

UNIVERZITET U BEOGRADU
MEDICINSKI FAKULTET

Vladimir Živanović

UTICAJ RAZLIKA U PROPISIVANJU
ANTIMIKROBNIH LEKOVA NA UČESTALOST
MULTIREZISTENTNIH PATOGENA NA HIRURŠKIM
I INTERNISTIČKIM ODELJENJIMA

DOKTORSKA DISERTACIJA

Beograd, 2017. god.

**UNIVERSITY OF BELGRADE
SCHOOL OF MEDICINE**

Vladimir Živanović

**INFLUENCE OF DIFFERENCES IN PRESCRIBING
ANTIMICROBIAL DRUGS ON ISOLATION RATE OF
MULTIDRUG RESISTANT PATHOGENS ON
SURGICAL AND MEDICAL WARDS**

DOCTORAL DISSERTATION

Belgrade, 2017.

Mentor: Prof. dr Radisav Šćepanović
Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet

Komentor: Prof. dr Ljiljana Gojković-Bukarica
Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet

Članovi komisije:

Prof. dr Slobodanka Đukić
Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet

Prof. dr Radoslav Perunović
Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet

Prof. dr Gorana Dragovac
Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet

Datum odbrane:

Uticaj razlika u propisivanju antimikrobnih lekova na učestalost multirezistentnih patogena na hirurškim i internističkim odeljenjima

Rezime

Savremena terapija infekcija podrazumeva zauzimanje zajedničkog stava/strategije o tome koji će se antimikrobni lekovi koristiti, pa se u skladu sa tim formira sopstveni lokalni vodič za primenu ovih lekova usklađen sa osetljivošću multirezistentnih (MDR) patogena prisutnih na različitim bolničkim odeljenjima. Za izradu lokalnog vodiča je neophodno prikupiti podatke o potrošnji i navikama propisivanja antimikrobnih lekova i o prevalenciji MDR patogena kao što su *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* i *Escherichia coli*.

Izolati navedenih MDR patogena su praćeni na hirurškim (S) i internističkim (M) odeljenjima Kliničko-bolničkog centra „Dr Dragiša Mišović-Dedinje“ u periodu od 2012. do 2015. godine. Procena pravilnog propisivanja antimikrobnih lekova je zasnovana na metodologiji Global-Point Prevalence Survey koja je dizajnirana u Antverpu (Belgija).

Procenat MDR patogena u odnosu na ukupan broj izolata *K.pneumoniae* - *P.aeruginosa* je značajno veći na S (86,2% i 49,1%) nego na M (63,2% i 36,9%) odeljenjima. Procenat MDR *A.baumannii* nije signifikantno različit između S (93,7%) i M (79,5%) odeljenjima. U posmatranom periodu, postoji statistički značajan porast prevalencije MDR *E.coli* na S i M odeljenju ($p < 0,001$).

Ukupna potrošnja antibiotika (određena kao definisana dnevna doza na 100 bolesničkih postelja) za četiri godine je 369,7 i 261,5 na S i M odeljenjima, redom. Analizirano je ukupno 225 epizoda propisivanja antimikrobnih lekova u 138 lečenih odraslih pacijenata. Procenat propisivanja antimikrobnih lekova kao profilakse je 75% i 0%, na S i M odeljenjima, redom. Terapija je bila češće empirijska nego kauzalna (S, 86,8% i M, 80%). Procenat greške u propisivanju na S i M odeljenjima je bio 74,6% i 27,3%, redom.

Indikatori kvaliteta, za propisivanje antimikrobnih lekova na S i M odeljenjima, su: neadekvatan izbor antimikrobnog leka (35,6% vs. 20,0%), neadekvatni dozni interval (70,6% vs. 16,9%) i dužina primene (72,5% vs. 23,1%), nedokumentovan start/stop terapije (73,6% vs. 16,9%) i odstupanje od vodiča (71,9% vs. 23,1%). Terapija zasnovana na biomarkerima je bila češća na M odeljenjima u odnosu na S odeljenja.

Porast prevalencije MDR patogeno, visoka potrošnja i neadekvatno propisivanje antimikrobnih lekova traži posebne mere opreza a pre svega na S odeljenjima.

Ključne reči: Potrošnja i navike u propisivanju antimikrobni lekovi, rezistencija na antimikrobne lekove, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, lokalni vodič

Naučna oblast: Medicina

Uža naučna oblast: Farmakologija, klinička farmakologija i toksikologija

Influence of differences in prescribing antimicrobial drugs on isolation rate of multidrug resistant pathogens on surgical and medical wards

Abstract

Contemporary antimicrobial therapy is based on unified decision/strategy about which antimicrobial drugs and how will be used, accordance to own guideline made on local proportion of multiple resistant drug isolates gathered on difference wards. In order to provide guidance data for clinically rational use of an antibiotics, consumption, prescribing and prevalence of multidrug resistant (MDR) *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* and *Escherichia coli* were monitored on the surgical (S) and medical (M) wards of the University Hospital Center „Dr. Dragiša Mišović-Dedinje“ (Belgrade, Serbia), in the study period from 2012. to 2015. Appropriateness of antimicrobial use was evaluated using the Global-Point Prevalence Survey method designed by the University of Antwerp.

The percentages of MDR pathogens relative to the total number of isolates of *K. pneumoniae* and *P. aeruginosa* were higher on the S (86.2% and 49.1%) than on the M (63.2% and 36.9%) wards. The percentage of MDR *A. baumannii* was not different with statistical significance, between S (93.7%) and M (79.5%) wards. During the observed period, we recognize statistically significant increase in prevalence of MDR *E.coli* both on S and M wards.

An overall antibiotics consumption (defined daily doses/100 beddays) during study was 369.7 and 261.5 on the S and M wards, respectively. A total of 225 prescriptions of antimicrobials were evaluated in 138 adults admitted to wards. The percentage of antimicrobials prescribed for prophylaxis on the M and S wards were 0% and 75%, respectively. Therapies were more frequently empiric (S, 86.8% and M, 80%). The percentages of medical errors on the S and M wards were 74.6% and 27.3%, respectively.

The quality indicators for antibiotic prescribing on the S and M wards were as follows: the incorrect choice of antimicrobials (35.6% vs. 20.0%), inappropriate dose interval (70.6% vs. 16.9%) or duration of therapy (72.5% vs. 23.1%), a nondocumented stop/review data (73.6% vs. 16.9%) and divergence from guidelines (71.9% vs. 23.1%). Treatment based on biomarkers was more common on the M wards as compared to the S wards.

The increasing prevalence of MDR pathogens, a very high consumption and incorrect prescribing of antimicrobials need special attention, particularly on the S wards.

Keywords: Consumption and prescribing of antimicrobial drugs, drug resistance, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, Local guideline

Research area: Medicine

Special topics: Pharmacology, clinical pharmacology and toxicology

SADRŽAJ

1. UVOD	12
1.1. Problem bolničkih infekcija u svetu i kod nas	12
1.2. Vrste bolničkih infekcija prema lokalizaciji	13
1.3. Najčešći uzročnici bolničkih infekcija i terapijske preporuke	14
1.3.1. Gram negativne Enterobakterije	14
1.3.1.1. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	16
1.3.1.2. <i>Escherischia coli</i>	19
1.3.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	22
1.3.3. <i>Acinetobacter baumannii</i>	25
1.4. Rezistencija na antimikrobne lekove	29
1.4.1. Mehanizmi rezistencije	30
1.4.1.1. Genska rezistencija	30
1.4.1.2. Negenska rezistencija	30
1.5. Mere koje se preduzimaju za prevenciju bolničkih infekcija	31
1.6. Racionalna antibiotska terapija	32
1.6.1. Izbor odgovarajuće antimikrobne terapije	32
1.6.2. Indikatori kvaliteta propisivanja antibiotika	38
1.6.3. Profilaktička primena antibiotika	39
1.6.4. Empirijska i kauzalna terapija infekcija izazvanih multirezitentnim Gram negativnim Enterobakterijama	40
1.7. Lokalni vodič za racionalnu primenu antibiotika	40
1.7.1. Značaj lokalne mape rezitencije	43
1.7.2. Način testiranja poštovanja vodiča (G-PPS)	43
1.8. Normalna mikrobiota-prošlost i budućnost	44
1.9. Ekspertski sistem	44

2. CILJ ISTRAŽIVANJA	46
3. MATERIJAL I METODE	47
3.1. Mesto istraživanja	47
3.2. Mikrobiološke i molekularne metode	48
3.2.1. Antimikrobno testiranje	48
3.2.2. Genotipizacija (multirezistencija na antibakterijske lekove)	53
3.3. Potrošnja antimikrobnih lekova	54
3.4. Propisivanje antimikrobnih lekova	54
3.4.1. Kriterijumi za uključivanje u ispitivanje	54
3.4.2. Kriterijumi za isključivanje	55
3.4.3. Obuhvaćeni antimikrobni lekovi	55
3.4.4. Studija trenutne prevalencije	56
3.5. Etika	57
3.6. Statističke metode	57
4. REZULTATI	58
4.1. Karakteristike pacijenata, indikacije za antimikrobnu terapiju i izolati bakterija	59
4.2. Potrošnja antimikrobnih lekova	62
4.3. Testiranje propisivanja antimikrobnih lekova po G-PPS metodologiji	66
4.4. Genska ispitivanja rezistencije	68
5. DISKUSIJA	69
5.1. Profil infekcija i rezistencija na antibiotike	69
5.2. Potrošnja antimikrobnih lekova	72
5.3. Navike u propisivanju antimikrobnih lekova	73
6. ZAKLJUČCI	76
7. LITERATURA	79

SKRAĆENICE/STRANI IZRAZI

AST - antimikrobno testiranje osetljivosti (antimicrobial susceptibility testing)

CDT - kombinovani disk test (eng. combined disk test)

CDC - centar za kontrolu i prevenciju bolesti

clinical breakpoint - tačka preloma

CLSI - Institut za kliničke i laboratorijske standarde (eng. Clinical and Laboratory Standards Institute)

DDST - test sinergizma sa dva diska (eng. double-disk synergy test)

DNK - dezoksiribonukleinska kiselina

E test – Epsilometar test (metoda eksponencijalnog gradijenta za određivanje antimikrobne rezistencije)

ESBL - beta-laktamaze proširenog spektra (eng. extended-spectrum beta lactamases)

EUCAST- Evropski komitet za ispitivanje antimikrobne osetljivosti (eng. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing)

FDA - Agencija za hranu i lekove (eng. Food and Drug Administration)

Guideline - Vodič

in vitro susceptibility testing - *in vitro* test osetljivosti

ISO 20774 - standard za antibakterijsko ispitivanje osetljivosti

IT - informacione tehnologije

KPC - karbapenemaze kod *Klebsiella pneumoniae* (eng. *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases)

MALDI-TOF - matricom - potpomognuta laserska desorpcija/ionizacija-vreme preleta (eng. matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry)

MDR - multirezistencija, multipla rezistencija (eng. multidrug- resistance)

MIK (engl. MIC) - minimalna inhibitorna koncentracija

Natural sensitivity/resistance - prirodna osetljivost/rezistencija

OMP - proteini spoljašnje membrane (eng. outer membrane proteins)

PCR - lančana reakcija polimeraze (eng. polymerase chain reaction)

qPCR - lančana reakcija polimeraze u realnom vremenu; kvantitativna lančana reakcija polimeraze (eng. real-time polymerase chain reaction; quantitative polymerase chain reaction)

PDR - rezistencija na sve postojeće antibiotike (engl. pan drug-resistant)

RNK - ribonukleinska kiselina

Stewardsheep - program za upravljanje problemima

Ventilator associated pneumonia: VAT - pneumonija na ventilatoru

XDR - ekstenzivno rezistentan (eng. extensively drug-resistant)

1. UVOD

Savremena terapija infekcija podrazumeva da se u svakoj zdravstvenoj instituciji zauzme zajednički stav/strategija o tome koji će se antimikrobni lekovi koristiti i kako, pa se u skladu sa tim formira sopstveni lokalni vodič za primene ovih lekova usklađen sa osetljivošću multirezistentnih (MDR) patogena prisutnih na različitim bolničkim odeljenjima (1). Osnovni zadatak izrade i primene vodiča za profilaktičku i terapijsku primenu antibiotika u našim bolnicama je implementacija najnovijih rezultata naučnih istraživanja u lečenju bolničkih infekcija izazvanih MDR patogenima dobijenih pretraživanjem literature (engl. “-evidence based medicine-”) i usklađivanje ovih preporuka sa osetljivošću naših lokalnih izolata (2, 3). Principi racionalne antimikrobne terapije uzimaju u obzir najmanje tri neophodne karike u lancu infekcije: osobine uzročnika infekcije, osobine domaćina i osobine leka (4). Sam izbor terapije je zasnovan na kulturi i rezultatima testa osetljivosti (kauzalna) ili na najčešćim patogenima uzročnicima te vrste infekcija i njihovim sadašnjim oblicima rezistencije (empirijska terapija). Takođe, racionalna primena antimikrobnih lekova podrazumeva i ispravnu profilaktičku primenu antibiotika u hirurškim (npr. urologija i abdominalna hirurgija) i internističkim granama (npr. kardiologija) (5).

1.1. Problem bolničkih infekcija u svetu i kod nas

Bolnička infekcija (engl. health care-associated infection) je lokalno ili sistemsko stanje prouzrokovano negativnim efektima na prisutne infektivne agense i njihove toksine uz uslov da nema dokaza da je infekcija postojala ili je bila u fazi inkubacije u vreme prijema u bolnicu radi zbrinjavanja akutnog zdravstvenog problema (6). Ova stanja mogu biti izazvana endogenim izvorom kao što je: koža, nos, usta, GIT i sl. ili egzogenim u odnosu na pacijenta kao što su zdravstveni personal, poseta, medicinska oprema i zdravstveno okruženje. Kod sumnje na bolničku infekciju izazvanu opservacijom (npr. infekcija hirurškog reza) ili pregledom rezultata ispitivanja, moramo uzeti jedan od definisanih kriterijuma za određenu vrstu infekcija i njihovim potvrđivanjem dobijamo dijagnozu bolničke infekcije koju možemo koristiti u epidemiološkim studijama (6).

Ova vrsta infekcija povećava učešće u infekcijama kako u visoko razvijenim državama tako i u srednje razvijenim i državama sa niskim bruto nacionalnim dohodkom (7, 8). Centar za kontrolu bolesti i prevenciju (engl. CDC, Atlanta, GA) procenjuje da troškovi lečenja

pacijenta povezani sa bolničkom infekcijom rastu u proseku za 2.100 US dolara (od 680 US dolara za infekciju urinarnog trakta do 5.683 US dolara za infekciju respiratornog trakta) i da ih je na godišnjem nivou oko 2 miliona, kao i da 75.000 ovih pacijenata umre u SAD godišnje. U Republici Srbiji su do sada sprovedene tri Nacionalne studije prevalencije bolničkih infekcija (1999., 2005. i 2010. godine) i u pripremi je četvrta. Prevalencija bolničkih infekcija u novembru 2010. godine je bila 5,3% i kreće se od 0-11,4% u posmatranih 60 bolnica na 13.392 opserviranih pacijenata (9). Najučestalije su bile: urinarna infekcija (25,9%), infekcija hirurškog reza (22,8%), pneumonija (10,4%) i sepsa (9,9%).

1.2. Vrste bolničkih infekcija prema lokalizaciji

Bolničke infekcije su sistematozovane u trinest grupa radi lakše obrade podataka, a svaka kategorija se dalje deli na specifične tipove za određenu anatomsku lokalizaciju. Ova podela je ustanovljena od strane Nacionalne mreže zdravstvene sigurnosti (engl. National Healthcare Safety Network), Odeljenja za promociju kvaliteta zdravstva pri Centru za kontrolu bolesti i prevenciju (engl. CDC, Atlanta, GA).

1. Infekcije urinarnog trakta obuhvataju: simptomatsku infekciju, asimptomatsku bakteriuriju i druge infekcije urinarnog trakta;
2. Infekcija hirurškog reza se deli na: površnu primarnu, površnu duboku, sekundarna primarna, sekundarna duboka i organa/prostora (23 anatomske lokalizacije);
3. Sepsa obuhvata laboratorijski potvrđenu infekciju krvotoka i kliničku sepsu;
4. Pneumonija se deli na: klinički definisanu, sa potvrđenim specifičnim laboratorijskim nalazima i pneumoniju kod imunokompromitovanih pacijenata;
5. Infekcije kosti i zglobova je podeljena na: osteomijelitis, ligamenti ili burza i prostor diska;
6. Infekcije CNSa obuhvataju intrakranijalne infekcije, meningitis ili ventrikulitis i spinalni absces bez meningitisa;
7. Infekcije kardiovaskularnog sistema su procesi na arterijskim i venskim krvnim sudovima, endokarditis, miokarditis ili /perikarditis i mediastinitis.
8. Infekcije oka, uha, nosa, grla ili usta se dele na: konjuktivitis, infekcije oka osim konjuktivitisa, infekcije uha i mastoida, infekcije usne šupljine (usta,

- jezik ili desni), sinuzitis, infekcije gornjeg respiratornog trakta (faringitis, laringitis i epiglotitis);
9. Infekcije gastrointestinalnog sistema se sastoje od: gastroenteritisa, infekcija gastrointestinalnog trakta, hepatitisa, intraabdominalnih infekcija koje nisu drugde pobrojane i nekrotizirajućeg enterokolitisa;
 10. Infekcije donjih partija respiratornog trakta bez dokaza za pneumonije su: bronhitis, traheobronhitis, traheitis i druge infekcije ove regije;
 11. Infekcije reproduktivnog sistema obuhvataju: endometritis, infekcija kod epiziotomije, infekcija kod posthisterektomijskog prolapsa vaginalnih zidova, druge infekcije muških i ženskih reproduktivnih organa;
 12. Infekcije kože i mekog tkiva uključuju: kožu, meka tkiva, dekubitalni ulkus, opekotine, apsces dojke ili mastitis, omfalitis, pustulozu i infekciju nakon cirkumcizije;
 13. Sistemske infekcije podrazumevaju diseminovanu infekciju.

Za svaku od gore pobrojanih infekcija su definisani detaljni kriterijumi (klinički i laboratorijski) na osnovu kojih se postavlja dijagnoza infekcije udružene sa zdravstvenom negom (engl. HAI) i kodirane su troslovnom ili četvoroslovnom skraćenicom.

1.3. Najčešći uzročnici bolničkih infekcija

Bolničke infekcije mogu da prouzrokuju bakterije, virusi, gljivice paraziti i prioni. Najčešći izazivači (prvih deset) u studiji prevalencije objavljenoj 2014. godine u SAD su: *C.difficile* 12,1%, *S.aureus* 10,7%, *K.pneumoniae/K.oxytoca* 9,9%, *E.coli* 9,3%, *Enterococcus spp* 8,7%, *P.aeruginosa* 7,1%, *Candida spp.* 6,3%, *Streptococcus spp.* 5,0%, Koagulaza negativan *Staphylococcus spp.* 4,8%, *Enterobacter spp.* 3,2%, *A.baumannii* 1,6% (10). Među ovim izazivačima raste procentualna zastupljenost MDR patogena a među njima poseban značaj imaju MDR Gram- bakterije zbog realne opasnosti da uskoro nećemo imati terapijske modalitete za lečenje infekcija izazvanih ovim bakterijama (11).

1.3.1. *Enterobacteriaceae* (crevni Gram negativni štapići)

Ovo je velika heterogena grupa Gram negativnih bakterija koje se nalaze u crevnom traktu ljudi i životinja kao deo normalne crevne flore, a istovremeno spadaju u najčešće uzročnike različitih infekcija u humanoj patologiji (12). Ova familija obuhvata rodove:

Escherichia sp., *Shigella sp.*, *Salmonella sp.*, *Enterobacter sp.*, *Klebsiella sp.*, *Serratia sp.*, *Proteus sp.* i druge. Pojedine od njih, čine normalnu crevnu floru i samo retko izazivaju bolest, kao npr. *Escherichia coli*, a druge su uvek znaci bolesti kao sto je *Shigella* i *Salmonella* kod ljudi. *Enterobacteriaceae* su fakultativni anaerobi i aerobi, fermentuju širok raspon ugljenih hidrata, poseduju kompleksnu gensku strukturu i produkuju različite toksine i druge faktore virulencije. Ovaj rod bakterija se takođe zove i koliformne bakterije.



Slika 1. *K.pneumoniae* i *E.coli* na hrom agar podlozi (Izvor Služba za laboratorijsku dijagnostiku – mikrobiološka laboratorija, KBC „Dr Dragiša Mišović – Dedinje“).

Karakteristike ove familije je da su to: Gram negativni štapići, pokretni sa peritrihijalnim flagelama ili nepokretni. Rastu na pepton podlozi ili podlozi ekstrakta mesa bez dodavanja natrijum hlorida, dobro rastu i na MacConkey agaru, pod aerobnim ili anaerobnim uslovima (fakultativni anaerobi). Fermentuju glukozu, često oslobađajući gasove, katalaza su pozitivne, oksidaza-negativne i redukuju nitrate u nitrite.

Identifikacija bazirana na hemijskim reakcijama se zamenjuje sa *matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectroscopy* (MALDI-TOFMS). Ova tehnika preuzima primat nad tradicionalnim metodama identifikacije kod *Enterobacteriaceae* osim za *Shigella* koja se ne razlikuje od *Escherichiae*. *Klebsiella* ima veliku i pravilnu kapsulu, koja je slabije izražena kod *Enterobactera* a retka ko ostalih rodova. Kod *E coli* kultura je, kao i kod većine koliformnih bakterija, kružna, konveksna, glatka sa jasnim granicama. *Enterobacter* kulture su slične sa više sluzi, a *Klebsiella* kolonije su velike i veoma sluzave. *Salmonella* i

Shigella prave slične kolonije kao *E coli* ali one ne fermentuju laktozu. Neki sojevi *E coli* prave hemolizu na krvnom agaru.

Karakteristike rasta se koriste kod izbora podloge i odvijanja hemijskih reakcija kako bi se izvršila identifikacija bakterija.

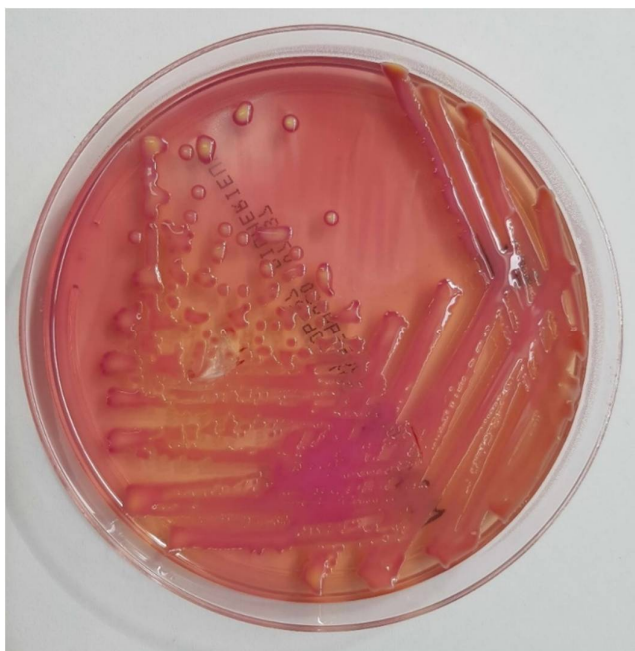
Antigenska struktura

Enterobacteriaceae imaju kompleksnu antigensku strukturu. Klasifikovano je preko 150 različitih termostabilnih somatskih O (lipopolisaharidi), više od 100 termo nestabilnih K (kapsularnih) i više od 50 H (flagelarnih) antigena. O antigeni su najpovršniji delovi ćelijskog zida i sastavljeni su od ponavljanih jedinica polisaharida. O antigeni su otporni na toplotu i alkohol i uobičajeno se detektuju bakterijskim aglutininima. Antitela na O antigene su dominantno IgM klase.

Kao i mnogi drugi Gram negativni organizmi *Enterobacteriaceae* proizvode kolicine (bakteriocine). Ovi proteini velike molekularne mase koje proizvode određeni sojevi su aktivni protiv drugih sojeva ili vrsta koje su bliske. Njihova proizvodnja je kontrolisana od strane plazmida. Sojevi koji proizvode bakteriocine su otporni na vlastite bakteriocine tako da se isti mogu iskoristiti za tipizaciju mikroorganizama (12).

1.3.1.1. *Klebsiella pneumoniae*

K. pneumoniae pokazuje mukoidan rast, ima izraženu kapsulu izgrađenu od polisaharida, nedostaje joj pokretljivost i uobičajeno daje pozitivan test lize dekarboksilaze i citrata. Takođe daje uobičajeno pozitivnu reakciju Voges-Proskauer. Može se uzgajati kako na krvnom agaru tako i na podlogama za diferencijaciju. Bakterija raste otežano na podlogama koje sadrže žumance jajeta (12).



Slika 2. *Klebsiella pneumoniae* Na Mac Conkey agar podlozi (Izvor Služba za laboratorijsku dijagnostiku – mikrobiološka laboratorija, KBC „Dr Dragiša Mišović – Dedinje“).



Slika 3. *Klebsiella pneumoniae* biohemijski niz 1.Kosi agar po Kligleru sa dvostukim šećerom, ureom i gvožđem, 2.Simonsova citratna podloga, 3.Ureaza test, 4.Test fermentacije manita, 5.Reakcija indola sa Kovačevim reagensom (Izvor Služba za laboratorijsku dijagnostiku – mikrobiološka laboratorija, KBC „Dr Dragiša Mišović – Dedinje“).

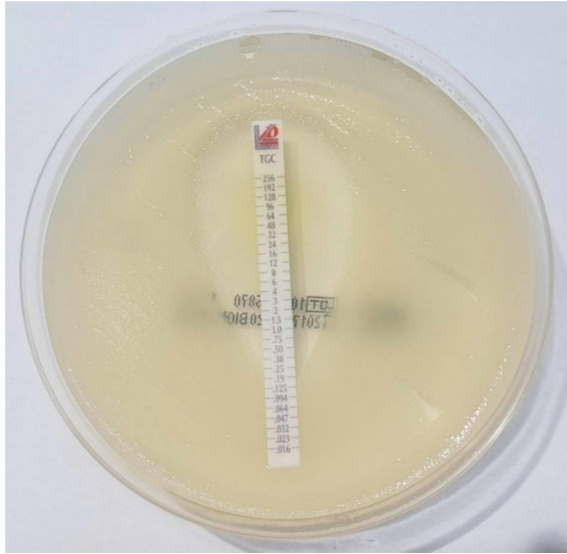
K. pneumoniae je prisutna u respiratornom traktu i fecesu kod 5% zdravih individua i spada u oportunističke patogene (13, 14). Uzrokuje infekcije urinarnog trakta, piogene apscese jetre i proporcionalno mali broj bakterijskih pneumonija (oko 1%). *K.pneumoniae* može da dovede do ekstenzivne hemoragično nekrotizirajuće konsolidacije pluća. Prouzrokuje bakteremiju sa fokalnim lezijama kod debilirajućih pacijenata. Vrsta *Klebsiellae* predstavlja jednu od 10 bakterija najčešćih uzročnika intrahospitalnih infekcija. Nefermentujuća (pod) vrsta *K.pneumoniae*, *K.ozaenae* je izolovana iz nazalnog mukusa kod ozene – fetidne progresivne atrofije mukozne membrane a (pod) vrsta *K. rhinoscleromatis* je

izolovan kod rinoskleroma – destruktivnog granuloma nosa i farinksa. Kao intrahospitalna infekcija uzročnik je infekcije hirurške rane, vaskularnih proteza, bilijarnog trakta, peritonitisa i meningitisa. Po učestalosti je na drugom mestu, odmah iza *E.coli*, kao uzročnik Gram negativnih bakterijemija iz infekcija urinarnog trakta

Osetljivost na antibiotike je različita u zavisnosti od soja. Svi sojevi su rezistentni na ampicilin, zbog prisustva hromozomskog gena za penicilin specifičnu beta-laktamazu. Sojevi odgovorni za bolničke infekcije su putem plazmida dobili informaciju za otpornost na druge antibiotike tako da je često prisutan plazmid koji kodira beta-laktamazu proširenog spektra (extended spectar β -laktamase: ESBL) i karbapenemazu. U terapiji se primenjuju sulfonamidi, polusintetski penicilini sa inhibitorom β -laktamaze, cefalosporini I generacije, fluorohinoloni i aminoglikozidi. Kod težih infekcija izazvanih rezistentnim sojevima koristimo cefalosporine III i IV generacije, aminoglikozide, karbapeneme ili kolistin (15, 16). Imperativ je laboratorijsko određivanje osetljivosti soja na antimikrobne lekove pogotovo kod bakterijemije i pretećeg septičkog šoka.



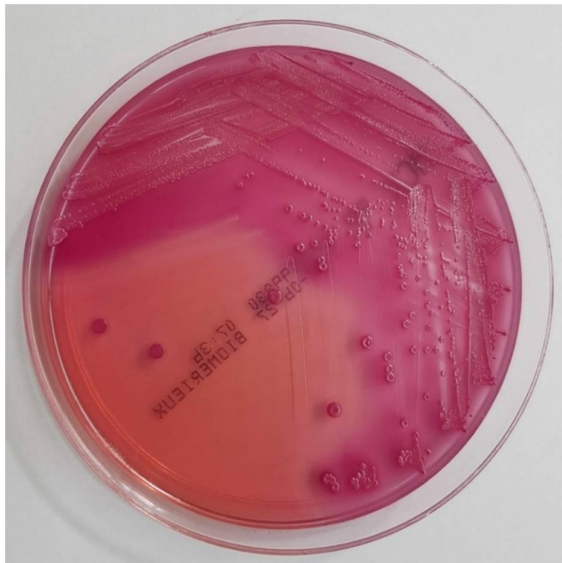
Slika 4. *Klebsiella pneumoniae* disk difuzija (Izvor Služba za laboratorijsku dijagnostiku – mikrobiološka laboratorija, KBC „Dr Dragiša Mišović – Dedinje“).



Slika 5. *Klebsiella pneumoniae* tigecklin E test (Izvor Služba za laboratorijsku dijagnostiku – mikrobiološka laboratorija, KBC „Dr Dragiša Mišović – Dedinje“).

1.3.1.2. *Escherichia coli*

E.coli je deo normalnog mikrobioma gastrointestinalnog trakta i samo retko izaziva oboljenja, oslobađa indol iz triptofana, dekarboksilazu lizira a manitol i laktozu fermentira i razvija gas iz glukoze (17, 18). Izolati iz urina brzo se mogu identifikovati hemolizom krvnog agara i tipičnom morfologijom kolonija. Ona je fakultativni anaerob, a većina sojeva je pokretna (12).



Slika 6. *Escherichia coli* na Mac Conkey agar podlozi (Izvor Služba za laboratorijsku dijagnostiku – mikrobiološka laboratorija, KBC „Dr Dragiša Mišović – Dedinje“).



Slika 7. *Escherichia coli* biohemijski niz 1.Kosi agar po Kligleru sa dvostukim šećerom, ureom i gvožđem, 2.Simonsova citratna podloga, 3.Ureaza test, 4.Test fermentacije manita, 5.Reakcija indola sa Kovačevim reagensom (Izvor Služba za laboratorijsku dijagnostiku – mikrobiološka laboratorija, KBC „Dr Dragiša Mišović – Dedinje“).

Ekstraintestinalna *E. coli* (ExPEC) je najčešće uzročnik infekcija urinarnog trakta, neonatalnog meningitisa i širokog spektra drugih oboljenja kao što je intrahospitalna pneumonija, holecistitis i holangitis, peritonitis, celulitis, osteomijelitis i infektivni artritis (19, 20). Sojevi koji su odgovorni za urinarne infekcije su drugačiji od *E. coli* izolovane iz creva i nose naziv uropatogena *E. coli*. Ovaj tip *E. coli* se karakteriše P fimbrijama, inkapsuliran je, produkuje citolitički toksin hemolizin i ima višestruki sistem za preuzimanje gvožđa, produkuje K1 kapsulu (21). Kod imunokompromitovanih pacijenata uzročnik infekcija je enteralna forma *E. coli*.

Enterotoksigena *E. coli* (ETEC) prouzrokuje dijarealni sindrom koji može da bude u rasponu od inaparentne infekcije, do kolera-sličnog oboljenja. Može da luči dva enterotoksina (termolabilni:LT i termostabilni:LS) koji su odgovorni za diareju, a gde LT ima isti mehanizam kao i toksin vibria kolere vezujući se za glikolipid na apikalnom delu membrane enterocita (22). Terapija je kombinacija fluorohinolona i loperamida koji smanjuje motilitet. Farmakoterapija nekomplikovanih infekcija izazvanih *E. coli* podrazumeva primenu aminopenicilina, 1. generacije cefalosporina (npr. cefazolin), trimetoprin-sulfometoksazola i fluorohinola. U slučaju pojave rezitencije na navedene klase antibiotika primenjuje se 3. generacija cefalosporina (ceftrikason, cefotaksim), penicilini proširenog spektra+inhibitori beta laktamaza (amoksicilin+sulbaktam), a karbapenemi i aminoglikozidi kod teških infekcija (15, 16).



Slika 8. *Escherichia coli* disk difuzija (Izvor Služba za laboratorijsku dijagnostiku – mikrobiološka laboratorija, KBC „Dr Dragiša Mišović – Dedinje“).



Slika 9. *Escherichia coli* Tigeciklin E test (Izvor Služba za laboratorijsku dijagnostiku – mikrobiološka laboratorija, KBC „Dr Dragiša Mišović – Dedinje“).

Enteropatogena *E.coli* (EPEC) je karakterišu specifične pile koje omogućavaju formiranje kolonija koje se lako vezuju za epitelne ćelije (23, 24). Utiču na smanjivanje broja mikrofila, oslabljivanje tesnih veza među epitelnim ćelijama i direktnu sekreciju tečnosti().

Enterohemoragična *E.coli* (STEC) ima Shiga toksin (citotoksin) koji prouzrokuje spektar bolesti, od vodenastih i hemoragičnih dijareja do hemolitičko-uremičnog sindroma i smrti (22).

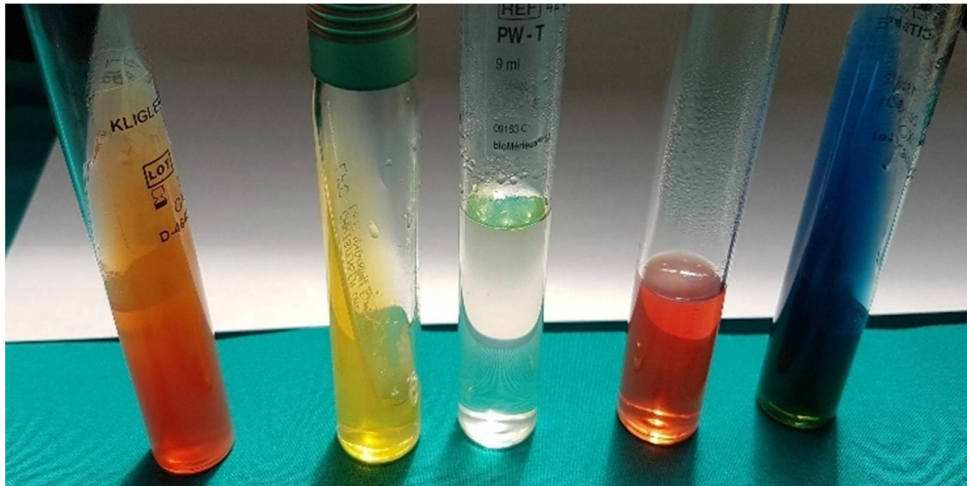
1.3.2. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas kao i *Acinetobacter* je široko rasprostranjen kako u zemlji tako i u vodi, a u bolnicama se nalazi u vlažnoj sredini. *P. aeruginosa* ponekad kolonizuje ljude i predstavlja glavni ljudski patogen u grupi. *P.aeruginosa* je invazivan i toksin-stvarajući patogen koji uzrokuje infekcije kod pacijenata sa izmenjenim imunitetom, kao i intrahospitalne infekcije (12).

P. aeruginosa je pokretni štapić, Gram negativan i pojavljuje se kao pojedinačna bakterija, u parovima i povremeno kao kratki lanci. Obligatni je aerob koji lako raste na različitim podlogama, proizvodeći slatkast, grožđu sličan miris. Pojedini sojevi hemoliziraju krv. *P. aeruginosa* stvara glatke okrugle kolonije sa fluorescentnom zelenkastom bojom (pijoverdin kada je osvetljen ultraljubičastom svetlosti). Često proizvodi nefluorescentan plavičast pigment pijocianin koji prodire u agar. Pojedini sojevi proizvode tamno crveni pigment pijorubin ili crni pigment pijomelanin. *P. aeruginosa* dobro raste na temperaturama od 37-42⁰C i rast na 42⁰C pogoduje razlikovanju od drugih *Pseudomonas spp.* (vrsta) u grupi fluorescirajućih kolonija. Oksidaza pozitivan je, ne fermentira ugljene hidrate, ali mnogi sojevi oksidiraju glukozu. Precizna identifikacija zahteva testove biohemijske aktivnosti na nizu različitih podloga (25).



Slika 10. *Pseudomonas aeruginosa* na Mueller Hinton agar podlozi (Izvor Služba za laboratorijsku dijagnostiku – mikrobiološka laboratorija, KBC „Dr Dragiša Mišović – Dedinje“).



Slika 11. Biohemijski niz za *Pseudomonas aeruginosa*: 1.Kosi agar po Kligleru sa dvostukim šećerom, ureom i gvožđem, 2.Simonsova citratna podloga, 3.Ureaza test, 4.Test fermentacije manita, 5.Reakcija indola sa Kovačevim reagensom (Izvor Služba za laboratorijsku dijagnostiku – mikrobiološka laboratorija, KBC „Dr Dragiša Mišović – Dedinje“).

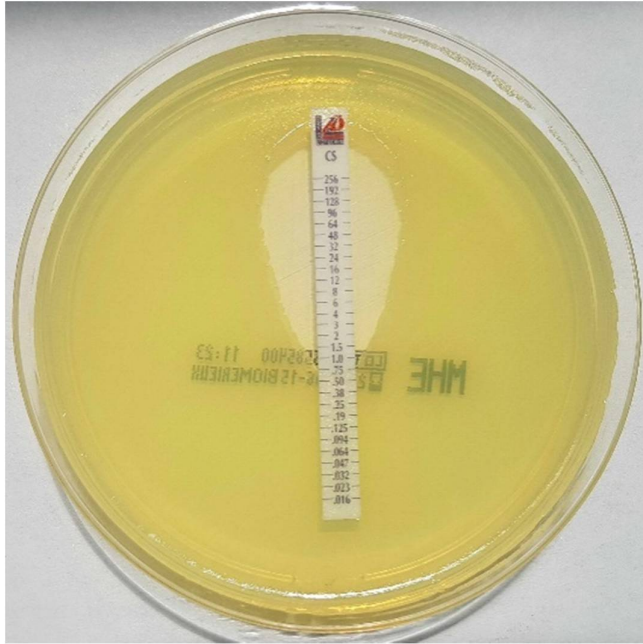
P. aeruginosa je često uzročnik intrahospitalnih infekcija i predstavlja drugog uzročnika po učestalosti (nakon *Acinetobacter*) koji je identifikovan na rukavicama i odeći zdravstvenih radnika, na opremi u jedinicama intenzivnog lečenja, kvakama, česnama i rukohvatima kolica i kreveta. Izazivač je teških oboljenja kao što su septikemija, infektivni endokarditis, pneumonija sa posebnim naglaskom na pneumoniju udruženu sa suprotom

disajne funkcije (ventilator associated pneumonia – VAP), urinarne infekcije i drugih ređih oboljenja kao što su infekcije mekih tkiva, osteomijelitis, infekcije ORL organa (26).

P. aeruginosa iz različitih kolonija može da ima različitu biohemijsku i enzimsku aktivnost pa samim tim i različit obrazac osetljivosti prema antibioticima. Ponekad nije jasno da li se radi o kolonijama različitih sojeva ili varijetetima istog soja (27). Kod pacijenata sa cističnom fibrozom izolovan *P. aeruginosa* se nalazi u mukoidnim kolonijama kao rezultat velike produkcije alginata (eksopolisaharid). Genom *P.aeruginosa* je kompleksan i sadrži brojne različite familije gena što objašnjava veliku genetsku i funkcionalnu različitost ovog patogena. Istraživanjem humanog mikrobiota ustanovljeno je da je kod zdravih retko prisutan a da sa promenama u mikrobiomu (smanjena rezistencija prema kolonizaciji i smanjena rezilencija-mogućnost oporavka) uslovljenim primenom antimikrobnih lekova, antiholinergika, prisustvo gastrointestinalnih oboljenja i primena dijeta, dovodi do kolonizacije istim.



Slika 12. *Pseudomonas aeruginosa* disk difuzija (Izvor Služba za laboratorijsku dijagnostiku – mikrobiološka laboratorija, KBC „Dr Dragiša Mišović – Dedinje“).



Slika 13. *Pseudomonas aeruginosa* kolistin E test (Izvor Služba za laboratorijsku dijagnostiku – mikrobiološka laboratorija, KBC „Dr Dragiša Mišović – Dedinje“).

Terapija podrazumeva intravensku primenu karboksipenicilina (karbenicilin i tikarcilin), ureidopenicilina (mezlocilin, azlocilin i piperacilin), polusintetskih penicilina sa inhibitorima β -laktamaze (piperacilin+tazobaktam), cefalosporina III i IV generacije (ceftazidim, cefepim, cefoperazon, cefpirom, ceftobiprol, ali ne cefuroksim, cefotaksim i ceftriakson), fluorohinolona (ciprofloksacin, levofloksacin, ali ne moksifloksacin), karbapenema (meropenem, imipenem, doripenem ali ne ertapenem), aminoglikozida (gentamicin, amikacin, tobramicin, ali ne kanamicin) i polimiksina (polimiksin B i kolistin) (15, 28.). Važno je laboratorijsko određivanje osetljivosti soja na antimikrobne lekove pogotovo kod sumnje na intrahospitalnu infekciju.

1.3.3. *Acinetobacter baumannii*

Bakterije pripadnici *Acinetobacter* vrste (*A. baumannii*, *A. pittii* i *A. nosocomialis*) su aerobne Gram negativne bakterije koje su široko rasprostranjene u zemlji i vodi, a povremeno mogu biti kultivisane sa kože, mukoznih membrana, sekreta i bolničkog okruženja (12).

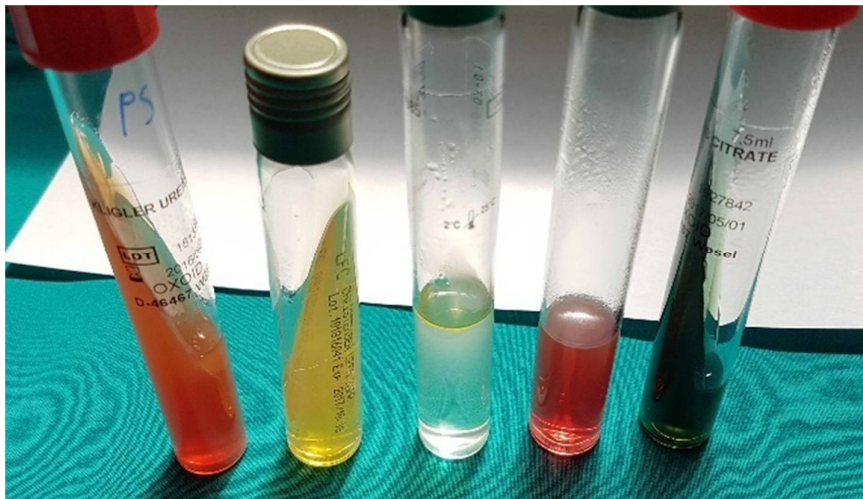
A.baumannii je aeroban, katalaza-pozitivan, oksidaza-negativan kokobacil, dobro raste na većini podloga koje se koriste za kultivisanje bakterija. *Acinetobacter* izolovan kod pacijenata sa meningitisom ili bakterijemijom se često pogrešno identifikuje kao *Neisseria*

meningitis a kada se izoluje sa ženskih genitalija može pogrešno da se identifikuje kao *Neiseria gonorrhoeae*. Ipak, *Neisseria* produkuje oksidazu za razliku od *Acinetobacteria*. Nove tehnologije kao što je MALDI-TOF ubrzavaju identifikaciju bakterije i tip antimikrobne rezistencije što omogućava dobar plan lečenja.

Sposoban je da preživi nedeljama na radnim površinama u zdravstvenim ustanovama i to je razlog za udaljene epidemije i širenje na druge ustanove.



Slika 14. *Acinetobacter baumannii* Na Mac Conkey agar podlozi (Izvor Služba za laboratorijsku dijagnostiku – mikrobiološka laboratorija, KBC „Dr Dragiša Mišović – Dedinje“).



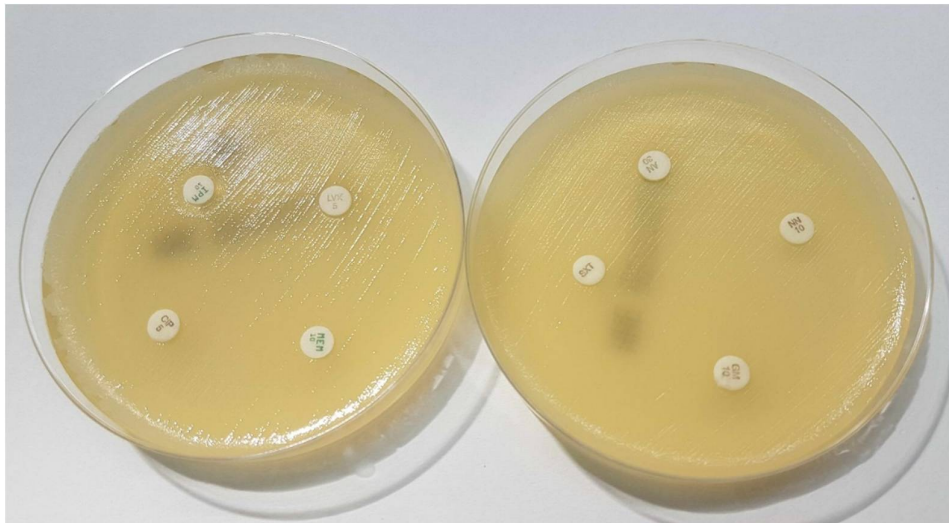
Slika 15. *Acinetobacter baumannii* biohemijski niz: 1.Kosi agar po Kligleru sa dvostukim šećerom, ureom i gvoždem, 2.Simonsova citratna podloga, 3.Ureaza test, 4.Test fermentacije manitola, 5.Reakcija indola sa Kovačevim reagensom (Izvor Služba za laboratorijsku dijagnostiku – mikrobiološka laboratorija, KBC „Dr Dragiša Mišović – Dedinje“).

Acinetobacter je često komensal, ali povremeno i uzročnik nozokomialnih infekcija kada se može izolovati iz krvi, sa kože, pleuralne tečnosti, iz urina, što je često u vezi sa plasiranim transkutanim pristupima.

Acinetobacter je od posebnog interesa za intrahospitalne infekcije zbog velikog značaja brzošireće rezistencije na dostupne antimikrobne lekove. Nalazi se na prvom mestu kao uzročnik pneumonija kod pacijenata na ventilatoru (VAP), često je uzročnik septicemija udruženih sa vaskularnim kateterima, infekcijama hirurške rane i infekcijama urinarnog trakta (29). Ova zastupljenost kod infekcija urinarnog trakta se objašnjava izolacijom sojeva koji su sposobni da prave biofilm na urinarnom kateteru. Faktori rizika za kolonizaciju *A.baumannii* su: boravak u jedinicama intenzivnog lečenja, ekspozicija cefalosporinima III generacije, fluorohinolonomima i karbapenemima i boravak u institucijama za stara lica. Evidentan je visok mortalitet kod pacijenata na imunosupresiji a nakon transplantacije solidnih organa koji su razvili infekciju izazvanu *A.baumannii*. Transfer i izazivanje intrahospitalnih infekcija je često posledica neadekvatne higijene pre svega ruku zdravstvenih radnika, ali i neadekvatne dezinfekcije pokretne medicinske opreme i površina u dohvatu pacijenta. *A.baumannii* je takođe uzročnik ozbiljnih pneumonija u vanbolničkim uslovima za vreme toplih i vlažnih meseci, sa visokim mortalitetom kao i infekcija kože i mekih tkiva tokom prirodnih katastrofa ili u okviru ratne traume.

Istraživanje genoma *Acinetobacteria* pokazuje klustere gena u obliku ostrvaca rezistencije koja olakšavaju preuzimanje novih mehanizama rezistencije od drugih bakterija.

S obzirom na visok procenat rezistencije, terapija se bazira na pretpostavci sa kojim uzročnikom je došao pacijent u kontakt i na lokalnoj mikrobiološkoj mapi (30). Važno je razlikovati kolonizaciju od infekcije.



Slika 16. *Acinetobacter baumannii* disk difuzija (Izvor Služba za laboratorijsku dijagnostiku – mikrobiološka laboratorija, KBC „Dr Dragiša Mišović – Dedinje“).



Slika 17. *Acinetobacter baumannii* kolistin E test (Izvor Služba za laboratorijsku dijagnostiku – mikrobiološka laboratorija, KBC „Dr Dragiša Mišović – Dedinje“).

Ukoliko je osetljiv soj u pitanju, savetovano je terapiju započeti β -laktamskim antibioticima zbog brzog baktericidnog efekta i dobre biorasploživosti leka. Sledeći nivo u prisustvu rastuće rezistencije na karbapeneme je primena β -laktamskih inhibitora gde sulbaktam, sam ili u kombinaciji sa ampicilinom daje dobre rezultate u terapiji invazivnih infekcija (pneumonija, septikemija i meningitis). U terapiji se koriste karbapenemi (imipenem, meropenem, doripenem), aminoglikozidi (amikacin), tigecklin i kolistin (31).

Dosadašnjim istraživanjima nije potvrđeno da li su rezultati in vitro istraživanja, gde istovremeno davanje različitih antimikrobnih lekova (meropenem+kolistin ili meropenem+tigeciklin) daje bolje rezultate od monoterapije, su primenjivi u terapiji teških stanja izazvanih MDR sojevima *A.baumannii*.

1.4. Rezistencija na antimikrobne lekove

Antimikrobna rezistencija je promena koja nastaje kada se mikroorganizam (bakterija, virus, gljivica i parazit) menja prilikom izlaganja delovanju antimikrobnih lekova (antibiotici, antifungici, antiviroci, antimalarici i antiparazitici)(32). Mikroorganizmi koji razvijaju antimikrobnu otpornost/rezistenciju se često nazivaju i „superbube“ (33, 34). Kao rezultat se javlja neefikasnost leka i perzistencija infekcije kod pacijenta, povećavajući rizik da se prenese na druge ljude.

Rezistencija na antimikrobne lekove je posledica upotrebe, a posebno zloupotrebe antimikrobnih lekova i nastaje kada mikroorganizam mutira ili dođe do ekspresije gena za rezitenciju (35, 36). Smatra se da se u bolnicama blizu 50% antibiotika propisuje nepotrebno (37, 38). Imajući u vidu da je pojava antimikrobne rezistencije i uvođenje novih antibiotika u obrnutoj korelaciji, neophodan je novi pristup upotrebi antibiotika u bolnicama. Od 1998. god. samo desetak novih antibiotika je registrovano, a samo 2 su za MDR patogene (linezolid i daptomicin). Rezistencija na antimikrobne lekove je veoma često posledica nekritične upotrebe, a posebno zloupotrebe ovih lekova (39). Pojava bolničkih infekcija izazvanih *Clostridium difficile* i Gram - enterobakterijama rezitentnim na cefalosporine III generacije i karbapeneme je 10-20 puta češća posle neracionalne primene antibiotika širokog spektra dejstva (40, 41, 42). Infekcije uzrokovane MDR patogenima često ne reaguju na uobičajenu antimikrobnu terapiju što rezultira dužim trajanjem bolesti i povećanim rizikom od smrtnog ishoda (Meletis G.). Roberts i sar. su pokazali da je cena bolničkog lečenja infekcija izazvanih MDR, 30.000 \$/po bolesniku, a kada je uzročnik infekcije osetljiv na više antibiotika, cena je značajno manja, tj. 18.000 \$/po bolesniku. Boravak u bolnici je produžen sa 6 na 13 dana, a mortalitet od ove vrste infekcija je visok i iznosi 6,5% (30).

Pojam MDR patogen (engl. multidrug rezistentni organizam), predstavlja najčešće bakteriju koja je otporna na najmanje tri klase antimikrobnih lekova. Iako je često u nazivu takve bakterije naglašena otpornost prema jednom leku (npr. MRSA) ovi mikroorganizmi su često otporni na skoro sve dostupne lekove (33).

Pojam XDR patogen je mikroorganizam rezistentan na pet i više grupa antibiotika, a PDR patogen je mikroorganizam rezistentan na sve antibiotike (33).

Postoji više mehanizama kojima mikroorganizmi razvijaju rezistenciju prema antibioticima (34). Mikroorganizam može da produkuje enzim koji razgrađuje lek kao što stafilokoke mogu da produkuju beta-laktamazu i razgrađuju penicilin G. Mikroorganizam može da menja svoju propustljivost za lekove tako da se npr tetraciklin može akumulirati u osetljivoj bakteriji, dok se u drugoj ne može naći. Mikroorganizam može da izmeni strukturu za koju se vezuje lek, tako *Streptococcus pneumoniae* koja može da izmeni receptor na 50S subjedini ribozoma. Mikroorganizam može da razvije izmenjen metabolički put i na taj način preskoči reakciju leka sa metabolitom, npr. kao kod sulfonamid-rezistentnih sojeva kojima nije potrebna ekstracelularna para amino benzoeva kiselina (PABA), već koriste gotovu folnu kiselinu. Mikroorganizam može da eksprimira drugačiji enzim koji obavlja metaboličku ulogu, ali je manje podložan dejstvu leka. Tako je kod trimetoprim-rezistentnih bakterija, gde je reduktaza dihidrofolične kiseline manje osetljiva nego kod trimetoprim-osetljivih bakterija (12).

1.4.1 Mehanizmi rezistencije

1.4.1.1. Negenetska rezistencija

Mirovanje bakterije je primer za negenetsko poreklo rezistencije, tj. kada se bakterija ne razmnožava na nju ne deluje lek, a kad počne da se razmnožava ona postaje osetljiva. Primer za ovaj vid rezistencije je *Mycobacteria* koja može da perzistira i ne može da se eradiciira a kod pada imuniteta dolazi do njenog razmnožavanja, kada postaje osetljiva na lekove. Sledeći tip negenske rezistencije je kada bakterija prestane da sintetiše strukturu na koju deluje lek, kao kod defektnih L-formi na koje ne deluju penicilini i cefalosporini. Naseljavanjem na mestima gde lek ne prodire, bakterija postaje otporna na lek. Kada se *Salmonella* naseli intracelularno, postaje otporna na aminoglikozide koji ne prodiru u ćeliju, dok na *Legionellae* mogu da deluju samo lekovi koji ulaze u ćeliju (12).

1.4.1.2. Genska rezistencija

Genska rezistencija se deli na hromozomsku i ekstrahromozomsku. Hromozomska rezistencija se javlja kao posledica spontane mutacije na lokusu koji kontroliše osetljivost

prema datom leku (44). Prisustvo antimikrobnog leka predstavlja osnovu selekcije rezistentnog mikroorganizma. Ekstrahromozomska rezistencija se bazira na ekstrahromozomskom genetskom materijalu koji se zove plazmid. Neki plazmidi nose informaciju za rezistenciju prema jednom leku a često i za više lekova. Geni plazmida za antimikrobnu rezistenciju često kontrolišu grupu enzima sposobnih da razgrade antimikrobni lek. Genski materijal sa plazmida se prenosi procesima transdukcije, transformacije ili konjugacije.

Unakrsna rezistencija je prisutna kad je mikroorganizam otporan na određeni lek kao i na drugi lek koji ima zajednički mehanizam delovanja. Ovakav mehanizam je vezan za lekove koji su bliski hemijskom strukturom ili imaju sličan način vezivanja ili aktivnost.

Pojava rezistencije na lekove se može smanjiti održavanjem dovoljno visokih doza leka u tkivu koje će inhibirati kako primarnu populaciju mikroorganizama, tako i prvi red mutanata. Takođe se mogu dati istovremeno dva leka koja ne daju unakrsnu rezistenciju, gde svaki odlaže pojavu mutanata na onaj drugi lek. Najefikasnija mera za odlaganje rezistencije je ograničavanje izlaganja mikroorganizama rezervnim antibioticima, tj. restriktivnim davanjem antibiotika u bolničkim i vanbolničkim uslovima (12).

1.5. Mere koje se preduzimaju za prevenciju bolničkih infekcija

Higijena ruku u zdravstvenoj nezi je sve prisutna i promovise se zadnjih 30 godina kao jedan skup mera koji značajno doprinosi smanjenu komplikacija lečenja (45). Procedura prevencije SSI se bazira na preoperativnom tuširanju pacijenta veče pred operaciju. Antimikrobna profilaksa se primenjuje samo u situacijama gde je indikacija bazirana na objavljenim kliničkim protokolima vremenski ordinirana tako da postiže zahtevanu koncentraciju u serumu i tkivu u momentu incizije. Kod carskog reza, antimikrobnu profilaksu treba primeniti neposredno pre reza kože. Pripremu operativnog polja treba izvoditi u operacionoj sali rastvorima alkohola, ukoliko nije kontraindikovano. Za čiste i čiste kontaminirane procedure ne treba davati dodatne doze antibiotika nakon zatvaranja rane u operacionoj sali pa ni kod pacijenata kod kojih je ostavljena drenaža (46). Lokalni - topikalni antibiotici na ranu se ne stavljaju. Tokom operacije kod pacijenata sa diabetes mellitusom je neophodno održavati glikemiju ispod 200 mg/dL, a normotermiju treba održavati tokom operacije kod svih pacijenata. Povećanu frakciju kiseonika u inspirisanom vazduhu treba održavati tokom operacije i neposredno posle ekstubacije kod pacijenata sa normalnom

plućnom funkcijom koji se podvrgavaju opštoj anesteziji endotrahealnom intubacijom. Transfuziju krvnih produkata ne treba prekidati kao meru prevencije SSI (47).

1.6. Racionalna antimikrobna terapija

Racionalna terapija definisana je kao optimalan izbor, doziranje i trajanje lečenja antibioticima, čiji je rezultat najbolji klinički ishod za lečenje ili sprečavanje zaraze, uz minimalnu toksičnost za pacijenta i minimalan uticaj na kasniju rezistenciju (4). Joseph i Rodvold ističu značaj "4 D" za optimalnu antimikrobnu terapiju: dobro izabran lek (engl. Drug), ispravna doza (engl. Dose), deeskalaciona terapija po izolovanju uzročnika infekcije (engl. De-escalation) i ispravna dužina terapije (engl. Duration of therapy)(30). David Looke i John Ferguson su definisali racionalnu primenu antibiotika uvođenjem akronima, MIND ME, M (mikrobiološke analize treba uraditi i prema njima odabrati lek kada god je to moguće), I (indikacija treba da bude zasnovana na dokazima), N (engl. narrow, kada god je to moguće treba koristiti antibiotike uskog antibakterijskog spektra), D (doza leka treba da bude prilagođena mestu i tipu infekcije), M (minimizirati dužinu terapije) i E (engl. ensure, obezbediti monoterapiju u većini slučajeva)(48, 49).

Problem neracionalne upotrebe (zloupotrebe) antibiotika je glavni pokretač antimikrobne rezistencije, povećanog morbiditeta i mortaliteta i izražen je u kako u razvijenim zemljama tako i u zemljama u razvoju gde je prisutno izdavanje antimikrobnih lekova bez propisanog recepta iako je važećim nacionalnim legislativama drugačije regulisano (50). Na ovakvu upotrebu utiče opredeljenost i mogućnost pacijenata za samolečenjem u cilju smanjivanja troškova lečenja izbegavanjem odlaska kod lekara. Ovde se pre svega misli na antibiotsku terapiju bez recepta kod infekcije gornjih partija respiratornog trakta, najčešće virusne etiologije, a gde pojedini lekari i farmaceute svojim neodgovornim pristupom i savetima povećavaju ovaj problem (51). U ovakvim situacijama se često prodaju antibiotici širokog spektra ali niske cene koštanja, uz malobrojno usmene uputstvo o antimikrobnom leku i njegovim nuspojavama ili štetnim posledicama (51).

1.6.1. Izbor odgovarajuće antimikrobne terapije

Nekoliko faktora bi morali uzeti u obzir prilikom određivanja adekvatne antimikrobne terapije. Na prvom mestu bi to bila identifikacija uzročnika, na drugom mestu bi trebalo da bude pretpostavljena osetljivosti na pretpostavljeni antimikrobni lek i na kraju specifični

faktori za pacijenta koji utiču na ishod interakcije patogen/antimikrobni lek (anamneza o prethodnim reakcijama na lek, genetske i metaboličke abnormalnosti, trudnoća, izmenjena bubrežna i jetrina funkcija, mesto infekcije)(52, 53).

Kombinacije antimikrobnih lekova

U prethodno zdravih pacijenata bez komorbiditeta predlaže se mono terapija, ali kod prisutnih drugih oboljenja ili tamo gde postoji sumnja na mešovitu infekciju ili infekciju otpornim patogenima, opravdana je terapija sa više lekova gde se očekuje singergistički efekat i manja verovatnoća neuspeha terapije (54). Rezultati *in vitro* ispitivanja ne poklapaju se uvek sa reakcijom između patogena i antimikrobnih lekova na terenu domaćina. Terapije sa više antimikrobnih lekova je takođe opravdana kod kritično obolelih gde je započinjanje terapije široko spektralnim antimikrobnim lekovima opravdano, ovde se misli na septične pacijente i pacijente sa leukopenijom. Na ovaj način se prevenira i razvoj otpornosti (npr. kod terapije tuberkuloze)(55).

Terapija na bazi ustanovljenog MICa

bioMérieux Customer: KBC "Dr. D. M."-Dedinje-Mikrobiološka lab Printed May 8, 2017 12:15 CEST
Microbiology Chart Report

Patient Name: Djordjevic Slavka Patient ID: 190894378216
 Location: Physician
 Lab ID: 1844/17p Isolate Number: 1

Organism Quantity:
 Selected Organism: *Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae*
 Source: ikvb vrh cvk Collected:

Comments:

Identification Information	Analysis Time:	4.00 hours	Status:	Final
Selected Organism	99% Probability	<i>Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae</i>		
ID Analysis Messages	Bionumber:	6607735753565010		

Susceptibility Information	Analysis Time:	8.50 hours	Status:	Final	
Antimicrobial	MIC	Interpretation	Antimicrobial	MIC	Interpretation
ESBL	POS	+	Ertapenem	<= 0.5	S
Ampicillin	> 16	R	Imipenem	<= 0.25	S
Piperacillin/tazobactam	<= 4	S	Amikacin	4	*I
Cefazolin	(-)	(-)	Gentamicin	8	R
Ceftazidime	4	I	Ciprofloxacin	> 2	R
Ceftriaxone	16	R	Levofloxacin	4	R
Cefepime	<= 1	S	Tigecycline	<= 0.5	S

+ = Deduced drug * = AES modified ** = User modified (-) = Susceptibility testing not recommended; species is a poor target for therapy

AES Findings

Confidence: Consistent

KBC "Dr.D. M."-Dedinje-Mikrobioloska lab
AES Detail Report

bioMerieux Customer: Printed by: sandora
System #: Printed: May 8, 2017 12:15 CEST

Accession Number: 1844/17p-1 Date Tested: Apr 29, 2017 19:27 CEST

Selected Organism: *Klebsiella pneumoniae* ssp *pneumoniae* (99%) ID Confidence: Excellent identification
AES Confidence: Consistent

Phenotypes

Antibiotic Family	Detected Phenotypes
BETA-LACTAMS	EXTENDED SPECTRUM BETA-LACTAMASE
AMINOGLYCOSIDES	RESISTANT GEN TOB (ANT(2')), RESISTANT GEN TOB NET AMI (AAC(6)+?), RESISTANT GEN TOB NET (AAC(3)-II), RESISTANT GEN (AAC(3)-I)
QUINOLONES	RESISTANT
TETRACYCLINES	RESISTANT,WILD
TRIMETHOPRIM/SULFONAMIDES	TRIMETHOPRIM RESISTANT,WILD

Therapeutic Interpretations

Antibiotic	Interpretation Changes	Reason (rule or phenotype)
Amikacin	Change S to I	RESISTANT GEN TOB NET AMI (AAC(6)+?)

MIC/Test Differences
None

Antibiotic Deductions
None

Installed VITEK 2 Systems version: 07.01 Page 1 of 1

AES Parameter Set: EUCAST_2016_KBC_Dragisa Misovic MIC Interpretation Guideline: EUCAST 2016+otherpk-pd
Last Modified: Apr 12, 2017 08:51 CEST Basis: EUCAST 2012
Basis: EUCAST+EUCAST-based Therapeutic Interpretation Guideline: Copia di EUCAST-based_2016
Basis: EUCAST-based

Slika 18. Izveštaj o testiranju osetljivosti *Klebsiella pneumoniae* (Izvor Služba za laboratorijsku dijagnostiku – mikrobiološka laboratorija, KBC „Dr Dragiša Mišović – Dedinje“).

KBC "Dr.D. M."-Dedinje-Mikrobioloska lab
Microbiology Chart Report

bioMerieux Customer: Printed May 8, 2017 12:14 CEST

Patient Name: Kuzmanovic Ratko Patient ID: 1004942710290
Location: Physician:
Lab ID: 766/17h Isolate Number: 1

Organism Quantity:
Selected Organism : *Klebsiella pneumoniae* ssp *pneumoniae*

Source: uro 3/2 hemo Collected:

Comments:

Identification Information Analysis Time: 4.00 hours Status: Final

Selected Organism	99% Probability	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ssp <i>pneumoniae</i>
ID Analysis Messages	Bionumber:	6605735753165010

Susceptibility Information Analysis Time: 8.75 hours Status: Final

Antimicrobial	MIC		Interpretation		Antimicrobial	MIC		Interpretation
	MIC	Interpretation	MIC	Interpretation		MIC	Interpretation	
Piperacilin	> 64	R	Amikacin	8	"I			
Piperacilin/Tazobactam	8	S	Gentamicin	<= 1	S			
Ceftazidime	8	R	Tobramycin	> 8	R			
Cefepime	<= 1	S	Ciprofloxacin	> 2	R			
Aztreonam	16	R	Levofloxacin	> 4	R			
Imipenem	<= 0.25	S	Colistin	<= 0.5	S			
Meropenem	<= 0.25	S	Trimethoprim/Sulfamethoxazole	> 160	R			

+= Deduced drug * = AES modified ** = User modified

AES Findings

Confidence:	Consistent
-------------	------------

KBC "Dr. D. M." Dedinje-Mikrobiološka lab
AES Detail Report

bioMérieux Customer: _____ Printed by: sandora
System #: _____ Printed: May 8, 2017 12:16 CEST
Accession Number: 766/17h-1 Date Tested: Apr 15, 2017 16:40 CEST
Selected Organism: *Klebsiella pneumoniae* ssp *pneumoniae* (99%) ID Confidence: Excellent identification
AES Confidence: Consistent

Phenotypes

Antibiotic Family	Detected Phenotypes
BETA-LACTAMS	EXTENDED SPECTRUM BETA-LACTAMASE ACQUIRED CEPHALOSPORINASE (EXCEPT ACC-1), SHV1 HYPERPRODUCTION
AMINOGLYCOSIDES	RESISTANT TOB NET AMI (AAC(6))
QUINOLONES	RESISTANT
POLYPEPTIDES	WILD
TRIMETHOPRIM/SULFONAMIDES	RESISTANT

Therapeutic Interpretations

Antibiotic	Interpretation Changes	Reason (rule or phenotype)
Amikacin	Change S to I	RESISTANT TOB NET AMI (AAC(6))

MIC/Test Differences
None

Antibiotic Deductions
None

Installed VITEK 2 Systems version: 07.01 Page 1 of 1
 AES Parameter Set: EUCAST_2016_KBC_Dragisa Misovic MIC Interpretation Guideline: EUCAST 2016+otherpk-pd
 Last Modified: Apr 12, 2017 08:51 CEST Basis: EUCAST 2012
 Basis: EUCAST+EUCAST-based Therapeutic Interpretation Guideline: Copia di EUCAST-based_2016
Basis: EUCAST-based

Slika 19. Izveštaj o testiranju osetljivosti *Klebsiella pneumoniae* (Izvor Služba za laboratorijsku dijagnostiku – mikrobiološka laboratorija, KBC „Dr Dragiša Mišović – Dedinje“).

Cilj *in vitro* testiranja osetljivosti patogena na antimikrobni lek je da se ispita aktivnost antibiotika na izolovani soj u želji da predvidimo najverovatniju aktivnost *in vivo* odnosno efikasnost antimikrobne terapije koju želimo primeniti kod pacijenta uključujući i druge karakteristike (lokalizaciju infekcije, izraženost infekcije, imuni status pacijenta, komorbiditet i sl.). Test osetljivosti nam je obično dostupan tek nakon započinjanja terapije i služi za procenu adekvatnosti određene terapije, ali nam pruža podatke o alternativnim antimikrobnim lekovima koje možemo primeniti. Podaci o testiranju osetljivosti imaju značaj ne samo za terapiju konkretnog pacijenta, već i epidmiološku vrednost, odnosno obradom serije ovakvih podataka dolazimo do baze rezistencije lokalnih sojave izolovanih mikroorganizama na osnovu kojih kreiramo adekvatna uputstva (vodič) za kliničara kada da primenjuju *ex- iuvantibus* terapiju (55).

bioMérieux Customer: KBC "Dr. D. M." Dedinje-Mikrobiološka lab
Microbiology Chart Report Printed May 8, 2017 12:11 CEST

Patient Name: Lazarevic Rade Patient ID: 210796710462
 Location: Lab ID: 157617p-1 Physician: Isolate Number: 1
 Organism Quantity: Selected Organism: Pseudomonas aeruginosa
 Source: #3 748 b rane Collected:

Comments:

Identification Information Analysis Time: 5.00 hours Status: Final
 Selected Organism: 98% Probability Pseudomonas aeruginosa
 BiNumber: 0003451303500240
 ID Analysis Messages

Susceptibility Information Analysis Time: 11.75 hours Status: Final

Antimicrobial	MIC	Interpretation	Antimicrobial	MIC	Interpretation
Piperacillin/Tazobactam	> 64	R	Gentamicin	> 8	R
Cefazidime	> 32	R	Tobramycin	> 8	R
Cefepime	> 32	R	Ciprofloxacin	> 2	R
Imipenem	> 8	R	Levofloxacin	> 4	R
Mercaptopem	> 8	R	Colistin	2	S
Amikacin	> 32	R			

** Deduced drug ** AES modified **= User modified

AES Findings
 Confidence: Consistent

KBC "Dr. D. M." Dedinje-Mikrobiološka lab
AES Detail Report Printed by: sandora
 System #: Printed: May 8, 2017 12:11 CEST

Accession Number: 157617p-1 Date Tested: Apr 11, 2017 23:48 CEST
 Selected Organism: Pseudomonas aeruginosa (98%) ID Confidence: Excellent identification
 AES Confidence: Consistent

Phenotypes

AES-980 Family	Detected Phenotypes
BETA-LACTAMS	CARBAPENEMASE (METALLO- OR OXA), HIGH LEVEL R + R CARBAPENEMS (MPER)
AMINOGLYCOSIDES	RESISTANT (GEN NET AMI TOB)
QUINOLONES	RESISTANT
POLYPEPTIDES	WILD
TRIMETHOPRIMSULFONAMIDES	WILD

Therapeutic Interpretations
None

MIC/Text Differences
None

Antibiotic Deductions
None

Installed VITEK 2 Systems version: 07.01 Page 1 of 1
 AES Parameter Set: EUCAST_2016_KBC_Dragisa Misovic MIC Interpretation Guideline: EUCAST 2016+therapi.pdf
 Last Modified: Apr 3, 2017 12:19 CEST Base: EUCAST 2012
 Base: EUCAST-EUCAST-based Therapeutic Interpretation Guideline: Copia of EUCAST-based_2016
 Base: EUCAST-based

Slika 20. Izveštaj o testiranju osetljivosti *Pseudomonas aeruginosa* (Izvor Služba za laboratorijsku dijagnostiku – mikrobiološka laboratorija, KBC „Dr Dragiša Mišović – Dedinje“).

Detaljnom analizom antibiograma, mogu se dobiti važne epidemiološke informacije tokom izbijanja epidemija koje posle obrade mogu imati ključnu ulogu u suzbijanju epidemija bolničkih infekcija.

Definisanje potrebe za *in vitro* testiranjem je bazirano na tesnoj saradnji kliničara i mikrobiologa. Testiranje na osetljivost je potrebno uvek kada pretpostavimo da poslani uzorak sadrži izazivača ozbiljnog oboljenja. Ne radimo testiranje na bakteriju koja je verovatno kontaminirala uzorak ali ako postoji verovatnoća da je saprofit sa kože uzročnik septikemije

kod imunokompromitovanog pacijenta, u tom slučaju test osetljivosti dobija na važnosti i sprovodimo ga i za bakteriju koja inače pripada saprofitnoj flori.

KBC "Dr. D. M." Dedinje Mikrobiološka lab
Microbiology Chart Report Printed May 9, 2017 12:12 CEST

bioMérieux Customer: Patient Name: Djordjevic Zoran Patient ID: 0109954950001
 Location: Lab ID: 106617Tusc Physician: Isolate Number: 2
 Organism Quantity: 100 000 cfu/mL
 Selected Organism: Acinetobacter baumannii complex
 Source: uro oddej sc Collected:

Comments:
 AMKACIN: Perform an alternative method of testing prior to reporting of results.

Identification Information Analysis Time: 5.00 hours Status: Final
 Selected Organism: 99% Probability Acinetobacter baumannii complex
 Biolum: 0241010203500352
 ID Analysis Messages:

Susceptibility Information Analysis Time: 11.50 hours Status: Final

Antimicrobial	MIC	Interpretation	Antimicrobial	MIC	Interpretation
Piperacillin/Tazobactam	> 64	IE	Tobramycin	<= 1	S
Imipenem	> 8	R	Ciprofloxacin	> 2	R
Mercopenem	> 8	R	Levofloxacin	> 4	R
Amikacin	> 32	R	Colistin	<= 0.5	S
Gentamicin	> 8	R	Trimethoprim/Sulfamethoxazole	160	R

** Deduced drug ** AES modified ** User modified # Disabled bioART Limitation Rule IE= Insufficient Evidence that species is good target for therapy. MIC may be reported without interpretation

AES Findings
 Confidence: Consistent

KBC "Dr. D. M." Dedinje Mikrobiološka lab
AES Detail Report Printed by: jovic
 System # Printed: May 9, 2017 12:12 CEST
 Accession Number: 106617Tusc-2 Date Tested: Apr 22, 2017 05:59 CEST
 Selected Organism: Acinetobacter baumannii complex (99%) ID Confidence: Excellent Identification
 AES Confidence: Consistent

Phenotypes

Phenotype	Detected Phenotypes
Beta-Lactams	RESISTANT CARBAPENEMS (IMPERMEABILITY), CARBAPENEMASE (METALLO- OR OXA)
AMINOGLYCOSIDES	RESISTANT (GEN NET AM)
QUINOLONES	RESISTANT
POLYPEPTIDES	WILD
RIFAMYCINES	WILD
TRIMETHOPRIMSULFONAMIDES	RESISTANT

Therapeutic Interpretations: None
 MIC/Test Differences: None
 Antibiotic Deductions: None

Installed VITEK 2 Systems version: 07.01 Page 1 of 1
 AES Parameter Set: EUCAST_2016_KBC_Dragisa Misovic MIC Interpretation Guideline: EUCAST 2016-vitek2-
 Last Modified: Apr 12, 2017 08:51 CEST Base: EUCAST 2012
 Base: EUCAST/EUCAST-based Therapeutic Interpretation Guideline: Core 6 EUCAST-based_201
 Base: EUCAST-based

Slika 21. Izveštaj o testiranju osetljivosti *Acinetobacter baumannii* (Izvor Služba za laboratorijsku dijagnostiku – mikrobiološka laboratorija, KBC „Dr Dragiša Mišović – Dedinje“).

U vanbolničkoj sredini, divlje forme bakterija imaju svoju prirodnu osetljivost/rezistenciju prema određenom antibiotiku i ovaj podatak nam je bitan ne samo prilikom donošenja odluke za empirijsku terapiju već ponekad služi i za identifikaciju bakterija u toku procesa laboratorijske mikrobiološke dijagnostike (npr. prirodna rezistencija *K.pneumoniae* na ampicilin ili *P.mirabilisa* na tetracikline i kolistin). Ova prirodna rezistencija je stabilna i karakteristika je svih loza određene vrste bakterija (12).

Stečena rezistencija je karakteristika bolničkih sojeva, odnosno sojeva koji su došli ili u kontakt sa antimikrobnim lekovima ili sa drugim vrstama bakterija koje su im prenele informaciju za rezistenciju. Na molekularnom nivou razlog je ili genska mutacija ili akvizicija gena. Ovaj tip rezistencije pravi od prethodno uspešnog antimikrobnog leka, neupotrebljiv lek (12).

Klinički spektar dejstva antimikrobnog leka je koncept koji pored prirodne rezistencije uzima u obzir i stečenu rezistenciju i daje kliničaru vredne podatke prilikom ordiniranja empirijske terapije. Klinički spektar je definisan za svaki antibiotik u pojedinim državama i odgovarajućim pravnim direktivama je obavezni elemenat uputstva za lek a koji je deo procesa registracije leka na tržištu. Ovaj spektar dejstva antimikrobnog leka je inicijalno definisan kao klinička tačka preloma a koja je izvedena iz integrisanih mikrobioloških podataka (MIC, MIC distribucija među vanbolničkim sojevima), farmakokinetika, farmakodinamika i podaci nastali kliničkim istraživanjima (57). Regulatorna tela mogu definisati osetljive sojeve samo za one sojeve čija je osetljivost dokazana kliničkim ispitivanjima. Drugi sojevi se mogu tretirati ovim antimikrobnim lekom ali na odgovornost kliničara. Klinički spektar dejstva se redovno inovira, a na bazi obrade dobijenih podataka o *in vitro* testiranjima i kliničkom ishodu terapije (58).

MIC najniža koncentracija antimikrobnog leka gde nema vidljivog porasta bakterija u definisanom vremenskom periodu (engl. broth testiranje, Antimicrobial gradient diffusion, disk diffusion method). Klinička tačka preloma (engl. clinical breakpoint) su dve koncentracije antimikrobnog leka ili interpretativni kriterijumi za S (osetljiv), I (intermedijarno) i R (otporno). Prva koncentracija odgovara tački S, druga koncentracija odgovara tački R a vrednosti između ove dve koncentracije pripadaju I. Imamo dve vrste tačke preloma: MIC i dijametar zone aktivnosti antibiotika u podlozi. Pravilo 90-60, podrazumeva da će u kliničkom odgovoru uspešnost terapije biti oko 90% ukoliko je patogen osetljiv a manje od 60% ukoliko je otporan soj prema *in vitro* ispitivanjima (59).

1.6.2. Indikatori kvaliteta propisivanja antibiotika

Eksplicitni merljivi pokazatelji koji ukazuju na nivo kvaliteta u različitim oblastima upotrebe antimikrobnih lekova (efektivnost, bezbednost, odgovarajući izbor, troškovi i komplikacija), a koji su potpuno relevantni za kliničku praksu (60).

U indikatore strukture svrstavamo: stručni timovi zdravstvenih radnika koji ordiniraju terapiju antimikrobnih lekova, terapijske preporuke, edukacija, laboratorijka dijagnostika i farmaceutske usluge. Indikatorom procesa smatramo adherencu sa terapijskim vodičima u izboru terapije, doze i doziranja. Na kraju, imamo indikatore ishoda: klinički (broj izlečenih pacijenata), mikrobiološki (nivo eradikacije), ekonomski (troškovi terapije) i ekološki (nivo rezistencije)

1.6.3. Profilaktička primena antibiotika

Primena antimikrobnih lekova u profilaksi, a ovde mislimo pre svega na profilaksu infekcije hirurškog reza (engl. SSI), podrazumeva davanje antibiotika pre intervencije kako bi smanjili verovatnoću infektivne komplikacije. Profilaksa se deli na primarnu (zaštita od inicijalne infekcije), sekundarnu (zaštita od ponavljanja ili reaktivacije prethodno prisutne infekcije) i eradikaciju (eliminacija kolonizujućeg organizma u cilju sprečavanja razvoja infekcije). U užem smislu profilaksa se odnosi na pojam primarne profilakse (46).

Profilaksa se daje u vremenskom okviru od 60 min pre operacije a za pojedine antibiotike kao što je vankomicin i fluorohiniloni, ovaj period se proširuje na 120 min. Doza leka se bazira na preporučenim za datu telesnu masu pacijenta kao i za očekivanu dužinu operativnog zahvata odnosno ponavlja se ukoliko je operativni zahvat duži od dvostrukog vremena poluživota datog leka. Daje se intraoperativna dodatna doza i kada su perioperativni gubici krvi značajni (47).

Izbor antibiotika se bazira na pretpostavljenoj flori u neposrednoj blizini hirurškog reza i očekivanoj osetljivosti iste na antibiotike. Izbor mora da bude u skladu sa dostupnim lekovima (registrovani u nacionalnim agencijama za promet lekova i prisutni na tržištu). Davanje profilakse je u najvećem broju indikacija jednokratno sa izuzecima gde profilaksa pokriva 24 časa od hirurškog reza (61). Uobičajene preporuke obuhvataju korekciju profilakse za određene vrste hirurgije (ugradnja implantata), starost pacijenta (odrasli i pedijatrija bez novorođenčadi) kao i za medicinska stanja (renalni i hepatična insuficijencija).

1.6.4. Empirijska i kauzalna terapija infekcija izazvanih multirezistentnim gram negativnim bakterijama

Kod sumnje na infekciju MDR patogenima do pristizanja rezultata testa osetljivosti primenjujemo empirijsku terapiju koju započinjemo što pre uz sistemsku potporu (4). Ovu terapiju korigujemo po pristizanju mikrobioloških rezultata (izolat/osetljivost).

Tabela 1. Primer za empirijsku terapiju intraabdominalnih infekcija na osnovu na bazi lokalne mape rezistencije (56)

UZROK	ANTIBIOTIK	DOZA	NAPOMENA
7. Bilijarna IAI kod kritično obolelog pacijenta (≥ OZBILJNA SEPSA) bez rizika za moguće prisustvo ESBL	PIPERACILIN /TAZOBAKTAM	-8/2g LD, pa 16/4g/dan kontinuirano ili -4.5/g 6 h (4h trajanje infuzije)	
8. Bilijarna IAI kod kritično obolelog pacijenta (OZBILJNA SEPSA) sa rizikom za moguće prisustvo ESBL	PIPERACILIN + TIGECIKLIN + FLUKONAZOL	-8 g LD, pa 16 g kontinuirano ili 4 g/6h (4h trajanje infuzije) -100 mg LD, pa 50 mg/12h(1h trajanje inf) -600 mg LD, pa 400 mg /24 h (2h trajanje Infuzije)	
9. Nozokomijalna IAI kod stabilnog pacijenta (<OZBILJNA SEPSA) Rizik za MDR (Multirezistentni) pathogene	PIPERACILIN + TIGECIKLIN + FLUKONAZOL	-8 g LD, pa 16 g kontinuirano ili 4 g/6h (4h trajanje infuzije) -100 mg LD, pa 50 mg/12h(1h trajanje infuzije) -600 mg LD, pa 400 mg /24 h (2h trajanje Infuzije)	MDR: Methicillin-resist. <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA), <i>Vancomycin-resist. Enterococcus species</i> (VRE), <i>Carbapenem-resist. Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>beta-lactamase (ESBL)-produkujuća Escherichia coli</i> i <i>Klebsiella species</i> , <i>multidrug-resist (KPC)</i> , <i>Acinetobacter species</i> , i <i>Candida species</i>
10. Ekstrabilijarna nozokomijalna IAI kod kritično obolelih (≥OZBILJNA SEPSA) sa rizikom od MDR patogena	PIPERACILIN + TIGECIKLIN + EHINOKANDIN caspofungin anidulafungin micafungin ili MEROPENEM IMIPENEM DORIPENEM + TEIKOPLANIN + FLUKONAZOLE	-8 g LD, pa 16 g kontinuirano ili or 4 g /6 h (4-h trajanje infuzije) -100 mg LD, pa 50 mg /12 h (2-h trajanje infuzije) -70 mg LD, pa 50 mg/ dan, -200 mg LD, pa 100 mg/ dan, -100mg/ dan -500 mg/6 h (6h trajanje Infuzije) -500 mg/4 h (3h trajanje Infuzije) -500 mg/8 h (4h trajanje Infuzije) -LD 12 mg/kg/12 h za 3 doze, zatim 6 mg/kg /12 h (korigovati dozu do target doze 20–30 mg/L) --600 mg LD, pa 400 mg /24 h (2h trajanje Infuzije)	

IAI – intraabdominalna infekcija, LD – loading dose – inicijalna doza.

1.7. Lokalni vodič za racionalnu primenu antibiotika u tercijarnim zdravstvenim ustanovama

Važnost vodiča za profilaksu infekcije hirurškog reza je između ostalog, da se troškovi lečenja smanje. Broj hirurških intervencija je u porastu, a pacijenti su inicijalno sa većim

kompleksnim komorbiditetom (1). Smatra se da je skoro polovinu SSI moguće preduprediti korišćenjem strategija zasnovanih na medicini baziranoj na dokazima (engl. evidenced base medicin).

Adherenca za vodič je njegova upotreba nakon perioda implementacije (62).

Kvalitet lečenja se može unaprediti smanjivanjem negarantovane prakse varijacija među profesionalcima (63). Jedan od načina smanjivanja je prevođenje znanja zasnovanog na dokazima u svakodnevnu praksu. Olakšavanje ovog procesa se sprovodi vodičima koji se razvijaju i primenjuju (64). Smanjena primena – adherenca vodiča je vezana za osvežavanje vodiča.

Sjedinjene Američke Države su 2007. godine utrošile 2,3 bilijarde dolara na zdravstvenu zaštitu, otprilike 17% bruto nacionalnog dohotka, a eksperti smatraju da se zavidan deo novca bespotrebno troši, uz procenu da se i 30% potrošnje može ukinuti bez smanjenja kvaliteta zdravstvene usluge. Primena vodiča smanjuje preteranu i kasnu upotrebu (engl. overuse and misuse) terapije i na taj način dovodi do značajnih ušteda pre svega svakodnevnom primenom adekvatne medicine (engl. right thing to do)(63).

Protokoli i čekliste dokazano smanjuju štetu prčinjenu pacijentima tokom lečenja, unapređenjem standardizacije lečenja i komunikacijom uključenih u proces lečenja. Preciziranje i fino podešavanje ček lista smanjuje morbiditet i mortalitet. Drugi faktori osim sigurnosti i kvaliteta lečenja, kao što su smanjenje troškova i efikasnija upotreba zdravstvenog sistema ne treba da budu primarna svrha upotrebe ovih alata. U primeni vodiča postoji više ograničenja. Pokazano je da za 78% vodiča, 10% lekara ne zna za njihovo postojanje. Lekari i sestre su opredeljeni da kontinuirano unapređuju sigurnost lečenja pacijenata. Neželjeni događaji nastaju kao sistemski nedostaci ili neadekvatne sigurnosne mere koje nisu uspele da preduprede greške koje su prouzrokovale štetu. Standardizacija je proces koji bi trebalo upotrebiti za prevazilaženje sistemskih nedostataka, koji bi uz analizu prikupljenih podataka trebalo da dovedu do smanjenja ili preduprede greške i smanje njihovo ponavljanje (65).

NEHI istraživanje ukazuje na 4 glavne barijere za prihvatanje vodiča (adherencu) od strane lekara: sistem fakturisanja, nedostatak informacionih tehnologija (IT), lekarska kultura – verovanja i navike i na kraju razvoj i funkcija vodiča. Problem fakturisanja je što se plaća volumen usluga, a ne ishod lečenja. IT tehnologije omogućavaju bolje prihvatanje vodiča, ali nije široko prisutno na nivou kliničkog formiranja odluke, pre svega zbog nedostatka IT kadrova i adekvatnog treninga kliničara. Kultura, verovanja i navike lekara utiču na nivou

povratne informacije jer nemaju taj podstrek da primene vodiče pa su prepušteni vlastitom iskustvu i navikama pre nego primeni vodiča. Razvoj vodiča je često sam po sebi razlog za smanjenu adherenciju u primeni. Netransparentno formiranje vodiča dovodi do manjka poverenja u primeni istih kod kliničara, a mala fleksibilnost i relevantnost vodiča ograničava njihovu kliničku primenu (66).

I pored navedenih razloga za lošu adherencu, postoje optimistični razlozi za buduće prihvatanje vodiča u kliničkoj praksi, a pre svega zbog njihovog uticaja na kvalitet i troškove lečenja. Najnovije preporuke su usmerene ka povećanju adherence prema vodičima. Neophodno je usmeriti nadoknadu troškova samo prema uspešnoj terapiji (pay for performance). Investiranje u IT inovacije koje će unaprediti podršku za donošenje odluke kliničara, podrazumeva pristup lekara bazi podataka pored kreveta (engl. point of care) u svrhu poređenja terapije aktuelnog pacijenta sa standardnom terapijom i negom koji primenjuju njegove kolege. Davanje podrške inovacijama i osvežavanju vodiča tako da je praktikujući lekar aktivan učesnik u stvaranju i menjanju vodiča prema novim saznanjima u medicini, a da ipak vodič ostane jasan, sažet i pisan razumljivim jezikom. Obrazovanje lekara da aktivno koriste vodiče od studenata, specijalizanata i praktikujućih lekara. Omogućiti i promovisati deljenje rezultata lečenja među doktorima, predstavlja osnovu za menjanje kulture, verovanja i navika među lekarima. Za razliku od protivurečnih rezultata analiza kvaliteta ishoda lečenja, deljenje podataka i transparentnost rada među lekarima uz mogućnost upoređivanja rezultata rada je veoma efikasna mera u promovisanju primene vodiča (66).

Pogrešna ili prekomerna upotreba antibiotika je široko rasprostranjena, ne samo u siromašnim i zemljama u razvoju već širom planete. Neodgovarajuća primena antibiotika dovela je do razvoja antimikrobne rezistencije (37). Infekcije prouzrokovane rezistentnim MDR mikroorganizmima, često su bez adekvatnog odgovora na konvencionalnu terapiju, što dovodi do produženog lečenja i povećanog procenta sa smrtnim ishodom. Bolničke infekcije, posebno „velika četvorka“ (infekcija hirurškog reza, pneumonia, sepsa i infekcija urinarnog trakta) često su uzrokovane *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* i *Proteus mirabilis*) i ne-fermentujućima Gram-negativnim *Pseudomonas aeruginosa* i *Acinetobacter baumannii* (38) koje produkuju *extended-spectrum beta-lactamase* (ESBL).

Prema godišnjem izveštaju Central Asian and Eastern European Surveillance of Antimicrobial Resistance (CAESAR) network za 2013. među 30 EU-država i nekih nastalih raspadom Jugoslavije, Srbija ima najveću prevalenciju *K. pneumoniae* otporne na treću

generaciju cefalosporina (88,5%), i veoma veliku prevalenciju *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* i *A.baumannii* otpornih na karbapeneme (31,4%, 44,6% i 92,1%, redom)(35).

Ukupna potrošnja antibiotika u 2011. godini (izražena kao broj DDD na 1000 stanovnika/dana) je veća u Srbiji (26) nego zbirno u Hrvatskoj i Bosni i Hercegovini (oko 20), ali ipak manja nego zbirno u Grčkoj i Crnoj Gori (oko 40)(67). S obzirom da se potrošnja antibiotika u EU i ne EU državama značajno razlikuje od jedne do druge, važno je obezbediti nacionalne, regionalno i specifično za državu ciljeve kvaliteta radi poboljšanja upotrebe antibiotika. Usprkos važnosti, veoma malo je raspoloživih podataka a antimikrobnoj potrošnji i rasprostranjenosti rezistencije mikroorganizama u bolnicama u Srbiji.

1.7.1. Značaj lokalne mape rezitencije

Istraživanje lokalnog mikrobioma bolnice je veoma značajno sa aspekta koje su to bakterije (sa kojom osetljivošću) koje mogu biti prenesene na hospitalizovanog pacijenta i izazvati infektivnu komplikaciju tokom ležanja. Osetljivost ovih bakterija na antimikrobne lekove (sublimacija podataka u vidu preporuka za profilaksu i ex juvantibus terapiju do pristizanja laboratorijskih izolata i njihove osetljivosti) je značajna sa aspekta blagovremenog davanja antimikrobnih lekova. Po pristizanju rezultata se vrši korekcija terapije (1).

1.7.2. Način testiranja poštovanja vodiča (G-PPS)

Testiranjem izabranog odeljenja na zadati dan, se tačno (pomoću prethodno definisanog algoritma) u vremenskom periodu od 24 časa analiziraju svi hospitalizovani pacijenti a posebno posmatraju oni kod kojih je u okviru terapije dat antimikrobni lek. Svako davanje zasnovano na propisivanju antimikrobnog leka od ordinirajućeg lekara se analizira sa aspekta indikacije, usklađenosti sa vodičem ukoliko postoji, puta davanja leka, njegove doze, postojanja zapisa o započinjanju i prestanku terapije kao i drugim parametrima kao što su kombinacije antimikrobnih lekova, dokumentovanost indikacija laboratorijskim parametrima i sl. Posebna vrednost ovog testiranja je u sprovođenju u istom danu u velikom broju bolnica u različitim državama i kasnija analiza svih prikupljenih podataka sa izveštajima i poređenjem prepisivanja antimrobnih lekova u različitim bolnicama (2).

1.8. Normalna mikrobiota

Mikrobiota-mikrobiom gastrointestinalnog trakta je ključni parametar u mnogim fiziološkim i patološkim procesima koji se odigravaju u organizmu čoveka (68). Skorija istraživanja pokazuju, da je efikasnost određenih kliničkih pristupa u lečenju uslovljena ponašanjem prisutne flore (69). Antibiotici su nesporno bitni u terapiji oboljenja izazvanih mikroorganizmima mada menjanjem sastava i funkcionisanja mikrobiota, takođe mogu da dovedu do dugotrajnih neželjenih efekata kod domaćina (70). Pojava višestruko rezistentnih mikroorganizama na lekove povećava zabrinutost za uobičajeno, i vremenom neprimereno korišćenje antibiotika.

Jedna od glavnih uloga mikrobiota je omogućavanje razvoja i maturacije imunog sistema, podjednako lokalnog i sistemskog. Sledeća bitna uloga je zaštitna uloga od patogena, fenomen nazvan *rezistencija kolonizaciji*, koja ozbiljno može da bude narušena davanjem antibiotika (71). Rezistencija kolonizaciji se događa direktnim (bez učešća domaćina) ili indirektnim mehanizmom (isključivo posredovanjem imunog odgovora domaćina).

Mikrobiota može da doprinese mnogim bolestima različitim mehanizmima, uključujući produkciju toksičnih metabolita, ponekad ima kapacitet da se progresivno umnoži, podržava inflamaciju ili obezbedi potporu za patogen. Mnogi faktori kao što su dijeta, prisutna inflamacija i disbioza mogu da moduliraju takav patogeni potencijal (72, 73).

Antimikrobni lekovi ne izazivaju rezistenciju ali mogu da omoguće mutaciju koja dovodi do rezistencije na način da eliminišu sojeve koji su osetljivi, što se zove pritisak selekcije (74). Davanjem probiotika, utičemo na mikrobiotu tako što selektivno utičemo na porast korisnih bakterija i time pomažemo u održavanju zdrave sredine creva ili unapredimo izmenjenu u bolesti (75).

1.9. Ekspertski sistem

Razvojem informatičkih tehnologija i primenom na polju medicinskih tehnologija u mikrobiološkim laboratorijama došli smo do savremenih mašina za automatizovanu obradu uzoraka (kultivacija, presejavanje, bojenje, identifikacija, određivanje osetljivosti na testirane antimikrobne lekove). Ove laboratorijske mašine ne samo što zamenjuju čoveka - laboranta u manuelnom radu (veliki broj poslova na standardizovan način sa smanjenjem procenta greške) već dodaju novi kvalitet ekspertskog sistema. Ovaj deo mašine je program (engl. software) koji sadrži ogromnu bazu podataka o prethodnim analizama izolata i njihovim

karakteristikama. Na ovaj način se standardizuje ispitivanje osetljivosti (ISO 27744, EUCAST i CLSI) i povećava kvalitet dobijene informacije u procesu lečenja pacijenta – primeni adekvatnog antimikrobnog leka, njegove doze i kombinacijama sa drugim lekovima (76, 77).

CILJEVI ISTRAŽIVANJA

1. Da se utvrdi da li postoje razlike u učestalosti MDR patogena na hirurgskim i internističkim bolničkim odeljenima;
2. Da se ispita povezanost između potrošnje određenih grupa antimikrobnih lekova i pojave MDR patogena na hirurgskim i internističkim odeljenjima;
3. Da se primenom validnog upitnika analizira da li se poštuju svetske preporuke i preporuke iz lokalnog vodiča (npr. izbor leka, doza, korekcija doze, dužina primene, opravdanost kombinacije i dr.) na hirurgskim i internističkim odeljenjima;
4. Da se analizira koje greške u propisivanju antimikrobnih lekova su najčešće povezane za pojavom MDR patogena;
5. Da se ispita da li neracionalna primena antimikrobnih lekova utiče na učestalost bolničkih infekcija, dužinu hospitalizacije, troškove lečenja i mortalitet.

3. MATERIJAL I METODE

Ovo istraživanje čine dve odvojene studije: 1) Trend analiza potrošnje pojedinih antimikrobnih lekova i učestalost MDR patogena u periodu 2012. – 2015. godine na hirurškim i internističkim odeljenjima KBC „Dr Dragiša Mišović – Dedinje“ (Beograd, Srbija) i 2) studija preseka u kojoj su tokom 24 časa evaluirane navike u propisivanju antimikrobnih lekova na hirurškim i internističkim odeljenjima.

Povezanost navika u propisivanju antimikrobnih lekova sa pojavom MDR patogena na različitim bolničkim odeljenjima je ispitivana u okviru analitičke kliničke studije preseka. Prevalenca MDR patogena od 2012.-2016. god. je praćena u okviru retrospektivno-prospektivne kohorte. U mikrobiološkoj laboratoriji KBC "Dr Dragiša Mišović-Dedinje" instaliran je program Svetske zdravstvene organizacije za praćenje MDR patogena, WHO-net (WHO Collaborating Centre for Surveillance of Antimicrobial Resistance, 75 Francis St. Boston, MA 02115)(78). WHO-net je omogućio da se u svakom trenutku ima uvid u prisustvo MDR patogena na odeljenjima, preciznu osetljivost određenih patogena na antimikrobne lekove (izraženu kroz MIC90-Vitec® metod) na odeljenjima bolnica i klinika, kao i njihov profil rezistencije na antimikrobne lekove. Studija je završena krajem 2015. godine, ali kontinuirano praćenje MRM je nastavljeno kao standardna procedura epidemiološkog nadzora.

3.1. Mesto istraživanja

Broj postelja u KBC „Dr Dragiša Mišović – Dedinje“ u ovom periodu iznosio je 387 od čega je 46 postelja na hirurškim odeljenjima i 91 na internističkim odeljenjima. Hirurška grupa odeljenja (S) se sastojala od odseka za endoskopsku abdominalnu hirurgiju, laparoskopsku urološku hirurgiju, klasičnu urološku hirurgiju i jedinice intenzivnog lečenja na Klinici za urologiju. Internistička grupa odeljenja (M) se sastojala od odseka za gerijatriju, pulmologiju, hematologiju, endokrinologiju, neinvazivnu kardiologiju, gastroenterologiju i jedinice intenzivnog lečenja na Internoj klinici. Preostale bolnice i odeljenja u KBC „Dr Dragiša Mišović – Dedinje“ (psihijatrija, neurologija, pedijatrija, ginekologija, neonatologija i ORL) su isključene iz analize zbog nesignifikantnosti patologije za antimikrobnu terapiju.

Hirurška i internistička odeljenja su smeštena u odvojenim zgradama KBC „Dr Dragiša Mišović – Dedinje“.

3.2. Mikrobiološke i molekularne metode

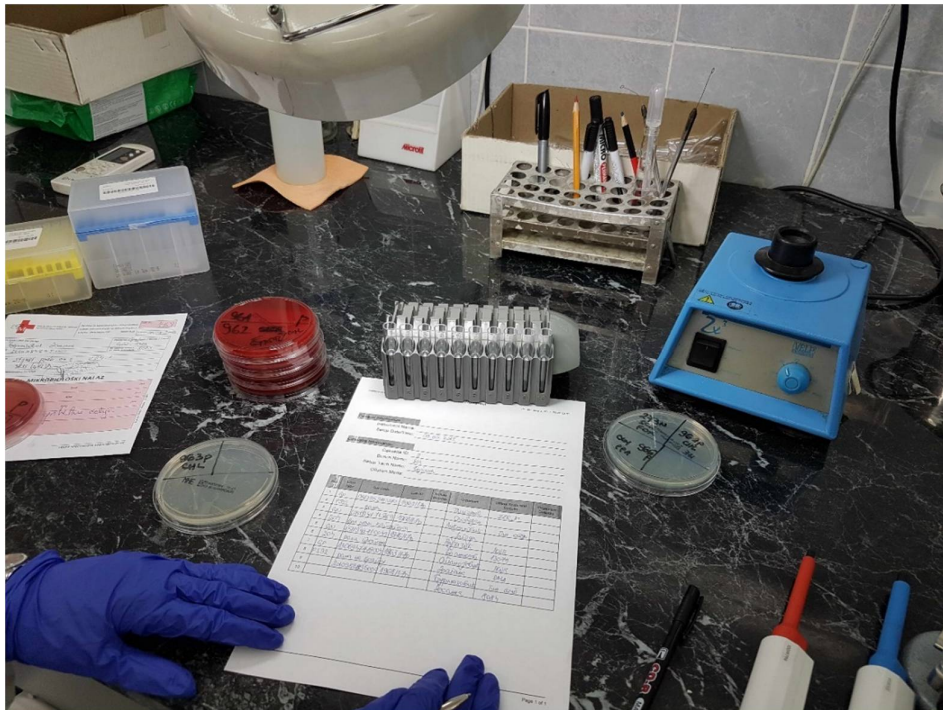
3.2.1. Antimikrobno testiranje

Rutinski skrining kao i druga mikrobiološka dijagnostika (izolacija, senzitivnost, rezistencija) su rađeni u Službi za laboratorijsku dijagnostiku – mikrobiološka laboratorija KBC „Dr Dragiša Mišović – Dedinje“. Bakterije su izolovane iz kliničkog materijala (punktat abdominalne tečnosti kod sumnje na peritonealnu infekciju, bris kod incizija, evakuacije abscesnih šupljina, kod fistula, iz krvi, iz urina, ispljuvka i sl.) dobijenog kod hospitalizovanih pacijenata gde je nakon izolacije i identifikacije rađen test osetljivosti na antibiotike standardnim mikrodilucionim metodama ili disk difuzijom. Identifikacija i test osetljivosti mikrodilucionom metodom je rađen na uređaju Vitek 2 system (bioMerieux, Marcy l'Etoile, France). Epidemiološke granične vrednosti za redukovanu osetljivost su definisane prema preporukama Instituta za kliničke i laboratorijske standarde (Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI, MS100-S21) (76). Ukoliko granične vrednosti prema CLSI nisu bile dostupne primenjene su preporuke Evropskog komiteta za testiranje na antimikrobnu osetljivost (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) recommendations were used (77). Granične vrednosti, za osetljivost *Acinetobacter baumannii* i *Pseudomonas auriginosa* na tigeciklin, su korišćene prema odobrenim vrednostima Američke administracije za lekove i hranu (U.S. Food and Drug Administration - FDA)(79).

Bakterijski sojevi u čistim kulturama, koje su dobijene kultivacijom na hranljivim podlogama i njihovom inkubacijom od 18-24 sata, ispitivane su na većem broju različitih testova u cilju njihove identifikacije. Takođe je urađen i test osetljivosti na antibiotike za svaki pojedinačni patogeni soj. Ova procedura se izvodila na dva načina: automatizovanim sistemom Vitek 2 COMPACT (identifikacija i test osetljivosti na antibiotike) i klasičnom metodom identifikacije pomoću biohemijskih testova i metodom disk-difuzije za određivanje osetljivosti sojeva na antibiotike. Praćeni su samo prvi izolati kod pojedinačnog bolesnika.



Slika 22. Priprema za automatsku identifikaciju i test osetljivosti kulture bakterije (Izvor Služba za laboratorijsku dijagnostiku – mikrobiološka laboratorija, KBC „Dr Dragiša Mišović – Dedinje“).



Slika 23. Priprema za automatsku identifikaciju i test osetljivosti kulture bakterije (Izvor Služba za laboratorijsku dijagnostiku – mikrobiološka laboratorija, KBC „Dr Dragiša Mišović – Dedinje“).

Bakterijska rezistencija je prikazana kao odnos bakterija sa rezistencijom na više lekova prema ukupnom broju (MDR – izolat je neosetljiv na najmanje jedan lek u tri antimikrobne kategorije) izolata (33).



Slika 24. Kartice za biohemijski niz za automatsku identifikaciju i test osetljivosti kulture bakterije (Izvor Služba za laboratorijsku dijagnostiku – mikrobiološka laboratorija, KBC „Dr Dragiša Mišović – Dedinje“).

MDR *Klebsiela pneumoniae* je definisana istraživanjem osetljivosti na sledeće klase:

- aminoglikozide (amikacin),
- beta-laktamaze (ampicilin, amoksisicilin-klavulanska kiselina, cefepim, ceftriakson ili piperacilin-tazobaktam),
- karbapeneme (imipenem ili meropenem),
- fluorohionolone (levofloksacin) i
- glicilcikline (tigeciklin).

MDR *Pseudomonas aeruginosa* je definisan istraživanjem osetljivosti na sledeće klase:

- aminoglikozide (amikacin),
- beta-laktamaze (cefepim, ceftazidim ili piperacilin-tazobaktam),
- karbapeneme (imipenem ili meropenem) i
- fluorohionolone (levofloksacin).

MDR *Acinetobacter baumannii* je definisan istraživanjem osetljivosti na sledeće klase:

- aminoglikozide (amikacin),
- beta-laktamaze (cefepim, ceftazidim, ceftriakson i piperacilin-tazobaktam),
- karbapeneme (imipenem ili meropenem) i
- fluorohionolone (levofloksacin).



Slika 25. Uređaj za automatsku identifikaciju i test osetljivosti kulture bakterije (Izvor Služba za laboratorijsku dijagnostiku – mikrobiološka laboratorija, KBC „Dr Dragiša Mišović – Dedinje“).

Opseg rezistencije za svaki antibiotik je izračunavan kao odnos zbira „Rezistentan“ i „Intermedijarno rezistentan“ prema ukupnom broju izolata iz uzoraka svih pacijenata (33). Ponavljani izolati su isključivani iz baze podataka ukoliko je isti mikroorganizam izolovan kod istog pacijenta u intervalu do 15 dana. Kulture iz nadzora bolničke higijene nisu analizirane. WHONET 5.6 software je korišćen za analizu osetljivosti u različitim periodima i na različitim odeljenjima (78).

Kod pacijenata sa anamnezom prethodnih hospitalizacija i/ili terapijom antibioticima a koji su razvili diareu, rađena su ispitivanja na infekciju ispitivanjem na toksin A i B (CDAB) test na aparatu VIDAS1 a koji je zasnovan na enzime-fluorescirajućoj tehnici (ELFA: Enzyme-Linked Fluorescent Assay technique, bioMerieux, Marcy l'Etoile, France).



Slika 26. Uređaj za automatizovanu hemokulturu (Izvor Služba za laboratorijsku dijagnostiku – mikrobiološka laboratorija, KBC „Dr Dragiša Mišović – Dedinje“).

3.2.2. Genotipizacija (multirezistencija na antibakterijske lekove)

Molekularnom metodom PCR multiplex, u Referentnoj laboratoriji za bakterijsku rezistenciju (Zavod za javno zdravlje Vojvodine) ustanovljeno je da li sojevi *Escherichia coli* i *Klebsiella pneumoniae*, izolovani u ovoj studiji, produkuju karbapenemaze: NDM i OXA.

Istraživanje je sprovedeno kao prospektivna studija u periodu 01.11.2013. do 01.11.2014. godine u Centru za mikrobiologiju Instituta za javno zdravlje Vojvodine u Novom Sadu. U istraživanje je bilo uključeno 300 multirezistentnih izolata *Escherichia coli* i *Klebsiella pneumoniae* konsektivno izolovanih iz kliničkih uzoraka (krv, punkt, sekret iz donjeg respiratornog trakta, urin i sekret rana) hospitalizovanih pacijenata. Kliničko-bolnički centar „Dr Dragiša Mišović-Dedinje“ je poslao 15 uzoraka što predstavlja 5,0% svih obrađenih uzoraka. Sojevi poslani na konačnu identifikaciju i proveru osetljivosti na antibiotike u Nacionalnu referentnu laboratoriju za registrovanje i praćenje rezistencije bakterijskih sojeva na antimikrobna sredstva koja priprada Centru za mikrobiologiju Instituta za javno zdravlje Vojvodine. Sojevi su slati iz mikrobioloških laboratorija bolnica različitog ranga iz Srbije.

Genotipizacija odabranih multirezistentnih izolata *Klebsiella pneumoniae* izvršena je pomoću DiversiLab polu-automatizovanog sistema (BioMérieux, Francuska) koji se bazira na repetitivnom PCR. Ekstrakcija DNK je urađena uz pomoć komercijalnog kita UltraClean microbial DNA (BioMérieux, Francuska), a izolovana DNK je spektrofotometrijski kvantifikovana na Qubit 2.0 fluorometru (Life Technologies, Vivogen, SAD) i rastvorena u vodi za PCR (Gibco, Invitrogen, SAD) do koncentracija od 25 do 50 ng/ml. Razređena DNK je amplifikovana uz pomoć DiversiLab *Klebsiella* kita (BioMérieux, Francuska), AmpliTaq DNK polimeraze (Applied Biosystems, SAD) i pufera 10x PCR Buffer I (Applied Biosystems, SAD) po uputstvu proizvođača. Amplikoni su analizirani na apartu Agilent 2100 Bioanalyzer sistemu (Agilent Technologies, SAD) sa mikročipovima u kojima se fragmenti DNK razdvajaju prema veličini, što se prikazuje u vidu hromatograma sa vrhovima za svaki amplikon. Sama analiza je izvršena u DiversiLab web softveru koji prikazuje hromatograme kao slike virtualnih gelova i izračunava procene sličnosti prema modifikovanoj Pearson/Kullback-Leibler metodi. Za interpretaciju rezultata genotipizacije generisani su dendrogrami, skaterplotovi i slike virtualnih gelova.

3.3. Potrošnja antimikrobnih lekova

Potrošnja tokom perioda od 4 godine je procenjena na osnovu podataka o kupovini i utrošku antimikrobnih lekova iz bolničkog informacionog sistema – Odsek centralna apoteka KBC „Dr Dragiša Mišović – Dedinje“. Količina antimikrobnih lekova u gramima je pretvorena u broj Definisanih Dnevnih Doza (DDD)/100 kreveta-dana (DBD) uz korišćenje ATC klasifikacionog sistema Svetske zdravstvene orhanizacije (WHO)(80).

Implementirajući restriktivnu politiku, propisivanje nekih antibiotika (piperacilin/tazobaktam, ampicilin/sulbaktam, karbapenemi, amikacin, linezolid i tigeciklin) je bilo kontrolisano. Ovi antimikrobni lekovi su mogli biti prepisivani nakon obrazloženog zahteva kliničara i odobrenja od strane lokalne komisije za primenu ovih lekova. Određen broj antimikrobnih lekova (ampicilin/sulbaktam, tikarcilin-klavulanska kiselina, tobramicin, fosfomicin, doripenem i kolistin) su isključeni iz statističke analize, zato što nisu bili prisutni na tržištu Srbije u 2012. i/ili 2013. godini.

3.4. Propisivanje antimikrobnih lekova

Usklađenost sa vodičima je definisana standardizovanim upitnikom, originalno dizajniranim. Procenjeno je da li je postojao razlog za primenu antimikrobnih lekova, da li je izbor leka, vreme primene, doza, dozni režim i način primene leka adekvatan (67, 81).

3.4.1. Kriterijumi za uključivanje u ispitivanje

Više različitih odeljenja (opšta hirurgija, urologija i medicinsko odeljenje-pulmologija i gerijatrija) unutar KBC je uključeno. Uključivanje svakog odeljenja podrazumeva da se uključi odeljenje samo jedanput. Sve postelje na jednom odjeljenju su morale da se kompletno istraže u jednom istom danu kako bi se tačno izračunao imenilac (broj primljenih pacijenata). Hirurška odeljenja nisu se istraživala na dan nakon vikenda ili zvaničnog praznika (npr. ne ponedeljkomi), nego drugog dana u sedmici kako bi se prikupile informacije o profilaksi u prethodna 24 časa. Internističko odeljenje se istraživalo bilo kojeg dana u sedmici. Istraživanja se nije sprovodilo vikendom ili u toku zvaničnog praznika kada su se u bolnici radile najnužnije procedure i broj osoblja je smanjen (nema elektivnih hirurških operacija). U istraživanju su se uključili svi hospitalizovani pacijenti primljeni na odeljenje (isključujući dnevne prijeme kao što su endoskopije ili dijalizno odeljenja) u 8 časova ujutru na dan

istraživanja (ovi se ubrajaju u imenioc). Svi bolnički pacijenti koji su na antimikrobnim lekovima u 8 časova ujutro na dan ispitivanja su uključeni u brojioc.

Pacijent koji prima antibiotik npr. na svakih 48 sati, ali ne prima ga na dan istraživanja, bio je uključen. Antibiotik propisan na jedan sat (tokom promene odeljenja, ili dok drugi rezultati budu dostupni ili za hiruršku profilaksu) tokom popodneva u danu istraživanja nisu bili uključeni (nije aktivan ili terapija nije u toku u 8 sati ujutru). Formular za pacijenta se popunjavao samo za one pacijente koji primaju antibiotik na dan istraživanja. Međutim, svi pacijenti (bez obzira da li su ili nisu na antimikrobnoj terapiji) su se računali u imenioc (67).

3.4.2. Kriterijumi za isključivanje

- Jednodnevne hospitalizacije i vanbolnički pacijenti se definišu kao ambulantni pacijenti tako da podaci koji se odnose na dnevnu hirurgiju i dnevne bolničke jedinice isključeni su iz ovog istraživanja;
- Isključeni su hitni prijemi na dan istraživanja. Oni se takođe ne računaju u imenioca;
- Isključeni su pacijenti prevedeni sa drugih odeljenja

Svi pacijenti/odeljenja obuhvaćeni kriterijumima za isključivanje bili su isključeni i iz brojioca i imenioca u podacima.

3.4.3. Obuhvaćeni antimikrobni lekovi

1. Antibakterijski lekovi za sistemsku primenu: J01
2. Antibiotici koji se koriste u lečenju intestinalnih infekcija: A07AA
3. Antiprotozoalni lekovi, derivati nitroimidazola: P01AB

Korišćena je ATC klasifikacija lekova (82). Antimikrobni lekovi za lokalnu primenu na koži i antiviroici su bili isključeni iz istraživanja.

Pacijenti su u potpunosti anonimni. Svakom bolesničkom zapisu je bio dodeljen jedinstven broj u istraživanju na osnovu koga nije moguća identifikacija pacijenta.

3.4.4. Studija trenutne prevalencije

Studija trenutne prevalencije je rađena u našoj tercijarnoj zdravstvenoj ustanovi primenom odgovarajućih metoda (2, 81). Veb bazirana aplikacija je korišćena za unos podataka, validaciju i izveštavanje kao što je osmišljeno od strane Univerziteta u Antwerpenu (2, 81). Podaci su prikupljeni za sve pacijente primljene na M i S odeljenima i koji su primali antimikrobnu terapiju na dan istraživanja (od 8h pre podne 01. juna 2015. do 8h pre podne 02. juna 2015.).

Relevantne varijable su uključivale: starost, pol, odeljenje na kojem je pacijent hospitalizovan, dužina hospitalizacije, razlog i indikacije za terapiju (dijagnoza po MKB klasifikaciji bolesti) i mikrobiološke podatke. Antimikrobni lekovi su analizirani sa stanovišta doze, puta davanja i dužine terapije/profilakse. Analizirani su sledeći indikatori kvaliteta (Quality Indicators – QI):

- da li je unet razlog za antimikrobnu terapiju u istoriju bolesti,
- usklađenost sa vodičem za antimikrobnu terapiju,
- da li je dokumentovan razlog za obustavljanje terapije/zaključak o preispitivanju nastavka antimikrobne terapije i
- da li je propisivanje antimikrobnih lekova ciljano.

Dodatno je analizirano da li je propisivanje antimikrobnih lekova bazirano na biomarkerima (C-reaktivni protein - brzi test, CRP, prokalcitonin – PCT i broj leukocita). Procenu da li je ordinirana odgovarajuća terapija su radili specijalista za bolničke infekcije, klinički mikrobiolog i klinički farmakolog.

Lokalni vodič za antimikrobnu terapiju je napravljen u skladu sa mikrobiološkom mapom generisanom na bazi svih izolata hospitalizovanih pacijenata obrađenih za godinu dana, usklađen sa internacionalnim vodičima i raspoloživim/registrovanim antimikrobnim lekovima na tržištu Republike Srbije/ALIMS. Ovaj vodič je korišćen za procenu da li je korišćen odgovarajući ili pogrešan antimikrobni lek (3, 5, 83, 84, 46).

Kriterijumi za procenu da li je primenjena adekvatna antimikrobna terapija/profilaksa su (Cusini):

- odgovarajuća odluka, ukoliko su svi kriterijumi za primenu antimikrobnih lekova ispunjeni,
- neodgovarajuća indikacija,

- neodgovarajući izbor,
- neodgovarajuća primena (neodgovarajuća doza, vreme, put davanja i dužina terapije/profilakse),
- odstupanje od vodiča i
- nedovoljni podaci za procenu celishodnosti davanja antimikrobnih lekova.

3.5. Etika

Istraživanje je odobreno od strane lokalnog Etičkog komiteta KBC „Dr Dragiša Mišović – Dedinje“ (27.07.2015) i od direktora KBC “Dr Dragiša Mišović-Dedinje”. Podaci vezani za bolesnike se neće koristiti u druge svrhe. Etički komitet je odlučio da nije potreban formalni pristanak pacijenta s obzirom da se radi o studiji kontrole kvaliteta pružanja zdravstvene usluge. Istraživanje je odobreno i od Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta u Beogradu 29/XI-11 od 09.11.2015. godine.

3.6. Statističke metode

Za analizu primarnih podataka korišćene su deskriptivne statističke metode, metode za testiranje statističkih hipoteza i metode za ispitivanje zavisnosti. Od deskriptivnih statističkih metoda korišćene su mere centralne tendencije (aritmetička sredina, medijana, mod), mere varijabiliteta (standardna devijacija) i relativni brojevi (pokazatelji strukture). Od metoda za testiranje statističkih hipoteza korišćen je t-test, hi-kvadrat test i analiza varijanse. Od metoda za analizu zavisnosti korišćen je koeficijent linearne korelacije i regresiona analiza. Statističke hipoteze su testirane na nivou statističke značajnosti (alfa nivo) od 0,05. Za statističku obradu podataka korišćen je program IBM SPSS Statistics 17 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

4. REZULTATI

Počevši od 2010. godine uvedene su mere za kontrolu infekcija koje su usaglašene sa vodičima Centra za kontrolu bolesti i prevenciju (engl. Center for Diseases Control and Prevention) i Konsultantskog komiteta za kontrolu prakse kod bolničkih infekcija (engl. Hospital Infection Control Practice Advisory Committee) kao i sa preporukama svetske zdravstvene organizacije za higijenu ruku kod pružanja zdravstvene nege (engl. WHO Guidelines on Hand Hygiene in Health Care) (85, 45).

Ove mere se primenjuju na svim pacijentima, uključujući higijenu ruku, upotreba lične zaštitne opreme, higijene respiratornog trakta, primena sigurnosnih igala kod uzorkovanja krvi za analize (engl. safety needle BD Eclipse TM), upotreba maski kod plasiranja katetera i lumbalne punkcije. Osim toga, uvedeno je sigurno upravljanje kontaminiranim i medicinskim otpadom, dekontaminacija i dezinfekcija radnih površina, visoka dezinfekcija prostora primenom H₂O₂ i Ag u obliku aerosola i čišćenje i dezinfekcija medicinskog tekstila u skladu sa procedurama o upravljanju kontaminiranim medicinskim tekstilom. Druge mere obuhvataju kohortnu izolaciju, skrining pacijenata pre prijema na odeljenje jedinice intenzivnog lečenja, dekolonizaciju, skrining osoblja i radnih površina i obuka osoblja.

Početakom 2012. godine, uvedene su različite mere kontrolu propisivanja i potrošnje antimikrobnih lekova u cilju ograničavanja i poboljšanja primene antibiotika.

- Praćenje i procena MDR patogena na različitim odeljenjima i odeljenjima jedinica intenzivnog lečenja na mesečnom nivou.
- Uveden je lokalni vodič za profilaktičnu i terapijsku primenu antibiotika u bolnici, zasnovan na mapi lokalno izolovanih rezistentnih mikroorganizama i konzistentan sa nacionalnim i svetskim vodičima (3, 5, 83, 84, 46).
- Procenjuje se potrošnja antibiotika na osnovu podataka nabavke antibiotika iz bolničkog informacionog sistema.
- Uvedena je kontrola propisivanja nekih antibiotika i organizovanje treninga za pojedinačne organizacione jedinice o indikacijama i primeni antibiotika u bolničkim uslovima.

4.1. Karakteristike pacijenata, indikacije za antimikrobnu terapiju

U tabeli 1. su prikazani izolati, broj pacijenata i prosečna dužina hospitalizacije. Ukupan broj izolata koji su analizirani na hirurškim odeljenjima je bio 1.953, a na internističkim odeljenjima 5.984. Izolovani sojevi bakterija su prikazani po godinama od 2012. do 2015. godine. Tokom celog perioda posmatranja po godinama, prosečno trajanje hospitalizacije na S je bilo 3,0; 2,8; 2,8 i 3,1 dan a prosečna hospitalizacija na M je bila 10,0; 9,5; 9,2 i 9,3 dana i signifikantno je različita ($p < 0,001$). Ukupan broj pacijenata za posmatrani period je na S 17.105, a na M 11.686.

Prosečna starost pacijenata na S odeljenjima je bila 55,7 godina (18-85 godina) a od kojih su 8.005 (68,5%) činili bolesnici muškog pola. Prosečna starost hospitalizovanih na M odeljenjima je bila 70,3 godine (18-92 godina) od kojih su 8.125 (47,5%) činili bolesnici muškog pola.

Glavni razlozi za antimikrobnu terapiju su prikazani u Tabeli 2. Na S odeljenjima su najčešći razlozi bili: urinarna infekcija u 2.671 (74,3%), infekcija gastrointestinalnog trakta 725 (20,1%) i infekcija kože i mekih tkiva kod 95 (2,6%) pacijenata. Na M odeljenjima su najčešći razlozi bili: urinarna infekcija u 2.192 (34,9%) slučajaja, infekcija respiratornog trakta kod 2.002 (31,9%) pacijenata i kod 836 (13,3%) bolesnika sepsa. Razlike u indikacijama između odeljenja su značajno ($p < 0,001$) različite.

Kod 208 pacijenata sa anamnezom o prethodnoj hospitalizaciji i/ili primljenoj antimikrobnoj terapiji, koji su razvili dijarealni sindrom, potvrđen je *C.difficile* toksin (48 na S i 160 na M). Procenat pacijenata sa indikacijom dijareje izazvane *C.difficile*, za antimikrobnu terapiju je bio signifikantno veći na M (2,5%) nego na S (1,3%) odeljenjima u poređenju sa opštom populacijom pacijenata sa značajnošću $p < 0,001$.

Tabela 1. Godišnja raspodela izolata, broja pacijenata i prosečna dužina hospitalizacije na hirurškim (S) i internističkim (M) odeljenjima.

Odeljenje	Variabla	2012.	2013.	2014.	2015.
S	Br. izolata	485	436	524	508
	Br. pacijenata	4117	4431	4206	4351
	Prosečno vreme hospitalizacije	3,0	2,8	2,8	3,1
M	Br. izolata	1.597	1.468	1.465	1.454
	Br. pacijenata	2.700	3.038	2.930	3.018
	Prosečno vreme hospitalizacije	10,0	9,5	9,2	9,3
Tokom observiranog perioda 2012.-2015. god. hospitalizacija na M je bila signifikantno duža (p<0,05).					

Tabela 2. Glavne indikacije za antimikrobnu terapiju u periodu 2012. – 2015. godina.

Indikacija	S br. (%)	M br. (%)
Infekcija respiratornog trakta	35 (1)	2.002 (31,9)
Sepsa, bakterijemija	23 (0,6)	836 (13,3)
Infekcija gastrointestinalnog trakta	725 (20,1)	681 (10,8)
Infekcija urinarnog trakta	2.671 (74,3)	2.192 (34,9)
Infekcija kože i mekog tkiva	95 (2,6)	83 (1,3)
Povišena TT nepoznatog uzročnika	0 (0)	330 (5,3)
Infekcija <i>C.difficile</i>	48 (1,3)	160 (2,5)
Ukupno	3.597 (100)	6.284 (100)

Izolovane bakterije

E.coli (15,1% i 26,2%), *Enterococcus spp.* (16,5% i 14,5%) i *K.pneumoniae* (14,1% i 8,9%) bili su najčešći uzročnici koji su izolovani na S i M odeljenjima (Tabela 3).

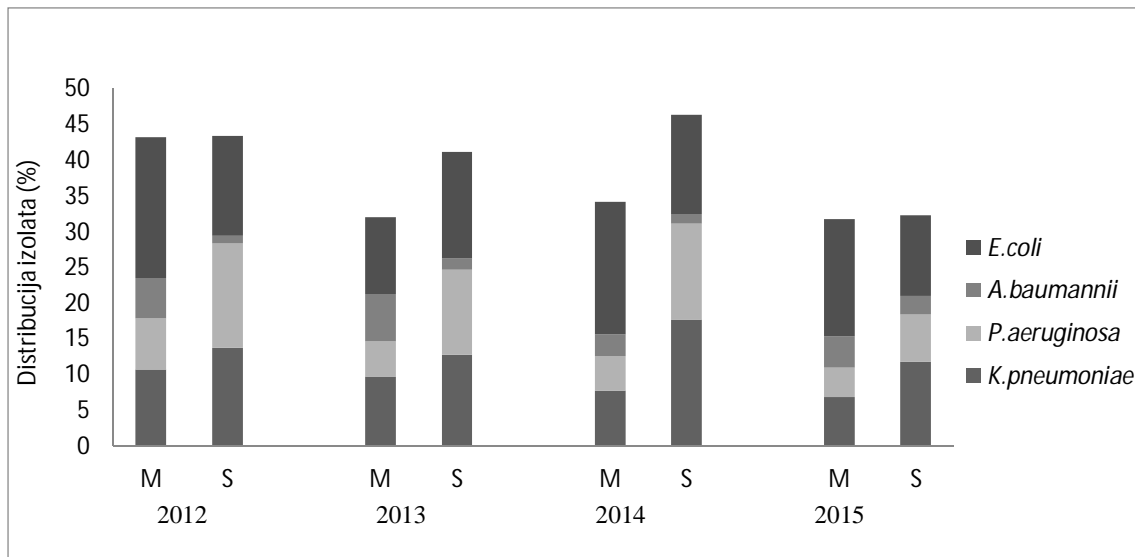
Procenat izolata iz kliničkog materijala u poređenju sa ukupnim brojem izolata varira među odeljenjima (p<0.001), kao i godišnja distribucija, rezistencija *E.coli*, *K.pneumoniae*, *P.aeruginosa* i *A.baumannii* sojeva i trend potrošnje antimikrobnih lekova. Prevalenca tokom

godine izražena kao procenat izolovanih sojeva *E.coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* i *A.baumannii* nije signifikantno različita tokom istraživanja na obe grupe S i M. (Slika 27).

Ukupan broj *E.coli*, *K.pneumoniae*, *P.aeruginosa* i *A.baumannii* sojeva izolovanih na S je bio 295/1.953 (15,1%), 276/1.953 (14,1%), 228/1.953 (11,6%) i 32/1.953 (1,6%), redom. Ukupan broj sojeva *E.coli*, *K.pneumoniae*, *P.aeruginosa* i *A.baumannii* izolovanih na M odeljenjima je bio 1.568/5.984 (26,2%), 532/5.984 (8,9%), 317/5.984 (5,3%) i 297/5.984 (4,9%), redom. Procenat izolata *K.pneumoniae* i *P.aeruginosa* relativno na ukupan broj izolata je bio manji na M u odnosu na S odeljenja ($p < 0.001$). Učestalosti izolata *E.coli* i *A.baumannii* je signifikantno veći na M u odnosu na S odeljenja ($p < 0.001$) (Tabela 3). Učestalost MDR izolata je prikazana u Tabeli 4. *E.coli*, *K.pneumoniae*, *P.aeruginosa* i *A.baumannii* sojevi na S pokazuju značajno veću rezistenciju od sojeva istih uzročnika na M odeljenjima, prema karbapenemima (imipenem) sa značajnošću $p < 0.001$, $p < 0.001$ i $p < 0.05$, redom, ali zato pokazuju uporedljivu otpornost na cefepim ($p > 0.05$, svi). Otpornost izolata *K.pneumoniae* na ceftazidim je značajno veća na S nego na M odeljenjima ($p < 0.001$). Ne postoji razlika u rezistenciji *E.coli* na testirane antibiotike između S i M odeljenja.

Tabela 3. Identifikacija izolata, distribucija po odeljenjima i učestalost u periodu 2012. to 2015. godine

Izolat	br. (%)	br. (%)
	S	M
<i>Escherichia coli</i>	295 (15,1)	1.568 (26,2)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	276 (14,1)	532 (8,9)
<i>Proteus mirabilis</i>	150 (7,7)	467 (7,8)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	228 (11,6)	317 (5,3)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	32 (1,6)	297 (5)
<i>Enterobacter spp.</i>	35 (1,8)	197 (3,3)
<i>Staphylococcus aureus</i>	57 (2,9)	494 (8,3)
MRSA	13 (0,7)	116 (1,9)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	221 (11,3)	209 (3,5)
<i>Enterococcus spp.</i>	317 (16,5)	841 (14,1)
VRE	23 (1,2)	72 (1,2)
ostali	306 (15,7)	874 (14,6)
Ukupno	1.953 (100)	5.984 (100)



Slika 27. Distribucija po godinama *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Acinetobacter baumannii* sojeva izolovanih na S i M odeljenjima između 2012. i 2015. godine.

Učestalost MDR *E.coli*, MDR *K.pneumoniae*, MDR *P. aeruginosa* i MDR *A. baumannii* na S odeljenjima je bila 39,8% (105/264), 86,2% (238/276), 49,1% (112/228) i 93,7% (30/32), redom (Slika 28). Učestalost MDR *E.coli*, MDR *K. pneumoniae*, MDR *P. aeruginosa* i MDR *A. baumannii* na M odeljenjima je bila 21,7% (213/981), 63,1% (336/532), 36,9% (117/317) i 79,5% (236/297), redom (Slika 28). Učestalost MDR *K. pneumoniae* i MDR *P. aeruginosa* je signifikantno bila niža na M u poređenju sa S odeljenjima ($p < 0,001$, $p = 0,006$). Procenat izolovanih MDR *A. baumannii* je bio veći na S u poređenju sa M odeljenjima ali nema statistički signifikantne razlike ($p = 0,086$). U posmatranom periodu, postoji statistički značajan porast prevalencije MDR *E.coli* na S odeljenju (hi-kvadrat test za trend=12,950; $p < 0,001$), i na M odeljenju (hi-kvadrat test za trend=33,958; $p < 0,001$).

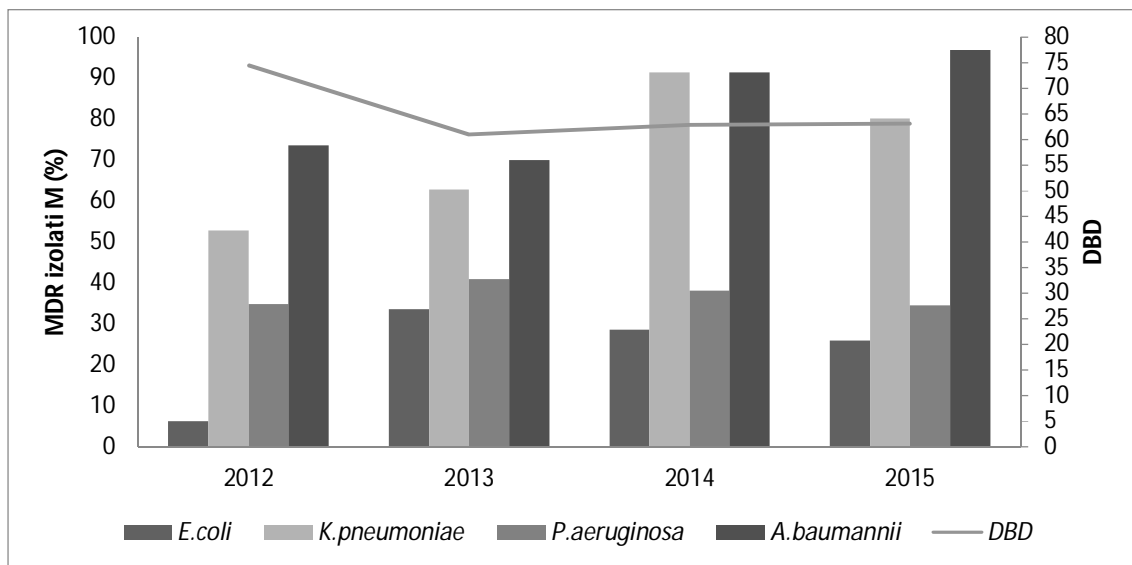
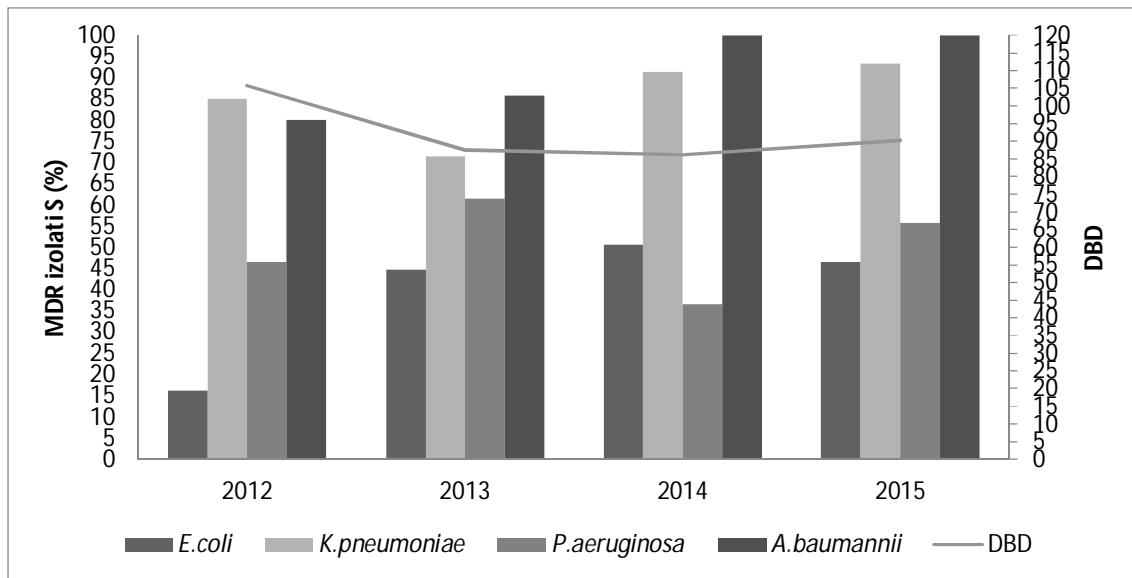
4.2. Potrošnja antimikrobnih lekova - analiza trenda

Trend u potrošnji svih antibiotika na koji je rađen test osetljivosti a koji su preporučeni u terapiji i koji su korišćeni u profilaksi na S i M odeljenjima je prikazan na slici 28.

Ukupna potrošnja antimikrobnih lekova u 2012., 2013., 2014. i 2015. godini je prikazana kao DBD i signifikantno je veća ($p = 0,003$) na S (105,8, 87,5, 86,1 i 90,3, redom, nego na M odeljenjima (74,5, 61,9, 62,9 i 63,1, redom, Slika 28). Najveća potrošnja je zabeležena u 2012. god., ali bez statističke značajnosti.

Tabela 4 Učestalost MDR *K.pneumoniae*, *P.aeruginosa*, *A.baumannii* i *E.coli* sojeva u izolatima 2012.-2015. godine.

Vrsta Ukupan broj	Antimikrobni lek	S (%)	M (%)	p
<i>Klebsiella pneumoniae</i> S, 36 M, 532	Ceftazidim	85,8	61,9	<0,001
	Cefepim	50,9	44	0,078
	Imipenem	42,2	8,6	<0,001
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> S, 228 M, 317	Ceftazidim	19,5	21,5	0,539
	Cefepim	19,7	19,4	0,886
	Imipenem	51,1	25,1	<0,001
<i>Acinetobacter baumannii</i> S, 32 M, 97	Ceftazidim	93,8	85,7	0,354
	Cefepim	93,8	80,5	0,099
	Imipenem	93,8	77,1	0,039
<i>Escherichia coli</i> S, 105 M, 213	Ceftazidim	32,9	40,7	0,195
	Cefepim	19,0	23,9	0,324
	Imipenem	6,3	3,0	0,132

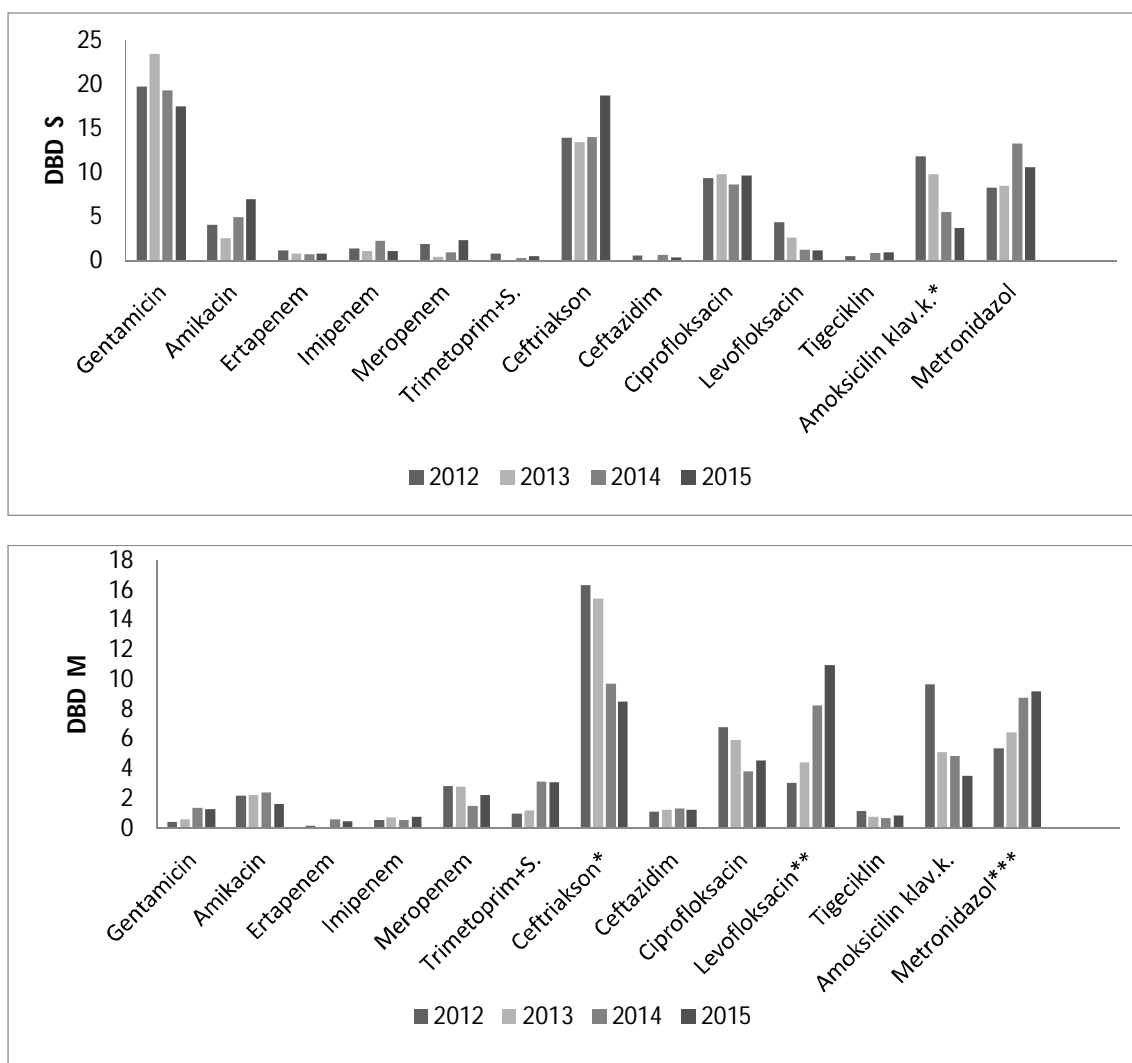


Slika 28. Trend analiza potrošnje antimikrobnih lekova i procenta MDR izolata *E.coli*, *K.pneumoniae*, *P.aeruginosa* i *A.baumannii* na hirurškim (S) i internističkim (M) odeljenjima.

Prema ukupnom broju DBD, pet najčešće primenjenih antimikrobnih lekova na S od 2012. do 2015. godine su: gentamicin (19,8, 23,5, 19,4 i 17,5, redom), ceftriakson (13,9, 13,4, 14,1 i 18,7, redom), metronidazol (8,3, 8,4, 13,4 i 10,6, redom), ciprofloksacin (9,4, 9,8, 8,6 i 9,6), i amoksiciklin+klavulanska kiselina (11,8, 9,9, 5,5 i 3,7, redom) (Slika 29). Statistički značajan pad ($b = -2,881$, $p = 0,014$) je primećen u potrošnji amoksiciklin+klavulanska kiselina tokom celog perioda istraživanja.

Prema ukupnom broju DBD, pet najčešće korišćenih antimikrobnih lekova na M odeljenjima od 2012. do 2015 godine su ceftriakson (16,4, 15,4, 9,7 i 8,5, redom),

metronidazol (5,4, 6,4, 8,8 i 9,2, redom), levofloksacin (3,1, 4,4, 8,2 i 10,9, redom), amoksiciklin+klavulanska kiselina (9,7; 5,1, 4,8 i 3,5, redom) i ciprofloksacin (6,8, 5,9, 3,8 i 4,6, redom). Tokom celog perioda istraživanja, primećen je značajan pad potrošnje ceftriaksona ($b=-2,925$; $p=0,047$), a gde je upotreba levofloksacina i metronidazola je porasla ($b=1,385$; $p=0,029$). Potrošnja amoksiciklin+klavulanska kiselina se smanjila ali ne statistički značajno (Slika 29). Nije nađena korelacija između potrošnje antimikrobnih lekova i procenta izolovanih MDR patogena.



Slika 29. Potrošnja antimikrobnih lekova po godinama na hirurškim (S) i internističkim odeljenjima (M). S. *Postoji statistički signifikantno smanjenje potrošnje Amoksicilin+klavulanska kiselina ($b=-2,881$; $p=0,014$). M. * Postoji statistički signifikantno smanjenje potrošnje ceftriaksona ($b=-2,925$; $p=0,047$). ** Postoji statistički signifikantno povećanje potrošnje levofloksacina ($b=2,745$; $p=0,014$). *** Postoji statistički signifikantno povećanje potrošnje metronidazola ($b=1,385$; $p=0,029$).

4.3. Testiranje navika u propisivanju antimikrobnih lekova po G-PPS metodologiji

Analizirali smo 225 propisanih antimikrobnih lekova od čega na S odeljenjima 160 i na M, 65 u 138 odraslih pacijenata, od kojih 92 na S i 46 na M odeljenjima, na dan istraživanja. Prosečna starost hospitalizovanih pacijenata je bila na S odeljenjima $65,1 \pm 14,4$ godine a $77,0 \pm 12,8$ godina na M odeljenjima, što je bilo statistički značajno različito ($p < 0,001$). Prosečna dužina ležanja na S je bila 5 dana, a na M odeljenjima 15 dana, što je statistički značajno različito ($p < 0,001$).

Kao što se i očekivalo, parenteralno davanje antimikrobnih lekova je bilo češće na S (82,5%) nego na M odeljenjima (56,9%), što je bilo statistički značajno različito ($p < 0,001$). Terapije su češće indikovane empirijski na obe grupe odeljenja S (86,8%) i M odeljenja (80%) ($p = 0,198$). U tabeli 5 su prikazane indikacije za propisivanje antimikrobnih lekova. Procenat profilakse kao indikacija za davanje antimikrobnih lekova je bio 25% na S odeljenjima dok je na M bio 0%. Profilaksa, u vidu samo jedne doze leka je bila zastupljena u 2,5%, jednodnevna u 13,8% pacijenata. Profilaksu duže od jednog dana primilo je 58,5% pacijenata.

Indikacije za antimikrobnu terapiju su varirale od odeljenja do odeljenja u skladu sa patologijom koja je lečena na tim odeljenjima, što je prikazano u tabeli 5. Procenat propisane terapije za bolničku i vanbolničku pneumoniju je signifikantno učestaliji na M u odnosu na S odeljenja ($p < 0,001$). Sveukupno, infekcije reza i infekcije udružene sa intervencijom (plasiranje intravenskih i arterijskih kanila i posledična septikemija, plasiranje urinarnog katetera i posledična infekcija urinarnog trakta kao i pneumonija udružena sa ventilatorom) su najčešće indikacije na S odeljenjima.

U tabeli 6. prikazana je evaluacija upotrebe antimikrobnih lekova i njihova usklađenost sa indikacijama na različitim odeljenjima. Ukupan broj grešaka u propisivanju antimikrobnih lekova je visoko signifikantno veći ($p < 0,001$) na S (74,6%) u poređenju sa M odeljenjima (27,3%). Odstupanje u odnosu na vodič za antimikrobnu terapiju je daleko izraženije na S (72,9%) u odnosu na M (23,1%) odeljenja. Pa ipak, nedokumentovana indikacija, manjak informacija u istoriji bolesti, neodgovarajuća doza i put davanja antimikrobnog leka je učestalije na M odeljenjima. Terapija zasnovana na biomarkerima (CRP, PCT i broj leukocita) je češće zastupljena na M odeljenjima ($p < 0,001$, $p < 0,001$ i $p < 0,001$, redom).

Tabela 5. Indikacija za primenu antimikrobnih lekova prema G-PPS metodologiji.

Indikacija	S, br. (%)	M, br. (%)	p
Profilaksa, jednokratno	4 (2,5)	0	0,327
Profilaksa, jedan dan	22 (13,8)	0	<0,001
Profilaksa, duže od jedan dan	94 (58,8)	0	<0,001
Vanbolnička pneumonija	20 (12,5)	46 (70,8)	<0,001
Bolnička pneumonija	6 (3,8)	13 (20)	<0,001
Infekcija hirurškog reza ¹	7 (4,4)	0	0,197
Infekcija nakon intervencije ²	4 (2,5)	0	0,327
C.difficile-udružena dijareja (CDAD) ³	3 (1,9)	2 (3,1)	0,628
Nepoznat	0	4 (6,2)	0,007
Ukupno	160 (100)	65 (100)	

¹ Infekcija do 30 dana nakon operacije ili do godinu dana nakon operacije sa implantatom.

² nakon intervencije, sepsa, urinarna infekcija povezana sa kateterom, VAP.

³ >48 časova od prijema ili <30 dana nakon otpusta iz bolnice

Tabela 6. Prikaz navika u propisivanju antimikrobnih lekova na različitim odeljenjima dobijena G-PPS metodom.

Indikator kvaliteta	S, br. (%)	M, br. (%)	p
Dokumentovana indikacija	156 (97,5)	55 (84,6)	0,001
Razlozi u beleškama	156 (97,5)	55 (84,6)	0,001
Saglasnost sa vodičem	45 (28,1)	50 (76,9)	<0,001
Razlog za non-compliance			
Pogrešan izbor	57 (35,6)	13 (20,0)	0,022
Pogrešna doza	3,1 (1,9)	10 (15,4)	<0,001
Pogrešan dozni interval	113 (70,6)	11 (16,9)	<0,001
Terapija zasnovana na biomarkerima			
CRP	64 (40)	63 (96,9)	<0,001
PCT	39 (24,4)	32 (49,2)	<0,001
Leukocitoza	148 (92,5)	65 (100)	0,021
Upukan broj propisivanja	160 (100)	65 (100)	

Tokom G-PPS analize antimikrobne terapije na S odeljenjima najčešće se primenjivao gentamicin (42,5%), ceftriakson (17,5%), ciprofloksacin (13,8%), amikacin (8,8%) i amoksicilin+klavulanska kis. (5,6%). Na M odeljenjima najčešće je primenjivan ciprofloksacin (26,2%), ceftriakson (18,5%), levofloksacin (15,4%), metronidazol (13,8%) i azitromicin (6,2%).

4.4. Genska ispitivanja rezistencije

Od ukupno analiziranih 15 MDR izolata iz različitih kliničkih uzoraka hospitalizovanih pacijenata identificirano je 7 (70,0%) izolata *K. pneumoniae* i 3 (30%) izolata *E. coli* na kojima je istraživana rezistencija (ukoliko su od istog pacijenta dobijena dva ista izolata *Escherichia coli* ili *Klebsiella pneumoniae*, a iz različitih materijala, samo jedan izolat je uključen u istraživanje).

Kod izolata *K. pneumoniae* utvrđeno je prisustvo NDM i OXA-48-sličnih enzima kao i kombinacija NDM i OXA-48-like enzima. Kod izolata *E. coli* nađena je samo NDM karbapenemaza (87).

Tabela 7. Prikaz genskog ispitivanja uzoraka MDR *K.pneumoniae* i *E.coli* i njihove osetljivosti/rezistencije na antibiotike

lab br	vrsta	fen. te geni	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14					
639	<i>E.coli</i>	EDTA+ NDM	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S				
627	<i>E.coli</i>	EDTA+ NDM	R	R	R	R	R	R	R	I	R	R	R	S	R	R					
698	<i>K.pne</i>	EDTA+ NDM	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R					
724	<i>K.pne</i>	EDTA+ NDM	R	R	R	R	R	R	I	R	R	R	R	S	R	R					
914	<i>E.coli</i>	EDTA+ NDM	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R					
752	<i>K.pne</i>	- OXA	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R					
1210	<i>K.pne</i>	- NDM,OXA	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R					
1212	<i>K.pne</i>	- OXA	R	R	R	R	R	R	R	I	R	R	R	R	R	R					
1213	<i>K.pne</i>	- NDM,OXA	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R					
870	<i>K.pne</i>	- NDM,OXA	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R					
1.A, 2.AMC, 3.TZP, 4.CZ, 5.CRO, 6.CXM, 7.FEP, 8.IMP, 9.MEM, 10.ETP, 11. GM, 12. AK, 13. SXT, 14. CIP																					
lab br	vrsta	fen. te geni	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33
639	<i>E.coli</i>	EDTA+ NDM	≥128	≥128	≥64	2	16	≥16	≥16	≥16	≥16	≤0.1	≤0.1	≤0.5	≥320	≥32	≥64	4	≤0.5	2	
627	<i>E.coli</i>	EDTA+ NDM	≥128	≥128	≥64	8	≥64	2	≥16	≤2	≥16	8	≥4	≥8	≤0.5	≥320	≥32	≥64	≥8	≤0.5	2
698	<i>K.pne</i>	EDTA+ NDM	≥128	≥128	≥64	≥64	≥64	≥16	≥16	≥64	≤1	≥16	≥4	≥8	≥16	≥320	≥32	≥64	≥8	≥8	32
724	<i>K.pne</i>	EDTA+ NDM	≥128	≥128	≥64	2	16	2	≥16	≤2	≥16	8	≥4	2	≤0.5	≥320	≥32	≥64	4	≤0.5	8
914	<i>E.coli</i>	EDTA+ NDM	≥128	≥128	≥64	≥64	≥64	≥16	≥16	32	≥16	≥16	≥4	≥8	≤0.5	≥320	≥32	≥64	≥8	≤0.5	2
752	<i>K.pne</i>	- OXA	≥128	≥128	≥64	≥64	≥64	≥16	≥16	4	≥16	≥16	≥4	≥8	≤0.5	≥320	≥32	≥64	≥8	2	12
1210	<i>K.pne</i>	- NDM,OXA	≥128	≥128	≥64	≥64	≥64	≥16	≥16	4	≥16	≥16	≥4	≥8	≤0.5	≥320	≥32	≥64	≥8	2	16
1212	<i>K.pne</i>	- OXA	≥128	≥128	≥64	≥64	≥64	1	8	16	≥16	≥16	≥4	≥8	≤0.5	≥320	≥32	≥64	≥8	1	6
1213	<i>K.pne</i>	- NDM,OXA	≥128	≥128	≥64	≥64	≥64	8	≥16	4	≥16	≥16	≥4	≥8	≤0.5	≥320	≥32	≥64	≥8	2	12
870	<i>K.pne</i>	- NDM,OXA	≥128	≥128	≥64	≥64	≥64	≥16	≥16	4	≥16	≥16	≥4	≥8	≤0.5	≥320	≥32	≥64	≥8	2	12
15. MIC PIP, 16. MIC TZP, 17. MIC CAZ, 18. MIC FEP, 19. MIC ATM, 20. MIC IMI, 21. MIC MEM, 22. MIC AK, 23. MIC GM,																					
24. MIC TOB, 25. MIC CIP, 26. MIC LEV, 27. MIC COL, 28. MIC SXT, 29. MIC A, 30. MIC CRO, 31. MIC ETP, 32. MIC TGC, 33. MIC FOSFO																					

5. DISKUSIJA

5.1. Profil infekcija i rezistencija na antibiotike

Na osnovu višegodišnjeg praćenja dobija se uvid u prevalencu i profil rezistencije MDR patogena u našoj bolničkoj sredini, što je značajno zbog postojanja regionalnih razlika.

Procenat MDR *E.coli* u zemljama EU nije ujednačen (88). U našem KBC je primetan porast MDR *E.coli* u periodu 2013.-2015. godine u odnosu na 2012. Godinu, na S i M odeljenjima. Takođe, je značajno veći procenat MDR *E.coli* na S odeljenjima, što je očekivano imajući u vidu da je deo S odeljenja i urološka hirurgija.

Pregled nadzora za 2014. godinu Evropskog centra za bolesti, prevenciju i kontrolu ukazuje da antimikrobna rezistencija MDR *K.pneumoniae* značajno varira među članicama Evropske unije (Irska, 0%, Slovenija, 18.9%, Hrvatska, 30.9%, Bugarska, 41.7, Rumunija, 56.0%, Grčka, 56.8%, Slovačka, 63.3% itd.)(88). U našem istraživanju, zastupljenost MDR *K.pneumoniae* je veoma visoka i varira na različitim odeljenjima (S, 86.2% i M, 63.1%). Ovaj rezultat je u korelaciji sa godišnjim izveštajem CAESAR mreže za 2013. godinu. Između 30 evropskih zemalja i nekih zemalja nastalih raspadom Jugoslavije, u Srbiji je zabeležena najviša prevalenca MDR *K.pneumoniae* (35). Ovo nije slučaj sa podacima koje su dobili u Kliničkom centru NIŠ (1460 kreveta), gde je *P.aeruginosa* učestaliji od *K.pneumoniae* (89). U ovoj tercijarnoj bolnici je istraživanje obavljeno na drugačijoj strukturi bolničkih odeljenja gde je uključena i pedijatrija, otorinolaringologija, neurologija, ortopedska hirurgija, neurohirurgija i dr. Lee i sar. su, istražujući patogene od 2003. do 2011. godine u Taichung Veterans Hospital na Taiwanu, pronašli da je *P.aeruginosa* učestalija od *K.pneumoniae* (38). Naši podaci su u korelaciji sa istraživanjem Datta i sar. koji su dobijeni u tercijarnoj bolnici u Nju Delhiju, gde je *K. pneumoniae* dominantni patogen u 2006. godini (90). Iskazana otpornost *K.pneumoniae* izolovane na našim hirurškim odeljenjima na ceftazidim i imipenem je uporedljiva sa podacima istraživanja Datta i sar. i Goel i sar. (90, 91). Zapažanje, gde su izolati *K.pneumoniae* sa S odeljenja značajno otporniji na sve testirane antimikrobne lekove u poređenju sa izolatima na M (Tabela 4) zahteva posebnu pažnju.

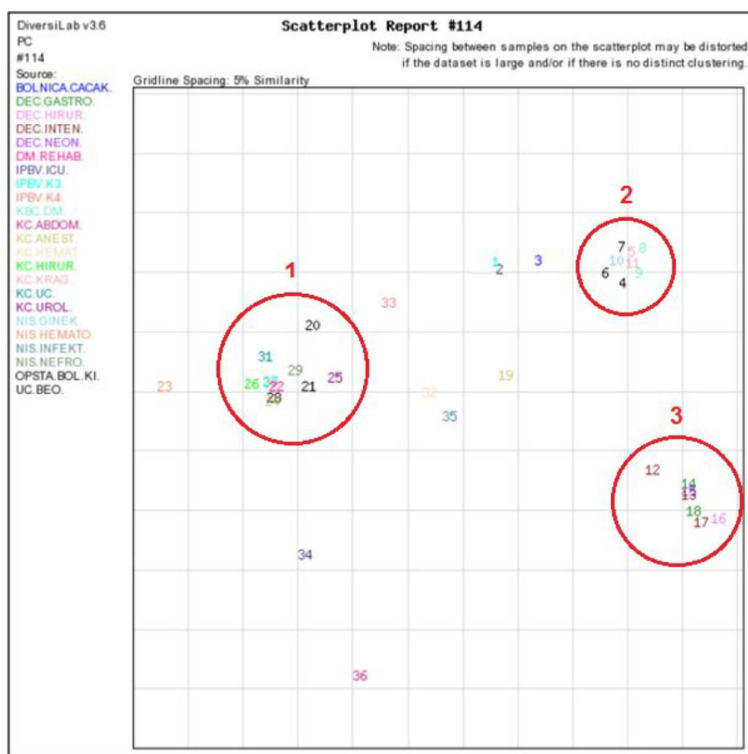
Veoma visoka varijacija u prevalenciji MDR *P.aeruginosa* unutar država Evrope (Estonia, 0%, Irska, 0%, Slovenija, 22.3%, Bugarska, 27.1%, Hrvatska, 30.0%, Grčka, 37.7%, Rumunija, 59.6% itd.) je već pokazana. Na žalost zabeležili smo veći procenat MDR *P.aeruginosa* na S (49.1%) i M (36.9%) odeljenjima u poređenju sa većinom zemalja Evrope,

osim Rumunije (88). Brojne svetske studije prijavljuju povećanu prevalenciju *P.aeruginosa* u tercijarnim bolnicama između 1998. i 2011. godine (38, 91, 92, 93). U našem istraživanju smo pokazali da nije zabeležen povećan broj MDR *P.aeruginosa* na relevantnim odeljenjima tokom praćenog perioda. Slično nama, Falagas i sar. (Grčka) je pokazao da nema značajnih promena u prevalenciji MDR *P.aeruginosa* u periodu od 2002. do 2006. godine (94).

Prevalencija i procenat izolata MDR otpornog *A.baumannii* izolovanog u bolničkoj sredini značajno raste u celom svetu (95). Naše istraživanje je pokazalo značajan porast učestalosti MDR *A.baumannii* na S (80% na 100%) i M (74% na 97%) odeljenjima od 2012 do 2015. godine. Takođe, u zemljama sa visokim procentom zastupljenosti MDR patogena (Grčka i Italija), otpornost *A.baumannii* je povećana tokom ovog perioda (88, 94). Sličan porast, (80%) MDR *A.baumannii* prijavljuje tercijarna bolnica u Nju Delhiju (91).

Naši rezultati pokazuju, da se povećava prevalenca *A.baumannii* otpornog na ceftazidim, cefepim i imipenem, što je uporedivo sa profilom rezistencije *P.aeruginosa* (Tabela 4). Procenat sojeva *A.baumannii* otpornih na fluorohinolone, aminoglikozide i karbapeneme istovremeno, u nekim zemljama Evrope se kreće od 0% (Holandija, Danska i Finska) do preko 80%, u zemljama kao što su Grčka, Italija i Indija (91).

Escherichia coli je najčešće izolovana Gram-negativna bakterija u hemokulturama i najčešći je uzročnik urinarnih infekcija u zemljama Evrope (88). U našoj studiji *E.coli* je bila najčešće izolovana bakterija, što je u skladu sa rezultatima Veličković-Radovanović (2015) dobijenim u periodu od 2005.-2013. godine u tercijarnoj zdravstvenoj ustanovi u Nišu (89). Rezistencija *E.coli* na antibiotike je u porastu širom Evrope. U izveštaju EARS-Net (2012) srednji procenat *E.coli* rezistentne na treću generaciju cefalosporina je bio 11,9%, sa izraženim međunacionalnim razlikama, od 4,4% (Švedska) do 38,1% (Bugarska). U 2012. godini, udružena rezistencija na cefalosporine III generacije, fluorohinolone i aminoglikozide u zemljama Evrope je bila prosečno 4,4 % (1%, Island do 16,1%, Bugarska). Od praćenih 27 zemalja, rezistencija je bila u značajnom porastu u 14 zemalja. Na sreću, prosečna rezistencija na karbapenem nije bila značajna (0,1%), sa međunacionalnim varijacijama od 0% (zemlje severne Evrope) do 2,6% (Bugarska)(88). Procenat MDR *E.coli* u našoj studiji je bio najniži u 2012. god (S-16,1% i M-6,3%), da bi se u periodu od 2013-2015. god. varirao od 45-50% (S odeljenja) i od 23-33% (M odeljenja). U posmatranom periodu, postoji statistički značajan porast prevalencije MDR *E.coli* na S i na M odeljenju. Ovi procenti govore u prilog da je rezistencija *E.coli* na antibiotike u našem KBC značajno veća nego u ostalim zemljama Evrope.



Slika 30. Grupisani izolati *K.pneumoniae* sa visokim stepenom srodnosti (izvor doktorska teza A.Trninić fenotipsko i genotipsko dokazivanje karbapenemaza kod multirezistentnih sojeva escherichia coli i klebsiella pneumoniae).

Na Slici 30 prikazani su grupisani izolati *K.pneumoniae* sa visokim stepenom srodnosti. Obeležena grupa 1 predstavlja izolate sa NDM karbapenemazama koji potiču iz različitih zdravstvenih ustanova. Grupa 2 prikazuje izolate sa OXA-48-slični i/ili NDM karbapenemazama takođe iz različitih zdravstvenih centara (KBC “Dr D.Mišović-Dedinje” broj 10). Izolati sa NDM karbapenemazama koji potiču iz iste zdravstvene ustanove prikazani su u grupi 3.

Genski testovi MDR *K.pneumoniae* i MDR *E.coli*

Kod svih izolata NDM karbapenemaza je bila najzastupljenija, dominantna kao i u svih preostalih 8 gradova u kojima su nađeni izolati koji produkuju karbapenemaze. Prvi objavljeni radovi o infekcijama izazvanim izolatima koji produkuju NDM karbapenemaze odnosili su se na osobe koje su zdravstvenu negu primali u Indiji, iako precizno geografsko poreklo i tačno vreme pojave blaNDM gena nisu poznati (96, 97). Enzim NDM je prvi put

izolovan u januaru 2008. godine kod muškarca indijskog porekla koji je živeo u Švedskoj i tokom više godina putovao u Indiju, gde je bio hospitalizovan. Dan nakon prijema u bolnicu u Švedskoj izolovan je multirezistentan soj *Klebsiella pneumoniae* rezistentan na karbapeneme (98). U martu 2008. godine iz uzorka stolice istog pacijenta izolovana je *Escherichia coli* rezistentna na karbapeneme. Budući da upotrebom PCR tehnike nisu detektovani do tada poznati geni, kloniranjem i sekvenciranjem utvrđeno je da se radi o novoj metalo-beta-laktamazi nazvanoj NDM-1 (99, 100).

Enzimi OXA-48 su prvi put detektovani u Turskoj u izolatu *Klebsiella pneumoniae*, a ubrzo su usledile bolničke epidemije po celoj zemlji (101). Turska, zemlje Bliskog Istoka i Severnoafričke zemlje se smatraju najvećim rezervoarom OXA-48 gena (102).

5.2. Potrošnja antimikrobnih lekova

Usprkos važnosti, veoma malo je publikovanih podataka o potrošnji antimikrobnih lekova u bolnicama u Srbiji. Analizom četvorogodišnje potrošnje antimikrobnih lekova na hirurškim i internističkim odeljenjima, uočili smo najveću potrošnju u prvoj godini praćenja 105,8 DBD na S i 74,5 DBD na M odeljenjima. Suprotno našim podacima Goel i sar. tokom 10-godišnjeg perioda praćenja (1999-2008), nalaze značajan porast u potrošnji antimikrobnih lekova u terciarnoj bolnici u Nju Delhiju, koja se udvostručila (sa 158,7 DBD na 318,5 DBD) (91). U drugoj studiji iz Nju Delhija, Datta i sar. su pokazali visoku ukupnu potrošnju antimikrobnih lekova 226,5 DBD u 2009. (90). Na sreću, tokom 2013.-2015. godine, na našim odeljenjima ukupna potrošnja antimikrobnih lekova se nije povećavala i bila je konstantno stabilna. U drugom opsežnom istraživanju gde su analizirani podaci iz 25 bolnica na Mediteranu, potrošnja antimikrobnih lekova je varirala značajno od 84 do 428 DBD, sa srednjom vrednosti od 112 DBD što je veća potrošnja od zabeležene na našim odeljenjima (103). Tokom celog perioda praćenja, zapazili smo statistički značajno veću potrošnju antimikrobnih lekova na S u poređenju sa M, usprkos kraćem prosečnom boravku pacijenata na odeljenju. Za razliku od naših podataka u univerzitetskoj bolnici u Istanbulu, Turska, Inan i sar. su pokazali manju potrošnju na hirurškim odeljenjima (32,9%) u poređenju sa na internističkim odeljenjima (40,5%) (104).

Gentamicin, ceftriakson, metronidazol, ciprofloksacin, i amoksisicilin+klavulanska kiselina su pet najčešće korišćenih antimikrobnih lekova na S, dok su ceftriakson, metronidazol, levofloksacin, amoksisicilin+klavulanska kielina i ciprofloksacin pet najčešće

korišćenih antimikrobnih lekova na M odeljenjima (Slika 29). Najčešća dijagnoza za propisivanje antimikrobnih lekova na S odeljenjima su urinarne infekcije i infekcije gastrointestinalnog trakta, tako da se može zaključiti da lista od pet najčešćih antimikrobnih lekova odgovara postojećim dijagnozama i u skladu je sa preporukama (3, 5, 83). Imajući na umu da su najčešća dijagnoza na M odeljenjima bile infekcije respiratornog trakta i urinarne infekcije, možemo reći da je visoka potrošnja ceftriaksona, fluorohinolona i amoksicilin+klavulanske kiseline u skladu sa preporukama (3, 5, 83), što se ne može reći i za visoku potrošnju metronidazola koja je bila neracionalna. Usprkos većem procentu infekcija izazvanih sa *C.difficile* na M odeljenjima, za tako veliku potrošnju metronidazola nema opravdanja (Tabela 2). Međutim visoka potrošnja metronidazola na S odeljenjima može biti u skladu sa različitim internacionalnim vodičima za terapiju intra-abdominalnih infekcija (46).

Naša trend analiza nije uspela da dokaže povezanost ukupne potrošnje antimikrobnih lekova sa zastupljenošću MDR patogena (*K.pneumoniae*, *P.aeruginosa*, *A.baumannii* i *E.coli*) na praćenim odeljenjima što može biti posledica toga što je uzorak suviše mali (samo 4 godine praćenja). Slično je pokazano i u studiji Veličković-Radovanović i sar., gde je usprkos evidentnom povećanju potrošnje antimikrobnih lekova u Kliničkom centru u Nišu tokom 2005.-2013. godine, nije bilo korelacije sa procentom MDR patogena (89).

5.3. Navike u propisivanju antimikrobnih lekova

Da bi da analizirali kvalitet propisivanja antimikrobnih lekova kod hospitalizovanih pacijenata na hirurškim i internističkim odeljenjima, primenili smo G-PPS metodologiju [Global Point Prevalence S]. Postoje različite navike u propisivanju antimikrobnih lekova u profilaktičke svrhe, širom sveta (67). Procenat profilakse na našim S odeljenjima je 25% što odgovara preliminarnim podacima Versporten i sar. (25,3%), ali je veće nego u studiji Cusini i sar. gde je profilaksa zastupljena sa 19,2% (67, 86). Važno je naglasiti da je više od polovine (58,8%) profilaktičke primene antimikrobnih lekova, bila profilaska duže od 24 časa, što je u suprotnosti sa internacionalnim vodičima i sa našim lokalnim vodičem za antimikrobno propisivanje[6±10]. Takođe u nekoliko istraživanja u Turskoj su autori prikazali neodgovarajuću profilaktičnu primenu antimikrobnih lekova (čak u 30%-50% slučajeva) (104, 105, 106).

Empirijsko propisivanje antimikrobnih lekova je bilo češće na S i M odeljenjima (86.8% i 80%), u poređenju sa Univerzitetском bolnicom u Cirihu (S,47,4% i M,67,2%)(86).

Naši podaci su uporedivi sa istraživanjem Ozkurt i sar. u najvećoj bolnici u istočnoj Anadoliji (Turska, 2001)(106), gde je pre primene restriktione politike u propisivanju antimikrobnih lekova na S i M odeljenjima bilo 65,2% i 86,3% empirijski propisane terapije, a nakon 3 godine od izmene pravila u propisivanju, ovaj procenat se smanjio na 63,2% i 68,7% redom (106). Nesumnjivo je da treba ponoviti ovu analizu i pooštriti restriktionu politiku propisivanja antimikrobnih lekova na našim odeljenjima.

Različiti su obrasci u odstupanju od ispravnog/racionalnog propisivanja antimikrobnih lekova na S i M odeljenjima (74,6% vs. 27,3%), a gde je na S najizraženije odstupanje od vodiča, čak u 72,9%. U istraživanju prevalencije Cusini i sar. su saopštili da je odstupanje od vodiča na hirurškim odeljenjima bilo zastupljeno u svega 0,9% propisanih antimikrobnih lekova (86). Međutim kao i u našoj studiji, lekari na hirurškim odeljenjima su pravili češće greške od lekara na internističkim odeljenjima. Takođe, neprikladno propisivanje antimikrobnih lekova je bilo učestalije na hirurškim nego na internističkim odeljenjima (54,1% i 32,5%) u terciarnoj bolnici u Erzurmu, Turska (106).

Glavni razlozi za neracionalnu/pogrešnu upotrebu antimikrobnih lekova na M odeljenjima su bili neadekvatna doza i način davanja lekova. Primetno je da su biomarkeri, kao osnov za potvrdu prisustva infekcije pre propisivanja antimikrobnih lekova, bili češće određivani na M, u poređenju sa S odeljenjima. Sigurno je, da primena ovih testova na nivou davanja zdravstvene usluge, pomaže lekarima prilikom identifikacije stanja gde treba propisati antimikrobne lekove. Na primer, primena brzog CRP testa i PCT je pokazala značajno smanjenje propisivanja antimikrobnih lekova kod infekcija donjih respiratornih puteva (37).

Listu pet najčešće propisivanih antimikrobnih lekova na M odeljenjima tokom G-PPS nadzora čine ciprofloksacin, ceftriaksone, levofloksacin, metronidazol i azitromicin, što je u saglasnosti sa internacionalnim vodičima koji ove antibiotike preporučuju za infekcije respiratornog trakta (vanbolnička i bolnička pneumonija), a metronidazol za *C. difficile* infekciju (3, 5, 83). Može se reći da je izbor antibiotika na M odeljenjima bio uglavnom racionalan. Primetno je odsustvo amoksicilina+klavulanska kiselina, a razlozi za to nisu jasni, obzirom da se ovaj lek preporučuje u terapiji vanbolničke pneumonije koja je zabeležena u visokom procentu na M odeljenjima (5).

Najčešći razlog za propisivanje antimikrobnih lekova na S odeljenjima je profilaksa u abdominalnoj i urološkoj hirurgiji. Terapijski antimikrobni lekovi su najčešće propisivani za infekciju hirurškog reza i infekcije u vezi sa intervencijom (udruženo sa plasiranjem

vaskularnog katetera – sepsa, infekcija urinarnog trakta udružena sa plasiranjem urinarnog katetera i pneumonia pacijenata koji se nalaze na ventilatoru). Lista pet najučestalije propisivanih antimikrobnih lekova (gentamicin, ceftriakson, amikacin, ciprofloksacin i amoksicilina+klavulanska kiselina) je odgovarajuća (3, 5, 83).

6. ZAKLJUČCI

1. Zastupljenost MDR *K.pneumoniae* je veoma visoka i varira na različitim odeljenjima. Iskazana otpornost *K.pneumoniae* izolovane na našim hirurškim odeljenjima na ceftazidim i imipenem je uporedljiva sa podacima dobijenim u tercijarnim bolnicama u Nju Delhiju iz 2006. Izolati *K.pneumoniae* sa hirurških odeljenja su značajno otporniji na sve testirane antimikrobne lekove u poređenju sa izolatima na internističkim odeljenjima.
2. Zabeležili smo veći procenat MDR *P.aeruginosa* na oba praćena odeljenja u poređenju sa većinom zemalja Evrope, sa izuzetkom Rumunije. Nije zabeležen povećan broj MDR *P.aeruginosa* na relevantnim odeljenjima tokom praćenog perioda.
3. Naše istraživanje je pokazalo značajan porast učestalosti MDR *A.baumannii* na hirurškim (80% na 100%) i internističkim (74% na 97%) odeljenjima od 2012 do 2015. godine. Sličan porast, (80%) MDR *A.baumannii* prijavljuje tercijarna bolnica u Nju Delhiju. Naši rezultati pokazuju, da se povećava prevalenca *A.baumannii* otpornog na ceftazidim, cefepim i imipenem, što je uporedivo sa profilom rezistencije *P.aeruginosa*.
4. *E.coli* je bila najzastupljeniji patogen na internističkim odeljenjima, a na hirurškim odeljenjima njena učestalost je bila uporedljiva sa *K.pneumoniae* i *P.aeruginosa*. Prevalenca MDR *E.coli* je rasla tokom posmatranog perioda na praćenim odeljenjima.
5. Kod izolata *K.pneumoniae* utvrđeno je prisustvo NDM i OXA-48-sličnih enzima, kao i kombinacija NDM i OXA-48-like enzima. Kod izolata *E.coli* nađena je samo NDM karbapenemaza.
6. Najveća potrošnja antimikrobnih lekova uočena je u prvoj godini praćenja (105,8 DBD na hirurškim i 74,5 DBD na internističkim odeljenjima), pre uvođenja Lokalnog vodiča i pre uvođenja WHO-net programa za kontinuirano praćenje prisustva bolničkih patogena. Takođe, tada lekari KBC nisu obaveštavani o potrošnji lekova i o prisutnoj rezistenciji.
7. Gentamicin, ceftriakson, metronidazol, ciprofloksacin i amoksisilin+klavulanska kiselina su pet najčešće korišćenih antimikrobnih lekova na hirurškim odeljenjima. Najčešća dijagnoza za propisivanje antimikrobnih lekova na ovim odeljenjima su urinarne infekcije i infekcije gastrointestinalnog trakta, tako da se može zaključiti da lista od pet najčešćih antimikrobnih lekova odgovara postojećim dijagnozama i u skladu je sa preporukama.

8. Ceftriakson, metronidazol, levofloksacin, amoksicilin+klavulanska kiselina i ciprofloksacin pet najčešće korišćenih antimikrobnih lekova na internističkim odeljenjima. Najčešća dijagnoza na ovim odeljenjima su bile infekcije respiratornog trakta i urinarne infekcije, pa možemo reći da je visoka potrošnja ceftriaksona, fluorohinolona i amoksicilin+klavulanske kiseline u skladu sa preporukama.
9. Visoka potrošnju metronidazola na internističkim odeljenjima je bila neracionalna. Usprkos većem procentu infekcija izazvanih sa *C.difficile* na internističkim odeljenjima, za tako veliku potrošnju metronidazola nema opravdanja. Međutim visoka potrošnja metronidazola na hirurškim odeljenjima može biti u skladu sa različitim internacionalnim vodičima za terapiju intra-abdominalnih infekcija.
10. Trend analiza nije uspela da dokaže povezanost ukupne potrošnje antimikrobnih lekova sa zastupljenošću MDR patogena (*E.coli*, *K.pneumoniae*, *P.aeruginosa* i *A.baumannii*) na praćenim odeljenjima što može biti posledica toga što je uzorak suviše mali (samo 4 godine praćenja).
11. Važno je naglasiti da je više od polovine (58,8%) profilaktičke primene antimikrobnih lekova na hirurškim odeljenjima, bila profilaska duže od 24 časa, što je u suprotnosti sa internacionalnim vodičima i sa našim lokalnim vodičem za antimikrobno propisivanje. Na internističkim deljenjima antibiotici nisu propisivani profilaktički za vreme G-PPS-a.
12. Empirijsko propisivanje antimikrobnih lekova je bilo češće na hirurškim, nego na internističkim odeljenjima (86,8% i 80%).
13. Odstupanju od ispravnog/racionalnog propisivanja antimikrobnih lekova koje je opisano u Lokalnom i međunarodnim vodičima je na hirurškim odeljenjima (74,6%) bilo značajno više izraženo nego na internističkim odeljenjima (27,3%).
14. Glavni razlozi za neracionalnu/pogrešnu upotrebu antimikrobnih lekova na internističkim odeljenjima su bili neadekvatna doza i način davanja lekova. Može se reći da je izbor antibiotika na ovim odeljenjima bio racionalan. Primetno je odsustvo amoksicilina+klavulanske kiseline, a razlozi za to nisu jasni, obzirom da se ovaj lek preporučuje u terapiji vanbolničke pneumonije koja je zabeležena u visokom procentu.
15. Najčešći razlog za propisivanje antimikrobnih lekova na hirurškim odeljenjima je profilaksa u abdominalnoj i urološkoj hirurgiji. Terapijski antimikrobni lekovi su najčešće propisivani za infekciju hirurškog reza i infekcije u vezi sa intervencijom (udruženo sa plasiranjem vaskularnog katetera – sepsa, infekcija urinarnog trakta udružena sa plasiranjem

urinarnog katetera i pneumonija pacijenata koji se nalaze na ventilatoru). Lista propisivanih antimikrobnih lekova je bila u skladu sa vodičima, ali najčešća greška je bila pogrešan dozni interval.

15. Primetno je da su biomarkeri, kao osnov za potvrdu prisustva infekcije pre propisivanja antimikrobnih lekova, bili češće određivani na internističkim, u poređenju sa hirurškim odeljenjima.

16. U zaključku našeg istraživanja možemo naglasiti visoko značajan porast izolata MDR *K.pneumoniae*, MDR *E.coli* i MDR *A.baumannii* i na hirurškim i na internističkim odeljenjima uprkos svim primenjenim merama kontrole infekcije i restriktivne politike propisivanja antimikrobnih lekova. Povećana prevalencija MDR patogena na hirurškim odeljenjima zahteva posebnu pažnju. Ovaj problem je najverovatnije povezan sa visokom potrošnjom antimikrobnih lekova i nepravilnim propisivanjem istih.

LITERATURA

1. M.E.E. van Kasteren, B. J. Kullberg, A. S. de Boer, J. Mintjes-de Groot and I. C. Gyssens. Adherence to local hospital guidelines for surgical antimicrobial prophylaxis: a multicentre audit in Dutch hospitals. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, Volume 51, Issue 6, 1 June 2003, Pages 1389–1396, <https://doi.org/10.1093/jac/dkg264>
2. Global Point Prevalence Survey on Antimicrobial Consumption and Resistance. p.6±18. 2015. Available from: <http://www.biomerieux.ca/upload/Global-PPS%20Booklet%20ECCMID-S2-1.pdf>
3. Glibert DN, Chambers HF, Eliopoulos GM, Saag MS, editors. *The Sanford guide to antimicrobial therapy*. 45th ed. USA: Antimicrobial Therapy Inc. 2015.
4. S. Leekha, C.L. Terrell and R.S. Edson. *General Principles of Antimicrobial Therapy*. *Mayo Clin Proc*. 2011 Feb; 86(2): 156–167. doi: 10.4065/mcp.2010.0639
5. Antibiotic guidelines -Johns Hopkins Medicine. Treatment recommendations for adult inpatients. p.65-71. 2015±2016.
6. T. C. Horan, M. Andrus, and M. A. Dudeck. CDC/NHSN surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *Am J Infect Control*. 2008 Jun;36(5):309-32. doi: 10.1016/j.ajic.2008.03.002.
7. F.Kouchak and M.Askarian. Nosocomial Infections: The Definition Criteria. *Iran J Med Sci*. 2012 Jun; 37(2): 72–73.
8. Kumarasamy KK, Toleman MA, Walsh TR, Bagaria J, Butt F, Balakrishnan R, et al. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. *Lancet Infect Dis*. 2010;10(9):597–602.
9. Denić Marković Lj. III Nacionalna studija prevalencije bolničkih infekcija. VII Национална конференција “Увођење културе безбедности пацијената у систем здравствене заштите Републике Србије” *Zbornik radova*. Beograd, 17. oktobar 2011. godine.
10. S.S. Magill, J.R. Edwards, W.Bamberg, Z.G. Beldavs, M.S., G.Dumyati, M.A. Kainer et al. for the Emerging Infections Program Healthcare-Associated Infections and Antimicrobial Use Prevalence Survey Team Multistate Point-Prevalence Survey of Health Care–Associated Infections. *N Engl J Med* 2014; 370:1198-1208 March 27, 2014 DOI: 10.1056/NEJMoa1306801
11. J.D. Siegel, E. Rhinehart, M. Jackson, L. Chiarello, the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. Management of Multidrug-Resistant Organisms In Healthcare Settings, 2006. *Am J Infect Control*. 2007 Dec;35(10 Suppl 2):S165-93.
12. K.C. Carroll. Enteric Gram-negative rods (Enterobacteriaceae) in Jawetz, Melnick and Adelbergs *Medical microbiology*. 26th Ed, New York: McGraw-Hill; 2013. p. 229-33, 245-50.

13. Li B, Zhao Y, Liu C, Chen Z, Zhou D. Molecular pathogenesis of *Klebsiella pneumoniae*. *Future Microbiol.* 2014;9(9):1071–81.
14. Schroll C, Barken KB, Krogfelt K a, Struve C. Role of type 1 and type 3 fimbriae in *Klebsiella pneumoniae* biofilm formation. *BMC Microbiol.* 2010;10:179.
15. *Antibiotic Basics for clinicians: The ABCs of choosing the right antibacterial agent.* Ed. Hauser A. D., 2nd ed, Wolters Kluwer and Lippincott Williams and Wilkins, 2013.
16. Morrill HJ, Pogue JM, Kaye KS, LaPlante KL. Treatment options for carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections. *Open Forum Infect Dis.* 2015;2(2):1-20.
17. Szmolka A, Nagy B. Multidrug resistant commensal *Escherichia coli* in animals and its impact for public health. *Front Microbiol.* 2013;4(9):1–13.
18. Sáenz Y, Zarazaga M, Briñas L, Lantero M, Ruiz-Larrea F, Torres C. Antibiotic resistance in *Escherichia coli* isolates obtained from animals, foods and humans in Spain. *Int J Antimicrob Agents.* 2001;18(4):353–8.
19. Kluytmans JA, Overdeest IT, Willemsen I, et al. Extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* from retail chicken meat and humans: comparison of strains, plasmids, resistance genes, and virulence factors. *Clin Infect Dis.* 2013;56:478-487.
20. Smith JL, Fratamico PM, Gunther NW. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*. *Foodborne Pathog Dis.* 2007;4(2):134–63.
21. Spurbeck RR, Stapleton AE, Johnson JR, et al. Fimbrial profiles predict virulence of uropathogenic *Escherichia coli* strains: contribution of ygi and yad fimbriae. *Infect Immun.* 2011;79:4753-4763.
22. Gould LH, Mody RK, Ong KL, et al; Emerging Infections Program Foodnet Working Group. Increased recognition of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections in the United States during 2000-2010: epidemiologic features and comparison with *E. coli* O157 infections. *Foodborne Pathog Dis.* 2013;10:453-460.
23. Da Silva GJ, Mendonça N, Silva G Da. Association between antimicrobial resistance and virulence in *Escherichia coli*. *Virulence.* 2012;3(1):18–28.
24. Von Baum H, Marre R. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* and therapeutic implications. *Int J Med Microbiol.* 2005;295(6-7):503–11.
25. Ohl C, Pollack M. *Pseudomonas aeruginosa* and related bacteria. In: Gorbach S, Bartlett JG, Blacklow NR, eds. *Infectious Diseases.* 3rd ed. New York: Lippincott Williams & Wilkins; 2004:1703-1707.
26. Kato Y, Ohashi H, Tsutsumi Y, et al. Prosthetic valve endocarditis caused by metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa*. *J Cardiac Surg.* 2009;24:347-349.
27. Ruppé É, Woerther P-L, Barbier F. Mechanisms of antimicrobial resistance in Gram-negative bacilli. *Ann Intensive Care.* 2015;5(1):21.

28. Lim TP, Lee W, Tan TY, et al. Effective antibiotics in combination against extreme drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* with decreased susceptibility to polymyxin B. *PLoS One*. 2011;6:e28177.
29. J.J. Young, H.Y. Kwon, E. Choi, W.Y. Lee, H.Shim and S.B. Keum. (2017). Efficacy and toxicity of high-dose nebulized colistin for critically ill surgical patients with ventilator-associated pneumonia caused by multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Critical Care*. 40. . 10.1016/j.jcrc.2017.04.004.
30. Joseph J, Rodvold KA. The role of carbapenems in the treatment of severe nosocomial respiratory tract infections. *Expert Opin Pharmacother*. 2008;9(4):561-575.
31. Bassetti M, Repetto E, Righi E, et al. Colistin and rifampicin in the treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections. *J Antimicrob Chemother*. 2008;61: 417-420.
32. Knothe H, Shah P, Krcmery V, Antal M, Mitsuhashi S. Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. *Infection*. 1983;11(6):315-7.
33. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect*. 2012 Mar;18(3):268-81. doi: 10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x.
34. Woodford N, Turton JF, Livermore DM. Multiresistant Gram-negative bacteria: the role of high-risk clones in the dissemination of antibiotic resistance. *FEMS Microbiol Rev*. 2011;35(5):736-55.
35. World Health Organization. Central Asian and Eastern European surveillance of antimicrobial resistance. Annual report. 2014.p.26. Available from:
http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0006/285405/CAESAR-Surveillance-Antimicrobial-Resistance2014.pdf
36. Transatlantic Taskforce on Antimicrobial Resistance: Progress report, May 2014. http://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/TATFAR-Progress_report_2014.pdf
37. Llor C, Bjerrum L. Antimicrobial resistance: risk associated with antibiotic overuse and initiatives to reduce the problem. *Therapeutic Advances in Drug Safety*. 2014;5(6): 229-241. doi: 10.1177/2042098614554919
38. Lee HS, Loh YX, Lee JJ, Liu CS, Chu C. Antimicrobial consumption and resistance in five Gram-negative bacterial species in a hospital from 2003 to 2011. *J Microbiol Immunol Infect*. 2015; 48(6):647-654. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2014.04.009>
39. J. M. T. Hamilton-Miller. Use and abuse of antibiotics. *Br. J. clin. Pharmacol*. 1984 Oct; 18(4): 469-474.

40. Tamma P.D., Avdic E., Li D.X., Dzintars K. and Cosgrove S.E. Association of Adverse Events With Antibiotic Use in Hospitalized Patients. *JAMA Intern Med.* 2017 Jun 12. doi:10.1001/jamainternmed.2017.1938.
41. Canton R, Akova M, Carmeli Y, Giske CG, Glupczynski Y, Gniadkowski M, et al. Rapid evolution and spread of carbapenemases among Enterobacteriaceae in Europe. *Clin Microbiol Infect.* 2012;18(5):413–31.
42. Xia J, Gao J, Tang W. Nosocomial infection and its molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Biosci Trends.* 2016;10(1):14–21.
43. Meletis G. Carbapenem resistance: overview of the problem and future perspectives. *herapeutic Adv Infect Dis.* 2016;3:15–21.
44. Livermore DM. Bacterial resistance: origins, epidemiology, and impact. *Clin Infect Dis.* 2003 Jan 15;36(Suppl 1):S11-23.
45. World Health Organization. WHO guidelines on hand hygiene in health care: First global patient safety challenge: Clean care is safer care. p.12±24. 2009. ISBN 978 92 4 159790 6
46. Antibiotic prophylaxis in surgery 104. A national clinical guideline. Scottish Intercollegiate Guidelines Network. Available from: <http://www.sign.ac.uk/pdf/sign104.pdf>, Updated April 2014.
47. National Healthcare Safety Network, Centers for Disease Control and Prevention. Surgical site infection (SSI) Available from: event.<http://www.cdc.gov/nhsn/pdfs/pscmanual/9pscasicurrent.pdf>. Published January 2017.
48. D Looke and J Ferguson in 2005 and published in *Therapeutic Guidelines: Antibiotic (Antibiotic Expert Group 2006)*.
49. E.Auricht, J.Borgert, M.Butler, H.Cadwallader, P.Collignon and M.Eades; Introduction to Australian surveillance definitions: surgical site infection & bloodstream infections. *Australian Infection Control* 2000 September 5(3):25-31.
50. World Health Organisation. Tackling antibiotic resistance from a food safety perspective in Europe. World Health Organisation. 2011.
51. V. Marković-Peković, N. Grubiša, J. Burger, Lj. Bojanić and B. Godman. Initiatives to Reduce Nonprescription Sales and Dispensing of Antibiotics: Findings and Implications. *J Res Pharm Pract.* 2017 Apr-Jun; 6(2): 120–125. doi: 10.4103/jrpp.JRPP_17_12
52. M van Limburg, B Sinha, J R Lo-Ten-Foe and J EWC van Gemert-Pijnen. Evaluation of early implementations of antibiotic stewardship program initiatives in nine Dutch hospitals. *Antimicrobial Resistance and Infection Control* 2014;3:33.
53. C. Colligan, J. Sneddon, G. Bayne, W. Malcolm, G. Walker, D. Nathwani, and on behalf of the Scottish Antimicrobial Prescribing Group. Six years of a national antimicrobial

- stewardship programme in Scotland: where are we now? *Antimicrobial Resistance and Infection Control* 2015, 4:28.
54. R. Pena-Miller, D. Laehnemann, G. Jansen, A. Fuentes-Hernandez, P. Rosenstiel, H. Schulenburg and R. Beardmore. When the Most Potent Combination of Antibiotics Selects for the Greatest Bacterial Load: The Smile-Frown Transition. *PLOS Biology* 11(4) Available from: 2013<https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001540>
 55. Nacionalni vodič dobre kliničke prakse: sepsa, teška sepsa i septični šok. Klinički vodič 24/13. Ministarstvo zdravlja Republike Srbije, Beograd, 2013.
 56. Vodič za empirijsku i profilaktičku primenu antimikrobnih lekova u bolnici. Ur: Lj. Gojković-Bukarica, R. Šćepanović, V. Čelić i V. Živanović, SFD, Beograd 2015, ISBN 978-86-80244-00-6.
 57. Fattouh R, Tijet N, McGeer A, Poutanen S, Melano R, Patel S. what is the appropriate meropenem MIC for screening of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in lowprevalence settings? *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;60(3):1556–9.
 58. Woodhead M, Blasi F, Ewig S, Garau J, Huchon G, Ieven M et al.; Joint Taskforce of the European Respiratory Society and european Society for Clinical Microbiology and Infectious diseases: Guidelines for managment of adult lower respiratory tract infections. *Clin Microbiology Infect.* 2011;17(6):1-24.
 59. Rex JH, Pfaller MA. Has antifungal susceptibility testing come of age? *Clin Infect Dis.* 2002 Oct 15;35(8):982-9.
 60. van den Bosch CM, Geerlings SE, Natsch S, Prins JM and Hulscher ME. Quality indicators to measure appropriate antibiotic use in hospitalized adults. *Clin Infect Dis.* 2015 Jan 15;60(2):281-91. doi: 10.1093/cid/ciu747.
 61. S. I. Berríos-Torres, C. A. Umscheid, D. W. Bratzler et al. Centers for Disease Control and Prevention Guideline for the Prevention of Surgical Site Infection, 2017. *JAMA Surg.* 2017;152(8):784-791. doi:10.1001/jamasurg.2017.0904
 62. S. Dodd, I. R. White and P. Williamson. Nonadherence to treatment protocol in published randomised controlled trials: a review. *Trials* 2012, 13:84
 63. H. Kenefick, J. Lee and V. Fleishman. Improving Physician Adherence to Clinical Practice Guidelines: Barriers and Strategies for Change. New England Healthcare Institute, 2008.
 64. S. M. C. Ament, J. J A de Groot, J. M C Maessen, C. D Dirksen, T. van der Weijden and J. Kleijnen. Sustainability of professionals' adherence to clinical practice guidelines in medical care: a systematic review. *BMJ Open* 2015;5:e008073. doi: 10.1136/bmjopen-2015-008073
 65. Clinical guidelines and standardization of practice to improve outcomes. Committee Opinion No. 629. American College of Obstetricians and Gynecologists. *Obstet Gynecol* 2015;125:1027–9.

66. Improving Physician Adherence to Clinical Practice Guidelines: Barriers and Strategies for Change. New England Healthcare Institute. February 2008.
67. Versporten A, Bolokhovets G, Ghazaryan L, Abilova V, Pyshnik G, Spasojevic T, et al; WHO/Europe-ESAC Project Group. Antibiotic use in Eastern Europe: a cross-national database study in coordination with the WHO Regional Office for Europe. *Lancet Infect Dis.* 2014; 14(5): 381±387. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(14\)70071-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(14)70071-4)
68. I. Sekirov, S.L. Russell, L.C.M. Antunes, and B. Brett Finlay. Gut Microbiota in Health and Disease. *Physiol Rev* 90: 859–904, 2010; doi:10.1152/physrev.00045.2009.
69. C. Jernberg, S. Lofmark, C. Edlund and J.K. Jansson. Long-term impacts of antibiotic exposure on the human intestinal microbiota. *Microbiology* (2010), 156, 3216–3223 DOI 10.1099/mic.0.040618-0.
70. Becattini S., Taur Y and Pamer E.G. Antibiotic-Induced Changes in the Intestinal Microbiota and Disease. *Trends in Molecular Medicine*, June 2016, Vol. 22, No. 6 <http://dx.doi.org/10.1016/j.molmed.2016.04.003>
71. van der Waaij D, Berghuis-de Vries JM, Lekkerkerk Lekkerkerk-v. Colonization resistance of the digestive tract in conventional and antibiotic-treated mice. *J Hyg (Lond)*. 1971 Sep;69(3):405-11.
72. Y. Belkaid and T.W. Hand. Role of the Microbiota in Immunity and Inflammation. *Cell*. 2014 Mar 27;157(1):121-41. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2014.03.011>
73. Arora T and Bäckhed F. The gut microbiota and metabolic disease: current understanding and future perspectives. *J Intern Med*. 2016 Oct;280(4):339-49. doi: 10.1111/joim.12508. Epub 2016 Apr 12.
74. Galan JC, Gonzalez-Candelas F, Rolain JM, Canton R. Antibiotics as selectors and accelerators of diversity in the mechanisms of resistance: from the resistome to genetic plasticity in the beta-lactamases world. *Front Microbiol*. 2013;4:9.
75. Kataoka K. The intestinal microbiota and its role in human health and disease. *J Med Invest*. 2016;63(1-2):27-37. doi: 10.2152/jmi.63.27.
76. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI) document M02-A10. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility; Approved standard 10th. p.52-57. 2011.
77. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 5.0, 2015. Available from: <http://www.eucast.org>.
78. Whonet software v 5.6. [homepage on the Internet]. Available from: <http://www.whonet.org/>
79. Tygacil® (tigecycline) Prescribing information, Pfizer Inc. (2012)

80. Hekster YA, Vree TB, Goris RJ and Boerema JB. The defined daily dose per 100 bed-days as a unit of comparison and a parameter for studying antimicrobial drug use in a university hospital. A retrospective study of the effects of guidelines and audit on antimicrobial drug use. *J Clin Hosp Pharm.* 1982 Dec;7(4):251-60.
81. Versporten A., Zarb N., Caniaux P., Gros I, Miller M.F., Jarlier M. et al. (2015). The Global Point Prevalence Survey of Antimicrobial Consumption and Resistance (Global-PPS): A Worldwide Antimicrobial Web-Based Point Prevalence Survey. *Open Forum Infectious Diseases.* 2. . 10.1093/ofid/ofv133.25.
82. WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology, Guidelines for ATC classification and DDD assignment 2013. Oslo, 2012.
83. Grabe M, Bartoletti R, Johansen TEB, Cai T, Cek M, Koves B, et al. Guidelines on urological infections. European Association of Urology; Arnhem, the Netherlands. 2012. Raoult D. Guidelines for the management of adult lower respiratory tract infections. *Clin Microbiol Infect.* 2011; 17(6): 1±24.
84. Raoult D. Guidelines for the management of adult lower respiratory tract infections. *Clin Microbiol Infect.* 2011;17(6): 1–24.
85. Siegel JD, Rhinehart E, Jackson M, Chiarello L; Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. Guideline for isolation precautions: preventing transmission of infectious agents in healthcare settings. p.14±21. 2007.
86. Cusini A, Rampini SK, Bansal V, Ledergerber B, Kuster SP, Ruef C, et al. (2010) Different Patterns of Inappropriate Antimicrobial Use in Surgical and Medical Units at a Tertiary Care Hospital in Switzerland: A Prevalence Survey. *PLoS ONE* 5(11): e14011. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014011>
87. Trudić A. Fenotipsko i genotipsko dokazivanje karbapenemaza kod multirezistentnih sojeva *escherichia coli* i *klebsiella pneumoniae*. (doktorska disertacija). Novi Sad, Srbija: Medicinski fakultet Univerziteta u Novom Sadu; 2016.
88. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2014. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net).p.22. 2014.
89. Velickovic-Radovanovic R, Stefanovic N, Damnjanovic I, Kocic B, Antic S, Dinic M, et al. Monitoring of antibiotic consumption and development of resistance by enterobacteria in a tertiary care hospital. *J.Clin Pharm Ther.* 2015; 40(4): 426±430. <https://doi.org/10.1111/jcpt.12283>

90. Datta S, Wattal C, Goel N, Oberoi JK, Raveendran R, Prasad KJ. A ten year analysis of multi-drug resistant blood stream infections caused by *Escherichia coli* & *Klebsiella pneumoniae* in a tertiary care hospital. *Indian J Med Res.* 2012; 135(6): 907±912. PMID: 22825611
91. Goel N, Wattal C, Oberoi JK, Raveendran R, Datta S, Prasad KJ. Trend analysis of antimicrobial consumption and development of resistance in non-fermenters in a tertiary care hospital in Delhi, India. *J.Antimicrob Chemother.* 2011; 66(7): 1625±1630.
<https://doi.org/10.1093/jac/dkr167> PMID: 21586594
92. Karlowsky JA, Draghi DC, Jones ME, Thornsberry C, Friedland IR, Sahm DF. Surveillance for antimicrobial susceptibility among clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* from hospitalized patients in the United States, 1998 to 2001. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003;47(5): 1681±1688.
<https://doi.org/10.1128/AAC.47.5.1681-1688.2003> PMID: 12709340
93. Friedland I, Stinson L, Ikaidi M, Harm S, Woods GL. Phenotypic antimicrobial resistance patterns in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter*: results of a multicenter intensive care unit surveillance study, 1995-2000. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2003; 45(4): 245±250. PMID: 12729994
94. Falagas ME, Kopterides P. Risk factors for the isolation of multi-drug-resistant *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*: a systematic review of the literature. *J Hosp Infect.* 2006; 64(1): 7±15. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2006.04.015>
95. Antunes LCS, Visca P, Towner KJ. *Acinetobacter baumannii*: evolution of a global pathogen. *Pathogens and Disease.* 2014; 71(3): 292±301. Available from: <https://doi.org/10.1111/2049-632X.12125>
96. Van der Bij AK, Pitout JDD. The role of international travel in the worldwide spread of multiresistant *Enterobacteriaceae*. *J Antimicrob Chemother.* 2012;67(9):2090–100.
97. Berrazeg M, Diene SM, Medjahed L, Parola P, Drissi M, Raoult D, et al. New Delhi metallo-beta-lactamase around the world: an eReview using Google maps. *Euro Surveill.* 2014;19(20).pii:20809.
98. Halaby T, Reuland AE, Al Naiemi N, Potron A, Savelkoul PHM, Vandembroucke-Grauls CMJE, et al. A case of New Delhi metallo-beta-lactamase 1 (NDM-1)-producing *Klebsiella pneumoniae* with putative secondary transmission from the Balkan region in the Netherlands. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56(5):2790–1.
99. Yong D, Toleman MA, Giske CG, Cho HS, Sundman K, Lee K, et al. Characterization of a new metallo-beta-lactamase gene, blaNDM-1, and a novel erythromycin esterase gene carried

- on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53(12):5046–54.
100. Johnson AP, Woodford N. Global spread of antibiotic resistance: the example of New Delhi metallo-beta-lactamase (NDM)-mediated carbapenem resistance. *J Med Microbiol.* 2013;62(4):499–513.
101. Carrer A, Poirel L, Yilmaz M, Akan OA, Feriha C, Cuzon G, et al. Spread of OXA-48-encoding plasmid in Turkey and beyond. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54(3):1369–73.
102. Bakthavatchalam YD, Anandan S, Veeraraghavan B. Laboratory detection and clinical implication of oxacillinase-48 like carbapenemase: the hidden threat. *J Glob Infect Dis.* 2016; 8(1):41–50.
103. Borg MA, Cookson BD, Gur D, Ben RS, Rasslan O, Elnassar Z, et al. Infection control and antibiotic stewardship practices reported by south-eastern Mediterranean hospitals collaborating in the ARMed project. *J Hosp Infect.* 2008; 70(3): 228±234. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2008.07.002> PMID:18783850
104. Inan A, Daglõ O, Senbayrak Akcay S, Ozturk Engin D, Karagul E, Celik Ozyurek S. Antibiotic use and cost in a teaching hospital in Istanbul. *J Microbiol Infect Dis.* 2011; 1(3): 128±133.
105. Tunger O, Dinc G, Ozbakkaloglu B, Atman UC, Algun U. Evaluation of rational antibiotic use. *Int J Antimicrob Agents.* 2000; 15: 131±135. PMID: 10854809
106. Ozkurt Z, Erol S, Kandanali A, Ertek M, Ozden K, Tasyaran MA. Changes in antibiotic use, cost and consumption after antibiotic restriction policy applied by infectious disease specialists. *Jpn J Infect Dis.* 2005; 58: 338±343. PMID: 16377863

Biografija Vladimira Živanovića

Rođen u Beogradu 01.01.1967. Diplomirao na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu 1993. sa prosečnom ocenom 9.39 i ocenom 10 na diplomskom radu. Stručni ispit položio 1994. Specijalistički ispit – Opšta hirurgija, 1999.

2009. postavljen za šefa odseka Endoskopske hirurgije na Klinici za hirurgiju. 2011. godine postavljen za pomoćnika direktora za medicinske poslove. Zamenik je predsednika komisije za bolničke infekcije KBC "Dr D.Misovic-Dedinje"

Najveći deo rada su laparoskopske operacije gde je učestvovao u preko 11.000 operacija.

Stručno se usavršavao 2001. u Mt.Sinai (SAD) i Schouldice (Toronto), Institut za plućne bolesti Sremska Kamenica (2004.god). IASG asocijacija Athena Medical Centar (Grčka), Tempus projekat: *Palliative and pain Medicine* (2006.)

1993. poslediplomske studije na Medicinskom fakultetu u Beogradu a 1996. je odbranio tezu: «Uticaj Ciklosporina A na nelimfoidne ćelije timusa pacova». 2013. doktorske studije a 2015. godine odobrena izrada doktorske teze: „UTICAJ RAZLIKA U PROPISIVANJU ANTIMIKROBNIH LEKOVA NA UČESTALOST MULTIREZISTENTNIH PATOGENA NA HIRURŠKIM I INTERNISTIČKIM ODELJENJIMA“.

Objavio preko 20 radova u inostranim časopisima, učestvovao više od 160 puta na inostranim i domaćim kongresima sa prihvaćenim radovima. Objavio je ukupno sedam poglavlja u udžbenicima i praktikumima:

2011. je izabran za kliničkog asistenta za užu naučnu oblast hirurgija sa anesteziologijom (opšta hirurgija) a reizabran 2014.

Prilog 1.

Izjava o autorstvu

Potpisani-a Vladimir Živanović

broj upisa MF-09/13

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom

“UTICAJ RAZLIKA U PROPISIVANJU ANTIMIKROBNIH LEKOVA NA UČESTALOST
MULTIREZISTENTNIH PATOGENA NA HIRURŠKIM I INTERNISTIČKIM ODELJENJIMA”

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da predložena disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

Potpis doktoranda



U Beogradu, 01.septembar 2017.

Prilog 2.

**Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije
doktorskog rada**

Ime i prezime autora Vladimir Živanović

Broj upisa MF-09/13

Studijski program Medicinska farmakologija

Naslov rada “UTICAJ RAZLIKA U PROPISIVANJU ANTIMIKROBNIH LEKOVA NA UČESTALOST MULTIREZISTENTNIH PATOGENA NA HIRURŠKIM I INTERNISTIČKIM ODELJENJIMA”

Mentor Prof. dr Radisav Šćepanović i Prof. dr Ljiljana Gojković Bukarica

Potpisani Vladimir Živanović

izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la za objavljivanje na portalu **Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

Potpis doktoranda



U Beogradu, 01.septembar 2017.

Prilog 3.

Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

“UTICAJ RAZLIKA U PROPISIVANJU ANTIMIKROBNIH LEKOVA NA UČESTALOST MULTIREZISTENTNIH PATOGENA NA HIRURŠKIM I INTERNISTIČKIM ODELJENJIMA”koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim prilogima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo
2. Autorstvo - nekomercijalno
3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima
5. Autorstvo – bez prerade
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci, kratak opis licenci dat je na poleđini lista).

Potpis doktoranda



U Beogradu, 01.septembar 2017.