



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΥΓΙΕΙΝΗΣ ΚΑΙ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑΣ**

***ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ  
ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ &  
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ ΥΓΙΕΙΝΗ  
ΠΟΙΟΤΗΤΑ –ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ & ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ***

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

«Αντιβιοαντοχή σε απομονωθέντα βακτήρια από ατμοσφαιρικό αέρα σε τμήματα του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας»

**Θανιώτη Η. Αγγελική  
Χημικός, Τμήμα Θετικών Επιστημών  
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης**

**ΛΑΡΙΣΑ, 2012**

**Τριμελής Επιτροπή**

**Κρικέλης Βασίλειος / Επιβλέπων**

**Ραχιώτης Γεώργιος**

**Πουρνάρας Σπυρίδων**

**Αφιερωμένη στον Ηλία και τη Ράνη**

## Περιεχόμενα

Περίληψη.....	iii
---------------	-----

Εισαγωγή.....	v
---------------	---

### ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Αντιβιοτικά.....	1
1.1 Μηχανισμοί δράσης των αντιβιοτικών.....	3
2. Ανθεκτικότητα των βακτηρίων στα αντιβιοτικά.....	5
2.1. Είδη ανθεκτικότητας των βακτηρίων.....	10
2.1.1 Εγγενής ή έμφυτη ανθεκτικότητα.....	10
2.1.2 Επίκτητη ανθεκτικότητα.....	11
2.2 Μηχανισμοί ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά.....	15
2.2.1 Αδρανοποίηση αντιβακτηριακών φαρμάκων.....	16
2.2.2 Παρεμπόδιση του αντιβακτηριακού φαρμάκου να φθάσει στο στόχο.....	16
2.2.3 Τροποποίηση του στόχου του αντιβακτηριακού φαρμάκου.....	17
2.2.4 Μεταβολική παράκαμψη.....	18
2.2.5 Ανοχή στο αντιβακτηριακό φάρμακο.....	18
3. Μετάδοση βακτηρίων.....	19
3.1 Μετάδοση μέσω επαφής.....	19
3.2 Μετάδοση μέσω σταγονιδίων.....	20
3.3 Αερογενής μετάδοση.....	21
3.4 Άλλοι τύποι μετάδοσης.....	22
4. Λοιμώξεις σε χώρους παροχής υγείας.....	22
4.1 Σημασία της μικροβιακής Αντοχής για τη Δημόσια Υγεία.....	26
4.2 Γενικά Στοιχεία Επιδημιολογίας Λοιμώξεων σε χώρους παροχής υγείας.....	28
4.3 Τρόποι Μελέτης των Λοιμώξεων σε χώρους παροχής υγείας.....	30
4.4 Τάσεις της Μικροβιακής Αντοχής στα Νοσοκομεία στην Ελλάδα.....	32
4.5 Δεδομένα Κατανάλωσης Αντιβιοτικών στην Ελλάδα.....	36
5. Μέθοδοι προσδιορισμού αντιβιοαντοχής.....	37
5.1 Μέθοδος διάχυσης σε άγαρ (Kirby - Bauer).....	39
5.2 Μέθοδος ενσωμάτωσης σε άγαρ.....	40

5.3 Δοκιμές αραίωσης.....	41
Συγκριτικά χαρακτηριστικά των μεθόδων .....	42
<b>ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....</b>	<b>44</b>
<b>A. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....</b>	<b>44</b>
1. Βακτήρια που ελέγχθηκαν.....	44
2. Αντιβιοτικά που χρησιμοποιήθηκαν .....	46
2.1 Σημεία διάκρισης (breakpoints) .....	48
3. Μέθοδος προσδιορισμού ελάχιστης συγκέντρωσης αναστολής (minimum inhibitory concentration, MIC) με τη μέθοδο των διαδοχικών αραιώσεων σε μικροπλάκα (microdilution method).....	49
3.1. Προετοιμασία μητρικών διαλυμάτων αντιβιοτικών .....	50
3.2 Δημιουργία αραιώσης χρήσης.....	50
3.3 Τοποθέτηση των αντιβιοτικών στις μικροπλάκες .....	51
3.4 Συντήρηση μικροπλακών.....	51
3.5 Δημιουργία εναιωρήματος βακτηρίου .....	52
3.6 Εμβολιασμός εναιωρήματος στη μικροπλάκα .....	53
3.7 Επώαση .....	53
3.8 Ανάγνωση αποτελεσμάτων .....	53
<b>B. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....</b>	<b>55</b>
<b>Γ. ΣΥΖΗΤΗΣΗ .....</b>	<b>69</b>
<b>Δ. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ .....</b>	<b>73</b>
<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....</b>	<b>76</b>

## «Αντιβιοαντοχή σε απομονωθέντα βακτήρια από ατμοσφαιρικό αέρα σε τμήματα του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας»

### Περίληψη

Το ενδιαφέρον για τις λοιμώξεις σε χώρους παροχής υγείας έχει διεθνώς αυξηθεί τα τελευταία 20 χρόνια. Αυτού του είδους οι λοιμώξεις αποτελούν πρόβλημα από την εποχή που οι ασθενείς άρχισαν να συγκεντρώνονται στα νοσοκομεία. Σήμερα το πρόβλημα γίνεται οξύτερο και σ' αυτό συνετέλεσαν πολλοί παράγοντες, που σχετίζονται άμεσα με την αλματώδη εξέλιξη της Ιατρικής Επιστήμης. Οι συνέπειες των λοιμώξεων σε χώρους παροχής υγείας είναι πολύ σημαντικές και αφορούν, κυρίως, τη νοσηρότητα και τη θνητότητα των ασθενών, καθώς και το χρόνο νοσηλείας σε συνδυασμό με το οικονομικό κόστος. Η παρούσα έρευνα είχε ως σκοπό τη διερεύνηση της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά που έχουν αναπτύξει τα βακτήρια που απομονώθηκαν από τον ατμοσφαιρικό αέρα τμημάτων του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου της Λάρισας. Ο προσδιορισμός της αντιβιοαντοχής έγινε με τη μέθοδο προσδιορισμού της ελάχιστης συγκέντρωσης αναστολής (MIC) παρέχοντας ποσοτικά αποτελέσματα, άμεσα συγκρίσιμα με τους δημοσιευμένους καταλόγους βακτηρίων και των αντοχών τους στα αντιβιοτικά. Τα αποτελέσματα της έρευνας επιβεβαιώνουν τη διεθνή ανησυχία της παγκόσμιας κοινότητας, καθιστώντας απαραίτητη την εφαρμογή σχεδίου δράσης, τόσο για τον περιορισμό της περαιτέρω ανάπτυξης της ανθεκτικότητας, όσο και της αφύπνισης των ειδικών επιστημόνων αλλά και του πληθυσμού για συνετή χρήση των αντιβιοτικών και τις συνέπειες της υπερκατανάλωσής τους.

## “Antibiotic resistance of isolated bacteria from ambient air from different parts of the General University Hospital of Larisa”

### Summary

Interest in infections occurring in health providing places has risen internationally in the last 20 years. They were acknowledged as a problem by the time patients started gathering in hospitals. Today the problem becomes more acute; many factors contributed to this direction, most of which are directly related to the rapid evolution of medical science. The consequences for health facilities are very important and are mainly of morbidity and mortality of patients and also of hospital stay and economical cost. The present thesis was designed to test the resistance developed by bacteria isolated from the ambient air from different parts of the General University Hospital of Larissa. The determination of antibiotic resistance was achieved with the use of the minimum inhibitory concentration method, resulting in quantitative results directly comparable with published lists of bacteria and their resistance to antibiotics. The results of the present survey confirm the concern of the international community, making it necessary to implement a plan of action in order to limit further development of resistance, and also to inform the people for the need of prudent use of antibiotics and the consequences of overconsumption.

## Εισαγωγή

Αντιβακτηριακό είναι μια ένωση ή ουσία που σκοτώνει ή επιβραδύνει την ανάπτυξη των βακτηρίων (1). Ο όρος «αντιβακτηριακό» χρησιμοποιούταν ως συνώνυμο του όρου «αντιβιοτικό». Ωστόσο, με τις σημερινές γνώσεις των αιτιολογικών παραγόντων των διαφόρων λοιμωδών νόσων, ο όρος «αντιβιοτικό» υποδηλώνει πια ένα ευρύτερο φάσμα των αντιμικροβιακών ουσιών, συμπεριλαμβανομένων των αντιμυκητιακών και άλλων ενώσεων (3).

Ο όρος «αντιβιοτικό» επινοήθηκε από τον Selman Waksman το 1942 για να περιγράψει κάθε ουσία που παράγεται από μικροοργανισμούς και είναι ανταγωνιστική προς την ανάπτυξη άλλων μικροοργανισμών σε υψηλή αραίωση (4). Ο ορισμός αυτός απέκλειε βακτηριοκτόνες ουσίες, που δεν παράγονται από μικροοργανισμούς (όπως γαστρικά υγρά και το υπεροξειδίο του υδρογόνου) και συνθετικές αντιμικροβιακές ενώσεις, όπως οι σουλφοναμίδες.

Σήμερα, με την πρόοδο στη φαρμακευτική χημεία, τα περισσότερα αντιβακτηριακά από χημική άποψη είναι ημισυνθετικές τροποποιήσεις διαφόρων φυσικών ενώσεων (5). Σε αυτά περιλαμβάνονται, για παράδειγμα, οι β-λακταμάσες, οι οποίες περιλαμβάνουν τις πενικιλίνες (που παράγονται από μύκητες του γένους *Penicillium*), οι κεφαλοσπορίνες και οι καρβαπενέμες. Ενώσεις που ακόμη απομονώνονται από ζωντανούς οργανισμούς είναι οι αμινογλυκοσίδες, ενώ άλλα αντιβακτηριακά -για παράδειγμα οι σουλφοναμίδες, οι κινολόνες και οι οξαζολιδινόνες- παράγονται αποκλειστικά με χημική σύνθεση. Κατά συνέπεια, πολλές αντιβακτηριακές ουσίες ταξινομούνται βάσει της χημικής προέλευσης/βιοσύνθεσης σε φυσικές, ημισυνθετικές και συνθετικές. Άλλο σύστημα ταξινόμησης βασίζεται στη βιολογική δραστηριότητα. Σε αυτή την κατάταξη, τα αντιβακτηριακά κατατάσσονται σε δύο μεγάλες ομάδες ανάλογα με τη βιολογική δράση τους στους μικροοργανισμούς: βακτηριοκτόνοι παράγοντες που σκοτώνουν τα βακτήρια, και βακτηριοστατικοί παράγοντες που επιβραδύνουν ή καθυστερούν την ανάπτυξη των βακτηρίων.

Ήδη από τα τέλη της δεκαετίας του 1940 ανθεκτικά στελέχη βακτηρίων άρχισαν να απομονώνονται. Οι επιστήμονες έχουν ανακαλύψει ότι ορισμένα βακτήρια έχουν



αναπτύξει ανθεκτικότητα απέναντι στα αντιβιοτικά με διάφορες μετατροπές ή μεταλλάξεις στο DNA τους. Σήμερα, υπολογίζεται ότι πάνω από το 70% των βακτηρίων που προκαλούν ενδονοσοκομειακές λοιμώξεις είναι ανθεκτικά σε τουλάχιστον ένα από τα αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία τους.

Η ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά συνεχίζει να επεκτείνεται για πολλούς λόγους, όπως η υπερβολική συνταγογράφηση αντιβιοτικών από γιατρούς, η μη ολοκλήρωση της θεραπείας με αντιβιοτικά από τους ασθενείς, η χρήση των αντιβιοτικών σε ζώα ως ενισχυτές ανάπτυξης, η αύξηση της διεθνούς κυκλοφορίας των ταξιδιωτών και η μη σωστή τήρηση των κανόνων υγιεινής στα νοσοκομεία. Η υπερδοσολογία αντιβιοτικών δημιουργεί ολοένα και ανθεκτικότερα μικρόβια, δημιουργώντας έτσι ένα φαύλο κύκλο που πρέπει να διακοπεί, καθώς οδηγεί στη δημιουργία μικροβίων που δεν αντιμετωπίζονται με την χορήγηση αντιβιοτικών.

Για τον λόγο αυτό θεωρείται απαραίτητη, από όλους τους διεθνείς οργανισμούς, η παρακολούθηση της εξέλιξης της αντιβιοαντοχής των βακτηρίων τόσο σε εθνικό, όσο και σε διεθνές επίπεδο.

Η μικροβιακή αντοχή στα αντιβιοτικά αποτελεί ένα διεθνές πρόβλημα.

Τόσο ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας, όσο και Εθνικοί Οργανισμοί, όπως το Βρετανικό Health Protection Agency και το CDC των Η.Π.Α., έχουν αναγνωρίσει τη σοβαρότητα του προβλήματος και έχουν ήδη εκπονήσει Εθνικά Σχέδια Δράσης για την αντιμετώπιση του προβλήματος αυτού. Το Ευρωπαϊκό Κέντρο Ελέγχου Νοσημάτων (ECDC) έχει συμπεριλάβει την αντιμετώπιση της αντιβιοαντοχής στον προγραμματισμό του, ενώ έχει αφιερώσει σε αυτό μεγάλο ποσοστό του προϋπολογισμού του.



Είναι ενδεικτικό πως η 18η Νοεμβρίου, στα πλαίσια της Ευρωπαϊκής πρωτοβουλίας για τη δημόσια υγεία, έχει θεσπιστεί ως Ευρωπαϊκή Ημέρα Ενημέρωσης για τα Αντιβιοτικά σαν μία και αφορά την ευαισθητοποίηση σχετικά με την απειλή για τη δημόσια υγεία της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά και την ανάγκη για συνετή χρήση τους. Τα πιο

πρόσφατα στοιχεία επιβεβαιώνουν ότι ο αριθμός των ασθενών στην Ευρωπαϊκή ένωση που προσβάλλονται από ανθεκτικά βακτήρια αυξάνεται και η ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά είναι μία μεγάλη απειλή για τη δημόσια υγεία.

Η συνετή χρήση των αντιβιοτικών μπορεί να σταματήσει την ανάπτυξη των ανθεκτικών βακτηριδίων και να βοηθήσει, ώστε τα αντιβιοτικά να είναι αποτελεσματικά για χρήση στις μελλοντικές γενεές.

Ο στόχος της Ευρωπαϊκής Ημέρας Ενημέρωσης για τα Αντιβιοτικά είναι η υποστήριξη των προσπαθειών σε εθνικό επίπεδο για τη μείωση της περιττής χρήσης αντιβιοτικών στα νοσοκομεία, μέσω της ανάπτυξης και της διάδοσης του εκπαιδευτικού υλικού για τη συνετή χρήση τους .

Η εμφάνιση και η διασπορά του φαινομένου της αντιβιοανθεκτικότητας αποτελεί ένα σημαντικό πρόβλημα για τη δημόσια υγεία, εντός της Ευρωπαϊκής Ένωσης αλλά και παγκοσμίως. Η υπερβολική και η κακή χρήση ουσιών για την εξόντωση των μικροοργανισμών (συμπεριλαμβανομένων των βακτηριδίων, των ιών και των μυκήτων) καθώς και ορισμένων παρασίτων (π.χ. τα πρωτόζωα) ή για τον περιορισμό του πολλαπλασιασμού τους, ευνόησαν την ανάπτυξη ανθεκτικών οργανισμών. Αυτή η επονομαζόμενη "μικροβιακή αντοχή" μπορεί να εξαπλωθεί και σε άλλους πληθυσμούς μικροβίων. Οι λοιμώξεις από ανθεκτικούς οργανισμούς θέτουν σε κίνδυνο τον ανθρώπινο πληθυσμό, τα ζώα και τα φυτά, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που πριν δεν έρχονταν σε επαφή με αντιμικροβιακούς παράγοντες.

Βάσει αυτών, έχει υιοθετηθεί κοινοτική στρατηγική με έμφαση σε τέσσερις βασικούς τομείς δράσης (17):

Επιτήρηση: Παρακολούθηση της εξέλιξης και των αποτελεσμάτων των παρεμβάσεων μέσω της δημιουργίας/ενίσχυσης επακριβών συστημάτων επιτήρησης της μικροβιακής αντοχής στον τομέα της ανθρώπινης υγείας και της υγείας των ζώων και την κατανάλωση αντιμικροβιακών ουσιών.

Πρόληψη: των μεταδοτικών νόσων και έλεγχος των λοιμώξεων, ώστε να μειωθεί η ανάγκη για τη χρήση αντιμικροβιακών ουσιών. Εδώ συμπεριλαμβάνεται η συνετή

χρήση αντιμικροβιακών ουσιών, η οποία συνεπάγεται την ανάγκη για καλύτερη ενημέρωση σχετικά με τα εγκεκριμένα αντιβακτηριακά φαρμακευτικά προϊόντα, καθώς και η προώθηση εκπαιδευτικών εκστρατειών για τους επαγγελματίες και το ευρύ κοινό με σκοπό την αλλαγή της συμπεριφοράς.

Έρευνα και ανάπτυξη προϊόντων: Νέοι τρόποι πρόληψης και θεραπείας των λοιμώξεων και συνεχής υποστήριξη της έρευνας για νέα φάρμακα και εναλλακτικές οδούς.

Διεθνής συνεργασία: Η μικροβιακή αντοχή δεν γνωρίζει σύνορα. Μια αποτελεσματική στρατηγική απαιτεί στενή συνεργασία και διαβουλεύσεις μεταξύ των κρατών μελών και άλλων ενδιαφερόμενων μερών, ιδίως σε διεθνές επίπεδο.

Λαμβάνοντας υπόψη τα παραπάνω, είναι απαραίτητο να ελέγχεται η ανάπτυξη της αντιβιοαντοχής στα βακτήρια που απομονώνονται είτε από ζώα, είτε από οποιοδήποτε περιβάλλον που ενδιαφέρει τη δημόσια υγεία, όσο το δυνατό πληρέστερα με την εφαρμογή οργανωμένου και συνεχούς προγράμματος παρακολούθησης, έτσι ώστε να λαμβάνονται τα καταλληλότερα μέτρα για την λογική χρήση των αντιβιοτικών.

Ο συστηματικός έλεγχος της αντιβιοαντοχής τόσο στα παθογόνα βακτήρια των ζώων, όσο και σε βακτήρια ‘δείκτες’ στην Ελλάδα, παρά τις επιταγές της Ευρωπαϊκής νομοθεσίας, δεν έχει οργανωθεί απόλυτα και δεν εφαρμόζεται συστηματικά από τις αρμόδιες αρχές.

Στόχος της παρούσας μελέτης είναι, να διερευνηθεί η αντιβιοαντοχή που έχουν αποκτήσει βακτήρια που απομονώθηκαν από τον ατμοσφαιρικό αέρα διαφορετικών χώρων του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας.

# ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

## 1. Αντιβιοτικά

Ο όρος “χημειοθεραπευτικά” χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά το 1900 από τον Paul Ehrlich με την εισαγωγή των χημικών συνθετικών ουσιών ατοξύλης για τη θεραπεία της ασθένειας του ύπνου και σαλβαρσάνης για τη θεραπεία της σύφιλης. Το 1935 ο Gerhard Domagk ανακοίνωσε πως η ερυθρά χρωστική προντοζίλη (prontosil), που είχε ανακαλυφθεί τρία χρόνια νωρίτερα από τους Klarer και Mietzch και που χρησιμοποιήθηκε για τη βαφή νημάτων, εκδήλωνε αντιμικροβιακές ιδιότητες in vivo χωρίς να παρουσιάζει τοξικές παρενέργειες έναντι του ξενιστή. Όπως αποδείχτηκε αργότερα, στο Ινστιτούτο Pasteur στο Παρίσι, η αντιμικροβιακή ιδιότητα της προντοζίλης οφειλόταν στο μεταβολίτη της προντοζίλης σουλφαναμιδίη, που αποτέλεσε την απαρχή σύνθεσης των σουλφοναμιδών (6).

Η χρήση του όρου “χημειοθεραπευτικά” επιβάλλεται τότε και χρησιμοποιείται για να δηλώσει τη χημική συνθετική προέλευση του θεραπευτικού παράγοντα, σε αντιδιαστολή προς τα μέχρι τότε χρησιμοποιούμενα γαληνικά παρασκευάσματα, που είχαν φυσική προέλευση. Βασικό χαρακτηριστικό γνώρισμα ενός χημειοθεραπευτικού είναι η επιλεκτική τοξική δράση που εκδηλώνει έναντι του μικροοργανισμού. Στην πραγματικότητα, όμως, όλα τα χημειοθεραπευτικά εκδηλώνουν σε μικρότερο ή μεγαλύτερο βαθμό κάποια τοξική δράση και έναντι των κυττάρων του ξενιστή. Η δράση αυτή, που χαρακτηρίζεται ως κυτταροστατική, χρησιμοποιήθηκε στην πράξη για την ανάσχεση ανάπτυξης των νεοπλασματικών κυττάρων. Η ιδιαίτερη αυτή χρήση των χημειοθεραπευτικών έδωσε την αφορμή να περιορίζεται η έννοια του όρου “χημειοθεραπευτικά” στις ουσίες εκείνες, οι οποίες χρησιμοποιούνται αποκλειστικά για την αντιμετώπιση των νεοπλασματικών καταστάσεων. Για την αντιμετώπιση δε των λοιμώξεων, οι οποίες προκαλούνται από σχιζομύκητες, ιούς, ρικέτσιες και μύκητες χρησιμοποιείται ο όρος αντιμικροβιακοί παράγοντες (αντιμικροβιακά), ενώ για εκείνα τα φάρμακα τα οποία χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπιση των πρωτοζωικών παρασίτων, των ενδο- και εξω- παρασιτικών πολυκυτταρικών οργανισμών χρησιμοποιείται ο όρος “αντιπαρασιτικά” (6).

Τα αντιμικροβιακά είναι βιοσυνθετικές, συνθετικές ή ημισυνθετικές ουσίες που σε χαμηλές συγκεντρώσεις εκδηλώνουν μικροβιοκτόνο ή μικροβιοστατική δράση (6). Οι περισσότερες, όμως, ουσίες με αντιμικροβιακές ιδιότητες απομονώθηκαν από μικροοργανισμούς. Στην πραγματικότητα πρόκειται για τοξικές ουσίες (τοξίνες), οι οποίες παράγονται από μερικούς μικροοργανισμούς και οι οποίες χρησιμοποιούνται απ' αυτούς σαν όπλο εναντίον άλλων μικροοργανισμών στον αγώνα για επιβίωση.

Το φαινόμενο του ανταγωνισμού μεταξύ μικροοργανισμών και η χρήση μικροβίων, ως πηγής δραστικών ουσιών εναντίον λοιμωδών ασθενειών, θα πρέπει να ήταν γνωστή από την αρχαιότητα. Η πρώτη όμως ουσιαστική παρατήρηση του φαινομένου αυτού έγινε το 1877 από τους Pasteur και Joubert, οι οποίοι ανακοίνωσαν, ότι το βακτηρίδιο του άνθρακα παύει να πολλαπλασιάζεται, όταν στο τριβλίο συνυπάρχει καλλιέργεια του *B. subtilis*. Ακολούθησε παρόμοια παρατήρηση από τον Garre λίγα χρόνια αργότερα, ο οποίος διαπίστωσε ότι η ανάπτυξη αποικίας σταφυλόκοκκου αναστέλλεται παρουσία ψευδομονάδας.

Η σημαντικότερη όμως επιβεβαίωση του φαινομένου αυτού έγινε το 1929 από τον Alexander Fleming. Ο Fleming δημοσίευσε τότε μια εργασία στην οποία περιέγραφε την ανασταλτική επίδραση που εκδήλωνε, η παραγόμενη από το μύκητα *Penicillium notatum* ουσία, στους σταφυλόκοκκους. Η ουσία αυτή ονομάστηκε πενικιλίνη και χρησιμοποιήθηκε αρχικά σαν αντισηπτικό. Η θεραπευτική της αξία επιβεβαιώθηκε 10 χρόνια αργότερα, όταν οι Florey και Chain την απομόνωσαν σε καθαρή κατάσταση και τη χορήγησαν σε πειραματόζωα. Το ιστορικό αυτό γεγονός αποτέλεσε την απαρχή μιας συνεχούς αναζήτησης παρόμοιων μικροοργανισμών ικανών να παράγουν ουσίες με αντιμικροβιακές ιδιότητες.

Η αναζήτηση αυτή επικεντρώθηκε σε περιοχές με πλούσια μικροβιακή χλωρίδα, εκεί δηλαδή που ο ανταγωνισμός για επιβίωση είναι έντονος. Έτσι, το 1944 στο αγρόκτημα του Πανεπιστημίου Rutgers του New Jersey των ΗΠΑ, από εδάφη έντονα επιβαρημένα από την κοπριά ζώων του αγροκτήματος, εντοπίστηκε ο μύκητας *Streptomyces griseus*, από τον οποίο απομονώθηκε η στρεπτομυκίνη. Το 1947, μετά από ανάλυση χιλιάδων δειγμάτων εδάφους, ένας βοτανολόγος του Πανεπιστημίου Yale απομόνωσε τον ακτινομύκητα *Actinomyces venezuelae*, ο οποίος παρήγαγε μια ουσία με πολύ ισχυρές

αντιμικροβιακές ιδιότητες. Επρόκειτο για τη χλωρομυκετίνη, η οποία αποτέλεσε τη βάση για την παραγωγή, με συνθετικές διαδικασίες, του πρώτου συνθετικού αντιμικροβιακού, της χλωραμφενικόλης. Αμέσως μετά, το 1948, απομονώθηκε από τον ακτινομύκητα *Streptomyces aureofaciens* η χλωροτετρακυκλίνη, η οποία ονομάστηκε και *auromycin* (χρυσομυκίνη) εξαιτίας του έντονου χρυσίζοντος χρώματος της μυκητιασικής καλλιέργειας. Η χλωροτετρακυκλίνη αποτέλεσε την απαρχή για την παραγωγή των υπόλοιπων τετρακυκλινών. Το 1958 με χημικές παρεμβάσεις στο 6-αμινοπενικιλανικό οξύ αρχίζει η παραγωγή των πρώτων ημισυνθετικών πενικιλινών. Με την ανακάλυψη του μύκητα *Cephalosporium* το 1960 και του παραγόμενου απ' αυτόν 7-αμινοκεφαλοσπορανικού οξέος, αρχίζει η σύνθεση των κεφαλοσπορινών.

Θα μπορούσε, λοιπόν, συνοπτικά να λεχθεί ότι οι σύγχρονες πηγές παραγωγής αντιμικροβιακών παραγόντων είναι οι εξής:

- μεταβολίτες μυκήτων (πχ *Penicillium spp.*, *Streptomyces spp.*, κλπ)
- βακτηρίδια (πχ *Bacillus spp.*)
- ημισυνθετικές παραλλαγές φυσικών ουσιών (πχ παραγωγή ημισυνθετικών πενικιλινών από τη βενζυλοπενικιλίνη)
- συνθετικές ουσίες (πχ. χλωραμφενικόλη ) (6)

## 1.1 Μηχανισμοί δράσης των αντιβιοτικών

Ενδιαφέρον παρουσιάζει η ταξινόμηση των αντιβιοτικών με βάση το μηχανισμό δράσης τους:

**1) Αναστολείς σύνθεσης του κυτταρικού τοιχώματος:** Στην ομάδα αυτή ανήκουν τα β-λακταμικά αντιμικροβιακά (πενικιλίνες, κεφαλοσπορίνες), η βανκομυκίνη, η κυκλοσερίνη, η ριστοσετίνη, η βακιτρακίνη και η νοβοβοικίνη. Σε αντίθεση με τα κύτταρα του μακροοργανισμού, τα μικρόβια περιβάλλονται από τοίχωμα που τα προστατεύει από τις μεταβολές της οσμωτικής πίεσης και άλλες μηχανικές επιδράσεις του περιβάλλοντος. Η λύση του τοιχώματος αυτού καθιστά τα μικρόβια ευάλωτα στις βλαπτικές αυτές επιδράσεις. Η χημική σύσταση του μικροβιακού τοιχώματος αποτέλεσε τη βάση διαχωρισμού των μικροβίων σε κατά Gram θετικά και κατά Gram αρνητικά.

Το τοίχωμα των κατά Gram θετικών αποτελείται κυρίως από το μουκοπεπτίδιο πεπτιδογλυκάνη (μουρεΐνη), ενώ στο τοίχωμα των κατά Gram αρνητικών η ετεροπολυμερής αυτή ουσία αποτελεί μόλις το 4-5%. Τα αντιμικροβιακά της ομάδας αυτής αναστέλλουν το σχηματισμό σε διάφορα στάδια της πεπτιδογλυκάνης. Έτσι εξηγείται και η ιδιαίτερη δράση τους κυρίως έναντι των κατά Gram θετικών μικροβίων.

**2) Αναστολείς πρωτεϊνικής σύνθεσης:** Η σπεκτινομυκίνη, οι λινκοσαμίδες, οι τετρακυκλίνες, η χλωραμφενικόλη, οι αμινογλυκοσίδες και τα μακρολίδια δρουν μέσα στο κυτταρόπλασμα, αναστέλλοντας την πρωτεϊνοσύνθεση σε διάφορα στάδιά της. Διαταράσσουν κυρίως τη ριβοσωμιακή λειτουργία. Τα ριβοσώματα των μικροβίων με βάση το μέτρο πυκνότητας κατατάσσονται στην 70S ομάδα, ενώ των θηλαστικών στην 80S. Οι δύο αυτοί τύποι ριβοσωμάτων χωρίζονται σε υποομάδες που διαφέρουν ως προς τη χημική σύνθεση και λειτουργία τους. Έτσι εξηγείται και η επιλεκτική δράση των αντιμικροβιακών στα μικροβιακά κύτταρα χωρίς να δρουν στα κύτταρα του ξενιστή μακροοργανισμού. Οι αμινογλυκοσίδες, η σπεκτινομυκίνη και οι τετρακυκλίνες, ενώνονται με την 30S ριβοσωμιακή υποομάδα του 70S-μελούς ριβοσώματος των μικροβίων, αναστέλλοντας την παραγωγή πρωτεϊνικής φύσεως ουσιών, όπως π.χ. ένζυμα. Η χλωραμφενικόλη, τα μακρολίδια και οι λινκοσαμίδες, δρουν στην υποομάδα 50S, αναστέλλοντας τη δράση της πεπτιδυλοτρανσφεράσης και την παραγωγή διπεπτιδίων.

**3) Αναστολείς σύνθεσης πυρηνικών οξέων:** στην ομάδα αυτή ανήκουν οι σουλφοναμίδες, η νοβοβοικίνη, η τριμεθοπρίμη, η ριφαμπικίνη και οι κινολόνες. Οι αντιμικροβιακοί αυτοί παράγοντες παρεμβαίνουν σε κάποιο στάδιο σύνθεσης των πυρηνικών οξέων αναστέλλοντας τη σύνθεσή τους.

**4) Αναστολείς της λειτουργίας της κυτταρικής μεμβράνης:** Η πολυμυξίνη Β, η αμοτερικίνη Β, η πολυμυξίνη Ε (κολιστίνη), η νυστατίνη και η τυροσετίνη παρεμποδίζουν με διάφορους τρόπους τη λειτουργία της μικροβιακής κυτταρικής μεμβράνης. Κάτω από το βακτηριακό τοίχωμα βρίσκεται η κυτταροπλασματική μεμβράνη, η οποία έχει όλα τα χαρακτηριστικά ενός βιολογικού φραγμού. Ελέγχει τη διάβαση διάφορων μορίων από και προς το κυτταρόπλασμα, μέσω της παθητικής διάχυσης ή ενεργού μεταφοράς. Διαταραχή της λειτουργίας της προκαλεί καταστροφή

του μικροβιακού κυττάρου. Το γεγονός, ότι η δομή της μεμβράνης αυτής διαφέρει μεταξύ μικρό και μακροοργανισμού αποτελεί τη βάση της επιλεκτικής δράσης των αντιμικροβιακών επί των διάφορων μικροβίων. Έτσι, οι πολυμυξίνες π.χ. καταστρέφουν εκλεκτικά τη λιποπρωτεϊνική δομή της μεμβράνης των κατά Gram αρνητικών μικροβίων, δρώντας ως κατιονικά απορρυπαντικά (6).

## **2. Ανθεκτικότητα των βακτηρίων στα αντιβιοτικά**

Τα τελευταία 60 χρόνια, τα αντιβιοτικά έχουν αποφασιστική σημασία για την καταπολέμηση των λοιμωδών νοσημάτων που προκαλούνται από βακτήρια και άλλα μικρόβια. Η αντιμικροβιακή χημειοθεραπεία αποτελεί την κύρια αιτία για τη δραματική αύξηση του μέσου προσδόκιμου ζωής στον εικοστό αιώνα. Ωστόσο, η ανθεκτικότητα των μικροβίων -ικανών να προκαλέσουν ασθένειες- στη φαρμακευτική αγωγή είναι ένα αυξανόμενο πρόβλημα δημόσιας υγείας. Μολύνσεις τραυμάτων, γονόρροια, φυματίωση, πνευμονία, σηψαιμία και ωτίτιδες της παιδικής ηλικίας είναι μόνο μερικές από τις ασθένειες που έχουν γίνει δύσκολο να θεραπευτούν με αντιβιοτικά. Ένα μέρος του προβλήματος είναι ότι βακτήρια και άλλα μικρόβια που προκαλούν λοιμώξεις είναι εξαιρετικά ανθεκτικά και έχουν αναπτύξει διάφορους τρόπους αντίστασης στα αντιβιοτικά και άλλα αντιμικροβιακά φάρμακα. Ένα άλλο μέρος του προβλήματος οφείλεται στη συνεχώς αυξανόμενη χρήση και στην κατάχρηση, των υφιστάμενων αντιβιοτικών τόσο στην ιατρική, όσο και στην κτηνιατρική και στη γεωργία.

Το 1998, μόνο στις Ηνωμένες Πολιτείες, εκτελέστηκαν 80 εκατομμύρια συνταγές αντιβιοτικών για ανθρώπινη χρήση. Αυτό ισοδυναμεί με 12.500 τόνους σε ένα χρόνο. Οι χρήσεις για την κτηνοτροφία και τη γεωργία προστίθενται σε αυτή της ανθρώπινης. Η χρήση για τη γεωργία αντιστοιχεί στο 60% της συνολικής χρήσης αντιβιοτικών στις ΗΠΑ, έτσι αυτό προσθέτει επιπλέον 18.000 τόνους ανά έτος στην επιβάρυνση του περιβάλλοντος από αντιβιοτικά (8).

Σήμερα, περίπου το 70% των βακτηρίων, που προκαλούν λοιμώξεις στα νοσοκομεία, είναι ανθεκτικά σε τουλάχιστον ένα των φαρμάκων που χρησιμοποιούνται πιο συχνά για τη θεραπεία (8). Κάποιοι οργανισμοί είναι ανθεκτικοί σε όλα τα εγκεκριμένα



αντιβιοτικά και μπορούν να αντιμετωπιστούν μόνο με πειραματικά και δυνητικά τοξικά φάρμακα. Έχει ήδη τεκμηριωθεί η ανησυχητική αύξηση της αντοχής μικροβίων που προκαλούν λοιμώξεις που ενδιαφέρουν το κοινωνικό σύνολο, ειδικά σταφυλοκόκκων και πνευμονιοκόκκων (*Streptococcus pneumoniae*), που αποτελούν κυρίαρχες αιτίες ασθενειών και θνησιμότητας.

Η μικροβιακή ανάπτυξη αντοχής, καθώς και οικονομικά κίνητρα, έχουν οδηγήσει την έρευνα και την ανάπτυξη στην αναζήτηση νέων αντιβιοτικών, προκειμένου να υπάρχει μια ομάδα αποτελεσματικών φαρμάκων ανά πάσα στιγμή. Ενώ η ανάπτυξη ανθεκτικών στελεχών είναι αναπόφευκτη, ο χαλαρός τρόπος διαχείρισης και χρήσης των αντιβιοτικών επιδεινώνει σημαντικά τη διαδικασία.

Αν τα προβλήματα αντοχής στα αντιβιοτικά δεν ανιχνεύονται καθώς προκύπτουν και λαμβάνονται άμεσα δράσεις για τον περιορισμό τους, η κοινωνία θα μπορούσε να βρεθεί αντιμέτωπη με προηγούμενες θεραπεύσιμες ασθένειες που έχουν γίνει και πάλι ανίατες, όπως στις ημέρες πριν αναπτυχθούν τα αντιβιοτικά.

Η σύγχρονη χρήση της χημειοθεραπείας ενάντια στους μικροοργανισμούς άρχισε με την χρήση των σουλφοναμιδών στη δεκαετία του '30, τη χρήση της πενικιλίνης στη δεκαετία του '40 και την ανακάλυψη της στρεπτομυκίνης στα μέσα της δεκαετίας του '40.

Προφανώς η “δεξαμενή γονιδίων” της φύσης έδωσε τόσο τη δυνατότητα της παραγωγής των αντιβιοτικών, όσο και της ανάπτυξης αντοχής, οπότε τα περισσότερα μικρόβια από τα οποία παράγονται αντιβιοτικά είναι ανθεκτικά στα «δικά τους» αντιβιοτικά (36).

Εκ των υστέρων, δεν αποτελεί έκπληξη η εμφάνιση αντοχής στην πενικιλίνη σε ορισμένα στελέχη των σταφυλόκοκκων, η οποία αναγνωρίστηκε σχεδόν αμέσως μετά την εισαγωγή του φαρμάκου το 1946. Επίσης, πολύ σύντομα μετά την εισαγωγή τους στα τέλη της δεκαετίας του 1940, παρατηρήθηκε αντοχή στη στρεπτομυκίνη, τη γλωραμφενικόλη και την τετρακυκλίνη.

Για πρώτη φορά η ανθεκτικότητα των βακτηρίων στα αντιβιοτικά αναφέρθηκε το 1940 από τους Abraham και Chain, οι οποίοι απομόνωσαν και ταυτοποίησαν ένα ένζυμο από

*E. coli* που ήταν σε θέση να υδρολύει την πενικιλίνη. Το 1944 ο Kirby ανέφερε ένα παρόμοιο ένζυμο (πενικιλινάση) που απομονώθηκε από το βακτήριο *Staphylococcus aureus*. Από τα παραπάνω ευρήματα, αλλά και από τον έλεγχο στελεχών βακτηρίων που είχαν απομονωθεί πριν από την ευρεία χρήση των αντιβακτηριακών σκευασμάτων διαπιστώθηκε ότι η αντιβιοανθεκτικότητα υπήρχε τόσο στα Gram θετικά όσο και στα Gram αρνητικά βακτήρια. Το γεγονός αυτό υπέδειξε ότι η ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά δεν ήταν αποκλειστικά συνέπεια της χρήσης των αντιμικροβιακών φαρμάκων, αλλά ένα αναπόσπαστο τμήμα του αμυντικού μηχανισμού των βακτηρίων, που τους παρέχει τη δυνατότητα να επιζούν σε δυσμενές περιβάλλον.

Το 1953, κατά τη διάρκεια έξαρσης επιδημίας *Shigella* στην Ιαπωνία, απομονώθηκε στέλεχος του *Dysentery bacillus (Shigella dysenteriae)*, το οποίο ήταν πολλαπλά ανθεκτικό στα αντιβιοτικά, παρουσιάζοντας αντοχή στην χλωραμφενικόλη, την τετρακυκλίνη, τη στρεπτομυκίνη και τις σουλφοναμίδες. Σύντομα ανακαλύφθηκε ότι όλα τα χαρακτηριστικά της ανθεκτικότητας αυτού του βακτηρίου θα μπορούσαν να μεταφερθούν σε άλλα βακτήρια “δέκτες”. Η δυνατότητα μεταβίβασης της ανθεκτικότητας μεταξύ των βακτηρίων αύξησε τις ανησυχίες της επιστημονικής κοινότητας, όσον αφορά τα αποτελέσματα που θα προέκυπταν από την ευρεία ανάπτυξη ανθεκτικότητας στα αντιβακτηριακά σκευάσματα (8).

Στη δεκαετία του 1960 με την ανακάλυψη των κεφαλοσπορινών και των ημισυνθετικών πενικιλινών ανθεκτικών στη δράση της πενικιλινάσης θεωρήθηκε ότι το πρόβλημα των ανθεκτικών στελεχών του *S. aureus* είχε πιθανά σε μεγάλο μέρος επιλυθεί. Εντούτοις, κατά τη διάρκεια της δεκαετίας του '60 και στις αρχές της δεκαετίας του '70 διαπιστώθηκε ότι σε στελέχη του *S. aureus* αλλά και σε άλλα Gram αρνητικά βακτήρια είχε αναπτυχθεί ανθεκτικότητα σε πολλές αντιβακτηριακές ενώσεις ταυτόχρονα. Τα γεγονότα αυτά είχαν σαν αποτέλεσμα να μεταβληθούν τα θεραπευτικά σχήματα που χορηγούνταν για τις μολύνσεις από τα συγκεκριμένα βακτήρια αλλά και να αναγνωριστεί ότι η ανάπτυξη αντιβιοαντοχής από τα βακτήρια σε σύντομο χρονικό διάστημα ήταν μια πραγματικότητα που πρέπει να αντιμετωπιστεί.

Η ανάπτυξη και η διαθεσιμότητα περισσότερων αντιμικροβιακών φαρμάκων και η ανάπτυξη νέων γενεών κεφαλοσπορινών στη αρχή της δεκαετίας του '80 και η

ανακάλυψη των fluoroquinolones στη δεκαετία του '90, διασκέδασαν τους φόβους των επιστημόνων για εκδηλώσεις λοιμώξεων που δεν θα ήταν δυνατόν να θεραπευτούν. Αυτό συνέβη διότι πολλά από τα νέα αντιμικροβιακά φάρμακα είχαν ευρύ φάσμα δράσης και ήταν βακτηριοκτόνα σε χαμηλές συγκεντρώσεις. Δυστυχώς, όμως, οι προσδοκίες των επιστημόνων διαψεύστηκαν, διότι σε σύντομο χρονικό διάστημα μετά την χρήση των φαρμάκων αυτών εμφανίστηκαν ανθεκτικά στελέχη βακτηρίων. Στη διάρκεια της δεκαετίας του 1990 οι επιστήμονες αποδέχθηκαν ότι τα βακτήρια διέθεταν τον απαραίτητο μηχανισμό και μπορούσαν να αναπτύξουν ανθεκτικότητα για κάθε αντιβακτηριακό σκεύασμα, συμπεριλαμβανομένης και της βανκομυκίνης, στην οποία η ανάπτυξη ανθεκτικότητας θεωρούνταν απίθανη. Έχει πλέον διαπιστωθεί ότι σε πολλές περιπτώσεις, τα βακτήρια αποκτούν ανθεκτικότητα σε αρκετά αντιβακτηριακά φάρμακα σχεδόν αμέσως μετά την χρήση τους.

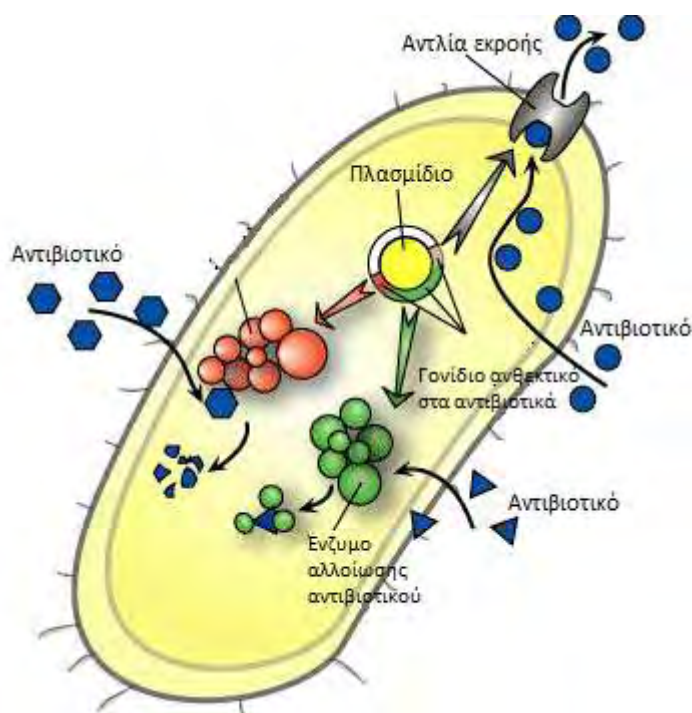
Με τα χρόνια, και συνεχίζοντας μέχρι σήμερα, σχεδόν κάθε γνωστό παθογόνο βακτήριο έχει αναπτύξει ανθεκτικότητα σε ένα ή περισσότερα αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται στη κλινική αντιμετώπιση.

Δυστυχώς, τα τελευταία χρόνια δεν έχουν αναπτυχθεί νέα αντιβακτηριακά σκευάσματα από την φαρμακοβιομηχανία και οι προσδοκίες για την ανάπτυξη νέων αντιβιοτικών είναι περιορισμένες. Ορισμένοι επιστήμονες θεωρούν την δεκαετία του '90 ως την αρχή της μετα-αντιμικροβιακής εποχής, η οποία έχει δυσμενείς προοπτικές για το μέλλον της θεραπείας των βακτηριακών λοιμώξεων.

Οι παράγοντες που ευνοούν την ανάπτυξη της αντιβιοαντοχής στους μικροοργανισμούς είναι πολλαπλοί, αλλά κυρίως βασίζονται στην εκλεκτική πίεση που υφίστανται οι μικροοργανισμοί από τη χρήση των αντιμικροβιακών φαρμάκων και στην παρουσία γονιδίων ανεκτικότητας (8). Η ιατρική του ανθρώπου είναι πιθανώς κατά ένα μεγάλο μέρος υπεύθυνη για αυτήν την εκλεκτική πίεση, αν και η γεωργική και κτηνιατρική χρήση των αντιβακτηριακών φαρμάκων επίσης συμβάλλει σε μεγάλο βαθμό στην ανάπτυξη ανθεκτικότητας. Η προσθήκη των αντιμικροβιακών φαρμάκων στα τρόφιμα ή το νερό, η χρήση τους για την αύξηση της παραγωγής ή την πρόληψη ασθενειών στα εντατικά εκτρεφόμενα ζώα, έχει μη προσδιορισμένη συμβολή στην ανάπτυξη της ανθεκτικότητας.

Η υπερβολική και αυξανόμενη χρήση των αντιμικροβιακών φαρμάκων στους ανθρώπους, την κτηνοτροφία και τη γεωργία έχει οδηγήσει στη διευρυμένη διάδοση των ανθεκτικών βακτηριδίων. Όσο μεγαλύτερη η χρήση των αντιμικροβιακών φαρμάκων, τόσο μεγαλύτερη εκλεκτική πίεση υπάρχει για την ανάπτυξη ανθεκτικών βακτηριακών πληθυσμών. Επιπλέον, μερικά από αυτά τα ανθεκτικά βακτήρια είναι ικανά να μεταφέρουν γενετικά στοιχεία σε βακτήρια που δεν διαθέτουν ανθεκτικότητα, καθιστώντας με τον τρόπο αυτό τους δέκτες ανθεκτικούς σε αντιμικροβιακά σκευάσματα με τα οποία δεν έχουν έλθει ποτέ σε επαφή.

Έχουν εξελιχθεί αρκετοί μηχανισμοί στα βακτήρια, οι οποίοι τους παρέχουν αντοχή στα αντιβιοτικά. Οι μηχανισμοί αυτοί μπορούν είτε να τροποποιήσουν χημικά το αντιβιοτικό, είτε να το καταστήσουν ανενεργό μέσω απομάκρυνσης από το κύτταρο, είτε να τροποποιήσουν την περιοχή-στόχο, ώστε να μην αναγνωρίζεται από το αντιβιοτικό (36).



Σχήμα 2-1 Μηχανισμοί ανάπτυξης αντοχής στα αντιβιοτικά

## 2.1. Είδη ανθεκτικότητας των βακτηρίων

Το βακτηριακό στέλεχος θεωρείται ως ανθεκτικό όταν η ανάπτυξή του δεν αναστέλλεται από την ελάχιστη συγκέντρωση του αντιμικροβιακού φαρμάκου που αναστέλλει την ανάπτυξη του ευαίσθητου στελέχους του συγκεκριμένου είδους (MIC) (2, 20,21, 22).

Η ανθεκτικότητα ενός μικροοργανισμού σε έναν αντιμικροβιακό παράγοντα μπορεί να είναι είτε εγγενής, είτε επίκτητη.

### 2.1.1 Εγγενής ή έμφυτη ανθεκτικότητα

Η εγγενής ή έμφυτη αντοχή δηλώνει τη φυσική ανθεκτικότητα που διαθέτει η πλειονότητα των στελεχών ενός συγκεκριμένου είδους βακτηρίων για ένα συγκεκριμένο αντιμικροβιακό φάρμακο (18). Τα βακτήρια μπορεί να είναι εγγενώς ανθεκτικά σε ένα αντιβιοτικό. Για παράδειγμα, ένας οργανισμός μπορεί να μη διαθέτει σύστημα μεταφοράς για ένα αντιβιοτικό, ή να μη διαθέτει το μόριο-στόχο ενός αντιβιοτικού, ή όπως στην περίπτωση των Gram αρνητικών βακτηρίων, το κυτταρικό τοίχωμα καλύπτεται με μια εξωτερική μεμβράνη που δημιουργεί ένα φράγμα διαπερατότητας έναντι του αντιβιοτικού (36).

Αυτή η μορφή ανθεκτικότητας είναι ένα σταθερό γενετικό χαρακτηριστικό που κωδικοποιείται στο χρωμοσωμικό DNA και είναι κοινό σε όλα τα μέλη του γένους. Αυτό διαπιστώνεται στα Gram αρνητικά βακτήρια, τα οποία διαθέτουν εγγενή ανθεκτικότητα σε διάφορα σημαντικά αντιμικροβιακά σκευάσματα, τα οποία είναι πολύ αποτελεσματικά κατά των Gram θετικών βακτηρίων (18). Η ανθεκτικότητα των βακτηρίων σε ορισμένες αντιμικροβιακές ουσίες προϋπήρχε της ανακάλυψης της χρήσης τους από τον άνθρωπο, καθώς πολλές από τις ουσίες αυτές είναι φυσικά προϊόντα μικροοργανισμών, οι οποίες εξελίχθηκαν παράλληλα με τα βακτήρια. Η εγγενής ή φυσική μορφή ανθεκτικότητας δεν είναι σημαντική και η ύπαρξή της δεν μπορεί να προκαλέσει ανησυχία, διότι η μεγάλη πλειοψηφία των ανθεκτικών

μικροοργανισμών σε συγκεκριμένα αντιμικροβιακά φάρμακα δεν έχει φυσική ανθεκτικότητα, αλλά έχει αναπτύξει επίκτητη ανθεκτικότητα (24). Για τον λόγο αυτό, η έρευνα και οι μελέτες έχουν εστιαστεί στην επίκτητη ανθεκτικότητα που μπορεί να αναπτυχθεί μετά από τη σταθερή έκθεση ενός βακτηριακού πληθυσμού στα αντιμικροβιακά φάρμακα (23).

### **2.1.2 Επίκτητη ανθεκτικότητα**

Η επίκτητη ανθεκτικότητα εμφανίζεται όταν υπάρχει αλλαγή στο βακτηριακό DNA, έτσι ώστε ένα νέο φαινοτυπικό γνώρισμα μπορεί να εκφραστεί (12, 25). Τα βακτήρια μπορούν να αποκτήσουν ανθεκτικότητα μέσω γενετικών μηχανισμών, όπως με μετάλλαξη στο βακτηριακό χρωμοσωμικό DNA ή με την απόκτηση νέου DNA, είτε χρωμοσωμικής είτε εξωχρωμοσωμικής προέλευσης που κωδικογραφεί τις πληροφορίες για την ανθεκτικότητα (25). Λόγω της ευελιξίας και του ταχύτατου πολλαπλασιασμού τους, τα βακτηρίδια έχουν την δυνατότητα να ανταποκρίνονται στις περιβαλλοντικές αλλαγές και μπορούν επομένως να προσαρμόζονται στην τοξικότητα των αντιβακτηριακών φαρμάκων (26). Κατά συνέπεια η επίκτητη ανθεκτικότητα μπορεί να θεωρηθεί ως εγγενής κίνδυνος, που συνδέεται με οποιαδήποτε χρήση, οποιουδήποτε αντιμικροβιακού φαρμάκου σε κάθε είδος βακτηρίου.

Στην περίπτωση ορισμένων αντιμικροβιακών φαρμάκων είναι δυνατό να καθοριστούν οι μηχανισμοί ανθεκτικότητας που έχουν αναπτυχθεί από τα βακτήρια προκειμένου να επιζήσουν σε περιβάλλον, παρουσία τους. Τα βακτήρια που απομονώνονται μετά από καλλιέργεια, μπορούν να εξετάζονται για την παρουσία τέτοιων μηχανισμών και σε περίπτωση που διαπιστωθεί ότι τους κατέχουν, να θεωρούνται ως ανθεκτικά. Παρά την ποικιλότητά τους και την μεταβλητότητά τους, τα βακτήρια έχουν περιορισμένο αριθμό μηχανισμών επίκτητης αντιβιοαντοχής. Παρόλα αυτά ένας μικροοργανισμός μπορεί να χρησιμοποιήσει περισσότερους του ενός μηχανισμούς προκειμένου να προστατευθεί από τα αντιμικροβιακά φάρμακα (27).

Η επίκτητη δυνατότητα ενός βακτηρίου να πολλαπλασιάζεται παρουσία ενός αντιμικροβιακού φαρμάκου δείχνει ότι υπάρχουν διαφορές στη γενετική δομή μεταξύ

των ανθεκτικών και των ευαίσθητων στελεχών (26). Οι γενετικοί μηχανισμοί της ανθεκτικότητας στα αντιμικροβιακά φάρμακα μπορούν να εμφανιστούν είτε μετά από μετάλλαξη στο βακτηριακό γονιδίωμα, είτε μετά από την απόκτηση γονιδίων που κωδικοποιούν την ανθεκτικότητα (28). Οι μεταλλάξεις μπορούν να προκαλέσουν την ενεργοποίηση χρωμοσωμικών γονιδίων, τα οποία κωδικοποιούν την ευαισθησία στα αντιβιοτικά, και να πυροδοτήσουν ανάλογους μηχανισμούς για ανθεκτικότητα. Εντούτοις, οι κυτταρικοί μηχανισμοί υπάρχουν για να αναπαράγουν το DNA επακριβώς και να διορθώνουν τα λάθη, όπως επίσης και να επισκευάζουν τις βλάβες στα χρωμοσώματα. Επομένως, η συχνότητα μετάλλαξης σε ένα συγκεκριμένο γονίδιο είναι πολύ χαμηλή (μία μετάλλαξη ανά εκατομμύριο ή δισεκατομμύριο κυττάρων) (18, 25, 29).

Τα βακτήρια έχουν εξελίξει διαφορετικούς μηχανισμούς προκειμένου να μεταφέρουν τα χαρακτηριστικά της ανθεκτικότητας σε άλλα μέλη του είδους τους ή ακόμα και σε άλλα είδη. Στα βακτήρια, τα γενετικά χαρακτηριστικά για την ανθεκτικότητα στα αντιμικροβιακά σκευάσματα μπορεί να κωδικοποιηθούν σε δύο σημεία: είτε στο χρωμοσωμικό, είτε σε εξωχρωμοσωμικό DNA (18, 25, 29). Νέο χρωμοσωμικό ή πλασμидικό DNA (εξωχρωμοσωμικό), το οποίο περιέχει γονίδια αντιβιοαντοχής μπορεί να μεταφερθεί από ένα βακτηρίδιο σε ένα άλλο με σύζευξη, μεταγωγή και με μετασηματισμό (25, 29, 30).

Η σύζευξη είναι ένας ενεργητικός μηχανισμός με τη βοήθεια του οποίου το DNA μεταφέρεται από ένα βακτήριο σε ένα άλλο. Λειτουργεί όταν υπάρχει φυσική επαφή μεταξύ δύο βακτηριακών κυττάρων και ένα τμήμα DNA μεταφέρεται από το ένα βακτήριο στο άλλο μέσω μικρού πρωτεϊνικού σωληνίσκου που αποκαλείται ινίδιο σύζευξης. Με την ολοκλήρωση της μεταβίβασης του DNA και με τη διαδικασία της σύζευξης, τόσο το βακτήριο δότης, όσο και το βακτήριο δέκτης διαθέτουν από ένα αντίγραφο του τμήματος του DNA, που περιέχει τον γενετικό καθοριστή της ανθεκτικότητας στην αντιβακτηριακή ουσία. (19).

Ο μηχανισμός της σύζευξης είναι μηχανισμός ζωτικής σημασίας για την διάχυση της ανθεκτικότητας μεταξύ των βακτηρίων, καθώς μπορεί να λειτουργήσει μεταξύ πολλών ειδών βακτηρίων. Με τη βοήθεια του μηχανισμού αυτού, μπορεί να μεταφερθεί από ένα

βακτήριο σε βακτήρια διαφορετικών ειδών, DNA που κωδικοποιεί πολλαπλή ανθεκτικότητα σε αντιβακτηριακές ουσίες (25). Ο μηχανισμός της σύζευξης παρατηρείται πολύ συχνά στα Gram αρνητικά βακτήρια και λιγότερο στα Gram θετικά (25, 26). Με τον μηχανισμό της σύζευξης είναι δυνατή η μεταφορά γονιδίων ανθεκτικότητας τόσο μεταξύ ειδών, όσο και μεταξύ γενών βακτηρίων και για τον λόγο αυτό η σύζευξη θεωρείται σημαντικός μηχανισμός μεταφοράς ανθεκτικότητας στην καθημερινή πρακτική (12, 30).

Η δυνατότητα να μεταφερθούν γονίδια που παρέχουν ανθεκτικότητα στα αντιμικροβιακά φάρμακα με την σύζευξη των βακτηριακών κυττάρων οφείλεται στην παρουσία πλασμιδίων και transposons στο βακτηριακό κύτταρο. Τα πλασμίδια είναι εξωχρωμοσωμικό, αυτό-διπλασιαζόμενο κυκλικό DNA εντός του κυτταροπλάσματος του βακτηριακού κυττάρου που αντιπροσωπεύει μια σταθερή, αλλά μη απαραίτητη για την επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό του κυττάρου αποθήκη γενετικού υλικού (18). Τα πλασμίδια στα βακτήρια μπορεί να είναι συζευκτικά ή μη συζευκτικά. Τα τελευταία μπορεί να μετακινούνται από το ένα βακτήριο προς το άλλο (30, 31). Τα βακτηριακά πλασμίδια κωδικογραφούν διάφορους καθοριστικούς παράγοντες που επιτρέπουν στα βακτήρια που τα φέρουν να επιβιώνουν σε δυσμενές περιβάλλον ή να ανταγωνίζονται με επιτυχία άλλους μικροοργανισμούς του ίδιου ή διαφορετικού είδους.

Ένας τύπος πλασμιδίου, που καλείται παράγων-R, κωδικοποιεί την ανθεκτικότητα του βακτηρίου για ένα ή περισσότερα αντιμικροβιακά φάρμακα (19, 31). Τα πλασμίδια που κωδικογραφούν τον παράγοντα R είναι υπεύθυνα για το μεγαλύτερο μέρος της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά που παρατηρείται στα Gram αρνητικά βακτήρια που έχουν κλινική σημασία τόσο για την ιατρική, όσο και για την κτηνιατρική (33). Οι καθοριστικοί παράγοντες ανθεκτικότητας που συνδέονται με τους παράγοντες R μπορούν να παρέχουν ανθεκτικότητα σε πολλά φάρμακα συμπεριλαμβανομένων των τετρακυκλινών, σουλφοναμιδών, αμινογλυκοσινών, β-λακταμών, χλωραμφενικόλης και trimethoprim (26).

Ορισμένα γονίδια, εάν αφομοιωθούν από τις ενδιάμεσες αλληλουχίες, μπορεί να μεταπηδήσουν σε διαφορετικές περιοχές του DNA του βακτηριακού κυττάρου. Ένα γονίδιο με μια ενδιάμεση αλληλουχία εισαγωγής σε κάθε μια πλευρά καλείται



transposon (γονίδιο μεταπήδησης) και μπορεί να μεταπηδήσει σε διαφορετικές θέσεις στο χρωμοσωμικό DNA ή από πλασμίδιο σε πλασμίδιο ή από το χρωμόσωμα στο πλασμίδιο (19, 25, 26). Τα συζευκτικά transposons είναι πιθανώς υπεύθυνα για τη μεταφορά ανθεκτικότητας μεταξύ των βακτηρίων τουλάχιστο όσο τα πλασμίδια. Τα transposons αυτού του είδους παρατηρούνται με μεγάλη συχνότητα στα Gram θετικά βακτήρια, αλλά μπορεί να ανιχνευτούν σε πολλά είδη βακτηρίων. Τα συζευκτικά transposons μπορεί να μεταφερθούν όχι μόνο μεταξύ των βακτηρίων του ιδίου ή διαφορετικού είδους, αλλά και μεταξύ Gram θετικών και Gram αρνητικών βακτηρίων (30).

Οι διαφορετικοί συνδυασμοί και οι μεταλλαγές αυτών των μηχανισμών ανταλλαγής δίνουν στα βακτήρια απεριόριστα μέσα για τη μεταφορά και τη διάδοση της αντιβιοαντοχής (25). Επειδή, τα είδη των βακτηρίων στα οποία τα βακτηριακά πλασμίδια μπορούν να διαδοθούν είναι συχνά περιορισμένα, τα transposons παίζουν σημαντικό ρόλο στη διάδοση των γονιδίων αντίστασης εκτός των περιορισμένων ορίων δράσεις των πλασμιδίων (18).

Τα γενετικά στοιχεία που αποκτούν και ανταλλάσσουν το εξωγενές DNA καλούνται integrons. Αυτή η απόκτηση και ανταλλαγή του εξωγενούς DNA, που είναι γνωστή και ως κασέτα γονιδίων, πραγματοποιείται μέσω ενός συγκεκριμένου μηχανισμού επανασυνδυασμού που βρίσκεται σε ειδική θέση. Η λειτουργία των κασετών γονιδίων έχουν ως αποτέλεσμα την αντοχή των βακτηρίων σε αντιβακτηριακά φάρμακα και χαρακτηρίζονται από μια ακολουθία επανασυνδυασμού στόχων. Αυτή η ακολουθία είναι μια περιοχή *attC* που είναι συνήθως συσχετισμένη με ένα απλό πλαίσιο ανάγνωσης, το οποίο κωδικογραφεί την αντιβιοαντοχή. Η ανθεκτικότητα σε πολλά αντιβιοτικά ταυτόχρονα που έχει διαπιστωθεί σε πολλά βακτήρια Gram αρνητικά πιθανόν να οφείλεται σε διάφορους συνδυασμούς integrons που υπάρχουν σε ένα βακτήριο (32).

Στη μεταγωγή, τα βακτηριακά γονίδια αντίστασης που βρίσκονται στα πλασμίδια ή στο χρωμόσωμα μεταφέρονται από ένα βακτήριο σε ένα άλλο με τη βοήθεια βακτηριοφάγων (19, 25, 26). Η μεταφορά των γενετικών πληροφοριών μεταξύ των βακτηρίων με μεταγωγή μέσω βακτηριοφάγων εμφανίζεται τόσο στα Gram αρνητικά, όσο και στα

Gram θετικά βακτήρια (26). Επειδή, όμως, οι βακτηριοφάγοι προσβάλλουν πολύ περιορισμένο αριθμό βακτηριακών κυττάρων, δεν διαδραματίζουν τόσο σημαντικό ρόλο και δεν αποτελούν σημαντικά μέσα διάδοσης της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά σε έναν βακτηριακό πληθυσμό (25).

Στο μετασχηματισμό, τα βακτήρια αποκτούν το DNA από το περιβάλλον τους, μετά από λύση των βακτηριακών κυττάρων, όταν το DNA ενσωματώνεται στο γονιδιώματά τους. Όπως στη μεταγωγή, η συμβατότητα μεταξύ του βακτηρίου δότη και του βακτηρίου δέκτη θα πρέπει να είναι στενή. Για τον λόγο αυτό ο μετασχηματισμός περιορίζεται ουσιαστικά στα Gram θετικά βακτήρια (18, 25, 26). Ο ρόλος του μετασχηματισμού στη μεταφορά της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά μεταξύ των βακτηρίων δεν είναι πολύ γνωστός, αλλά εμφανίζεται να έχει περιορισμένη σημασία (19, 26).

## **2.2 Μηχανισμοί ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά**

Τα βακτηριακά γονίδια που κωδικογραφούν την ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά εκφράζονται ως βιοχημική παρέμβαση στον τρόπο δράσης του αντιμικροβιακού φαρμάκου, με αποτέλεσμα τη μειωμένη δραστηριότητα κατά του στελέχους του βακτηρίου που διαθέτει την ανθεκτικότητα. Οι βιοχημικοί μηχανισμοί τόσο της εγγενούς, όσο και της επίκτητης ανθεκτικότητας λειτουργούν με παρόμοιο τρόπο. Οι βιοχημικοί μηχανισμοί που τα βακτηρίδια διαθέτουν για να προστατεύονται από τα αντιβακτηριακά σκευάσματα μπορούν να καταταγούν σε πέντε βασικές κατηγορίες (12, 18, 25, 26, 33):

- 1) Αδρανοποίηση του φαρμάκου (ενζυματική αδρανοποίηση)
- 2) Παρεμπόδιση του αντιβακτηριακού να προσεγγίσει τον στόχο του
- 3) Τροποποίηση του στόχου του αντιβακτηριακού
- 4) Μεταβολική παράκαμψη
- 5) Ανοχή

### **2.2.1 Αδρανοποίηση αντιβακτηριακών φαρμάκων**

Ένα ανθεκτικό βακτήριο συνθέτει τα ένζυμα που είναι ικανά να μετασχηματίσουν χημικά τον αντιμικροβιακό παράγοντα σε ένα αδρανές/ανενεργό προϊόν. Τέτοια αδρανοποίηση ή τροποποίηση, μπορεί να εμφανιστεί ως αποτέλεσμα των ενζύμων που κωδικογραφούνται στα πλασμίδια, ή στο χρωμόσωμα, διαφορετικά, το ένζυμο μπορεί να παραχθεί όταν τα αντίστοιχα γονίδια υποκινηθούν ή προκληθούν για να το παράγουν.

Το περισσότερο γνωστό από τα ένζυμα αυτά είναι οι β-λακταμάσες. Οι β-λακταμάσες δρουν στο δεσμό της β-λακτάμης ορισμένων αντιβιοτικών, όπως οι πενικιλίνες και οι κεφαλοσπορίνες, με αποτέλεσμα την αδρανοποίησή τους (12, 18, 25, 27, 33, 34).

### **2.2.2 Παρεμπόδιση του αντιβακτηριακού φαρμάκου να φθάσει στο στόχο**

Ακόμα και αν ο αντιβακτηριακός παράγων φθάσει στα βακτηριακά κύτταρα, θα πρέπει να εισέλθει στο εσωτερικό τους και να προσεγγίσει το σημείο (περιοχή στόχος), όπου θα δράσει. Τα βακτήρια μπορούν να το αποτρέψουν αυτό με διάφορους τρόπους. Το βακτηριακό κύτταρο μπορεί να συνθέσει μια πρωτεΐνη, η οποία θα εξωθήσει τον αντιβακτηριακό παράγοντα προς το εξωτερικό περιβάλλον (efflux) αποβάλλοντάς τον. Η αυξημένη μετακίνηση της αντιβακτηριακής ουσίας από το εσωτερικό του βακτηριακού κυττάρου προς το εξωτερικό περιβάλλον μέσω ημιδιαπερατής μεμβράνης με τη βοήθεια αντλίας, είναι ένας τεκμηριωμένος μηχανισμός ανθεκτικότητας για ένα ευρύ φάσμα αντιβακτηριακών φαρμάκων, ειδικά των τετρακυκλινών (12,18, 33).

Τα βακτηρίδια μπορούν επίσης να περιορίσουν την πρόσβαση ενός αντιβακτηριακού φαρμάκου σε μια περιοχή, μεταβάλλοντας τα χαρακτηριστικά των μεμβρανών τους, όπως στην περίπτωση των β-λακταμών και αμινογλυκοσιδών. Η πολύπλοκη δομή των Gram αρνητικών βακτηρίων εξασφαλίζει ότι είναι εκ φύσεως λιγότερο ευαίσθητα από τα Gram θετικά βακτήρια σε ποικίλα αντιβακτηριακών φαρμάκων. Αυτό οφείλεται στις porins στην εξωτερική μεμβράνη των Gram αρνητικών βακτηρίων, η οποία και

περιορίζει την πρόσβαση των ουσιών αυτών στην κυτταροπλασματική μεμβράνη. Οι μεταλλαγές στη δομή των porins επηρεάζουν σε μεγάλο βαθμό την πρόσληψη των αντιβακτηριακών φαρμάκων. Οι μεταλλαγές που έχουν επιπτώσεις στη διαπερατότητα της εξωτερικής και κυτταροπλασματικής μεμβράνης έχει αποδειχθεί ότι συμβάλουν στην ανάπτυξη ανθεκτικότητας κατά της χλωραμφενικόλης, της τετρακυκλίνης και της στρεπτομυκίνης (15, 25,33, 34).

Ένας άλλος τρόπος ανθεκτικότητας λαμβάνει χώρα μέσω των μεταλλαγών στα γονίδια, τα οποία κωδικογραφούν τη σύνθεση ειδικών πρωτεϊνών κατά τη διαδικασία μεταφοράς, που μπορεί να είναι υπεύθυνη για την ανθεκτικότητα σε συγκεκριμένο αντιβακτηριακό σκεύασμα (26). Η διείσδυση του αντιβακτηριακού φαρμάκου στο εσωτερικό του βακτηριακού κυττάρου, μπορεί να γίνει μέσω της κυτταρικής μεμβράνης, με συγκεκριμένο μηχανισμό μεταφοράς, με εμπλοκή συγκεκριμένης πρωτεΐνης μεταφορέα, όπως στις τετρακυκλίνες και αμινογλυκοσίδες. Σε αυτή την περίπτωση, μία πιθανή τροποποίηση στη δομή της πρωτεΐνης μεταφορέα, μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα την ανθεκτικότητα του βακτηρίου σε κάποιο αντιβακτηριακό φάρμακο (19).

### **2.2.3 Τροποποίηση του στόχου του αντιβακτηριακού φαρμάκου**

Τα βακτήρια μετά από μετάλλαξη μπορούν να τροποποιήσουν τον στόχο του φαρμάκου ή να τον αδρανοποιήσουν προσωρινά ή μόνιμα, έτσι ώστε ο αντιβακτηριακός παράγων να μην είναι σε θέση να τον αναγνωρίσει και να προσκολληθεί σε αυτόν (12,18, 25). Για παράδειγμα, απλές μεταλλάξεις στα ένζυμα RNA πολυμεράση και DNA γυράση, τα οποία είναι στόχοι και προσβάλλονται από τα αντιβιοτικά rifampin και φθοριοκινολόνες, αντίστοιχα, έχει ως αποτέλεσμα την εμφάνιση ανθεκτικότητας σε αυτά τα φάρμακα (12,19, 25). Ανθεκτικότητα, που οφείλεται σε αυτόν τον μηχανισμό, έχει επίσης διαπιστωθεί και για άλλα αντιβακτηριακά φάρμακα, όπως β-λακτάμες, τετρακυκλίνες, μακρολίδες και άλλα (12, 25).

## 2.2.4 Μεταβολική παράκαμψη

Ένας άλλος μηχανισμός, ο οποίος αξιοποιείται από τα βακτήρια προκειμένου να προστατευθούν από τα αντιβακτηριακά φάρμακα, είναι μέσω της παραγωγής ενός εναλλακτικού στόχου (συνήθως ένα ένζυμο) που είναι ανθεκτικό στη δράση του αντιβακτηριακού παράγοντα, ενώ συνεχίζεται η παραγωγή του αρχικού ευαίσθητου στόχου. Αυτό επιτρέπει στα βακτήρια να επιζούν παρά τη δράση του αντιβακτηριακού φαρμάκου, καθώς το εναλλακτικό ένζυμο εκτρέπει τη δράση του φαρμάκου από τον ευαίσθητο στόχο (18, 26, 34).

## 2.2.5 Ανοχή στο αντιβακτηριακό φάρμακο

Τα αντιβιοτικά της οικογένειας των β-λακταμών, αλλά και άλλα που δρουν ως ανασταλτικοί παράγοντες στη σύνθεση του κυτταρικού τοιχώματος, όπως η βανκομυκίνη και η βακιτρακίνη, έχουν τη δυνατότητα να προκαλέσουν ταχέως τον θάνατο σε πολλά ευαίσθητα βακτήρια. Άλλοι τύποι αντιβακτηριακών φαρμάκων εμποδίζουν μόνο τον πολλαπλασιασμό των βακτηρίων, αλλά δεν προκαλούν μόνιμη και μη αναστρέψιμη βλάβη στο βακτηριακό κύτταρο (25, 35). Ο όρος ανοχή υιοθετήθηκε προκειμένου να περιγραφεί αυτός ο νέος τρόπος της βακτηριακής απάντησης στην χορήγηση των αντιβιοτικών (35).

Ως ελάχιστη βακτηριοκτόνος συγκέντρωση (MBC) ορίζεται η συγκέντρωση του αντιβακτηριακού φαρμάκου που θανατώνει το 99,9% του βακτηριακού εμβολίου. Θεωρείται ότι υπάρχει ανοχή όταν η ελάχιστη βακτηριοκτόνος συγκέντρωση (MBC) είναι σημαντικά μεγαλύτερη (περίπου 32 φορές) από την ελάχιστη συγκέντρωση αναστολής (MIC). Ως εκτούτου ο όρος ανοχή αναφέρεται σε βακτήρια στα οποία το χαρακτηριστικό βακτηριοκτόνο - βακτηριολυτικό αποτέλεσμα μεταβάλλεται σε βακτηριοστατικό (35). Αυτός ο τύπος ανθεκτικότητας μπορεί να οφείλεται στην έλλειψη αυτολυτικών ενζύμων, ιδιαίτερα στους *Streptococcus* spp. και παρατηρείται επίσης όταν

οι β-λακτάμες συνδέονται με την transpeptidase με αποτέλεσμα να αναστέλλεται ο πολλαπλασιασμός του βακτηρίου και όχι να προκαλείται ο θάνατος του βακτηρίου (25).

### 3. Μετάδοση βακτηρίων

Οι τρόποι μετάδοσης των βακτηρίων ποικίλλουν ανάλογα με τον τύπο τους. Ορισμένα μεταδίδονται κυρίως με άμεση ή έμμεση επαφή (π.χ., ιός του απλού έρπητα, αναπνευστικός συγκυτιακός ιός, *Staphylococcus aureus*), ενώ άλλα μέσω σταγονιδίων (π.χ. ιού της γρίπης, Β. κοκκύτη) ή εναέρια δρομολόγια (π.χ., *M. tuberculosis*). Άλλοι λοιμώδεις παράγοντες, όπως οι ιοί μεταδίδονται δια του αίματος (π.χ., ηπατίτιδα Β και C και ιούς HIV) και μεταδίδονται σπάνια σε χώρους παροχής υγείας. Δεν μεταδίδονται όλοι οι λοιμογόνοι παράγοντες από άτομο σε άτομο, ενώ κάποιοι μπορούν να μεταδοθούν με περισσότερους από έναν τρόπους .

#### 3.1 Μετάδοση μέσω επαφής

Είναι ο πιο κοινός τρόπος μετάδοσης, που διακρίνεται σε δύο κατηγορίες : άμεση επαφή και έμμεση επαφή.

Μετάδοση με άμεση επαφή συμβαίνει όταν μικροοργανισμοί μεταφέρονται από ένα μολυσμένο άτομο σε ένα άλλο χωρίς να παρεμβάλλεται κάποιο μολυσμένο ενδιάμεσο αντικείμενο ή άτομο.

Παραδείγματα μετάδοσης με άμεση επαφή μεταξύ ασθενών και προσωπικού χώρων παροχής υγείας. είναι:

- Το αίμα ενός ασθενή, που εισέρχεται άμεσα στο σώμα ενός φροντιστή μέσω της επαφής με τους βλεννογόνους ή με ασυνέχειες του δέρματος (π.χ. κοψίματα, εκδορές)

- Τα ακάρεα από ψώρα μολυσμένου ασθενούς, που μεταφέρονται στο δέρμα ενός φροντιστή, ενώ έχει άμεση επαφή με το δέρμα του ασθενούς χωρίς τη χρήση προστατευτικών γαντιών.
- Ένας φροντιστής που μπορεί να αναπτύξει ερπητική παρανυχίδα σε ένα δάχτυλο μετά την επαφή με τον ιό του απλού έρπητα (HSV) κατά την παροχή στοματικής φροντίδας σε έναν ασθενή χωρίς τη χρήση γαντιών, ή ο ιός του απλού έρπητα HSV που μεταδίδεται σε έναν ασθενή από μια ερπητική παρανυχίδα σε χέρι ενός φροντιστή που δεν κάνει χρήση γαντιών.

Η μετάδοση με έμμεση επαφή περιλαμβάνει τη μεταφορά μικροοργανισμού μέσω μολυσμένου ενδιάμεσου αντικειμένου ή ατόμου.

Παραδείγματα μετάδοσης με έμμεση επαφή είναι:

- Οι συσκευές περίθαλψης ασθενών (π.χ. ηλεκτρονικά θερμομέτρα, συσκευές παρακολούθησης γλυκόζης), οι οποίες μπορούν να αποτελέσουν μέσο μεταφοράς παθογόνων οργανισμών αν είναι μολυσμένες με αίμα ή σωματικά υγρά και γίνεται από κοινού χρήση από τους ασθενείς χωρίς καθαρισμό και απολύμανση από ασθενή σε ασθενή.
- Τα κοινά παιχνίδια, που μπορούν να γίνουν «όχημα» για τη μετάδοση των ιών του αναπνευστικού συστήματος (π.χ., αναπνευστικός συγκυτιακός ιός) ή παθογόνων βακτηρίων (π.χ. *Pseudomonas aeruginosa*) ανάμεσα στους παιδιατρικούς ασθενείς.
- Τα όργανα, τα οποία δεν καθαρίζονται επαρκώς ανάμεσα στις χρήσεις μεταξύ των ασθενών πριν την απολύμανση ή αποστείρωση (πχ ενδοσκόπια ή χειρουργικά εργαλεία) ή που έχουν κατασκευαστικά ελαττώματα που παρεμποδίζουν την αποτελεσματικότητα της επανεπεξεργασίας, επίσης μπορούν να διαβιβάζουν βακτήρια και ιούς παθογόνα.

### 3.2 Μετάδοση μέσω σταγονιδίων

Λαμβάνει χώρα όταν σταγονίδια, που μεταφέρουν λοιμογόνους παράγοντες, μεταδίδουν λοιμώξεις καθώς «ταξιδεύουν» απευθείας από την αναπνευστική οδό του μολυσματικού ατόμου σε ευαίσθητες επιφάνειες στους βλεννογόνους του παραλήπτη. Σταγονίδια

δημιουργούνται είτε όταν ένα μολυσμένο άτομο βήχει, φτερνίζεται, ή συνομιλεί, είτε κατά τη διάρκεια διαδικασιών, όπως αναρρόφηση, διασωλήνωση, επαγωγή βήχα, και καρδιοαναπνευστική αναζωογόνηση. Η απόσταση που διανύουν τα σταγονίδια εξαρτάται από την ταχύτητα και το μηχανισμό με τον οποίο προωθούνται από την πηγή, από την πυκνότητα των αναπνευστικών εκκρίσεων, από περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως θερμοκρασία και υγρασία, και την ικανότητα του παθογόνου να παραμένει μολυσματικό σε αυτή την απόσταση.

Παραδείγματα των μολυσματικών παραγόντων που μεταδίδονται μέσω της διαδρομής σταγονιδίων αποτελούν τα *Bordetella pertussis*, ο ιός της γρίπης, αδενοϊός, rhinovirus, μυκόπλασμα της πνευμονίας, SARS-associated coronavirus, στρεπτόκοκκος ομάδας A, και *Neisseria meningitides*. (7)

### 3.3 Αερογενής μετάδοση

Η αερογενής μετάδοση αφορά μικροοργανισμούς, οι οποίοι εμφανίζουν αμιγή αερογενή φάση στον τρόπο διασποράς τους, που συνήθως περιλαμβάνει μεγαλύτερη απόσταση των λίγων μέτρων μεταξύ πηγής και ξενιστή.

Αερογενής μετάδοση προκύπτει από τη διασπορά των σταγονιδίων είτε με αερογενή σταγονίδια που περιέχουν πυρήνες (υπόλειμμα μικρό-σωματιδίων  $-5 \mu\text{m}$  ή μικρότερα σε μέγεθος-, οι οποίοι μετά από εξάτμιση των σταγονιδίων που περιέχουν τους μικροοργανισμούς παραμένουν σε αναστολή στον αέρα για μεγάλες χρονικές περιόδους), είτε σωματίδια σκόνης που περιέχουν το μολυσματικό παράγοντα. Μικροοργανισμοί που μεταφέρονται με τον τρόπο αυτό, μπορεί να διασκορπιστούν σε μεγάλο βαθμό από ρεύματα αέρα και να εισέλθουν σε έναν ευαίσθητο ξενιστή μέσω της αναπνοής, είτε μέσα στην ίδια αίθουσα είτε σε μεγαλύτερη απόσταση από την πηγή-ασθενή, ανάλογα με τις περιβαλλοντικές συνθήκες.

Μετάδοση με σταγονίδια προκύπτει όταν σταγονίδια παράγονται από το άτομο-πηγή, κυρίως, με βήχα, φτάρνισμα, και ομιλία, και κατά την εκτέλεση ορισμένων διαδικασιών,



όπως βρογχοσκόπηση. Η διαβίβαση παρουσιάζεται όταν σταγονίδια που περιέχουν τα μικρόβια από το μολυσμένο άτομο προωθούνται σε μικρή απόσταση μέσω του αέρα και εναποτίθενται στο σώμα του υποδοχέα.

Τα σωματίδια σκόνης που έχουν εγκατασταθεί πάνω στις επιφάνειες, μπορεί να αιωρηθούν εκ νέου με φυσική ενέργεια και μπορεί επίσης, να διατηρηθούν στον αέρα για μια μακρά περίοδο. Σημαντικό δε παράγοντα μετάδοσης των αιωρούμενων σωματιδίων αποτελεί η πυκνότητα και το μέγεθός τους. Παράδειγμα αερογενούς μετάδοσης με πυρήνες σωματιδίων είναι η φυματίωση.

Μικροοργανισμοί που μεταδίδονται αερογενώς είναι οι *Legionella*, *Mycobacterium tuberculosis* και οι ιοί της ιλαράς και της ανεμευλογιάς.

### **3.4 Άλλοι τύποι μετάδοσης**

Πηγές λοιμογόνων παραγόντων εκτός από μολυσμένα άτομα μπορούν να είναι κοινές περιβαλλοντικές πηγές ή μέσα μετάδοσης, όπως τα μολυσμένα τρόφιμα, το νερό, ή φάρμακα (π.χ., ενδοφλέβια υγρά). Επίσης, υπάρχουν περιπτώσεις μετάδοσης μολυσματικών παραγόντων από τα κουνούπια, μύγες, αρουραίους και άλλα τρωκτικά.

## **4. Λοιμώξεις σε χώρους παροχής υγείας**

Ως λοίμωξη σε χώρους παροχής υγείας (παλαιότερα νοσοκομειακή λοίμωξη) ορίζεται κάθε λοίμωξη που ξεκινά κατά τη διάρκεια της παραμονής του πάσχοντα στους χώρους παροχής υγείας (νοσοκομείο, γηροκομείο, κέντρα αποκατάστασης), ή γενικά σε κάθε χώρο παροχής υγείας και οφείλεται σε μικροβιακά αίτια είτε της χλωρίδας του ασθενή, είτε του νοσοκομειακού περιβάλλοντος. (11, 16)

Το NNIS (National Nosocomial Infections Surveillance System) ορίζει τη λοίμωξη σε χώρους παροχής υγείας σαν μια τοπική ή συστηματική κατάσταση που

α) οφείλεται στη δυσμενή αντίδραση του ασθενούς στην παρουσία ενός λοιμογόνου παράγοντα ή της τοξίνης του και

β) δεν ήταν παρούσα ή σε φάση επώασης κατά την εισαγωγή του ασθενούς στο νοσοκομείο (NNIS Manual, Section XIII, May 1994, μη δημοσιευμένο). (11)

Με βάση το μέσο χρόνο επώασης, πρακτικά μπορεί να χαρακτηριστεί ως λοίμωξη σε χώρους παροχής υγείας, εκείνη που αρχίζει τουλάχιστον 48 ώρες μετά την εισαγωγή στο νοσοκομείο και εκδηλώνεται μέχρι και 5 ημέρες από την έξοδο του ασθενούς από παθολογική κλινική και μέχρι 30 μέρες μετά από χειρουργική επέμβαση. Πρέπει να σημειωθεί ότι επί τοποθετήσεως ξένων σωμάτων, η λοίμωξη σε χώρους παροχής υγείας είναι δυνατόν να εκδηλωθεί 6-24 μήνες μετά το χειρουργείο. Σε ιστορικό προηγούμενης παραμονής του πάσχοντα σε άλλη μονάδα παροχής υγείας η εμφάνιση λοίμωξης πριν το όριο των 48 ωρών, μπορεί να αποδοθεί στην παραμονή του στο προηγούμενο νοσοκομείο. (13)

Οι λοιμώξεις σε χώρους παροχής υγείας, παρουσιάζουν ιδιαιτερότητες ως προς τη φυσική ιστορία τους, την κλινική αντιμετώπισή τους και ως προς την επιδημιολογία τους, που τις καθιστούν πλέον σημαντικό πρόβλημα Δημόσιας Υγείας διεθνώς, αλλά και στη χώρα μας.

Με βάση την προέλευση του μικροοργανισμού οι λοιμώξεις σε χώρους παροχής υγείας διακρίνονται σε δύο κατηγορίες:

α) Ενδογενείς λοιμώξεις, οι οποίες οφείλονται σε δυνητικά παθογόνους μικροοργανισμούς της στοματικής ή της εντερικής χλωρίδας του ασθενή, και

β) Εξωγενείς λοιμώξεις, που οφείλονται σε δυνητικά παθογόνους μικροοργανισμούς του περιβάλλοντος του ασθενή, όπως είναι οι λοιμώξεις του κατώτερου αναπνευστικού, οι οποίες συνδυάζονται με αναπνευστικές συσκευές και υγραντήρες. Σύγχρονα μέτρα υγιεινής έχουν μειώσει τον τύπο αυτό των λοιμώξεων (14).

Οι ενδογενείς λοιμώξεις διακρίνονται σε πρωτογενείς και δευτερογενείς.

1. Πρωτογενείς ενδογενείς λοιμώξεις, καλούνται οι λοιμώξεις οι οποίες προκαλούνται από δυνητικά παθογόνους μικροοργανισμούς, οι οποίοι ανήκουν στη φυσιολογική μόνιμη χλωρίδα του ασθενή.
2. Δευτερογενείς ενδογενείς λοιμώξεις, καλούνται οι λοιμώξεις, οι οποίες προκαλούνται από νοσοκομειακούς δυνητικά παθογόνους μικροοργανισμούς, οι οποίοι δευτερογενώς αποίκισαν το στοματοφάρυγγα και το έντερο.

Η διάκριση αυτή έχει σπουδαία σημασία για την πρόληψη των λοιμώξεων σε χώρους παροχής υγείας.

Για την κατανόηση των ιδιαιτεροτήτων αυτών πρέπει καταρχάς να τονιστούν οι αλλαγές στο είδος και στη βαρύτητα των ασθενών που νοσηλεύονται πλέον στα νοσοκομεία, που έχουν προκαλέσει αφενός η πρόοδος της ιατρικής επιστήμης και αφετέρου οι αλλαγές στον τρόπο παροχής της περίθαλψης

Έτσι, οι χώροι παροχής υγείας χαρακτηρίζονται από μία διαχρονική αύξηση του ποσοστού των νοσηλευόμενων ασθενών με μεγάλη ηλικία, που παρουσιάζουν εξασθενημένο ανοσολογικό σύστημα, κινητικά προβλήματα και ίσως νοητικά προβλήματα, που έχουν υποστεί χειρουργικές επεμβάσεις, ενδοσκοπήσεις, φέρουν καθετήρες και άλλες προσθετικές συσκευές, που λαμβάνουν αντιβιοτικά και άλλα συχνά τοξικά φάρμακα.

Επιπλέον, ο τρόπος παροχής της περίθαλψης χαρακτηρίζεται από την τάση μετακίνησης του κέντρου βάρους της περίθαλψης από το νοσοκομείο (οξέων περιστατικών) σε ένα σύστημα όπου στο νοσοκομείο περιθάλπονται κυρίως βαριά περιστατικά (που απαιτούν νοσηλεία σε Μ.Ε.Θ.), ενώ η εξωνοσοκομειακή περίθαλψη, η περίθαλψη στο σπίτι και στα Νοσοκομεία Περίθαλψης Χρόνιων Πασχόντων και στα Ειδικά Ιδρύματα Αποκατάστασης (Health Care Associated Facilities) παίζουν πλέον σημαντικό ρόλο. Η τάση αυτή αυξάνει το ποσοστό των εξασθενημένων ασθενών που νοσηλεύονται στο νοσοκομείο, ενώ διευρύνει την έννοια της λοίμωξης σε χώρους παροχής υγείας, ώστε να περιλαμβάνει και λοιμώξεις σε ιδρύματα αποκατάστασης (γηροκομεία κ.λπ.), αλλά και σε νοσηλευόμενους στο σπίτι.

Η λοίμωξη είναι αποτέλεσμα της διαταραχής της ισορροπίας ανάμεσα στη λοιμογόνο δύναμη του μικροοργανισμού και στις αμυντικές ικανότητες του ξενιστή. Έτσι, σε έναν «υγιή» ξενιστή για να προκληθεί λοίμωξη θα απαιτηθεί μόλυνση από «ισχυρά λοιμογόνο» μικρόβιο, που διαθέτει δηλαδή παθογόνους μηχανισμούς σε ικανή λοιμογόνο δόση. Αντίθετα, σε έναν εξασθενημένο οργανισμό (όπως οι νοσοκομειακοί ασθενείς), μικροοργανισμοί με μικρότερη λοιμογόνο δύναμη, ακόμη και «σαπροφυτικοί», μπορεί να προκαλέσουν λοίμωξη. Επίσης, οι μικροοργανισμοί αυτοί που είναι αναγκασμένοι να ευρίσκονται σε ένα περιβάλλον, όπου χορηγούνται αντιβιοτικά και χρησιμοποιούνται αντισηπτικά, είναι συχνότατα εξαιρετικά ανθεκτικοί στα αντιβιοτικά, συχνά και στα αντισηπτικά, ενώ έχουν και την ικανότητα αποικισμού προσθετικών συσκευών (καθετήρων κ.λπ.), όπως και να επιβιώνουν στο νοσοκομειακό περιβάλλον για μακρύ χρονικό διάστημα.

Οι CNS (Coagulase Negative Staphylococcus), το *Acinetobacter*, η *Pseudomonas aeruginosa*, που σπανιότατα προκαλούν λοιμώξεις σε «υγιή» άτομα, αποτελούν αίτια σημαντικών ενδονοσοκομειακών λοιμώξεων, ενώ είναι συχνότατα πολυανθεκτικοί στα αντιβιοτικά.

Στα παραπάνω πρέπει να προστεθεί ότι οι νοσοκομειακοί ασθενείς ευρίσκονται συχνά σε συνωστισμό, ζουν σε χώρο με κοινό σύστημα εξαερισμού, ύδρευσης, αποχέτευσης, ενώ τρέφονται από κοινό μηχανισμό διατροφής (κουζίνα ή εξωτερικός προμηθευτής), συνεπώς οι χώροι παροχής περίθαλψης μπορεί να χαρακτηριστούν ως κλειστά οικολογικά συστήματα.

Επίσης, και με βάση τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά τους, οι χώροι παροχής περίθαλψης μπορεί να χαρακτηριστούν ως πηγές μόλυνσης και ρύπανσης του γενικότερου περιβάλλοντος με (πολυανθεκτικά) μικρόβια.

Το νοσοκομείο, λοιπόν, αποτελεί παραδοσιακά πηγή και οικοσύστημα ανάπτυξης και διασποράς ανθεκτικών μικροοργανισμών. Το νοσοκομείο είναι ένα κλειστό οικοσύστημα όπου ζουν άτομα ανοσοκατεσταλμένα που υφίστανται παρεμβάσεις (ιατρικοί και νοσηλευτικοί χειρισμοί). Το σύστημα χαρακτηρίζεται συνήθως από συνωστισμό και γενικά ευνοεί τη διασπορά των μικροοργανισμών.

Τέλος, γίνεται υπερβολική κατανάλωση ή ακόμα και λανθασμένη ποιοτικά επιλογή αντιβιοτικών, που αποτελούν τον σημαντικότερο παράγοντα επιλογής ανθεκτικών μικροοργανισμών.

Η επιδημιολογία των λοιμώξεων σε χώρους παροχής υγείας συχνά διαπλέκεται με την επιδημιολογία της μικροβιακής αντοχής. Οι πρακτικές πρόληψης και αντιμετώπισης των λοιμώξεων σε χώρους παροχής υγείας συχνά ταυτίζονται με τις πρακτικές πρόληψης και αντιμετώπισης της μικροβιακής αντοχής, ενώ η μικροβιακή αντοχή, όπως και οι λοιμώξεις, σε χώρους παροχής υγείας μπορεί να αποτελούν δείκτες ποιότητας παρεχομένων υπηρεσιών στα νοσοκομεία.

Με βάση τα παραπάνω, το νοσοκομείο, πέρα από το προφανές καθήκον της αντιμετώπισης του συγκεκριμένου προβλήματος του ασθενή, πρέπει να διατηρεί το γενικότερο επίπεδο υγείας των παροικώντων σε αυτό (νοσηλευομένων και εργαζομένων), να αποφεύγει τη δημιουργία νέων προβλημάτων υγείας από την εφαρμογή της θεραπείας, αλλά και από αυτή καθ' εαυτή την παραμονή στο νοσοκομείο του ασθενούς και να αποφεύγει τη γενικότερη επιβάρυνση του περιβάλλοντος με μικρόβια (ανθεκτικά - μολυσματικά) ή τοξικούς παράγοντες.

Η λοίμωξη σε χώρους παροχής υγείας λοιπόν μπορεί να θεωρηθεί δείκτης της ποιότητας των παρεχομένων ιατρικών - νοσηλευτικών υπηρεσιών στο νοσοκομείο, αλλά κυρίως της διοικητικής – οργανωτικής υποστήριξης.

#### **4.1 Σημασία της μικροβιακής αντοχής για τη Δημόσια Υγεία**

Η παρουσία ανθεκτικών μικροοργανισμών στα αντιβιοτικά αποτελεί αναγνωρισμένο σημαντικό πρόβλημα Δημόσιας Υγείας παγκοσμίως, διότι:

- Είναι πλέον ένα πολύ διαδεδομένο φαινόμενο παγκοσμίως, ενώ παρουσιάζει συνεχή διαχρονική αύξηση.
- Ελαττώνει τις επιλογές για θεραπεία των αντίστοιχων λοιμώξεων, ενώ τα εναπομείναντα αντιβιοτικά είναι πολύ συχνά τοξικά ή μπορεί να εμφανίζουν

μειονεκτική φαρμακοκινητική. Δημιουργεί δηλαδή σημαντικά κλινικά προβλήματα, κυρίως στα νοσοκομεία, όπου πλέον από τα δεκάδες είδη αντιβιοτικών που κυκλοφορούν, λίγα έως ελάχιστα είναι δραστικά έναντι των πολυανθεκτικών νοσοκομειακών μικροβίων.

- Αυξάνει το κόστος είτε άμεσα, καθότι τα νεότερα αντιβιοτικά είναι ακριβότερα, είτε έμμεσα, λόγω της παράτασης του χρόνου νοσηλείας που οι δυσίατες αυτές λοιμώξεις συχνά προκαλούν. Επίσης, οι λοιμώξεις από ανθεκτικούς στα αντιβιοτικά μικροοργανισμούς απαιτούν συχνά νοσηλεία σε νοσοκομείο, σε αντίθεση από τις αντίστοιχες λοιμώξεις από ευαίσθητους μικροοργανισμούς.

- Αυξάνει τον ανθρώπινο πόνο, προκαλώντας συνήθως δυσίατες λοιμώξεις με υψηλή θνητότητα, αυξάνοντας έτσι το άμεσο και έμμεσο οικονομικό και κοινωνικό κόστος.

Επίσης, η αντιμετώπιση της μικροβιακής αντοχής απαιτεί την εφαρμογή πολιτικών Δημόσιας Υγείας, όπως είναι:

- Η επιτήρηση και παρακολούθηση των επιδημιολογικών δεδομένων αυτής.
- Η εκπόνηση στρατηγικών εμπειρικής φαρμακευτικής αγωγής.
- Η εφαρμογή μέτρων ελέγχου διασποράς λοιμώξεων.

Στο σημείο αυτό πρέπει να υπογραμμιστεί ότι η φαρμακοβιομηχανία, λόγω του μεγάλου κόστους που συνεπάγεται πλέον η παραγωγή νέων αντιβιοτικών, διστάζει να επενδύσει κεφάλαια στη σχετική έρευνα, με αποτέλεσμα να μην προβλέπεται στο άμεσο μέλλον η κυκλοφορία νέων αντιβιοτικών.

Έτσι, το έως τώρα δόγμα της αντιμετώπισης των λοιμώξεων που βασιζόταν στον αέναο κύκλο «κυκλοφορία ενός αντιβιοτικού - εμφάνιση αντοχής - παραγωγή ενός νεότερου αντιβιοτικού - εμφάνιση αντοχής και σε αυτό», τείνει να αντικατασταθεί από ένα νέο δόγμα που θα βασιστεί στην παράταση της «ζωής» των αντιβιοτικών. Μία τέτοια παράταση επιτυγχάνεται μέσω της ορθολογικής και συνεπώς αποδοτικότερης χρήσης των αντιβιοτικών, αξιοποιώντας για παράδειγμα τα φαρμακοκινητικά και φαρμακοδυναμικά δεδομένα, αλλά κυρίως μέσω της πρόληψης της διασποράς και εξάπλωσης ανθεκτικών μικροοργανισμών, γεγονός που απαιτεί λογικές και μεθοδολογίες Δημόσιας Υγείας.

Συμπερασματικά, η μικροβιακή αντοχή στα αντιβιοτικά αποτελεί πλέον ένα σοβαρό κλινικό πρόβλημα, αλλά και ένα επείγον πρόβλημα Δημόσιας Υγείας. Είναι κλινικό πρόβλημα, διότι για τη θεραπεία του συγκεκριμένου ασθενούς με την ανθεκτική λοίμωξη απαιτείται ακριβής εργαστηριακή διάγνωση, ακριβής μελέτη των χαρακτηριστικών του μικροοργανισμού, προσαρμογές της θεραπείας, χρησιμοποίηση συνδυασμών αντιβιοτικών. Επίσης, είναι πρόβλημα Δημόσιας Υγείας, διότι η συνεχώς αυξανόμενη συχνότητα απομόνωσης ανθεκτικών μικροοργανισμών προκαλεί άμεση - λόγω του κόστους των αντιβιοτικών και έμμεση λόγω της παράτασης του χρόνου νοσηλείας- αύξηση του κόστους. Επίσης, η αντιμετώπιση της ανάπτυξης και διασποράς ανθεκτικών στα αντιβιοτικά μικροοργανισμών απαιτεί μέτρα υγιεινής και γενικότερα Δημόσιας Υγείας.

## **4.2 Γενικά στοιχεία επιδημιολογίας λοιμώξεων σε χώρους παροχής υγείας**

Μία λοίμωξη, σε αντίθεση με τα μη-λοιμώδη νοσήματα, προκύπτει από την αλληλεπίδραση μεταξύ δύο ζωντανών οργανισμών, του μικροοργανισμού - αίτιο της λοίμωξης, και του μεγαλοοργανισμού - ξενιστή, που θα αναπτύξει τη λοίμωξη ως αποτέλεσμα της μετακίνησης του μικροοργανισμού από την οικολογική φωλιά του στην εστία της λοίμωξης. Τρεις είναι, λοιπόν, οι αλληλοσχετιζόμενοι παράγοντες που παρεμβαίνουν στη διαδικασία της μετάδοσης:

- ο λοιμογόνος παράγοντας
- η μετάδοση του λοιμογόνου παράγοντα, και
- ο ξενιστής

Οι παράγοντες αυτοί αντιπροσωπεύουν την αλυσίδα της λοίμωξης και συσχετίζονται και επηρεάζονται από το περιβάλλον, μέσα από μια σχέση που αναφέρεται σαν οικολογία της λοίμωξης. Η προσπάθεια ελέγχου των λοιμώξεων σε χώρους παροχής υγείας αποσκοπεί στην αντιμετώπιση ενός ή περισσότερων από τους παράγοντες αυτούς, που συμβάλλουν στη δημιουργία της λοίμωξης.

Η εκδήλωση και εξέλιξη της νόσου αντανακλά την αλληλοεπίδραση αυτών των παραγόντων, καθώς αυτή επηρεάζει τον άνθρωπο. Μερικά άτομα που εκτίθενται σε λοιμογόνους παράγοντες αναπτύσσουν νόσο και άλλα όχι, π.χ. μετά από έκθεση σε Β αιμολυτικό στρεπτόκοκκο πολύ λίγα άτομα αναπτύσσουν νόσο, γεγονός που αντανακλά στην ποικιλία των παραγόντων που σχετίζονται με την ανάπτυξη τελικά της νόσου στο συγκεκριμένο ξενιστή.

Το μικρόβιο αποτελεί το άμεσο αίτιο της λοίμωξης, στην αιτιολογία της οποίας όμως εμπλέκονται και άλλοι παράγοντες, οι αποκαλούμενοι παράγοντες κινδύνου.

Παράγοντες κινδύνου καλούνται οι παράγοντες που διευκολύνουν την ανάπτυξη της λοίμωξης. Οι παράγοντες κινδύνου μπορεί να είναι ενδογενείς, δηλαδή να σχετίζονται με χαρακτηριστικά του ασθενή, όπως η ηλικία, η ανοσολογική κατάσταση, η υποκείμενη νόσος κ.ά. Επίσης, μπορεί να είναι εξωγενείς. Τέτοιοι παράγοντες είναι οι παρεμβατικές πρακτικές, όπως καθετηριασμοί, ενδοσκοπήσεις κ.λπ. Νοσηλευτικές πρακτικές, όπως θερμομετρήσεις, αλλαγές, αλλά και πράξεις, όπως η κλινική εξέταση, η ακρόαση κ.ά., μπορεί να συμβάλουν στη μεταφορά του μικροοργανισμού στην εστία της λοίμωξης ή να βοηθήσουν στον αποικισμό του ασθενούς και στη μετέπειτα εμφάνιση ενδογενούς λοίμωξης. Ο χρόνος νοσηλείας σχετίζεται θετικά με τη συχνότητα εμφάνισης λοίμωξης σε χώρους παροχής υγείας, κυρίως έμμεσα, επειδή ο χρόνος νοσηλείας σχετίζεται θετικά με την πιθανότητα παρουσίας των λοιπών παραγόντων κινδύνου. Δηλαδή, όσο περισσότερο ο ασθενής μένει στο νοσοκομείο, τόσο αυξάνεται η πιθανότητα να πάσχει από σοβαρό νόσημα ή να υποστεί παρεμβατικές πράξεις κ.λπ.

Η επιδημιολογία κάθε λοιμώδους νοσήματος, και συνεπώς και των λοιμώξεων σε χώρους παροχής υγείας, είναι δυνατόν να μελετηθεί εφαρμόζοντας την κλασική επιδημιολογική μεθοδολογία μελέτης της κατανομής των κρουσμάτων και των παραγόντων κινδύνου που καθορίζουν αυτή την κατανομή ή μελετώντας το μικροβιακό αίτιο και τους τρόπους διασποράς του στους ασθενείς. Η διασπορά αυτή θα μελετηθεί συνδυάζοντας τις τεχνικές της μικροβιακής τυποποίησης με επιδημιολογικά δεδομένα.

Οι λοιμώξεις σε χώρους παροχής υγείας μπορεί να θεωρηθούν σποραδικά μεμονωμένα κρούσματα, ο αριθμός και το είδος των οποίων σχετίζεται με το είδος της κλινικής και



του νοσοκομείου, το είδος των ασθενών που νοσηλεύονται κ.λπ. Είναι «λογικό» μία αιματολογική κλινική, όπου νοσηλεύονται ασθενείς με αιματολογικές κακοήθειες που συχνά παρουσιάζουν λευκοπενία και σημαντική ανοσολογική ανεπάρκεια, να εμφανίζει μεγαλύτερο αριθμό λοιμώξεων από μία απλή παθολογική κλινική, όπου νοσηλεύονται απλούστερα περιστατικά. Με την ίδια λογική, ένα τεταρτοβάθμιο πανεπιστημιακό νοσοκομείο «δικαιούται» να έχει μεγαλύτερη συχνότητα νοσοκομειακών λοιμώξεων από ένα νομαρχιακό νοσοκομείο.

Ο καθορισμός του «ανεκτού - φυσιολογικού» αριθμού λοιμώξεων σε χώρους παροχής υγείας καθορίζεται μέσα από τη διαδικασία της επιδημιολογικής επιτήρησης και της συγκριτικής αποτίμησης της συχνότητας των λοιμώξεων στα διάφορα είδη χώρων παροχής υγείας.

### **4.3 Τρόποι μελέτης των λοιμώξεων σε χώρους παροχής υγείας**

Ιδιαίτερη σημασία έχει η έγκαιρη ανίχνευση της επιδημικής έξαρσης, δηλαδή της καταγραφής αριθμού κρουσμάτων μεγαλύτερου από τη φυσιολογική διακύμανση του αριθμού των σποραδικών κρουσμάτων.

Κομβική σημασία για τη διαμόρφωση στρατηγικής αντιμετώπισης μιας επιδημίας έχει η διευκρίνιση, αν η επιδημική έξαρση αποτελεί άθροισμα (τοποχρονική συρροή) μικροβιολογικά άσχετων ενδογενών λοιμώξεων, επιδημία από κοινή πηγή ή μολυσματική επιδημία. (13)

Ως παράδειγμα τοποχρονικής συρροής ενδογενών λοιμώξεων, αναφέρεται η συρροή λοιμώξεων χειρουργικού τραύματος, αποτέλεσμα αλλαγής της πολιτικής ξυρίσματος του χειρουργικού πεδίου, από την ορθή πολιτική του ξυρίσματος την ώρα της εγχείρησης στην -σχετιζόμενη με αύξηση των λοιμώξεων- πολιτική του ξυρίσματος την παραμονή της εγχείρησης. Εδώ δεν έχουμε διασπορά μικροοργανισμών από ασθενή σε ασθενή, ενώ κάθε λοίμωξη είναι ενδογενής. Παράδειγμα επιδημίας από κοινή πηγή αποτελεί η πρόκληση επιδημίας σηπτικής αρθρίτιδας από *Serratia* σε ορθοπεδικό τμήμα

μετά από μόλυνση του αντισηπτικού, το οποίο χρησιμοποιείται για αντισηψία του δέρματος, πριν από την παρακέντηση των αρθρώσεων για διαγνωστικούς ή θεραπευτικούς σκοπούς. Επίσης, η ταυτόχρονη λοίμωξη χειρουργικών τραυμάτων πολλών ασθενών με Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) από τα χέρια νοσηλευτή, λόγω παρουσίας ρινικής φορέας σταφυλοκόκκου σε αυτόν. Τέλος, μολυσματική επιδημία αποτελεί η διασπορά MRSA ή Vancomycin-resistant Enterococcus (VRE) μεταξύ των ασθενών μιας Μ.Ε.Θ. ή μιας άλλης κλινικής, αλλά και μία επιδημία ανεμοευλογιάς στους ασθενείς μιας αιματολογικής κλινικής (13).

Τόσο στις επιδημίες από κοινή πηγή, όσο και στις μολυσματικές επιδημίες, υπάρχει γενικά κλωνική διασπορά των μικροοργανισμών, που μπορεί να τεκμηριωθεί μέσω της μικροβιακής τυποποίησης των μικροβιακών στελεχών που θα απομονωθούν από τα κρούσματα.

Η αντιμετώπιση της τοποχρονικής συρροής ενδογενών λοιμώξεων γίνεται με την αλλαγή των πρακτικών που τη δημιουργεί. Αντίθετα, οι λοιμώξεις από κοινή πηγή ή μολυσματικές επιδημίες αντιμετωπίζονται με τη διακοπή της διασποράς των μικροοργανισμών.

Η τυποποίηση είναι η μικροβιολογική τεχνική που χρησιμοποιείται στο πλαίσιο της διερεύνησης κάθε επιδημίας λοιμώδους αιτιολογίας. Η τυποποίηση τεκμηριώνει με μεγαλύτερη ή μικρότερη ακρίβεια τον τρόπο διασποράς των μικροοργανισμών από την πηγή μόλυνσης στα κρούσματα. Η τυποποίηση υποστηρίζει την επιδημιολογία και δεν την υποκαθιστά. Δηλαδή, αν και ποια μικροβιακά στελέχη θα τυποποιηθούν, αλλά και ποια μέθοδος θα εφαρμοστεί, θα αποφασιστεί όταν έχει με σαφήνεια διατυπωθεί το επιδημιολογικό ερώτημα που η τυποποίηση θα κληθεί να απαντήσει. Αντίθετα, τα αποτελέσματα της τυποποίησης στελεχών που δε συνδέονται μεταξύ τους επιδημιολογικά, είναι εξαιρετικά δύσκολο, αλλά και συχνά επικίνδυνο, να ερμηνευθούν.

#### 4.4 Τάσεις της μικροβιακής αντοχής στα νοσοκομεία στην Ελλάδα

Η αυξανόμενη συχνότητα απομόνωσης ανθεκτικών στα αντιβιοτικά μικροοργανισμών από λοιμώξεις τόσο στα νοσοκομεία όσο και στην κοινότητα, αποτελεί ήδη ένα σημαντικό πρόβλημα Δημόσιας Υγείας, διεθνώς αλλά και για τη χώρα μας.

Η πρόληψη των λοιμώξεων αυτών προϋποθέτει την κατανόηση της επιδημιολογίας τους, δηλαδή την μελέτη του τρόπου δημιουργίας των ανθεκτικών στα αντιβιοτικά μικροβιακών στελεχών, αλλά και του τρόπου διασποράς αυτών από ασθενή σε ασθενή, καθώς επίσης και τον προσδιορισμό των παραγόντων κίνδυνου εμφάνισης λοιμώξεων από πολυανθεκτικούς μικροοργανισμούς, και των παραμέτρων που επηρεάζουν την διασπορά των μικροοργανισμών στα νοσοκομεία και την κοινότητα.

Σημαντικό ρόλο στην κατανόηση της επιδημιολογίας των λοιμώξεων σε χώρους παροχής υγείας παίζει το μικροβιολογικό εργαστήριο και μάλιστα σε τρία επίπεδα: της συλλογής των επιδημιολογικών δεδομένων (των οποίων βασική πηγή αποτελεί η καθημερινή ρουτίνα αυτού), της επεξεργασίας αυτών των δεδομένων και της έγκαιρης και έγκυρης κοινοποίησής τους στις επιτροπές λοιμώξεων, στους κλινικούς ιατρούς κλπ.

Δεδομένα που μπορούν να συλλεγούν από το μικροβιολογικό εργαστήριο αφορούν την καταγραφή:

- Των συχνότερα απομονούμενων μικροβίων στο νοσοκομείο
- Των ποσοστών αντοχής αυτών στα διάφορα αντιβιοτικά
- Των φαινοτύπων αντοχής αυτών στα αντιβιοτικά
- Της συχνότητας εμφάνισης συνδυασμένης αντοχής στους χρησιμοποιούμενους συνδυασμούς αντιβιοτικών
- Των αντιβιοτικών, στα οποία πολυανθεκτικά στελέχη εμφανίζουν ευαισθησία
- Της τυχόν εμφάνισης αντοχής σε αντιβιοτικά που ως τώρα ήταν απόλυτα δραστικά
- Της "υποκλινικής" αντοχής, που συνήθως αποτελεί το πρώτο βήμα προς την κλινική αντοχή.

Στο πλαίσιο αυτό, το Εργαστήριο Μικροβιολογίας της Εθνικής Σχολής Δημόσιας Υγείας σε συνεργασία με το Εργαστήριο Μικροβιολογίας του Πανεπιστημίου Αθηνών,

έχει εγκαταστήσει και συντονίζει δίκτυο συνεχούς παρακολούθησης και ανάλυσης της μικροβιακής αντοχής στα Ελληνικά Νοσοκομεία. Το Δίκτυο αυτό, αποτελεί επίσημο πρόγραμμα του Υπουργείου Υγείας και ειδικότερα του Κέντρου Ελέγχου Ειδικών Λοιμώξεων, (ΚΕΕΛ) και λειτουργεί υπό την εποπτεία της Επιστημονικής Επιτροπής Νοσοκομειακών Λοιμώξεων του ΚΕΕΛ.

Το Δίκτυο βασίζεται στην συλλογή και ανάλυση των δεδομένων ρουτίνας των μικροβιολογικών εργαστηρίων και χρησιμοποιεί προς τούτο το λογισμικό σύστημα WHONET, το οποίο διανέμεται από το Συνεργαζόμενο Κέντρο Μελέτης της Μικροβιακής Αντοχής του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας, Πανεπιστήμιο Harvard της Βοστώνης των ΗΠΑ.

Το WHONET αποτελεί σύστημα μηχανογράφησης των λειτουργιών του μικροβιολογικού εργαστηρίου (καταγραφή αποτελεσμάτων μικροβιολογικών εξετάσεων-καλλιιεργειών, εκτύπωση απαντήσεων, τήρηση αρχείου κλπ.) και συγχρόνως ένα εξαιρετικά δυναμικό εργαλείο στατιστικής ανάλυσης των δεδομένων (ποσοστά αντοχής ανά κλινική, δείγμα, χρονική περίοδο, μικροοργανισμό, καταγραφή φαινοτύπων αντοχής ανά μικροοργανισμό, κλινική κλπ., παρακολούθηση των μηχανισμών αντοχής, συσχετίσεων μεταξύ διαμέτρων ζώνης αναστολής κλπ.).

Ήδη στο δίκτυο μετέχουν περισσότερα από 20 νοσοκομεία σε όλη την Ελλάδα.

Στόχοι του Δικτύου είναι: η ανταλλαγή πληροφοριών και εμπειρίας σε θέματα Ελέγχου Ποιότητας των δοκιμασιών ευαισθησίας, η ανταλλαγή πληροφοριών και εμπειρίας ως προς τα βασικά προβλήματα αντοχής που απασχολούν κάθε νοσοκομείο, η συγκριτική μελέτη των προβλημάτων αυτών, καθώς και η συμβολή στη συνολική μελέτη του προβλήματος της αντοχής στη χώρα μας.

Η λειτουργία του δικτύου είναι σαφώς θετική και θεωρείται ότι η γενίκευσή του θα αλλάξει ριζικά το τοπίο στον τομέα της μελέτης της επιδημιολογίας της αντοχής στη χώρα μας.

Δεδομένα του δικτύου αναρτώνται στην ιστοσελίδα [www.mednet.gr/whonet](http://www.mednet.gr/whonet) και αποτελούν κυρίως δεδομένα επιπολασμού, παρουσιάζεται δηλαδή το ποσοστό κάθε μικροβιακού είδους που εμφανίζεται ανθεκτικό στα αντιβιοτικά.

Τα δεδομένα επικαιροποιούνται ανά εξάμηνο και στην ανάλυση μετέχει ένα στέλεχος (η πρώτη απομόνωση) ανά μικροβιακό είδος από κάθε ασθενή. Συγκεκριμένα, παρουσιάζονται τα ποσοστά αντοχής στα βασικά αντιβιοτικά ανά νοσοκομείο και τομέα νοσοκομείου (παθολογικό, χειρουργικό, Μ.Ε.Θ.), τα μικροβιακά στελέχη που προέρχονται από τις αιμοκαλλιέργειες πολυκεντρικά ανά μικροοργανισμό και τομέα νοσοκομείου, και οι σχετικές συχνότητες απομόνωσης των κύριων μικροβιακών ειδών ανά νοσοκομειακό τομέα ανά νοσοκομείο, συνολικά τα στελέχη από όλα τα κλινικά δείγματα, αλλά και τα στελέχη που απομονώνονται από αιμοκαλλιέργειες.

Αντίθετα, στοιχεία επίπτωσης (αριθμού ανθεκτικών μικροοργανισμών ανά εκτεθέντα πληθυσμό, π.χ. εισαγωγές ή ημέρες νοσηλείας) μπορεί να υπολογιστούν μόνο έμμεσα από τον αριθμό των απομονωμένων μικροοργανισμών.

Στόχος της παρουσίασης των δεδομένων είναι η διαμόρφωση μιας συνολικής εικόνας της αντοχής στα ελληνικά νοσοκομεία, καθώς και η παροχή δεδομένων για μία συγκριτική αξιολόγηση κάθε νοσοκομείου στον ελληνικό χώρο.

Σημειώνεται ότι τα νοσοκομεία δεν αναφέρονται ονομαστικά αλλά με κωδικό, ενώ και τα ονόματα των ασθενών επίσης κωδικοποιούνται, ώστε να διασφαλίζεται το απόρρητο των προσωπικών δεδομένων.

Σε αντίθεση με τα στατιστικά δεδομένα που γενικά θεωρούνται επαρκή, μοριακά δεδομένα ως προς τους μικροβιακούς κλώνους που επιπολάζουν στα ελληνικά νοσοκομεία και τον τρόπο διασποράς τους, καθώς και την εξέλιξη και διασπορά των γονιδίων που ευθύνονται για τους φαινότυπους αντοχής, γενικά υπάρχουν μόνο από δημοσιευμένες μελέτες. Δίκτυο Κέντρων Αναφοράς στην Ελλάδα, για την τυποποίηση και το χαρακτηρισμό των μικροβιακών στελεχών στο πλαίσιο ενός συστήματος εφαρμογής μέτρων περιστολής της διασποράς τους στα νοσοκομεία, δεν υφίσταται.

Ειδικότερα ως προς την αντοχή στις καρβαπενέμες, σημειώνεται ότι η Ελλάδα είναι η πρώτη χώρα της Ευρώπης, αν όχι του κόσμου, με απομόνωση *K. pneumoniae* ανθεκτικής στις καρβαπενέμες λόγω παρουσίας VIM β-λακταμάσης σε επιδημικές διαστάσεις (13). Τα στελέχη αυτά μάλιστα συχνότατα παράγουν συγχρόνως και άλλες ευρέως φάσματος β-λακταμάσες (ESBL), γεγονός που τα καθιστά ανθεκτικά σε όλα τα αντιβιοτικά, με εξαίρεση την κολιστίνη. Ήδη έχουν αναφερθεί επιδημικά επεισόδια σε νοσοκομεία της Ευρώπης που οφείλονται σε Έλληνες ασθενείς φορείς αυτών των μικροοργανισμών. Το γεγονός αυτό, σε συνδυασμό με το γεγονός ότι τα ένζυμα αυτά ανιχνεύονται σε μικροοργανισμούς ήδη πολυανθεκτικούς, καθιστά την παρουσία των μικροοργανισμών αυτών εξαιρετικά μεγάλη απειλή για τη Δημόσια Υγεία, διότι οι αντίστοιχες λοιμώξεις είναι πλέον εξαιρετικά δυσίατες.

Η ανάλυση των δεδομένων ανά νοσηλευτικό τομέα υπογραμμίζει επιπλέον το σημαντικό πρόβλημα λοιμώξεων από ανθεκτικούς μικροοργανισμούς, που εντοπίζεται στις Μονάδες Εντατικής Θεραπείας.

Παρατηρείται ότι, όσον αφορά σε μικροοργανισμούς που απομονώθηκαν από διεισδυτικές λοιμώξεις (βακτηραιμίες):

- Το 85 % και το 71,8% των *Acinetobacter baumannii* είναι ανθεκτικό στις κινολόνες και στις καρβαπενέμες αντίστοιχα στις παθολογικές κλινικές, το 86,8% και 68,5% στις χειρουργικές και το 98,4 % και 90,4 % στις Μ.Ε.Θ.
- Το 47,4 % και το 36,8% των *P. aeruginosa* είναι ανθεκτικό στις κινολόνες και στις καρβαπενέμες αντίστοιχα στις παθολογικές κλινικές, το 42% και 48 % στις χειρουργικές και το 69,9% και 61,5 % στις Μ.Ε.Θ.
- Το 44,3% των *S. aureus* είναι MRSA στις παθολογικές κλινικές, το 69,8 % στις χειρουργικές και το 81,2 % στις Μ.Ε.Θ.
- Το 39,8% και το 24,6% των *K. pneumoniae* είναι ανθεκτικό στις κινολόνες και στις καρβαπενέμες αντίστοιχα στις παθολογικές κλινικές, το 50% και το 33,4% στις χειρουργικές και το 76,8 % και 82,7 % στις Μ.Ε.Θ.
- Το 21,2% των εντεροκόκκων είναι VRE στις παθολογικές κλινικές, το 10,6% στις χειρουργικές και το 22,6 % στις Μ.Ε.Θ.

Πηγή στοιχείων: «Ελληνικό Δίκτυο Μελέτης της Μικροβιακής Αντοχής» (WHONET).

Ως προς τα επικρατούντα μικροβιακά είδη, στα ελληνικά νοσοκομεία, και σε αντίθεση με τα νοσοκομεία της υπόλοιπης Ευρώπης, που χαρακτηρίζονται από τη συνεχή σχετική αύξηση της συχνότητας απομόνωσης Gram θετικών και κυρίως στελεχών *S. aureus*, καθώς και εντεροκόκκων, χαρακτηρίζονται από τη συνεχή σχετική διαχρονική αύξηση των Gram αρνητικών μικροοργανισμών, και κυρίως των ειδών *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* και *Klebsiella pneumoniae*.

Ήδη το *A. baumannii* ευθύνεται για το 3,5%, 9,2% και 15,4% των βακτηριαμιών στις παθολογικές κλινικές, στις χειρουργικές κλινικές και στις Μ.Ε.Θ. (1ο εξάμηνο 2007), ενώ τα αντίστοιχα ποσοστά για την *P. aeruginosa* είναι 4,4%, 6,0% και 8,1% και για την *K. pneumoniae* είναι 5,9%, 7,8% και 10,3%.

#### **4.5 Δεδομένα στην Ελλάδα**

Στην Ελλάδα υπάρχει στα πλαίσια του Εθνικού Οργανισμού Φαρμάκων βάση δεδομένων, η οποία δημιουργήθηκε το 1993 με βάση τους κανόνες και ορισμούς της Π.Ο.Υ. Στη βάση εισέρχονται ηλεκτρονικά και σε μηνιαία βάση τα δεδομένα πώλησης φαρμακευτικών ουσιών από τις φαρμακευτικές εταιρίες και τις φαρμακαποθήκες, στα οποία συμπεριλαμβάνονται και τα αντιβιοτικά. Τα δεδομένα διακρίνονται σε πωλήσεις προς τα φαρμακεία τα ιδιωτικά και τα φαρμακεία των νοσοκομείων.

Δεν υπάρχει δυνατότητα κατανομής ανά γεωγραφική περιοχή. Τα δεδομένα κατανάλωσης έχουν το πλεονέκτημα ότι περιλαμβάνουν τις πωλήσεις OTC, αλλά δε διακρίνουν τον ακριβή προορισμό των πωλήσεων με δεδομένα συνταγών. Επιπλέον, η κατανάλωση των ιδιωτικών νοσοκομείων και κλινικών περιλαμβάνεται στις πωλήσεις στην κοινότητα, αφού αυτά δε διαθέτουν φαρμακεία και η διακίνηση των φαρμάκων τους γίνεται μέσω ιδιωτικών φαρμακείων.

Από το 2004, ο Ε.Ο.Φ. διαθέτει και τα δεδομένα των παράλληλων εξαγωγών, όπως αυτά του διατίθενται από τις φαρμακευτικές εταιρίες.

Από το 2001, η χώρα μας συμμετέχει στο ευρωπαϊκό δίκτυο ESAC για την κατανάλωση αντιβιοτικών στην Ευρώπη, με δεδομένα κατανάλωσης που προέρχονται από τη βάση δεδομένων του Ε.Ο.Φ., και τα οποία αυτή τη στιγμή καλύπτουν το διάστημα 1997 - 2006. Από το 2004, η Ελλάδα είναι η πρώτη χώρα στην Ευρώπη σε συνολική κατανάλωση αντιβιοτικών, αφού η Γαλλία, που κατείχε τα πρωτεία, κατάφερε με εκστρατείες να μειώσει την κατανάλωσή της. Ιδιαίτερα υψηλή είναι η κατανάλωση στην κοινότητα, με έξαρση τους χειμερινούς μήνες και με κυρίαρχες ομάδες τις μακρολίδες, τις κεφαλοσπορίνες και τους αναστολείς (αμοξυκιλλίνη/ κλαβουλανικό). Όσον αφορά στη νοσοκομειακή κατανάλωση, η χώρα μας παρουσιάζει την υψηλότερη κατανάλωση σε προωθημένα αντιβιοτικά (Διαγράμματα).

Καταβάλλεται προσπάθεια όπως ο Ε.Ο.Φ. βελτιώσει την ποιότητα των δεδομένων, τα οποία να παρέχει σε τριμηνιαία βάση στη Διατομεακή Επιτροπή για την Αντιμετώπιση της Μικροβιακής Αντοχής.

## **5. Μέθοδοι προσδιορισμού αντιβιοαντοχής**

Η ταχεία ανάπτυξη της αντιβιοανθεκτικότητας στα βακτήρια είχε σαν αποτέλεσμα την ανάπτυξη τυποποιημένων μεθόδων για τον προσδιορισμό του βαθμού ευαισθησίας κάθε βακτηρίου σε συγκεκριμένα αντιβιοτικά. Αμέσως με την εισαγωγή των αντιβιοτικών για τη θεραπεία των νοσημάτων που προκαλούνται από βακτήρια άρχισαν να εφαρμόζονται και οι μέθοδοι ευαισθησίας, σχεδόν σε όλες τις χώρες του κόσμου. Αρχικά αυτό είχε σαν στόχο τον προσδιορισμό του πιο κατάλληλου και αποτελεσματικού αντιβιοτικού για τη θεραπεία συγκεκριμένων μολύνσεων (69). Για τον λόγο αυτό η αποτελεσματικότητα της δοκιμής είναι σημαντικός παράγων για τις δοκιμές ευαισθησίας, όπου απαιτούνται ακριβή και σταθερά στοιχεία. Κατά συνέπεια, τα εργαστήρια θα πρέπει να χρησιμοποιούν τυποποιημένες μεθόδους ευαισθησίας στα αντιβιοτικά και να υιοθετούν μέτρα για τον ποιοτικό έλεγχο των δοκιμών προκειμένου να εξασφαλίζεται η λήψη αξιόπιστων και επαναλαμβανόμενων στοιχείων ευαισθησίας (69).



Τα στοιχεία που καταγράφονται από τις δοκιμές ευαισθησίας θα πρέπει να αρχειοθετούνται και να χρησιμοποιούνται προκειμένου να διαπιστώνονται παρεκκλίσεις και διαφοροποιήσεις στα σχήματα ανθεκτικότητας που έχουν δημιουργηθεί από την εκλεκτική πίεση που ασκούν τα αντιβιοτικά. Επίσης τα στοιχεία μπορούν να χρησιμοποιηθούν προκειμένου να προσδιορίζονται και να μελετώνται οι τάσεις της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά ορισμένων στελεχών βακτηρίων σε ετήσια βάση (39, 71, 72, 73).

Όταν το βακτήριο χαρακτηρίζεται ως ανθεκτικό, τότε θεωρείται απίθανο να ανταποκριθεί σε θεραπεία με το συγκεκριμένο αντιβακτηριακό φάρμακο. Αντίθετα όταν χαρακτηρίζεται ως ευαίσθητο τότε δείχνει ότι το συγκεκριμένο αντιβακτηριακό φάρμακο θα έχει επιτυχή αποτελέσματα στη θεραπεία της μόλυνσης που οφείλεται στο συγκεκριμένο βακτήριο.

Όταν το βακτήριο χαρακτηρίζεται ως μέσης ευαισθησίας τότε θεωρείται ότι η πλέον πιθανή αντίδραση στο αντιβακτηριακό φάρμακο θα είναι μια ενδιάμεση ή απροσδιόριστη, εκτός από ειδικές περιπτώσεις όπου μπορεί να χρησιμοποιηθούν υψηλές συγκεντρώσεις του αντιβακτηριακού φαρμάκου ή αυτό συγκεντρώνεται επιλεκτικά στο σημείο της μόλυνσης (64, 73, 74).

Οι δοκιμές ευαισθησίας των βακτηρίων στα αντιβιοτικά ταξινομούνται σε δύο ομάδες με βάση αν ο προσδιορισμός της ευαισθησίας είναι ποιοτικός ή ποσοτικός. Τα αποτελέσματα είναι ποσοτικά όταν αναφέρεται η διάμετρος της ζώνης αναστολής ή η ελάχιστη συγκέντρωση αναστολής (MIC) και ποιοτικά όταν τα βακτήρια αναφέρονται ως ευαίσθητα, μέσης ευαισθησίας ή ανθεκτικά. Τα πλεονέκτημα του ποσοτικού προσδιορισμού της ευαισθησίας ενός βακτηρίου είναι ότι είναι δυνατό να συσχετιστεί αυτή η πληροφορία με τη γνώση των συγκεντρώσεων του φαρμάκου στους ιστούς του σώματός (76). Ο ποσοτικός προσδιορισμός της ευαισθησίας ενός βακτηρίου σε ένα συγκεκριμένο αντιβακτηριακό παράγοντα μπορεί να γίνει με διάφορες μεθόδους, όπως μέθοδος διάχυσης σε άγαρ, μέθοδος ενσωμάτωσης σε άγαρ και η μέθοδος διαδοχικών αραιώσεων (39).

## 5.1 Μέθοδος διάχυσης σε άγαρ (Kirby - Bauer)

Η μέθοδος διάχυσης δίσκων αντιβιοτικών σε άγαρ, επίσης γνωστή ως μέθοδος Kirby - Bauer, χρησιμοποιείται στα μικροβιολογικά εργαστήρια για περισσότερο από 70 χρόνια. Το ινστιτούτο CLSI (προηγουμένως NCCLS) υιοθετώντας τα βασικά βήματα της μεθόδου, που περιέγραψαν οι Bauer, Kirby και συνεργάτες το 1966, προτυποποίησε τη μέθοδο διάχυσης με δίσκους, ώστε τα αποτελέσματά της να είναι ακριβή και αναπαραγώγιμα.(9)

Στην δοκιμή διάχυσης σε άγαρ μια σταθερή συγκέντρωση αντιβακτηριακού φαρμάκου εμποτισμένη σε χάρτινους δίσκους ή δισκία τοποθετείται στην επιφάνεια του στερεού θρεπτικού υποστρώματος, το οποίο προηγουμένως έχει εμβολιαστεί με εναιώρημα βακτηρίου, του οποίου η ευαισθησία πρόκειται να προσδιοριστεί. Το αντιβακτηριακό φάρμακο διαχέεται στην επιφάνεια του θρεπτικού υποστρώματος κυκλοτερώς από τον χάρτινο δίσκο ή το δισκίο. Η συγκέντρωση του αντιβακτηριακού φαρμάκου μειώνεται όσο απομακρύνεται από το κέντρο του δίσκου ή του δισκίου. Αυτό εκθέτει το βακτήριο σε ποικιλία συγκεντρώσεων του φαρμάκου. Αποτέλεσμα της ύπαρξης του αντιβακτηριακού παράγοντα είναι να δημιουργείται ζώνη αναστολής ανάπτυξης του βακτηρίου. Η διάμετρος της ζώνης αναστολής μετριέται με χάρακα, διαβήτη ή ακόμα και με ηλεκτρονικό όργανο. Με γνώμονα την διάμετρο της ζώνης αναστολής για κάθε αντιβιοτικό και με τη βοήθεια πίνακα, το βακτήριο χαρακτηρίζεται ως ευαίσθητο, μέσης ευαισθησίας ή ανθεκτικό για κάθε αντιβακτηριακό παράγοντα που έχει χρησιμοποιηθεί (80).

Η μέθοδος διάχυσης σε άγαρ δίνει ποιοτικά ή ημιποσοτικά αποτελέσματα, όσον αφορά την ευαισθησία του βακτηρίου στα αντιβιοτικά (37). Η ελάχιστη συγκέντρωση αναστολής (MIC) ενός αντιβακτηριακού παράγοντα μπορεί να υπολογιστεί κατά προσέγγιση από την ζώνη αναστολής και οι τιμές αυτές της MIC έχουν χρησιμοποιηθεί προκειμένου να καθοριστούν τα σημεία διάκρισης (breakpoints) για τον χαρακτηρισμό των βακτηρίων ως ευαίσθητων ή ανθεκτικών (74, 82).

Η μέθοδος διάχυσης σε άγαρ είναι ικανοποιητική μόνον όταν ένα βακτήριο είναι πολύ ευαίσθητο ή πολύ ανθεκτικό (78). Η μέθοδος της διάχυσης σε άγαρ είναι απλή και εφαρμόζεται εύκολα, δίνει σταθερά αποτελέσματα και για την εφαρμογή της δεν απαιτείται ακριβός εργαστηριακός εξοπλισμός.

## 5.2 Μέθοδος ενσωμάτωσης σε άγαρ

Η μέθοδος ενσωμάτωσης σε άγαρ, πραγματοποιείται με ενσωμάτωση του κάθε ελεγχόμενου αντιβιοτικού σε άγαρ σε διαφορετικές συγκεντρώσεις.

Στη μέθοδο αυτή, σχηματίζονται επιφάνειες θρεπτικού υποστρώματος στις οποίες έχει ενσωματωθεί διάλυμα του ελεγχόμενου αντιβιοτικού στην επιθυμητή συγκέντρωση. Η συγκέντρωση του αντιβακτηριακού φαρμάκου είναι σταθερή σε όλη την επιφάνεια του τρυβλίου. Πραγματοποιείται ενοφθαλμισμός των τρυβλίων με εναιωρήματα των βακτηρίων  $n$  των οποίων η ευαισθησία πρόκειται να προσδιοριστεί. Μετά από επώαση παρατηρούνται και καταγράφονται τα αποτελέσματα. Η ανάπτυξη ή όχι του κάθε βακτηρίου υποδεικνύει την ευαισθησία του βακτηρίου στο κάθε αντιβιοτικό στις διάφορες συγκεντρώσεις (37).

Η μέθοδος διάχυσης σε άγαρ δίνει ποσοτικά αποτελέσματα με καθορισμό ελάχιστης συγκέντρωσης αναστολής (Minimum Inhibitory Concentration MIC) όσον αφορά την ευαισθησία του βακτηρίου στα αντιβιοτικά (37). Η ελάχιστη συγκέντρωση αναστολής (MIC) ενός αντιβακτηριακού παράγοντα υποδεικνύεται ανάλογα με την ανάπτυξη ή μη ανάπτυξη του βακτηρίου.

Οι δοκιμές αραίωσης σε άγαρ είναι παρόμοιες με την αντίστοιχη μέθοδο αραίωσης σε θρεπτικό ζυμό. Στην μέθοδο αυτή έχει αντικατασταθεί το υγρό θρεπτικό υπόστρωμα με ημίρρευστο ή στερεό θρεπτικό υπόστρωμα. Σε αυτή τη μέθοδο ο αντιβακτηριακός παράγοντας ενσωματώνεται σε διαδοχικές αραιώσεις σε θρεπτικό υπόστρωμα (θρεπτικό άγαρ). Στη συνέχεια σε κάθε τρυβλίο Petri επιστρώνεται στη επιφάνεια εναιώρημα του βακτηρίου που περιέχει συγκεκριμένο αριθμό κυττάρων και ελέγχεται η ανάπτυξη των

βακτηρίων μετά από επώαση. Με τη μέθοδο της αραιώσης σε θρεπτικό άγαρ προσδιορίζεται επίσης με ακρίβεια η ελάχιστη συγκέντρωση αναστολής ενός αντιβακτηριακού φαρμάκου (69). Η μέθοδος αν και δίνει ακριβή αποτελέσματα δεν εφαρμόζεται ευρέως διότι απαιτείται μεγάλος αριθμός τρυβλίων Petri προκειμένου να ελεγχθούν πολλοί αντιβακτηριακοί παράγοντες και σε πολλές συγκεντρώσεις.

### 5.3 Δοκιμές αραιώσης

Οι δοκιμές ευαισθησίας, όπου χρησιμοποιούνται αραιώσεις, είναι ποσοτικές δοκιμές που πραγματοποιούνται προκειμένου να καθοριστεί η ελάχιστη συγκέντρωση ενός αντιβακτηριακού φαρμάκου που απαιτείται προκειμένου να εμποδιστεί η ανάπτυξη του ή να προκληθεί ο θάνατος των βακτηρίων *in vitro*. Στις δοκιμές αυτές, συγκεκριμένη ποσότητα θρεπτικού ζωμού ή θρεπτικού άγαρ, στην οποία είναι διαλυμένη συγκεκριμένη ποσότητα ενός αντιβακτηριακού φαρμάκου εμβολιάζεται με εναιώρημα που περιέχει προκαθορισμένο αριθμό βακτηρίων και παρατηρείται η ανάπτυξη τους μετά από επώαση (71). Η μικρότερη συγκέντρωση του φαρμάκου όπου είναι ορατή η αναστολή της ανάπτυξης του βακτηρίου ορίζεται ως 'ελάχιστη συγκέντρωση αναστολής' (MIC) (69, 71, 74, 76).

Η μέθοδος προσδιορισμού της ελαχίστης συγκέντρωσης αναστολής είναι ποσοτική μέθοδος που χρησιμοποιείται ευρύτατα προκειμένου να μετρηθεί η ευαισθησία ενός βακτηρίου σε ένα αντιβιοτικό *in vitro*. Πλεονεκτεί στο ότι χρησιμοποιείται ένα ενιαίο σημείο αναφοράς για τα φάρμακα που είναι συνήθως βακτηριοστατικά, καθώς επίσης και για εκείνα που μπορεί να είναι βακτηριοκτόνα.

Η μέθοδος των διαδοχικών αραιώσεων σε θρεπτικό ζωμό μπορεί να εκτελεσθεί είτε σε δοκιμαστικούς σωλήνες (macrodilution method), είτε σε πλάκα μικροτιτλοποίησης (microdilution method).

Σε περιπτώσεις που θα πρέπει να ελεγχθεί μεγάλος αριθμός βακτηρίων έναντι πολλών αντιβακτηριακών σκευασμάτων τότε προτιμάται η μέθοδος των διαδοχικών αραιώσεων

σε θρεπτικό ζωμό σε μικροπλάκα (microdilution) διότι είναι ευκολότερη στην εκτέλεση και σε μικρότερο χρόνο εξετάζεται μεγάλος αριθμός δειγμάτων. Επίσης απαιτούνται σημαντικά μικρότερες ποσότητες αντιδραστηρίων για την εκτέλεσή της σε σχέση με την αντίστοιχη δοκιμή σε δοκιμαστικούς σωλήνες (macrodilution) (77).

### **Συγκριτικά χαρακτηριστικά των μεθόδων**

Τόσο οι δοκιμές της αραιώσης, όσο και αυτή της διάχυσης σε άγαρ θεωρούνται ως μέθοδοι αναφοράς για τον προσδιορισμό της ευαισθησίας των βακτηρίων στα αντιβιοτικά. Προκειμένου να επιλεγεί η καταλληλότερη και πιο αξιόπιστη δοκιμή ως μέθοδος αναφοράς για τον προσδιορισμό της ευαισθησίας των βακτηρίων διενεργήθηκαν συγκριτικές μελέτες μεταξύ των δοκιμών αραιώσης σε θρεπτικό ζωμό και της διάχυσης σε άγαρ (82, 83).

Το πλεονέκτημα του προσδιορισμού της MIC είναι ότι τα στοιχεία μπορεί να χρησιμοποιηθούν προκειμένου να περιγραφεί επακριβώς η ανθεκτικότητα των βακτηρίων. Το τελευταίο είναι ιδιαίτερα σημαντικό ειδικά για ένα πρόγραμμα επιτήρησης, όταν ακόμα και μικρές μεταβολές ή τάσεις, όσον αφορά την αντιβιοαντοχή συγκεκριμένων βακτηρίων θα πρέπει να ανιχνεύονται (79).

Οι χαρακτηρισμοί ευαίσθητο, ανθεκτικό ή μέσης ανθεκτικότητας είναι κοινοί σχεδόν σε όλες τις δοκιμές για τον έλεγχο της ευαισθησίας (ή ανθεκτικότητας) των βακτηρίων και προκύπτουν από τη σύγκριση με ένα σημείο διάκρισης (breakpoint) *in vitro* προκαθορισμένης συγκέντρωσης του αντιβακτηριακού φαρμάκου.

Στη μέθοδο διάχυσης σε άγαρ, ο προσδιορισμός του σημείου διάκρισης είναι έμμεσος, αλλά τελικά σχετίζεται επίσης με τους παραπάνω χαρακτηρισμούς. Η συγκέντρωση του αντιβακτηριακού φαρμάκου που έχει οριστεί ως σημείο διάκρισης είναι κατά ένα μεγάλο μέρος αυθαίρετο και βασίζεται σε ευρεία συναίνεση που σχετίζεται όμως με την πραγματικότητα. Τα σημεία διάκρισης καλύπτουν δύο στόχους: την θεραπευτική

σχετικότητα του φαρμάκου και την δυνατότητα να υπάρχουν ακριβή αποτελέσματα στην εργαστηριακή δοκιμή (73, 84).

Η ευαισθησία (ή ανθεκτικότητα) ενός βακτηριακού στελέχους δεν μπορεί να προσδιοριστεί άμεσα, αλλά συμπεραίνεται από την δραστικότητα του αντιβακτηριακού φαρμάκου. Η μέθοδος που χρησιμοποιείται συνηθέστερα για να προσδιοριστεί η δράση των αντιβακτηριακών φαρμάκων είναι ο προσδιορισμός της MIC. Για να μετατραπούν οι τιμές MIC στους χαρακτηρισμούς ευαίσθητο, μέσης ευαισθησίας ή ανθεκτικό, δηλαδή για να αξιολογηθεί εάν είναι δυνατό να αντιμετωπιστεί η μόλυνση από ένα συγκεκριμένο αντιβακτηριακό φάρμακο, γίνεται αναφορά στις κρίσιμες τιμές που συστήνονται από διεθνώς αναγνωρισμένες επιτροπές όπως η BSAC ή EUCAST. Οι κρίσιμες τιμές καθορίζονται αφού ληφθούν υπόψη τα αποτελέσματα βακτηριολογικών, φαρμακολογικών και κλινικών μελετών (84, 86). Διαπιστώνεται ότι μεταξύ των τιμών που προτείνονται από τις διάφορες επιτροπές παρατηρούνται διαφορές.

Η EUCAST δημοσιοποιεί πίνακες των MIC για ένα ευρύ φάσμα μικροοργανισμών και αντιμικροβιακών παραγόντων. Οι πίνακες προκύπτουν από δεδομένα που συλλέγονται από σχεδόν 20000 αναφορές των MIC από πηγές από όλο τον κόσμο. Οι διανομές περιλαμβάνουν MIC από εθνικές και διεθνείς μελέτες, όπως τα προγράμματα επιτήρησης αντιβιοαντοχής (Alexander, BSAC, ECO-SENS, MYSTIC, NORM και SENTRY), καθώς και τις αναφορές από δημοσιευμένα άρθρα, από τη φαρμακευτική βιομηχανία, από κτηνιατρικά προγράμματα και επιμέρους εργαστήρια. Ιστογράμματα οθόνη άγρια οργανισμών τύπου, μαζί με EUCAST κλινικά όρια και επιδημιολογικές τιμές αποκοπής (ECOFFs). Τα στοιχεία που παρατίθενται προκύπτουν από πληροφορίες από πολλές χρονικές περιόδους και πολλές χώρες και είναι συγκεντρωτικά.

## **ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

### **A. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ**

#### **1. Βακτήρια που ελέγχθηκαν**

Στα πλαίσια του μεταπτυχιακού προγράμματος πραγματοποιήθηκε έρευνα, η οποία οδήγησε στην απομόνωση και ταυτοποίηση βακτηρίων από τον ατμοσφαιρικό αέρα σε διάφορα τμήματα του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας.

Πιο συγκεκριμένα, έγινε συλλογή δειγμάτων ατμοσφαιρικού αέρα με φορητό δειγματολήπτη αέρα (Sartorius AirPort MD8 Air Sampler) σε φίλτρα ζελατίνης (υδατο-διαλυτό μέσο) με πόρους διαμέτρου 3  $\mu\text{m}$  και συνολική διάμετρο του φίλτρου όσο ένα τριβλίο petri (80 mm). Από κάθε σημείο δειγματοληψίας συλλέγονταν δύο δείγματα αέρα και τα δύο φίλτρα διαλύονταν επιτόπου, το ένα σε μη εκλεκτικό θρεπτικό υλικό (TSI) και το άλλο σε εκλεκτικό θρεπτικό υλικό (αιματούχο άγαρ COS). Στη συνέχεια τα τριβλία μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο, επώαστηκαν στους 37° C για 24 ώρες και ακολούθησαν δοκιμές για την ταυτοποίηση του κάθε οργανισμού. Μετά την ταυτοποίηση, ο καθαρός οργανισμός αποθηκεύτηκε σε γλυκερόλη και σε κατάψυξη στους -20° C.

Για τις ανάγκες της παρούσας έρευνας, οι οργανισμοί που ελέγχθηκαν για την αντοχή τους στα αντιβιοτικά, προέκυψαν μετά από απόψυξη του μίγματος της γλυκερόλης και ανα-καλλιέργεια του μικροοργανισμού στο αντίστοιχο τριβλίο και επώαση στους 37° C για 24 ώρες.

Οι δειγματοληψίες έγιναν από διαφορετικά τμήματα του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας, ώστε να διερευνηθεί η παρουσία κοινών ή όχι οργανισμών στα διάφορα τμήματα, οι διαφορές στην ανοχή σε κοινά αντιβιοτικά, κα.

Στον ακόλουθο πίνακα παρουσιάζονται τα βακτήρια που ελέγχθηκαν και τα σημεία από τα οποία συλλέχθηκαν:

Κωδικός	Απομονωμένος Οργανισμός	Τμήμα απομόνωσης
A1	<i>Staph. auricularis</i>	θάλαμος πνευμονολογικής
A2	<i>Staph. haemolyticus</i>	θάλαμος παθολογικής
A4	<i>Staph. epidermidis</i>	θάλαμος πνευμονολογικής
A5	<i>Staph. epidermidis</i>	ΤΕΠ κλειστή εφημερία
A6	<i>Staph. hominis</i>	Διάδρομος Ε.Ι. πρωινές ώρες
A7	<i>Staph. xylosus</i>	ΤΕΠ κλειστή εφημερία
A8	<i>Staph. capitis</i>	θάλαμος πνευμονολογικής
A9	<i>Staph. capitis</i>	θάλαμος πνευμονολογικής
A10	<i>Staph. haemolyticus</i>	θάλαμος παθολογικής
A11	<i>Enterococcus faecalis</i>	δίκλινο Πνευμονολογικής
A12	<i>Streptococcus ομάδος G</i>	Ε.Ι. παιδιατρικής
A13	<i>Enterococcus faecalis</i>	Ε.Ι. παιδιατρικής
A14	<i>Enterococcus faecalis</i>	δίκλινο Πνευμονολογικής
A15	<i>Chryseomonas luteola</i>	διάδρομος αναμονής σε Ε.Ι.
A16	<i>Flavimonas oryzihabitans</i>	διάδρομος αναμονής σε Ε.Ι.
A17	<i>Klebsiella oxytoca</i>	διάδρομος Ε.Ι. Γαστρ/κής
A18	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	διάδρομος Ε.Ι. πνευμονολογικής
A19	<i>Acinetobacter radioresistens</i>	θάλαμος πνευμονολογικής
A20	<i>Acinetobacter iwoffii</i>	διάδρομος Ε.Ι. Γαστρ/κής, Ρευματ/κής
A21	<i>Acinetobacter iwoffii</i>	ΣΑΒ κλειστή εφημερία
A22	<i>Acinetobacter iwoffii</i>	διάδρομος Ε.Ι. αναμονή πρωί
B1	<i>Enterococcus gallinarum</i>	παθολογική θάλαμος
B2	<i>Strept. salivarius</i>	ΜΕΘ
B3	<i>Aerococcus viridans</i>	ΜΕΘ



B4	<i>Staph. xylosus</i>	MEΘ
B5	<i>Staph. xylosus</i>	MEΘ
B6	<i>Staph. xylosus</i>	MEΘ
B7	<i>Acinetobacter baumannii</i>	MEΘ
B8	<i>Acinetobacter baumannii</i>	MEΘ
B9	<i>Acinetobacter baumannii</i>	MEΘ
B10	<i>Acinetobacter baumannii</i>	MEΘ
B11	<i>Acinetobacter baumannii</i>	MEΘ
B12	<i>Acinetobacter baumannii</i>	παθολογική θάλαμος
B13	<i>Acinetobacter baumannii</i>	παθολογική θάλαμος
B14	<i>Staph. warneri</i>	παθολογική θάλαμος
B15	<i>Staph. warneri</i>	παθολογική θάλαμος
B16	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	MEΘ
B17	<i>Escherichia vulneris</i>	παθολογική θάλαμος
B18	<i>Staph. hominis</i>	παθολογική θάλαμος
B19	<i>Acinetobacter baumannii</i>	παθολογική θάλαμος
B20	<i>Staph. hominis</i>	παθολογική θάλαμος
B21	<i>Staph. hominis</i>	παθολογική θάλαμος

Πίνακας A-1 Πίνακας των βακτηρίων που ελέγχθηκαν και χώροι του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας από τους οποίους απομονώθηκαν

## 2. Αντιβιοτικά που χρησιμοποιήθηκαν

Για την έρευνα επιλέχθηκε ένα αντιβιοτικό αντιπροσωπευτικό από όλες τις σπουδαιότερες ομάδες αντιβιοτικών, ώστε να διερευνηθεί η αντοχή που έχει αναπτύξει

κάθε βακτήριο σε όλες τις ομάδες, χωρίς να ληφθεί υπόψη η συνήθης επιλογή που γίνεται για την αντιμετώπιση του καθενός.

Αναλυτικά, ελέγχθηκαν:

- η αμπικιλίνη και η πενικιλίνη ως εκπρόσωποι της ομάδας των πενικιλινών,
- η βανκομυκίνη ως εκπρόσωπος της ομάδας των γλυκοπεπτιδίων,
- η ερυθρομυκίνη ως εκπρόσωπος της ομάδας των μακρολιδών,
- το ναλιδιξικό οξύ ως εκπρόσωπος της ομάδας των κινολονών,
- η γενταμυκίνη ως εκπρόσωπος της ομάδας των αμινογλυκοσιδών,
- η τετρακυκλίνη και η χλωραμφενικόλη ως εκπρόσωποι των αντιβιοτικών ευρέως φάσματος.

Τα αντιβιοτικά και οι ομάδες των βακτηρίων στις οποίες δοκιμάστηκε το καθένα, φαίνονται στον ακόλουθο πίνακα:

	Staphylococcus	Streptococcus	Streptococcus ομάδος G	Enterococcus	Pseudomonadaceae	Acinetobacter	Enterobacteriaceae
Ampicillin	-	+	-	+	-	-	+
Erythromycin	+	+	+	-	-	-	-
Gentamicin sulfate salt	+	-	-	-	+	+	+
Nalidixic acid	+	+	+	-	+	+	+
Tetracycline	+	+	+	-	-	-	-
Vancomycin Hydrochloride	+	+	+	+	-	-	-
Chloramphenicol	+	+	+	+	-	-	+
Penicillin	-	+	-	+	+	-	+

Methicilin	+	+	+	+	-	-	-
------------	---	---	---	---	---	---	---

+	Ελέγχθηκε
-	Δεν ελέγχθηκε

Πίνακας Α-2. Λίστα αντιβιοτικών που ελέγχθηκαν κατά την έρευνα

## 2.1 Σημεία διάκρισης (breakpoints)

Πιο συγκεκριμένα, προκειμένου να οριστούν τα ευαίσθητα και ανθεκτικά βακτήρια, αλλά και να προσδιοριστεί η ελάχιστη συγκέντρωση αναστολής (MIC), τα σημεία διάκρισης επελέγησαν από τους πίνακες που δημοσιεύει η Ευρωπαϊκή Επιτροπή Ελέγχου Αντιμικροβιακής ευαισθησίας (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing - EUCAST).

	Ampicillin (mg/L)	Erythromycin (mg/L)	Gentamicin sulfate salt (mg/L)	Nalidixic acid (mg/L)	Tetracycline (mg/L)	Vancomycin Hydrochloride (mg/L)	Chloramphenicol (mg/L)	Penicillin (mg/L)	Methicilin (mg/L)
<i>Staphylococcus</i>	-	2	1	1	2	2	8	-	2
<i>Streptococcus</i>	2	0	-	4	2	2	8	2	2
<i>Streptococcus</i> ομάδα G	-	0	-	2	2	2	8	-	2
<i>Enterococcus</i>	8	-	-	-	-	4	-	8	4
<i>Pseudomonadaceae</i>	-	-	4	2	-	-	-	16	-
<i>Acinetobacter</i>	-	-	4	2	-	-	-	16	-

<i>Enterobacteriaceae</i>	8	-	4	2	-	-	8	16	-
Other <i>streptococci</i>	2	-	-	-	-	2	-	2	-

Πίνακας A-3. Συγκέντρωση αντιβιοτικού στο σημείο διάκρισης (breakpoints) σύμφωνα με τη EUCAST

### **3. Μέθοδος προσδιορισμού ελάχιστης συγκέντρωσης αναστολής (minimum inhibitory concentration, MIC) με τη μέθοδο των διαδοχικών αραιώσεων σε μικροπλάκα (microdilution method)**

Τα βασικά βήματα της μεθόδου είναι τα ακόλουθα:

1. Δημιουργία μητρικών διαλυμάτων αντιβιοτικών
2. Δημιουργία αραιώσης χρήσης
3. Τοποθέτηση αντιβιοτικών στις μικροπλάκες
4. Συντήρηση μικροπλακών
5. Δημιουργία εναιωρήματος βακτηρίου
6. Εμβολιασμός εναιωρήματος στη μικροπλάκα
7. Επώαση
8. Ανάγνωση αποτελεσμάτων

Πριν από κάθε ενέργεια κατά τη διάρκεια της διαδικασίας για τον προσδιορισμό της ανθεκτικότητας των βακτηρίων σε αντιβακτηριακές ουσίες λήφθηκαν όλα τα απαραίτητα μέτρα προστασίας, έτσι ώστε να εξασφαλίζεται απόλυτα η ασφάλεια του χειριστή και να αποκλείεται η επαφή του με ερεθιστικούς ή τοξικούς παράγοντες που πιθανόν να περιέχονται στα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν για τη διενέργεια της εξέτασης. Επίσης, κατά τη διάρκεια προετοιμασίας του εναιωρήματος των βακτηρίων λήφθηκαν όλα τα απαραίτητα μέτρα, έτσι ώστε να αποκλείεται η μόλυνση τόσο του χειριστή, όσο και του περιβάλλοντος από βακτήρια με υψηλή παθογόνο δράση.

### 3.1. Προετοιμασία μητρικών διαλυμάτων αντιβιοτικών

Τα αντιβιοτικά που χρησιμοποιήθηκαν ήταν υπό μορφή σκόνης. Κάθε αντιβιοτικό διαλύθηκε στο αντίστοιχο κατάλληλο διαλυτικό σε αποστειρωμένο δοχείο.

Ο υπολογισμός της ποσότητας του αντιβιοτικού, όπως επίσης και του όγκου του διαλύτη που χρησιμοποιήθηκε έγινε με τη χρήση της ακόλουθης εξίσωσης :

$$(1000/P) \times V \times C=W$$

**P** = Η συγκέντρωση του αντιβιοτικού στη μονάδα του βάρους (καθαρότητα) (mg/mg)

**V** = Ο τελικός όγκος του διαλύματος σε ml που θα προκύψει (ml)

**C** = Η τελική συγκέντρωση του αντιβιοτικού που θα προκύψει (mg/l)

**W** = Το βάρος του αντιβιοτικού που θα διαλυθεί στον όγκο V (ml)

Τα μητρικά διαλύματα όλων των αντιβιοτικών χρησιμοποιήθηκαν για τη δημιουργία των διαλυμάτων χρήσης και οι ποσότητες που δεν χρησιμοποιήθηκαν διατηρήθηκαν σε κατάψυξη και σε θερμοκρασία  $-20^{\circ}\text{C}$ , σε περίπτωση που θα χρειαζόταν η δημιουργία εκ νέου κάποιου διαλύματος χρήσης.

### 3.2 Δημιουργία αραιώσης χρήσης

Η συγκέντρωση των μητρικών διαλυμάτων ήταν δεκαπλάσια από την αρχική συγκέντρωση των διαλυμάτων χρήσης . Με την απαραίτητη αραιώση, με τον αντίστοιχο διαλύτη για κάθε αντιβιοτικό, δημιουργήθηκαν τα τελικά διαλύματα χρήσης των αντιβιοτικών, τα οποία αποθηκεύτηκαν σε ψύξη σε θερμοκρασία  $2^{\circ}\text{C}$ , όχι για διάστημα μεγαλύτερο των 7 ημερών.

### **3.3 Τοποθέτηση των αντιβιοτικών στις μικροπλάκες**

Χρησιμοποιήθηκαν πλάκες μικροτιτλοποίησης με 96 βοθρία (8 x 12) με πυθμένα σχήματος U.

Αρχικά , σε όλα τα βοθρία της μικρόπλακας τοποθετήθηκαν 100μl θρεπτικού ζωμού Mueller-Hinton.

Η προετοιμασία του ζωμού Mueller-Hinton με ρυθμισμένα κατιόντα Ca, Mg (CAMHB) έγινε ως ακολούθως: πραγματοποιήθηκε διάλυση ποσότητας σκόνης CAMHB (BBL™ Mueller Hinton II Broth (Cation-Adjusted Cat. No. 212322) σε αποστειρωμένο νερό και ο ζωμός τοποθετήθηκε σε περιέκτη με βιδωτό καπάκι. Στη συνέχεια έγινε αποστείρωση σε θερμοκρασία 121° C και σε 2 ατμόσφαιρες για 15 min. Ο περιέκτης ψύχθηκε στους 2° C - 8° C για μερικές ώρες και στη συνέχεια αποθηκεύτηκε στους 2° C - 8° C.

Σε κάθε βοθρίο στην πρώτη σειρά κάθε μικροπλάκας τοποθετήθηκαν 100μl από κάθε διάλυμα χρήσης του κάθε αντιβιοτικού. Από τα πρώτα βοθρία της πρώτης σειράς, 100μl μεταφέρθηκαν στα επόμενα βοθρία της δεύτερης σειράς. Από τα βοθρία αυτά 100μl μεταφέρθηκαν στα επόμενα βοθρία της τρίτης σειράς, κ.ο.κ. Από τα βοθρία της όγδοης σειράς αφαιρέθηκαν 100μl και απορρίφθηκαν. Μετά την ολοκλήρωση της διαδικασίας , όλα τα βοθρία περιείχαν 100μl διαλύματος θρεπτικού ζωμού με διαφορετικές συγκεντρώσεις των αντιβιοτικών. Σε κάθε στήλη κάθε βοθρίο είχε συγκέντρωση αντιβιοτικού υποδιπλάσια του προηγούμενου, ενώ το πρώτο βοθρίο είχε υποδιπλάσια της υπολογισμένης συγκέντρωσης του αρχικού διαλύματος χρήσης.

### **3.4 Συντήρηση μικροπλακών**

Οι μικροπλάκες καλύφθηκαν με αυτοκόλλητη μεμβράνη για την αποφυγή εξάτμισης και αποθηκεύτηκαν προσωρινά σε ψύξη στους 2°C, έως ότου δημιουργηθούν και τα εναιωρήματα των βακτηρίων. Ο εμβολιασμός των μικροπλακών με τα βακτήρια

πραγματοποιήθηκε την ίδια ημέρα. Σε διαφορετική περίπτωση οι μικροπλάκες θα αποθηκεύονταν σε κατάψυξη στους  $-20^{\circ}\text{C}$ .

### **3.5 Δημιουργία εναιωρήματος βακτηρίου**

Προκειμένου τα αποτελέσματα του προσδιορισμού να είναι αξιόπιστα, ο αριθμός των βακτηρίων που επρόκειτο να ενοφθαλμιστούν σε κάθε βοθρίο της μικροπλάκας, έπρεπε να είναι σταθερός και προσδιορισμένος με ακρίβεια. Για αυτό το λόγο ακολουθήθηκε συγκεκριμένη διαδικασία παρασκευής των εναιωρημάτων των βακτηρίων.

Από τα αποθηκευμένα σε γλυκερόλη βακτήρια έγιναν καλλιέργειες από τις οποίες δημιουργήθηκαν εναιωρήματα σύμφωνα με την παρακάτω διαδικασία:

Από τις καλλιέργειες (24 ωρών) λήφθηκαν αποικίες με βαμβακοφόρο στυλεό και αναμίχθηκαν με API Suspension medium. Με τη χρήση θολερόμετρου επιτεύχθηκε θολερότητα ίση με 0,5 της κλίμακας McFarland, το οποίο αντιστοιχεί σε συγκέντρωση βακτηρίου ίση με  $5 \times 10^5$  CFU/ml.

Η κλίμακα προτύπων McFarland, είναι μία σειρά διαλυμάτων η οποία χρησιμοποιείται ως κλίμακα θολερότητας. Τα διάφορα πρότυπα, τα οποία δημιουργούνται με την ανάμιξη χλωριούχου βαρίου και θειικού οξέως για τη δημιουργία άλατος θειικού βαρίου, προκύπτουν με την μεταβολή των όγκων του χλωριούχου βαρίου και θειικού οξέως.

Το εναιώρημα εμβολιασμού προετοιμάστηκε λίγο πριν από τον εμβολιασμό της μικροπλάκας.

### **3.6 Εμβολιασμός εναιωρήματος στη μικροπλάκα**

Για να πραγματοποιηθεί ο εμβολιασμός των μικροπλακών με τα εναιωρήματα των βακτηρίων, οι μικροπλάκες αφέθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου για 1 ώρα, ώστε να αποκτήσουν την αντίστοιχη θερμοκρασία. Με τη χρήση αποστειρωμένων ρυγχών και 8 κánaλης πολυπιπέτας μεταφέρθηκαν 100 μl εναιωρήματος εμβολιασμού σε κάθε βοθρίο της μικροπλάκας. Μετά την πλήρωση αναμίχθηκε το περιεχόμενο κάθε βοθρίου με ήπια ανάδευση της μικροπλάκας.

### **3.7 Επώαση**

Οι μικροπλάκες καλύφθηκαν με αυτοκόλλητη μεμβράνη, έτσι ώστε να αποφεύγεται η εξάτμιση, και τοποθετήθηκαν στον επωαστικό κλίβανο σε θερμοκρασία 37° C για 24 ώρες.

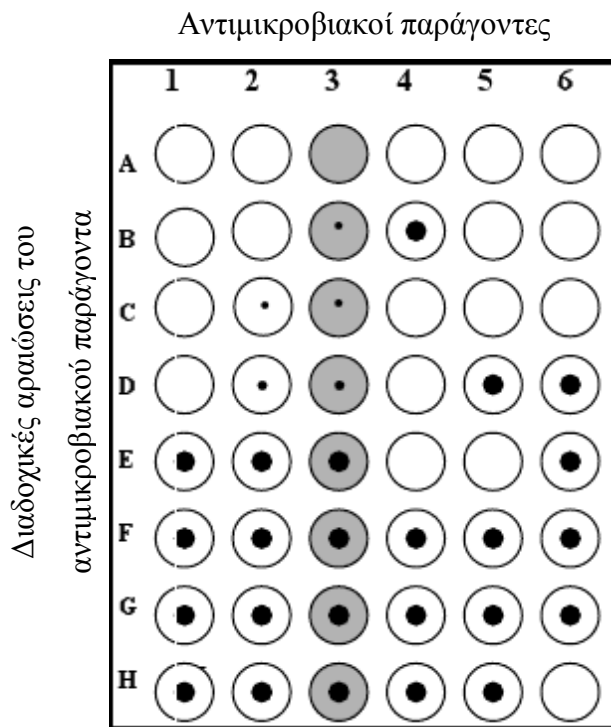
### **3.8 Ανάγνωση αποτελεσμάτων**

Μετά το πέρας των 24 ωρών, οι μικροπλάκες απομακρύνθηκαν από τον επωαστικό κλίβανο και παρατηρήθηκαν, ώστε να καταγραφούν τα αποτελέσματα.

Ελέγχθηκαν όλα τα βοθρία, όσον αφορά τη θολερότητα του περιεχομένου τους. Στα βοθρία όπου διαπιστώθηκε ίζημα (κουμπί) στον πυθμένα, θεωρείται ότι η συγκεκριμένη συγκέντρωση του αντιβιοτικού δεν ανέστειλε την ανάπτυξη του βακτηρίου (βακτήριο ανθεκτικό).

Οι πλάκες αναγνώστηκαν σύμφωνα με την ακόλουθη γενική κατεύθυνση (10) :





Στήλη 1: τυπική και αναμενόμενη ανάπτυξη - MIC είναι η συγκέντρωση που βρίσκεται στο βοθρίο D

Στήλη 2: εξασθενούμενη ανάπτυξη - MIC είναι η συγκέντρωση που βρίσκεται στο βοθρίο C

Στήλη 3: εξασθενούμενη ανάπτυξη - MIC είναι η συγκέντρωση που βρίσκεται στο βοθρίο C

Στήλη 4: μόλυνση απομονωμένου βοθρίου - MIC είναι η συγκέντρωση που βρίσκεται στο βοθρίο E

Στήλη 5: ατυχώς μη εμβολιασμένο βοθρίο - MIC είναι η συγκέντρωση που βρίσκεται στο βοθρίο C

Στήλη 6: ατυχώς μη εμβολιασμένο βοθρίο - MIC είναι η συγκέντρωση που βρίσκεται στο βοθρίο C



Σημειώνεται, πως η πλήρωση των πλακών έγινε έτσι ώστε η αναμενόμενη βιβλιογραφική MIC να εμφανίζεται στο έκτο βοθρίο (F) κάθε στήλης.

### 3.9 Επεξεργασία αποτελεσμάτων

Μετά την καταγραφή των αποτελεσμάτων, έγινε μεταφορά των αποτελεσμάτων στο πρόγραμμα Excel (Microsoft Office) για την ευκολότερη επεξεργασία τους.

## B. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στην παρουσίαση των ποιοτικών αποτελεσμάτων, σημειώνονται με **A (ανθεκτικά)** τα βακτήρια που παρουσίασαν ανθεκτικότητα μεγαλύτερη της αναμενόμενης συγκέντρωσης αναστολής και με **E (ευαίσθητα)** τα βακτήρια που παρουσίασαν ευαισθησία. Ακολούθως παρουσιάζονται τα ποσοτικά αποτελέσματα, συγκρινόμενα με την αναμενόμενη βιβλιογραφική ελάχιστη συγκέντρωση αναστολή για κάθε βακτήριο.

Πίνακας B-1 - Πίνακας ποιοτικών αποτελεσμάτων

		Ampicillin	Erythromycin	Gentamicin sulfate salt	Nalidixic acid	Tetracycline	Vancomycin Hydrochloride	Chloramphenicol	Penicillin	Methicilin
A1	<i>Staph. Auricularis</i>	-	A	E	A	E	A	E	-	E
A2	<i>Staph. Haemolyticus</i>	-	A	E	A	A	E	E	-	E
A4	<i>Staph. Epidermidis</i>	-	A	A	A	A	E	A	-	A
A5	<i>Staph. Epidermidis</i>	-	E	E	A	E	E	E	-	E
A6	<i>Staph. Hominis</i>	-	A	E	A	E	E	E	-	E
A7	<i>Staph. Xylosus</i>	-	A	A	A	A	E	E	-	A
A8	<i>Staph. Capitis</i>	-	A	A	A	A	E	A	-	A
A9	<i>Staph. Capitis</i>	-	E	E	A	E	E	E	-	E
A10	<i>Staph. Haemolyticus</i>	-	A	A	A	A	A	E	-	A
B4	<i>Staph. Xylosus</i>	-	A	A	A	A	A	A	-	A
B5	<i>Staph. Xylosus</i>	-	A	A	A	A	E	A	-	A
B6	<i>Staph. Xylosus</i>	-	A	A	A	A	E	E	-	A
B14	<i>Staph. Warneri</i>	-	E	E	A	E	A	A	-	A
B15	<i>Staph. Warneri</i>	-	E	E	A	E	A	A	-	A
B18	<i>Staph. Hominis</i>	-	E	E	E	E	A	A	-	A
B20	<i>Staph. Hominis</i>	-	E	E	E	E	A	A	-	A
B21	<i>Staph. Warneri</i>	-	E	E	A	E	A	A	-	A
B2	<i>Strept. Salivarius</i>	E	E	-	E	E	E	E	E	E
A12	<i>Streptococcus ομάδος G</i>	-	E	-	E	E	E	E	-	E
A11	<i>Enterococcus Faecalis</i>	A	-	-	-	-	E	-	A	A
A13	<i>Enterococcus Faecalis</i>	E	-	-	-	-	E	-	E	A
A14	<i>Enterococcus Faecalis</i>	E	-	-	-	-	E	-	E	A
B1	<i>Enterococcus</i>	E	-	-	-	-	E	-	A	A

	<i>Gallinarum</i>									
B3	<i>Aerococcus Viridans</i>	E	-	-	-	-	E	-	E	-
A15	<i>Chryseomonas Luteola</i>	-	-	E	A	-	-	-	A	-
A16	<i>Flavimonas Oryzihabitans</i>	-	-	A	A	-	-	-	A	-
A18	<i>Pseudomonas Fluorescens</i>	-	-	E	A	-	-	-	A	-
A19	<i>Acinetobacter Radioresistens</i>	-	-	A	A	-	-	-	A	-
A20	<i>Acinetobacter Iwoffii</i>	-	-	E	E	-	-	-	E	-
A21	<i>Acinetobacter Iwoffii</i>	-	-	E	E	-	-	-	E	-
A22	<i>Acinetobacter Iwoffii</i>	-	-	E	E	-	-	-	E	-
B19	<i>Acinetobacter Baumannii</i>	-	-	A	A	-	-	-	A	-
B7	<i>Acinetobacter Baumannii</i>	-	-	A	A	-	-	-	A	-
B8	<i>Acinetobacter Baumannii</i>	-	-	A	A	-	-	-	A	-
B9	<i>Acinetobacter Baumannii</i>	-	-	A	A	-	-	-	A	-
B10	<i>Acinetobacter Baumannii</i>	-	-	A	A	-	-	-	A	-
B11	<i>Acinetobacter Baumannii</i>	-	-	A	A	-	-	-	A	-
B12	<i>Acinetobacter Baumannii</i>	-	-	A	A	-	-	-	A	-
B13	<i>Acinetobacter Baumannii</i>	-	-	A	A	-	-	-	A	-
B16	<i>Klebsiella Pneumoniae</i>	A	-	E	A	-	-	A	A	-
B17	<i>Escherichia Vulneris</i>	E	-	E	A	-	-	E	A	-
A17	<i>Klebsiella Oxytoca</i>	E	-	E	A	-	-	E	E	-

Επεξήγηση χρωμάτων και συμβόλων:

A	Ανθεκτικό
E	Ευαίσθητο
-	Δεν ελέγχθηκε

Πίνακας Β-2 - Πίνακας ποσοτικών αποτελεσμάτων

		Ampicillin	Erythromycin	Gentamicin sulfate salt	Nalidixic acid	Tetracycline	Vancomycin Hydrochloride	Chloramphenicol	Penicillin	Methicilin
A1	<i>Staph. Auricularis</i>	-	2 x MIC	E	16 x MIC	E	2 x MIC	E	-	E
A2	<i>Staph. Haemolyticus</i>	-	A	E	8 x MIC	16 x MIC	E	E	-	2 x MIC
A4	<i>Staph. Epidermidis</i>	-	A	16 x MIC	8 x MIC	2 x MIC	E	2 x MIC	-	16 x MIC
A5	<i>Staph. Epidermidis</i>	-	E	E	8 x MIC	E	E	E	-	E
A6	<i>Staph. Hominis</i>	-	4 x MIC	E	8 x MIC	E	E	E	-	E
A7	<i>Staph. Xylosus</i>	-	A	8 x MIC	A	16 x MIC	E	E	-	2 x MIC
A8	<i>Staph. Capitis</i>	-	A	8 x MIC	A	A	E	8 x MIC	-	2 x MIC
A9	<i>Staph. Capitis</i>	-	E	E	A	E	E	E	-	E
A10	<i>Staph. Haemolyticus</i>	-	A	16 x MIC	A	8 x MIC	2 x MIC	E	-	8 x MIC
B4	<i>Staph. Xylosus</i>	-	A	A	A	16 x MIC	2 x MIC	4 x MIC	-	A
B5	<i>Staph. Xylosus</i>	-	A	8 x MIC	A	8 x MIC	E	4 x MIC	-	2 x MIC
B6	<i>Staph. Xylosus</i>	-	A	8 x MIC	A	8 x MIC	E	E	-	2 x MIC
B14	<i>Staph. Warneri</i>	-	E	E	2 x MIC	E	8 x MIC	8 x MIC	-	8 x MIC
B15	<i>Staph. Warneri</i>	-	E	E	2 x MIC	E	8 x MIC	8 x MIC	-	8 x MIC
B18	<i>Staph. Hominis</i>	-	E	E	E	E	8 x MIC	8 x MIC	-	8 x MIC
B20	<i>Staph. Hominis</i>	-	E	E	E	E	8 x MIC	8 x MIC	-	8 x MIC
B21	<i>Staph. Warneri</i>	-	E	E	2 x MIC	E	8 x MIC	8 x MIC	-	8 x MIC
B2	<i>Strept. Salivarius</i>	E	E	-	E	E	E	E	E	E
A12	<i>Streptococcus</i>	-	E	-	E	E	E	E	-	E

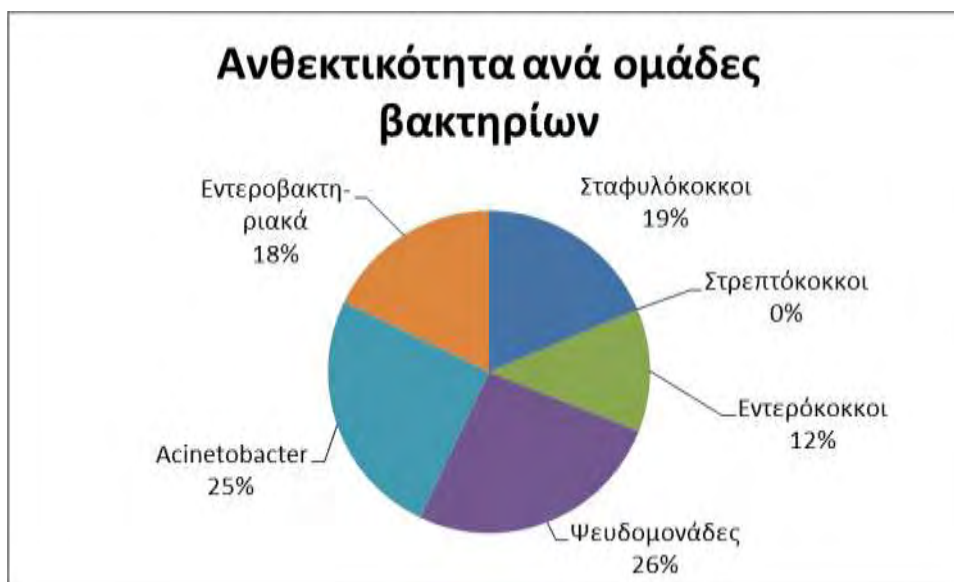
	<i>ομάδος G</i>									
A11	<i>Enterococcus Faecalis</i>	2 x MIC	-	-	-	-	E	-	8 x MIC	8 x MIC
A13	<i>Enterococcus Faecalis</i>	E	-	-	-	-	E	-	E	8 x MIC
A14	<i>Enterococcus Faecalis</i>	E	-	-	-	-	E	-	E	8 x MIC
B1	<i>Enterococcus Gallinarum</i>	E	-	-	-	-	E	-	8 x MIC	A
B3	<i>Aerococcus Viridans</i>	E	-	-	-	-	E	-	E	-
A15	<i>Chryseomonas Luteola</i>	-	-	E	4 x MIC	-	-	-	16 x MIC	-
A16	<i>Flavimonas Oryzihabitans</i>	-	-	16 x MIC	4 x MIC	-	-	-	4 x MIC	-
A18	<i>Pseudomonas Fluorescens</i>	-	-	E	8 x MIC	-	-	-	16 x MIC	-
A19	<i>Acinetobacter Radioresistens</i>	-	-	4 x MIC	8 x MIC	-	-	-	4 x MIC	-
A20	<i>Acinetobacter Iwoffii</i>	-	-	E	E	-	-	-	E	-
A21	<i>Acinetobacter Iwoffii</i>	-	-	E	E	-	-	-	E	-
A22	<i>Acinetobacter Iwoffii</i>	-	-	E	E	-	-	-	E	-
B19	<i>Acinetobacter Baumannii</i>	-	-	16 x MIC	8 x MIC	-	-	-	4 x MIC	-
B7	<i>Acinetobacter Baumannii</i>	-	-	16 x MIC	8 x MIC	-	-	-	4 x MIC	-
B8	<i>Acinetobacter Baumannii</i>	-	-	16 x MIC	16 x MIC	-	-	-	8 x MIC	-
B9	<i>Acinetobacter Baumannii</i>	-	-	16 x MIC	8 x MIC	-	-	-	4 x MIC	-
B10	<i>Acinetobacter Baumannii</i>	-	-	16 x MIC	8 x MIC	-	-	-	16 x MIC	-
B11	<i>Acinetobacter Baumannii</i>	-	-	16 x MIC	8 x MIC	-	-	-	4 x MIC	-
B12	<i>Acinetobacter Baumannii</i>	-	-	16 x MIC	8 x MIC	-	-	-	4 x MIC	-
B13	<i>Acinetobacter Baumannii</i>	-	-	16 x MIC	8 x MIC	-	-	-	4 x MIC	-
B16	<i>Klebsiella Pneumoniae</i>	A	-	E	4 x MIC	-	-	4 x MIC	A	-
B17	<i>Escherichia Vulneris</i>	E	-	E	2 x MIC	-	-	E	8 x MIC	-
A17	<i>Klebsiella Oxytoca</i>	E	-	E	4 x MIC	-	-	E	E	-

Επεξήγηση χρωμάτων και συμβόλων:

E	Ευαίσθητο
A	Ανθεκτικό
2 x MIC	Ευαίσθητο σε 2πλάσια συγκέντρωση αντιβιοτικού από τη βιβλιογραφική και αναμενόμενη MIC
4 x MIC	Ευαίσθητο σε 4πλάσια συγκέντρωση αντιβιοτικού από τη βιβλιογραφική και αναμενόμενη MIC
8 x MIC	Ευαίσθητο σε 8πλάσια συγκέντρωση αντιβιοτικού από τη βιβλιογραφική και αναμενόμενη MIC
16 x MIC	Ευαίσθητο σε 16πλάσια συγκέντρωση αντιβιοτικού από τη βιβλιογραφική και αναμενόμενη MIC
-	Δεν ελέγχθηκε

Αναλυτικά, τα αποτελέσματα είναι τα ακόλουθα:

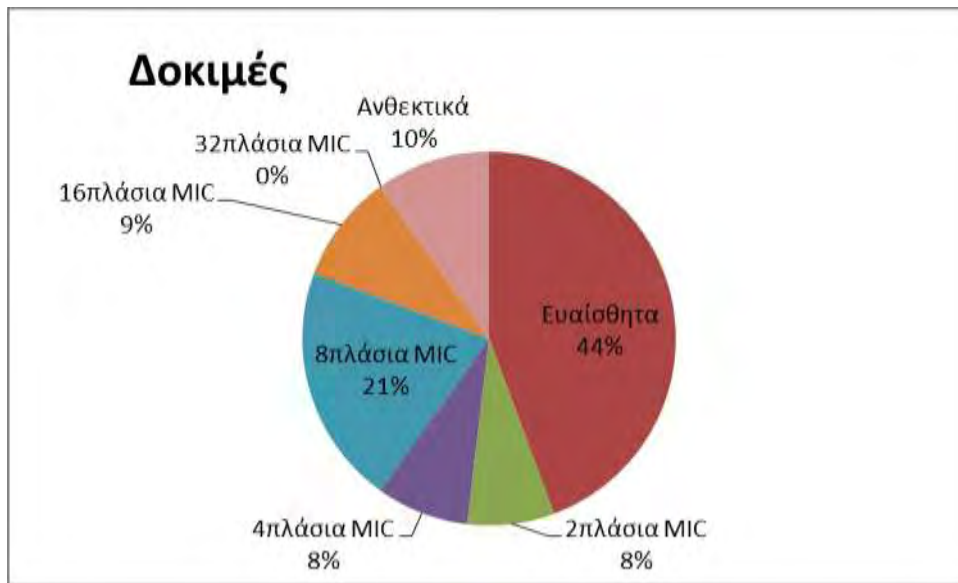
Πιο ανθεκτική βρέθηκε η ομάδα των ψευδομονάδων, με ελάχιστη διαφορά από την ομάδα των *acinetobacter*, ενώ ακολουθούν οι σταφυλόκοκκοι, τα εντεροβακτηριακά και οι εντερόκοκκοι, αφήνοντας τελευταίους τους στρεπτόκοκκους, οι οποίοι βρέθηκαν ευαίσθητοι σε όλα τα αντιβιοτικά στους οποίους δοκιμάστηκαν.



Σχήμα Β-1. Ανθεκτικότητα ανά ομάδες βακτηρίων

Το 44,34% των δοκιμών (συνδυασμοί βακτηρίων-αντιβιοτικών) βρέθηκαν ευαίσθητα στην προβλεπόμενη από τη EUCAST ελάχιστη συγκέντρωση αντιβιοτικού (MIC), ενώ το υπόλοιπο 55,66% βρέθηκαν από πλήρως ανθεκτικά έως ανθεκτικά στη διπλάσια

συγκέντρωση του αντιβιοτικού. Πιο αναλυτικά το 7,55% βρέθηκε ευαίσθητο στη διπλάσια συγκέντρωση αντιβιοτικού, το 8,01% στην τετραπλάσια συγκέντρωση, το 20,75% στην οκταπλάσια συγκέντρωση, το 9,44% στην δεκαεξαπλάσια και σε 9,91% η συγκέντρωση του αντιβιοτικού δεν οδήγησε σε αναστολή της ανάπτυξης του βακτηρίου.



Σχήμα Β-2. Αποτελέσματα δοκιμών σε σχέση με την αναμενόμενη βιβλιογραφική MIC σύμφωνα με την EUCAST.

Έντεκα βακτήρια (ποσοστό 26,19%) βρέθηκαν ανθεκτικά σε όλα τα αντιβιοτικά που ελέγχθηκαν (B4, B19, B7, B8, B9, B10, B11, B12, B13, A16, A19), ενώ έξι βακτήρια (ποσοστό 14,29%) βρέθηκαν ευαίσθητα σε όλα τα αντιβιοτικά (B2, A12, B3, A20, A21, A22).

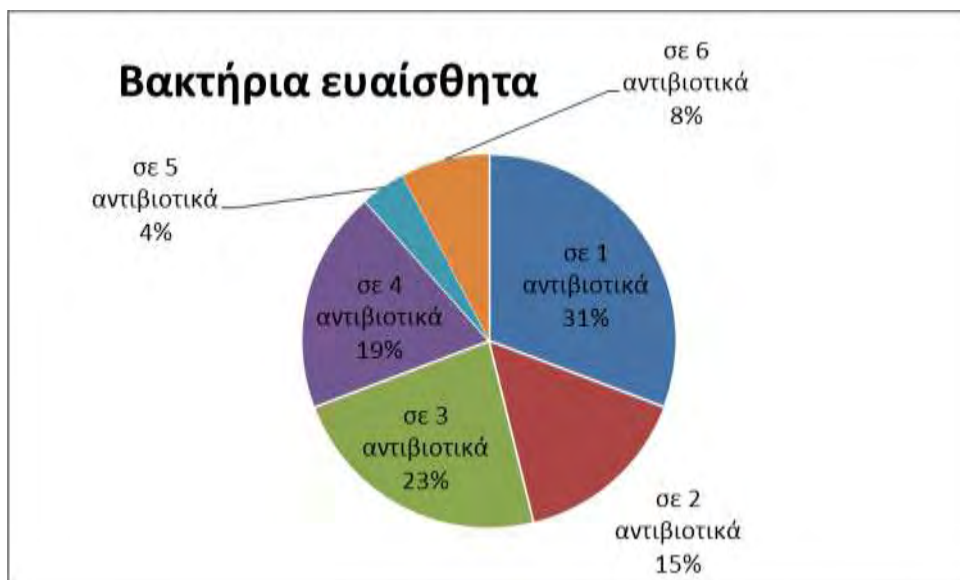
Πέντε βακτήρια βρέθηκαν ανθεκτικά σε ένα μόνο αντιβιοτικό (A5, A9, A13, A14, A17), πέντε βακτήρια σε δύο αντιβιοτικά (A6, B1, A15, A18, B17), δεκαπέντε βακτήρια σε τρία αντιβιοτικά (A1, A2, A11, B18, B20, A16, A19, B19, B7, B8, B9, B10, B11, B12, B13), τέσσερα βακτήρια σε τέσσερα αντιβιοτικά (B21, B14, B15, B16), δύο βακτήρια σε πέντε αντιβιοτικά (A7, B6) και τέσσερα βακτήρια σε έξι αντιβιοτικά (A4, A8, A10, B5).

Οκτώ βακτήρια βρέθηκαν ευαίσθητα σε ένα αντιβιοτικό (A4, A8, A10, A11, B5, A15, A18, B16), τέσσερα βακτήρια σε δύο αντιβιοτικά (A7, B1, B6, B16), έξι βακτήρια σε

τρία αντιβιοτικά (A13, A14, B14, B15, B17, B21), πέντε βακτήρια σε τέσσερα αντιβιοτικά (A1, A2, B18, B20, A17), ένα βακτήριο σε πέντε αντιβιοτικά (A6) και δύο βακτήρια σε έξι αντιβιοτικά (A5, A9)



Σχήμα Β-3. Απεικόνιση ποσοστών βακτηρίων ανάλογα με το πλήθος των αντιβιοτικών στα οποία βρέθηκαν ανθεκτικά



Σχήμα Β-4. Απεικόνιση ποσοστών βακτηρίων ανάλογα με το πλήθος των αντιβιοτικών στα οποία βρέθηκαν ευαίσθητα



Τα περισσότερα ανθεκτικά σε 3 αντιβιοτικά βακτήρια απομονώθηκαν από τις μονάδες εντατικής θεραπείας και τους θαλάμους της παθολογικής κλινικής με ποσοστό 20,83% και στα δύο τμήματα, ενώ με ποσοστό 16,67% ακολουθούν τα ανθεκτικά σε 4 αντιβιοτικά βακτήρια, από θαλάμους της παθολογικής κλινικής.

Χώρος απομόνωσης πολυανθεκτικών βακτηρίων	Ανθεκτικότητα σε 3 αντιβιοτικά	Ανθεκτικότητα σε 4 αντιβιοτικά	Ανθεκτικότητα σε 5 αντιβιοτικά	Ανθεκτικότητα σε 6 αντιβιοτικά	Ανθεκτικότητα σε 7 αντιβιοτικά
Θάλαμος Εντατικής θεραπείας	20,83%	4,17%	4,17%	4,17%	4,17%
Θάλαμος παθολογικής κλινικής	20,83%	16,67%		4,17%	
Θάλαμος Πνευμονολογικής κλινικής	8,33%			8,33%	
Διάδρομοι αναμονής	4,17%				

Πίνακας Β-3. Κατάταξη των πολυανθεκτικών βακτηρίων με βάση τους χώρους απομόνωσής τους

Τη μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα σημείωσε η αμπικιλίνη, όπου ποσοστό 77,78% των δοκιμών οδήγησαν σε αναστολή της ανάπτυξης των βακτηρίων, ενώ μόλις το 18,92% των βακτηρίων που ελέγχθηκαν στο ναλιδιξικό οξύ βρέθηκαν ευαίσθητα.



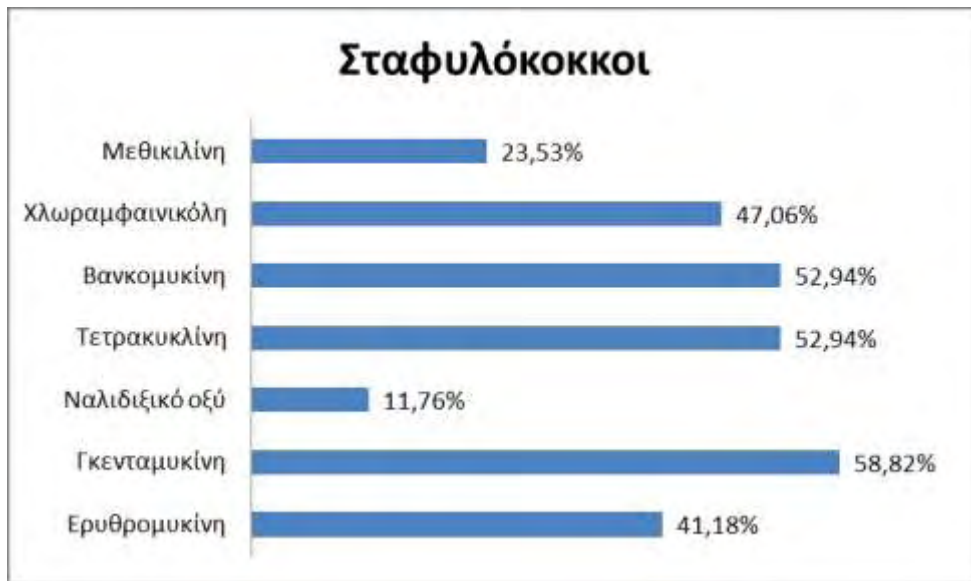
Σχήμα Β-5. Ποσοστά αποτελεσματικότητας του κάθε αντιβιοτικού που δοκιμάστηκε έναντι των βακτηρίων

Στο σύνολο των δοκιμών που πραγματοποιήθηκαν, η αμπικιλίνη ήταν το πιο αποτελεσματικό αντιβιοτικό με ποσοστό 17,92%, η βανκομυκίνη ήταν η δεύτερη πιο αποτελεσματική με ποσοστό 15,36%, ενώ ακολουθούν η γκενταμυκίνη με 11,85% και η ερυθρομυκίνη με 10,91%. Το λιγότερο αποτελεσματικό αντιβιοτικό ήταν το ναλιδιξικό οξύ με ποσοστό μόλις 4,36%.

Αντιβιοτικό	Ποσοστό αποτελεσματικότητας (%)
Αμπικιλίνη	17,92
Βανκομυκίνη	15,36
Τετρακυκλίνη	13,34
Χλωραμφενικόλη	12,57
Γκενταμυκίνη	11,85
Ερυθρομυκίνη	10,91
Πενικιλίνη	7,68
Μεθικιλίνη	6,01
Ναλιδιξικό οξύ	4,36

Πίνακας Β-4. Σύγκριση της αποτελεσματικότητας των αντιβιοτικών απέναντι στο σύνολο των ελεγχθέντων βακτηρίων

Στα βακτήρια της ομάδας των σταφυλόκοκκων, πιο αποτελεσματικό αντιβιοτικό ήταν η γκενταμυκίνη με ποσοστό 58,82%, ενώ λιγότερο αποτελεσματικό ήταν το ναλιδιξικό οξύ με ποσοστό 11,76%.



Σχήμα Β-6. Αποτελεσματικότητα του κάθε αντιβιοτικού στην ομάδα των σταφυλόκοκκων.

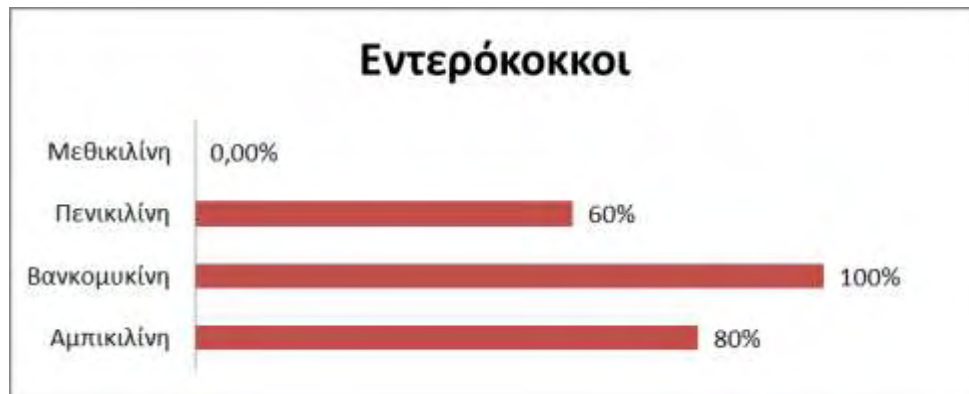
Συγκριτικά, η γκενταμικίνη ήταν η πιο αποτελεσματική με ποσοστό 20,41%, τη δεύτερη μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα είχαν η τετρακυκλίνη και η βανκομικίνη με 18,37%, στην τρίτη θέση η χλωραμφαινικόλη με 16,33%, ενώ τελευταίο το ναλιδιξικό οξύ με 4,08%.

Αντιβιοτικό	Ποσοστό αποτελεσματικότητας (%)
Γκενταμικίνη	20,41
Τετρακυκλίνη	18,37
Βανκομικίνη	18,37
Χλωραμφαινικόλη	16,33
Ερυθρομικίνη	14,29
Μεθικιλίνη	8,16
Ναλιδιξικό οξύ	4,08

Πίνακας Β-5. Σύγκριση αποτελεσματικότητας των αντιβιοτικών απέναντι στην ομάδα των σταφυλοκόκκων

Στους στρεπτόκοκκους που ελέγχθηκαν όλα τα αντιβιοτικά είχαν επιτυχή αναστολή της ανάπτυξής τους.

Στην ομάδα των εντερόκοκκων τη μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα είχε η βανκομυκίνη με πλήρη αναστολή της ανάπτυξης όλων των βακτηρίων, ενώ το λιγότερο αποτελεσματικό αντιβιοτικό ήταν η μεθικιλίνη, η οποία δεν πέτυχε την αναστολή κανενός βακτηρίου.



Σχήμα Β-7. Αποτελεσματικότητα των αντιβιοτικών στην ομάδα των εντερόκοκκων.

Συγκριτικά, η βανκομυκίνη είχε ποσοστό 41,67% αποτελεσματικότητας στην ομάδα των εντερόκοκκων, η αμπικιλίνη 33,33%, η πενικιλίνη 25% και η μεθικιλίνη μηδενικό ποσοστό, καθώς δεν ανέστειλε την ανάπτυξη των βακτηρίων.

Αντιβιοτικό	Ποσοστό αποτελεσματικότητας (%)
Βανκομυκίνη	41,67
Αμπικιλίνη	33,33
Πενικιλίνη	25
Μεθικιλίνη	0

Πίνακας Β-6. Σύγκριση αποτελεσματικότητας των αντιβιοτικών απέναντι στην ομάδα των εντεροκόκκων

Στην ομάδα των ψευδομονάδων πιο αποτελεσματική ήταν η γκενταμυκίνη, ενώ το ναλιδιξικό οξύ και η πενικιλίνη δεν είχαν κανένα αποτέλεσμα στην αναστολή της ανάπτυξης των βακτηρίων.

Στην ομάδα των εντεροβακτηριακών αποτελεσματική ήταν η γκενταμυκίνη, ενώ το ναλιδιξικό οξύ δεν ανέστειλε την ανάπτυξή τους. Η αμπικιλίνη, η χλωραμφενικόλη και η πενικιλίνη είχαν μέτρια αποτελεσματικότητα.

Αντιβιοτικό	Ποσοστό αποτελεσματικότητας (%)
Γκενταμυκίνη	37,5
Αμπικιλίνη	25
Χλωραμφενικόλη	25
Πενικιλίνη	12,5
Ναλιδιξικό οξύ	0

Πίνακας Β-7. Σύγκριση αποτελεσματικότητας των αντιβιοτικών απέναντι στην ομάδα των εντεροβακτηριακών

Στην ομάδα των *acinetobacter* σημειώθηκε αυξημένη ανθεκτικότητα, η οποία αφορά το *Acinetobacter baumannii*. Σημειώθηκε αυξημένη ανθεκτικότητα στη γκενταμυκίνη με MIC δεκαεξαπλάσια της βιβλιογραφικής αναμενόμενης, οκταπλάσια MIC στο ναλιδιξικό οξύ και τετραπλάσια MIC στην πενικιλίνη. Από τη άλλη, το *Acinetobacter iwoffi* βρέθηκε ευαίσθητο σε όλα τα αντιβιοτικά που δοκιμάστηκε.

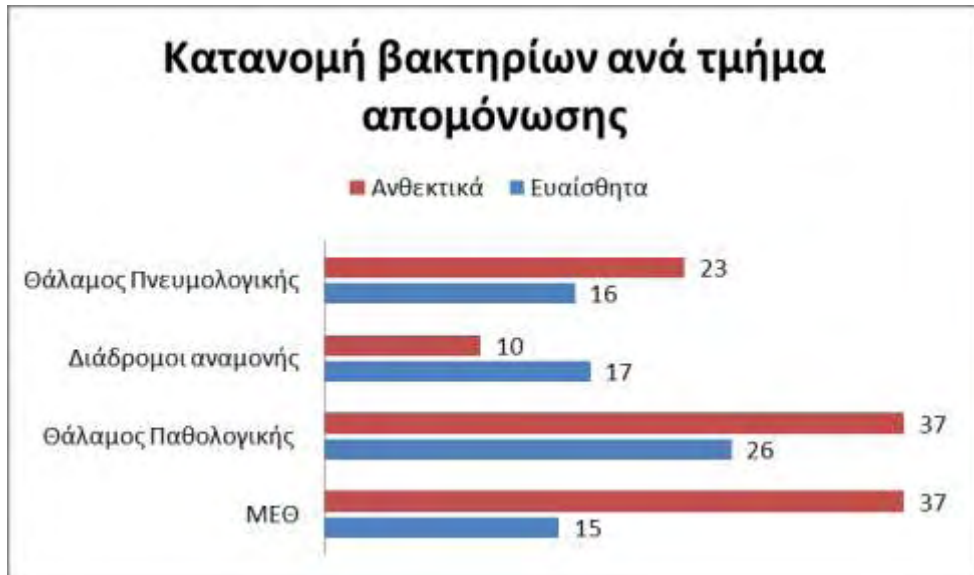
Πιο συγκεκριμένα, η γκενταμυκίνη ήταν κατά ποσοστό 33,33% αποτελεσματική σε 16πλάσια συγκέντρωση από τη βιβλιογραφική MIC, το ναλιδιξικό οξύ ήταν κατά 29,17% αποτελεσματικό σε 8πλάσια συγκέντρωση, ενώ η πενικιλίνη ήταν 25% αποτελεσματική σε 4πλάσια συγκέντρωση.

Αντιβιοτικό	Συγκέντρωση 16 x MIC(*)	Συγκέντρωση 8 x MIC(*)	Συγκέντρωση 4 x MIC(*)
Γκενταμυκίνη	33,33	0	0
Ναλιδιξικό οξύ	4,17	29,17	0
Πενικιλίνη	4,17	4,17	25

(\*) MIC: Η βιβλιογραφική συγκέντρωση σύμφωνα με τους πίνακες της EUCAST

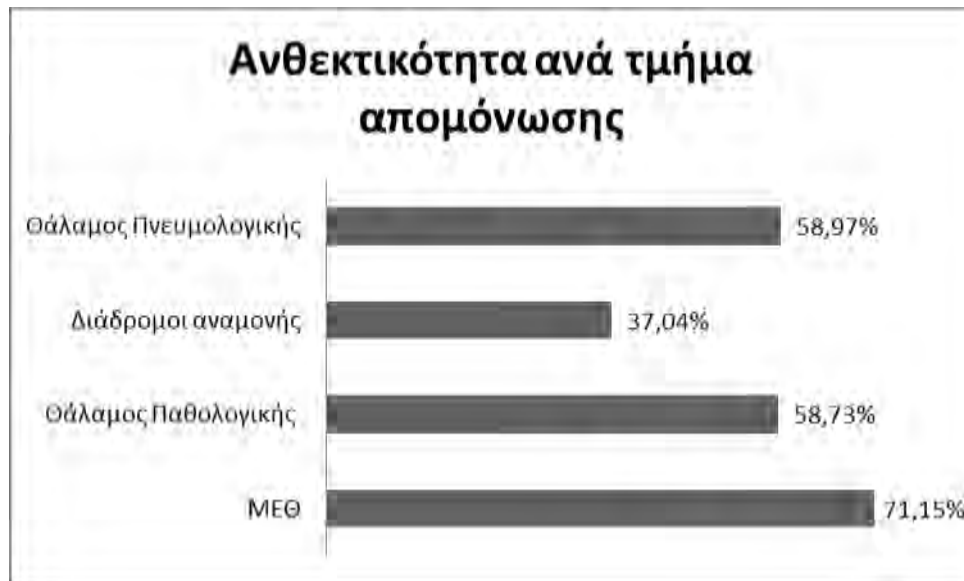
Πίνακας Β-8. Συγκριτική αποτελεσματικότητα των αντιβιοτικών έναντι των *Acinetobater baumannii*

Τα περισσότερα ανθεκτικά βακτήρια βρέθηκαν στους θαλάμους νοσηλείας της παθολογικής, και της ΜΕΘ, με περισσότερα ευαίσθητα στους θαλάμους της παθολογικής.



Σχήμα Β-8. Κατανομή ανθεκτικών και ευαίσθητων βακτηρίων ανάλογα με τους χώρους απομόνωσης

Με βάση τον χώρο απομόνωσης, τα αποτελέσματα έδειξαν, πως τα βακτήρια που συλλέχθηκαν από διαδρόμους αναμονής ήταν πιο ευαίσθητα από εκείνα που απομονώθηκαν από θαλάμους νοσηλείας, ενώ εκείνα που απομονώθηκαν από θαλάμους της ΜΕΘ ήταν σημαντικά πιο ανθεκτικά.



Σχήμα Β-9. Ανθεκτικότητα των βακτηρίων με βάση το χώρο απομόνωσής τους.

Τα περισσότερα ανθεκτικά βακτήρια απομονώθηκαν από τις μονάδες εντατικής θεραπείας και τους θαλάμους της παθολογικής κλινικής με ποσοστό 34,58%, ενώ ακολουθούν οι θάλαμοι της πνευμονολογικής κλινικής με ποσοστό 21,50% και οι διάδρομοι αναμονής με 9,35%. Το μεγαλύτερο ποσοστό (35,14%) ευαίσθητων βακτηρίων βρέθηκε στους θαλάμους της παθολογικής κλινικής, ποσοστό 22,97% βρέθηκε στους διαδρόμους αναμονής, 21,97% στους διαδρόμους αναμονής και 20,27% στις μονάδες εντατικής θεραπείας.

Τμήμα απομόνωσης	Ποσοστό ανθεκτικών βακτηρίων (%)	Ποσοστό ανθεκτικών βακτηρίων (%)
ΜΕΘ	34,58	20,27
Θάλαμος Παθολογικής	34,58	35,14
Θάλαμος Πνευμονολογικής	21,50	21,62
Διάδρομοι αναμονής	9,35	22,97

Πίνακας Β-9. Ποσοστά ανθεκτικών και ευαίσθητων βακτηρίων ανά τμήμα απομόνωσης

## Γ. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Παρά τις προσπάθειες, δεν κατέστη δυνατή η ανεύρεση αντίστοιχων ερευνών από άλλες εγκαταστάσεις χώρων περίθαλψης, τόσο στην Ελλάδα, όσο και στο εξωτερικό, καθώς η πλειοψηφία των μελετών εστιάζει σε δείγματα νερού, δείγματα επιφανειών οργάνων νοσηλείας και, φυσικά, δείγματα ασθενών που έχουν εμφανίσει νοσοκομειακή λοίμωξη. Για το λόγο αυτό τα στοιχεία που συγκεντρώθηκαν για τη συζήτηση και σύγκριση των αποτελεσμάτων της παρούσας εργασίας προήλθαν από έρευνες του τύπου που προαναφέρθηκε, αλλά και από το Ευρωπαϊκό Δίκτυο Επιτήρησης Μικροβιακής αντοχής (European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net)) και το Κέντρο Ελέγχου & Πρόληψης Νοσημάτων ΚΕΕΛΠΝΟ.

Μελέτη που διεξήχθη σε τέσσερα δημόσια νοσοκομεία στη Σιγκαπούρη από το 2006 έως το 2008 με σκοπό τον καθορισμό της αντιστοιχίας μεταξύ των συνταγογραφούμενων αντιβιοτικών συνταγή και της αντοχής στα αντιβιοτικά που έχουν αναπτύξει Gram-αρνητικά βακτήρια, περιλάμβανε την συγκέντρωση στοιχείων τριών χρόνων, τα οποία προέκυπταν μετά από απομόνωση και ταυτοποίηση στελεχών από το περιβάλλον των νοσοκομείων και καθορισμό της αντοχής του κάθε στελέχους στα αντιβιοτικά. Κατά τη διάρκεια των τριών ετών σημειώθηκε σημαντική αύξηση των ανθεκτικών στελεχών *Acinetobacter spp.* στις καρβαπενέμες, ενώ η *Klebsiella pneumoniae* σημείωσε μείωση την αντοχής στις κεφαλοσπορίνες και τις κινολόνες. Σχεδόν τα μισά στελέχη των *Acinetobacter spp.* ήταν ανθεκτικά στις καρβαπενέμες, σε σύγκριση με ένα πολύ χαμηλότερο ποσοστό της *P. aeruginosa*. Ωστόσο, η εμφάνιση και απομόνωση των ανθεκτικών *Acinetobacter spp.* και των *P. aeruginosa* ήταν παρόμοια λόγω της συχνότερης απομόνωσης των τελευταίων. Η αντοχή που εμφάνισαν τα *Enterobacteriaceae* στις κινολόνες ήταν η βιβλιογραφική αναμενόμενη. Σημαντική παρατήρηση της μελέτης ήταν η σταδιακή και συνεχόμενη -κατά τη διάρκεια των τριών ετών- αύξηση της αντοχής των *Acinetobacter spp.* στις καρβαπενέμες. Παραδόξως, η συχνότητα απομόνωσης των *Klebsiella pneumoniae* ανθεκτικών στις κινολόνες μειώθηκε (88).

Σύμφωνα με τα δελτία δήλωσης, τα οποία δημοσιεύει το ΚΕΕΛΠΝΟ ακολουθώντας το εθνικό σχέδιο δράσης «Προκρούστης» και προέρχονται από τα δημόσια νοσοκομεία



της χώρας, καθώς και από τα στρατιωτικά νοσηλευτικά ιδρύματα, οι περισσότερες λοιμώξεις καταγράφονται στις Μονάδες Εντατικής Θεραπείας (ΜΕΘ) (54,9%) και ακολουθούν οι κλινικές του παθολογικού τομέα (27,4%). Από το σύνολο των απομονωθέντων στελεχών, η *Klebsiella* είναι το συχνότερο παθογόνο (43,2%), με το *Acinetobacter* (35,9%) και την *Pseudomonas* (20,9%) να ακολουθούν (62).

Στον ακόλουθο πίνακα παραθέτονται τα πιο πρόσφατα στοιχεία που δημοσίευσε το ΚΕΕΛΠΙΝΟ μέσω του WHONET, όσον αφορά την ανθεκτικότητα των απομονωμένων στελεχών στα νοσοκομεία της Ελλάδας σε διάφορα αντιβιοτικά (91).

	<u>Ampicilin</u>	<u>Amikacin</u>	<u>Piperacilin</u>	<u>Ciprofloxacin</u>	<u>Gentamycin</u>	<u>Vancomycin</u>	<u>Tobramycin</u>
<b>Απομονωμένα από χώρους των κλινικών</b>							
<i>Acinetobacter baumannii</i>	23,9%	57,6%	77,1%	81,8%			
<i>Enterococcus</i>					38,8%	6%	
<i>Klebsiela pneumoniae</i>			41,7%	42,6%			38%
<i>Enterobacter</i>				14,2%			15,2%
<b>Απομονωμένα από μονάδες εντατικής θεραπείας</b>							
<i>Acinetobacter baumannii</i>	31,3%	73,8%	94,7%	97,2%			
<i>Enterococcus</i>					45,9%	15,4%	
<i>Klebsiela pneumoniae</i>			77,6%	74,7%			66,9%
<i>Enterobacter</i>				15,3 %			15,9%

Πίνακας Γ-1. Αναφορές και στοιχεία αντοχής στα αντιβιοτικά από το Ελληνικό πρόγραμμα επιτήρησης (ΚΕΕΛΠΙΝΟ-WHONET)

Τα στοιχεία του WHONET δείχνουν ξεκάθαρα αυξημένη αντοχή των στελεχών που απομονώνονται από μονάδες εντατικής θεραπείας σε σχέση με τα στελέχη που απομονώνονται από άλλους χώρους των νοσοκομείων. Την παρατήρηση αυτή συναντάμε και στα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας, γεγονός που θα μπορούσε να ερμηνευτεί από την ευρύτερη χρήση αντιβιοτικών που πραγματοποιείται στις μονάδες

εντατικής θεραπείας, η οποία προκαλεί ή ευνοεί την εξέλιξη των βακτηρίων καθιστώντας τα πιο ανθεκτικά.

Η ετήσια αναφορά του Ευρωπαϊκού Δικτύου παρακολούθησης της μικροβιακής αντοχής (European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net) για το 2010, κατέγραψε τα ακόλουθα στοιχεία, τα οποία παρουσιάζουν ενδιαφέρον και σε σχέση με τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας: από τα στελέχη *Klebsiella pneumoniae* που απομονώθηκαν, το 10% ήταν ανθεκτικό στις κεφαλοσπορίνες 3<sup>ης</sup> γενιάς, 15% ανθεκτικό στο ciprofloxacin, 8,3% ανθεκτικό στη γενταμυκίνη και 6,7% ανθεκτικό στην αμικιλίνη, ενώ όλα τα στελέχη βρέθηκαν ευαίσθητα στην imipenem. Στα αποτελέσματα της εργασίας, η *K. pneumoniae* παρουσίασε ανάλογη ευαισθησία στην γενταμυκίνη, αλλά ανθεκτικότητα στην αμικιλίνη. Όσον αφορά το *E. faecalis* το μόνο το 2,2% των στελεχών βρέθηκε ανθεκτικό στην αμικιλίνη και το 1,1% ανθεκτικό στην βανκομυκίνη, ενώ το 33,7% ήταν ανθεκτικό στη γενταμυκίνη. Αντίστοιχα, τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας έδειξαν ευαισθησία του *E. faecalis* τόσο στην αμικιλίνη, όσο και στην βανκομυκίνη, ενώ παρουσίασαν αυξημένη αντοχή στην πενικιλίνη.

Η αναφορά του Ευρωπαϊκού συστήματος επιτήρησης της αντιβιοαντοχής (ECDC - European Centre for Disease Prevention and Control) για την Ελλάδα για το 2010 περιλαμβάνει τα ακόλουθα στοιχεία: στο σύνολο των απομονωμένων στελεχών *E. faecalis* το 42,58% είχε αυξημένη αντοχή στην γενταμυκίνη, το 2,77% στη βανκομυκίνη και το 3,16% στις αμινοπενικιλίνες. Όσον αφορά την *K. pneumoniae* το 74,61% βρέθηκε ανθεκτικό στις κεφαλοσπορίνες 3<sup>ης</sup> γενιάς, το 61,71% ανθεκτικό στις αμινογλυκοσίδες, το 49,08% στις καρβαπενέμες και το 70,88% στις κινολόνες.

Η χρήση ευρέως φάσματος αντιβιοτικών μέσα στα νοσοκομεία έχει οδηγήσει στην ανάπτυξη πολυανθεκτικών *A. baumannii*. Πρόσφατες έρευνες στην Αμερική κατέδειξαν, ότι μόνο το 50% των στελεχών ήταν ευαίσθητα στις καρβαπενέμες και το 10% ήταν πολυανθεκτικά. Άλλη μελέτη από το Ισραήλ κατέγραψε ότι η ευαισθησία στις καρβαπενέμες από 98% το 1990 έπεσε στο 64% το 2000. Στην Ευρώπη η αντοχή των *A. baumannii* στις καρβαπενέμες ήταν κατά τη διάρκεια 1997-2000 11%, 28%, 33%, 33% και 49% αντίστοιχα (91).

Η χλωραμφενικόλη είναι ένα ισχυρό αντιβιοτικό, ευρέως φάσματος το οποίο είχε χρησιμοποιηθεί σε μεγάλη κλίμακα παλαιότερα, στον άνθρωπο και στα ζώα. Λόγω της αυξημένης αντοχής των βακτηρίων και για λόγους ασφαλείας, δεν χρησιμοποιείται πλέον στις αναπτυγμένες χώρες, καθώς έχει αξιολογηθεί αρκετές φορές και έχει γίνει αποδεκτό ότι είναι τοξική για το γενετικό υλικό. Υπάρχουν, ωστόσο, ακόμα σήμερα χώρες που το χρησιμοποιούν στην κτηνοτροφία και στην παραγωγή ψαριών και άλλες υδατικές καλλιέργειες. Εντύπωση, λοιπόν, προκαλούν τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας, καθώς θα αναμενόταν η χλωραμφενικόλη να είναι αποτελεσματική στην αναστολή των βακτηρίων λόγω της μη χρήσης της για θεραπεία. Ωστόσο, καταγράφηκε κάποια ανθεκτικότητα, κυρίως στην ομάδα των σταφυλόκοκκων, ενώ η ελάχιστη συγκέντρωση αναστολής υπολογίστηκε οκταπλάσια της αναμενόμενης βιβλιογραφικής κατά EUCAST. Η ερμηνεία αυτής της παρατήρησης πιθανόν να βρίσκεται στον μηχανισμό δράσης της χλωραμφενικόλης, ο οποίος στηρίζεται στη δέσμευση του αντιβιοτικού αντιστρεπτά στην 50S υπομονάδα του ριβοσώματος, εμποδίζοντας τη σύνδεση του αμινοξέος, που περιέχεται στο άκρο του tRNA, με την πεπτιδική αλυσίδα (δηλαδή αναστέλλει την πεπτιδυλο-τρανσφεράση) (87).

Το ναλιδιξικό οξύ ήταν η πρώτη κινολόνη που παρασκευάστηκε ποτέ. Είχε περιορισμένη κλινική αξία λόγω της σχετικά χαμηλής δραστηριότητάς του και της ταχείας εμφάνισης αντοχής, οπότε η χρήση του εγκαταλείφθηκε σύντομα. Τα αποτελέσματα της εργασίας πιστοποιούν τα παραπάνω, καθώς ανεστάλη η ανάπτυξη μόνο 4,46% των βακτηρίων.

Η μεθικιλίνη είχε χρησιμοποιηθεί στο παρελθόν για τη θεραπεία λοιμώξεων που προκαλούσαν ευαίσθητα Gram-θετικά βακτήρια, πιο συγκεκριμένα, οργανισμοί που παρήγαν β-λακταμάση, όπως ο χρυσίζων σταφυλόκοκκος, που διαφορετικά θα ήταν ανθεκτικά στην πενικιλίνη. Αν και σήμερα δεν χρησιμοποιείται, ο όρος ανθεκτικός στη μεθικιλίνη χρυσίζων σταφυλόκοκκος (MRSA) συνεχίζει να χρησιμοποιείται για να περιγράψει τα στελέχη του *Staphylococcus aureus* που είναι ανθεκτικά σε όλες τις πενικιλίνες. Σχεδόν όλοι οι ανθεκτικοί στη μεθικιλίνη σταφυλόκοκκοι παράγουν β-λακταμάσες που διασπούν πολλές πενικιλίνες. Φάρμακο εκλογής για την καταπολέμηση των ανθεκτικών στη μεθικιλίνη σταφυλοκόκκων είναι η βανκομυκίνη και ακολουθούν

διάφορα άλλα σκευάσματα, όπως η κο-τριμοξαζόλη, το φουσιδικό οξύ, οι αμινογλυκοσίδες, κ.α. (87). Τα αποτελέσματα της έρευνας δείχνουν ακριβώς αυτή την τάση στην ομάδα των σταφυλόκοκκων, καθώς τα περισσότερα στελέχη βρέθηκαν ανθεκτικά στη μεθικιλίνη και ευαίσθητα στη βανκομυκίνη, ενώ εκείνα που εμφάνισαν κάποια ανθεκτικότητα στη βανκομυκίνη, αυτή ήταν ελαφρώς αυξημένη (οκταπλάσια συγκέντρωση σε σχέση με την βιβλιογραφική της EUCAST).

Διδακτορική διατριβή του 2009, είχε σκοπό την ανίχνευση ανθεκτικών στις καρβαπενέμες κλινικών στελεχών *Acinetobacter spp.*, την ταξινόμησή τους και τη μελέτη των μηχανισμών αντοχής. Το υλικό μελέτης αποτέλεσαν στελέχη *Acinetobacter spp.*, που απομονώθηκαν από διάφορες κλινικές του Γενικού Νοσοκομείου Παπαγεωργίου της Θεσσαλονίκης κατά τα έτη 2001-2008. Στα συμπεράσματα της μελέτης περιλαμβάνεται ότι η πλειονότητα (164/168, 97,6%) των ανθεκτικών στις καρβαπενέμες στελεχών *Acinetobacter spp.* που απομονώθηκαν ήταν *Acinetobacter baumannii*, ενώ παρατηρήθηκε ότι τα παλαιότερα στελέχη *Acinetobacter baumannii* ήταν ευαίσθητα στις αμινογλυκοσίδες, ενώ τα μεταγενέστερα ήταν ανθεκτικά και σε αυτή την ομάδα αντιβιοτικών. Παρατηρήθηκε ελάττωση του αριθμού των ανθεκτικών στις καρβαπενέμες στελεχών στο Νοσοκομείο μετά το 2005, λόγω δραστικών μέτρων που ελήφθησαν προς αποφυγή εξάπλωσης των ανθεκτικών μικροοργανισμών, συμπεριλαμβανομένου και του *A. baumannii* (90).

## **Δ. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ**

Από τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας και της σύγκρισης με δημοσιευμένα στοιχεία των φορέων επιτήρησης της μικροβιακής αντοχής και παρόμοιων ερευνών και αφορούν την κατάσταση τόσο εντός Ελλάδος, όσο και εκτός συνόρων επιβεβαιώνεται η ανησυχία της παγκόσμιας κοινότητας, όσον αφορά την εξελισσόμενη αντοχή που εμφανίζουν βακτήρια στα διάφορα αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπισή τους.

Τα αποτελέσματα της επιτήρησης των πολυανθεκτικών Gram – αρνητικών παθογόνων στο πλαίσιο του σχεδίου δράσης «Προκρούστης» και ιδιαίτερα η υψηλή επίπτωση, όσο

και τα καταγραφόμενα υψηλά ποσοστά θνητότητας, αλλά και παράτασης της νοσηλείας πέραν των 28 ημερών μετά την πρώτη απομόνωση του παθογόνου μικροοργανισμού, καθιστούν επιτακτική την ανάγκη άμεσης λήψης μέτρων ελέγχου λοιμώξεων και περιορισμού διασποράς των εν λόγω παθογόνων. Προς την κατεύθυνση αυτή επικεντρώνονται πλέον οι προσπάθειες του ΚΕΕΛΠΝΟ, σε συνεργασία με τα ελληνικά νοσοκομεία και τις αρμόδιες ΥΠΕ της χώρας. Η έμφαση στην παρέμβαση και στην επιτήρηση της εφαρμογής των μέτρων ελέγχου λοιμώξεων βρίσκεται στο επίκεντρο των δράσεων που προγραμματίζονται. Ειδικότερα, η παρακολούθηση της εξασφάλισης συνθηκών απομόνωσης για τη νοσηλεία ασθενών με λοίμωξη ή αποικισμό από πολυανθεκτικά παθογόνα, καθώς και της τήρησης των προφυλάξεων επαφής και των κανόνων υγιεινής των χεριών, θα αποτελέσει τον κεντρικό άξονα για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας, με δείκτη τη μείωση της επίπτωσης των συγκεκριμένων λοιμώξεων.

Οι παρατηρήσεις της προαναφερθείσας διατριβής που διεξήχθη στο Νοσοκομείο Παπαγεωργίου αποτελούν απόδειξη της αποτελεσματικότητας που μπορούν να έχουν αλλαγές του τρόπου λειτουργίας ενός νοσοκομείου, όσον αφορά τον περιορισμό και τη μείωση της ανθεκτικότητας των μικροοργανισμών.

Αλλαγές του τρόπου παροχής φροντίδας στο χώρο υγείας δε μπορούν να φέρουν αποτέλεσμα αν δεν συνδυαστούν με αφύπνιση του ευρύτερου κοινού για την ανάγκη ορθής χρήσης των αντιβιοτικών σκευασμάτων. Είναι αναγκαία η εντύπωση στη συνείδηση των ανθρώπων των συνεπειών της αλόγιστης κατανάλωσης αντιβιοτικών, ιδίως στη χώρα μας, που κατέχει την πρώτη θέση στην κατανάλωση αντιβιοτικών και σε λοιμώξεις από πολυανθεκτικά βακτήρια (92).

Συμπερασματικά, εξαιτίας του αυξανόμενου προβλήματος της αντοχής των βακτηρίων στα αντιβιοτικά, επιβάλλεται η συνετή χρήση των αντιβιοτικών με σκοπό να προστατευτεί η αποτελεσματικότητα των θεραπειών με αντιβιοτικά για το μέλλον και η προστασία της δημόσιας υγείας. Η επιτήρηση είναι σημαντικό σκέλος της πολιτικής αντιβιοτικών και θα πρέπει να περιλαμβάνει τακτική και συνεχή παρακολούθηση όχι μόνο της αντιβιοαντοχής, αλλά και της χρήσης των αντιβιοτικών, όπου θα ακολουθεί ανάλυση και ερμηνεία των αποτελεσμάτων. Διαφοροποιήσεις μεταξύ χωρών, περιοχών,

νοσοκομείων και ιατρικών πρακτικών μπορούν να παρατηρούνται και να ερευνοούνται και να υιοθετούνται θεραπευτικές προτάσεις όταν οι τιμές της αντιβιοαντοχής αυξάνονται σημαντικά. Επίσης, η εμφάνιση και η εξάπλωση νέων στελεχών πιο ανθεκτικών θα μπορούν να εντοπίζονται νωρίς και να λαμβάνονται μέτρα για την πρόληψη περαιτέρω αύξησης της αντιβιοαντοχής.

## **ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

1. "Dorlands Medical Dictionary: antibacterial". Archived from the original on 2010-11-17. Retrieved 2010-10-29
2. WHO fact sheet no. 194 1999 Antimicrobial resistance. *World Veterinary Association Bulletin* 16: 28-30.
3. "Dorlands Medical Dictionary: antibiotic". Archived from the original on 2010-11-17. Retrieved 2010-10-29.
4. SA Waksman (1947). "What Is an Antibiotic or an Antibiotic Substance?". *Mycologia* 39 (5): 565–569. doi:10.2307/3755196. JSTOR 3755196. PMID 20264541.
5. von Nussbaum F. et al. (2006). "Medicinal Chemistry of Antibacterial Natural Products – Exodus or Revival?". *Angew. Chem. Int. Ed.* 45 (31): 5072–5129. doi:10.1002/anie.200600350. PMID 16881035.
6. <http://www.scribd.com/doc/54232212/4AntimicroviakaN> - uploaded by T. Markopoulou
7. <http://www.scribd.com/doc/20129598/Mechanisms-of-Transmission-of-Pathogenic-Organisms-in-the-Health-Care-Setting-and-Strategies-for-Prevention-and-Control> - Mechanisms of Transmission of Pathogenic Organisms in the Health Care Setting and Strategies for Prevention and Control
8. [http://textbookofbacteriology.net/kt\\_toc.html](http://textbookofbacteriology.net/kt_toc.html) - Bacterial Resistance to Antibiotics
9. Εφαρμοσμένη Κλινική Μικροβιολογία και Εργαστηριακή Διαγνωστική, Περίοδος Β', Τόμος 11, Τεύχος 2, σελ 69-76)
10. University of Pretoria etd-Nel, H (2005) - The Establishment and Standardization of a Veterinary Antimicrobial Resistance Surveillance Programme in South Africa, by Hanri

Nel, Department of Veterinary Tropical Diseases Faculty of Veterinary Science  
Univeristy of Pretoria, 2001

11. Κέντρο Ελέγχου Ειδικών Λοιμώξεων (Κ.Ε.ΕΛ.) – Ορισμοί και κριτήρια καταγραφής  
λοιμώξεων, σύμφωνα με την πρόταση του Center for Disease Control and Prevention  
(CDC) - Κέντρο Ελέγχου Ειδικών Λοιμώξεων 2003

12. Cohen F, Tartasky D 1997 Microbial resistance to drug therapy: A review. *American  
Journal of Infection Control* 25(1): 51-64.

13. Εθνικό Σχέδιο Δράσης για την Αντιμετώπιση της Μικροβιακής Αντοχής στα  
Αντιβιοτικά και των Λοιμώξεων σε Χώρους Παροχής Υπηρεσιών Υγείας 2008 - 2012

14. Wenzel RP: Prevention and control of nosocomial infections. 3rd edition. Williams  
& Wilkins, 1997

15. Crawford LM, Shotts EB 1982 Animal uses of antibiotics as feed additives and in  
therapy and the emergence of antibiotic resistance. In: Stuart-Harris CH, Harris OM,  
editors. The control of antibiotic resistant bacteria. Academic Press, London: 169-181.

16. Πρόληψη Νοσοκομειακών λοιμώξεων - Διδακτικές Σημειώσεις - Αν. Δελτσίδου -  
Σεπτέμβριος 2005 – Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα (ΤΕΙ) Λαμίας, Σχολή  
Επαγγελματιών Υγείας & Πρόνοιας, Τμήμα Νοσηλευτικής

17. 52001DC0333 EU – Ανακοίνωση της επιτροπής για μια κοινοτική στρατηγική κατά  
της μικροβιακής αντοχής

18. Hawkey PM 1998 The origins and molecular basis of antibiotic resistance. *British  
Medical Journal* 317: 657-660.

19. Baron EJ, Chang RS, Howard DH, Miller JN, Turner JA 1994 Medical  
microbiology: a short course. United States of America: Wiley-Liss Inc.



20. Report of a WHO Consultation 2000 WHO Global Principles For The Containment Of Antimicrobial Resistance In Animals Intended For Food. Geneva, Switzerland, June 2000.
21. Anonymous. Bayer Animal Health 1999 Guidelines for the use of quinolones in veterinary medicine: Prudent therapeutic use of quinolones in food-producing animals. Agricultural Centre Monheim, D-40789, Germany.
22. Aarestrup FM 2000 Occurrence, selection and spread of resistance to antimicrobial agents used for growth promotion for food animals in Denmark. *APMIS* 108(101 Suppl): 5S-48S .
23. Anonymous 1999 Responsible use of medicines in agriculture (RUMA) alliance guidelines. Responsible use of antimicrobials in pig production. Produced by the Pig Working Group of the RUMA Alliance, London, WC2H 8QR.
24. Anonymous 1999 Federation of Veterinarians of Europe. Antibiotic resistance and prudent use of antibiotics in veterinary medicine. Online Available : <http://www.fve.org/papers/pdf/antibio.pdf> .
25. McManus MC 1997 Mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents. *American Journal of Health-System Pharmacy* 54: 1420-1433.
26. Franklin TJ 1987 Bacterial resistance to antibiotics. In: Hugo WB, Russell AD, editors. *Pharmaceutical Microbiology*, fourth edition. London: Blackwell Scientific Publications, 203-225.
27. Jacoby GA, Archer GL 1991 New mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents. *New England Journal of Medicine* 324: 601-612 .
28. Witte W 1998 Medical consequences of antibiotic use in agriculture. *Science* 279: 996-997 .

29. Khachatourians GG 1998 Agricultural use of antibiotics and the evolution and transfer of antibiotic-resistant bacteria. *Canadian Medical Association Journal* 159(9): 1129-1136.
30. Salyers AA, Whitt DD 1994 *Bacterial Pathogenesis: A molecular approach*. Washington, D.C: ASM Press.
31. Elwell LP, Falkow S 1980 The characterization of plasmids that carry antibiotic resistance genes. In: Lorian V, ed. *Antibiotics in Laboratory Medicine*. Baltimore: Williams & Wilkins Company, 433-453.
32. Rowe-Magnus DA, Guerout A, Ploncard P, Dychinco B, Davies J, Mazel D 2001 The evolutionary history of chromosomal super-integrations provides an ancestry for multiresistant integrations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98(2): 652-657.
33. Hawkey PM 2000 Mechanisms of resistance to antibiotics. *Intensive Care Medicine* 26S: 9S-13S .
34. Sherris JC, Minshew BH 1996 Mutational antibiotic resistance. In: Lorian V, editor. *Antibiotics in laboratory medicine*, 4<sup>th</sup> edition. Baltimore: Williams & Wilkins Company, 418-432.
35. Handwerger S, Tomasz A 1985 Antibiotic tolerance among clinical isolates of bacteria. *Reviews of Infectious Diseases* 7(3): 368-386 .
36. Kenneth Todar PhD, Online Textbook of Bacteriology - Bacterial Resistance to Antimicrobial Agents, [http://textbookofbacteriology.net/kt\\_toc.html](http://textbookofbacteriology.net/kt_toc.html)
37. Μηνάς Α. , Σημειώσεις μαθήματος Περιβαλλοντικής μικροβιολογίας, «Μέθοδοι προσδιορισμού αντιβιοαντοχής», Μεταπτυχιακό πρόγραμμα σπουδών «Εφαρμοσμένη δημόσια υγεία & περιβαλλοντική υγιεινή ποιότητα –ασφάλεια τροφίμων & δημόσια υγεία»

38. Kloos, W., & Schleifer, K. (1975). Isolation and Characterization of Staphylococci from Human Skin. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 25, 62-79
39. Anonymous 1997 The medical impact of the use of antimicrobials in food animals. Report of a WHO meeting, Berlin, Germany, 13-17 October 1997.
40. Queck SY and Otto M (2008). "Staphylococcus epidermidis and other Coagulase-Negative Staphylococci". *Staphylococcus: Molecular Genetics*. Caister Academic Press. ISBN 978-1-904455-29-5.
41. Salyers, Abigail A. and Whitt, Dixie D. (2002). *Bacterial Pathogenesis: A Molecular Approach*, 2nd ed.. Washington, D.C.: ASM Press. ISBN 155581171X.
42. Karl H. Schleifer and Wesley E. Kloos. Isolation and Characterization of Staphylococci from Human Skin I. Amended Descriptions of *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus saprophyticus* and Descriptions of Three New Species: *Staphylococcus cohnii*, *Staphylococcus haemolyticus*, and *Staphylococcus xylosus*. *Int J Syst Bacteriol* January 1975 25:50-61; doi:10.1099/00207713-25-1-50.
43. Στατιστικές μέθοδοι ανάλυσης πειραματικών δεδομένων συνεργασίας - X. Κατσάνος & Ν. Αβούρης, Πανεπιστήμιο Πατρών
44. de Silva et al. (2002). "The *ica* Operon and Biofilm Production in Coagulase-Negative Staphylococci Associated with Carriage and Disease in a Neonatal Intensive Care Unit". *Journal of Clinical Microbiology* (American Society for Microbiology) 40 (2): 382–388. doi:10.1128/JCM.40.2.382-388.2002.
45. Fredheim et al. (2009). "Biofilm Formation by *Staphylococcus haemolyticus*". *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY* (American Society for Microbiology) 47 (4): 1172–1180. doi:10.1128/JCM.01891-08.
46. de Allori et al. (2006). "Antimicrobial Resistance and Production of Biofilms in Clinical Isolates of Coagulase-Negative *Staphylococcus* Strains". *Biol. Pharm. Bull.* 29 (8): 1592–1596.

47. Takeuchi et al. (2005). "Whole-Genome Sequencing of *Staphylococcus haemolyticus* Uncovers the Extreme Plasticity of Its Genome and the Evolution of Human-Colonizing Staphylococcal Species". *Journal of Bacteriology* (American Society for Microbiology) 187 (21): 7292–7308. doi:10.1128/JB.187.21.7292-7308.2005. PMC 1272970. PMID 16237012
48. Froggatt JW, Johnston JL, Galetto DW, Archer GL (1989). "Antimicrobial resistance in nosocomial isolates of *Staphylococcus haemolyticus*". *Antimicrob Agents Chemother* 33 (4): 460–6. PMC 172460. PMID 2729941
49. Raponi et al. (2005). "Antimicrobial susceptibility, biochemical and genetic profiles of *Staphylococcus haemolyticus* strains isolated from the bloodstream of patients hospitalized in critical care units". *J Chemother* 17 (3): 264–9. PMID 16038519
50. de Allori et al. (2006). "Antimicrobial Resistance and Production of Biofilms in Clinical Isolates of Coagulase-Negative *Staphylococcus* Strains". *Biol. Pharm. Bull.* 29 (8): 1592–1596.
51. Falcone et al. (2006). "Teicoplanin use and emergence of *Staphylococcus haemolyticus*: is there a link?". *Clin Microbiol Infect.* 12 (1): 96–97. doi:10.1111/j.1469-0691.2005.01307.x. PMID 16460556.
52. Poyart et al. (2001). "Rapid and Accurate Species-Level Identification of Coagulase-Negative *Staphylococci* by Using the *sodA* Gene as a Target". *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY* (American Society for Microbiology) 39 (12): 4296–4301. doi:10.1128/JCM.39.12.4296-4301.2001. PMC 88539. PMID 11724835.
53. Viale, P.; Stefani, S. (2006). "Vascular catheter-associated infections: a microbiological and therapeutic update". *J Chemother.* (Department of Medical and Morphological Research, Medical School, University of Udine, Italy) 18 (3): 235–49. PMID 17129833

54. Granizo, Juan J., Lorenzo Aguilar, Julio Casal, César García-Rey, Rafael Dal-Ré and Fernando Baquero. Streptococcus pneumoniae resistance to erythromycin and penicillin in relation to macrolide and  $\beta$ -lactam consumption in Spain (1979–1997). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* (2000) 46, 767-773
55. Ryan KJ, Ray CG (editors) (2004). *Sherris Medical Microbiology* (4th ed.). McGraw Hill. pp. 294—5. ISBN 0-8385-8529-9.
56. Amyes SG (May 2007). "Enterococci and streptococci". *Int. J. Antimicrob. Agents* 29 Suppl 3: S43–52. doi:10.1016/S0924-8579(07)72177-5. PMID 17659211.
57. Courvalin P (January 2006). "Vancomycin resistance in gram-positive cocci". *Clin. Infect. Dis.* 42 Suppl 1: S25–34. doi:10.1086/491711. PMID 16323116
58. Pollack, Andrew. "Rising Threat of Infections Unfazed by Antibiotics" *New York Times*, Feb. 27, 2010
59. Gerischer U (editor) (2009). *Acinetobacter Molecular Biology* (1st ed.). Caister Academic Press. ISBN 978-1-904455-20-2
60. Chen HP, Chen TL, Lai CH, Fung CP, Wong WW, Yu KW, Liu CY. (2005). "Predictors of mortality in Acinetobacter baumannii bacteremia.". *J Microbiol Immunol Infect* 38 (2): 127–36. PMID 15843858
61. Bassetti M, Righi E, Esposito S, Petrosillo N, Nicolini L (December 2008). "Drug treatment for multidrug-resistant Acinetobacter baumannii infections". *Future Microbiol* 3 (6): 649–60. doi:10.2217/17460913.3.6.649. PMID 19072182
62. Νοσοκομειακές λοιμώξεις : Εθνικό σχέδιο δράσης «Προκρούστης». Τα πρώτα αποτελέσματα και το επόμενο βήμα, ΚΕΕΛΠΝΟ - Ενημερωτικό Δελτίο, Published: Δεκ 30th, 2011
63. Bager F 2000 DANMAP: monitoring antimicrobial resistance in Denmark. *International Journal of Antimicrobial Agents* 14: 271-274.

64. Jacobson RH 1998 Validation of serological assays for diagnosis of infectious diseases. *Revue Scientifique et Technique, Office International des Epizooties*, 17(2): 469-486.
65. Steve Silberman (February 2007). "The Invisible Enemy". *Wired*. Retrieved 2007-02-15.
66. Sullivan DR, Shields J, Netzer G (June 2010). "Fatal case of multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* necrotizing fasciitis". *The American Surgeon* 76 (6): 651–3. PMID 20583528
67. Charnot-Katsikas A, Dorafshar AH, Aycock JK, David MZ, Weber SG, Frank KM (January 2009). "Two cases of necrotizing fasciitis due to *Acinetobacter baumannii*". *Journal of Clinical Microbiology* 47 (1): 258–63. doi:10.1128/JCM.01250-08. PMC 2620842. PMID 18923009. Retrieved 2010-07-03
68. Wood GC, Hanes SD, Croce MA, Fabian TC, Bougher BA. (2002). "Comparison of ampicillin-sulbactam and imipenem-cilastin for the treatment of *Acinetobacter* ventilator-associated pneumonia". *Clin Infect Dis* 34 (11): 1425–30. doi:10.1086/340055. PMID 12015687
69. White DG, Acar J, Franklin A, Gupta R, Nicholls T, Tamura Y, Thompson S, Trehfall EJ, Vose D, van Vuuren M, Wegener H, Costarrica L 2001. Antimicrobial resistance: standardization and harmonization of laboratory methodologies used for the detection and quantification of antimicrobial resistance. *Revue Scientifique et Technique, Office International des Epizooties*, 20(3): 849-858.
70. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (2004). "*Acinetobacter baumannii* infections among patients at military medical facilities treating injured U.S. service members, 2002-2004". *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 53 (45): 1063–6. PMID 15549020

71. Welsh RD 1987 MIC Antimicrobial testing and combination antibiotics. *The Southwestern Veterinarian* 38(2): 17-32.
72. Finegold SM 1992 Clinical relevance of antimicrobial susceptibility testing. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 11(11): 1021- 1024.
73. Report by a Working Party of the British Society for Antimicrobial Chemotherapy 1988 Breakpoints in *in vitro* antibiotic sensitivity testing. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 21: 701-710.
74. Prescott MA, Baggot JD 1985 Antimicrobial susceptibility testing and antimicrobial drug dosage. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 187: 363-368.
75. Högenauer C, Langner C, Beubler E, et al (December 2006). "Klebsiella oxytoca as a causative organism of antibiotic-associated hemorrhagic colitis". *N. Engl. J. Med.* 355 (23): 2418–26. doi:10.1056/NEJMoa054765. PMID 17151365.
76. Woolcock JB, Mutimer MD 1983 Antibiotic susceptibility testing: Caeci caecos ducentes? *The Veterinary Record* 6: 125-128.
77. Thrupp LD 1996 Susceptibility Testing of Antibiotics in Liquid Media. In: Lorian V, editor. *Antibiotics in Laboratory Medicine*, 4<sup>th</sup> edition. Baltimore: Williams & Wilkins Company, 73-113.
78. Barry AL 1998 Standardization of antimicrobial susceptibility testing. *Clinics in Laboratory Medicine* 9(2): 203-219.
79. Podschun R, Ullman U (1998). "Klebsiella spp. as Nosocomial Pathogens: Epidemiology, Taxonomy, Typing Methods, and Pathogenicity Factors". *Clinical Microbiology Reviews* 11 (4): 589–603. PMC 88898. PMID 9767057

80. Acar JF 1996 The Disc Susceptibility Test. In: Lorian V, editor. Antibiotics in Laboratory Medicine, 4<sup>th</sup> edition. Baltimore: Williams & Wilkins Company, 24-54.
81. [http://www.newyorker.com/reporting/2008/08/11/080811fa\\_fact\\_groopman](http://www.newyorker.com/reporting/2008/08/11/080811fa_fact_groopman)
82. Gould IM 2000 Towards a common susceptibility testing method. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 45: 757-762.
83. Edwards DI 1991 Susceptibility Testing Methods: Why use the MIC? *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 27: 137-140.
84. Anonymous 1996 Technical recommendations for *in vitro* susceptibility testing. Clinical Microbiology and Infection. Comit de l' Antibiogramme de la Societe Francaise de Microbiologie: 1996 Dec. Report No.: ISSN 1198-743 X.
85. LA county Department of Public Health <http://www.publichealth.lacounty.gov/acd/>
86. Vose D, Acar J, Anthony F, Franklin A, Gupta R, Nicholls T, Tamura Y, Thompson S, Threlfall EJ, van Vuuren M, White DG, Wegener H, Costarrica L 2001 Antimicrobial resistance: risk analysis methodology for the potential impact on public health of antimicrobial resistant bacteria of animal origin. *Revue Scientifique et Technique, Office International des Epizooties* 20(3): 811-827.
87. C. P Page, M. J. Curtis, M. C. Sutter, M. JA Walker, B. B. Hoffman, Integrated Pharmacology, 1997
88. L. Hsu, T. Tan, V. H. Tam, A. Kwa, D. A. Fisher, T. Koh, Surveillance and Correlation of Antibiotic Prescription and Resistance of Gram-Negative Bacteria in Singaporean Hospitals, 2010
89. Ε.Α.Παπαφράγκος, Μ.Β.Κανελλοπούλου, Αναερόβια-Αερόβια μικρόβια, 2005



90. Β. Κουλουρίδα, Ιατρός Βιοπαθολόγος, Μοριακή επιδημιολογία κλινικών στελεχών *Acinetobacter* spp. ανθεκτικών στις καρβαπενέμες, 2009

91. <http://www.mednet.gr/whonet>

92. [http://www.keelpno.gr/el-gr/νοσήματαθέματαυγείας/μικροβιακήαντοχήστα\\_αντιβιοτικά .aspx](http://www.keelpno.gr/el-gr/νοσήματαθέματαυγείας/μικροβιακήαντοχήστα_αντιβιοτικά.aspx)