

ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΣΤΕΛΕΧΩΝ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* ΠΟΥ ΠΑΡΑΓΟΥΝ ΚΑΡΒΑΠΕΝΕΜΑΣΕΣ ΜΕ ΦΑΙΝΟΤΥΠΙΚΕΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΥΣ ΚΑΙ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΣΤΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΑΚΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ

Κ. Κούλης¹, Π.Καρκαλούσος¹, Σ. Βουρλή², Σ. Πουρνάρας²

Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών/Κατεύθυνση Ιατρικών Εργαστηρίων, Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής
Εργαστήριο Κλινικής Μικροβιολογίας, Π.Γ.Ν. «Αττικών», Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Εισαγωγή: Το βακτηρίδιο *K. pneumoniae* αποτελεί ένα από τα συχνότερα πολυανθεκτικά, ενδονοσοκομειακά παθογόνα που προκαλεί σοβαρές λοιμώξεις ιδιαίτερα σε ανοσοκατασταλμένους ασθενείς, ενώ η παραγωγή καρβαπενεμασών από ορισμένα στελέχη δυσχεραίνει την επιλογή κατάλληλης αντιμικροβιακής θεραπείας. Για το λόγο αυτό, η έγκαιρη ανίχνευση των καρβαπενεμασών βοηθάει σημαντικά στον περιορισμό της μετάδοσης των στελεχών αυτών καθώς και στην έγκαιρη χορήγηση στοχευμένης αντιμικροβιακής θεραπείας.

Σκοπός: Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η ανίχνευση βακτηριδίων *Klebsiella pneumoniae* που παρήγαγαν καρβαπενεμάσες με φαινοτυπικές και μοριακές μεθόδους και η επιδημιολογική μελέτη αυτών στο περιβάλλον του νοσοκομείου.

Υλικά και μέθοδοι: Μελετήθηκαν 102 στελέχη *K. pneumoniae* ανθεκτικά στις καρβαπενέμες. Τα στελέχη αυτά απομονώθηκαν τόσο από δείγματα καλλιιεργειών επιτήρησης, χρησιμοποιώντας το εκλεκτικό και διαφοροποιητικό καλλιιεργητικό υλικό MacConkey Agar No.3 με 1μg/mL μεροπενέμης, όσο και από τις καλλιέργειες ρουτίνας των κλινικών δειγμάτων του Νοσοκομείου. Η

ταυτοποίηση και το αντιβιογράμμα των στελεχών πραγματοποιήθηκε με το αυτοματοποιημένο σύστημα Vitek-2 Compact Unit. Ακολούθησε ο φαινοτυπικός έλεγχος ανίχνευσης καρβαπενεμασών με τη δοκιμασία συνδυασμού δισκίων μεροπενέμης και των αναστολέων EDTA και PBA σε Mueller Hinton άγαρ. Τέλος, η ανίχνευση των καρβαπενεμασών επιβεβαιώθηκε με τη μοριακή μέθοδο της πολυπλεκτικής-PCR και την ηλεκτροφόρηση των προϊόντων αυτής σε γέλη αγαρόζης.

Αποτελέσματα: Από τα 102 στελέχη που μελετήθηκαν, τα 70 (68,6%) παρήγαγαν καρβαπενεμάση KPC, τα 19 (18,6%) παρήγαγαν NDM, τα 8 (7,8%) παρήγαγαν VIM, 1 (1%) στέλεχος παρήγαγε OXA-48 και 4 (4%) VIM+KPC ενώ δεν ανιχνεύθηκε στέλεχος με παραγωγή IMP. Οι KPC κυριαρχούσαν σε όλη τη διάρκεια της μελέτης και απομονώνονταν συχνότερα σε κλινικά δείγματα και σε δείγματα καλλιιεργειών επιτήρησης (74,1% και 47,6% αντίστοιχα), ακολουθούμενες από τις NDM (13,6% και 38,1% αντίστοιχα). Επίσης, οι KPC απομονώθηκαν συχνότερα σε κλινικά δείγματα ούρων, αίματος και πύων (65%, 80% και 70% αντίστοιχα), ενώ οι NDM σε ορθικά επιχρίσματα (46,7%). Τέλος, στελέχη με KPC απομονώθηκαν συχνότερα όλες τις κλινικές του νοσοκομείου (26, 17 και 27 στελέχη

αντίστοιχα), ακολουθούμενες από τις NDM (12, 5 και 2 στελέχη αντίστοιχα).

Συμπεράσματα: Από τα αποτελέσματα της μελέτης φάνηκε ότι η συχνότερη καρβαπενεμάση που ανιχνεύθηκε είναι η KPC. Όπως είναι γνωστό από πολλές άλλες μελέτες, τα στελέχη *K. pneumoniae* που παράγουν KPC καρβαπενεμάση είναι ενδημικά στα ελληνικά νοσοκομεία. Η φαινοτυπική ανίχνευση που χρησιμοποιήθηκε παρουσίασε 100%

ευαισθησία και ειδικότητα, ενώ αποτελεί μία μη κοστοβόρα και εύκολη στην εφαρμογή της μέθοδο ανίχνευσης παραγωγής καρβαπενεμασών, ώστε να ληφθούν έγκαιρα μέτρα ελέγχου της διασποράς τους σε άλλους ασθενείς της κλινικής. Η μοριακή μέθοδος παραμένει η μέθοδος αναφοράς της ανίχνευσης καρβαπενεμασών, επιβεβαιώνοντας τα αποτελέσματα της φαινοτυπικής μεθόδου αλλά αποτελεί κοστοβόρα μέθοδο και απαιτεί ειδικά καταρτισμένο προσωπικό.