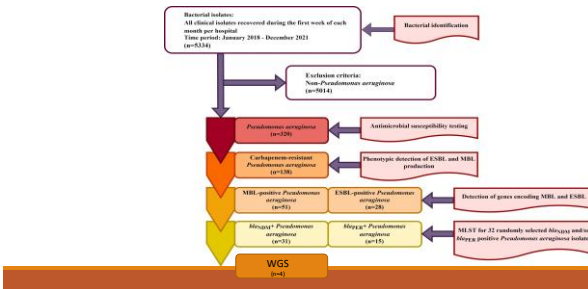


Ciljevi studije



- Proceniti učestalost rezistencije kliničkih sojeva *P. aeruginosa* izolovanih u Srbiji u period od 2018. do 2021. godine
- Odrediti zastupljenost izolata *P. aeruginosa* koji proizvode beta laktamaze proširenog spektra dejstva (ESBL) i metalo beta laktamaze (MBL)
- Ispitati klonsku povezanost sojeva koji su nosioci gena koji kodiraju beta laktamaze

Materijal i metode - bakterijska kolekcija izolata



Materijal i metode

Test osjetljivosti na antibiotike

disk difuzijski test - imipenem (10 µg), meropenem (10 µg), ciprofloksacin (5 µg), levofloksacin (5 µg), cefotaksim (10 µg), cefepim (30 µg), amikacin (30 µg), piperacilin/tazobaktam (30/60 µg), aztreonam (30 µg), klaricilin (75 µg) (BioRad, UK)
gradient test - imipenem, meropenem: Gradient strip test (Lofthekem, Italy)
brzoj mlazni difuzijski test - ComASP Colistin (Lofthekem, Italy)
P. aeruginosa ATCC 27922 – kontrolni soj, Interpretacija: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) 2021



Fenotipska detekcija ESBL (extended-spectrum beta-lactamase)

Izolati rezistentni na cefotaksim i/ili cefepim su testirani na ESBL produkciju testom uterigije (cefotaksim 30 µg disk i amoksisiclin/klavulanska kiselina 20/10 µg)

Fenotipska detekcija metalo-β-laktamaza

Imipenem i imipenem-EDTA diskovi

PCR amplifikacija i sekvenciranje gena koji kodiraju rezistenciju na antibiotike

ESBL_{SHV}-positive - CTX-M2, PER, TEM, SHV, VEB, GES (Pothoak C. et al. 2003; Kwon S. et al. 2013; Tomasz A. et al. 2003; Kim S. et al. 2003; Opat A. et al. 2002)
 Imipenem-rodazinski - *MIR_1*, *MIR_2*, *MIR_3*, and *MIR_4* (Pawlak L. et al. 2010)

Multilocus sequence typing

P. aeruginosa (Pawlak L. et al. 2010)

Pangenomska i filogenetska analiza

Orlowski T. et al. 2014; Kopylov K. et al. 2007; Page AJ. et al. 2015; Page AJ. et al. 2014; Nishitake A. 2016; Tomasz A. et al. 2003

Rezultati

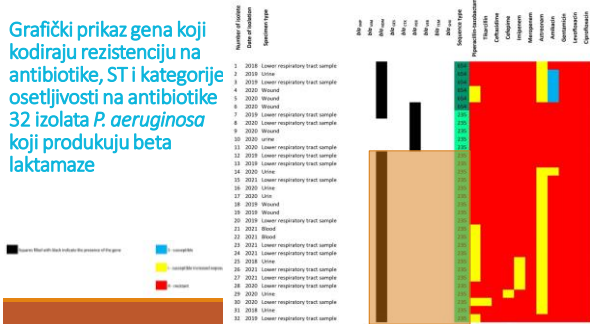
Klinički podaci i karakteristike pacijenata koji su imali infekcije izazvane vrstom *P. aeruginosa*

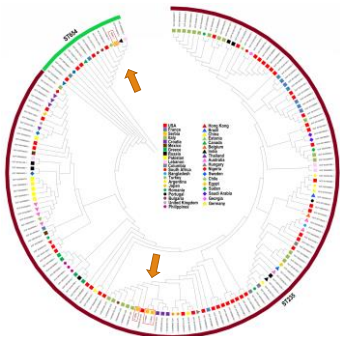
Characteristic	No. (%)
Gender	
Male gender	172 (53.8)
Female gender	148 (46.2)
Admission ward	
Intensive care unit	126 (38.6)
Thoracic surgery	3 (0.9)
Orthopedic surgery	3 (0.9)
Plastic surgery	6 (1.9)
Cardiovascular surgery	39 (12.2)
Neurosurgery	10 (3.1)
General surgery	29 (9.1)
Urology surgery	3 (0.9)
Internal ward	52 (16.3)
Corona care center	23 (7.2)
Geriatric department	19 (5.9)
Department of Oncology	7 (2.2)
Type of specimen	
Touched aspirate	74 (23.1)
Bronchoalveolar lavage	26 (8.1)
Sputum	206 (63.8)
Wound specimen	108 (33.5)
Blood	21 (6.6)
Urine	71 (22.2)
Comorbidity	
Malnutrition	36 (11.2)
Chronic venous insufficiency	18 (5.6)
Heart insufficiency	18 (5.6)
Diabetes	23 (7.2)
COVID-19 pneumonia	23 (7.2)
Invasive procedures	
Any surgical procedure	93 (29.1)
Mechanical ventilation	72 (22.3)
Central venous catheter	42 (13.1)
Urinary catheter	139 (43.4)

Osetljivost 320 kliničkih izolata *P. aeruginosa* na antibiotike Osetljivi na karbapeneme vs rezistentni na karbapeneme

Antimicrobial agent	Overall resistance (n = 320); No. (%)	Carbapenem-resistant (n = 138); N (%)	Carbapenem-susceptible (n = 182); N (%)	P value
Imipenem	125 (39.1)	115 (83.3)	10 (5.5)	<0.00001
Meropenem	138 (43.1)	138 (100)	0 (0)	<0.00001
Cefepime	160 (50)	102 (73.9)	58 (31.9)	<0.00001
Ceftazidime	138 (43.1)	111 (80.4)	27 (14.8)	<0.00001
Piperacillin/tazobactam	118 (36.9)	75 (54.3)	43 (23.6)	<0.00001
Ticarcillin	180 (56.3)	117 (84.8)	63 (34.6)	<0.00001
Aztreonam	80 (25)	61 (44.2%)	19 (10.4)	<0.00001
Levofloxacin	203 (63.4)	129 (93.4)	74 (40.6)	<0.00001
Ciprofloksacin	183 (57.2)	120 (87)	63 (34.6)	<0.00001
Amikacin	134 (41.9)	105 (76.1)	29 (15.9)	<0.00001
Colistin	1 (0.3)	1 (0.7)	0 (0)	0.25

Grafički prikaz gena koji kodiraju rezistenciju na antibiotike, ST i kategorije osetljivosti na antibiotike 32 izolata *P. aeruginosa* koji proizvode beta laktamaze





Filogenetsko stablo

SNPs, core gene alignment: 165 high-risk clones *Pseudomonas aeruginosa* (ST235 i ST654)
neighbor-joining metod, 1000 bootstraps

Zemlje su obeležene razlicitim bojama i oblikom prikazanim na legendi
Razlicite boje spoljasnih prstenova ukazuju na tipove sekvenci (STs)



Zaključci

- Rezistencija kliničkih izolata *P. aeruginosa* na karbapeneme je visoka (43%)
- ESBL pozitivni sojevi *P. aeruginosa* (8,8%) su bili nosioci bla_{PER-1} gena
- Karbapenemaze su detektovane kod 37% CRPA izolata, pri čemu je bla_{NDM-1} bila genetička determinanta
- CRPA sojevi pripadaju genetičkim linijama ST235 i ST654
- Nephodno je dalje praćenje kliničkih sojeva *P. aeruginosa* i uvođenje ciljanih mera prevencije i kontrole infekcija



Institut za
mikrobiologiju i
imunologiju
Medicinski fakultet,
Beograd, Srbija

Laboratório Associado,
Escola Superior de Bio-
tecnologia, Porto,
Portugal

Centar za humanu
molekularnu genetiku,
Biološki fakultet,
Beograd, Srbija

Jovana Kabić
Dušan Kekić
Miloš Jovičević
Lazar Ranin
Nataša Opavski

Celia Manaia
Ivone Vaz Moreira
Gianuario Fortunato

Jovan Pešović

Sanja Zornić, Nataša Miljković, Bojan Rakonjac, Momir Đurić, Snežana Delić, Dragana Anđelković, Teodora Vitorović, Snežana Jovanović, Vesna Karanović, Lidija Bosković, Anita Sente Žigmanović, Tatjana Pozder, Dušanka Savić-Pavičević
