

Sekcija za klinično mikrobiologijo
in bolnišnične okužbe

6. LIKARJEV SIMPOZIJ: BOLNIŠNIČNE OKUŽBE, PROBLEMATIKA ODPORNIH BAKTERIJ



Sekcija za klinično mikrobiologijo in bolnišnične okužbe
Slovenskega zdravniškega društva

Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo
Medicinske fakultete Univerze v Ljubljani

6. LIKARJEV SIMPOZIJ: BOLNIŠNIČNE OKUŽBE, PROBLEMATIKA ODPORNIH BAKTERIJ

Zbornik povzetkov

21. junij 2016
Medicinska fakulteta v Ljubljani

Sekcija za klinično mikrobiologijo in bolnišnične okužbe Slovenskega zdravniškega društva
Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo Medicinske fakultete Univerze v Ljubljani

6. LIKARJEV SIMPOZIJ: BOLNIŠNIČNE OKUŽBE, PROBLEMATIKA ODPORNIH BAKTERIJ

Zbornik povzetkov

Avtorji: Beovič Bojana, Cerar Kišek Tjaša, Cimerman Mojca, Dermota Urška, Golle Andrej, Gregorčič Sergeja, Grmek Košnik Irena, Guzej Jernej, Harlander Tatjana, Janežič Sandra, Kavčič Martina, Kofol Romina, Kolman Jana, Korošec Aleš, Kotnik Eva, Kotnik Kevorkijan Božena, Križan Hergouth Veronika, Lejko Zupanc Tatjana, Logar Mateja, Lorenčič Robnik Slavica, Maver Manja, mreža EARS-Net Slovenija, Mrvič Tatjana, Mueller Premur Manica, Nadrah Kristina, Petrovič Živa, Pirš Mateja, Podgoršek Daša, Ribič Helena, Rojnik Andrej, Rupnik Maja, Saje Andreja, Sarjanovič Ljudmila, Seme Katja, Štrumbelj Iztok, Švent Kučina Nataša, Terzić Sara, Triglav Tina, Zdolšek Barbara, Žnidaršič Benica, Žohar Čretnik Tjaša

Organizacijski odbor: Mateja Pirš, Iztok Štrumbelj, Helena Ribič, Tatjana Lejko Zupanc, Miroslav Petrovec

Urednik: Mateja Pirš

Lektor: Marko Janša

Tehnični uredniki: Uroš Žižmund, Tina Triglav, Polona Maver Vodičar

Recenzenti: Mateja Pirš, Iztok Štrumbelj, Helena Ribič, Eva Ružič Sabljic, Veronika Križan Hergouth, Nataša Švent Kučina, Urška Dermota, Kristina Nadrah

Založba in avtorske pravice: Sekcija za klinično mikrobiologijo in bolnišnične okužbe Slovenskega zdravniškega društva

Izdaja: Prva izdaja, elektronska publikacija (v obliki pdf), junij 2016

Leto izida (elektronska objava): 2016

Spletna lokacija: <http://www.imi.si/strokovna-zdruzenja/strokovna-srecanja/6-likarjev-simpozij>

Publikacija je brezplačna, namenjena udeležencem strokovnega srečanja.

Predlagano citiranje: Sekcija za klinično mikrobiologijo in bolnišnične okužbe SZD: [zbornik povzetkov]/6. LIKARJEV SIMPOZIJ: BOLNIŠNIČNE OKUŽBE, PROBLEMATIKA ODPORNIH BAKTERIJ; [organizatorji Sekcija za klinično mikrobiologijo in bolnišnične okužbe SZD, Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo MF UL]; Ljubljana: Sekcija za klinično mikrobiologijo in bolnišnične okužbe; 2016. 1. izdaja. Dosegljivo na: <http://www.imi.si/strokovna-zdruzenja/strokovna-srecanja/6-likarjev-simpozij>

CIP - Kataložni zapis o publikaciji
Narodna in univerzitetna knjižnica, Ljubljana

616-022.36(082)
615.33.015.8(082)

LIKARJEV simpozij (6 ; 2016 ; Ljubljana)

Bolnišnične okužbe, problematika odpornih bakterij [Elektronski vir] : zbornik povzetkov / 6. Likarjev simpozij, 21. junij 2016, v Ljubljani ; [avtorji Beovič Bojana ... [et al.] ; [organizatorja] Sekcija za klinično mikrobiologijo in bolnišnične okužbe Slovenskega zdravniškega društva [in] Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo Medicinske fakultete Univerze v Ljubljani ; urednik Mateja Pirš. - 1. izd. - El. knjiga. - Ljubljana : Sekcija za klinično mikrobiologijo in bolnišnične okužbe Slovenskega zdravniškega društva, 2016

Način dostopa (URL): <http://www.imi.si/strokovna-zdruzenja/strokovna-srecanja/6-likarjev-simpozij>

ISBN 978-961-6956-44-4 (pdf)

1. Gl. stv. nasl. 2. Beovič, Bojana 3. Pirš, Mateja, 1974- 4. Slovensko zdravniško društvo. Sekcija za klinično mikrobiologijo in bolnišnične okužbe 5. Medicinska fakulteta (Ljubljana). Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo 285161472

KAZALO

VZORCI OBČUTLJIVOSTI ZA ANTIBIOTIKE IN ODPORNOSTI PROTI NJIM PRI MRSA V DVEH SLOVENSКИH REGIJAH V OBDOBJU 2011–2015	4
DINAMIKA SLOVENSКИH KLONOV MRSA Z OPREDELJENIMI VZORCI OBČUTLJIVOSTI ZA NE-BETALAKTAMSKE ANTIBIOTIKE	7
PONOJNI PORAST POJAVLJANJA PROTI VANKOMICINU ODPORNIH ENTEROKOKOV V SLOVENIJI IN EVROPI	10
SMERNICE ZA IZOLACIJO BOLNIKOV, KOLONIZIRANIH Z ENTEROBAKTERIJAMI, KI IZLOČAJO ESBL .	13
INVAZIVNE OKUŽBE Z BAKTERIJAMI <i>ESCHERICHIA COLI</i> IN <i>KLEBSIELLA PNEUMONIAE</i> Z ESBL PO PODATKIH MREŽE EARS-NET SLOVENIJA	15
KOLONIZACIJA Z <i>ESCHERICHIA COLI</i> IN <i>KLEBSIELLA PNEUMONIAE</i>, KI IZLOČAJO ESBL, IN INVAZIVNE OKUŽBE	19
OSNOVE RAZVRSTITVE IN OZNAČEVANJA PROTI KARBAPENEMOM ODPORNIH PO GRAMU NEGATIVNIH BAKTERIJ	21
NOVE SMERNICE NAKOBO ZA ISKANJE NOSILCEV IN UKREPE PRI BOLNIKI, KOLONIZIRANIH ALI OKUŽENIH S PO GRAMU NEGATIVNIMI BACILI, KI IZLOČAJO KARBAPENEMAZE	23
POTEK PRVEGA IZBRUHA ENTEROBAKTERIJ, KI IZLOČAJO KARBAPENEMAZE, V SLOVENSKI BOLNIŠNICI	26
ENTEROBAKTERIJE S KARBAPENEMAZAMI – KVANTITATIVNA ANALIZA RASTI ZBIRKE IZOLATOV V RAZLIČNIH TEKOČIH IN NA TRDNIH GOJIŠČIH	28
UGOTAVLJANJE NOSILSTVA PROTI KARBAPENEMOM ODPORNE BAKTERIJE <i>ACINETOBACTER BAUMANNII</i>: VZORČENJE, METODE, UPORABNOST KULTIVACIJE Z OBOGATITVIJO	32
IZID BAKTERIEMIJE Z <i>ACINETOBACTER BAUMANNII</i> IN OBČUTLJIVOST ZA KARBAPENEME	34
ISKANJE VIROV <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i> – CRPs V OKOLJU	36
ZDRAVLJENJE OKUŽB S <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i>, ODPORNIM PROTI ŠTEVILNIM ANTIBIOTIKOM	39
MOLEKULARNA DETEKCIJA PO GRAMU NEGATIVNIH BAKTERIJ, KI IZLOČAJO KARBAPENEMAZE	41
NOVI ANTIBIOTIKI – CEFTOLOZAN/TAZOBAKTAM, CEFTAZIDIM/AVIBAKTAM	43

VZORCI OBČUTLJIVOSTI ZA ANTIBIOTIKE IN ODPORNOSTI PROTI NJIM PRI MRSA V DVEH SLOVENSКИH REGIJAH V OBDOBJU 2011–2015

Mateja Pirš¹, Nataša Švent Kučina¹, Živa Petrovič², Slavica Lorenčič Robnik², Iztok Štrumbelj²

¹ Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Zaloška 4, 1000 Ljubljana

² Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Center za medicinsko mikrobiologijo, Prvomajska ulica 1, 2000 Maribor

Proti meticilinu odporni *Staphylococcus aureus* (angl. *methicillin-resistant Staphylococcus aureus*, MRSA) spada med najpomembnejše povzročitelje okužb, povezanih z zdravstvom, sočasno pa je pomemben tudi kot povzročitelj okužb v domačem okolju. Glede na izvor ločimo bolnišnične izolate (angl. *hospital-associated*, HA MRSA), ki so pomembni povzročitelji okužb v bolnišničnem okolju, in izolate MRSA, ki izvirajo iz domačega okolja (angl. *community-associated*, CA MRSA) in povzročajo okužbe pri ljudeh brez dejavnikov tveganja za okužbe, povezane z zdravstvom. Iz domačega okolja se lahko razširijo tudi v bolnišnice. Vse večji problem pa je tudi MRSA, ki se pojavlja pri rejnih živalih (angl. *livestock-associated*, LA MRSA) in je lahko pomemben vir za okužbe pri ljudeh. Pri teh izolatih pogosto opažajo odpornost proti tetraciklinu (1-3). Pojavljanje sevov CA MRSA in LA MRSA pomembno vpliva na epidemiologijo MRSA, saj s širjenjem v nove rezervoarje pomenijo nov izziv za bolnišnično higieno in prispevajo k spreminjanju občutljivosti izolatov MRSA za antibiotike (4). Splošen vpogled v spreminjanje populacije izolatov MRSA lahko pridobimo tudi s preprosto analizo vzorcev občutljivosti za antibiotike. Za dokončno opredelitev izvora izolatov so potrebne molekularne analize (tipizacija *spa* ali opredelitev stafilokoknega kasetnega kromosoma *mec*; *SCCmec*, smiselna je tudi opredelitev Panton-Valentinovega levkocidina) (1,4,5). Namen naše raziskave je bil analizirati vzorce občutljivosti za antibiotike in odpornosti proti njim (rezistotipi) pri MRSA in s tem posredno spremembe v populaciji izolatov MRSA v dveh slovenskih regijah od leta 2011 do leta 2015.

Metode: Analizirali smo podatke o občutljivosti prvih izolatov MRSA za antibiotike iz kliničnih ali nadzornih kužnin bolnikov, ki so bili obravnavani v osrednjeslovenski regiji in severovzhodni Sloveniji v obdobju od 1. 1. 2011 do 31. 12. 2015. Seve smo razvrstili v rezistotipe, ki smo jih za posamezen izolat MRSA določili na osnovi različnih kombinacij odpornosti izolata proti eritromicinu (ERY), klindamicinu (CLI), ciprofloksacinu (CIP), gentamicinu (GEN), trimetoprim/sulfametoksazolu (SXT) in tetraciklinu (TET).

Rezultati: V analizo smo vključili 2763 izolatov iz osrednjeslovenske (OSR) in 1254 izolatov iz severovzhodne Slovenije (SVS). V OSR opažamo porast deleža MRSA, ki je odporna samo proti cefoksitinu (od 6,6 % v 2011 na 14,4 % v 2015), v SVS-regijah pa je ta delež v celotnem analiziranem obdobju večji, povprečno 13,5-odstoten (slika 1). Najpogostejši rezistotipi v OSR od leta 2011 do 2015 so bili CLI-CIP-FOX-ERY (40,4 %), CIP-FOX-ERY (32,1 %), FOX (11,4 %) ter CLI CIP FOX ERY GEN (7,2 %), preostali so skupno pomenili 9,0 odstotkov. Najpogostejši rezistotip v SVS od leta 2011 do 2015 je bil CLI-CIP-FOX-ERY(61,5 %), sledili so FOX (13,5 %),

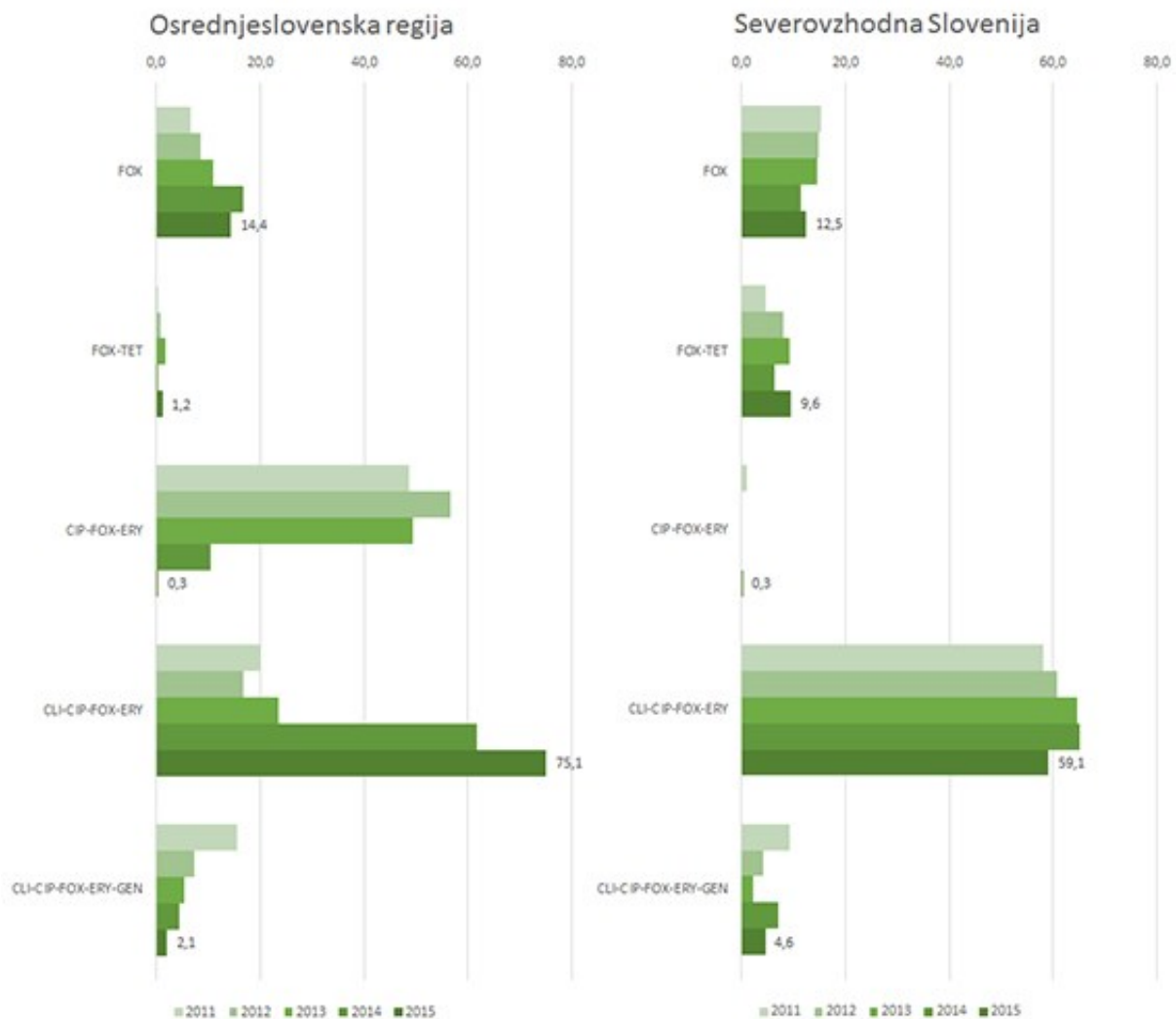
FOX-TET (7,7 %) in CLI-CIP-FOX-ERY-GEN (5,4 %), preostali so skupno pomenili 11,8 odstotka (slika 1). Prevladujoči rezistotip v SVS-regijah je CLI-CIP-FOX-ERY. V OSR je ta rezistotip od leta 2014 v porastu, hkrati pa je v 2014 v OSR prišlo do velikega upada deleža CIP-FOX-ERY.

Ob primerjavi skupne občutljivosti za antibiotike pri prvih izolatih po obeh regijah smo opazili velike medregijske razlike predvsem v deležu izolatov MRSA, odpornih proti tetraciklinu. V OSR-regiji je bil delež FOX-TET 0,8 odstotka, delež vseh proti tetraciklinu odpornih izolatov pa le 3 odstotke in je v zadnjih petih letih stabilen. V SVS-regijah pa delež izolatov MRSA, odpornih proti tetraciklinu, znaša 14,2 odstotka, in je porasel s 7,4 v letu 2011 na 18,8 odstotka leta 2015. Večina ima rezistotip FOX-TET (7,7 % vseh rezistotipov oziroma 54,5 % tetraciklin odpornih MRSA), sledi rezistotip CLI-FOX-ERY-TET (2,4 % vseh rezistotipov), CLI-FOX-TET (1 % vseh rezistotipov).

Zaključek: Rezultati analize občutljivosti za antibiotike ter rezistotipov pri MRSA v osrednjeslovenski regiji in severovzhodni Sloveniji so pokazali velike razlike med regijami in veliko časovno dinamiko izolatov znotraj posamezne regije. Poleg tega opažamo pomemben porast odpornosti izolatov proti tetraciklinu, kar bi lahko kazalo na širjenje izolatov LA-MRSA, saj so ti pogosto odporni proti tetraciklinu (1).

Za dobro sledenje in obvladovanje MRSA v Sloveniji je potrebno poznavanje lokalne problematike, saj širjenje sevov CA MRSA in LA MRSA v nova okolja pomembno vpliva na lokalno epidemiologijo in predstavlja nove izzive za bolnišnično higieno ter prispeva k spreminjanju občutljivosti MRSA-izolatov za antibiotike.

Slika 1. Vzorci občutljivosti za antibiotike in odpornosti proti njim pri MRSA v osrednjeslovenski regiji in severovzhodni Sloveniji v obdobju 2011–2015.



Viri

1. Schaumburg F, Idelevich EA, Peters G, et al. Trends in antimicrobial non-susceptibility in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from Germany (2004–2011). *New Microbes New Infect.* 2014; 20: O554–7.
2. Huang E, Gurzau AE, Hanson BM, et al. Detection of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among swine workers in Romania. *J Infect Public Health.* 2014; 7: 323–32.
3. Dermota U, Mueller-Premru M, Švent-Kučina N, et al. Survey of community-associated-methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Slovenia: identification of community-associated and livestock-associated clones. *Int J Med Microbiol.* 2015; 305 (6): 505–10.
4. Stefani S, Chung DR, Lindsay JA, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): global epidemiology and harmonisation of typing methods. *Int J Antimicrob Agents.* 2012; 39: 273–82.
5. Seidl K, Leimer N, Palheiros Marques M, et al. Clonality and antimicrobial susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at the University Hospital Zurich, Switzerland between 2012 and 2014. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2015; 14: 14.

DINAMIKA SLOVENSКИH KLONOV MRSA Z OPREDELJENIMI VZORCI OBČUTLIVOSTI ZA NE-BETALAKTAMSKE ANTIBIOTIKE

Urška Dermota¹, Irena Grmek Košnik¹, Maja Rupnik¹, Sandra Janežič¹, Tjaša Žohar Čretnik¹,
Živa Petrovič¹, Iztok Štrumbelj¹, Tatjana Harlander¹, Barbara Zdolšek¹, Martina Kavčič¹,
Ljudmila Sarjanović¹

¹Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Center za medicinsko mikrobiologijo,
Prvomajska ulica 1, 2000 Maribor

Po podatkih v literaturi v svetu in Sloveniji kroži heterogena skupina klonov proti meticilinu odporne bakterije *Staphylococcus aureus* (MRSA) (1-3). V bolnišničnem okolju prevladuje južnonemški klon sekvenčnega tipa (ST228), New-York/japonski klon (ST5), iberijski klon (ST247), klon UK-EMRSA-3 (ST5) in brazilski klon (ST239) (2-3). Med izolati MRSA, ki so občutljivi za ne-betalaktamske antibiotike prevladuje berlinski klon (ST45), pediatrični klon (ST5) in klon rejnih živali (ST398) (4-5).

V Nacionalnem laboratoriju za zdravje, okolje in hrano Centra za medicinsko mikrobiologijo smo analizirali izolate MRSA, ki so bili osamljeni med rutinsko mikrobiološko diagnostiko v mikrobioloških laboratorijih leta 2010, 2014 in 2015. Izolati MRSA iz osrednjeslovenske regije niso bili vključeni v raziskavo. V raziskavo smo vključili le izolate MRSA, ki so bili odporni proti oksacilinu in cefoksitinu ter občutljivi za vsaj dva od štirih antibiotikov (eritromicin, klindamicin, gentamicin ali ciprofloksacin). Izolatoma MRSA smo določili tip gena *mec*, tip *spa*, tip kasete stafilokoknega kromosoma (*SCCmec*) in prisotnost Panton-Valentinovega levkocidina (PVL) (6-9).

Leta 2010 smo v raziskavo uvrstili 92 izolatov MRSA, leta 2014 123 in leta 2015 189. 62 izolatov MRSA smo osamili iz kliničnih kužnin in 342 iz nadzornih kužnin. Gen *mecA* smo dokazali pri 386 izolatih MRSA. Leta 2010 smo pri enem (1,1 %) izolatu MRSA dokazali gen *mecC*, leta 2014 pri dveh (1,6 %) in leta 2015 pri 15 (7,9 %) izolatih. Leta 2015 smo gen *mecC* poleg nadzornih kužnin dokazali tudi v dveh kliničnih kužninah, hemokulturi in sputumu.

Izolati MRSA so bili genetsko zelo heterogeni. Leta 2010 so izolati MRSA pripadali 36 različnim tipom *spa*, leta 2014 46 tipom *spa* in leta 2015 75 različnim tipom *spa* (tabela 1).

Leta 2010 je prevladoval tip *spa* t015 v 21,7 odstotka. Leta 2014 se je delež tipa *spa* t015 znižal na 4,1 odstotka, medtem ko se je delež t015 v letu 2015 ohranil pri 4,2 odstotka. Tip *spa* t011 je bil leta 2010 drugi najpogostejši tip *spa* v deležu 13 odstotkov. Leta 2014 in 2015 je bil tip *spa* t011 najpogostejši med vsemi tipi *spa*. Delež t011 se je v primerjavi z letom 2010 povečal na 17,1 odstotka, leta 2015 pa znižal na 16,4 odstotka. Leta 2010 je bil tretji najpogostejši tip *spa* t728 v deležu 6,5 odstotka. Leta 2014 je bil tip *spa* t728 prisoten le v deležu 0,8 odstotka, leta 2015 pa v deležu 5,3 odstotka. Leta 2014 je bil drugi najpogostejši tip *spa* t359, in sicer v deležu 9,8 odstotka. Delež tipa *spa* t359 se je leta 2015 znižal na 3,7 odstotka. Tip *spa* t002 se je leta 2014 v primerjavi z letom 2010 povečal s 4,3 na 8,1 odstotka, leta 2015 pa znižal na 4,8 odstotka. Leta 2014 se je v primerjavi z letom 2010 povečal tudi delež tipa *spa* t127 s 3,3 na

6,5 odstotka, leta 2015 pa znižal na 5,3 odstotka. Leta 2010 je bil delež PVL pozitivnih MRSA 8,7 odstotka, ti so pripadali ST5, ST7, ST8, ST22, ST72, ST88 in ST152/377. Leta 2014 se je delež PVL pozitivnih MRSA v primerjavi z letom 2010 povišal na 10,6 odstotka. Ti izolati MRSA so pripadali ST1, ST5, ST22 in ST152/377. Letu 2015 se je delež PVL pozitivnih MRSA v primerjavi z letoma 2010 in 2014 znižal na 3,2 odstotka. Izolati MRSA so pripadali ST5, ST80 in ST152/377. Klon ST398, ki ga povezujejo z MRSA rejnih živali oziroma LA-MRSA (ang. livestock associated MRSA), smo leta 2010 dokazali pri 15,2 odstotka izolatov MRSA. Delež ST398 se je leta 2014 povišal na 22,8 odstotka in leta 2015 na 25,9 odstotka. Leta 2015 se je v primerjavi z letoma 2010 in 2014 povišal tudi delež *mecC* pozitivnih izolatov MRSA. Leta 2010 je bil delež *mecC* ST130 1,1 odstotka, leta 2014 1,6 odstotka, leta 2015 pa 6,8 odstotka. Leta 2015 prevladujejo *mecC* MRSA, ki jih uvrščamo v ST130, pojavljali pa so se tudi *mecC*-izolati MRSA, ki jih uvrščamo v ST2620.

Dinamika klonov MRSA, ki so občutljivi za ne-betalaktamske antibiotike, se v Sloveniji spreminja. Leta 2015 so prevladovali kloni, ki jih povezujemo z rejnimi živalmi oziroma LA-MRSA. ST398, ST1 in *mecC* pozitivni MRSA (ST130 in ST2620) niso prisotni le v regijah, kjer je razvito poljedelstvo in živinoreja, ampak so razpršeni po vseh regijah v Sloveniji.

Viri

1. Monecke S, Coombs G, Shore A, et al. A field guide to pandemic, epidemic and sporadic clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. PLoS ONE. 2010; 6 (4): e17936.
2. Deurenberg RH, Stobberingh EE. The evolution of *Staphylococcus aureus*. Infect Genet Evol. 2008; 8: 747–63.
3. Cvitković Špik V, Grmek Košnik I, Lorenčič Robnik S, et al. Genetska opredelitev za meticilin občutljivih in proti meticilinu odpornih sevov *Staphylococcus aureus*, izoliranih iz hemokultur v slovenskih bolnišnicah, s tipizacijo *spa*. Zdrav Var. 2009; 48: 78–84.
4. Švent-Kučina N, Lah LL, Kofol R, et al. Opredelitev izolatov proti meticilinu odpornega *Staphylococcus aureus* (MRSA) iz Osrednjeslovenske regije- ali prihaja do vnosa MRSA domačega okolja (CA MRSA) v bolnišnico? Med Razgl. 2013; 52 Suppl 6: 241–50.
5. Dermota U, Mueller-Premru M, Švent-Kučina N, et al. Survey of community-associated-methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Slovenia: Identification of community-associated and livestock-associated clones. Int J Med Microbiol. 2015; 305: 505–10.
6. Harmsen D, Claus H, Witte W, et al. Typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a university hospital setting by using novel software for *spa* repeat determination and database management. J Clin Microbiol. 2003; 41: 5442–8.
7. Kondo Y, Ito T, Ma XX, et al. Combination of multiplex PCRs for staphylococcal cassette chromosome *mec* type assignment: rapid identification system for *mec*, *ccr*, and major differences in junkyard regions. Antimicrob Agents Chemother. 2007; 51: 264–7.
8. Enright MC, Day NP, Davies CE, et al. Multilocus sequence typing for characterization of methicillin-resistant and methicillin-susceptible clones of *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol. 2000; 38: 1008–15.
9. Stegger M, Anderson PS, Kearns A, et al. Rapid detection, differentiation and typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* harboring either *mecA* or the new *mecA* homologue *mecA_{LGA251}*. CMI. 2012; 18: 395–400.

Tabela 1. Najpogostejši tipi *spa* izolatov MRSA, ki smo jih osamili leta 2010, v primerjavi z letoma 2014 in 2015

pogostost tipa <i>spa</i>	leto 2010			leto 2014			leto 2015		
	tip <i>spa</i>	delež v % (število)	MLST	tip <i>spa</i>	delež v % (število)	MLST	tip <i>spa</i>	delež v % (število)	MLST
1	t015	21,7 (20)	ST45	t011	17,1 (21)	ST398	t011	16,4 (31)	ST398
2	t011	13,0 (12)	ST398	t359	9,8 (12)	ST97	t034	6,3 (12)	ST398
3	t728	6,5 (6)	ST45	t002	8,1 (10)	ST5	t127	5,3 (10)	ST1
4	t008	5,4 (5)	ST8	t127	6,5 (8)	ST1	t728	5,3 (10)	ST45
5	t002	4,3 (4)	ST5	t034	4,9 (6)	ST398	t002	4,8 (9)	ST5
6	t005	4,3 (4)	ST22	t003	4,9 (6)	ST5	t015	4,2 (8)	ST45
7	t026	4,3 (4)	ST45	t015	4,1 (5)	ST45	t359	3,7 (7)	ST97
8	t127	3,3 (3)	ST1	t050	3,3 (4)	ST45	t1048	3,2 (6)	ST130
9	t020	2,2 (2)	ST22	t008	2,4 (3)	ST8	t091	2,1 (4)	ST7
10	-	-	-	t2164	2,4 (3)	ST5	t223	2,1 (4)	ST22
> 10	ostali	35 (32)	-	ostali	36,5 (45)	-	ostali	46,6 (88)	-

Legenda: MLST multi locus sequence type

PONOVNI PORAST POJAVLJANJA PROTI VANKOMICINU ODPORNIH ENTEROKOKOV V SLOVENIJI IN EVROPI

Helena Ribič¹, Urška Dermota¹, Romina Kofol², Mateja Pirš²

¹ Center za medicinsko mikrobiologijo, Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Oddelek za medicinsko mikrobiologijo Kranj, Gosposvetska 12, 4000 Kranj

² Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Zaloška 4, 1000 Ljubljana

Proti vankomicinu odporni enterokoki (angl. vancomycin-resistant enterococci, VRE) pomenijo velik problem za zdravljenje in preprečevanje okužb v bolnišničnem okolju (1).

Pogostost okužb z VRE in trende v evropskih državah nazorno prikazujejo podatki mreže EARSS/EARS-Net (angl. European Antimicrobial Resistance Surveillance System/Network), ki vključujejo podatke vseh prvih izolatov iz hemokultur ali iz kulture likvorja pri posameznem bolniku v letu (2). Leta 2001 je bilo intermediarnih ali odpornih proti vankomicinu 5,9 odstotka (49 od 829) izolatov *Enterococcus faecium*. Pojavili so se v desetih od 21 sodelujočih držav (47,6 %), večinoma po en ali nekaj izolatov, razen v Grčiji, Italiji in na Portugalskem, kjer so bili deleži veliki (18,3 %, 18,7 % in 23,5 %). Med 2701 sevi *Enterococcus faecalis* je bilo leta 2001 za vankomicin neobčutljivih 2 odstotka (55 izolatov). Število v mreži sodelujočih držav se je do leta 2014 povečalo na 29, število izolatov *E. faecium* pa za skoraj desetkrat, na 8142. Delež za vankomicin neobčutljivih sevov *E. faecium* se je večal do leta 2005 in dosegel 14 odstotkov, nato se je do 2011 zniževal (7,5 %) in spet večal do leta 2013 (9 %). Leta 2014 je znašal 8,8 odstotka. Med državami se je zelo razlikoval: 0 odstotkov je bil na Finskem, v Estoniji, Islandiji in Malti; 0–5 odstotkov v 16 državah, med njimi sta Slovenija in Avstrija; 5–10 odstotkov v Italiji, Nemčiji in na Madžarskem; 10–25 odstotkov v Bolgariji, Latviji, Romuniji, Veliki Britaniji, na Hrvaškem, Portugalskem in Slovaškem; več kot 25 odstotkov pa v Grčiji (27,3 %), na Cipru (40 %) in Irskem (45,1 %). Večalo se je tudi število bolnikov s sevi *E. faecalis*: leta 2014 so jih ugotovili 13.110, število za vankomicin neobčutljivih je bilo majhno, 90 (0,7 %) (2).

V številnih raziskavah so strokovnjaki želeli razjasniti velik delež VRE med invazivnimi izolati. Na Irskem so v eni od akutnih bolnišnic leta 2014 ugotovili, da je prevalenca *E. faecium* VRE (VREm) izredno visoka, 31,4-odstotna. Sevi so bili zelo heterogeni in so pripadali klonalnemu kompleksu CC17 (3). Na Portugalskem je bilo leta 2003 invazivnih VREm 46,6 odstotka (2). Zatem se je delež zniževal, vendar je bil vedno večji kot 20 odstotkov. Delež proti vankomicinu odpornih *E. faecalis* (VREs) je bil med 1,3 in 6,4 odstotka. V raziskavi, ki so jo opravili pri hemodializnih bolnikih, so ugotovili prevalenco sevov VRE 3,3 odstotka; izolati so pripadali klonalnima kompleksoma CC17 in CC 2 (4).

Tudi v Nemčiji je bil delež invazivnih izolatov VRE v zadnjih letih velik, več kot 10-odstoten (2). V obsežni raziskavi, ki so jo v 645 intenzivnih in 681 kirurških oddelkih opravili v letih 2007/8–2011/12, so ugotovili 280-odstotno povečanje števila primerov VRE, signifikantno povečanje

deleža VRE pri okužbah kirurških ran in bakteriemijah, velike razlike med regijami, razvoj novih VRE-sevov in povezavo pojava VRE z rabo širokospektralnih cefalosporinov in antibiotikov za zdravljenje anaerobnih okužb (5).

Slovenija s podatki o invazivnih izolatih *E. faecalis* in *E. faecium* sodeluje v mreži EARSS/EARS-Net od leta 2001. V 14 letih (2001–2014) smo ugotovili skupno 24 prvih invazivnih izolatov *E. faecium* in nič *E. faecalis* z zmanjšano občutljivostjo ali odpornostjo proti vankomicinu. Prvi invazivni sev *E. faecium* z zmanjšano občutljivostjo za vankomicin smo ugotovili leta 2003, prvi VREm pa leta 2006; med 50 bolniki z invazivnim *E. faecium* smo VREm ugotovili pri treh bolnikih (6 %). Delež bolnikov z VREm se je večal do leta 2008 (10 bolnikov z VREm med 76 bolniki z *E. faecium*, 13,2 %) in nato zniževal; leta 2010 je znašal 1,7 odstotka (1/59), 2011 in 2012 0 odstotkov (0/83 in 0/95); leta 2013 1 odstotek (1/102) in leta 2014 1,7 odstotka (2/115) (2).

Po podatkih Slovenske komisije za ugotavljanje občutljivosti za protimikrobna zdravila (SKUOPZ) je bil delež VREm v kliničnih kužninah v letih med 2011 in 2013 majhen: od 0,6 do 0,8 odstotka (6-8). Leta 2014 se je delež VREm povečal na 2,6 odstotka (30/1081) (9). Delež VREs ostaja nizek, manjši od 0,1 odstotka (6-9). Število VREm sicer ni veliko, vendar so za vsakim izolatom iz klinične kužnine številni kolonizirani bolniki, ki pomenijo bistveno večji rezervoar VREm. Podrobnejši podatki mikrobioloških laboratorijev kažejo na občasne izbruhe VRE v posameznih regijah. O sevih VRE z genom *vanB* v Sloveniji so poročali v rezultatih mednarodne raziskave, objavljene leta 2000, iz Splošne bolnišnice Novo mesto v letu 2012 in iz Splošne bolnišnice Jesenice v letu 2014, o sevih z genom *vanA* pa v letu 2012 iz bolnišnice iz osrednjeslovenske regije (10-12).

Ugotovitve raziskav kažejo, da so izbruhi VRE za bolnišnice izredno velik problem zdravljenja, epidemiološki problem in veliko ekonomsko breme (11). V številnih državah so glavni in najbolj razširjeni sevi VRE, ki pripadajo klonalnemu kompleksu CC17, tovrstne seve smo odkrili tudi v Sloveniji – so zelo dobro prilagojeni na bolnišnično okolje, se uspešno širijo in jih je težko eradicirati (3). Večina izbruhov je ugotovljena razmeroma pozno zaradi omejenega ugotavljanja nosilcev VRE, ki ne zajame vseh bolnikov z dejavniki tveganja. Do tega privedejo dlje trajajoča obdobja brez ugotovljenih sevov VRE ali z majhnim številom, varčevanje in pomanjkljivo zavedanje o resnosti problema. Odpornost proti vankomicinu je pri enterokoknih okužbah neodvisno od drugih dejavnikov povezana z večjo smrtnostjo (5). Rezultati raziskave na Nizozemskem, ki so bili predstavljeni na konferenci ministrov EU v Amsterdamu leta 2016, kažejo, da so stroški obvladovanja izbruha VRE izredno visoki, celo osemkrat večji od stroškov preventivnih ukrepov v enem letu.

Za uspešno obvladovanje VRE je treba poznati epidemiologijo na lokalni in nacionalni ravni in se pravočasno odzivati na spremembe. V ustanovah, kjer VRE ne ugotavljajo, morajo biti izredno pozorni in spremljati epidemiološke razmere v drugih ustanovah in redno presejalno testirati bolnike ob premestitvah.

Viri:

1. Teixeira ML, Facklam RR. *Enterococcus*. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, et al, eds. Manual of Clinical Microbiology. 8th edition. Washington: ASM; 2003. p. 422-33.
2. The European Antimicrobial surveillance network. EARS-Net results. [citirano 2016 Jun 10]. Dosegljivo na: http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/antimicrobial_resistance/%20database/Pages/database.aspx
3. Whelton E, Lynch C, O'Reilly B, et al. Vancomycin-resistant enterococci carriage in an acute Irish hospital. *J Hosp Infect*. 2016; 93 (2): 175-80.
4. Correia S, Ponce P, Jones-Dias D, et al. Vancomycin-resistant enterococci among haemodialysis patients in Portugal: prevalence and molecular characterization of resistance, virulence and clonality. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2014; 32 (3): 174-6.
5. Gastmeier P, Schroder C, Behnke M, et al. Dramatic increase in vancomycin-resistant enterococci in Germany. *J Antimicrob Chemother*. 2014; 69: 1660-4.
6. Štrumbelj I, Berce I, Čretnik - Žohar T, et al. Pregled občutljivosti bakterij za antibiotike - Slovenija 2011 [internet]. 1st ed. Ljubljana: Slovenska komisija za ugotavljanje občutljivosti za protimikrobna zdravila (SKUOPZ); 2012. [citirano 2016 Jun 10]. Dosegljivo na: <http://www.imi.si/strokovna-zdruzenja/skuopz>
7. Štrumbelj I, Berce I, Čretnik - Žohar T, et al. Pregled občutljivosti bakterij za antibiotike - Slovenija 2012 [internet]. 1st ed. Ljubljana: Slovenska komisija za ugotavljanje občutljivosti za protimikrobna zdravila (SKUOPZ); 2013. [citirano 2016 Jun 10]. Dosegljivo na: <http://www.imi.si/strokovna-zdruzenja/skuopz>
8. Štrumbelj I, Berce I, Harlander T, et al. Pregled občutljivosti bakterij za antibiotike - Slovenija 2013 [internet]. 1st ed. Ljubljana: Slovenska komisija za ugotavljanje občutljivosti za protimikrobna zdravila (SKUOPZ); 2014. [citirano 2016 Jun 10]. Dosegljivo na: <http://www.imi.si/strokovna-zdruzenja/skuopz>
9. Štrumbelj I, Pirš M, Berce I, et al. Pregled občutljivosti za antibiotike - Slovenija 2014 [internet]. 1st ed. Ljubljana: Slovenska komisija za ugotavljanje občutljivosti za protimikrobna zdravila (SKUOPZ); 2016. [citirano 2016 Jun 10]. Dosegljivo na: <http://www.imi.si/strokovna-zdruzenja/skuopz>
10. Schouten MA, Hoogkamp-Korstanje JA, Meis JF, et al. Prevalence of vancomycin-resistant enterococci in Europe. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2000; 19: 816-22.
11. Triglav T, Pirš M, Lejko-Zupanc T, et al. Izbruha proti vankomicinu odpornega *Enterococcus faecium* v letu 2012. In: Petrovec M, ed. 5. Baničevi dnevi – Okužbe, povezane z zdravstvom. *Med Razgl*. 2013; 52: S 6: 223-32.
12. Ribič H, Rems M, Lavtižar J, et al. Izbruh proti vankomicinu odpornega *Enterococcus faecium* v Splošni bolnišnici Jesenice v letu 2014. *Enboz*; 2015 [citirano 2016 Jun 10]; 5 (3): 4-8 [internet]. Dosegljivo na: http://www.nijz.si/sites/www.nijz.si/files/uploaded/enboz_marec_2015.pdf

SMERNICE ZA IZOLACIJO BOLNIKOV, KOLONIZIRANIH Z ENTEROBAKTERIJAMI, KI IZLOČAJO ESBL

Lejko Zupanc Tatjana¹, Logar Mateja¹, Mrvič Tatjana¹, Žnidaršič Benica¹

¹Služba za preprečevanje in obvladovanje bolnišničnih okužb, UKC Ljubljana, Ljubljana, Japljeva 2 spobo@kclj.si

Pojavljanje večkratno odpornih mikroorganizmov v bolnišnicah je svetovni problem. To je lahko posledica vnosa mikroorganizmov v bolnišnico (kolonizirani bolniki ob sprejemu), horizontalnega prenosa med bolniki, selekcije odpornosti zaradi uporabe protimikrobnih zdravil, prenosa genov za odpornost med mikroorganizmi ali kombinacije teh dejavnikov. Enterobakterije, ki izločajo encime betalaktamaze razširjenega spektra (ESBL), so med najpogostejšimi odpornimi mikroorganizmi, ki jih srečujemo v bolnici. Najpogostejši sta bakteriji *Klebsiella pneumoniae* in *Escherichia coli*. Velik rezervoar *E. coli* ESBL je prisoten tudi v domačem okolju in v ustanovah kronične nege.

Med tradicionalnimi ukrepi bolnišnične higiene, ki preprečujejo horizontalni prenos mikroorganizmov, so aktivno presejanje, izobraževanje (bolniki, osebje, obiskovalci), kontaktna izolacija (tehnična, prostorska) in strategije za obvladovanje rabe antibiotikov. Ti ukrepi so se izkazali za zelo uspešne pri preprečevanju prenosa proti meticilinu odpornih stafilokokov, obstajajo pa dvomi o njihovi učinkovitosti pri preprečevanju širjenja odpornih po Gramu negativnih mikroorganizmov, zlasti tistih, ki so pogosti tudi v domačem okolju. V zadnjem času sta dve strokovni združenji (European Society Of Clinical Microbiology And Infectious Diseases – ESCMID in Healthcare Infection Society – HIS) objavili dva obsežna dokumenta, ki govorita o obvladovanju širjenja odpornih proti po Gramu negativnim bakterijam v bolnišničnem okolju (1,2).

Ukrepi osamitve so med pogosto uporabljanimi ukrepi za preprečevanje širjenja odpornih bakterij v zdravstvenih ustanovah. Bolnike, kolonizirane z odpornimi bakterijami, po možnosti osamimo v enoposteljno sobo ali v kohortno izolacijo. Poleg prostorske osamitve je pri kontaktni osamitvi obvezna tudi uporaba rokavic, plaščev in predpasnikov, v določenih primerih tudi mask. Kljub priporočilom in razširjeni rabi osamitvenih ukrepov so nesoglasja glede učinkovitosti in smotrnosti teh ukrepov pri preprečevanju prenosa večkratno odpornih bakterij. Pri pregledu literature ugotovimo, da je učinkovitost osamitvenih ukrepov dokazana predvsem v situacijah, kjer gre za bolnišnični izbruh. Tudi za bolnike, kolonizirane s po Gramu negativnimi odpornimi bakterijami, mednarodna priporočila svetujejo dosledno kontaktno osamitev. To lahko izvajamo na različne načine in z različno stopnjo strogosti – od dosledne izolacije v enoposteljni sobi do uporabe zaščitnih sredstev pri bolniku, ki je v isti sobi z nekoloniziranimi bolniki. Trenutno strogo osamitev zahtevamo predvsem za bolnike, kolonizirane z bakterijami, ki izločajo karbapenemaze, in enterobakterijami (ne *Escherichia coli*), ki izločajo betalaktamaze razširjenega spektra (ESBL). Učinkovitost osamitve pa je vprašljiva, kadar gre za endemično stanje kolonizacije z ESBL pozitivno *E. coli*. UKC Ljubljana je

pred letom ukinil prostorsko osamitev za bolnike, kolonizirane z *E. coli* ESBL, vendar ohranil druga načela kontaktne izolacije (higiena rok, zaščitna oprema ipd.). Kljub temu ne ugotavljamo porasta bolnišničnih prenosov ESBL *E. coli*, čeprav število koloniziranih bolnikov, odkritih ob sprejemu, neprestano narašča.

Z dosledno uporabo ukrepov kontaktne izolacije lahko preprečimo prenose odpornih mikroorganizmov, tudi če bolniki niso v prostorski izolaciji, če ne gre za seve z veliko sposobnostjo epidemičnega širjenja.

Viri

1. Tacconelli E, Cataldo MA, Dancer SJ, et al. 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.* 2014; 20 Suppl 1: 1-55.
2. Wilson APR, Livermore DM, Otter JA, et al. Prevention and control of multi-drug-resistant Gram-negative bacteria: recommendations from a Joint Working Party. *J Hosp Infect.* 2016; 92 Suppl 1: S1-44.

INVAZIVNE OKUŽBE Z BAKTERIJAMI *ESCHERICHIA COLI* IN *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* Z ESBL PO PODATKIH MREŽE EARS-NET SLOVENIJA

Jana Kolman¹, Manica Müller-Premru², Aleš Korošec¹ in mreža EARS-Net Slovenija³

¹ Nacionalni inštitut za javno zdravje, Center za nalezljive bolezni, Zaloška 29, 1000 Ljubljana

² Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Zaloška 4, 1000 Ljubljana

³ Mreža EARS-Net Slovenija (po abecedi priimka): Jerneja Fišer, Irena Grmek-Košnik, Tatjana Harlander, Martina Kavčič, Jana Kolman, Aleš Korošec, Slavica Lorenčič-Robnik, Manica Müller-Premru, Metka Paragi, Irena Piltaver-Vajdec, Mateja Pirš, Helena Ribič, Ljudmila Sarjanović, Iztok Štrumbelj, Viktorija Tomič, Barbara Zdolšek, Tjaša Žohar-Čretnik

Bakterijski vrsti *Escherichia coli* in *Klebsiella pneumoniae* sta pogosti povzročiteljici invazivnih okužb, ki jih spremlja mreža EARS-Net Slovenija (mreža). *E. coli* povzroča predvsem okužbe domačega okolja (okužbe sečil, krvi), *K. pneumoniae* pa različne okužbe, predvsem v bolnišničnem okolju. Za učinkovito in uspešno zdravljenje je poleg identifikacije povzročitelja pomembno določanje občutljivosti za antibiotike. Prepoznavanje in določanje prisotnosti epidemiološko pomembnih mehanizmov odpornosti, kot so betalaktamaze razširjenega spektra delovanja (ESBL) in v zadnjih letih različne karpapenemaze, je pomembno za preprečevanje in obvladovanje širjenja takih bakterij in prenosa odpornosti na druge. Ob tem so temeljnega pomena zgodnje obveščanje in učinkovito ukrepanje ter stalno epidemiološko spremljanje (1, 2, 3, 4).

Izbrani rezultati epidemiološkega spremljanja ESBL v mreži EARS-Net Slovenija

V slovenski mreži EARS-Net se po evropski metodologiji poleg drugih redno zbirajo podatki za okužbe z *E. coli* od leta 2001 in za okužbe s *K. pneumoniae* od druge polovice leta 2005. V analize so bili zajeti celoletni podatki za invazivne okužbe z *E. coli* in *K. pneumoniae* za obdobje od leta 2006 in podrobneje za obdobje od leta 2011 do 2014.

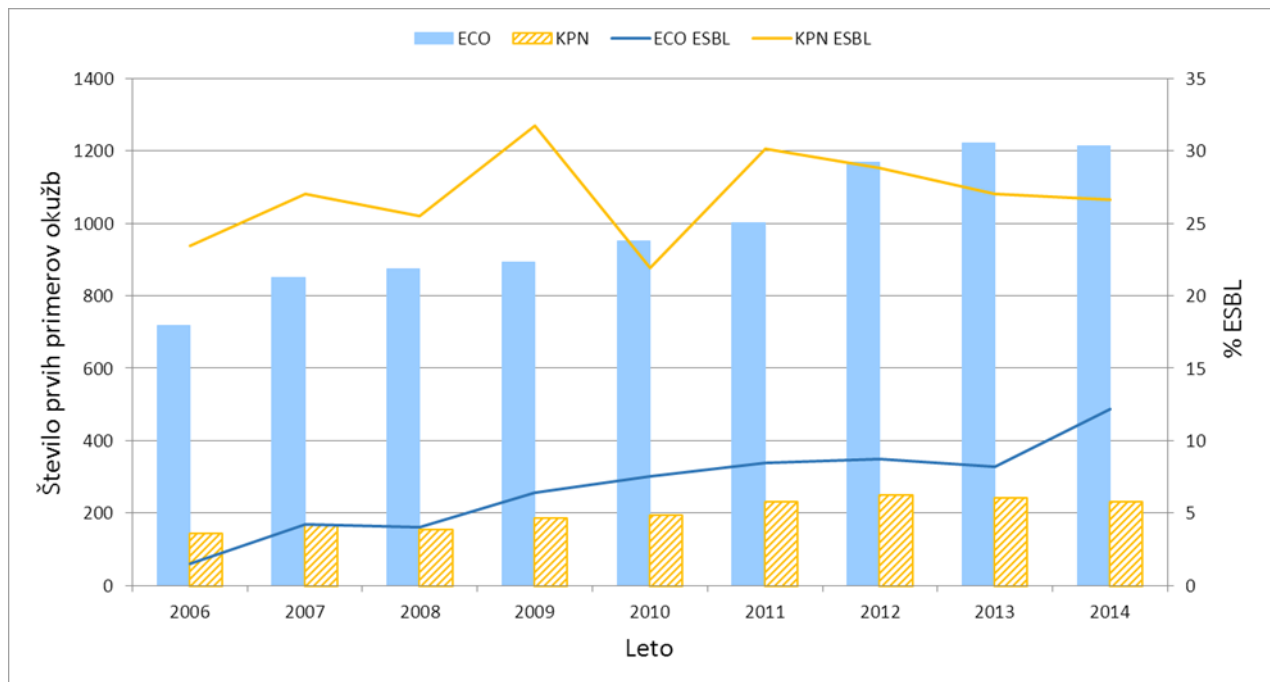
Invazivne okužbe z bakterijskimi vrstami, spremljanimi v mreži, so bile vsa leta pogostejše pri moških, le okužbe z *E. coli* so bile pogostejše pri ženskah – 57,2 odstotka leta 2013 in 58,9 odstotka leta 2014. Tega leta je bilo več kot 70 odstotkov bolnikov z *E. coli* zdravljenih na internističnih in infekcijskih oddelkih, 56 odstotkov s *K. pneumoniae* pa na internističnih oddelkih in v enotah intenzivnega zdravljenja. Deleži so bili po letih podobni.

Ob nespremenjenem zajemu bolnišnic, a zaznanem porastu števila sprejetih bolnikov in odvzetih hemokultur se je število vseh prvih primerov invazivnih okužb v mreži od leta 2006 do 2014 povečalo za 62,3 odstotka. Največji delež so vsa leta predstavljale okužbe z *E. coli*, ki jih je bilo leta 2014 46,5 odstotka v nasprotju z 8,9 odstotka povzročenih s *K. pneumoniae*. Po podatkih mreže se je pojavnost invazivnih okužb z *E. coli* z 20 primerov na 100.000 prebivalcev Slovenije v letu 2001 zvečala na 36/100.000 v letu 2006 in na 59/100.000 v letih 2013 in 2014.

Pojavnost invazivnih okužb s *K. pneumoniae* je bila 7/100.000 prebivalcev v letu 2006 in 11/100.000 v letu 2014.

Število invazivnih okužb z *E. coli* se je s 717 prvih primerov leta 2006 povečalo na 1215 v letu 2014 in odstotek ESBL pozitivnih z 1,5 na 12,2 odstotka. V istem obdobju se je število prvih invazivnih okužb z bakterijo *K. pneumoniae* povečalo s 145 na 233 prvih primerov. Odstotki ESBL pozitivnih so se gibali med najnižjim 21,9-odstotnim deležem let 2010 in najvišjim 31,7-odstotnim leta 2009 (slika 1).

Slika 1. Trendi prvih primerov invazivnih okužb z bakterijami *Escherichia coli* (ECO) in *Klebsiella pneumoniae* (KPN) ter odstotkov ESBL pozitivnih, EARS-Net Slovenija, 2006 do 2014.



ECO – *Escherichia coli*, KPN – *Klebsiella pneumoniae*, ESBL – betalaktamaze razširjenega spektra delovanja

Okužbe z *E. coli* in ESBL so bile v letih 2011 do 2014 najpogostejše v starostni skupini od 70 do 89 let, okužbe s *K. pneumoniae* in predvsem z ESBL pa v določenih letih v starostni skupini med 60 in 69 let. ESBL pozitivni izolati *E. coli* so bili zaznani v vseh laboratorijih, z deleži, ki so se gibali med 0 in 13,5 odstotka leta 2011 ter med 5,6 in 20,0 odstotkov leta 2014. Njihov porast je bil opazen v vseh laboratorijih. ESBL pozitivni izolati *K. pneumoniae* so se v večjem številu pojavljali v laboratorijih, ki pokrivajo večje bolnišnice. Deleži so se gibali med 20 in 46,2 odstotka leta 2011, med 17,1 in 52,9 odstotka leta 2012 in med 4,5 in 39,2 odstotka leta 2014, ko so bili zaznani v 11 od 16 bolnišnic v mreži. V vseh laboratorijih so bili deleži ESBL pozitivnih primerov okužb s *K. pneumoniae* leta 2014 nakazano nižji kot leta 2011, a z opazno variabilnostjo po letih.

Podatki zadnjih let nakazujejo morebitni trend upadanja ESBL pri invazivnih okužbah s *K. pneumoniae*, kar bi bilo lahko povezano z manjšo porabo antibiotikov in izvajanjem ustreznih ukrepov predvsem v bolnišnicah (5).

Invazivnih okužb z *E. coli* je bilo leta 2014 skoraj petkrat več od okužb s *K. pneumoniae* na 100.000 prebivalcev Slovenije. Ob skoraj trikratnem porastu invazivnih okužb z *E. coli* od leta 2001 do 2014 na 100.000 prebivalcev Slovenije in ob več kot 45-odstotnem deležu teh med vsemi okužbami v mreži lahko trdimo, da je breme teh okužb za javno zdravje največje. Takšen porast lahko pripisujemo pogostejšemu odvzemu hemokultur za mikrobiološko diagnostiko, večjemu številu starejše populacije in verjetnemu prenosu odpornih bakterij z živali na človeka prek prehranske verige. V okviru izvedbenega sklepa Komisije št. 652/2013 o spremljanju in poročanju odpornosti zoonotskih in komezalnih bakterij proti protimikrobnim snovem pri živalih je bila v Sloveniji ugotovljena prisotnost *E. coli* z ESBL kar pri 28 od 104 preiskanih vzorcev cekuma brojlerjev, v odobrenih klavnica za zakol perutnine in dodatno še pri eni indikatorski *E. coli* od 85 testiranih na občutljivost za antibiotike. Zaznan je bil tudi velik delež tistih z AmpC-mehanizmom odpornosti proti cefalosporinom (6, 7). Po skupnem poročilu ECDC in EFSA so podobni in skrb zbujujoči rezultati tudi v nekaterih drugih evropskih državah (7). Po dostopnih podatkih je težko oceniti, kolikšen del bremena okužb z *E. coli* in ESBL pri ljudeh bi lahko povezali s prisotnostjo teh v živalih (brojlerjih, redkeje drugih) in mesu za prehrano ljudi. Večanje deležev ESBL pozitivnih izolatov *E. coli*, ki so po posameznih laboratorijih v Sloveniji sicer različni, vse bolj oži tudi izbor antibiotikov za zdravljenje in pomeni tveganje za prenos teh okužb na druge ljudi tako v Sloveniji kot drugod v Evropski uniji (1, 4).

Vsekakor bi bilo treba temu javnozdravstvenemu problemu nameniti več pozornosti in najti učinkovitejše rešitve tako v Sloveniji kot v Evropi oziroma globalno združiti odločevalce in deležnike.

Zahvala Urošu Glavanu za pomoč pri analizah, oblikovanju slike in preverjanju literature.

Viri

1. Kolman J, Müller-Premru M, Korošec A, et al. Podatki mreže EARS-Net Slovenija. Epidemiološko spremljanje nalezljivih bolezni v Sloveniji v letu 2014. Ljubljana: Nacionalni inštitut za javno zdravje [internet]. 2015 [citirano 2016 May 23]; 97–106. Dosegljivo na: http://www.nijz.si/sites/www.nijz.si/files/uploaded/epidemiolosko_spremljanje_nalezljivih_bolezni_2014_2.pdf
2. NIJZ. EARS-Net Slovenija [internet]. 2016 [citirano 2016 May 23]. Dosegljivo na: <http://www.nijz.si/sl/ears-net-slovenija>
3. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance [internet]. 2016 [citirano 2016 May 23]. Dosegljivo na: http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/antimicrobial_resistance/pages/index.aspx
4. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2014. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net) [internet]. Stockholm: ECDC; 2015 [citirano 2016 May 23]. Dosegljivo na: <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/antimicrobial-resistance-europe-2014.pdf>
5. Nacionalna komisija za smotno rabo protimikrobnih zdravil v Sloveniji. Poročilo bolnišnične porabe po letih za Slovenijo [internet]. 2015 [citirano 2016 May 23]. Dosegljivo na: <http://www.si-map.org/Bolnisnicna%20poraba.htm>
6. Uprava Republike Slovenije za varno hrano, veterinarstvo in varstvo rastlin. Poročilo o izvajanju večletnega nacionalnega načrta uradnega nadzora, leto 2014 [internet]. Ljubljana: UVHVVR; 2015 [citirano 2016 May 23]. Dosegljivo na: http://www.uvhvvr.gov.si/fileadmin/uvhvvr.gov.si/pageuploads/DELOVNA_PODROCJA/Nadzor/2015/MANCP_2014_01.pdf

7. EFSA (European Food Safety Authority) and ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control), 2016. The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2014. EFSA Journal [internet]. 2016 [citirano 2016 May 26]; 14 (2): 4380.
Dosegljivo na: http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/scientific_output/files/main_documents/4380.pdf

KOLONIZACIJA Z *ESCHERICHIA COLI* IN *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*, KI IZLOČAJO ESBL, IN INVAZIVNE OKUŽBE

Kristina Nadrah¹, Mateja Pirš², Sara Terzić¹, Manica Mueller-Premru², Bojana Beović¹

¹ Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja, UKC Ljubljana, Japljeva 2, 1000 Ljubljana

² Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Zaloška 4, 1000 Ljubljana

Pogostost kolonizacije in okužb z enterobakterijami, ki izločajo betalaktamaze razširjenega spektra (ESBL-E), v svetu narašča. Med dejavniki tveganja za okužbo z ESBL-E je tudi kolonizacija z ESBL v predhodnem obdobju (1). Podatki o tem, koliko bolnikov, ki so kolonizirani z bakterijo *Escherichia coli*, ki izloča ESBL (EC-ESBL), ali *Klebsiella pneumoniae*, ki izloča ESBL (KPN-ESBL), zbolijo za invazivno okužbo s to bakterijo, so zelo heterogeni. Večina raziskav je retrospektivnih, incidenca okužb pa se zelo razlikuje – med 3 pa do skoraj 45 odstotkov (2). Bolniki z okužbo ESBL so manjkrat prejeli ustrezno empirično terapijo (1,3,4). V raziskavi smo želeli ugotoviti incidenco KPN- ali EC-ESBL-bakteriemije pri bolnikih, ki so kolonizirani z EC-ESBL ali KPN-ESBL, in primerjati značilnosti z ESBL koloniziranih bolnikov s posledično bakteriemijo ali brez nje.

Retrospektivno smo analizirali podatke o bolnikih, ki so bili hospitalizirani med letoma 2010 in 2014 na Kliniki za infekcijske bolezni in febrilna stanja Univerzitetnega kliničnega centra Ljubljana. V analizo smo vključili bolnike, stare 18 let in več, ki so bili kolonizirani z EC-ESBL ali KPN-ESBL v tem obdobju. Nosilstvo smo ugotavljali s kultivacijo vzorcev brisa rektuma ali blata. V skupino z bakteriemijo smo vključili bolnike, kolonizirane največ eno leto pred pozitivno hemokulturo (366 dni pred do 2 dni po sprejemu). V kontrolno skupino smo vključili bolnike, ki so bili kolonizirani, vendar niso imeli pozitivnih hemokultur. Bakteriemijo smo definirali kot izolacija iste bakterijske vrste iz hemokulture in iz nadzornega brisa rektuma. Zbrali smo podatke o pridruženih boleznih in dolžini hospitalizacije. Resnost pridruženih boleznih smo ocenili z McCabovo klasifikacijo, kjer smo bolnike razvrstili v tri skupine: 1 – bolezni, ki niso življenje ogrožajoče, 2 – bolezni, ki lahko privedejo do smrti v petih letih, 3 – bolezni, ki bodo zelo hitro povzročile smrt. Lastnosti bolnikov, koloniziranih z ESBL s spremljajočo bakteriemijo ali brez nje smo primerjali z uporabo hi kvadrat testa ali t-testa glede na tip spremenljivke. Alfa vrednost je bila določena pri 0,05. Pred začetkom študije smo pridobili soglasje etične komisije.

V raziskavo smo vključili 305 bolnikov, koloniziranih z EC-ESBL, in 224 s KPN-ESBL. Podatki so bili na voljo za 96 odstotkov bolnikov. Delež bolnikov, ki so razvili bakteriemijo, se ni pomembno razlikoval med skupinama (5,2 % pri EC-ESBL in 4,3 % pri KPN-ESBL). Bolniki z EC-ESBL-bakteriemijo so imeli višji McCabov indeks (indeks > 1 19 % proti 3 %, p < 0,001), pogosteje ledvično bolezen (29 % proti 12 %, p = 0,02), sladkorno bolezen (52 % proti 28 %, p = 0,01) in nevrološke bolezni (43 % proti 23 %, p = 0,04) kot tisti, ki so bili le kolonizirani z EC-ESBL. Bolniki s KPN-ESBL-bakteriemijo so prav tako imeli višji McCabov indeks (indeks >1 23 %

proti 8 %, $p = 0,02$), niso pa se razlikovali v pridruženih boleznih. Bolniki s KPN-ESBL-bakteriemijo so bili dlje časa hospitalizirani kot tisti z EC-ESBL-bakteriemijo (28 dni proti 12 dni, $p = 0,003$). Čas od prvega ESBL pozitivnega nadzornega brisa rektuma je bil daljši pri KPN-ESBL koloniziranih bolnikih v primerjavi z EC-ESBL koloniziranimi bolniki, vendar razlika ni bila statistično značilna (EC: mediana 0 dni (dan sprejema), razpon 2 dni po sprejemu do 182 dni pred sprejemom; KPN: mediana 10 dni, razpon od dneva po sprejemu do 221 dni pred sprejemom $p = 0,67$).

Kolonizirani bolniki, ki so razvili bakteriemijo, so imeli višji McCabov indeks, kar lahko razloži prodor kolonizirajočih bakterij v kri. Kljub različni epidemiologiji pa so deleži bakteremij z EC-ESBL in KPN-ESBL-bakteriemijami pri koloniziranih bolnikih podobni. Kolonizacija z ESBL-E je torej pomemben podatek pri izbiri empirične terapije za zdravljenje okužbe pri koloniziranem bolniku z veliko pridruženimi boleznimi.

Viri

1. Van Aken S, Lund N, Ahl J, et al. Risk factors, outcome and impact of empirical antimicrobial treatment in extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* bacteraemia. *Scand J Infect Dis.* 2014; 46 (11): 753–62.
2. Biehl LM, Schmidt-Hieber M, Liss B, et al. Colonization and infection with extended spectrum beta-lactamase producing Enterobacteriaceae in high-risk patients – Review of the literature from a clinical perspective. *Crit Rev Microbiol.* 2016; 42 (1): 1–16.
3. Rottier WC, Bamberg YRP, Dorigo-Zetsma JW, et al. Predictive value of prior colonization and antibiotic use for third-generation cephalosporin-resistant enterobacteriaceae bacteremia in patients with sepsis. *Clin Infect Dis.* 2015; 60 (11): 1622–30.
4. Girometti N, Lewis RE, Giannella M, et al. *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection: epidemiology and impact of inappropriate empirical therapy. *Medicine.* 2014; 93 (17): 298–309.

OSNOVE RAZVRSTITVE IN OZNAČEVANJA PROTI KARBAPENEMOM ODPORNIH PO GRAMU NEGATIVNIH BAKTERIJ

Iztok Štrumbelj¹, Mateja Pirš², Tatjana Lejko – Zupanc³

¹ Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Center za medicinsko mikrobiologijo, Prvomajska ulica 1, 2000 Maribor

² Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Zaloška 4, 1000 Ljubljana

³ Univerzitetni klinični center Ljubljana, Klinika za infektivne bolezni in vročinska stanja, Japljeva 2, 1000 Ljubljana

Prispevek opisuje osnove razvrstitve in označevanja izolatov najpomembnejših bakterij, odpornih proti karbapenemom, to so *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* in *Acinetobacter baumannii* (1-5). Težava je v tem, da ni splošno priznane opredelitve, kaj pomeni bakterija, odporna proti karbapenemom (1-5).

Slovenska klasifikacija bakterij, odpornih proti karbapenemom, je nastajala šest mesecev, s sodelovanjem kliničnih mikrobiologov in strokovnjakov za obvladovanje z zdravstvom povezanih okužb. Objavljena je bila decembra 2015 (4).

Namen klasifikacije je opredelitev tistih izolatov, ki so zaradi odpornosti proti karbapenemom ali prisotnosti karbapenemaz posebej pomembni in je potrebna dosledna izolacija nosilcev teh bakterij; o tem mikrobiološki laboratorij čim prej obvesti naročnika preiskave (4). Zato ima klasifikacija dve prijemališči: 1. ugotovitev odpornost proti karbapenemom (rezultat antibiograma – odvisen je od uporabljenih smernic) in 2. ugotovitev prisotnosti karbapenemaz (rezultat fenotipskih in/ali molekularnih testov za ugotavljanje karbapenemaz). V praksi v toku mikrobiološke preiskave lahko najprej ugotovimo odpornost proti karbapenemom ali prisotnosti karbapenemaz in v vsakem primeru obvestimo naročnika. Dve prijemališči pomenita tudi dodatno varnost, tako fenotipski kot molekularni testi za ugotavljanje karbapenemaz niso popolni (5). Značilnosti različnih izolatov so podrobno opredeljene v referenci 4 (4). Kratice v značilnosti izolata pomenijo: CR – *carbapenem resistant*, CP – *carbapenemase producing*, preostale črke v oznakah označujejo bakterijo. Črka E denimo označuje eno od enterobakterij, Ab vrsto *A. baumannii* (4).

V klasifikaciji je pri enterobakterijah in vrsti *A. baumannii* kriterij klasifikacije le odpornost proti karbapenemom, a pri teh izolatih praviloma ne gre le za odpornosti proti karbapenemom, ampak hkratno odpornost proti številnim antibiotikom (1, 2, 4).

Izjema je opredelitev izolata *P. aeruginosa* brez dokazanih karbapenemaz. Ta je opredeljen s hkratno odpornostjo proti karbapenemom in drugim betalaktamskim antibiotikom (4). Če karbapenemaze niso dokazane, je pri *P. aeruginosa* drugačen nasvet kot pri drugih izolatih: »Pozvedite se z infektologom ali kliničnim mikrobiologom.« (4)

Vsi preostali izolati, vključno *P. aeruginosa* z dokazano karbapenemazo, imajo v izvidu ob imenu izolata enak nasvet: »Potrebna je dosledna izolacija bolnika.« Glede neposrednega ukrepanja med njimi torej ni razlik (4).

Ker so geni za karbapenemaze pogosto na mobilnih genetskih elementih, se lahko prenesejo v druge bakterije in se kombinirajo z drugimi oblikami odpornosti v izredno odporen izolat (1,2). Ta možnost horizontalnega širjenja odpornosti na druge bakterije je razlog, zakaj so izolati s karbapenemazami epidemiološko še posebno pomembni (1,2). Ne le prisotnost karbapenemaz, pomembna je tudi opredelitev razreda karbapenemaz: karbapenemaze razreda B denimo niso občutljive za novi inhibitor avibaktam (6).

Nekateri izolati bakterij, odpornih proti karbapenemom, so občutljivi le še za kolistin; za bolnike z okužbami s takimi sevi je ta stari in precej toksični antibiotik (navadno v kombinaciji z drugim zdravilom) rešilno zdravilo. Toda v zadnjih mesecih so na različnih celinah dokazali gen za odpornost proti kolistinu na plazmidih (gen *MCR-1*) – zaradi možnosti horizontalnega širjenja je zbudil veliko pozornost (7). Verjetno bi kazalo izolate, odporne proti karbapenemom, s hkratno odpornostjo proti kolistinu, dodatno označiti, z dodatno kratico za odpornost proti kolistinu. V izolatu, ki je odporen proti kolistinu, a občutljiv za veliko večino antibiotikov, ta odpornost verjetno nima posebnega pomena (7).

Smiselno bi bilo imeti stalno delovno skupino, ki bi spremljala in predlagala spremembe trenutne klasifikacije, čemur bi mu sledila nova izdaja trenutnega dokumenta. Dogajanje pri bakterijah se hitro spreminja, čemur se moramo prilagajati.

Viri

1. Nordmann P, Dortet L, Poirel L. Carbapenem resistance in *Enterobacteriaceae*: Here is the storm! Trends Mol Med. 2012; 18: 263–72.
2. Gniadek TJ, Carroll KC, Simner PJ. Carbapenem-Resistant Glucose Non-Fermenting Gram-Negative Bacilli: The Missing Piece to the Puzzle. J Clin Microbiol. 2016 Feb 24. pii: JCM.03264-15. [Epub ahead of print]
3. Štrumbelj I, Pirš M. Dokument SKUOPZ 001. Smernice za mikrobiologe - ugotavljanje odpornosti proti karbapenemom in ugotavljanje karbapenemaz pri enterobakterijah [internet]. Slovenska komisija za ugotavljanje občutljivosti za protimikrobna zdravila (SKUOPZ); Prva izdaja, november 2013. [citirano 2016 Jun 8]
Dosegljivo na: <http://www.imi.si/strokovna-zdruzenja/skuopz>
4. Štrumbelj I, Pirš M, Lejko-Zupanc T. Enterobakterije, *Acinetobacter baumannii* in *Pseudomonas aeruginosa* - označevanje večkratno odpornih izolatov in okrajšave preiskav nadzornih kužnin [internet]. Slovenska komisija za ugotavljanje občutljivosti za protimikrobna zdravila (SKUOPZ). Prva izdaja, december 2015. [citirano 2016 Jun 8]
Dosegljivo na: <http://www.imi.si/strokovna-zdruzenja/skuopz>
5. Lutgring JD, Limbago BM. The Problem of Carbapenemase-Producing-Carbapenem-Resistant-Enterobacteriaceae Detection. J Clin Microbiol. 2016; 54 (3): 529–34.
6. Humphries RM, Yang S, Hemarajata P, et al. First report of ceftazidime-avibactam resistance in a KPC-3-expressing *Klebsiella pneumoniae* isolate. Antimicrob Agents Chemother. 2015; 59 (10): 6605–7.
7. Nordmann P, Poirel L. Plasmid-mediated colistin resistance: an additional antibiotic resistance menace. Clin Microbiol Infect. 2016; 22 (5): 398–400.

NOVE SMERNICE NAKOBO ZA ISKANJE NOSILCEV IN UKREPE PRI BOLNIKI, KOLONIZIRANIH ALI OKUŽENIH S PO GRAMU NEGATIVNIMI BACILI, KI IZLOČAJO KARBAPENEMAZE

Lejko-Zupanc Tatjana^{1,2}, Logar Mateja^{1,2}, Mrvič Tatjana^{1,2}, Žnidaršič Benica¹

¹ Služba za preprečevanje in obvladovanje bolnišničnih okužb, UKC Ljubljana, Japljeva 2, 1000 Ljubljana spobo@kclj.si

² Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja UKC Ljubljana, Japljeva 2, 1000 Ljubljana

Širjenje odpornosti proti karbapenemom je resen javnozdravstveni in klinični problem, predvsem zaradi pogoste pridružene odpornosti proti fluorokinolonom in aminoglikozidom, kar močno omejuje možnost antibiotičnega zdravljenja. Epidemiološko najpomembnejša oblika odpornosti proti karbapenemom je prisotnost karbapenemaz (CP). UKC Ljubljana je po vzoru mednarodnih priporočil pripravil navodila za preprečevanje prenosa bakterij, ki izločajo karbapenemaze, v bolnišnici. Ta priporočila je prevzela tudi Nacionalna komisija za obvladovanje in preprečevanje bolnišničnih okužb (NAKOBO) in jih objavila na spletni strani ministrstva za zdravje. V članku predstavljamo izveček priporočil.

Pomemben dejavnik tveganja za pojav bakterij, ki izločajo karbapenemaze, je zlasti hospitalizacija v zdravstvenih ustanovah, kjer že imajo karbapenemaze, to so zlasti bolnišnice v tujini (Hrvaška, Srbija, Bosna in Hercegovina, Črna gora, Kosovo, Grčija Italija, severna Afrika, Indija, ZDA itd.) ter stik z bolnikom, ki je že koloniziran z bakterijo, ki izloča karbapenemazo. Pri teh je potreben odvzem nadzornih kužnin. Najpogostejša je kolonizacija črevesja, ki lahko traja dolgo, tudi več mesecev, zato je najprimernejša nadzorna kužnina bris rektuma ali vzorec blata. Na spremnem listu za nadzorne bakteriološke preiskave označimo, da želimo preiskavo na odpornost proti karbapenemom (CR). Pogostnost jemanja nadzornih kužnin je prikazana v tabeli 1.

Tabela 1. Pogostnost odvzemov pri bolnikih kontaktih (bolniki, ki so bili v stiku z nosilcem karbapenemaza pozitivne bakterije)

lokacija nosilca karbapenemaze	lokacija bolnika kontakta	odvzemi	ponovitve
enota intenzivne nege in terapije	enota intenzivne nege in terapije	0., 3., 7. dan stika	1-krat tedensko
	premestitev na negovalno enoto	ob premestitvi oziroma 3. dan od zadnjega odvzema	čez 1 teden
negovalna enota	negovalna enota (ista enota, kot je hospitaliziran nosilec karbapenemaze)	3. dan stika	1-krat tedensko

	negovalna enota (druga negovalna enota, kot je hospitaliziran nosilec karbapenemaze)	ob premestitvi oziroma 3. dan od zadnjega odvzema	čez 1 teden
--	---	---	-------------

Način prenosa je podoben kot pri drugih večkratno odpornih mikroorganizmih, in sicer neposreden ali posreden stik (roke, pripomočki, okolje). Med učinkovite ukrepe za preprečevanje širjenja karbapenemaz sodijo predvsem strogi ukrepi kontaktne izolacije. Ravnamo se po priporočilih za izvajanje kontaktne izolacije, ki jih ima vsaka bolnišnica.

Bolnike z zelo velikim tveganjem za kolonizacijo preemptivno izoliramo. Preemptivna izolacija traja od začetka hospitalizacije do prejema dveh negativnih mikrobioloških izvidov. Izvajamo jo pri naslednjih bolnikih:

- v preteklosti koloniziranih ali okuženih z bakterijo, ki izloča karbapenemazo;
- premeščenih iz tujine ali v tujini obravnavani v zdravstvenem sistemu v zadnjih šestih mesecih;
- kontaktih (ista soba na oddelku, v domu starejših občanov) z nosilcem karbapenemaze.

Posebni poudarki:

- enoposteljna soba ali kohorta;
- pri intenzivnih stikih z bolnikom prek plašča še namestitev zaščitnega predpasnika;
- za koloniziranega bolnika naj skrbi ločeno osebje;
- kolonizirane bolnike premeščamo le, kadar so zato jasne medicinske indikacije;
- poostreno čiščenje/razkuževanje bolnikove okolice ter sanitarij;
- bolnikovo posteljo po odpustu je treba očistiti/razkužiti v posteljni postaji;
- ob premestitvi na drugi oddelek moramo oddelek predhodno obvestiti o kolonizaciji/okužbi;
- negativni mikrobiološki izvid ni pogoj za premestitev na negovalne oddelke, DSO in v rehabilitacijske ustanove.

Omejitev uporabe antibiotikov, ki so najpomembnejši pri selekciji bakterij s karbapenemazami, je eden najpomembnejših ukrepov za zaježitev nastanka karbapenemaza pozitivnih sevov. O omejitvi predpisovanja antibiotikov odloča komisija za antibiotike zdravstvene ustanove. Pri zdravljenju okužb je treba upoštevati izbor antibiotikov, ki ga predlagajo infektologi ali drugi za predpisovanje antibiotikov usposobljeni specialisti. V primerih kolonizacije brez okužbe antibiotikov ne uporabljamo. Dekolonizacije ne izvajamo in za to ni standardnega protokola.

Ob odpustu podatek o kolonizaciji obvezno zabeležimo v dokumentacijo in med odpustne diagnoze.

Viri

1. Lejko Zupanc T. Ukrepi za preprečevanje prenosa bakterij, ki izločajo karbapenemaze [internet]. Priporočila UKC Ljubljana, sprejeta in priporočena s strani NAKOBO. 2015 [citirano 2016 Jun 7]. Dosegljivo na: http://www.mz.gov.si/fileadmin/mz.gov.si/pageuploads/kakovost/07032016/NAKOBO_karbapenemaze_3_.doc
2. Systematic review of the effectiveness of infection control measures to prevent the transmission of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae through cross-border transfer of patients [internet]. ECDC. 2014 [citirano 2016 Jun 8]. Dosegljivo na: <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/CPE-systematic-review-effectiveness-infection-control-measures-to-prevent-transmission-2014.pdf>
3. Facility guidance for control of carbapenem resistant enterobacteriaceae (CRE). November 2015 Update [internet]. CDC. 2014 [citirano 2016 Jun 8]. Dosegljivo na: <http://www.cdc.gov/hai/pdfs/cre/CRE-guidance-508.pdf>

POTEK PRVEGA IZBRUHA ENTEROBAKTERIJ, KI IZLOČAJO KARBAPENEMAZE, V SLOVENSKI BOLNIŠNICI

Mateja Pirš¹, Tjaša Cerar Kišek¹, Veronika Križan Hergouth¹, Katja Seme¹, Manica Mueller Premru¹, Mateja Logar², Tatjana Mrvič², Benica Žnidaršič², Tatjana Lejko Zupanc²

¹ Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Zaloška 4, 1000 Ljubljana

² Služba za preprečevanje in obvladovanje bolnišničnih okužb, UKC Ljubljana, Japljeva 2, 1000 Ljubljana

V Sloveniji smo v letih 2010 do 2014 beležili sporadično pojavljanje enterobakterij, ki izločajo karbapenemaze (angl.: carbapenemase-producing enterobacteria – CPE) v kliničnih in predvsem nadzornih kužninah. Najpogosteje smo odkrili karbapenemaze pri bakteriji *Klebsiella pneumoniae* (najpogostejši karbapenemazi sta bili OXA-48 in NDM), sledila sta *Enterobacter cloacae* (najpogosteje VIM) in *Escherichia coli* (najpogosteje OXA-48 in VIM). Pomemben dejavnik tveganja za pridobitev CPE je bila predhodna hospitalizacija v tujini, predvsem v državah nekdanje Jugoslavije, pa tudi v Italiji, Grčiji, Indiji in Iranu. Namen prispevka je prikazati potek prvega izbruha CPE v slovenski bolnišnici.

Konec oktobra 2014 smo v Univerzitetnem kliničnem centru Ljubljana (UKCL) odkrili prvi izbruh CPE. Na dveh različnih oddelkih UKCL smo odkrili dva bolnika, pri katerih smo našli *K. pneumoniae* CPE s karbapenemazo OXA-48. Oba sta bila brez jasnih dejavnikov tveganja, ob pregledu kontaktov pa smo ugotovili, da je najverjetneje vir bolnik, ki je bil premeščen iz bolnišnice v Srbiji, kjer je bil kratkotrajno hospitaliziran v enoti intenzivne terapije (EIT) in je bil ob prvem presejalnem testiranju negativen za nosilstvo CPE. Pri tem bolniku smo najprej dokazali *K. pneumoniae* CPE s karbapenemazo OXA-48, *E. coli* CPE s karbapenemazo OXA-48 in *E. coli* CPE s karbapenemazo NDM ter *Proteus mirabilis* CPE s karbapenemazo NDM, pozneje pa smo pri njem odkrili še bakterijo *Providencia stuarti* CPE s karbapenemazo NDM. Do konca leta 2014 smo odkrili skupno 14 bolnikov s *K. pneumoniae* CPE s karbapenemazo OXA-48 in *E. coli* CPE s karbapenemazo OXA-48. Bolniki so bili hospitalizirani na več kot pet različnih oddelkih UKCL, od tega v dveh različnih EIT. Januarja 2015 smo prvič opazili pojav izolatov *K. pneumoniae* CPE s hkratno prisotnostjo OXA-48 in NDM. Aprila 2015 je nato prišlo do novega zagona izbruha, ko je prišlo do več prenosov v novi, tretji EIT. Opažali smo prenose *K. pneumoniae* CPE z OXA-48 ali NDM in predvsem OXA-48 in NDM ter *E. coli* CPE z NDM ali OXA-48 in NDM. Izbruh se je umiril do julija 2015, do konca leta smo odkrili skupno 25 bolnikov. Zadnji prenos smo zabeležili februarja 2016 v novi, četrti EIT.

Med izbruhom smo do zdaj odkrili 40 bolnikov, ki so bili okuženi/kolonizirani s CPE, med katerimi je bilo pet bolnikov premeščenih v druge bolnišnice (v štirih regijah), vsaj dva bolnika sta bila prehodno hospitalizirana na negovalnih oddelkih, štirje so bili odpuščeni v domove za ostarele, vsaj dva pa sta šla po koncu hospitalizacije v zdravilišče.

Vzorci, iz katerih smo pri teh bolnikih izolirali CPE, so bili pri treh bolnikih kri (pri dveh bolnikih *K. pneumoniae* CPE OXA-48, pri enem (indeksni bolnik) pa *P. mirabilis* CPE NDM), pri 10 (25 %) urin, pri osmih (20 %) vzorci spodnjih dihal, pri petih (12,5 %) vzorci ran oziroma tkiva, pri dveh (5 %) pa vzorci iz abdominalne ali pleuralne votline. Črevesno kolonizacijo smo potrdili pri 36 (90 %) bolnikih, pri 21 (52,5 %) je bilo to edino mesto, od koder smo izolirali CPE. O trajanju črevesne kolonizacije imamo podatke za daljše obdobje samo za pet bolnikov, pri teh je trajala pet ali več mesecev (povprečno 10,5 mesecev), najdlje je bil koloniziran indeksni bolnik (> 18 mesecev). Pri preostalih so bili kontrolni brisi vzeti le ob indikaciji (denimo ponovna hospitalizacija), nekateri bolniki pa so umrli. Pri enem od bolnikov so bile dva meseca po začetku kolonizacije nadzorne kužnine negativne, nato pa po šestih mesecih ponovno pozitivne.

Prvi izbruh CPE v slovenski bolnišnici je zamejen, kljub temu pa rezervoar bolnikov ostaja. Ker nadzornih brisov nismo jemali sistematično v obdobju po odpustu, trajanja kolonizacije ni mogoče oceniti, posebno skrb zbuja pa je prej omenjeni primer bolnika, pri katerem so bile nadzorne kužnine v vmesnem času negativne.

Vnosi CPE v slovenske bolnišnice se bodo nadaljevali, zato je nujno upoštevati priporočila NAKOBO ter lokalna priporočila bolnišnic za izvajanje presejalnega testiranja bolnikov (za ugotavljanje nosilstva) in ukrepe za preprečevanje širjenja v primeru ugotovljene okužbe ali kolonizacije (1).

Viri:

1. NAKOBO [internet]. Nacionalna komisija za obvladovanje bolnišničnih okužb [citirano 2016 Jun 7]. Dosegljivo na: http://www.mz.gov.si/fileadmin/mz.gov.si/pageuploads/kakovost/07032016/NAKOBO_karbapenemaze_3.doc

ENTEROBAKTERIJE S KARBAPENEMAZAMI – KVANTITATIVNA ANALIZA RASTI ZBIRKE IZOLATOV V RAZLIČNIH TEKOČIH IN NA TRDNIH GOJIŠČIH

Iztok Štrumbelj¹, Barbara Zdolšek¹, Andrej Rojnik¹, Tjaša Cerar Kišek², Mateja Pirš²

¹ Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Prvomajska 1, 2000 Maribor

² Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Zaloška 4, 1000 Ljubljana

Enterobakterije s karbapenemazami se širijo na različne načine (1), ugotavljanje nosilcev teh bakterij je pomembno za obvladovanje problema (2-19). Prvi slovenski izolat enterobakterije s karbapenemazo OXA-48 smo osamili le s predhodno inkubacijo vzorca v bujonu (2). Zanimalo nas je, ali je tudi z uporabo novejših gojišč, ki imajo v literaturi dobre rezultate, uporaba bujona potrebna (11-19).

Namen študije je bil kvantitativno ugotavljanje rasti slovenskih izolatov enterobakterij s karbapenemazami v/na različnih gojiščih.

Metode: Izolati. Testirali smo 13 izolatov enterobakterij s karbapenemazami, ki smo jih osamili v Nacionalnem laboratoriju za zdravje, okolje in hrano. Karbapenemaze smo molekularno opredelili na Inštitutu za mikrobiologijo in imunologijo (3-6). Hkrati s kultivacijo na različnih gojiščih smo iz izolatov naredili test CIM, da smo preverili prisotnost karbapenemaz v času testiranja (20).

Uporabljeni gojišča. Triptozno sojin agar (TSA) smo uporabili kot neselektivni agar za izračun produktivnosti preučevanih selektivnih agarjev in kontrolo inokuluma (21). Kot obogatitveno gojišče smo uporabili triptozno sojin bujon z vankomicinom v koncentraciji 50 mg/L (VAB) in enak bujon z dodatkom ertapenema v koncentraciji 0,25 mg/L (ERTVAB). Uporabili smo dva selektivna kromogena agarja (sestava gojišč ni znana): agar mSupercarba (Chromagar, Francija) (SUPER) in agar chromID Carba Smart (BioMerieux, Francija) (SMART). Agar SMART je sestavljen iz dveh različnih polovic; vsako polovico smo cepili kot samostojen agar, kot rezultat smo upoštevali tisto polovico, kjer je bila rast boljša.

Priprava inokuluma, inokulacija gojišč in izračun produktivnosti ter občutljivosti selektivnih agarjev. Začetno suspenzijo vsakega izolata v fiziološki raztopini s teoretičnim inokulumom približno 10^8 CFU/mL (CFU – angl. *colony forming unit*) smo redčili v korakih 1 : 10 in ustrezno količino ustrezne redčine uporabili za inokulum.

Direktna inokulacija gojišč: v/na vsako od petih gojišč smo cepili inokulum od 10^1 do 10^5 CFU. Občutljivost gojišča smo opredelili kot delež zaznanih izolatov med vsemi testiranimi izolati, v odstotkih – občutljivost selektivnih agarjev smo izračunali pri inokulumu 10^1 , 10^3 in 10^5 CFU. Inokulacija selektivnih agarjev po obogatitvi: inokulum 10^1 CFU smo cepili v VAB-bujon, ga inkubirali prek noči in s kalibrirano zanko 10 μ L precepili na agarja SUPER in SMART, ki smo ju inkubirali prek noči.

Produktivnost selektivnega agarja – postopek: na selektivni in neselektivni agar smo iz zadnje redčine cepili teoretični inokulum 100 CFU, inkubirali prek noči in prešteli kolonije (21).

Produktivnost je količnik: število kolonij, ki zrastejo na selektivnem agarju, deljeno s številom kolonij na neselektivnem agarju (21).

Interpretacija rasti

Opredelitev ustreznosti postopka: postopek za izračun produktivnosti je ustrezen, če na neselektivnem agarju zraste od 50 do 150 kolonij in je izračunana produktivnost manjša od 1,4 (21).

Opredelitev ustrezne rasti v bujonu: motnost bujona, ki smo ga inokulirali z 10^1 CFU, po inkubaciji prek noči.

Opredelitev ustrezne produktivnosti agarja: produktivnost najmanj 0,5 (21).

Rezultati: Zbirka 13 izolatov je vsebovala naslednje izolate: štiri izolate *Klebsiella pneumoniae* s karbapenemazo KPC, dva izolata *K. pneumoniae* s karbapenemazo VIM, štiri izolate *Enterobacter cloacae* s karbapenemazo VIM, en izolat *Escherichia coli* s karbapenemazo VIM, en izolat *E. coli* s karbapenemazo OXA-48 in en izolat *Citrobacter freundii* s karbapenemazo VIM. Pri vseh izolatih je bil test CIM pozitiven.

Ustrezno rast v VAB-bujonu smo ugotovili pri 100 odstotkih izolatov, v ERTVAB-bujonu pri 54 odstotkih izolatov.

Občutljivost kultivacije z direktno nacepitvijo inokuluma na selektivna agarja. Agar SUPER: pri inokulumu 10^1 CFU je bila občutljivost 46-odstotna, pri inokulumu 10^3 CFU 69-odstotna in pri inokulumu 10^5 CFU 85-odstotna. Agar Smart: pri inokulumu 10^1 CFU je bila občutljivost 77-odstotna, enako pri inokulumu 10^3 in 10^5 CFU.

Pogoja za veljavnost izračunane produktivnosti sta bila izpolnjena: na TSA je pri vseh izolatih zraslo med 50 in 150 kolonij, največja produktivnost je bila manjša od 1,4. Produktivnost, večja od 0,5, je bila na agarju SUPER dosežena pri 46 odstotkih, na agarju SMART pri 62 odstotkih od 13 izolatov.

Vsi izolati so na obeh selektivnih agarjih (SUPER in SMART) zrasli po obogatitvi začetnega inokuluma 10^1 CFU z inkubacijo v VAB prek noči (100 % občutljivost metode).

Uporabili smo izolate, ki so bili v času raziskave na voljo. Zbirka izolatov vsebuje različne bakterijske vrste in različne karbapenemaze. Po rezultatih sodeč vsebuje približno polovico 'zahtevnih' izolatov, ki na selektivnih gojiščih slabo rastejo (bujon ERTVAB z nizko koncentracijo ertapenema je zavrl rast 46 % izolatov).

Bujoni: pri inokulumu 10^1 CFU je v bujonu ERTVAB raslo le 54 odstotkov izolatov, v neselektivnem VAB so rasli vsi izolati.

Selektivni agarji brez obogatitve: tudi pri največjem inokulumu 10^5 CFU noben selektivni agar po direktni nacepitvi ni omogočil rasti vsem izolatom. Oba agarja imata v literaturi zelo dobre rezultate (11-19); iz rezultatov je razvidno, da rastno zahtevni izolati pri nas niso teoretična možnost, ampak realnost.

Produktivnost je pojem, ki se nanaša na agar: v naši raziskavi smo jo ugotovili za vsak testirani izolat posebej. Ustrezno produktivnost selektivnih agarjev po standardu ISO 11133 (produktivnost vsaj 0,5) smo ugotovili pri približno polovici izolatov. Standard sam navaja, da

kriteriji, navedeni v njem, niso primerni za vsa gojišča (21). Splošno sprejetih kriterijev, kaj je ustrezna rast na agarjih za kultivacijo enterobakterij s karbapenemazami, ni – različni avtorji uporabljajo različne metode in interpretacije rezultatov, zato je rezultate različnih raziskav težko primerjati (7-19).

Selektivni agarji po obogatitvi: vsi izolati so po precepitvi iz VAB zrasli na obeh agarjih, na SUPER in na SMART. Rast na agarjih je tudi 'najzahtevnejšim' izolatom verjetno omogočila večja delitvena aktivnosti bakterij in večji inokulum po inkubaciji v bujonu.

V treh raziskavah so ugotovili korist obogatitve v bujonu v primerjavi s primarno nacepivitvijo brisov rektuma na agar (16-18). V prvi je bila občutljivost dveh različnih selektivnih agarjev za kultivacijo enterobakterij s karbapenemazami brez obogatitve 80-odstotna, po obogatitvi 100-odstotna (16); v drugi so brez obogatitve na boljšem od dveh preskušanih agarjev enterobakterije s karbapenemazami našli pri 67 odstotkih nosilcev, po obogatitvi pa pri 100 odstotkih (17). V tretji raziskavi so primerjali več metod – brez uporabe bujona so na agarjih našli le 53 odstotkov enterobakterij s karbapenemazami (18).

V dveh raziskavah, kjer so uporabili CDC-metodo z bujonom so ugotovili, da ta metoda ni boljša od agarja brez bujona (8, 9). V CDC-metodi z bujonom za izolacijo enterobakterij s karbapenemazami je koncentracija ertapenema ali meropenema v gojišču približno 2 mg/L (10). Sklepamo, da CDC-metoda s približno osemkrat večjo koncentracijo karbapenema kot v ERTVAB-bujonu zavre številne enterobakterije s karbapenemazami, zato ni presenetljivo, da z njo niso dosegli boljše občutljivosti kot z agarji brez obogatitve (8, 9).

Najpomembnejša omejitev naše raziskave: uporabili smo čiste kulture – v kužninah nastopi interakcija z drugimi bakterijami in ni mogoče predvideti, koliko bo tarčna bakterija inhibirana z drugimi bakterijami. Omejitve raziskav s čisto kulturo izolatov dobro pokaže raziskava iz Turčije, kjer so nadzorne kužnine cepili na tri gojišča, le 76 odstotkov izolatov enterobakterij s karbapenemazami so osamili na gojišču, ki je ob inokulumu 100 CFU omogočalo rast čiste kulture vseh izolatov; preostalih 24 odstotkov izolatov so osamili z drugima dvema metodama kultivacije (15).

Število izolatov v naši raziskavi je majhno, rezultatov ni mogoče posploševati, osnovna ugotovitev je: nekateri izolati na selektivnem gojišču zrastejo le, če jih predhodno cepimo v neselektivni obogatitveni bujon (zlasti če je inokulum majhen).

Občutljivost metode kultivacije v praksi bo odvisna od lastnosti enterobakterije s karbapenemazo v kužnini, od količine teh bakterij v vzorcu in interakcije z drugimi bakterijami – nič od naštetega ni predvidljivo.

Za kultivacijo z visoko občutljivostjo in razumnim časom do rezultata potrebujemo primarni in sekundarni selektivni agar, vmes pa obogatitveni bujon brez karbapenemov.

Ob trenutno nizki prevalenci enterobakterij s karbapenemazami bo ogromna večina kultivacij v Sloveniji negativnih, a pomembno je, da z občutljivimi metodami te bakterije zaznamo, dokler so redke in so učinkoviti ukrepi možni.

Viri

1. Arana DM, Saez D, García-Hierro P, et al. Concurrent interspecies and clonal dissemination of OXA-48 carbapenemase. *Clin Microbiol Infect.* 2015; 21(2): 148.e1-e4.
2. Pirš M, Andlovic A, Cerar T, et al. A case of OXA-48 carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in a patient transferred to Slovenia from Libya, November 2011. *Euro Surveill.* 2011;16(50): 20042.
3. Bradford PA, Bratu S, Urban C, et al. Emergence of carbapenem-resistant *Klebsiella* species possessing the class A carbapenem-hydrolyzing KPC-2 and inhibitor-resistant TEM-30 beta-lactamases in New York City. *Clin Infect Dis.* 2004, 39 (1): 55-60.
4. Poirel L, Heritier C, Tolun V, et al. Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48(1): 15-22.
5. Nordmann P, Poirel L, Carrer A, et al. How to detect NDM-1 producers. *J Clin Microbiol*; 49 (2): 718-21.
6. Ellington MJ, Kistler J, Livermore DM, et al. Multiplex PCR for rapid detection of genes encoding acquired metallo-beta-lactamases. *J Antimicrob Chemother.* 2007; 59(2): 321-2.
7. Viau R, Frank KM, Jacobs MR, et al. Intestinal Carriage of Carbapenemase-Producing Organisms: Current Status of Surveillance Methods. *Clin Microbiol Rev.* 2016; 29(1):1-27.
8. Simner PJ, Martin I, Opene B, Tamma PD, et al. Evaluation of Multiple Methods for Detection of Gastrointestinal Colonization of Carbapenem-Resistant Organisms from Rectal Swabs. *J Clin Microbiol.* 2016; 54(6): 1664-7.
9. Wilkinson KM, Winstanley TG, Lanyon C, et al. Comparison of Four Chromogenic Culture Media for Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae*. *J Clin Microbiol* 2012; 50: 3102–3104.
10. CDC (2009). Laboratory protocol for detection of carbapenem-resistant or carbapenemase-producing, *Klebsiella* spp. and *Escherichia coli* from rectal swabs. Atlanta, GA: Centers for Disease Control and Prevention [internet] [citirano 2016 Jun 8] Dosegljivo na: http://www.cdc.gov/HAI/pdfs/labSettings/Klebsiella_or_Ecoli.pdf
11. Nordmann P, Girlich D, Poirel L. Detection of carbapenemase producers in *Enterobacteriaceae* by use of a novel screening medium. *J Clin Microbiol.* 2012;50:2761–6.
12. Girlich D, Poirel L, Nordmann P. Comparison of the SUPERCARBA, CHROMagar KPC, and Brilliance CRE screening media for detection of *Enterobacteriaceae* with reduced susceptibility to carbapenems. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2013; 75: 214–217.
13. Wilkinson KM, Winstanley TG, Lanyon C, Cummings SP, Raza MW, Perry JD. 2012. Comparison of Four Chromogenic Culture Media for Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae*. *J Clin Microbiol* 50: 3102–3104.
14. Girlich, D., Anglade, C., Zambardi, G et al. Comparative evaluation of a novel chromogenic medium (chromID OXA-48) for detection of OXA-48 producing *Enterobacteriaceae*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2013; 77: 296–300.
15. Zarakolu P, Day KM, Sidjabat HE, et al. Evaluation of a new chromogenic medium, chromID OXA-48, for recovery of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* from patients at a university hospital in Turkey. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2015; 34: 519–525.
16. Girlich D, Bouihat N, Poirel L, et al. High rate of faecal carriage of extended-spectrum β -lactamase and OXA-48 carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* at a university hospital in Morocco. *Clin Microbiol Infect.* 2014; 20: 350–4.
17. Heinrichs A, Nonhoff C, Roisin S, et al. Comparison of two chromogenic media and enrichment broth for the detection of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* on screening rectal swabs from hospitalized patients. *J Med Microbiol.* 2016; 65(5): 438-41.
18. Glaser L, Andreacchio K, Lyons M, et al. Improved surveillance for carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* using chromogenic media with a broth enrichment. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2015; 82(4): 284-5.
19. Shibu P, Dronavalli J, Rebec M, et al. Evaluation of different media for introduction of a CPE screening program at a UK hospital. Poster ECCMID 2016, Amsterdam.
20. van der Zwaluw K, de Haan A, et al. The carbapenem inactivation method (CIM), a simple and low-cost alternative for the Carba NP test to assess phenotypic carbapenemase activity in gram-negative rods. *PLoS One.* 2015 Mar 23;10(3):e0123690. doi: 10.1371/journal.pone.0123690. [internet] [citirano 2016 Jun 8] Dosegljivo na: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0123690>
21. ISO. Microbiology of food, animal feed and water — Preparation, production, storage and performance testing of culture media. International standard ISO 11133: 2014.

UGOTAVLJANJE NOSILSTVA PROTI KARBAPENEMOM ODPORNE BAKTERIJE *ACINETOBACTER BAUMANNII*: VZORČENJE, METODE, UPORABNOST KULTIVACIJE Z OBOGATITVIJO

Helena Ribič¹, Mateja Pirš², Tjaša Cerar Kišek², Irena Grmek Košnik¹

¹ Center za medicinsko mikrobiologijo, Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Oddelek za medicinsko mikrobiologijo Kranj, Gosposvetska 12, 4000 Kranj

² Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Zaloška 4, 1000 Ljubljana

Acinetobacter baumannii je oportunist in pomemben povzročitelj okužb, povezanih z zdravstvom, predvsem pljučnice, povezane z umetnim predihavanjem, okužb sečil ob uporabi urinskega katetra, okužb ran, okužb pri osrednjem venskem katetru in sepse. Poleg naravne odpornosti proti številnim antibiotikom je zelo skrb zbujujoča odpornost proti karbapenemom (angl. Carbapenem Resistant *A. baumannii* – CRAB), ki je razmeroma pogosta in še narašča, povezana je tudi z odpornostjo proti drugim antibiotikom. Razlog za odpornost proti karbapenemom so pri CRAB večinoma encimi karbapenemaze, ki se k sreči redko širijo na druge bakterijske vrste (1). Različne študije kažejo, da imajo bolniki s CRAB pogosteje resno osnovno obolenje v primerjavi z bolniki z okužbo s karbapenem občutljivim *A. baumannii* in da je tveganje za neustrezno zdravljenje zaradi neučinkovitosti antibiotikov, ki jih običajno uporabljamo, večje (2). Posledično imajo okužbe s CRAB lahko slabši potek kot okužbe, povzročene s karbapenem občutljivim *A. baumannii* (2). Rezervoar bakterije *A. baumannii* v bolnišničnem okolju je običajno človek; bakterija kolonizira prebavila, druge sluznice in vlažne predele kože, predvsem pazduhe ter rane (3). Če bakterijo ugotovimo v klinični kužnini, je nemalokrat težko ugotoviti, ali gre za povzročitelja okužbe ali pa bakterija *A. baumannii* mesto le kolonizira. Bakterija se lahko nahaja tudi v neživem bolnišničnem okolju ali na instrumentih, je dobro prilagojena in v okolju preživi tudi več mesecev (3). Povzročča lahko resne in težko obvladljive izbruhe (3).

Podatki iz kliničnih kužnin, zbrani v Slovenski komisiji za ugotavljanje občutljivosti za protimikrobna zdravila (SKUOPZ), kažejo, da delež CRAB narašča: od leta 2011 do 2013 se je povečal z 11 na 20 odstotkov (4, 5). Velika večina izolatov CRAB v Sloveniji je ekstremno odpornih, najpogosteje so bili izolati občutljivi za kolistin, redkeje za druge antibiotike.

Zgodnje odkrivanje CRAB je pri okužbah in koloniziranih bolnikih pomembno zaradi pravočasnega ustreznega zdravljenja, osamitve bolnikov in preprečevanja širjenja ter izbruhov. CRAB ugotavljamo s presejalnim testiranjem bolnikov z dejavniki tveganja z nadzornimi kužninami (NK) in s preiskovanjem kliničnih kužnin (6, 7). NK je treba odvzeti iz več mest: iz rektuma in žrela (pri intubiranem bolniku namesto tega odvezamo aspirat traheje), po potrebi s kože, predvsem pazduh (6). Če ima bolnik rano, je treba odvzeti tudi bris rane. Ob sumu na okužbo je treba odvzeti klinične kužnine, denimo bris rane, urin. Kljub vzorčenju več mest je delež odkritih nosilcev nizek (6).

Za ugotavljanje CRAb v mikrobiološkem laboratoriju uporabljamo različne postopke, največkrat kultivacijo z nacepivijo vzorcev na gojišča. Uporabljamo komercialna ali v laboratoriju pripravljena selektivna gojišča za ugotavljanje prisotnosti bakterij s karbapenemazami ali gojišča za ugotavljanje bakterij z encimi ESBL, na katere položimo diske karbapenemov. Z obogatitvijo v tekočem gojišču povečamo občutljivost kulture, a se čas do izvida podaljša za en delovni dan (1, 6). Na voljo so tudi testi pomnoževanja nukleinskih kislin za ugotavljanje najpogostejših genov karbapenemaz pri CRAb (*bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-40} in *bla*_{OXA-58}) neposredno iz nadzornih kužnin. Prednost molekularnih testov je hitrost (običajno je rezultat v nekaj urah) in dobra občutljivost za karbapenemaze, ki jih test zajema, slabost pa visoka cena in omejen nabor ugotavljanih encimov. Sočasno je nujno treba izvesti tudi kultivacijo, s čimer dokončno potrdimo prisotnost CRAb in določimo občutljivost za antibiotike.

Na Oddelku za medicinsko mikrobiologijo Nacionalnega laboratorija za zdravje, okolje in hrano Kranj smo v manjši retrospektivni raziskavi ugotavljali pomen obogatitve v tekočem gojišču (Tryptone Soya Broth, Oxoid, Velika Britanija). Pregledali smo rezultate vseh NK, pri katerih je bila v okviru rednega dela leta 2014 naročena preiskava na CRAb, in vključili vseh 56 vzorcev, pri katerih je bil rezultat pozitiven; odvzeti so bili 32 bolnikom. Pri 42 (75 %) vzorcih smo CRAb ugotovili na primarnih gojiščih, pri 14 (25 %) pa le po obogatitvi. Med 14 vzorci, ki so bili pozitivni le po obogatitvi, je bilo osem brisov rektuma, en vzorec urina iz stalnega urinskega katetra, štiri brisi rane in en bris kože. Če bi ugotavljanje CRAb temeljilo le na kultivaciji trdih gojišč brez obogatitve, bi zgrešili 25 odstotkov pozitivnih vzorcev.

Za obvladovanje CRAb je potreben sistematičen, poenoten pristop na lokalni in nacionalni ravni, ki vključuje ugotavljanje kolonizacije in okužb, vključno z mikrobiološko diagnostiko, ustrezno zdravljenje okužb ter preprečevanje širjenja bakterij. Pojav bakterije CRAb v ustanovi je treba ugotoviti čim prej in zajezi širjenje, sicer lahko postane endemična in ogrozi zdravje predvsem starejših in resno bolnih bolnikov.

Viri:

1. Health Protection Agency. Laboratory detection and reporting of bacteria with carbapenem-hydrolysing β -lactamases (carbapenemases). UK Standards for Microbiology Investigations. P 8 issue 1 [internet]. London: Health Protection Agency; 2014. [citirano 2016 Jun 10]. Dosegljivo na: https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/344071/P_8i1.1.pdf
2. Lemos EV, De la Hoz FP, Einarson TR, et al. Carbapenem resistance and mortality in patients with *Acinetobacter baumannii* infection: systematic review and meta-analysis. Clin Microbiol Infect. 2014; 20: 416–23.
3. International federation of infection control. Basic concepts of infection control, 2011 [internet]. Portadown: International federation of infection control; 2011. [citirano 2016 Maj 10]. Dosegljivo na: <http://www.thelFIC.org>
4. Štrumbelj I, Berce I, Čretnik - Žohar T, et al. Pregled občutljivosti bakterij za antibiotike - Slovenija 2011 [internet]. 1st ed. Ljubljana: Slovenska komisija za ugotavljanje občutljivosti za protimikrobna zdravila (SKUOPZ); 2012. [citirano 2016 Jun 10]. Dosegljivo na: <http://www.imi.si/strokovna-zdruzenja/skuopz>
5. Štrumbelj I, Berce I, Harlander T, et al. Pregled občutljivosti bakterij za antibiotike - Slovenija 2013 [internet]. 1st ed. Ljubljana: Slovenska komisija za ugotavljanje občutljivosti za protimikrobna zdravila (SKUOPZ); 2014. [citirano 2016 Jun 10]. Dosegljivo na: <http://www.imi.si/strokovna-zdruzenja/skuopz>
6. Marchaim D, Navon-Venezia S, Schwartz D, et al. Surveillance cultures and duration of carriage of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. J Clin Microbiol. 2007; 45: 1551–5.
7. Karageorgopoulos D, Falagas ME. Current control and treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections. Lancet Infect Dis. 2008; 8: 751–62.

IZID BAKTERIEMIJE Z *ACINETOBACTER BAUMANNII* IN OBČUTLJIVOST ZA KARBAPENEME

Mateja Pirš¹, Jernej Guzej¹, Tjaša Cerar Kišek¹, Tina Triglav¹, Tatjana Lejko Zupanc², Manica Mueller-Premru¹, Bojana Beović²

¹ Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Zaloška 4, 1000 Ljubljana

² Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja, UKC Ljubljana, Japljeva 2, 1000 Ljubljana

Acinetobacter baumannii (Ab) je pomemben porajajoč bolnišnični patogen, ki povzroča okužbe dihal (predvsem pri intubiranih bolnikih), ran, opeklin in sečil (predvsem pri bolnikih z urinskimi katetri), redkeje sepso. Pogosto je težko opredeliti, ali gre za okužbo ali kolonizacijo. Glavni dejavniki tveganja za okužbo so invazivni posegi, kot sta mehanska ventilacija in žilni katetri, ter uporaba širokospektralnih antibiotikov. Pogosteje se pojavlja pri bolnikih po operativnih posegih in v enotah za intenzivno terapijo (EIT) (1,2).

Za *A. baumannii* je značilno, da ni zelo virulentna bakterija, večji problem je njena sposobnost hitrega pridobivanja različnih rezistenčnih determinant, kar pripelje do pojava večkratno ali ekstremno odpornih izolatov (1,3). Klinično najpomembnejša oblika je odpornost proti betalaktamskim antibiotikom, vključno s karbapenemi (angl. *carbapenem-resistant A. baumannii* – CRAb), ki je pogosto posledica pridobljenih karbapenemaz iz razreda D (npr. OXA-23, OXA-40 in OXA-58) in iz razreda B (VIM, NDM idr.). Različne študije so pokazale, da imajo bolniki s CRAb pogosteje resno osnovno obolenje v primerjavi z bolniki z okužbo z občutljivim *A. baumannii* (CSAb) in da je tveganje za neustrezno zdravljenje večje. Posledično imajo okužbe s CRAb lahko slabši izid, vendar se rezultati med posameznimi študijami razlikujejo (4). V naši raziskavi smo želeli ugotoviti, kakšen je izid bakteriemije oziroma sepse z Ab v Univerzitetnem kliničnem centru Ljubljana (UKCL).

Retrospektivno smo analizirali podatke o bolnikih z Ab bakteriemijo oziroma sepso, ki so bili hospitalizirani v UKCL v obdobju od 2007 do 2013. Klinične podatke smo pridobili za 50 bolnikov.

Skupno smo zabeležili 56 primerov bakteriemije, povzročene z Ab, od tega 25 (44,6 %) s CRAb. Tretjina bolnikov s CRAb bakteriemijo je imela predhodno izolat CRAb iz nadzornih ali kliničnih kužnin, samo dva bolnika (3,6%) s CSAb sta imela predhodne izolate CSAb iz kliničnih kužnin; sočasno izolacijo Ab iz krvi in drugih kužnin pa smo ugotavljali pri dveh bolnikih (8 %) bolnikov s CRAb in pri devetih (16,1 %) bolnikih s CSAb bakteriemijo. Povprečna starost je bila 57,4 leta (od 10 mesecev do 92 let). Večina bolnikov je bila moškega spola (71,4 %), je bila hospitalizirana v EIT (84,0 %), je potrebovala mehansko ventilacijo (74,0 %), je imela vstavljene žilne katetre (98,0 %) in je predhodno prejela širokospektralno antibiotično zdravljenje (87,8 %). Predhodne kirurške posege je imelo skoraj 40 odstotkov bolnikov, maligna obolenja pa so bila prisotna pri 20 odstotkih. Večina bolnikov s CSAb je bila zdravljena s karbapenemi, večina bolnikov s CRAb pa z ampicilin/sulbaktamom ali kolistinom. Sočasna bakteriemija,

opredeljena kot izolacija druge bakterije iz krvi do tri dni pred izolacijo Ab ali po njej, je bila prisotna pri 16 (34 %) bolnikih. Večinoma so bile sočasno prisotne enterobakterije (10 bolnikov, 62,5 %), sledil je *S. aureus* (3 bolniki, 18,8 %) in enterokoki ali *Pseudomonas aeruginosa* (po dva bolnika, po 12,5 %). Podatke o 30-dnevni smrtnosti smo pridobili za 50 bolnikov in je znašala 30 odstotka (38,1 % pri CRAb in 24,1 % pri CSAb). Pri bolnikih s sočasno bakteriemijo z drugimi bakterijami ali v povezavi s predhodnimi kirurškimi posegi ali malignimi obolenji nismo opazili višje smrtnosti.

Podatki o 30-dnevni smrtnosti pri Ab sepsi se med posameznimi študijami zelo razlikujejo (17–66 %), kažejo pa, da je prognoza odvisna tako od teže komorbidnosti bolnikov, ustreznosti antibiotične terapije kot tudi od virulentnosti lokalnega Ab klona, ki kroži v bolnišnici (5-11).

Viri

1. Fournier PE, Richet H. The epidemiology and control of *Acinetobacter baumannii* in health-care facilities. *Clin Infect Dis.* 2006; 42 (5): 692–9.
2. Rodríguez Baño J, Cisneros JM, Fernández Cuenca F, et al. Clinical features and epidemiology of *Acinetobacter baumannii* colonization and infection in Spanish hospitals. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2004; 25 (10): 819–24.
3. Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. *Clin Microbiol Rev.* 2008; 21 (3): 538–82.
4. Lemos EV, la Hoz de FP, Einarson TR, et al. Carbapenem resistance and mortality in patients with *Acinetobacter baumannii* infection: systematic review and meta-analysis. *Clin Microbiol Infect.* 2014; 20 (5): 416–23.
5. Nutman A, Glick R, Temkin E, et al. A case-control study to identify predictors of 14-day mortality following carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* bacteraemia. *Clin Microbiol Infect.* 2014; 20 (12): 1028–34.
6. Robenshtok E, Paul M, Leibovici L, et al. The significance of *Acinetobacter baumannii* bacteraemia compared with *Klebsiella pneumoniae* bacteraemia: risk factors and outcomes. *J Hosp Infect.* 2006; 64 (3): 282–7.
7. Falagas ME, Kasiakou SK, Rafailidis PI, et al. Comparison of mortality of patients with *Acinetobacter baumannii* bacteraemia receiving appropriate and inappropriate empirical therapy. *J Antimicrob Chemother.* 2006; 57 (6): 1251–4.
8. Furtado GH, Cavalcante AC, Medeiros EA, et al. Bloodstream infections with OXA-23-producing *Acinetobacter baumannii* isolates in a university-affiliated hospital in Brazil: epidemiology and clinical outcomes. *Am J Infect Control.* 2011; 39 (8): 706–8.
9. Park K-H, Shin J-H, Lee SY, et al. The clinical characteristics, carbapenem resistance, and outcome of *Acinetobacter* bacteremia according to genospecies. *PLoS ONE.* 2013; 8 (6): e65026.
10. Munoz Price LS, Zembower T, Penugonda S, et al. Clinical outcomes of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* bloodstream infections: study of a 2-state monoclonal outbreak. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2010; 31 (10): 1057–62.
11. Tal-Jasper R, Katz DE, Amrami N, Ravid D, Avivi D, Zaidenstein R, et al. Clinical and epidemiological significance of carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii* Infections. *Antimicrob Agents Chemother.* 2016; 60 (5): 3127–31.

ISKANJE VIROV *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* – CRPs V OKOLJU

Andrej Golle¹, Sandra Janežič¹, Božena Kotnik Kevorkijan², Slavica Lorenčič Robnik¹, Nataša Švent Kučina³, Tjaša Cerar Kišek³, Mateja Pirš³

¹Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Center za medicinsko mikrobiologijo, Prvomajska ulica 1, 2000 Maribor

² Univerzitetni klinični center Maribor, Oddelek za nalezljive bolezni in vročinska stanja, Ljubljanska ulica 5, 2000 Maribor

³ Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Zaloška 4, 1000 Ljubljana

Bakterija *Pseudomonas aeruginosa* je pomemben oportunistični patogen. Glede pogojev rasti je nezahtevna auksotrofna bakterija (1). Ker je odporna proti razkužilom in antiseptikom, lahko dobro uspeva v različnih okoljih. Zlasti jo najdemo tam, kjer je dovolj vlažno, pogosto v zemlji, na zelenjavi in v vodi (2). Pri zdravih ljudeh jo le redko najdemo kot del mikrobioma, bolnike v zdravstvenih ustanovah pa lahko kolonizira v 50–60 odstotkih (3). Okužbe, ki jih povzroča *P. aeruginosa*, so pogosto povezane z zdravstvom (4). Hujše okužbe najpogosteje prizadenejo bolnike z zmanjšanim imunskim odzivom, bolnike z opeklinami, novorojence in druge bolnike na enotah intenzivne nege (5).

Ker je bakterija že naravno (intrinzično) odporna proti številnim protimikrobnim zdravilom, je nabor zdravil, ki jih lahko uporabimo za zdravljenje psevdomonasnih okužb, omejen. Naravni odpornosti se med zdravljenjem pogosto pridruži še pridobljena odpornost (6,7). Odpornost proti zdravilom in razkužilom ter sposobnost, da tvori biofilm, bakteriji *P. aeruginosa* omogoča, da dobro uspeva tudi v bolnišničnem okolju. Večkratno odporni *P. aeruginosa* – CRPs (CRPs: *P. aeruginosa*, odporen proti karbapenemom in drugim betalaktamskim antibiotikom) je pogost povzročitelj okužb, povezanih z zdravstvom. Odpornost proti karbapenemom in drugim betalaktamom je pogosto posledica izločanja karbapenemaz iz skupine B – metalobetalaktamaz, najpogosteje gre za tipa IMP in VIM (8,9,10). CRPs se lahko prenaša z bolnika na bolnika neposredno ali pa pride do okužbe iz zunanjih virov. Širi se prek rok medicinskega osebja, s kontaminiranimi predmeti, vlažilci zraka ob umetnem predihavanju ter posredno ali neposredno s kontaminirano vodo (11-14).

Številni strokovni članki kažejo na povezavo okužb, ki jih povzroča CRPs z zunanjimi viri v bolnišničnem okolju. V Sloveniji imamo opisana dva izbruha, ki jih je povzročil CRPs, ki je izločal karbapenemaze tipa VIM. V letih 2012 in 2013 smo zabeležili izbruh v UKC Maribor, kjer smo dokazali povezavo med okuženimi bolniki in kontaminiranimi vodnimi odtoki (15). Drugo večje kopičenje bolnikov z medsebojno povezanimi CRPs so opisali v UKC Ljubljana v letih 2011 do 2013 (16). Tudi tukaj so iskali vir bakterije v zunanjem okolju, testirali so predvsem okolico vodnih virov, kot so izlivke, odtoki, površine, umivalniki, vendar v teh vzorcih bakterije niso dokazali. Sicer v tuji strokovni literaturi najdemo opise izbruhov okužb v povezavi s kontaminiranimi vodnimi pipami, pitno vodo, vodovodnimi odtoki, ustekleničeno vodo,

stekleničkami za hranjenje, vodnimi kopelmi, raztopinami antiseptikov, medicinskim priborom in drugo (1,5,18-20). Ob izbruhih okužb, ki jih povzročajo CRPs, moramo torej tudi pomisliti na vse možne zunanje vire, ki lahko delujejo kot rezervoar okužbe in odvzeti ustrezne vzorce za mikrobiološke preiskave. Kadar iščemo izvor okužbe v pitni vodi, so nam pri tem v pomoč navodila, kot je zakonodaja o oskrbi s pitno vodo (opredeljuje jo Pravilnik o pitni vodi, UL 19/2004, Pravilnik o oskrbi s pitno vodo, UL 35/2006, 41/2008 in 88/2012), navodila NAKOBO (Nadzor nad kakovostjo pitne vode iz vodovodnega omrežja bolnišnice in druge zdravstvene ustanove) in ISO-standard za detekcijo in kvantitativno opredelitev prisotnosti *P. aeruginosa* v vodi z membransko filtracijo (21, 22).

Sam dokaz CRPs v zunanjih virih ne pomeni vedno epidemiološke povezave s pojavljanjem okužb v bolnišnici. Pogosto se sevi iz okolja razlikujejo od tistih, ki jih osamimo iz kužnin. Zato moramo povezavo nedvoumno dokazati ob upoštevanju epidemioloških kriterijev in z uporabo molekularnih metod, ki potrjujejo sorodnost med izoliranimi sevi. Tudi kadar je sorodnost med sevi dokazana, moramo upoštevati možnost, da je do kontaminacije vodnega vira prišlo sekundarno (5,19,22).

Viri

1. Kelsey M. *Pseudomonas* in augmented care: should we worry? J Antimicrob Chemother. 2013; 68 (12): 2697–700.
2. Ruiz L, Dominguez MA, Ruiz N, et al. Relationship between clinical and environmental isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in a hospital setting. Arch Med Res. 2004; 35 (3): 251–7.
3. Cholley P, Thouverez M, Floret N, et al. The role of water fittings in intensive care rooms as reservoirs for the colonization of patients with *Pseudomonas aeruginosa*. Intensive Care Med. 2008; 34 (8): 1428–33.
4. Mesaros N, Nordmann P, Plesiat P, et al. *Pseudomonas aeruginosa*: resistance and therapeutic options at the turn of the new millennium. Clin Microbiol Infect. 2007; 13 (6): 560–78.
5. Jefferies JM, Cooper T, Yam T, Clarke SC. *Pseudomonas aeruginosa* outbreaks in the neonatal intensive care unit—a systematic review of risk factors and environmental sources. J Med Microbiol. 2012;61 (Pt 8): 1052–61.
6. Breidenstein EB, de la Fuente-Nunez C, Hancock RE. *Pseudomonas aeruginosa*: all roads lead to resistance. Trends Microbiol. 2011; 19 (8): 419–26.
7. Navon-Venezia S, Ben-Ami R, Carmeli Y. Update on *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* infections in the healthcare setting. Curr Opin Infect Dis. 2005; 18 (4): 306–13.
8. Livermore DM, Woodford N. Carbapenemases: a problem in waiting? Curr Opin Microbiol. 2000; 3 (5): 489–95.
9. Walsh TR, Toleman MA, Poirel L, et al. Metallo-beta-lactamases: the quiet before the storm? Clin Microbiol Rev. 2005; 18 (2): 306–25.
10. Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. Clin Microbiol Rev. 2007; 20 (3): 440–58.
11. Naze F, Jouen E, Randriamahazo RT, Simac C, et al. *Pseudomonas aeruginosa* outbreak linked to mineral water bottles in a neonatal intensive care unit: fast typing by use of high-resolution melting analysis of a variable-number tandem-repeat locus. J Clin Microbiol. 2010; 48 (9):3146–52.
12. Schwartz T, Armant O, Bretschneider N, et al. Whole genome and transcriptome analyses of environmental antibiotic sensitive and multi-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates exposed to waste water and tap water. Microb Biotechnol. 2015; 8 (1): 116–30
13. de Abreu PM, Farias PG, Paiva GS, et al. Persistence of microbial communities including *Pseudomonas aeruginosa* in a hospital environment: a potential health hazard. BMC Microbiol. 2014; 14: 118.
14. Mena KD, Gerba CP. Risk assessment of *Pseudomonas aeruginosa* in water. Rev Environ Contam Toxicol. 2009; 201: 71–115.
15. Golle A, Janežič S, Rupnik M, et al. Pojav in vrste karbapenemaz pri bakteriji *Pseudomonas aeruginosa* v Mariborski regiji. Med Razgl. 2013; 52 (Suppl 6): 129–38.
16. Vidmar Vovko D, Pirš M, Cerar Kišek T, et al. Pojav in vrste karbapenemaz pri bakteriji *Pseudomonas aeruginosa* v Osrednjeslovenski regiji. Med Razgl. 2013; 52 (Suppl 6): 139–48.
17. Walker JT, Jhutti A, Parks S, et al. Investigation of healthcare-acquired infections associated with *Pseudomonas aeruginosa* biofilms in taps in neonatal units in Northern Ireland. J Hosp Infect. 2014; 86 (1): 16–23.

18. Walker J, Moore G. *Pseudomonas aeruginosa* in hospital water systems: biofilms, guidelines, and practicalities. *J Hosp Infect.* 2015; 89 (4): 324–7.
19. Quick J, Cumley N, Wearn CM, et al. Seeking the source of *Pseudomonas aeruginosa* infections in a recently opened hospital: an observational study using whole-genome sequencing. *BMJ Open.* 2014; 4 (11): e006278.
20. Trautmann M, Lepper PM, Haller M. Ecology of *Pseudomonas aeruginosa* in the intensive care unit and the evolving role of water outlets as a reservoir of the organism. *Am J Infect Control.* 2005; 33 (5 Suppl 1): S41–9.
21. ISO/IEC 12266-1: Water quality – Detection and enumeration of *Pseudomonas aeruginosa* – Method by membrane filtration. International standard ISO 16266: 2006.
22. Blanc DS, Petignat C, Janin B, Bille J, Francioli P. Frequency and molecular diversity of *Pseudomonas aeruginosa* upon admission and during hospitalization: a prospective epidemiologic study. *Clin Microbiol Infect.* 1998; 4 (5): 242–47.

ZDRAVLJENJE OKUŽB S *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*, ODPORNIM PROTI ŠTEVILNIM ANTIBIOTIKOM

Manja Maver¹, Mateja Logar¹

¹ Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Japljeva 2, 1525 Ljubljana

Pseudomonas aeruginosa je pomemben povzročitelj hudih bolnišničnih okužb pljuč, krvi in sečil ter okužb pljuč pri bolnikih s cistično fibrozo. Odpornost proti antibiotikom z delovanjem proti *P. aeruginosa* v zadnjih letih narašča. Po podatkih EARS-Net je bilo v Evropi leta 2014 večkratno odpornih (angl. multi drug resistant- MDR) 13,3 odstotka invazivnih izolatov. Skrb zbujajoč je tudi podatek o porastu odpornosti proti karbapenemom (1). V opazovalni raziskavi so ugotovili, da je ob protimikrobnem zdravljenju do razvoja odpornosti proti vsaj enem antibiotiku prišlo pri 10,2 odstotka od 271 primerov okužb s *P. aeruginosa*. Zdravljenje s karbapenemi je bilo povezano z večjim tveganjem za nastanek odpornosti (2).

Zdravljenje okužb, povzročenih s *P. aeruginosa*, ki je odporna proti številnim antibiotikom, je zapleteno in povezano s slabšim preživetjem bolnikov (3). Predstavljamo nekatere možnosti zdravljenja:

- Kolistin: v večji multicentrični raziskavi, ki je potekala v 13 državah, so ugotovili, da je bilo kar 11,6 odstotka kliničnih izolatov občutljivih le na kolistin (4). V Evropi delež *P. aeruginosa*, odpornih proti kolistinu, ostaja nizek kljub pogostejši uporabi pri zdravljenju okužb z zelo odpornimi po Gramu negativnimi bakterijami (1).
- Ceftolozan/tazobaktam (Zerbaxa[®]): kombinacija novega cefalosporina tretje generacije in tazobaktama je zaradi delovanja proti nekaterim betalaktamazam razreda A, C in D učinkovita proti *P. aeruginosa* MDR, žal pa ne deluje proti metalobetalaktamazam. V raziskavi na vzorcu 310 MDR izolatov je bila občutljivost 98,4-odstotna (4). Kombinacija je odobrena za zdravljenje zapletenih okužb sečil in okužb v trebušni votlini (5). Potekajo tudi raziskave za uporabo pri zdravljenju pljučnic, povezanih z umetnim predihavanjem (angl. ventilator associated pneumonia – VAP) (6,7).
- Rezultati raziskav o uspešnosti kombiniranega protimikrobnega zdravljenja v primerjavi z monoterapijo so si nasprotujoči (8). Pri zdravljenju okužb, povzročenih z bakterijami, odpornimi na karbapeneme, ki izločajo karbapenemaze (CR-CP), je bila smrtnost manjša pri kombiniranem zdravljenju (9).
- Študija *in vitro* je pokazala visoko stopnjo protimikrobne aktivnosti nove učinkovine, mul-1867, proti večkratno odpornem *P. aeruginosa*, izoliranem iz vzorcev dihal bolnikov s cistično fibrozo. Njegova prednost je dobro prodiranje v biofilm (10).

Zaradi porasta odpornosti *P. aeruginosa* proti številnim antibiotikom in s tem povezanega oteženega zdravljenja hudih bolnišničnih okužb je potrebna smotrna uporaba antibiotikov in dosledno izvajanje ukrepov bolnišnične higiene.

Viri

1. European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2014 . Surveillance report [internet]. 2014 [citirano 2016 May 19].
Dosegljivo na: <http://ecdc.europa.eu/en/publications>.
2. Carmeli Y, Troillet N, Eliopoulos GM, et al. Emergence of antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: comparison of risks associated with different antipseudomonal agents. *Antimicrob Agents Chemother*. 1999; 43: 1379.
3. Kang CI, Kim SH, Kim HB, et al. *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia: risk factors for mortality and influence of delayed receipt of effective antimicrobial therapy on clinical outcome. *Clin Infect Dis*. 2003; 37 (6): 745–51.
4. Sader H, Farrell DJ, Castanheira M, et al. Antimicrobial activity of ceftolozane/tazobactam tested against *Pseudomonas aeruginosa* and *Enterobacteriaceae* with various resistance patterns isolated in European hospitals (2011–12). *J Antimicrob Chemother*. 2014; 69: 2713–22.
5. Liscio JL, Mahoney MV, Hirsch EB. Ceftolozane/tazobactam and ceftazidime/avibactam: two novel β -lactam/ β -lactamase inhibitor combination agents for the treatment of resistant Gram-negative bacterial infections. *Intl J Antimicrob Agents* [internet]. 2015 [citirano 2016 May 19]; 46 (3): 266–71.
Dosegljivo na: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2015.05.003>
6. ClinicalTrials.gov. Safety and efficacy study of ceftolozane/tazobactam to treat ventilated nosocomial pneumonia (MK-7625A-008) (ASPECT-NP). [citirano 2016 May 19]; Dosegljivo na <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02070757>.
7. Xiao AJ, Miller BW, Huntington JA, et al. Ceftolozane/tazobactam pharmacokinetic/pharmacodynamic-derived dose justification for phase 3 studies in patients with nosocomial pneumonia. *J Clin Pharmacology*. 2016; 56 (1): 56–66.
8. Tamma PD, Cosgrove SE, Maragakis LL. Combination therapy for treatment of infections with Gram-negative bacteria. *Clin Microbiol Rev*. 2012; 25 (3): 450–70.
9. Tzouveleki LS, Markogiannakis A, Piperaki E, et al. Treating infections caused by carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Clin Microbiol Infect*. 2014; 20 (9): 862–72.
10. Tetz G, Vikina D, Tetz V. Antimicrobial activity of mul-1867, a novel antimicrobial compound, against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2016; 15: 19.

MOLEKULARNA DETEKCIJA PO GRAMU NEGATIVNIH BAKTERIJ, KI IZLOČAJO KARBAPENEMAZE

Mateja Pirš¹, Tjaša Cerar Kišek¹, Eva Kotnik¹, Daša Podgoršek¹, Andrej Golle²

¹ Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Zaloška 4, 1000 Ljubljana

² Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Center za medicinsko mikrobiologijo, Prvomajska ulica 1, 2000 Maribor

O širjenju po Gramu negativnih bakterij, ki odporne proti karbapenemom, poročajo po vsem svetu. Epidemiološko najpomembnejša oblika odpornosti proti karbapenemom pri po Gramu negativnih bakterijah je prisotnost karbapenemaz, ki imajo genski zapis na plazmidih in drugih prenosljivih elementih. Karbapenemaze so betalaktamaze s širokim spektrom delovanja, ki poleg karbapenemov razgrajujejo večino drugih betalaktamskih antibiotikov, spekter delovanja je odvisen od vrste encima. Uvrščamo jih v skupino serinskih proteaz iz razreda 2 (skupina A in D) in metalobetalaktamaz iz razreda 3 (skupina B). Med serinskimi betalaktamazami skupine A so najpomembnejši plazmidno zapisani encimi KPC (v manjši meri tudi GES), ki jih najdemo predvsem pri enterobakterijah kot tudi pri *Pseudomonas aeruginosa*. Med serinskimi betalaktamazami skupine D so pri enterobakterijah najpomembnejši encimi OXA-48, v to skupino pa spadajo tudi encimi, ki se pojavljajo pri *Acinetobacter baumannii* (OXA-23, OXA-40, OXA-58), nekatere oksacilinaze najdemo lahko tudi pri *P. aeruginosa*. Med metalobetalaktamazami so najpomembnejše prenosljivi plazmidno zapisani encimi VIM in NDM (v Evropi se z IMP redko srečamo), ki jih lahko najdemo pri enterobakterijah, *P. aeruginosa*, pa tudi pri *A. baumannii* (1,2).

Molekularna opredelitev karbapenemaz pri izolatih po Gramu negativnih bakterij v mikrobiološkem laboratoriju

Pri izolatih po Gramu negativnih bakterij z zmanjšano občutljivostjo za meropenem vedno izvajamo fenotipske in molekularne potrditvene teste za dokaz prisotnosti karbapenemaz (3,4). Za molekularno potrditev so na voljo različni hišni in komercialni testi, s katerimi lahko dokazujemo prisotnost različnih naborov genov karbapenemaz, najpogosteje pa z njimi dokazujemo *bla*_{KPC}, *bla*_{VIM}, *bla*_{IMP}, *bla*_{NDM} in *bla*_{OXA-48}. Lahko se dokazuje tudi (hišni ali komercialni testi) karbapenemaze pri *A. baumannii* (*bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-40}, *bla*_{OXA-58}) (5). Molekularni testi lahko ne pokrijejo vseh različic določenega encima oziroma izolat izdeluje redke oblike karbapenemaze, ki morda niso zajeti v nabor molekularni testov.

Molekularno presejalno testiranje bolnikov za ugotavljanje nosilstva po Gramu negativnih bakterij, ki izločajo karbapenemaze

Pri bolnikih v skladu s priporočili NAKOBO iščemo nosilce proti karbapenemom odpornih po Gramu negativnih bakterij s kultivacijo, del teh izolatov pa lahko izloča karbapenemaze (6,7).

Z molekularno diagnostiko lahko iz nadzornih kužnin najdemo le nosilce po Gramu negativnih bacilov, ki izločajo določene karbapenemaze, ne moremo pa odkriti nosilcev proti karbapenemom odpornih po Gramu negativnih bacilov, ki karbapenemaz sicer ne izločajo, vendar so lahko ekstremno odporni proti večini testiranih antibiotikov. Neposredno iz kužnine se večinoma dokazuje prisotnost *bla*_{KPC}, *bla*_{VIM}, *bla*_{IMP}, *bla*_{NDM} in *bla*_{OXA-48}, v literaturi so tudi opisi neposrednega dokaza *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-40} in *bla*_{OXA-58} (5,8,9). Če se odločimo za presejalno molekularno testiranje nosilcev za ugotavljanje prisotnosti po Gramu negativnih bacilov, ki izločajo določene karbapenemaze, pa je nujno potrebna sočasna kultivacija vzorca, saj sicer ne vemo, pri kateri bakteriji se gen za karbapenemazo nahaja in na katere antibiotike je izolat še občutljiv, če bi bilo indicirano antibiotično zdravljenje, ki bi krilo tudi tovrsten izolat. Poleg tega molekularni test lahko ne pokrije vseh različic določenega encima oziroma izolat izdeluje redko obliko karbapenemaze. V takšnih primerih je rezultat presejalnega molekularnega testiranja negativen, čeprav je dejansko prisoten izolat, ki karbapenemazo izloča. Zaradi teh omejitev metode je nujna sočasna kultivacija vzorca. Indikacije za tovrstne preiskave je priporočljivo uskladiti z bolnišnično komisijo za obvladovanje okužb, saj je molekularno presejalno testiranje bolnikov dražje od običajnega presejalnega testiranja s kultivacijo (5).

Viri

1. Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. Clin Microbiol Rev. 2007; 20 (3): 440–58.
2. Nordmann P, Dortet L, Poirel L. Carbapenem resistance in Enterobacteriaceae: here is the storm! Trends Mol Med. 2012; 18 (5): 263–72.
3. Giske CG, Martínez-Martínez L, Cantón R, et al. EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance [Internet]. EUCAST; 2012. 47 p. [citirano 2016 Jun 7]. Dosegljivo na: http://www.eucast.org/organization/subcommittees/resistance_mechanisms/
4. Štrumbelj I, Pirš M. Dokument SKUOPZ 001. Smernice za mikrobiologe - ugotavljanje odpornosti proti karbapenemom in ugotavljanje karbapenemaz pri enterobakterijah [Internet]. SKUOPZ; 2013. 20 p. [citirano 2016 Jun ???]. Dosegljivo na: <http://www.imi.si/strokovna-zdruzenja/skuopz/skuopz>
5. Viau R, Frank KM, Jacobs MR, Wilson B, Kaye K, Donskey CJ, et al. Intestinal Carriage of Carbapenemase-Producing Organisms: Current Status of Surveillance Methods. Clin Microbiol Rev. 2016; 29 (1): 1–27.
6. Lejko-Zupanc T. UKREPI ZA PREPREEVANJE PRENOSA BAKTERIJ, KI IZLOAJO KARBAPENEMAZE [Internet]. NAKOBO; 2015. 6 p. [citirano 2016 Jun ???]. Dosegljivo na: http://www.mz.gov.si/si/delovna_podrocja_in_prioritete/zdravstveno_varstvo/kakovost_in_varnost/nacionalna_komisija_za_obvladovanje_bolnisnicnih_okuzb/strokovnjaki/
7. Marchaim D, Navon-Venezia S, Schwartz D, et al. Surveillance Cultures and Duration of Carriage of Multidrug-Resistant Acinetobacter baumannii. J Clin Microbiol. 2007; 45 (5): 1551–5.
8. van der Zee A, Roorda L, Bosman G, et al. Multi-centre evaluation of real-time multiplex PCR for detection of carbapenemase genes OXA-48, VIM, IMP, NDM and KPC. BMC Infect Dis. 2014; 14: 27.
9. van der Zee A, Roorda L, Bosman G, et al. Screening Rectal Swabs for Carbapenemase Genes. J Clin Microbiol. 2014; 52 (12): 4401–3.

NOVI ANTIBIOTIKI – CEFTOLOZAN/TAZOBAKTAM, CEFTAZIDIM/AVIBAKTAM

Sergeja Gregorčič¹, Andreja Saje¹

¹ Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja, UKC Ljubljana, Japljeva 2, 1000 Ljubljana

Izkustveno zdravljenje z zdravstvom pogojenih okužb ostaja izziv predvsem zaradi širjenja po Gramu negativnih bakterij, ki izločajo betalaktamaze razširjenega spektra (angl. extended-spectrum β -lactamases – ESBL) in večkratno odpornih bakterij z zmanjšano občutljivostjo za karbapeneme. Terapevtske možnosti za zdravljenje okužb z omenjenimi povzročitelji so ob prihodu dveh novih kombinaciji cefalosporina in zaviralca betalaktamaz širše (1). Kombinacijo ceftolozan/tazobaktam pod tovarniškim imenom Zerbaxa[®] je že odobrila Evropska agencija za zdravila, registrirana je po centraliziranem postopku in dostopna tudi v Sloveniji. Druga kombinacija ceftazidim/avibaktam je pod tovarniškim imenom Avycaz[®] že dostopna na ameriškem trgu, v Evropi pa pod tovarniškim imenom Zavicefta[®] še čaka na odobritev dovoljenja za promet pri Evropski komisiji.

Ceftazidim/avibaktam je kombinacija cefalosporina III. generacije in nebetalaktamskega inhibitorja betalaktamaz. Cefalosporini kot skupina betalaktamskih antibiotikov delujejo z vezavo na za penicilin vezavni protein (PBP, angl. penicillin binding protein), s čimer preprečujejo gradnjo peptidoglikana bakterijske celične stene. Pri po Gramu negativnih bakterijah je eden glavnih mehanizmov odpornosti proti betalaktamskim antibiotikom pojav betalaktamaz. Ti encimi razgrajujejo betalaktamski obroč in jih po Amblerju glede na osnovno aminokislinsko zaporedje razdelimo v skupine A, B, C, D. V boju proti betalaktamazam sta uspešna dva mehanizma: sprememba vezavnega mesta za encim ter zaviranje njegovega delovanja. Avibaktam zavira delovanje s kovalentno vezavo na betalaktamaze iz skupine A (encime ESBL (TEM, SHV, CTX-M), karbapenemaze (KPC)), posamezne iz skupine C (AmpC) in skupine D (OXA). Ne zavira delovanja metalobetalaktamaz (NDM, IMP, VIM). Zdravilo je namenjeno za intravensko uporabo. Obe učinkovini se izločata skozi ledvice, zato je potrebno prilagajanje odmerka pri ledvični okvari. Z neupoštevanjem prilagajanja odmerka zmanjšani ledvični funkciji je povezano povečano tveganje za pojav neželenih učinkov na osrednje živčevje (nekonvulzivni epileptični status, krči, encefalopatija ...). Glede na spekter delovanja je kombinacija priporočljiva za zdravljenje zapletenih okužb sečil, bolnišnične pljučnice, v kombinaciji z metronidazolom pa za zapletene okužbe v trebuhu. Po učinkovitosti je zdravilo primerljivo s karbapenemi. Običajni odmerek je 2,0 g/0,5 g na 8 ur (2).

Ceftolozan/tazobaktam je kombinacija novega cefalosporinskega antibiotika in klasičnega zaviralca betalaktamaz iz skupine A. Tazobaktam zavira delovanje betalaktamaz iz skupine A (encime ESBL (TEM, SHV, CTX-M), ne deluje pa na karbapenemaze, kot je KPC) in posamezne iz skupine C (AmpC) in skupine D (OXA). Ne zavira delovanja metalobetalaktamaz (NDM, IMP, VIM). Ceftolozan je izboljšana izpeljanka ceftazidima, ki z menjavo stranske verige na mestu tri izboljša učinkovitost proti *Pseudomonas aeruginosa*. Zaradi strukturnih sprememb ima

močno afiniteto za psevdomonasni PBP in je manj občutljiv za njegove mehanizme odpornosti, kot so hiperprodukcija betalaktamaz razreda C (AmpC), črpalke za antibiotik (MexAB/OprM) in izgubo porina (OprD). Zdravilo je namenjeno za intravensko uporabo. Obe učinkovini se izločata skozi ledvice (ceftolozan v glavnem z glomerulno filtracijo, tazobaktam s tubulno sekrecijo), zaradi česar je potrebno prilagajanje odmerkov pri ledvični okvari. Zdravilo je brez posebnih varnostnih opozoril. V primerjavi z levofloksacinom je njegova učinkovitost pri zdravljenju zapletenih okužb sečil boljša, predvsem zaradi učinkovanja na *Enterobacteriaceae* spp., ki izločajo ESBL (3). V kombinaciji z metronidazolom pri zdravljenju zapletenih okužb v trebuhu je učinkovitost primerljiva z meropenemom (4). V teku so raziskave, ki bodo opredelile njegovo mesto pri zdravljenju ventilatorske pljučnice. Običajno odmerjanje je 1,0 g/0,5 g na 8 ur (5, 6).

Glede na protimikrobni spekter je mesto izkustvene uporabe ceftolozan/tazobaktama pri okužbah, pri katerih obstaja nevarnost, da okužbo povzroča enterobakterija, ki izloča ESBL, in obenem zaradi ponavljajočih se okužb in predhodnega antibiotičnega zdravljenja tudi možnost okužbe s *P. aeruginosa*. Kot usmerjena terapija pa bo primeren predvsem za zdravljenje okužb z večkratno odporno bakterijo *P. aeruginosa*, ki ne izloča karbapenemaz. Cefatazidim/avibaktam pa prinaša prednosti s svojo aktivnostjo proti bakterijam, ki izločajo KPC in druge serinske karbapenemaze. Klinične izkušnje bodo opredelile njuno mesto v prihodnosti.

Viri

1. Golan Y. Empiric therapy for hospital-acquired, Gram-negative complicated intra-abdominal infection and complicated urinary tract infections: a systematic literature review of current and emerging treatment options. *BMC Infect Dis.* 2015; 313: 2–7.
2. Zhanel GG, Lawson CD, Adam H, et al. Ceftazidime-avibactam: a novel cephalosporin/beta-lactamase inhibitor combination. *Drugs.* 2013; 73: 159–77.
3. Wagenlehner FM, Umeh O, Steenbergen J, et al. Ceftolozane-tazobactam compared with levofloxacin in the treatment of complicated urinary-tract infections, including pyelonephritis: a randomised, double-blind, phase 3 trial (ASPECT-cUTI). *Lancet.* 2015; 385: 1949–56.
4. Solomkin J, Hershberger E, Miller B, et al. Ceftolozane/tazobactam plus metronidazole for Complicated Intra-abdominal Infections in an Era of Multidrug Resistance: Results From a randomized, double-blind, phase 3 trial (ASPECT-cIAI). *CID.* 2015; 60: 1462–71.
5. Zhanel GG, Chung P, Adam H, et al. Ceftolozane/tazobactam: a novel cephalosporin/beta-lactamase inhibitor combination with activity against multidrug-resistant Gram-negative bacilli. *Drugs.* 2014; 74: 31–51.
6. Skalweit MJ. Profile of ceftolozane/tazobactam and its potential in the treatment of complicated intra-abdominal infections. *Drug Des Devel Ther.* 2015; 9: 2919–25.