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς. Για την αντιμετώπιση των λοιμώξεων από τα παθογόνα αυτά συνήθως απαιτούνται τελευταίας γραμμής αντιβιοτικά. Αυτό έγινε σαφές όταν συγκρίθηκε η κατανάλωση αντιβιοτικών με διεθνή δεδομένα, όπου φάνηκε όχι μόνο χαμηλότερη συγκριτικά χρήση ομάδων αντιβιοτικών με περιορισμένο φάσμα, αλλά υψηλότερη κατανάλωση ευρέως φάσματος αντιβιοτικών και ανησυχητικά αυξανόμενη χορήγηση αντιβιοτικών τελευταίας γραμμής, η οποία σε πολλές περιπτώσεις δεν ήταν δυνατόν να εξηγηθεί.

Συγκεκριμένα σε επίπεδο ασθενούς και σε συνάρτηση με την παγκόσμια επιδημιολογία των νοσοκομειακών αντοχών, επιλέχθηκε να γίνει μελέτη των gram-αρνητικών βακτηριδίων. Η επιλογή αυτή έγινε για διάφορους λόγους. Πρώτον γιατί οι αντοχές των gram-θετικών μικροβίων στο ΠαΓΝΗ φαίνεται να είναι σε επίπεδα τουλάχιστον ίδια με τον υπόλοιπο ελληνικό, αλλά και το διεθνή χώρο. Επιπλέον, νεότεροι τύποι αντοχής των gram-αρνητικών μικροβίων εμφανίζουν ανησυχητικές τάσεις ταχείας μετάδοσης. Δεύτερον, επειδή παρεμβάσεις που στηρίχθηκαν σε προηγούμενες μελέτες οδήγησαν σε σημαντική μείωση της επίπτωσης του ανθεκτικού στη βανκομυκίνη εντεροκόκκου (VRE) και κατά συνέπεια στην ανάδειξη του προβλήματος της αντοχής των

gram-αρνητικών. Τέλος, οι λοιμώξεις από τα παθογόνα αυτά εμφανίζουν σημαντικά ποσοστά νοσηρότητας και θνητότητας.

Στη δεύτερη μελέτη της παρούσας διατριβής, αναλύθηκαν τα χαρακτηριστικά μίας σειράς ασθενών με λοίμωξη από πανανθεκτικά gram-αρνητικά μικρόβια. Η μελέτη παρουσίασε τα κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών αυτών, αποδεικνύοντας ότι οι λοιμώξεις αυτές είναι σημαντικό αίτιο παρατεταμένης νοσηλείας. Ωστόσο είναι αναγκαία η εκτέλεση πιο αναλυτικών μελετών για την ανάδειξη της πραγματικής θνητότητας οφειλόμενης σε λοιμώξεις από πανανθεκτικά μικρόβια.

Η επόμενη μελέτη ανέλυσε τα μοριακά χαρακτηριστικά και την εξέλιξη της αντοχής στην ανθεκτική στις καρβαπενέμες *K. pneumoniae*, έναν νέο τύπο αντοχής που εμφανίζει ταχεία μετάδοση σε διάφορα σημεία της υφηλίου, με αναφερόμενα υψηλά ποσοστά θνητότητας και νοσηρότητας. Συγκεκριμένα αναλύθηκαν στελέχη *K. pneumoniae* με παραγωγή της καρβαπενεμάσης KPC (KPC-KP) σε δύο διακριτές χρονικές περιόδους (2010 και 2013-14) σε 3 νοσοκομεία της Κρήτης. Η γονιδιακή και μικροβιολογική ανάλυση ανέδειξε ανησυχητικά ευρήματα που αφορούν στην εμφάνιση πολλαπλών μηχανισμών επίκτητης αντοχής σε διάφορες ομάδες αντιβιοτικών, στην αύξηση των ποσοστών αντοχής σε τελευταίας γραμμής αντιβιοτικά όπως κολιστίνη και τιγκεκυκλίνη, και στην εμφάνιση πανανθεκτικών στελεχών. Τα τελευταία μάλιστα φαίνεται να έχουν κάποια συσχέτιση με αυξημένα ποσοστά θνητότητας σε σχέση με τα υπόλοιπα KPC-KP στελέχη.

Η τελευταία μελέτη της διατριβής προχώρησε ένα βήμα περαιτέρω, τόσο σε επίπεδο επιδημιολογίας, όσο και σε επίπεδο παρέμβασης: μία επιδημία από πανανθεκτικό *A. baumannii* που περιορίστηκε με την εφαρμογή μέτρων ελέγχου λοιμώξεων βασισμένα σε πρόσφατες οδηγίες της ESCMID για την πρόληψη μετάδοσης των πολυανθεκτικών μικροβίων. Τα μέτρα αυτά μεταξύ άλλων περιελάμβαναν υγιεινή χεριών, απομόνωση αποικισμένων ασθενών, καλλιέργειες εισαγωγής στη ΜΕΘ (admission screening cultures), προληπτική (pre-emptive) εφαρμογή μέτρων απομόνωσης επαφής σε όλους τους ασθενείς της ΜΕΘ, εντατική εκπαίδευση προσωπικού, και τροποποίηση των υπαρχουσών υποδομών για πρόληψη του αποικισμού και της μετάδοσης. Αποτέλεσμα όλων αυτών ήταν ο επιτυχής έλεγχος της επιδημίας και η εκρίζωση του πανανθεκτικού στελέχους. Επιπλέον, μοριακές μέθοδοι έδειξαν ότι η επιδημία οφειλόταν σε κλωνική διασπορά, ενώ γονιδιακή ανάλυση (whole genome sequencing) του επιδημικού στελέχους ανέδειξε τους επίκτητους μηχανισμούς αντοχής.

Αν και δεν αποτελεί πρόσφατο φαινόμενο, το πρόβλημα της αντιμικροβιακής αντοχής έχει καταλήξει να απειλεί σημαντικά το θεραπευτικό χειρισμό και την έκβαση, κυρίως σοβαρά πασχόντων ασθενών. Η διαθεσιμότητα των αποτελεσματικών αντιβιοτικών σταδιακά περιορίζεται και το μέλλον της φαρμακευτικής έρευνας στον τομέα των νεότερων αντιβιοτικών δεν είναι αισιόδοξο. Η βιβλιογραφία βρίθει άρθρων που αναφέρονται στην επάνοδο της εποχής προ αντιβιοτικών (pre-antibiotic era) και η ορθή και στοχευμένη εφαρμογή μέτρων ελέγχου λοιμώξεων μαζί με πολιτικές ορθολογικής χρήσης αντιβιοτικών (antimicrobial stewardship), αποτελούν τις βέλτιστες επιλογές.

Το νοσοκομειακό περιβάλλον λειτουργεί σαν αφετηρία και σαν ρεζερβουάρ για πολυανθεκτικά παθογόνα, τα οποία απειλούν όχι μόνο τους νοσηλεύμενους ασθενείς, αλλά και ασθενείς που προέρχονται αμιγώς από την κοινότητα ή από κέντρα

αποκατάστασης και οίκους ευγηρίας. Για το λόγο αυτό, κάθε υγειονομικό κέντρο ξεχωριστά οφείλει να διατηρεί συνεχή γνώση της τοπικής επιδημιολογίας της αντοχής, αλλά και να παρέχει υποδομές για τον έγκαιρο περιορισμό της μετάδοσης νέων αντοχών. Η πίεση επιλογής που ασκείται από τη χρήση αντιβιοτικών, είναι σημαντικός λόγος μετάδοσης της αντοχής. Ταυτόχρονα, η αντιμετώπιση λοιμώξεων από πολυανθεκτικά μικρόβια απαιτεί τελευταίας γραμμής αντιβιοτικά, αυξάνοντας έτσι το συνολικό κόστος χρήσης αντιμικροβιακών. Συνεπώς, η παράλληλη επιτήρηση της κατανάλωσης αντιβιοτικών είναι αναπόσπαστο τμήμα της μελέτης των αντοχών. Η αντοχή κοστίζει σε ζωές, χρήματα και σε ανθρώπινο δυναμικό, ενώ απειλεί σε σοβαρό βαθμό την ποιότητα περίθαλψης των συστημάτων υγείας. Καθώς αναγνωρίζεται η σημασία της μετάδοσης ανθεκτικών μικροβίων σαν κοινωνικό φαινόμενο σε πολλές χώρες, αναπτύσσονται εθνικά σχέδια καταπολέμησης του προβλήματος, ενώ και στην Ελλάδα δημοσιεύθηκαν ανάλογες οδηγίες τον Ιανουάριο του 2015.

Η μελέτη αυτή ήταν το πρώτο βήμα επιτήρησης αντοχών και κατανάλωσης αντιβιοτικών και οδήγησε στην εξαγωγή σημαντικών συμπερασμάτων. Βασίσθηκε στο προϋπάρχον σύστημα καθημερινής επιτήρησης που πραγματοποιεί η Επιτροπή Ελέγχου Ενδονοσοκομειακών Λοιμώξεων, με στρατηγικό στόχο την επιτήρηση και καταγραφή όλων των μικροβίων που απομονώνονται στο νοσοκομείο, την καταγραφή των ανθεκτικών μικροβίων που απομονώνονται, καθώς και τη διερεύνηση των κλινικών χαρακτηριστικών των εμπλεκόμενων ασθενών. Υποστηρίχθηκε με ιδιους πόρους και παρέχει τα πρώτα αποτελέσματα που θα αποτελέσουν βάση για την ανάπτυξη στοχευμένων παρεμβάσεων και τη σύνταξη τοπικών οδηγιών.

Ήδη η διοίκηση του νοσοκομείου και διευθυντές επιμέρους τμημάτων έχουν λάβει γνώση των αποτελεσμάτων και έχουν εφαρμόσει κατά τόπους παρεμβάσεις. Παράλληλα με τις προσπάθειες σε εθνικό επίπεδο για καταγραφή και περιορισμό των λοιμώξεων από πολυανθεκτικά gram-αρνητικά βακτήρια (δηλ.το Εθνικό Πρόγραμμα Προκρούστης), το ΠαΓΝΗ ήδη διαθέτει δεδομένα που καταδεικνύουν τα βασικότερα προβλήματα στον τομέα των αντοχών και της κατανάλωσης αντιβιοτικών. Σε μία εποχή όπου τα εθνικά συστήματα υγείας θέτουν τη βελτίωση της ποιότητας περίθαλψης υψηλά σαν στόχο, η εξοικονόμηση πόρων είναι πιο απαραίτητη από ποτέ, είτε πρόκειται για οικονομία σε χρήμα είτε σε ανθρώπινο δυναμικό. Η παρούσα μελέτη συμβάλλει στη δημιουργία ενός επιτυχημένου προγράμματος ελέγχου πολυανθεκτικών βακτηριδίων, ακολουθώντας επακριβώς τη μεθοδολογία που συστήνεται από τους διεθνείς οργανισμούς.

Απαραίτητη προϋπόθεση εφαρμογής των ανωτέρω αποτελεί η διοικητική υποστήριξη, όπως τονίζεται και στις οδηγίες επίσημων οργανισμών, ενώ εξίσου σημαντική καθίσταται και η διάθεση των αναγκαίων πόρων. Τα βήματα που μένει να εφαρμοσθούν στο εξής είναι ξεκάθαρα:

- Αναγνώριση του προβλήματος από τη διοίκηση και τις διευθύνσεις των τμημάτων, συνεργασία για εντοπισμό στόχων παρέμβασης και συνεχής υποστήριξη τόσο σε διοικητικά θέματα, όσο και σε πόρους και υποδομές
- Συνεχής επιτήρηση των αντοχών και της κατανάλωσης αντιβιοτικών, ακολουθώντας τη μεθοδολογία που αναλύεται στην παρούσα μελέτη
- Τακτική ανατροφοδότηση (feedback) με τα δεδομένα της εξέλιξης των αντοχών και της κατανάλωσης αντιβιοτικών σε προκαθορισμένες χρονικές περιόδους, η οποία να περιλαμβάνει και τα αποτελέσματα από παρεμβάσεις που εφαρμόζονται
- Σύνταξη οδηγιών ορθής χρήσης αντιβιοτικών, προσαρμοσμένες στα τοπικά δεδομένα και αφορούν σε:

- συνιστώμενη εμπειρική αγωγή και διάρκεια αγωγής σε λοιμώξεις ενδονοσοκομειακές και κοινότητας
- κατάλληλη αντιβίωση και διάρκεια χορήγησης στη χειρουργική προφύλαξη
- Εκπαίδευση του ιατρονοσηλευτικού προσωπικού πάνω σε θέματα και πρακτικές ελέγχου λοιμώξεων
- Εκπαίδευση των κλινικών ιατρών στη σημασία της κατάλληλης αντιβιοτικής αγωγής
- Διατήρηση υψηλού δείκτη υποψίας και εγρήγορσης από την Επιτροπή Ελέγχου Ενδονοσοκομειακών Λοιμώξεων για την άμεση αντιμετώπιση και τον περιορισμό επιδημιών
- Τροποποίηση σε τακτά/προκαθορισμένα διαστήματα των παραπάνω οδηγιών βάσει των αποτελεσμάτων που θα προκύπτουν από τη συνεχή καταγραφή των αντοχών και της κατανάλωσης αντιβιοτικών

Η επιτυχής εφαρμογή ενός τέτοιου προγράμματος εμπεριέχει σημαντικές προκλήσεις, όμως η προσπάθεια αυτή αναμφίβολα θα αποφέρει πολλαπλό όφελος τόσο για τον ασθενή, όσο και για το σύστημα παροχής υγειονομικών υπηρεσιών.

Υπό εξέλιξη βρίσκονται τρεις ακόμα μελέτες προς δημοσίευση: η πρώτη αφορά στην ανάλυση των κλινικών, επιδημιολογικών και μικροβιολογικών χαρακτηριστικών της επιδημίας από πανανθεκτικό στέλεχος που παρουσιάστηκε στην παρούσα διατριβή. Η δεύτερη μελέτη αναλύει τους προγνωστικούς παράγοντες για την καταλληλότητα της αντιμικροβιακής αγωγής και τη θνητότητα σε σχετιζόμενες με μηχανικό αερισμό πνευμονίες από εξαιρετικά ανθεκτικά (*extensively drug-resistant*) *A. baumannii*. Η τελευταία μελέτη έχει σκοπό την ανάλυση των παραγόντων που επηρεάζουν τη θνητότητα σε λοιμώξεις από πανανθεκτικά gram-αρνητικά μικρόβια. Οι μελέτες αυτές αναμένεται να δώσουν απαντήσεις σε ερωτήματα που έχουν τεθεί στη βιβλιογραφία:

- Ποια είναι η αποτελεσματικότητα των δημοσιευμένων οδηγιών για έλεγχο της μετάδοσης των πολυανθεκτικών μικροβίων.
- Ποια είναι η καταλληλότερη θεραπεία και ποιοι οι πιο αποτελεσματικοί συνδυασμοί αντιβιοτικών σε λοιμώξεις από εξαιρετικά και παν- ανθεκτικά μικρόβια.
- Ποια είναι η πραγματική αποδιδόμενη (*attributed*) θνητότητα σε λοιμώξεις από πανανθεκτικά μικρόβια.

Παρουσιάσεις – Ομιλίες σε συνέδρια, ελληνικά και διεθνή

1. Τσιούτης Κ, Κριτσωτάκης Ε, Χανιωτάκη Κ, Χρηστίδου Α, Γεωργόπουλος Δ, Γκίκας Α. Συχνότητα ανθεκτικών βακτηρίων και κατανάλωση αντιβιοτικών στην Μονάδα Εντατικής Θεραπείας ενηλίκων του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Ηρακλείου. 15^ο Παγκρήτιο Ιατρικό Συνέδριο, 29-31 Οκτωβρίου 2010, Χανιά, Κρήτη.
2. Τσιούτης Κ. «Συγκριτικά στοιχεία Ελληνικών ΜΕΘ και διεθνών δεδομένων», Στρογγυλή τράπεζα “Λοιμώξεις από πολυανθεκτικά στελέχη”, 13^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Εντατικής Θεραπείας, Νοέμβριος 2010, Αθήνα.
3. Τσιούτης Κ, Σιακαλλής Γ, Καντζιλάκη Ε, Ρουμπελάκη Μ, Γκίκα Μ, Χρηστίδου Α, Γκίκας Α. Λοιμώξεις ουροποιητικού από πολυανθεκτικά gram-αρνητικά βακτήρια στην κοινότητα. 15^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Λοιμώξεων, 6-8 Μαρτίου 2015, Αθήνα.
4. Τσιούτης Κ, Μεσσαριτάκη Α, Καντζιλάκη Ε, Πεδιαδίτης Ε, Σουνδουλουνάκη Σ, Θανασιά Α, Γκίκας Α. Χειρουργική προφύλαξη στο Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Ηρακλείου. 15^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Λοιμώξεων, 6-8 Μαρτίου 2015, Αθήνα.
5. Tsioutis C, PEDIADITIS E, Zafeiri M, Adami M, Karageorgos S, Stratakou S, Kontakis M, Soundoulounaki S, Christidou A, Gikas A. Respiratory tract infections due to extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii*: Clinical characteristics, therapeutic regimens and outcomes. 10th International Symposium on the biology of *Acinetobacter*, 3-5 June 2015, Athens, Greece.
6. Tsioutis C, Karageorgos S, Stratakou S, Bolikas E, Astrinaki E, Messaritaki A, Adami M, Georgiladakis A, Kassimati A, Gikas A. Four years of experience with carbapenem-resistant gram-negative bacteria in two tertiary care hospitals in Crete, Greece. 3rd International Conference on Prevention & Infection Control (ICPIC), 16-19 June 2015, Geneva, Switzerland.
7. Τσιούτης Κ. «Διερεύνηση και αντιμετώπιση επιδημιών». 8^ο Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Ελέγχου Λοιμώξεων, 4-6 Νοεμβρίου 2015, Αθήνα.

Δημοσιεύσεις στο διεθνή τύπο

1. Tsioutis C, Kritsotakis EI, Maraki S, Gikas A. Infections by pandrug-resistant gram-negative bacteria: clinical profile, therapeutic management and outcome in a series of 21 patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 29: 301–305; 2010.
2. Bathoorn E,* Tsioutis C,* da Silva Voorham JM, Scoulica EV , Ioannidou E, Zhou K, Rossen JW, Gikas A, Friedrich AW, Grundmann H. Emergence of pan-resistance in KPC-2 carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Crete, Greece: A close call. Accepted in *J Antimicrob Chemother*; 8 Dec 2015.

*equal contribution