

ΜΕΡΟΣ Β: ΜΟΡΙΑΚΟ ΑΝΤΙΒΙΟΓΡΑΜΜΑ PART B: MOLECULAR ANTIBIOGRAM AND ANTIBIOTIC SELECTION

ΑΡΧΕΙΑ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ 2023, 40(Συμπλ 1):20-32
ARCHIVES OF HELLENIC MEDICINE 2023, 40(Suppl 1):20-32

ΠΩΣ ΘΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΤΩ ΤΟ ΠΑΘΟΓΟΝΟ ΠΟΥ ΠΑΡΑΓΕΙ *ESBL* (ΕΥΡΕΩΣ ΦΑΣΜΑΤΟΣ Β-ΛΑΚΤΑΜΑΣΕΣ);

Α. Μπάκας

Μονάδα Εντατικής Θεραπείας, Γενικό Νοσοκομείο
Θεσσαλονίκης «Ο Άγιος Δημήτριος»
e-mail: tolba910@gmail.com

Η μικροβιακή αντοχή αποτελεί ένα σημαντικότερο πρόβλημα στο περιβάλλον του νοσοκομείου. Η αντοχή διαχωρίζεται στην ενδογενή, που είναι ο αρχέγονος φαινότυπος των μικροβίων ο οποίος δε σχετίζεται με τη χορήγηση του αντιβιοτικού και στην επίκτητη η οποία σχετίζεται με την παρουσία του αντιβιοτικού και αποσκοπεί στην αδρανοποίησή του. Οι μηχανισμοί της επίκτητης αντοχής είναι είτε βιοχημικοί μηχανισμοί είτε γενετικοί όπως οι μεταλλάξεις και οι οριζόντιες μεταφορές γονιδίων. Πιο συγκεκριμένα για τα β-λακταμικά αντιβιοτικά κεντρικός μηχανισμός αντοχής είναι η παραγωγή των β-λακταμασών από τα gram-αρνητικά βακτήρια οι οποίες υδρολύουν το αντιβιοτικό. Επιπλέον συχνό μηχανισμός αντοχής είναι η μειωμένη διαπερατότητα του κυτταρικού τοιχώματος του βακτηρίου, τα συστήματα αντλιών ενεργητικής εκροής του αντιβιοτικού και η τροποποίηση του στόχου δράσης με συνέπεια την ελάττωση στη συγγένεια μεταξύ των β-λακταμικών και των εσίων στόχων στο βακτηριακό κύτταρο. Οι β-λακταμάσες είναι βακτηριακά ένζυμα πρωτεϊνικής φύσεως. Εκκρίνονται στο περιβάλλον του μικροβιακού κυττάρου ή του περιπλασμικού χώρου και κωδικοποιούνται από γονίδια που εδράζονται στο βακτηριακό χρωμόσωμα ή στα πλασμίδια. Η συχνότερη ταξινόμησή τους είναι η μοριακή κατά Ambler. Στη μοριακή κατά Ambler ταξινόμηση διακρίνονται τέσσερις τάξεις β-λακταμασών. Οι ευρέως φάσματος β-λακταμάσες (*ESBL*) ανήκουν στην τάξη Α και οι μεταλλο-β-λακταμάσες στην τάξη Β. Οι *ESBL* υδρολύουν τις πενικιλίνες, τις ευρέως φάσματος κεφαλοσπορίνες β' και γ' γενεάς και την αζτρεονάμη, αλλά δεν υδρολύουν τις κεφαμυκίνες. Αναστέλλονται από όλους τους γνωστούς αναστολείς. Είναι γνωστές περισσότερες από 600 παραλλαγές *ESBL* και ανάλογα με το γενικό επιπολασμό τους τις χωρίζουμε σε βασικούς και

δευτερεύοντες τύπους. Οι *ESBL* ομαδοποιούνται ανάλογα με τους γενετικούς πολυμορφισμούς σε πολλές οικογένειες. Οι κύριοι τύποι εμφανίζονται σε όλο τον κόσμο και σε πολλά στελέχη μικροβίων ενώ αντίθετα οι δευτερεύοντες τύποι εμφανίζονται τοπικά σε κάποιες περιοχές, τα ονόματά τους είναι από τις περιοχές στις οποίες επιπολάζουν και ανευρίσκονται πιο σπάνια. Η πρώτη β-λακταμάση που απομονώθηκε στην Ελλάδα στις αρχές δεκαετίας του 1960 έλαβε το όνομα της το πήρε τα πρώτα τρία γράμματα του ασθενούς από τον οποίο απομονώθηκε. Αυτές είναι οι *TEM* λακταμάσες και απομονώθηκαν από στέλεχος *Escherichia coli*. Ακολούθως, στη δεκαετία του 1980 στη Γαλλία απομονώθηκε η πρώτη οικογένεια *ESBL*, η *TEM-3* και εφεξής με σημειακές μεταλλάξεις συνεχώς δημιουργούνται καινούργιοι τύποι *ESBL*. Οι *ESBL* εκφράζονται σε όλα τα βακτήρια και κωδικοποιούνται από γονίδια που βρίσκονται κυρίως σε πλασμίδια μαζί με άλλα γονίδια αντοχής. Η δεύτερη οικογένεια *ESBL* είναι η *SHV* που προήλθαν από τα στελέχη *Klebsiella*. Αυτοί οι τύποι, ανιχνεύονται και σε άλλα gram-αρνητικά στελέχη *Pseudomonas* και *Acinetobacter*. Τα μέλη των οικογενειών *SHV* και *TEM* ήταν αυτά που επικράτησαν στις δεκαετίες του 1980 και του 1990 σε όλα τα νοσοκομεία παγκοσμίως και στην Ελλάδα. Αργότερα εμφανίστηκαν οι *CTX-M ESBL* οι οποίες δεν έχουν τόσο μεγάλη συγγένεια με τις προηγούμενες δύο ομάδες. Αυτές δημιουργούνται με οριζόντια μεταφορά γονιδίων και όχι με σημειακές μεταλλάξεις, εμφανίζουν λιγότερο από 40% ομολογία με τις *TEM* και *SHV* και εκφράζονται σε διάφορα gram-αρνητικά μικρόβια και κυρίως στα στελέχη *E. coli*. Η δράση τους αναστέλλεται από την ταζομπακτάμη αλλά όχι από το κλαβουλανικό οξύ. Αντίθετα, τόσο οι *TEM* όσο και οι *SHV* αναστέλλονται από το κλαβουλανικό οξύ. Οι *CTX-M ESBL* υδρολύουν καλύτερα την κεφοταξίμη και την κεφεπίμη και λιγότερο την κεφταζιτιμίμη και ταξινομούνται σε πέντε οικογένειες. Το 2019 απομονώθηκε ο τύπος *CTX-M-33* οποίος εκτός από το φαινότυπο *ESBL* εμφανίζει υδρολυτική δραστηριότητα και στη μεροπενέμη. Οι *OXA* β-λακταμάσες ανήκουν στην τάξη D κατά Ambler (πίν. 4) και οφείλουν το όνομά τους στην υδρόλυση της οξακιλλίνης και της κλοξακιλλίνης.¹

Οι *ESBL* παρουσιάζουν παγκόσμια κατανομή η οποία

Πίνακας 4. Μοριακή ταξινόμηση ευρέος φάσματος β-λακταμικών κατά Ambler.

Περιγραφή		Αναστολείς που εμφανίζουν δραστηριότητα	
Τάξη Α	Χρωμοσωμιακές β-λακταμάσεις	<ul style="list-style-type: none"> • TEM, SHV, CTX-M • IMI-1 (Imipenem-hydrolysing β-lactamase) • SFC-1 (<i>Serratia fonticola</i> carbapenemase-1) 	Αβιμπακτάμη, βαμπορμπακτάμη, ρελεμπακτάμη
	Πλασμιδιακές β-λακταμάσεις	<ul style="list-style-type: none"> • KPC (<i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase, KPC-1 to KPC-13). IMI (IMI-1 to IMI-3). • GES (Guiana extended spectrum, GES-1 to GES-20) 	Αβιμπακτάμη, βαμπορμπακτάμη, ρελεμπακτάμη
Τάξη Β	Μεταλλο- β-λακταμάσες που αναστέλλονται από το EDTA	<ul style="list-style-type: none"> • NDM-1 (New Delhi metallo-β-lactamase 1) • IMP (Imipenem-resistant <i>Pseudomonas</i>) • VIM (Verona integron-encoded metallo-β-lactamase) • GIM (German imipenemase) • SIM (Seoul imipenemase) 	Δεν υφίσταται
Τάξη C	Αντοχή στις πενικιλίνες, κεφαλοσπορίνες, κεφαμυκίνες (κεφοξιτίνη και κεφοτετάνη) και, πιθανά, στην αζτρεονάμη	<ul style="list-style-type: none"> • ACT (AmpC type). • CMY (Cephamicinase) • ADC (Acinetobacter-derived cephalosporinase) 	Αβιμπακτάμη, βαμπορμπακτάμη, ρελεμπακτάμη
Τάξη D	β-λακταμάσες που αναστέλλονται μερικώς από το EDTA ή το κλαβουλανικό οξύ	<ul style="list-style-type: none"> • OXA (Oxacillin-hydrolyzing carbapenemases) 	Αβιμπακτάμη

Συντομογραφία: EDTA: αιθυλοδιαμινοτετραοξικό όξι

μπορεί να μεταβάλλεται ανά ήπειρο. Παγκόσμια έχει επικρατήσει ο γονότυπος CTX-M. Για την ανίχνευσή τους υπάρχουν τα κλασικά αντιβιογράμματα, οι κλασικές φαινοτυπικές μέθοδοι, οι ταχείες φαινοτυπικές μέθοδοι και οι μοριακές μέθοδοι. Τα κλασικά αντιβιογράμματα περιλαμβάνουν τον έλεγχο της ευαισθησίας ενός βακτηρίου στα αντιβιοτικά και τον προσδιορισμό της ΕΑΠ. Σε αυτά ακολουθούν οι φαινοτυπικές δοκιμασίες επιβεβαίωσης όπως η δοκιμασία διπλής συνέρειας και η δοκιμασία συνδυασμένων δίσκων. Όταν ο φαινοτυπικός έλεγχος αναδείξει ESBL φαινότυπο το μικρόβιο πρέπει να θεωρείται ανθεκτικό προς όλα τα αντιβιοτικά τρίτης γενιάς, δηλαδή στις κεφαλοσπορίνες και στις πενικιλίνες και στην αζτρεονάμη. Οι κλασικές αυτές μέθοδοι καθυστερούν χρονικά να δώσουν το τελικό αποτέλεσμα ως και 72 ώρες. Η καθυστέρηση αυτή είναι κλινικά καθοριστική σήμερα όπου ο χρόνος μέχρι την έναρξη της αποτελεσματικής αντιμικροβιακής αγωγής είναι καθοριστικός για την τελική έκβαση του βαρέως πάσχοντος ασθενούς.² Στην προσπάθεια επιτάχυνσης της ανίχνευσης των ESBL, δημιουργήθηκαν καινούργιες μέθοδοι όπως οι ταχείες χρωματομετρικές δοκιμασίες και ανοσολογικές δοκιμασίες πλευρικής ροής. Έχουν ευαισθησία μεγαλύτερη από 90% σε σύγκριση με τις κλασικές μεθόδους. Τα τελευταία χρόνια έχουν εισέλθει στην ταχεία τυποποίηση οι μοριακές μέθοδοι, που βασίζονται στην ανίχνευση και στον μερικό ή πλήρη χαρακτηρισμό του μικροβιακού γε-

νετικού υλικού των κλινικών δειγμάτων μέσω του οποίου μπορεί να καθορισθεί η αντοχή στα αντιβιοτικά. Βασικό τους πλεονέκτημα είναι η ταχύτητα μέχρι το αποτέλεσμα. Οι μέθοδοι αυτοί στηρίζονται στην τεχνική της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης του πραγματικού χρόνου. Ο μεγαλύτερος περιορισμός τους είναι το σημαντικό κόστος. Πιο διαδεδομένα είναι τα εμπορικά διαθέσιμα πάνελ μοριακού ελέγχου καλλιέργειών του αίματος του σηπτικού ασθενούς. Πιο συγκεκριμένα, μόλις θετικοποιηθεί η καλλιέργεια αίματος του ασθενούς, δείγμα από τη φιάλη της καλλιέργειας υποβάλλεται σε ταχεία μοριακή ανάλυση σε μεγάλο αριθμό μοριακών στόχων με σκοπό να ανιχνευθεί το είδος του παθογόνου και η ανίχνευση γονιδίων αντοχής.³ Μέσα στους μοριακούς στόχους περιλαμβάνονται οι CTX-M ESBL (πίν. 5).

Το βασικό ερώτημα που προκύπτει αφορά στις διαθέσιμες θεραπευτικές δυνατότητες όταν το αποτέλεσμα της ταχείας μοριακής ανάλυσης αναδείξει gram-αρνητικό παθογόνο που εκφράζει ESBL gram-αρνητικό. Υπάρχει απουσία μεγάλης κλίμακας τυχαίοποιημένων κλινικών δοκιμών που να μας κατευθύνουν στη σωστή επιλογή αντιβιοτικού σε αυτή την περίπτωση. Εμπειρικά συστήνεται η χορήγηση καρβαπενέμης γεγονός που αυξάνει τον κίνδυνο της ανάπτυξης ανθεκτικών στις καρβαπενέμες στελεχών. Υπάρχουν αρκετές μελέτες παρατήρησης, αναδρομικές και κοόρτης που προσπάθησαν να αποδείξουν τη μη κατωτερότητα

Πίνακας 5. Μοριακοί στόχοι που ανιχνεύονται στο σύστημα της πολυπλεκτικής αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης πραγματικού χρόνου σε δείγμα από φιάλη αίματος.

Gram αρνητικά βακτήρια	Gram θετικά βακτήρια	Μύκητες	Γονίδια αντιμικροβιακής αγωγής
<i>Acinetobacter calcoaceticus- baumannii icomplex</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Candida albicans</i>	Καρβαπανεμάσες
	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Candida auris</i>	IMP
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Candida glabrata</i>	KPC
<i>Enterobacteriales</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida krusei</i>	NDM
<i>Enterobacter cloacae cp.</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	OXA-48-like
<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	<i>Candida tropicalis</i>	VIM
<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Cryptococcus neoformans/gattii</i>	Αντοχή στην κολιστίνη
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>		<i>mcr-1</i>
<i>Proteus</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>		Ευρέος φάσματος β-λακταμάσες
<i>Salmonella</i>			CTX-M
<i>Serratia marcescens</i>			Αντοχή στη μεθικιλίνη
<i>Hemophilus influenzae</i>			<i>mecA/C</i>
<i>Neisseria meningitidis</i>			<i>mecA/C and MREJ</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			Αντοχή στη βανκομυκίνη
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>			<i>vanA/B</i>

των συνδυασμών β-λακταμών με αναστολέα λακταμασών συγκριτικά με τις καρβαπενέμες. Από αυτές το increment project οδήγησε στη δημιουργία μίας βαθμολογίας που αποσκοπεί να αξιολογήσει τον κίνδυνο δυσμενούς έκβασης ασθενούς με λοίμωξη από ESBL και ιδιαίτερα από στελέχη που παράγουν καρβαπενεμάσες KPC (*Klebsiella pneumoniae*-producing carbapenemase) (πίν. 6).⁴ Παράπλευρες *posthoc* αναλύσεις έδειξαν ότι έχουν θέση στη θεραπεία των ESBL και τα β-λακταμικά αντιβιοτικά σε συνδυασμό με αναστολέα β-λακταμάσης και αμινογλυκοσίδες.

Το 2018 δημοσιεύθηκαν τα αποτελέσματα της τυχαίοποιημένης κλινικής δοκιμής MERINO στην οποία συγκρίθηκε η κλινική έκβαση ασθενών με βακτηριαμμία από στελέχη *E. coli* και *Klebsiella pneumoniae* με αντοχή στην κεφοταξίμη

Πίνακας 6. Η βαθμολογία INCREMENT για την αξιολόγηση του κινδύνου θανάτου σε ασθενείς με λοιμώξεις από εντεροβακτηριακά που παράγουν KPC καρβαπενεμάσες. Κάθε ασθενής λαμβάνει ξεχωριστούς βαθμούς από την παρουσία κάθε παράγοντα κινδύνου. Συνολική βαθμολογία 8 ή μεγαλύτερη υποδεικνύει τους ασθενείς με το μεγαλύτερο κίνδυνο θανάτου.

	Βαθμοί
Σήψη ή σηπτική καταπληξία	5
Βαθμολογία βακτηριαμίας κατά PITT ≥ 6	4
Βαθμολογία συννοσηρότητων κατά Charlson ≥ 2	3
Βακτηριαμμία από εστία διαφορετική από τα χοληφόρα ή από το ουροποιητικό	3
Μη κατάλληλη αρχική εμπειρική αγωγή	2

που έλαβαν αγωγή με μεροπενέμη ($n=191$ ασθενείς) ή με πιπερακιλλίνη/ταζομπακτάμη ($n=188$ ασθενείς). Η μελέτη σχεδιάστηκε ως μελέτη μη κατωτερότητας και η ανάλυση απέτυχε να αναδείξει την μη κατωτερότητα των θεραπειών αφού η θνητότητα μετά από 30 ημέρες ήταν 3,7% και 12,3% αντίστοιχα.⁵ Τα αποτελέσματα αυτά επηρέασαν τις κατευθυντήριες συστάσεις ώστε σε ασθενείς με σηπτική καταπληξία και λοιμώξεις από στελέχη ανθεκτικά στις κεφαλοσπορίνες τρίτης γενεάς να χορηγούνται η μεροπενέμη και η ιμιπενέμη αλλά όχι η ερταπενέμη. Τα λοιπά αντιβιοτικά με τεκμηριωμένη δραστηριότητα επί στελεχών που παράγουν ESBL συστήνονται σε ασθενείς με μικρότερο κίνδυνο θανάτου ή με λοιμώξεις του ουροποιητικού. Στους βαρέως πάσχοντες με τεκμηριωμένη λοίμωξη από παθογόνο που παράγει ESBL οι υπόλοιπες κατηγορίες αντιβιοτικών όπως η κεφτολοζάνη/ταζομπακτάμη, οι φθοριοκινολόνες και η τριμεθοπρίμη-σουλφαμεθοξαζόλη συστήνονται στα πλαίσια της αποκλιμάκωσης σε λοιμώξεις εκτός του ουροποιητικού. Η πιπερακιλλίνη/ταζομπακτάμη συστήνεται μόνο στην απλή κυστίτιδα από παθογόνα που παράγουν ESBL.⁶

Τοποθετήσεις

E. Αντωνιάδου: Πιστεύετε ότι με τα υπάρχοντα κλινικά δεδομένα αρκεί το αποτέλεσμα της ταχείς μοριακής ανίχνευσης ώστε να κατευθύνει τη θεραπευτική;

A. Μπάκας: Εκτιμώ πως ναι αλλά πιστεύω ότι η επιβεβαίωση με τις κλασικές τεχνικές είναι αναγκαία.

Σ. Συμπάρδη: Στην περίπτωση λοίμωξης από εντεροβακτηριακό που παράγει ESBL θα προτιμούσατε σαν αρχική θεραπεία να δώσετε ερταπενέμη ή μεροπενέμη;

Α. Μπάκας: Η χορήγηση της ερταπενέμης, σύμφωνα με τις τρέχουσες οδηγίες, συστήνεται όταν ο ασθενής δεν είναι σε σηπτική καταπληξία.

Γ. Πουλάκου: Θα ήθελα να θέσω στην αξιολόγηση όλων πώς θα συμπεριφέρονταν θεραπευτικά σε ασθενή που η αρχική εμπειρική αγωγή με πιπερακιλλίνη/ταζομπακτάμη εκδηλώνει κλινικά αποτελεσματικότητα και πέντε ημέρες μετά την έναρξή της δίνεται αποτέλεσμα καλλιέργειας με ταυτοποίηση εντεροβακτηριακού που παράγει ESBL και εμφανίζει ενδιάμεση αντοχή στην πιπερακιλλίνη/ταζομπακτάμη.

Σ. Συμπάρδη: Ως θεραπευτής, λαμβάνοντας υπόψη την ευνοϊκή ανταπόκριση του ασθενούς, θα μεγιστοποιούσα την ημερήσια δοσολογία και θα ελάμβανα εκ νέου καλλιέργειες. Αν εργαστηριακά διαπιστωνόταν αποστείρωση του ασθενούς, δεν θα άλλαζα την αγωγή.

Ε. Αντωνιάδου: Θα ήθελα να υπογραμμίσω ότι σε περιβάλλον εντατικής θεραπείας σπανίως οι ασθενείς λαμβάνουν μονοθεραπεία. Σίγουρα, όμως, στη συγκεκριμένη περίπτωση πρέπει να ληφθούν εκ νέου καλλιέργειες και να διατηρηθεί το αντιβιοτικό μέχρι τα αποτελέσματα.

Βιβλιογραφία

- SADER HS, MENDES RE, STREIT JM, CARVALHAES CG, CASTANHEIRA M. Antimicrobial susceptibility of Gram-negative bacteria from intensive care unit and non-intensive care unit patients from United States hospitals (2018-2020). *Diagn Microbiol Infect Dis* 2022, 102:115557
- CWENGROS LN, MYNATT RP, TIMBROOK TT, MITCHELL R, SALIMNIA H, LEPHART P, ET AL. Minimizing time to optimal antimicrobial therapy for enterobacteriaceae bloodstream infections: a retrospective, hypothetical application of predictive scoring tools vs rapid diagnostics tests. *Open Forum Infect Dis* 2020, 7:ofaa278
- SCHEUERMAN O, SCHECHNER V, CARMELI Y, GUTIÉRREZ-GUTIÉRREZ B, CALBO E, ALMIRANTE B, ET AL. Comparison of predictors and mortality between bloodstream infections caused by ESBL-producing *Escherichia coli* and ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2018, 39:660-667
- RHOADS DD, POURNARAS S, LEBER A, BALADA-LLASAT JM, HARRINGTON A, SAMBRI V, ET AL. Multicenter evaluation of the BIO-FIRE blood culture identification 2 panel for detection of bacteria, yeasts, and antimicrobial resistance genes in positive blood culture samples. *J Clin Microbiol* 2023, 61: e0189122
- HARRIS PNA, TAMBYAH PA, LYE DC, MO Y, LEE TH, YILMAZ M, ET AL. Effect of piperacillin-tazobactam vs meropenem on 30-

day mortality for patients with *E coli* or *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection and ceftriaxone resistance: a randomized clinical trial. *JAMA* 2018, 320:984-994

- TAMMA PD, AITKEN SL, BONOMO RA, MATHERS AJ, VAN DUIN D, CLANCY CJ. Infectious Diseases Society of America 2022 guidance on the treatment of extended-spectrum β -lactamase producing Enterobacterales (ESBL-E), carbapenem-resistant Enterobacterales (CRE), and *Pseudomonas aeruginosa* with difficult-to-treat resistance (DTR-*P. aeruginosa*). *Clin Infect Dis* 2022, 75:187-212

ΠΩΣ ΘΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΤΩ ΤΟ ΠΑΘΟΓΟΝΟ ΠΟΥ ΠΑΡΑΓΕΙ KPC-2/-3;

Ε. Σιόμος

Μονάδα Εντατικής Θεραπείας, Γενικό Νοσοκομείο Θεσσαλονίκης «Ιπποκράτειο»
e-mail: elefsiomos@yahoo.gr

Περισσότερες από 13.000 νοσοκομειακές λοιμώξεις ετησίως συμβαίνουν στις ΗΠΑ από στελέχη εντεροβακτηριακών με αντοχή στις καρβαπενέμες (CRE) και θνητότητα που κυμαίνεται από 16 έως 78%. Η αντοχή αυτή αναπτύσσεται με δύο μηχανισμούς. Ο πρώτος μηχανισμός δεν αφορά στην παραγωγή καρβαπενεμασών και σχετίζεται με μεταλλάξεις στις πορίνες της εξωτάτης μεμβράνης των gram-αρνητικών παθογόνων. Ο δεύτερος μηχανισμών αφορά στην παραγωγή καρβαπενεμασών (πίν. 3). Οι καρβαπενεμάσες KPC υδρολύουν τα β-λακταμικά αντιβιοτικά, ενώ τα στελέχη που τις εκφράζουν είναι συνήθως ανθεκτικά και σε άλλα αντιβιοτικά. Έχουν περιγραφεί μέχρι σήμερα τουλάχιστον 13 παραλλαγές KPC ενώ πιο συχνά απομονώνονται η KPC-2 και η KPC-3. Σύμφωνα με δεδομένα των τελευταίων ετών από τις ΗΠΑ, 35% των CRE φέρουν κάποιο γονίδιο καρβαπενεμάσης και από αυτά τα γονίδια η πλειοψηφία αντιστοιχεί στα γονίδια της KPC.¹ Η ανάδυση αυτών των στελεχών περιγράφεται το 1996 στις ΗΠΑ και η σειρά των επιδημιολογικών αναφορών καθιστά τη διασπορά τους πιθανή μέσω της μετακίνησης των πληθυσμών.

Η στοχευμένη θεραπευτική αντιμετώπιση των λοιμώξεων από αυτά τα στελέχη περιλαμβάνει τη χορήγηση των συνδυασμών β-λακταμικών παραγώγων με αναστολείς των καρβαπενεμασών όπως η αβιμπακτάμη, η βαμπορμπακτάμη, η ρελεμπακτάμη και η νακουμπακτάμη.² Η αβιμπακτάμη και η ρελεμπακτάμη αναστέλλουν τις β-λακταμάσες των τάξεως A και C. Η βαμπορμπακτάμη από μόνη στερείται αντιμικροβιακής δραστηριότητας, αναστέλλει τις β-λακταμάσες των τάξεων A και C και σχεδιάστηκε ώστε να αναστέλλει τις KPC καρβαπενεμάσες.² Πρέπει

να τονισθεί ότι κανένας από αυτούς τους αναστολείς δεν αναστέλλει τις μεταλλο-β-λακταμάσες (MBL). Οι τρεις εμπορικά διαθέσιμοι συνδυασμοί β-λακταμικών παραγώγων με αναστολείς καρβαπενεμάσης είναι η κεφταζιντίμη-αβιμπακτάμη, η μεροπενέμη-βαμπορμπακτάμη και η ιμιπενέμη-σιλαστατίνη-ρελεμπακτάμη. Και οι τρεις αυτοί συνδυασμοί έχουν παρόμοιες ενδείξεις στις επιπλεγμένες λοιμώξεις του ουροποιητικού, στη νοσοκομειακή πνευμονία, στην πνευμονία που σχετίζεται με τη μηχανική αναπνοή και σε λοιμώξεις για τις οποίες δεν υπάρχει άλλη εναλλακτική θεραπεία βάσει του αντιβιογράμματος του ασθενούς. Ο πρώτος συνδυασμός που κυκλοφόρησε εμπορικά ήταν η κεφταζιντίμη-αβιμπακτάμη και ήδη περιγράφονται περιπτώσεις ασθενών με λοιμώξεις από CRE με αντοχή.³ Αυτό υποδηλώνει αναδυόμενο μελλοντικό κίνδυνο ανάπτυξης αντοχής στους τρεις νέους συνδυασμούς από την άσκοπη και υπερβολική χρήση τους.

Οι κυριότερες θέσεις που διατυπώνονται στις κατευθυντήριες συστάσεις της Εταιρείας Λοιμώξεων των ΗΠΑ είναι οι κάτωθι:⁴

- Η έγχυση της μεροπενέμης πρέπει να αποφεύγεται όταν υπάρχει θετική δοκιμασία καρβαπενεμάσης ακόμα και στην περίπτωση που η τιμή της ΕΑΠ υποδεικνύει ευαισθησία στη μεροπενέμη.
- Και οι τρεις συνδυασμοί αποτελούν εναλλακτικές επιλογές για την κυστίτιδα όμως υπάρχουν λίγα δεδομένα για το ποιος συνδυασμός υπερτερεί.
- Σε λοιμώξεις εκτός του ουροποιητικού συστήματος από CRE με αντοχή στην ερταπενέμη αλλά ευαίσθητο στη μεροπενέμη όπου δεν υπάρχει φαινοτυπική δοκιμασία για το είδος της καρβαπενεμάσης, συστήνεται η παρατεταμένη έγχυση της μεροπενέμης διάρκειας 3 ωρών σε κάθε δόση. Εναλλακτικά προτείνεται η κεφταζιντίμη-αβιμπακτάμη.
- Για λοιμώξεις εκτός του ουροποιητικού από CRE με αντοχή τόσο στην ερταπενέμη όσο και στη μεροπενέμη όπου δεν υπάρχει φαινοτυπική δοκιμασία για το είδος της καρβαπενεμάσης συστήνονται και οι τρεις νέοι συνδυασμοί. Σε ασθενείς οι οποίοι τους προηγούμενους 12 μήνες έχουν νοσηλευτεί ή έχουν λάβει ιατρική περίθαλψη σε κάποια χώρα στην οποία υπάρχει αυξημένος επιπολασμός CRE που εκφράζουν MBL προτείνεται ο συνδυασμός της κεφταζιντίμης με την αζτρεονάμη ή μονοθεραπεία με σεφιδεροκόλη.
- Για ασθενείς με τεκμηριωμένη λοίμωξη από CRE που παράγει KPC συστήνονται και οι τρεις νέοι συνδυασμοί. Παραμένει κύριο ερώτημα αν τα ανάλογα της τετρα-

κυκλίνης, όπως η τιγκεκυκλίνη, οι αμινογλυκοσίδες και η κολιστίνη πρέπει να συγχρηγοούνται. Τα ανάλογα της τετρακυκλίνης εμφανίζουν γρήγορη κατανομή στους ιστούς αλλά μειονεκτική κατανομή στο αίμα και στα ούρα οπότε δεν συστήνονται για τη θεραπεία των λοιμώξεων του ουροποιητικού ή των βακτηριαμιών. Τα κλινικά δεδομένα δεν αναδεικνύουν βελτιστοποίηση της κλινικής ωφέλειας με τη συνδυαστική αντιβιοτική αγωγή. Αντίθετα αυξάνεται ο κίνδυνος από τις παρενέργειες.⁵

Τοποθετήσεις

Σ. Συμπάρδη: Θα επιθυμούσα μία διευκρίνιση. Αν σε καλλιέργεια αίματος απομονωθεί CRE με θετική ένδειξη για την παραγωγή KPC σύμφωνα με την ανοσοχρωματογραφική μέθοδο, ποιον από τους τρεις συνδυασμούς θα επιλέξετε και γιατί.

Ε. Σίμος: Σύμφωνα με τα τρέχοντα δεδομένα και οι τρεις συνδυασμοί είναι εξίσου αποτελεσματικοί.

Σ. Συμπάρδη: Θα πρέπει να γίνει σύσταση διαφύλαξης της κεφταζιδίμης-αβιμπακτάμης από την υπερβολική χρήση καθόσον αποτελεί το μοναδικό από τους τρεις συνδυασμούς με δραστικότητα σε CRE που παράγουν OXA-48.

Ν. Μάρκου: Θα πρέπει να τονισθεί ότι και οι τρεις συνδυασμοί διατηρούν δραστικότητα σε στελέχη *Pseudomonas aeruginosa* με ευαισθησία στην καρβαπενέμη.

Ε. Μουλούδη: Πρέπει για τη μελλοντική αντιμετώπιση των ασθενών μας να λάβουμε υπόψη μας ότι οι συστάσεις από την Εταιρεία Λοιμώξεων των ΗΠΑ εκδόθηκαν στο 2022 και περιλαμβάνουν μικρό αριθμό τυχαιοποιημένων μελετών οι οποίες έλαβαν χώρα πριν την πανδημία. Η μεταβολή της επιδημιολογίας της αντοχής στα νοσοκομεία στην Ελλάδα μετά την πανδημία, στη διάρκεια της οποίας έγινε μεγάλη χρήση του συνδυασμού της κεφταζιντίμης-αβιμπακτάμης, δεν έχει περιγραφεί.

Βιβλιογραφία

1. MOUKTAROUDI M, KOTSAKI A, GIAMARELLOS-BOURBOULIS EJ. Meropenem-vaborbactam: a critical positioning for the management of infections by carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*. *Exp Rev Anti-Infect Ther* 2022, 20: 809–818
2. KARAIKOS I, GALANI I, SOULI M, GIAMARELLOU H. Novel β-lactam-β-lactamase inhibitor combinations: expectations for the treatment of carbapenem-resistant Gram-negative pathogens. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2019, 15:133–149
3. CASTANHEIRA M, DOYLE TB, HUBLER C, SADER HS, MENDES RD. Ceftazidime-avibactam activity against a challenge set of carbapenem-resistant *Enterobacterales*: Ompk36 L3 alterations

and β -lactamases with ceftazidime hydrolytic activity lead to elevated MIC values. *Int J Antimicrob Agents* 2020, 56: 106011

4. TAMMA PD, AITKEN SL, BONOMO RA, MATHERS AJ, VAN DUIN D, CLANCY CJ. Infectious Diseases Society of America 2022 guidance on the treatment of extended-spectrum β -lactamase producing Enterobacterales (ESBL-E), carbapenem-resistant Enterobacterales (CRE), and *Pseudomonas aeruginosa* with difficult-to-treat resistance (DTR-*P. aeruginosa*). *Clin Infect Dis* 2022, 75:187–21
5. KARAIKOS I, DAIKOS GL, GKOUFA A, ADAMIS G, STEFOS A, SYMBARDI S, ET AL. Ceftazidime/avibactam in the era of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: experience from a national registry study. *J Antimicrob Chemother* 2021, 76:775–783

ΠΩΣ ΘΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΤΩ ΤΟ ΠΑΘΟΓΟΝΟ ΠΟΥ ΠΑΡΑΓΕΙ MBL;

Μ. Καρβουνιάρης

Μονάδα Εντατικής Θεραπείας, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Θεσσαλονίκης «ΑΧΕΠΑ»
e-mail: karvmarevg@hotmail.com

Ο επιπολασμός της αντοχής μέσω της παραγωγής MBL είναι συχνότερος από ό,τι ίσως αναμένεται. Στην Ελληνική πραγματικότητα κυμαίνεται μεταξύ 22 και 26% των CRE στελεχών. Η αντιμετώπιση αυτών των στελεχών απαιτεί αφενός ταχεία διάγνωση της παρουσίας τους και αφετέρου την επιλογή της βέλτιστης θεραπείας βάσει του αντιβιογράμματος.¹ Η ταχεία διαγνωστική διευκολύνεται σήμερα σημαντικά από τις μοριακές διαγνωστικές τεχνικές όπως το BioFire Film Array που ανιχνεύει την παρουσία των γονιδίων *NDM*, *VIM* και *IMP* (πίνακες 3 και 4). Στην περίπτωση δείγματος πτυέλων, βρογχοκυψελιδικών εκκρίσεων ή βρογχοκυψελιδικού εκπλύματος η ανίχνευση των γονιδίων γίνεται άμεσα από το δείγμα εντός μίας ώρας. Υπάρχουν εναλλακτικές τεχνικές της πολυπλεκτικής PCR και ταχείας συνδρομικής διαγνωστικής και θέλουμε να δούμε τις δυνατότητές του με χρόνο μέχρι την εξαγωγή του αποτελέσματος στις 2,6 ώρες.² Σε πρόσφατη μελέτη, οι Banerjee et al τυχαίοι ανιχνεύσαν ασθενείς με βακτηριαμία στην ανάλυση βάσει των καθιερωμένων τεχνικών (n= 169), βάσει της πολυπλεκτικής PCR (n= 147) ή βάσει της πολυπλεκτικής PCR η οποία ακολουθήθηκε από επαγρύπνηση για την τροποποίηση ή μη των αντιβιοτικών (n= 165). Ο διάμεσος χρόνος μέχρι την τυποποίηση του παθογόνου μικροοργανισμού ήταν 22,3 ώρες στην ομάδα των καθιερωμένων καλλιιεργειών και 1,3 ώρες αντίστοιχα στις ομάδες της πολυπλεκτικής PCR.³

Στην περίπτωση της ανίχνευσης γονιδίων *NDM*, *VIM* και *IMP* θεραπεία εκλογής είναι η κεφιντεροκόλη σύμφω-

να με τις συστάσεις της Ευρωπαϊκής Εταιρείας Κλινικής Μικροβιολογίας και Λοιμώξεων.⁴ Εξίσου χρήσιμη είναι η αζτρεονάμη η οποία πρέπει να χορηγηθεί σε συνδυασμό με την κεφταζινίμη-αβιμπακτάνη. Υπάρχουν βέβαια και οι αμερικάνικες οδηγίες οι οποίες λένε ότι πρέπει να δώσεις κεφταζιδίνη-αβιμπακτάνη και αζτρεονάμη.

Ένας προβληματισμός είναι η ανίχνευση μέσω της πολυπλεκτικής PCR διαφορετικών β -λακταμασών τόσο MBL όσο και μη-MBL. Το φαινόμενο μπορεί να αποδοθεί στην παρουσία ή διαφορετικών στελεχών του ίδιου είδους με διαφορετικό γονότυπο αντοχής ή χαμηλού βακτηριακού φορτίου το οποίο οδηγεί σε ψευδώς θετικά αποτελέσματα. Η θεραπεία με κολιστίνη ενδείκνυται σε αυτή την περίπτωση.⁵

Βιβλιογραφία

1. PROTONOTARIOU E, MELETIS G, PILALAS D, MANTZANA P, TYCHALA A, KOTZAMANIDIS C, ET AL. Polyclonal endemicity of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in ICUs of a Greek tertiary care hospital. *Antibiotics* 2022, 11:149
2. BANERJEE, TENGCB, CUNNIGHAMSA, IHDESM, STECKELBERGJM, MORIARTYJP, ETAL. Randomized trial of rapid multiplex polymerase chain reaction-based blood culture identification and susceptibility testing. *Clin Infect Dis* 2015, 61:1071–1080
3. SEGISTAD S, MARKUSSEN D, GREWAL HMS, EBBESEN M, KOMMEDAL Ø, HEGGELUND E, ET AL. Rapid syndromic PCR testing in patients with respiratory tract infections reduces time to results and improves microbial yield. *Sci Rep* 2022, 12:326
4. PAUL M, CARRARA E, RETAMAR P, TÄNGDÉN T, BITTERMAN R, BONOMO RA, ET AL. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) guidelines for the treatment of infections caused by multidrug-resistant Gram-negative bacilli 2021. *Clin Microbiol Infect* 2022, 28:521–547
5. KOSAL K, AKAMATSU N, OTA K, MITSUMOTO-KASEIDA F, SAKAMOTO K, HASEGAWA H, ET AL. BioFireFilmArray pneumonia panel enhances detection of pathogens and antimicrobial resistance in lower respiratory tract specimens. *Ann Clin Microbiol Antimicrobial* 2022, 21:24

ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΛΟΙΜΩΞΕΩΝ ΑΠΟ ΣΤΕΛΕΧΗ ACINETOBACTER ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ ΜΟΡΙΑΚΟΥ ΑΝΤΙΒΙΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ

Δ.-Α. Μαρκαντωνάκη

Νέα Πολυδύναμη Μονάδα Εντατικής Θεραπείας, Γενικό Νοσοκομείο Νοσημάτων Θώρακος Αθηνών «Η Σωτηρία»
e-mail: despinamark@gmail.com

Οι λοιμώξεις από στελέχη *Acinetobacter* συνοδεύονται από υψηλή θνητότητα καθώς περισσότερο από 50% των

στελεχών από τη χώρα μας, την Ιταλία και την Ισπανία εμφανίζει αντοχή στις καρβαπενέμες.¹ Όταν ένας ασθενής εκδηλώσει λοίμωξη στη Μονάδα Εντατικής Θεραπείας, οι θεράποντες οφείλουν να ανιχνεύσουν το παθογόνο, να επιλέξουν το βέλτιστο αντιβιοτικό ή συνδυασμό αντιβιοτικών και ανάλογα με τα αποτελέσματα των καλλιιεργειών των βιολογικών υγρών να κάνουν αλλαγή ή αποκλιμάκωση της αγωγής, αλλά και να αποφασίσουν τη διάρκεια της θεραπείας. Η κλασική μικροβιολογία δίνει αποτελέσματα συνήθως σε περισσότερο από 48 ώρες ενώ πολλές φορές δεν απομονώνεται κάποιο παθογόνο. Η μοριακή βιολογία διαθέτει τεχνικές όπου σε δείγματα αίματος, βρογχικών εκκρίσεων, εγκεφαλονωτιαίου υγρού ή κοπράνων γίνεται εφικτό να εντοπισθεί το παθογόνο και να ανιχνευθούν γονίδια αντοχής. Όσον αφορά στις περιπτώσεις ασθενών με βακτηριαιμία, οι μοριακές μέθοδοι εφαρμόζονται εφόσον η καλλιέργεια αίματος είναι θετική οπότε δείγμα από τη θετική φιάλη χρησιμοποιείται για την ανίχνευση συγκεκριμένων γονιδιακών στόχων είτε πρωτεϊνών επιφάνειας του μικροβίου μέσω φασματομετρίας μάζας. Η μεθοδολογία της ανίχνευσης των γονιδιακών στόχων επιτρέπει την ανίχνευση στελεχών *Acinetobacter* (πίν. 4). Τα γονίδια έκφρασης των καρβαπενεμασών στα στελέχη *Acinetobacter* ανήκουν στην τάξη B των μεταλλο-β-λακταμασών και στην τάξη D των οξακιλλινασών (πίν. 3).

Η ακρίβεια του FilmArray BCID2 διαπιστώθηκε σε μελέτη όπου σε 103 μικρόβια που αναγνωρίστηκαν με τις κλασικές τεχνικές, η ειδικότητα και η ευαισθησία ανήλθε στο 99% αναφορικά με την αναγνώριση του παθογόνου και στο 100% αναφορικά με την αναγνώριση των γονιδίων αντοχής ενώ τα αποτελέσματα ήταν διαθέσιμα σε 70 λεπτά.² Προκειμένου για τις λοιμώξεις του κατώτερου αναπνευστικού τα αποτελέσματα είναι διαθέσιμα σε λιγότερο από 6 ώρες είτε στις βρογχικές εκκρίσεις είτε στο βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα είτε στα πτύελα όπου περιλαμβάνουν τον αριθμό των αντιγράφων των γονιδίων ανά κκχ υλικού. Ο αριθμός αυτός αναλογεί στον αριθμό των παθογόνων και το δείγμα θεωρείται θετικό όταν υπερβαίνει τον αριθμό των 10⁴ αντιγράφων ανά κκχ.

Αν οι ταχείες μοριακές τεχνικές αναδείξουν στέλεχος *Acinetobacter* και τα αντίστοιχα γονίδια αντοχής τότε μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να κατευθύνουν την αντιμικροβιακή αγωγή. Αν οι ταχείες μοριακές τεχνικές αναδείξουν στέλεχος *Acinetobacter* και δεν ανιχνευθούν γονίδια αντοχής τότε υπάρχουν τρία ενδεχόμενα: είτε πρόκειται για στέλεχος *Acinetobacter* ευαίσθητο στις β-λακτάμες, είτε πρόκειται για στέλεχος *Acinetobacter* με γονίδια αντοχής τα οποία δεν ανιχνεύει η συγκεκριμένη τεχνική, είτε πρόκειται για στέλεχος *Acinetobacter* το οποίο έχει αναπτύξει κι άλλους

μηχανισμούς αντοχής που δεν μπορούν να αναγνωριστούν.³ Στην περίπτωση αυτή επιλέγεται θεραπεία που έχει εμπειρικούς χαρακτήρες και πρέπει να ληφθούν υπόψη και άλλοι παράγοντες για λοίμωξη από πολυανθεκτικό στέλεχος όπως η βαρύτητα της νόσου και τα επιδημιολογικά δεδομένα της μονάδας. Αν ο άρρωστος δεν νοσεί βαριά και δεν είναι υψηλού κινδύνου για λοίμωξη από πολυανθεκτικό στέλεχος μπορεί να επιλεγεί μονοθεραπεία ανάμεσα στη μεροπενέμη, αμπικιλίνη-σουλβακτάμη και σιπροφλοξασίνη. Αν όμως υπάρχει υποψία για πολυανθεκτικό στέλεχος, τότε θα πρέπει να χορηγηθεί συνδυασμός με δύο αντιβιοτικά ειδικά επί νόσου με μέτρια ή σοβαρή βαρύτητα. Στην περίπτωση που ανιχνευτούν τα γονίδια αντοχής τότε η θεραπεία μπορεί να είναι πιο στοχευμένη. Έτσι αν ανιχνεύονται γονίδια που εκφράζουν τις καρβαπενεμάσες τάξης B η θεραπεία περιλαμβάνει την επιλογή της αζτρεονάμης, της κεφιντεροκόλης και της κολιστίνης. Αν ανιχνεύονται γονίδια που εκφράζουν τις καρβαπενεμάσες τάξης B η θεραπεία περιλαμβάνει την επιλογή της κεφιντεροκόλης και της κολιστίνης.

Σύμφωνα με τις κατευθυντήριες γραμμές της Εταιρείας Λοιμώξεων των ΗΠΑ η τιγκεκυκλίνη αναφέρεται ως μονοθεραπεία στην ήπια νόσο και σε συνδυασμό με τα άλλα αντιβιοτικά σε μέτρια ή σοβαρή νόσο. Η μεροπενέμη συνιστάται σε υψηλές δόσεις και μακρά διάρκεια έγχυσης αλλά μόνο σε συνδυασμό με την κολιμυκίνη. Η κεφιντεροκόλη είναι μία κεφαλοσπορίνη με ένδειξη στις λοιμώξεις από στέλεχος *Acinetobacter* ανθεκτικά στις καρβαπενέμες όχι όμως ως μονοθεραπεία αλλά σε συνδυασμό με την κολιστίνη.³

Σχετίζονται οι γονοτυπικοί δείκτες που παίρνουμε με τις μοριακές μεθόδους με τις φαινοτυπικές ευαισθησίες; Σε μία πρόσφατη μελέτη αποφασίσθηκε η χορήγηση αγωγής σε 66 ασθενείς με πνευμονία ή/και βακτηριαιμία από *Acinetobacter baumannii* με την εφαρμογή της μεθόδου MALDI-TOF και παράλληλη συμβουλευτική από ειδικούς λοιμωξιολόγους και συγκρίθηκε η έκβασή τους με 53 ασθενείς που ακολουθήθηκε η κλασική μικροβιολογία. Διαπιστώθηκε ότι μειώθηκε ο χρόνος μέχρι την έναρξη δραστικής θεραπείας⁸ στην ομάδα του MALDI-TOF, μειώθηκε η διάρκεια νοσηλείας, μειώθηκε το συνολικό κόστος αλλά δε διαπιστώθηκε διαφορά στη θνητότητα μετά από 14 ημέρες.⁴ Πρέπει να τονισθεί ότι η τεχνική FilmArray δίνει κατά 63% περισσότερο θετικά αποτελέσματα συγκριτικά με την κλασική μικροβιολογία. Το αποτέλεσμα αυτό δεν πρέπει να ερμηνεύεται ότι τα μικρόβια που απομονώνονται είναι παθογόνα. Αν είναι σε χαμηλό αριθμό αντιγράφων μπορεί να αφορούν σε βακτηριακό αποικισμό. Στην περίπτωση αυτή μπορεί να απαιτηθεί η χρήση βιοδεικτών όπως η προκαλιτονίνη για να αναδείξει την ενεργό λοίμωξη. Σε σειρά 122 ασθενών διαπιστώθηκε ότι στο 50% των καλλι-

εργειών που ήταν αρνητικές με την κλασική καλλιέργεια και θετικές με το FilmArray προηγήθηκε λήψη αντιβιοτικών.⁵ Όσον αφορά στα γονίδια αντοχής, υπήρχε 20% γενετική και φαινοτυπική ταύτιση για τα gram-αρνητικά παθογόνα. Η αποτυχία όμως ανίχνευσης γονιδίων δεν αποκλείει τη φαινοτυπική αντίσταση με άλλο μηχανισμό. Η ανίχνευση γονιδίων αντοχής όμως αυξάνει την πιθανότητα φαινοτυπικής αντίστασης στη συγκεκριμένη ομάδα αντιβιοτικών. Το ερώτημα που ανακύπτει είναι τι θα γινόταν στους αρρώστους με τη χρήση αυτών των μοριακών αποτελεσμάτων. Διαπιστώθηκε ότι στους μισούς από τους συμμετέχοντες θα γινόταν αποκλιμάκωση ή διακοπή κάποιου αντιβιοτικού ενώ σε 11 ασθενείς θα είχε ξεκινήσει πιο στοχευμένη θεραπεία 84 ώρες πιο γρήγορα.

Είναι εμφανές ότι απουσιάζουν συγκριτικά αποτελέσματα μεταξύ των μοριακών τεχνικών με την κλασική καλλιέργεια καθώς και ότι ο προσδιορισμός της ΕΑΠ των αντιβιοτικών εξακολουθεί να αποτελεί τον ακρογωνιαίο λίθο και είναι αυτό που θα σφραγίσει ή θα σταθεροποιήσει το αντιβιοτικό σχήμα. Κατά συνέπεια, μέχρι σήμερα, οι μοριακές τεχνικές είναι αρωγοί και αξιολογούνται πάντα σε συνδυασμό με τις κλασικές μεθόδους.

Βιβλιογραφία

1. TABAH A, KOULENTI D, LAUPLAND K, MISSET B, VALLES J, DE CARVALHO FB, ET AL. Characteristics and determinants of outcome of hospital-acquired bloodstream infections in intensive care units: the EUROBACT International Cohort Study. *Intensive Care Med* 2012, 38:1930–1945
2. HOLMA T, TORVIKOSKI J, FRIBERG N, NEVALAINEN A, ANTIKAINEN J, MARTELIN JJ. Rapid molecular detection of pathogenic microorganisms and antimicrobial resistance markers in blood cultures: evaluation and utility of the next-generation FilmArray Blood Culture Identification Panel 2. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2022, 41:363–371
3. TAMMA PD, AITKEN SL, BONOMO RA, MATHERS AJ, VAN DUIN D, CLANCY CJ. Infectious Diseases Society of America 2022 guidance on the treatment of extended-spectrum β -lactamase producing Enterobacterales (ESBL-E), carbapenem-resistant Enterobacterales (CRE), and *Pseudomonas aeruginosa* with difficult-to-treat resistance (DTR-*P. aeruginosa*). *Clin Infect Dis* 2022, 75:187–212
4. WENZLER E, GOFF DA, MANGINO JE, REED EE, WEHR A, BAUER KE. Impact of rapid identification of *Acinetobacter baumannii* matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry combined with antimicrobial stewardship in patients with pneumonia and/or bacteremia. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2016, 84:63–68
5. BUCHAN BW, WINDHAM S, BALADA-LLASAT JM, LEBER A, HARRINGTON A, RELICH R, ET AL. Practical comparison of the BioFire-FilmArray Pneumonia panel to routine diagnostic methods and potential impact on antimicrobial stewardship in adult

hospital patients with lower respiratory tract infections. *J Clin Microbiol* 2020, 58:e00135-20

ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΚΑΙ ΓΕΝΙΚΕΣ ΤΟΠΟΘΕΤΗΣΕΙΣ

Ε. Αντωνιάδου: Θα θέλατε σε κάθε δείγμα που στέλνεται στο εργαστήριο να υπάρχει δυνατότητα για μοριακή αναζήτηση και για μοριακό αντιβιογράμμα;

Ζ. Αλεξίου: Αυτό που κερδίζουμε είναι το γρήγορο αποτέλεσμα. Είναι εντούτοις σαφές ότι πρέπει στην επιλογή του αντιβιοτικού να λάβουμε υπόψη μας αναγκαστικά τη βαρύτητα του αρρώστου και τη την επιδημιολογία του νοσοκομείου. Όμως όλες οι μελέτες υποδεικνύουν σημαντική βοήθεια στην αντιμετώπιση του ασθενούς.

Σ. Συμπάρδη: Σύμφωνα με την τρέχουσα κλινική εμπειρία, πόσο ανταποκρίνονται τα αποτελέσματα της εξέτασης μοριακής αναζήτησης του παθογόνου και του μοριακού αντιβιογράμματος σε αυτά που δίνονται με τις συμβατικές τεχνικές;

Ε. Γκέκα: Η καθημερινή εμπειρία διδάσκει ότι δεν ταυτίζονται πάντα οι απαντήσεις. Εντούτοις η ταχύτητα της απάντησης παραμένει το πλέον σημαντικό πλεονέκτημα για τον ασθενή. Εκείνο που απουσιάζει είναι μία τυχαίοποιημένη μελέτη που να αποδεικνύει την κλινική ωφέλεια από τη χρήση των μοριακών τεχνικών.

Ε. Αντωνιάδου: Σύμφωνα με την καθημερινή κλινική εμπειρία από τα Ελληνικά νοσοκομεία, πόσο πιο γρήγορα είναι διαθέσιμα τα αποτελέσματα της εξέτασης μοριακής αναζήτησης του παθογόνου και του μοριακού αντιβιογράμματος συγκριτικά με τις κλασικές τεχνικές;

Β. Κουλούρας: Σε αρκετά νοσοκομεία, ακόμα και σε τριτοβάθμια, απουσιάζει η πρόσβαση σε αυτές τις τεχνικές. Σύμφωνα με όσα παρουσιάζονται από τη βιβλιογραφία η ταχύτητα του αποτελέσματος είναι ο σημαντικότερος παράγοντας για την εφαρμογή τους σε τακτική ρουτίνα.

Σ. Συμπάρδη: Τελικά πιστεύουμε ότι τα αποτελέσματα της εξέτασης μοριακής αναζήτησης του παθογόνου και του μοριακού αντιβιογράμματος βοηθούν να τροποποιήσετε την αγωγή των ασθενών σας;

Ν. Μάρκου: Όλη η εξέλιξη των μοριακών τεχνικών φαίνεται εξαιρετικά ελκυστική. Εντούτοις παραμένουν κριτικά σημεία που ακόμα δεν είναι ξεκαθαρισμένα. Οι περισσότερες μέθοδοι αναπτύχθηκαν σε κλινικά περιβάλλοντα διαφορετικά από τις Ελληνικές Μονάδες Εντατικής Θεραπείας (ΜΕΘ) ενώ σε πολλές περιπτώσεις στις μελέτες που αναλύθηκαν δεν περιλαμβάνονται

βαρέως πάσχοντες σε ΜΕΘ. Οι πληροφορίες που δίνουν αυτές οι εξετάσεις διαμορφώνουν ένα χρήσιμο πλαίσιο επιτρέποντας να διευρύνουμε το φάσμα της αρχικής εμπειρικής αγωγής ή ενδεχομένως να διακόψουμε ένα δυνητικά τοξικό αντιβιοτικό που αποτελούσε μέρος της εμπειρικής αγωγής. Η απόφαση αυτή όμως εξακολουθεί να επηρεάζεται από το συνολικό πλαίσιο της επιδημιολογίας της ΜΕΘ και από τα στοιχεία του ξενιστή. Απαιτούνται να γίνουν τυχαίοποιημένες μελέτες ώστε να ενισχυθούν οι ενδείξεις για τη χρήση των μοριακών τεχνικών στην απόφαση για την αποκλιμάκωση ή όχι της αγωγής.

Ε. Αντωνιάδου: Στην περίπτωση που λόγω υψηλού κόστους δεν μπορεί να εφαρμοστούν οι τεχνικές της μοριακής αναζήτησης του παθογόνου και του μοριακού αντιβιογράμματος σε κάθε ασθενή, ποια είναι τα κλινικά χαρακτηριστικά που επιθυμείτε να έχει ο ασθενής σας ώστε να ζητήσετε να γίνουν αυτές οι εξετάσεις;

Σ. Μεταλλίδης: Προτεραιότητα πρέπει να δοθεί στις θετικές καλλιέργειες αίματος, ιδιαίτερα επί σηπτικών ασθενών και στους ασθενείς που εισάγονται με προδιαθεσικούς παράγοντες για λοιμώξεις από ανθεκτικούς μικροοργανισμούς όπως, για παράδειγμα, είναι οι ασθενείς με πρόσφατη νοσηλεία. Δεν θα ενθάρρυνα τη χρήση τους στα δείγματα πτυέλων ενώ στους ασθενείς στη ΜΕΘ θα ενθάρρυνα τη χρήση στα δείγματα των βρογχοκυψελιδικών εκπλύσεων (BAL). Αντίθετα πρέπει να αντιμετωπίσει κανείς με σκεπτικισμό την ανάλυση στα δείγματα των βρογχικών εκκρίσεων όπου το ποσοστό του αποικισμού είναι υψηλό.

Γ. Χρύσος: Πρέπει να τονισθεί ότι η απόφαση για την χρήση των μοριακών τεχνικών απαιτεί την άμεση συνεργασία ανάμεσα στους κλινικούς ιατρούς και στους βιοπαθολόγους ή στους κλινικούς μικροβιολόγους. Εντούτοις θα υπογραμμίσω ότι απαιτούνται επιπλέον μελέτες σε πολύ μεγάλο αριθμό ασθενών ώστε να αξιολογηθούν η ευαισθησία και η ειδικότητα των νέων μοριακών τεχνικών με τις κλασικές καλλιέργειες τόσο ως προς την ακρίβεια τυποποίησης του παθογόνου όσο και ως προς το αντιβιογράμμα.

Ε. Μπελεσιώτου: Πρέπει να τονισθεί η ανάγκη της καθημερινής συνεργασίας ανάμεσα στον κλινικό λοιμωξιολόγο και στον κλινικό μικροβιολόγο ώστε να επιλεγούν τα δείγματα των ασθενών που θα υποβληθούν σε μοριακή ανάλυση ώστε να περιορισθεί το σημαντικό κόστος των μοριακών τεχνικών. Στην καθημερινή πράξη, εφόσον υπάρχει ενημέρωση για θετική καλλιέργεια αίματος, γίνεται χρώση gram του υλικού της φιάλης και ακολουθεί κατά προτεραιότητα μοριακή ανάλυση

για όλα τα δείγματα των θετικών φιαλών αίματος από ασθενείς της ΜΕΘ και των αιματολογικών μονάδων. Για τους υπόλοιπους ασθενείς ακολουθεί επικοινωνία των αποτελεσμάτων της χρώσης gram με τους κλινικούς και από τη συζήτηση αποφασίζεται σε ποια δείγματα θα εφαρμοστούν οι ταχείες μοριακές τεχνικές.

Σ. Συμπάρδη: Αν σε δείγμα BAL απομονωθεί με μοριακές τεχνικές εντεροβακτηριακό που εκφράζει MBL, τι θα κάνετε και πώς θα το αξιολογήσετε;

Ε. Μουλούδη: Το παράδειγμα του δείγματος BAL με την απομόνωση εντεροβακτηριακού που εκφράζει MBL είναι χαρακτηριστικό της ιατρικής ακριβείας. Αν ανιχνευθεί ο μικροοργανισμός σε περισσότερα από 10^4 αντίγραφα κκχ θα αξιολογηθεί ως παθογόνος.

Σ. Συμπάρδη: Αν σε δείγμα BAL απομονωθεί με μοριακές τεχνικές *Staphylococcus aureus*, τι θα κάνετε και πώς θα το αξιολογήσετε;

Π. Παναγόπουλος: Το παράδειγμα του δείγματος BAL με την απομόνωση *S. aureus* είναι ένα κλασικό παράδειγμα που θα έπρεπε πριν την μοριακή εξέταση να προηγηθεί συνεργασία ανάμεσα στον ιατρό της ΜΕΘ από όπου ελήφθηκε το BAL και στον κλινικό μικροβιολόγο. Η απόφαση για τη διενέργεια της εξέτασης με μοριακές τεχνικές προϋποθέτει την κλινική αξιολόγηση του ασθενούς. Η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων και η ερμηνεία αν πρόκειται για αποικισμό του αναπνευστικού ή όχι επηρεάζεται από την κλινική εικόνα του ασθενούς. Για να περιοριστεί η υπερβολική οικονομική δαπάνη, πρέπει η μοριακή αναζήτηση του παθογόνου στην συγκεκριμένη περίπτωση να γίνει μόνο εφόσον κριθεί κλινικά επιβεβλημένη.

Ε. Παραμυθιώτου: Η βέλτιστη διαθέσιμη εμπειρία από την καθημερινή πράξη προέρχεται από τις καλλιέργειες αίματος όπου η βοήθεια των αποτελεσμάτων των μοριακών τεχνικών είναι σημαντική για να τροποποιηθεί η αρχική εμπειρική αντιμικροβιακή αγωγή. Κατά συνέπεια, πρέπει να εφαρμόζονται ως προσέγγιση ρουτίνας σε όλες τις θετικές καλλιέργειες αίματος από ασθενείς σε ΜΕΘ.

Ε. Χριστάκη: Τα υπάρχοντα δεδομένα υποστηρίζουν αναμφίβολα τη χρήση των μοριακών τεχνικών σε εκείνους τους ασθενείς όπου η βράχυνση του χρόνου ως την ορθή επιλογή των αντιβιοτικών μπορεί να επηρεάσει την τελική πρόγνωση. Αυτό ισχύει για όλους τους βαρέως πάσχοντες είτε νοσηλεύονται σε ΜΕΘ είτε όχι. Οι μοριακές τεχνικές επιτρέπουν την έγκαιρη εφαρμογή στοχευμένης θεραπείας ώστε να μη χάνεται πολύτιμος χρόνος μέχρι την έναρξη των πλέον αποτελεσματικών

αντιβιοτικών. Εντούτοις παραμένει η ανάγκη τυχαιοποιημένων μελετών που να αναδεικνύουν τη δυνατότητα αποτελεσματικής αποκλιμάκωσης των αντιβιοτικών χρησιμοποιώντας τις νέες μοριακές τεχνικές.

Κατάλογος συζητητών

Ζωή Αλεξίου Διευθύντρια Β΄ Παθολογικής Κλινικής, Γενικό Νοσοκομείο Ελευσίνας «Θριάσιο»

Ελένη Αντωνιάδου Διευθύντρια Μονάδας Εντατικής Θεραπείας, Γενικό Νοσοκομείο Θεσσαλονίκης «Γ. Γεννηματάς»

Ελένη Γκέκα Διευθύντρια ΕΣΥ, Μονάδα Εντατικής Θεραπείας και Αναισθησιολογίας, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Θεσσαλονίκης ΑΧΕΠΑ

Βασίλειος Κουλούρας Καθηγητής Εντατικής Θεραπείας, Διευθυντής Μονάδας Εντατικής Θεραπείας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Νικόλαος Μάρκου Διευθυντής Μονάδας Εντατικής Θεραπείας «Λατσειού» Κέντρου Εγκαυμάτων, Γενικό Νοσοκομείο Ελευσίνας «Θριάσιο»

Συμεών Μεταλλίδης Καθηγητής Παθολογίας-Λοιμώξεων, Διευθυντής Α΄ Παθολογικής Κλινικής Ιατρικής Σχολής Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης

Ελένη Μουλούδη Διευθύντρια Μονάδας Εντατικής Θεραπείας, Γενικό Νοσοκομείο Θεσσαλονίκης «Ιπποκράτειο»

Ελένη Μπελεσιώτου Διευθύντρια ΕΣΥ, Κλινικός Μικροβιολόγος-Βιοπαθολόγος, Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών «Ο Ευαγγελισμός»

Περικλής Παναγόπουλος Αναπληρωτής Καθηγητής Παθολογίας, Β΄ Παθολογική Κλινική Ιατρικής Σχολής Δημοκriteίου Πανεπιστημίου Θράκης

Ελισάβετ Παραμυθιώτου Διευθύντρια ΕΣΥ, Β΄ Κλινική Εντατικής Θεραπείας Ιατρικής Σχολής Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών

Γαρυφαλλιά Πουλάκου Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παθολογίας-Λοιμώξεων, Γ΄ Παθολογική Κλινική Ιατρικής Σχολής Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών

Στυλιανή Συμπάρδη Διευθύντρια Α΄ Παθολογικής Κλινικής, Γενικό Νοσοκομείο Ελευσίνας «Θριάσιο»

Ειρήνη Χριστάκη Επίκουρη Καθηγήτρια Παθολογίας-Λοιμώξεων, Α΄ Παθολογική Κλινική Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Γεώργιος Χρύσος Διευθυντής Β΄ Παθολογική Κλινικής-Μονάδας Ειδικών Λοιμώξεων, Γενικό Νοσοκομείο Πειραιά «Τζάνειο»