

Aneta Guzek<sup>1</sup>, Zbigniew Rybicki<sup>2</sup>, Dariusz Tomaszewski<sup>2</sup>

**CHANGES IN BACTERIAL FLORA AND ANTIBIOTIC RESISTANCE  
IN CLINICAL SAMPLES ISOLATED FROM PATIENTS HOSPITALIZED  
IN THE MILITARY INSTITUTE OF MEDICINE IN WARSAW,  
POLAND, BETWEEN 2005 AND 2012**

**ZMIANY FLORY BAKTERYJNEJ I PROFILU OPORNOŚCI PATOGENÓW  
NA ANTYBIOTYKI W MATERIALE IZOLOWANYM OD PACJENTÓW  
HOSPITALIZOWANYCH W WOJSKOWYM INSTYTUCIE MEDYCZNYM  
W WARSZAWIE W LATACH 2005 – 2012**

<sup>1</sup>Military Institute of Medicine, Department of Microbiology Warsaw, Poland

<sup>2</sup>Military Institute of Medicine, Department of Anesthesiology and Intensive Therapy, Warsaw, Poland

<sup>1</sup>Wojskowy Instytut Medyczny, Pracownia Mikrobiologii Zakładu Diagnostyki Laboratoryjnej, Warszawa

<sup>2</sup>Wojskowy Instytut Medyczny, Klinika Anestezjologii i Intensywnej Terapii, Warszawa

ABSTRACT

**BACKGROUND.** Hospital infections have become an important problem. Knowledge of microbiological situations both helps in ensuring that the optimal choice of antibacterial treatment is made, and in improving the results of the selected therapy.

**OBJECTIVE.** In this paper, both the changes in the bacterial flora of patients hospitalized in the Military Institute of Medicine, and the bacterial resistance to antimicrobials were analyzed.

**MATERIAL AND METHODS.** Data were collected between 2005 and 2012. The identification and testing of pathogens, susceptibility tests, and analysis of bacterial resistance mechanisms to antibiotics were performed according to current guidelines.

**RESULTS.** A total number of 28,066 bacterial strains were isolated. The most frequently isolated pathogens were Gram-negative bacteria (n=18,021; 64% of all isolated bacteria), including *Enterobacteriaceae* (71%) and non-*Enterobacteriaceae* (29%). The total number of isolated Gram-positive bacteria (n=10,045; 36% of all isolates) included *Staphylococcus* spp. (65%) and *Enterococcus* spp. (35%).

The highest increase in the number of infections was caused by *Enterobacteriaceae*. The number of *Staphylococcus aureus* and coagulase negative *Staphylococcus* resistant to methicillin decreased. Analyzed alert pathogens with resistance phenotypes were highly susceptible to a single type of antibiotic. All multidrug resistant Gram-negative bacteria (except those naturally resistant to colistin) were susceptible to colistin. All methicillin resistant *S. aureus* and methicillin resistant coagulase negative *Staphylococci* were susceptible to vancomycin and linezolid. All MSSA strains were susceptible to cloxacillin, all *Enterococcus faecium* strains to ampicillin, and all VRE strains were susceptible to linezolid and tigecycline.

**Key words:** hospital infections, bacterial resistance, alert pathogens

STRESZCZENIE

**WSTĘP.** Zakażenia szpitalne stanowią poważny problem kliniczny. Znajomość sytuacji mikrobiologicznej pomaga w optymalnym doborze właściwej antybiotykoterapii oraz poprawia wyniki leczenia.

**CEL PRACY.** Niniejsza praca zawiera analizę zmian flory bakteryjnej izolowanej z materiału pobranego od pacjentów hospitalizowanych w Wojskowym Instytucie Medycznym w Warszawie jak i oporności izolowanych patogenów na antybiotyki.

**MATERIAŁ I METODY.** Dane zbierano w latach 2005 - 2012. Identyfikację patogenów, testy wrażliwości oraz analizę mechanizmów oporności bakteryjnej na antybiotyki przeprowadzono zgodnie z aktualnymi zaleceniami.

**WYNIKI.** Wyizolowano łącznie 28 066 szczepów bakteryjnych. Najczęściej izolowanymi patogenami były bakterie Gram ujemne (n=18 021; 64% wszystkich patogenów), w tym *Enterobacteriaceae* (71%) and non-*Enterobacteriaceae* (29%). Spośród 10 045 wyhodowanych szczepów bakterii Gram dodatnich (36% wszystkich patogenów) szczepy *Staphylococcus* spp. stanowiły 65%, a *Enterococcus* spp. 35%.

Największy wzrost obserwowano wśród *Enterobacteriaceae*. Liczba szczepów gronkowca złocistego i gronkowców koagulazo-ujemnych opornych na metycylinę zmniejszyła się. Badane patogeny alarmowe były wrażliwe na pojedyncze antybiotyki. Wszystkie wielolekooporne bakterie Gram ujemne (oprócz patogenów naturalnie opornych na kolistynę) były wrażliwe na ten antybiotyk. Wszystkie szczepy gronkowca złocistego opornego na metycylinę oraz oporne na metycylinę szczepy gronkowców koagulazo-ujemnych były wrażliwe na wankomycynę i linezolid. Wszystkie szczepy gronkowca złocistego wrażliwe na metycylinę były wrażliwe na kloksacylinę, wszystkie szczepy *Enterococcus faecium* były wrażliwe na ampicylinę, a wszystkie szczepy enterokoków opornych na wankomycynę były wrażliwe na linezolid i tigecyklinę.

**Słowa kluczowe:** zakażenia szpitalne, oporność bakteryjna, patogeny alarmowe

## INTRODUCTION

Hospital infections comprise about half of all undesirable complications of hospital treatment (1). Infections occur more frequently at higher-level referral centers, especially in intensive care, hematological, and surgical units, where patients with severe medical conditions, comorbidities, and immunosuppression are hospitalized, and where invasive medical procedures are performed (2,3). The analysis of European Prevalence of Nosocomial Infection in Intensive Care Units (EPIC I study) (4) published in 1995 showed that amongst 10,038 patients hospitalized in 1,417 intensive care units (ICU) in Europe: 44.8% of patients suffered from respiratory tract infections and 62% of them antimicrobial agents were administered. The predominant etiologic factor of infections were *Staphylococci* (49.2%, 60% amongst them were methicillin resistant *Staphylococcus aureus* /MRSA/ strains), furthermore *Enterobacteriaceae* spp. (34.4%), *Pseudomonas aeruginosa* (28.8%). There were no cases of infections caused by *Acinetobacter* spp. Published 14 years later EPIC II study (3) confirmed observations from EPIC I, regarding sites of infections and antimicrobial therapy. However, an increase in infections caused by Gram-negative bacteria was noted, as well as infections caused by *Acinetobacter* spp. (8.8%) and *Enterobacteriaceae* ESBL(+) (1.9%). This is a sign of unwanted global trend of increasing number of infections caused by multi-drug resistant (MDR) Gram-negative bacteria, including *Acinetobacter* spp. (6). In 1970 *Acinetobacter* spp. strains were susceptible for ampicillin. Ten years later almost all the strains were susceptible for carbapenems, and in 1990 the large number of *Acinetobacter* spp. was susceptible for colistin and tigecycline only. In the United States the number of infections caused by *Acinetobacter* spp. increased from 9% in 1995 to 40% in 2004 (7). There are many reasons of such situation; including important role of bacterial carriage of patients

## WSTĘP

Zakażenia szpitalne stanowią około połowy wszystkich niepożądanych zdarzeń związanych z leczeniem szpitalnym (1). Zakażenia występują znacznie częściej w ośrodkach o wysokim stopniu referencyjności, zwłaszcza w oddziałach intensywnej terapii, oddziałach hematologicznych i chirurgicznych; tam, gdzie leczeni są pacjenci w ciężkim stanie ogólnym, z licznymi schorzeniami współistniejącymi, upośledzoną odpornością i gdzie wykonywane są inwazyjne procedury medyczne (2,3). Analiza European Prevalence of Nosocomial Infection in Intensive Care Units (EPIC I study) (4) opublikowana w 1995 roku wykazała, że spośród 10 038 pacjentów leczonych w 1 417 oddziałach intensywnej terapii (OIT) w Europie: u 44,8% rozpoznano zakażenia układu oddechowego, a u 62% z nich stosowano leki antybakteryjne. Dominującym czynnikiem etiologicznym były gronkowce (49,2%, 60% spośród nich stanowiły szczepy opornego na metycylinę gronkowca złocistego (methicillin resistant *Staphylococcus aureus* /MRSA/), ponadto pałeczki z rodziny *Enterobacteriaceae* spp. (34,4%), *Pseudomonas aeruginosa* (28,8%). Nie stwierdzono przypadków zakażeń wywołanych przez *Acinetobacter* spp. Opublikowane 14 lat później badanie EPIC II (3) potwierdziło obserwacje badania EPIC I co do miejsca zakażenia i leczenia przeciwbakteryjnego. Jednak zaobserwowano zwiększenie liczby zakażeń powodowanych przez bakterie Gram-ujemne oraz zakażeń wywoływanych przez *Acinetobacter* spp. (8,8%) i *Enterobacteriaceae* ESBL(+) (1,9%). Jest to niepożądany, światowy trend zwiększania liczby zakażeń wywoływanych przez wielooporne (multi-drug resistant, MDR) bakterie Gram-ujemne, w tym *Acinetobacter* spp. (6). W 1970 roku szczepy *Acinetobacter* spp. były wrażliwe na ampicylinę. Dziesięć lat później prawie wszystkie szczepy były wrażliwe na karbapenemy, a w 1990 roku wiele szczepów *Acinetobacter* spp. było wrażliwych jedynie na kolistynę i tygicyklinę. W Stanach Zjednoczonych liczba zakażeń powodowanych przez *Acinetobacter* spp. zwiększyła się

admitted to the hospital, as well as human migrations and touristics. The microbiological assessment of people travelling to regions with low level of hygiene revealed an increased number of MDR bacteria in their stool (8). *Kantele et al.* (9) found that the number of *Enterobacteriaceae* ESBL(+) strains in their stool may increase almost 20 times, from 1.2% to 21%.

The aims of the study were: (1) to assess changes in bacterial flora with special attention to multi-drug resistant bacteria, and (2) to examine the underlying reasons for bacterial resistance to antibiotics, including their individual resistance mechanisms, in patients hospitalized in our center.

## MATERIAL AND METHODS

Study design was approved by the institutional Ethical Committee (no. 45/WIM/2014, issued November 14<sup>th</sup>, 2014).

### Collecting and Processing of Biological Samples.

The biological samples were withdrawn from patients hospitalized in our center. We decided to analyze only the first isolate of each pathogen; next isolates of the same species from the same patients were not analyzed.

The biological material was processed according to standard microbiological procedures. Samples were inoculated on standard culture media (e.g. Columbia agar, and MacConkey agar, bioMérieux, France), then incubated at 37 °C for 24 to 48 h. When growth of mixed bacterial culture was observed, separating procedures to obtain pure strains of pathogens were performed.

The accurate microbial identification was performed with automatic VITEK® 2 testing system (bioMérieux, France). The microbroth dilution method with VITEK® 2 AST Cards was used for antibiotic susceptibility testing of isolated pathogens.

The microbiological analyses between 2005 and 2010 were performed according to the Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI) recommendations, and since 2011 according to the regulations of the European Committee on Antimicrobial Susceptibility

Testing (EUCAST), and the National Reference Centre for Susceptibility Testing (NRCST, Warsaw, Poland). Control susceptibility tests included reference strains of *P. aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 and ATCC 43300, *Enterococcus faecium* ATCC 27270, and *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

The analysis of mechanisms of bacterial resistance was performed according to European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance (5).

z 9% w 1995 roku do 40% w 2004 (7). Przyczyn takiej sytuacji jest wiele; istotną rolę odgrywa nosicielstwo bakterii u osób przyjmowanych do szpitala, ale także migracje ludności i turystyka. Wykazano, że w stolcu osób podróżujących do regionów o niskim poziomie higieny znajduje się więcej bakterii MDR (8). *Kantele i wsp.* (9) wykazali, że liczba bakterii *Enterobacteriaceae* ESBL(+) w stolcu może być zwiększona nawet dwudziestokrotnie, z 1,2% to 21%.

Celem pracy była: (1) ocena zmian flory bakteryjnej, ze szczególnym uwzględnieniem bakterii wielolekoopornych, oraz (2) analiza oporności bakterii na antybiotyki, z uwzględnieniem indywidualnych mechanizmów oporności, u pacjentów hospitalizowanych w Wojskowym Instytucie Medycznym w Warszawie.

## MATERIAŁ I METODY

Badanie zostało zaaprobowane przez Komisję Bioetyczną Wojskowego Instytutu Medycznego w Warszawie (zgoda nr 45/WIM/2014 z 14.11.2014).

**Próbki biologiczne.** Próbki biologiczne były pobierane od pacjentów hospitalizowanych w Wojskowym Instytucie Medycznym w Warszawie. Oceniano tylko pierwszy izolat danego patogenu; kolejne izolaty tego samego gatunku uzyskane od tego samego pacjenta nie były oceniane.

Dalsze postępowanie z uzyskanym materiałem było zgodne ze standardowymi procedurami mikrobiologicznymi. Próbki przenoszono na standardowe podłoża mikrobiologiczne (np. agar Columbia, agar MacConkey'a, bioMérieux, Francja), następnie inkubowano w 37°C przez 24 do 48 h. W przypadku gdy obserwowano wzrost mieszanej flory bakteryjnej, przeprowadzano jej rozizolowanie mające na celu otrzymanie czystych szczepów patogenów.

Szczegółowa identyfikacja mikrobiologiczna była przeprowadzana za pomocą automatycznego systemu VITEK® 2 (bioMérieux, France). Do oznaczania wrażliwości patogenów na antybiotyki wykorzystano automatyczną metodę mikrorozcieńczeń przy użyciu kart do oznaczania lekowrażliwości drobnoustrojów VITEK® 2 AST.

Analizy mikrobiologiczne w latach 2005 - 2010 wykonywano zgodnie z zaleceniami Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI), a od 2011 roku zgodnie z wytycznymi European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST), a także z rekomendacjami Krajowego Ośrodka Referencyjnego ds. Lekowrażliwości Drobnoustrojów, Warszawa, Polska (KORLD). W kontroli testów wrażliwości wykorzystano referencyjne szczepy *P. aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 i ATCC 43300, *Enterococcus faecium* ATCC 27270, oraz *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

Analiza mechanizmów oporności bakteryjnej została przeprowadzona zgodnie z wytycznymi EUCAST (5).

**(a) Extended spectrum  $\beta$ -lactamase producing *Enterobacteriaceae***

The ESBL production was tested by the Double Disc Synergy Test (DDST) by using a disc of amoxicillin-clavulanate (20/10  $\mu\text{g}$ ) along with ceftazidime (30  $\mu\text{g}$ ) and cefotaxime (30  $\mu\text{g}$ ). An increase in the zone towards the disc of amoxicillin-clavulanate was considered as positive for ESBL production.

**(b) KPC-like carbapenemase - producing *Enterobacteriaceae* (KPC-like CPE)**

All suspected CPE isolates were subjected to KPC phenotypic detection, using the combined disk test with phenylboronic acid on the Mueller-Hinton agar. The test was considered positive when the diameter of the growth-inhibitory zone around a  $\beta$ -lactam disk with phenylboronic acid was  $\geq 4$  mm larger than that around a disk containing the  $\beta$ -lactam substrate alone.

The identification of KPC-like CPE was confirmed in NRCST, Warsaw, Poland, with the genetic methods.

**(c) Carbapenemase-producing non-*Enterobacteriaceae***

Double Disc Synergy Tests (DDST) with EDTA, ceftazidime (30  $\mu\text{g}$ ), and imipenem (10  $\mu\text{g}$ ) discs placed on Mueller-Hinton agar were used. The tests results were interpreted according to CLSI and EUCAST guidelines.

**(d) Methicillin resistant *S. aureus* (MRSA)**

Disc diffusion test with cefoxitine (30  $\mu\text{g}$ ) disc placed on Mueller-Hinton agar was performed. Isolates showing inhibition zone size  $\leq 19$  mm were considered as resistant.

Penicillin-binding protein (PBP2a) latex agglutination test (Slidex® MRSA, bioMérieux, France) was performed according to manufacturer's protocol.

**(e) Vancomycin resistant *E. faecium* and *E. faecalis***

Detection of resistance mechanisms to glycopeptides was performed with gradient MIC methods, using the paper strips with vancomycin and teicoplanin, according to manufacturer's protocol (Etest, bioMérieux, France).

## RESULTS

The study was conducted between 2005 and 2012. From 3,350 to 4,500 samples were collected each year during the study period. Totally 26,256 samples were analyzed, the places of its origin was shown in Table 1. From this material 28,066 pathogens were isolated, including 18,021 Gram-negative (64%), and 10,045 Gram-positive bacteria (36%). Amongst them there was 9,641 (34.3%) multidrug resistant pathogens.

**(a) *Enterobacteriaceae* wytwarzające  $\beta$ -lakta-mazy o rozszerzonym spektrum działania**

Do wykrycia ESBL zastosowano tzw. test dwóch krążków (double disc synergy test, DDST) wykorzystując krążki z amoksyliny/klawulanianem (20/10  $\mu\text{g}$ ) oraz ceftazydymem 30  $\mu\text{g}$  i cefotaksymem 30  $\mu\text{g}$ . Wyraźne powiększenie strefy zahamowania wzrostu wokół krążka z ceftazydymem lub cefotaksymem od strony krążka zawierającego kwas klawulanowy odczytywano jako wynik pozytywny, potwierdzający wytwarzanie ESBL.

**(b) Wykrywanie karbapenemaz typu KPC u *Klebsiella pneumoniae***

Do określania zdolności wytwarzania karbapenemazy klasy A zastosowano kombinowany test z kwasem fenylboronowym (inhibitor KPC) z wykorzystaniem krążków z meropenem (10  $\mu\text{g}$ ) / meropenemem i kwasem fenylboronowym (10/300  $\mu\text{g}$ ) umieszczonych na podłożu Mueller-Hinton (bioMérieux, Francja). Wynik odczytywano jako dodatni, jeśli średnica strefy zahamowania wzrostu wokół krążka z meropenemem w stosunku do krążka zawierającego meropenem/kwas fenylboronowy była równa lub większa niż 4 mm.

Identyfikację szczepów KPC potwierdzano w KORLD w Warszawie metodami genetycznymi.

**(c) non-*Enterobacteriaceae* wytwarzające MBL**

Wykorzystano test zbliżeniowy z użyciem krążków z EDTA, ceftazydymem (30  $\mu\text{g}$ ) i imipenemem (10  $\mu\text{g}$ ). Krążki umieszczano na podłożu Mueller-Hinton (bioMérieux, Francja). Wyniki testów interpretowano zgodnie z zaleceniami CLSI oraz EUCAST.

**(d) Gronkowiec złocisty oporny na metycylinę (MRSA)**

Zastosowano test dyfuzyjny; krążek z cefoksytiną (30  $\mu\text{g}$ ) umieszczano na podłożu Mueller-Hinton (bioMérieux, Francja). Izolaty, wokół których strefa zahamowania wzrostu wynosiła  $\leq 19$  mm uznawano jako odporne.

Test aglutynacji lateksowej do wykrywania *Staphylococcus aureus* metycylinoopornych poprzez oznaczanie PBP2a (Slidex® MRSA, bioMérieux, Francja) przeprowadzano zgodnie z zaleceniami producenta.

**(e) *E. faecium* i *E. faecalis* oporny na wankomycynę**

Wykrywanie mechanizmu oporności na wankomycynę przeprowadzono metodą gradientową z użyciem plastikowych pasków z gradientem stężeń wankomycyny zgodnie z zaleceniami producenta (Etest, bioMérieux, Francja).

Table I. The origin and number of biological samples analyzed in the study.

Tabela I. Miejsce pobrania materiału biologicznego i liczba pobranych próbek.

samples	number of samples	percentage
blood	1,824	6.9
other body fluids	776	2.9
wounds	10,033	38.2
ulcerations	1,458	5.6
fistulas	457	1.7
abscesses	838	3.2
broncho-alveolar lavage	754	2.9
sputum	258	1.0
samples collected by the catheter from bronchial tree via artificial airway	2,096	8.0
urine	7,762	29.6
total	26,256	100.0

The most frequent isolated group of pathogens was *Enterobacteriaceae* (12,719 strains, amongst them 1,817 (14.3%) had ESBL resistance mechanism), followed by *S. aureus* and *Staphylococcus* coagulase-negative (totally 6,562 strains, 37% of them were resistant to methicillin), and non-*Enterobacteriaceae* (5,302 strains): *P. aeruginosa* (2,636 strains, 49.7%), *Acinetobacter baumannii* (2,666 strains, 50.3%), and *Enterococcus* spp. (3,483 strains, amongst them 21 /0.6%/ had VRE resistance mechanism).

We found that among Gram-negative rods, the most frequent ESBL-positive strains were *K. pneumoniae* (n=976; 53.7%); followed by *E. coli* (n=287; 15.8%), *Enterobacter cloacae* (n=261; 14.8%), *Proteus mirabilis* (n=201; 11.1%), and other ESBL-positive *Enterobacteriaceae* (n=84; 4.6%). The carbapenems are still the most effective antibiotics against these pathogens. In our center, a decrease in resistant pathogens to carbapenems was observed since 2010; in 2012, the percentage of resistant strains was 2%.

We found that resistance of methicillin susceptible coagulase negative *Staphylococcus* (MSCNS) was low: there were no resistance of MSCNS to cloxacillin, and in 2012 only 3% of isolated strains were resistant to gentamicin and 4% were resistant to ciprofloxacin. All isolated strains of MRSA were susceptible to vancomycin, as well as all *E. faecalis* to ampicillin. However, in 2012 eighty-eight per cent of *E. faecium* strains were resistant to ampicillin. There were no *Enterococcus* spp. VRE strains to linezolid and tigecycline. All strains of *K. pneumoniae* KPC were susceptible to colistin and tigecycline. There was low resistance (only 2% in 2012) of *Enterobacteriaceae* ESBL strains to meropenem and imipenem/cilastatin was noted. Ceftazidime is still the most effective 3<sup>rd</sup> generation cephalosporin against *P. aeruginosa*.

## WYNIKI

Badanie przeprowadzono w latach 2005 - 2012. W tym czasie, każdego roku pobierano od 3 350 do 4 500 próbek. Łącznie analizowano 26 256 próbek; miejsca ich pobrania przedstawiono w tabeli 1. Z tego materiału wyizolowano 28 066 patogenów, w tym 18 021 bakterii Gram-ujemnych (64%) i 10 045 Gram-dodatnich (36%). Wśród nich było 9 641 (34,3%) patogenów wielolekoopornych.

Najczęściej izolowaną grupą patogenów były *Enterobacteriaceae* (12 719 szczepów, spośród nich 1 817 (14,3%) posiadało mechanizm oporności ESBL), następnie *S. aureus* i *Staphylococcus* koagulazo-ujemny (łącznie 6 562 szczepów, 37% z nich było opornych na metycylinę), oraz non-*Enterobacteriaceae* (5302 szczepów): *P. aeruginosa* (2 636 szczepów; 49,7%), *Acinetobacter baumannii* (2 666 szczepów; 50,3%) i *Enterococcus* spp. (3 483 szczepów, spośród nich 21 /0,6%/ było opornych na wankomycynę) – tabela II.

Spśród bakterii Gram-ujemnych, najczęstszymi patogenami posiadającymi mechanizm oporności ESBL była *K. pneumoniae* (n=976; 53,7%); a następnie *E. coli* (n=287; 15,8%), *Enterobacter cloacae* (n=261; 14,8%), *Proteus mirabilis* (n=201; 11,1%), oraz inne ESBL-dodatnie *Enterobacteriaceae* (n=84; 4,6%). Najskuteczniejsze w stosunku do tych patogenów ciągle pozostają karbapenemy. W naszym ośrodku, od 2010 roku obserwuje się zmniejszanie oporności na karbapenemy; w 2012 roku odsetek szczepów opornych wynosił 2%.

W analizowanym materiale oporność szczepów gronkowca koagulazo-ujemnego wrażliwego na metycylinę (methicillin susceptible coagulase negative *Staphylococcus*, MSCNS) była niska: nie stwierdzono oporności MSCNS na kloksacylinę, w 2012 roku tylko 3% spośród wyizolowanych szczepów było opornych na gentamycynę a 4% było opornych na ciprofloksacynę. Wszystkie wyizolowane szczepy MRSA były wrażliwe na wankomycynę, a wszystkie szczepy *E. faecalis* na ampicylinę. Jednak w 2012 roku 88% szczepów *E. faecium* było opornych na ampicylinę. Nie stwierdzono szczepów *Enterococcus* spp. VRE opornych na linezolid i tygecyklinę. Wszystkie szczepy *K. pneumoniae* KPC były wrażliwe na kolistynę i tygecyklinę. Niska (tylko 2% w 2012 roku) była oporność szczepów *Enterobacteriaceae* ESBL na meropenem i imipenem z cilastatyną. Ciągle najbardziej skuteczną wobec *P. aeruginosa* cefalosporyną trzeciej generacji był ceftazydym.

Dane na temat zmian oporności bakteryjnej *Enterobacteriaceae* ESBL(+), *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, MSSA, MRSA, MSCNS, MRCNS, oraz *E. faecalis* i *E. faecium* na antybiotyki przedstawiono w tabelach III do V.

The data concerning changes in bacterial resistance of *Enterobacteriaceae* ESBL(+), *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, MSSA, MRSA, MSCNS, MRCNS, as well as *E. faecalis* and *E. faecium* to antibiotics were shown in Tables III – V.

Table II. The percentage of isolated bacterial strains in each year and number of isolated pathogens (in parentheses) between 2005 and 2012.

Tabela II. Odsetek (w nawiasach: liczba) wyizolowanych szczepów bakteryjnych od 2005 do 2012 roku.

	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012
Total number of isolates	2,945	3,271	3,309	3,346	3,706	3,803	3,662	4,024
Enterobacteriaceae	40.44 (1,191)	41.15 (1,346)	40.86 (1,352)	43.84 (1,467)	47.00 (1,742)	48.46 (1,843)	49.84 (1,825)	48.53 (1,953)
ESBL (+)	3.56 (105)	2.45 (80)	3.38 (112)	4.72 (158)	6.74 (250)	8.28 (315)	8.73 (320)	11.85 (477)
<i>K. pneumoniae</i> KPC(+)	not analyzed			0.49 (16)	0.73 (27)	0.43 (13)	0.25 (9)	0.20 (8)
<i>P. aeruginosa</i>	8.12 (239)	9.63 (315)	11.27 (373)	10.58 (354)	9.23 (342)	8.78 (334)	8.22 (301)	9.39 (378)
MBL(+)	1	2	2	1	3	2	6	12
<i>A. baumannii</i>	8.18 (241)	8.99 (294)	10.00 (331)	9.80 (328)	8.53 (316)	8.97 (341)	10.16 (372)	11.01 (443)
MBL(+)	0	0	0	0	1	1	1	3
<i>S. aureus</i>	18.68 (550)	16.94 (554)	16.32 (539)	15.87 (531)	16.08 (596)	14.23 (541)	14.17 (519)	13.15 (529)
MRSA	107	123	100	90	119	104	132	86
<i>Staphylococcus</i> CNS	10.9 (321)	10.82 (354)	8.04 (266)	6.46 (216)	7.31 (271)	7.18 (273)	6.91 (253)	6.19 (249)
MRCNS	239	253	189	159	197	161	185	184
MSCNS	82	101	77	57	74	112	68	65
<i>E. faecalis</i>	8.62 (254)	9.23 (302)	1.10 (365)	11.06 (370)	9.74 (361)	9.73 (370)	8.55 (313)	8.95 (360)
VRE(+)	0	0	1	0	0	1	0	0
<i>E. faecium</i>	5.06 (149)	3.24 (106)	2.51 (83)	2.39 (80)	2.10 (78)	2.66 (101)	2.16 (79)	2.78 (112)
VRE(+)	0	0	0	5	1	5	2	6

Table III. The percentages of antibiotic-resistant *Enterobacteriaceae* ESBL(+) and *Klebsiella pneumoniae* KPC(+) isolated between 2005 and 2012.

Tabela III. Odsetek opornych na antybiotyki szczepów *Enterobacteriaceae* ESBL(+) i *Klebsiella pneumoniae* KPC(+) wyizolowanych w latach 2005 – 2012.

pathogen	year	colistin	pip/tazo	imipenem	meropenem	tygecycline	pathogen	year	amikacin	gentamycin	colistin	tigecycline	ciprofloxacin
<i>Enterobacteriaceae</i> ESBL(+)	2005	0	30	2	0	NA	<i>K. pneumoniae</i> KPC(+)	2005	not analyzed*				
	2006	0	19	5	0	67		2006	not analyzed*				
	2007	0	29	12	0	50		2007	not analyzed*				
	2008	0	54	22	18	57		2008	33	8	0	0	100
	2009	0	62	24	25	31		2009	33	0	0	0	100
	2010	0	72	8	8	27		2010	40	9	0	0	100
	2011	0	84	5	5	45		2011	10	0	0	0	100
	2012	0	87	2	2	49		2012	10	10	0	0	100

\* First KPC strain was isolated in 2008.

Table IV. The percentages of antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* isolated between 2005 and 2012.Tabela IV. Odsetek opornych na antybiotyki szczepów *Pseudomonas aeruginosa* i *Acinetobacter baumannii* wyizolowanych w latach 2005 – 2012.

pathogen	year	amikacin	pip/tazo	ceftazidime	imipenem	meropenem	colistin	pathogen	year	amikacin	amp/sulb	pip/tazo	imipenem	meropenem	colistin
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2005	31	11	30	11	11	0	<i>Acinetobacter baumannii</i>	2005	74	31	51	21	8	0
	2006	46	17	33	21	19	0		2006	62	35	59	26	17	0
	2007	38	14	33	24	21	0		2007	47	44	64	17	11	0
	2008	28	9	29	19	19	0		2008	35	44	76	21	21	0
	2009	28	22	30	19	21	0		2009	25	48	73	26	23	0
	2010	22	21	25	19	20	0		2010	28	30	79	34	34	0
	2011	34	20	18	16	20	0		2011	30	29	89	66	66	0
	2012	29	50	18	32	29	0		2012	32	35	92	73	71	0

Table V. The percentages of antibiotic-resistant *Staphylococcus* MSSA and MSCNS isolated between 2005 and 2012.Tabela V. Odsetek opornych na antybiotyki szczepów *Staphylococcus* MSSA i MSCNS wyizolowanych w latach 2005 – 2012.

pathogen	year	erythromycin	clindamycin	gentamycin	ciprofloxacin	cloxacillin	pathogen	year	clindamycin	gentamycin	ciprofloxacin	Trimethoprim/ sulfamethoxazole
MSSA	2005	19	13	2	3	0	MSCNS	2005	21	1	3	7
	2006	22	13	3	7	0		2006	25	3	6	7
	2007	20	9	3	5	0		2007	16	3	6	5
	2008	8	14	2	4	0		2008	46	3	3	5
	2009	21	19	4	5	0		2009	49	4	4	4
	2010	21	17	2	3	0		2010	28	2	4	12
	2011	19	13	2	3	0		2011	18	4	6	0
	2012	18	14	3	4	0		2012	29	7	9	5

MSSA – methicillin susceptible *Staphylococcus aureus*MSCNS - methicillin susceptible coagulase negative *Staphylococci*Table VI. The percentages of antibiotic-resistant *Staphylococcus* MRSA and MRCNS isolated between 2005 and 2012.Tabela VI. Odsetek opornych na antybiotyki szczepów *Staphylococcus* MRSA i MRCNS wyizolowanych w latach 2005 – 2012.

pathogen	year	gentamycin	clindamycin	vancomycin	linezolid	tygacycline	rifampicine	pathogen	year	genatmycin	ciprofloxacin	clindamycine	vancomycin	linezolid	firampicin
MRSA	2005	54	75	0	0	0	17	MRCNS	2005	48	50	71	0	0	11
	2006	52	63	0	0	0	13		2006	47	56	57	0	0	11
	2007	54	57	0	0	0	11		2007	48	57	49	0	0	13
	2008	39	77	0	0	0	8		2008	46	81	82	0	0	7
	2009	38	81	0	0	0	6		2009	50	70	78	0	0	6
	2010	45	71	0	0	0	8		2010	54	67	63	0	0	8
	2011	34	68	0	0	0	34		2011	52	66	52	0	0	8
	2012	55	67	0	0	0	47		2012	60	77	61	0	0	11

MRSA – methicillin resistant *Staphylococcus aureus*MRCNS – methicillin resistant coagulase negative *Staphylococci*

## DISCUSSION

The hospital infections in Military Institute of Medicine were mainly caused by Gram-negative bacteria, especially with ESBL resistance mechanism. The results of EPIC II study (3) were similar.

The number of isolated ESBL-positive and ESBL-negative *Enterobacteriaceae* cultures in the study period increased. Although the number of ESBL-negative *Enterobacteriaceae* strains was higher than the ESBL-positive strains, the latter pose a major clinical problem. This situation has been observed across the world in other studies, and concerns mainly *K. pneumoniae* and *Escherichia coli* strains. For instance, the occurrence of ESBL-positive strains in Europe has been reported to increase from north to south: from 1% in Denmark and Sweden do 7-31% in Portugal and Spain. In 2008 Poland it was 11.1 % (10).

The first *K. pneumoniae* KPC strain in our center was registered in April 2008, and over the next four years, we reported 73 strains of KPC. Compared with the increase in the number of positive *Enterobacteriaceae* cultures, the increase of non-*Enterobacteriaceae* cultures expressed both in absolute numbers and percentages was lower in comparison to other studies (11).

In our material the Gram-negative bacteria constituted 64% of isolated pathogens. This is similar to observations of Messika et al (12), that *Enterobacteriaceae* are becoming more frequent causes of ventilator-associated pneumonia (VAP) than *Pseudomonas spp.* and *Acinetobacter spp.* Martin-Loeches et al. (13) analyzed 27 intensive care units in Europe. They found that 27.6% cases of pneumonia were caused by *E. coli* and *K. pneumoniae*.

Furthermore, data obtained from 55 intensive care units in South America, Morocco, and Turkey demonstrated that 55% of isolated strains of *Enterobacteriaceae* responsible for cases of pneumonia, blood infections, and urinary tract infections were ESBL-positive (14). Studies of VAP-type infections in cardio-surgical patients who were treated in Cracow, Poland demonstrated that in 37.5%, the etiological factors of the infections were Gram-negative rods along with ESBL-positive mechanisms of resistance (15). The carbapenems are still the most effective antibiotics against these pathogens. In our center, a decrease in resistant pathogens to carbapenems was observed since 2010; in 2012, the percentage of resistant strains was 2%.

The number of isolated strains of *Staphylococcus aureus* collected in every year of study period was generally similar. In the case of MRSA – except for within individual years – a downward trend was observed. This is an opposite situation in comparison to

Table VII. The percentages of antibiotic-resistant *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* isolated between 2005 and 2012.

Tabela VII. Odsetek opornych na antybiotyki szczepów *Enterococcus faecalis* i *Enterococcus faecium* wyizolowanych w latach 2005 – 2012.

pathogen	year	pathogen			pathogen	year	pathogen		
		ampicillin	gentamycin	ciprofloxacin			ampicillin	gentamycin	ciprofloxacin
<i>Enterococcus faecalis</i>	2005	0	22	21	<i>Enterococcus faecium</i>	2005	99	83	95
	2006	0	32	24		2006	86	75	89
	2007	0	53	31		2007	84	80	86
	2008	0	43	36		2008	86	70	90
	2009	0	36	36		2009	83	60	84
	2010	0	41	33		2010	90	65	98
	2011	0	34	31		2011	93	70	94
	2012	0	47	30		2012	88	61	91

## DYSKUSJA

Zakażenia szpitalne w Wojskowym Instytucie Medycznym (WIM) wywoływane były głównie przez bakterie Gram-ujemne, zwłaszcza z mechanizmem oporności ESBL. Wnioski z badania EPIC II (3) są podobne.

W okresie przeprowadzania badania liczba izolowanych szczepów *Enterobacteriaceae* ESBL(+) i ESBL(-) zwiększyła się. Choć liczba szczepów *Enterobacteriaceae* ESBL(-) była wyższa niż ESBL(+), to właśnie te ostatnie stanowią najpoważniejszy problem kliniczny. Taką sytuację notowano także w innych badaniach klinicznych na świecie, a dotyczyła głównie szczepów *K. pneumoniae* i *Escherichia coli*. Przykładowo, częstość występowania patogenów ESBL(+) w Europie zwiększa się z północy na południe: od 1% w Danii i Szwecji do 7-31% w Portugalii i Hiszpanii. W Polsce w 2008 roku wynosiła ona 11,1% (10).

W WIM pierwszy szczep *K. pneumoniae* KPC wykryto w sierpniu 2008 roku, w następnych 4 latach było ich 73. W porównaniu ze wzrostem liczby szczepów *Enterobacteriaceae*, wzrost kultur non-*Enterobacteriaceae*, wyrażany zarówno w liczbach bezwzględnych jak i procentowo, jest niższy niż w innych badaniach (11).

W analizowanym materiale bakterie Gram-ujemne stanowiły 64% izolowanych patogenów. Jest to zbliżone do obserwacji Messika i wsp. (12), że *Enterobacteriaceae* są częściej przyczyną respiratorycznego zapalenia płuc (ventilator-associated pneumonia, VAP) niż *Pseudomonas spp.* i *Acinetobacter spp.* Martin-Loeches i wsp. (13) analizowali 27 oddziałów intensywnej terapii w Europie; 27,6% przypadków za-



analysis of Timsit et al. They found that *Staphylococci* cause up to 26.2% (in studies including Europe, Asia, and South America) that arise in intensive care units. The percentage of coagulase negative *Staphylococci* in these studies were 10.9% and 19.7%, respectively (16).

Our results showed decreased numbers of isolated MRSA strains (except for in 2006 and 2011) and MRCNS strains (except for in 2006). Furthermore, the *Enterococci* represented 14.7% of isolated Gram-positive bacteria. The percentage of VRE was low (21 strains; 0.6%).

The efficiency of the analyzed antibiotics (except for colistin) against *P. aeruginosa* varied. We observed that bacterial resistance to ceftazidime decreased in the observation period, and in 2012, ceftazidime became the most effective antibiotic against *P. aeruginosa*; probably due to its restricted administration.

The resistance of *A. baumannii* strains to antibiotics has been increasing worldwide. The percentage of bacterial strains resisted to carbapenems in Europe varies between 0% in Estonia to 90% in Malta (17). Analyses from critical care units in southeast Poland revealed that 10.3% of *A. baumannii* were resistant to imipenem, 16.4% to meropenem, and 30% of pathogens were resistant to aminoglycosides (18). Our analysis showed that 20-30% of pathogens were resistant to both carbapenems and aminoglycosides. In the study of Munoz-Price et al. (6) 18.9% of isolated strains of *A. baumannii* were resistant to carbapenems, 100% to ciprofloxacin, 88% to amikacin, 7.6% to tigecycline, and 75% rifampicin, while 100% were susceptible to colistin with a breakpoint value of 4 µg/ml. All Gram-negative bacteria were susceptible to colistin.

Among Gram-positive bacteria, the situation was better. Cloxacillin was effective against MSSA infections; low resistance was reported to gentamicin and ciprofloxacin (in 2012, the rates were 3% and 4%, respectively). In 2012, little resistance was reported to erythromycin and clindamycin (18% and 14% respectively). In the case of MRSA infections, vancomycin, linezolid, and tigecycline demonstrated full effectiveness, with levels that remained unchanged during the studied period. In 2012, however, the resistance of MRSA strains to gentamicin, clindamycin, and rifampicin was high (55%, 67%, and 47%, respectively).

According to the data from other intensive care units (17), there were no resistance to vancomycin in all studied countries. Furthermore, resistance to rifampicin was 0% in Sweden, Croatia, and the Czech Republic, 1% in Hungary, 3.3% in Malta, 38.2% in Romania, and 90.1% in Turkey.

In our materials, 60% of MRCNS strains were resistant to gentamicin, 61% to clindamycin, and

palenia płuc było spowodowanych przez *E. coli* i *K. pneumoniae*.

Ponadto, dane z 55 oddziałów intensywnej terapii w Ameryce Południowej, Maroku i Turcji wskazują, że 55% izolowanych szczepów *Enterobacteriaceae* odpowiedzialnych za przypadki zapalenia płuc, zakażeń krwi i zakażeń układu moczowego miało mechanizm oporności ESBL (14). Badania nad zakażeniami typu VAP u pacjentów kardiochirurgicznych, przeprowadzone w Krakowie wykazały, że w 37,5% czynnikiem etiologicznym były patogeny Gram-ujemne, w tym ESBL(+) (15).

Najskuteczniejsze w stosunku do tych patogenów ciągle pozostają karbapenemy.

W WIM od 2010 roku obserwuje się zmniejszanie oporności na karbapenemy; w 2012 roku odsetek szczepów opornych wynosił 2%.

W analizowanym okresie liczba izolowanych każdego roku szczepów gronkowca złocistego utrzymywała się na stałym poziomie. W przypadku MRSA – poza pojedynczymi latami – obserwowano tendencję zniżkową. Gronkowce są odpowiedzialne za 9,6% (dane europejskie) do nawet 26% (badania przeprowadzane w Europie, Azji i Ameryce Południowej) zakażeń krwi związanych z obecnością cewników naczyniowych. W omawianych badaniach odsetek izolowanych szczepów gronkowca koagulazo-ujemnego wynosił odpowiednio 10,9% oraz 19,7% (16).

W materiale pobranym od pacjentów hospitalizowanych w WIM stwierdzono zmniejszanie się liczby izolowanych szczepów MRSA (poza rokiem 2006 i 2011) oraz szczepów MRCNS (poza rokiem 2006). Ponadto, enterokoki stanowiły 14,7% izolowanych bakterii Gram-dodatnich. Odsetek enterokoków opornych na wankomycynę był niski (21 szczepów; 0,6%).

Skuteczność analizowanych antybiotyków (poza kolistyną) w stosunku do *P. aeruginosa* była różna. W czasie obserwacji oporność bakteryjna na ceftazydym zmniejszała się, a w 2012 roku ceftazydym był najbardziej skutecznym antybiotykiem wobec *P. aeruginosa*; prawdopodobnie wskutek restrykcyjnego stosowania.

Oporność szczepów *A. baumannii* na antybiotyki zwiększa się na całym świecie, natomiast w Europie odsetek patogenów opornych na karbapenemy waha się od 0% w Estonii do 90% na Malcie (17). Analizy danych z oddziałów intensywnej terapii w południowo-wschodniej Polsce wskazują, że 10,3% szczepów *A. baumannii* było opornych na imipenem, 16,4% na meropenem, a 30% patogenów było opornych na aminoglikozydy (18). Od 20 do 30% izolowanych w WIM patogenów było opornych zarówno na karbapenemy jak i aminoglikozydy. W badaniu Munoz-Price i wsp. (6) 18,9% izolowanych szczepów *A. baumannii* było opornych na karbapenemy, 100% na ciprofloksacynę,

77% to ciprofloksacynę. Jednakże, nie znaleźliśmy żadnych MRCNS szczepów odpornych na wankomycynę. Nadal, skuteczność wankomycyny zależy od wartości MIC tego antybiotyku (19, 20).

*Enterococci* są trzecim najczęstszym przyczyną zakażeń szpitalnych (21). Nasze dane potwierdziły, że ampicylina była w pełni skuteczna przeciwko *E. faecalis* zakażeniom. Jednakże, *E. faecium* wykazywało wysoką odporność na antybiotyki. W 2005, 2010, i 2011 roku, odporność na ampicylinę przekroczyła 90%. Zwiększenie odporności *E. faecium* na ampicylinę jest związane z zmianami w PBP5, które powodują zmniejszenie powinowactwa do β-laktamów, w tym wszystkich penicylin i karbapenemów. W 2012 roku odporność *E. faecium* na gentamycynę zmniejszyła się do 22%, w porównaniu z 2005 rokiem.

Wankomycynopornych *E. faecalis* szczepów jest nadal dość rzadko (22). Nasza analiza potwierdziła, że odporność *E. faecium* na wankomycynę jest częściej obserwowana niż u *E. faecalis*. Nasze wyniki pokazały, że głównymi czynnikami etiologicznymi zakażeń krwi w naszym materiale były *Staphylococci* i ESBL-produkujące bakterie Gram-ujemne, które głównie powodowały zakażenia płuc. Zakażenia skóry i tkanek podskórnych były spowodowane przez zmieszane patogeny.

W oparciu o dane zebrane w naszym materiale byliśmy w stanie rozpoznać sytuację epidemiologiczną w naszym ośrodku, a także dostarczyć optymalne dane empiryczne do leczenia pacjentów szpitalnych. Zmniejszenie liczby zakażeń spowodowane przez *Staphylococci* (w tym MRSA) jest prawdopodobnie związane z poprawą procedur epidemiologicznych, w tym mycia rąk i dezynfekcji. Według danych nieopublikowanych w tym artykule, ilość środków dezynfekcyjnych używanych w naszym ośrodku wzrosła z 1,676 litrów w 2007 roku do 3,816 litrów w 2012 roku. Ponadto, wydatki na wankomycynę były niższe.

Nasz artykuł jest dużym, jednocentrowym, epidemiologicznym badaniem. Liczba takich analiz jest dość wysoka. Jednakże, większość z nich nie została przeprowadzona w Europie Środkowo-Wschodniej, w tym w Polsce. Na początku naszego badania znaleźliśmy tylko jeden artykuł analizujący epidemiologię zakażeń szpitalnych w Polsce (23). Znaleźliśmy, że nasz szpital, co do izolowanych patogenów i ich odporności na antybiotyki, może być reprezentatywny dla centrów europejskich, ze względu na niższą częstość zakażeń spowodowanych przez MRSA, brak odporności MRSA na wankomycynę, skuteczność karbapenemów przeciwko ESBL-produkującym patogenom, niską częstość zakażeń spowodowanych przez KPC i *A. baumannii* oraz skuteczność kolistin i tygecykliny.

Wiarygodne jest, że nasze obserwacje mogą być istotne w analizie trendów zmian etiologii zakażeń szpitalnych i odporności bakterii na antybiotyki.

88% na amikacynę, 7,6% na tygecyklinę, a 75% na rifampicynę, podczas gdy 100% szczepów było wrażliwych na kolistinę, przy punkcie odcięcia 4 µg/ml. Wszystkie bakterie Gram-ujemne były wrażliwe na kolistinę.

Sytuacja, co do bakterii Gram-dodatnich jest lepsza. Kloksacylina była antybiotykiem skutecznym w zakażeniach wywołanych przez MSSA; niewielki odsetek bakterii był odporny na gentamycynę i ciprofloksacynę (w 2012 roku było to odpowiednio 3% i 4%). W 2012 roku donoszono o niewielkiej odporności na erytromycynę i klindamycynę (odpowiednio 18% i 14%). Wankomycyna, linezolid i tygecyklina były antybiotykami w pełni skutecznymi w zakażeniach wywołanych przez MRSA; w analizowanym okresie dane te nie ulegały zmianom. Jednak w 2012 roku odporność szczepów MRSA na gentamycynę, klindamycynę i rifampicynę była wysoka (odpowiednio 55%, 67% i 47%).

Zgodnie z danymi z innych oddziałów intensywnej terapii (17), we wszystkich badanych krajach nie wyizolowano szczepów odpornych na wankomycynę. Ponadto, odporność na rifampicynę wynosiła 0% w Szwecji, Chorwacji i w Czechach, 1% na Węgrzech, 3,3% na Malcie, 38,2% w Rumunii i 90,1% w Turcji.

W analizowanym materiale 60% szczepów MRCNS było odpornych na gentamycynę, 61% na klindamycynę, a 77% na ciprofloksacynę. Jednak żaden ze szczepów MRCNS nie był odporny na wankomycynę. Ciągłą skuteczność wankomycyny zależy od wartości MIC tego antybiotyku (19, 20).

Enterokoki są trzecią co do częstości przyczyną zakażeń szpitalnych (21). Dane WIM potwierdzają, że ampicylina była w pełni skuteczna wobec *E. faecalis*. Jednak *E. faecium* jest patogenem wysoce odpornym na antybiotyki. W latach 2005, 2010 i 2011 odporność na ampicylinę przekroczyła 90%. Zwiększenie odporności *E. faecium* na ampicylinę jest związane z zmianami w PBP5, co powoduje zmniejszenie powinowactwa do β-laktamów, w tym wszystkich penicylin i karbapenemów. W 2012 roku odporność *E. faecium* na gentamycynę zmniejszyła się do 22%, w porównaniu z 2005 rokiem.

Rzadko izolowane są szczepy *E. faecalis* odporne na wankomycynę (22). Również w WIM odporność *E. faecium* na wankomycynę występuje częściej niż w przypadku szczepów *E. faecalis*. Głównym czynnikiem etiologicznym zakażeń krwi były gronkowce i bakterie Gram-ujemne wytwarzające ESBL, odpowiedzialne głównie za zakażenia płuc. Zakażenia skóry i tkanek podskórnych były wywoływane przez florę mieszaną.

Analiza uzyskanych danych pozwoliła na poznanie sytuacji epidemiologicznej w WIM oraz optymalne zastosowanie terapii empirycznej u hospitalizowanych pacjentów. Zmniejszenie liczby zakażeń wywołanych

## CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this paper.

## REFERENCES

1. Sierocka A, Cianciara M. Monitorowanie zakażeń szpitalnych. *Probl Hig Epidemiol* 2010; 91: 323-328.
2. Boucher HW, Talbot GH, Bradley JS, et al. Bad bugs, no drugs: no ESKAPE! An update from the Infectious Society of America. *Clin Infect Dis* 2009; 48: 1-12.
3. Vincent J, Rello J, Marshall J, et al. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *JAMA* 2009; 302: 2323-2329.
4. Vincent JL, Bihan DJ, Suter PM, et al.: The prevalence of nosocomial infection in intensive care units in Europe. *JAMA* 1995; 274: 639-644.
5. The EUCAST guideline on detection of resistance mechanisms [http://www.eucast.org/resistance\\_mechanisms/](http://www.eucast.org/resistance_mechanisms/). Access: December 11, 2016.
6. Munoz-Price LS, Arheart K, Nordmann P, et al. Eighteen years of experience with *Acinetobacter baumannii* in a tertiary care hospital. *Crit Care Med* 2013; 41: 2733-2742.
7. Clark NM, Zhanel GG, Lynh JP. Emergence of antimicrobial resistance among *Acinetobacter* species: a global threat. *Curr Opin Crit Care* 2016; 22: 491-499.
8. Dhanji H, Patel R, Wall R, et al. Variation in the genetic environments of bla(CTX-M-15) in *Escherichia coli* from the faeces of travelers returning to the United Kingdom. *J Antimicrob Chemother* 2011; 66: 1005-1012.
9. Kantele A, Lääveri T, Mero S, et al. Antimicrobials increase travelers' risk of colonization by extended-spectrum betalactamase producing *Enterobacteriaceae*. *Clin Infect Dis* 2015; 60: 837-846.
10. Coque TM, Baquero F, Canton R. Increasing prevalence of ESBL-producing *Enterobacteriaceae* in Europe. *Euro Surveill* 2008; 13: pii: 19044.
11. Glasner C, Albiger B, Buist G, et al. Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in Europe: a survey among national experts from 39 countries, February 2013. *Euro Surveill* 2013; 18: pii: 20525.
12. Messika J, Magdoud F, Clermont O, et al. Pathophysiology of *Escherichia coli* ventilator-associated pneumonia: implication of highly virulent extraintestinal pathogenic strains. *Intensive Care Med* 2012; 38: 2007-2016.
13. Martin-Loeches I, Deja M, Koulenti D, et al. Potentially resistant microorganisms in intubated patients with hospital-acquired pneumonia: the interaction of ecology, shock and risk factors. *Intensive Care Med* 2013; 39: 672-681.
14. Rosenthal VD, Maki DG, Salomao R, et al. Device-associated nosocomial infections in 55 intensive care units of 8 developing countries. *Ann Intern Med* 2006; 145: 582-591.
15. Wójkowska-Mach J, Baran M, Drwiła R, et al. [Ventilator-associated pneumonia after cardiac surgery][article in Polish]. *Anestezjol Intens Ter* 2009; 41: 224-229.
16. Timsit JF, Laupland KB. Update on bloodstream infections in ICUs. *Curr Opin Crit Care* 2012; 18: 479-486.
17. Hanberger H, Arman D, Gill H, et al. Surveillance of microbial resistance in European Intensive Care Units: a first report from the Care-ICU programme for improved infection control. *Intensive Care Med* 2009; 35: 91-100.
18. Kozioł-Montewka M, Jaworska-Gromaszek I, Biernacka J, et al. [Review of the effectiveness of an empirical antibiotic therapy in suspected ventilator-associated pneumonia][article in Polish]. *Anestezjol Intens Ter* 2011; 43: 163-168.
19. Choi EY, Huh JW, Lim CK, et al. Relationship between the MIC of vancomycin and clinical outcome in patients with MRSA nosocomial pneumonia. *Intensive Care Med* 2011; 37: 639-647.

20. Moise-Broder PA, Sakoulas G, Eliopoulos GM, Schentag JJ, Forrest A, Moellering RC Jr. Accessory gene regulator group II polymorphism in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* is predictive of failure of vancomycin therapy. *Clin Infect Dis* 2004; 38: 1700-1705.
21. European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). EARSS Annual Report 2006. <http://www.ecdc.europa.eu/en/activities/surveillance/EARS-Net/Pages/index.aspx>. Access: December 15, 2016.
22. Werner G, Coque TM, Hammerum AM, et al. Emergence and spread of vancomycin resistance among enterococci in Europe. *Euro Surveill* 2008; 13(47). pii: 19046.
23. Patzer J, Dzierżanowska D, Turner P. Susceptibility patterns of Gram-negative bacteria from Polish intensive care unit, 1997 – 2000. *Int J Antimicrob Agents* 2002; 19: 431-434.
- Received: 6.02.2017  
Accepted for publication: 20.04.2017  
Otrzymano: 19.01.2017  
Zaakceptowano do publikacji: 3.04.2017
- Author for correspondence:**  
**Adres do korespondencji:**  
Dr n. med. Aneta Guzek  
Pracownia Mikrobiologii Zakładu Diagnostyki Laboratoryjnej  
Wojskowy Instytut Medyczny  
Ul. Szaserów 128, 04-141 Warszawa  
tel: (+48) 261816497  
mail: aguzek@wim.mil.pl