



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

«ΠΡΟΛΗΨΗ ΚΑΙ ΕΛΕΓΧΟΣ ΚΛΙΝΙΚΑ ΣΟΒΑΡΩΝ ΛΟΙΜΩΞΕΩΝ ΣΕ ΜΟΝΑΔΕΣ
ΥΓΕΙΑΣ»

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**«Επίπτωση και νοσηρότητα ασθενών με λοίμωξη του κατώτερου
αναπνευστικού από πολυανθεκτική Ψευδομονάδα»**

Ονοματεπώνυμο Μεταπτυχιακής Φοιτήτριας:

Μπισμπιγιάννη Στεφανία

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Τσολάκη Βασιλική, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Εντατικής Θεραπείας, Επιβλέπουσα Καθηγήτρια

Πανταζόπουλος Ιωάννης, Αναπληρωτής Καθηγητής - Επείγουσας Ιατρικής, Μέλος Τριμελούς Επιτροπής

Μακρής Δημοσθένης, Καθηγητής Εντατικής Θεραπείας, Μέλος Τριμελούς Επιτροπής

Λάρισα 2024



UNIVERSITY OF THESSALY
SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

DEPARTMENT OF MEDICINE
MASTER'S DEGREE PROGRAMM



«PREVENTION AND MANANEGEMENT OF CRITICAL INFECTIONS IN HEALTH
UNITS»

POST GRADUATE THESIS

**“Incidence and morbidity of patients with lower respiratory tract
infection due to multidrug-resistant Pseudomonas”**

Περιεχόμενα

Περιεχόμενα	3
Ευχαριστίες	4
Περίληψη.....	5
Abstract	6
Εισαγωγή.....	7
Γενικό Μέρος	9
Κεφάλαιο 1 ^ο : Βασικά χαρακτηριστικά <i>P. aeruginosa</i>	9
1.1 Ορισμός και ταξινόμηση	9
1.2 Δομή και μορφολογικά χαρακτηριστικά	9
1.3 Επιδημιολογικά στοιχεία	12
1.4 Μετάδοση, κλινική επίδραση και παράγοντες κινδύνου.....	17
Κεφάλαιο 2 ^ο : Κλινικά ευρήματα, διαχείριση και πρόληψη λοιμώξεων του αναπνευστικού	20
2.1 Διάγνωση.....	20
2.2 Διαχείριση και αντιμετώπιση	25
2.3 Νέες θεραπευτικές στρατηγικές	27
2.4 Έλεγχος και Πρόληψη Λοιμώξεων	32
Κεφάλαιο 3 ^ο : Παθογένεση των λοιμώξεων και αντιβιοτική αντίσταση.....	34
3.1 Πορεία της λοίμωξης.....	34
3.2 Εγγενής αντιβιοτική αντίσταση.....	35
3.3 Επίκτητη αντιβιοτική αντίσταση	36
3.4 Προσαρμοστική αντιβιοτική αντίσταση.....	37
Ειδικό Μέρος.....	41
Κεφάλαιο 4 ^ο : Υλικό και Μέθοδοι	41
4.1 Σκοπός.....	41
4.2 Ερευνητικός σχεδιασμός	41
4.3 Συλλογή δεδομένων	41
4.4 Μεθοδολογία	41
Κεφάλαιο 5 ^ο : Αποτελέσματα.....	44
5.1 Δημογραφικά δεδομένα & πορεία της νόσου.....	44
5.2 Απομονώσεις & αντιβιοτική κάλυψη.....	47
5.3 Έκβαση της νόσου.....	51
Συζήτηση.....	54
Βιβλιογραφικές αναφορές	56

Ευχαριστίες

Η εκπόνηση της παρούσας διπλωματικής εργασίας, πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια του προγράμματος μεταπτυχιακών σπουδών «Πρόληψη και Έλεγχος Κλινικά Σοβαρών Λοιμώξεων σε Μονάδες Υγείας», του τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Επιθυμώ να εκφράσω τις ευχαριστίες μου σε όλους εκείνους που με την άμεση ή έμμεση συμβολή τους ολοκληρώθηκε η παρούσα εργασία και κατά συνέπεια οι μεταπτυχιακές σπουδές μου.

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω την επιβλέπουσα καθηγήτριά μου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Εντατικής Θεραπείας, Βασιλική Τσολάκη. Η καθοδήγηση, η υποστήριξη, και οι συμβουλές της αποτέλεσαν ουσιαστική βοήθεια στην εκπόνηση της παρούσας εργασίας, συμβάλλοντας ποικιλοτρόπως στην ολοκλήρωσή της.

Θα ήθελα ακόμα να ευχαριστήσω τους συναδέλφους μου στο Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Λάρισας για την έμπρακτη βοήθειά τους στη βελτίωση της παρούσας εργασίας.

Τέλος, νιώθω την ανάγκη να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον σύντροφό μου, την οικογένεια και τους φίλους μου για την αγάπη, την κατανόηση και την αμέριστη υποστήριξή τους.

Περίληψη

Εισαγωγή: Οι ανθεκτικές στα αντιβιοτικά λοιμώξεις αποτελούν μείζον πρόβλημα δημόσιας υγείας στις Μονάδες Εντατικής Θεραπείας παγκοσμίως. Η *Pseudomonas aeruginosa* είναι ένα πανταχού παρόν Gram-αρνητικό βακτήριο με αξιοσημείωτη προσαρμοστικότητα. Προκαλεί κλινικά σοβαρές ευκαιριακές λοιμώξεις σε βαρέως πάσχοντες ή μετεγχειρητικούς ασθενείς, καθώς και ασθενείς με χρόνιες αναπνευστικές παθήσεις (π.χ. κυστική ίνωση).

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η διερεύνηση της επίπτωσης και της νοσηρότητας σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς με λοίμωξη του κατώτερου αναπνευστικού συστήματος από πολυανθεκτική Ψευδομονάδα.

Μεθοδολογία: Η παρούσα διατριβή αποτελεί ερευνητική μελέτη. Πραγματοποιήθηκε αναζήτηση στο αρχείο της Μονάδας Εντατικής Θεραπείας του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας για την χρονική περίοδο Ιανουαρίου-Δεκεμβρίου 2023, καθώς και στην πληροφοριακή βάση δεδομένων του νοσοκομείου (Ασκληπιός). Κύριο κριτήριο ένταξης αποτέλεσε η θετική καλλιέργεια *P. aeruginosa* από δείγματα βρογχικών εκκρίσεων. Για τεκμηρίωση, πραγματοποιήθηκε αναζήτηση στην ελληνική και διεθνή βιβλιογραφία και βάσεις δεδομένων όπως PubMed, WHO και Google Scholar, με χρονικό αποκλεισμό δημοσίευσης πριν το 2019. Η επιλογή των άρθρων πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια όρων όπως «*P. aeruginosa*», «Μονάδα Εντατικής Θεραπείας», «Κατώτερο αναπνευστικό», «Λοίμωξη» και «Αντιβιοτική αντίσταση», συνδυαστικά με τους αντίστοιχους αγγλικούς όρους.

Αποτελέσματα: Οι λοιμώξεις του κατώτερου αναπνευστικού αποτελούν ουσιαστικό πρόβλημα υγειονομικής περίθαλψης στις αναπτυσσόμενες χώρες και συνδέονται με αυξημένα ποσοστά θνησιμότητας. Η *P. aeruginosa* συνοδεύεται από μεγαλύτερη επίπτωση και νοσηρότητα στο ανδρικό φύλο σε σχέση με το γυναικείο, ενώ η ηλικιακή ομάδα 65 ετών και άνω χαρακτηρίζεται από υψηλή νοσηρότητα. Η κολιστίνη φαίνεται πολλά υποσχόμενη για την αντιμετώπιση των MDR λοιμώξεων *P. aeruginosa*, είτε μεμονωμένα, είτε συνδυαστικά.

Συμπεράσματα: Η εκρίζωση του βακτηρίου καθίσταται δύσκολη λόγω της ικανότητάς του να αντιστέκεται στα αντιβιοτικά. Οι κύριοι μηχανισμοί αντιβιοτικής αντίστασης ταξινομούνται σε εγγενή, επίκτητη και προσαρμοστική αντίσταση. Η κατανόηση των παραγόντων κινδύνου μπορεί να συμβάλει στην πρόληψη και την αντιμετώπιση της πολυανθεκτικής *P. aeruginosa*.

Λέξεις – κλειδιά: *Pseudomonas aeruginosa*, Μονάδα Εντατικής Θεραπείας, Κατώτερο αναπνευστικό, Λοίμωξη, Αντιβιοτική αντίσταση

Abstract

Background: Multidrug-resistant infections are a major public health care problem in Intensive Care Units worldwide. *Pseudomonas aeruginosa* is a ubiquitous Gram-negative bacterium with remarkable adaptability. It causes clinical serious opportunistic infections in critically ill or postoperative patients, as well as patients with chronic respiratory diseases (e.g. cystic fibrosis).

Aim of this thesis is the investigation of the incidence and the morbidity in critically ill patients with lower respiratory tract infection caused by multidrug-resistant *Pseudomonas*.

Methodology: This thesis is a research study. A search was conducted in the archive of the Intensive Care Unit of the University General Hospital of Larissa for the period January-December 2023, as well as in the hospital's information database (Asclepius). The main inclusion criterion was the positive culture of *P. aeruginosa* of bronchial secretions samples. For documentation, a review was conducted in Greek and international bibliography and databases such as PubMed, WHO and Google Scholar, with a time exclusion of publication before 2019. The selection of articles was carried out using terms such as "*P. aeruginosa*", "Intensive Care Unit", "lower respiratory tract", "infection" and "antibiotic resistance", combined with the corresponding English terms.

Results: Lower respiratory tract infections are a significant health care problem in developing countries and there are often associated with increased mortality rates. *P. aeruginosa* is associated with a higher incidence and morbidity in males than in females, while the age group 65 years and older is characterized by high morbidity. Colistin appears promising for the treatment of MDR *P. aeruginosa* infections, either individually or in combination.

Conclusions: Eradicating the bacterium is a difficult task due to its ability to resist antibiotics. The main mechanisms of antibiotic resistance are classified into innate, acquired and adaptive resistance. Understanding the risk factors may contribute to the prevention and treatment of multidrug-resistant *P. aeruginosa*.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, Intensive Care Unit, Lower respiratory tract, Infection, Antibiotic Resistance

Εισαγωγή

Η *Pseudomonas aeruginosa* αποτελεί ένα πανταχού παρών Gram-αρνητικό ευκαιριακό βακτήριο, το οποίο προσβάλλει κατά κύριο λόγο βαρέως πάσχοντες ασθενείς Μονάδων Εντατικής Θεραπείας και μονάδων αυξημένης φροντίδας, ανοσοκατεσταλμένους ή μετεγχειρητικούς ασθενείς, καθώς και ασθενείς με συγκεκριμένες παθολογίες όπως εγκαύματα, σακχαρώδη διαβήτη ή κυστική ίνωση, λοιμώξεις του ουροποιητικού και του αναπνευστικού συστήματος. Αποτελεί ένα από τα πιο κοινά βακτήρια υπεύθυνα για την εμφάνιση λοιμώξεων της κοινότητας (*Community Acquired Infections, CAIs*) καθώς και λοιμώξεων που σχετίζονται με την υγειονομική περίθαλψη (*Hospital Acquired Infections, HAIs*) συμπεριλαμβανομένων της νοσοκομειακής πνευμονίας (*Hospital Acquired Pneumonia, HAP*) και της πνευμονίας που σχετίζεται με τον αναπνευστήρα (*Ventilator-associated pneumonia, VAP*). Σπάνια επηρεάζει υγιή άτομα ή φυσιολογικούς ξενιστές. Από την πληθώρα τύπων Ψευδομονάδας, η *Pseudomonas aeruginosa* είναι η πιο απειλητική για την ζωή και επιζήμια για τον άνθρωπο, λόγω της αξιοσημείωτης προσαρμοστικότητάς της. Είναι δυνατόν να επιβιώσει υπό ένα ευρύ φάσμα περιβαλλοντικών συνθηκών, ακόμα και στον κλινικό χώρο, προκαλώντας κλινικά σοβαρές λοιμώξεις κυρίως ασθενείς με εξασθενημένο ανοσοποιητικό σύστημα. Ως αποτέλεσμα, επηρεάζεται αρνητικά η κατάσταση της υγείας, αυξάνεται η διάρκεια παραμονής στο νοσοκομείο, καθώς και το κόστος υγειονομικής περίθαλψης. Εκτός των άλλων, η Ψευδομονάδα είναι άμεσα συσχετισμένη μια μία ευρεία ποικιλία ευκαιριακών λοιμώξεων, συμπεριλαμβανομένων της μηνιγγίτιδας, της ενδοκαρδίτιδας, της σήψης, της νεκρωτικής αγγειίτιδας και λοιμώξεων τραυμάτων των χειρουργικού πεδίου (Ponce, et al., 2020; Horna & Ruiz, 2021; Ruijgrok, et al., 2023; Tsilipounidaki, et al., 2023).

Η πολυανθεκτική (*Multi-drug resistant, MDR*), η εκτενώς ανθεκτική (*Extensively drug-resistant, XDR*) ή (νεότερος όρος που χρησιμοποιείται) με δύσκολη στη θεραπεία αντοχή) και η πλέον παν-ανθεκτική (*Pandrug Resistant, PDR*) *Pseudomonas aeruginosa* προμηνύουν υψηλή επίπτωση, νοσηρότητα και θνησιμότητα στους βαρέως πάσχοντες ασθενείς. Σύμφωνα με το Ευρωπαϊκό Κέντρο Πρόληψης και Ελέγχου Νοσημάτων (*European Centre for Disease Prevention and Control, ECDC*), «MDR» χαρακτηρίζονται τα στελέχη τα οποία παρουσιάζουν ανθεκτικότητα σε τουλάχιστον έναν παράγοντα τριών ή περισσότερων αντιβιοτικών κατηγοριών. Ως «XDR» χαρακτηρίζονται τα στελέχη που παρουσιάζουν ανθεκτικότητα σε τουλάχιστον έναν παράγοντα σε όλες εκτός από δύο ή λιγότερες αντιβιοτικές κατηγορίες, ενώ «PDR» χαρακτηρίζεται η ανθεκτικότητα σε όλες τις αντιβιοτικές κατηγορίες ανεξαιρέτα. Οι λοιμώξεις της κατώτερης αναπνευστικής οδού (*Lower Respiratory Tract Infections, LRTIs*) που προκαλούνται από MDR *P. aeruginosa* προκαλούν σοβαρή ανησυχία στην παγκόσμια υγειονομική κοινότητα και αποτελούν σημαντικό δείκτη κακής πρόγνωσης (Ding, et al., 2016; Pappa, et al., 2020; Holger et al., 2022). Η *P. aeruginosa* αποτελεί ένα από τα πιο κοινά παθογόνα βακτήρια που προκαλούν χρόνια αποικισμό και LRTIs, ειδικά σε άτομα με χρόνιες φλεγμονώδεις ασθένειες των αεραγωγών, όπως π.χ. άσθμα, κυστική ίνωση και Χρόνια Αποφρακτική Πνευμονοπάθεια (ΧΑΠ) (Garcia-Clemente et al., 2020). Στους πληθυσμούς υψηλού κινδύνου ανάπτυξης MDR/XDR/PDR λοιμώξεων, συμπεριλαμβάνονται και οι ασθενείς που εισήχθησαν σε ΜΕΘ το προηγούμενο έτος, ασθενείς με κάποια χρόνια νόσο του αναπνευστικού, καθώς και ασθενείς που έλαβαν αντιβιοτική αγωγή τις προηγούμενες 90 ημέρες (Kunz, et al., 2022). Συνεπώς, η προηγούμενη χρήση αντιβιοτικών, η πρόσφατη νοσηλεία σε ΜΕΘ και οι χρόνιες συννοσηρότητες αποτελούν σημαντικούς προγνωστικούς παράγοντες για την ανάπτυξη MDR στελεχών *P. aeruginosa*. Η πλήρης κατανόηση των παραγόντων κινδύνου είναι ουσιαστικής σημασίας για την κατάλληλη πρόληψη και την αντιμετώπιση της Ψευδομονάδας. Σε αυτή τη προσπάθεια μπορεί να συμβάλει και η ανάπτυξη νέων καινοτόμων προληπτικών και θεραπευτικών στρατηγικών προσεγγίσεων έναντι της *P. aeruginosa*, μέσω της διεξαγωγής νέων ερευνών (Pang, et al., 2018; Ponce, et al., 2020; Pandey, 2023).

Η εκρίζωση της *P. aeruginosa* καθίσταται όλο και πιο δύσκολη λόγω της αξιοσημείωτης ταχύτητας και ικανότητάς της να αντιστέκεται στα αντιβιοτικά. Συγκεκριμένα, τα βακτηριακά στελέχη χρησιμοποιούν

εγγενείς και επίκτητους μηχανισμούς αντοχής στην αντιμετώπιση μεγάλου μέρους των αντιβιοτικών, ένας εκ των οποίων είναι υπεύθυνος για την δημιουργία βιομεμβρανών. Η προσαρμοστική ικανότητα της Ψευδομονάδας στα αντιβιοτικά οφείλεται κατά ένα μεγάλο βαθμό στις βιομεμβράνες, έναν σχηματισμό επίμονων ανθεκτικών κυττάρων υπεύθυνο για την υποτροπή σοβαρών λοιμώξεων. Στην αντιβιοτική αντίσταση συμβάλλουν σημαντικά και η χαμηλή εξωκυτταρική διαπερατότητα, η παρουσία ενζύμων τροποποίησης των αντιβιοτικών, ο μηχανισμός των αντλιών εκροής και τα γονίδια ανθεκτικότητας που αποκτώνται μέσω οριζόντιας μεταφοράς (Pang, et al., 2018; Hermann, et al., 2023; Pandey, 2023). Η θεραπεία των λοιμώξεων που προκαλούνται από την *P. aeruginosa* καθίσταται μεγάλη πρόκληση, χάρη στην εξαιρετική ικανότητά της να αντιστέκεται σε πολλά από τα επί του παρόντος διαθέσιμα αντιβιοτικά. Μάλιστα, ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας κατέταξε πρόσφατα την ανθεκτική στην καρβαπενέμη *P. aeruginosa* (CR-PA) ως ένα από τα τρία βακτηριακά είδη κρίσιμης ανάγκης για την ανάπτυξη νέων αντιβιοτικών παραγόντων (Pang, et al., 2018). Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας έχει ταξινομήσει την *P. aeruginosa* και μεταξύ μίας κατηγορίας μικροοργανισμών που προκαλούν ιδιαίτερη ανησυχία, του λεγόμενου ακρωνυμίου «ESKAPE» το οποίο περιλαμβάνει τα εξής ευκαιριακά παθογόνα: *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* και *Enterobacter spp.*, ή «ESKAPE-E» συμπεριλαμβανομένου και του *Escherichia coli* (Horna & Ruiz, 2021; Tsilipounidaki, et al., 2023). Η εμπειρική αντιβιοτική θεραπεία περιλαμβάνει είτε μονοθεραπεία, είτε θεραπεία συνδυασμού. Σε κάθε περίπτωση συνιστάται προσοχή, καθώς η υπερβολική χρήση αντιβιοτικών επιφέρει τα αντίθετα αποτελέσματα, επιταχύνοντας την ανάπτυξη πολυανθεκτικών στελεχών και προκαλώντας έτσι μείωση της αποτελεσματικότητας της εμπειρικής αντιβιοτικής θεραπείας έναντι του βακτηρίου (Pang, et al., 2018; Pandey, 2023).

Βασικό ερευνητικό ερώτημα της παρούσας διπλωματικής εργασίας αποτελεί η διερεύνηση της επίπτωσης και της νοσηρότητας σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς με λοίμωξη του κατώτερου αναπνευστικού συστήματος από πολυανθεκτική Ψευδομονάδα. Η παρούσα μελέτη επιχειρεί την εκτίμηση εάν και κατά πόσο οι βαρέως πάσχοντες ασθενείς ΜΕΘ παρουσιάζουν κατά την διάρκεια μίας δεδομένης χρονικής περιόδου λοίμωξη από Ψευδομονάδα, καθώς και την παράθεση των χαρακτηριστικών του δείγματος από τα οποία εξαρτάται. Επιμέρους στόχοι αποτελούν ο προσδιορισμός των παραγόντων κινδύνου για την ανάπτυξη λοίμωξης της κατώτερης αναπνευστικής οδού από *P. aeruginosa*, η διερεύνηση της αντιβιοτικής κάλυψης, καθώς και η παράθεση των συνλοιμογόνων παραγόντων και οξέων καταστάσεων (π.χ. SHOCK).

Γενικό Μέρος

Κεφάλαιο 1^ο: Βασικά χαρακτηριστικά *P. aeruginosa*

1.1 Ορισμός και ταξινόμηση

Η Ψευδομονάδα (επιστημονική ονομασία «*Pseudomonas*») είναι ένα ευρέως αναγνωρισμένο βακτηριακό γένος αρνητικής χρώσης Gram (*Gram-Negative stain Bacteria, GNB*). Από τους πολλούς τύπους βακτηρίων Ψευδομονάδας, το πιο επιζήμιο για τον άνθρωπο είναι η «Ψευδομονάδα η πυογόνος» ή αλλιώς ο αντίστοιχος αγγλικός όρος «*Pseudomonas aeruginosa*». Ανακαλύφθηκε για πρώτη φορά το 1882 από τον Carle Gessard, ενώ η αλληλουχία της αναλύθηκε για πρώτη φορά στις αρχές της δεκαετίας του 2000 (Pandey, 2023). Εκτός από το είδος *P. aeruginosa*, το γένος *Pseudomonas* διαθέτει πάνω από 140 είδη, εκ των οποίων πάνω από 25 σχετίζονται με την ανάπτυξη ευκαιριακών λοιμώξεων στον άνθρωπο. Πρόκειται για είδη όπως *P. fluorescens*, *P. cepacia*, *P. putida*, *P. maltophilia*, *P. stutzeri*, *P. putrefaciens* κ.α. Η πλειοψηφία ανιχνεύσεων των κλινικών δειγμάτων (περίπου 80%) αφορά τα είδη *Pseudomonas aeruginosa* και *Pseudomonas maltophilia*. Λόγω μεγαλύτερης συχνότητας και θνητότητας, την μεγαλύτερη προσοχή έχει λάβει το *P. aeruginosa* (Baron, 1996).

Η *P. aeruginosa* είναι ένα ραβδοειδές, σε σχήμα βάκιλλου κινητό βακτήριο, με εκτεταμένη κάψουλα πολυσακχαρίτη και ανήκει στην οικογένεια *Pseudomonadaceae*. Έχει μεγάλο εύρος ανοχής στη θερμοκρασία, με δυνατότητα ανάπτυξης από τους 25°C έως και 37°C, ενώ είναι σε θέση να αναπτυχθεί αργά ή τουλάχιστον να επιβιώνει σε ένα ευρύ φάσμα περιβαλλοντικών συνθηκών, ακόμα και σε χαμηλότερες ή υψηλότερες θερμοκρασίες. Η μοναδική ικανότητά της να ευδοκιμεί στους 42°C, διακρίνει τη *P. aeruginosa* από τα υπόλοιπα είδη *Pseudomonas*. Είναι ευρέως διαδεδομένη στο περιβάλλον και είναι δυνατόν να αναπτυχθεί στο έδαφος, στα φυτά, σε κοινές τροφές και σε υγρά περιβάλλοντα, ενώ μπορεί να μολύνει μαλακούς ιστούς, οργανικά συστήματα και το δέρμα. Απομονώνεται σε δείγματα και απεκκρίσεις ζώων και ανθρώπων και μπορεί να αποικιστεί και στη συνέχεια να μολύνει σχεδόν κάθε σημείο του σώματος που υπόκειται σε τραυματισμό (π.χ. πληγές, εγκαύματα, χειρουργικά τραύματα). Στον άνθρωπο, στο περιβάλλον τις κοινότητες είναι δυνατόν να αποικήσει υγρά περιβάλλοντα όπως νεροχύτες, πισίνες, τουαλέτες και υγρά φακών επαφής, ενώ στο νοσοκομειακό περιβάλλον, εξοπλισμό μηχανικού αερισμού, ενδοτραχειακούς σωλήνες, εξοπλισμό αιμοκάθαρσης και απολυμαντικά διαλύματα. Αξιοσημείωτο χαρακτηριστικό αποτελεί και η ικανότητα ανάπτυξής της σε απεσταγμένο νερό (Tang, et al., 2015). Η ικανότητα επιβίωσης σε χώρους και εγκαταστάσεις κλινικής φροντίδας, συνδυαστικά με την δύσκολη διάγνωση και θεραπεία, καθιστά την *P. aeruginosa* σημαντικό νοσοκομειακό κίνδυνο. Παράλληλα, αν και δεν ανήκει στην φυσιολογική χλωρίδα του ανθρώπου, η ανίχνευση του βακτηρίου δεν είναι ασυνήθιστη στην περιοχή του ρινοφάρυγγα ή σε δείγματα αίματος, πλεγμών ή ούρων.

Η υψηλή επίπτωση που χαρακτηρίζει την *P. aeruginosa*, οφείλεται κατά κύριο λόγο στην ύπαρξη υποκείμενων νοσημάτων και στην εξασθενημένη άμυνα του βαρέως πάσχοντα ασθενή, συνδυαστικά με την βακτηριακή αντιβιοτική αντίσταση, καθώς και την παραγωγή εξωκυτταρικών βακτηριακών ενζύμων και τοξινών (Baron, 1996; Tang, et al., 2015).

1.2 Δομή και μορφολογικά χαρακτηριστικά

Η *P. aeruginosa*, είναι ένας βάκιλλος Gram αρνητικής χρώσης διαστάσεων 0,5-0.8μm επί 1,5-3,0μm. Περιέχει 6,3 εκατομμύρια ζεύγη βάσεων (Pandey, 2023), ενώ η πλειοψηφία των στελεχών μετακινείται μέσω μαστίγιων και φέρει στην επιφάνεια κροσσούς, οι οποίοι εκτός από την κινητικότητα, συμβάλλουν και στην βακτηριακή προσκόλληση (Baron, 1996; Tang, et al., 2015). Είναι ένα μη ζυμωτικό αερόβιο

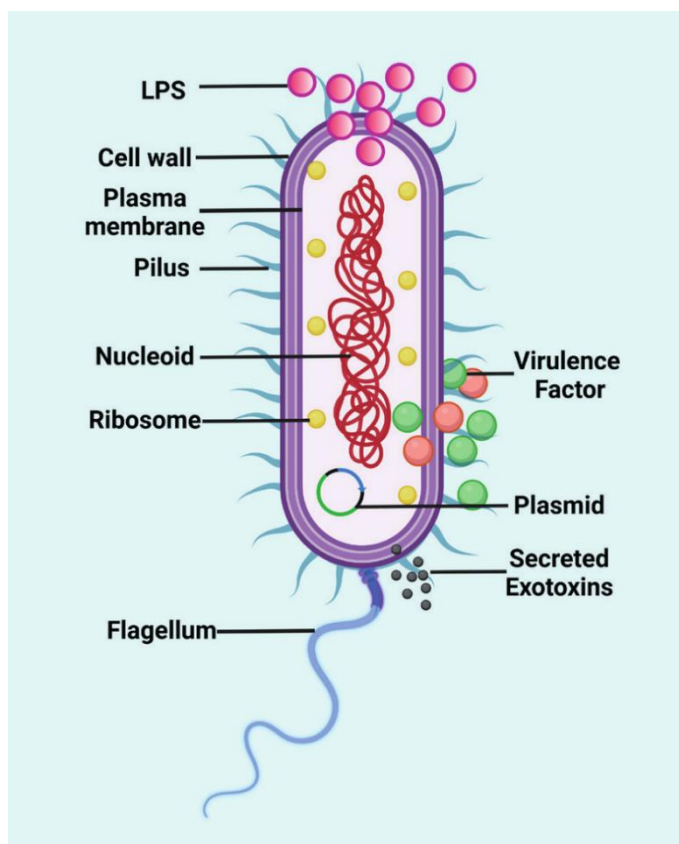
μικρόβιο της λακτόξης και των υδατανθράκων, το οποίο αντλεί ενέργεια μέσω της οξείδωσης της γλυκόζης και της ξυλόξης. Αν και ανήκει στην κατηγορία των αερόβιων μικροβίων, μπορεί να αναπτυχθεί και αναερόβια, ενώ καθίσταται δυνατό να χρησιμοποιήσει πάνω από 75 τύπους διαφορετικών οργανικών ενώσεων. Σε συνθήκες έλλειψης οξυγόνου ευδοκίμει ιδιαίτερα σε περιβάλλοντα πλούσια σε νιτρικά. Όπως και τα άλλα Gram-αρνητικά βακτήρια, έχει απλές διατροφικές απαιτήσεις, παράγει παθογόνες ενδοτοξίνες, διαθέτει ευέλικτες μεταβολικές απαιτήσεις και χαρακτηρίζεται από μεγάλη προσαρμοστικότητα, με αποτέλεσμα να αντιστέκεται σε υψηλές συγκεντρώσεις αντιβιοτικών, αντισηπτικών, αλάτων και χρωστικών χρώματος που χρησιμοποιούνται συνήθως (Baron, 1996; Tang, et al., 2015). Αυτές οι ιδιότητες επιβεβαιώνουν την πανταχού παρούσα φύση της *P. aeruginosa* και συμβάλλουν την ανάδειξή της ως ευκαιριακό παθογόνο και σοβαρή αιτία νοσοκομειακών λοιμώξεων. (Park & Sauer, 2021; Tang, et al., 2015)

Το γονιδίωμα της *P. aeruginosa* είναι σχετικά μεγάλο (5,5–7 Mbp) σε σύγκριση με άλλου τύπου βακτήρια υγειονομικής περιθάλψης όπως π.χ. το *Bacillus subtilis* (4,2 Mbp), το *Escherichia coli* (4,6 Mbp) και το *Mycobacterium tuberculosis* (4,4 Mbp). Το γονιδίωμα διαθέτει την ικανότητα κωδικοποίησης ενός μεγάλου ποσοστού ρυθμιστικών ενζύμων, καίριων για τη μεταφορά, το μεταβολισμό και την εκροή οργανικών ενώσεων. Κατ' επέκταση προκαλείται υψηλή μεταβολική ευελιξία και άμεση προσαρμοστικότητα σε περιβαλλοντικές αλλαγές (Pang, et al., 2018).

Οι αποικίες της *P. aeruginosa*, παρουσιάζουν χαρακτηριστικά χρώματα στα θρεπτικά μέσα που πραγματοποιείται η καλλιέργεια, χάρη στις διαλυτές χρωστικές ουσίες που εκκρίνονται: συγκεκριμένα η πυοκυανίνη (pyocyanin) είναι εκείνη που δίνει στις αποικίες τη χαρακτηριστική απόχρωση μπλε-πράσινου, ενώ η πυοβερδίνη (pyoverdine) δίνει την χαρακτηριστική απόχρωση κίτρινου-πράσινου, καθώς και έντονο φθορισμό στο υπεριώδες φως. Η μορφολογία των αποικιών δεν είναι πάντοτε η τυπική: κατά

κύριο λόγο είναι επίπεδες με μη καθορισμένα άκρα και έχουν την τάση να απλώνονται σε όλη την επιφάνεια του θρεπτικού υλικού. Οι τύποι αποικιών κατανέμονται σε κατηγορίες όπως π.χ. λείες, βλενωδείς, ξηρές, ζελατινώδεις κ.α. Ένα ακόμα χαρακτηριστικό γνώρισμα της *P. aeruginosa* είναι και η ιδιαίτερη οσμή «σταφυλιού» της καλλιέργειας που αναδύουν οι αποικίες της. Τα παραπάνω, συνδυαστικά με την ικανότητα ανάπτυξης σε υψηλές θερμοκρασίες, διευκολύνουν την διαδικασία ταυτοποίησης του είδους κατά τον εργαστηριακό έλεγχο (Baron, 1996; Tang, et al., 2015).

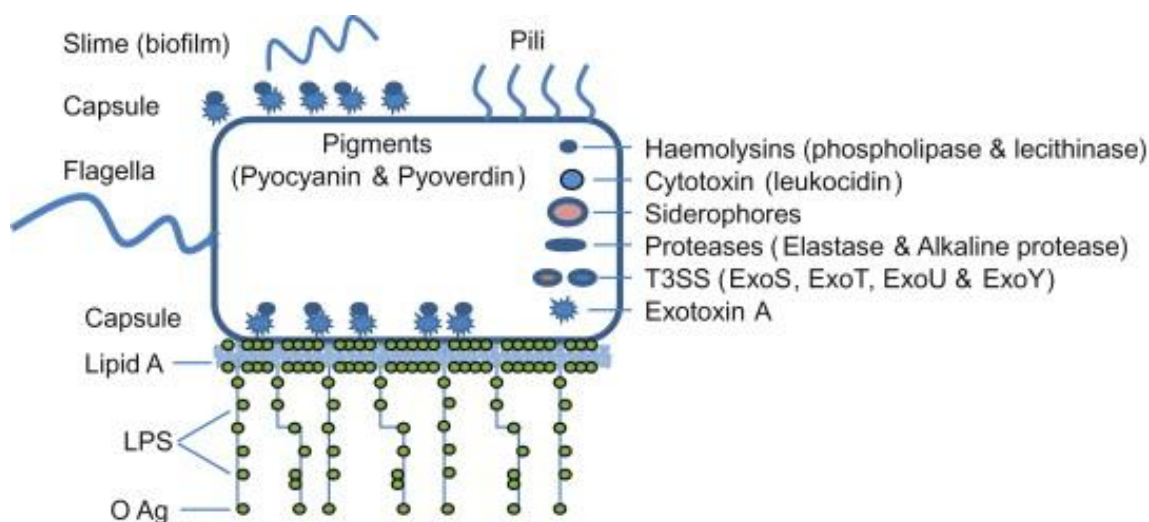
Το κυτταρικό περίβλημα της *P. aeruginosa*, όμοιο με των λοιπών Gram αρνητικών βακτηρίων, περιλαμβάνει τρία στρώματα: την εσωτερική ή κυτταροπλασματική μεμβράνη, τη στιβάδα πεπτιδογλυκάνης και την εξωτερική μεμβράνη (Baron, 1996). Η εξωτερική μεμβράνη της *P. aeruginosa*,



Εικόνα 1.1. Μοριακή δομή *P. aeruginosa* (Anjum, et. al., 2023)

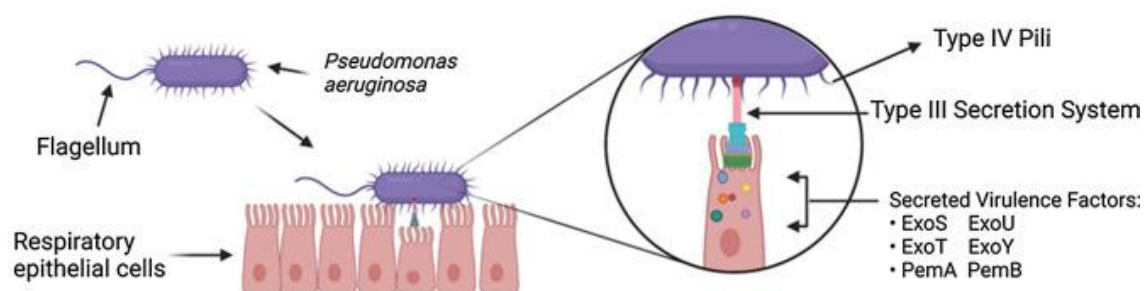
διαθέτει μια ασύμμετρη διπλοστιβάδα φωσφολιπιδίων, καθώς και σχεδόν κάθε τύπο λιποπολυσακχαρίτη παράγοντα λοιμογόνου δράσης (LPS), ένα κύριο συστατικό που απαντάται στον αρχετυπικό κυτταρικό φάκελο των περισσότερων αρνητικών κατά Gram βακτηρίων (Pang, et al., 2018). Το LPS της *P. aeruginosa* είναι λιγότερο τοξικό σε σύγκριση με των υπόλοιπων βακτηρίων, ενώ στην πλειοψηφία των στελεχών, είναι πλούσιο σε επτόζη, λιπαρά οξέα και πολυσακχαρίτες (Baron, 1996). Παράλληλα, στην μεμβράνη βρίσκονται ενσωματωμένες πορίνες οι οποίες δημιουργούν διάλυσους πρωτεΐνης beta-barrel. Οι πορίνες αυτές χωρίζονται στις εξής τέσσερις υποκατηγορίες: α) ειδικές πορίνες, οι οποίες δεσμεύουν ένα συγκεκριμένο σύνολο μορίων με βάση τη θέση τους (πρωτεΐνες OprB, OprD, OprE, OprO, OprP), β) μη ειδικές πορίνες, οι οποίες επιτρέπουν την αργή διάχυση της πλειοψηφίας των μικρότερων υδρόφιλων μορίων (πρωτεΐνη OprF), γ) πορίνες πύλης, οι οποίες είναι ιοντορρυθμιζόμενες και υπεύθυνες για την πρόσληψη ιόντων (πρωτεΐνες OprC και OprH) και τέλος, δ) πορίνες εκροής, οι οποίες είναι κρίσιμο μέρος των αντλιών εκροής (πρωτεΐνες OprJ, OprM και OprN) (Pang, et al., 2018).

Η *P. aeruginosa* χαρακτηρίζεται από την έκφραση μίας σειράς επιφανειακών και εκκρινόμενων παραγόντων λοιμογόνου δράσης. Μεταξύ αυτών των παραγόντων, σημαντικό ρόλο διαδραματίζουν τα T3SS (Συστήματα έκκρισης τύπου 3). Οι πρώτες αποδείξεις των T3SS ελήφθησαν κατά την δεκαετία 1980-1990 και περιέγραφαν την έκκριση των διαφορετικών πρωτεϊνών που εμπλέκονται στη λοιμογόνο δράση του βακτηρίου. Συγκεκριμένα, τα T3SS σχετίζονται άμεσα με τον βακτηριακό αποικισμό, την κυτταρική επιβίωση και την αναπαραγωγή, εγχύνοντας μια σειρά προϊόντων (τους λεγόμενους τελεστές) στα κύτταρα-ξενιστές και οδηγώντας στη συνέχεια, στην ανατροπή της ανοσολογικής απόκρισης του ξενιστή και κατ' επέκταση στην επιβίωση του βακτηρίου. Παράλληλα, λειτουργούν και ως εργαλείο άμυνας έναντι των εξωτερικών κινδύνων. Παρά το γεγονός ότι η μοριακή δομή και οι κύριες λειτουργίες τους έχουν εξεταστεί, εξακολουθούν να υφίστανται αναπάντητα ερωτήματα σχετικά με τα συστήματα T3SS τα οποία χρήζουν περαιτέρω διερεύνησης (Horna & Ruiz, 2021). Οι τελεστές T3SS και ιδίως το ExoU, είναι άμεσα συσχετισμένοι με την εκδήλωση λοιμώξεων του του κατώτερου αναπνευστικού συστήματος (Alouf, et al., 2015).

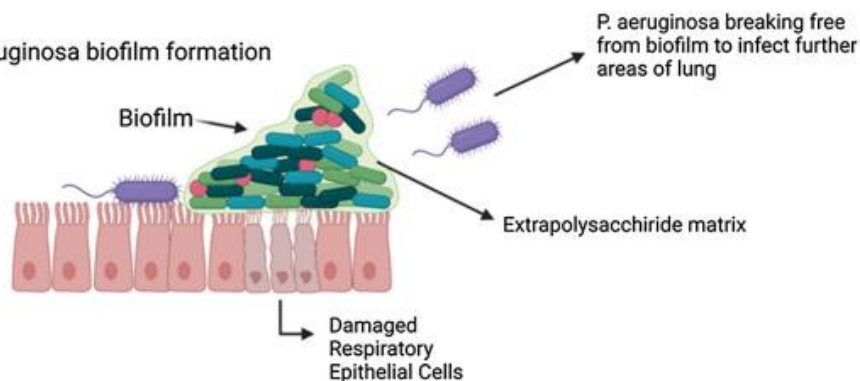


Εικόνα 1.2. Βασικοί παράγοντες λοιμογόνου δράσης *P. aeruginosa* (Ανατύπωση από: Tang, et al., 2015).

(A) *Pseudomonas aeruginosa* attacking respiratory epithelial cells



(B) *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation



Εικόνα 1.3. Μηχανισμοί λοιμογόνου δράσης της Ψευδομονάδας στα επιθηλιακά κύτταρα: (A) Αναπαράσταση εγκατάστασης του βακτηρίου, η οποία πραγματοποιείται κατά την ρήξη του αναπνευστικού επιθηλίου και μέσω των μαστίγιων και της λοιμογόνου δράσης των συστημάτων έκκρισης τύπου 3 (T3SS). (B) Αναπαράσταση σχηματισμού βιομεμβράνης στα κατεστραμμένα κύτταρα του αναπνευστικού επιθηλίου μέσω του πολυσαχαριδικού παράγοντα (LPS). Στη συνέχεια ακολουθεί η απελευθέρωση της *P. aeruginosa* από την βιομεμβράνη εντός της αναπνευστικής κοιλότητας (Ανατύπωση από: Reynolds & Kollef, 2021).

Στη λοιμογόνο δράση εμπλέκονται και δυο εξωκυτταρικές πρωτεάσες, η ελαστάση και αλκαλική πρωτεάση (AprA), κατά τη διάρκεια της πρώιμης εισβολής του βακτηρίου. Ο ρόλος της ελαστάσης περιλαμβάνει τον συντονισμό των λοιμογόνων δραστηριοτήτων, διασπώντας προϊόντα όπως κολλαγόνο, IgG και IgA. Η *P. aeruginosa* εκκρίνει επίσης αλγινικό, μία εξωκυτταρική ινώδης μήτρα πολυσακχαρίτη, το οποίο προστατεύει το βακτήριο από την φαγοκυττάρωση και διευκολύνει το σχηματισμό βιοφίλμ (Tang, et al., 2015; Horna & Ruiz, 2021; Pandey, 2023). Η *P. aeruginosa* παράγει και ακόμα τρεις διαλυτές πρωτεΐνες, μια κυτταροτοξίνη και δύο αιμολυσίνες: μια φωσφολιπάση και μια λεκιθινάση (Tang, et al., 2015). Οι μηχανισμοί παθογένεσης της *P. aeruginosa* περιλαμβάνουν έναν συνδυασμό των προαναφερθέντων παραγόντων λοιμογόνου δράσης (συμπεριλαμβανομένης της εξωτοξίνης A και S, της τυοκυανίνης, καθώς και τεσσάρων εκκρινόμενων τελεστών τύπου III), οι οποίοι καθίστανται υπεύθυνοι για ένα ευρύ φάσμα ασθενειών όπως πνευμονία, χρόνιες πνευμονικές λοιμώξεις, ενδοκαρδίτιδα, ουρολοιμώξεις, σήψη κ.α. (Alouf, et al., 2015; Tang, et al., 2015).

1.3 Επιδημιολογικά στοιχεία

Υπολογίζεται ότι πάνω από 1,2 εκατομμύρια άνθρωποι κατέληξαν σε θάνατο παγκοσμίως το 2019, ως αποτέλεσμα κάποιας πολυανθεκτικής (*Multi-drug resistance, MDR*) λοίμωξης, ενώ ο αριθμός αυτός εκτιμάται ότι θα αυξηθεί σε 10 εκατομμύρια έως το 2050 (Holger et al., 2022). Η *P. aeruginosa* αποτελεί ένα σημαντικό νοσοκομειακό παθογόνο και μια από τις πιο σημαντικές αιτιολογίες νοσοκομειακών λοιμώξεων (*Hospital Acquired Infections, HAIs*) παγκοσμίως. Υπολογίζεται ότι είναι υπεύθυνο για το 10%-15% των HAIs και απασχολεί κατά κύριο λόγο τους νοσηλευόμενους ασθενείς στις ΜΕΘ

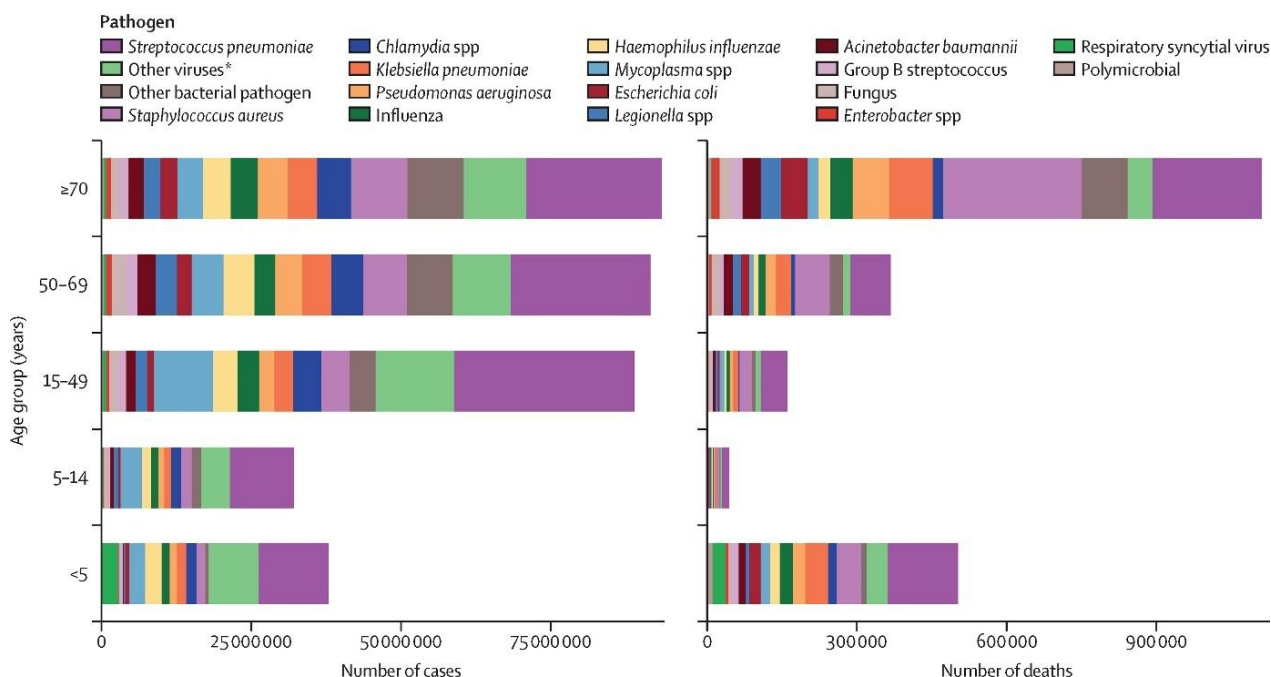
(Hermann, et al., 2023). Η συχνότητά της είναι υψηλότερη μεταξύ των αναπτυσσόμενων χωρών και κυμαίνεται από 2,3% έως 49,2% σε διαφορετικά κλινικά περιβάλλοντα (Yang, et al., 2020). Η πιο κοινή λοίμωξη που οφείλεται σε *P. aeruginosa* είναι η πνευμονία, ενώ αποτελεί και τον πιο συνηθισμένο Gram-αρνητικό βακτήριο που εντοπίζεται στη VAP. Σε μια μελέτη παρατήρησης της συχνότητας εμφάνισης λοίμωξης από *P. aeruginosa*, διαπιστώθηκε ότι αντιπροσώπευε το 23% των HAI λοιμώξεων που αποκτήθηκαν στην ΜΕΘ, με κύρια πηγή μόλυνσης την αναπνευστική οδό (Reynolds & Kollef, 2021). Η θνησιμότητα εξαρτάται καθοριστικά από τους συνυπάρχοντες παράγοντες κινδύνου, ωστόσο κυμαίνεται συνήθως από 20% έως 50% μεταξύ των νοσηλευόμενων ασθενών (Zander & Farver, 2018). Μεταξύ των HAIs, είναι υπεύθυνη για το 18% - 26% των περιπτώσεων πνευμονίας, περίπου το 16,3% των νοσοκομειακών λοιμώξεων συσχετισμένων με το ουροποιητικό σύστημα, το 3,4% των λοιμώξεων συσχετισμένων με την κυκλοφορία του αίματος και τέλος, το 9,5% των λοιμώξεων χειρουργικού σημείου. Αναφορικά με την βακτηριαμία από *P. aeruginosa*, αποτελεί την πιο κοινή νοσοκομειακή Gram-αρνητική βακτηριαμία (51%), ενώ αντιπροσωπεύει το 43,2% με 58,8% των ποσοστών θνησιμότητας και το 4% των λοιμώξεων που σχετίζονται με την τοποθέτηση κεντρικής φλεβικής γραμμής. Κατά την περίοδο 2011-2014 αποτέλεσε το 5,7% των λοιμώξεων χειρουργικού πεδίου, κατά κύριο λόγο στις χειρουργικές επεμβάσεις μαστού και καρδιάς. Η *P. aeruginosa* αποτελεί γνωστό παθογόνο και στους ασθενείς με εγκαύματα, όπως πιστεύεται εξαιτίας του υγρού περιβάλλοντος των εγκαυμάτων των ασθενών, το οποίο προδιαθέτει και ευδοκιμεί τον αποικισμό. Συνεπώς, δεν προκαλεί εντύπωση το γεγονός, ότι αποτελεί το πιο συνηθισμένο Gram-αρνητικό παθογόνο σε αυτή την κατηγορία ασθενών, όπως αναφέρεται από τα υψηλά ποσοστά σήψης και θνησιμότητας (Alouf, et al., 2015; Reynolds & Kollef, 2021).

Αντιπροσωπεύει περίπου το 7% όλων των λοιμώξεων που σχετίζονται με την υγειονομική περίθαλψη στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής (ΗΠΑ) κάθε χρόνο, επιβαρύνοντας σημαντικά το σύστημα υγειονομικής περίθαλψης (Trinh et al., 2017). Πιο συγκεκριμένα, υπολογίζεται ότι περίπου 51.000 λοιμώξεις προκαλούνται από *P. aeruginosa* κάθε χρόνο στα νοσοκομεία των ΗΠΑ, με πιο συχνές τις λοιμώξεις της κυκλοφορίας του αίματος, ακολουθούμενες από τις λοιμώξεις συσχετισμένες με μεταμοσχεύσεις και χειρουργικές επεμβάσεις και τις λοιμώξεις του ουροποιητικού συστήματος (Venkataraman, et al., 2023). Σύμφωνα με το Κέντρο Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων (CDC) των ΗΠΑ η συνολική συχνότητα μπορεί να υπολογιστεί κατά μέσο όρο στα 4 ανά 1000 δείγματα βρογχικών εκκρίσεων, ενώ το βακτήριο χαρακτηρίστηκε ως το τέταρτο πιο κοινό απομονωμένο νοσοκομειακό παθογόνο (Tang, et al., 2015). Το 2017 ήταν υπεύθυνο για περίπου 32.600 μολύνσεις σε νοσηλευόμενους ασθενείς και 2.700 θανάτους, ενώ το κόστος υγειονομικής περίθαλψης υπολογίστηκε περίπου στα 767 εκατομμύρια δολάρια. Όλα τα παραπάνω δεδομένα, οδήγησαν στην τοποθέτηση του *P. aeruginosa* στη λίστα με τις μεγαλύτερες απειλές αντιβιοτικής αντίστασης από το CDC (Khedr, A. et al., 2022). Τόσο το 2017, όσο και στην ανανεωμένη λίστα του 2024, ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO) καταχώρησε την *P. aeruginosa* ως μία από τις κρίσιμες προτεραιότητες για την ανάπτυξη νέων αντιβιοτικών, λόγω της αντίστασης στην καρβαπενέμη (Khatami et al., 2022; Hermann, et al., 2023).

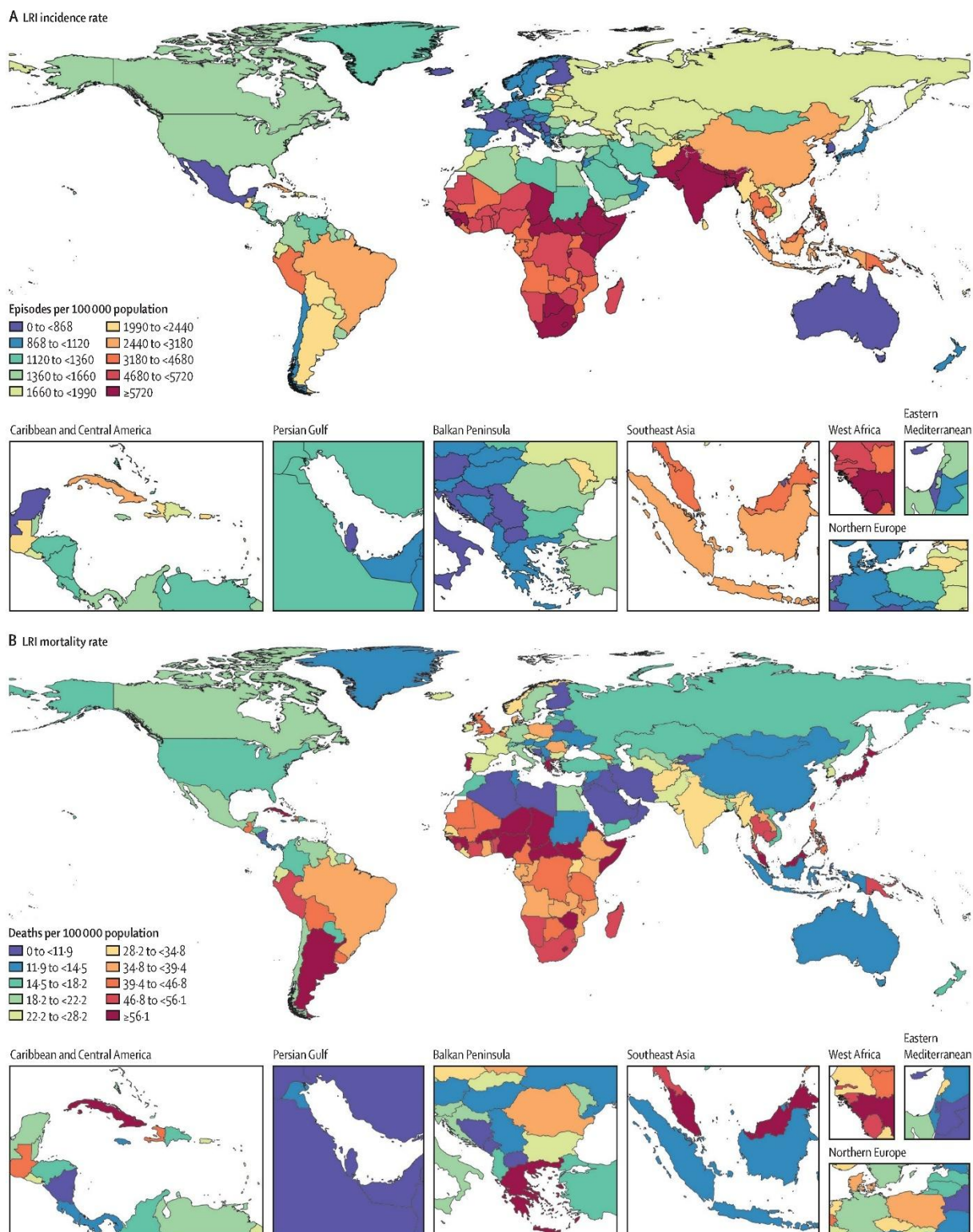
Υπολογίζεται ότι περίπου το 13% των σοβαρών λοιμώξεων υγειονομικής περίθαλψης οφείλεται σε απομόνωση πολυανθεκτικών στελεχών (MDR) της *P. aeruginosa* συμπεριλαμβανομένης της βακτηριαμίας και της νοσοκομειακής πνευμονίας (*Hospital Acquired Pneumonia, HAP*), ειδικά μεταξύ βαρέως πασχόντων ασθενών (Trinh et al., 2017). Η HAP έχει συχνότητα 5-20 περιπτώσεων ανά 1000 εισαγωγές στο νοσοκομείο, με την πλειοψηφία των ασθενών να αφορούν άτομα τρίτης ηλικίας, ανοσοκατεσταλμένους και μετεγχειρητικούς ασθενείς (Hermann, et al., 2023). Στις ΗΠΑ, τα ποσοστά των MDR λοιμώξεων από *P. aeruginosa* προκαλούν ήδη το 13% των σοβαρών HAIs, τα οποία κυμαίνονταν στο 21,7% στις λοιμώξεις αίματος που σχετίζονται με την κεντρική γραμμή, στο 18,6% στις λοιμώξεις του ουροποιητικού συστήματος συσχετισμένες με την τοποθέτηση καθετήρα και στο 5,3% για τις λοιμώξεις του χειρουργικού σημείου. Σε μία αναδρομική μελέτη κοόρτης που πραγματοποιήθηκε στην Ταϊλάνδη, προέκυψε το 22% των εκτενώς ανθεκτικών στα αντιβιοτικά και το

12,5% των MDR λοιμώξεων, παρουσιάστηκαν σε νοσηλευόμενους ασθενείς με απομονωμένη λοίμωξη *P. aeruginosa* που αποκτήθηκε στο νοσοκομείο (Khedr, A. et al., 2022). Το 2018, το Ευρωπαϊκό Δίκτυο Επιτήρησης Αντιμικροβιακής Αντίστασης (EARS-Net) υπολόγισε στο 38% το ευρωπαϊκό ποσοστό των ανθεκτικών στην καρβαπενέμη στελεχών *P. aeruginosa* (Pappa, et al., 2020).

Αναφορικά με τις λοιμώξεις του κατώτερου αναπνευστικού συστήματος (*Lower Respiratory Tract Infections, LRTIs*), το 2021, καταγράφηκαν περίπου 344 εκατομμύρια περιστατικά LRTIs παγκοσμίως, με περίπου 4350 αναφορές ανά 100.000 άτομα. Οι ασθενείς ηλικίας 70 ετών και άνω παρουσίασαν το υψηλότερο ποσοστό επίπτωσης παγκοσμίως, με 18.900 περιστατικά ανά 100.000 άτομα, ενώ στην δεύτερη θέση βρίσκεται η ηλικιακή ομάδα 50–69 ετών, με 6370 περιστατικά ανά 100.000 άτομα. Τόσο η επίπτωση, όσο και η θνησιμότητα σε ασθενείς με LRTIs παρουσιάζονται κατά κύριο λόγο υψηλότερα στους άνδρες (Bender, et al., 2024). Θεωρείται το κυρίαρχο είδος που σχετίζεται με σοβαρές LRTIs στους βαρέως πάσχοντες ασθενείς ΜΕΘ, καθώς και το δεύτερο πιο κοινό παθογόνο που σχετίζεται με HAP και VAP, αντιπροσωπεύοντας έως και το 22% των HAIs, ακολουθούμενο από το *Staphylococcus aureus* (Yang, et al., 2020; Reynolds & Kollef, 2021). Η πνευμονία αιτιολογίας *P. aeruginosa* σχετίζεται με χειρότερη νοσηρότητα σε σχέση με άλλους τυπικούς οργανισμούς. Η παγκόσμια επίπτωση αντιπροσωπεύει έως και το 28% των ασθενών VAP, με το ποσοστό θνησιμότητας να κυμαίνεται από 24% έως 76% (Ding, et al., 2016). Κατά γενική ομολογία, η *P. aeruginosa* είναι ένα από τα πιο κοινά βακτήρια που προκαλούν VAP, επηρεάζοντας έως και το 40% των ασθενών υπό μηχανικό αερισμό (Foucrier, et al., 2023). Τα παραπάνω επιβεβαιώνονται και από μία παγκόσμια πολυκεντρική μελέτη παρατήρησης επικράτησης της VAP, με τους πιο συνηθισμένους παράγοντες κινδύνου να περιλαμβάνουν την παρατεταμένη νοσηλεία και τον προηγούμενο αποικισμό (Reynolds & Kollef, 2021). Όσον αφορά τις χρόνιες πνευμονικές λοιμώξεις, την πρώτη θέση σε ποσοστό καταλαμβάνει η κυστική ίνωση με ποσοστό περίπου 80% (Alouf, et al., 2015). Σύμφωνα με το Εθνικό Σύστημα Παρακολούθησης Νοσοκομειακών Λοιμώξεων της Λαϊκής Δημοκρατίας της Κίνας, αποτέλεσε το κυρίαρχο παθογόνο το οποίο απομονώθηκε από την κατώτερη αναπνευστική οδό, ενώ σύμφωνα με μία πολυκεντρική μελέτη από τις ΗΠΑ, αποτέλεσε ένα από τα πιο συχνά Gram-αρνητικά βακτήρια (36,2%) τα οποία απομονώθηκαν σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς με LRTIs (Yang, et al., 2020).

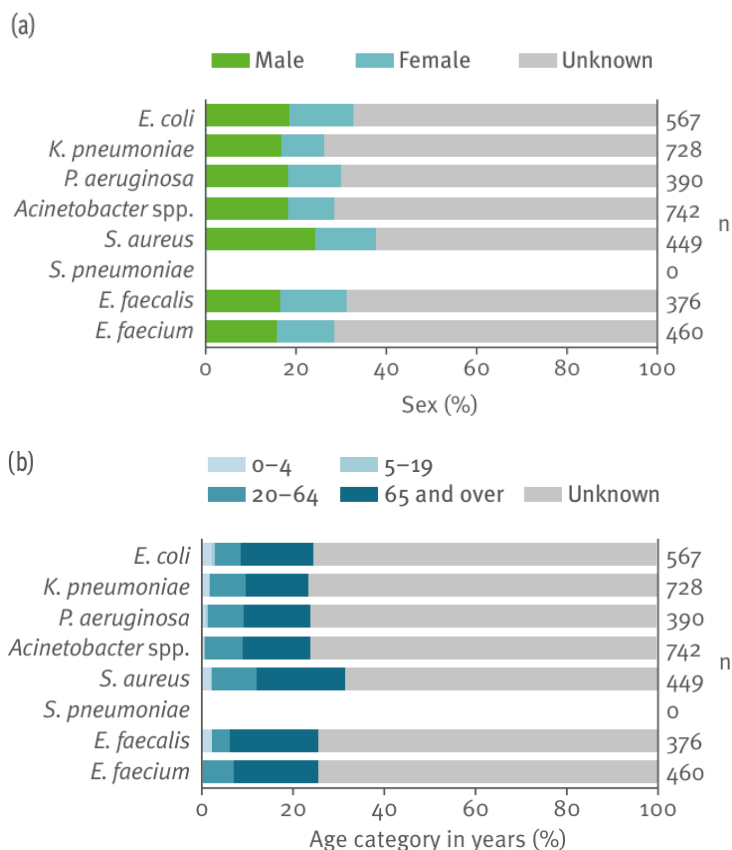


Διάγραμμα 1.1. Κατανομή παγκόσμιων περιπτώσεων LRTIs και θανάτων ανά ηλικιακή ομάδα. Η *P. aeruginosa* αναπαρίσταται με το ανοιχτό πορτοκαλί χρώμα (Ανατύπωση από: Bender, et al., 2024).



Εικόνα 1.4. Χάρτες επίπτωσης και ποσοστών θνησιμότητας σε LRTIs. Η επίπτωση στην Ελλάδα υπολογίζεται μεταξύ 868-1120 επεισόδια ανά 100.000 πληθυσμό, ενώ η θνησιμότητα κυμαίνεται με πάνω από 56,1 θανάτους ανά 100.000 πληθυσμό για το έτος 2021 (Ανατύπωση από: Bender, et al., 2024).

Αναφορικά με τα ελληνικά δεδομένα, σε έκθεση επιτήρησης του WHO και στα πλαίσια παρακολούθησης της μικροβιακής αντοχής στην Ευρώπη κατά την περίοδο 2020-2022, με συμμετέχοντες φορείς το Κεντρικό Εργαστήριο Δημόσιας Υγείας του Εθνικού Οργανισμού Δημόσιας Υγείας και το Τμήμα Πολιτικής Δημόσιας Υγείας του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, προέκυψαν σημαντικά δεδομένα σχετικά με την κατάσταση της αντιμικροβιακής αντοχής στην Ελλάδα. Συγκεκριμένα, το 2016 ο ετήσιος αριθμός αναφερόμενων απομονώσεων *P. aeruginosa* ανερχόταν στα 705 περιστατικά, εκ των οποίων οι 42 αναφέρθηκαν σε ασθενείς σε ΜΕΘ. Αντίστοιχα, το 2017 ο αριθμός αναφερόμενων απομονώσεων πανελλαδικά ανερχόταν στις 821, εκ των οποίων οι 37 ήταν σε ασθενείς ΜΕΘ. Το 2018, αναφέρθηκαν 859 ετήσιες αναφερόμενες απομονώσεις, από τις οποίες οι 37 ήταν ασθενείς ΜΕΘ, ενώ το 2019, 141 απομονώσεις, από τις οποίες οι 45 ήταν σε ασθενείς ΜΕΘ. Τέλος, το 2020 καταχωρήθηκαν συνολικά 390 ετήσιες απομονώσεις, εκ των οποίων οι 35 ήταν ασθενείς ΜΕΘ. Τα τελευταία στοιχεία φέρουν επιφύλαξη, καθώς κατά την περίοδο υπολογισμού συνέπεσε η έναρξη της πανδημίας COVID-19. Στα παρακάτω διαγράμματα παρουσιάζονται αναλυτικά στοιχεία των απομονώσεων του 2020 ανά φύλο και ηλικιακή ομάδα. Αναφορικά, από τα 390 συνολικά απομονωμένα περιστατικά, μεγαλύτερη επίπτωση φαίνεται πως παρατηρείται στο ανδρικό φύλο σε σχέση με το γυναικείο (περίπου 20% και 10% αντίστοιχα), ενώ η ηλικιακή κατηγορία 65 ετών και άνω αποτελεί την κύρια ομάδα επίπτωσης (περίπου 18%), ακολουθούμενη από την κατηγορία 20-64 ετών (4%) και τα παιδιά ηλικίας 0-4 ετών (1%). Στην ηλικιακή ομάδα ασθενών 5-19 ετών δεν φαίνεται να υπάρχει σημαντικό ποσοστό. Και στα δύο διαγράμματα ωστόσο, σε ένα μεγάλο ποσοστό των ασθενών φέρει άγνωστα έως τώρα δεδομένα, τα οποία απαιτούν περεταίρω διερεύνηση (WHO, 2024).



Διάγραμμα 1.2. Ποσοστό συνολικών απομονώσεων ανά φύλο ασθενών (a) και ηλικιακή ομάδα (b) ανά βακτηριακό είδος για την Ελλάδα, 2020 (Ανατύπωση από: WHO, 2024).

Στην ίδια μελέτη, υπολογίστηκε και ο συνολικός αριθμός επεμβατικών απομονώσεων *P. aeruginosa*, οι οποίες δοκιμάστηκαν ως προς την ανθεκτικότητα με 5 αντιμικροβιακές ομάδες/παράγοντες για την Ελλάδα, εύρους ΕΕ/ΕΟΧ κατά τις περιόδους 2016–2020. Τους αντιμικροβιακούς παράγοντες περιλάμβαναν οι εξής ομάδες: πιπερακιλλίνη-ταζομπακτάμη, κεφταζιδίμη, καρβαπενέμη (ιμιπενέμη/μεροπενέμη), φθοροκινολόνη (σιπροφλοξασίνη/λεβοφλοξασίνη), αμινογλυκοσίδη (γενταμικίνη/νετιλμικίνη/τομπραμικίνη), καθώς και ο συνδυασμός ≥ 3 ομάδων. Άξιο αναφοράς αποτελεί το γεγονός ότι η κάθε ομάδα-αντιμικροβιακός παράγοντας έφερε διαφορετικό αριθμητικό δείγμα απομονώσεων. Αναφορικά, το 2016 οι καρβαπενέμες συγκέντρωσαν το υψηλότερο ποσοστό φαινότυπου ανθεκτικότητας (42,1%), ακολουθούμενες από τις φθοριοκινολόνες (34,6%), την κεφταζιδίμη (33,6%), την ομάδα συνδυασμών (31,5%), τις αμινογλυκοσίδες (28%) και τις πιπερακιλλίνη-ταζομπακτάμη (23,3%). Είναι εντυπωσιακό πως κατά την τριετία 2017-2019 παρατηρήθηκε ένα μοτίβο ανθεκτικότητας το οποίο παρουσιάζεται ως εξής: την πρώτη θέση με υψηλότερο ποσοστό ανθεκτικότητας στη *P. aeruginosa* καταλαμβάνουν οι καρβαπενέμες (39.3%, 37.5% και 48.9% αντίστοιχα), ακολουθούμενες από τις φθοριοκινολόνες (35.3%, 33.1% και 46.8%), την ομάδα συνδυασμών (32.0%, 28.7% και 44.7%), τις αμινογλυκοσίδες (30.2%, 26.5% και 42.6%), την κεφταζιδίμη (24.9%, 22.3% και 39.7) και τελευταίες τις πιπερακιλλίνη-ταζομπακτάμη (23.7%, 21.5% και 34.9%). Αντιθέτως, το 2020 τα αποτελέσματα παίρνουν νέα τροπή, αλλάζοντας το μοτίβο ανθεκτικότητας που παρατηρήθηκε τα προηγούμενα έτη. Πιο συγκεκριμένα, την πρώτη θέση πλέον καταλαμβάνουν οι φθοριοκινολόνες (42.9%), αφήνοντας στην δεύτερη θέση τις καρβαπενέμες (35.7 %) και ελάχιστα πιο πάνω από τις πιπερακιλλίνη-ταζομπακτάμη, οι οποίες καταλαμβάνουν την τρίτη θέση (35.6%). Ακολουθεί η ομάδα συνδυασμών (30,6%) με μικρή επίσης διαφορά από την κεφταζιδίμη (30,2%), αφήνοντας στην τελευταία θέση τις αμινογλυκοσίδες (28.6%). Αξίζει επίσης να σημειωθεί πως σημειώθηκαν σημαντικές αλλαγές στην πηγή δεδομένων κατά τη διάρκεια του έτους 2020 και συνεπώς, δεν γίνεται αναφορά σε όλα τα δεδομένα (για την Ελλάδα, η αλλαγή αυτή περιλαμβάνει τη μείωση του αριθμού εργαστηρίων που ανέφεραν τα δεδομένα) (WHO, 2024).

1.4 Μετάδοση, κλινική επίδραση και παράγοντες κινδύνου

Η Ψευδομονάδα είναι ένα ευκαιριακό παθογόνο, το οποίο προκαλεί λοιμώξεις που επηρεάζουν αρνητικά τα αποτελέσματα της υγείας, αυξάνοντας την διάρκεια παραμονής στο νοσοκομείο και οδηγώντας σε υψηλά ποσοστά θνησιμότητας. Ο εντοπισμός των παραγόντων ή των ομάδων των ασθενών που προβλέπουν αυξημένο κίνδυνο λοίμωξης, συμβάλλει στη αποτελεσματική θεραπευτική διαχείριση, στην καλύτερη επιτήρηση, καθώς και στην κατάλληλη και ελεγχόμενη χρήση των αντιβιοτικών (Ponce, et al., 2020).

Αναφορικά με την νοσοκομειακή μετάδοση, στην πλειοψηφία των ασθενών που αναπτύσσουν λοιμώξεις από *P. aeruginosa*, καθοριστικό παράγοντα λοίμωξης αποτελεί η διάσπαση της επιθηλιακής επιφάνειας. Η ρήξη του επιθηλίου προκύπτει κατόπιν λύσης της συνέχειας του δέρματος ή/και ασθένειας, σε συνδυασμό με την έλλειψη ανοσολογικής ικανότητας, η οποία χαρακτηρίζει τους βαρέως πάσχοντες ασθενείς. Από εκεί πραγματοποιείται και η είσοδος του βακτηρίου: η *P. aeruginosa* μπορεί να εισέλθει μέσω ενδοφλεβίων ή ενδοαρτηριακών γραμμών, γραμμών αιμοκάθαρσης, εγκαυμάτων ή μετεγχειρητικών τραυμάτων και ό,τι συνεπάγεται με λύση της συνέχειας μεγάλης επιφάνειας του δέρματος, οφθαλμών, ουροποιητικών καθετήρων και ενδοτραχειακών σωλήνων. Παράλληλα, μπορεί να αποικήσει και άλλες νοσοκομειακές πηγές, συμπεριλαμβανομένων άψυχων αντικειμένων όπως νερό, απολυμαντικά διαλύματα, αναπνευστικό εξοπλισμό ή άλλα υλικά συσχετισμένα με την υγειονομική περίθαλψη. Συνεπώς με βάση τον τρόπο εισόδου, προκαλείται μετάδοση λοιμώξεων στο αναπνευστικό σύστημα, το ουροποιητικό σύστημα, το χόριο και τους μαλακούς ιστούς, τα οστά και τις αρθρώσεις, το γαστρεντερικό σύστημα και το αίμα (βακτηραιμία). Σε ασθενείς πρόσφατα υποβεβλημένων σε χειρουργική επέμβαση οφθαλμών ή ωτών, είναι δυνατόν να προκληθούν λοιμώξεις του κερατοειδούς ή

του μέσου ωτός, ενώ είναι δυνατόν να προκαλέσει περιστασιακά μηνιγγίτιδα ακολουθούμενη διενέργειας οσφυονωτιαίας παρακέντησης ή ενδοκαρδίτιδα κατόπιν καρδιοχειρουργικής επέμβασης. Κατά γενική ακολουθία, επηρεάζονται ιδιαίτερα ανοσοκατεσταλμένοι και μετεγχειρητικοί ασθενείς, βαρέως πάσχοντες ασθενείς ή ασθενείς που νοσηλεύονται σε ΜΕΘ, καθώς και ασθενείς με συγκεκριμένες παθολογίες όπως σοβαρά εγκαύματα, κυστική ίνωση, σακχαρώδης διαβήτης, φυματίωση, HIV-AIDS ή καρκίνος (Baron, 1996; Alouf, et al., 2015; Tang, et al., 2015; Horna & Ruiz, 2021).

Η εγκατάσταση της *Pseudomonas aeruginosa* στο πνευμονικό παρέγχυμα μπορεί να προκύψει και μετά από αιματογενή διασπορά. Στην περίπτωση αυτή, η είσοδος του βακτηρίου στην αιματική κυκλοφορία επιτυγχάνεται μέσω του δέρματος, του γαστρεντερικού βλεννογόνου ή των προαναφερόμενων οδών. Ιδιαίτερα επιρρεπείς είναι οι ασθενείς με υποκείμενες αιματολογικές ή λεμφοειδείς κακοήθειες, ανοσοκαταστολή, ουδετεροπενία, HIV-AIDS ή σοβαρά εγκαύματα. Αντίστοιχα, η μη αιματογενούς διασποράς ψευδομοναδική πνευμονία εκδηλώνεται λόγω εισρόφησης στοματοφαρυγγικών εκκρίσεων. Παράγοντες κινδύνου αποτελούν η προχωρημένη ηλικία, η εξασθένηση των φυσιολογικών λειτουργιών, η ύπαρξη χρόνιας νόσου του καρδιοαναπνευστικού, η διάχυτη βρογχιολίτιδα, η κυστική ίνωση (Cystic Fibrosis, CF), η χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια (ΧΑΠ) και ιδιαίτερα υπό θεραπεία με στεροειδή, καθώς και ο επιμολυσμένος εξοπλισμός αναπνευστικής θεραπείας (Radiology Key, 2016). Καθοριστικό παράγοντα κινδύνου αποτελεί και ο στοματικός ή ενδοτραχειακός αποικισμός *P. aeruginosa*, ο οποίος αυξάνεται αναλογικά με την παρατεταμένη παραμονή στο νοσοκομείο, την βαρύτητα της νόσου και την αντιβιοτική χρήση. Οι ασθενείς με επιβεβαιωμένη λοίμωξη *P. aeruginosa* παρουσιάζουν πιο σοβαρή κλινική εικόνα (π.χ. σηπτικό SHOCK), μεγαλύτερη ανάγκη για μηχανικό αερισμό και μεγαλύτερη παραμονή στο νοσοκομείο, σε αντίθεση με τους ασθενείς που είχαν απλώς αποικιστεί. Ωστόσο, ο αποικισμένος ασθενής έχει οκτώ φορές περισσότερες πιθανότητες να αναπτύξει αναπνευστική λοίμωξη *P. aeruginosa* σε σχέση με έναν μη αποικισμένο, ενώ ο αποικισμός στους ασθενείς ΧΑΠ, αποτελεί ανεξάρτητο και ισχυρό προγνωστικό παράγοντα αυξημένων παροξύνσεων και θνησιμότητας (Hermann, et al., 2023). Η πνευμονία από Ψευδομονάδα μπορεί να είναι είτε βακτηριαιμική, είτε μη βακτηριαιμική πνευμονία, ανεξάρτητα από τον τρόπο ενοφθαλμισμού της Ψευδομονάδας στο πνευμονικό παρέγχυμα.

Οι λοιμώξεις του κατώτερου αναπνευστικού συστήματος (LRTIs) είναι από τις πιο κοινές λοιμώξεις μεταξύ των βαρέως πασχόντων ασθενών που νοσηλεύονται στις ΜΕΘ. Η ευαισθησία αυτή στις νοσοκομειακές λοιμώξεις οφείλεται στην παρατεταμένη νοσηλεία, την μειωμένη κινητικότητα και τον μεγάλο αριθμό παρεμβατικών διαδικασιών. Αναφορικά, *P. aeruginosa* αποτελεί κύρια αιτία εκδήλωσης νοσοκομειακής πνευμονίας (HAP) όπως και πνευμονίας που σχετίζεται με τον αναπνευστήρα (VAP). Η πνευμονία *P. aeruginosa* εμφανίζεται κατά κύριο λόγο σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς, σε εγκαυματίες, σε ασθενείς με CF ή ΧΑΠ και ευρύτερα, σε ασθενείς παρατεταμένης νοσηλείας. Επιπλέον, οι ουδετεροπενικοί ασθενείς, όπως οι ασθενείς HIV-AIDS ή εκείνοι που υποβάλλονται σε συνεδρίες χημειοθεραπείας καρκίνου, είναι ιδιαίτερα επιρρεπείς στην ανάπτυξη τόσο πνευμονίας, όσο και βακτηριαιμίας που οφείλεται στη *P. aeruginosa*. Σε ασθενείς με προϋπάρχουσα πνευμονοπάθεια (π.χ. ΧΑΠ, CF) ή σε ασθενείς που υποβάλλονται σε επεμβατικές διαδικασίες οι οποίες παρεμβαίνουν στην έμφυτη άμυνα του ασθενούς (π.χ. χειρουργικές επεμβάσεις, διασωλήνωση και μηχανικός αερισμός), επιβεβαιώνεται επίσης ο αυξημένος κίνδυνος εκδήλωσης λοίμωξης. Νεκρωτική πνευμονία μπορεί να προκληθεί σε σπάνιες περιπτώσεις, κατά κύριο λόγο κατόπιν εσφαλμένης χρήσης ή χρήσης επιμολυσμένων υποστηρικτικών αναπνευστικών συσκευών (Alouf, et al., 2015; Farver, 2018; Yang, et al., 2020).

Η πρωτοπαθής λοίμωξη από *P. aeruginosa* δεν φαίνεται να επιταχύνει κάποια μείωση της πνευμονικής λειτουργίας, συνεπώς κατά την αρχική περίοδο οι κλινικές εκδηλώσεις μπορεί είναι ανεπαίσθητες, κυμαινόμενες από ήπια επίπτωση της πνευμονικής λειτουργίας έως την κλινική ή/και ακτινολογική

επιδείνωση. Είναι εντυπωσιακό μάλιστα το γεγονός ότι η νοσηρότητα της πρωτογενούς λοίμωξης δεν είναι δυνατόν να αναστραφεί σε όλες τις περιπτώσεις, ακόμη και υπό πρώιμη αντιμικροβιακή θεραπεία. Κατά τη διαδικασία μετάβασης από διαλείπουσα σε χρόνια λοίμωξη, επιτείνεται σημαντικά τόσο η τοπική όσο και η συστηματική φλεγμονή, με αποτέλεσμα την εξασθένηση της πνευμονικής λειτουργίας (Garcia-Clemente et al., 2020).

Οι βαρέως πάσχοντες ασθενείς με παρατεταμένη νοσηλεία διατρέχουν υψηλό κίνδυνο ανάπτυξης πολυανθεκτικών MDR στελεχών, γεγονός που υπογραμμίζει την επιτακτική ανάγκη προσδιορισμού των παραγόντων κινδύνου που σχετίζονται με LRTIs λοιμώξεις από MDR *P. aeruginosa* στους ασθενείς ΜΕΘ. Οι τελευταίες κατευθυντήριες γραμμές επιδεικνύουν ως κύριους παράγοντες κινδύνου την προηγούμενη αντιβιοτική έκθεση ≥ 24 ωρών και των προηγούμενων 90 ημερών (π.χ. καρβαπενέμες, φθοριοκινολόνες, πιπερακιλλίνη-ταζομπακτάμη), την προηγούμενη υγειονομική περίθαλψη (διάρκεια νοσηλείας, είδος νοσοκομείου, ημέρες υπό μηχανικό αερισμό και ενεργό αποικισμό/λοίμωξη από *P. aeruginosa*), καθώς και τους συνλειτουργικούς παράγοντες. Παράγοντες κινδύνου για θνησιμότητα από πνευμονικές λοιμώξεις αποτελούν η προχωρημένη ηλικία, οι συνυπάρχουσες νοσηρότητες όπως π.χ. υπέρταση, καρδιακή ανεπάρκεια και χρόνια νεφρική νόσος, καθώς και η σοβαρή αρχική κλινική εικόνα. Δεδομένου του ότι η MDR *P. aeruginosa* παραμένει διαδεδομένη σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς με πνευμονία, οι ασθενείς θα πρέπει να αξιολογούνται διεξοδικά, με στόχο όσο το δυνατόν πιο επιτυχημένη θεραπεία εκρίζωσης. Η ορθή επιλογή αντιβιοτικής θεραπείας σχετίζεται με καλύτερα αποτελέσματα και αποτελεί τον μόνο τροποποιήσιμο παράγοντα θνησιμότητας, μειώνοντας τον κίνδυνο κατά δύο φορές (Trinh et al., 2017; Hermann, et al., 2023).

Κεφάλαιο 2^ο: Κλινικά ευρήματα, διαχείριση και πρόληψη λοιμώξεων του αναπνευστικού

2.1 Διάγνωση

Οι λοιμώξεις από Ψευδομονάδα επιτυγχάνονται μέσω μιας ποικιλίας οδών, συμπεριλαμβανομένου του δέρματος, του αίματος, του φάρυγγα και του ουροποιητικού συστήματος, λόγω διάρρηξης των επιθηλιακών επιφανειών σε αυτές τις περιοχές από εγκαύματα, λύση της συνέχειας του δέρματος ή από θεραπευτικές συσκευές όπως ενδοαγγειακοί καθετήρες, καθετήρες ουροδόχου κύστεως ή αναπνευστήρες. Οι λοιμώξεις του κατώτερου αναπνευστικού αναπτύσσονται είτε μέσω εισρόφησης εκκρίσεων από το στοματοφάρυγγα είτε μέσω αιματογενούς εξάπλωσης από μια εξωπνευμονική μολυσμένη περιοχή (αιματογενής διασπορά) (Radiology Key, 2016; Zander & Farver, 2018).

Παθολογικά ευρήματα

Η πνευμονία από *P. aeruginosa* έχει κεραυνοβόλο έναρξη η οποία περιλαμβάνει έντονη δύσπνοια και γενικευμένη αναπνευστική ανεπάρκεια, ενώ δύναται να εξελιχθεί σε αρνητική κατά Gram σήψη. Η επιβεβαιωμένη διάγνωση επιτυγχάνεται μέσω καλλιέργειας δειγμάτων βρογχικών εκκρίσεων, υπεζωκοτικού υγρού και αίματος (Farver, 2018).

Μικροβιολογικά Ευρήματα

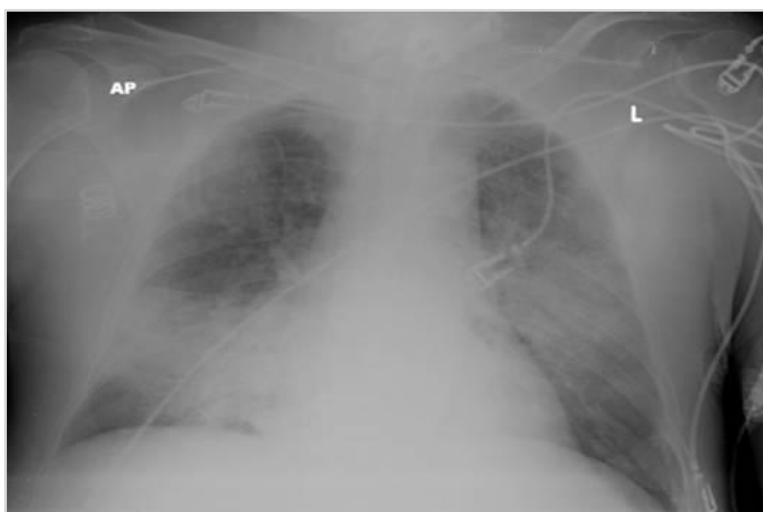
Η διάγνωση λοίμωξης από *P. aeruginosa* εξαρτάται από την έγκαιρη καλλιέργεια και από την επιλογή του κατάλληλου σημείου λήψης καλλιιεργειών. Στους βαρέως πάσχοντες ασθενείς με υποψία αιματογενούς λοίμωξης που συσχετίζεται με την τοποθέτηση κεντρικών φλεβικών γραμμών (*Central Line-associated Bloodstream Infection, CLABSI*), οι καλλιέργειες πρέπει να λαμβάνονται ιδανικά όσο το δυνατόν πιο έγκαιρα πριν την αντιβιοτική έναρξη. Αντίστοιχα λαμβάνονται και οι καλλιέργειες ούρων σε ασθενείς με υποψία λοίμωξης του ουροποιητικού συσχετισμένης με την τοποθέτηση καθετήρα (*Catheter-associated Urinary Tract Infection, CAUTI*). Σε ασθενείς με υποψία πνευμονίας λαμβάνεται καλλιέργεια πτυέλων όποτε είναι δυνατό. Η εργαστηριακή διάγνωση σε υποψία HAP ή VAP περιλαμβάνει ενδοτραχειακή αναρρόφηση και πιο σπάνια βρογχοκυελιδικό έκπλυμα (*Bronchoalveolar Lavage, BAL*) μέσω βρογχοσκόπησης.

Η εργαστηριακή διάγνωση βασίζεται στην απομόνωση και την ταυτοποίηση του βακτηρίου. Οι τυπικές μέθοδοι εργαστηριακής ταυτοποίησης περιλαμβάνουν την αναγνώριση της μορφολογίας και των ανεπτυγμένων αποικιών σε επιλεκτικά μέσα ανάπτυξης (π.χ. κετριμίδη). Η *P. aeruginosa* αναπτύσσεται στα περισσότερα εργαστηριακά μέσα και απομονώνεται συνήθως σε άγαρ αίματος ή μπλε άγαρ ηωσίνης-μεθυλοθειονίνης. Αναγνωρίζεται εύκολα με βάση την αρνητική Gram χρώση, καθώς και τις χρώσεις Brown και Horpps. Συγκεκριμένα, παρουσιάζει Gram-αρνητικές, κινητικές, μη ζυμώσιμες, υποχρεωτικές αερόβιες ράβδους, οι οποίες διαθέτουν ελάχιστες απαιτήσεις προκειμένου να αναπτυχθούν σε καλλιέργεια. Η αναγνώρισή της βασίζεται και στη μορφολογία της αποικίας, η οποία παρουσιάζεται στρογγυλή με φθορίζον πρασινωπή απόχρωση. Η *P. aeruginosa* προσδιορίζεται και με βάση μικροσκοπικά χαρακτηριστικά που την καθιστούν μοναδική, όπως η χαρακτηριστική φρουτώδης μυρωδιά της, ο μπλε αποχρωματισμός σε κατάσταση έλλειψης σιδήρου και η ικανότητά της να αναπτύσσεται ακόμα και τους 42°C. Μετά την επιτυχή καλλιέργεια ακολουθεί δοκιμή ευαισθησίας (αντιβιογράμμα) για την επιλογή κατάλληλης αντιβιοτικής θεραπείας και τον εντοπισμό ανθεκτικότητας. Η πλειοψηφία των εργαστηρίων φαίνεται να χρησιμοποιεί εμπορικά

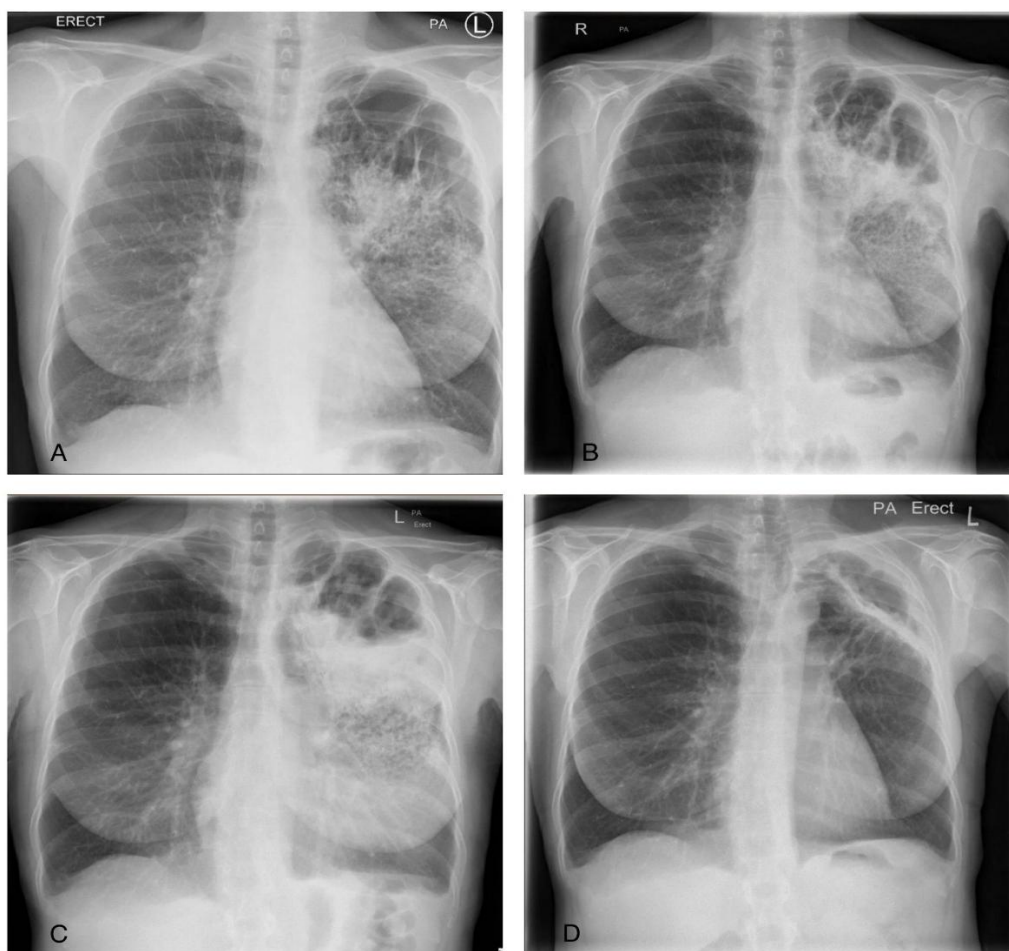
αυτοματοποιημένα κιτ ευαισθησίας (Tang, et al., 2015; Farver, 2018; Reynolds & Kollef, 2021). Στα αρχικά στάδια του αποικισμού, η *P. aeruginosa* παρουσιάζει στελέχη με τυπικές τραχιές αποικίες, οι οποίες με την πάροδο του χρόνου αναπτύσσουν έναν μορφότυπο που διευκολύνει την ανάπτυξη επίμονων βιομεμβρανών (*biofilms*). Ο μορφότυπος αυτός καθιστά δύσκολη την εκκρίωση του βακτηρίου, ακόμη και υπό αντιμικροβιακή αγωγή, είτε με ενδοφλέβια είτε με εισπνεόμενα αντιβιοτικά (García-Clemente et al., 2020). Παράλληλα, εκτός των μεθόδων βακτηριακής καλλιέργειας και αποικιακού προσδιορισμού, στην διάγνωση συνεισφέρουν και δοκιμασίες όπως η ανοσολογική ενζυμική δοκιμασία ELISA, η μέθοδος ανοσοφθορισμού και διάφορες μοριακές μέθοδοι (Khatami et al., 2022). Διατίθενται επίσης ταχείες διαγνωστικές εξετάσεις για την διάγνωση των LRTIs με τη χρήση πολλαπλής αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης σε πραγματικό χρόνο, οι οποίες έως τώρα έχουν επιδείξει καλή ευαισθησία και ειδικότητα στη *P. aeruginosa*. Τα πλεονεκτήματα περιλαμβάνουν γρήγορη διάγνωση εντός 2 ωρών (σε σχέση με τις τυπικές καλλιέργειες διάρκειας 48-72 ωρών), ταυτοποίηση ταυτόχρονης ιογενούς ή βακτηριακής λοίμωξης και αναγνώριση ορισμένων γονιδίων αντοχής. Στον αντίποδα, οι ταχείας διάρκειας διαγνωστικές εξετάσεις δεν είναι σε θέση να προσδιορίσουν εάν το θετικό αποτέλεσμα οφείλεται σε αποικισμό ή λοίμωξη, συνεπώς πρέπει να λαμβάνεται υπόψη και το κλινικό πλαίσιο (Reynolds & Kollef, 2021).

Απεικονιστικά ευρήματα

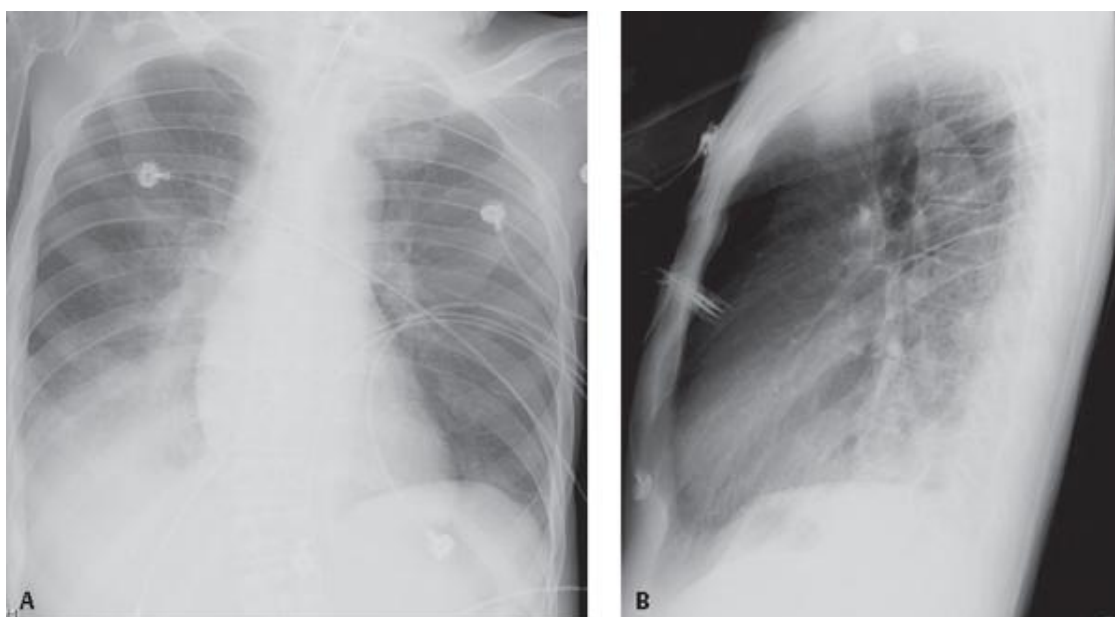
Τα ακτινολογικά ευρήματα της πνευμονίας από *Pseudomonas* περιλαμβάνουν μονοεστιακές ή πολυεστιακές σκιάσεις συνήθως στους κάτω λοβούς, χωρίς απαραίτητη ύπαρξη υπεζωκοτικής συλλογής. Η πνευμονία από Ψευδομονάδα ξεκινά ως βρογχοκεντρική, ουδετερόφιλη κυψελίτιδα που εξελίσσεται ταχέως σε συρρέουσες περιοχές και μπορεί να οδηγήσει στο σχηματισμό αποστήματος. Η πνευμονία λόγω εισρόφησης χαρακτηρίζεται πρώτα από νεκρωτική βρογχοκεντρική πνευμονία και έπειτα από σχηματισμό αποστημάτων, ενώ η πνευμονία λόγω αιματογενούς εξάπλωσης χαρακτηρίζεται από περιοχές που συνήθως περιβάλλονται από ένα κόκκινο δακτύλιο συμφόρησης και αιμορραγίας, στις οποίες έπειτα παρατηρείται σχηματισμός κοιλοτήτων. Τέλος, είναι δυνατόν να παρατηρηθεί νεκρωτική αγγειίτιδα και παρουσία μικροοργανισμών εντός των τοιχωμάτων των αγγείων. Πιο σπάνια μπορεί να παρατηρηθεί αιμορραγικό έμφρακτο και θρόμβοι (Farver, 2018).



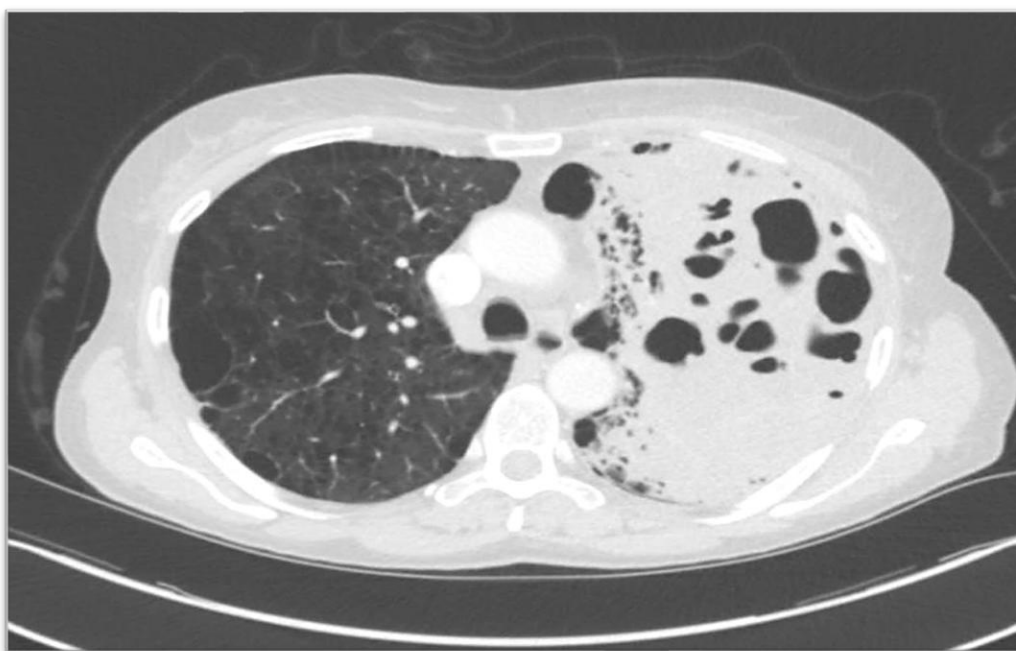
Εικόνα 2.1. Ακτινογραφία θώρακος με αμφοτερόπλευρες διαμέσου τύπου διηθήσεις, κυρίως στο δεξιό κάτω πνευμονικό πεδίο. Ο ασθενής έφερε θετική καλλιέργεια τραχειοβρογχικών εκκρίσεων από παν-ανθεκτικό *P. aeruginosa* (Ανατύπωση από: Alqaid, et al., 2015).



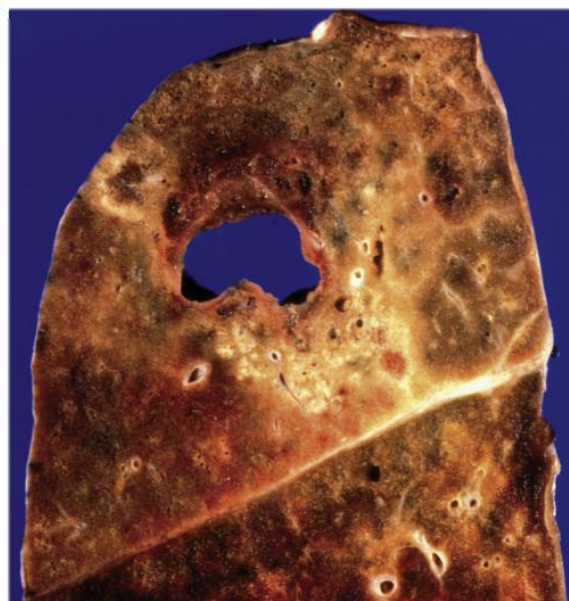
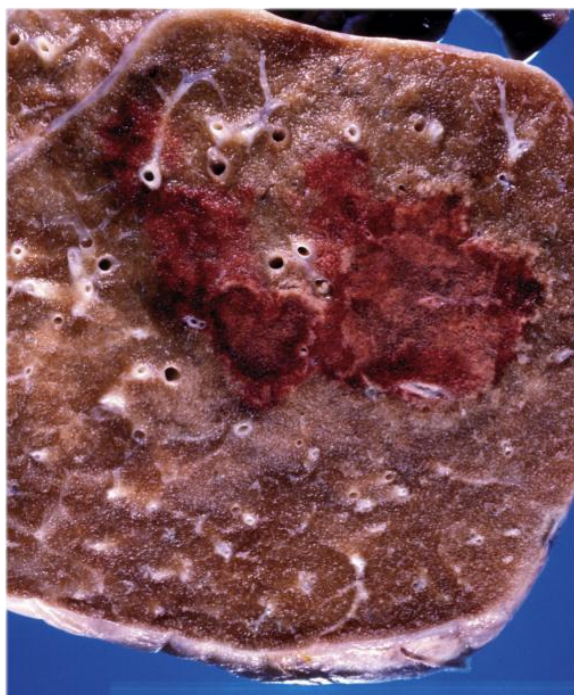
Εικόνα 2.2. Ακτινογραφίες θώρακος ασθενούς με διάγνωση πνευμονίας από *P. aeruginosa*: κατά την εισαγωγή στο νοσοκομείο (Α), ημέρα 4η (Β), ημέρα 8η (C) & επανάληψης 6 εβδομάδες μετά την έξοδο (D) (Ανατύπωση από: Southwest Journal of Pulmonary, Critical Care and Sleep, 2021)



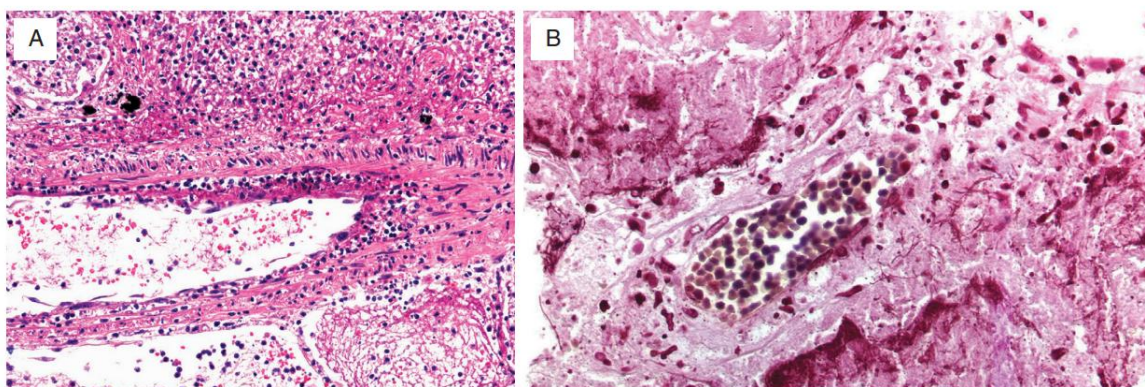
Εικόνα 2.3. Ακτινογραφίες θώρακος δύο όψεων (face and profile), σε ασθενή με θετικές στην *P. aeruginosa* καλλιέργειες πτυέλων και αίματος (Ανατύπωση από: Radiology Key, 2016).



Εικόνα 2.4. Αξονική τομογραφία με σκιαγραφικό η οποία επιβεβαιώνει εκτεταμένη λοίμωξη (Ανατύπωση από: Southwest Journal of Pulmonary, Critical Care and Sleep, 2021).



Εικόνα 2.5. Νεκρωτική πνευμονία από *Pseudomonas*. Οι κίτρινες περιοχές νέκρωσης περιβάλλονται από κόκκινους αιμορραγικούς δακτυλίους (αριστερή εικόνα). Επουλωμένη πνευμονική κοιλότητα με ένα λεπτό, ινώδες τοίχωμα, ως αποτέλεσμα της πνευμονίας από *Pseudomonas* (δεξιά εικόνα) (Ανατύπωση από: Farver, 2018)



Εικόνα 2.6. Νεκρωτική αγγειίτιδα που συνοδεύει περίπτωση πνευμονίας από *Pseudomonas*. Απεικονίζονται μικροσκοπικά ευρήματα οξείας φλεγμονώδους διήθησης σε μεσαίου μεγέθους αρτηρία, στην οποία έχει προκληθεί διατοιχωματική νέκρωση (Α). Απεικόνιση παρουσίας μικροοργανισμών με τη βοήθεια χρώσης Gram, εντός των περιοχών νέκρωσης γύρω από το αγγείο (Β) (Ανατύπωση από: Farver, 2018).

Διαφορική Διάγνωση

Η παθολογική διαφορική διάγνωση περιλαμβάνει άλλους τύπους κεραυνοβόλου, νεκρωτικής πνευμονίας όπως σταφυλοκοκκική πνευμονία *Staphylococcus aureus* και πνευμονία *Klebsiella pneumoniae*, καθώς και ευκαιριακές λοιμώξεις από τους Στρεπτόκοκκους ομάδας Α και το *E. coli* (Radiology Key, 2016; Zander & Farver, 2018).

Νέες διαγνωστικές εξελίξεις

Η επιτυχημένη διάγνωση είναι απαραίτητη για την πρόληψη πιθανών προκλήσεων κατά τη διαδικασία θεραπείας. Στο πλαίσιο αυτό, μαζί με τις προαναφερθείσες μεθόδους, αναπτύχθηκαν πρόσφατα ορισμένες πλατφόρμες βιοαισθητήρων με στόχο την ανίχνευση της *P. aeruginosa*. Η συγκεκριμένη μέθοδος προτιμάται όλο και περισσότερο τα τελευταία χρόνια στον τομέα της διάγνωσης χάρη στην εύκολη λειτουργία, τον ελάχιστο χρόνο, το χαμηλό κόστος, την υψηλή ευαισθησία και την επιλεκτικότητα που διαθέτει. Οι συγκεκριμένοι βιοαισθητήρες φαίνεται πως διαθέτουν την ικανότητα μετατροπής της ειδικής αλληλεπίδρασης μεταξύ βιοϋποδοχέων (π.χ. αντισώματα, απταμερή) και παθογόνων βιομορίων σε μετρήσιμες οπτικές και ηλεκτρικές εξόδους σήματος. Αποτελούνται από δύο κύρια μέρη: ενός βιοϋποδοχέα ο οποίος ανιχνεύει τα μόρια-στόχους και ενός μετατροπέα ο οποίος μετατρέπει την βιολογική απόκριση σε ηλεκτρικό σήμα. Οι βιοαισθητήρες ταξινομούνται είτε με βάση το σήμα εξόδου σε οπτικούς, ηλεκτροχημικούς και πιεζοηλεκτρικούς, είτε με βάση τη σύσταση του βιοϋποδοχέα. Οι βιοαισθητήρες μπορεί να βασίζονται σε αντισώματα, απταμερή, ένζυμα, αλλά και ολόκληρα κύτταρα. Τα απταμερή είναι μονόκλωνα μόρια DNA ή RNA με μήκος 20-60 νουκλεοτιδίων και διαθέτουν την ικανότητα δέσμευσης σε στόχους όπως ανόργανες δομές έως και βιολογικά μόρια (πχ πρωτεΐνες), χάρη στην τρισδιάστατη δομή τους. Οι βιοαισθητήρες που βασίζονται στα απταμερή έχουν αναπτυχθεί ραγδαία τα τελευταία χρόνια, καθώς τα απταμερή θεωρούνται παρόμοια με τα αντισώματα ως προς τον τύπο απόδοσης αλλά με περισσότερα οφέλη (Khatami et al., 2022).

2.2 Διαχείριση και αντιμετώπιση

Η διαχείριση των ασθενών με υποψία λοίμωξης από *P. aeruginosa*, ειδικά στους βαρέως πάσχοντες ασθενείς ΜΕΘ, περιλαμβάνει την λήψη καλλιιεργειών από την αντίστοιχη οδό και με βάση τις κλινικές ενδείξεις, καθώς και τη χορήγηση κατάλληλης αντιβιοτικής κάλυψης. Στους ασθενείς με υποψία σήψης/σηπτικής καταπληξίας συστήνεται αντιβιοτική χορήγηση εντός 1 ώρας, ενώ σε υποψία εστίας λοίμωξης οι τυχόν συσκευές που φέρουν οι ασθενείς πρέπει να αφαιρούνται άμεσα (π.χ. αγγειακοί καθετήρες, ουροκαθετήρες) (Reynolds & Kollef, 2021). Η επιλογή της κατάλληλης αντιβιοτικής αγωγής έναντι μίας πιθανής λοίμωξης από *P. aeruginosa* αποτελεί πρόκληση και έχει αναγνωριστεί ως παγκόσμιο πρόβλημα κατά τη διαχείριση και τον έλεγχο των λοιμώξεων. Αυτό οφείλεται στην εγγενή αντιβιοτική αντίσταση, την επίκτητη αντίσταση μέσω χρωμοσωμικών μεταλλάξεων, καθώς και την ικανότητα ανάπτυξης πολυανθεκτικών στελεχών. Η *P. aeruginosa* είναι ένα από τα πρώτα βακτήρια που παρουσίασαν πολυανθεκτικούς (MDR) φαινότυπους. Η συνεχιζόμενη διάδοση των MDR στελεχών της είναι υπεύθυνη για αυξημένη νοσηρότητα και θνησιμότητα, παρατεταμένη νοσηλεία και παραμονή στο νοσοκομείο, αλλά και υψηλό κόστος φροντίδας υγείας (Yang, et al., 2020). Πρωταρχικό στόχο της θεραπείας εκλογής αποτελεί η εκρίζωση του βακτηρίου. Όταν κάτι τέτοιο δεν είναι εφικτό, τότε γίνονται προσπάθειες μείωσης του βακτηριακού φορτίου προκειμένου να αποτραπούν οι βλάβες που προκαλούνται λόγω της φλεγμονώδους απόκρισης (Garcia-Clemente et al., 2020). Οι ασθενείς που έλαβαν κατάλληλη αρχική αντιβιοτική θεραπεία παρουσίασαν μειωμένο κίνδυνο θνησιμότητας, αυξημένα ποσοστά θετικής έκβασης, μικρότερη διάρκεια νοσηλείας και κόστος (Reynolds & Kollef, 2021).

Η επιλογή της αρχικής αντιβιοτικής αγωγής βρίσκεται στην διακριτική ευχέρεια του θεράποντος ιατρού με βάση κριτήρια όπως η βαρύτητα της κλινικής εικόνας του ασθενούς, η παρουσία ή απουσία παραγόντων κινδύνου για ανάπτυξη MDR, ο ήδη διαγνωσμένος αποικισμός με στέλεχος MDR και η προηγηθείσα αντιβιοτική θεραπεία. Παράλληλα, λαμβάνονται υπόψη τα τοπικά επιδημιολογικά δεδομένα, συμπεριλαμβανομένων των ποσοστών γεωγραφικής διακύμανσης της αντιβιοτικής αντίστασης, καθώς και η νοσηλεία των τελευταίων 90 ημερών (ιδιαίτερη έμφαση δίνεται στην περίπτωση μηχανικού αερισμού ≥ 5 ημέρες, την διενέργεια πρόσφατης συνεδρίας αιμοκάθαρσης ή την παρατεταμένη παραμονή σε κλινική χρόνιας φροντίδας). Με βάση την επιλογή των περισσότερων ειδικών, συνιστάται συνδυαστική αντιβιοτική αγωγή για την αντιμετώπιση λοιμώξεων που οφείλονται στην *P. aeruginosa*. Μάλιστα, τόσο οι κατευθυντήριες γραμμές της Εταιρείας Λοιμωδών Νοσημάτων της Αμερικής (*Infectious Diseases Society of America, IDSA*), όσο και οι ευρωπαϊκές κατευθυντήριες γραμμές, συμφωνούν στη χρήση εμπειρικής διπλής αντιβιοτικής θεραπείας υπό προϋποθέσεις στους βαρέως πάσχοντες ασθενείς υψηλού κινδύνου και ειδικά σε περιπτώσεις λοίμωξης που οφείλονται σε στέλεχος MDR. Παρ' όλα αυτά, ορισμένα δεδομένα σχετικά με τα οφέλη της συνδυαστικής θεραπείας είναι αντιφατικά. Σε κάθε περίπτωση, οι ειδικοί ενθαρρύνονται να προσαρμόσουν το αρχικό σχήμα σε μια θεραπεία στενότερου φάσματος με προσοχή και λαμβάνοντας υπόψη τα παραπάνω ευρήματα, τον εντοπισμό των μεμονωμένων παραγόντων κινδύνου και τα αποτελέσματα μικροβιολογικής ευαισθησίας. Η αρχική αντιβιοτική κάλυψη με σχήματα ευρέως φάσματος ενδείκνυται συχνά σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς, εν αναμονή των εργαστηριακών αποτελεσμάτων. Ομοίως, ασθενείς που πληρούν τους παράγοντες κινδύνου ή με γνωστό αποικισμό MDR πρέπει να λαμβάνουν αντιβιοτικό σχήμα αντίστοιχο της MDR απομόνωσης με βάση τα πιο πρόσφατα εργαστηριακά αποτελέσματα, εν αναμονή των νέων αποτελεσμάτων (Trinh, et al., 2017; Reynolds & Kollef, 2021; Giacomo et al., 2022; Focquier, et al., 2023).

Με βάση τη γνώμη των περισσότερων ειδικών, η κύρια θεραπευτική επιλογή για λοιμώξεις από *P. aeruginosa* περιλαμβάνει συνδυασμό αντιβιοτικών, ειδικά στις περιπτώσεις σοβαρών λοιμώξεων. Συνιστάται συνδυασμό μιας β-λακτάμης (π.χ. πιπερακιλλίνη, κεφεπίμη), μιας αμινογλυκοσίδης (π.χ. αμικακίνη) ή μιας φθοροκινολόνης (π.χ. σιπροφλοξασίνη), καθώς και οι συνδυασμοί αυτών (Zander &

Farver, 2018; Yang, et al., 2020; Foucrier, et al., 2023). Η χρήση ακατάλληλης αντιβιοτικής θεραπείας στην πνευμονία από *P. aeruginosa* αποτελεί σημαντικό και ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα MDR στελεχών, συνεπώς η εμπειρική επιλογή συχνά θα πρέπει να περιλαμβάνει αντιβιοτικά ευρέως φάσματος ή/και συνδυαστική κάλυψη για το βακτήριο (Trinh, et al., 2017). Έτσι, στην περίπτωση παρουσίας παράγοντα MDR ή/και σε περίπτωση σηπτικής καταπληξίας, συστήνεται η άμεση χορήγηση αντιβιοτικών β-λακτάμης ή αντιψευδομοναδικής κεφαλοσπορίνης συνδυαστικά με αμινογλυκοσίδες ή αντιψευδομοναδική φθοριοκινολόνη για 3-5 ημέρες. Τέλος, άξιο αναφοράς παραμένει το γεγονός ότι οι οδηγίες της Ευρωπαϊκής Πνευμονολογικής Εταιρείας διαφέρουν από εκείνες της IDSA για την διαχείριση των HAP/VAP. Συγκεκριμένα, συνιστάται αρχική μονοθεραπεία με αντιβιοτικά στενού φάσματος όπως π.χ. λεβοφλοξασίνη ή η κεφτριαξόνη, ενώ διπλή αντιβιοτική χορήγηση συνιστάται μόνο σε άτομα υψηλού κινδύνου ανάπτυξης MDR στελεχών και σηπτικού SHOCK. Σε κάθε περίπτωση, η αποτελεσματική διαχείριση παραμένει ένα πεδίο διαμάχης.

Άλλα αντιβιοτικά όπως η κολιστίνη, η πλαζομυκίνη και η ριφαμπικίνη μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν είτε μεμονωμένα, είτε συνδυαστικά με τις παραπάνω θεραπείες για την αντιμετώπιση των MDR Gram-αρνητικών λοιμώξεων. Η πλαζομυκίνη αποτελεί ένα συνθετικό παράγωγο της σισομυκίνης, όμοιας δράσης με τις αμινογλυκοσίδες, αν και τα έως τώρα δεδομένα παραμένουν περιορισμένα. Η κολιστίνη θα μπορούσε συχνά να αντιπροσωπεύει μία νέα διαθέσιμη θεραπευτική επιλογή, καθώς παρουσιάζει εξαιρετικά διατηρημένη ευαισθησία, ωστόσο με βάση τα έως τώρα δεδομένα, παρουσιάζει αντενδείξεις (νεφροτοξικότητα 18%-43%) και γνωστά όρια αποτελεσματικότητας (μειωμένη αποτελεσματικότητα στις λοιμώξεις αναπνευστικού). Η κολιστίνη συνιστάται και με την μορφή εισπνεόμενου αντιβιοτικού ως συμπληρωματική θεραπεία. Αναφορικά με τα εισπνεόμενα αντιβιοτικά, 2-3 εβδομάδες πρώιμης θεραπείας συνδυαστικά με συστηματική αντιβιοτική αγωγή, αποδεδειγμένα επιτυγχάνουν υψηλά ποσοστά εκρίζωσης. Σύμφωνα μάλιστα με τις πρώιμες μελέτες για την εισπνεόμενη κολιστίνη και τομπραμυκίνη, επιτεύχθηκε σημαντική βελτίωση των συμπτωμάτων, καθώς και λιγότερη επιδείνωση της πνευμονικής λειτουργίας (Alqaid, et al., 2015; Reynolds & Kollef, 2021; Giacomo et al., 2022). Συνεπώς, η *P. aeruginosa* μπορεί να είναι αρχικά ευαίσθητη σε αντιβιοτικά όπως η κολιστίνη, η τομπραμυκίνη, η γενταμυκίνη, οι καρβαπενέμες ή οι φθοριοκινολίνες, οι οποίες θεωρούνται από τους πιο ισχυρούς αντιβιοτικούς παράγοντες για την εμπειρική θεραπεία νοσοκομειακών λοιμώξεων, ωστόσο δεν παύουν να εμφανίζονται συνεχώς νέα ανθεκτικά στελέχη. Πολύ περισσότερο, τα αντιβιοτικά βήτα-λακτάμης και οι κεφαλοσπορίνες πρώτης και δεύτερης γενιάς, είναι επιρρεπείς στην δημιουργία MDR στελεχών λόγω της μειωμένης διαπερατότητας του βακτηριακού τοιχώματος. Σε πολλές μελέτες μάλιστα, επιβεβαιώνεται το σενάριο αυξημένης αντοχής στην κατηγορία των καρβαπενέμων (ιδιαίτερα στην ιμιπενέμη και τη μεροπενέμη) συγκριτικά με τα προηγούμενα χρόνια. Στην Ελλάδα, οι απομονώσεις μεταλλο-β-λακταμάσης (MBL) *P. aeruginosa* ανθεκτικής στην καρβαπενέμη (CR-PA), έκαναν την εμφάνισή τους στα τέλη της δεκαετίας του 1990. Η αντίσταση στην καρβαπενέμη αποτελεί συνήθως αποτέλεσμα της υπερέκφρασης των συστημάτων αντλίας εκροής ή της χρωμοσωμικής κεφαλοσπορινάσης και/είτε της μειωμένης έκφρασης της εξωτερικής μεμβράνης (Tang, et al., 2015; Garcia-Clemente et al., 2020; Ponce, et al., 2020; Yang, et al., 2020; Foucrier, et al., 2023; Pappa et al., 2024).

Η *P. aeruginosa* ορίζεται ως ένα από τα πιο δύσκολα σε θεραπεία παθογόνα σύμφωνα με την IDSA από το 2018, λόγω των πολλαπλών ανθεκτικών απομονώσεων. Η επιλογή της αρχικής αντιβιοτικής θεραπείας έναντι μίας πιθανής μόλυνσης *P. aeruginosa* αποτελεί πρόκληση και εξαρτάται από ποικίλους παράγοντες όπως οι μηχανισμοί αντιβιοτικής αντίστασης και οι διαφορετικές τάσεις αντοχής. Η συνδυαστική θεραπεία είναι η πιο κοινή αποτελεσματική θεραπευτική προσέγγιση, αν και δεν έχει αποδειχθεί απόλυτα σαφές το όφελος έναντι της μονοθεραπείας (Ponce, et al., 2020; Holger et al., 2022).

Φαρμακοκινητική

Η πλειοψηφία των αντιβιοτικών που χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπιση λοιμώξεων *P. aeruginosa*, εξ' ορισμού συνδέονται και διεισδύουν στην κυτταρική μεμβράνη προκειμένου να φτάσουν σε ενδοκυτταρικούς στόχους. Τα συμβατικά, αντιβιοτικά β-λακτάμης/β-λακταμάσης (όπως π.χ. καρβαπενέμες, πιπερακιλλίνη/ταζομπακτάμη, κεφεπίμη, κεφταζιδίμη) είναι αυτά που προτιμώνται κυρίως ως θεραπεία εκλογής της *P. aeruginosa*, μερικές φορές ακόμα και σε συνδυασμό με άλλη αντιβιοτική κατηγορία. Η συγκεκριμένη κατηγορία αντιβιοτικών, συμπεριλαμβανομένης της πενικιλίνης, της κεφαλοσπορίνης και της μονοβακτάμης, όπως και η ονομασία της, φέρει στις μοριακές τους δομές έναν δακτύλιο β-λακτάμης, ο οποίος παρεμποδίζει την βιοσύνθεση του βακτηριακού κυτταρικού τοιχώματος εστιάζοντας στις πρωτεΐνες που δεσμεύουν την πενικιλίνη. Οι πρωτεΐνες αυτές είναι καταλύτες που εμπλέκονται στην διεργασία παραγωγής πεπτιδογλυκάνης. Τα αντιβιοτικά β-λακτάμης υπό περιπτώσεις απαιτούν παρατεταμένη έγχυση και υψηλότερες δόσεις συγκριτικά με τις άλλες αντιβιοτικές κατηγορίες για την βελτίωση της φαρμακοκινητικής. Αντίστοιχα, οι κινολόνες, όπως η λεβοφλοξασίνη και η σιπροφλοξασίνη, αναστέλλοντας τη γυράση του DNA και την τοποϊσομεράση IV, παρεμποδίζουν την βιολογική διαδικασία αντιγραφής του DNA. Με την προσκόλληση στις μικρές ριβοσωμικές υπομονάδες 30S, η οικογένεια αμινογλυκοσιδών αντιβιοτικών, η οποία περιλαμβάνει την τομπραμυκίνη, την αμικασίνη και την γενταμυκίνη, αναστέλλει τη σύνθεση πρωτεϊνών. Οι πολυμυξίνες αποτελούν μια υποομάδα πολυπεπτιδικών αντιβιοτικών άμεσα συνδεδεμένη με τους λιποπολυσακχαρίτες (LPS) της εξωτερικής μεμβράνης των Gram-αρνητικών βακτηρίων. Η πολυμυξίνη B και η πολυμυξίνη E, επίσης γνωστή ως κολιστίνη, είναι αυτές που χρησιμοποιούνται κατά κύριο λόγο στην κλινική πράξη για την αντιμετώπιση των βακτηριακών λοιμώξεων, πυροδοτώντας μία οδό κυτταρικού θανάτου που προκαλείται από ρίζες υδροξυλίου. Οι αμινογλυκοσίδες και οι πολυμυξίνες μπορεί να παραμείνουν δραστικές έναντι των MDR, ωστόσο όπως προαναφέρθηκε, είναι συσχετισμένες με υψηλότερο κίνδυνο νεφροτοξικότητας συγκριτικά με τους άλλους αντιβιοτικούς παράγοντες. Οι β-λακτάμες και οι κινολόνες εισέρχονται στο κύτταρο μέσω των διαύλων πορίνης, ενώ οι πολυμυξίνες και οι αμινογλυκοσίδες αλληλοεπιδρούν με τους LPS της εξωτερικής μεμβράνης (Pang, et al., 2018; Holger et al., 2022; Kunz, et al., 2022).

2.3 Νέες θεραπευτικές στρατηγικές

Η συμβατική θεραπευτική διαχείριση, αν και περιλαμβάνει την χρήση διαφορετικών συνδυασμών αντιβιοτικών, γίνεται όλο και πιο αναποτελεσματική λόγω των αυξημένων πολυανθεκτικών στελεχών. Επομένως, η ανάπτυξη νέων αντιβιοτικών φαρμάκων και εναλλακτικών στρατηγικών καθίσταται αναγκαία. Τα τελευταία χρόνια, έχουν διερευνηθεί νέες αντιβιοτικές δραστικές ουσίες οι οποίες φαίνεται να παρουσιάζουν χαμηλότερη συχνότητα αντοχής συγκριτικά με τα συμβατικά αντιβιοτικά, κυρίως λόγω των νέων τρόπων δράσης, την διαφορετική οδό χορήγησης (π.χ. εισπνεόμενα αντιβιοτικά) και την αντοχή στην τροποποίηση από βακτηριακά ένζυμα (Pang, et al., 2018).

Ιστορικά, τα αντιβιοτικά κατηγορίας β-λακτάμης/β-λακταμάσης έχουν χρησιμοποιηθεί κατά κύριο λόγο στην αντιμετώπιση των MDR στελεχών της *P. aeruginosa*, ωστόσο πολλές φορές καθίστανται αναποτελεσματικά, χάρη στην αξιοσημείωτη ικανότητα της Ψευδομονάδας να δημιουργεί μηχανισμούς αντίστασης. Συνεπώς, για την αύξηση της αποτελεσματικότητας προστίθενται συνήθως τουλάχιστον ένας δευτερος παράγοντας από διαφορετική αντιβιοτική κατηγορία. Βέβαια, η συνδυαστική θεραπεία ενέχει και αυτή με τη σειρά της αυξημένο κίνδυνο αντιβιοτικής τοξικότητας και δευτερογενούς λοίμωξης, ιδίως από το *C. difficile*. Την λύση εδώ έρχονται να δώσουν πολλαπλοί νέοι αντιβιοτικοί παράγοντες που έχουν λάβει πρόσφατα έγκριση από τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων των Ηνωμένων Πολιτειών (*Food and Drug Administration of United States, FDA*), οι οποίοι φαίνεται να επιδεικνύουν υψηλή *in vitro* δράση έναντι της ανθεκτικής Ψευδομονάδας. Ταυτόχρονα, οι

βακτηριοφάγοι αντιπροσωπεύουν μία πολλά υποσχόμενη εναλλακτική θεραπεία για την αντιμετώπιση των λοιμώξεων από παθογόνα όπως η Ψευδομονάδα, λόγω της ικανότητάς τους να παρακάμπτουν μηχανισμούς αντιβιοτικής αντίστασης, στοχεύοντας παράλληλα συγκεκριμένα βακτήρια-ξενιστές. Παρ' όλα αυτά, μέχρι την ενδεδειγμένη κλινική αποτελεσματικότητα των παραπάνω στρατηγικών, η κατάλληλη διαχείριση βασίζεται στην ενδελεχή αξιολόγηση των παραγόντων του βαρέως πάσχοντα ασθενή (Kunz, et al., 2022).

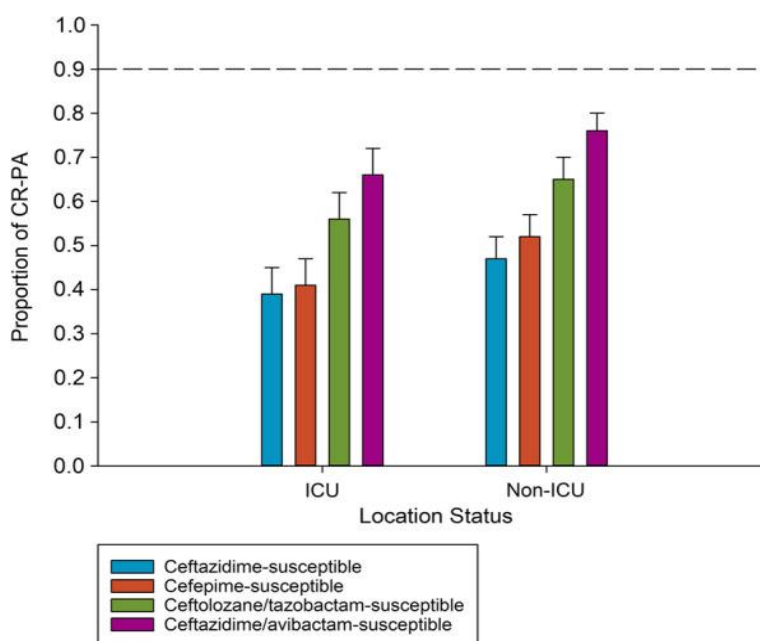
Ceftiozane/Tazobactam

Η κεφτολοζάνη/ταζομπακτάμη (C/T) αποτελεί έναν νέο συνδυαστικό αναστολέα της κατηγορίας β-λακτάμης/β-λακταμάσης, ο οποίος χρησιμοποιείται για την αντιμετώπιση της MDR *P. aeruginosa*. Πιο συγκεκριμένα, χάρη στην ισχυρή συγγένειά της με τις επιλεγμένες πρωτεΐνες που δεσμεύουν την πενικιλίνη (*Penicillin-binding proteins, PBPs*), τείνει να μην παρουσιάζει διασταυρούμενη αντοχή με άλλες αντιβιοτικές κατηγορίες, ενώ αποδεδειγμένα παρουσιάζει σταθερότητα έναντι των β-λακταμασών AmpC, χωρίς να επηρεάζεται από τις αντλίες εκροής και τους διάλυτους πορίνης της εξωκυτταρικής βακτηριακής μεμβράνης. Η κεφτολοζάνη είναι μία νέα κεφαλοσπορίνη πέμπτης γενιάς, με ανεξάρτητη δράση έναντι των MDR στελεχών της *P. aeruginosa*, ενώ η ταζομπακτάμη ένας γνώριμος αναστολέας β-λακταμάσης. Η συνδυαστική χρήση C/T εγκρίθηκε τον Ιούνιο του 2019 από τον FDA για την HAP ή VAP βακτηριακής αιτιολογίας (HABP/VABP) έπειτα από τα αποτελέσματα της δοκιμής *ASPECT-NP*. Έκτοτε, έχει υιοθετηθεί σε πολλές περιπτώσεις ως προτιμώμενο σχήμα αντιμετώπισης, καθώς τα μέχρι τώρα αποτελέσματα δείχνουν σημαντική κλινική επιτυχία συγκριτικά με άλλα θεραπευτικά σχήματα. Στην μελέτη των *Alqaid και συν.* (2015), οι ασθενείς που έλαβαν C/T συνδυαστικά με κολιστίνη και ριφαμπικίνη παρουσίασαν σημαντική βελτίωση στα επίπεδα λευκοκυττάρωσης, στις πνευμονικές διηθήσεις και στις ρυθμίσεις του αναπνευστήρα, έπειτα από μόλις 2 εβδομάδες θεραπείας. Αντίστοιχα, στην πολυκεντρική και αναδρομική μελέτη των *Kunz και συν.* (2022) σε 95 βαρέως πάσχοντες ασθενείς με LRTI, εκ των οποίων το 83,3% των στελεχών ταξινομήθηκαν MDR στις καρβαπενέμες, η C/T επέφερε θετικά αποτελέσματα στο 71,6% των ασθενών. Αξίζει να σημειωθεί και το γεγονός ότι το 94,8% παρουσίασε σημαντική αιμοδυναμική αστάθεια (π.χ. χρήση αγγειοσυσπαστικών ή μηχανικού αερισμού), σήψη ή σηπτικό SHOCK. Ενδεικτικά, μόνο το 3,1% παρουσίασε ανεπιθύμητες ενέργειες, όπως θρομβοπενία και επιληπτικές κρίσεις. Τα παραπάνω δεδομένα υποδηλώνουν την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητα της C/T για τις *P. aeruginosa* LRTIs, ωστόσο αναμφίβολα απαιτείται μεγαλύτερος αριθμός ερευνών κλινικής ίασης με στόχο την αξιολόγηση του σχήματος έναντι των σοβαρών MDR λοιμώξεων (*Alqaid, et al., 2015; Reynolds & Kollef, 2021; Holger et al., 2022; Kunz, et al., 2022*).

Ceftazidime/Avibactam

Όμοια με την C/T, η κεφταζιδίμη/αβιβακτάμη (CZA) είναι ένας επίσης νέος αναστολέας β-λακτάμης/β-λακταμάσης, ο οποίος εγκρίθηκε το 2015 από τον FDA και το 2019 από την Κινεζική Εθνική Υπηρεσία Ιατρικών Προϊόντων (CNMPA) για την αντιμετώπιση HAP, VAP, της πυελονεφρίτιδας, επιλεγμένων ενδοκοιλιακών λοιμώξεων και υπό προϋποθέσεις για λοιμώξεις που προκαλούνται από *Acinetobacter chimaerae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae* και *P. aeruginosa*. Η CZA συνδυάζει την κεφαλοσπορίνη κεφταζιδίμη με την αβιβακτάμη, έναν νέο αναστολέα β-λακτάμης/β-λακταμάσης. Αν και η δεύτερη δεν έχει μεμονωμένα υψηλή εγγενή δράση, φαίνεται να επεκτείνει σημαντικά την *in vitro* δραστηριότητα της πρώτης. Σύμφωνα με τις πρόσφατες μελέτες, το ποσοστό ευαισθησίας με βάση την περιοχή έναντι της *P. aeruginosa* φαίνεται πως κυμαίνεται μεταξύ 76,2% - 97,8%, ενώ αναφορικά με την κλινική αποτελεσματικότητα, το ποσοστό κυμαίνεται μεταξύ 64,3% - 90,6%. Όπως η C/T, έτσι και

η CZA δεν είναι ενεργή έναντι των μεταλλο-β-λακταμασών (MBL) στελεχών, ωστόσο φαίνεται να είναι αρκετά δραστική ενάντια στα στελέχη που είναι υπεύθυνα για την παραγωγή καρβαπενεμασών κατηγορίας A, όπως π.χ. τα ένζυμα GES. Αντίστοιχα, η C/T υπερτερεί αναφορικά με την αντιμετώπιση της υπερέκφρασης των αντλιών εκροής της βακτηριακής μεμβράνης. Στην μεγαλύτερη έως τώρα έρευνα που διεξήχθη για την αποτελεσματικότητα της CZA, ύψους 203 ατόμων με διάφορες MDR λοιμώξεις από Gram-αρνητικά βακτήρια, το 31% παρουσίασε επιβεβαιωμένη λοίμωξη *P. aeruginosa*, εκ των οποίων το 60,3% είχε ως κύρια πηγή μόλυνσης την αναπνευστική οδό. Με βάση τα αποτελέσματα προέκυψε πως η CZA αποτελεί μία κατάλληλη εναλλακτική θεραπευτική λύση. Η συνδυαστική θεραπεία με άλλα αντιβιοτικά φέρει ακόμα μεγαλύτερες δυνατότητες ίασης: σε μια *in vitro* μελέτη της CZA 21 ασθενών με MDR *P. aeruginosa*, κατά τη διάρκεια της οποίας συνδυάστηκε με μεροπενέμη, κολιστίνη, αμικασίνη, φωσφομυκίνη και αζτρεονάμη, προέκυψε τουλάχιστον διπλάσια αποτελεσματικότητα και ειδικά, στους ασθενείς που έλαβαν συνδυαστική θεραπεία με αμικασίνη ή αζτρεονάμη. Μία άλλη παρόμοια μελέτη ανέφερε πιο αποτελεσματική την συνδυαστική θεραπεία CZA με κολιστίνη ή φωσφομυκίνη έναντι των MDR απομονώσεων. Τέλος, αναφορικά με τους μηχανισμούς αντίστασης έναντι της CZA, η ενζυματική αδρανοποίηση φαίνεται να είναι η πιο κοινή, ακολουθούμενη από την διαπερατότητα της εξωκυτταρικής μεμβράνης (βλ. Κεφάλαιο 3) (Reynolds & Kollef, 2021; Kunz, et al., 2022; Kang, et al., 2023).



Εικόνα 2.7. *In vitro* ισχύς της κατηγορίας κεφαλοσπορινών έναντι της ανθεκτικής στην καρβαπενέμη *P. aeruginosa* (CR-PA), εντός και εκτός του περιβάλλοντος της ΜΕΘ (Ανατύπωση από: (Gill & Nicolau, 2022))

Imipenem/Relebactam

Η ιμιπενέμη/ρελεβακτάμη (IR) εγκρίθηκε επίσημα από τον FDA τον Ιούλιο του 2019, ενώ σχεδόν έναν χρόνο αργότερα, τον Ιούνιο του 2020 εγκρίθηκε για την αντιμετώπιση HABP και VABP. Πρόκειται για τον συνδυασμό της ιμιπενέμης, μίας καρβαπενέμης/σιλαστατίνης, ενός αναστολέα νεφρικής διωδροπεπτιδάσης 1, και της ρελεβακτάμης, ενός νεοσύστατου αντιβιοτικού δικυκλικού αναστολέα β-λακταμάσης. Η αποτελεσματική δραστηριότητα της IR αποδείχθηκε κατόπιν μίας μελέτης επιτήρησης 490 απομονωμένων στελεχών *P. aeruginosa*: η ιμιπενέμη παρουσιάστηκε ευαίσθητη για το 70% των

απομονώσεων με μεμονωμένη χρήση, ενώ συνδυαστικά με ρελεβακτάμη 4 mg/L για το 98%. Παράλληλα, κατά την τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη δοκιμή RESTORE-IMI, πραγματοποιήθηκε σύγκριση της IR με τον συνδυασμό ιμιπενέμης και κολιστίνης σε 47 ασθενείς με επιβεβαιωμένη MDR λοίμωξη στην καρβαπενέμη, εκ των οποίων το 77% αφορούσε λοίμωξη από *P. aeruginosa*: συνολικά, το ποσοστό ευνοϊκής κλινικής ανταπόκρισης την 28^η ημέρα ήταν υψηλότερο για την ομάδα της IR (71% έναντι 40%), γεγονός που υποστηρίζει την άποψη πως η IR αποτελεί μία αποτελεσματική θεραπευτική στρατηγική έναντι των λοιμώξεων ανθεκτικών στην καρβαπενέμη. Ανεπιθύμητες ενέργειες παρατηρήθηκαν κατά κύριο λόγο στην ομάδα ιμιπενέμης και κολιστίνης (31,1% έναντι 9,7%), ομοίως και νεφροτοξικότητα (56% έναντι 10% στην IR). Σε άλλη πρόσφατη μελέτη με στοιχεία 1445 ασθενών από 51 ισπανικά νοσοκομεία, η IR παρουσιάζει 97,3% ευαισθησία, ακολουθούμενη από την κολιστίνη με 94,6%, την C/T με 94,6% και την CZA με 94,2%. Ενδιαφέρον προκαλεί και το συμπέρασμα πως με βάση τα ίδια στοιχεία, οι ασθενείς που ανέπτυξαν αντοχή στην CZA ή/και στην C/T κατά τη διάρκεια της θεραπείας, παρουσίασαν αυξημένη ευαισθησία στην IR. Το γεγονός αυτό, καθιστά την IR σημαντική θεραπευτική επιλογή στις περιπτώσεις αντίστασης στις C/T και CZA. Τέλος, λόγω της σχεδόν τέλει συσχέτισης μεταξύ της παραγωγής καρβαπενεμάσης και της IR αντίστασης που παρατηρήθηκε κατά την διάρκεια της μελέτης, προκύπτει το συμπέρασμα ότι η παραγωγή MBL αποτελεί σημαντική πρόκληση για την ανάπτυξη νέων αντιβιοτικών φαρμάκων.

Cefiderocol

Η κεφιντεροκόλη είναι μία ευρέως φάσματος σιδηροφόρος κεφαλοσπορίνη νέας γενιάς, Gram-αρνητικής κάλυψης, η οποία αναπτύχθηκε για την διαχείριση των Gram-αρνητικών MDR βακτηριακών λοιμώξεων, όπως π.χ. το *A. baumannii* και η *P. aeruginosa*. Αρχικά, εγκρίθηκε από τον FDA για την καταπολέμηση επιπλεγμένων Gram-αρνητικών ουρολοιμώξεων ως θεραπεία τελευταίας γραμμής. Ο μηχανισμός δράσης της περιλαμβάνει την αύξηση των περιπλασματικών συγκεντρώσεων, διευκολύνοντας έτσι τη διάσπαση της σύνθεσης του κυτταρικού τοιχώματος. Η τυχαιοποιημένη δοκιμή CREDIBLE-CR φάσης 3, εξέτασε την αποτελεσματικότητα της κεφιντεροκόλης σε 118 ασθενείς για την αντιμετώπιση των Gram-αρνητικών λοιμώξεων μη ευαίσθητων στην καρβαπενέμη, έναντι της βέλτιστης διαθέσιμης θεραπείας (κυρίως σχήματα βασισμένα στην κολιστίνη). Με βάση τα αποτελέσματα, τα κλινικά ποσοστά ίασης ήταν παρόμοια στις δύο ομάδες, οι λοιμώξεις αιτιολογίας *Acinetobacter* spp ανθεκτικού στην καρβαπενέμη ήταν υπεύθυνες για υψηλότερα ποσοστά θνησιμότητας σε σχέση με την *P. aeruginosa*, ενώ η μεροπενέμη παρατεταμένης έγχυσης, οι αμινογλυκοσίδες ή/και οι πολυμυξίνες αποτέλεσαν καλούς συνδυασμούς θεραπείας στην ανθεκτική στην καρβαπενέμη *P. aeruginosa*. Τα αποτελέσματα αυτά συγκλείουν και με μία πολυκεντρική τυχαιοποιημένη μελέτη 148 ασθενών, κατά την οποία διαπιστώθηκε η μη κατωτερότητα κεφιντεροκόλης συγκριτικά με μεροπενέμη υψηλής δόσης και παρατεταμένης έγχυσης. Συνεπώς, όταν η χρήση β-λακτάμης/β-λακταμάσης δεν είναι διαθέσιμη ή αξιόπιστη, η κεφιντεροκόλη συνιστάται για την MDR αντιμετώπιση, έναντι της συμβατικής θεραπείας. Αναφορικά με την αντιβιοτική αντίσταση, οι μελέτες επιτήρησης της *in vitro* δραστηριότητας της κεφιντεροκόλης είναι περιορισμένες χρήζουν περεταίρω διερεύνησης. Συνεπώς, η κεφιντεροκόλη θα μπορούσε να γίνει μια ενδιαφέρουσα θεραπευτική προοπτική, ωστόσο συνιστάται προσοχή, καθώς παρουσίασε και αυτή πρόσφατα ανθεκτικές απομονώσεις (Reynolds & Kollef, 2021; Kunz, et al., 2022; Tsilipounidaki, et al., 2023).

Doripenem

Η δοριπενέμη είναι ένα νέο αντιβιοτικό ευρέως φάσματος έναντι αρνητικών και θετικών κατά Gram βακτηρίων της κατηγορίας των καρβαπενέμων. Η δράση τους περιλαμβάνει την αναστολή της σύνθεσης

του κυτταρικού τοιχώματος μέσω δέσμευσης σε πρωτεΐνες που απορροφούν την πενικιλίνη. Είναι εγκεκριμένη από τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων των Ηνωμένων Πολιτειών (*Food and Drug Administration of United States, FDA*) για την αντιμετώπιση ενδοκοιλιακών λοιμώξεων και ουρολοιμώξεων. Η *in vitro* αντιμικροβιακή δράση της σε απομονώσεις *P. aeruginosa* από ασθενείς με διάγνωση κυστικής ίνωσης, φαίνεται να είναι πιο ισχυρή συγκριτικά με άλλα αντιβιοτικά της ίδιας κατηγορίας αντιβιοτικών, όπως η ευρέως χρησιμοποιούμενη στον κλινικό χώρο μεροπενέμη και η ιμιπενέμη. Παράλληλα, σε μια κλινική μελέτη που αξιολογήθηκε η αποτελεσματικότητα του φαρμάκου σε ασθενείς με VAP *P. aeruginosa*, διαπιστώθηκαν μεγαλύτερα ποσοστά ίασης συγκριτικά με την θεραπεία ιμιπενέμης, αν και τα αποτελέσματα παραμένουν αμφιλεγόμενα, λόγω της παρουσίας άλλων μελετών που παρουσιάζουν δυσανάλογα αποτελέσματα. Στον αντίποδα των οφελών, οι παρενέργειες της δοριπενέμης περιλαμβάνουν κεφαλαλγία, ναυτία, διάρροια, εκδήλωση εξανθημάτων και φλεβίτιδα (Pang, et al., 2018; Reynolds & Kollef, 2021).

Plazomicin

Η πλαζομυκίνη είναι ένα νεότερης γενιάς, ημισυνθετικό αμινογλυκοσιδικό αντιβιοτικό, το οποίο προκύπτει από την συνθετική επεξεργασία της σισομικίνης. Η πλαζομυκίνη διαθέτει την ικανότητα αντίστασης σε ένα ευρύ φάσμα ενζύμων τροποποίησης της κατηγορίας των αμινογλυκοσιδίων, ενώ διαθέτει και ισχυρή *in vitro* δράση έναντι αρνητικών και θετικών κατά Gram βακτηρίων. Η δράση της είναι όμοια με της αμικασίνης έναντι των MDR στελεχών *P. aeruginosa*. Στην μελέτη των Pang, et al. (2018) φαίνεται ότι υποδηλώνεται η πλαζομυκίνη ως ένας πιθανός υποψήφιος για μελλοντικές συνδυαστικές θεραπείες κατά των λοιμώξεων *P. aeruginosa*. Τέλος, η πλαζομυκίνη μπορεί να προκαλέσει ήπιες έως μέτριες νεφροτοξικές και ωτοτοξικές διαταραχές.

POL7001

Τα μιμητικά μακροκυκλικά επίτοπα πρωτεΐνης αποτελούν μία νεοσύστατη κατηγορία αντιβιοτικών κατά της *P. aeruginosa*, τα οποία δρουν ως αναστολείς της μεταφοράς του LPS στην εξωτερική μεμβράνη του κυττάρου. Το POL7001 είναι ένα μακροκυκλικό αντιβιοτικό της συγκεκριμένης κατηγορίας φαρμάκων. Σε πρόσφατη μελέτη φαίνεται να είναι συνυφασμένο με μειωμένα επίπεδα φλεγμονής και βακτηριακού φορτίου στους πνεύμονες κατά την διάρκεια λοίμωξης από *P. aeruginosa*, ενώ η ισχυρή *in vitro* και *in vivo* δράση του, το κατατάσσει επίσης στην λίστα των πολλά υποσχόμενων φαρμάκων για μελλοντικές κλινικές δοκιμές. Οι ανεπιθύμητες ενέργειες του POL7001 δεν έχουν ακόμη αναφερθεί.

Ανάπτυξη εμβολίων

Η ανάπτυξη νέων αντιβιοτικών είναι αρκετά περιορισμένη και χρονοβόρα διαδικασία, ενώ η κατάχρηση των ήδη υπαρχόντων οδηγεί, εκτός των άλλων, στην ανάπτυξη πολυανθεκτικών στελεχών στους χώρους υγειονομικής περιθάλψης. Έτσι, η ανάπτυξη νέων μη αντιβιοτικών θεραπευτικών στρατηγικών κερδίζει όλο και περισσότερη προσοχή τα τελευταία χρόνια. Αυτές οι νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις μπορούν να δράσουν είτε μεμονωμένα, είτε συνδυαστικά με άλλες συμβατικές ή μη θεραπείες έναντι των λοιμώξεων από *P. aeruginosa*. Μία από αυτές είναι η στρατηγική εμβολίων. Ο εμβολιασμός είναι ίσως μία από τις πιο επιτυχημένες στρατηγικές πρόληψης και αποτροπής των λοιμώξεων. Αν και αρκετοί τύποι πολυδύναμων εμβολίων έχουν δοκιμαστεί κατά καιρούς σε κλινικές μελέτες, επί του παρόντος κανένα δεν είναι εγκεκριμένο για κλινική εφαρμογή σε ανθρώπους (Tang, et al., 2015; Pang, et al., 2018). Πολλά άλλα πειραματικά εμβόλια βρίσκονται σε στάδιο ανάπτυξης, συμπεριλαμβανομένων του

εμβολίου συζευγμάτων πολυσακχαρίτη-πρωτεΐνης, του αντιγόνου LPS, του αντιγόνου των μαστιγίων, των πρωτεϊνών της εξωτερικής μεμβράνης OprF και OprI, της εξωτοξίνης A, του pili (κροσσοί), του T3SS και του εξασθενημένου κυττάρου *P. aeruginosa*. Από τους παραπάνω τύπους, μόνο το εμβόλιο αντιγόνου μαστιγίων, καθώς και το ανασυνδυασμένο εμβόλιο IC43 το οποίο περιλαμβάνει OprF και OprI έχουν προχωρήσει σε κλινικές δοκιμές φάσης III. Τα εμβόλια που διατίθενται μέχρι σήμερα χαρακτηρίζονται από χαμηλή αποτελεσματικότητα λόγω της ικανότητας του *P. aeruginosa* να υφίσταται φαινοτυπικές αλλαγές ακόμα και σε μεταβλητές περιβαλλοντικές συνθήκες (Pang, et al., 2018).

Βακτηριοφάγος θεραπεία

Μία ακόμα θεραπευτική στρατηγική είναι η βακτηριοφάγος θεραπεία. Οι βακτηριοφάγοι (ή αλλιώς *φάγοι*) είναι ιοί που μολύνουν τα βακτήρια-ξενιστές, χρησιμοποιώντας τον βιολογικό μηχανισμό τους για αντιγραφή, όπου όμοια με τα αντιβιοτικά, έχουν στόχο την λύση όσο το δυνατόν περισσότερων βακτηρίων στο σημείο της μόλυνσης. Πρόκειται για μία νέα αναδυόμενη θεραπεία ως απάντηση στην συνεχή ανάπτυξη MDR στελεχών, τον σχηματισμό βιοφίλμ, τη νοσηρότητα και τη θνησιμότητα επικίνδυνων βακτηρίων όπως η *P. aeruginosa*. Η θεραπεία με φάγους είναι γνωστή για περισσότερα από 100 χρόνια, ωστόσο λόγω των μεγάλων κενών γνώσης και της ευρείας χρήσης των αντιβιοτικών, έχει έως τώρα αργή υιοθέτηση στη δυτική ιατρική. Η οδός χορήγησης, η δοσολογία και η συχνότητα εξακολουθούν να είναι ελάχιστα κατανοητές και δεν έχουν σαφή οριοθέτηση. Η βακτηριοφάγος θεραπεία μπορεί να αποδειχθεί ευεργετική για την καταπολέμηση των λοιμώξεων σε βάθος χάρη στην ικανότητά της να παρακάμπτει τους παραδοσιακούς αντιβιοτικούς μηχανισμούς αντίστασης, προκαλώντας γονιδιακές αλλαγές. Αναφορικά με την *P. aeruginosa*, οι φάγοι στοχεύουν την πρωτεΐνη OprM της εξωτερικής μεμβράνης, ενεργοποιώντας την παραγωγή ενζύμων για τη διάσπαση του βιοφίλμ, το οποίο παρέχει αντιβιοτική προστασία. Μέχρι σήμερα η βακτηριοφάγος θεραπεία έχει χρησιμοποιηθεί σε μελέτες μόνο για παρηγορητική χρήση και σε περιστατικά που διέφεραν ως προς τις κλινικές ενδείξεις και την προσέγγιση ευρύτερα, υπογραμμίζοντας την ανάγκη για περαιτέρω μελέτες (Kunz, et al., 2022).

2.4 Έλεγχος και Πρόληψη Λοιμώξεων

Οι λοιμώξεις που προκαλούνται από *P. aeruginosa*, όπως και κάθε λοίμωξη υγειονομικής περίθαλψης, είναι σημαντικό να μπορούν να προληφθούν όποτε είναι αυτό δυνατόν, ειδικά στις περιπτώσεις MDR απομονώσεων. Η πρόληψη επιτυγχάνεται μέσω της εφαρμογής κατευθυντηρίων μέτρων πρόληψης, συμπεριλαμβανομένων των προφυλάξεων επαφής και της υγιεινής των χεριών. Σε αυτά τα μέτρα πρόληψης εντάσσονται και προσεγγίσεις όπως η χρήση άσηπτων τεχνικών κατά την διαχείριση των ασθενών, ο ορθός καθαρισμός των μηχανημάτων και του άμεσου περιβάλλοντος, καθώς και οι σωστές διαδικασίες απομόνωσης (Tang, et al., 2015; Reynolds & Kollef, 2021). Ίσως το πιο κρίσιμο μέτρο πρόληψης είναι η υγιεινή των χεριών. Αυτή περιλαμβάνει το πλύσιμο των χεριών με σαπούνι και νερό ή την χρήση αντισηπτικού αλκοολούχου διαλύματος μέσω τριβής πριν και μετά την φροντίδα των ασθενών, καθώς και του άμεσου περιβάλλοντος (Khedr, et al., 2022). Άλλα παραδείγματα σχετικών πρακτικών που μπορούν να μειώσουν τη συχνότητα εμφάνισης της *P. aeruginosa* είναι η θέσπιση προγραμμάτων αντιμικροβιακής διαχείρισης, καθώς και η εκπαίδευση του υγειονομικού προσωπικού ως προς την ορθή τυπική φροντίδα του βαρέως πάσχοντος ασθενή. Σε μία πρόσφατη μεγάλη συστηματική ανασκόπηση και μετα-ανάλυση διαπιστώθηκε πως τα πιο αποτελεσματικά μέτρα πρόληψης περιλάμβαναν έναν συνδυασμό αντιμικροβιακής διαχείρισης, τυπικής φροντίδας (υγιεινή των χεριών και προφυλάξεις επαφής) και ορθού καθαρισμού του άμεσου περιβάλλοντος. Αναφορικά με την ευρύτερη πρόληψη των HAIs, όπως για παράδειγμα οι CLABSI, οι CAUTI και λοιμώξεις χειρουργικού πεδίου, στρατηγική-κλειδί αποτελεί η εφαρμογή αυστηρών άσηπτων τεχνικών, καθώς και

ο επαναπροσδιορισμός τοποθέτησης ή/και διενέργειας μη απαραίτητων παρεμβάσεων. Η πρόληψη της VAP από *P. aeruginosa*, επιτυγχάνεται μέσω των τυπικών μέτρων πρόληψής της, συμπεριλαμβανομένων της αποφυγής της διασωλήνωσης όπου είναι εφικτό, της μείωσης της καταστολής και συνεπώς την όσο το δυνατόν πιο γρήγορη αποσωλήνωση, της ανύψωσης της κεφαλής του κρεβατιού και των συχνών αναρροφήσεων για την ελαχιστοποίηση των εκκρίσεων (Reynolds & Kollef, 2021).

Μία άλλη σημαντικά πιθανή εστία λοίμωξης (και κατ' επέκταση μέτρο πρόληψης) αποτελούν οι σωλήνες αναρρόφησης ενδοτραχειακών εκκρίσεων, καθώς και οι αντίστοιχοι καθετήρες (είτε κλειστού, είτε ανοιχτού τύπου). Άξιο αναφοράς είναι πως κατά τη διάρκεια της πανδημίας COVID-19 αυξήθηκε το ποσοστό των θετικών σε *P. aeruginosa* καλλιέργειών βρογχικών εκκρίσεων, γεγονός που υπογραμμίζει την συχνότητα αλλαγής των σωλήνων και καθετήρων αναρρόφησης ως βασική προληπτική παρέμβαση (Khedr, et al., 2022). Αναφορικά με τους εγκαυματίες ασθενείς, συστήνεται η τοπική εφαρμογή σουλφαδιαζίνης και επιθεμάτων αργύρου για την αποφυγή σήψης αιτιολογίας *P. aeruginosa*. (Tang, et al., 2015). Ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δοθεί και στα υγρά περιβάλλοντα υγειονομικής περίθαλψης, καθώς αποδεδειγμένα αυξάνουν τον κίνδυνο βακτηριακού αποικισμού. Παρόλο που έχει θεσπιστεί το νερό στα νοσοκομεία να πληρή ορισμένα αυστηρά κριτήρια ασφαλείας και πρότυπα ποιότητας, η *P. aeruginosa* μπορεί να αναπτυχθεί στα υδραυλικά συστήματα υπό κατάλληλες συνθήκες. Συνεπώς, συνιστάται η χρήση αποστειρωμένου νερού κατά την εντερική σίτιση, ειδικά στους ασθενείς ΜΕΘ, ο τακτικός καθαρισμός ή/και αντικατάσταση των συστημάτων όποτε αυτό κρίνεται απαραίτητο, η εφαρμογή προγραμμάτων διαχείρισης ύδατος στις μονάδες υγειονομικής περίθαλψης, καθώς και ο τακτικός καθαρισμός ή/και η απολύμανση στις αντίστοιχες επιφάνειες, όπως π.χ. νεροχύτες, λεκάνες, λαβές βρύσης κ.α. (Khedr, et al., 2022).

Τέλος, δεδομένης της ολοένα και αυξανόμενης εμφάνισης MDR στελεχών, η αλόγιστη χρήση αντιβιοτικής θεραπείας προκαλεί ανησυχία. Η ορθή επιλογή αντιμικροβιακής θεραπείας αποτελεί βασική στρατηγική τόσο για την θεραπεία, όσο και για την πρόληψη των λοιμώξεων που προκαλούνται από *P. aeruginosa*. Η αρχική θεραπευτική προσέγγιση πρέπει να βασίζεται στις ευαισθησίες της καλλιέργειας και να χορηγείται μόνο όταν υπάρχει αυξημένος κίνδυνος μόλυνσης. Στο απαιτητικό αυτό έργο της πρόληψης μπορεί να συμβάλει και το Τμήμα Ελέγχου Λοιμωδών Νοσημάτων, το οποίο οφείλει να ενημερώνει το υγειονομικό προσωπικό για τις τελευταίες εξελίξεις αναφορικά με την αντιβιοτική διαχείριση και την φροντίδα του βαρέως πάσχοντος ασθενή (Reynolds & Kollef, 2021).

Κεφάλαιο 3^ο: Παθογένεση των λοιμώξεων και αντιβιοτική αντίσταση

3.1 Πορεία της λοίμωξης

Αποικισμός

Ο αποικισμός από *P. aeruginosa* είναι ένα από τα αρχικά στάδια της λοίμωξης, εμφανιζόμενος εντός 48-72 ωρών από την εισαγωγή στο νοσοκομείο. Ο αποικισμός της αναπνευστικής οδού επιτυγχάνεται μέσω προσκόλλησης των κροσσών (pili) της κυτταρικής επιφάνειας του βακτηρίου και την βοήθεια ενός ενζύμου πρωτεάσης που αποικοδομεί τη φμπρονεκτίνη, εκθέτοντας έτσι τους υποκείμενους υποδοχείς του πυλώνα στην επιφάνεια των επιθηλιακών κυττάρων. Ο αποικισμός του αναπνευστικού μπορεί να επιτευχθεί και μέσω τραυματισμένου ιστού. Όμοια με την *Klebsiella*, η επιθηλιακή κυτταρική προσκόλληση της *P. aeruginosa* επιτυγχάνεται μέσω ειδικών υποδοχέων μαννόζης, γαλακτόζης ή σιαλικού οξέος. Το σιαλικό οξύ (*N-acetylneuraminic acid*) μπορεί και αναλαμβάνει ρόλο υποδοχέα των *P. aeruginosa* pili στην επιθηλιακή επιφάνεια της τραχείας, ενώ η N-ακετυλογλυκοζαμίνη είναι αυτή που δεσμεύει τα αλγινικά βλεννοειδή στελέχη. Οι προσφύσεις που εντοπίζονται στην κυτταρική επιφάνεια είναι αυτές που κατά κύριο λόγο μπορούν και διευκολύνουν τον βακτηριακό αποικισμό στο αναπνευστικό επιθήλιο. Τέλος, το εξωένζυμο S φαίνεται πως εξυπηρετεί στην προσκόλληση των γλυκολιπιδίων. Οι βαρέως πάσχοντες ασθενείς ΜΕΘ εμφανίζουν διαφορετικό φάσμα αποικισμού σε σύγκριση με άλλους νοσηλευόμενους ασθενείς, λόγω της νοσοκομειακής μετάδοσης MDR στελεχών, καθώς και της αντιβιοτικής αντίστασης η οποία δεν παύει να εξελίσσεται. Στα υγιή άτομα εκτός κλινικού χώρου, η εμφάνιση αποικισμού παρατηρείται σπάνια.

Συστηματική λοίμωξη

Η είσοδος του *P. aeruginosa* πραγματοποιείται από τις τοπικές θέσεις μόλυνσης και οδηγείται στην κυκλοφορία του αίματος ή το αναπνευστικό σύστημα μέσω κυτταρικών προϊόντων υπεύθυνων για την εντοπισμένη νόσο. Η εκτεταμένη κάψουλα πολυσακχαρίτη και ο LPS είναι τα κύρια δομικά χαρακτηριστικά που καθιστούν τη *P. aeruginosa* ανθεκτική στη φαγοκυττάρωση και τη βακτηριοκτόνο δράση των αντιβιοτικών. Στην διαδικασία συμβάλλουν και οι εξωκυτταρικές πρωτεάσες αδρανοποιώντας το συμπλήρωμα, διακόπτοντας τις φλεγμονώδεις κυτταροκίνες και διασπώντας τα IgG αντισώματα. Της καταστάσεις Gram-αρνητικής σηψαιμίας συμβάλλει το τμήμα λιπιδίου A του LPS, ενώ η εξωτοξίνη A προκαλεί κυτταροτοξικότητα με στόχο την προώθηση της διάδοσης (Tang, et al., 2015). Της περιπτώσεις που παρουσιάζεται δύσκολο να γίνει διαφοροποίηση αποικισμού και μόλυνσης από *P. aeruginosa*, το σηπτικό σοκ, η λευκοκυττάρωση, ο πυρετός και οι αλλαγές της απεικονιστικές εξετάσεις αποτελούν της κύριες ενδεικτικές καταστάσεις λοίμωξης (Hermann, et al., 2023).

Αντιβιοτική αντίσταση

Στο φυσικό περιβάλλον η Ψευδομονάδα μπορεί να αναπτυχθεί στο έδαφος, στα φυτά και σε υγρά περιβάλλοντα. Υπό αυτές της συνθήκες και σε συνδυασμό με της βράκιλλους, της ακτινομύκητες και την μούχλα, δημιουργείται ένα εξαιρετικά ευνοϊκό περιβάλλον αντίστασης στα φυσικά αντιβιοτικά της. Παράλληλα, η τάση του βακτηρίου να αποικίζεται σε επιφάνειες υπό κατάλληλες συνθήκες μπορεί και καθιστά τα κύτταρα μη ευαίσθητα στα αντιβιοτικά, ακόμα και σε υψηλές συγκεντρώσεις. Η Ψευδομονάδα έχει τη δυνατότητα απόκτησης μοριακών γονιδιακών πλασμιδίων ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά (*R-factors*), των οποίων η μεταφορά γίνεται οριζοντίως (*Horizontal Gene Transfer, HGT*).

Όλα τα παραπάνω επιβεβαιώνουν πως τα MDR στελέχη επεκτείνονται με ταχείς ρυθμούς σε επιδημιολογικό εύρος και επικράτηση (Tang, et al., 2015).

Οι κύριοι μηχανισμοί αντιβιοτικής αντίστασης που χρησιμοποιούνται από τη *P. aeruginosa* ταξινομούνται σε εγγενή, επίκτητη και προσαρμοστική αντίσταση. Η εγγενής αντιβιοτική αντίσταση περιλαμβάνει της μηχανισμούς της χαμηλής διαπερατότητας της εξωτερικής μεμβράνης, των αντλιών εκροής και της παραγωγής ενζύμων αδρανοποίησης των αντιβιοτικών. Η επίκτητη αντίσταση επιτυγχάνεται είτε με οριζόντια μεταφορά γονιδίων αντίστασης είτε με μεταλλάξεις, ενώ η προσαρμοστική αντίσταση περιλαμβάνει το σχηματισμό βιοφίλμ της πνεύμονες των μολυσμένων ασθενών, το οποίο δρα ως φράγμα διάχυσης με σκοπό τον περιορισμό της αντιβιοτικής πρόσβασης στα βακτηριακά κύτταρα (Pang, et al., 2018).

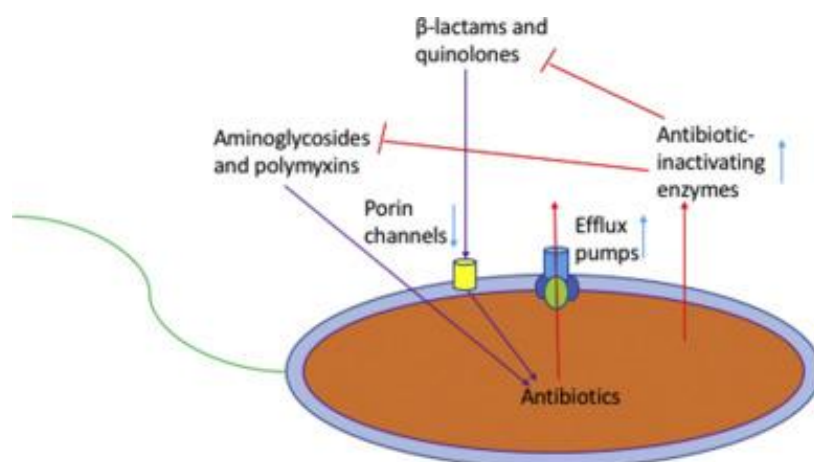
3.2 Εγγενής αντιβιοτική αντίσταση

Ως εγγενής αντιβιοτική αντίσταση της βακτηριακού είδους ορίζεται η έμφυτη ικανότητά του να μειώνει την αποτελεσματικότητα του συγκεκριμένου αντιβιοτικού, μέσω εγγενών δομικών ή λειτουργικών χαρακτηριστικών. Η *P. aeruginosa* διαθέτει υψηλά επίπεδα εγγενούς αντοχής στην πλειοψηφία των αντιβιοτικών μέσω της παραγωγής ενζύμων αδρανοποίησης των αντιβιοτικών, όπως οι β-λακταμάσες. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω της μειωμένης διαπερατότητας της εξωτερικής μεμβράνης του κυττάρου, καθώς και μέσω των μηχανισμών εκροής που απενεργοποιούν της αντιβιοτικές δραστικές ουσίες, αντλώντας τις έξω από το κυτταρικό επίπεδο. Επιπλέον, οι διάλυτοι πορίνης δεν επιτρέπουν σε αντιβιοτικά όπως οι β-λακτάμες και οι κινολόνες να διαπερνούν της κυτταρικές μεμβράνες, ενώ οι αμινογλυκοσίδες και οι πολυμυξίνες διευκολύνουν τη απορρόφησή της αλληλεπιδρώντας με τον κύριο λιποπολυσακχαρίτη παράγοντα λειομογόνου δράσης (LPS) του *P. aeruginosa* στην εξωτερική μεμβράνη του κυττάρου.

Η μεμβρανική διαπερατότητα *P. aeruginosa* είναι εξαιρετικά περιορισμένη σε σύγκριση με τα υπόλοιπα είδη βακτηρίων (π.χ. περίπου 12-100 φορές λιγότερο σε σύγκριση με το *E. Coli*). Πιο συγκεκριμένα, η πρωτεΐνη OprF, η οποία αποτελεί και την κυρίαρχη πορίνη μη ειδικής κατηγορίας του *P. aeruginosa*, φέρει κυρίως κλειστούς διαύλους στην εξωτερική κυτταρική μεμβράνη, γεγονός που μπορεί να επιβεβαιώσει την χαμηλή διαπερατότητα σε σύγκριση με τα άλλα βακτήρια. Παράλληλα, η απουσία OprF πρωτεΐνης ευνοεί και τον σχηματισμό βιοφίλμ μέσω της ρύθμισης του μορίου Cyclic di-GMP (είδος αγγελιοφόρου σημαντικού στη διεργασία σχηματισμού βιοφίλμ). Η πρωτεΐνη OprD ειδικής κατηγορίας είναι αυτή που εμπλέκεται σε μεγαλύτερο βαθμό στην αντίσταση στις καρβαπενέμες (κατηγορία αντιβιοτικών β-λακτάμης), ενώ η πρωτεΐνη OprH (διάλυτος πορίνης-πύλης) αποτελεί την μικρότερη σε μέγεθος πορίνη και είναι άμεσα συσχετισμένη με την αντίσταση στην γενταμικίνη και την πολυμυξίνη Β, προκαλώντας τροποποίηση του LPS.

Οι αντλίες βακτηριακής εκροής είναι υπεύθυνες για την αποβολή ενώσεων στο εξωκυττάριο περιβάλλον και διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην αντιβιοτική αντίσταση του *P. aeruginosa*. Αποτελούνται από συστατικά της μεταφορείς κυτταροπλασματικής μεμβράνης, πρωτεΐνες διαύλων πορίνης της εξωτερικής μεμβράνης, καθώς και ορισμένες περιπλασματικές πρωτεΐνες. Η *P. aeruginosa* εκφράζει δώδεκα διαφορετικές αντλίες εκροής οι οποίες είναι υπεύθυνες για την αντίσταση κατά κύριο λόγο στις β-λακτάμες, τις κινολόνες και τις αμινογλυκοσίδες. Παράλληλα, η χρήση αναστολέων αντλιών εκροής αναδεικνύεται ως μία πιθανή θεραπευτική στρατηγική στην καταπολέμηση των λοιμώξεων που προκαλούνται από το *P. aeruginosa*, μειώνοντας τη λειομογόνο δύναμη και αυξάνοντας την ευαισθησία στα αντιβιοτικά. Παραδείγματος χάρη, η Φαινυλαλανίνη αργινύλη β-ναφθυλαμίδη (PaβN) αποτελεί έναν από της πιο γνωστούς και καλά μελετημένους ανταγωνιστές αντλιών εκροής, ο οποίος όχι μόνο αναστέλλει την βακτηριακή εκροή αλλά και αυξάνει την διαπερατότητα της εξωτερικής μεμβράνης του βακτηρίου.

Στα πλαίσια της εγγενούς αντιβιοτικής αντίστασης, η *P. aeruginosa* είναι ικανή και για την παραγωγή ενζύμων που αδρανοποιούν, διασπούν ή τροποποιούν τα αντιβιοτικά. Η συγκεκριμένη αντίσταση εξυπηρετείται αφενός, επειδή ορισμένα αντιβιοτικά φέρουν χημικούς δεσμούς ευαίσθητους στην υδρόλυση από ένζυμα που παράγονται από τη *P. aeruginosa* και αφετέρου, επειδή η *P. aeruginosa* φέρει ένα επαγωγίμο γονίδιο *ampC*, όμοια με τα άλλα Gram-αρνητικά βακτήρια. Παραδείγματος χάρη, μέσω των παραπάνω μηχανισμών η *P. aeruginosa* καταφέρνει να σπάει της δεσμούς της κατηγορίας β-λακτάμης αντιβιοτικών, οδηγώντας στην αδρανοποίησή της και στην αντοχή της πλειονότητας των αντιβιοτικών β-λακτάμης, συμπεριλαμβανομένων των κεφαλοσπορινών, των πενικιλινών και της αζτρεονάμης. Ομοίως, η αντίσταση των αμινογλυκοσιδίων στο *P. aeruginosa*, της ομάδας αντιβιοτικών ευρείας χρήσης, οφείλεται στον παράγοντα ενζυμικής τροποποίησης στην μοριακή δομή του αντιβιοτικού, στην κυτταρική διαπερατότητα, στις αντλίες εκροής και σε διάφορες ριβοσωμικές μεταβολές (Pang, et al., 2018).



Εικόνα 3.1. Αναπαράσταση εγγενούς αντιβιοτικής αντίστασης *P. aeruginosa*. Περιλαμβάνονται τα αντιβιοτικά αμινογλυκοσίδες, πολυμυξίνες, β-λακτάμες και κινολόνες, καθώς και η σύνθεση ενζύμων που καθιστούν τα αντιβιοτικά ανενεργά. Οι αντλίες εκροής και οι διάλυτοι πορίνης beta-barrel βρίσκονται στην εξωτερική μεμβράνη του βακτηρίου, επιτρέποντας την αποβολή ενώσεων στον εξωκυττάριο χώρο και μειώνοντας την διαπερατότητα της εξωτερικής μεμβράνης (Ανατύπωση από: Pang, et al., 2018)

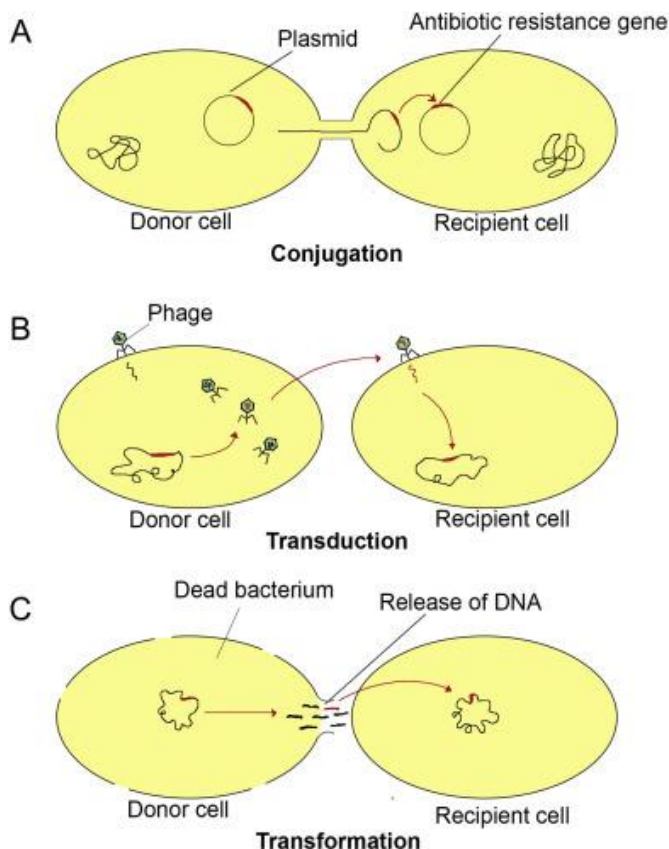
3.3 Επίκτητη αντιβιοτική αντίσταση

Εκτός από τα υψηλά επίπεδα εγγενούς αντίστασης, η *P. aeruginosa*, όπως και άλλα βακτήρια, μπορεί να αποκτήσει αντιβιοτική αντίσταση μέσω μεταβολών μετάλλαξης ή μέσω οριζόντιας μεταφοράς γονιδίων. Ως αποτέλεσμα, οι παραπάνω μηχανισμοί συμβάλλουν στην αντιβιοτική ανθεκτικότητα, στην ανάπτυξη πολυανθεκτικών στελεχών δύσκολων στην εξάλειψη και συνεπώς, στην εμφάνιση επίμονων λοιμώξεων.

Οι μεταβολές μετάλλαξης είναι υπεύθυνες για την μειωμένη αντιβιοτική πρόσληψη, την τροποποίηση των αντιβιοτικών στόχων και την εκτεταμένη παραγωγή ενζύμων τροποποίησης. Έτσι, παρά την παρουσία των αντιμικροβιακών μορίων που βρίσκονται στην αντιβιοτική θεραπεία, το βακτήριο μπορεί και επιβιώνει για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα. Ένα από τα πιο χαρακτηριστικά παραδείγματα είναι η παρέμβαση και τροποποίηση των θέσεων στόχου κινολόνης. Παράλληλα, μέσω των μεταλλάξεων μειώνεται και η διαπερατότητα της βακτηριακής μεμβράνης, μία ακόμη κοινή στρατηγική των βακτηρίων για την αποφυγή της αντιμικροβιακής δράσης, καθώς επηρεάζεται η ορθή λειτουργία των υδατινών καναλιών πορίνης. Τα στελέχη της *P. aeruginosa* με ριβοσωμικές μεταλλάξεις αναπτύσσουν αποδεδειγμένα υψηλά επίπεδα αντοχής της αμινογλυκοσίδης, αναστέλλοντας τη μετάφραση πρωτεΐνης και στοχεύοντας τη ριβοσωμική υπομονάδα 30S. Αντίστοιχα, η πρωτεϊνική τροποποίηση που δεσμεύει

την πενικιλίνη στη *P. aeruginosa*, αναφέρεται ως υπεύθυνη για την αύξηση της αντοχής στα αντιβιοτικά της κατηγορίας β-λακτάμης. Τέλος, η μετάλλαξη της εκτεταμένης παραγωγής ενζύμων τροποποίησης συμβάλλει εξίσου σημαντικά στην επίκτητη αντιβιοτική αντοχή: ορισμένα αναφερόμενα στελέχη *P. aeruginosa* παρουσιάζουν σημαντική αντίσταση στις κεφαλοσπορίνες, η οποία προκαλείται από μετάλλαξη στο γονίδιο *ampC*.

Τα γονίδια αντίστασης στα αντιβιοτικά αποκτώνται μέσω οριζόντιας μεταφοράς γονιδίων, είτε από το ίδιο το βακτήριο είτε από διαφορετικά βακτηριακά είδη και μπορούν να μεταφερθούν σε στοιχεία της τα πλασμίδια και τα ιντεγκρόνια. Τα ιντεγκρόνια είναι γενετικά στοιχεία τα οποία είναι υπεύθυνα για την αποθήκευση γονιδίων, εισάγοντας γονιδιακές κασέτες σε συγκεκριμένες θέσεις και αποδεδειγμένα καθορίζουν τη διάδοση της αντιβιοτικής αντοχής μεταξύ των στελεχών *P. aeruginosa*. Μάλιστα, ένας μεγάλος αριθμός γονιδίων ανθεκτικότητας μεταφέρεται αποκλειστικά μέσω ιντεγκρονίων. Οι κύριοι μηχανισμοί οριζόντιας μεταφοράς γονιδίων (HGT) περιλαμβάνουν τη σύζευξη, τη μεταγωγή και τον μετασχηματισμό (Εικόνα 3.2).



Εικόνα 3.2. Κύριοι μηχανισμοί οριζόντιας μεταφοράς γονιδίων: (Α) Σύζευξη είναι η διαδικασία μεταφοράς DNA διαμέσου άμεσης φυσικής επαφής μεταξύ του κυττάρου-δότη και του κυττάρου-λήπτη. (Β) Μεταγωγή είναι η μεταφορά DNA μέσω των βακτηριοφάγων από το ένα βακτήριο στο άλλο. (Γ) Μετασχηματισμός είναι η διαδικασία κατά την οποία τα βακτήρια προσλαμβάνουν ελεύθερα επιπλέοντα θραύσματα DNA, τα οποία απελευθερώνονται στο εξωκυττάριο περιβάλλον και το ενσωματώνουν στο δικό τους γονιδίωμα. (Ανατύπωση από: Pang, et al., 2018)

3.4 Προσαρμοστική αντιβιοτική αντίσταση

Στην περίπτωση της *P. aeruginosa*, η προσαρμοστική αντίσταση στα αντιβιοτικά επιτυγχάνεται είτε μέσω του σχηματισμού βιομεμβρανών (*biofilms*), ή/και της δημιουργίας βακτηριακών επίμονων κυττάρων. Αυτή η ενότητα εστιάζει κατά κύριο λόγο στον σχηματισμό βιομεμβρανών, καθώς ευθύνονται για έναν μεγάλο αριθμό HAIs, υψηλό κόστος υγειονομικής περίθαλψης και υψηλά ποσοστά θνησιμότητας.

Ιστορικά, χρησιμοποιώντας ένα από τα πρώτα μικροσκόπια, ο Antonie van Leeuwenhoek διερεύνησε και ανακάλυψε βακτηριακές βιομεμβράνες σε ασθενείς με οδοντική πλάκα, της αναφέρεται στην σχετική δημοσιευμένη ανακοίνωσή του της τη Βασιλική Εταιρεία του Λονδίνου το 1684. Η ικανότητα σχηματισμού βιομεμβρανών έχει αναγνωριστεί ως ο κυρίαρχος τρόπος ανάπτυξης βακτηρίων στη φύση, καθώς και ένα από τα πιο κοινά χαρακτηριστικά διάφορων μικροοργανισμών, συμπεριλαμβανομένων των ευκαρυωτικών κυττάρων κατώτερης τάξης. Η *P. aeruginosa* και ο *S. Aureus* είναι δύο παραδείγματα παθογόνων μικροοργανισμών τα οποία αποδεδειγμένα σχηματίζουν *biofilms*. Αναφορικά με τα βακτήρια, κατηγορία στην οποία εντάσσεται και η *P. aeruginosa*, κατόπιν της επιφανειακής προσκόλλησης παρουσιάζουν τη δυνατότητα επιβίωσης μέσω της δημιουργίας μίας κατοικίας, ενός

προστατευτικού ζωντανού περιβάλλοντος που ονομάζεται «βιομεμβράνη», το οποίο παρέχει προστασία από περιβαλλοντικές προκλήσεις και εξωτερικές απειλές, συμπεριλαμβανομένων των ανοσολογικών αποκρίσεων του ξενιστή και των αντιβιοτικών φαρμάκων. Οι βιομεμβράνες προστατεύουν από τα ακραία σημεία της υψηλής θερμοκρασίας, αφυδάτωση, pH, υψηλή πίεση και έλλειψη θρεπτικών συστατικών, λειτουργώντας ως «προστατευτικό κάλυμμα» και αναλαμβάνοντας κρίσιμο ρόλο στη μικροβιακή ανθεκτικότητα και την ανθρώπινη υγεία ευρύτερα. Οι βιομεμβράνες είναι εφικτό να συσσωρευτούν και στο νερό μολύνοντας κανάλια και διαβρώνοντας βυθισμένες μεταλλικές επιφάνειες, στα τρόφιμα και σε εξοπλισμό επεξεργασίας τροφίμων, καθώς και στον νοσοκομειακό εξοπλισμό (π.χ. αναπνευστήρες, βηματοδότες, προσθετικές αρθρώσεις κ.α.). Παραδείγματα παθήσεων άμεσα συσχετισμένων με βιομεμβράνες αποτελούν η περιτονίτιδα, η χρόνια ωτίτιδα, οι λοιμώξεις τραυμάτων και οι αναπνευστικές παθήσεις. Αποδεδειγμένα, τα βακτηριακά κύτταρα που κατοικούν στο εσωτερικό των βιομεμβρανών είναι αποδεδειγμένα 100-1000 φορές πιο ανθεκτικά σε σχέση με τα μεμονωμένα κύτταρα, συντηρώντας έτσι της βακτηριακές λοιμώξεις (Park & Sauer, 2021; Ruijgrok, et al., 2023).

Ο σχηματισμός βιομεμβρανών της *P. aeruginosa* αναφέρεται ως μία πολυπαραγοντική διαδικασία, με στάδιο έναρξης την επιφανειακή προσκόλληση ελεύθερων πλαγκτονικών βακτηρίων. Κατά το στάδιο του πολλαπλασιασμού, παράγονται συστατικά μήτρας biofilm με στόχο τον σχηματισμό διαφοροποιημένων δομών, όμοιων με μανιτάρια, οι οποίες ονομάζονται «μικροαποικίες». Οι μικροαποικίες οργανώνονται σε κοινότητες οι οποίες περικλείονται από αυτή την εξωκυτταρική πολυμερή μήτρα δικής της σύνθεσης. Ο κύκλος ανάπτυξης ολοκληρώνεται όταν τα βακτηριακά κύτταρα διασκορπίζονται από των ώριμη βιομεμβράνη για να ξεκινήσουν εκ νέου τον πλαγκτονικό τρόπο ανάπτυξης. Η *P. aeruginosa* φαίνεται πως παρουσιάζει ένα μοναδικό μοτίβο φωσφορύλωσης των πρωτεϊνών, ενώ υφίσταται παράλληλα πολυάριθμες φυσιολογικές και φαινοτυπικές αλλαγές κατά την διαδικασία ανάπτυξης biofilms (Pang, et al., 2018; Park & Sauer, 2021; Ruijgrok, et al., 2023).

Η βιομεμβράνη αποτελείται από ένα σύνολο μικροοργανισμών προσκολλημένων μεταξύ της σε μια ζωντανή ή μη επιφάνεια, οι οποίοι βρίσκονται ενσωματωμένοι σε μια αυτοπαραγόμενη μήτρα εξωκυτταρικών πολυμερών ουσιών (EPSs). Στην εξωκυτταρική αυτή μήτρα συμπεριλαμβάνονται πρωτεΐνες, λιπίδια, εξωπολυσακχαρίτες και εξωκυτταρικό DNA (eDNA). Η σταθερή δομή της βιομεμβράνης, καθώς και η κατακράτηση νερού και ιόντων αποτελούν καταστάσεις οι οποίες οφείλονται στην παραγωγή εξωπολυσακχαριτών, ενώ το eDNA είναι το κύριο συστατικό το οποίο διευκολύνει την αρχική προσκόλληση του κυττάρου της επιφάνειας, διατηρώντας παράλληλα το περιβάλλον όξινο. Παράλληλα, η ρύθμιση του σχηματισμού βιομεμβράνης εξαρτάται και από τα ρυθμιστικά συστήματα δύο συστατικών GacS/GacA και RetS/LadS, καθώς και από συστήματα ανίχνευσης απαρτίας. Ως ανίχνευση απαρτίας περιγράφεται μια διαδικασία ρύθμισης της γονιδιακής έκφρασης, η οποία συνεισφέρει στο σχηματισμό ώριμων βιομεμβρανών. Η *P. aeruginosa* διαθέτει τρία κύρια συστήματα ανίχνευσης απαρτίας (LasI-LasR, RhII – RhIR και PQS-MvfR). Τέλος, ανάλογα με της περιβαλλοντικές συνθήκες ανάπτυξης ή/και τις κυτταρικές ανάγκες, τα Gram-αρνητικά βακτήρια παράγουν τρεις διακριτούς τύπους εξωπολυσακχαριτών: αλγινικό, Psl και Pel. Κάθε μία από αυτές παράγεται σε διαφορετικό στάδιο κατά την διαδικασία της μόλυνσης και του σχηματισμού βιοφίλμ, αναλαμβάνοντας εξίσου διαφορετικό ρόλο (Pang, et al., 2018; Ruijgrok, et al., 2023).

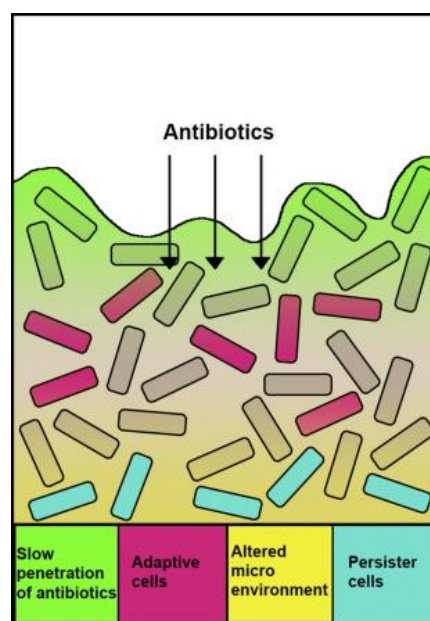
Ο βλεννογόνος εξωπολυσακχαρίτης της *P. aeruginosa* απαρτίζεται από επαναλαμβανόμενα πολυμερή μανουρονικού και γλুকουρονικού οξέος, τα οποία ονομάζονται εν συντομία αλγινικό. Το αλγινικό είναι ένα ανιονικό πολυμερές, κύριο συστατικό των ώριμων βιομεμβρανών *P. aeruginosa*. Παρέχει αποτελεσματική προστασία από της άμυνες του ξενιστή, της π.χ. τα αντισώματα, η φαγοκυττάρωση και το συμπλήρωμα, συμβάλλοντας σημαντικά στην ανάπτυξη χρόνιων λοιμώξεων. Τα βλεννώδη στελέχη αυτά αποδεδειγμένα παρουσιάζονται ανθεκτικά στην αντιβιοτική δράση και αναλαμβάνουν σημαντικό ρόλο στον αρχικό επιφανειακό αποικισμό. Το αλγινικό φαίνεται να διαμορφώνει βλεννογόνο φαινότυπο στους πνεύμονες των ασθενών και πιο συγκεκριμένα, να απομονώνεται κατά κύριο λόγο από δείγματα

ασθενών με κυστική ίνωση (Tang, et al., 2015; Horna & Ruiz, 2021; Ruijgrok, et al., 2023). Αντίστοιχα, το Psl είναι ένας ουδέτερος ολιγοσακχαρίτης που απαρτίζεται από έναν επαναλαμβανόμενο πενταμερή σακχαρίτη, σχηματιζόμενο από μαννόζη, ραμνόζη και γλυκόζη. Χάρη στη σύνθεσή του δρα ως «μοριακή κόλλα», προάγοντας την κυτταρική προσκόλληση της επιφάνειας-στόχους και το σχηματισμό μικροαποικιών. Επηρεάζει της την έκφραση του κυκλικού διγουανυλικού (Cyclic di-GMP), ενός ενδοκυτταρικού μορίου σημαντικού για την παραγωγή εξωπολυσακχαριτών, την κυτταρική προσκόλληση, καθώς και τον σχηματισμό και την ωρίμανση της βιομεμβράνης (Pang, et al., 2018; Ruijgrok, et al., 2023). Αναφορικά με το Pel, δημιουργείται από διμερείς επαναλήψεις συνδεδεμένης γαλακτοζαμίνης και N-ακετυλογαλακτοζαμίνης. Πρόκειται για ένα θετικά φορτισμένο πολυμερές το οποίο συμβάλλει στην κυτταρική προσκόλληση και στη διασύνδεση των αρνητικά φορτισμένων πολυμερών (π.χ. αλγινικό, eDNA) μέσω ιοντικών αλληλεπιδράσεων. Ταυτόχρονα, συμβάλλει στην βακτηριακή προστασία έναντι της δράσης των κατιονικών αντιβιοτικών (π.χ. αμινογλυκοσίδες) (Ruijgrok, et al., 2023).

Οι χρόνιες λοιμώξεις *P. aeruginosa* βιομεμβρανικής αιτιολογίας παρατηρούνται κατά κύριο λόγο σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς, σε ασθενείς με εμφυτεύματα ή σε καταστάσεις της π.χ. κυστική ίνωση (CF) και σακχαρώδης διαβήτη. Αναφορικά με τις λοιμώξεις του αναπνευστικού, σχηματίζει βιομεμβράνες στην επιφάνεια του επιθηλίου των πνευμονικών κυττάρων μέσω της παραγωγής DNA, πρωτεϊνών και εξωπολυσακχαριτών. Κλινικά, μπορεί να συμβάλλει στην δημιουργία παχύρρευστων βλεννοδών εκκρίσεων της πνεύμονες (Pang, et al., 2018; Park & Sauer, 2021).

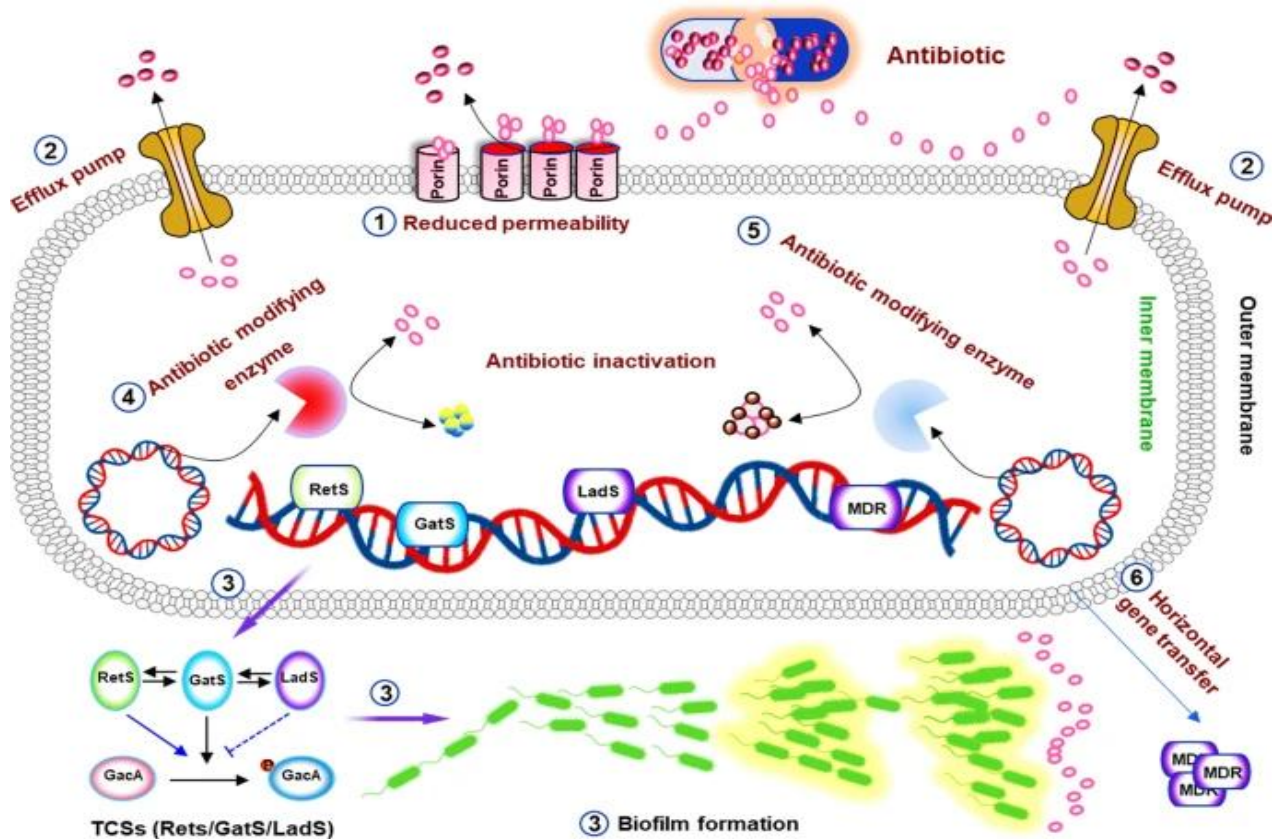
Στην πλειοψηφία των βακτηρίων που σχηματίζουν και επιβιώνουν μέσω των βιομεμβρανών, οι πολυσακχαρίτες είναι αυτοί που αναλαμβάνουν της κύριους δομικούς και λειτουργικούς ρόλους. Συγκεκριμένα οι γλυκάνες φαίνεται να αποτελούν στοιχείο-κλειδί για την αποκάλυψη του τρόπου δράσης των πολυσακχαριτικών ενζύμων και κατ' επέκταση, ακόμα και για την σύνθεση εμβολίων. Η δημιουργία αναστολέων βιοσύνθεσης εμπνευσμένων από τη δομή των πολυσακχαριτών, μπορεί να ανοίξει νέους δρόμους και να συμβάλλει σημαντικά στην ανάπτυξη νέων θεραπευτικών στρατηγικών. Παρ' όλα αυτά, φαίνεται να υπάρχουν πολλά είδη βακτηριακών βιομεμβρανών που απαιτούν περεταίρω διερεύνηση (Ruijgrok, et al., 2023). Όταν πλέον τα βακτήρια χάνουν την προστασία της βιομεμβράνης, η αντιβιοτική ευαισθησία είναι δυνατόν να αποκατασταθεί, γεγονός που υποδηλώνει ότι η αντιβιοτική αντίσταση που προκαλείται από της βιομεμβράνες είναι ανεξάρτητη από γενετικές μεταλλάξεις και αποτελεί έναν ξεχωριστό προσαρμοστικό μηχανισμό.

Τέλος, η προσαρμοστική αντιβιοτική αντίσταση επιτυγχάνεται και μέσω του σχηματισμού βακτηριακών επίμονων κυττάρων, αποτελώντας ένα ακόμα σημαντικό εμπόδιο για τη θεραπεία των *P. aeruginosa* λοιμώξεων. Τα κύτταρα αυτά αποτελούν φαινοτυπικές παραλλαγές, μη γενετικά ανθεκτικές αλλά ανεκτικές σε υψηλές συγκεντρώσεις αντιβιοτικών. Οι περιβαλλοντικές συνθήκες και τα φυσικά ερεθίσματα είναι αυτά



Εικόνα 3.3. Μηχανισμοί αντιβιοτικής αντίστασης μέσω της δημιουργίας βιομεμβρανών: α) αργή πρόληψη αντιβιοτικής διείσδυσης (πράσινο χρώμα), β) επαγωγή προσαρμοστικής απόκρισης στρες η οποία επιτρέπει την επιβίωση κάτω από σκληρές συνθήκες (ροζ χρώμα), γ) αλλοιωμένο μικρο-περιβάλλον που προκαλεί την αργή ανάπτυξη των κυττάρων του βιοφίλμ και μειώνοντας την αντιβιοτική πρόληψη (κίτρινο χρώμα) και δ) διαφοροποίηση επίμονων κυττάρων ανθεκτικών στα αντιβιοτικά (μπλε χρώμα) (Ανατύπωση από: Pang, et. al., 2018)

που παρουσιάζουν τον μεγαλύτερο αντίκτυπο στον σχηματισμό και τον πολλαπλασιασμό των επίμονων κυττάρων: η στέρηση θρεπτικών συστατικών φαίνεται αναλαμβάνει καθοριστικό ρόλο στη δημιουργία της, συνδυαστικά με τον ρυθμιστικό μηχανισμό απόκρισης του μορίου της αλαρμόνης (p)ppGpp. Το γεγονός ότι ο σχηματισμός βιομεμβρανών και επίμονων βακτηριακών κυττάρων της *P. aeruginosa* φαίνεται να είναι αλληλένδετος, καθιστά την αντιμετώπιση των λοιμώξεων του αναπνευστικού ακόμη πιο σύνθετη (Pang, et al., 2018).



Εικόνα 3.4: Μηχανισμοί αντιβιοτικής αντίστασης *P. aeruginosa*: εγγενής, επίκτητη και προσαρμοστική αντιβιοτική αντίσταση. Αναλυτικά: μειωμένη διαπερατότητα εξωτερικής μεμβράνης (1), συστήματα εκροής (2), δημιουργία βιομεμβράνης (3), ένζυμα τροποποίησης αντιβιοτικών (4), ένζυμα αδρανοποίησης αντιβιοτικών (5), οριζόντια μεταφορά γονιδίων (6). Οι διάλυτοι πορίνης της εξωτερικής μεμβράνης μειώνουν την αντιβιοτική διείσδυση στο κύτταρο, με αποτέλεσμα την μειωμένη διαπερατότητα. Τα συστήματα εκροής αντλούν τα αντιβιοτικά έξω από το κύτταρο, τα οποία με τη σειρά της καθιστούν ανενεργά τα ένζυμα τροποποίησης και αδρανοποίησης. Ομοίως, ορισμένα ένζυμα προκαλούν αλλοιώσεις στόχων με αποτέλεσμα την αντιβιοτική αδράνεια. Τέλος, η οριζόντια μεταφορά γονιδίων πραγματοποιείται μέσω των πλασμιδίων από το ίδιο ή διαφορετικά βακτηριακά είδη (Ανατύπωση από: Qin, et al., 2022).

Ειδικό Μέρος

Κεφάλαιο 4^ο: Υλικό και Μέθοδοι

4.1 Σκοπός

Βασικό ερευνητικό ερώτημα και κύριος σκοπός της παρούσας διπλωματικής μελέτης είναι η διερεύνηση της επίπτωσης και της νοσηρότητας σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς ΜΕΘ με λοίμωξη του κατώτερου αναπνευστικού από πολυανθεκτική Ψευδομονάδα. Επιπρόσθετα ερωτήματα αποτελούν η διαπίστωση των παραγόντων κινδύνου που σχετίζονται με την παρουσία Ψευδομονάδας, η διερεύνηση των ειδών και της διάρκειας χορήγησης των αντιβιοτικών, οι συνοσηρότητες και η επίδραση των λοιμώξεων στη υποτροπή και τον θάνατο των νοσηλευόμενων ασθενών.

4.2 Ερευνητικός σχεδιασμός

Η παρούσα μελέτη χρησιμοποιεί ως ερευνητική μέθοδο την ανασκόπηση της βιβλιογραφίας σε συνδυασμό με την συλλογή δεδομένων ασθενών της ΜΕΘ Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Τριτοβάθμιας Φροντίδας. Επιχειρείται η εκτίμηση εάν οι νοσηλευόμενοι ασθενείς παρουσιάζουν συχνά και κατά την διάρκεια δεδομένης χρονικής περιόδου λοίμωξη από Ψευδομονάδα, καθώς και η παράθεση των χαρακτηριστικών του δείγματος που συλλέχθηκε. Στο πρώτο στάδιο εφαρμόστηκε βιβλιογραφική ανασκόπηση με την χρήση λέξεων-κλειδιά και με χρονικό αποκλεισμό πηγών που έχουν δημοσιευθεί πριν το 2019, κατά την οποία έγινε αναζήτηση ποιοτικών ερευνών και μετα-ανάλυσεων σε ηλεκτρονικές βάσεις δεδομένων, με απώτερο σκοπό την προσέγγιση του θέματος σύμφωνα με της τελευταίες εξελίξεις. Στην εργασία χρησιμοποιούνται συνολικά 34 άρθρα. Κατά το δεύτερο στάδιο, πραγματοποιήθηκε η συλλογή και καταγραφή του δείγματος ασθενών με στόχο τον υπολογισμό και την εκτίμηση των αποτελεσμάτων.

4.3 Συλλογή δεδομένων

Συνολικά, στη μελέτη συμπεριελήφθησαν 21 νοσηλευόμενοι ασθενείς της ΜΕΘ του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας κατά την περίοδο μεταξύ 1ης Ιανουαρίου και 31ης Δεκεμβρίου του 2023. Η συλλογή των δεδομένων έγινε κατόπιν σχετικής άδειας από το σύστημα καταγραφής ιατρικών φακέλων του Π.Γ.Ν.Λ. καθώς και από την πληροφοριακή βάση δεδομένων του νοσοκομείου (*Ασκληπιός*). Κύριο κριτήριο ένταξης ήταν ασθενείς που νοσηλεύονταν στην ΜΕΘ κατά τη διάρκεια της επιλεγμένης περιόδου, με εργαστηριακά επιβεβαιωμένη θετική καλλιέργεια *Pseudomonas aeruginosa* από δείγματα βρογχικών εκκρίσεων κατά τη διάρκεια της νοσηλείας τους. Κριτήρια αποκλεισμού ήταν ασθενείς οι οποίοι δεν έφεραν αντίστοιχα μικροβιολογικά δεδομένα, ασθενείς με θετική καλλιέργεια αίματος, εκκρίσεων ή άλλων παραγώγων, αλλά και ασθενείς που έφεραν αρνητικό αποτέλεσμα καλλιέργειας σε δείγματα βρογχικών εκκρίσεων. Η παρούσα μελέτη δεν περιλαμβάνει παρεμβατικές μεθόδους.

4.4 Μεθοδολογία

Ακολουθούμενη από την αρχική αξιολόγηση και την επιλογή ασθενών με βασικό κριτήριο την θετική καλλιέργεια βρογχικών εκκρίσεων στη *Pseudomonas aeruginosa*, διαμορφώθηκε μια βάση δεδομένων καταχώρησης μέσω των προγραμμάτων *Microsoft Excel* και *SPSS* προκειμένου να εξυπηρετηθεί στην στατιστική ανάλυση των τελικών αποτελεσμάτων. Αρχικά καταγράφηκαν τα δημογραφικά και τα

κλινικά χαρακτηριστικά του δείγματος: η ηλικία, το φύλο, το αίτιο εισαγωγής, η ημέρα παραμονής (νοσηλείας) κατά την οποία προέκυψε η θετική καλλιέργεια βρογχικών εκκρίσεων στη *P. aeruginosa*, καθώς και οι βαθμολογίες APACHE, SOFA και CHARLSON Comorbidity Index, τρεις κλίμακες αξιολόγησης και εκτίμησης της βαρύτητας της υπάρχουσας κατάστασης και ανεπάρκειας πολλαπλών οργάνων, καθώς και των συνοσηροτήτων των βαρέως πασχόντων ασθενών. Αναφορικά με την αιτιολογία εισαγωγής στη Μονάδα Εντατικής Θεραπείας, οι ασθενείς κατανεμήθηκαν με βάση το αίτιο (είτε χειρουργικής, είτε παθολογικής φύσεως), ενώ η βαθμολογία SOFA υπολογίστηκε κατά την εισαγωγή του ασθενούς, κατά την ημέρα της επιβεβαιωμένης θετικής καλλιέργειας, καθώς και μετά από 4 και 10 ημέρες από την επιβεβαιωμένη καλλιέργεια. Άξιο αναφοράς αποτελεί το γεγονός ότι και οι βαθμολογίες δεν κατέστησαν εφικτές να υπολογιστούν σε έναν μόνο ασθενή λόγω έλλειψης στοιχείων.

Ακολούθησε η καταγραφή των μικροβιολογικών ευρημάτων, η οποία περιελάμβανε την οποιαδήποτε επιβεβαιωμένη θετική καλλιέργεια σε κάποιο παθογόνο μικροοργανισμό π.χ. *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* και Coagulase Negative Staphylococcus (CoNS), ανεξαρτήτου οδού και δείγματος, προκειμένου να διερευνηθεί αν και κατά πόσο οι συννοσημογόνοι παράγοντες επηρεάζουν τον βαρέως πάσχοντα ασθενή με επιβεβαιωμένα θετική καλλιέργεια από Ψευδομονάδα. Στη συνέχεια, αξιολογήθηκαν τα εργαστηριακά ευρήματα της δοκιμής ευαισθησίας (αντιβιογράμμο), για την επιλογή της κατάλληλης αντιβιοτικής θεραπείας και τον εντοπισμό ανθεκτικότητάς της σε ασθενείς με θετική καλλιέργεια με *P. aeruginosa* των βρογχικών εκκρίσεων. Οι δοκιμές ευαισθησίας πραγματοποιήθηκαν στο Εργαστήριο Βιοπαθολογίας του Μικροβιολογικού τμήματος του Π.Γ.Ν.Α., στα πλαίσια της νοσηλείας των βαρέως πασχόντων ασθενών της ΜΕΘ. Τα τελικά αποτελέσματα γνωστοποιούνταν στην ιατρική ομάδα της ΜΕΘ κατά τη δεδομένη χρονική περίοδο, ενώ μετά το πέρας της εξόδου του ασθενή από το τμήμα επισυνάπτονταν στον προσωπικό του φάκελο. Κατά την δοκιμή ευαισθησίας, οι απομονώσεις βρογχικών εκκρίσεων χαρακτηρίζονταν ως ευαίσθητες (S), ανθεκτικές (R) ή ενδιάμεσης ευαισθησίας, ενώ αναγράφεται ως IE για να σηματοδοτηθεί η έλλειψη δεδομένων σχετικά με την ευαισθησία του αντιβιοτικού για το συγκεκριμένο μικρόβιο (*Insufficient Evidence*), δηλαδή με ανεπαρκή στοιχεία σχετικά με το εάν το συγκεκριμένο είδος είναι καλός στόχος για την θεραπεία της Ψευδομονάδας). Το αντιβιογράμμο εκτελούνταν στα ακόλουθα αντιβιοτικά φάρμακα: *Amikacin*, *Aztreonam*, *Cefepime*, *Ceftazidime*, *Ciprofloxacin*, *Colistin*, *Gentamycin*, *Imipenem*, *Levofloxacin*, *Meropenem*, *Piperacillin*, *Piperacillin/Tazobactam*, *Ticarcillin*, *Ticarcillin/Clavulanic Acid* και *Tobramycin*. Στη βάση δεδομένων καταγράφηκαν τα ευρήματα ελέγχου τεσσάρων δραστικών ουσιών από τρεις διαφορετικές αντιβιοτικές κατηγορίες, γνωστών για την αντιμετώπιση της *P. aeruginosa*: των αμινογλυκοσίδων *Αμικασίνη* (*Amikacin*) και *Γενταμικίνη* (*Gentamicin*), της πολυμυξίνης *Κολιστίνη* (*Colistin*) και της καρβαπενέμης *Μεροπενέμη* (*Meropenem*). Μέσω των δοκιμών ευαισθησίας, έγινε καταγραφή και των φαινοτυπικών ελέγχων συμβατών (θετικών) με την παραγωγή μεταλλο-β-λακταμάσης (MBL). Τα μικροβιολογικά και κλινικά χαρακτηριστικά του δείγματος περιλαμβάνουν αφενός την καταγραφή των τιμών κρεατινίνης του εκάστοτε ασθενή, κατά την ημέρα της πρώτης θετικής καλλιέργειας συμπεριλαμβανομένου του επανελέγχου 7 και 10 ημέρες μετά, και αφετέρου την καταγραφή του ενδεχόμενου αιμοδυναμικής αστάθειας (SHOCK) του ασθενή κατά την ημέρα θετικής καλλιέργειας.

Αναφορικά με την αντιβιοτική κάλυψη κατά τη διάρκεια της νοσοκομειακής παραμονής, καταγράφηκε η χρήση συνολικά 7 διαφορετικών ευρέως χρησιμοποιημένων στις Μονάδες Εντατικής Θεραπείας αντιβιοτικών σκευασμάτων: *Colistin* (*Κολιστίνη*), *Briklin* (*Αμικασίνη*), *Gentamicin* (*Γενταμικίνη*), *Zerhaxa* (*Πιπερακιλλίνη/Ταζομπακτάμη*), *Meronem* (*Μεροπενέμη*), *Invanz* (*Ερταπενέμη*) και *Zavicefta* (*Κεφταζιδίμη/Αβιμπακτάμη*). Συνδυαστικά, υπολογίστηκε και η συνολική διάρκεια χορήγησης αντιβιοτικών ουσιών σε ημέρες, καθ' όλη την διάρκεια παραμονής του ασθενή στη ΜΕΘ. Τα παραπάνω ευρήματα επιχειρούν να αναδείξουν το εάν και κατά πόσο έγινε ορθή επιλογή και κατάλληλη ή επαρκής χρήση της αντιβιοτικής αγωγής. Τέλος, αναφορικά με την πορεία και την έκβαση της νόσου, πραγματοποιήθηκε η καταγραφή των εξής κλινικών παραμέτρων για τον εκάστοτε ασθενή: ημέρες

μεθόδων αιμοκάθαρσης (κλασική αιμοκάθαρση ή αιμοδιήθηση/αιμοδιαδιήθηση), ημέρες υπό μηχανικό αερισμό (MV), συνολικό διάστημα παραμονής στη ΜΕΘ σε ημέρες και συνολική θνησιμότητα. Στην περίπτωση θνησιμότητας υπολογίστηκε και η ημέρα θανάτου από την αρχική θετική καλλιέργεια βρογχικών εκκρίσεων στη *P. aeruginosa*.

Κεφάλαιο 5ο: Αποτελέσματα

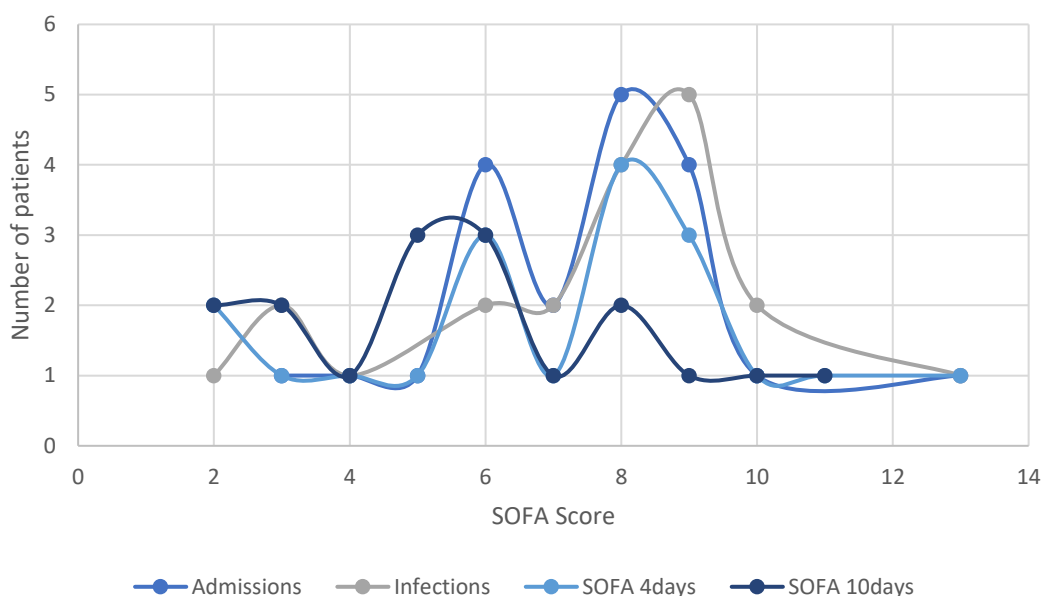
5.1 Δημογραφικά δεδομένα & πορεία της νόσου

Σύμφωνα με τα δημογραφικά αποτελέσματα του δείγματος 21 ασθενών που προέκυψαν, ο μέσος όρος ηλικίας υπολογίζεται κατά προσέγγιση στα 63 έτη, με ελάχιστη ηλικιακή τιμή τα 21 έτη και την μέγιστη τα 79 έτη. Το ποσοστό της ηλικιακής κατηγορίας 65 ετών και άνω ανέρχεται στο 52,4%, ακολουθούμενο από το 33,3% της ηλικιακής ομάδας 45-64 ετών, ενώ το ποσοστό της τάξεως του 14,3% αφορά την ηλικιακή ομάδα κάτω των 45 ετών. Αναφορικά με το φύλο, το συντριπτικό 86% του συνολικού δείγματος αφορά το ανδρικό φύλο, ενώ μόλις το 14% το γυναικείο. Αναφορικά με την αιτιολογία εισαγωγής στη Μονάδα Εντατικής Θεραπείας, το 52,4% των ασθενών παρουσιάζει παθολογικό αίτιο εισαγωγής, συγκριτικά με το 47,6% το οποίο αφορά αίτιο χειρουργικής φύσεως.

Η βαθμολογία APACHE II (*Acute Physiology and Chronic Health Evaluation*), όντας ένας από τους πιο ευρέως χρησιμοποιούμενους δείκτες καθορισμού σοβαρότητας της νόσου στους βαρέως πάσχοντες ασθενείς, υπολογίστηκε με στόχο την αξιολόγηση της κατάστασης των ασθενών κατά την εισαγωγή τους στη Μονάδα Εντατικής Θεραπείας. Η υψηλότερη βαθμολογία υποδηλώνει σαφώς και αντίστοιχο υψηλότερο κίνδυνο θνησιμότητας. Για τον υπολογισμό ελήφθησαν υπόψη παράγοντες όπως η ηλικία, τα ζωτικά σημεία, οι τρέχουσες αιματικές μετρήσεις (π.χ. τιμές κρεατινίνης, αιματοκρίτη, ηλεκτρολύτες κ.α.), καθώς και η βαθμολογία Κλίμακας Γλασκόβης. Συγκεκριμένα, χαμηλότερες βαθμολογίες φαίνεται πως παρουσιάζει περίπου το 14,3% των ασθενών, με APACHE II: 1-9. Το μεγαλύτερο ποσοστό της τάξεως του 52,4% των ασθενών συγκεντρώνει συνολική βαθμολογία APACHE II: 10-19, ενώ υψηλότερες βαθμολογίες, και συνεπώς υψηλότερο προγνωστικό δείκτη θνησιμότητας, παρατηρείται περίπου στο 28,6% των ασθενών, με συνολική βαθμολογία APACHE II: ≥ 20 . Η μέση τιμή βαθμολογίας υπολογίζεται στους 17 βαθμούς (παρουσιάστηκε στο 14,3% των ασθενών), με ελάχιστη βαθμολογία τους 7 βαθμούς και μέγιστη τους 27.

Η βαθμολογία SOFA (*Sequential Organ Failure Assessment*) υπολογίστηκε σε τέσσερις διαφορετικές χρονικές περιόδους: κατά την εισαγωγή του ασθενούς στη ΜΕΘ, κατά την πρώτη ημέρα της επιβεβαιωμένης θετικής καλλιέργειας, καθώς και μετά από 4 και 10 ημέρες από την επιβεβαιωμένη καλλιέργεια. Ως γνωστός δείκτης προσδιορισμού οργανικής ανεπάρκειας και σήψης στους βαρέως πάσχοντες ασθενείς, περιλαμβάνει έξι διαφορετικές κατηγορίες, μία για κάθε οργανικό σύστημα (π.χ. αναπνευστικό, καρδιαγγειακό, νευρικό κ.α.). Παράλληλα, συνυπολογίζονται παράμετροι όπως η μέση αρτηριακή πίεση, οι τιμές κρεατινίνης, χολερυθρίνης και αιμοπεταλίων, η βαθμολογία Κλίμακας Γλασκόβης, καθώς και η αναπνευστική λειτουργία (π.χ. επίπεδα οξυγόνου, MV αερισμός). Όμοια με το APACHE II, οι υψηλές βαθμολογίες SOFA υποδηλώνουν σοβαρή οργανική δυσλειτουργία και συνεπώς, προμηνύουν αυξημένο κίνδυνο θνησιμότητας. Η συνολική βαθμολογία SOFA κυμαίνεται από 0 έως 24 βαθμούς. Σύμφωνα με τα τελικά αποτελέσματα, κατά την εισαγωγή του ασθενούς στη ΜΕΘ, οι χαμηλότερες βαθμολογίες SOFA Score: ≤ 5 παρατηρούνται κατά προσέγγιση στο 14,3% των ασθενών. Οι βαθμολογίες SOFA Score: 6-9 αποτελούν το μεγαλύτερο ποσοστό της τάξεως του 71,4%, ενώ περίπου το 9,5% παρουσιάζει SOFA score: ≥ 10 . Κατά τα δεδομένα, η πιο κοινή βαθμολογία εισαγωγής στο νοσοκομείο φαίνεται πως είναι το SOFA Score: 8 (23,8%), με ελάχιστη τιμή τους 3 βαθμούς και μέγιστη τους 13 βαθμούς. Αναφορικά με τον υπολογισμό SOFA κατά την πρώτη ημέρα της επιβεβαιωμένης θετικής καλλιέργειας, το αντίστοιχο ποσοστό SOFA Score: ≤ 5 κυμαίνεται περίπου στο 19% των ασθενών. Οι βαθμολογίες SOFA Score: 6-9 απαρτίζουν σχεδόν το 62% των ασθενών, ενώ κατά προσέγγιση το 14,3% παρουσιάζει SOFA Score: ≥ 10 . Η πιο κοινή βαθμολογία κατά την πρώτη ημέρα θετικής καλλιέργειας είναι και πάλι το SOFA Score: 8 (αντίστοιχο 23,8%), με ελάχιστη τιμή τους 3 βαθμούς και μέγιστη τους 13 βαθμούς. Ο εκ νέου υπολογισμός της βαθμολογίας SOFA πραγματοποιείται και μετά από 4 και 10 ημέρες από την αρχική θετική καλλιέργεια: η μέτρηση σε αυτό

το σημείο είναι σκόπιμη, καθώς έρχεται σε αντιδιαστολή με την αρχική βαθμολογία των δημογραφικών και κλινικών δεδομένων, με τη διαφορά ότι ο ασθενής έχει τεθεί σε αντιβιοτική κάλυψη κατά τις δεδομένες χρονικές περιόδους. Πιο συγκεκριμένα, κατά την 4η ημέρα θετικής καλλιέργειας *P. aeruginosa*, οι χαμηλότερες βαθμολογίες SOFA Score: ≤ 5 παρατηρούνται στο 23,8% των ασθενών. Οι βαθμολογίες SOFA Score: 6-9 αποτελούν την πλειοψηφία με ποσοστό της τάξεως του 52,4%, ενώ περίπου το 14,3% παρουσιάζει SOFA Score: ≥ 10 . Κατά τα δεδομένα, η πιο κοινή βαθμολογία φαίνεται πως είναι το SOFA Score: 8 (19,2%), με ελάχιστη βαθμολογία 2 και μέγιστη 13 βαθμούς. Αναφορικά με τον υπολογισμό SOFA κατά την 10η ημέρα επιβεβαιωμένης θετικής καλλιέργειας, το αντίστοιχο ποσοστό SOFA Score: ≤ 5 κυμαίνεται κατά προσέγγιση στο 38% των ασθενών. Ακολουθούν οι βαθμολογίες SOFA Score: 6-9 με 33,3%, ενώ κατά προσέγγιση το 9,5% παρουσιάζει SOFA Score: ≥ 10 . Η πιο κοινή βαθμολογία κατά την δέκατη ημέρα θετικής καλλιέργειας είναι το SOFA Score: 6 (28,6%), με ελάχιστη βαθμολογία 2 και μέγιστη τους 11 βαθμούς. Τα υπολειπόμενα ποσοστά αφορούν ασθενείς με ελλιπή στοιχεία λόγω εξόδου από το νοσοκομείο (είτε βελτίωση κατάστασης της υγείας, είτε περίπτωση θανάτου).



Εικόνα 5.1: Καμπύλες συνολικού αριθμού ασθενών ως προς βαθμολογία SOFA συγκριτικά κατά την εισαγωγή (μπλε χρώμα), κατά την πρώτη ημέρα (γκρι χρώμα), κατά την τέταρτη (γαλάζιο χρώμα) και κατά την δέκατη ημέρα θετικής καλλιέργειας (μπλε σκούρο χρώμα). Αν και υπάρχουν μικρές διαφορές, η σύγκριση των τιμών SOFA ανάμεσα στην έναρξη της λοίμωξης από *P. aeruginosa* και στην 10^η ημέρα μετά την αρχική καλλιέργεια δεν παρουσιάζει στατιστικά σημαντική διαφορά ($p=0.246$) [statistical analysis with one way ANOVA]. Αξιοαναφοράς αποτελεί το γεγονός ότι κατά την δέκατη ημέρα υπολογίστηκε μικρότερος αριθμός στοιχείων λόγω των εξόδων από το νοσοκομείο (συμπεριλαμβανομένης της θνησιμότητας).

Ο προγνωστικός δείκτης συννοσηρότητας και 10ετούς επιβίωσης CHARLSON (*Charlson Comorbidity Index, CCI*) συνυπολογίζεται με βάση το ιατρικό ιστορικό και την ηλικία του ασθενούς (π.χ. ιστορικό αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου, εμφράγματος μυοκαρδίου, χρόνιων νόσων, ημιπληγίας κ.α.). Κατά την ανάλυση των αποτελεσμάτων, το δείγμα των ασθενών κατηγοριοποιήθηκε σε τρεις ομάδες με βάση το αποτέλεσμα της βαθμολογίας. Συγκεκριμένα, το ποσοστό των ασθενών με βαθμολογία CCI: 1-2 κυμαίνεται στο 9,5%, με ακολουθούμενη την βαθμολογία CCI: 3-4 και το κατά προσέγγιση ποσοστό 38,1%, ενώ η βαθμολογία με την πιο σοβαρή πρόγνωση CCI ≥ 5 παρατηρείται περίπου στο 47,6%. Ο μέσος όρος Charlson Comorbidity Index υπολογίζεται στους 4,5 βαθμούς, με ελάχιστη τιμή τον 1 βαθμό και μέγιστη τους 10. Τα υπολειπόμενα ποσοστά και στις τρεις περιπτώσεις βαθμολογίας APACHE II, SOFA και CHARLSON (4,7% στην εκάστοτε κλίμακα) αντιπροσωπεύουν τον ασθενή στον οποίο δεν

κατέστη εφικτός ο υπολογισμός λόγω έλλειψης στοιχείων κατά την αναζήτηση στο ιατρικό ιστορικό. Την ενότητα των δημογραφικών και κλινικών ευρημάτων που προέκυψαν από την ανάλυση των αποτελεσμάτων, ολοκληρώνει ο υπολογισμός της ημέρας παραμονής του ασθενούς στην Μονάδα Εντατικής Θεραπείας, κατά την οποία προέκυψε η πρώτη θετική καλλιέργεια βρογχικών εκκρίσεων στην *P. aeruginosa*. Σύμφωνα με τα τελικά αποτελέσματα προκύπτει ότι το 28,6% του δείγματος παρουσίασε θετική καλλιέργεια βρογχικών εκκρίσεων τις πρώτες 1-3 ημέρες νοσηλείας στη ΜΕΘ του νοσοκομείου. Εν συνεχεία, το 23,8% των ασθενών παρουσίασε θετική καλλιέργεια κατά την 4-9η ημέρα νοσοκομειακής νοσηλείας, ενώ για το ποσοστό της τάξεως του 43% σημειώθηκε θετική καλλιέργεια βρογχικών εκκρίσεων κατά την ≤ 10 η ημέρα παραμονής στη Μονάδα Εντατικής Θεραπείας. Συγκεκριμένα, ο μέσος όρος παραμονής υπολογίστηκε στις 8,5 ημέρες, με ελάχιστη τιμή την 1 ημέρα και μέγιστη τις 40.

Αναφορικά με τις αιματικές μετρήσεις, πραγματοποιήθηκε και αναλυτική καταγραφή των επιπέδων κρεατινίνης του εκάστοτε ασθενή. Πιο αναλυτικά, η τιμή κρεατινίνης υπολογίστηκε σε τρεις διαφορετικές χρονικές περιόδους: κατά την πρώτη ημέρα θετικής καλλιέργειας *P. aeruginosa*, καθώς και μετά από 7 και 10 ημέρες από την επιβεβαιωμένη καλλιέργεια. Από τα τελικά αποτελέσματα προκύπτει ότι ο μέσος όρος της τιμής κρεατινίνης κατά την πρώτη ημέρα θετικής καλλιέργειας υπολογίζεται στα 0.63 mg/dL, με ελάχιστη τιμή 0.26 mg/dL και μέγιστη 4.39 mg/dL. Αντίστοιχα, μετά κατά την 7^η ημέρα επιβεβαιωμένης καλλιέργειας ο μέσος όρος τιμής υπολογίζεται στα 0.23 mg/dL, με ελάχιστη τιμή 0.05 mg/dL και μέγιστη 3.06 mg/dL. Για την 10^η ημέρα μετά την επιβεβαιωμένη θετική καλλιέργεια ο μέσος όρος τιμής υπολογίζεται στα 0.1 mg/dL, με ελάχιστη τιμή 0.02 mg/dL και μέγιστη 3.06 mg/dL. Το *P. value* της συγκριτικής ανάλυσης της κρεατινίνης ανάμεσα στην ημέρα έναρξης της λοίμωξης και της δέκατης ημέρας θετικής καλλιέργειας υπολογίζεται $P=0.092$ (statistical analysis with one way ANOVA). Τα επίπεδα κρεατινίνης χρησιμοποιήθηκαν και για τον υπολογισμό των βαθμολογιών APACHE II και SOFA, όπως προαναφέρθηκε για τις εκάστοτε περιόδους.

Ορμώμενη από το γεγονός ότι οι βαρέως πάσχοντες ασθενείς ΜΕΘ με παρατεταμένη νοσηλεία διατρέχουν υψηλό κίνδυνο ανάπτυξης πολυανθεκτικών στελεχών, πραγματοποιήθηκε και η καταγραφή κλινικών παραμέτρων όπως η κλινική εικόνα του ασθενούς (ενδεχόμενο SHOCK), οι ημέρες υπό αναπνευστική υποστήριξη με μηχανικό αερισμό (MV), η διάρκεια αντιβιοτικής κάλυψης, οι ημέρες αιμοκάθαρσης/αιμοδιήθησης/αιμοδιαδιήθησης, το συνολικό διάστημα παραμονής στη ΜΕΘ σε ημέρες, καθώς και το ενδεχόμενο θνησιμότητας. Συμπληρωματικά, υπολογίστηκε και η ημέρα θανάτου από την αρχική θετική καλλιέργεια βρογχικών εκκρίσεων με *P. aeruginosa*.

Αναφορικά με την κλινική εικόνα του ασθενούς κατά την πρώτη ημέρα επιβεβαιωμένης θετικής καλλιέργειας με *P. aeruginosa*, εξετάστηκε το ενδεχόμενο συνυπάρχουσας αιμοδυναμικής αστάθειας (SHOCK), λαμβάνοντας υπόψη παράγοντες όπως για παράδειγμα οι τιμές των αερίων αίματος και της οξεοβασικής ισορροπίας (π.χ. επίπεδα δεσμευμένου οξυγόνου και γαλακτικού οξέος), καθώς και η χρήση αγγειοσυσπαστικών διαλυμάτων ή/και μηχανικού αερισμού. Η συντριπτική πλειοψηφία της τάξεως του 81% (17/21 ασθενείς) φαίνεται πως παρουσίασε αιμοδυναμική αστάθεια κατά την πρώτη ημέρα θετικής καλλιέργειας με *P. aeruginosa*.

Αναφορικά με την αναπνευστική υποστήριξη, ο μέσος όρος χρήσης μηχανικού αερισμού (MV) υπολογίζεται περίπου στις 32 ημέρες (ακριβής αριθμός 31,7 ημέρες), με ελάχιστη τιμή τις 24 ώρες και μέγιστη τιμή τις 84 ημέρες. Αξίζει σε αυτό το σημείο να αναφερθεί το γεγονός ότι από τον εκάστοτε ασθενή πραγματοποιήθηκε αφαίρεση του διαστήματος περιοδικών χρήσεων άλλων μορφών οξυγονοθεραπείας μη επεμβατικού αερισμού (π.χ. T-Piece, CPAP, BiPAP), προτού τεθεί πάλι υπό MV. Συγκεκριμένα, το 23,8% του συνολικού δείγματος των ασθενών τέθηκε υπό MV για ≤ 10 ημέρες, ενώ το 19,1% νοσηλεύτηκε υπό MV για ≤ 20 ημέρες. Η πλειοψηφία των ασθενών της τάξεως του 52,4% φαίνεται πως τέθηκε υπό MV για χρονικό διάστημα άνω των 30 ημερών.

Η χρήση συνεδριών αιμοκάθαρσης (κλασική αιμοκάθαρση ή αιμοδιήθηση/αιμοδιαδιήθηση) διαφέρει και αυτή με τη σειρά της σημαντικά στον εκάστοτε ασθενή. Αναλυτικότερα, ο συνολικός μέσος όρος υπολογίζεται κατά προσέγγιση στις 25,33 ημέρες, με ελάχιστη τιμή 0 και μέγιστη τις 81 ημέρες συνολικά. Πιο συγκεκριμένα, το 60% των ασθενών που χρειάστηκε αιμοκάθαρση τέθηκε για πάνω από 20 ημέρες συνολικά σε φίλτρο υποστήριξης της νεφρικής λειτουργίας, μη συμπεριλαμβανομένων φυσικά των περιοδικών φάσεων διακοπής. Παρ' όλα αυτά, οι παραπάνω τιμές δεν αφορούν την πλειοψηφία των ασθενών, καθώς μόλις το 33% του συνολικού αριθμού των ασθενών (7/21) τέθηκε υπό συνεδρία αιμοκάθαρσης, σε αντίθεση με το υπόλοιπο κατά προσέγγιση ποσοστό της τάξεως του 67%, το οποίο δεν τέθηκε σε φίλτρο αιμοδιαδιήθησης.

Ο μέσος όρος αντιβιοτικής κάλυψης στους 21 ασθενείς υπολογίστηκε κατά προσέγγιση στις 27,5 ημέρες, με μέγιστη τιμή τις 85 ημέρες και ελάχιστη τιμή τις 24 ώρες (συνολικό διάστημα νοσηλείας λόγω θνησιμότητας). Αναμφίβολα, στην συγκεκριμένη μέτρηση διαδραματίζει ουσιαστικό ρόλο και η συνολική διάρκεια παραμονής του εκάστοτε ασθενή-δείγματος. Τέλος, ο συνολικός μέσος όρος παραμονής στην Μονάδα Εντατικής Θεραπείας υπολογίζεται περίπου στις 30 ημέρες νοσηλείας, με ελάχιστη τιμή τις 24 ώρες και μέγιστη τιμή τις 91 ημέρες. Τα παραπάνω δεδομένα παραθέτονται συνοπτικά και στον πίνακα που ακολουθεί.

Age	63 (21, 79)
Sex (male)	18 (86%)
APACHE II	17 (7,27)
SOFA admission	8 (3, 13)
SOFA infection onset	8 (2, 13)
Shock at infection onset	17 (81%)
SOFA 96h after infection	8 (2, 13)
SOFA D10	6 (2, 11)
Charlson Comorbidity Index	4.5 (1, 10)
Days of ICU stay at infection onset	8.5 (1, 40)
Creatinine D0	0.63 (0.26, 4.39)
Creatinine D7	0.23 (0.05, 3.06)
Creatinine D10	0.1 (0.02, 3.32)
CRRT after infection onset	7 (33%)
Antibiotic duration	27.5 (1, 85)
MV Duration	32 (1, 84)
ICU Length of Stay	30 (1, 91)

Πίνακας 5.2: Δημογραφικά στοιχεία ασθενών, κλινικοί δείκτες προσδιορισμού της κατάστασης της υγείας, επίπεδα κρεατινίνης και στοιχεία πορείας της νόσου.

5.2 Απομονώσεις & αντιβιοτική κάλυψη

Προκειμένου να εξεταστεί και να προκύψει ένα ασφαλές συμπέρασμα σχετικά με την επαρκή αντιβιοτική κάλυψη και το ενδεχόμενο κλινικής θεραπείας κατά την διάρκεια παραμονής των ασθενών στη ΜΕΘ, πρώτο και απαραίτητο βήμα αποτελεί η αναζήτηση και η καταγραφή των μικροβιακών απομονώσεων, ανεξαρτήτου οδού και δείγματος. Από το δείγμα των 21 ασθενών με επιβεβαιωμένη θετική καλλιέργεια από *P. aeruginosa* προέκυψε το σύνολο 63 καλλιιεργειών, οι οποίες αποτελούνται από τους παρακάτω μικροβιακούς παράγοντες (με αλφαβητική σειρά): *Acinetobacter* (42,8%), *Bacillus cereus* group (4,7%), *C. Difficile* (4,7%), *Candida auris* (14,2%), *Candida parapsilosis* (4,7%), *Candida spp* (28,5%), *Coagulase Negative Staphylococcus* (71,4%), *Corynebacterium striatum* (4,7%),

Cutibacterium acnes (4,7%), *E. Coli* (14,2%), *Enterobacter aerogenes* (4,7%), *Enterococcus faecalis* (9,5%), *Enterococcus faecium* (9,5%), *Klebsiella* (42,8%), *Lactobacillus casei* group (4,7%), *Proteus mirabilis* (9,5%), *Pseudomonas fluorescens*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Staphylococcus pettenkoferi* και *Streptococcus intermedius* (4,7% το καθένα αντίστοιχα). Οι απομονώσεις αυτές απαντώνται σε πάνω από ένα ασθενή, σε διαφορετικές οδούς, δείγματα και χρονικές περιόδους και επιβεβαιώνονται μέσω καλλιέργειών και δοκιμών ευαισθησίας. Ο Coagulase Negative *Staphylococcus* (CoNS) ανέρχεται στην πρώτη θέση με 15 διαφορετικές απομονώσεις και ακολουθούν το *Acinetobacter* και η *Klebsiella* με 9 απομονώσεις έκαστος. Τέλος, στην τέταρτη θέση βρίσκεται η *Candida spp* με 6 απομονώσεις. Στους παραπάνω παράγοντες φαίνεται πως περιλαμβάνεται και η *Pseudomonas fluorescens*, η οποία αποτελεί ένα ακόμα είδος της μεγάλης οικογένειας της Ψευδομονάδας. Παρ' όλα αυτά η συγκεκριμένη μελέτη δεν εστιάζει σε αυτή, καθώς περιορίζεται σε ένα δείγμα μίας μόνο απομόνωσης και λόγω της συντριπτικής πλειοψηφίας των ασθενών ΜΕΘ με θετικές καλλιέργειες βρογχικών εκκρίσεων Ψευδομονάδας, οι οποίες ανέδειξαν *P. aeruginosa*.

Μετά από κάθε επιβεβαιωμένη απομόνωση διενεργείται δοκιμή ευαισθησίας στον αντίστοιχο μικροβιακό παράγοντα με στόχο την επιλογή κατάλληλης αντιβιοτικής θεραπείας και τον εντοπισμό ανθεκτικότητας. Το αποτέλεσμα του αντιβιογράμματος χαρακτηρίζει τις αντιβιοτικές ουσίες ως «Ευαίσθητες» (S), όταν αποτελούν την κατάλληλη μέθοδο αντιβιοτικής εκλογής για την εξουδετέρωση του βακτηρίου, «Ενδιάμεσης Ευαισθησίας» (I) «με ανεπαρκή στοιχεία για να χαρακτηριστεί η ευαισθησία» (IE), όταν δεν υπάρχουν επαρκή στοιχεία σχετικά με το εάν το συγκεκριμένο είδος είναι καλός θεραπευτικός στόχος ή όχι (μπορεί ωστόσο να χρησιμοποιηθεί υψηλότερη δοσολογία), και «Ανθεκτικές» (R), όπου κρίνονται ακατάλληλες και ανεπαρκείς λόγω των μηχανισμών αντιβιοτικής αντίστασης που έχει αναπτύξει το βακτήριο. Στην παρούσα έρευνα, οι I/IE δοκιμές ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης (*Minimum Inhibitory Concentration, MIC*) των αντιβιοτικών ουσιών εκφράζονται με την μορφή των αντίστοιχων αριθμών (σε $\mu\text{g/mL}$) οι οποίοι προκύπτουν κατά την δοκιμή ευαισθησίας. Πρόκειται ουσιαστικά για τον αριθμό της χαμηλότερης συγκέντρωσης η οποία απαιτείται για την αναστολή ανάπτυξης του βακτηρίου. Τα αποτελέσματα ελέγχου των τεσσάρων δραστικών ουσιών για την αντιμετώπιση της *P. aeruginosa* αφορούν την αμικασίνη (amikacin), την γενταμικίνη (gentamicin), την κολιστίνη (colistin) και την μεροπενέμη (meropenem).

Πιο συγκεκριμένα, η ευαισθησία των απομονωμένων μικροβίων του δείγματος στην κολιστίνη αγγίζει το κατά προσέγγιση ποσοστό του ποσοστό του 90%, ακολουθεί η αμικασίνη με ποσοστό περίπου 29% και τέλος η μεροπενέμη και η γενταμικίνη με ποσοστό 14% έκαστος. Αναφορικά με την γενταμικίνη οι MIC υπολογίζονται $\geq 16 \mu\text{g/mL}$ σχεδόν στο ποσοστό του 70% των απομονωμένων στελεχών, $8 \mu\text{g/mL}$ στο 19%, $2 \mu\text{g/mL}$ περίπου στο 4,8% και $\leq 1 \mu\text{g/mL}$ στο 14,3%. Μέσω των δοκιμών ευαισθησίας υπολογίζεται και ο αριθμός των φαινοτυπικών ελέγχων συμβατών (θετικών) για την παραγωγή μεταλλο-β-λακταμάσης (MBL). Πιο συγκεκριμένα, ο μηχανισμός αντίστασης συμβατός με την παραγωγή MBL παρατηρείται στο 57% των απομονώσεων, με το υπολειπόμενο ποσοστό 43% να μην παρουσιάζει αυτό το μηχανισμό ανοχής. Άξιο αναφοράς αποτελεί και το γεγονός ότι το 33,3% των ασθενών του συνολικού δείγματος παρουσίασε και τουλάχιστον μία ακόμη θετική καλλιέργεια βρογχικών εκκρίσεων με *P. aeruginosa* ≥ 10 ημέρες μετά.

Η αντιβιοτική κάλυψη καταγράφηκε για συνολικά 7 διαφορετικά ευρέως χρησιμοποιημένα αντιβιοτικά σκευάσματα είτε συνδυαστικά, είτε μεμονωμένα, καθώς και η συνολική διάρκεια κάλυψης σε ημέρες καθ' όλη την διάρκεια της νοσοκομειακής παραμονής των ασθενών, τόσο για την αντιμετώπιση της *P. aeruginosa*, όσο και των συνολομογόνων μικροβιακών παραγόντων. Εκτός από την ευρεία κλινική χρήση, στην επιλογή καταγραφής των συγκεκριμένων αντιβιοτικών συνέλαβαν και τα αποτελέσματα των δοκιμασιών ευαισθησίας που ακολουθούν παρακάτω. Αναλυτικότερα, το συντριπτικό ποσοστό της τάξεως του 90,5% των ασθενών έλαβε Colistin (Κολιστίνη), συμπεριλαμβανομένης τόσο της ενδοφλέβιας, όσο και της εισπνεόμενης μορφής της. Ακολουθεί με 66,7% το Meronem (Μεροπενέμη),

το Zavicefta (Κεφταζιδίμη) με 47,6% και τα Briklin (Αμικασίνη) και Gentamicin (Γενταμικίνη) με ποσοστό περίπου 38,1%. Την λίστα ολοκληρώνουν το Zerbaxa (Ταζομπακτάμη) και το Invanz (Ερταπενέμη) με αισθητά μικρότερη χρήση της τάξεως 9,5% έκαστος. Τα παραπάνω δεδομένα παραθέτονται αναλυτικά και στον πίνακα που ακολουθεί.

Μικρόβια που απομονώθηκαν μετά την 1^η θετική καλλιέργεια Pseudomonas aeruginosa

Klebsiella pneumoniae	9
Acinetobacter baumannii	9
MRSA	1
Enterococcus faecalis	2
Enterococcus faecium	1
Enterobacter aerogenes	1
Candida spp	5
Candida auris	3
Proteas Mirabilis	2
E. Coli	3

Isolate producing Metallo-B-lactamase (MBL)	12 (57%)
---	----------

Susceptibility Profiles

Amikacin	6 (29%)
Gentamycin	3 (14%)
Colistin	19 (90%)
Meropenem	3 (14%)

Antibiotics prescribed

Colistin	19 (90.5%)
Colistin only	2 (9.5%)
Amikacin/gentamycin	8 (38.1%)
Ceftolozane/Tazobactam	6 (28.5%)
Meropenem	14 (66.7%)
Ertapenem	2 (9.5%)
Ceftazidime/avibactam	10 (47.6%)

Πίνακας 5.3: Μικροβιολογικά δεδομένα 21 ασθενών με θετική καλλιέργεια *P. aeruginosa*. Αναφέρονται ο αριθμός των απομονωμένων μικροβίων μετά την πρώτη θετική καλλιέργεια καθ' όλη την πορεία της νοσηλείας σε διαφορετικές οδούς και δείγματα, το ποσοστό των θετικών φαινοτυπικών ελέγχων παραγωγής μεταλλο-β-λακταμάσης (MBL), το προφίλ ευαισθησίας της *P. aeruginosa* σε τέσσερις διαφορετικές αντιβιοτικές ομάδες, καθώς και τα ποσοστά των χορηγούμενων αντιβιοτικών κατά την πορεία της νόσου συνολικά.

Αναφορικά με την σύγκριση μεταξύ των δεδομένων των ασθενών με φαινοτυπικούς ελέγχους συμβατών και μη (θετικών και αρνητικών αντίστοιχα) για την παραγωγή μεταλλο-β-λακταμάσης (MBL), μπορούν να προκύψουν ορισμένα συμπεράσματα. Συγκεκριμένα, οι θετικοί MBL ασθενείς αποτελώντας την πλειοψηφία υπολογίζονται στους 12, σε αντίθεση με τους αρνητικούς (NON MBL) οι οποίοι υπολογίζονται στους 8. Στα δημογραφικά δεδομένα δεν παρουσιάζονται άξιες αναφοράς σημαντικές στατιστικές διαφορές, ενώ οι δείκτες προσδιορισμού APACHE II, SOFA, καθώς και ο προγνωστικός δείκτης CHARLSON φαίνεται πως παρουσιάζουν υψηλότερες βαθμολογίες στην αρνητική κατηγορία μεταλλο-β-λακταμάσης (NON MBL). Κάτι ανάλογο φαίνεται πως συμβαίνει και στις τιμές επιπέδων κρεατινής. Η κατηγορία των μικροβιολογικών δεδομένων είναι αυτή που παρουσιάζει άξιες αναφοράς στατιστικές διαφορές, όπως αναφέρεται και στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 5.4). Αναλυτικότερα και όσον αφορά τα ποσοστά των απομονωμένων μικροβίων μετά την πρώτη θετική καλλιέργεια στην *P. aeruginosa* καθ' όλη την πορεία της νοσηλείας, οι θετικοί MBL ασθενείς φαίνεται να παρουσίασαν *Klebsiella pneumoniae* και *Acinetobacter baumannii* σε υψηλότερα ποσοστά έναντι των NON MBL ασθενών (50% έναντι 37,5% και 58,3% έναντι 25% αντίστοιχα). Αντίστοιχο μοτίβο διαφοροποίησης παρουσιάζουν και τα ποσοστά των λοιπών απομονώσεων των μικροοργανισμών που προαναφέρθηκαν (π.χ. *Candida* spp, MRSA, *Enterococcus faecalis* κ.α.) (75% MBL έναντι NON MBL 50%). Τέλος, μία ακόμα σημαντική στατιστική διαφορά παρατηρείται και στο ενδεχόμενο αιμοδυναμικής αστάθειας (SHOCK) κατά την πρώτη ημέρα θετικής καλλιέργειας στην *P. aeruginosa*: το συντριπτικό 100% των NON MBL ασθενών φαίνεται πως παρουσίασε SHOCK κατά την ημέρα καλλιέργειας έναντι του αντίστοιχου 75% των MBL ασθενών. Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται διεξοδικά τα παραπάνω στοιχεία, συμπεριλαμβανομένων των δεδομένων πορείας της νόσου (π.χ. διάρκεια παραμονής σε μηχανικό αερισμό, αιμοκάθαρση, αντιβιοτική διάρκεια κ.α.).

	MBL producers (N= 12)	NON MBL producers (N=8)	P. value
Age	62.5 ± 16	60 ± 13.7	0.193
sex	10 (83%)	7 (87.5%)	0.862
Reason of admission (surgical)	8 (66.7%)	2 (25%)	0.012
APACHE II	17 ± 5.05	20 ± 5.6	0.005
SOFA	6 ± 1.8	9 ± 1.8	0.098
Charlson Comorbidity Index	4 ± 1.6	5 ± 2.3	0.305
SOFA infection onset	7 ± 2.6	9 ± 2	0.910
SOFA 96h	6 ± 2.5	9 ± 1.9	0.432
SOFA D10	5 ± 1.9	9 ± 1.9	0.961
Days of ICU stay at infection onset	8 ± 12.6	9 ± 11.6	0.003
Isolates after pseudomonas aeruginosa culture			
Klebsiella	6 (50%)	3 (37.5%)	0.238
Acinetobacter	7 (58.3%)	2 (25%)	0.034

Other	9 (75%)	4 (50%)	0.571
Shock at infection onset	9 (75%)	8 (100%)	0.384
Antibiotics received			
Colistin	12 (100%)	7 (87.5%)	0.678
Amikacin/gentamycin	4 (33%)	4 (50%)	0.384
Ceftolozan/tazobactam	3 (25%)	3 (37.5%)	0.792
Meropenem	8 (66.7%)	6 (75%)	0.792
Ertapenem	2 (16%)	0	0.571
Ceftazidime/avibactam	7 (58.3%)	3 (37.5%)	1.00
Antibiotic duration	36.5 ± 16.4	19.5 ± 29	0.039
Creatinine D0	0.5 ± 0.8	1.3 ± 1.4	1.00
CRRT after infection onset	1 (8%) /	6 (75%) /	0.910
No of pts/days	28	10 ± 29.9	
MV duration	40.5 ± 18.5	24.5 ± 28.2	0.012
ICU length	43 ± 20.1	24.5 ± 30.5	0.004
Mortality			0.571

Πίνακας 5.4: Πίνακας σύγκρισης μεταξύ ασθενών θετικών και αρνητικών για την παραγωγή μεταλλο-β-λακταμάσης (MBL και NON MBL αντίστοιχα) ως προς τα δημογραφικά δεδομένα, τους κλινικούς δείκτες προσδιορισμού της κατάστασης της υγείας, τα μικροβιολογικά στοιχεία, τα επίπεδα κρεατινίνης και τα στοιχεία πορείας της νόσου.

5.3 Έκβαση της νόσου

Κλείνοντας αναφορικά με την επίπτωση της θνησιμότητας, το 38,1% των ασθενών κατέληξε σε θάνατο κατά το δεδομένο χρονικό διάστημα της ερευνητικής αναζήτησης (έτος 2023), εκ των οποίων η συντριπτική πλειοψηφία της τάξεως του 87,5% αφορά το ανδρικό φύλο, ενώ μόλις το 12,5% το γυναικείο φύλο. Ο μέσος όρος ημερών θανάτου με έναρξη την πρώτη ημέρα θετικής καλλιέργειας βρογχικών εκκρίσεων με *P. aeruginosa*, υπολογίζεται στις 23 ημέρες νοσηλείας (ακριβής αριθμός 22,6 ημέρες), με ελάχιστη τιμή τις 24 ώρες και μέγιστη τιμή τις 85 ημέρες. Σε αυτό το σημείο, άξιο αναφοράς αποτελεί το γεγονός ότι ο ασθενής με τις περισσότερες συνολικές ημέρες θανάτου από την πρώτη ημέρα θετικής καλλιέργειας βρογχικών εκκρίσεων με *P. aeruginosa*, είναι ο ίδιος ασθενής με τις περισσότερες ημέρες μηχανικού αερισμού, φίλτρου αιμοκάθαρσης και αντιβιοτικής κάλυψης. Αυτό οφείλεται στην μεγάλη διάρκεια παραμονής του στην Μονάδα Εντατικής Θεραπείας του νοσοκομείου, συνολικής διάρκειας 91 ημερών με λήξη την ημέρα θανάτου του. Αντίστοιχα, ο ασθενής με την μικρότερη διάρκεια μηχανικού αερισμού, φίλτρου αιμοκάθαρσης και αντιβιοτικής κάλυψης, παρέμεινε στην Μονάδα μόνο 24 ώρες, όπου και κατέληξε σε θάνατο.

Σε συνέχεια των παραπάνω δεδομένων που προέκυψαν, πραγματοποιήθηκε σύγκριση μεταξύ των ασθενών που επιβίωσαν και των αποβιωσάντων (12 και 8 ασθενείς αντίστοιχα) όπως παρουσιάζεται και παρακάτω στον Πίνακα 5.5. Ειδικότερα, άξιο αναφοράς αποτελεί το γεγονός ότι οι δείκτες

προσδιορισμού APACHE II, SOFA και ο προγνωστικός δείκτης CHARLSON φαίνεται πως παρουσιάζουν υψηλότερες βαθμολογίες στην κατηγορία των αποβιωσάντων ασθενών έναντι των ασθενών που επιβίωσαν. Το γεγονός αυτό επιβεβαιώνει ότι οι υψηλότερες βαθμολογίες υποδηλώνουν σαφώς και αντίστοιχο υψηλότερο κίνδυνο νοσηρότητας και θνησιμότητας. Όμοιο μοτίβο φαίνεται να παρατηρείται και στις τιμές επιπέδων κρεατινής (υψηλότερες τιμές στους αποβιώσαντες). Αιμοδυναμική αστάθεια (SHOCK) κατά την πρώτη ημέρα θετικής καλλιέργειας στην *P. aeruginosa* φαίνεται πως παρουσιάζει το απόλυτο 100% των αποβιωσάντων ασθενών, συγκριτικά με το αντίστοιχο 75% των ασθενών που επιβίωσαν. Σε αυτό το σημείο, εξαιρετικά σημαντικό παρουσιάζεται και το γεγονός ότι η συνολική διάρκεια παραμονής στην Μονάδα Εντατικής Θεραπείας είναι μεγαλύτερη στους επιβιώσαντες ασθενείς, με αποτέλεσμα τις ουσιαστικές διαφορές σε παραμέτρους όπως π.χ. οι συνολικές μικροβιακές απομονώσεις, η λήψη της αντιβιοτικής αγωγής και η διάρκεια μηχανικού αερισμού. Πιο συγκεκριμένα, τα ποσοστά των απομονωμένων παθογόνων μικροοργανισμών μετά την πρώτη θετική καλλιέργεια και καθ' όλη την πορεία της νοσηλείας, παρουσιάζονται υψηλότερα στην ομάδα των επιβιωσάντων έναντι των αποβιωσάντων, με πρώτο το *Acinetobacter baumannii* (58,3% και 25% αντίστοιχα), την *Klebsiella pneumoniae* (50% και 37,5% αντίστοιχα) και τέλος τις λοιπές απομονώσεις (75% έναντι 50% αντίστοιχα). Σημαντική διαφοροποίηση παρατηρείται και στην συνολική διάρκεια μηχανικού αερισμού στην Μονάδα Εντατικής Θεραπείας, με αναφερόμενη υψηλότερη διάρκεια σε ημέρες στους ασθενείς που επιβίωσαν. Κάτι ανάλογο παρουσιάζεται και στην διάρκεια χορήγησης των αντιβιοτικών καθ' όλη την διάρκεια της παραμονής των ασθενών στο ΜΕΘ. Τέλος, αναφορικά με την παραγωγή μεταλλο-β-λακταμάσης, η ομάδα των επιβιωσάντων σημειώνει σχετικά μεγαλύτερο ποσοστό θετικών MBL έναντι της ομάδας αποβιωσάντων (66,6% και 50% αντίστοιχα). Τα παραπάνω, καθώς και επιμέρους στοιχεία όπως π.χ. η αντιβιοτική ευαισθησία και οι δείκτες έκβασης της νόσου αναλύονται διεξοδικά παρακάτω.

	SURVIVORS (N = 12)	NON-SURVIVORS (N=8)	P. value
Age	62.5 ± 16	60 ± 13.7	0.384
Sex	10 (83%)	7 (87.5%)	0.910
Reason of admission (surgical)	8 (66.7%)	2 (25%)	0.135
APACHE II	17 ± 5.05	20 ± 5.6	0.238
SOFA	6 ± 1.8	9 ± 1.8	0.003
Charlson Comorbidity Index	4 ± 1.6	5 ± 2.3	0.238
SOFA infection onset	7 ± 2.6	9 ± 2	0.002
SOFA 96h	6 ± 2.5	9 ± 1.9	0.003
SOFA D10	5 ± 1.9	9 ± 1.9	0.002
Days of ICU stay at infection onset	8 ± 12.6	9 ± 11.6	0.678
Isolates after pseudomonas aeruginosa culture			

Klebsiella	6 (50%)	3 (37.5%)	0.678
Acinetobacter	7 (58.3%)	2 (25%)	0.384
Other	9 (75%)	4 (50%)	0.571
Susceptibility profiles			
Amikacin	4 (33%)	2 (25%)	0.792
Colistin	11 (91.7%)	8 (100%)	0.792
Gentamycin	1 (8%)	2 (25%)	1.000
Meropenem	2 (16.6%)	1 (12.5%)	0.910
Pseudomonas aeruginosa isolate producing Metallo-B-lactamases (MBL)	8 (66.6%)	4 (50%)	0.571
Shock at infection onset	9 (75%)	8 (100%)	0.384
Antibiotics received			
Colistin	12 (100%)	7 (87.5%)	0.678
Amikacin/gentamycin	4 (33%)	4 (50%)	0.571
Ceftolozan/tazobactam	3 (25%)	3 (37.5%)	0.678
Meropenem	8 (66.7%)	6 (75%)	0.792
Ertapenem	2 (16%)	0	0.571
Ceftazidime/avibactam	7 (58.3%)	3 (37.5%)	0.473
Antibiotic duration	36.5 ± 16.4	19.5 ± 29	0.427
Creatinine D0	0.5 ± 0.8	1.3 ± 1.4	0.115
Creatinine D7	0.3 ± 0.8	0.13 ± 0.8	0.773
Creatinine D10	0.07 ± 0.8	0.14 ± 1.4	0.069
CRRT after infection onset No of pts/days	1 (8%) / 28	6 (75%) / 10 ± 29.9	0.02
MV duration	40.5 ± 18.5	24.5 ± 28.2	0.792
ICU length	43 ± 20.1	24.5 ± 30.5	0.678

Πίνακας 5.5: Πίνακας σύγκρισης μεταξύ ασθενών που επιβίωσαν και αποβιωσάντων ως προς τα δημογραφικά δεδομένα, τους κλινικούς δείκτες προσδιορισμού της κατάστασης της υγείας, τα μικροβιολογικά στοιχεία, τα επίπεδα κρεατινίνης, την παραγωγή μεταλλο-β-λακταμάσης (MBL), καθώς και τα στοιχεία έκβασης της νόσου.

Συζήτηση

Η *P. aeruginosa* είναι ένα πανταχού παρόν Gram-αρνητικό βακτηριακό είδος, υπεύθυνο για ένα σημαντικό ποσοστό λοιμώξεων υγειονομικής περίθαλψης (HAIs). Οι λοιμώξεις του κατώτερου αναπνευστικού συστήματος (LRTIs) σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς ΜΕΘ με αιτιολογία πολυανθεκτικής *Pseudomonas aeruginosa* είναι άμεσα συσχετισμένες με υψηλά επίπεδα νοσηρότητας και θνησιμότητας, γεγονός που αποδίδεται στην αυξημένη τάση αντιβιοτικής αντίστασης κατά την τελευταία δεκαετία (Yang, et al., 2020). Η *P. aeruginosa* προκαλεί LRTIs προσβάλλοντας τα κατεστραμμένα κύτταρα του αναπνευστικού επιθηλίου μέσω των παραγόντων λοιμογόνου δράσης που διαθέτει, ενώ η ικανότητά της για σχηματισμό βιομεμβρανών επιτρέπει τον αποικισμό ακόμα και σε αδρανείς επιφάνειες, συμβάλλοντας έτσι στην εγκατάσταση χρόνιων HAIs στο κλινικό περιβάλλον (Horna & Ruiz, 2021; Reynolds & Kollef, 2021). Τέλος, τα MDR, XDR και PDR στελέχη της *P. aeruginosa* φαίνεται πως είναι όλο και πιο δύσκολο να καταπολεμηθούν σε βάθος χρόνου (Holger et al., 2022). Η παρούσα διπλωματική εργασία επιχείρησε την διερεύνηση της επίπτωσης και της νοσηρότητας σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς Μονάδων Εντατικής Θεραπείας με λοίμωξη του κατώτερου αναπνευστικού συστήματος από πολυανθεκτική Ψευδομόναδα.

Αναφορικά τόσο με τα αποτελέσματα της μελέτης, όσο και τα δεδομένα που προέκυψαν από την βιβλιογραφική ανασκόπηση που προηγήθηκε, φαίνεται πως επιβεβαιώνεται η μεγαλύτερη επίπτωση και νοσηρότητα στο ανδρικό φύλο σε σχέση με το γυναικείο, ενώ η ηλικιακή ομάδα 65 ετών και άνω αποτελεί την κύρια ομάδα νοσηρότητας και θνησιμότητας συγκριτικά με τις άλλες ηλικιακές κατηγορίες. Τα τελικά αποτελέσματα παρουσιάζουν θετική καλλιέργεια βρογχικών εκκρίσεων ακόμη και κατά τις πρώτες 1-3 ημέρες νοσηλείας στη Μονάδα Εντατικής Θεραπείας, γεγονός που εγείρει προβληματισμούς. Όπως επιβεβαιώνεται και κατόπιν της βιβλιογραφικής αναζήτησης, κατά τα αρχικά στάδια της λοίμωξης από *P. aeruginosa*, απαιτείται ένα εύλογο χρονικό διάστημα περίπου 48-72 ωρών από την εισαγωγή στο νοσοκομείο προκειμένου να ολοκληρωθεί το στάδιο του αποικισμού της αναπνευστικής οδού (Hermann, et al., 2023). Συνεπώς, καθίσταται πιθανό το ενδεχόμενο το συγκεκριμένο δείγμα ασθενών να ήταν ήδη αποικισμένο κατά την είσοδο και την έναρξη της νοσηλείας στη Μονάδα Εντατικής Θεραπείας. Πράγματι, κατόπιν ελέγχου προηγούμενης κλινικής φροντίδας και νοσηλείας των τελευταίων 10 ημερών, διαπιστώθηκε ότι οι συγκεκριμένοι ασθενείς είχαν νοσηλευτεί σε κάποια κλινική ή κέντρο αποκατάστασης, είτε αμέσως πριν, είτε για ορισμένο χρονικό διάστημα πριν την μεταφορά και την εισαγωγή τους στη ΜΕΘ. Σε κάθε περίπτωση λοιπόν, οφείλουν να λαμβάνονται υπόψη τα τοπικά επιδημιολογικά δεδομένα. Παράλληλα, δεδομένου του χρονικού διαστήματος που απαιτείται για την διαδικασία του αποικισμού και την έναρξη της συστηματικής λοίμωξης (Hermann, et al., 2023), και σε συνδυασμό με τα αποτελέσματα τα οποία επιβεβαιώνουν το μεγαλύτερο ποσοστό θετικών καλλιεργειών μετά την 10η ημέρα παραμονής, φαίνεται πως η πλειοψηφία των επιβεβαιωμένων απομονώσεων *P. aeruginosa* προέκυψε κατά την διάρκεια της παραμονής των ασθενών εντός του τμήματος της ΜΕΘ του νοσοκομείου.

Αναφορικά με την αντιβιοτική κάλυψη, η επιλογή της κατάλληλης θεραπευτικής προσέγγισης βρίσκεται στην διακριτική ευχέρεια του θεράποντος ιατρού, λαμβάνοντας υπόψη κριτήρια όπως η κλινική εικόνα, η παρουσία ή απουσία παραγόντων κινδύνου για ανάπτυξη MDR, η προηγηθείσα αντιβιοτική θεραπεία και η τοπική επιδημιολογία. Με βάση την επιλογή των περισσότερων ειδικών, συνιστάται συνδυαστική αγωγή για την αντιμετώπιση των MDR λοιμώξεων *P. aeruginosa*, χωρίς ωστόσο αυτό να υποδηλώνει την αναποτελεσματικότητα της μονοθεραπείας. Σε κάθε περίπτωση, οι ειδικοί ενθαρρύνονται να προσαρμόσουν την θεραπευτική στρατηγική με προσοχή και λαμβάνοντας υπόψη τα αποτελέσματα των δοκιμών ευαισθησίας (Trinh, et al., 2017; Reynolds & Kollef, 2021; Giacomo et al., 2022; Foucrier, et al., 2023). Τα τελικά αποτελέσματα της έρευνας φαίνεται να επιβεβαιώνουν τα παραπάνω βιβλιογραφικά ευρήματα, σύμφωνα με τα οποία η κολιστίνη αποτελεί μια από τις τελευταίες

θεραπευτικές επιλογές για την αντιμετώπιση των MDR Gram-αρνητικών λοιμώξεων *P. aeruginosa*. Είναι όμως ένα φάρμακο με γνωστή νεφροτοξικότητα, καθώς και μειωμένη αποτελεσματικότητα σε ορισμένες λοιμώξεις του αναπνευστικού, λόγω των μη ικανοποιητικών συγκεντρώσεων που επιτυγχάνονται στο πνευμονικό παρέγχυμα. Παράλληλα, επιβεβαιώνεται και η υψηλή αντιβιοτική αντίσταση στην καρβαπενέμη (μεροπενέμη), καθώς και ο υψηλός αριθμός απομονώσεων μεταλλο-β-λακταμάσης (MBL) CR-PA, γεγονός ιδιαίτερα ανησυχητικό λόγω των περιορισμένων θεραπευτικών επιλογών (Tang, et al., 2015; Garcia-Clemente et al., 2020; Ponce, et al., 2020; Yang, et al., 2020; Foucrier, et al., 2023; Pappa et al., 2024).

Βιβλιογραφικές αναφορές

1. Alouf, J., Ladant, D. & Popoff, M.R. (2015). The Comprehensive Sourcebook of Bacterial Protein Toxins. Elsevier eBooks. Elsevier BV. ISBN: 9780128001882
2. Alqaid, A., Dougherty, C., & Ahmad, S. (2015). Triple antibiotic therapy with ceftolozane/tazobactam, colistin and rifampin for pan-resistant *Pseudomonas aeruginosa* ventilator-associated pneumonia. The Southwest Respiratory and Critical Care Chronicles, [online] 3(11), pp.35–39. ISSN: 2325-9205 Διαθέσιμο στο: <https://pulmonarychronicles.com/index.php/pulmonarychronicles/article/view/206>
3. Baron, S. (1996). Medical Microbiology, 4th edition. University of Texas Medical Branch at Galveston. Chapter 27: *Pseudomonas*. ISBN-10: 0-9631172-1-1
4. Bender, R.G., Sirota, S.B., Swetschinski, L.R., Dominguez, R.-M.V., Novotney, A., Wool, E.E., Ikuta, K.S., Vongpradith, A., Rogowski, E.L.B., Doxey, M., Troeger, C.E., Albertson, S.B., Ma, J., He, J., Maass, K.L., A.F.Simões, E., Abdoun, M., Abdul Aziz, J.M., Abdulah, D.M. & Abu Rumeileh, S. (2024). Global, regional, and national incidence and mortality burden of non-COVID-19 lower respiratory infections and aetiologies, 1990–2021: a systematic analysis from the Global Burden of Disease Study 2021. The Lancet Infectious Diseases, [online] 24(9), pp.974–1002. doi:[https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(24\)00176-2](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(24)00176-2).
5. Ding, C., Yang, Z., Wang, J., Liu, X., Cao, Y., Pan, Y., Han, L. & Zhan, S. (2016). Prevalence of *Pseudomonas aeruginosa* and antimicrobial-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in patients with pneumonia in mainland China: a systematic review and meta-analysis. International Journal of Infectious Diseases, [online] 49, pp.119–128. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijid.2016.06.014>.
6. Farver, C.F. (2018). Bacterial Diseases. Pulmonary Pathology (Second Edition), pp. 163–200. Elsevier eBooks, [online]. doi:<https://doi.org/10.1016/b978-0-323-39308-9.00010-8>.
7. Foucrier, A., Dessalle, T., Tuffet, S., Federici, L., Dahyot-Fizelier, C., Barbier, F., Julien Pottecher, Monsel, A., Hissem, T., Jean-Yves Lefrant, Alexandre Demoule, Constantin, J., Rousseau, A., Simon, T., Leone, M., Bouglé, A., Bouglé, A., Amour, J., Dessalle, T. & Zegdi, F.B. (2023). Association between combination antibiotic therapy as opposed as monotherapy and outcomes of ICU patients with *Pseudomonas aeruginosa* ventilator-associated pneumonia: an ancillary study of the iDIAPASON trial. Critical Care, [online] 27(1). doi: <https://doi.org/10.1186/s13054-023-04457-y>.
8. Garcia-Clemente, M., David, Máiz, L., Girón, R., Blanco, M., Casilda Oliveira, Canton, R. & Martinez-García, M.A. (2020). Impact of *Pseudomonas aeruginosa* Infection on Patients with Chronic Inflammatory Airway Diseases. Journal of Clinical Medicine, [online] 9(12), pp.3800–3800. doi:<https://doi.org/10.3390/jcm9123800>.
9. Giacomo, P.D., Raffaelli, F., Losito, A.R., Fiori, B. & Tumbarello, M. (2022). XDR-*Pseudomonas aeruginosa* Outside the ICU: Is There Still Place for Colistin? Antibiotics, [online] 11(2), pp.193–193. doi:<https://doi.org/10.3390/antibiotics11020193>.
10. Gill, C.M. & Nicolau, D.P. (2022). Carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: an assessment of frequency of isolation from ICU versus non-ICU, phenotypic and genotypic profiles in a multinational population of hospitalized patients. Antimicrobial Resistance and Infection Control, [online] 11(1). doi:<https://doi.org/10.1186/s13756-022-01187-8>.
11. Hermann, L., Bernardi, F., Luiz, Alexandra, J., Alisson, J., Telles, J.P. & Tuon, F.F. (2023). *Pseudomonas aeruginosa* in tracheal aspirate: Colonization, infection, and recurrence. The Clinical Respiratory Journal, [online] 17(5), pp.439–446. doi:<https://doi.org/10.1111/crj.13612>.
12. Holger, D.J., Rebold, N.S., Alosaimy, S., Morrisette, T., Abdalhamid Lagnf, Belza, A.C., Kunz, J., Ghali, A.E., Veve, M.P. & Rybak, M.J. (2022). Impact of Ceftolozane–Tazobactam vs. Best

Alternative Therapy on Clinical Outcomes in Patients with Multidrug-Resistant and Extensively Drug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Lower Respiratory Tract Infections. *Infectious Diseases and Therapy*, [online] 11(5), pp.1965–1980. doi:<https://doi.org/10.1007/s40121-022-00687-9>.

13. Horna, G. & Ruiz, J. (2021). Type 3 secretion system of *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiological Research*, [online] 246, pp.126719–126719. doi:<https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126719>.
14. Kang, Y., Xie, L., Yang, J. & Cui, J. (2023). Optimal treatment of ceftazidime-avibactam and aztreonam-avibactam against bloodstream infections or lower respiratory tract infections caused by extensively drug-resistant or pan drug-resistant (XDR/PDR) *Pseudomonas aeruginosa*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, [online] 13. doi:<https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1023948>.
15. Khatami, S.H., Karami, S., Hamid Reza Siahkouhi, Mortaza Taheri-Anganeh, Fathi, J., Mir, Taghvimi, S., Zahra Shabaninejad, Gholamhossein Tondro, Karami, N., Dolatshah, L., Fard, E.S., Movahedpour, A. & Darvishi, M.H. (2022). Aptamer-based biosensors for *Pseudomonas aeruginosa* detection. *Molecular and Cellular Probes*, [online] 66, pp.101865–101865. doi:<https://doi.org/10.1016/j.mcp.2022.101865>.
16. Khedr, A., Mathew, B., Mushtaq, H., Nelson, C., Poehler, J., Jama, A., Borge, J., Lehe, J.V., Urena, E.G., Syed, A. & Khan, S. (2022). *Pseudomonas* infection reduction in the ICU: a successful multidisciplinary quality improvement project. *Infezioni in Medicina*, [online] 30(4). doi:<https://doi.org/10.53854/liim-3004-13>.
17. Kunz, J., Ghali, A.E., Holger, D., Rebold, N. & Rybak, M.J. (2022). Therapeutic Strategies for Emerging Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Infectious Diseases and Therapy*, [online] 11(2), pp.661–682. doi:<https://doi.org/10.1007/s40121-022-00591-2>.
18. Pandey, R. (2023). *Genomic Surveillance and Pandemic Preparedness*, 1st Edition. Elsevier eBooks. ISBN: 978-0-443-18769-8
19. Pang, Z., Raudonis, R., Glick, B.R., Lin, T.-J. & Cheng, Z. (2018). Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. *Biotechnology Advances*, [online] 37(1), pp.177–192. doi:<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.11.013>.
20. Pappa, O., Kefala, A.M., Kyriaki Tryfinopoulou, Dimitriou, M., Kostas Kostoulas, Chrysa Dioli, Moraitou, E., Panopoulou, M., Evaggelos Vogiatzakis, Mavridou, A., Galanis, A. & Apostolos Beloukas (2020). Molecular Epidemiology of Multi-Drug Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Isolates from Hospitalized Patients in Greece. *Microorganisms*, [online] 8(11), pp.1652–1652. doi:<https://doi.org/10.3390/microorganisms8111652>.
21. Park, S. & Sauer, K. (2021). SagS and its unorthodox contributions to *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development. *Biofilm*, [online] 3, p.100059. doi:<https://doi.org/10.1016/j.bioflm.2021.100059>.
22. Ponce, A., Merchant, S., Raman, G., Avendano, E., Chan, J., Hernandez, G.T. & Sarpong, E. (2020). *Pseudomonas* infections among hospitalized adults in Latin America: a systematic review and meta-analysis. *BMC Infectious Diseases*, [online] 20(1). doi:<https://doi.org/10.1186/s12879-020-04973-0>.
23. Qin, S., Xiao, W., Zhou, C., Pu, Q., Deng, X., Lan, L., Liang, H., Song, X. & Wu, M. (2022). *Pseudomonas aeruginosa*: pathogenesis, virulence factors, antibiotic resistance, interaction with host, technology advances and emerging therapeutics. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, [online] 7(1). doi:<https://doi.org/10.1038/s41392-022-01056-1>.
24. Radiology Key (2016). 53 *Pseudomonas* Pneumonia. [online] radiologykey.com. Διαθέσιμο στο: <https://radiologykey.com/53-pseudomonas-pneumonia/>

25. Reynolds, D. & Kollef, M. (2021). The Epidemiology and Pathogenesis and Treatment of *Pseudomonas aeruginosa* Infections: An Update. *Drugs*, [online] 81(18), pp.2117–2131. doi:<https://doi.org/10.1007/s40265-021-01635-6>.
26. Ruijgrok, G., Wu, D.-Y., Overkleeft, H.S. & Codée, J.D.C. (2024). Synthesis and application of bacterial exopolysaccharides. *Current Opinion in Chemical Biology*, [online] 78, p.102418. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2023.102418>.
27. Tang Y.W., Liu, D. & Sussman, M. (2015). *Molecular Medical Microbiology*, 2nd Edition. ISBN: 9780123971692
28. Tsilipounidaki, K., Gkoutinoudis, C.G., Florou, Z., Fthenakis, G.C., Miriagou, V., & Petinaki, E., (2023). First Detection and Molecular Characterization of *Pseudomonas aeruginosa* bla_{NDM-1} ST308 in Greece. *Microorganisms*, [online] 11(9), pp.2159–2159. doi:<https://doi.org/10.3390/microorganisms11092159>.
29. Southwest Journal of Pulmonary, Critical Care and Sleep (2021). Southwest Journal of Pulmonary, Critical Care and Sleep - Imaging - Medical Image of the Month: Cavitating *Pseudomonas aeruginosa* Pneumonia. [online] Διαθέσιμο στο: <https://www.swjpcc.com/imaging/2021/11/2/medical-image-of-the-month-cavitating-pseudomonas-aeruginosa.html>
30. Trinh, T.D., Zasowski, E.J., Claeys, K.C., Lagnf, A.M., Shravya Kidambi, Davis, S.L. & Rybak, M.J. (2017). Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* lower respiratory tract infections in the intensive care unit: Prevalence and risk factors. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, [online] 89(1), pp.61–66. doi:<https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2017.06.009>.
31. Venkataraman, R., Yadav, U., Shivalingegowda, R., K., & Shrestha, Y. (2023). Vaccination strategies to combat nosocomial infections. *Vacunas (English Edition)*, [online] 24(1), pp.60–67. doi:<https://doi.org/10.1016/j.vacune.2023.02.005>.
32. World Health Organization (2022). Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2020 – 2022 data. World Health Organization Europe [online], pp. 70-71. ISBN: 9789289056687
33. Yang, X., Lai, Y., Li, C., Yang, J., Jia, M. & Sheng, J. (2021). Molecular epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from lower respiratory tract of ICU patients. *Brazilian Journal of Biology*, [online] 81(2), pp.351–360. doi:<https://doi.org/10.1590/1519-6984.226309>.
34. Zander D., & Farver C., *Pulmonary Pathology: A Volume in the Series: Foundations in Diagnostic Pathology* (2nd Edition) Elsevier eBooks, [online]. ISBN-13: 978-0-323-39308-9