

Streszczenie w języku polskim

Wstęp

Zakażenia szpitalne HAIs (ang. Healthcare Associated Infections) są uważane za jeden z najpoważniejszych problemów współczesnej medycyny. Są one poważnym zagrożeniem dla zdrowia i życia pacjentów, powodują wydłużenie czasu hospitalizacji i znacząco podnoszą koszty leczenia. Oddziały Intensywnej Terapii w związku ze stosowaniem inwazyjnych technik diagnostycznych, leczniczych, hospitalizacją najciężej chorych obarczone są największym ryzykiem występowania zakażeń szpitalnych. Zgodnie z wynikami opublikowanego w 2020 roku międzynarodowego, jednodniowego, wielośrodkowego badania EPIC III (ang. European Prevalence of Infection in Intensive Care) zakażenia rozpoznano u 53,6% chorych leczonych w Oddziałach Intensywnej Terapii. Wśród pacjentów z zakażeniami, pochodzenie szpitalne rozpoznano u 34,5% chorych, podczas gdy DA-HAIs (ang. Device Associated-Healthcare Infection) nabyte w OIT u 21,6 % chorych.

Najczęstszą postacią kliniczną DA-HAIs w OIT jest zapalenie płuc związane z wentylacją mechaniczną (VAP - ang. Ventilator Associated Pneumonia), zwane także zapaleniem płuc związanym z intubacją (IAP - ang. Intubation Associated Pneumonia), podczas gdy rzadziej stwierdza się infekcje związane z cewnikowaniem pęcherza moczowego (UTI – ang. Urinary Tract Infection) i infekcje krwi związane z cewnikiem donaczyniowym (CLA-BSI – ang. Central Line Associated Bloodstream Infection).

Badania mikrobiologiczne stanowią podstawę rozpoznawania, leczenia i ograniczania tych infekcji. Rolą laboratorium mikrobiologicznego jest wykrywanie czynników etiologicznych, które wywołują infekcje, monitorowanie lekooporności patogenów, udział w dochodzeniu epidemiologicznym w ognisku zakażeń, badania przesiewowe pacjentów oraz personelu medycznego, opracowanie zasad doboru próbki oraz jej właściwego pobrania oraz transportu aby wyeliminować błędy przedlaboratoryjne i zapewnić wiarygodność uzyskanych wyników. Mapowanie całościowe szpitala i poszczególnych oddziałów szpitalnych oparte jest na analizach wyników badań mikrobiologicznych i stanowi podstawę kształtowania szpitalnej polityki antybiotykowej oraz wdrażania skutecznych programów kontroli zakażeń szpitalnych i rozprzestrzeniania się drobnoustrojów.

Zgodnie z wynikami badania EPIC III najczęstszymi patogenami zakażeń w OIT są bakterie Gram-ujemne (67,3%), podczas gdy bakterie Gram-dodatnie i grzyby stanowią odpowiednio 37% i 16,4%. Wyniki rejestru zakażeń szpitalnych z Oddziałów Intensywnej Terapii wg ECDC z 2016 roku (z udziałem Polski) wskazują, że najczęstszymi patogenami zapalenia płuc w Polsce były szczepy: *A. baumannii* 35,7%, *Klebsiella spp.* 30,2% oraz *P. aeruginosa* 15,9%. Patogenami UTI

były *Enterococcus spp.* 26,3%, *Klebsiella spp.* 26,3% i *A. baumannii* 15,8% a patogenami infekcji krwi w Polsce były: *P. aeruginosa* 27,8%, *Acinetobacter spp.* 22,2% oraz gronkowce koagulazoujemne CNS 22,2%.

Coraz częściej zakażenia szpitalne wywołują drobnoustroje wielolekooporne, które stwarzają ogromne problemy terapeutyczne. Należą do nich szczepy określane jako MDR (ang. *multi-drug resistant*), XDR (ang. *extensively-drug resistant*) lub PDR (ang. *pan-drug resistant*). Problemem „narastającej oporności” zajmuje się wiele organizacji i instytucji międzynarodowych, między innymi WHO, Komisja Europejska, Europejskie Towarzystwo Mikrobiologiczne (ESCMID), ECDC, EARS-Net a w Polsce Narodowy Program Ochrony Antybiotyków (NPOA).

Występowanie wielolekoopornych szczepów bakteryjnych w OIT jest najczęściej przyczyną stosowania a czasem nadużywania antybiotyków o szerokim spektrum aktywności zarówno w leczeniu empirycznym jak i celowanym.

W latach 2009-2018 wg danych zawartych w raporcie ECDC średnie całkowite (łącznie w sektorze społecznym i szpitalnym) zużycie środków przeciwbakteryjnych ogólnoustrojowych po raz pierwszy wykazało statystycznie istotną tendencję spadkową w całej Unii Europejskiej, jednak rozpatrując tylko sektor szpitalny (bez podziału na rodzaj oddziału szpitalnego) zaobserwowano wzrost zużycia cefalosporyn, beta-laktamów (w tym karbapenemów) oraz innych antybiotyków.

Wykazano również związek między konsumpcją karbapenemów a odsetkiem oporności drobnoustrojów na tę grupę antybiotyków.

Strategia ukierunkowana na ograniczenie występowania i rozprzestrzeniania się wysoko opornych bakterii w szpitalach jest niezwykle ważna. W zaleceniu Rady Unii Europejskiej w sprawie rozważnego stosowania środków przeciwdrobnoustrojowych w leczeniu ludzi podkreślono, że kontrola oporności na antybiotyki możliwa jest tylko przez łączne zastosowanie środków zapobiegania rozwojowi zakażeń oraz ich kontroli, jak również rozważne stosowanie antybiotyków.

Cel pracy

Celem dysertacji było retrospektywne przeprowadzenie analizy mikrobiologicznej DA-HAIs nabytych w Oddziale Intensywnej Terapii Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego we Wrocławiu oraz próba odpowiedzi, między innymi, na poniższe pytania:

- .Jakie patogeny są dominujące w poszczególnych postaciach klinicznych zakażeń szpitalnych ?
- . Czy w OIT istnieje wysoka częstość występowania patogenów „alarmowych” ?
- .Jaki jest trend w częstości występowania zakażeń *Acinetobacter baumannii* MDR, *Klebsiella pneumoniae* ESBL(+), *Pseudomonas aeruginosa* MDR, MRSA, *Enterococcus spp.* VRE ?
- .Czy w patogenezie zakażeń szpitalnych w ujęciu całościowym dominują szczepy bakterii Gram-ujemnych, Gram- dodatnich czy szczepy grzybów drożdżopodobnych ?

.Jaka jest wrażliwość poszczególnych patogenów na karbapenemy, penicyliny, wankomycynę, cefalosporyny ?

.Jakie są możliwości terapeutyczne w kontekście wrażliwości szczepów patogennych?

.Jak zmieniało się zużycie antybiotyków w OIT na podstawie analizy dawek dobowych ?

Material i metody

Badaniem objęto 3708 pacjentów hospitalizowanych w Oddziale Intensywnej Terapii (OIT) Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego we Wrocławiu w okresie od 01.01.2011 do 31.12.2018. Analizie mikrobiologicznej poddano 846 szczepów bakteryjnych i grzybiczych. Baza danych została utworzona z wyników badań mikrobiologicznych Laboratorium Mikrobiologicznego USK oraz dokumentacji elektronicznej szpitala. W badaniu zastosowano także dane o zakażeniach szpitalnych oraz pacjentodniach gromadzonych podczas rejestracji zakażeń szpitalnych HAIs w postaci comiesięcznych raportów oddziałowych.

Diagnostyka mikrobiologiczna zakażeń przeprowadzana była w certyfikowanym laboratorium mikrobiologicznym z uwzględnieniem zaleceń metodologii diagnostyki i interpretacji EUCAST (ang. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing). Definicje zakażeń związanych z opieką zdrowotną stosowane w niniejszej dysertacji zostały opracowane przez zespół ekspertów powołanych przez Europejskie Centrum Zapobiegania i Kontroli Chorób ECDC (ang. European Centre for Disease Prevention and Control).

Pierwsza publikacja (praca oryginalna) jest ośmioletnią analizą etiologii zakażeń szpitalnych oraz lekooporności drobnoustrojów na wybrane antybiotyki i ich zużycie w OIT Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego we Wrocławiu. Analizą objęto 3708 chorych (1464 kobiet i 2244 mężczyzn; średnia wieku $60,8 \pm 18$ lat) hospitalizowanych w OIT Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego we Wrocławiu, u których rozpoznano 742 zakażenia szpitalne (DA-HAIs) w okresie od 01.01.2011 do 31.12.2018. Analizie poddano występowanie drobnoustrojów izolowanych w poszczególnych postaciach klinicznych zakażeń szpitalnych (VAP, UTI, CLA-BSI) oraz ich lekooporność, w tym występowanie „alert patogenów”, szczepów bakterii Gram-ujemnych MDR. W pracy przedstawiono także ocenę zużycia wybranych antybiotyków (ciprofloksacyny, amikacyny i karbapenemów).

Druga publikacja (praca oryginalna) jest analizą zakażeń szpitalnych (DA-HAIs) w pod względem częstości występowania infekcji szczepem *A. baumannii* oraz zmieniającej się wrażliwości tego drobnoustroju w czasie 6 letniej obserwacji w Oddziale Intensywnej Terapii Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego we Wrocławiu. Analizie poddano 2549 chorych leczonych w 20 łóżkowym Oddziale Intensywnej Terapii Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego we Wrocławiu w okresie od 01.01.2011 do 31.12.2016 roku. W badaniu oceniano trend występowania zakażeń szczepem

A. baumannii wśród ogólnej liczby patogenów, wśród patogenów Gram-ujemnych oraz wśród poszczególnych postaci klinicznych zakażeń szpitalnych (VAP, UTI, CLA-BSI). Oznaczono częstość zakażeń *A. baumannii* w stosunku do ogólnej liczby zakażeń w poszczególnych latach oraz w stosunku do 1000 pacjentodni. W pracy oceniono ponadto odsetek wrażliwości szczepów *A. baumannii* na kolistynę, amikacynę, gentamycynę, imipenem, meropenem, ciprofloksacynę, trimetoprim/sufametoksazol.

Trzecia praca (poglądowa) dotyczy charakterystyki szczepów *P. aeruginosa*, mechanizmów oporności, wybranych opcji terapeutycznych (również do leczenia zakażeń wielolekoopornymi szczepami *P.aeruginosa*), a także proponowanego dawkowania leków u pacjentów septycznych z uwzględnieniem aktualnych zaleceń oraz zasad farmakokinetyki i farmakodynamiki.

Wyniki

W pierwszej pracy w ocenianym okresie u pacjentów z DA-HAIs, które stwierdzono u 742/3708 (20%) chorych leczonych w OIT wyhodowano 846 drobnoustrojów. Wśród wszystkich analizowanych patogenów DA-HAIs dominowały drobnoustroje Gram-ujemne, które stanowiły 71,6%, podczas gdy bakterie Gram-dodatnie i grzyby stanowiły odpowiednio 21,6% i 7%. Wśród wszystkich wyizolowanych patogenów *A.baumannii* MDR stanowił 263/846 (31,8%), *K. pneumoniae* ESBL(+) 96/846 (11,3%), *P. aeruginosa* MDR 35/846 (4,1%), MRSA 19/846 (2,2%), *Enterococcus faecium* HLAR VRE 11/846 (1,3%). Największą liczbę patogenów izolowano od pacjentów z VAP 458 (54,1%), w następnej kolejności z UTI 274 (32,4%) oraz CLA-BSI 114 (13,5%).

Wśród czynników etiologicznych VAP dominującą rolę odgrywał *A. baumannii* MDR (41,9%) i *K. pneumoniae* ESBL(+) (11,6%). W UTI izolowano najczęściej *A. baumannii* MDR (21,9%) oraz *Candida spp.*(13,1%). W zakażeniach CLA-BSI najczęściej identyfikowano MRCNS (29,8%) i *K. pneumoniae* ESBL(+) (13,2%).

W przeprowadzonej analizie mikrobiologicznej wśród 846 szczepów odpowiedzialnych za DA-HAIs stwierdzono 463 „alert patogeny” (54,7%), w tym *A. baumannii* MDR 263/463 (56,8%), *P. aeruginosa* MDR 35/463 (7,6 %), MRSA 19/463 (4,1%) i *Enterococcus spp.* VRE 17/463 (3,7%).

W badaniu stwierdzono znamiennej wzrost odsetka patogenów alarmowych z 34,6% w 2011 roku do 61% w 2018 roku ($p=0.0008$). W latach 2011 vs 2018 zaobserwowano znamiennej statystycznie wzrost częstości zakażeń *A. baumannii* MDR 21/127 (16,54 %) vs 47/136 (34,56 %); $p= 0,0009$ i nieznamiennej *Enterobacterales* ESBL+ /AMPC 15/44 (11,8 %) vs 21/83 (15,44 %); $p=0,3921$. Zakażenia MRSA w przedstawionej analizie stwierdzano najczęściej u pacjentów z VAP (6,3%/3,9%), podczas gdy *Enterococcus spp.* VRE hodowano częściej u chorych z UTI (5,8%).

W analizowanym okresie oporność na karbapenemy wynosiła dla szczepów *A. baumannii* (94,3%), *P. aeruginosa*. (74,9%). Nie stwierdzono oporności na karbapenemy wśród szczepów *K. pneumoniae* ESBL(+), dlatego karbapenemy stanowią podstawową opcję terapeutyczną w tego typu zakażeniach. W analizowanym okresie obserwowano wzrost oporności szczepu *A. baumannii* na wszystkie analizowane grupy antybiotyków (10-krotny wzrost oporności na meropenem, więcej niż 2-krotny wzrost oporności na ciprofloksacynę i więcej niż 3-krotny wzrost oporności na amikacynę, podczas gdy wśród szczepów *K. pneumoniae* zanotowano niewielki spadek oporności na amikacynę. Szczepy MDR stanowiły wśród *A. baumannii* i *P. aeruginosa* odpowiednio 72,6% i 9,7%. Oporność na metycylinę stwierdzono u 35,2% szczepów *S. aureus*. Oporność na wankomycynę stwierdzono wśród 30,9% szczepów *Enterococcus spp.*.

W obserwowanym okresie stwierdzono znaczący wzrost zużycia karbapenemów: 197,7 vs. 235,9 DDD/1000 pacjentodni ($p=0,039$), 4-krotny spadek zużycia ciprofloksacyny 119,03 vs 27,71 DDD/1000 ($p<0,0001$) i niewielki spadek zużycia amikacyny 33,5 vs. 30,7 /1000.

W pracy drugiej wśród 589 wyizolowanych szczepów odpowiedzialnych za 540 DA-HAIs (21,2%) u 2549 pacjentów OIT, zakażenia o etiologii *A. baumannii* stwierdzono u 183 (31%) chorych. Częstość występowania zakażeń o etiologii *A. baumannii* wynosiła 6,4/1000 pacjentodni. Zanotowano wzrost ogólnej liczby zakażeń szpitalnych wywołanych szczepem *A. baumannii* z 16,5% w 2011 do 41% w 2016 roku ($p=0.0003$). Zakażenia szczepem *A. baumannii* dotyczyły najczęściej VAP (53,3%), w mniejszym stopniu UTI (32,2%) oraz CLA-BSI 85(14,4%). *A. baumannii* wykazywał 10,7%, 12,3%, 11,5%, 2,4% wrażliwości odpowiednio na amikacynę, imipenem, meropenem, ciprofloksacynę i był wielolekooporny w 98,36%. W analizowanym materiale nie stwierdzono oporności szczepu *A. baumannii* na kolistynę, dlatego kolistyna stanowi podstawową opcję terapeutyczną w leczeniu zakażeń o etiologii *A. baumannii* MDR/XDR.

W trzeciej pracy przedstawiono między innymi nowe leki mające zastosowanie w zwalczaniu zakażeń *P. aeruginosa*. Do nowych leków, mających zastosowanie w leczeniu trudnych zakażeń wywołanych szczepami bakterii Gram-ujemnych, w tym *P. aeruginosa*, zalicza się m.in.: ceftolozan/tazobaktam, ceftazydym/awibaktam, meropenem/waborbaktam. Ceftolozan/tazobaktam to preparat skojarzony cefalosporyny VI generacji z inhibitorem β -laktamaz, wskazania rejestracyjne w/w leku to: powikłane zakażenia w obrębie jamy brzusznej, ostre odmiedniczkowe zapalenie nerek i powikłane zakażenia układu moczowego. Obiecującym antybiotykiem do leczenia ciężkich zakażeń, aktywnym wobec Gram-ujemnych *Enterobacterales* oraz *P. aeruginosa* opornych na ceftazydym, jest połączenie ceftazydym/awibaktam. Awibaktam to pierwszy nie- β -laktamowy inhibitor laktamaz. Rekomendacje WSES (ang. World Society of Emergency Surgery) z 2017 roku zalecają zastosowanie ceftazydymu z awibaktamem lub ceftolozanu z tazobaktamem w terapii skojarzonej z metronidazolem i wankomycyną lub linezolidem u pacjentów w ciężkim stanie

klinicznym z zakażeniem wewnątrzbrzusznym pochodzenia szpitalnego. Meropenem/waborbaktam posiada wskazania rejestracyjne do leczenia m. in. zakażeń UTI oraz VAP i zakażeń szczepami MDR, natomiast imipenem/relabaktam (nieдоступny w Polsce) do leczenia zakażeń wewnątrzbrzusznych IAI (ang. Intra Abdominal Infection) oraz UTI.

Wnioski

- .W badanym materiale wykazano że najczęstszą grupą mikroorganizmów odpowiadających za zakażenia szpitalne nabyte w Oddziale Intensywnej Terapii (stwierdzone u 1/5 pacjentów OIT) były pałeczki Gram-ujemne (71,4%), wśród których dominowały szczepy *A. baumannii* MDR, *K. pneumoniae* ESBL(+), *P. aeruginosa* oraz *P. aeruginosa* MDR.
- .Stwierdzono duże zróżnicowanie wśród czynników mikrobiologicznych DA-HAIs. Najczęstszymi patogenami VAP były szczepy *A. baumannii* MDR i *K. pneumoniae* ESBL(+). W przypadku UTI najbardziej popularne były szczepy *A. baumannii* MDR i *Candida spp.*, podczas gdy za CLA-BSI odpowiadały najczęściej MRSCN i *K. pneumoniae* ESBL(+).
- .W analizowanym materiale stwierdzono prawie dwukrotny wzrost zakażeń „alert patogenami” w obserwowanym okresie. W roku 2011 odsetek tych szczepów wyniósł 34,6% a w 2018 roku 61,0%.
- .Analiza wrażliwości patogenów wykazała 10 krotny wzrost oporności szczepu *A. baumannii* na karbapenemy (meropenem) w obserwowanym okresie, 100% wrażliwość na kolistynę i utrzymującą się 100% wrażliwość szczepów *K. pneumoniae* ESBL(+) wobec karbapenemów.
- .Nowe antybiotyki takie jak ceftazydym/awibaktam, ceftolozan/ tazobaktam – stosowane w monoterapii lub leczeniu skojarzonym stanowią potencjalną opcję terapeutyczną w leczeniu zakażeń *P. aeruginosa* MDR w wybranych przypadkach.
- .Dowiedziano wzrost zużycia antybiotyków z grupy karbapenemów oraz niewielki spadek zużycia aminoglikozydów i czterokrotny fluorochinolonów, co wynika z dużego i narastającego odsetka szczepów bakterii Gram-ujemnych z mechanizmem oporności ESBL(+) i MDR, narastającej oporności wobec fluorochinolonów w obserwowanym okresie i konieczności stosowania karbapenemów w leczeniu empirycznym.
- .Wzmocnienie diagnostyki mikrobiologicznej oraz monitorowanie zużycia antybiotyków ułatwia prowadzenie prawidłowej polityki antybiotykowej oraz opracowanie procedur chroniących przed szerzeniem się przekazywanych przez drobnoustroje mechanizmów oporności i wpływających na redukcję zakażeń wywołanych przez patogeny alarmowe.

Streszczenie w języku angielskim

Introduction

Healthcare Associated Infections are considered to be one of the most serious problems in modern medicine. They are a serious threat to the health and lives of patients, prolong hospitalization time and significantly increase treatment costs. Intensive Care Units, due to the use of invasive diagnostic and treatment techniques, and hospitalization of the most seriously ill patients, carry the highest risk of nosocomial infections. According to the results of the European Prevalence of Infection in Intensive Care (EPIC III), an international one-day multi-center study published in 2020, infections were diagnosed in 53,6% of patients treated in intensive care units. Among patients with infections, hospital origin was diagnosed in 34,5% of patients, while DA-HAIs (Device Associated-Healthcare Infection) acquired in ICU by 21,6% of patients.

The most common clinical form of DA-HAIs in ICUs is Ventilator Associated Pneumonia, also known as Intubation Associated Pneumonia (IAP), while infections associated with urinary tract catheterization (Urinary Tract Infection - UTI) are less common, as well as Central Line Associated Bloodstream Infection (CLA-BSI).

Microbiological testing is the basis for recognizing, treating, and reducing these infections. The role of the microbiological laboratory is to detect the etiological factors that cause infections, monitor drug resistance of pathogens, participate in epidemiological investigations in the outbreak of infections, screen patients and medical staff, develop the principles of sample selection as well as its proper collection and transport to eliminate pre-laboratory errors and ensure the reliability of the obtained results. The overall mapping of the hospital and individual hospital wards is based on the analysis of the results of microbiological tests, and forms the basis for shaping the hospital's antibiotic policy and implementing effective programs to control hospital infections and the spread of microorganisms.

According to the results of the EPIC III study, the most common pathogens of infections in the ICU are Gram-negative bacteria (67,3%), while Gram-positive bacteria and fungi account for 37% and 16,4% respectively. The results of the registry of nosocomial infections from Intensive Care Units according to ECDC in 2016 (with the participation of Poland) indicate that the following strains were the most common pathogens of pneumonia in Poland: *A. baumannii* 35,7%, *Klebsiella spp.* 30,2% and *P. aeruginosa* 15,9%. The UTI pathogens were *Enterococcus spp.* 26,3%, *Klebsiella spp.* 26,3% and *A. baumannii* 15,8%, and the pathogens of blood infection in Poland were: *P. aeruginosa* 27,8%, *Acinetobacter spp.* 22,2% and coagulase negative staphylococci CNS 22,2%.

Increasingly, nosocomial infections are caused by multidrug-resistant microorganisms that pose huge therapeutic problems, such as strains referred to as MDR (*multi-drug resistant*), XDR

(*extensively-drug resistant*) or PDR (*pan-drug resistant*). The problem of "growing resistance" is dealt with by many international organizations and institutions, including WHO, the European Commission, the European Microbiological Society (ESCMID), ECDC, EARS-Net and in Poland the National Antibiotic Protection Program (NPOA).

The occurrence of multi-drug-resistant bacterial strains in ICU is the most common reason for the use and sometimes misuse of antibiotics with a broad spectrum of activity, both in empirical and targeted therapy.

In 2009-2018, according to the data contained in the ECDC report, the average total (including both the social and hospital sectors) the consumption of systemic antimicrobials for the first time showed a statistically significant downward trend across the European Union, however, considering only the hospital sector (without a breakdown by type) an increase in the consumption of cephalosporins, beta-lactams (including carbapenems) and other antibiotics was observed.

A correlation has also been demonstrated between the consumption of carbapenems and the percentage of microbial resistance to this group of antibiotics.

A strategy to reduce the occurrence and spread of highly resistant bacteria in hospitals is extremely important. The recommendation of the Council of the European Union on the prudent use of antimicrobials in human medicine emphasizes that antibiotic resistance can only be controlled by the combined use of infection prevention and control measures, and by prudent use of antibiotics.

The aim of the study

The aim of the dissertation was retrospective conduct of microbiological analysis of DA-HAIs which caused infections in the Intensive Care Unit of the University Teaching Hospital in Wrocław and to try to answer the following questions:

1. Which pathogens are dominant in particular forms of clinical nosocomial infections?
2. Is there a high incidence of alert pathogens in ICU?
3. What is the trend in the incidence of infections caused by *Acinetobacter baumannii* MDR, *Klebsiella pneumoniae* ESBL (+), *Pseudomonas aeruginosa* MDR, MRSA, *Enterococcus spp.* VRE?
4. Are strains of Gram-negative and Gram-positive bacteria or strains of yeast-like fungi dominant in the pathogenesis of nosocomial infections as a whole?
5. What is the sensitivity of individual pathogens to carbapenems, penicillins, vancomycin, cephalosporins?
6. What are the therapeutic options in terms of susceptibility of pathogenic strains?
7. How has the use of antibiotics in ICU changed based on the analysis of daily doses?

Material and methods

The study included 3708 patients hospitalized at the Intensive Care Unit (ICU) of the University Teaching Hospital in Wrocław from 01/01/2011 to 31/12/2018. 846 bacterial and fungal strains were subjected to microbiological analysis. The database was created from the results of microbiological tests of the USK Microbiological Laboratory and the hospital's electronic documentation. The study also used data on nosocomial infections and patient days collected during the registration of nosocomial HAIs in the form of monthly wards' reports.

The microbiological diagnosis of infections was carried out in a certified microbiological laboratory, taking into account the recommendations of the EUCAST (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) diagnostic methodology and interpretation. The definitions of healthcare-associated infections used in this dissertation have been developed by a panel of experts appointed by the European Center for Disease Prevention and Control (ECDC).

The first publication (original work) is eight-year analysis of the etiology of nosocomial infections and drug resistance of microbes to selected antibiotics and their use in the ICU of the University Teaching Hospital in Wrocław. The analysis included 3708 patients (1464 women and 2244 men; at average age of $60,8 \pm 18$ years) hospitalized in the ICU of the University Teaching Hospital in Wrocław, diagnosed with 742 nosocomial infections (DA-HAIs) in the period from 01/01/2011 to 31/12/2018. The analysis covered the presence of microorganisms isolated in particular forms of clinical nosocomial infections (VAP, UTI, CLA-BSI) and their drug resistance, including the presence of "pathogen alert" and strains of Gram-negative MDR bacteria. The paper also presents an assessment of the consumption of selected antibiotics (ciprofloxacin, amikacin and carbapenems).

The second publication (original work) is an analysis of nosocomial infections (DA-HAIs) in terms of the incidence of *A. baumannii* infection and the changing sensitivity of this microorganism during a 6 – year observation at the Intensive Care Unit of the University Teaching Hospital in Wrocław. 2549 patients treated in the 20-bed Intensive Care Unit of the University Teaching Hospital in Wrocław in the period from 01/01/2011 to 31/12/2016 were analyzed. The study assessed the trend of *A. baumannii* infection among the total number of pathogens, among Gram-negative pathogens and among individual clinical forms of nosocomial infections (VAP, UTI, CLA-BSI). The frequency of *A. baumannii* infections was determined in relation to the total number of infections in particular years and in relation to 1000 patient-days. The study also assessed the percentage of *A. baumannii* strains' sensitivity to colistin, amikacin, gentamicin, imipenem, meropenem, ciprofloxacin, trimethoprim / sulfamethoxazole.

The third work (review) concerns the characteristics of *P. aeruginosa* strains, resistance mechanisms, selected therapeutic options (also for the treatment of infections with multidrug-

resistant *P. aeruginosa* strains), as well as the proposed dosing of drugs to septic patients, taking into account the current recommendations and the principles of pharmacokinetics and pharmacodynamics.

Results

In the first study in the analyzed period, 846 microorganisms were cultured in patients with DA-HAIs found in 742 of total 3708 (20%) patients treated in the ICU. Among all analyzed DA-HAIs pathogens, Gram-negative microorganisms dominated, constituting 71,6%, while Gram-positive bacteria and fungi constituted 21,6% and 7%, respectively. Among all isolated pathogens *A. baumannii*, MDR was 263/846 (31,8%), *K. pneumoniae* ESBL (+) 96/846 (11,3%), *P. aeruginosa* MDR 35/846 (4,1%), MRSA 19/846 (2,2%), *Enterococcus faecium* HLAR VRE 11/846 (1,3%). The greatest number of pathogens was isolated from patients with VAP 458 (54,1%), followed by UTI 274 (32,4%) and CLA-BSI 114 (13,5%).

Among the etiological factors of VAP, *A. baumannii* MDR (41,9%) and *K. pneumoniae* ESBL (+) (11,6%) played a dominant role. The most common isolates in UTI were *A. baumannii* MDR (21,9%) and *Candida spp.* (13,1%). In CLA-BSI infections, MRCNS (29,8%) and *K. pneumoniae* ESBL (+) (13,2%) were most frequently identified.

In the microbiological analysis, among 846 strains responsible for DA-HAIs, 463 "pathogens alert" (54,7%) were found, including *A. baumannii* MDR 263/463 (56,8%), *P. aeruginosa* MDR 35/463 (7,6%), MRSA 19/463 (4,1%) and *Enterococcus spp.* VRE 17/463 (3,7%).

The study found a significant increase in the percentage of alert pathogens from 34,6% in 2011 to 61% in 2018 ($p = 0.0008$). In 2011 vs 2018, a statistically significant increase in the frequency of *A. baumannii* MDR infections was observed 21/127 (16,54%) vs 47/136 (34,56%); $p = 0.0009$ and non-significant *Enterobacterales* ESBL + / AMPC 15/44 (11,8%) vs 21/83 (15,44%); $p = 0.3921$. In the presented analysis, MRSA infections were most often found in patients with VAP (6,3% / 3,9%), while *Enterococcus spp.* VRE was cultured more often in patients with UTI (5,8%).

In the analyzed period, resistance to carbapenems was in *A. baumannii* (94,3%), *P. aeruginosa* strains. (74,9%). No resistance to carbapenems was found among the *K. pneumoniae* ESBL (+) strains, therefore carbapenems are the primary therapeutic option in this type of infection. In the analyzed period, an increase in the resistance of *A. baumannii* strain to all analyzed groups of antibiotics was observed (10-fold increase in resistance to meropenem, more than 2-fold increase in resistance to ciprofloxacin and more than 3-fold increase in resistance to amikacin, while among the strains of *K. pneumoniae* there was a small decrease in amikacin resistance MDR strains accounted for 72,6% and 9,7% of *A. baumannii* and *P. aeruginosa*, respectively. Methicillin resistance was

found in 35,2% of *S. aureus* strains. Resistance to vancomycin was found in 30,9% strains of *Enterococcus spp.*

In the observed period, a significant increase in the use of carbapenems was found: 197.7 vs. 235.9 DDD / 1000 patient-days ($p = 0.039$), a 4-fold decrease in ciprofloxacin use 119.03 vs 27.71 DDD / 1000 ($p < 0.0001$) and a slight decrease in amikacin use 33.5 vs. 30.7 / 1000.

In the second study, among 589 isolated strains responsible for 540 DA-HAIs (21,2%) in 2549 ICU patients, infections of *A. baumannii* etiology were found in 183 (31%) patients. The incidence of *A. baumannii* infections was 6.4 / 1000 patient-days. There was an increase in the total number of nosocomial infections caused by *A. baumannii* strain from 16,5% in 2011 to 41% in 2016 ($p = 0.0003$). The infections with *A. baumannii* strain were most often related to VAP (53,3%), to a less extent UTI (32,2%) and CLA-BSI 85 (14,4%). *A. baumannii* was 10,7%, 12,3%, 11,5%, 2,4% sensitive to amikacin, imipenem, meropenem, and ciprofloxacin, respectively, and was 98,36% multi-drug resistant. No resistance of the *A. baumannii* strain to colistin was found in the analyzed material, therefore colistin is the main therapeutic option in the treatment of infections of *A. baumannii* MDR / XDR.

The third paper presents, inter alia, new drugs for the treatment of *P. aeruginosa* infections. New drugs for the treatment of difficult infections caused by strains of Gram-negative bacteria, including *P. aeruginosa*, include: ceftolozane / tazobactam, ceftazidime / avibactam, meropenem / vaborbactam. Ceftolozan / tazobactam is a combination preparation of the 6th generation cephalosporin with a β -lactamase inhibitor, the registration's indications for the above-mentioned drug are: complicated intra-abdominal infections, acute pyelonephritis and complicated urinary tract infections. A promising antibiotic for the treatment of severe infections, active against Gram-negative *Enterobacteriales* and ceftazidime-resistant *P. aeruginosa* is the combination of ceftazidime / avibactam. Avibactam is the first non- β -lactam lactamase inhibitor. The World Society of Emergency Surgery (WSES) recommendations from 2017 recommend the use of ceftazidime with avibactam or ceftolozane with tazobactam in a combination therapy with metronidazole and vancomycin or linezolid in clinically serious patients with nosocomial intraabdominal infection. Meropenem / vaborbactam has the registration's indications for the treatment of, among others, UTI and VAP infections and infections with MDR strains, while imipenem / relabactam (not available in Poland) for the treatment of IAI (Intra Abdominal Infection) and UTI infections.

Conclusions

1. The study showed that the most common group of microorganisms responsible for nosocomial infections acquired in the Intensive Care Unit, found at 1/5 of the ICU patients, were Gram-negative

bacilli (71,4%), among which *A. baumannii* MDR, *K. pneumoniae* ESBL (+), *P. aeruginosa* and *P. aeruginosa* MDR.

2. A large variation was found among the DA-HAIs microbiological factors. The most common VAP pathogens were *A. baumannii* MDR and *K. pneumoniae* ESBL (+) strains. In the case of UTI, the most popular strains were *A. baumannii* MDR and *Candida spp.*, While MRSCN and *K. pneumoniae* ESBL (+) were most often responsible for CLA-BSI.

3. In the analyzed material, an almost two-fold increase in infections with "pathogen alert" in the observed period was found. In 2011, the percentage of these strains was 34,6% and in 2018 61,0%.

4. Analysis of pathogen susceptibility showed a 10-fold increase in resistance of *A. baumannii* to carbapenems (meropenem) in the observed period, 100% susceptibility to colistin and a persistent in 100% susceptibility of *K. pneumoniae* ESBL (+) strains to carbapenems.

5. New antibiotics such as ceftazidime / avibactam, ceftolozane / tazobactam - used in monotherapy or in combination therapy may constitute a potential therapeutic option in the treatment of *P. aeruginosa* MDR infections in selected cases.

6. The increase in the use of carbapenem antibiotics and a slight decrease in the consumption of aminoglycosides and a fourfold decrease in the use of fluoroquinolones was demonstrated, which results from the high and increasing percentage of Gram-negative bacteria strains with ESBL (+) and MDR resistance mechanisms, increasing resistance to fluoroquinolones in the observed period and the need to use carbapenems in the empirical treatment.

7. Strengthening microbiological diagnostics and monitoring the use of antibiotics facilitates the implementation of a proper antibiotic policy, and the development of procedures preventing the spread of resistance mechanisms transmitted by microorganisms and contributing to the reduction of infections caused by alert pathogens.