Etiologija i mikrobiološka dijagnostika bakterijemije i sepse u zdravstvenoj ustanovi sekundarne razine

Eškinja, Helena

Master's thesis / Diplomski rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:152:597080

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Medicine Osijek

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK

Studij medicinsko laboratorijske dijagnostike

Helena Eškinja

ETIOLOGIJA I MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOSTIKA BAKTERIJEMIJE I SEPSE U ZDRAVSTVENOJ USTANOVI SEKUNDARNE RAZINE

Diplomski rad

Osijek, 2017.

Ovaj rad izrađen je u: Zavodu za javno zdravstvo Virovitičko – podravske županije i u Katedri za mikrobiologiju i parazitologiju Medicinskog fakulteta Osijek, Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Mentor: doc. dr. sc. Domagoj Drenjančević, dr. med. spec. medicinske mikrobiologije s parazitologijom

Rad ima: 40 listova, 7 tablica i 8 slika

Na početku,

Najprije želim zahvaliti svome mentoru, predsjedniku Katedre za mikrobiologiju i parazitologiju Medicinskog fakulteta Osijek doc. dr. sc. Domagoju Drenjančeviću, dr. med., spec. medicinske mikrobiologije s parazitologijom, na svom znanju, strpljenju, nesebičnim stručnim savjetima, pomoći pri izboru stručne literature i susretljivosti tijekom izrade i pisanja ovoga rada.

Također veliko hvala voditelju Djelatnosti za mikrobiologiju ZZJZ Virovitičko - podravske županije, dr. med. Saši Baranjec, spec. mikrobiologije, na pomoći u sakupljanju podataka, ustupanju stručne literature prilikom izrade diplomskog rada, te na susretljivosti, podršci i razumijevanju u periodu studiranja.

Najljepša hvala mojoj obitelji, kolegama i prijateljima na spremnosti za pomoć, podršci i razumijevanju iskazanom tijekom studiranja.

Helena Eškinja

SADRŽAJ

1. UVOD 1

1.1. Intenzitet, trajanje i podjela bakterijemije 4

1.2. Patogeneza i etiologija bakterijemije i sepse 5

1.3. Ishodišta sepse 6

1.3.1. Urosepsa 7

1.3.2. Septičke pneumonije 8

1.3.3. Sepsa u postoperativnom razdoblju 8

1.3.4. Endokarditis 8

1.4. Epidemiologija 8

1.5. Dijagnostika bakterijemije i sepse 9

1.5.1. Molekularna dijagnostika sepse 9

1.6. Liječenje i prognoza 10

1.7. Prevencija 11

2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA 12

3. ISPITANICI I METODE 13

3.1. Ustroj studije 13

3.2. Ispitanici 13

3.3. Metode 13

3.4. Statistička obrada podataka 14

4. REZULTATI 15

4.1. Učestalost pozitivnih hemokultura tijekom promatranog razdoblja i raspodjela prema dobi, spolu bolesnika i prema najučestalijim izolatima 15

4.2. Prikaz osjetljivosti najčešćih izolata hemokultura na antibiotike 20

5. RASPRAVA 27

6. ZAKLJUČAK 30

7. SAŽETAK 31

8. SUMMARY 33

9. LITERATURA 35

10. ŽIVOTOPIS 38

11. PRILOZI 40

POPIS KRATICA KORIŠTENIH U TEKSTU

ABS – acidobazni status

ACCP - engl. ***A**merican **C**ollege of **C**linical **P**harmacy*, Američko udruženje torakalnih liječnika

AKN - amikacin

AMC – amoksicilin + klavulonska kiselina

AMP - ampicilin

AmpC – betalaktamaze

ATB – antibiotik

BHS-B – β hemolitički streptokok grupe „B“

CIP – ciprofloksacin

CL – kolistin

CMN - klindamicin

CRO - ceftriakson

CZD – ceftazidim

CXM – cefuroksim

DNK - deoksiribonukleinska kiselina

ERY – eritromicin

ESBL – engl. ***E**xtended **s**pectrum **b**eta **l**actamases*, beta laktamaze proširenog spektra

ETP - ertapenem

EUCAST – engl. ***Eu**ropean **C**ommittee on **A**ntimicrobial **S**usceptibility **T**esting*, Europski odbor za testiranje osjetljivosti na antibiotike

FEP – cefepim

FOX - cefoksitin

GMN – gentamicin

IPM – imipenem

JIL – jedinica intenzivnog liječenja

KKS – kompletna krvna slika

LZD – linezolid

MEM – meropenem

MRAB - multirezistentni *Acinetobacter baumannii*

MRSA – meticilin rezistentni *Staphylococcus aureus*

MUP – mupirocin

PCR – engl. ***P****olymerase* ***C****hain* ***R****eaction*, lančana reakcija umnožavanja polimerazom, lančana sinteza polimerazom, amplifikacija polimerazom ili polimerazna amplifikacija, metoda kojom se umnožavaju molekule DNK

PIRO – engl. ***p****redisposition,* ***i****nfection,* ***r****esponse and* ***o****rgan failure*, predispozicija, infekcija, odgovor i zatajenje organa, sustav klasificiranja sepse

PTZ – piperacilin + tazobaktam

SAM – ampicilin + sulbaktam

SCCM - engl**.** ***S****ociety of* ***C****ritical* ***C****are* ***M****edicine*, udruženje liječnika intenzivne medicine

SIRS - engl. ***S****ystemic* ***i****nflammatory* ***r****esponse* ***s****yndrome,* sindrom sustavnog akutnog upalnog odgovora organizma

SOFA score – engl. ***S****eqential* ***o****rgan* ***f****ailure* ***a****ssessment,* sekvencijalna procjena zatajenja organa

SXT - trimetoprim + sulfametoksazol

VCN – vankomicin

VRE – vankomicin rezistentan *Enterococcus*

ZZJZ VPŽ – Zavod za javno zdravstvo Virovitičko – podravske županije

1. UVOD

Napretkom moderne medicine nastoji se raznim mjerama spriječiti nastanak infekcije ili provesti liječenje odgovarajućom antibiotskom terapijom. Unatoč tome, bakterije su u proteklom periodu uspjele razviti značajnu otpornost na antibiotike, što predstavlja jedan od vodećih problema današnje medicine. Osim pojave rezistentnih Gram pozitivnih bakterija kao što su stafilokoki, enterokoki i pneumokoki u proteklom desetljeću u cijelom svijetu značajan problem predstavljaju multirezistentne Gram negativne bakterije, pseudomonas i acinetobakter, te enterobakterije, a osobito one koje proizvode karbapenemaze, koje mogu uzrokovati i bolničke i izvanbolničke infekcije (1). Sve navedeno može stvarati teškoće u liječenju teških infekcija kao što su sepse, te je od velikog značaja pravovremena i točna mikrobiološka dijagnostika takvih stanja.

Bakterijemija podrazumijeva stanje prisutnosti živih bakterija u cirkulirajućoj krvi, a dokazuje se izolacijom bakterija iz krvi na bakteriološkim podlogama (2). Prodor bakterija u krv može proteći bez ikakvih simptoma (asimptomatska bakterijemija) ili može prouzročiti pojavu općih simptoma upalnog odgovora organizma koja bi označavala bakterijemiju u kliničkom smislu (3). Septikemija je pojam sustavne bolesti uzrokovane umnožavanjem bakterija u cirkulirajućoj krvi. Pojam septikemije isprepliće se sa pojmom sepse, jer ga neki autori upotrebljavaju da bi označili samo umnožavanje bakterija u cirkulirajućoj krvi (2).

Sepsa je klinička manifestacija bakterijske, gljivične, virusne ili parazitarne infekcije. Najčešće je stanje koje proistječe iz dugotrajne ili opetovane bakterijemije, a uz opće simptome pojavljuju se i simptomi zahvaćenosti različitih organa (nova septička žarišta). Sepsa je tijekom povijesti odavno poznata, opisana je pred više od 2000 godina. 100 g. pr. Krista, Marcus Terentius Varro, učenjak i pisac iz starog Rima napisao je: „Mala stvorenja, nevidljiva oku, ispunjavaju atmosferu, udišu se kroz nos i uzrokuju opasne bolesti“. Sepsu je zatim u svojoj raspravi „The Prince“ opisivao i Niccolo Machiavelli, 1513. godine (4). U kasnijim pokušajima, u prošlom stoljeću, američki liječnik William Osler u svojoj opservaciji spominje kako pacijent prije umire od odgovora tijela domaćina na infekciju, nego od same infekcije, smatran oblikom trovanja krvi (5).

1992. godine Američko udruženje torakalnih liječnika (ACCP) i udruženje intenzivne medicine (SCCM) zajednički su objavili konsenzus definicije novim saznanjima o patogenezi,

koja je 2001. godine revidirana: smatra se da infekcija, sama po sebi nije uzrok zatajivanja organa u sepsi, već je za to odgovorna upalna reakcija organizma, sindrom sustavnog upalnog odgovora, engl. ***s**ystemic **i**nflammatory **r**esponse **s**yndrome* (SIRS), akutni upalni odgovor cijelog tijela („sustava“) bez dokazanog izvora infekcije, sa sistemskim manifestacijama prouzročen oslobađanjem brojnih endogenih posrednika upale u krvotok (npr. citokini, prostaglandini i sl.). Najznačajniji rezultat konferencije iz 2001. godine bio je prijedlog „predispozicija, infekcija, odgovor i poremećaj funkcije organa“, PIRO sistem za stupnjevanje sepse. PIRO koncept je bio analog stadijima karcinoma i drugim medicinskim stanjima koji bi omogućili razdvajanje pacijenata sa sepsom po skupinama (6). Primjenjujući konsenzus o definiciji, slijedeća je procjena rizika smrtnosti: sepsa 10 – 20 %, teška sepsa 20 – 50 %, septički šok 40 - 80 % (7) .

Stanje sepse je teško za prepoznati i dijagnosticirati budući se simptomi ne moraju pojaviti u svih pacijenata ili u istog pacijenta u svim fazama septičkog odgovora, što znači da niti jedan od njih nije specifičan za sepsu. Većina pacijenata će imati simptome SIRS - a, ali je ključno prepoznati infekciju, te u tom slučaju govorimo o sepsi. Najmanje dva od navedenih kriterija moraju biti ispunjena, koji bi po definiciji bili dijagnosticirani kao SIRS (Tablica 1.)

Tablica 1. Kriteriji pri dijagnosticiranju SIRS-a

Tahipneja	• Respiratorna frekvencija > 20 / min., odnosno potreba za više od 10 L / min. u mehanički ventiliranih bolesnika
Tahikardija	• puls > 90 / min
Febrilitet	• > 38º C rektalno • topla zacrvenjena koža
Broj leukocita	• > 12,0 x 10^{9}/ L , ili < 4,0 x 10^{9} / L • neutrofilija
Povišene vrijednosti C-reaktivnog proteina (CRP)	• > 8 mg / L

Dok se sindrom sepse manifestira kroz znakove prikazane u tablici 2.

Tablica 2. Znakovi sindroma sepse

Hipotermija	• < 35ºC rektalno
Parcijalni CO_2, pCO_2	• < 4,3 kPa (32 mm Hg)
Promjena u koagulacijskim parametrima	
Smanjena diureza	



Slika 1. Shematski prikaz nastanka sepse

Ova stanja mogu progredirati do teške sepse, koja je definirana kao sepsa udružena s organskom disfunkcijom, hipoperfuzijom ili hipotenzijom ili septičkim šokom, koji se definira kao sindrom sepse uz hipotenziju (manje od 90 mm Hg sistolički tlak, ili za više od 40 mm Hg niži u hipertenzivnih bolesnika), te na kraju refraktornim septičkim šokom, koji traje duže od jednog sata i koji perzistira unatoč adekvatnoj nadoknadi tekućine uz farmakološku terapiju (3).

Praksa da se febrilnim bolesnicima uzima krv za izolaciju bakterija, stara je oko 75 godina. Započela je sustavno 1940. godine, a već 1941. pojavljuju se prvi izvještaji sa opisom učestalosti pojedinih bakterija izoliranih iz krvi (2).

Studije iz Sjedinjenih Američkih Država pokazuju kako je incidencija sepsi od 1979 - 2000. godine iznosila 1,3 % od svih hospitalizacija i da je u tom periodu rasla 8,7 % godišnje. Slični rezultati zabilježeni su Velikoj Britaniji, Australiji i Hrvatskoj (8, 9, 10).

Incidencija sepse se povećala tijekom vremena, povezana je sa povećanim brojem hospitalizacija, produženim boravkom pacijenata u jedinicama intenzivnog liječenja (JIL), povećanom antimikrobnom terapijom, primjenom umjetnih implantata, produljenim trajanjem mehaničke ventilacije, uz stalne čimbenike rizika, kao što su: dijabetes melitus, maligne bolesti, alkoholizam ili HIV koji vjerojatno doprinose povećanju incidencije sepse (11).

Sepse se navode kao drugi vodeći uzrok smrtnosti u nekoronarnim jedinicama intenzivnog liječenja (12, 13). Također, diljem svijeta predstavljaju jedan od najvažnijih uzroka smrtnosti, stoga je od osobita značaja antimikrobna terapija, koja se uvodi prvo empirijski, a zatim ciljano prema rezultatu antibiograma izoliranog patogena.

1.1. Intenzitet, trajanje i podjela bakterijemije

Prolazna bakterijemija je kratkog trajanja i bez ponavljanja, dok se povremena bakterijemija javlja u određenim vremenskim intervalima, pravilnim i nepravilnim, ukoliko se bakterije nađu u krvotoku. Trajna ili kontinuirana bakterijemija znači da su bakterije prisutne u cirkulaciji tijekom cijelog razdoblja infekcije.

Perzistentna bakterijemija označuje pojam nemogućnosti mehanizma čišćenja koji bi uklonio bakterije iz krvi i ispreplići se sa pojmom trajne bakterijemije. Posebna podvrsta perzistentne bakterijemije je tzv. „prodorna“ bakterijemija, kojom označujemo bakterijemiju koja traje unatoč primjeni antimikrobne terapije antibiotikom koji je *in vitro* djelotvoran na izoliranu bakteriju. Uzrok nastanka takve bakterijemije mogu biti nedovoljne doze primijenjenog antibiotika. Postoji također i rekurentna bakterijemija, koja označuje dvije ili više epizoda bakterijemije između kojih postoji interval bez bolesti (2).

Intenzitet bakterijemije definira se brojem kolonija bakterija izoliranih iz 1 mL krvi, veći je kod Gram pozitivnih bakterijemija u odnosu na Gram negativne bakterijemije. Također je intenzitet veći u djece i dojenčadi, nego u odraslih, i u pozitivnom je međuodnosu sa težinom infekcije (2).

Prema izvoru bakterijemije se dijele na primarne, kojima je izvor nepoznat, i sekundarne kod kojih je izvor bakterijemije poznat.

Prema mjestu nastanka bakterijemije dijelimo na izvanbolničke (češće sekundarne) i bolničke (češće primarne).

Prema broju izoliranih vrsta bakterijemije se dijele na: monomikrobne i polimikrobne (2).

Smrtnost izazvanu sepsom često je vrlo teško odijeliti od smrtnosti kojoj je sepsa samo još jedan dodatni uzrok.

1.2. Patogeneza i etiologija bakterijemije i sepse

Patogeneza je vrlo usko povezana sa etiologijom, iz razloga što je svaka infekcija rezultat poremećenog odnosa između mehanizma obrane domaćina i determinanti bakterijske patogenosti. Prvi korak je adhezija bakterija na stanice sluznice putem specifičnih receptora, zatim njihovo umnažanje na sluznici (kolonizacija), i nakon toga prolaz između stanica sluznice (npr. ždrijelo, crijevo) u limfne čvorove, te dalje u krvotok (3).

Sepsa se razvija kao posljedica infekcijom potaknute upalne reakcije. Kliničke pojave koje prethode razvoju sepse i septičkog šoka su vrlo složeni, posebice kod imunokompromitiranih pacijenata, predisponirajućih čimbenika: dijabetes melitus, ciroza, neke maligne bolesti, kod kirurškog zahvata: implantirane protetičke naprave: srčane valvule, zglobovi, i invazivnih naprava: endotrahealni tubusi, vaskularni i urinarni kateteri ili drenovi. Pacijenti kojima je u osnovi jedno od težih oboljenja, imaju veću vjerojatnost da sepsa progredira do teže kliničke slike s ozbiljnim posljedicama. Za vrijeme infekcije mikroorganizmima dolazi do protektivne aktivacije imunološkog sustava, ali se ipak kod određenog broja pacijenata javlja sepsa, kao posljedica disregulacije imunološkog sustava. Organizam odgovara brojnim mehanizmima: oslobađanjem citokina, kemokina, prostaglandina, lipidnih medijatora, aktivacijom neutrofila, monocita, endotelnih stanica, komplementa, te sustava koagulacije i fibrinolize, koji za posljedicu mogu rezultirati mikrovaskularnom ozljedom, teškom kliničkom slikom, višestrukim zatajivanjem organa, lošom prognozom, odnosno smrtnim ishodom (11, 14, 15).

Prvotna mišljenja su bila da je sepsa smatrana kao odgovor na endotoksin, odnosno relativno specifična za Gram negativne bakterije, no zadnjih 25 godina u epidemiološkim studijama dokazano je da su Gram pozitivne bakterije češći uzročnici sepse (16).

Bakterijemiju i sepsu mogu prouzročiti različite vrste bakterija, ali i neki nebakterijski uzročnici, kao što su virusi i gljive (17, 18).

Najčešći izolirani mikroorganizmi u nozokomijalno nastalim sepsama kod pacijenata pri dugotrajnom boravku u jedinicama intenzivnog liječenja su Gram negativne bakterije koje mogu stvoriti kliničku sliku s pojavom tzv. endotoksičnog šoka, za što su odgovorni endotoksini, koji nastaju razgradnjom bakterija. Najčešće su to *Escherichia coli*, uzročnici iz roda *Klebsiella*, te njihovi sojevi koji produciraju beta – laktamaze proširenog spektra, engl. ***e**xtended **s**pectrum **b**eta **l**actamases* (ESBL sojevi), *Proteus, Enterobacter, Serratia, Pseudomonas aeruginosa* i *Acinetobacter* (19, 20). Na Gram pozitivne bakterije, kao što su *Staphylococcus aureus*, koagulaza negativan *Staphylococcus* spp., treba pomisliti u slučaju nedavno implantiranih protetičkih naprava, na primjer: srčane valvule, zglobovi, pacemakeri / defibrilatori, te urinarni i vaskularni kateteri.

Infekcije gljivama su vjerojatne u pacijenata koji su bili na dugotrajnoj terapiji steroidima i antibioticima širokog spektra, odnosno kao posljedica učinkovitog liječenja bakterijskih infekcija kada dolazi do porasta incidencije sepsi čiji su uzročnici gljive, od kojih je najčešća *Candida albicans*, a sve više se spominju i druge vrste (*C. torulopsis, C. glabrata i C. krusei*) (12, 13, 21).

1.3. Ishodišta sepse

Dijagnoza sepse je postupak koji započinje kliničkom sumnjom temeljenom na pažljivoj anamnezi i fizikalnom pregledu. Kliničar indicira vrijeme uzimanja hemokultura i ukupnu količinu krvi koja se uzorkuje. To je specifična pretraga koja pridonosi etiološkoj dijagnozi sepse. Uz hemokulture indiciran je obično i veliki broj hematoloških i biokemijskih pretraga, čiji rezultati pokazuju promjene u organizmu septičkog bolesnika, koje su patognomične, ali ujedno i nespecifične za uzročnika. Budući da je terapija sepse, uz potporu, nužno i ciljana antimikrobna, uvijek treba nastojati doći i do etiološke dijagnoze (3).

Podložnost čovjeka nastanku sepse, njezinom intenzitetu, odnosno narušenost njegovih prirodnih obrambenih sustava: kože, sluznice respiratornog i gastrointestinalnog trakta, urinarnog trakta, staničnog i humoralnog imunološkog sustava ovisi i o životnoj dobi, općem stanju bolesnika, njegovim kroničnim bolestima i drugim poticajnim čimbenicima.

Zato su sepse češće u novorođenčadi i male djece, u dijabetičara, imunokompromitiranih bolesnika, te u gerijatrijskoj dobi (3).

Respiratorne infekcije su najčešći uzroci sepse, čineći polovicu svih uzroka sepse. Sljedeći najčešći uzroci su genitourinarni i abdominalni izvori infekcije sa primarnom bakterijemijom, a potom slijede nepoznati uzroci. Učestalost akutne disfunkcije organa je povezana sa izvorom infekcije, a pacijenti sa respiratornim infekcijama su u većem riziku za razvojem poremećaja funkcije dišnih organa (16).

Novorođenačka sepsa nastaje aspiracijom ili gutanjem inficirane amnijske tekućine, ili zbog infekcije pupka, nakon čega dolazi do širenja bakterija krvnom cirkulacijom. Najčešći su uzročnici *E. coli* i druge Gram negativne bakterije, zatim *Streptococcus agalactiae* (BHS - B), *Listeria monocytogenes* i *S. aureus* (3).

Hospitalne sepse se pojavljuju nakon kirurških zahvata i u bolesnika s teškim kroničnim ili malignim bolestima. Česte su u JIL - u, osobito kod različitih agresivnih dijagnostičkih terapijskih zahvata, kojima se narušava integritet kože i sluznica. Takvim se postupcima uzročnici izravno unose u krvotok, a jedan od najčešćih mjesta za nastanak sepse su kontaminirani endovaskularni kateteri („kateter sepsa“) (3).

Najčešći uzročnici bolničkih sepsi su u preko dvije trećine slučajeva Gram negativne bakterije (*Enterobacteriaceae, Pseudomonas* i *Acinetobacter*), a od ostalih uzročnika meticilin rezistentan *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Enterococcus* i gljive (3).

Izvanbolnički stečene sepse uglavnom nastaju zbog prodora bakterija u krvotok iz nekog žarišta, najčešće iz urogenitalnog, probavnog ili respiratornog sustava. Najčešći uzročnici su *E. coli* i druge Gram negativne bakterije, *Streptococcus pneumoniae* i drugi streptokoki, te *Neisseria meningitidis* (3).

1.3.1. Urosepsa

Urosepsa se javlja kod bolesnika sa slikom septičkog pijelonefritisa uz znakove od strane urinarnog trakta. Javlja se i povišena tjelesna temperatura (> 38,5°C), te tresavica. Učestalost pozitivnih hemokultura tijekom pijelonefritisa kreće se oko 40 %. Bakterije izolirane iz urinokulture uz ostale nalaze potvrđuju infekciju te pridonose adekvatnoj ciljanoj antibiotskoj terapiji.

1.3.2. Septičke pneumonije

Septičke pneumonije su najteže i najznačajnije infekcije po učestalosti, teškom tijeku i smrtnosti. Brza etiološka dijagnoza ovdje je od posebnog značaja. Pored hemokulture potrebno je obraditi i uzorke sputuma, te ukoliko je indicirano i bronhoskopske uzorke.

1.3.3. Sepsa u postoperativnom razdoblju

Sepsa u postoperativnom razdoblju se javlja kod infekcija rana, koje mogu biti traumatske, a gotovo su uvijek kontaminirane bakterijama, i kirurške, koje se mogu inficirati florom samog bolesnika ili od strane medicinskog osoblja za vrijeme operacije ili postoperativno, prilikom njege bolesnika.

Zbog teškoća u interpretaciji mikrobiološkog nalaza uzorka iz rane (više mogućih uzročnika, kolonizacijska flora) potrebno je kod sumnje na razvoj sepse pokušati dokazati uzročnika iz kulture krvi.

1.3.4. Endokarditis

Endokarditis predstavlja najznačajniji oblik infekcije vaskularnog endotela. Budući je mjesto infekcije izloženo protoku krvi, mikroorganizmi u pravilu stalno prelaze u krv (perzistentna bakterijemija) i može se očekivati visok postotak pozitivnih hemokultura, koji iznosi oko 90 % kod akutnog endokarditisa (2).

1.4. Epidemiologija

U prošlosti se etiologija sepsi uvijek povezivala s Gram negativnim bakterijama zbog otpuštanja endotoksina. Danas znamo da sepsu mogu uzrokovati sve bakterije, kao i gljive i virusi. Najnovije epidemiološke studije iz SAD – a otkrivaju da su Gram pozitivne bakterije postale najčešći uzročnici sepsi u posljednjih 25 godina, te da je prisutan značajan porast gljiva kao uzročnika sepsi, tako da su 2000. godine Gram pozitivne bakterije bile izolirane u 52,1 % slučaja, Gram negativne u 37,6 %, polimikrobne infekcije u 4,7 %, anaerobi u 1 % i gljive u 4,6 % slučajeva sepse (7).

Rizik od smrti pacijenata sa sepsom se smanjivao tijekom posljednja tri desetljeća. Prema podatcima iz 1979. godine, rizik je iznosio blizu 30 %, a 2000. godine rizik je ispod 20 %. Međutim, ukupan broj sepsi sa smrtnim ishodom je u porastu i sličan je broju umrlih od

akutnog srčanog infarkta miokarda, a daleko veći od broja pacijenata koji umiru od karcinoma dojke i moždanog udara (7, 17).

1.5. Dijagnostika bakterijemije i sepse

Dijagnostika bakterijske sepse u svakodnevnom radu je zasnovana na adekvatnim anamnestičkim podatcima i o eventualnom primarnom žarištu, kliničkim pregledom bolesnika, te hematološkim, biokemijskim i mikrobiološkim nalazima (3). Krvna slika pokazuje najprije nizak broj leukocita (< 4,0 x 10^9 / L), a nakon 1 - 4 sata raste i do > 15,0 x 10^{9}/ L, broj trombocita se može smanjiti na < 50 x 10^{9}/ L. Uz ovakve nalaze često se javlja i povišen CRP. Uz ostalu dijagnostiku, potrebno je učiniti KKS, ABS, parcijalni pCO_2, odrediti elektrolite, parametre jetrene funkcije, metaboličke produkte (urea, kretatinin) koji su obično povišeni zbog renalne insuficijencije (22).

Prije uvođenja antibiotske terapije obvezno se uzima uzorak krvi za hemokulturu. Najpravilniji način uzimanja krvi za hemokulturu je taj da se istodobno uzima krv za dvije bočice s tekućom podlogom od kojih se jedna obrađuje aerobnom, a druga anerobnom kultivacijom i to predstavlja jedan set ili parnu hemokulturu i za interpretaciju rezultata smatra se jednom hemokulturom. Za dijagnostiku akutne sepse preporuča se uzeti 2 - 3 seta hemokultura s različitih mjesta venepunkcije.

Hemokultura iz koje je izolirana bakterija smatra se pozitivnom hemokulturom. S obzirom na vjerodostojnost ili istinitost izolata iz krvi, hemokultura može biti stvarno pozitivna, što označuje bakterijemiju, ili lažno pozitivna, što se naziva pseudobakterijemijom i rezultat je kontaminacije uzorka krvi na nekom od mjesta od uzimanja do nasađivanja uzorka na podloge (2).

1.5.1. Molekularna dijagnostika sepse

Nakon više od sto godina, dok je kultura krvi bila jedini „zlatni standard“ u rutinskoj dijagnostici ne - virusnih uzročnika sepsi pojavile su se i molekularne metode poput

„multiplex real - time“ PCR - a za otkrivanje i identifikaciju patogena u krvnoj cirkulaciji kod sumnje na sepsu.

Primjer takvog testa je LightCycler® SeptiFast (RocheMolecular Systems Inc, USA) koji otkriva DNA kod 25 najznačajnijih bakterija i gljiva uzročnika sepse, izravno iz 1,5 mL pune krvi unutar 6 sati, bez potrebe za prethodnom inkubacijom i kultivacijom.

Prednost ovakve metode je ranije započinjanje primjene ciljane terapije, te znatno veća osjetljivost testa u odnosu na klasičnu kulturu krvi. Neka istraživanja su pokazala da je osjetljivost kulture krvi od 37 – 53 %, a SeptiFasta 83 – 88 %.

Nedostatak dokazivanja sepse molekularnom dijagnostikom uspoređujući sa kulturom krvi je znatno veća cijena, te nemogućnost dokazivanja uzročnika koji nisu obuhvaćeni panelom ponuđenih uzročnika (23).

Molekularna dijagnostika sepse zacijelo će u budućnosti biti jedan od značajnijih izbora dokazivanja, ali kultura krvi za sada još uvijek ostaje temeljna metoda.

1.6. Liječenje i prognoza

Sepsa je i danas jedan od vodećih uzroka smrtnosti u bolnicama. Kritičnu skupinu pacijenata čine novorođenčad i gerijatrijska populacija. Rano prepoznavanje ovog kliničkog sindroma kod pacijenata sa sepsom od izuzetne je važnosti radi adekvatne njege u JIL - u, koji znatno mogu poboljšati ishod, odnosno spriječiti pojavu septičkog šoka koji može postati ireverzibilan i smrtonosan (17).

Kod provođenja antimikrobne terapije važna su dva čimbenika:

1. Rana antimikrobna terapija uvedena u prikladno vrijeme. Osobito kod pacijenata sa pneumonijom i kod onih sa septičkim šokom, čije odgađanje terapije u početnoj fazi za posljedicu ima veću stopu smrtnosti (24). Posebice u septičkom šoku, gdje se rizik smrtnosti povećava za oko 10 % u svakom satu odgođene primjene antibiotika (25).
2. Izbor odgovarajućeg antibiotika, jer primjena neodgovarajućeg antibiotika istovjetna je izostanku pravovremene primjene terapije i predstavlja značajan čimbenik lošeg kliničkog ishoda (26, 27).

Ova načela dovode do zaključka da bi kombinacija antibiotika mogla biti superiornija u odnosu na monoterapiju (28). U određenim slučajevima sama antimikrobna terapija nije dostatna za liječenje infekcije koja uzrokuje sepsu, već je u tim slučajevima nužno ukloniti ishodište infekcije, npr.: apsces se mora drenirati, a nekrotično tkivo kirurški odstraniti (29).

Antibiotike treba primjeniti parenteralno, ali nakon što se uzmu uzorci krvi, tjelesnih tekućina i brisevi za bojanje po Gramu i za kultivaciju, koji mogu poslužiti u dokazivanju primarnog žarišta infekcije. Započinje se empirijska primjena antibiotske terapije koja ovisi o vjerojatnom izvoru infekcije, bolničkom okružju, poznavanju uzročnika i njihove osjetljivosti specifičnih za određeni odjel te ranijem mikrobiološkom nalazu (22).

Nakon izolacije i identifikacije uzročnika, te određivanja osjetljivosti na antibiotike uvodi se ciljana terapija, a prosječno trajanje liječenja je od 10 do 14 dana, a po potrebi i dulje (3).

1.7. Prevencija

Sepsu kao posljedicu bolničke infekcije uzrokuju mikoorganizmi koji imaju naročitu sposobnost preživljavanja i širenja u bolničkom okruženju i razvoja otpornosti na brojna antimikrobna sredstva.

Pojavu i širenje takvih mikroorganizama sprječava pridržavanje higijensko - epidemioloških mjera kao što su redovito pranje ruku, adekvatno održavanje medicinske opreme, radnih površina, mijenjanje rukavica i perfuzijskih tekućina, dodatni oprez kod invazivnih postupaka (intubacija, uvođenje katetera), pri njezi rana i kod operativnih zahvata (30).

Osim toga, od izuzetne važnosti za sprječavanje širenja rezistentnih bolničkih mikroorganizama je i provođenje mjera kontaktne izolacije pacijenata sa kolonizacijom i / ili infekcijom takvim patogenima, te kontrola racionalne uporabe antibiotika širokog spektra.

2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Prepoznajući važnost i značaj problema pojave sepse u pacijenata, te sve veće incidencije multirezistentnih izolata iz hemokultura u bolesnika hospitaliziranih u Općoj bolnici Virovitica, a obrađenih u Zavodu za javno zdravstvo Virovitičko - podravske županije u periodu od 2011. - 2015. godine postavljeni su sljedeći ciljevi ovog istraživanja:

1. ispitati i opisati etiologiju bakterijemije i sepse u hospitaliziranih bolesnika u zdravstvenoj ustanovi sekundarne razine, odnosno u Općoj bolnici Virovitica u periodu od 1. 1. 2011. - 31. 12. 2015. godine

2. ispitati učestalost uzročnika bakterijemije i sepse u Općoj bolnici Virovitica

3. ispitati osjetljivost bakterija na antibiotike izoliranih iz hemokultura

4. ispitati i prikazati trendove rezistencije uzročnika bakterijemije i sepse na antibiotike na području Virovitičko - podravske županije

3. ISPITANICI I METODE

3.1.Ustroj studije

Opažajno (opservacijsko) retrospektivno istraživanje (31).

3.2. Ispitanici

Ispitanici u ovom istraživanju bili su bolesnici kojima je uzorkovana krv za hemokulture čija je klinička sumnja bila usmjerena na stanje bakterijemije i sepse. Hemokulture su uzete kod pacijenata hospitaliziranih u Općoj bolnici Virovitica, a obrađenih u Djelatnosti za mikrobiologiju Zavoda za javno zdravstvo Virovitičko - podravske županije u periodu od 1. 1. 2011. - 31. 12. 2015. godine. Pacijenti nisu aktivno sudjelovali kao ispitanici u istraživanju. U obradu podataka uvršteni su izolati, čiji ponavljajući izolati u jednog pacijenta nisu uključeni ukoliko je isti izolat izoliran u razmaku manjem od mjesec dana.

3.3. Metode

Podatci o testiranim bolesnicima korišteni za ovo istraživanje, dobiveni su retrospektivno uvidom u arhivsku građu i elektronsku bazu podataka tijekom petogodišnjeg perioda (2011. - 2015. godine) u Djelatnosti za mikrobiologiju ZZJZ Virovitičko - podravske županije u Virovitici. Uzorci su uzeti od bolesnika hospitaliziranih u Općoj bolnici Virovitica obrađeni mikrobiološkim pretragama prema rutinskom protokolu u skladu s pravilima struke, standardiziranim metodama izolacije i identifikacije bakterija (Prilog 1, 2, 3). Ispitivanje osjetljivosti na antibiotike kao i kriterij interpretacije rezultata bio je standardizirani sustav važeće verzije EUCAST - a (European Committee on Antimikrobial Suiceptibiliy Testing) sukladno naputcima Odbora za praćenje rezistencije bakterija na antibiotike pri Akademiji medicinskih znanosti Hrvatske (1, 32). Anonimnost ispitanika u ovom istraživanju osigurana je na način da su za istraživanje korišteni slijedeći podatci: dob i spol bolesnika, bolnički odjel u kojem je bolesnik hospitaliziran, vrsta uzročnika i osjetljivost izoliranog uzročnika na antibiotike. Za provođenje predloženog istraživanja dobivena je suglasnost Etičkog povjerenstva ZZJZ Virovitičko – podravske županije.

3.4. Statistička obrada podataka

Podatci definirani ciljevima istraživanja kao i rezultati provedenog ispitivanja prikazani su tabelarno i grafički, te obrađeni deskriptivnom statistikom. Kategorijski podatci predstavljeni su apsolutnim i relatvnim frekvencijama. Razlike kategorijskih varijabli testirane su hi - kvadrat testom ili Fischerovim egzaktnim testom. Sve P vrijednosti su dvostrane. Razina značajnosti podešena je na $\alpha = 0,05$. Podatci su statistički analizirani uporabom informatičkog programa SPSS (inačica 16.0, SPSS Inc., Chicago, IL, SAD) i Microsoft Office Excel tabličnim kalkulatorom.

4. REZULTATI

U periodu od 1. 1. 2011. do 31. 12. 2015. godine u Djelatnosti za mikrobiologiju ZZJZ Virovitičko - podravske županije ukupno je obrađeno 3207 hemokultura, uzoraka uzetih od bolesnika hospitaliziranih u Općoj bolnici Virovitica.

4.1. Učestalost pozitivnih hemokultura tijekom promatranog razdoblja i raspodjela prema dobi, spolu bolesnika i prema najučestalijim izolatima

Iz tablice 3. vidljiv je prikaz rezultata uzorkovanih hemokultura po godinama, odnos ukupnog broja obrađenih hemokultura i njihovih pozitivnih izolata, odnosno negativnih izolata u promatranom razdoblju od 1. 1. 2011. do 31. 12. 2015. godine.

Tablica 3. Raspodjela pozitivnih i negativnih hemokultura tijekom petogodišnjeg razdoblja u Općoj bolnici Virovitica

Godina		**Pozitivan**	**Negativan**	**Ukupno**
2011	N	78	534	612
	%	**12,7 %**	**87,3 %**	**100,0 %**
2012	N	100	561	661
	%	**15,1 %**	**84,9 %**	**100,0 %**
2013	N	94	546	640
	%	**14,7 %**	**85,3 %**	**100,0 %**
2014	N	102	553	655
	%	**15,6 %**	**84,4 %**	**100,0 %**
2015	N	110	529	639
	%	**17,2 %**	**82,8 %**	**100,0 %**
UKUPNO	N	484	2723	3207
	%	**15,1 %**	**84,9 %**	**100,0 %**

N – broj pozitivnih / negativnih hemokultura

(Izvor podataka: Arhiva Djelatnosti za mikrobiologiju, ZZJZ Virovitičko - podravske županije)

Provedenim statističkim testiranjem rezultata pozitivnih i negativnih uzoraka hemokultura u odnosu na ukupan broj obrađenih uzoraka, koji se odnose na podatke iz tablice 3. ne postoji statistički značajna razlika (X^2 (4, N = 3207) = 5,077, p = 0,279).

Od ukupno 3207 hemokultura pozitivno je bilo 484 (15,1 %) uzorka, i to 246 (14,2 %) uzoraka kod pacijenata muškog spola, te 238 (16,1 %) uzoraka kod ženskog spola, što je vidljivo u tablici 4.

Tablica 4. Raspodjela bolesnika prema spolu tijekom petogodišnjeg razdoblja u Općoj bolnici Virovitica

			Pozitivan / negativan Pozitivan	Negativan	**Ukupno**
Spol	muški	N	246	1482	1728
		%	**14,2 %**	**85,8 %**	**100,0 %**
	ženski	N	238	1241	1479
		%	**16,1 %**	**83,9 %**	**100,0 %**
Ukupno		N	484	2723	3207
		%	**15,1 %**	**84,9 %**	**100,0 %**

N – broj pozitivnih / negativnih hemokultura prema spolu

(Izvor podataka: Arhiva Djelatnosti za mikrobiologiju, ZZJZ Virovitičko - podravske županije)

Provedenim statističkim testiranjem rezultata pozitivnih i negativnih uzoraka hemokultura prema spolu ispitanika iz tablice 4. zaključuje se da ne postoji statistički značajna razlika (X^2 (1, N = 3207) = 2,142, p = 0,143).

Tablica 5. Raspodjela pozitivnih i negativnih hemokultura ispitanika prema dobnim skupinama tijekom petogodišnjeg promatranja u Općoj bolnici Virovitica

			Pozitivan / negativan		**Ukupno**
			Pozitivan	Negativan	
Dob	**0 - 14**	N	38	150	188
		%	**7,9 %**	**5,5 %**	**5,9 %**
	15 - 24	N	12	97	109
		%	**2,5 %**	**3,6 %**	**3,4 %**
	25 - 34	N	3	195	198
		%	**0,6 %**	**7,2 %**	**6,2 %**
	35 - 44	N	19	134	153
		%	**3,9 %**	**4,9 %**	**4,8 %**
	45 - 54	N	56	387	443
		%	**11,6 %**	**14,2 %**	**13,8 %**
	55 - 64	N	95	572	667
		%	**19,6 %**	**21,0 %**	**20,8 %**
	> 65	N	261	1188	1449
		%	**53,9 %**	**43,6 %**	**45,2 %**
Ukupno		N	484	2723	3207
%			**15,1 %**	**84,9 %**	**100,0 %**

N – broj pozitivnih / negativnih hemokultura prema dobnoj skupini

(Izvor podataka: Arhiva Djelatnosti za mikrobiologiju, ZZJZ Virovitičko - podravske županije)

U tablici 5. su prikazane dobne skupine bolesnika s pozitivnim nalazima hemokultura te je provedenim statističkim istraživanjem utvrđena statistički značajna razlika, (X^2 (6, N = 3207) = 46,697, p = 0,000), iz čega proizlazi da je najveći broj pozitivnih hemokultura bio u dobnoj skupini više od 65 godina, odnosno 53,9 %.

Tablica 6. Raspodjela Gram pozitivnih i Gram negativnih izolata, te izolata gljiva tijekom petogodišnjeg promatranja izoliranih iz hemokultura u Općoj bolnici Virovitica

Gram negativni izolati	**N (%)**	**Gram pozitivni izolati**	**N(%)**
Escherichia coli	127 (25,6)	KNS	95 (19,1)
Klebsiella pneumoniae	38 (7,6)	*Staphylococcus aureus*	52 (10,5)
Pseudomonas aeruginosa	30 (6,0)	*Enterococcus faecalis*	12 (2,4)
Enterobacter spp.	20 (4,0)	*Streptococcus pneumoniae*	12 (2,4)
Acinetobacter baumanii	16 (3,2)		
Ukupno (%)	**231 (46,5)**		**171 (34,4)**

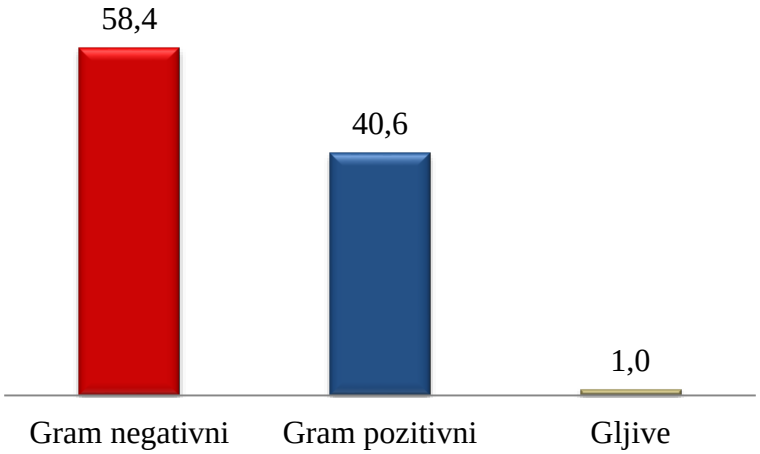
Ostali izolati (čiji ukupan broj ne prelazi 10 izolata)

Gram negativni izolati	**N**	**Gram pozitivni izolati**	**N**
Proteus mirabilis	9	*Difteroidi*	8
Klebsilla oxytoca	8	*Streptococcus viridans*	7
Morganella morganii	7	*Enterococcus faecium*	4
Serattia spp.	7	*BHS* - B	4
Acinetobacter spp.	5	*Propionibacterium* spp.	3
Salmonella enteridis	5	*BHS* - A	2
Pseudomonas spp.	5	*BHS* - C	1
Citrobacter spp.	3	*BHS* - G	2
Haemophilus influenzae	3		
Haemophilus spp.	1		
Neisseria menigitidis tip B	2		
Campylobacter jejuni	1		
Agregatibacter actynomicetens			
Salonella typhimurium	1		
Bacteroides spp.	1		
Ukupno - ostali (%)	**59 (11,9)**		**31 (6,2)**
Ukupno Gram -	**290 (58,4)**	**Ukupno Gram +**	**202(40,6)**
Gljive			
Candida albicans	4		
Candida spp.	1	**UKUPNO (%): 497 (100,0)**	
Ukupno (%)	**5 (1,0)**		

N - broj izolata hemokultura prema učestalosti

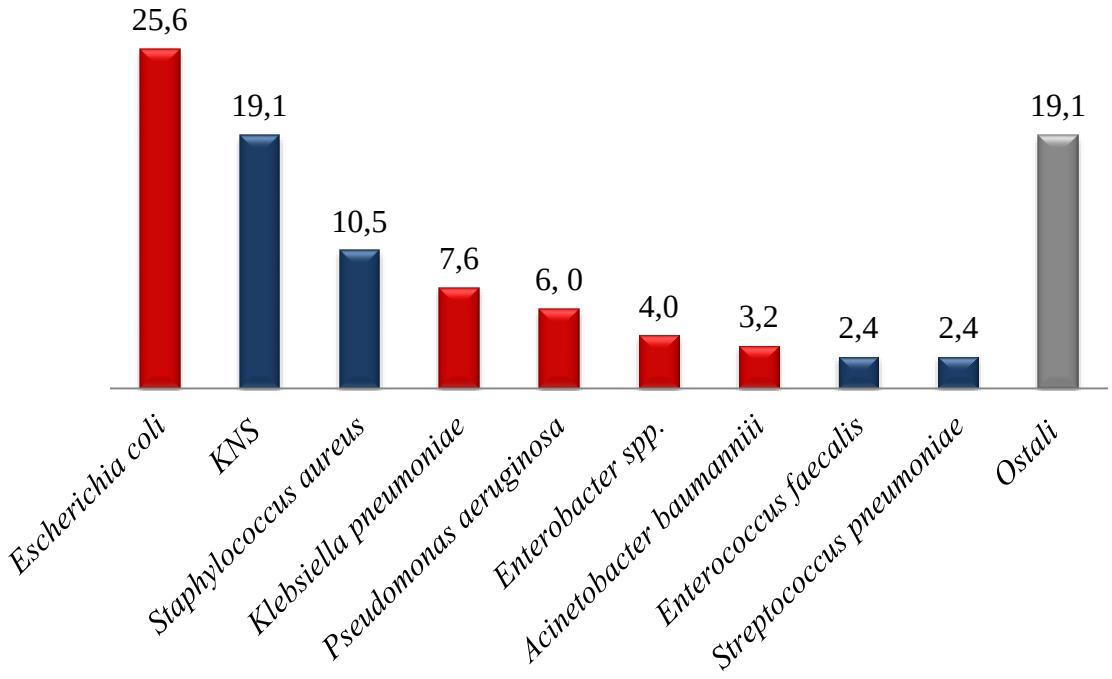
(Izvor podataka: Arhiva Djelatnosti za mikrobiologiju, ZZJZ Virovitičko - podravske županije)

U Tablici 6. i 7. - kao i na slikama 2 i 3 je prikazana učestalost i međusobni odnos najvažnijih uzročnika sepse među skupinama i vrstama izolata tijekom petogodišnjeg ispitivanja.



Slika 2. Prikaz učestalosti uzročnika sepse prema skupinama uzročnika od 1. 1. 2011. do 31. 12. 2015. godine (%) u Općoj bolnici Virovitica

(Izvor podataka: Djelatnost za mikrobiologiju, ZZJZ Virovitičko - podravske županije)



Slika 3. Učetalost izoliranih bakterija iz hemokultura u periodu od 1. 1. 2011. do 31. 12. 2015. Godine (%) u Općoj bolnici Virovitica

KNS – koagulaza negativan stafilokok

(Izvor podataka: Djelatnost za mikrobiologiju, ZZJZ Virovitičko - podravske županije)

Tablica 7. Raspodjela klinički najvažnijih izolata iz hemokultura i odnos rezistentnih i osjetljivih sojeva unutar vrste u promatranom periodu od 1. 1. 2011. do 31. 12. 2015. godine u Općoj bolnici Virovitica

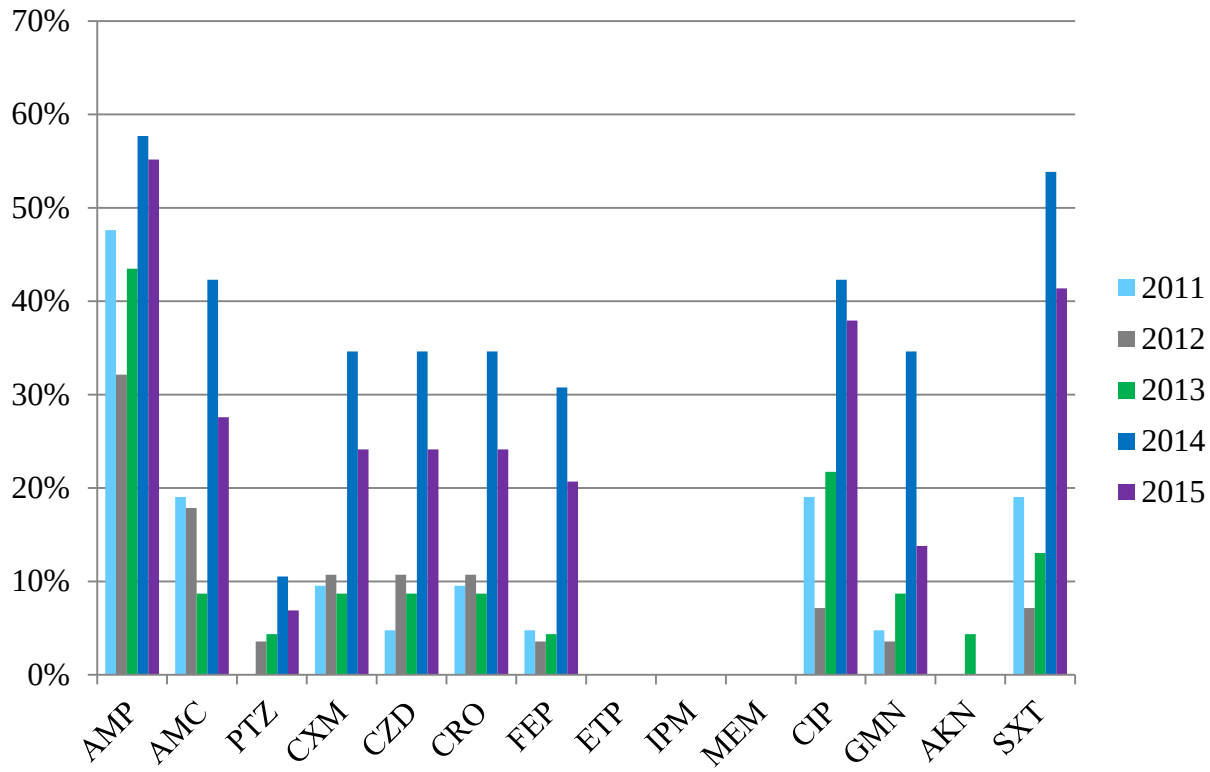
		2011	**2012**	**2013**	**2014**	**2015**	**Ukupno**
Gram negativne bakterije							
Escherichia coli	N	20	27	22	18	23	110
	%	**95,2**	**96,4**	**95,7**	**69,2**	**79,3**	**86,6**
Escherichia coli ESBL +	N	1	1	1	8	6	17
	%	**4,8**	**3,6**	**4,3**	**30,8**	**20,7**	**13,4**
Klebsiella pneumoniae	N	8	4	4	4	3	23
	%	**100,0**	**57,1**	**50,0**	**50,0**	**42,9**	**60,5**
Klebsiella pneumoniae ESBL +	N	0	3	4	4	4	15
	%	**0,0**	**42,9**	**50,0**	**50,0**	**57,1**	**39,5**
Pseudomonas aeruginosa	N	4	6	4	7	9	30
	%	**13,3**	**20,0**	**13,3**	**23,3**	**30,0**	**100,0**
Acinetobacter baumanii	N	4	0	4	5	3	16
	%	**57,1**	**0,0**	**100,0**	**83,3**	**100,0**	**76,2**
Gram pozitivne bakterije							
Staphylococcus aureus	N	9	7	12	5	17	50
	%	**100,0**	**87,5**	**92,3**	**100,0**	**100,0**	**96,2**
Staphylococcus aureus MRSA	N	0	1	1	0	0	2
	%	**0,0**	**12,5**	**7,7**	**0,0**	**0,0**	**3,8**

N – broj izolata hemokultura

(Izvor podataka: Arhiva Djelatnosti za mikrobiologiju, ZZJZ Virovitičko - podravske županije)

4.2. Prikaz osjetljivosti najčešćih izolata hemokultura na antibiotike

U okviru ovog istaživanja na slikama 4, 5, 6, 7 i 8 prikazani su rezultati rezistencije na antibiotike za najvažnije Gram negativne uzročnike: *E. coli, K. pneumoniae, A. baumanni, P. aeruginosa* i *S. aureus* u razdoblju od 1. 1.2011. – 31. 12. 2015. godine.



Slika 4. Otpornost na antibiotike sojeva *E. coli* izoliranih u Općoj bolnici Virovitica u periodu od 2011. - 2015. godine

(Izvor podataka: Djelatnost za mikrobiologiju, ZZJZ Virovitičko - podravske županije)

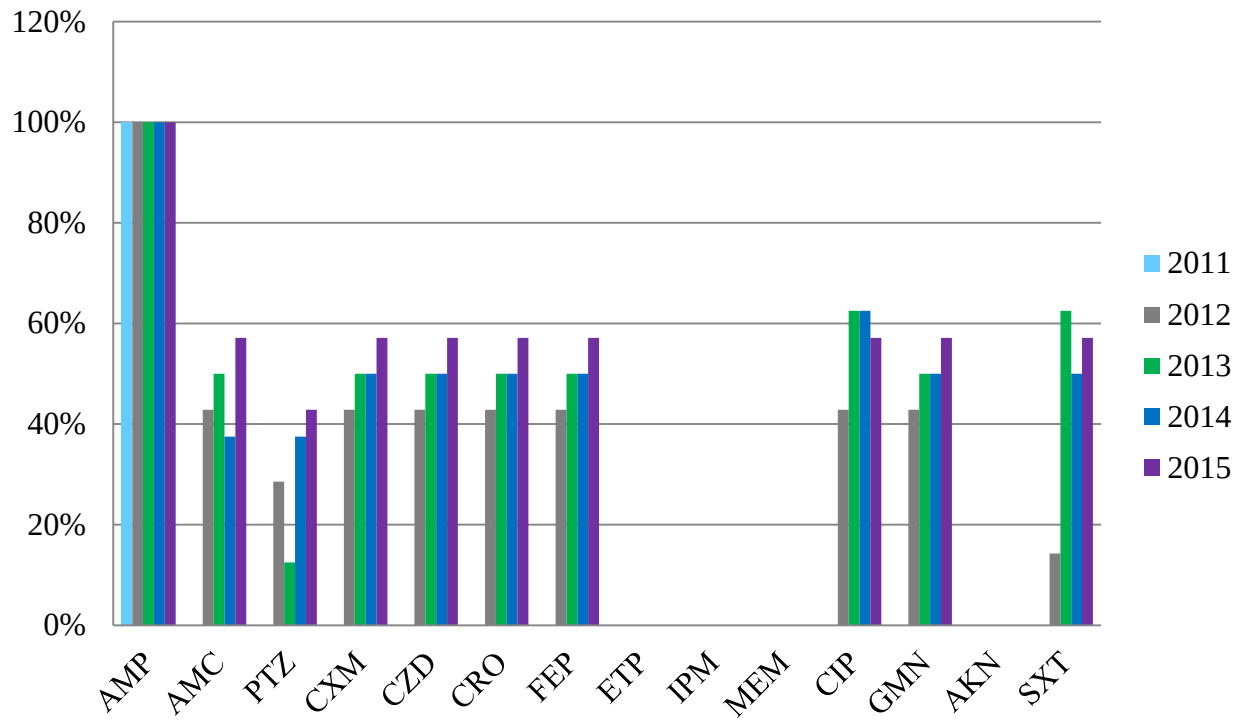
ATB - antibiotik, AMP - ampicilin, AMC – amoksicilin + klavulonska kiselina, PTZ - piperacilin + tazobaktam, CXM - cefuroksim, CZD – ceftazidim, CRO - ceftriakson, FEP - cefepim, ETP - ertapenem, IPM - imipenem, MEM - meropenem, CIP - ciprofloksacin, GMN - gentamicin, AKN – amikacin, SXT - trimetoprim + sulfametoksazol.

Kod *E. coli* se primjećuje porast otpornosti na određene antibiotike i to posebno izraženo u 2014. i 2015. godini što se može povezati sa pojavom povećanog broja ESBL izolata *E. coli*. (Tablica 7.)

Na slici 4 je također prikazano kako se povećava udio *E. coli* otporne na ko - amoksiklav sa 9,0 % u 2013. godini na 42,3 % u 2014. godini i 27,6 % u 2015. godini. Isto tako je vidljiv i porast otpornosti na cefalosporine 3. generacije (ceftriakson, ceftazidim) i 4. generacije (cefepim), tako da je od 2011. - 2013. godine neosjetljivih izolata bilo < 11,0 % da

bi u 2014. godini otpornost iznosila 30,8 % za cefepim i 34,6 % kod ceftazidima i ceftriaksona, a u 2015. godini 20,7 % kod cefepima, a 24,1 % za ceftazidim i ceftriakson. Osim mehanizma rezistencije na cefalosporine 3. generacije kroz produkciju beta - laktamaza proširenog spektra sve češći je i mehanizam stvaranja AmpC cefalosporinaza (1) što je za sada u malom broju prisutno i među ispitivanim izolatima *E. coli* .

Slična situacija je i kod grupe kinolona čiji je predstavnik ciprofloksacin, te kod gentamicina kao predstavnika aminoglikozida, dok amikacin, drugi testirani aminoglikozid ima stabilnu osjetljivost i u pet godina praćenja je zabilježen samo jedan neosjetljiv izolat na taj antibiotik. Što se tiče karbapenema (imipenem, meropenem i ertapenem) nije zabilježen niti jedan izolat *E. coli* koji bi bio smanjene osjetljivosti na tu grupu antibiotika. (Slika 4).



Slika 5. Otpornost na antibiotike sojeva *K. pneumoniae* izoliranih u Općoj bolnici Virovitica u periodu od 2011. - 2015. godine

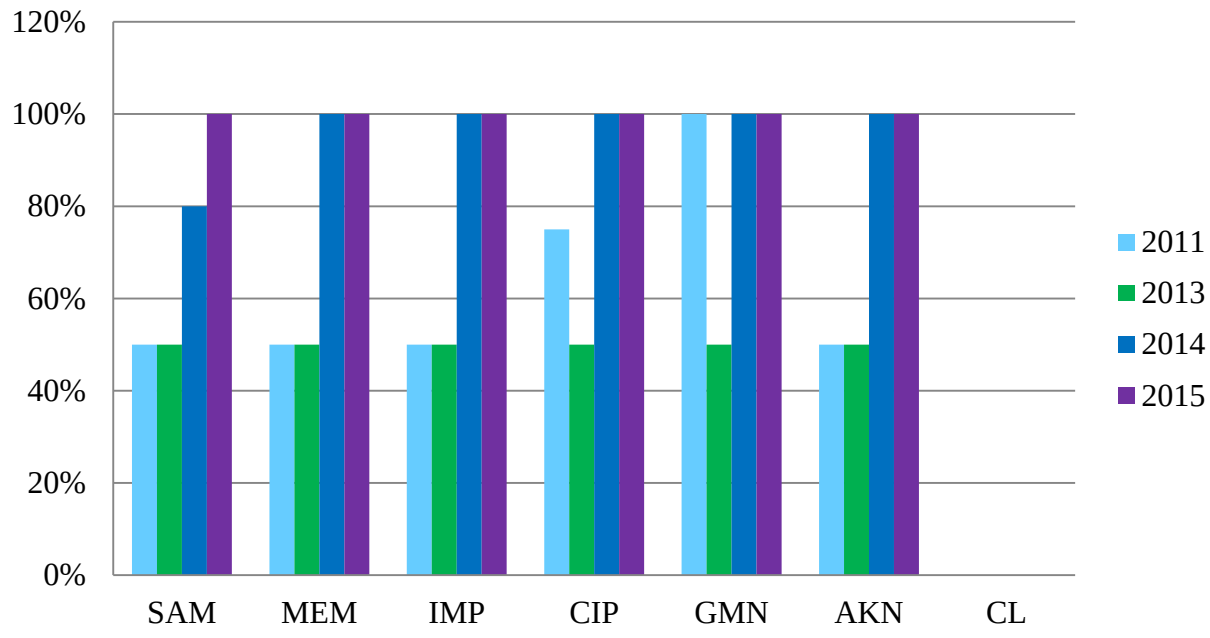
(Izvor podataka: Djelatnost za mikrobiologiju, ZZJZ Virovitičko - podravske županije)

ATB - antibiotik, AMP - ampicilin, AMC – amoksicilin + klavulonska kiselina, PTZ - piperacilin + tazobaktam, CXM - cefuroksim, CZD – ceftazidim, CRO - ceftriakson, FEP - cefepim, ETP - ertapenem, IPM - imipenem, MEM - meropenem, CIP - ciprofloksacin, GMN - gentamicin, AKN - amikacin, SXT - trimetoprim + sulfametoksazol.

Na slici 5 je prikazana osjetljivost *K. pneumonae* te je vidljivo da u 2011. godini nije detektiran niti jedan rezistentan izolat na cefalosporine 3. generacije (ceftazidim, ceftriakson). U 2012. godini otpornost je već iznosila 42,9 %, 2013. i 2014. godine 50,0 %, a 2015. godine čak 57,1 %. Unatoč pojavi izolata *K. pneumoniae* u Republici Hrvatskoj neosjetljivih na karbapeneme, niti jedan izolat iz kulture krvi u promatranom razdoblju nije pokazivao smanjenu osjetljivost na karbapeneme.

Otpornost na kinolone kao i kod cefalosporina 3. generacije nije postojala 2011. godine, da bi u 2012. godini iznosila 42,9 %, u 2013. i 2014. godini čak 62,5 % da bi se nešto smanjila u 2015. godini na još uvijek visokih 57,1 %.

Analizirajući osjetljivost aminoglikozida slično kao i kod *E. coli*, otpornost na gentamicin korelira sa cefalosporinima 3. generacije i kinolonima, dok je osjetljivost na amikacin stabilna tako da nije zabilježen niti jedan otporan izolat *K. pneumoniae* na amikacin. (Slika 5).



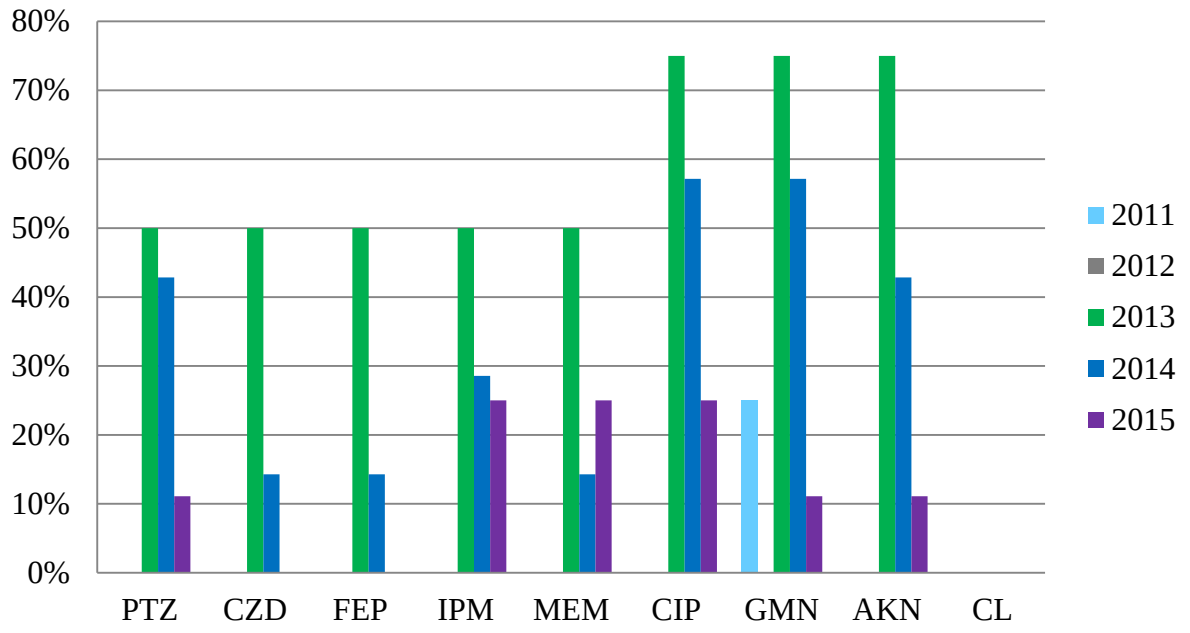
Slika 6. Otpornost na antibiotike sojeva *A. baumannii* izoliranih u Općoj bolnici Virovitica u periodu od 2011. - 2015. godine

(Izvor podataka: Djelatnost za mikrobiologiju, ZZJZ Virovitičko - podravske županije)

SAM – ampicilin + sulbaktam, MEM - meropenem, IPM - imipenem, CIP - ciprofloksacin, GMN - gentamicin, AKN - amikacin, CL - kolistin.

Na slici 6 je prikazana otpornost *A. baumanni* na antibiotike, te je uočljivo da je 2011. godine na karbapeneme, ampicilin / sulbaktam i amikacin neosjetljivo bilo 50,0 % izolata, na ciprofloksacin 75,0 %, a na gentamicin 100,0 %. 2012. godine iz kulture krvi nije izoliran niti jedan *A. baumannii*, da bi u 2013., 2014. i 2015. godini svi izolati bili neosjetljivi na karbapeneme, kinolone i aminoglikozide, dok je neosjetljivost na ampicilin / sulbaktam iznosila u 2013. godini 50,0 %, u 2014. godini 80,0 %, a u 2015. godini također 100,0 %, odnosno sve sepse bile su uzrokovane multirezistentnim *A. baumannii* (MRAB).

Od svih testiranih antibiotika osjetljivost je jedino pokazivao kolistin u 100,0 % izolata, te je on ostao jedini antibiotik koji se mogao primijeniti u liječenju takvih izolata. (Slika 6).



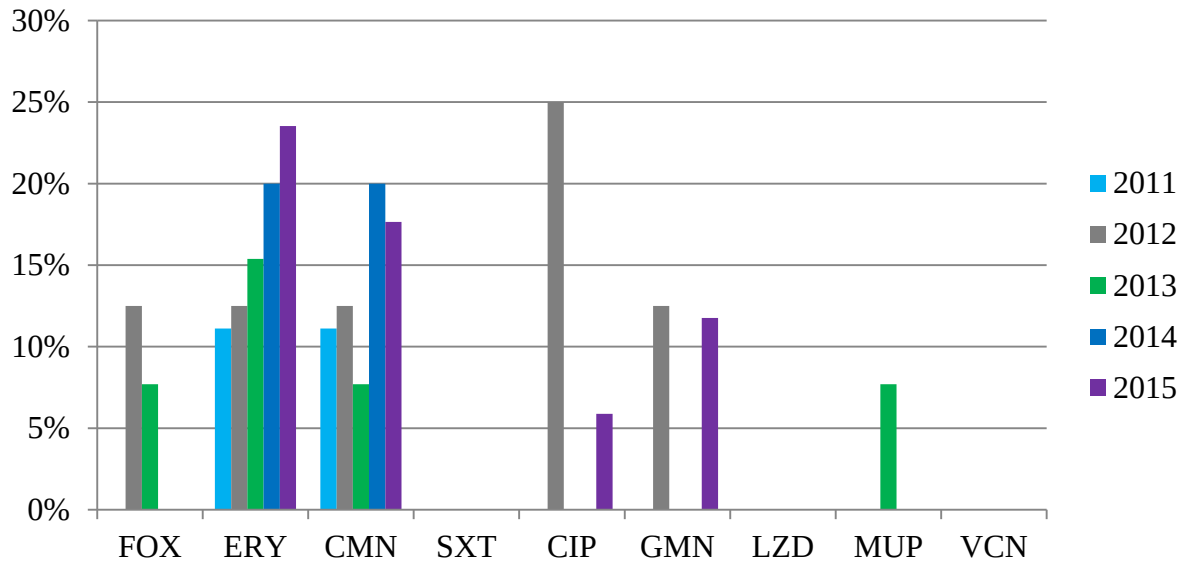
Slika 7. Otpornost na antibiotike sojeva *P.aeruginosa* izoliranih u Općoj bolnici Virovitica u periodu od 2011. - 2015. godine

(Izvor podataka: Djelatnost za mikrobiologiju, ZZJZ Virovitičko - podravske županije)

PTZ – piperacilin + tazobaktam, CZD - ceftazidim, FEP - cefepim, IPM - imipenem, MEM - meropenem, CIP - ciprofloksacin, GMN - gentamicin, AKN - amikacin, CL - kolistin.

Na slici 7 vidljivo je da je u 2011. i 2012. godini kod svih izolata iz hemokultura vrste *P. aeruginosa* osjetljivost bila 100,0 % na sve testirane antipseudomonasne antibiotike osim gentamicina (otpornost 25,0 %). U 2013. i 2014. godini otpornost se značajno povećala tako da od 2013. godine iskazuje porast rezistencije na piperacilin / tazobaktam, cefalosporine (ceftazidim i cefepim), karbapeneme (imipenem i meropenem) i kinolone (ciprofloksacin). U 2015. godini otpornost se smanjila kod piperacilin / tazobaktama, cefalosporina i aminoglikozida u odnosu na prethodne dvije godine.

Svi multirezistentni izolati su testirani na kolistin te su pokazali 100,0 % osjetljivost na taj antibiotik kao i *A.baumannii* (Slika 6 i 7). Rezistencija na karbapaneme je u 2013. godini iznosila 50,0 %, u 2014. godini na imipenem 28,6 %, a na meropenem 14,3 %, te u 2015. godini 22,2 % na oba karbapenema. (Slika 7).



Slika 8. Otpornost na antibiotike sojeva *S. aureus* izoliranih u Općoj bolnici Virovitica u periodu od 2011. - 2015. godine

(Izvor podataka: Djelatnost za mikrobiologiju, ZZJZ Virovitičko - podravske županije)

FOX - cefoksitin, ERY - eritromicin, CMN - klindamicin, SXT - trimetoprim + sulfametoksazol, CIP - ciprofloksacin, GMN - gentamicin, LZD - linezolid, MUP - mupirocin, VCN - vankomicin.

Izolati iz hemokulture vrste *S. aureus* tijekom promatranog perioda su dobro osjetljivi na gotovo sve testirane antibiotike. Nešto veća otpornost je na eritromicin (23,5 %) u 2015. godini i na klindamicin (20,0 %) u 2014. godini, dok su MRSA izolati dokazani u samo 2 od 52 izolata *S. aureus* odnosno u 3,8 % i to jedan izolat u 2012. godini i jedan u 2013. godini (Tablica 7). Iz navedenog se može zaključiti da kod *S. aureus* nema značajnog porasta rezistencije na relevantne antibiotike za vrijeme ovog praćenja. (Slika 8).

5. RASPRAVA

Hemokultura je jedina metoda kojom se mogu izolirati razni uzročnici bakterijemije i sepse. Sepsa je jedno od najtežih stanja u medicini koje može dovesti do teške sepse i septičkog šoka, a čija se smrtnost, ovisno o težini sepse kreće od 10 – 80 %. U SAD - u je sepsa deseti vodeći uzrok smrti (14). Prema etiologiji, glavni uzročnici sepse su Gram negativne i Gram pozitivne bakterije, zatim gljive, virusi i paraziti (19). Isto tako etiologija može u manjem postotku biti i polimikrobna, odnosno da se iz jedne hemokulture izolira više vrsta mikroorganizama.

U ovom je retrospektivnom istraživanju obuhvaćen period od pet godina od 2011. do 2015. godine u kojem je u ZZJZ Virovitičko - podravske županije obrađeno ukupno 3207 hemokultura, od kojih je pozitivno bilo 484 (15,1 %). Neke studije i istraživanja su pokazale pozitivitet hemokultura 18 – 20 % (33, 34, 35). U velikoj studiji provedenoj u SAD - u od 1979 - 2000. godine, do 1987. godine predominantan uzročnik sepsi su bile Gram negativne bakterije, a u svim daljnjim godinama Gram pozitivne bakterije, tako da su 2000. godine Gram pozitivne bakterije bile izolirane u 52,1 % slučaja, Gram negativne u 37,6 %, polimikrobne infekcije u 4,7 % , anaerobi u 1,0 % i gljive u 4,6 % slučajeva sepse (7).

Distribucija pozitivnih hemokultura prema spolu iznosila je 14,2 % za muški spol, te 16,1 % za ženski spol, od ukupno 15,1 % pozitivnih hemokultura, dok je u literaturi navedeno da je kod muškaraca veći rizik nastanka sepse nego kod žena (7, 16). Gledajući prema dobnim skupinama očekivano je najveći broj pozitivnih hemokultura u dobnoj skupini više od 65 godina, i iznosi 53,9 % (15).

U dobnoj skupini od 0 – 14 godina nalazimo 7,9 % pozitivnih hemokultura, gdje se najveći broj pozitivnih odnosi na novorođenačke bakterijemije i sepse. Broj pozitivnih hemokultura se zatim smanjuje prema mlađoj odrasloj dobi i najmanji je u rasponu od 25 - 34 godine od svega 0,6 %.

Ukupno gledano, od 497 izolata Gram negativnih je bilo 290 (58,4 %), Gram pozitivnih 202 (40,6 %), gljiva 5 izolata (1,0 %), anaerobnih bakterija 4 (0,8 %) i polimikrobnih hemokultura 13 (2,7 %), što bi uspoređujući sa studijom provedenom u SAD - u (6) pokazalo da su u Općoj bolnici Virovitica Gram negativne bakterije još uvijek vodeći uzročnici sepsi, za razliku od SAD - a, a da je pojedinačno najčešća *E. coli* što bi odgovaralo

podatcima iz međunarodne studije iz 1992. godine koji se odnose na Europu (36). Udio izolata gljiva i polimikrobnih uzročnika sepse je kod nas manji nego u navedenoj studiji iz SAD - a, dok je postotak izoliranih anaeroba približno isti (7).

Među izoliranim uzročnicima, pojedinačno je najčešća *E. coli* sa 127 izolata odnosno udjelom od 25,6 %. Kod *E. coli* se primjećuje porast otpornosti na određene antibiotike i to na ko - amoksiklav, cefalosporine 3. i 4. generacije, kinolone i gentamicin, što je posebno izraženo u 2014. i 2015. godini, a može se povezati sa pojavom povećanog broja ESBL izolata *E. coli*. Na drugom mjestu se nalazi KNS sa 95 izolata (19,1 %) od kojih se jedan dio može smatrati i kontaminantama prouzročenim nepravilnim uzorkovanjem s obzirom da se radi o bakteriji koja čini normalnu floru kože, ali isto tako uzrokuje bakterijemiju i sepsu kod bolesnika sa intravaskularnim kateterima, intravenskom i peritonealnom dijalizom.

Na trećem mjestu se nalazi *S. aureus* sa 52 izolata od kojih su 2 izolata MRSA, što iznosi 10,5 % od ukupnog broja izoliranih mikroorganizama. Prema međunarodnoj studiji provedenoj 1992. godine stafilokoki se nalaze na prvom ili drugom mjestu kao uzročnici septikemija u SAD - u, a *E. coli* je najčešće na prvom mjestu u zdravstvenim centrima Azije i Europe (36) što je u skladu s rezultatima ovog istraživanja. Na četvrtom mjestu po učestalosti se nalazi *K. pneumoniae* sa 38 izolata (7,6 %) od kojih je 15 (39,4 %) multirezistentnih beta - laktamaza proširenog spektra (ESBL) izolata. Dalje slijedi *P. aeruginosa* sa 30 izolata (6,0 %), čest uzročnik bolničkih infekcija, pa tako i sepsi, naročito kod imunokompromitiranih pacijenata, zatim rod *Enterobacter* sa 20 izolata (4,0 %), također čest bolnički patogen sa očekivano višom otpornošću na antibiotike (1) i na sedmom mjestu se nalazi *A. baumannii* sa 16 izolata (3,2 %) od kojih su većina multirezistentni (MRAB) izolati koji su uzročnici sepse u bolničkoj sredini. *A. baumannii* je vrlo značajan uzročnik bolničkih infekcija, osobito multirezistentni sojevi, koji su vidljivi pogotovo posljednjih godina na području cijele Republike Hrvatske (naglo širenje je počelo od 2008. godine), te predstavlja veliki problem u liječenju teških infekcija (1). Kada se promatra osjetljivost na antibiotike u periodu od 2011. - 2015. godine, uočljivo je da su od 2013. godine svi izolati otporni na karbapeneme, kinolone i aminoglikozide, te da je od svih testiranih antibiotika osjetljivost jedino pokazivao kolistin u 100,0 % ispitivanih izolata.

Promatrajući distribuciju najčešćih izolata prikazanih kroz pet godina od 2011. - 2015. godine uočljiv je značajan porast multirezistentnih ESBL izolata *E. coli* u 2014. (udio 30,8 %) i 2015. godini (udio 20,7 %) u odnosu na 2011., 2012. i 2013. godinu (udio 4,8 %, 3,6 % i

4,3 %). Također je primijećena i pojava ESBL izolata *K. pneumoniae* od 2012. godine (2011. godine nije bio zabilježen niti jedan izolat), kada je *K. pneumoniae* ESBL izolirana u 42,9 %, zatim 2013. i 2014. godine 50,0 %, da bi 2015. godine iznosio 57,1 % od ukupnog broja izolata ove vrste. *K. pneumoniae* pokazuje sličnu karakteristiku kao i *E. coli* samo što se multirezistentni ESBL izolati iz kulture krvi počinju pojavljivati još ranije, od 2012. godine i od tada se njihov udio stalno povećava, dok u 2011. godini osim intrinzične rezistencije na amoksicilin nije zabilježena druga otpornost na antibiotike. U Hrvatskoj je inače nagli porast otpornosti *K. pneumoniae* na kinolone i cefalosporine 3. generacije zamijećen 2007. i 2008. godine (37).

Promatrajući izolate vrste *S. aureus* ne uviđa se značajan porast MRSA izolata za vrijeme petogodišnjeg praćenja tako da je udio MRSA izolata svega 3,8 %, što bi međutim i inače odgovaralo epidemiološkoj situaciji u odnosu na MRSA izolate u Općoj bolnici Virovitica. Kod roda *Enterococcus* uočen je veći broj izolata *E. faecalis* 2011. godine i samo jedan izolat *E. faecium*, da bi se taj omjer počeo mijenjati 2014. godine, a 2015. godine je bio veći broj *E. faecium* nego *E. faecalis*, koji ujedno ima i manju osjetljivost na antibiotike (svi sojevi *E. faecium* su bili otporni na amoksicilin).

Što se tiče polimikrobne bakterijemije, dvije vrste bakterija su bile izolirane u 2,7 % pozitivnih hemokultura. Od bakterija koje su bile prisutne u takvim polimikrobnim izolatima najčešća je *E. coli* u 30,8 % izolata, zatim *S. aureus* i *P. aeruginosa* 15,4 %, *K. pneumoniae* i *Enterobacter* 11,5 %, *A. baumannii* u 7,7 % i *E. faecalis* u 3,8 % izolata. Neke studije pokazuju polimikrobnu etiologiju od 1,0 % (33) do 4,7 % (7) što je u skladu s dobivenim rezultatima ovog istraživanja.

Najveći problem predstavlja pojava povećanog broja otpornih izolata, pogotovo negdje od sredine promatranog razdoblja. Razlozi takve pojave mogu biti višestruki, od povećane upotrebe antibiotika širokog spektra djelovanja i posljedične selekcije otpornih izolata i njihovo širenje, pogotovo u bolničkoj sredini, dužeg preživljavanja i boravka pacijenata sa teškom osnovnom bolešću u JIL - u, povećanom uporabom invazivnih naprava i postupaka (kateterizacija, mehanička ventilacija) što posljedično dovodi prvo do kolonizacije takvim multirezistentnim bolničkim mikroorganizmima, a zatim i do mogućnosti razvoja infekcija, uključujući i sepsu. Kod sepse uzrokovane takvim multirezistentnim izolatima smanjena je mogućnost uspješnog antimikrobnog liječenja što posljednjih godina predstavlja sve veći problem, a vjerojatno će u budućnosti biti još izraženiji.

6. ZAKLJUČAK

Sepsa je teško zdravstveno stanje uzrokovano sustavnim upalnim odgovorom organizma na infekciju, a hemokultura je najznačajnija dijagnostička metoda u njezinom dokazivanju. Rezultat nalaza iz hemokulture ovisi o dobroj interpretaciji mikrobiologa u što kraćem vremenskom roku, te promptnoj suradnji sa kliničarom, što u konačnici osigurava ciljanu i učinkovitu terapiju za pacijenta.

Prema rezultatima provedenog istraživanja u periodu od pet godina, od 2011. - 2015. godine iz kultura krvi uzetih od pacijenata hospitaliziranih u Općoj bolnici Virovitica i obrađenih u mikrobiološkom laboratoriju Zavoda za javno zdravstvo Virovitičko - podravske županije ukupno je obrađeno 3207 uzoraka hemokultura, od čega je 15,1 % pozitivnih, i to češće u pacijenata ženskog spola (16,1 %). Interpretacija podataka po dobnim skupinama pokazala je najčešći pozitivitet kod pacijenata u dobi višoj od 65 godina (53,9 %).

Prema zastupljenosti izolata, češće su izolirani Gram negativni uzročnici (58,4 %), od kojih je najučestalija *E. coli* (25,6 %), nego Gram pozitivni izolati (40,6 %), od kojih je načešće izoliran KNS (19,1 %).

Promatrajući osjetljivost pojedinih uzročnika na antibiotike, uočena je pojava višestruko otpornih izolata, odnosno njihov značajan porast počevši od sredine promatranog razdoblja. Prvenstveno se to odnosi na vrste *E. coli* i *K. pneumoniae* koje produciraju beta - laktamaze proširenog spektra, te na *A. baumannii*, te u manjoj mjeri i na *P. aeruginosa*, dok *S. aureus* nije pokazivao značajan pomak u porastu multirezistencije.

Dizanjem razine svijesti o problemu rezistencije na antibiotike, pravilnim provođenjem mjera suzbijanja i sprječavanja širenja rezistentnih sojeva, koje uključuju kontaktnu izolaciju pri radu sa bolesnicima koji su kolonizirani ili inficirani takvim multirezistentnim mikroorganizmima može se spriječiti njihovo daljnje širenje, odnosno pojava teških infekcija uključujući i sepsu.

7. SAŽETAK

Kultura krvi je i pored svojih određenih ograničenja najvažnija dijagnostička metoda kojom se mogu izolirati uzročnici bakterijemije i sepse, a test osjetljivosti izoliranih bakterija na antibiotike predstavlja važan rezultat za pravilan odabir terapije i uspješno provođenje liječenja.

U ovom istraživanju, provedenom za peroid od 1. 1. 2011. do 31. 12. 2015. godine korišteni su podatci pacijenata hospitaliziranih u Općoj bolnici Virovitica, a hemokulture obrađene u mikrobiološkom laboratoriju Zavoda za javno zdravstvo Virovitičko - podravske županije gdje je ukupno obrađeno 3207 hemokultura prema pravilima struke, standardiziranim metodama izolacije i identifikacije bakterija.

Prema rezultatima istraživanja pozitivnih hemokultura je bilo 484 (15,1 %), prema spolu: 16,1 % kod pacijenata ženskog spola, odnosno 14,2 % kod pacijenata muškog spola, a prema dobi, najveći broj pozitivnih hemokultura bio je kod bolesnika iznad 65 godina života (53,9 %). Prema etiologiji najčešći uzročnici sepse su Gram negativne bakterije (58,4 %), zatim Gram pozitivne bakterije (40,6 %) i gljive (1,0 %). Najčešće izolirana vrsta je *Esherichia coli* (25,6 %), zatim koagulaza negativan *Staphylococcus* spp. (19,1 %) i *Staphylococcus aureus* (10,5 %).

Promatarajući osjetljivost pojedinih uzročnika na antibiotike primjećuje se pojava otpornih izolata i njihov značajan porast negdje od sredine promatranog razdoblja. Posebice treba istaknuti *E.coli* ESBL kada je udio ESBL izolata za 2011. godinu iznosio 5,0 %, za 2012. – 3,7 %, za 2013. - 4,5 %, dok je u 2014. godinu udio porastao na 44,4 %, te 2015. iznosio 26,1 %. Sličan trend pratila je i *Klebsiellla pneumoniae*, kada 2011. godine nije zabilježen niti jedan ESBL izolat, 2012. godine udio ESBL izolata je iznosio 43,0 %, 2013. i 2014. godine narastao na 50,0 %, dok je 2015. iznosio 60,0 % od ukupnog broja izoliranih *K. pneumoniae*. U 2011. godini izolirano je 50,0 % multiplorezistentnih *Acinetobacter baumannii* (MRAB) izolata dok je trend rezistencije bio istaknut u 2013., 2014. i 2015. godini kada je broj MRAB izolata iznosio 100,0 %. Povećana otpornost, u nešto manjoj mjeri prisutna je i kod izolata *Pseudomonas aeruginosa*, dok *S. aureus* nije pokazivao značajan porast multirezistencije u promatranom razdoblju.

Kod sepse uzrokovane višestruko otpornim izolatima smanjena je mogućnost uspješnog antimikrobnog liječenja, što posljednjih godina postaje sve veći problem, te je zbog toga nužno poduzimati sve potrebite mjere koje bi sprječavale širenje takvih mikroorganizama, odnosno smanjio njihov udio u etiologiji sepse.

Ključne riječi: bakterijemija, sepsa, hemokultura, antibiotik, otpornost.

8. SUMMARY

The etiology and microbological diagnosis of bacteriemia and sepsis in a secondary care hospital

Despite of its specific limitations, blood culture is the most important diagnostic method that can isolate the cause of bacteremia and sepsis, and a sensitivity test of isolated bacteria to antibiotics presents an important result for the proper choice of therapy and successful implementation of treatment.

In this study conducted during the period of 1. 1. 2011 - 31. 12. 2015 the data of patients hospitalized at the General Hospital of Virovitica were used, and blood cultures were processed in the microbiological laboratory of the Department of Public Health of Virovitica - Podravina County, where a total of 3207 blood cultures were processed in accordance with professional rules, standardized methods of isolation and identification of bacteria.

According to the results of the study, there were 484 (15,1 %) of positive blood cultures, by gender, 16,1 % in female patients, and 14,2 % in male patients, and by age the highest number of positive blood cultures was observed in patients over 65 years of age (53,9 %). According to the etiology, the most common causes of sepsis are Gram - negative bacteria (58,4 %), followed by Gram - positive bacteria (40,6 %) and fungi (1,0 %). Most commonly isolated species is *Esherichia coli* (25,6 %), followed by coagulase - negative *Staphylococcus* spp. (19,1 %) and *Staphylococcus aureus* (10,5 %).

When examining the sensitivity of certain causes to antibiotics one can notice the appearance of resistant isolates and their significant increase starting somewhere in the middle of the observed period. In particular *E. coli* ESBL should be mentioned, when the percentage of ESBL isolates in 2011 was 5,0 %, in 2012 – 3,7 %, in 2013 - 4,5 %, while in 2014 the percentage increased to 44,4 %, and in 2015 decreased to 26,1 %. A similar tendency was observed in case of *Klebsiella pneumoniae*, when in 2011 not a single ESBL isolate was registered, in 2012 the percentage of ESBL isolates was 43,0 %, which increased in 2013 and 2014 to 50,0 %, and in 2015 presented 60,0 % of the total number of isolated *K. pneumoniae.* In 2011 50,0 % of Multi - resistant *Acinetobacter baumannii* (MRAB) isolates were isolated, while the resistance tendency was highlighted in 2013, 2014 and 2015, when the percentage of MRAB isolates increased to 100,0 %. Increased resistance to a lesser extent can be found in isolates of *Pseudomonas aeruginosa*, while *S. aureus* didn't show a significant increase of multiple resistance in the observed period.

In case of sepsis caused by multiple resistant isolates the possibility of a successful antimicrobial treatment is reduced, which becomes a growing problem in the recent years, and therefore it is important to take all necessary measures to prevent the dissemination of such microorganisms, or to reduce their percentage in the etiology of sepsis.

Key words: Bacteremia, sepsis, blood cultures, antibiotic, resistance.

9. LITERATURA

1. Tambić Andrašević A, Tambić T, Katalinić Janković V, Payerl Pal M, Bukovski S, Butić I, Šoprek S, Osjetljivost i rezistencija bakterija u Republici Hrvatskoj u 2014. godini, Akademija medicinskih znanosti Hrvatske, Zagreb, 2015; str. 7-25.
2. Bedenić B, Božinović D, Kalenić S, Vraneš J, Klinička mikrobiologija i parazitologija, Zagreb; 1996; str. 3-16.
3. Kuzman I, Schönwald S, Infektologija, Zagreb; 2000; str. 87-91,120-121.
4. Riedemann NC, Guo RF., Ward PA. The enigma of sepsis. J. Clin. Invest. 2003; 112(4):460–467.
5. Thomas L. Germs. N. Engl. J. Med. 1972; 287(11):553–555.
6. Abraham E, Matthay MA., Dinarello CA., et al. Consensus conference definitions for sepsis, septic shock, acute lung injury, and acute respiratory distress syndrome: time for a reevaluation. Crit. Care Med. 2000; 28(1):232–235.
7. Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. N. Engl. J. Med. 2003; 348(16):1546–1554.
8. Finfer S, Bellomo R, Lipman J, French C, Dobb G, Myburgh J. Adult - population incidence of severe sepsis in Australian and New Zealand intensive care units. Intensive Care Med. 2004;30(4):589–596.
9. Harrison DA, Welch CA, Eddleston JM. The epidemiology of severe sepsis in England, Wales and Northern Ireland, 1996 to 2004: secondary analysis of a high quality clinical database, the ICNARC case mix programme database. Crit. Care. 2006; 10(2):R42.
10. Degoricija V, Sharma M, Legac A, Gradiser M, Sefer S, Vucicevic Z. Survival analysis of 314 episodes of sepsis in medical intensive care unit in university hospital: impact of intensive careunit performance and antimicrobial therapy. Croat. Med. J. 2006; 47(3):385–397.
11. Brun-Buisson C, Doyon F, Carlet J, et al. Incidence, risk factors, and outcome of severe sepsis and septic shock in adults. JAMA 1995; 247:968-974.
12. Harris RL, Musher DM, Bloom K, et al. Manifestations of sepsis. Arch Intern Med 1987;147:1895-1906.
13. Parker MM, Parillo JE. Septic shock: hemodynamics and pathogenesis. Arch Intern Med 1987; 147:1895-1906.

14. Van Amersfoort E.S, Van Berkel J.C, Kuiper J, Receptors, Mediators, and Mechanisms Involved in Bacterial Sepsis and Septic Shock, Clinical Microbiology rewiews, 2003; 379-381.
15. Vincent JL, Carlet J, Opal SM, The Sepsis text, Kluwer academic Publishers, New York, Boston, Dordrecht, London, Moscow, 2002; 1-13.
16. Martin GS, Sepsis, severe sepsis and septic shock: changes in incidence, pathogens and outcomes, Expert Rev Anti Infect Ther. 2012 June ; 10(6): 701-706.
17. Parrillo JE, Parker MM, Natanson C, et al. Septic shock in humans. Advances in the under standing of pathogenesis, cardiovascular dysfunction, and therapy. Ann. Intern. Med. 1990; 113(3):227–242.
18. Sands KE, Bates DW, Lanken PN, et al. Epidemiology of sepsis syndrome in 8 academic medicalcenters. JAMA. 1997; 278(3):234–240.
19. Friedman G, Silva E, Vincent JL. Has the mortality of septic shock changed with time? Crit Care Med 1998; 26:2078-2086.
20. Vincent JL, Bihari D, Suter PM, et al. The prevalence of nosocmial infection in intensive care units in Europe. JAMA 1995; 274:639-644.
21. Trick WE, Jarvis WR. Epidemiology of nosocomial fungal infection in the 1990s. Rev. Iberoam. Micol. 1998; 15(1):2–6.
22. Ivanović Ž, MSD priručnik dijagnostike i terapije, 2. izdanje, Placebo Split, 2010; 566-569.
23. West H, Lisby G, Breysse F, Böddinghaus B, Chomarat M, Gant M. i sur., Multiplex real time PCR, and blood culture for identifiation of bloodstream pathogens in patients with suspected sepsis, Clin. Mircobilol Infect, 2009; 15(6):637 -644.
24. Houck PM, Bratzler DW, Nsa W, Ma A, Bartlett JG. Timing of antibiotic administration and outcomes for Medicare patients hospitalized with community - acquired pneumonia. Arch. Intern.Med. 2004; 164(6):637–644.
25. Kumar A, Roberts D, Wood KE, et al. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. Crit. Care Med.2006; 34(6):1589–1596.
26. Harbarth S, Garbino J, Pugin J, Romand JA, Lew D, Pittet D. Inappropriate initial antimicrobial therapy and its effect on survival in a clinical trial of immunomodulating therapy for severe sepsis. Am. J. Med. 2003; 115(7):529–535.
27. Garnacho - Montero J, Garcia - Garmendia JL, Barrero - Almodovar A, Jimenez - Jimenez FJ, Perez - Paredes C, Ortiz - Leyba C. Impact of adequate empirical

antibiotic therapy on the outcome of patients admitted to the intensive care unit with sepsis. Crit. Care Med. 2003; 31(12):2742–2751.

28. Kumar A, Zarychanski R, Light B, et al. Early combination antibiotic therapy yields improved survival compared with monotherapy in septic shock: a propensity - matched analysis. Crit. Care Med. 2010; 38(9):1773–1785.
29. Dellinger RP, Carlet JM, Masur H, et al. Surviving sepsis campaign guidelines for management of severe sepsis and septic shock. Crit. Care Med. 2004; 32(3):858–873.
30. Mlinarić - Galinović G, Ramljak Šešo M i sur., Specijalna medicinska mikrobiologija i parazitologija. Zagreb: Merkur A. B. D; 2003;69-73.
31. Marušić M, ur. Uvod u znanstveni rad u medicini. Zagreb: Medicinska naklada; 2004.
32. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MIC and zoe diameters; Version 1.2., 2011; 1-64, Version 1.3, 2011; 1-64, Version 2.0, 2012; 1-69, Version 3.1, 2013; 1-72, Version 4.0, 2014; 1-76, Version 5.0, 2015; 1-74.
33. Stojanović P, Kocić B, Đorđević - Stanković D, Ranđelović G, Dinić M, Značaj hemokulture u dijagnostici bakterijemije i sepse, Acta medica Medicinae 2006; (1): 37-41.
34. Jerris. Time to detection of positive blood culturesusing BACTEC fluorescent resin media. The 94 th General Meeting of the American Society for Microbiology 1994 ; poster C 59.
35. Perisdonini M., Gini M, Cerutti B, Dolina M, Peren A, Predictors of positive blood cultures in critically ill patients: a retrospective evaluation, Croat Med J. 2012 Feb; 53(1): 30–39.
36. Washington, J.A. & the International Collaborative Blood Culture Study Group Eur., An international multicenter study of blood culture practices J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.,1992; 11: 1115.
37. Akademija medicinskih znanosti Hrvatske, Kolegij javnog zdravstva, Odbor za praćenje rezistencije bakterija na antibiotike u Republici Hrvatskoj, Osjetljivost i rezistencija bakterija na antibiotike u Republici Hrvatskoj 20 godina, 2016; 7- 11.

10. ŽIVOTOPIS

Ime i prezime: Helena Eškinja

Opći podatci:

Datum i mjesto rođenja: 23. kolovoza 1977. godine, Inđija, R. Srbija
Adresa stanovanja: Stanka Vraza 15, 33 000 Virovitica
Kontakt: 098/ 648-773, e-mail: helenamartic@gmail.com

Obrazovanje:

- Studentica II. godine Sveučilišnog diplomskog studija medicinsko laboratorijske dijagnostike, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet Osijek
- Osnovnu školu „Vladimir Nazor“ pohađala sam u Novom Slankamenu do 1991. godine, te nakon preseljenja sa obitelji, 1992. godine sam završila O. Š. „I. B. Mažuranić“ u Virovitici
- 1996. godine sveukupnim odličnim uspjehom završila Srednju medicinsku školu u Osijeku, smjer: medicinsko - laboratorijski tehničar
- 16. 09. 1996. - 16. 09. 1997. godine obavljala pripravnički staž, te položila stručni ispit pri Ministarstvu zdravstva
- 1997. godine upisala studij na Visokom zdravstvenom veleučilištu u Zagrebu, smjer: inženjer medicnsko - laboratorijske dijagnostike, te diplomirala 10. 03. 2000. godine
- 2006. godine upisala sam III. - razlikovnu godinu na istom veleučilištu, te 19. 02. 2008. godine diplomirala i stekla zvanje baccalareus medicinsko – laboratorijske dijagnostike
- 2014. godine upisala Sveučilišni diplomski studij medicinsko laboratorijske dijagnostike, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet Osijek

Zaposlenje:

- 20. 03. 2000. godine zaposlena u stalnom radnom odnosu u Djelatnosti za mikrobiologiju, Zavod za javno zdravstvo „Sveti Rok“ Virovitičko - podravske županije u Virovitici

Edukacije i sudjelovanja na radionicama, simpozijima i konferencijama:

- 22. - 26. 06. 2015. godine, 9. ISABS konferencija forenzičke, antropološke i medicinske genetike, Bol
- 04. 10. 2014. godine, Simpozij „Virus ebole i drugi opasni uzročnici infektivnih bolesti - prijetnja biosigurnosti u modernom svijetu“, Zagreb
- 17. - 18. 05. 2012. godine, Poslijediplomska radionica trajnog usavršavanja „Laboratorijska dijagnostika parazitarnih infekcija“, Zagreb
- 07. 06. 2011. godine, Seminar „ Iskustva akreditiranog medicinskog mikrobiološkog laboratorija“, Zagreb
- 04. 11. 2005. godine, Stručni skup / tečaj trajne edukacije „Upalne bolesti središnjeg živčanog sustava“, Zagreb

11. PRILOZI

PRILOG 1: Tehnika uzimanja krvi za hemokulturu

PRILOG 2: Izolacija uzročnika iz kulture krvi

PRILOG 3: Identifikacija uzročnika sepse i test osjetljivosti

PRILOG 1: Tehnika uzimanja krvi za hemokulturu

Tehnika uzimanja krvi za hemokulturu

Krv je uzorkovana venepunkcijom, BD Vacutainer® sustavom, 21 G x 3 / 4" x 7" (0,8 x 19 mm x 178 mm), Becton, Dikinson and Company Franklin Lakes, NJ 07417 USA, EC REP BD, Belliver Industrial Estate, Plymouth. PL6 7BP. UK, sljedećim protokolom:

1. Potrebno je dezinficirati čep bočice 70 % izopropilnim alkoholom, pričekati otprilike 1 min. da alkohol ispari.
2. Ispalpirati venu.
3. Dezinficirati mjesto venepunkcije, 70 % izopropilnim alkoholom ili antiseptikom za kožu, u koncentričnim krugovima od sredine prema periferiji, pričekati otprilike 1 min. da alkohol ispari.
4. Ponovna palpacija vene moguća je samo sa sterilnim rukavicama.
5. Glavna varijabla za otkrivanje bakterijemije je količina krvi za hemokulturu, prema preporuci proizvođača optimalan volumen za djecu je 1 - 3 mL, a za odrasle 8 - 10 mL, najmanje 2 seta hemokultura.
6. Jedan set čine 2 bočice (aerobna i anaerobna) oduzete s jednog mjesta venepunkcije. Drugi set čine ponovno dvije bočice (aerobna i anaerobna) oduzete s drugog mjesta venepunkcije. Pomoću zaštićenog nastavka za punkciju bočice, najprije se inokulira aerobna, a zatim anaerobna bočica.
7. Inokulacija jedne bočice za hemokulturu se ne preporuča, jer pritom pada osjetljivost metode i vrlo je teško interpretirati značajnost izolata pogotovo kada se izoliraju vrste bakterija koje mogu biti kontaminanti i značajni patogeni (npr. koagulaza negativni stafilokoki, korinebakterije, proprionibakterije). Ovisno o kliničkom stanju bolesnika, oba seta se ne moraju inokulirati odmah, npr. jedan set se uzme prije očekivanog porasta temperature, a drugi, ponovno kod očekivanog porasta temperature, ali se uzorkovanje oba seta mora završiti unutar 24 sata. Uzimanje seta također ovisi o hitnosti početka primjene empirijske antimikrobne terapije.
8. Inokulirane bočice se moraju odmah dostaviti u mikrobiološki laboratorij, a ukoliko to nije moguće, ostaviti ih na sobnoj temeraturi do transportiranja u laboratorij, ne duže od 24 sata, a prema preporuci proizvođača u skladu sa ustrojstvom rada mikrobiološkog laboratorija ZZJZ VPŽ.
9. Uzimanje krvi mora biti takvo da se mogućnost kontaminacije bakterijama normalne flore kože svede na najmanju razinu u strogo aseptičnim uvjetima.

PRILOG 2: Izolacija uzročnika iz kulture krvi

Izolacija uzročnika iz kulture krvi

Za izolaciju mikroorganizama iz krvi koristi se veći broj nutritivno bogatih podloga koje se komercijalno proizvode. Uglavnom se danas već tvornički dodaje 0,025 - 0,05 % SPS - a (polianetolsulfonat) čija je uloga antikoagulans, koji će spriječiti da se mikroorganizimi koji bi bili u koagulumu ne mogu izolirati. Također ima antikomplementarno i antifagocitno djelovanje, te antilizozimsko djelovanje. Bočica sadrži i druge aktivne sastojke: digestivni bujon na bazi kazeina iz soje (SCB), digestiv životinjskog tkiva, saharozu, hemin, vitamin B_6, natrij karbonat. Pored tekuće podloge, komercijalne bočice su uglavnom punjene i atmosferom CO_2 i N_2, tako da u njima mogu rasti i aerobni i anaerobni mikroorganizmi.

Za inokulaciju su se koristile bočice BD BACTEC, Plus Aerobic / F, Culture Vialis, 30 mL, Becton, Dikinson and Company, Sparks, MD 21152, EC REP Bene Limited, Shannon, county Clare, Ireland. Inokulirane bočice stavljale su se u aparat za obradu hemokultura, Bactec 9050, serijski br. 2856, godina proizvodnje 1996., početak rada 2. 2. 1998., kapacitet spremnika: 50 uzoraka. Proizvođač: Becton, Dikinson and Company, Sparks, Maryland 21152 USA. Sustav je automatiziran tako da zvučnim i svjetlosnim signalom alarmira pozitivnu hemokulturu, odnosno ispisom na LCD monitoru signalizira negativnu hemokulturu nakon 5 dana inkubacije, te se takav nalaz izdaje kao „sterilan“. U periodu od 5 dana 95 % hemokultura pokazuje pozitivitet.

PRILOG 3: Identifikacija uzročnika sepse i test osjetljivosti

Identifikacija uzročnika sepse i test osjetljivosti

Konačan cilj identifikacije bakterija iz krvi je dobivanje točnih podataka o osjetljivosti na antimikrobne lijekove, određivanje roda, odnosno vrste izolirane bakterije, što je od iznimne važnosti iz slijedećih razloga: određivanje adekvatne empirijske antimikrobne terapije, utvrđivanje ishodišta bakterijemije i dobivanje epidemioloških podataka o kretanju infekcija na odjelu. Nakon signalizacije aparata, nakon što senzor aparata izmjeri povećanje fluorescencije koje je proporcionalno povećanju količine CO_2 (nastalog nakon što mikroorganizmi metaboliziraju supstrat iz bočica), detektirana pozitivna hemokultura obrađuje se odmah.

Algoritam za identifikaciju poraslih bakterija iz hemokulture:

1. Radi postupka ubrzanja dijagnoze radi se mikroskopski preparat sedimenta dobivenog centrifugiranjem jednog dijela hemokulture 1500 okretaja / 5 min. Centrifuga Sigma 1 - 6, godina proizvodnje 2005. Preparat se boji metodom po Gramu, koji je korisna smjernica za započinjanje / korekciju antimikrobne terapije, te izradu antibiograma kao preliminarnog nalaza. Promatra se oblik, veličina, bojanje, prostorni raspored izolata.
2. Kliničaru se odmah javlja pozitivan preliminarni nalaz, prema mikroskopskom preparatu. Ukoliko je antibiogram načinjen u jutarnjim satima - isti je moguće u poslijepodnevnim satima javiti telefonski, kao preliminarni nalaz. Sutradan se javlja konačni rezultat identifikacije uzročnika i testa osjetljivosti, te izdaje nalaz. Većina klinički značajnih bakterijemija automatiziranom metodom detektira se unutar 48 sati, a fungemija nakon 72 sata.
3. Paralelno se pristupa subkultivaciji na krutim podlogama, krvnom agaru, McConkey agaru za diferencijaciju Gram negativnih bakterija na laktoza - pozitivne i laktoza - negativne izolate, te ukoliko je potrebno na čokoladni agar, Schaedler agar ili CAN_2 agar - komercijalnu kromogenu podlogu za detekciju gljiva.
4. Ostali brzi i jednostavni biokemijski testovi, komercijalni imunokemijski testovi (kitovi) mogu dati značajne orijentacijske smjernice. Rutinski se koriste testovi za ispitivanje aktivnosti enzima: katalaza, oksidaza (Oxidase test strips, Biolife, Milano, Italy).

Za potvrđivanje β - hemolitičnih streptokoka korišteni su komercijalni kitovi Pastorex ™ Strepto A - G, Biorad, France, za potvrđivanje *S. auerus* - Pastorex ™ Staph - plus, Biorad, France, za potvrđivanje MRSA - Slidex®MRSA Detection, bioMerieux, France, za *S. pneumoniae* - Slidex®Pneumo - Kit, bioMerieux, France, te za *Haemophilus influenzae* Cefinase™, BBL, BD, USA, za *Salmonellae* - SSI® Salmonellae, Statens serum Institut, Denmark, za *Campylobacter* (za diferencijaciju *C.coli / C.jejuni*) – Hippurate test Disk, Remel, USA sa pripadajućim Ninhydrin 3,5 % reagensom.

5. Klasični biokemijski testovi se izvode uglavnom u epruvetama, a temelje se na dodatku definiranih supstrata (monosaharida ili aminokiselina), te se pomoću dodatnog indikatora promatraju metabolička svojstva bakterija koja se koriste u smislu identificiranja na razini roda, odnosno vrste. U rutini se koristi: dvostruki, Kligler - iron šećer, MIL (manitol – indol - lizin), citrat agar, urea, FEA (fenilalanin), te DNA - agar.

Za manji broj izolata koristili su se dodatni komercijalni testovi, API ®- sustavi, bioMerieux, France, kao što su: api ® 20E, api ® NH, api ®STAPH, api ®A, ATB ™ANA EU (08) api ®STREPTO, api ® NE, api ® rapid ID 32A.

Izrada antibiograma provodila se inokulacijom izolata za testiranje u fiziološku otopinu api ®NaCl 0,85 % Medium, 2 mL, po McFarland standradu 0,5, izmjerenog na denzitometru, nakon čega se suspenzija ispitivanog soja sterilnim antibiogramskim štapićem aplicira na Mülle r- Hinton agar, Certifikat d.o.o, Osijek.

6. Pomoću dispenzera diskova na inokuliranu ploču Müller - Hinton, odnosno FATB agar (s dodatkom ovčje krvi) apliciraju se diskovi određene koncentracije antibiotika, Biorad, France.
7. Kod nekih izolata potrebno je napraviti i MIK (ispitivanje minimalne inhibitorne koncentracije) koji se izvode pomoću E - testova, bioMerieux, France.
8. Tako napravljeni antibiogrami inkubiraju se u termostatu 24 sata / 37 °C nakon čega se pristupa očitavanju i interpretaciji rezultata.