

OKUŽBE PRI KRITIČNO BOLNIH

SEPSA IN OKUŽBE Z ODPORNIMI PO
GRAMU NEGATIVNIMI BAKTERIJAMI

Združenje za infektologijo pri SZD

Slovensko združenje za intenzivno medicino

Katedra za infekcijske bolezni in epidemiologijo Medicinske fakultete Univerze v Ljubljani

Ljubljana, februar 2020

CIP - Kataložni zapis o publikaciji
Narodna in univerzitetna knjižnica, Ljubljana

616.94-083.98(082)

MEDNARODNO izobraževanje s področja okužb pri življenjsko ogroženih bolnikih
(7 ; 2020 ; Ljubljana)

Okužbe pri kritično bolnih : sepsa in okužbe z odpornimi po Gramu negativnimi bakterijami / 7. mednarodno izobraževanje s področja okužb pri življenjsko ogroženih bolnikih, Ljubljana, februar 2020 ; [organizatorji srečanja] Združenje za infektologijo pri SZD [in] Slovensko združenje za intenzivno medicino [in] Katedra za infekcijske bolezni in epidemiologijo Medicinske fakultete Univerze v Ljubljani ; [urednika Matjaž Jereb, Igor Muzlovič]. - Ljubljana : Združenje za infektologijo pri SZD, 2020

ISBN 978-961-93974-5-9

1. Gl. stv. nasl. 2. Jereb, Matjaž, 1961-

COBISS.SI-ID 303635200

Naslov	<i>Okužbe pri kritično bolnih</i>
Podnaslov	<i>Sepsa in okužbe z odpornimi po Gramu negativnimi bakterijami</i>
Organizatorja srečanja	<i>Združenje za infektologijo pri SZD Slovensko združenje za intenzivno medicino Katedra za infekcijske bolezni in epidemiologijo Medicinske fakultete Univerze v Ljubljani</i>
Urednika	<i>prof. dr. Matjaž Jereb, dr. med. doc. dr. Igor Muzlovič, dr. med.</i>
Recenzenta	<i>prof. dr. Janez Tomažič, dr. med. doc. dr. Mateja Logar, dr. med.</i>
Lektor	<i>Dr. Luka Vidmar</i>
Tehnična podpora	<i>Simona Rojs, dipl. ekon. Andreja Sorman, dipl. ekon.</i>
Fotografija na naslovnici	<i>Tina Roš UKC Ljubljana</i>
Tisk	<i>Tiskarna Para</i>
Založnik	<i>Združenje za infektologijo pri SZD</i>
Naklada	<i>180 izvodov</i>
Kraj in leto izdaje	<i>Ljubljana, 2020</i>

Glavni sponzor srečanja

Merck Sharp & Dohme

Srečanje so podprli (po abecednem redu):

Astellas

Amomed

Baxter

Medias International

Mediline

Medis

Mikro+Polo

MM Surgical

Pfizer

Pharmamed-Mado

KAZALO ZBORNIKA

Predgovor	7
Nina Grasselli Kmet	9
<i>Pljuča in sepsa</i>	
Natalija Planinc Strunjaš	18
<i>Mehka tkiva in sepsa</i>	
Milica Lukić	27
<i>Sepsa z izvorom v trebuhu</i>	
Mateja Logar	36
<i>Glivna sepsa – včeraj, danes, jutri</i>	
Matjaž Jereb	47
<i>Humoralna imunost in sepsa</i>	
Tomaž Vovko, Špela Urh	61
<i>Protimikrobno zdravljenje sepse – kontinuirano ali intervalno odmerjanje antibiotika?</i>	
Nejc Šotarič, Kristina Nadrah	69
<i>Protimikrobno zdravljenje sepse – monoterapija ali kombinacija?</i>	
Katja Seme, Ivana Velimirović	75
<i>Novosti v mikrobiološki diagnostiki sepse</i>	
Daša Stupica	84
<i>Okužbe z večkratno odpornimi po Gramu negativnimi bakterijami – pogled klinika</i>	
Janez Tomažič	94
<i>Celično posredovana imunost in okužbe</i>	
Mateja Pirš	113
<i>Okužbe z večkratno odpornimi po Gramu negativnimi bakterijami – pogled mikrobiologa</i>	
Tatjana Lejko Zupanc	124
<i>Infekcijski endokarditis in neobičajni povzročitelji</i>	



PREGOVOR

Spoštovane kolegice in kolegi, pred nami je Mednarodno izobraževanje s področja okužb pri življenjsko ogroženih bolnikih, ki ga Združenje za infektologijo pri SZD že sedmo leto zapored organizira skupaj s Slovenskim združenjem za intenzivno medicino in Katedro za infektivne bolezni in epidemiologijo Medicinske fakultete Univerze v Ljubljani. Vemo, da so okužbe pogost vzrok sprejema na oddelek za intenzivno zdravljenje in na drugi strani ne tako redek zaplet pri bolnikih, ki jih na intenzivne oddelke sprejemo zaradi drugih vzrokov. Pri življenjsko ogroženih bolnikih klinični znaki okužb pogosto niso značilni, povišane vrednosti laboratorijskih kazalnikov vnetja pa velikokrat povezane zgolj z okvaro tkiv. Poznavanje ustrezne diagnostike in načinov zdravljenja pomembno izboljša prognozo teh bolnikov. Tovrstna izobraževanja so zato še kako pomembna za pravilno obravnavo posameznikov z življenjsko nevarnimi okužbami, s katerimi se zdravniki na oddelkih za intenzivno zdravljenje dnevno srečujemo.

Temi letošnjega strokovnega srečanja sta sepsa in okužbe z odpornimi po Gramu negativnimi mikroorganizmi. Pojavnost sepse v zadnjih letih raste, kar je posledica različnih vzrokov. Široka in pogosto nekritična uporaba antibiotikov, ki vodi v razvoj odpornih bakterij, agresivni kirurški posegi, imunosupresivno zdravljenje, invazivni diagnostični postopki pa tudi vse višja povprečna starost prebivalstva so pomembni nevarnostni dejavniki. Pojavnost sepse je približno 50 do 100 primerov na 100.000 prebivalcev letno, vendar je število zelo verjetno podcenjeno, saj razpolagamo samo s podatki iz razvitega sveta. V svetovnem merilu je število bolnikov s sepsa zelo verjetno pomembno višje. Kljub razvoju medicine, medicinske opreme in številnih antibiotikov nam bolniki zaradi sepse, predvsem pa septičnega šoka, še vedno prepogosto umirajo. Res pa se prognoza v razvitem svetu izboljšuje in smrtnost zaradi sepse znižuje, kar gre verjetno predvsem na račun znanja in sistematičnega pristopa k obravnavi in zdravljenju teh bolnikov.

K sodelovanju smo tudi letos pritegnili domače strokovnjake in vabljeni predavatelje iz tujine, ki bodo predstavili načine sodobnega zdravljenja sepse s poudarkom na izvoru okužbe. Posebno predavanje bo namenjeno infektivnemu endokarditisu in neobičajnim povzročiteljem. Ob bakterijskih povzročiteljih sepse bomo obravnavali tudi glivno sepsa. Glive povzročajo sepsa v približno 5 % primerov, najpogosteje *Candida spp.* V zadnjih letih delež bolnikov z glivno sepsa narašča. Med glivami največkrat dokažemo *Candida albicans*, vse pogosteje pa se pojavljajo t. i. vrste »ne-albicans«, kot so *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Issatchenkia orientalis* itd. V Sloveniji spremembe niso tako izrazite, čeprav tudi pri nas v zadnjih letih pogosteje osamimo glive nekaterih vrst »ne-albicans«. Poseben poudarek bomo namenili povezavi med oslABLJENO imunsko obrambo in hudimi okužbami. Obravnavali bomo humoralno in celično imunost, ki sta v človeškem telesu neločljivo povezani ter se dopolnjujeta. Vemo namreč, da je poznavanje vseh sestavin imunskega sistema in imunskih procesov, ki se sprožijo ob sistemskih okužbah, pomembno za celovito in pravilno obravnavo bolnikov s sepsa. Izpostavili bomo prednosti neprekinjenega odmerjanja antibiotikov pri bolnikih s sepsa v primerjavi z intervalnim zdravljenjem, razloge in načine za prilagajanje antibiotikov ter predstavili smernice za kombinirano protimikrobno zdravljenje. Dotaknili se bomo novosti v mikrobiološki di-

agnostiki sepse, vabljen predavatelj iz tujine pa bo dodatno osvetlil mesto hitrih molekularnih testov.

V razvitem svetu in tudi pri nas so vse večji problem enterobakterije, ki izločajo betalaktamaze razširjenega spektra, in tudi sevi, ki so odporni proti karbapenemom. Srečujemo se z večkratno odpornimi *Acinetobacter* spp. in večkratno odpornimi *Pseudomonas aeruginosa*. Problem okužb z odpornimi po Gramu negativnimi bakterijami bomo osvetlili v drugem delu srečanja. Pravilna izbira antibiotika pri življenjsko ogroženem bolniku s septičnim šokom je namreč vsakodnevni izziv intenzivistom. Želeli bi si stoodstotno protimikrobno »kritje«, kar pa ni uresničljivo. Naše izkustveno antibiotično zdravljenje bolnikov s sepsa naj bo usklajeno z lokalnimi epidemiološkimi podatki, morebitnimi predhodnimi nadzornimi kužninami in lokalnimi smernicami glede predpisovanja antibiotikov. Predvsem je pomembno, da antibiotik širokega spektra po dobljenih mikrobioloških kužninah zožimo in usmerimo, na kar v klinični praksi prepogosto pozabimo. Prav ta vidik nadzorovane rabe antibiotikov na oddelkih za intenzivno zdravljenje bo dodatno osvetlila vabljen predavateljica iz tujine. Zavedati se moramo, da so prav ti oddelki mesto velike porabe širokospektralnih antibiotikov, ki strokovno ni vedno utemeljena.

Verjamem, da bodo strokovni prispevki, kakovostne razprave in samo druženje obogatili naše znanje. Organizatorji 7. Mednarodnega izobraževanja s področja okužb pri življenjsko ogroženih bolnikih se zahvaljujemo piscem prispevkov, predavateljem, recenzentoma, lektorju, tehničnemu osebju in sponzorjem.

V imenu organizatorjev

prof. dr. Matjaž Jereb, dr. med.

PLJUČA IN SEPSA

LUNGS AND SEPSIS

Dr. Nina Grasselli Kmet, dr. med.

Klinika za infekcijske bolezni
in vročinska stanja,
Univerzitetni klinični center Ljubljana,
Japljeva 2, 1525 Ljubljana
nina.grasselli@kclj.si

Ključne besede: sepsa, zunajbolnišnična in bolnišnična pljučnica, sindrom dihalne stiske pri odraslih, antibiotično zdravljenje, adjuvantno zdravljenje

Key words: *sepsis, community-acquired and nosocomial pneumonia, acute respiratory distress syndrom, antibiotic treatment, adjuvant treatment*

IZVLEČEK

Sepsa je bolezensko stanje, ki ga sproži okužba in se kaže z motnjo v delovanju organov in neustreznim odzivom gostitelja na okužbo. Kljub napredkom v zdravljenju sta obolevnost in smrtnost še vedno izredno visoki. Pljuča so tako najpogostejši izvor sepse in septičnega šoka, pa tudi organ, ki je najpogosteje prizadet zaradi njiju. To se kaže kot sekundarni sindrom dihalne stiske pri odraslih (ARDS). V prispevku predstavljamo patogenezo pljučne prizadetosti v sklopu sepse, najpogostejše povzročitelje zunajbolnišničnih in bolnišničnih pljučnic ter novosti v njihovem protimikrobnem in adjuvantnem zdravljenju.

Abstract

Sepsis is a disease triggered by an infection that is manifested by impaired organ function and inadequate host response to the infection, and despite advances in treatment, both morbidity and mortality are still extremely high. The lungs represent both the most common source of sepsis and septic shock, as well as the organ most commonly affected by sepsis and septic shock, which is manifested as a secondary acute respiratory distress syndrome (ARDS). The paper presents the pathogenesis of the onset of pulmonary involvement in sepsis, the most common etiologic agents of community-acquired and hospital-acquired pneumonia, and novelties in their antimicrobial and adjuvant treatment.

UVOD

Po novi definiciji iz leta 2016 je sepsa bolezensko stanje, ki ga sproži okužba in se kaže z motnjo v delovanju organov in neustreznim odzivom gostitelja na okužbo. Stopnjo okvare organov ocenjujemo s točkovnim sistemom SOFA (angl. *sequential organ failure assesment score*): kadar seštevek točk poraste za 2 ali več, govorimo o sepsi. Ob slabšanju stanja pride do septičnega šoka, ki se klinično kaže s potrebo po vazopresorjih zaradi hipotenzije, ki je neodzivna na nadomeščanje tekočine, koncentracija serumskega laktata

pa je nad 2 mmol/L (1). Po ocenah sepsa letno prizadene okoli 30 milijonov ljudi, okoli 6 milijonov pa jih za njenimi posledicami umre. Smrtnost je odvisna od teže bolezni in se giblje med 20 in 60 %. V nekoronarnih enotah intenzivnega zdravljenja (EIZ) je sepsa najpogostejši vzrok smrti (2). Po ocenah v Sloveniji letno zdravimo okoli 2000 bolnikov s sepsa. Študijska skupina SLOSEPSIS je pred leti v Sloveniji ugotovila pojavnost sepse 109 primerov na 100.000 prebivalcev, smrtnost pa je bila 45,1 % (3). Pljučnice so v Evropski uniji (EU) sedmi najpogostejši vzrok smrti (4).

Sepso povzročajo po Gramu pozitivne in negativne bakterije ter glive. Najpogostejši izvor sepse so pljuča (36 %) (5), sledijo pa primarne okužbe krvi, znotrajtrebušne okužbe, okužbe sečil ter okužbe kože in mehkih tkiv. Pri 20 do 30 % bolnikov izvora sepse ne ugotovimo (6).

PATOGENEZA PRIZADETOSTI PLJUČ PRI SEPSI

Ob vstopu mikroorganizmov v telo se gostitelj odzove z vnetnimi in imunskimi odzivi. Bakterijsko in glivno steno gradijo biološko aktivne molekule, ki se po vstopu v kri vežejo na receptorje imunskih celic ter sprožijo vnetni odziv preko sproščanja citokinov, v nekaterih primerih pa gre tudi za neposredno delovanje bakterijskih toksinov. Citokini bodisi spodbujajo vnetje (TNF alfa, IL-1, IL-6, IL-8) ali pa delujejo protivnetno (IL-4, IL-10, IL-13). Pri sepsi sprva prevladujejo provnetni citokini, v kasnejšem poteku pa protivnetni (6). Pri hudi zunajbolnišnični pljučnici (ZBP) lahko dokažemo presežek IL-6 in IL-10, kar je povezano tudi z višjo smrtnostjo (7). Pri nekaterih bolnikih z ZBP lahko po uvedbi protimikrobnega zdravljenja pride do pretiranega sproščanja citokinov (8).

Pomemben dejavnik prizadetosti pljuč ob sepsi je poškodba žilnega endotelija s posledično okvaro mikrocirkulacije. Nekateri citokini aktivirajo endotelij preko indukcije encima sintaze dušikovega monoksida (NO), njegove povišane koncentracije pa povzročajo vazodilatacijo, zmanjšan pretok skozi tkiva in povečano prepustnost žil. Na okvarjen endotelij se vežejo levkociti, iz katerih se še dodatno sproščajo citokini, prosti radikali in druge biološko aktivne snovi, ki vplivajo na prehod različnih molekul in tekočine v tkiva (6). Rezultati novejših raziskav kažejo na pomen beljakovin s pozitivnim nabojem, imenovanih **histoni**, na vpliv pljučnih okvar pri sepsi in ARDS. Histoni se sproščajo iz jeder poškodovanih celic in delujejo provnetno, prokoagulacijsko in citotoksično, saj se vežejo na različne tolične receptorje (angl. *toll like receptor* – TLR) ter s svojo vezavo še dodatno povečajo prepustnost žilja, povečajo nastanek trombina in mikrotromboz ter povzročijo dodatno akumulacijo levkocitov (9).

SINDROM DIHALNE STISKE PRI ODRASLIH

Za sindrom dihalne stiske pri odraslih (ARDS) so značilni nenaden začetek nekardiogenega pljučnega edema, obojestranski pljučni infiltrati ter zmanjšana podajnost pljuč, ki se klinično kaže s hipoksemijo. Berlinska merila ARDS iz leta 2012 so predstavljena v Tabeli 1. ARDS delimo na primarnega (pljučnega) in sekundarnega (nepljučnega), ta pa je najpomembnejši zaplet sepse in septičnega šoka (10).

Tabela 1. Berlinski kriteriji sindroma dihalne stiske pri odraslih (10).

ZNAČILNOST	MERILO
Časovni potek	Maksimalno v 1 tednu po izpostavitvi dejavniku
RTG pc	Obojestranski infiltrati
Nekardiogeni izvor edema	Dihalna stiska, ki ni posledica hipervolemije ali srčnega popuščanja
Klasifikacija	Blag: PaO ₂ /FiO ₂ 201–300 Zmeren: 101–200 Hud: ≤ 100

RTG pc – rentgenski posnetek prsnih organov, PaO₂ – parcialni arterijski tlak kisika, FiO₂ – odstotek dodanega kisika.

Patogenetsko gre pri ARDS za povečano prepustnost kapilar zaradi okvare žilnega endotelija. Zaradi tega pride do kopičenja z beljakovinami bogate tekočine v pljučnih mešičkih, kar povzroči sproščanje mediatorjev vnetja. Okvara alveolarnih celic tipa I vodi v povečan vtok tekočine v mešičke in tudi zmanjšano odstranjevanje te tekočine, okvara alveolarnih celic tipa II pa v zmanjšanje nastanka surfaktanta, kar vodi v zmanjšanje pljučne podajnosti. ARDS je lahko posledica okužb z bakterijami (*S. pneumoniae*, MSSA, *Legionella spp.*) in virusi (virus influence, herpesvirusi (HSV), virus citomegalije (CMV)), pri imunsko oslabljenih bolnikih pa tudi okužbe z glivami (10).

Pojavnost ARDS je pri septičnem šoku med 20 in 40 % in je višja, kadar so izvor okužbe pljuča. ZBP je najpogostejši vzrok nastanka ARDS. Ocenjuje se, da se ARDS pojavlja pri do 30 % bolnikov z ZBP, ki potrebujejo zdravljenje v EIZ, vendar njegov nastanek ne vpliva na 30-dnevno smrtnost zaradi ZBP v primerjavi s tistimi, ki ARDS ne razvijejo (11, 12). Pri bolnišničnih pljučnicah (BP) se ARDS pojavlja predvsem pri bolnikih, ki so mehansko predihavani (MP).

Poleg usmerjenega protimikrobnega zdravljenja, ki je predstavljeno v nadaljevanju prispevka, se pri hudih oblikah ARDS priporočata obračanje bolnika na trebuh (13) ter zgodnja uporaba živčno-mišičnih zaviralcev (14), kar statistično značilno zmanjša smrtnost.

ZUNAJBOLNIŠNIČNA PLJUČNICA

ZBP je opredeljena kot akutna okužba pljučnega parenhima, s pojavom simptomov in znakov v domačem okolju ali v 48 urah od sprejema v bolnišnico. Huda ZBP je opredeljena kot pljučnica, ki potrebuje podporno zdravljenje v EIZ, kar je povezano tudi z večjo stopnjo smrtnosti. Raziskave so pokazale, da okoli 18 % bolnikov z ZBP, ki se zdravijo v bolnišnici, izpolnjuje kriterije za hudo ZBP. Pri teh se pogosteje pojavljata septični šok in potreba po MP, smrtnost pa je skoraj 30 % (15, 16).

V evropskih EIZ je najpogostejši povzročitelj hude ZBP *Streptococcus pneumoniae* (28 %), sledijo pa *Staphylococcus aureus*, *Legionella spp.*, *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella spp.* ter ostali atipični in virusni povzročitelji. Pri 36 % povzročitelja ne dokažemo (17). Bakteriemiya je prisotna pri 1,5 do 15 % ZBP (18–20), najpogostejši povzročitelj je *S. pneumoniae*, ki je bil leta 2017 osamljen iz krvi pri 42 % bakteremičnih pljučnic (21). Med povzročitelji ZBP, ki potekajo z bakteriemijo, pnevmokoku po pogo-

stosti sledijo za meticilin občutljiv *S. aureus* (angl. methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* – MSSA) (7 %), *P. aeruginosa* (6,6 %), *S. viridans* (6,3 %) ter *H. influenzae* (4,7 %) (15, 20). Smrtnost ZBP, ki poteka z bakteriemijo, je visoka, in sicer do 40 %, značilno višja pa je pri ZBP, povzročeni z MSSA, *P. aeruginosa*, pri starejših osebah ter tistih, ki imajo pridružene bolezni (20–23). Smrtnost pnevmokokne pljučnice, ki poteka z bakteriemijo, je do 22,6 % (20). Enterobakterije po ocenah povzročajo le 1,2 % ZBP, ki potekajo z bakteriemijo, najpogosteje pa izoliramo *Escherichia coli* in *Klebsiella pneumoniae* (24). Večkratno odporne bakterije (VOB) redko povzročajo ZBP (okoli 10 % vseh), bakteriemija pa je po ocenah prisotna pri 10 % (18).

BOLNIŠNIČNA PLJUČNICA IN PLJUČNICA, POVEZANA Z MEHANSKIM PREDIHAVANJEM

BP je pljučnica, ki se pojavi več kot 48 ur po sprejemu v bolnišnico, podskupina BP so pljučnice, povezane z MP (angl. ventilator associated pneumonia – VAP), ki so v EIZ najpogostejša BO (25). Zgodovinsko BP glede na čas pojava delimo na zgodnje in pozne; če se BP pojavi v prvih 5 dneh zdravljenja, jo najpogosteje povzročajo bakterije iz domačega okolja, kadar pa se BP pojavi peti dan, jo povzročajo bakterije iz bolnišničnega okolja, pogosto tudi VOB (25). Zadnje evropske smernice za obravnavo BP iz leta 2016 pa to delitev spodbijajo, saj so glavni dejavnik tveganja za pljučnico, povzročeno z VOB, resnost bolezni in lokalne epidemiološke razmere posamezne EIZ, ne glede na čas nastanka (26). Rezultati nedavne raziskave Rella in sod., ki je zajela 27 EIZ v različnih evropskih državah, so pokazali, da prinaša prisotnost BP 6 % višjo smrtnost v primerjavi z ZBP, pomeni pa tudi dejavnik tveganja za sprejem v EIZ in daljše trajanje MP. Pri skoraj 15 % BP je bila prisotna bakteriemija (27). Smrtnost BP, ki potekajo z bakteriemijo, je izredno visoka, in sicer od 30 pa do 57 % (27–30). Tudi VAP lahko poteka z bakteriemijo, možnost zanjo pa je odvisna od trajanja zdravljenja v EIZ. Pri zdravljenju do 10 dni se bakteriemija pojavlja pri 12 do 13 % VAP in poraste na skoraj 28 % pri tistih, ki se zdravijo dlje. Pri VAP, ki poteka z bakteriemijo, je v primerjavi z VAP brez bakteriemije značilno višja tudi smrtnost (42 % vs. 19 %), najpogosteje izolirani povzročitelji pa so MSSA, proti meticilinu odporen *S. aureus* (angl. methicillin resistant *Staphylococcus aureus* – MRSA) in *P. aeruginosa* (31).

IZKUSTVENO ANTIBIOTIČNO ZDRAVLJENJE

Bolnike z ZBP v EIZ zdravimo s protimikrobnimi učinkovinami ter podporno. Antibiotično zdravljenje je treba začeti v prvi uri po sprejemu v EIZ. V Sloveniji so bile smernice za obravnavo in zdravljenje ZBP nazadnje posodobljene v letu 2010 (32). Pečavar in sod. so leta 2017 objavili posodobljena priporočila, ki so predstavljena v Tabeli 2 (33). Nedavne smernice Ameriškega torakalnega združenja (angl. *American Thoracic Society* – ATS) in Ameriškega združenja za infekcijske bolezni (angl. *Infectious Society of America* – IDSA) priporočajo le 5–7-dnevno zdravljenje, tudi v primeru hude ZBP, ki zahteva zdravljenje v EIZ. Podaljšano zdravljenje se priporoča le, če se je ZBP zapletla z meningitisom, endokarditisom ali globokimi okužbami ter v primerih okužb z nekaterimi redkejšimi povzročitelji (npr. *Burkholderia pseudomallei*, *Mycobacterium tuberculosis*, endemične glive) (34).

Tabela 2: Slovenska priporočila za izkustveno protimikrobno zdravljenje hude zunajbolnišnične pljučnice (32).

STOPNJA PLJUČNICE	ANTIBIOTIK IZBIRE	ALTERNATIVA		TRAJANJE	
Huda pljučnica PSI V	• cefotaksim 2 g/6 h ali ceftriakson 2 g/12–24 h ali amoksicilin/klavulanska kislina 1,2 g/8 h + azitromicin 500 mg/24 h	iv.	moksifloksacin 400 mg/24 h ali levofloksacin 500 mg/12 h	iv.	8 dni

iv. – intravensko, PSI – *angl.* pneumonia severity score.

Zdravljenje BP je odvisno od njene teže, časa nastanka in lokalnih epidemioloških razmer posamezne EIZ. O hudi BP govorimo, kadar je: potrebno zdravljenje v EIZ, prisotna dihalna stiska s potrebo po MP, $FiO_2 > 0,35$ za doseganje saturacije s kisikom $> 90\%$, hitro rentgensko slabšanje ter huda sepsa z odpovedjo organov. Nevarnostni dejavniki za posamezne povzročitelje so predstavljeni v Tabeli 3 (25). Najnovejše smernice ATS/IDSA iz leta 2016 priporočajo, da vsaka bolnišnica glede na lokalne epidemiološke razmere pripravi smernice za izkustveno zdravljenje BP (35). V Tabeli 4 so predstavljena najnovejša priporočila za zdravljenje BP v EIZ v Univerzitetnem kliničnem centru Ljubljana (UKCLJ) (36).

Tabela 3: Nevarnostni dejavniki za posamezne povzročitelje bolnišnične pljučnice (25).

POVZROČITELJ	NEVARNOSTNI DEJAVNIKI
enterobakterije	osnovna bolezen, antacid, zaviralci receptorjev protonске črpalke
<i>Haemophilus influenzae</i>	kajenje
<i>Staphylococcus aureus</i>	poškodba glave, nezavest > 24 ur, GCS ≤ 8 , nevrokirurški poseg, sladkorna bolezen, odpoved ledvic, gripa
MRSA	kot zgoraj + antibiotično zdravljenje, MP, predhodna kolonizacija z MRSA
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	antibiotično zdravljenje, podhranjenost, KOPB, bronhiektazije, CF, zdravljenje z glukokortikoidi, MP
<i>Acinetobacter</i> spp.	antibiotično zdravljenje, MP
anaerobne bakterije	kirurški poseg v trebušni votlini, aspiracija
<i>Legionella pneumophila</i>	okužena voda, zdravljenje z glukokortikoidi in anti-TNF

GCS – glasgowska lestvica kome, MP – mehansko predihavanje, CF – cistična fibroza, MRSA – proti met icilinu odporen *Staphylococcus aureus*, KOPB – kronična obstruktivna pljučna bolezen, TNF – tumorje nekrotizirajoči faktor.

Tabela 4: Priporočila za antibiotično zdravljenje bolnišničnih okužb v Univerzitetnem kliničnem centru Ljubljana 2019/2020 – pljučnica (36).

PLJUČNICA	POVZROČITELJ	ANTIBIOTIK IZBIRE	DODATEK PROTI-GLIVNEGA ZDRAVILA	KOMENTAR	TRAJANJE ZDRAVLJENJA
intenzivni oddelek, septični šok	<i>enterobakterije</i> (vključno z odpornimi), <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Acinetobacter spp.</i>	<ul style="list-style-type: none"> • piperacilin/tazobaktam 4,5 g/6 ur iv. + amikacin 30 mg/kg TT/24 ur iv. ali • cefepim 2 g/8 ur iv. ali ceftazidim 2 g/8 ur iv. + amikacin 30 mg/kg TT/24 ur iv. (če ni aspiracije) 	ne	piperacilin/tazobaktam 4,5 g polnilni odmerek, nato kontinuirana infuzija, cefepim v podaljšani infuziji glede na navodila proizvajalca	7 dni ali več – konzultacija z infektologom
+ de-javnik tveganja za VOB	MRSA	<ul style="list-style-type: none"> • dodatno vankomicin 30 mg/kg iv. polnilni odmerek, nato 30–60 mg/kg/12 ali 6 ur ali • dodamo linezolid 600 mg/12 ur iv. 	ne		7 dni ali več – konzultacija z infektologom
	ESBL	<ul style="list-style-type: none"> • imipenem 1 g/6 ur iv. ali meropenem 2 g/8 h iv. 		imipenem, meropenem v podaljšani infuziji, glede na priporočila proizvajalca, slabša občutljivost enterobakterij ESBL razen <i>Escherichia coli</i> za ceftozolan/tazobaktam	
	ESBL in sočasno možen <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<ul style="list-style-type: none"> • ceftazidim/avibaktam 2,5 g/8 ur iv. • ceftozolan/tazobaktam 3 g/8 ur iv. 			
	MDR <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	glede na občutljivost bakterije			

VOB – večkratno odporne bakterije, ESBL – betalaktamaze razširjenega spektra (angl. *extended spectrum betalactamase*), MDR – večkratno odporen (angl. *multidrug resistant*), iv. – intravensko.

MESTO GLUKOKORTIKOIDOV PRI ZDRAVLJENJU PLJUČNIC

Glukokortikoidi (GK) v obliki zdravil povzročijo učinke, podobne učinkom endogenega kortizola – vplivajo na izločanje protivnetnih citokinov in zavirajo izločanje provnetnih, delujejo pa tudi na strukturne celice dihal (37). Kljub napredku v obravnavi ZBP smrtnost ostaja visoka, predvsem pri bolnikih s pridruženimi boleznimi. K slabemu izidu pripomore po eni strani nekontrolirano vnetje, po drugi pa neustrezen odziv imunskega sistema gostitelja (15). Veliko raziskav je preučevalo vpliv adjuvantnih GK pri zdravljenju ZBP. Rezultati 3 meta-analiz so pokazali, da GK sicer pospešijo izboljšanje simptomov, skrajšajo čas do klinične stabilnosti (regresija infiltratov na RTG prsnih organov, normalizacija telesne temperature in frekvence dihanja, upad vnetnih kazalnikov) ter zmanjšajo verjetnost nastanka ARDS, vendar pa ne vplivajo na zmanjšanje celotne smrtnosti. Vpliv na boljše preživetje je bil dokazan le v podskupini bolnikov s hudo ZBP in

med bolniki, ki so prejeli podaljšano zdravljenje z GK (več kot 5 dni) (38–40). Podobno glede smrtnosti so pokazali tudi rezultati dveh randomiziranih kontroliranih raziskav iz leta 2015 – dokazali so vpliv na zmanjšanje verjetnosti za neuspeh zdravljenja ter na skrajšanje časa za doseganje klinične stabilnosti (41, 42). Nasprotno so rezultati meta-analize iz leta 2015 pokazali tako zmanjšanje smrtnosti zaradi ZBP ob uporabi GK kot možnosti za razvoj ARDS in potrebe po MP (43). Pri okužbi z gripo so rezultati zadnje meta-analize iz leta 2019, ki je zajela skoraj 100.000 bolnikov, pokazali, da uporaba GK značilno poveča smrtnost, zato se odsvetuje (44). Za zdaj ni na voljo dovolj raziskav, ki bi dokončno določile vpliv adjuvantnih GK na izid zdravljenja ZBP in definirale populacijo, pri kateri so koristni.

Pri pljučnici, ki jo povzroča *Pneumocystis jirovecii* (PCP), se pri bolnikih, hkrati okuženih z virusom HIV, priporoča uporaba adjuvantnih GK, saj dokazano zmanjšajo smrtnost in možnost razvoja dihalne odpovedi (45), medtem ko za osebe, ki niso okužene s HIV, za zdaj ni tako dobrih raziskav. Glede na ugotovitve raziskave Inoue in sod. iz leta 2018 pa je uporaba adjuvantnih GK povezana z zmanjšano 60-dnevno smrtnostjo pri hudi PCP s PaO₂ pod 8 kPa (46).

SKLEPI

Pljuča so tako najpogostejši izvor sepse in septičnega šoka, hkrati pa so tudi organ, ki ga sepsa najpogosteje prizadene. Smrtnost pljučnic, ki potekajo z bakteriemijo, je visoka. Za doseg zmanjšanja smrtnosti je potrebna hitra in ustrezna izbira izkustvenega anti-biotičnega zdravljenja. Adjuvantno zdravljenje z GK pri zdravljenju hude ZBP (razen pri PCP) skrajša čas do doseganja klinične stabilnosti, zmanjša tveganje za neuspeh zdravljenja ter napredovanje v ARDS, vendar pa trenutno ni na voljo dovolj raziskav, ki bi dokončno določile vpliv njihove uporabe na izid zdravljenja in definirale populacijo, pri kateri so koristni.

Literatura

1. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA* 2016; 315 (8): 801–810.
2. Fleischmann C, Scherag A, Adhikari NK, Hartog CS, Tsaganos T, Schlattmann P, et al. Assessment of Global Incidence and Mortality of Hospital-treated Sepsis. Current Estimates and Limitations. *Am J Respir Crit Care Med* 2016; 193 (3): 259–72.
3. Muzlovič I, Voga G, Kremžar B. Smernice za zdravljenje bolnikov s sepsa in septičnim šokom. Ljubljana: Slovensko združenje za intenzivno medicino, 2007.
4. Eurostat. Causes of death – standardised death rate, EU-28, 2016 (per 100000 inhabitants). Dostopno na: [https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php?title=File:Causes_of_death_-_standardised_death_rate_EU-28_2016_\(per_100_000_inhabitants\)_HLTH19.png](https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php?title=File:Causes_of_death_-_standardised_death_rate_EU-28_2016_(per_100_000_inhabitants)_HLTH19.png).
5. Ceccato A, Torees A. Sepsis and community-acquired pneumonia. *Ann Res Hosp* 2018; 2–7.
6. Jereb M, Arnež M, Muzlovič I. Sepsa. Tomažič J, Strle F, ur. Infekcijske bolezni. 2. izdaja. Ljubljana: Združenje za infektologijo, Slovensko zdravniško društvo; 2016; p. 121–7.
7. Menendez R, Cavalcanti M, Reyes S, Mensa J, Martinez R, Marcos MA, et al. Markers of treatment failure in hospitalised community-acquired pneumonia. *Torax* 2008; 63: 447–52.
8. Wunderink RG. Corticosteroides for severe community-acquired pneumonia: not for everyone. *JAMA* 2015; 313: 673–4.
9. Umbrello M, Formenti P, Bolgiagli L, Chiumello D. Current concepts of ARDS: a narrative review. *Int J Mol Sci* 2017; 18 (64): 1–20.
10. The ARDS Definition Task Force. Acute respiratory Distress Syndrome. The Berlin Definition. *JAMA* 2012; 307 (23): 2526–33.

11. Špec Marn A. Akutni respiracijski distresni sindrom. Kremžar B, Voga G, Grosek Š, ur. Intenzivna medicina. 1. izdaja. Ljubljana: Slovensko združenje za intenzivno medicino; 2019; p. 423–6.
12. Ciloniz C, Ferrer M, Liapikou A, Garcia-Vidal C, Gabarrus A, Ceccato A, et al. Acute respiratory distress syndrome in mechanically ventilated patients with community-acquired pneumonia. *Europ Resp J* 2018; 51: 1702215.
13. Guerin C, Reignier J, Richard JC, Beuret P, Gacouin A, Boulain T, et al. Prone positioning in severe acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 2013; 368: 2159–68.
14. Papazian L, Forel JM, Gacouin A, Penot-Ragon C, Perrin G, Loundou A, et al. Neuromuscular blockers in early respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 2010; 363: 1107–16.
15. Prina E, Ceccato A, Torres A. New aspects in the management of pneumonia. *Crit Care* 2016; 20: 267–76.
16. Pokorn M, Lejko Zupanc T. Pljučnica. Tomažič J, Strle F, ur. Infekcijske bolezni. 2. izdaja. Ljubljana: Združenje za infektologijo, Slovensko zdravniško društvo; 2016; p. 272–80.
17. Walden AP, Clarke GM, McKechnie S, Hutton P, Gordon AC, Rello J, et al. Patients with community-acquired pneumonia admitted to European intensive care units: an epidemiological survey of the GenOSep cohort. *Critical Care* 2014; 18: R58.
18. Torres A, Cilloniz C, Ferrer M, Gabarrus A, Polverino E, Villegas S, et al. Bacteremia and antibiotic resistant pathogens in community acquired pneumonia: risk and prognosis. *Eur Resp J* 2015; 45: 1353–63.
19. Metersky ML, Ma A, Bratzler DW, Houck PM. Predicting bacteraemia in patients with community acquired pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 169: 342–7.
20. Melzer M, Welch C. 30-day mortality in UK patients with bacteraemic community-acquired pneumonia. *Infection* 2013; 41: 1005–11.
21. ECDC. Invasive pneumococcal disease. Annual Epidemiological Report for 2017. Dostopno na: https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/AER_for_2017-invasive-pneumococcal-disease.pdf.
22. Schreiber MP, Chan CM, Shorr AF. Bacteremia in *Staphylococcus aureus* pneumonia: outcomes and epidemiology. *J Crit Care* 2011; 26: 395–401.
23. Lin SH, Lai CC, Tan CK, Liao WH, Hsueh PR. Outcomes of hospitalized patients with bacteraemic and non-bacteraemic community-acquired pneumonia caused by *Streptococcus pneumoniae*. *Epidemiol Infect* 2011; 139: 1307–16.
24. Ruiz LA, Gomez A, Jaca C, Martinez L, Gomez B, Zalacain R. Bacteremic community-acquired pneumonia due to Gram-negative bacteria: incidence, clinical presentation and factors associated with severity during hospital stay. *Infection* 2010; 38: 453–8.
25. Karner P. Bolnišnična pljučnica. Tomažič J, Strle F, ur. Infekcijske bolezni. 2. izdaja. Ljubljana: Združenje za infektologijo, Slovensko zdravniško društvo; 2016; p. 288–90.
26. Torres A, Niederman MS, Chastre J, Ewig S, Fernandez-Vandellos P, Hanberger H, et al. International ERS/ESICM/ESCMID/ALAT guidelines for the management of hospital-acquired pneumonia and ventilator-associated pneumonia: Guidelines for the management of hospital acquired pneumonia (HAP)/ventilator associated pneumonia (VAP) of the European Respiratory Society (ERS), European Society of Intensive Care Medicine (ESICM), European Society of Clinical Microbiology and Infectious diseases (ESCMID) and Asociacion Latinoamericana del Torax (ALAT). *Eur Resp J* 2017; 50: 1700582.
27. Koulenti D, Tsigou E, Rello J. Nosocomial pneumonia in 27 ICUs in Europe: perspectives from EU-VAP/CAP study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2017; 36: 1999–2006.
28. Guillet CV, Vazquez R, Noe J, Micek ST, Kollef MH. A cohort study of bacteremic pneumonia. The importance of antibiotic resistance and appropriate initial therapy? *Medicine* 2016; 95: 35: 4708.
29. Marget M, Lisboa T, Martin-Loeches I, Manez R, Nauwynck M, Wrigge H, et al. Bacteremia is an independent risk factor for mortality in nosocomial pneumonia: a prospective and observational multicenter study. *Crit Care* 2011; 15: R62.
30. Rello J, Lujan M, Gallego M, Valles J, Belmonte Y, Fontanals D, et al. Why mortality is increased in health-care-associated pneumonia. Lessons from Pneumococcal bacteremic pneumonia. *Chest* 2010; 137 (5): 1138–44.
31. Kemal Agbaht, Diaz E, Munoz E, Lisboa T, Gomez F, Depuydt PO, et al. Bacteremia in patients with ventilator-associated pneumonia is associated with increased mortality: a study comparing bacteremic vs. nonbacteremic ventilator associated pneumonia. *Crit Care Med* 2017; 35 (9): 2064–70.
32. Mušič E, Osolnik K, Tomič V, Eržen R, Košnik M, Beović B, et al. Priporočila za obravnavo zunajbolnišnične pljučnice odraslih (prenovljena in dopolnjena izdaja, 2010). *Zdrav Vestn* 2010; 79: 245–64.
33. Pečavar B, Lejko Zupanc T, Vodopivec Jamšek V, Osolnik K, Seme K, et al. Izkušveno antibiotično zdravljenje doma pridobljene pljučnice pri odraslih v Sloveniji. In: Beović B, Lejko Zupanc T, ur. Zbornik prispevkov: Infektološki simpozij 2017; Ljubljana, Slovenija. V Ljubljani: Sekcija za protimikrobno zdravljenje SZD; 2017; p. 62–73.
34. Metlay JP, Waterer GW, Long AC, Anzueto A, Brozek J, Crothers K, et al. Diagnosis and treatment of adults with community-acquired pneumonia. An official clinical practise guideline of the American Thoracic Society and Infectious Diseases Society of America. *AJRCCM* 2019; 7: e45–e67.
35. Kalil AC, Metersky ML, Klompas M, Muscedere J, Sweeney AD, Palmer LB, et al. Management of adults with hospital-acquired and ventilator-associated pneumonia: 2016 Clinical practise guidelines by the infectious diseases society of America and the American Thoracic Society. *Clin Infect Dis* 2016; 63: e61–111.
36. Lukić M, Planinc Strunjaš N, Nadrah K, Pappst L, Beović B. Priporočila za antibiotično zdravljenje bolnišničnih okužb v UKCLJ 2019/2020.
37. Meijvis SC, van de Garde EM, Rijkers GT, Bos WJ. Treatment with anti-inflammatory drugs in community-acquired pneumonia. *J Intern Med* 2012; 272: 25–35.
38. Chen Y, Li K, Pu H, Wu T. Corticosteroids for pneumonia. *Cochrane Database Sys Rev* 2011; (3): CD007720.

-
39. Wan YD, Sun TW, Liu ZQ, Zhang SG, Wang LX, Kan QC: Efficacy and safety of corticosteroides for community-acquired pneumonia: a systematic review and meta-analysis. *Chest* 2016; 149: 2019–19.
 40. Nie W, Zhang Y, Cheng J, Xiu Q. Corticosteroids in the treatment of community-acquired pneumonia in adults: a meta-analysis. *Plos One* 2012; 7: e47926.
 41. Torres A, Sibila O, Ferrer M, Polverino E, Menendez R, Mensa J, et al. Effect of corticosteroids on treatment failure among hospitalized patients with severe community-acquired pneumonia and high inflammatory response: a randomized clinical trial. *JAMA* 2015; 313: 677–86.
 42. Blum CA, Nigro N, Briel M, Schuetz P, Ullmer E, Suter-Widmer I, et al. Adjunct prednisone therapy for patients with community-acquired pneumonia: a multicentre, double-blind, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet* 2015; 385: 1511–8.
 43. Siemieniuk RA, Meade MO, Alonso-Coello P, Briel M, Evaniew N, Prasad M, et al. Corticosteroid therapy for patients hospitalized with community-acquired pneumonia: a systematic review and meta-analysis. *Ann Intern Med* 2015; 163 (7): 519–28.
 44. Lansbury L, Rodrigo C, Leonardi-Bee J, Nguyen-Van-Tam J, Lim WS. Corticosteroids as adjunctive therapy in the treatment of influenza. *Cochrane Database Syst Rev* 2019; 2: CD010406.
 45. Ewald H, Raatz H, Boscacci R, Furrer H, Bucher HC, Briel M. Adjunctive corticosteroids for *Pneumocystis jiroveci* pneumonia in patients with HIV infection. *Cochrane Database Syst Rev* 2015; 4: CD006150.
 46. Inoue N, Fushimi K. Adjunctive Corticosteroids decreased the risk of mortality of non-HIV *Pneumocystis Pneumonia*. *Int J of Infect Dis* 2019; 79: 109–115.

MEHKA TKIVA IN SEPSA

SOFT TISSUES AND SEPSIS

Natalija Planinc Strunjaš, dr. med.

Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja,
Univerzitetni klinični center Ljubljana, Japljeva 2, Ljubljana
natalija.planinc@kclj.si

Ključne besede: okužbe mehkih tkiv, nekrotizirajoči fasciitis, Fournierova gangrena, plinska gangrena, sepsa, septični šok

Key words: soft tissues infections, necrotizing fasciitis, Fournier's gangrene, gas gangrene, sepsis, septic shock

IZVLEČEK

Nekrotizirajoče okužbe mehkih tkiv so redke, vendar življenje ogrožajoče okužbe. Začetna klinična slika je nemalokrat zavajajoča. Okužba je hitro potekajoča, zamuda pri temeljnih principih zdravljenja pa je povezana s slabšo prognozo. Smrtnost znaša od 25 do 35 %, zmerne do hude funkcionalne posledice pa utrpi 30 % bolnikov. Uporaba slikovne diagnostike in točkovnikov, s katerimi bi prepoznali najbolj ogrožene bolnike, ima pri postavitvi diagnoze omejene možnosti. Temelj obravnave je takojšnje kirurško zdravljenje in odvzem vzorcev za mikrobiološko potrditev povzročiteljev. Sočasno je potrebno širokospektralno izkustveno antibiotično zdravljenje z uporabo učinkovin, ki zavirajo sintezo toksinov. Nezanemarljiv delež pri obravnavi predstavlja tudi podporno zdravljenje. Na vidiku pa so nove metode, s katerimi bi morda lahko izboljšali preživetje in funkcionalno stanje preživelih.

Abstract

Necrotizing soft tissue infections (NSTI) are rare, but life-threatening infections. The initial clinical presentation is often misleading. The infection spreads rapidly, and delayed basic principles of treatment are associated with a worse prognosis. Mortality rates range from 25 to 35 %, and moderate to severe functional consequences are presented in 30 % of patients. The use of diagnostics imaging and scoring systems to identify the most at-risk patients has limited potential for diagnosis. Cornerstone of the treatment represent immediate surgical treatment and sampling for microbiological confirmation of the pathogens. Prompt broad spectrum empirical treatment is required using toxin-inhibiting agents. Supportive treatment also represents a significant part of the treatment. However, new methods that could possibly improve the survival and functional status of survivors are emerging.

UVOD

Okužbe kože in mehkih tkiv so med najpogostejšimi okužbami, s katerimi se srečujemo v medicini. Zajemajo različna patološka stanja, ki vključujejo kožo, podkožje, fascije ali mišice in lahko segajo od preprostih površinskih okužb do hudih nekrotizirajočih okužb. Večino teh okužb predstavljajo okužbe, omejene na kožo, ki kot mehanska pregrada preprečuje napredovanje v globlja tkiva. Okužbe kože so večinoma blage in kratkotrajne in običajno ne zahtevajo bolnišnične obravnave. Pravo nasprotje temu pa so okužbe mehkih tkiv. Te so redkejšje in lahko napredujejo z razvojem nekroze in sistemsko prizadetostjo bolnika. Med nekrotizirajoče okužbe mehkih tkiv (NOMT), ki praviloma poleg kože zajemajo še podkožje, fascije in mišice, uvrščamo nekrotizirajoči fasciitis (NF), Fournierovo in plinsko gangreno (1). Te okužbe so redke, z ocenjeno pojavnostjo od 0,4 do 1/100.000, vendar imajo za posledico veliko smrtnost, ki znaša med 25 in 35 %. Prizadenejo lahko katerikoli del telesa, najpogosteje pa jih najdemo na spodnjih okončinah, v predelu okoli perineja in na trebušni steni. Večino okužb kože in mehkih tkiv povzročajo po Gramu pozitivni koki (predvsem *Staphylococcus aureus* in β -hemolitični streptokoki), pri bolnikih z oslabilnim imunskim sistemom, intravenskih uživalcih drog ali pri ugriznih ranah pa so pogosti tudi anaerobi in po Gramu negativne bakterije (1, 2).

PATOFIZIOLOGIJA NEKROTIZIRAJOČIH OKUŽB MEHKIH TKIV

Okužba se razvije praviloma z vdorom povzročitelja skozi prekinjen kožni pokrov, redko pa je posledica hematogenega razsoja ali neposrednega razsoja bakterij po perforaciji votlega organa. Značilna lokalna in sistemska manifestacija sta posledici delovanja toksinov in encimov, ki jih izločajo povzročitelji. Preko proteazne aktivnosti povzročajo poškodbo zunajceličnega matriksa in se hitro širijo, predvsem na trupu in okončinah, kjer ni mehanske pregrade med posameznimi kompartmenti. Vnetni proces se običajno začne v globini in koža sprva pogosto ostaja neprizadeta (3).

Odsotnost gnoja je značilna za NOMT. Bakterije s toksini zavirajo kemotakso nevtrofilcev iz krvi, obenem se preko drugih mehanizmov (npr. *Streptococcus pyogenes* preko proteina M) izognejo fagocitozi. S toksini sprožena diseminirana znotrajžilna koagulacija ovira prehod nevtrofilcev v prizadeta tkiva in ustvarja hipoksične tkivne razmere, ki onemogočajo optimalno delovanje tistih nevtrofilcev, ki jim je uspelo preiti skozi okludiran žilni endotelij.

V začetku bolezni je tako klinično na mestu okužbe videti le oteklino in blago rdečino. Napredujoča nekroza prizadetega tkiva je posledica neposrednega delovanja bakterijskih toksinov in posredno preko ishemije zaradi žilne zapore. Zaradi tromboz v žilah za preskrbo kože, ki potekajo skozi fascije, se posledično razvije kritična ishemija kože. Nekroliza povzroči razvoj mehurjev in bul, ki so sprva izpolnjeni s prosojno tekočino. Pojav hemoragičnih bul in modro-vijolične barve kože pa govori za globljo prizadetost dermisa zaradi perfuzijskega primanjkljaja. V primeru klostridijske etiologije NOMT se v uničenih tkivih tvorijo plinski mehurčki. Poškodba živčnih končičev na površini povzroča hudo bolečino s hipo- ali hiperestezijo (3, 4).

Tudi sistemski znaki, ki spremljajo NOMT, kot so vročina, hipotenzija, tahikardija, motnja zavesti, so posledica delovanja bakterijskih toksinov. Bakterijski superantigeni, t. i. pirogeni eksotoksini, neposredno stimulirajo in nespecifično aktivirajo veliko število

celic T in makrofagov, kar posledično povzroči visoke koncentracije provnetnih citokinov (dejavnika tumorske nekroze – α (TNF- α), interleukinov (IL) -1 in IL-6) in s tem nadzorovan vnetni odziv. Poleg tega aktivirajo komplement, sistem bradikinin-kalikein in koagulacijsko kaskado. Toksinsko povzročena hemoliza pa zaradi hemoglobinurije prispeva k razvoju akutne ledvične odpovedi (5).

ETIOLOGIJA IN DELITEV NOMT

NOMT zaradi razlikovanja klinične slike in razlik v ciljni populaciji delimo predvsem glede na povzročitelje. Tako ločimo 4 tipe NOMT (tip I–IV). Med seboj jih lahko ločimo še glede na globino okužbe (adipozitis, fasciitis ali miozitis) in anatomsko lokacijo, kot je na primer Fournierova gangrena (2).

Tip I NOMT je najpogostejši tip NOMT ter predstavlja 55–75 % vseh NOMT. Je polimikrobna okužba, povzročajo pa jo po Gramu pozitivni koki in po Gramu negativni bacili v kombinaciji z anaerobnimi bakterijami. Najpogosteje se pojavlja na trupu in v predelu okoli perineja ter na spodnjih okončinah. V to skupino spadata NF vratu in Fournierova gangrena. NF vratu je najpogosteje odontogenega izvora, lahko pa gre za širjenje okužbe iz parafaringealnega prostora ali nastane kot posledica poškodbe oz. malignoma. Najpogostejši povzročitelji so ustni anaerobi, kot so peptostreptokoki, *Bacteroides* spp. in *Fusobacterium* spp. Fournierova gangrena je okužba v predelu perineja in je pogostejša pri moških. Nastane lahko kot posledica poškodbe, po kirurških posegih ali s širjenjem okužbe iz sečil, spolovil oz. perianalnega predela. V povprečju pri Fournierovi gangreni izoliramo štiri različne povzročitelje. Najpogostejša povzročitelja sta *Escherichia coli* in *Bacteroides* spp., vendar so pogosto pridruženi tudi stafilkoki, enterokoki, aerobni in anaerobni streptokoki, *Pseudomonas* spp. in *Clostridium* spp. (6, 7). Dejavniki tveganja za razvoj NOMT tipa I so sladkorna bolezen, alkoholizem, periferna žilna bolezen, debelost ter imunska oslABLjenost (8).

Tip II NOMT je monomikrobna okužba, ki jo najpogosteje povzroča *S. pyogenes*, t. i. mesojedi streptokok. Najpogosteje se pojavlja na okončinah, lahko (sicer redko) prizadene tudi vrat, takrat je življenje bolnika hitro ogroženo zaradi grozeče zapore dihalne poti. Patogenetsko je tip II NOMT povezan s poškodbo, intravensko uporabo prepovedanih drog, kirurškimi posegi, lahko pa je tudi posledica hematogenega razsoja. Zanj je značilno, da lahko prizadene tudi mlajše, predhodno zdrave ljudi in da poteka hitreje in bolj agresivno kot tip I NOMT (9). NF, povzročen s *S. pyogenes*, je zelo nevaren tako za lokalni kot sistemski razsoj, vključno z razvojem sindroma toksičnega šoka (do 50 %). Pri tem imajo pomembno vlogo virulentni dejavniki *S. pyogenes*, kot so proteini M, kapsula iz hialuronske kisline, afiniteta za vezavo na vimentin in pirogeni eksotoksini. Proteini M (predvsem tip 1 in 3) ščitijo bakterijo pred protitelesnim imunskim odzivom in fagocitozo. Kapsula iz hialuronske kisline omogoča, da uide fagocitozi. Vimentin je protein skeletnih mišic, ki se nahaja le na poškodovanih mišicah in na katerega se veže *S. pyogenes* z veliko afiniteto, kar je verjetna razlaga za večjo pojavnost okužb, povzročenih s *S. pyogenes*, po poškodbi mišic. Pirogeni eksotoksini (A, B in C) so superantigeni, ki množično aktivirajo limfocite T in makrofage, in zaradi tega pride do močne sinteze citokinov, kar prispeva k razvoju sindroma toksičnega šoka. Superantigeni aktivirajo tudi komplement, sistem bradikinin-kalikein in koagulacijsko kaskado (4).

Povzročitelj tipa II NOMT je tudi *S. aureus*, lahko v kombinaciji s piogenim streptokokom. Poleg citotoksina Panton-Valentinov levkocidin (PVL), ki ga izloča tako za meticilin občutljiv *S. aureus* (angl. *methicillin sensitive S. aureus*, MSSA) kot proti meticilinu odporen *S. aureus* (angl. *methicillin resistant S. aureus*, MRSA), so z NOMT povezani tudi drugi virulentni dejavniki, kot je npr. α -hemolizin, ki je prisoten na MRSA domačega okolja (*community acquired methicillin resistant S. aureus*, CA-MRSA) (10). Opisani so tudi primeri NOMT, povzročeni s sevi *S. aureus*, ki izločajo toksin sindroma toksičnega šoka (TSST-1) (11).

Tip III NOMT so monomikrobne okužbe, ki jih povzročajo po Gramu negativne bakterije, vključno z bakterijami morskega ali sladkovodnega okolja. Najpogosteje tip III NOMT povzročata *Vibrio vulnificus* in *Aeromonas hydrophila*. Okužba se razvije po onesnaženju rane z okuženo vodo, redkeje pa gre za hematogen razsoj po zaužitju okužene morske hrane, predvsem surovih ostrig. Tip III NOMT je najmanj pogost vzrok NOMT v našem okolju. V zadnjem času se pojavljajo poročila iz vzhodne Azije o monomikrobnih NOMT, povzročeni z *E. coli* in *K. pneumoniae*, ki sta odporni proti več skupinam protimikrobnih zdravil (angl. *multidrug resistant*, MDR) (2, 12, 13).

Tip IV NOMT se v literaturi pojavlja le sporadično in se nanaša predvsem na NOMT glivne etiologije. Pri predhodno zdravih bolnikih je mehanizem nastanka običajno poškodba, pri kateri pride do onesnaženja z zemljo, opisani pa so tudi primeri iatrogenega izvora preko onesnaženih oblog za rane. Najpogosteje omenjani povzročitelji so aspergili in zigomicete, smrtnost pa je kljub kirurškemu in medikamentnemu zdravljenju znašala 38 %. Pri imunsko oslabljenih je poleg poškodbe opisan tudi mehanizem sekundarnega razsoja s primarnega mesta okužbe in je povezan predvsem s kandidami in kriptokoki. Smrtnost NF, povzročene s kriptokoki, znaša 41,6 % (2).

Med NOMT uvrščamo tudi **plinsko gangreno** oz. klostridijsko mionekrozo. Nastane kot posledica poškodbe, po kirurških posegih ali zaradi hematogenega razsoja po translokaciji iz prebavil pri bolnikih z malignomi oz. pri nevtropeničnih bolnikih. Povzročajo jo po Gramu pozitivni anaerobni bacili iz rodu *Clostridium*, najpogosteje *C. perfringens* (povezan z mehanizmom poškodbe) in *C. septicum* (povezan s hematogenim razsojem). *Clostridium* spp. izloča več kot 20 različnih eksotoksinov, ki povzročajo nekroze, hemolizo, neposredno vplivajo na kontraktilnost miokarda in močno spodbujajo sproščanje provnetnih citokinov (IL-1, IL-6, TNF- α). Bolezen je hitro potekajoča, klinično je sicer podobna ostalim NOMT, značilne pa so krepitacije, ki so posledica tvorbe plinskih vključkov, vendar jih neredko spregledamo zaradi otekline prizadetega območja (3, 14).

KLINIČNA SLIKA NOMT

Klinična slika NOMT je zelo raznovrstna, odvisna od mesta in povzročitelja. V začetni fazi bolezni je v ospredju klasična triada, ki jo sestavljajo oteklina, rdečina in neproporcionalno huda bolečina v primerjavi s kliničnimi najdbami. Bolniki so običajno prizadeti, z izraženimi sistemskimi znaki okužbe. Sprva prisotna hiperestezija prizadetega območja s potekom bolezni izzveni in pojavi se zmanjšana občutljivost oz. celo anestezija prizadetih predelov. Oteklina se običajno širi čez robove rdečine, prizadeto območje pa je na otip trše, kar je posledica vnetnega dogajanja v globini. V napredovali fazi bolezni so čedalje bolj vidne spremembe tudi na površju kože. Pojavijo se modro-vijolična obar-

vanost kože in mehurji oz. bule, ki so sprva izpolnjene s serozno, nato hemoragično vsebino. V primeru klostridijske etiologije so lahko tipne tudi krepitacije. Sistemski znaki okužbe, kot so vročina, tahikardija, tahipneja in hipotenzija, napredujejo do šokovnega stanja in lahko tudi smrti bolnika (12).

Goh s sodelavci je pri pregledu literature, pri katerem je bilo zajetih več kot 1463 bolnikov z NF, ugotavljal, da je bila poleg klasične triade (oteklina 80,8 %, bolečine 79 % in rdečina 70,7 %) vročina prisotna le pri 40 % bolnikov, kar je približno pri $\frac{1}{4}$ bolnikov pripeljalo do podcenjevanja resnosti bolezni in postavitve napačne diagnoze (15). Mongelluzzo pa v prospektivni opazovalni raziskavi omenja celo nižji delež bolnikov z vročino (< 25 %) (16).

DIAGNOSTIKA NOMT

Okužbe kože in mehkih tkiv so pogost vzrok, zaradi katerega se bolniki zatečejo po pomoč k zdravniku. Klinična slika je raznovrstna in zajema vse od preprostih površinskih okužb do hudih življenje ogrožajočih NOMT. V zgodnjih fazah bolezni je NOMT težko ločiti od morebitnega celulitisa ali abscesa. To nemalokrat vodi v zamudo pri postavitvi diagnoze, kar je življenjskega pomena, saj je čas, ki poteče od sprejema bolnika do kirurške oskrbe, najbolj odločilen dejavnik preživetja.

Poleg utemeljenega kliničnega suma si pri diagnostiki NOMT pomagamo z laboratorijskimi in slikovnimi preiskavami. Z laboratorijskimi preiskavami krvi ugotavljamo prisotne visoke vnetne kazalnike (vključno s C-reaktivnim proteinom – CRP, prokalcitoninom – PCT in IL-6) ter druge pokazatelje okvare organskih sistemov, kot so koagulopatija, akutna ledvična in jetrna okvara, povišana koncentracija serumskega laktata, spremembe v acidobaznem ravnotežju itd. Značilno so povečane vrednosti kreatin kinaze in mioglobina (12). Leta 2004 je Wong s sodelavci oblikoval lestvico LRINEC (angl. *Laboratory Risk Indicator for Necrotizing Fasciitis*) s šestimi laboratorijskimi spremenljivkami, ki je sprva obetala dobro klinično uporabnost (PNV – pozitivna napovedna vrednost 92 %, NNV – negativna napovedna vrednost 96 %), vendar kasnejše raziskave tega niso potrdile (17, 18).

Slikovna diagnostika NOMT je pogosto zamudna in se ne priporoča v rutinski uporabi. Največjo občutljivost (90 do 100 %) ima magnetna resonanca (MRI), vendar je zamudna in pri kritično bolnih pogosto ni izvedljiva. Računalniška tomografija (CT) je najpogosteje uporabljena slikovna metoda za diagnostiko NOMT, ima nižjo občutljivost (80 %) v primerjavi z MRI, vendar je njena prednost v boljši dostopnosti in hitrosti preiskave (19). Ultrazvočna preiskava ima prednost v tem, da je obposteljna metoda, vendar je premalo specifična in občutljiva za rutinsko uporabo ter močno odvisna od izvajalca preiskave (20, 21).

Zlati standard za potrditev diagnoze NOMT ostaja neposredna kirurška inspekcija, zato je ob sumu na NOMT potrebna takojšnja konzultacija s kirurgi. Incizija prizadetega območja do fascij praviloma pokaže prisotnost motnega izločka neprijetnega vonja, tromboze žilja, zaradi katerih prizadeto tkivo ne krvavi med samim posegom, fascija pa je motna, siva in ni prisotnega odpora pri odmikanju s topim predmetom. Takojšen mikroskopski pregled zmrzlega reza odvzetega tkiva nam poda histološko potrditev diagnoze, vendar ni ves čas dostopen (22).

Pri vseh bolnikih z NOMT je nujna tudi mikrobiološka diagnostika. Odvzamemo hemokulture ter vzorce tkiva za direktni gramski razmaz in kulturo na patogene bakterije, ob čemer se ne smemo zadovoljiti le z intraoperacijskimi brisi.

ZDRAVLJENJE NOMT

Zdravljenje NOMT je primarno kirurška domena. Kot je bilo že omenjeno, je čas, ki poteče od sprejema bolnika do kirurške oskrbe, najbolj odločilen dejavnik preživetja, ob čemer je 24-urna zamuda pri kirurškem zdravljenju povezana z devetkrat višjo smrtnostjo pri teh bolnikih (9). Zato je potrebna čimprejšnja obsežna nekrektomija, pri čemer je treba odstraniti vse predele mrtvine. Pogosto so potrebne dodatne nekrektomije, neredko tudi mutilantne operacije z amputacijami okončin (23).

Poleg kirurškega zdravljenja zdravljenje NOMT vključuje tudi antibiotično in podporno zdravljenje. Izkušveno antibiotično zdravljenje mora biti uvedeno že ob sumu na NOMT, takoj po odvzemu hemokultur. Praviloma s kliničnim pregledom ne moremo zanesljivo ločiti med različnimi tipi NOMT, zato mora biti izkušveno zdravljenje širokospektralno. Smernice Ameriškega infektološkega združenja (*Infectious Diseases Society of America*, IDSA) svetujejo kombinacijo antibiotične terapije proti po Gramu pozitivnim bakterijam (s kritjem MRSA glede na epidemiološke razmere v ZDA), po Gramu negativnim bakterijam in anaerobom. Dodatek antibiotika, ki zavira sintezo proteinov in s tem nastanek toksinov, se priporoča prvih nekaj dni oz. dokler okužba ni obvladana, v primeru suma na okužbe, povzročene s *S. pyogenes*, *S. aureus* ali *Clostridium* spp. (20).

Pri okužbah, povezanih z *V. vulnificus*, se svetuje kombinacija tetraciklinskega antibiotika s fluorokinolonom in cefalosporinom 3. generacije. Glede na rezultate retrospektivnih raziskav je uporaba betalaktamskih antibiotikov v monoterapiji povezana z višjo smrtnostjo v primerjavi s prej omenjeno kombinacijo ali monoterapijo s fluorokinoloni. Za okužbe, povzročene z *A. hydrophila*, je priporočljivo zdravljenje s fluorokinoloni, kot alternativno zdravljenje se priporočajo trimetoprim-sulfametoksazol ali cefalosporini 4. generacije, karbapenemi in tetraciklini (12, 24). Kot pri vseh okužbah se po prejetju izvidov mikrobioloških preiskav priporoča sestop na usmerjeno zdravljenje.

Čas trajanja zdravljenja v številnih priporočilih ni jasno opredeljen. Večina strokovnjakov na tem področju se strinja, da po uspešni zajezitvi vira okužbe in umiritvi sepse nadaljnje antibiotično zdravljenje ni potrebno. Čas trajanja zdravljenja je treba prilagoditi posameznemu bolniku glede na razsežnost bolezni in morebitne zaplete. Slovenska priporočila za antibiotično zdravljenje NOMT so povzeta v Tabeli 1 (25).

Tabela 1. Slovenska priporočila za antibiotično zdravljenje NOMT

Bolezen/povzročitelj	Antibiotik	Trajanje
NF tip 1 mešana bakterijska flora: streptokoki, gramnegativne bakterije, anaerobi	ampicilin/sulbaktam iv. 3 g/6 h + klindamicin iv. 600 mg/8 h + gentamicin iv. 5 mg/kg TT/24 h*	14 dni
	cefotaksim iv. 2 g/6 h + klindamicin iv. 600 mg/8 h ali metronidazol iv. 500 mg/8 h*	
	imipenem iv. 500 mg/6 h do 1 g/8 h*	
NF tip 2 streptokoki skupine A, C, G	vankomicin iv. 1 g /12 h + gentamicin iv. 5 mg/kg TT/24 h ali ciprofloksacin iv. 400 mg/8 h + metronidazol iv. 500 mg/8 h ali klindamicin iv. 600 mg/8 h*	14 dni
	penicilin G iv. 5 mio IE/6 h ali ceftriakson iv. 2 g/24 h + klindamicin iv. 600–900 mg/6–8 h ± gentamicin iv. 5 mg/kg/24 h ± intravenski imunoglobulini 2 g/kg 1 ×, drugi odmerek po 48 h, če je bolnik nestabilen*	
Plinska gangrena <i>C. perfringens</i>	penicilin G iv. 5 mio IE/4–6 h + klindamicin 600–900 mg/8 h	14 dni

NF: nekrotizirajoči fasciitis; * če gre za hitro napredujoče vnetje in/ali delovanje toksina, nekateri svetujejo zdravljenje z dodatkom antibiotika, ki deluje na sintezo beljakovin: klindamicin (možna odpornost), linezolid.

Poleg takojšnjega kirurškega in protimikrobnega zdravljenja je za te bolnike izjemno pomembno tudi podporno zdravljenje. Enteralno hranjenje je treba začeti čim prej. Ob tem je treba misliti na izgubo beljakovin skozi rane in hipermetabolno stanje, čemur je treba prilagoditi tudi kalorični in beljakovinski vnos. Zaradi boljšega celjenja ran je treba optimizirati tudi vnos vitaminov A, C in mineralov, kot je cink. Rane je treba redno in natančno oskrbovati. Pravi izziv predstavljajo rane v perinealnem predelu. V teh primerih je občasno treba, zaradi vsakodnevnega fekalnega onesnaženja, narediti začasno kolostomo. Kadar je rana čista, je smiselna uporaba VAC (angl. *vacuum assisted closure*). Zapiranje ran opravimo, ko je bolnik stabilen in rane ne kažejo več znakov okužbe.

Podatki o uporabi hiperbarične komore za zdravljenje NOMT so skopi in največ poročil zajema tip I NF in plinsko gangreno. Hiperbarična komora ima mesto pri bolnikih po začetem kirurškem in protimikrobnem zdravljenju, če stanje bolnika to dopušča. Protokoli, opisani v literaturi, vključujejo uporabo atmosferskega tlaka 2 do 2,8 atmosfer. Čas trajanja posamezne seanse naj bi bil od 30 do 90 minut, od dva- do trikrat dnevno, skupaj tri do 10 dni oz., dokler je okužba aktivna. Zapleti pri uporabi hiperbarične komore so redki, med najbolj pogosto opisovanimi je barotrauma predvsem srednjega ušesa, zaradi česar se pri uporabi hiperbarične komore pri intubiranih bolnikih priporoča predhodna miringotomija. Redkeje so opisani barotrauma drugih mest (pljuča, sinusi, zobovje) in epileptični napadi v okviru vpliva akutne toksičnosti kisika na možgane (22).

Mesto pri zdravljenju NOMT imajo tudi intravenski imunoglobulini (IVIG), predvsem zaradi zagotavljanja nevtralizacije krožečih toksinov, obenem imajo tudi imunomodulatorni učinek in sodelujejo pri opsonizaciji bakterij. Uporabljajo se pri NF tipa II, ob sindromu toksičnega šoka in pri klostridijski etiologiji NOMT (22, 26). Večina podatkov o uporabi IVIG temelji na manjših primerjalnih opazovalnih in retrospektivnih preglednih raziskavah. Edina prospektivna dvojno slepa, s placebom kontrolirana randomizi-

rana preiskava uporabe IVIG pri bolnikih s streptokoknim sindromom toksičnega šoka je bila zaradi prepočasne vključitve bolnikov predčasno prekinjena. Ob sicer zelo majhnem vzorcu (vključenih le 21 bolnikov) je pokazala pomembno izboljšanje seštevka točkovnika SOFA (angl. *Sepsis-related Organ Failure Assessment score* – SOFA score) v skupini zdravljenih z IVIG in 3,6-krat višjo 28-dnevno smrtnost v skupini s placebom (27). Tudi v švedski primerjalni opazovalni raziskavi uporabe IVIG pri bolnikih s streptokoknim sindromom toksičnega šoka in NOMT je bilo preživetje v skupini bolnikov, ki so prejeli IVIG, boljše (87 % vs. 50 %) (28). Uporaba IVIG prinaša tveganje za nekatere neželene učinke (alergijske reakcije, akutna ledvična okvara), vendar so ti na srečo redki. Plazmafereza (PF) je metoda, namenjena odstranitvi vnetnih mediatorjev iz krvi ob čezmernem vnetnem odzivu, kar je podlaga za uporabo pri bolnikih s septičnim šokom. Raziskav, ki bi opredelile mesto PF pri zdravljenju bolnikov z NOMT, za zdaj še ni, obstajajo pa opisi uspešnega zdravljenja pri posameznih bolnikih (29). V zadnjem času se v literaturi pojavljajo primeri uspešnega zdravljenja z uporabo odstranjevalcev citokinov (30).

ZAKLJUČEK

NOMT so redke, vendar najhujše oblike okužb mehkih tkiv, ki predstavljajo diagnostični in terapevtski izziv za zdravnike. Zgodnja prepoznavna bolnikov z nesorazmerno hudo bolečino v primerjavi s kliničnimi najdbami ob sistemski prizadetosti bolnika mora takoj zbuditi sum na možnost NOMT. Osnovni principi zdravljenja NOMT, ki vključujejo multidisciplinaren pristop, se v zadnjih nekaj desetletjih niso spremenili. Takojšnje kirurško ukrepanje ostaja, poleg antibiotičnega in podpornega zdravljenja, najpomembnejši del obravnave teh bolnikov. Uporaba novih možnosti zdravljenja, ki kažejo pozitivne rezultate v izidu bolezni, za zdaj ni podprta z dokazi, vendar so potrebne dodatne raziskave za opredelitev njihovega mesta v obravnavi teh bolnikov.

Literatura

1. Lotrič Furlan S. Okužbe kože in mehkih tkiv. In: Tomažič J, Strle F s sod., ur. Infekcijske bolezni 2. izdaja: univerzitetni učbenik. Ljubljana: Zdrženje za infektologijo, Slovensko zdravniško društvo, 2017; p. 151–62.
2. Saeed K, Esposito S, Gould I, Ascione T, Bassetti M, Bonnet M, et al. Hot topics in necrotising skin and soft tissue infections. *Int J Antimicrob Agents*. 2018; 52 (1): 1–10.
3. Stevens DL, Aldape MJ, Bryant AE. Life-threatening clostridial infections. *Anaerobe* 2012; 18: 254–9.
4. Cunningham MW. Pathogenesis of group A streptococcal infections and their sequelae. *Adv Exp Med Biol* 2008; 609: 29–42.
5. Navarro MA, McClane BA, Uzal FA. Mechanisms of action and cell death associated with *Clostridium perfringens* toxins. *Toxins (Basel)*. 2018 May 22; 10 (5).
6. Lancerotto L, Tocco I, Salmaso R, Vindigni V, Basseto F. Necrotizing fasciitis: classification, diagnosis and management. *J Trauma Acute Care Surg* 2012; 72: 560–6.
7. Huang CS. Fournier's Gangrene. *N Engl J Med*. 2017; 376 (12): 1158.
8. Anaya DA, Dellinger EP. Necrotizing soft-tissue infection: Diagnosis and management. *Clin Infect Dis* 2007; 44: 705–10.
9. Wong CH, Chang HC, Pasupathy S, Khin LW, Tan JL, Low CO. Necrotizing fasciitis: clinical presentation, microbiology, and determinants of mortality. *J Bone Joint Surg Am* 2003; 85: 1454–60.
10. Wang JT, Chang SC, Tai HC, Tang YB. Necrotizing fasciitis caused by *Staphylococcus aureus*: The emergence of methicillin-resistant strains. *Ann Plast Surg* 2011; 67: 632–6.
11. Tong SY, Davis JS, Eichenberger E, Holland TL, Fowler VG Jr. *Staphylococcus aureus* infections: Epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clin Microbiol Rev* 2015; 28: 603–61.
12. Tessier JM, Sanders J, Sartelli M, Ulrych J, De Simone B, Grabowski J, et al. Necrotizing Soft Tissue Infections: A Focused Review of Pathophysiology, Diagnosis, Operative Management, Antimicrobial Therapy, and Pediatrics. *Surg Infect (Larchmt)*. 2019 Oct 4.

-
13. Rojko T, Petrič A. Življenjsko nevarne okužbe mehkih tkiv. V: Logar M, Beovič B, Lejko Zupanc T, (Eds) Infektološki simpozij; 2019; Ljubljana, Slovenija: Ljubljana: Sekcija za kemoterapijo SZD, Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja, Klinični center, Katedra za infekcijske bolezni in epidemiologijo, Medicinska fakulteta Univerze v Ljubljani; 2019; p. 208–16.
 14. Bryant AE, Bayer CR, Aldape MJ, et al. Clostridium perfringens phospholipase C-induced platelet/leukocyte interactions impede neutrophil diapedesis. *J Med Microbiol* 2006; 55: 495–504.
 15. Goh T, Goh LG, Ang CH, Wong CH. Early diagnosis of necrotizing fasciitis. *Br J Surg* 2014; 101 (1): 119–25.
 16. Mongelluzzo J, Tu B, Grimes B, et al. Correlation of physical exam findings with fever in patients with skin and soft tissue infections. *West J Emerg Med* 2017; 18: 398–402.
 17. Wong CH, Khin LW, Heng KS, Tan KC, Low CO. The LRINEC (Laboratory Risk Indicator for Necrotizing Fasciitis) score: A tool for distinguishing necrotizing fasciitis from other soft tissue infections. *Crit Care Med* 2004; 32: 1535–41.
 18. Carbonetti F, Cremona A, Carusi V, Guidi M, Iannicelli E, Di Girolamo M. The role of contrast enhanced computed tomography in the diagnosis of necrotizing fasciitis and comparison with the laboratory risk indicator for necrotizing fasciitis (LRINEC). *Radiol Med* 2016; 121 (2): 106–21.
 19. Chaudhry AA, Baker KS, Gould ES, Gupta R. Necrotizing fasciitis and its mimics: What radiologists need to know. *AJR Am J Roentgenol* 2015; 204: 128–39.
 20. Stevens DL, Bisno AL, Chambers HF, Dellinger EP, Goldstein EJC, Gorbach SL, et al. Practice guidelines for the diagnosis and management of skin and soft tissue infections: 2014 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2014; 59 (2): 10–52.
 21. Tso DK, Singh AK. Necrotizing fasciitis of the lower extremity: imaging pearls and pitfalls. *Br J Radiol* 2018; 91 (1088): 20180093.
 22. Cocanour CS, Chang P, Huston JM, Adams CA Jr, Diaz JJ, Wessel CB. Management and novel adjuncts of necrotizing soft tissue infections. *Surg Infect* 2017; 18: 250–72.
 23. Hakkarainen TW, Kopari NM, Pham TN, Evans HL. Necrotizing soft tissue infections: review and current concepts in treatment, systems of care, and outcomes. *Curr Probl Surg* 2014; 51 (8): 344–62.
 24. Wong KC, Brown AM, Luscombe GM, Wong SJ, Mendis K. Antibiotic use for Vibrio infections: important insights from surveillance data. *BMC Infect Dis* 15, 226 (2015).
 25. Beovič B, Čižman M. Kako predpisujemo protimikrobna zdravila v bolnišnicah. Ljubljana: Sekcija za protimikrobno zdravljenje slovenskega zdravniškega društva; 2013.
 26. Gardezi SZ. Necrotizing Clostridial Soft Tissue Infection: Does IVIG have A Role? *J Anesth Crit Care Open Access* 1 (2): 00010.
 27. Darenberg J, Ihendyane N, Sjölin J, Aufwerber E, Haidl S, Follin P, et al. Intravenous immunoglobulin G therapy in streptococcal toxic shock syndrome: A European randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Clin Infect Dis* 2003; 37: 333–40.
 28. Linner A, Darenberg J, Sjölin J, Henriques-Normark B, Norrby-Teglund A. Clinical Efficacy of Polyspecific Intravenous Immunoglobulin Therapy in Patients With Streptococcal Toxic Shock Syndrome: A Comparative Observational Study *Clin Infect Dis* 2014; 59: 851–7.
 29. Bonne SL, Kadri SS. Evaluation and management of necrotizing soft tissue infections. *Infect Dis Clin North Am* 2017; 31 (3): 497–511.
 30. Hetz H, Berger R, Recknagel P, Steltzer H. Septic Shock Secondary to β -hemolytic Streptococcus-induced Necrotizing Fasciitis treated with a Novel Cytokine Adsorption Therapy. *Int J Artif Organs* 2014; 37 (5): 422–6.

SEPSA Z IZVOROM V TREBUHU

ABDOMINAL SEPSIS

Asist. Milica Lukić, dr. med.

Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja
Univerzitetni klinični center Ljubljana,
Japljeva 2, 1525 Ljubljana
milica.lukic@kclj.si

Ključne besede: trebuh, sepsa, polimikrobne okužbe, odstranitev vira, protimikrobno zdravljenje

Keywords: abdomen, sepsis, polymicrobial infections, source control, antimicrobial treatment

IZVLEČEK

Trebuh je drugi najpogostejši vir okužbe pri bolnikih s sepsa. Abdominalna sepsa je najpogostejše posledica sekundarnega peritonitisa, ki nastane po perforaciji votlega organa, ishemični nekrozi prebavil in penetrirajočih poškodbah. Okužbe v trebuhu so praviloma polimikrobne. Medoperacijski odvzem kužnin je nujen pri kritično bolnih, bolnikih z bolnišničnimi okužbami, bolnikih z doma pridobljenimi okužbami, pri katerih obstaja tveganje za okužbo z odpornimi povzročitelji, ter pri vsaki ponovni operaciji. Temeljni ukrepi pri obravnavi bolnika z abdominalno sepsa so urgentna odstranitev vira okužbe, zgodnje protimikrobno zdravljenje in podporno zdravljenje organske odpovedi

Ključne besede: trebuh, sepsa, polimikrobne okužbe, odstranitev vira, protimikrobno zdravljenje

Abstract

Abdomen is the second most common source of infection in septic patients. Abdominal sepsis is usually a consequence of secondary peritonitis after hollow organ perforation, ischemic bowel necrosis and penetrating abdominal trauma. Abdominal infections are usually polymicrobial. Intraperitoneal specimens from the site of infection are always recommended for patients with hospital acquired intra-abdominal infection, community acquired infection and risk for resistant pathogens, critically ill and in every re-operation. Early initiation of appropriate antimicrobial treatment, urgent source control and organ support are cornerstones of adequate treatment of abdominal sepsis.

UVOD

Trebuh je drugi najpogostejši vir okužbe pri bolnikih s sepsa (1). Sepsa z izvorom v trebuhu je ena najtežjih oblik sepse. Znano je, da se pri bolnikih z okužbo v trebuhu (OT) septični šok razvije pri kar 40 % bolnikov, smrtnost najhuje bolnih pa dosega 50 % do 70 % (2–4). Z izrazom abdominalna sepsa (AS) običajno označujemo sepsa, ki je nastala kot

posledica sekundarnega peritonitisa. V širšem smislu so vir AS številne OT, ki se med seboj razlikujejo glede na anatomsko mesto in obseg, patogenezo in povzročitelje. Najbolj preprosta in najširše sprejeta je delitev OT na preproste in zapletene (5). Preproste OT so omejene na en organ, pri čemer je struktura anatomske pregrade med svetlino organa in trebušno votlino ohranjena. Zgodaj prepoznane preproste OT so redko povezane z razvojem sepse. Nasprotno se zapletene OT, pri katerih se okužba razširi na peritonej, pogosteje zapletejo s sepsa in septičnim šokom. Sekundarni peritonitis je najpogostejša oblika zapletenih OT, pri kateri pride do predrtnja, raztrganine ali nekroze votlega organa in kontaminacije trebušne votline s prebavno mikrobioto. V bolnišničnem okolju je sekundarni peritonitis pogosteje zaplet elektivnega operacijskega posega. Posebna oblika peritonitisa je t. i. terciarni peritonitis, za katerega je značilno vztrajanje oziroma ponovitev peritonitisa v več kot 48 urah po na videz ustrezni odstranitvi vnetnega žarišča. Kot zaplet je opisan pri 20 % do 50 % primerov sekundarnega peritonitisa (6). Nastanek terciarnega peritonitisa povezujejo z različnimi dejavniki, kot so kritična bolezen, imunska oslABLjenost, teža primarne bolezni, prisotnost *Candida* spp. v kužninah peritonealnega prostora in nepopolna odstranitev vnetnega žarišča. Nekateri avtorji si prizadevajo za opustitev izraza »terciarni« peritonitis, ker gre v osnovi za sekundarni peritonitis, pri katerem ni prišlo do ustreznega odziva na zdravljenje (7, 8).

V prispevku bodo predstavljene epidemiološke značilnosti zapletenih OT ter pristop k diagnostiki in zdravljenju AS kot posledice sekundarnega in terciarnega peritonitisa.

Epidemiologija, etiologija in patogeneza abdominalne sepse

Najnovejši epidemiološki podatki o OT in sepsi so bili objavljeni v lanskem letu v mednarodni raziskavi Blota in sod., v katero so vključili več kot 2500 bolnikov, ki so se zaradi zapletenih OT zdravili v enotah za intenzivno zdravljenje (EIZ). Podatke o bolnikih so prospektivno zbirali v 309 EIZ v Evropi (69,8 %), Srednji in Južni Ameriki (14 %), Severni Afriki in na Bližnjem vzhodu (8,8 %), v manjšem deležu pa tudi v Severni Ameriki in Aziji. Pri večini bolnikov je bila teža bolezni ocenjena kot sepsa (60,7 %) oziroma septični šok (33,1 %), pri čemer so upoštevali najnovejšo definicijo sepse (9). Glede na okolje nastanka so prevladovala pozna bolnišnična okužba (BO), ki so bile definirane kot okužbe, nastale po več kot sedmih dneh hospitalizacije (43 %). Sledile so jim okužbe domačega okolja (31 %) in zgodnje BO (25 %). Večina sprejemov v EIZ je bila ocenjena kot urgentni kirurški sprejem. Najpogosteje so bolniki imeli sekundarni peritonitis (68,4 %), redkeje pa okužbo žolčevodov (12,2 %), trebušne slinavke, znotrajtrebušni absces in primarni peritonitis. Ocenjena 28-dnevna smrtnost celotne kohorte je bila 30 %, najpomembnejša razlika v smrtnosti pa je bila povezana z uspešnostjo odstranitve vnetnega žarišča. Tako je v skupini bolnikov, pri katerih so v prvih sedmih dneh zdravljenja dosegli popolno odstranitev vnetnega žarišča, umrlo 17,2 % bolnikov, v skupini z več kot sedem dni trajajočim vnetjem v trebuhu pa je bila smrtnost skoraj trikrat večja (51,8 %). Poleg nepopolno odstranjenega vnetnega žarišča so na slab izid zdravljenja vplivali tudi visoka starost, podhranjenost in temeljne bolezni (sladkorna bolezen, zastojna srčna odpoved, okvara jeter), sepsa in septični šok ob sprejemu, prisotnost pozne BO in obseg okužbe v trebuhu (difuzni peritonitis) (4).

AS se najpogosteje razvije po predrtnju votlega organa, ishemični nekrozi in penetrirajočih poškodbah trebušnih organov, ko zaradi poškodbe prebavne cevi pride do masivnega

vdora mikrobov in njihovih produktov v sterilne dele prebavil in kri. Neredko se AS pojavi kot zaplet hudega akutnega pankreatitisa ali pa postoperacijsko, zaradi puščanja anastomoze prebavne cevi. AS povzročajo mikroorganizmi, ki poseljujejo prizadeti del prebavne cevi, zaradi česar so okužbe polimikrobne. V glavnem velja, da okužbe, ki izvirajo nad proksimalnim ileumom, povzročajo pretežno po Gramu pozitivne in po Gramu negativne aerobne ter fakultativno anaerobne bakterije. Če je mesto okužbe distalneje vzdolž prebavne cevi, je delež po Gramu negativnih aerobnih in anaerobnih bakterij večji (10). V nizozemski raziskavi kritično bolnih s sekundarnim in terciarnim peritonitisom so ugotovili, da se mikrobiota peritonealne tekočine med hospitalizacijo spreminja. V kužninah, odvzetih ob začetku bolezni, je poraslo največ po Gramu negativnih bakterij, največji delež teh pa je bil izoliran pri bolnikih s perforacijo debelega črevesa in slepiča (68,8 % in 77,8 %). *Candida* spp. je največkrat porasla v kužninah bolnikov s perforacijo zgornjih prebavil (41 %) in tankega črevesa (34,1 %), po Gramu pozitivne bakterije pa pri bolnikih s perforacijo debelega črevesa in danke (50 %). Po štirih tednih je v kužninah poraslo le še 6,7 % po Gramu negativnih bakterij, medtem ko so bile po Gramu pozitivne bakterije izolirane pri 86,7 % bolnikov, prevladovali so enterokoki in koagulazno negativni stafilokoki. Rast gliv so zaznali le pri bolnikih s perforacijo debelega črevesa in danke (14,3 %). Avtorji so opozorili, da je zmanjšan delež po Gramu pozitivnih bakterij in gliv deloma treba pripisati tudi selektivni dekontaminaciji prebavil, ki so jo izvedli pri vsakem bolniku (11). Drugačne rezultate je pokazala raziskava Montraversa in sod., v katero so vključili bolnike, ki so bili v EIZ sprejeti zaradi postoperacijskega peritonitisa. Iz vseh kužnin, odvzetih ob prvi in vseh naslednjih operacijah, so največkrat porasle po Gramu negativne bakterije, delež po Gramu pozitivnih bakterij in gliv pa je s številom reoperacij postopno naraščal (7). V že omenjeni raziskavi Blota in sod. ni bilo razlik med peritonealno floro okužb domačega okolja ter zgodnjih in poznih BO. V primerjavi s predhodnimi raziskavami so zaznali izrazit porast večkratno odpornih izolatov (26,3 %), katerih delež je bil enak, ne glede na okolje nastanka okužbe ali teže bolezni (4).

Diagnoza abdominalne seapse

Diagnoza AS je v prvi vrsti klinična. Na AS posumimo pri bolnikih s kliničnimi simptomi in znaki difuznega peritonitisa ter odpovedi delovanja prebavil in drugih organov. Pri bolnišnični AS je lahko prvi znak nastajajoče seapse ileus, sprememba videza vsebine, ki izteka po abdominalnem drenu, povečanje znotrajtrebušnega tlaka ali novonastala hemodinamska nestabilnost. Diagnostika AS na podlagi laboratorijskih kazalnikov vnetja je nezanesljiva, saj so ti lahko povišani tudi ob hudem vnetju, ki nastane zaradi poškodbe trebušnih organov. Še posebej to velja za C-reaktivni protein (CRP). Laboratorijski kazalniki vnetja imajo verjetno pomembnejšo vlogo pri spremljanju odziva na zdravljenje in predvidevanju postoperacijskih zapletov (12). Več avtorjev je pokazalo, da vrednost CRP nad 100 mg/L, ki vztraja več kot pet dni po operacijskem posegu, kaže na nastanek abscesa in druge zaplete (puščanje anastomoze) (13, 14). Prav tako so v več raziskavah dokazali, da je vztrajanje visokih vrednosti prokalcitonina (PCT) več dni po operacijskem posegu dober napovedni dejavnik hujše bolezni in večje smrtnosti (15–17). Upad vrednosti PCT je lahko eden izmed kriterijev za oceno trajanja protimikrobnega zdravljenja. Po podatkih retrospektivne raziskave Maseda in sod. je bilo trajanje protimikrobnega zdravljenja sekundarnega peritonitisa za 50 % krajše v

skupini bolnikov, pri katerih so antibiotik ukinili, ko je vrednost PCT upadla za več kot 80 % maksimalne vrednosti ali pod 0,5 ng/mL. Krajšanje protimikrobnega zdravljenja ni vplivalo na smrtnost in čas hospitalizacije (18).

Slikovni preiskavi izbora za oceno vira okužbe pri AS sta ultrazvok (UZ) in računalniška tomografija (angl. *computed tomography* – CT). Na prvem mestu je UZ, če pa ta, zaradi slabe preglednosti ali drugih vzrokov, ni poveden, se lahko opravi CT trebušnih organov. V primerjavi z UZ sta občutljivost in specifičnost CT preiskave za detekcijo vnetja slepiča in divertikulitisa pomembno višji (94 % in 81 % za CT ter 76 % in 61 % za UZ). Za diagnostiko holecistitisa sta obe preiskavi enako občutljivi (73 %) (19). Francoska priporočila za obravnavo OT odsvetujejo slikovne preiskave pri kritično bolnih z utemeljenim kliničnim sumom na doma pridobljen sekundarni peritonitis, še posebej v primerih, ko je izvedba preiskave povezana z zakasnitvijo operacijskega posega. Nasprotno pa CT trebušnih organov z uporabo kontrastnega sredstva priporočajo za oceno tekočinskih kolekcij in abscesov pri stabilnih bolnikih, pri katerih obstaja sum na postoperacijski peritonitis. Pri tej skupini bolnikov je preiskava najbolj zanesljiva po petem dnevu od operacijskega posega. Če do kliničnega poslabšanja stanja pride v prvih treh dneh po operaciji, dodatna slikovna diagnostika ni nujna za odločitev o ponovnem operacijskem posegu. Odsotnost vnetnega žarišča na CT trebušnih organov po petem dnevu od operacijskega posega, ob kliničnem sumu na postoperacijski peritonitis, ne more izključiti diagnoze terciarnega peritonitisa (20).

Posebnosti mikrobiološke diagnostike abdominalne sepse

Hemokultura je zlati standard za mikrobiološko diagnostiko sepse. Podatki kažejo, da so pri bolnikih z AS in sekundarnim ali terciarnim peritonitisom hemokulture pozitivne pri 10 % do 49 % bolnikov (4, 21). Povzročitelje AS lahko dokažemo tudi z osamitvijo mikrobov iz kužnin trebušne votline (peritonealna tekočina, tkivo). Medoperacijski odvzem kužnin je nujen pri kritično bolnih, bolnikih z bolnišničnimi OT, bolnikih z doma pridobljenimi OT, pri katerih obstaja tveganje za okužbo z odpornimi povzročitelji (predhodno protimikrobno zdravljenje, znana kolonizacija prebavil z odpornimi bakterijami, imunsko oslabljeni bolniki, epidemiološke razmere), ter pri vsaki ponovni operaciji. Ključen je pravilen odvzem in transport vzorcev. Ustrezen vzorec je 1 do 2 mL tekočine ali 1 do 2 g tkiva, odvzetega na mestu okužbe. Bris trebušne votline ni ustrezen vzorec. Po odvzemu je treba kužnine čim prej transportirati do mikrobiološkega laboratorija v anaerobnem sistemu. Od mikrobioloških preiskav naročimo mikroskopski pregled vzorca in gramski razmaz ter kultivacijo na patogene bakterije in glive. Vsebina abdominalnega drena je ustrezna kužnina le v primeru, da je bil ta vstavljen manj kot 24 ur pred odvzemu vzorca (22). Zaradi poselitve drena z bakterijami iz okolice kasneje odvzeti vzorci niso primerne kužnine. Poznavanje mikrobiote peritonealne tekočine omogoča eskalacijo protimikrobnega zdravljenja pri bolnikih, pri katerih izbrani antibiotik ne učinkuje proti vsem osamljenim mikrobov, bolnikovo stanje pa se ne izboljšuje ali se celo slabša. Po drugi strani se na temelju izvidov odvzetih kužnin, ob pozornem kliničnem spremljanju bolnika, lahko odločimo za deeskalacijo, če je protimikrobni spekter izkustveno izbranih učinkovin preširok.

Pristop k zdravljenju abdominalne seapse

Na izid zdravljenja AS vplivajo številni dejavniki, ki jih lahko razdelimo na spremenljive in nespremenljive. Podatki kažejo, da na smrtnost AS neodvisno vplivajo starost, temeljne bolezni, vir okužbe in teža bolezni, prisotnost BO ter ustreznost odstranitve žarišča in protimikrobnega zdravljenja (23). Kirurško in protimikrobno zdravljenje sta torej edina spremenljiva dejavnika, na katere lahko vplivamo že v zgodnjem poteku bolezni.

Urgentna odstranitev vira okužbe in zgodnje protimikrobno zdravljenje sta temeljna ukrepa pri zdravljenju bolnikov z AS. Zaradi izjemne heterogenosti bolnikov z AS je za ustrezen izbor tako protimikrobnih zdravil kot vrste in optimalnega časa operacijskega posega treba upoštevati številne dejavnike, na podlagi katerih individualiziramo zdravljenje. Poznati moramo stanje anatomske pregrade, mesto in razširjenost okužbe v trebuhu, okolje nastanka okužbe in imunski status bolnika. Poleg tega je treba oceniti tveganje za okužbo z odpornimi povzročitelji in klinično stanje bolnika ter se na tem temelju tudi odločiti za optimalni čas operacijskega posega. Za vse to je potreben multidisciplinarni pristop, pri čemer se je treba zavedati, da nobena diagnostična metoda ali postopek ne sme zadržati nujnih ukrepov zdravljenja.

Protimikrobno zdravljenje

Za izkustveno protimikrobno zdravljenje AS izberemo baktericidne antibiotike, ki dobro prehajajo v peritonealno votlino. Predvsem pri kritično bolnih je treba posebno pozornost nameniti ustreznemu odmerjanju in načinu aplikacije protimikrobnih zdravil (najvišji možni odmerki, polnitveni odmerki hidrofilnih antibiotikov, podaljšana infuzija betalaktamskih antibiotikov). Prav tako je treba upoštevati, da vsi antibiotiki ne prehajajo enako dobro v peritonealni prostor. Raziskave kažejo, da so za zdravljenje hudih zapletenih OT potrebni višji odmerki ceftazidima, meropenema in imipenema, medtem ko standardnih odmerkov cefepima in cefotaksima ni treba dodatno večati (25–27). Pri bolnikih s sepsa in septičnim šokom je izkustveno antibiotično zdravljenje treba uvesti v eni uri od suma na sepsa (36).

Zapletene OT so polimikrobne, zato jih zdravimo z antibiotiki, ki delujejo proti po Gramu negativnim in po Gramu pozitivnim bakterijam ter proti anaerobom. Pri izbiri izkustvenega protimikrobnega zdravljenja je treba upoštevati mesto okužbe, podatke o protimikrobni odpornosti, teži bolezni in možnosti okužbe z odpornejšimi povzročitelji. Zadnje lahko pričakujemo pri bolnišničnih OT (še posebej, če je okužba nastala v času hospitalizacije v EIZ), bolnikih po presaditvi organov, bolnikih s temeljnimi boleznimi pljuč in jeter in tistih, ki so bili predhodno zdravljeni z antibiotiki v zadnjih treh mesecih (24). Avtorji zato poudarjajo, da je pri izbiri antibiotika bolj kot upoštevanje mednarodnih smernic pomembno poznavanje lokalne epidemiologije (20, 22). Priporočila za protimikrobno zdravljenje AS v našem okolju so podana v Tabeli 1.

Tabela 1: Priporočila za protimikrobno zdravljenje abdominalne seapse in septičnega šoka pri kritično bolnih (28, 29).

	Povzročitelj	Zdravljenje izbire	Protiglavno zdravljenje	Trajanje zdravljenja
Doma pridobljena okužba	enterobakterije, anaerobi, enterokoki	piperacilin/tazobaktam 4,5 g/6 h iv. ali imipenem 1 g/6 h iv. (če alergija)	ne*	4–7 dni po kirurški rešitvi problema, 10–14 dni bakteriemija
Bolnišnična okužba (UKCL)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , odporne enterobakterije, anaerobi, enterokoki, glive	imipenem 1 g/6 h iv. ali meropenem 2 g/8 h iv. + amikacin 30 mg/kg TT/24 h iv. + vankomicin 30 mg/kg polnilni odmerek iv., nato 30–60 mg/kg/dan iv. na 12 h ali 6 h	pogojno** kaspofungin 70 mg 1. dan, nato 50 mg/24 h iv. ali mikafungin 100 mg/24 h iv. ali anidulafungin 200 mg 1. dan, nato 100 mg/24 h iv.	8–15 dni

piperacilin/tazobaktam = 4,5 g polnilni odmerek, nato kontinuirana infuzija; imipenem, meropenem = v podaljšani infuziji, glede na navodilo proizvajalca

* izjemoma v primeru zastaranega peritonitisa z izvorom v zgornjih prebavilih in imunsko oslabljenega bolnika

** septični šok in imunsko oslabljen bolnik

UKCL – Univerzitetni klinični center Ljubljana

Vloga izkustvenega protimikrobnega zdravljenja, ki je usmerjeno proti enterokokom in glivam, še ni jasna. Rezultati raziskav *in vitro* so pokazali, da prisotnost enterokokov v peritonealnih kužninah vpliva na večji provnetni odziv, hujšo okužbo in septični šok (32, 33). Do sedaj opravljene klinične raziskave niso podale enotnega odgovora o pomenu izolacije enterokokov iz kužnin trebušne votline in o vplivu proti enterokokom usmerjenega zdravljenja na izid AS. Nekateri avtorji so ugotovili, da je prisotnost enterokokov v peritonealnih kužninah starejših bolnikov napovedni dejavnik za večjo smrtnost (34). Za zdaj se izkustveno antibiotično zdravljenje, usmerjeno proti enterokokom, priporoča pri zapletenih BO, pri bolnikih, ki so predhodno prejeli cefalosporine in druge antibiotike, ki vplivajo na razrast enterokokov, pri imunsko oslabilih bolnikih, bolnikih z umetnimi srčnimi zaklopkami ali žilnimi vsadki (28). V nedavno objavljeni analizi Morvanove in sod. so ugotovili, da je bila 30-dnevna smrtnost bolnikov, pri katerih so iz peritonealnih kužnin izolirali enterokoke in niso prejeli izkustvenega zdravljenja, večja kot pri tistih, ki so prejeli proti enterokokom usmerjen antibiotik. Razlika v smrtnosti ni bila značilna, če so upoštevali tudi druge dejavnike. Izolacija enterokokov (razen *Enterococcus faecalis*) je bila povezana s slabšo prognozo AS (30).

Prisotnost *Candida* spp. v peritonealnih kužninah napoveduje slab izid zdravljenja. V opazovalni raziskavi Montraversa in sod. je bila izolacija *Candida* spp. neodvisni napovedni dejavnik večje smrtnosti pri bolnikih z bolnišničnim peritonitisom, protiglavno zdravljenje pa ni vplivalo na boljše preživetje teh bolnikov (35). Glede na smernice Svetovnega združenja za urgentno kirurgijo (angl. *World Society of Emergency Surgery* – WSES) je izkustveno protiglavno zdravljenje upravičeno le pri bolnikih z doma pridobljeno OT in septičnim šokom ter pri bolnikih s hudimi postoperacijskimi OT, pri čemer je stopnja priporočila nizka (22). V slovenskih priporočilih je izkustveno protiglavno

zdravljenje indicirano pri bolnikih z BO in septičnim šokom ter pri bolnikih s ponavljajočimi se znotrajtrebušnimi okužbami. Usmerjeno protiglivično zdravljenje se priporoča ob osamitvi gliv pri bolnikih, ki so bili nedavno zdravljeni z imunosupresivnimi zdravili, bolnikih s perforacijo želodčne razjede, ki so prejeli zdravila za zmanjšanje želodčne kislosti ali zdravila za zdravljenje raka, bolnikih po presaditvah in bolnikih s kronično vnetno črevesno boleznijo (28).

Varnost in učinkovitost deeskalacije pri AS za zdaj nista bili ustrezno ovrednoteni, zato obstoječa priporočila do deeskalacije niso opredeljena. Nedavno objavljena manjša raziskava pri izbrani skupini kritično bolnih z bolnišničnimi OT je pokazala, da ni bilo razlik v preživetju med bolniki, pri katerih so izvedli deeskalacijo, in tistimi, pri katerih so nadaljevali izkustveno zdravljenje (31).

Trajanje protimikrobnega zdravljenja je za zdaj dobro definirano le pri nezapletenih OT ter pri bolnikih z OT, ki niso huje bolni. Pri bolnikih z AS je trajanje protimikrobnega zdravljenja odvisno od kliničnega stanja bolnika, vztrajanja vnetnega žarišča v trebuhu in občutljivosti povzročiteljev za protimikrobna zdravila. V priporočilih WSES se do trajanja protimikrobnega zdravljenja AS in septičnega šoka niso opredelili, odločitev prepuščajo zdravnikom klinični presoji ob pomoči laboratorijskih kazalnikov vnetja (22). Francoska skupina strokovnjakov priporoča 5- do 7-dnevno zdravljenje hudih doma pridobljenih OT, za BO pa do 15 dni (20). V zadnjih slovenskih priporočilih svetujejo 4- do 7-dnevno zdravljenje po popolni kirurški odstranitvi vnetnega žarišča, 10- do 14-dnevno zdravljenje pri bakteriemiji in 8- do 15-dnevno zdravljenje pri bolnišnični AS in septičnem šoku (28, 29). Protimikrobno zdravljenje lahko varno ukinemo, ko je vnetno žarišče odstranjeno, bolnik nima znakov okužbe, ni nevarnosti za ponovitev okužbe in prebavila delujejo normalno (20).

Kirurško zdravljenje

Odstranitev vira okužbe (angl. *source control*) je ukrep, ki poleg ustreznega protimikrobnega zdravljenja dokazano vpliva na izboljšanje preživetja bolnikov z AS. Glede na priporočila je ukrep odstranitve vira okužbe pri bolnikih z difuznim peritonitisom treba izvesti takoj, ko bolnikovo stanje to dopušča, oziroma takoj po začetni stabilizaciji bolnika in uvedbi protimikrobnega zdravljenja. Izjemoma se operacijski poseg lahko preloži do maksimalno 24 ur, in to le v primerih, ko ima bolnik lokalizirano okužbo ter se že zdravi z ustreznim antibiotikom (22).

Podporno in adjuvantno zdravljenje

Pri podpornem zdravljenju AS je treba upoštevati priporočila za zdravljenje sepse in septičnega šoka (36). Posebna previdnost je potrebna pri tekočinskem zdravljenju, ki mora biti kar se da konservativno. Preobremenitev s tekočino vpliva na povečanje edema trebušne stene in črevesja, kar vodi v intraabdominalno hipertenzijo ter nastanek sindroma abdominalnega kompartimenta. V zadnjem času se vrstijo poročila o uspešni uporabi metod za zunajtelesno odstranjevanje vnetnih mediatorjev pri bolnikih z AS in septičnim šokom, vendar je za zdaj na voljo premalo dokazov, s katerimi bi podprli rutinsko uporabo teh metod v klinični praksi.

ZAKLJUČEK

AS je vodilni vzrok smrti v kirurških EIZ. Velika smrtnost AS in septičnega šoka kaže na to, da je v prihodnosti treba izboljšati tako diagnostične kot terapevtske postopke. Za zdaj je za izboljšanje preživetja ključno zgodnje prepoznavanje AS, čimprejšnja odstranitev vira okužbe ter zgodnje in ustrezno protimikrobno zdravljenje.

Literatura

1. Angus DC, van der Poll T. Severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med* 2013; 369: 840–51.
2. Jeganathan N, Yau S, Ahuja N, Otu D, Stein B, Fogg L, et al. The characteristics and impact of source of infection on sepsis-related ICU outcomes. *J Crit Care* 2017; 41: 170–6.
3. Sartelli M, Abu-Zidan FM, Catena F, Griffiths ED, Di Saverio S, Coimbra R, et al. Global validation of the WSES Sepsis Severity score for patients with complicated intraabdominal infections: a prospective multicenter study (WISS Study). *World J Emerg Surg* 2015; 10: 61.
4. Blot S, Antonelli M, Arvaniti K, Blot K, Creagh-Brown B, de Lange D, et al. Epidemiology of intra-abdominal infection and sepsis in critically ill patients: »AbSeS«, a multinational observational cohort study and ESICM Trials Group Project. *Intensive Care Med* 2019; 45: 1703–17.
5. Menichetti F, Sganga G. Definition and classification of intra-abdominal infections. *J Chemother* 2009; 21: 3–4.
6. Chromik AM, Meiser A, Holling J, Sulberg D, Daigeler A, Meurer K, et al. Identification of patients at risk for development of tertiary peritonitis on a surgical intensive care unit. *J Gastroint Surg* 2009; 13: 1358–67.
7. Montravers P, Dufour G, Guglielminotti J, Desmard M, Muller C, Houissa H, et al. Dynamic changes of microbial flora and therapeutic consequences in persistent peritonitis. *Crit Care* 2015; 19: 70.
8. Lamme B, Mahler CW, van Ruler O, Gouma DJ, Reitsma JB, Boermeester MA, et al. Clinical predictors of ongoing infection in secondary peritonitis: systemic review. *World J Surg* 2006; 30: 2170–81.
9. Singer M, Deutschman CS, Seymour C, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016; 315 (8): 801–10.
10. Salminen S, Isolauri E, Onnela T. Gut flora in normal and disordered states. *Chemotherapy* 1995; 41: 5–15.
11. De Ruiter J, Weel J, Manusama E, Kingma WP, van der Voort PHJ. The epidemiology of intra-abdominal flora in critically ill patients with secondary and abdominal sepsis. *Infection* 2009; 37: 522–7.
12. Xiao Z, Wilson C, Lee Robertson H, Roberts DJ, Ball CG, Jenne CN, et al. Inflammatory mediators in intra-abdominal sepsis or injury – a scoping review. *Crit Care* 2015; 19: 373.
13. Ortega-Deballon P, Radais F, Facy O, d’Athis F, Masson D, Charles PE, et al. C-reactive protein is an early predictor of septic complications after elective colorectal surgery. *World J Surg* 2010; 34: 808–14.
14. Almeida AB, Faria G, Moreira H, Pinto-de-Sousa J, Correia-da-Silva P, Maia JC. Elevated serum C-reactive protein as a predictive factor for anastomotic leakage in colorectal surgery. *Int J Surg* 2012; 10: 87–91.
15. Novotny AR, Emmanuel K, Hueser N, Knebel C, Kriner M, Ulm K, et al. Procalcitonin ratio indicates successful surgical treatment of abdominal sepsis. *Surgery* 2009; 145: 20–6.
16. Tschakowsky K, Hedwig-Geissing M, Braun GG, Radaspiel-Troeger M. Predictive value of procalcitonin, interleukin-6 and C-reactive protein for survival in postoperative patients with severe sepsis. *J Crit Care* 2011; 26: 54–64.
17. Reith HB, Mittelkötter U, Wagner R, Thiede A. Procalcitonin (PCT) in patients with abdominal sepsis. *Intensive Care Med* 2000; 26: S165–9.
18. Maseda E, Suarez-de-la-Rica A, Anillo V, Tamayo E, Garcia-Bernedo CA, Ramasco F. Procalcitonin-guided therapy may reduce length of antibiotic treatment in intensive care unit patients with secondary peritonitis: A multicenter retrospective study. *J Crit Care* 2015; 30: 537–42.
19. van Randen A, Laméris W, van Es HW, van Heesewijk HPM, van Ramshorst B, Hove WT, et al. A comparison of the accuracy of ultrasound and computed tomography in common diagnoses causing acute abdominal pain. *Eur Radiol* 2011; 21: 1535–45.
20. Montravers P, Dupont H, Leone M, Constantin JM, Mertes PM and the Société française d’anesthésie et de réanimation (Sfar), et al. Guidelines for management of intra-abdominal infections. *Anaesth Crit Care Pain Med* 2015; 34: 117–30.
21. Riche FC, Dray X, Laisné MJ, Matéo J, Raskine L, Sanson-Le-Pors MJ, et al. Factors associated with septic shock and mortality in generalized peritonitis: comparison between community-acquired and postoperative peritonitis. *Crit Care* 2009; 13: R99.
22. Sartelli M, Catena F, Abu-Zidan FM, Ansaloni L, Biffi WL, Boermeester MA, et al. Management of intra-abdominal infections: recommendations by the WSES 2016 consensus conference. *World J Emerg Surg*. 2017 May 4;12:22. doi: 10.1186/s13017-017-0132-7.
23. De Waele J, Lipman J, Sakr Y, Marshall JC, Vanhems P, Barrera Groba C, et al. Abdominal infections in the intensive care unit: characteristics, treatment and determinants of outcome. *BMC Infect Dis* 2014; 14: 420.
24. Swenson BR, Metzger R, Hedrick TL, McElearney ST, Evans HL, Smith RL, et al. Choosing antibiotics for intra-abdominal infections: what do we mean by »high risk«? *Surg Infect* 2009; 29–39.
25. Buijk SL, Gysseens IC, Mouton JW, Van Vliet A, Verbrugh HA, Bruining HA. Pharmacokinetics of ceftazidime in serum and peritoneal exudate during continuous versus intermittent administration to patients with severe intraabdominal infections. *J Antimicrob Chemother* 2002; 49 121–28.

-
26. Dahyot-Fizelier C, Lefeuvre S, Laksiri L, Marchand S, Sawchuk RJ, Couet W, et al. Kinetics of imipenem distribution into the peritoneal fluid of patients with severe peritonitis studied by microdialysis. *Clin Pharmacokinet* 2010; 49: 323–34.
 27. Karjagin J, Lefeuvre S, Oselin K, Kipper K, MArchand S, Tikkerber A, et al. Pharmacokinetics of meropenem determined by microdialysis in the peritoneal fluid of patients with severe peritonitis associated with septic shock. *Clin Pharmacol Ther* 2008; 83: 452–9.
 28. Čižman M, Beović B. Kako predpisujemo protimikrobna zdravila v bolnišnicah. Sekcija za kemoterapijo Slovenskega zdravniškega društva, Ljubljana 2013.
 29. Lukić M, Planinc Strunjaš N, Nadrah K, Papst L, Beović B, za Komisijo za antibiotike. Priporočila za antibiotično zdravljenje bolnišničnih okužb v UKCL 2019/2020. Dosegljivo na: splet.intranet.kclj.si/dokumenti/Priporocila_za_antibioticno_zdravljenje_bolnisnicnih_okuzb_180_x110_net_pdf.
 30. Morvan AC, Hengy B, Garrouste-Orgeas M, Ruckly S, Forel JM, Argaud L, et al. Impact of species and antibiotic therapy of enterococcal peritonitis on 30 day mortality in critical care – an analysis of the OUTCOMEREA database. *Crit Care* 2019; 23: 307.
 31. Montravers P, Augustin P, Grall N, Desmard M, Allou N, Marmuse JP, et al. Characteristics and outcomes of anti-infective de-escalation during health care-associated intra-abdominal infections. *Crit Care* 2016; 20: 83.
 32. Montravers P, Mohler J, Saint Julien L, Carbon C. Evidence of the proinflammatory role of *Enterococcus faecalis* in polymicrobial peritonitis in rats. *Infect Immun* 1997; 65: 144–9.
 33. Matlow AG, Bohnen JM, Nohr C, Christou N, Meakins J. Pathogenicity of enterococci in a rat model of fecal peritonitis. *J Infect Dis* 1989; 160: 142–5.
 34. Dupont H, Friggeri A, Touzeau J, Airapetian N, Tinturier F, Lobjoie E, et al. Enterococci increase the morbidity and mortality associated with severe intra-abdominal infections in elderly patients hospitalized in the intensive care unit. *J Antimicrob Chemother* 2011; 66: 2379–85.
 35. Montravers P, Mira JP, Gangneux JP, Leroy O, Lorholary O, AmarCand study group. A multicentre study of antifungal strategies and outcome of *Candida* spp. peritonitis in intensive care units. *Clin Microbiol Infect* 2011; 17: 1061–7.
 36. Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, Mitchell ML, Antonelli M, Ferrer R, et al. Surviving sepsis campaign: International guidelines for management of sepsis and septic shock: 2016; *Intensive Care Med* 2017; 43: 304–77.

GLIVNA SEPSA – VČERAJ, DANES, JUTRI

FUNGAL SEPSIS – YESTERDAY, TODAY, TOMORROW

Doc. dr. Mateja Logar, dr. med.

Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja,
Univerzitetni klinični center Ljubljana.
Japljeva 2, 1525 Ljubljana
Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani.
Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana
mateja.logar@kclj.si

Ključne besede: virusne okužbe spodnjih dihal, zdravljenje, virus gripe, zaviralci nevraminidaze, cepljenje, ribavirin

Key words: *Candida spp.*, *candidemia*, *antifungal drugs*

IZVLEČEK

Okužbe s kandidami so znane že iz časov Hipokrata. V preteklosti so bile pogoste predvsem povrhnje okužbe s kandidami. Ob napredku medicine, širši uporabi antibiotikov, uporabi zdravil, ki zmanjšujejo imunski odziv, so se v drugi polovici prejšnjega stoletja začele pojavljati tudi glivne sepsa. V naslednjih desetletjih se je pojavnost glivnih seps večala, smrtnost pa ostaja še danes visoka, saj se te okužbe pojavljajo pri bolnikih s hudimi osnovnimi boleznimi ali pri tistih z oslabelem imunskim odzivom. Velik izziv je pravočasno in učinkovito zdravljenje glivne sepsa, saj je klinična slika nespecifična, diagnostika pa nezanesljiva in pogosto pozna. Pričakovati je, da se bo pojavnost glivnih seps v naslednjih letih še večala, ob tem pa se bodo pojavljale nove vrste glive, z nepredvidljivim vzorcem občutljivosti, kot je na primer *Candida auris*. Ob spremenjeni epidemiologiji in večji pojavnosti glivnih seps potrebujemo tudi nova protiglivna zdravila, ki bodo omogočala učinkovito in varno zdravljenje.

Abstract

*Candida infections have been known since Hippocrates. In the past, superficial candida infections were common. With the advancement of medicine, the widespread use of antibiotics, the use of immunosuppressive drugs, fungal sepsis began to become a medical problem in the second half of the last century. In the following decades, the incidence of fungal sepsis has increased and mortality remains high as these infections occur in patients with severe underlying diseases or in those with impaired immune responses. The timely and effective treatment of fungal sepsis presents a great challenge since the clinical picture is nonspecific and the diagnosis is unreliable and often late. The incidence of fungal sepsis is expected to increase in the coming years, with new types of candida with an unpredictable sensitivity pattern emerging, such as *Candida auris*. With the changing epidemiology and increased incidence of fungal sepsis, we also need new antifungal drugs that will allow for efficient and safe treatment.*

UVOD

Glivne okužbe oz. mikoze so dolgo zapostavljeno in pozabljeno področje v medicinski zgodovini. V preteklosti so prevladoval predvsem povrhnje mikoze, ki praviloma niso ogrožale življenja, ampak so povzročale predvsem lokalno draženje, vnetje in neugodje. Večinoma je šlo za okužbe kože in nohtov, ki jih srečujemo tudi danes. Predvsem pri šolskih otrocih so bile pogoste tudi okužbe z *Microsporum canis*, ki se na človeka prenaša predvsem z mačk in redkeje psov. Ker večina bolnikov ni potrebovala zdravniške pomoči, je bilo področje glivnih okužb za medicinske zgodovinarje povsem nezanimivo. Po odkritju in širši uporabi antibiotikov so se poleg odpornosti pri bakterijah začele pojavljati tudi tako imenovane superinfekcije, ki so jih povzročale druge bakterije kot osnovno okužbo, hkrati pa so se začele pojavljati okužbe z glivami, predvsem s *Candida* spp.

ZGODOVINA NAS UČI

Mikologija je do šestdesetih let prejšnjega stoletja spadala v botaniko, nato so jo prestavili v kraljestvo živali, za tem pa so postale glive posebno kraljestvo. Trenutno je znanih okrog 100.000 vrst gliv. Nekatere so velike in večcelične, večinoma pa so to mikroskopski, enocelični organizmi. Glive pogosto uporabljajo v različnih industrijskih procesih. Najbolj znani sta uporabi gliv pri varjenju piva in peki kruha. *Penicillium* spp. je še vedno vir za izdelavo penicilina. Poljudno glive pogosto delijo na dobre in slabe, pri čemer spadajo med dobre glive tiste, ki jih lahko pojemo, jih uporabljajo v industriji, razgrajujejo odpadke ali na koreninah rastlin vežejo dušik. Slabe glive pa so tiste, ki povzročajo okužbe rastlin, živali in ljudi. Večina gliv je saprofitov, kar pomeni, da dobivajo hranila za svoje potrebe z razgradnjo organskega materiala. Glive živijo na ali v odmrlih organskih snoveh, na katerih se tudi hranijo. Nekaj gliv, ki so pomembne v medicinski mikologiji, pa dobiva hranila iz vitalnih tkiv, ki jih zato uničujejo in razgrajujejo.

Zelo verjetno je prve opise glivnih okužb napisal že Hipokrat 500 let pred našim štetjem. Opisoval je aftozne spremembe v ustih. Glivne spremembe so vidne tudi na koži in laseh na slikah starih mojstrov. V obdobju moderne medicine je prve sistematične opise gliv opravil madžarski zdravnik David Gruby v letih 1842 do 1844. Takrat je veljalo, da glive povzročajo veliko število bolezni, za katere se je kasneje izkazalo, da jih povzročajo bakterije. Do petdesetih let prejšnjega stoletja so kandidate veljale za tako imenovane zunanje glive, ki so povzročale predvsem okužbe na sluznicah. V tem obdobju pa so začeli opazovati sicer redke, ampak zelo nevarne sistemske okužbe in okužbe čvrstih organov, ki so jih povzročale kandidate. Zaradi začetkov zdravljenja z glukokortikoidi se je začelo povečevati tudi število oseb z okrnjeno imunostjo. V naslednjih letih so začeli zdravniki načrtno ustvarjati stanja z zmanjšano imunostjo, saj je to omogočalo boljše sprejemanje presajenih čvrstih organov (1).

Leta 1987 je takrat vodilni ameriški strokovnjak za glivne okužbe John W. Rippon zapisal: »Glivne okužbe pri ljudeh v osemdesetih letih so mikologija zemlje, gnijoče zelenjave, kopalniških zaves, toaletnih školjk, kupov listja, ovenelih rož in gnojišč. Glive se dobesedno širijo iz sten in ogrožajo bolnike z imunskimi pomanjkljivostmi. Tehnične sposobnosti medicine in kirurgije omogočajo presajanje src, pljuč in jeter, ob tem pa te ljudi nato ogroža *Fusarium* iz gnijoče slive.« (2). Rippon je ocenjeval, da je pojavnost glivnih okužb pri ljudeh povezana s specifičnimi ekološkimi okoliščinami in interakcija-

mi ne samo v telesu človeka, ampak tudi s širšim socialnim in fizičnim okoljem. V času njegovega pisanja se je večina zahodnega sveta znašla v primežu panike zaradi glivnih okužb, saj je postala zelo razširjena ideja, da so okužbe s kandidami vzrok za številne tegobe moderne družbe vključno s sindromom kronične utrujenosti in kronično vnetno črevesno boleznijo (3).

Invazivne okužbe s kandidami so eden izmed neželenih učinkov zdravljenja z antibiotiki, novih metod zdravljenja rakavih bolezni in transplantacijske medicine. Hiter razvoj novih tehnologij in načinov zdravljenja, kot sta razvoj intenzivne medicine in zmanjševanje imunosti, sta vzroka za povečano pojavnost invazivnih okužb s plesnimi. Med letoma 1950 in 1969 so se pojavila zdravila za sistemsko zdravljenje glivnih okužb, kot so nistatin, amfotericin B in grizeofulvin. Obdobje med letoma 1970 in 1979 velja za enega izmed vrhuncev v raziskovanju medicinske mikologije. Temu obdobju je sledilo obdobje tranzicije, v katerem smo spremljali stalen porast v pojavnosti oportunističnih okužb pri bolnikih z imunskimi oslabeleostmi in aidsom in pri rakavih bolnikih (1).

POJAV INVAZIVNIH GLIVNIH OKUŽB

Z odkritjem antibiotikov in njihovo širšo uporabo so zdravniki začeli opazati večjo pojavnost glivnih okužb. Invazivne glivne okužbe so se začele pojavljati pri novih skupinah bolnikov. Najprej so bili to bolniki z levkemijami in bolniki z drugimi rakavimi boleznimi, ki so prejeli glukokortikoide, sledili so bolniki po presaditvah organov in v osemdesetih letih prejšnjega stoletja bolniki s HIV/aids. Skupni dejavnik pri vseh skupinah je bila imunska oslabeleost. Že leta 1951 je Council on Pharmacy and Chemistry of the American Medical Association sklenil, da morajo biti na stekleničkah z antibiotiki opozorila, da so bolniki, ki prejemajo ta zdravila, dovzetnejši za okužbe s kvasovkami. V istem letu so se pojavili prvi članki o invazivnih glivnih okužbah, ki so imele za posledico zelo visoko smrtnost. Prva knjiga, ki je bila posvečena okužbam s *Candida albicans*, je izšla leta 1964 (Winner, H. I., and Hurley, R., *Candida albicans*, London, Churchill, 1964) (1). Smrtnost zaradi sistemske kandidoze je v tistem obdobju znašala skoraj 90 % (4). V tem obdobju se je zelo povečala pojavnost glivnega infekcijskega endokarditisa. Med dejavniki tveganja so opisovali predhodno antibiotično zdravljenje, zdravljenje z glukokortikoidi, parenteralno hidracijo in splošno slabo stanje bolnika (5). Sistemska kandidoza je večje zanimanje medicinske stroke dosegla v šestdesetih in sedemdesetih letih prejšnjega stoletja, ko se je začelo povečevati število bolnikov z različnimi imunskimi pomanjkljivostmi. Sredi osemdesetih let prejšnjega stoletja je bil registriran flukonazol kot novo zdravilo za zdravljenje glivnih okužb. V zadnjih dveh desetletjih prejšnjega stoletja se je zelo povečala pojavnost kandidemij predvsem v enotah za intenzivno zdravljenje (EIZ). V preglednem članku iz leta 1995 so ocenjevali, da gre kar za 500 % porast pojavnosti v primerjavi s podatki izpred 10 let. Najverjetneje v resnici ni šlo za tako veliko povečanje, ampak za boljše prepoznavanje in zavedanje o problemu sistemskih okužb s kandidami. Že takrat so bile kandidate po pogostosti na četrtem mestu med povzročitelji okužb krvi pri bolnikih v EIZ (6). Zaradi široke uporabe flukonazola pri bolnikih s HIV/aidsom se je začela pojavljati odpornost proti flukonazolu, ki je bila na začetku delna in so jo lahko premagali z visokimi odmerki flukonazola. S časom pa je prišel tudi premik v epidemiologiji okužb s kandidami. Zmanjševati se je začel delež *C. albicans* na račun večjega števila okužb z ne-albicans kandidami (7).

GLIVNA SEPSA V 21. STOLETJU

V 21. stoletju ostaja invazivna kandidoza, kamor spada tudi glivna sepsa, najpogostejša oblika sistemskih glivnih okužb pri hospitaliziranih bolnikih (8). V raziskavo EPIC II (Extended Prevalence of Infection in Intensive Care II) je bilo vključenih 1.265 EIZ v 75 državah. Okužbo so dokazali pri 51 % bolnikov, od tega je kar 17 % okužb povzročila *Candida* spp. (9). Kandidate so sicer na četrtem mestu med povzročitelji okužb krvi (10) in kar 23–38 % teh okužb se zaplete s septičnim šokom, s posledično visoko smrtnostjo, ki dosega tudi do 60 % (11, 12). Pojavnost glivne sepse je različna v različnih okoljih, vendar je vsem skupno to, da se v zadnjih letih veča. Tako so bile kandidate osamljene pri 3 % bolnikov v raziskavah ADRENAL in PROMISE, medtem ko je bil ta delež še bistveno višji v raziskavi ABDOMIX, v kateri so kandidate v hemokulturah dokazali v kar 17,9 %. Vendar moramo upoštevati, da so bili v to raziskavo vključeni bolniki s septičnim šokom po predrtju organa. V glavnem lahko rečemo, da kandidate povzročajo od 5 do 10 % vseh seps, vendar je ta delež bistveno višji pri posameznih skupinah bolnikov (13–15). V zadnjih dveh desetletjih se je smrtnost zaradi bakterijskega septičnega šoka znižala za približno 20 %. Smrtnost zaradi glivne sepse pa ostaja praktično nespremenjena in je okrog 50 % (16).

Da kandidate dosežejo krvožilni sistem, mora priti do okvare sluzničnega epitelijskega delovanja sluznične imunosti, predvsem zaradi nevtrofilcev, in do glivne kolonizacije črevesne sluznice. Ko so kandidate v krvi, pride do aktivacije imunskega sistema, kar pomeni, da se aktivira tako varovalna imunost kot tudi škodljivi odzivi. To ima lahko za posledico razvoj septičnega šoka. Kandidate aktivirajo vse tri komplementne poti, ki imajo vodilno vlogo v patogenezi glivne sepse. Nevtrofilni granulociti imajo glavno vlogo pri aktivaciji imunskega odziva proti kandidam.

Nevarnostne dejavnike za glivno sepsu lahko razdelimo na pet skupin: določene anamnestične značilnosti, temeljne bolezni, pridruženi dejavniki, operacije in invazivni postopki ter zdravljenje. Dejavniki so zbrani v Preglednici 1 (17). Kirurški posegi v trebušni votlini so pomemben dejavnik tveganja za nastanek znotrajtrebušne kandidoze. Hipotenzija, poškodba ali ishemija črevesne sluznice lahko prav tako privedejo do invazivne kandidoze. Pri 30 do 40 % bolnikov s sekundarnim ali terciarnim peritonitisom se razvije znotrajtrebušna kandidoza, ki je povezana z visoko smrtnostjo. Ta se giblje med 25 in 60 %, predvsem pri bolnikih s septičnim šokom, pri katerih na izid bolezni pomembno vplivata pravilno izbrano izkustveno zdravljenje in odstranitev izvora okužbe (18).

V evropskih EIZ še vedno prevladuje *C. albicans*, ki ji po pogostosti sledi *Candida glabrata*, pri posameznih skupinah bolnikov pa moramo biti pozorni tudi na druge vrste kandid. Tako so pri bolnikih, ki prejemajo parenteralno prehrano ali druge pripravke, ki vsebujejo maščobe, pogostejše okužbe s *Candida parapsilosis* (17).

Preglednica 1. Dejavniki tveganja za glivno sepso (17)

Anamnestični podatki
Starost več kot 65 let Predhodno zdravljenje z antibiotiki Dolgotrajna hospitalizacija Stanje po presaditvi čvrstega organa ali krvotvornih matičnih celic
Temeljne bolezni
Jetrna ciroza Kronično ledvično odpovedovanje Nadomestno zdravljenje s hemodializo Sladkorna bolezen tip 2 Podhranjenost Rakave bolezni
Pridruženi dejavniki
Akutni nekrotizirajoči pankreatitis Kolonizacija s kandidami – predvsem, če je na več mestih Dolgotrajna hospitalizacija v enotah za intenzivno zdravljenje
Operacije in invazivni postopki
Prisotnost urinskega katetra, osrednjega žilnega katetra Parenteralna prehrana Operacije v predelu prebavil
Zdravljenje
Kemoterapija rakavih bolezni Imunosupresivna zdravila in glukokortikoidi Monoklonska protitelesa in novejša tarčna zdravila

Sama klinična slika glivne sepse je zelo različna. Lahko poteka s skoraj odsotnimi simptomi in znaki okužbe ali pa s klinično sliko septičnega šoka. Zgodnji znaki in simptomi so povsem nespecifični in se ne razlikujejo od tistih pri bakterijski sepsi oz. septičnem šoku. Zaradi tega moramo na glivno etiologijo okužbe pomisliti pri bolnikih, ki imajo dejavnike tveganja in znake okužbe. Za septični šok, povzročen s kandidami, je značilno, da je seštevek APACHE (Acute Physiology And Chronic Health Evaluation) II večji kot pri bakterijskem septičnem šoku, pogostejši so tudi odpovedovanje ledvic in jeter ter večorganska odpoved (16).

Hemokulture ostajajo zlati standard v diagnostiki glivne sepse, vendar je njihova občutljivost samo med 50 in 75 %, še nižja je pri bolnikih z nevtropenijo in pri tistih, ki prejemajo protiglivo zaščito (19). Do pozitivnega izvida lahko mine celo od dva do pet dni od odvzema krvi, kar je odvisno tudi od vrste kandid. V EIZ pogosto začnemo izkustveno protiglivo zdravljenje pri bolnikih z znaki sepse oz. septičnega šoka, če so

pri njih prisotni dejavniki tveganja za glivno sepso. Pogosto se za dodatek protiglivnega zdravila odločimo tudi pri tistih bolnikih, ki imajo povišan 1,3- β -D-glukan (BDG) in klinične znake sepse oz. septičnega šoka. Vrednosti BDG več kot 80 pg/ml imajo 77 % občutljivost in 86 % specifičnost, negativne vrednosti pa imajo kar 97 % negativno napovedno vrednost (20). K večji specifičnosti prispeva tudi upoštevanje koncentracije serumskega prokalcitonina (PCT), ki je pri kandidemijah negativna ali le malo povišana. Pri upoštevanju obeh označevalcev se pozitivna napovedna vrednost poveča na 96 %. Tudi pri invazivni znotrajtrebušni kandidozi ima BDG večjo vrednost pri postavitvi zgodnje diagnoze kot *Candida* točkovačnik ali indeks kolonizacije. Verižna reakcija s polimerazo (PCR) se za zdaj ni izkazala za bolj učinkovito metodo od hemokultur pri glivni sepsi (17).

Univerzalna protiglivna zaščita s flukonazolom v EIZ za zdaj ne velja za učinkovito metodo preprečevanja glivne sepse. Predstavlja pa dodatno možnost za selekcijo ne-albikans vrst kandid in razvoj odpornosti proti flukonazolu. Izkazalo se ni tudi zgodnje predbolezensko (pre-emptive) zdravljenje z ehinokandini, ki je temeljilo na določanju glivnih označevalcev (21). Pomembno pa je, da začnemo zgodnje izkustveno protiglivno zdravljenje pri bolnikih z znaki sepse oz. septičnega šoka, ki imajo dejavnike tveganja za glivne okužbe in nimajo nobenega jasnega vzroka za vročino, sploh če imajo znano predhodno kolonizacijo s kandidami iz nesterilnih mest ali pozitivne vrednosti seroloških označevalcev za kandidate in negativen PCT (17).

Pred uvedbo zdravljenja moramo vedno odvzeti hemokulture in druge ustrezne kužnine. Dve pomembni retrospektivni raziskavi sta pokazali, da na izboljšanje preživetja pri bolnikih z glivno sepso vplivata zgodnja uvedba ustreznega protiglivnega zdravljenja in odstranitev izvora okužbe (16). Po drugi strani je več raziskav potrdilo, da neustrezna ali prepozna odstranitev vzroka okužbe in zamuda pri ustreznem protiglivnem zdravljenju pri bolnikih s septičnim šokom povečata smrtnost (16, 17). Pri bolnikih s septičnim šokom uporabljamo za izkustveno zdravljenje predvsem ehinokandine in lipidne formulacije amfotericina B. Dve retrospektivni raziskavi sta pokazali prednosti ehinokandinov v primerjavi s flukonazolom pri zdravljenju glivnega septičnega šoka. V prvi je bil odziv na anidulafungin 71 %, na flukonazol pa 54 %, ob tem se je kazal tudi trend nižje smrtnosti v skupini, ki je prejela anidulafungin. V drugi raziskavi pa je bila smrtnost bistveno nižja pri tistih, ki so prejeli ehinokandine, v primerjavi s tistimi, ki so prejeli druga zdravila (27 % proti 36 %). Boljši rezultati so bili tako pri okužbah s *C. albicans* kot pri ne-albikans kandidah (17, 22, 23). Reboli in sodelavci so v raziskavi pokazali, da je tudi pri sepsi, povzročeni s *C. albicans*, boljši odziv na zdravljenje pri skupini bolnikov, ki so prejeli anidulafungin, v primerjavi s tistimi, ki so prejeli flukonazol. V skupini, ki je prejela anidulafungin, je prišlo tudi hitreje do negativizacije hemokultur in manj je bilo persistentnih okužb. Poleg tega so ehinokandini učinkovitejši proti kandidam v biofilnih, kar prav tako ugodno vpliva na izid bolezni (16). V zadnjih letih se pojavljajo poročila o pojavu odpornosti proti ehinokandinom, ki je predvsem posledica mutacij FSK genov in neodvisni dejavnik, ki vpliva na učinkovitost zdravljenja. Flukonazol ostaja zdravilo izbire za zdravljenje okužb s *C. parapsilosis*, ki ima in vitro višje minimalne inhibicijske koncentracije za ehinokandine kot ostale kandidate. Liposomalne formulacije amfotericina B uporabljamo predvsem pri bolnikih, ki ne prenašajo ehinokandinov in/ali azolov, imajo okužbe z glivami, ki se ne odzivajo na druga zdravila, in pri okužbah

nekaterih organskih sistemov, kamor ehinokandini slabo prodirajo (sečila, osrednje živčevje, oko itd.) (17). Zdravljenje s protiglivnimi zdravili moramo ukiniti, če ne dokažemo glivne okužbe. Bolniki z negativnimi vrednostmi BDG ali CAGTA (*Candida albicans* germ tube antibodies; gre za hitri »obposteljni test«, s katerim dokazujemo protitelesa proti antigenom micelijske faze, pred tem pa z absorpcijo odstranimo druga protitelesa, ki so odraz kolonizacije) in negativnimi hemokulturami so kandidati za zgodnjo ukinitvev protiglivnega zdravljenja (24). Pri vseh bolnikih z glivno sepsa odvezamemo kontrolne hemokulture 48 ur po uvedbi ustreznega protiglivnega zdravila, saj je trajanje zdravljenja odvisno tudi od tega, kdaj so postale hemokulture negativne. Po drugi strani pa nam hemokulture tudi povedo, ali smo bili učinkoviti pri kontroli izvora okužbe. Pri okužbah z vrstami kandid, ki so občutljive za flukonazol, in klinično stabilnih bolnikih je smiseln prehod z ehinokandinov na flukonazol. Kdaj se za sestop odločimo, je odvisno od bolnika in vrste okužbe. Druga možnost sestopnega zdravljenja je sestop na vorikonazol. To možnost uporabljamo predvsem pri okužbah s *C. glabrata*, ki so praviloma odporne proti flukonazolu. Bassetti s sodelavci povzema pravila za zdravljenje bolnikov z glivno sepsa oz. septičnim šokom v 12 točkah:

1. Izogibamo se glivni zaščiti pri ne-nevtropeničnih bolnikih;
2. lLočiti moramo med kolonizacijo in okužbo, pred uvedbo zdravljenja odvezamemo ustrezne kužnine;
3. Za zgodnjo diagnostiko invazivnih glivnih okužb uporabljamo glivne označevalce in druge mikrobiološke metode (BDG, CAGTA, PCR, T2 magnetna resonanca – T2MR);
4. Izkustveno protiglivno zdravljenje uvedemo pri velikem sumu na glivno okužbo pri bolnikih z dejavniki tveganja;
5. Zgodnje izkustveno zdravljenje uvedemo glede na dejavnike tveganja in glivne označevalce;
6. Za izkustveno zdravljenje uporabljamo najučinkovitejša zdravila – ehinokandine;
7. Zagotavljamo ustrezno podporno zdravljenje septičnega šoka;
8. Zagotovimo ustrezno odstranitev izvora okužbe v 24–48 urah od začetka okužbe (odstranitev osrednjega žilnega katetra, ustrezne drenaže ali kirurška odstranitev izvora okužbe);
9. Po 72–96 urah ocenimo klinično učinkovitost zdravljenja (negativne kontrolne hemokulture, klinična stabilizacija stanja bolnika);
10. Sestopno zdravljenje po 5 dneh, če so izpolnjeni kriteriji iz 9. točke;
11. Če nismo dosegli kriterijev iz 9. točke, ponovno ocenimo ustreznost protiglivnega zdravljenja (ustrezno protiglivno zdravilo, ustrezen odmerek) in obvladanost izvora okužbe;
12. Zgodnja ukinitvev nepotrebnega zdravljenja in ustrezno trajanje zdravljenja (17).

GLE DAMO V PRIHODNOST

Invazivne glivne okužbe bodo v prihodnosti verjetno še pogostejše, saj se bo večalo število ljudi, ki so dovzetnejši za glivne okužbe. Zaradi sodobnejših načinov zdravljenja se bo v prihodnjih letih povečalo število ljudi s pridobljenimi imunskimi pomanjkljivostmi, več bo tudi odraslih bolnikov s primarnimi imunskimi pomanjkljivostmi, povečalo se bo število ljudi, ki bodo izpostavljeni invazivnim posegom ali bodo imeli vstavljene različne vsadke in katetre, prav tako bo zaradi staranja populacije in modernega načina življenja večje število ljudi s sladkorno boleznijo in ne nazadnje se bo povečalo število starostnikov in ljudi, ki bodo zdravljeni z antibiotiki širokega spektra. Ker se zavedanje o teh okužbah povečuje, se bodo povečale potrebe po boljši in hitrejši diagnostiki in dodatnih možnostih zdravljenja (25).

V diagnostiki bodo verjetno pridobivale pomembnost tako imenovane hitre mikrobiološke metode, ki bodo dopolnjevale klasične glivne kulture. Glavna slabost glivnih hemokultur je, da imajo nizek odstotek pozitivnosti, saj so po nekaterih podatkih pozitivne samo v 21 do 71 % invazivnih glivnih okužb, če vzamemo za osnovo obdukcijske rezultate (26). Po drugi strani pa so glivne hemokulture zelo dobro občutljive, saj zaznajo že manj kot 1 kolonijo gliv v mililitru krvi (27). Zaradi tega so se pojavile metode, s katerimi želijo z večjo verjetnostjo v krvi dokazati prisotnost gliv oziroma delcev gliv. Ena izmed takšnih metod je T2MR, ki poskuša s pomočjo sonde, ki vsebuje nanopartikle, dokazati glivno DNK neposredno v vzorcu krvi. Okrepitev signala je posledica pomnožitve tarče s PCR, poleg tega pa se nanopartikli združujejo v skupke, kar ima za posledico spremembo v T2 času relaksacije, to pa zazna magnetna resonanca. Slabost metode je, da lahko z njo zaznamo samo tiste vrste gliv, za katere so v sistemu sonde. Trenutni sistemi vsebujejo sonde za dokaz *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *Candida tropicalis* in *Candida krusei*. Sistem zazna najmanj eno glivno kolonijo v mililitru krvi. Bistvena prednost pred klasičnimi hemokulturami pa je v tem, da je čas do pozitivnega izvida več kot 10-krat krajši. Proizvajalci zagotavljajo, da sistem ne zaznava zunajcelične DNK gliv (28). V nedavno končano raziskavo DIRECT je bil vključen 1801 vzorec krvi. Občutljivost T2MR je bila 91,1 % in specifičnost 99,4 %, zaznala je eno do tri glivne kolonije v mililitru krvi, odvisno od vrste kandid. Ocenili so, da je negativna napovedna vrednost 99,5 % in srednji čas do negativnega rezultata preiskave $4,2 \pm 0,9$ ure (29). V raziskavi DIRECT2 je bila klinična občutljivost preiskave 89 % pri 36 od 152 bolnikov, ki so imeli v hemokulturah dokazane glive. T2MR je bil pogosteje pozitiven (45 %; 69 od 152 bolnikov) kot kontrolne hemokulture (24 %; 36 od 152 bolnikov); $p < 0,0001$. Zanimivo je bilo, da so bili izvidi T2MR pogosteje pozitivni, v primerjavi s hemokulturami, pri bolnikih, ki so v času jemanja kontrolnih kužnin prejeli protiglivna zdravila. To pomeni, da T2MR zaznava tudi neviabilne glive in glive, katerih rast zavirajo protiglivna zdravila. Preiskava je na voljo tudi v Sloveniji (30).

Poleg že znane odpornosti bakterij proti antibiotikom se v zadnjih letih pojavlja tudi odpornost gliv proti protiglivnim zdravilom. Možnosti zdravljenja večkratno odpornih gliv so zelo omejene, prav tako imamo na voljo zelo malo zdravil za peroralno zdravljenje. Ob pojavljanju odpornosti proti ehinokandinom smo se začeli zavedati, da praktično nimamo na voljo zdravil za zdravljenje bolnikov, ki so okuženi s takšnimi glivami. Velika želja klinikov je tudi, da bi imeli na voljo učinkovine, ki bi delovale fungicidno, ki

bi imele boljše farmakokinetične in farmakodinamične lastnosti, ki bi imele manj interakcij z drugimi zdravili in bi bile na voljo tako v parenteralni kot peroralni obliki. S pomočjo različnih postopkov, kot so nova uporaba starih zdravil, razumevanje metabolnih poti gliv in iskanja novih prijemališč, so v zadnjih letih odkrili številne nove učinkovine, ki so trenutno v različnih fazah kliničnega preizkušanja.

APX-001 je zaviralec glikozilfosfatidil-ionzitola, ki zavira dozorevanje sidrnih celičnih beljakovin, kar onemogoča pritrjanje gliv na sluznico in epitelijske celice gostitelja. Učinkovit je proti večini vrst *Candida* spp., vključno s *Candida auris*, kandidam, ki so nosilke FKS mutant in so odporne proti ehinokandinom, učinkovit je tudi proti aspergilom, fuzarijem, *Sceidosporium* spp. in *Mucorales* spp. Obstaja tako v parenteralni kot v peroralni obliki. Trenutno je v fazi 1 preizkušanja. SCY-078 je derivat enfumafungina, ki zavira sintezo glukana. Učinkovit je proti kandidam, vključno s *C. auris*, prav tako je učinkovit proti aspergilom, tudi tistim, ki so odporni proti azolom. Na voljo je v peroralni in parenteralni obliki ter je v fazi 2 in fazi 3 kliničnega preizkušanja. Rezafungin je zaviralec BDG sintaze. Spada med ehinokandine, zaradi modifikacije obroča pa ima večjo učinkovitost in daljši razpolovni čas, kar omogoča tedensko odmerjanje. Na voljo je v topični in parenteralni obliki. Deluje proti več vrstam kandid, vključno s *C. auris* in FKS mutantami, ki so odporne proti ostalim ehinokandinom. Učinkovit je tudi proti aspergilom. Trenutno je v fazi 2 kliničnega preizkušanja za povrhnje glivne okužbe in zaščito pri nevtropeničnih bolnikih. Ob pregledih različnih zbirk so ugotovili, da imajo protiglivno aktivnost tudi COX2 zaviralci, tamoksifen, sertralin in aurofin. Vsi so v fazah 1 ali 2 kliničnega preizkušanja (25).

Poleg že znanih vrst kandid je veliko pozornost v preteklih dveh letih pritegnila *C. auris*. Prvič je bila osamljena leta 2009 in velja za porajajočega se patogena. Povezana je z izbruhi bolnišničnih okužb in pomeni precejšen problem v luči zdravljenja in bolnišnične higiene. Pojavlja se po vsem svetu. Prevalenca za zdaj ni povsem znana. V raznih raziskavah domnevajo, da je verjetno pogostejša, kot je za zdaj dokazano, predvsem na območjih, kjer so že zaznali okužbe ali kolonizacije s *C. auris*. Znotraj vrste obstajajo pomembne razlike, ki so vezane na geografska območja. Tako imamo štiri podskupine: južnoazijsko, južnoafriško, južnoameriško in vzhodnoazijsko. Ob uporabi klasičnih biokemičnih metod *C. auris* najpogosteje zamenjamo s *Candida haemulonii*, *Candida lusitanae* in *Candida famata*. S pomočjo MALDI-TOF (angl. *matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry*) je identifikacija manj problematična in bolj natančna. S pomočjo komercialnih kitov *C. auris* ne moremo dokazati s pomočjo PCR ali T2MR.

C. auris raste na kromogenih glivnih agarskih gojiščih pri 42 °C in tvori rožnate do bež kolonije. Celice so ovalne ali valjaste, lahko so posamezno ali v parih, ne tvori hif ali psevdohif. Obstaja v dveh oblikah, pri eni prihaja do nastanka glivnih skupkov, pri drugi pa ne. Oblike brez skupkov so sposobne tvorbe biofilma.

Kolonizacija s *C. auris* je bila dokazana v nosnicah, na koži pazduh, dimelj in tudi črevesni sluznici. *C. auris* preživi dolgo časa tudi na neživih površinah, kar je velik problem za bolnišnično higieno. Tako so ocenili, da pride do kolonizacije bolnikov že po štirih urah od stika s *C. auris*, do invazivne okužbe pa je prišlo 48 ur po sprejemu novega bolnika v EIZ, kjer se je predhodno zdravil bolnik, ki je bil koloniziran s *C. auris*. Invazivne okužbe

s *C. auris* pogosto potekajo v obliki kandidemij, opisane pa so tudi okužbe sečil, dihal, znotrajtrebušne okužbe in perikarditis. Večina okužb je bila pri kritično bolnih, ki so bili hospitalizirani v EIZ. Bolniki so imeli pogosto pridružene hude temeljne bolezni, najpogosteje je šlo za različne okvare imunskega sistema.

Trenutno ni znano, katere so klinično pomembne koncentracije protiglivnih zdravil, ki zagotavljajo učinkovito zdravljenje. Večina sevov je odporna proti flukonazolu, vendar odpornost ni prisotna pri vseh sevih. Prav tako je zmanjšana občutljivost za ostale triazole. Nepredvidljiva je tudi občutljivost za amfotericin B. Zaradi tega za zdravljenje trenutno svetujejo uporabo ehinokandinov. Mikafungin je izmed ehinokandinov najučinkovitejši v laboratorijskih razmerah. S pogostejšo pojavnostjo *C. auris* in zdravljenjem z ehinokandini pa se že pojavljajo posamezna poročila o razvoju odpornosti med samim zdravljenjem. Za zdravljenje okužb osrednjega živčevja in sečil, kamor ehinokandini slabo prodirajo, pa svetujejo uporabo amfotericina B v kombinaciji s 5-flucitozinom.

Skupna smrtnost pri invazivnih okužbah s *C. auris* je med 30 in 50 % in je odvisna tako od geografskega območja kot od bolnikovega splošnega stanja in pridruženih bolezni.

Za vse bolnike, ki so okuženi ali kolonizirani s *C. auris*, moramo uvesti ukrepe kontaktne osamitve. Za iskanje kolonizacij se odločamo glede na oceno tveganja v posameznem okolju. Za zmanjšanje kolonizacije lahko uporabljamo klorheksidinske kopeli. Pomembno je tudi končno čiščenje prostorov po odpustu bolnika, za kar uporabljamo raztopine, ki vsebujejo visoke koncentracije klorovih pripravkov v kombinaciji z aerosolizacijo z vodikovim peroksidom ali UV lučjo.

Glede na to, da okužbe s *C. auris* prizadenejo predvsem najbolj bolne ljudi in da so že sedaj precejšnji problemi zaradi odpornosti *C. auris*, bo ta patogen verjetno v prihodnosti pomembno vplival na obolenost, smrtnost in stroške zdravljenja (31).

ZAKLJUČEK

Glede na vedno večje število oseb s pridobljenimi imunskimi motnjami, staranje prebivalstva in vedno bolj invazivno diagnostiko in zdravljenje lahko pričakujemo, da se bo število bolnikov z glivnimi sepsami v naslednjih desetletjih še povečalo. Ker se tako kot pri bakterijah tudi pri glivah pojavlja odpornost proti protimikrobnim zdravilom, je verjetno, da se bo ob večji uporabi protiglivnih zdravil povečevala tudi odpornost gliv proti tem zdravilom. Kot je vidno na primeru *C. auris*, je možno, da se bodo v prihodnosti pojavljale nove vrste gliv s specifičnimi lastnostmi in nepredvidljivimi vzorci občutljivosti. Pričakovanja in želje klinikov so usmerjeni predvsem v boljše in hitrejše možnosti dokazovanja gliv ter širši nabor zdravil, ki jih lahko varno in učinkovito predpišemo kritično bolnim ob glivni sepsi, ter možnost prehoda na peroralno zdravljenje.

Literatura

1. Homei A, Worboys M, Homei A, Worboys M. Fungal diseases in Britain and United States 1850 – 2000: Mycoses and Modernity. Basinstoke (UK): Palgrave Macmillan; 2013. Dosegljivo na: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK169219/#int_en9 (dostop: 7. 1. 2020).
2. Rippon JW. 'Symposium on medical mycology', Mycopathologia, 1987, 99: 144.
3. Crook WG. The Yeast Connection: A Medical Breakthrough. Vintage Books, 1983.
4. Newcomer VD, Sternberg TH, Wright ET, Reisner RM. Current status of amphotericin B in the treatment of the systemic fungus infections. J Chronic Dis 1959; 9: 353–74.

-
5. Utz JP, Roberts WC, Cooper T, Kravetz HM, Andriole VT. Candida Endocarditis: An Emerging Peril in Cardiovascular Surgery. *Ann Intern Med* 1961; 54: 1058.
 6. Pfaller MA. Epidemiology of candidiasis. *J Hosp Infect* 1995; 30 Suppl: 329–38.
 7. Odds FC. Epidemiological shifts in opportunistic and nosocomial Candida infections: mycological aspects. *Int J Antimicrob Agents* 1996; 6: 141–4.
 8. Colombo AL, de Almeida Júnior JN, Slavin MA, Chen SC, Sorrell TC. Candida and invasive mould diseases in non-neutropenic critically ill patients and patients with haematological cancer. *Lancet Infect Dis* 2017; 17: e344–56.
 9. Vincent JL, Rello J, Marshall J, Silva E, Anzueto A, Martin CD, et al. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *JAMA* 2009; 302: 2323–9
 10. Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin Infect Dis* 2004; 39: 309–17.
 11. Kollef M, Micek S, Hampton N, Doherty JA, Kumar A. Septic shock attributed to Candida infection: importance of empiric therapy and source control. *Clin Infect Dis* 2012; 54: 1739–46.
 12. Guzman JA, Tchokonte R, Sobel JD. Septic shock due to candidemia: outcomes and predictors of shock development. *J Clin Med Res* 2011; 3: 65–71.
 13. Venkatesh B, Finfer S, Cohen J, Rajbhandari D, Arabi Y, Bellomo R, et al. Adjunctive Glucocorticoid Therapy in Patients with Septic Shock. *N Engl J Med* 2018; 378: 797–808.
 14. Mouncey PR, Osborn TM, Power GS, Harrison DA, Sadique MZ, Grieve RD, et al. Trial of early, goal-directed resuscitation for septic shock. *N Engl J Med* 2015; 372: 1301–11.
 15. Payen DM, Guilhot J, Launey Y, Lukaszewicz AC, Kaaki M, Veber B, et al. Early use of polymyxin B hemoperfusion in patients with septic shock due to peritonitis: a multicenter randomized control trial. *Intensive Care Med* 2015; 41: 975–84.
 16. Hadley S, Lee WW, Ruthazer R, Nasraway SA Jr. Candidemia as a cause of septic shock and multiple organ failure in nonimmunocompromised patients. *Crit Care Med* 2002; 30: 1808–14.
 17. Bassetti M, Vena A, Russo A. Management of patients with septic shock due to Candida infection. *Hosp Pract* 2018; 46: 258–65.
 18. Bassetti M, Peghin M, Carnelutti A, Righi E, Merelli M, Ansaldi F, et al. Clinical characteristics and predictors of mortality in cirrhotic patients with candidemia and intra-abdominal candidiasis: a multicenter study. *Intensive Care Med* 2017; 43: 509–18.
 19. Horvath LL, Hospenthal DR, Murray CK, Dooley DP. Detection of simulated candidemia by the BACTEC 9240 system with plus aerobic/F and anaerobic/F blood culture bottles. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 4714–7.
 20. Karageorgopoulos DE, Vouloumanou EK, Ntziora F, Michalopoulos A, Rafailidis PI, Falagas ME. -D-glucan assay for the diagnosis of invasive fungal infections: a meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2011; 52: 750–70.
 21. Knitsch W, Vincent JL, Utzolino S, François B, Dinya T, Dimopoulos G, et al. A randomized, placebo-controlled trial of preemptive antifungal therapy for the prevention of invasive candidiasis following gastrointestinal surgery for intra-abdominal infections. *Clin Infect Dis* 2015; 61: 1671–8.
 22. Kett DH, Shorr AF, Reboli AC, Reisman AL, Biswas P, Schlamm HT. Anidulafungin compared with fluconazole in severely ill patients with candidemia and other forms of invasive candidiasis: support for the 2009 IDSA treatment guidelines for candidiasis. *Crit Care* 2012; 15: R253.
 23. Andes DR, Safdar N, Baddley JW, Playford G, Reboli AC, Rex JH, et al. Mycoses Study Group. Impact of treatment strategy on outcomes in patients with candidemia and other forms of invasive candidiasis: a patient-level quantitative review of randomized trials. *Clin Infect Dis* 2012; 54: 1110–22.
 24. Nucci M, Nouér SA, Esteves P, Guimarães T, Breda G, de Miranda BG, et al. Discontinuation of empirical antifungal therapy in ICU patients using 1,3-β-d-glucan. *J Antimicrob Chemother* 2016; 71: 2628–33.
 25. Sanguinetti M, Posteraro B, Beigelman-Aubry C, Lamothe F, Dunet V, Slavin M, Richardson MD. Diagnosis and treatment of invasive fungal infections: looking ahead. *J Antimicrob Chemother* 2019; 74 (Supplement_2): ii27–37.
 26. Clancy CJ, Nguyen MH. Finding the “missing 50%” of invasive candidiasis: how nonculture diagnostics will improve understanding of disease spectrum and transform patient care. *Clin Infect Dis* 2013; 56: 1284–92.
 27. Pfeiffer CD, Samsa GP, Schell WA, Reller LB, Perfect JR, Alexander BD. Quantitation of Candida CFU in initial positive blood cultures. *J Clin Microbiol* 2011; 49: 2879–83.
 28. Neely LA, Audeh M, Phung NA, Min M, Suchocki A, Plourde D, et al. T2 magnetic resonance enables nanoparticle-mediated rapid detection of candidemia in whole blood. *Sci Transl Med* 2013; 5: 182ra54.
 29. Mylonakis E, Clancy CJ, Ostrosky-Zeichner L, Garey KW, Alangaden GJ, Vazquez JA, et al. T2 magnetic resonance assay for the rapid diagnosis of candidemia in whole blood: a clinical trial. *Clin Infect Dis* 2015; 60: 892–9.
 30. Clancy CJ, Pappas PG, Vazquez J, Judson MA, Kontoyiannis DP, Thompson GR 3rd, et al. Detecting infections rapidly and easily for candidemia trial, part2 (DIRECT2): a prospective, multicenter study of the T2Candida panel. *Clin Infect Dis* 2018; 66: 1678–86.
 31. Saris K, Meis JF, Voss A. Candida auris. *Curr Opin Infect Dis* 2018; 31: 334–40.

NEVTROPENIJA, OKVARE HUMORALNE IMUNOSTI IN SEPSA

NEUTROPENIA, HUMORAL IMMUNITY DEFICIENCIES AND SEPSIS

Izr. prof. Matjaž Jereb, dr. med.

Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja
Univerzitetni klinični center Ljubljana
Japljeva 2, 1000 Ljubljana
in
Katedra za infektologijo in epidemiologijo
Medicinska fakulteta Univerze v Ljubljani
Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana
matjaz.jereb@kclj.si

Ključne besede: sepsa, humoralna imunost, imunoglobulini, splenektomija, preprečevanje, zdravljenje

Key words: sepsis, humoral immunity, immunoglobulins, splenectomy, prevention, treatment

IZVLEČEK

Sepsa je bolezen, s katero se pri kritično bolnih pogosto srečujemo in zahteva vse več zdravstvenega denarja. V prispevku je predstavljena humoralna imunost in njen pomen za patogenezo ter izid sepse. Razumevanje vseh vidikov posameznih sestavin ter med-sebojnih vplivov beljakovin, ki uravnavajo prirojen in pridobljen humoralni imunski odziv, je temelj pravilne obravnave bolnikov s sepsom.

Abstract

Sepsis is a frequent condition in critically ill patients and is associated with a substantial increase in health-care resources consumption. In this review, the importance of humoral immunity in the pathogenesis and the outcome of severe infection is delineated. Understanding the beneficial and detrimental aspects of the individual components and the interactions between proteins which regulate the innate and adaptive humoral response will provide optimal approach to the patients with sepsis.

UVOD

Imunski sistem je pri ljudeh zapleten, visoko organiziran in prilagodljiv obrambni mehanizem, ki varuje organizem pred škodljivimi snovmi iz okolja, strupi, mikroorganizmi in rakom. Razdelimo ga na prirojenega in pridobljenega. Oba vsebujeta tako celični kot humoralni del. Humoralna imunost se imenuje tako zaradi zajemanja snovi, ki se naha-

jajo zunaj celic. Na drugi strani zajema celična imunost znotrajcelične elemente, njena naloga pa je obramba pred povzročitelji bolezni, ki so že vdrlji v celice.

Prirojena imunost ni posledica stika z antigenom iz okolice, je nespecifična in brez imunskega spomina. Do odziva pride takoj, ne glede na to, ali je človeški organizem že bil v stiku z enakimi antigeni ali ne. Vključuje vnetje, celične ovire, komplementni sistem, mehanske obrambne elemente in druge nespecifične dejavnike. Vnetje je odziv tkiva na vsako poškodbo ali okužbo, pri kateri gre za nenačrtovano nekrozo celic kot posledico prisotnosti tujka v tkivu. Na mestu poškodbe oziroma okužbe se poveča prekrvavljenaost, ki omogoči kopičenje obrambnih vnetnih celic. Levkociti so pomembna obrambna linija pred okužbo, prepoznajo in odstranijo patogene mikroorganizme, najpogosteje s fagocitozo in encimsko razgradnjo. Najučinkovitejše fagocitne celice so nevtrofilni granulociti, ki med levkociti v krvi prevladujejo. Fagocitne celice se s površinskimi receptorji, kot so tolični receptorji, lektini in znotrajcelični receptorji, vežejo na sestavine razpadle bakterijske stene ali dvojnovično RNK. Levkociti nastajajo v kostnem mozgu, od koder prehajajo v kri, in v dveh do treh dneh propadejo. Na mesto okužbe jih privabljajo aktivirani proteini komplementa, kinini, izločki limfocitov in makrofagov. Fagocitoza poteka znotraj žilja in v tkivih. Mobilizirani levkociti skozi endotelijsko membrano na nivoju drobnega žilja prehajajo v tkiva in fagocitirane tujke v lizosomih razgradijo z encimi, kot so hidrolaza, mieloperoksidaza in muramidaza. Nevtrofilni granulociti citotoksično vsebino lizosomov izločajo tudi v tkiva in jih dodatno poškodujejo. Zmanjšana koncentracija levkocitov v periferni venski krvi je pomemben dejavnik tveganja za nastanek okužbe. Prirojena imunost se s starostjo spreminja, nanjo vplivajo hormoni, metabolizem in tudi številni škodljivi dejavniki iz okolja.

Pridobljena imunost je specifična. Nosilci pridobljene humoralne imunosti so limfociti B, celične pa limfociti T. Imunski odziv sprožijo monociti in makrofagi, ki iz kostnega mozga prehajajo v kri in nato v tkiva, kjer se preoblikujejo v tkivne makrofage ali histiocite. Makrofagi vežejo ter fagocitirajo tujke, mikroorganizme in odmrle celice. Razgrajene tuje elemente predstavijo celicam T pomagalkam in sprožijo specifičen imunski odziv, za kar je potreben določen čas, običajno nekaj tednov. Pride do razmnoževanja limfocitov B in citotoksičnih limfocitov T. Humoralna imunost temelji na protitelesih v krvi, limfi, različnih telesnih tekočinah ali na površini sluznic. Protitelesa proizvajajo aktivirani limfociti B, imenovani plazmatke, ki jih aktivirajo različni antigeni. Protitelesa specifično spoznajo antigen (tujek) in ga odstranijo. Dražljaj za aktivacijo limfocitov B lahko posredujejo tudi druge antigen predstavljajoče celice (APC), kot so na primer dendritične celice. APC najdemo v bezgavkah, vranici in priželjcu. Folikularne dendritične APC v bezgavkah in vranici predstavijo antigene limfocitom B in tako omogočijo nastajanje ustreznih protiteles. Poleg aktiviranih limfocitov poznamo tudi spominske celice, ki leta dolgo ostajajo v telesu, so del imunskega spomina in se ob ponovnem stiku z enakimi antigeni mikroorganizmov aktivirajo s tvorbo protiteles ali citotoksično reakcijo. Mikroorganizmi so sestavljeni iz številnih antigenov aktivnih molekul, ki ob okužbi sprožijo nastanek različnih protiteles. Ločimo pet razredov imunoglobulinov (IgM, IgG, IgA, IgD in IgE), ki se med seboj razlikujejo po antigenih lastnostih, zgradbi molekule in fizioloških učinkih, ki sledijo vezavi antigena s protitelesom. Protitelesa imajo lahko nevtralizacijski učinek, sodelujejo pri opsonizaciji mikroorganizmov v procesu fagocitoze in aktivirajo proteine komplementnega sistema. V začetku okužbe pre-

vladuje tvorba specifičnih protiteles razreda IgM, pozneje pa specifičnih protiteles IgG. S trajanjem okužbe se povečuje dovzetnost specifičnih protiteles za vezavo na antigen, kar imenujemo avidnost. Ob ponovnem stiku z enakim antigenom je protitelesni odziv hitrejši, močnejši in z večjo avidnostjo (1, 2).

Največ protiteles nastaja v vranici, ki ima pomembno vlogo pri humoralni imunosti. Ocenjujejo, da vranica vsebuje polovico vseh limfocitov B v telesu, ki tvorijo protitelesa. V poteku fagocitoze, ki se odvija znotraj makrofagov, pride v vranici do predstavitve antigenov in preko aktiviranih limfocitov T do aktivacije limfocitov B, njihove preobrazbe v plazmatke in tvorbe za antigen specifičnih protiteles. Plazmatke izdelajo in sprostijo v kri na tisoče protiteles na sekundo in nato v nekaj dneh propadejo. Nekaj plazmatk se spremeni v spominske celice, ki se ob naslednjem stiku z enakim antigenom ponovno aktivirajo in začnejo izdelavo enakih protiteles. Pri bolnikih brez vranice je obramba pred okužbo okrnjena in v primerjavi s splošno populacijo je pri njih tveganje za sistemske bakterijske okužbe in septični šok pomembno večje (3).

Sepsa je življenjsko nevarna okužba, ki se kaže z motnjo v delovanju organov in neustreznim bolnikovim imunskim odzivom. Pojavnost sepse je približno 50 do 100 primerov na 100.000 prebivalcev letno, vendar je število zelo verjetno podcenjeno, saj razpolagamo samo s podatki iz razvitega sveta. V svetovnem merilu je število bolnikov s sepsa zelo verjetno pomembno višje. V Sloveniji vsako leto zdravimo približno 2000 bolnikov s sepsa ali septičnim šokom, praviloma v enotah za intenzivno zdravljenje. Sepsa je v 2 do 11 % vzrok za sprejem bolnika v bolnišnico. Pogostejša je pri starejših osebah in pri dojenčkih, še posebej pa so ogroženi novorojenčki z majhno porodno težo. Po prvem letu starosti se incidenca bolezni zmanjša, nato pa ponovno strmo naraste po 60. letu starosti. Pri ljudeh, starejših od 85 let, je pojavnost sepse več kot 2.600 primerov na 100.000 prebivalcev letno, kar je v veliki meri posledica oslabljenega imunskega sistema. Protimikrobno zdravljenje ob tekočinskem oživljanju ključno vpliva na prognozo. Pri izbiri izkustvenega zdravljenja upoštevamo značilnosti gostitelja, mesto okužbe, lokalne epidemiološke podatke ter farmakokinetiko in farmakodinamiko protimikrobnega zdravila. Smrtnost zaradi sepse je 10 do 15 % in narašča z resnostjo klinične slike: pri septičnem šoku znaša 40 do 60 %. Z vsakim organskim sistemom, ki v okviru sepse odpove, se smrtnost poveča za 15 do 20 %. Pri otrocih se smrtnost zaradi sepse giblje med 10 in 25 % ter je odvisna od starosti; največja je med šolarji in adolescenti (4). Poleg starosti in okrnjene imunosti na pojavnost kot tudi na izid sepse vplivajo sočasne kronične bolezni, vrsta povzročiteljev, ustreznost izbranega izkustvenega antibiotičnega zdravljenja in čas do začetka protimikrobnega zdravljenja.

NEVTROPENIJA IN SEPSA

Nevtrofilni granulociti imajo pomembno vlogo v obrambi pred okužbo in so prve celice, ki pridejo na mesto vnetja. Predstavljajo 50 do 60 % vseh levkocitov v krvnem obtoku, kjer krožijo do največ tri dni, čemur sledi apoptoza. Zmanjšanje koncentracije nevtrofilcev v krvi je pomemben dejavnik tveganja za nastanek okužb, ki lahko ogrozijo življenje, in je najpogostejše odraz agresivnega imunosupresivnega zdravljenja po presaditvi krvotvornih matičnih celic (PKMC) ali čvrstih organov, kemoterapije rakavih bolezni, obsevanja ali posledica toksičnega učinka drugih zdravil. Vročina pri nevtropeničnih bol-

nikih je urgentno stanje, ki zahteva takojšnje ukrepanje. Verjetnost okužbe je odvisna od stopnje zmanjšanja koncentracije nevtrofilcev ter od trajanja nevtropenije. Tveganje za okužbe se poveča že pri zmanjšanju koncentracije nevtrofilnih granulocitov pod $1 \times 10^9/L$, dodatno poraste pri koncentraciji nevtrofilcev, ki je manjša od $0,5 \times 10^9/L$, in je največje pri bolnikih s koncentracijo nevtrofilnih granulocitov, manjšo od $0,1 \times 10^9/L$. Okužbe so pogostejše tudi pri bolnikih s hitrim zmanjšanjem koncentracije nevtrofilcev in v primeru, če nevtropenija traja dlje kot sedem dni. Vročina se pojavi praktično pri vseh bolnikih, ki imajo koncentracijo nevtrofilcev manjšo od $0,1 \times 10^9/L$ dlje kot tri tedne. Okužbo dokažemo pri 30 do 50 % primerov, pri približno 20 % bolnikov gre za sepso.

Primarno vstopno mesto okužbe so najpogosteje prebavila, kar je posledica toksične okvare sluznične površine zaradi uporabe določenih citostatikov; sledijo koža ob vstavljenem znotrajžilnem katetru in dihalo. Ob zmanjšani koncentraciji nevtrofilcev je vnetni odziv bolnika okrnjen, zato so tudi simptomi in znaki okužbe pri nevtropeničnih osebah pogosto neznačilni in neprepričljivi. Okužbe mehkih tkiv se ne kažejo z izrazito rdečino ali otekline, gnojnega izločka pa praviloma ni. Ob okužbi dihal ni obsežnih infiltratov, ki bi jih lahko videli na rentgenski sliki pljuč, pri okužbi osrednjega živčevja pa je pleocitoza v likvorju lahko minimalna ali pa je sploh ni. Vročina je v začetku lahko edini simptom okužbe, šele kasneje pa se v poteku bolezni pokažejo simptomi in znaki, povezani s prizadetostjo posameznega organa, ali slika večorganske prizadetosti v sklopu hude sepse in septičnega šoka.

Bakterijske okužbe

Med povzročitelji okužb prevladujejo po Gramu pozitivne bakterije (60–70 %), med njimi najpogosteje stafilokoki, streptokoki in enterokoki, redkeje pa *Corynebacterium jeikeium*, *Bacillus* spp., *Lactobacillus* spp. in *Cutibacterium acnes*. Med po Gramu negativnimi povzročitelji prevladujejo *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. in *Pseudomonas aeruginosa*. Nevtropenija je pomemben dejavnik tveganja tudi za glivne okužbe, ki v tej skupini bolnikov v zadnjih letih strmo naraščajo.

Pri nevtropeničnem bolniku z vročino ocenimo stopnjo tveganja za hujši potek okužbe in verjetnost sepse. Temu primerno izberemo način vodenja, vrsto in obliko antibiotika in tudi okolje zdravljenja. Dejavnike, ki jih povezujemo z nižjim tveganjem za zaplete ali smrt, navajamo v Tabeli 1. Ogroženost nevtropeničnih bolnikov z vročino lahko ocenimo tudi s točkovanim sistemom MASCC (angl. *Multinational association for supportive care in cancer*): če imajo seštevek manj kot 21 točk, so ogroženi ter spadajo v bolnišnico (Tabela 2) (5). Dokazano sepso brez septičnih žarišč zdravimo 7 do 14 dni. Vprašanje pa je, koliko časa zdravimo bolnike z vročino, nevtropenijo in brez mikrobiološke potrditve okužbe? Protimikrobna zdravila lahko ukinemo, ko je bolnik vsaj 48 ur brez vročine in ima koncentracijo nevtrofilcev večjo od $0,5 \times 10^9/L$. Če je koncentracija nevtrofilcev nižja od $0,5 \times 10^9/L$, lahko protimikrobno zdravilo ukinemo, ko je bolnik stabilen, ima majhno tveganje za hude okužbe in je brez vročine vsaj pet do sedem dni. Če je koncentracija nevtrofilcev nižja od $0,1 \times 10^9/L$ in obstaja nevarnost za hudo okužbo, protimikrobno zdravljenje nadaljujemo ves čas nevtropenije oziroma – kot svetujejo nekateri avtorji – v tem primeru nadaljujemo antibiotično zaščito (5). Na drugi strani je stališče strokovnjakov s sestanka ECIL (angl. *European Conference on Infections in Leukemia*), da

lahko antibiotik, ob nedokazani okužbi, že po 72 urah intravenskega zdravljenja ukine-mo, če je bolnik vsaj 48 ur brez vročine in hemodinamsko stabilen, ne glede na število nevtrofilcev ali trajanje nevtropenije. Pomembno pa je, da ga ob vztrajanju nevtropenije vsaj še 24 do 48 ur opazujemo v bolnišnici in nato lahko nadaljujemo antibiotično za-ščito (6).

Pri nevtropeničnih bolnikih z vročino in sumom na sepsa je odlašanje z začetkom pro-timikrobnega zdravljenja lahko usodno. Klustersky in sod. poročajo, da je bila sepsa do-kazana v 23 % bolnikov z nevtropenijo in vročino. Po Gramu pozitivna sepsa je bila dokazana v 57 %, po Gramu negativna v 34 % in polimikrobna sepsa v 9 % (7). Raziskave kažejo, da 20 do 30 % bolnikov s sepsa oziroma septičnim šokom prejme neustrezno izkustveno antibiotično terapijo. Kumar s sod. ugotavlja petkrat višjo smrtnost (52 % vs. 10,3 %) bolnikov s sepsa, pri katerih je bil izbran antibiotik neučinkovit proti doka-zanemu povzročitelju okužbe (8).

Pri nevtropeničnih bolnikih s sumom na sepsa je pomembno, da z izbrano izkustveno antibiotično terapijo pokrijemo tudi *P. aeruginosa*. Rezultati raziskav namreč kažejo, da je smrtnost bolnikov s po Gramu negativno sepsa pomembno višja kot pri bolnikih s po Gramu pozitivno sepsa. Najslabšo prognozo imajo bolniki z okužbami, ki jih povzroča *P. aeruginosa* (5).

Nevtropenične bolnike z vročino in dejavniki tveganja za hujši potek okužbe vedno zdravimo s parenteralnimi antibiotiki v bolnišnici. Izkustveno izberemo cefepim, imi-penem, meropenem ali piperacilin s tazobaktamom. V zvezi z varnostjo cefepima je bila objavljena metaanaliza, ki njegovo uporabo pri tej skupini bolnikov lahko postavlja pod vprašaj. Yahava in sod. ugotavljajo za 26 % višjo 30-dnevno smrtnost pri bolnikih, zdra-avljenih s cefepimom, v primerjavi z bolniki, ki so dobivali enega od drugih betalaktam-skih antibiotikov z delovanjem tudi proti *P. aeruginosa* (9). Na drugi strani obsežnejša metaanaliza, ki jo je opravila FDA (angl. *Food and Drug Administration*), tega ni potrdila in cefepim ostaja v smernicah za zdravljenje nevtropeničnih bolnikov z vročino (10). Podatki iz literature kažejo, da ima kombinirana antibiotična terapija pri bolnikih s sep-tičnim šokom prednost pred monoterapijo. Najpogosteje kombiniramo betalaktamski antibiotik z aminoglikozidom. Nedavna metaanaliza, ki je zajela več kot 60 raziskav bolnikov s sepsa, je pokazala, da je bila kombinirana antibiotična terapija v primerjavi z monoterapijo povezana z boljšo prognozo pri bolnikih s pričakovano smrtnostjo nad 25 % oz. pri bolnikih s septičnim šokom (11). Za kombinacijo antibiotikov se odločamo tudi pri okužbah z večkratno odpornimi bakterijami. Micek s sod. poroča, da s kombina-cijo betalaktamskega antibiotika in aminoglikozida oziroma kinolona za 16 % znižamo smrtnost bolnikov s sepsa ali septičnim šokom. Kombinacija karbapenema in aminogli-kozida poveča verjetnost pravilne izbire antibiotika za 4,5 %, cefepima in aminoglikozi-da za 6,5 % in piperacilina/tazobaktama z aminoglikozidom za 11,8 % (12).

V razvitem svetu in tudi pri nas je vse večji problem enterobakterij, ki izločajo betalak-tamaze razširjenega spektra (angl. *Extended spectrum beta lactamases* – ESBL), in tudi sevov, ki so odporni proti karbapenemom. Po podatkih mreže EARS-Net (angl. *European Antimicrobial Resistance Surveillance Network*), v okviru katere se zbirajo podatki o od-pornosti izbranih bakterij iz mrež držav članic Evropske unije, je bil delež *K. pneumoniae* ESBL v Sloveniji leta 2018 14,9 %, *E. coli* ESBL 11,3 % in delež *K. pneumoniae*, odpornih

proti karbapenemom, pod 1 %. Leta 2018 smo v slovenskih bolnišnicah osamili 17,9 % večkratno odpornih *Acinetobacter* spp. (odpornost proti fluorokinolonom, aminoglikozidom, karbapenemom) in 11,5 % večkratno odpornih *P. aeruginosa* (odpornost proti piperacilinu s tazobaktamom, ceftazidimu, fluorokinolonom, aminoglikozidom, karbapenemom) (13). Zaradi izboljšanja epidemiološke situacije karbapenemov ne izberemo za izkustveno zdravljenje bolnikov s febrilno nevtropenijo, če niso neposredno življenjsko ogroženi ali kolonizirani z odpornimi bakterijami (6).

Glikopeptidni antibiotik ni del priporočil za začetno izkustveno zdravljenje okužb pri nevtropeničnih bolnikih. Kljub temu, da po Gramu pozitivne bakterije prevladujejo med povzročitelji sepe, raziskave ne potrjujejo razlik v trajanju vročine ali nižji smrtnosti, če je bolnik izkustveno ob betalaktamskem antibiotiku dobil tudi vankomicin (14). Tudi če izkustveno zdravljenje začnemo s kombinacijo betalaktamskega in glikopeptidnega antibiotika, lahko vankomicin po dveh do treh dneh ukinemo, če ne potrdimo okužbe z odpornimi po Gramu pozitivnimi bakterijami (proti meticilinu odporen *Staphylococcus aureus* – MRSA, koagulazno negativni stafilokoki).

Glivne okužbe

Nevtropenija je pomemben dejavnik tveganja tudi za glivne okužbe, ki v tej skupini bolnikov v zadnjih letih strmo naraščajo. V več kot 80 % so povzročitelji glivičnih okužb vrste iz rodu *Candida* in *Aspergillus*, redkeje pa nekatere filamentozne plesni, kot so *Fusarium* spp. ali *Zygomycetes* spp. V zadnjem času opažamo med kandidami premik v smeri pogostejših okužb z vrstami »ne-*albicans*«, kar je odraz zaščitnega ali nekritičnega izkustvenega zdravljenja z azoli (flukonazolom, posakonazolom, vorikonazolom). Opisani epidemiološki premik je problematičen predvsem z vidika odpornosti nekaterih gliv, npr. *Issatchenkia orientalis* (*C. krusei*) ali *Candida glabrata* proti flukonazolu. Nevarnost glivnih okužb raste, če nevtropenija traja več kot sedem dni. V klinični praksi imamo tri različne pristope, s katerimi se pri nevtropeničnem bolniku izognemo razvoju invazivne glivne okužbe (IGO) in ki jih tudi kombiniramo. Izberemo lahko protiglivno zaščito, predbolezensko protiglivno zdravljenje (angl. *pre-emptive therapy*) ali izkustveno zdravljenje. Za izkustveno protiglivno zdravljenje se pri nevtropeničnem bolniku odločimo, ko vročina, kljub antibiotiku širokega spektra, vztraja štiri do sedem dni in nam okužbe ne uspe vzročno pojasniti. Smrtnost zaradi IGO je velika, zaradi kandidemije umre do 60 %, zaradi invazivne aspergiloze pa do več kot 80 % bolnikov (15). Klinična slika IGO je precej neznačilna, mikrobiološke diagnostične metode so pogosto lažno negativne ali lažno pozitivne oziroma premalo specifične, invazivna diagnostika za dodatne histološke in mikrobiološke preiskave pa zaradi invazivnosti posega velikokrat neizvedljiva. Novejša protiglivna zdravila so izboljšala obete zdravljenja, čeprav bo za boljši izid IGO v prihodnosti treba izpopolniti in predvsem skrajšati diagnostične postopke ter postaviti jasnejše kriterije glede zgodnejšega ustreznega zdravljenja.

Kandidemija

Glive povzročajo sepso v približno 5 % primerov, najpogosteje *Candida* spp. V zadnjih letih delež bolnikov z glivno sepso narašča. Med glivami največkrat dokažemo *Candida albicans*, vse pogosteje pa se pojavljajo t. i. vrste »ne-*albicans*«, kot so *C. glabrata*, *Candida parapsilosis*, *I. orientalis* itd. V Sloveniji spremembe niso tako izrazite, čeprav tudi pri nas v zadnjih letih pogosteje osamimo glive nekaterih vrst »ne-*albicans*«. V obdobju od

2013 do 2017 je bila v Sloveniji iz hemokultur bolnikov najpogosteje osamljena vrsta *C. albicans* (51,7 %), sledile so ji *C. glabrata* (27,7 %), *C. parapsilosis* (6,6 %), *I. orientalis* (3,7 %) in *Candida tropicalis* (3,1 %) (16). Kandidemijo izkustveno zdravimo z enim od ehinokandinov ali z liposomalnim amfotericinom B. Ehinokandini imajo prednost zaradi fungicidnega delovanja in redkejših neželenih učinkov. Flukonazol se lahko uporablja za sestopno zdravljenje pri bolnikih z vztrajanjem nevtropenije, z za flukonazol občutljivo kandido, ki imajo negativne kontrolne hemokulture in so hemodinamsko stabilni (17). Vorikonazol se lahko uporabi v enakih razmerah in dodatno pri nevtropeničnih bolnikih z možno dodatno okužbo s plesnimi (18). Vendar raziskave kažejo, da so ehinokandini pri zdravljenju kandidemije učinkovitejši (19). Medtem ko je njihov učinek v primerjavi z liposomalnim amfotericinom B primerljiv (20). Na drugi strani Andes s sod. poroča o nižji smrtnosti bolnikov s kandidemijo, ki so bili zdravljeni z ehinokandini (27 % vs. 36 %, $p < 0,001$), kot pri tistih, ki so prejeli triazole ali poliene. Ob uporabi ehinokandinov je bila statistično pomembno nižja smrtnost povezana tudi z odstranitvijo osrednjega žilnega katetra. Slabša prognoza je bila povezana s starostjo, težo bolezni, imunosupresivnim zdravljenjem in okužbo s *C. tropicalis* (21). Priporočila ECIL za zdravljenje kandidemije po opredelitvi vrste povzročitelja so navedena v Tabeli 3 (22).

Tabela 1. Nizko tveganje za hude okužbe ob nevtropeniji.

Starost > 1 ali < 65 let	Trajanje nevtropenije < 7 dni
Bolnik prihaja od doma (> 48 ur po zadnjem odpustu iz bolnišnice)	Pričakovano trajanje nevtropenije < 10 dni
Absolutno število nevtrofilcev $\geq 0,1 \times 10^9/L$	Odsotnost znakov okužbe znotraj žilnega katetra
Absolutno število monocitov $\geq 0,1 \times 10^9/L$	Funkcija kostnega mozga se že popravlja
Hematokrit > 15 %	Rakava bolezen je v remisiji
Trombociti > $50-75 \times 10^9/L$	Najvišja telesna temperatura < $39,0^\circ C$
C-reaktivni protein < 50-90 mg/L	Odsotnost znakov prizadetosti osrednjega živčevja
Normalna rentgenska slika pljuč	Odsotnost trebušne bolečine
Normalna jetrna in ledvična funkcija	Odsotnost zapletov ^a

^a Šok, hipoksija, pljučnica ali okužba notranjih organov, bruhanje, driska.

Tabela 2. Točkovalec MASCC za oceno ogroženosti bolnika ob nevtropeniji.

Značilnost	Št. točk
Breme febrilne nevtropenije – brez ali z blagimi simptoma	5
Brez hipotenzije (sistolični tlak > 90 mm Hg)	5
Brez kronične obstruktivne pljučne bolezni	4
Rak čvrstih organov ali rak krvotvornega organa in do sedaj brez glivne okužbe ^b	4
Brez izsušenosti in potrebe po parenteralnem nadomeščanju tekočine	3
Breme febrilne nevtropenije – zmerna simptomatika ^a	3
Bolnik je zbolel doma	3
Starost < 60 let	2

^a brez ali z blagimi simptomi (5), z zmernimi simptomi (3), s hudimi simptomi ali umirajoč bolnik (0) – št. točk 5 in 3 se ne seštevata, ^b dokazana ali izkustveno zdravljena glivna okužba.

Tabela 3. Priporočila ECIL za zdravljenje kandidemije po opredelitvi vrste povzročitelja.

	Splošna populacija	Hematološki bolniki
<i>C. albicans</i>	ehinokandini A I flukonazol A I ^a L-AmB A I, ABCD in ABL C A II	ehinokandini A II ^b flukonazol C III L-AmB, ABCD in ABL C B II
<i>C. glabrata</i>	ehinokandini A I L-AmB B I, ABCD in ABL C B II	ehinokandini A II L-AmB, ABCD in ABL C B II
<i>C. crusei</i>	ehinokandini A II vorikonazol B I L-AmB B I, ABCD in ABL C B II	ehinokandini A III vorikonazol C III L-AmB, ABCD in ABL C B II
<i>C. parapsilosis</i>	flukonazol A II ehinokandini B II ehinokandini B II L-AmB B I, ABCD in ABL C B II	flukonazol A III ehinokandini B III ehinokandini B III L-AmB, ABCD in ABL C B II

Legenda: ^a za resno bolne C III, ^b anidulafungin A III.

SPLENEKTOMIJA IN SEPSA

Vranica je čvrst trebušni organ. V njeni zgradbi ločimo belo in rdečo pulpo. Belo pulpo sestavlja limfatično tkivo, ki ima enako vlogo kot tkivo drugih limfatičnih organov in je razdeljeno na cone. V njih so med seboj ločeni limfociti B, limfociti T, plazmatke in makrofagi. Bela pulpa čez marginalno območje prehaja v rdečo pulpo: ta del je nekakšen filter za krvne celice. Sama zgradba rdeče pulpe omogoča tesen in dolgotrajen stik med tujki ali mikrobi in makrofagi, ki jih učinkovito odstranjujejo. Ob tem v vranici potekata sinteza protiteles in aktivacija alternativne poti komplementa. V vranici nastajajo protitelesa razreda IgG, ki jih imenujemo opsonini in so usmerjena proti ovojnicam bakterij, kot so pnevmokoki. V vranici nastajajo tudi protitelesa razreda IgM, ki so zgodnja pro-

titelesa in imajo vlogo pri sekundarnem nastanku protiteles IgG in vseživljenjski zaščiti pred okužbami z istim antigenom oziroma bakterijo.

Anatomska odsotnost vranice je praviloma pridobljena in posledica splenektomije zaradi poškodbe ali nekaterih hemato-onkoloških bolezni. Poleg anatomske asplenije poznamo tudi funkcionalno asplenijo, ki je posledica bolezenskega procesa v vranici in popolne izgube funkcije organa.

Sistemske bakterijske okužbe, ki pogosto potekajo s sliko septičnega šoka, so pri posameznikih brez vranice pogostejše in se najpogosteje pojavijo v prvih dveh letih po splenektomiji, čeprav je nevarnost dosmrtna. Okužbe so pogostejše pri otrocih in starostnikih. Pri bolnikih po splenektomiji, ki so že zboleli za hudo okužbo, se tveganje za ponovno okužbo poveča tudi do šestkrat (23). V primerjavi z zdravimi posamezniki je nevarnost sepse po splenektomiji v prvem letu po operaciji 4,6-krat višja in po enem letu 2,5-krat višja (24). Letna pojavnost življenjsko nevarnih okužb, kot sta sepsa ali meningitis, je po podatkih avstralskih avtorjev 0,42 primera na 100 oseb brez vranice (25). Na drugi strani Holdsworth in sod. navajajo, da le 4,4 % otrok, mlajših od 16 let, in 0,9 % odraslih po odstranitvi vranice zbolijo s sepsa (26). Povečano tveganje za hude bakterijske okužbe in sepsa imajo tudi osebe s hiposplenizmom, pri katerih je delovanje vranice okrnjeno. Vzroki hiposplenizma so različne hematološke bolezni, avtoimunske bolezni, nekatere bolezni prebavil, infiltracija vranice, zapora vranične arterije ali tromboza vraničnih ven, zdravljenje z glukokortikoidi, obsevanje itd. (27).

Etiologija in zdravljenje

Sepsa pri bolnikih brez vranice lahko povzroči katerikoli mikroorganizem, vendar pa so to najpogosteje bakterije, ki imajo kapsulo: *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* in *Neisseria meningitidis*. Tovrstne bakterije so zaradi »zaščitne« kapsule precej odporne proti fagocitozi in tudi proti vezavi nespecifičnih protiteles v krvnem obtoku, ki bi olajšala fagocitozo. Ključen trenutek pri obrambi pred tovrstnimi bakterijami je opsonizacija bakterij s specifičnimi protitelesi, ki nastajajo v vranici. Pri bolnikih po splenektomiji te obrambe ni; bakterije se nemoteno razmnožujejo v krvnem obtoku, preplavijo organizem in aktivirajo mononuklearni fagocitni sistem ter endotelijske celice na nivoju mikrocirkulacije, iz katerih se sproščajo velike količine provnetnih glasnih. Posledično se lahko razvije sepsa ali septični šok. Invazivna pnevmokokna okužba je od 12 do 25-krat pogostejša pri bolnikih po splenektomiji kot pri sicer zdravih posameznikih (28). Potek okužbe je po splenektomiji pri otrocih do drugega leta starosti običajno hujši, ker ti še nimajo specifičnih protiteles proti bakterijam s kapsulo oziroma je njihova koncentracija nizka.

Prognoza okužbe je pri osebah po splenektomiji zaradi poškodbe boljša kot pri bolnikih, ki so jim vranico odstranili zaradi osnovne hemato-onkološke bolezni. Eden od vzrokov je v tem, da imajo bolniki po splenektomiji zaradi poškodbe v približno 50 % ostanke vraničnega tkiva po peritoneju. To vranično tkivo lahko do določene mere prevzame funkcijo vranice, čeprav je stopnja obrambe različna in popolnoma nepredvidljiva. Poleg tega je obramba pred okužbami pri bolnikih po splenektomiji zaradi druge osnovne bolezni in sočasnega imunosupresivnega zdravljenja praviloma dodatno okrnjena.

Invazivne okužbe pri bolnikih brez vranice v 50 do 90 % povzročajo *S. pneumoniae*, v 25 % pa *H. influenzae*, *N. meningitidis* in *Streptococcus pyogenes*. Opisane so še fulminantno potekajoče okužbe po pasjem ugrizu, ki jih povzročajo *Capnocytophaga canis*, in okužbe z znotrajcrpitocitnimi paraziti, kot sta *Babesia microti* in *Plasmodium* spp.

Izobraževanje bolnikov po splenektomiji pomembno vpliva na pojavnost življenjsko nevarnih okužb. El-Alfy in sod. so ugotovili, da je bila pojavnost sepse med 318 osebami po splenektomiji 1,4 % pri tistih, ki so zaplete dobro poznali, in kar 16,5 % pri osebah, ki niso bili seznanjeni z nevarnostjo okužbe po odstranitvi vranice (29). Bolnike po splenektomiji s sumom na sepso vedno napotimo v bolnišnico. Vedno je treba vzeti hemokulture. Poleg podpornega tekočinskega zdravljenja je ključno takojšnje širokospektralno protimikrobno zdravljenje. Zdravilo izbire je cefalosporin tretje generacije, ceftriakson ali cefotaksim. Nekateri strokovnjaki predlagajo dodatno zdravljenje z imunoglobulini v odmerku 0,4 g na kg telesne teže tri dni, čeprav primerjalnih raziskav, ki bi podpirale tovrsten pristop, nimamo. V primerih, ko iz različnih vzrokov ni mogoča takojšnja bolnišnična zdravstvena oskrba, lahko antibiotično zdravljenje začnemo že na terenu. Eden od mogočih ukrepov je tudi preventivna oskrba osebe po splenektomiji s peroralnim antibiotikom (amoksicilin s klavulansko kislino, cefuroksim, moksifloksacin) in navodilom, kdaj začeti zdravljenje.

HIPOGAMAGLOBULINEMIJA IN SEPSA

Hipogamaglobulinemija pomeni pomanjkanje imunoglobulinov zaradi neustreznega dozorevanja limfocitov B in je prirojena ali pridobljena. Poznamo več oblik hipogamaglobulinemij, ki se kažejo z različnimi kliničnimi znaki. Skupna značilnost vseh se ponavljajoče okužbe, od blagih lokalnih do življenjsko nevarnih, kot je sepsa. Najpogostejši primarni vzroki pomanjkanja imunoglobulinov so splošna variabilna imunodeficienca (CVID), x-vezana agamaglobulinemija, primarne hipogamaglobulinemije, prehodna hipogamaglobulinemija pri dojenčkih in pomanjkanje protiteles IgA. Sekundarna hipogamaglobulinemija je povezana s kronično limfocitno levkemijo, z razsejanim plazmocitomom, okužbo z virusom HIV, presaditvijo krvotvornih matičnih celic ali presaditvijo čvrstelega organa in tudi samo starostjo (30). Med primarnimi vzroki pomanjkanja imunoglobulinov je najpogostejša CVID s prevalenco 1 primer na 25.000 do 50.000. V primerjavi s splošno populacijo je smrtnost bolnikov s CVID pomembno višja. V starostni skupini od 5 do 14 let je najvišja (38-krat višja) in v starosti nad 55 let najnižja (0,6- do 1,9-krat višja). Po podatkih registra Evropskega združenja za imunsko motnjo je bila okužba vzrok smrti v 26,3 % (31).

Pri bolnikih s sepsa in septičnim šokom precej pogosto ugotavljamo znižano serumsko koncentracijo imunoglobulinov razreda IgM in/ali IgG. Ni jasno, kaj to pomeni za pojavnost bolezni in ali je nižja koncentracija imunoglobulinov vzrok ali posledica okužbe. V poteku sepse se protitelesa lahko porabljajo, razgradijo ali prehajajo skozi okvarjeno endotelijsko membrano na nivoju mikrocirkulacije v tkiva. Rezultati raziskav glede vpliva znižane koncentracije protiteles na izid sepse niso enotni. V metaanalizi Shankarja in sod. je imelo znižano serumsko koncentracijo IgG 58,3 % bolnikov s sepsa ali septičnim šokom, vendar znižana koncentracija protiteles ni bila povezana z višjo smrtnostjo (32). Na drugi strani Bermejo-Martin s sod. poroča, da je imelo 28 % bolnikov s sepsa

znižano koncentracijo protiteles IgG, 39 % znižano koncentracijo IgM in 19 % znižano koncentracijo IgA. Znižana koncentracija protiteles je bila statistično značilno povezana z višjo smrtnostjo ne glede na razred protiteles (33). Podobno tudi Tian s sod. v objavljeni metaanalizi z vključenimi 11 raziskavami navaja, da znižana koncentracija krožečih limfocitov B in nižja koncentracija protiteles IgM pri bolnikih s sepsa spremljata statistično značilno višjo smrtnost (34).

Nespecifični intravenski imunoglobulini (IVIG) zaradi pomanjkanja ustreznih raziskav niso del splošno sprejetih smernic za zdravljenje bolnikov s sepsa in septičnim šokom. Kljub temu jih v nekaterih okoljih uporabljajo za dodatno zdravljenje bolnikov s septičnim šokom, pri katerih se klinično stanje, kljub ukrepanju v skladu s smernicami, slabša. Pripravki imunoglobulinov, ki so obogateni s protitelesi IgM, imajo prednost pred pripravki imunoglobulinov razreda IgG. V starejši metaanalizi Kreymanna in sod. je bila smrtnost bolnikov s sepsa ali septičnim šokom, ki so dobivali imunoglobuline IgM, v primerjavi s standardnim zdravljenjem znižana za 34 %. V raziskavah, kjer so bolniki dobili imunoglobuline IgG, je bila smrtnost nižja za 15 % (35). V novejši metaanalizi, v katero je bilo vključenih 43 raziskav, je bila smrtnost bolnikov s sepsa ali septičnim šokom, zdravljenih z imunoglobulini IgM, v primerjavi s placebom nižja za 12,8 %, če pa so bolniki dobivali protitelesa IgG, je bila smrtnost nižja za 6,9 % (36).

V našem okolju z IgM obogatene pripravke IVIG uporabljamo kot reševalno zdravljenje pri bolnikih s septičnim šokom po splenektomiji in pri bolnikih z nekrotizirajočim fasciitisom.

KOMPLEMENT IN SEPSA

Sistem komplementa je del prirojene obrambe pred okužbo in se ne spreminja. Je tesno povezan s pridobljeno imunostjo in limfociti. Sestavlja ga 34 beljakovin, ki v obliki proencimov krožijo v krvnem obtoku in medceličnici. Nastajajo v jetrih. Proencimi se aktivirajo po klasični, alternativni ali lektinski poti. Označujemo jih z veliko črko C in številko. Klasično pot sistema komplementa sproži kompleks protiteles, vezanih na bakterijski antigen, alternativno pot neposredno sproži mikroorganizem, lektinsko pot pa lektin. Lektinska pot je podobna klasični, s tem, da zaporedje reakcij namesto komplementa C1q sproži lektin. Osrednja molekula v procesu aktivacije komplementa je v vseh primerih komplement C3. Aktiviran sistem komplementa sproži fagocitozo, pa tudi nastanek skupka beljakovin, imenovan MAC (angl. *membrane attack complex*), ki se vgradijo v membrano bakterijskih celic. Tako nastanejo pore, skozi katere voda vdre v bakterijske celice, in sledi njihov propad. Komplementni sistem lahko neposredno aktivirajo mikroorganizmi; skupaj z nevtrofilci ter makrofagi predstavlja prvo linijo nespecifične obrambe pred okužbo. Neposredna aktivacija komplementa in nastanek kompleksa MAC sta ključna za takojšnje ubijanje po Gramu negativnih bakterij (nekaj minut). Na drugi strani peptidoglikan v zunanji membrani po Gramu pozitivnih bakterij do neke mere ščiti bakterije pred vgradnjo beljakovin MAC. Za nespecifično takojšnjo obrambo pred okužbo s po Gramu pozitivnimi bakterijami je ključna aktivacija klasične poti komplementa s tvorbo protiteles in fagocitozo, kar pa zahteva nekoliko več časa (30 do 60 minut) (37).

Okvara komplementnega sistema je lahko prirojena ali pridobljena. Prirojena okvara je redka in se pojavlja v ~ 0,03 %. Pridobljena okvara je pogostejša in je posledica kroničnih jetrnih boleznih (moteno nastajanje), avtoimunskih boleznih (poraba) ali ledvičnih boleznih (izguba beljakovin). Pomanjkanje nekaterih sestavin komplementa vodi v pogostejše in ponavljajoče se okužbe z bakterijami, ki imajo kapsulo. Najpogosteje gre za meningitis, sepsa ali pljučnico. Pri osebah z okvaro alternativne poti aktivacije komplementa in pomanjkanjem sestavin komplementa od C5 do C9 so pogoste okužbe z meningokokom, zlasti z v Evropi redkimi serotipi, kot sta Y in W135. Ti bolniki imajo 1000- do 10.000-krat večje tveganje za invazivno meningokokno bolezen in pri vsaj polovici se bolezen ponovi. Smrtnost v skupini bolnikov z okvaro komplementa od C5 do C9 je nižja kot v splošni populaciji (1,5 vs. 19 %) (38). Vzrok je verjetno v tem, da je zaradi okvare tega dela komplementnega sistema vnetni odziv manjši. Vzrok je lahko tudi v različnem bakterijskem bremenu. Fulminantne meningokokne okužbe povezujejo z bremenom nad 108 cfu/mL krvi (39). Pri osebah z okvaro klasične poti aktivacije komplementa so pogostejše okužbe z bakterijami *S. pneumoniae* in *H. influenzae* tipa B.

V retrospektivni raziskavi Audemard-Vergerjeve in sod., v katero so bili vključeni bolniki z okvaro komplementnega sistema, je bila invazivna meningokokna okužba dokazana pri 75 % bolnikov, v 80 % je bil potrjen meningitis (40). Na drugi strani Swart s sod. med 187 bolniki z invazivno meningokokno okužbo v 18 % ugotavlja okvaro sistema komplementa, z najvišjo prevalenco v starostni skupini več kot 10 let (41).

Večina invazivnih meningokoknih okužb se pri bolnikih z okvarjenim sistemom komplementa pojavi v obdobju pubertete. Če gre za osamljen pojav okužbe, dodatna testiranja niso potrebna. Pri bolnikih s ponovljeno meningokokno okužbo, v primeru okužbe z redkimi serotipi (E, Y, W135) ob fulminantni meningokokni okužbi pri moških ali pozitivni družinski anamnezi je treba izključiti okvaro komplementnega sistema in bolnike po potrebi zaščititi s cepivom. Ob tem se moramo zavedati, da cepljenje bolnikov ne štiti zanesljivo pred ponovitvijo boleznih in nekateri strokovnjaki predlagajo redno antibiotično zaščito.

SKLEP

Humoralna in celična imunost sta v človeškem telesu neločljivo povezani in se dopolnjujeta. Humoralna imunost ima pomembno vlogo pri obrambi posameznika pred okužbo; prirojene ali pridobljene motnje v njenem delovanju vplivajo na pojavnost sepse, na s sepsa povezane zaplete in prognozo. Najpomembnejši dejavniki tveganja za večjo obolevnost in slabšo prognozo bolnikov s sepsa, ki so povezani z oslABLJENO prvo črto imunske obrambe, so nevtropenija, pomanjkanje sestavin komplementa, pomanjkanje imunoglobulinov in odsotnost vranice. Poznavanje vseh sestavin imunskega sistema in imunskih procesov, ki se sprožijo ob sistemskih okužbah, je pomemben korak k celoviti in pravilni obravnavi bolnikov s sepsa in je temelj za prepoznavo ogroženih oseb z moteno imunostjo. Vsaj tako pomembno kot hitro protimikrobno in podporno zdravljenje je pri teh bolnikih tudi izobraževanje, opozarjanje na možnost hudih okužb in njihovo preprečevanje s cepljenjem, morebitno nadomestno zdravljenje s sestavinami imunskega sistema, kot so imunoglobulini, in pri nekaterih tudi zaščitno zdravljenje z antibiotiki.

Literatura

1. Gubina M, Ihan A, Števcanc M, ur. Medicinska bakteriologija z imunologijo. Ljubljana: Medicinski razgledi; 2002.
2. Haynes BF, Soderberg KA, Fauci AS. Introduction to the immune system. In: Longo DL, Fauci AS, Kasper DL, et al, eds. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 20th ed. New York, NY: McGraw-Hill; 2018. p. 2650–85.
3. Kristinsson SY, Gridley G, Hoover RN, Check D, Landgren O. Long-term risks after splenectomy among 8,149 cancer-free American veterans: a cohort study with up to 27 years follow-up. *Haematologica*. 2014;99(2):392–8.
4. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Manu Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016;315(8):801–10.
5. Freifeld AG, Bow EJ, Sepkowitz KA, Boeckh MJ, Ito JI, Mullen CA, et al. Clinical practice guideline for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with cancer: 2010 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2011;52(4):56–93.
6. Averbuch D, Orasch C, Cordonnier C, Livermore DM, Mikulska M, Viscoli C, et al. European guidelines for empirical antibacterial therapy for febrile neutropenic patients in the era of growing resistance: summary of the 2011 4th European Conference on Infections in Leukemia. *Haematologica*. 2013;98(12):1826–35.
7. Klastersky J, Aমেy L, Maertens J, Georgala A, Muanza F, Aoun M, et al. Bacteraemia in febrile neutropenic cancer patients. *Int J Antimicrob Agents*. 2007;30(Suppl 1):S51–9.
8. Kumar A, Ellis P, Arabi Y, Roberts D, Light B, Parrillo JE, et al. Initiation of inappropriate antimicrobial therapy results in a five-fold reduction of survival in human septic shock. *Chest*. 2009;136(5):1237–48.
9. Yahav D, Paul M, Fraser A, Sarid N, Leibovici L. Efficacy and safety of cefepime: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2007;7(5):338–48.
10. U.S. Food and Drug Administration. (2009). Information for Healthcare Professionals: Cefepime (marketed as Maxipime). Retrieved June 21, 2009. Available from: <http://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety>.
11. Kumar A, Safdar N, Kethireddy S, Chateau D. A survival benefit of combination antibiotic therapy for serious infections associated with sepsis and septic shock is contingent only on the risk of death: a meta-analytic/meta-regression study. *Crit Care Med*. 2010;38(8):1651–64.
12. Micek ST, Welch EC, Khan J, Pervez M, Doherty JA, Reichley RM, et al. Empiric combination antibiotic therapy is associated with improved outcome against sepsis due to gram-negative bacteria: a retrospective analysis. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2010;54(5):1742–8.
13. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Surveillance of antimicrobial resistance in Europe 2018. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Stockholm: ECDC; 2019.
14. Paul M, Borok S, Fraser A, Vidal L, Leibovici L. Empirical antibiotics against gram-positive infections for febrile neutropenia: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Antimicrob Chemother*. 2005;55(4):436–44.
15. Pagano L, Mayor S. Invasive fungal infections in high-risk patients: report from TIMM-8 2017. *Future Sci OA*. 2018;4(6):FSO307.
16. Golle A, Pirš P, Tomazin R, Novak Z, Košir U, Rojnik A, et al. Candidaemia: the National Epidemiologic Study. *Med Razgl*. 2018;57(Suppl 3):3–16.
17. Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR, Clancy CJ, Marr KA, Ostrosky-Zeichner L, et al. Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2016;62(4):e1.
18. Walsh TJ, Pappas P, Winston DJ, Lazarus HM, Petersen F, Raffalli J, et al. Voriconazole compared with liposomal amphotericin B for empirical antifungal therapy in patients with neutropenia and persistent fever. *N Engl J Med*. 2002;346(4):225–34.
19. Reboli AC, Shorr AF, Rotstein C, Pappas PG, Kett DH, Schlamm HT, et al. Anidulafungin compared with fluconazole for treatment of candidemia and other forms of invasive candidiasis caused by *Candida albicans*: a multivariate analysis of factors associated with improved outcome. *BMC Infect Dis*. 2011;11:261.
20. Cornely OA, Maertens J, Bresnik M, Ebrahimi R, Dellow E, Herbrecht R, et al. Efficacy outcomes in a randomised trial of liposomal amphotericin B based on revised EORTC/MSG 2008 definitions of invasive mould disease. *Mycoses*. 2011 Sep;54(5):e449–55.
21. Andes DR, Safdar N, Baddley JW, Playford G, Reboli AC, Rex JH, et al. Impact of treatment strategy on outcomes in patients with candidemia and other forms of invasive candidiasis: a patient-level quantitative review of randomized trials. *Clin Infect Dis*. 2012;54(8):1110–22.
22. Tissot F, Agrawal S, Pagano L, Petrikkos L, Groll AH, Skiada A, et al. ECIL-6 Guidelines for the treatment of invasive candidiasis, aspergillosis and mucormycosis in leukemia and hematopoietic stem cell transplant patients. *Haematologica*. 2017;102(3):433–44.
23. Kyaw MH, Holmes EM, Toolis F, Wayne B, Chalmers J, Jones IG, et al. Evaluation of severe infection and survival after splenectomy. *Am J Med*. 2006;119:276.e1–276.e7.
24. Morgan TL, Tomich EB. Overwhelming post-splenectomy infection. *J Emerg Med*. 2012;43(4):758–63.
25. Cullingford G, Watkins D, Watts A, Mallon DF. Severe late postsplenectomy infection. *Br J Surg*. 1991;78(6):716–21.
26. Holdsworth R, Irving A, Cuschieri A. Postsplenectomy sepsis and its mortality rate actual versus perceived risk. *Br J Surg*. 1991;78(9):1031–8.
27. Di Sabatino A, Carsetti R, Corazza GR. Post-splenectomy and hyposplenic states. *The Lancet*. 2011;378(9785):86–97.
28. Aavitsland P, Froholm LO, Hoiby EA, Lystad A. Risk of pneumococcal diseases in individuals without a spleen. *Lancet*. 1994;344(8935):1504.
29. El-Alfy MS, El-Sayed MH. Overwhelming postsplenectomy infection: is quality of patient knowledge enough for prevention? *Hematol J*. 2004;5(1):77–80.

-
30. Perez EE, Orange JS, Bonilla F, Chinen J, Chinn IK, Dorsey M, et al. Update on the use of immunoglobulin in human disease: A review of evidence. *J Allergy Clin Immunol*. 2017;139(3):S1–S46.
 31. Odnoletkova I, Kindle G, Quinti I, Grimbacher B, Knerr V, Gathmann B, et al. The burden of common variable immunodeficiency disorders: a retrospective analysis of the European Society for Immunodeficiency (ESID) registry data. *Orphanet J Rare Dis*. 2018;13(1):201.
 32. Shankar-Hari M, Culshaw N, Post B, Tamayo E, Andaluz-Ojeda D, Bermejo-Martin JF, et al. Endogenous IgG hypogammaglobulinaemia in critically ill adults with sepsis: systematic review and meta-analysis. *Intensive Care Med*. 2015;41(8):1393–401.
 33. Bermejo-Martin JF, Rodriguez-Fernandez A, Herrán-Monge R, Andaluz-Ojeda D, Muriel-Bombín A, Merino P, et al. Immunoglobulins IgG1, IgM and IgA: a synergistic team influencing survival in sepsis. *J Intern Med*. 2014;276(4):404–12.
 34. Tian I, Zhu J, Jin J, Tong C, Zeng W, Deng S, et al. Prognostic value of circulating lymphocyte B and plasma immunoglobulin M on septic shock and sepsis: a systematic review and meta-analysis. *Am J Transl Res*. 2019;11(12):7223–32.
 35. Kreyman KG, de Heer G, Nierhaus A, Kluge S. Use of polyclonal immunoglobulins as adjunctive therapy for sepsis or septic shock. *Crit Care Med*. 2007;35(12):2677–85.
 36. Alejandria MM, Lansang MA, Dans LF, Mantaring JB. Intravenous immunoglobulin for treating sepsis, severe sepsis and septic shock. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013;16(9):CD001090.
 37. Heesterbeek AC, Angeliera ML, Harrison RA, Rooijackers HM. Complement and bacterial infections: From molecular mechanisms to therapeutic applications. *J Innate Immun*. 2018;10(5-6):455–64.
 38. Figueroa J, Andreoni J, Densen P. Complement deficiency states and meningococcal disease. *Immunol Res*. 1993;12(3):295–311.
 39. Darton T, Guiver M, Naylor S, Jack DL, Kaczmarek EB, Borrow R, et al. Severity of meningococcal disease associated with genomic bacterial load. *Clin Infect Dis*. 2009;48(5):587–94.
 40. Audemard-Verger A, Descloux E, Ponard D, Deroux A, Fantin B, Fieschi C, et al. Infections revealing complement deficiency in adults. *Medicine*. 2016;95(19):e3548.
 41. Swart AG, Fijen CA, te Bulte MT, Daha MR, Dankert J, Kuijper EJ. Complement deficiencies and meningococcal disease in The Netherlands. *Ned Tijdschr Geneesk*. 1993;137(23):1147–52.

PROTIMIKROBNO ZDRAVLJENJE SEPSE – KONTINUIRANO ALI INTERVALNO ODMERJANJE ANTIBIOTIKA?

ANTIMICROBIAL THERAPY OF SEPSIS – CONTINUOUS OR INTERVAL ANTIBIOTIC DOSING

Tomaž Vovko, dr.med.¹, Špela Urh, mag. farm. spec.²

¹ tomaz.vovko@kclj.si,

Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja,
Univerzitetni klinični center Ljubljana,

² Lekarna, Univerzitetni klinični center Ljubljana.

Ključne besede: Sepsa, septični šok, življenjsko ogrožen bolnik, podaljšano odmerjanje antibiotikov.

Key-words: Sepsis, septic shock, critically ill patient, prolonged antibiotic administration

IZVLEČEK

Pravočasno in ustrezno antibiotično zdravljenje sepse in septičnega šoka je ključno. Pri antibiotikih, katerih delovanje je odvisno od časa koncentracije antibiotika nad minimalno inhibicijsko koncentracijo patogenov, lahko s podaljšano ali kontinuirano infuzijo omogočamo ohranjanje visokih koncentracij ves čas aplikacije antibiotične terapije. S takšno aplikacijo so pri življenjsko ogroženih bolnikih s sepsa dokazali večjo učinkovitost zdravljenja in manjšo smrtnost.

Abstract

Early and adequate antibiotic therapy of sepsis and septic shock is very important. Prolonged or continuous infusion of time over minimal inhibitory concentration dependent antibiotics results in sustained concentrations throughout the dosing interval, increasing time over minimal inhibitory concentration. Prolonged and continuous infusions of time-dependent antibiotics result lower mortality in critically ill septic patients.

UVOD

Sepsa je življenje ogrožajoče stanje, kjer zaradi neustreznega odziva organizma na okužbo pride do odpovedovanja organskih sistemov (1, 2). V primeru, ko so temu pridruženi še neodzivnost sistemskega arterijskega tlaka na tekočinsko zdravljenje, ki zahteva uporabo vazoaktivnih zdravil in znaki nezadostne prekrvitve, ki se kaže s poraščanjem laktata, govorimo o septičnem šoku. Zgodnje in ustrezno protimikrobno zdravljenje zmanjša smrtnost sepse in septičnega šoka (2). Zaradi izdatnega tekočinskega zdravljenja, povečane prepustnosti mikrocirkulacije, vazodilatacije in pridruženega povečanega srčnega minutnega pretoka se zelo spreminja farmakokinetika zdravil, še zlasti vodo-

topnih. Ugotavljamo lahko okrepljeno glomerulno filtracijo, ki poveča izločanje zdravil iz telesa, izločanje se lahko poveča tudi zaradi zmanjšanja koncentracije plazemskih beljakovin, predvsem albuminov, ki poveča koncentracijo proste frakcije zdravil (3). V zadnjih desetletjih nismo beležili bistvenega zmanjšanja smrtnosti sepse in septičnega šoka, ki ga zdravimo v enotah za intenzivno zdravljenje (EIZ). Ena izmed možnih izboljšav je optimizacija odmerjanja antibiotične terapije.

FARMAKOKINETIČNE LASTNOSTI ANTIBIOTIKOV

Glede na prevladujoči mehanizem učinkovitosti delimo antibiotike na več skupin (tabela 1) (4). V prvo skupino spadajo antibiotiki, kjer je učinkovitost povezana s časom, ko je koncentracija antibiotika nad minimalno inhibicijsko koncentracijo (MIK) patogena, to so od časa odvisni antibiotiki. V drugi skupini antibiotikov učinkovitost najbolj oceni površina pod krivuljo koncentracija antibiotika v času v razmerju z MIK, v tretji skupini pa antibiotično učinkovitost predstavlja razmerje maksimalne koncentracije antibiotika in MIK, to so koncentracijsko odvisni antibiotiki (4).

Tabela 1 – Farmakokinetični in farmakodinamični parametri, ki so korelaciji z antibiotično učinkovitostjo (4)

Parameter	Antibiotiki
Čas nad MIK	penicilini, cefalosporini, karbapenemi, aztreonam, makrolidi, klindamicin,
24h AUC/MIK	aminoglikozidi, fluorokinoloni, azitromicin, tetraciklini, vankomicin, kvinupristin/dalfopristin
Maksimalna koncentracija/MIK	aminoglikozidi, fluorokinoloni

Legenda: MIK – minimalna inhibicijska koncentracija, AUC površina pod krivuljo koncentracija : čas.

PODALJŠANO ODMERJANJE ANTIBIOTIKOV

Dajanje antibiotikov v podaljšani ali neprekinjeni infuziji je smiselno pri antibiotikih iz prvih dveh skupin, največjo učinkovitost takšnega odmerjanja pa je pričakovati pri skupini od časa odvisnih antibiotikov.

Farmakološko modeliranje, pri katerem s pomočjo programske podpore in farmakokinetičnih podatkov manjše skupine bolnikov ugotavljamo ustreznost načina odmerjanja za doseganje zgoraj omenjenih ciljev, imenujemo simulacija Monte Carlo (5). Ta nam poda verjetnost doseganja omenjenih farmakokinetičnih/farmakodinamičnih (FK/FD) ciljev (angl. *probability of target attainment*, PTA). Z upoštevanjem porazdelitve vrednosti MIK za pričakovane bakterijske povzročitelje po podatkih iz literature (v Evropi uporabljamo EUCAST) določimo tudi delež doseganja FK/FD cilja za posamezni patogen (angl. *fractional target attainment*, FTA) (6). Željene vrednosti FTA so nad 90 – 95 %. Za ustreznost omenjenega modeliranja moramo uporabiti podatke ustreznih bolnikov (npr. s sepsa/septičnim šokom na EIZ) (7). Podaljšano odmerjanje antibiotikov v skupini od časa nad MIK odvisnih antibiotikov poveča tako PTA kot FTA (5, 6, 7).

Glede na posamezne skupine antibiotikov priporočamo naslednje ciljne vrednosti časa nad MIK (čas > MIK): 50 do 60 % za peniciline, 60 do 70 % za cefalosporine, 40 % za ceftolozan/tazobaktam in 40 % za karbapeneme (8). V preglednem članku so Thabit in sodelavci ana-

lizirali odmerjanja beta laktamskih antibiotikov z učinkovitostjo proti *Pseudomonas aeruginosa* (5). Doseganja FK/FD ciljev s kratkotrajnimi infuzijami piperacilina s tazobaktamom, cefepima, imipenema ni bilo mogoče doseči tudi z ustreznim »protipsevdomonasnim« odmerkom. Ustrezne vrednosti pa so dosegli pri maksimalnih odmerkih ceftazidima in ceftolozana s tazobaktamom. Boljše rezultate so dosegli z uporabo krajših časovnih intervalov med odmerki, pri vseh analiziranih antibiotikih pa so ustrezne in tudi višje FK/FD cilje dosegli s podaljšano tri do štiri urno infuzijo omenjenih antibiotikov (tabela 2) (5).

Tabela 2: Za »ilustracijo«: primer farmakokinetičnih/farmakodinamičnih (PK/PD) mejnih vrednosti kratkotrajnih in podaljšanih infuzij betalaktamskih antibiotikov pri normalni ledvični funkciji (očistek kreatinina med 50 in 120 ml/min), ki delujejo pri *Pseudomonas aeruginosa* (5, 6).

Antibiotik, odmerjanje, (čas infundiranja)	PK/PD cilj	PK/PD mejna vrednost (mg/L), ki je dosežena	<i>P. aeruginosa</i> (mejne vrednosti po EUCASTu MIK mg/L)	
			S	R
piperacilin/tazobaktam 3,375 g / 6 h (0,5 h) 4,5 g / 6 h (0,5 h) 4,5 g / 8 h (0,5 h) 3,375 g / 8 h (4 h) 3,375 g / 6 h (4 h) 4,5 g / 8 h (4 h) 4,5 g / 6 h (4 h) 6,75 g / 8 h (4 h)	50% čas > MIK	8 8 4 8 – 16 16 16 16 – 32 32	≤ 0,001	> 16
cefepim 1 g / 12 h (0,5 h) 2 g / 12 h (0,5 h) 2 g / 8 h (0,5 h) 1 g / 12 h (4 h) 2 g / 8 h (3 h) 2 g / 8 h (4 h)	60–67 % čas > MIK	1 2 4 – 8 8 4 (87 % PTA pri 8) 16	≤ 0,001	> 8
ceftazidim 1 g / 8 h (0,5 h) 2 g / 8 h (0,5 h) 1 g / 8 h (3 h) 2 g / 8 h (3 h)	60 % čas > MIK	4 8 8 16	≤ 0,001	> 8
ceftolozan/tazobaktam 1,5 g / 8 h (1 - 4 h) 3 g / 8h (1 - 4h)	40 % čas > MIK	8 – 16 16 – 32	≤ 4	> 4
imipenem 0,5 g / 6 h (0,5 h) 1 g / 8 h (0,5 h) 0,5 g / 6 h (3 h) 1 g / 8 h (3 h)	40 % čas > MIK	1 1 4 4	≤ 0,001	> 4
meropenem 0,5 g / 6 h (0,5 h) 1 g / 8 h (0,5 h) 2 g / 8 h (0,5 h) 0,5 g / 8 h (3 h) 0,5 g / 6 h (3 h) 1 g / 8 h (3 h) 2 g / 8 h (3 h)	40 % čas > MIK	1 – 2 1 – 2 2 – 4 2 4 4 8	≤ 2	> 8

Legenda: PK/PD – farmakokinetične/farmakodinamične, S – občutljiv (angl. *sensitive*), R – rezistenten, čas > MIK: čas nad minimalno inhibicijsko koncentracijo, PTA (ang. *probability of target attainment*).

Pri bolnikih s septičnim šokom želimo, da je čas > MIK 100% dozirnega intervala za časovno odvisne antibiotike, nekatera priporočila pa, glede na zmanjšanje smrtnosti in klinično učinkovitost, svetujejo doseganje koncentracij 4 do 8x MIK 100 % časa v dozirnem intervalu (2, 9).

Sjövall in sodelavci so raziskovali odmerjanje meropenema pri bolnikih s septičnim šokom. Na podlagi podatkov 50 bolnikov so izdelali farmakokinetični model, s katerim so nato ocenjevali ustreznost odmerjanja omenjenega antibiotika za zdravljenje okužb s *P. aeruginosa* in *Acinetobacter baumannii* (7). Kljub različnim FK/FD ciljem (čas > MIK 40 % pri kratkotrajnem odmerjanju in čas > MIK 100 % pri podaljšanem odmerjanju) so bili za doseganje ciljev pri kratkotrajnem odmerjanju potrebni pomembno višji odmerki. Na ustreznost odmerjanja je vplivala predvsem ledvična funkcija, kjer FK/DF ciljev ob ojačani glomerulni filtraciji ni bilo možno doseči s kratkotrajnimi infuzijami standardnih odmerkov (7).

Kljub obetavnim farmakološkim podatkom pa sprva raziskovalci v randomiziranih kontroliranih raziskavah in kasnejših meta-analizah izboljšanega izida podaljšanih infuzij niso dokazali (npr. ozdravitev, zmanjšanje smrtnosti) (10). Doseganje višjih terapevtskih ciljev je manj pomembno pri okužbah s povzročitelji z nizkimi MIK in pri bolnikih z blažjo klinično sliko. Pri življenjsko ogroženih bolnikih s hudimi okužbami (npr. sepsa, bolnišnično pljučnico) so dokazali, da s podaljšanim odmerjanjem antibiotikov povečamo možnosti za klinično izboljšanje in zmanjšamo smrtnost (11, 12). Iz meta-analize Rhodessa in sodelavcev je razvidno, da podaljšana infuzija piperacilina s tazobaktamom zmanjša smrtnost (razmerje obetov (RO) 0,69 %, 95 % interval zaupanja (IZ) 0,56 – 0,84) (1). Znižanje smrtnosti so v meta-analizi ugotavljali tudi Yu in sodelavci, ki so preučevali podaljšano infuzijo meropenema pri sepsi (razmerje tveganj (RT) 0,66 %, 95 % IZ 0,50 – 0,88) (12). Uporaba podaljšanih infuzij učinkovitih antibiotikov proti *P. aeruginosa* (karbapenemi, piperacilin/tazobaktam, cefepim in ceftazidim) je pri bolnikih s sepsa zmanjšala smrtnost (RO 0,70, 95 % IZ 0,56 – 0,87), kar so dokazali le v raziskavah pri kritično bolnih (kazalnik APACHE II, angl. *acute physiology and chronic health evaluation*, II, nad 20 točk) (11). Odmerjanje beta-laktamov v podaljšani infuziji je bilo uspešnejše predvsem pri bolnikih s hujšim potekom bolezni, npr. pri bolnikih z vrednostjo SOFA nad 9 (angl. *sequential organ failure assessment*) (13).

Zaradi pričakovanih visokih terapevtskih koncentracij ob podaljšanih infuzijah je treba ob uvedbi antibiotičnega zdravljenja in ob spremembah ledvične funkcije vedno oceniti tudi ledvično delovanje. Pri bolnikih s spreminjajočo se ledvično funkcijo ocene za kronično ledvično okvaro niso najbolj primerne: kazalniki MDRD (angl. izračun *modification of diet in renal disease study*), CKD-EPI (angl. izračun *chronic kidney disease epidemiology collaboration* izračun), izračun po Cocroftu in Gaultu. V priporočilih Francoske organizacije za anestezijo in intenzivno terapijo svetujejo oceno glomerulne filtracije iz izračuna koncentracije kreatinina v urinu (U_{kreat}), serumu (S_{kreat}), z upoštevanjem volumna urina (V), čas zbiranja urina mora biti vsaj eno uro: očistek kreatinina = $U_{\text{kreat}} \times V$ (vsaj 1h urina) / S_{kreat} (9).

Pri kontinuirani infuziji vankomicina, ki spada v skupino antibiotikov, kjer učinkovitost ocenjujemo z razmerjem površine koncentracije pod krivuljo in časa nad MIK, niso dokazali razlik v smrtnosti (RT 1,15, 95 % IZ 0,85 – 1,54), pokazali pa so, da je takšno

zdravljenje povezano z manjšo toksičnostjo za ledvice (RT 0,61, 95 % IZ 0,47 – 0,80) (14). Ob uporabi kontinuirane infuzije vankomicina se lahko določa naključni vzorec plazme za določitev terapevtskih nivojev, ciljne koncentracije pri kritično bolnih so med 15 in 20 mg/L (10,3 do 13,8 µmol/L) (15).

PRIPOROČILA ZA PODALJŠANO ODMERJANJE ANTIBIOTIKOV

Na uspešnost podaljšane infuzije vplivajo tudi fizikalno kemična stabilnost antibiotika, na katero vplivajo tudi pomožne snovi in izbira nosilne tekočine, kar moramo upoštevati pri izbiri načina aplikacije (16). Farmacevti v Univerzitetnem kliničnem centru Ljubljana na podlagi pregleda literature, opisa temeljnih značilnosti zdravil in drugih virov, redno posodablja podatke o dostopnih antibiotičnih zdravilih na tržišču. Na podlagi teh podatkov lahko v ustreznih aseptičnih razmerah pripravimo raztopine za podaljšano odmerjanje antibiotika (17). Pri bolnikih s sepsa in septičnim šokom ob uvedbi antibiotične terapije, še zlasti pri uporabi podaljšanega odmerjanja antibiotikov, je obvezen polnilni odmerek. Ob pričakovanem povečanem volumnu porazdelitve za vodotopne antibiotike se svetuje običajen odmerek, ki bi ga uporabili ob intervalnem odmerjanju, apliciramo ga v kratkotrajni infuziji (npr. 30 min) (9). Za preverjanje ustreznosti koncentracij teh antibiotikov oz. za preprečevanje toksičnosti tako pri bolnikih z okrepljeno ledvično funkcijo kot tudi pri bolnikih z oslABLJENO ledvično funkcijo svetujejo pri beta-laktamskih antibiotikih tudi določanje terapevtskih koncentracij, kar pa za zdaj v Univerzitetnem kliničnem centru v Ljubljani ni mogoče (9).

Tabela 3: Obstojnosti dosegljivih antibiotikov v UKC Ljubljana, ki jih lahko uporabljamo v podaljšani oz. kontinuirani infuziji (antibiotiki so navedeni po abecedi) (17):

Antibiotik (Ime zdravila na tržišču)	Nosilna raztopina	največja koncentracija zdravila v raztopini za infundiranje*	čas aplikacije	fizikalno-kemijska stabilnost zdravila v raztopini za infundiranje na sobni temperaturi
amoksicilin + klavulanska kislina (Amoksiklav 500 mg/100 mg, 1000 mg/200 mg)	0,9 % NaCl	12 mg/ml*	30 do 40 min	4 ure
ampicilin (Ampicillina 500 mg in 1 g)	0,9 % NaCl ali 5 % glukoza	30 mg/ml	30 min	Uporabiti v 1 uri! (čas od začetka priprave do konca infundiranja)
cefepim (Cefepim Kabi 1 g in 2 g)	0,9 % NaCl ali 5 % glukoza	100 mg/ml	3 do 4 ure	2 uri
cefotaksim (Cefotaksim Apta 2 g)	0,9 % NaCl ali 5 % glukoza ali voda za injekcije	60 mg/ml	15 do 60 min	6 ur (18)
cefotaksim (Cefotaksima Normon 2 g)	0,9 % NaCl ali 5 % glukoza	60 mg/ml	15 do 60 min	6 ur (18)
ceftazidim (Ceftazidim Kabi 1 g)	0,9 % NaCl ali 5 % glukoza ali 10 % glukoza	1 do 40 mg/ml	15 do 30 min	6 ur

ceftazidim (Ceftazidim Mylan 1 g)	0,9 % NaCl ali 5 % glukoza ali 10 % glukoza	1 do 40 mg/ml	15 do 30 min	4 ure
cefepim (Deltacef 1 g in 2 g)	0,9 % NaCl ali 5 % glukoza	1 do 40 mg/ml	3 do 4 h	12 ur
ertapenem (Invanz 1 g)	0,9 % NaCl	20 mg/ml	30 min	6 ur
flukloksacilin (Flukloksacilin Altamedics 1000 mg in 2000 mg)	0,9 % NaCl ali 5 % glukoza ali voda za injekcije	50 mg/ml	30 do 60 min	Uporabiti v 1 uri ! (čas od začetka priprave do konca infundiranja)
imipenem/cilastatin (Imipenem cilastatin 500 mg/500 mg)	0,9 % NaCl ali 5 % glukoza	5 mg/ml (glede na imipenem)	3 h	Uporabiti v 2 urah ! (čas od začetka priprave do konca infundiranja)
meropenem (Meropenem Actavis 1000 mg)	0,9 % NaCl	1 do 20 mg/ml	3 do 4 ure	4 ure
meropenem (Meropenem Kabi 500 mg in 1000 mg)	0,9 % NaCl ali 5 % glukoza	1 do 20 mg/ml	15 do 30 min	6 ur v 0,9% NaCl; 1 ura v 5% glukozi
natrijev benzilpenicilinat (Penicillin G Sodium 1.000.000 IU)	0,9 % NaCl ali 5 % glukoza	(OVK) do 500.000 I.E./ml	60 min	6 ur
natrijev benzilpenicilinat (Penicillin G Sodium Sandoz 1.000.000 IU)	0,9 % NaCl ali 5 % glukoza	(OVK) do 500.000 I.E./ml	60 min	8 ur pri koncentraciji od 5.000 do 910.000 I.E./ml, 4 ure pri koncentraciji nižji od 100.000 I.E./ml
piperacilin + tazobaktam (Piperacilin/ tazobaktam Mylan 2 g/0,25 g in 4 g/0,5 g)	0,9 % NaCl ali 5 % glukoza ali voda za injekcije	30 do 90 mg/ml*	3 do 4 ure	18 ur
piperacilin + tazobaktam (Piperacilin / tazobaktam Teva 2 g/0,25 g in 4 g/0,5 g)	0,9 % NaCl ali 5 % glukoza	30 do 90 mg/ml*	3 do 4 ure	24 ur
vankomicin (Vankomicin Kabi 500 mg in 1000 mg)	0,9 % NaCl ali 5 % glukoza	5 mg/ml, OVK 10 mg/ml (izjemoma do 40 ml/ml)	Najmanj 60 min (največja hitrost 10 mg/min)	24 ur
ceftolozan + tazobaktam (Zerbaxa 1 g/0,5 g)	0,9 % NaCl ali 5 % glukoza	13,5 mg/ml	60 min	24 ur

Legenda: * pri kombiniranih antibiotikih (npr. amoksicilin + klavulanska kislina) se upošteva skupna koncentracija, OVK – osrednji venski kateter.

ZAKLJUČEK

Podaljšano odmerjanje antibiotikov lahko pri življenjsko ogroženih bolnikih pomeni FK/FD prednost in je povezano z učinkovitejšim zdravljenjem in zmanjšano smrtnostjo zaradi sepse in septičnega šoka. Takšno zdravljenje je pomembno predvsem pri povzročiteljih, ki so že intrinzično slabše občutljivi za antibiotike (npr. iz skupine nefermentativnih po Gramu negativnih bacilov) ali pri okužbah, kjer pričakujemo slabše prodiranje antibiotika na mesto okužbe (npr. osrednje živčevje, pljučni parenhim, kostnina oziroma sklepi).

Glede na podatke iz literature menimo, da bi bilo treba v EIZ pri vseh antibiotikih, kjer je učinkovitost povezana s časom nad MIK, uporabljati podaljšane ali kontinuirane infuzije vsaj na začetku bolezni, ko so bolniki hemodinamsko nestabilni in je metabolizem antibiotikov nepredvidljiv. Ob takšnem odmerjanju morajo vsi bolniki dobiti tudi polnitveni odmerek antibiotika. Po prejemu izvidov mikrobioloških preiskav, stabilizaciji bolnika in umiritvi klinične slike lahko nato preidemo na usmerjeno zdravljenje s standardnim odmerjanjem. Pri uporabi podaljšanih infuzij antibiotikov je treba skrbno spremljati tudi ledvično funkcijo in po potrebi prilagoditi odmerke.

Literatura

1. Rhodes NJ, Liu J, O'Donnell JN, Dulhunty JM, Abdul-Aziz MH, Berko PY et al. Prolonged Infusion Piperacillin-Tazobactam Decreases Mortality and Improves Outcomes in Severely Ill Patients: Results of a Systematic Review and Meta-Analysis. *Crit Care Med* 2018; 46(2): 236-43.
2. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016; 315(8): 801-10.
3. Veiga RP et Paiva JA. Pharmacokinetics-pharmacodynamics issues relevant for the clinical use of beta-lactam antibiotics in critically ill patients. *Crit Care*. 2018; 22(1): 233.
4. Craig WA. Pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters: rationale for antibacterial dosing of mice and men. *Clin Infect Dis*. 1998; 26(1):1-10.
5. Thabit AK, Hobbs ALV, Guzman OE et Shea KM. The Pharmacodynamics of Prolonged Infusion -Lactams for the Treatment of *Pseudomonas aeruginosa* Infections: A Systematic Review. *Clin Ther*. 2019; 41(11): 2397-415.
6. EUCAST. Clinical breakpoints and dosing of antibiotics. Dosegljivo na (14.01.20): http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_10.0_Breakpoint_Tables.pdf.
7. Sjövall F, Alobaid AS, Wallis SC, Perner A, Lipman J et Roberts JA. Maximally effective dosing regimens of meropenem in patients with septic shock. *J Antimicrob Chemother*. 2018; 73(1): 191-8.
8. Grupper M, Kuti JL, Nicolau DP. Continuous and prolonged intravenous b-lactam dosing: implications for the clinical laboratory. *Clin Microbiol Rev*. 2016; 29:759e772.
9. Guilhaumou R, Benaboud S, Bennis Y, Dahyot-Fizelier C, Dailly E, Gandia P et al. Optimization of the treatment with beta-lactam antibiotics in critically ill patients-guidelines from the French Society of Pharmacology and Therapeutics (Société Française de Pharmacologie et Thérapeutique-SFPT) and the French Society of Anaesthesia and Intensive Care Medicine (Société Française d'Anesthésie et Réanimation-SFAR). *Crit Care*. 2019; 23(1): 104.
10. Roberts JA, Webb S, Paterson D, Ho KM et Lipman J. A systematic review on clinical benefits of continuous administration of beta-lactam antibiotics. *Crit Care Med*. 2009; 37(6): 2071-8.
11. Vardakas KZ, Voulgaris GL, Maliaros A, Samonis G et Falagas ME. Prolonged versus short-term intravenous infusion of antipseudomonal β -lactams for patients with sepsis: a systematic review and meta-analysis of randomised trials. *Lancet Infect Dis*. 2018; 18(1): 108-20.
12. Yu Z, Pang X, Wu X, Shan C et Jiang S. Clinical outcomes of prolonged infusion (extended infusion or continuous infusion) versus intermittent bolus of meropenem in severe infection: A meta-analysis. *PLoS One*. 2018; 13(7): e0201667.
13. Abdul-Aziz MH, Lipman J, Akova M, Bassetti M, De Waele JJ, Dimopoulos G et al. Is prolonged infusion of piperacillin/tazobactam and meropenem in critically ill patients associated with improved pharmacokinetic/pharmacodynamic and patient outcomes? An observation from the Defining Antibiotic Levels in Intensive care unit patients (DALI) cohort. *J Antimicrob Chemother*. 2016; 71(1): 196-207.
14. Hao JJ, Chen H et Zhou JX. Continuous versus intermittent infusion of vancomycin in adult patients: A systematic review and meta-analysis. *Int J Antimicrob Agents*. 2016; 47(1): 28-35.
15. Monteiro JF, Hahn SR, Goncalves J et Fresco P. Vancomycin therapeutic drug monitoring and population pharmacokinetic models in special patient subpopulations. *Pharmacol Res Perspect*. 2018;6(4) :e00420

-
16. Fawaz S, Barton S, Whitney L, Swinden J et Nabhani-Gebara S. Stability of Meropenem After Reconstitution for Administration by Prolonged Infusion. *Hosp Pharm.* 2019; 54(3): 190-6.
 17. Urh Š, Tegelj I et Mihovec K. TAB UKCL 0033: Priprava in shranjevanje zdravil za parenteralno aplikacijo (3.0), 2019. Univerzitetni klinični center v Ljubljani.
 18. D'Huart E, Vigneron J, Blaise F, Charmillion A et Demore B. Physicochemical Stability of Cefotaxime Sodium in Polypropylene Syringes at High concentrations for Intensive Care Units. *Pharm Technol Hosp Pharm* 2019; 4(2): 59-67

PROTIMIKROBNO ZDRAVLJENJE SEPSE – MONOTERAPIJA ALI KOMBINACIJA?

ANTIMICROBIAL THERAPY FOR SEPSIS – MONOTHERAPY OR COMBINATION THERAPY?

Nejc Šoštarič, dr. med; dr. Kristina Nadrah, dr. med., mag. farm.

Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja,
Univerzitetni klinični center Ljubljana,
Japljeva 2, 1525 Ljubljana
Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani,
Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana

Ključne besede: sepsa, protimikrobno zdravljenje, monoterapija, kombinirano antibiotično zdravljenje

Key words: sepsis, antimicrobial therapy, monotherapy, combination antibiotic therapy

IZVLEČEK

Antibiotično zdravljenje je poleg tekočinskega oživljanja in vazopresorskih zdravil temeljni pristop zdravljenja sepse. Mednarodne in lokalne smernice priporočajo čimprejšnji začetek antibiotičnega zdravljenja po prepoznavi slike sepse. Pravilna izbira in aplikacija učinkovitega antibiotika v eni uri sta povezani z manjšo umrljivostjo in boljšim izidom bolezni pri bolnikih s sepsa in septičnim šokom. V času, ko so okužbe z večkratno odpornimi bakterijami vedno pogostejše, se poraja vprašanje smiselnosti izkustvenega in usmerjenega kombiniranega antibiotičnega zdravljenja sočasno z uporabo različnih skupin antibiotikov.

Abstract

Antibiotic therapy together with fluid resuscitation and vasopressors represents one of the cornerstones for treatment of sepsis. International and local guidelines suggest early application of broad spectrum antibiotics, if possible in the first hour. Correct choice and early antibiotic therapy result in better outcomes and decreased mortality in patients with sepsis and septic shock. With increasing antibiotic resistance, there is a question whether empirical and targeted combination antibiotic therapy using antibiotics of different classes can provide more benefit than monotherapy.

UVOD

Temelji zdravljenja sepse in septičnega šoka so protimikrobno zdravljenje, razrešitev vira okužbe in podpora terapija. Antibiotično zdravljenje je smiselno uvesti čim prej. Hkrati je zelo pomembno, da z izbiro protimikrobnega zdravila učinkovito vplivamo na

možne povzročitelje okužbe. Izbira zdravila je odvisna od vira okužbe – povzročitelji se glede na vstopno mesto lahko razlikujejo. Najpogosteje so vir sepse dihala, nato trebuh, sečila, mehka tkiva, redkeje druga mesta (1). Za doma pridobljene okužbe je, glede na lokalno epidemiološko stanje v Sloveniji, v večini primerov za usmerjeno zdravljenje primerno zdravljenje z eno vrsto antibiotika. Pri izkustvenem antibiotičnem zdravljenju pa se pri kritično bolnih pogosto odločimo za kombinirano zdravljenje z dvema antibiotikoma, saj s tem izboljšamo možnost pravilne antibiotične terapije in s tem boljšega izida.

Z izbiro protimikrobnega zdravila za izkustveno zdravljenje moramo zagotoviti čim večjo možnost učinkovanja na pričakovane povzročitelje ter upoštevati lastnosti gostitelja, prehanje zdravila v prizadeta tkiva, anatomsko lokalizacijo vira okužbe, lokalne epidemiološke podatke ter farmakodinamiko in farmakokinetiko protimikrobnega zdravila (2).

PREDNOSTI KOMBINIRANEGA ANTIBIOTIČNEGA ZDRAVLJENJA

Sepsa domačega okolja

Pri doma pridobljenih okužbah je, glede na slovenske epidemiološke podatke, še vedno pričakovati dobro občutljive mikrobo. Za izkustveno kombinirano antibiotično zdravljenje se odločimo pri redkih indikacijah – npr. huda doma pridobljena pljučnica (kombinacija betalaktamskega antibiotika z makrolidom ali kinolonom), okužba v trebušni votlini (cefalosporin višje generacije z metronidazolom), zapletena okužba mehkih tkiv (protistafilokokni penicilin z aminoglikozidom ali kinolonom), kjer pa ne gre za pravo dvojno antibiotično terapijo, saj z dodatkom antibiotika drugega razreda tudi razširimo spekter. Prizadeti bolniki lahko zaradi slabšanja stanja potrebujejo zdravljenje v enoti za intenzivno zdravljenje (EIZ), kjer pa je kljub resnosti bolezni treba po prejetju mikrobioloških preiskav izvesti sestop antibiotičnega zdravljenja na pogosteje bolj učinkovit usmerjen antibiotik. S takšno prakso lahko zmanjšamo nepotrebno antibiotično breme za okolje in celo izboljšamo izid bolezni (3). Izjeme so okužbe, pri katerih se pojavlja toksinska komponenta okvare organizma, kjer poskušamo s kombinacijo antibiotične terapije zavreti tako razmnoževanje bakterij kot tudi sintezo in izločanje toksina. Tako se pri hudih nekrotizirajočih okužbah mehkih tkiv in sindromu toksičnega šoka, povzročenih s *Streptococcus pyogenes* ali *Staphylococcus aureus*, odločimo za usmerjeno antibiotično zdravljenje z dodatkom bakteriostatskega klindamicina ali linezolida, ki zmanjšata izražanje in izločanje toksina.

Sepsa bolnišničnega okolja

V bolnišničnem okolju se vedno pogosteje srečujemo z bakterijami, ki so večkratno odporne proti različnim razredom antibiotikov. Take okužbe so pogostejše tudi pri – z večkratno odpornimi bakterijami (VOB) – koloniziranih bolnikih ali njihovih svojcih, bolnikih v stiku z domačim (oskrbovanci raznih zdravstvenih ustanov, obiskih patronažnih služb in dializnih centrov) ali tujim zdravstvom, dlje časa hospitaliziranih bolnikih, imunsko oslabljenih bolnikih, bolnikih, ki so v zadnjih 90 dneh prejeli širokospektralne antibiotike, in bolnikih, zdravljenih v EIZ. Več raziskav na področju uvedbe pravočasnega in učinkovitega antibiotičnega zdravljenja pri bolnikih s sepsa in septičnim šokom je pokazalo, da to zdravljenje vpliva na bolnišnično smrtnost, ki z vsako uro za-

mika uvedbe zdravljenja narašča (4). Zato se pri kritično bolnih tudi pogosteje odločimo za kombinirano antibiotično zdravljenje, najpogosteje za kombinacijo betalaktamskega antibiotika in aminoglikozida. Ta kombinacija velja tako za doma pridobljene kot bolnišnične okužbe, pri katerih je izbira antibiotika usmerjena proti morebitno bolj odpornim bakterijam. Glede na vir okužbe in lastnosti bolnika izkustvenemu antibiotičnemu zdravljenju dodamo še protiglivično zdravljenje v obliki ehinokandina.

Usmerjeno zdravljenje sepse, povzročene z VOB, v večini primerov temelji na antibiotični monoterapiji. Težave in terapevtski izziv nam predstavljajo predvsem enterobakterije, ki so odporne proti vsem betalaktamskim antibiotikom. Izpostaviti je treba večkratno in široko odporne (angl. *multi drug resistant* – MDR oziroma *extensively drug resistant* – XDR) *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* in enterobakterije. Omenjene bakterije so lahko tudi rezervoar encimov, ki antibiotike razgrajujejo, njihovo širjenje med bakterijami pa je možno preko zunajjedrnih genskih zapisov. Med te spadajo različne skupine karbapenemaz in betalaktamaze širokega spektra (angl. *extended spectrum beta lactamase* – ESBL). Poleg omenjenih encimov v zadnjih letih opisujejo pojav odpornosti proti kolistinu preko mutacij genov za lipide celične stene ali prenosa nekromosomskih genskih zapisov (plazmidni prenos *mcr* genov). S pojavom slednjih izgubljammo zadnjo linijo antibiotikov, ki še delujejo proti klinično pomembnim, zelo odpornim po Gramu negativnim bakterijam. Za preprečevanje vse pogostejšega pojava takih okužb težimo k nadzorovanemu predpisovanju in rabi antibiotikov, dosledni kohortni osamitvi bolnikov s kolonizacijo in/ali okužbo z VOB, izobraževanju javnosti, zmanjšanju porabe antibiotikov v veterini in prehranski industriji in doslednemu mikrobiološkemu testiranju izolatov (5).

S pojavom VOB se že več let spogledujemo z idejo njihovega usmerjenega kombiniranega antibiotičnega zdravljenja. Cilj je boljše antibiotično kritje, učinkovitejše manjšanje bakterijskega bremena, preprečevanje morebitnega nastanka odpornosti in vpliv morebitnega sinergističnega učinka kombinacije antibiotikov, zaznanega *in vitro*.

Tamma s sodelavci je v preglednem članku, objavljenem v letu 2012, opisal možne prednosti kombiniranega antibiotičnega zdravljenja glede na podatke *in vitro* in kliničnih raziskav. Pri kritično bolnih je usmerjeno kombinirano zdravljenje uspešnejše od monoterapije pri bakteriemiji *P. aeruginosa*, saj je bila smrtnost v skupini z dvojno terapijo statistično pomembno nižja, čeprav je v večini primerov monoterapija pomenila zdravljenje z aminoglikozidom, ki glede na farmakokinetične lastnosti ni najbolj primeren za vse vrste okužb. Podoben izid so beležili v prospektivni multicentrični raziskavi o bakteriemiji z različnimi podvrstami bakterije *Klebsiella*, kjer je bila smrtnost statistično pomembno manjša pri kritično bolnih, ki so prejeli kombinirano zdravljenje. Glede na podatke več metaanaliz pa za zdaj ne moremo podpreti standardnega zdravljenja okužb s po Gramu negativnimi bakterijami pri kritično bolnih s kombinirano terapijo (6).

Okužbe z večkratno oziroma širše odpornimi po Gramu negativnimi bakterijami

Pri okužbah z MDR ali XDR po Gramu negativnimi bakterijami je kombinirano antibiotično zdravljenje »reševalno«
zdravljenje zaradi nezadostno učinkovite monoterapije.

V dveh raziskavah pri bolnikih z bakteriemijo, povzročeno s *Klebsiello pneumoniae*, ki izloča kabapenemaze (CPE), so imeli bolniki, ki so prejeli kombinirano zdravljenje s karbapenemom in kolistinom ali aminoglikozidom, nekoliko boljše preživetje. V podobni raziskavi okužb s *K. pneumoniae* so v skupini, ki je prejela kombinirano zdravljenje s polimiksinom B in tigeciklinom, opažali manjši porast minimalne inhibicijske koncentracije (MIK) kot v skupini bolnikov, ki so prejeli le polimiksin B (6).

V dveh raziskavah pri bolnikih z okužbo z MDR po Gramu negativnimi bakterijami na več mestih so imeli bolniki, ki so bili zdravljeni s kolistinom, manjšo smrtnost kot bolniki, ki so bili zdravljeni s kombinacijo kolistina in meropenema ali ampicilina s sulbaktamom oziroma piperacilina s tazobaktamom. Omenjeni sta še dve raziskavi, kjer so primerjali zdravljenje okužb z MDR *P. aeruginosa* z različnih mest. V prvi sta bili ločeni skupini bolnikov, zdravljeni z monoterapijo kolistina ali s kombinacijo kolistina in amikacina ali antipsevdomonasnega betalaktama, v drugi pa so primerjali učinkovitost kolistina in kombinacije kolistina z rifampinom ali imipenemom. Pri obeh se je izkazalo, da je bil pri monoterapiji klinični odziv boljši kot pri kombinirani terapiji (6).

Iz omenjenih raziskav lahko zaključimo, da so podatki, ki so na voljo, slabe kvalitete in so zato potrebne prospektivne randomizirane klinične raziskave na čim bolj homogenih skupinah bolnikov, iz katerih bi nato lahko sklepali o učinkovitosti kombiniranega zdravljenja, tako glede boljšega izida kot tudi manjšega pojavljanja odpornih sevov zaradi nezadostnega antibiotičnega učinkovanja.

Okužbe s po Gramu pozitivnimi bakterijami

Okužbe s *S. aureus* ali enterokoki običajno zdravimo z monoterapijo, razen v izbranih indikacijah, npr. enterokokni infekcijski endokarditis ali globoko ležeče okužbe (npr. abscesi, okužbe sklepov in kosti ipd.) in okužbe umetnih materialov (7).

Standardno zdravljenje okužb, povzročenih s proti meticilinu odpornim *S. aureus* (MRSA), je z vankomicinom, ki pa ima številne slabosti, kot je počasen baktericiden učinek, slabo prodiranje v tkiva ter pojav sevov z zmanjšano občutljivostjo. Zato so predvsem *in vitro* preverili številne kombinacije antibiotikov, za katere pa dobrih kliničnih podatkov o večji učinkovitosti ni. *In vitro* so opažali sinergijo kombinacije vankomicina ali daptomicina in betalaktamov. V opazovalnih kliničnih raziskavah in serijah primerov pri bolnikih z bakteriemijo MRSA so beležili hitrejšo eradikacijo MRSA, če so kombinirali vankomicin ali daptomicin z betalaktamom, vendar so ob vankomicinu in oksacilinu opazili tudi več nefrotoksičnosti. Druge kombinacije se *in vitro* niso izkazale, dobrih kliničnih raziskav pa ni. Kombinacije vankomicina in daptomicina ne priporočajo zaradi možne navzkrižne odpornosti, kombinacijo vankomicina in linezolida pa priporočajo le v primeru izločanja toksina, saj so v nekaterih *in vitro* raziskavah opažali antagonizem (8).

Za zdravljenje enterokoknih bakteriemij priporočajo kombinirano terapijo le v primeru velikega tveganja za infekcijski endokarditis. Zdravljenje bakteriemije, povzročene s proti vankomicinu odpornimi enterokoki (VRE), še ni povsem dorečeno zaradi slabega učinka daptomicina, kjer priporočajo zelo visoke odmerke (do 12 mg/kg/dan), še posebej pri MIK 2 mg/L ali več. V *in vitro* raziskavah so opažali sinergizem baktericidnega

delovanja betalaktamov (ampicilina ali ceftarolina) in daptomicina proti VRE, vendar kliničnih podatkov o učinkovitosti ni (7).

SLABOSTI KOMBINIRANE ANTIBIOTIČNE TERAPIJE

Kljub prepričanju, da s kombinacijo dveh protimikrobnih zdravil širimo spekter delovanja, je Sjövall s sodelavci v metaanalizi randomiziranih kliničnih raziskav dokazal, da kombinirana terapija ne prinaša pričakovanih prednosti pred monoterapijo pri kritično bolnih v EIZ. V večini obravnavanih raziskav so primerjali monoterapijo s širokospektralnim antibiotikom s kombinacijo širokospektralnega antibiotika in aminoglikozida. V obeh skupinah ni bilo razlik v smrtnosti, sekundarnih okužbah in času zdravljenja v EIZ. Kombinacija antibiotikov se je izkazala za učinkovitejšo le v primerih, kadar je bil antibiotik prve izbire ožjega spektra. V večini raziskav je bilo pri uporabi kombiniranega zdravljenja primarno antibiotično kritje širšega spektra, sočasno pa je bil pogostejši tudi pojav ledvične odpovedi (9).

Do podobnih zaključkov so prišli v Cochranovi analizi, opravljeni leta 2014, kjer so pregledali 69 raziskav na 7863 bolnikih in ugotovili, da ni bilo razlike v preživetju ali odpovedi terapije med tistimi, ki so prejeli monoterapijo ali dvojno antibiotično terapijo. Najpogosteje so kombinirali betalaktam z aminoglikozidom. Pri tem je treba poudariti, da je bilo okužb s *P. aeruginosa* premalo za statistično ustrezne zaključke (10).

V večji španski študiji, kjer so primerjali 1022 bolnikov s sepsa domačega okolja in 350 bolnikov z bolnišnično sepsa, je bila kombinirana antibiotična terapija z dvema antibiotikoma iz različnih razredov povezana le z nekoliko nižjo znotrajbolnišnično smrtnostjo (34 % vs. 40 %) (11).

ZAKLJUČKI

Glede na predstavljene raziskave lahko zaključimo, da ostaja odprtih precej vprašanj, predvsem zaradi nasprotujočih si podatkov kliničnih raziskav. Sklenemo lahko, da je verjetno smiselno zdravljenje s kombinirano antibiotično terapijo pri hudih okužbah in kritično bolnih, kjer je ustrezno izkustveno zdravljenje bistvenega pomena za preživetje bolnika, pri globoko ležečih okužbah, kjer kombinacije omogočajo boljše farmakokinetične in farmakodinamične lastnosti, ter pri zdravljenju okužb z VOB. Potrebne pa so dobro zasnovane prospektivne klinične raziskave, ki bodo razjasnile številne nejasnosti.

Literatura

1. Ferrer R, Martin-Loeches I, Phillips G, Osborn TM, Townsend S, Dellinger RP, et al. Empiric Antibiotic Treatment Reduces Mortality in Severe Sepsis and Septic Shock From the First Hour: Results From a Guideline-Based Performance Improvement Program. *Critical Care Medicine*. 2014;42(8):1749–55.
2. Jereb M. Izkustveno in usmerjeno antibiotično zdravljenje sepse. In: Šola intenzivne medicine 2019: 3 letnik: bolnišnične okužbe, sepsa, akutna ledvična odpoved, bolezni prebavil, prehrana. Slovensko združenje za intenzivno medicino: Katedra za anesteziologijo in reanimatologijo, Medicinska fakulteta; 2019; p.119–25.
3. Oshima T, Kodama Y, Takahashi W, Hayashi Y, Iwase S, Kurita T, et al. Empiric Antibiotic Therapy for Severe Sepsis and Septic Shock. *Surgical Infections*. 2016;17(2):210–6.
4. Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, Levy MM, Antonelli M, Ferrer R, et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock. *Critical Care Medicine*. 2017;45(3):486–552.
5. Ghasemian A, Shafiei M, Hasanvand F, Shokouhi Mostafavi SK. Carbapenem and colistin resistance in Enterobacteriaceae: worldwide spread and future perspectives. *Reviews in Medical Microbiology*. 2018;1.

-
6. Tamma PD, Cosgrove SE, Maragakis LL. Combination Therapy for Treatment of Infections with Gram-Negative Bacteria. *Clinical Microbiology Reviews*. 2012;25(3):450–70.
 7. Giannella M, Bartoletti M, Gatti M, Viale P. Advances in the therapy of bacterial bloodstream infections. *Clinical Microbiology and Infection* [Internet]. 2019 [cited 2020 Jan 9]; Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1198743X19305932>
 8. Davis J, Hal S, Tong S. Combination Antibiotic Treatment of Serious Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infections. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*. 2015;36(1):3–16.
 9. Sjövall F, Perner A, Hylander Møller M. Empirical mono- versus combination antibiotic therapy in adult intensive care patients with severe sepsis – A systematic review with meta-analysis and trial sequential analysis. *Journal of Infection*. 2017;74(4):331–44.
 10. Paul M, Lador A, Grozinsky-Glasberg S, Leibovici L. Beta lactam antibiotic monotherapy versus beta lactam-aminoglycoside antibiotic combination therapy for sepsis. Cochrane Emergency and Critical Care Group, editor. *Cochrane Database of Systematic Reviews* [Internet]. 2014 [cited 2020 Jan 9]; Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/14651858.CD003344.pub3>.
 11. Díaz-Martín A, Martínez-González M, Ferrer R, Ortiz-Leyba C, Piacentini E, Lopez-Pueyo M, et al. Antibiotic prescription patterns in the empiric therapy of severe sepsis: combination of antimicrobials with different mechanisms of action reduces mortality. *Critical Care*. 2012;16(6):R223.

NOVOSTI V MIKROBIOLOŠKI DIAGNOSTIKI SEPSE

EMERGING TECHNOLOGIES FOR MICROBIOLOGICAL DIAGNOSIS OF SEPSIS

Ivana Velimirović, Katja Seme

Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo,
Medicinska fakulteta Univerze v Ljubljani,
Zaloška 4, 1000 Ljubljana
katja.seme@mf.uni-lj.si

Ključne besede: sepsa, bakteriemija, hemokultura, hitra diagnostika, molekularni testi

Key words: sepsis, bacteremia, blood culture, rapid diagnostics, molecular assays

IZVLEČEK

Osamitev bakterij/gliv iz krvi bolnika s hemokulturo ostaja zlati standard za odkrivanje povzročiteljev sepse. Osnovne pomanjkljivosti hemokulture so dolgotrajnost, prenizka občutljivost, zlasti za počasi rastoče in zahtevne mikroorganizme, ter občutno znižana občutljivost po uvedbi protimikrobnega zdravljenja. Z uvedbo novih diagnostičnih mikrobioloških metod, ki jih lahko razdelimo v dve skupini, in sicer na tiste, ki omogočajo identifikacijo povzročitelja bakteriemije/fungemije v pozitivni hemokulturni steklenički, ter tiste, ki omogočajo odkrivanje povzročitelja bakteriemije/fungemije neposredno v krvi, smo v zadnjih letih že občutno skrajšali čas prepoznavne povzročiteljev sepse. Metode za hitrejšo prepoznavo povzročiteljev sepse sicer še ne omogočajo uvedbe proti povzročitelju usmerjenega protimikrobnega zdravljenja takoj po tem, ko pri bolniku postavimo diagnozo sepse, omogočajo pa hitrejšo optimizacijo protimikrobnega zdravljenja.

Abstract

Blood culture remains the gold standard for detection of bloodstream infections. Its major limitations are the delay before results become available, poor sensitivity for slow-growing and fastidious organisms and decrease of sensitivity after initiation of antimicrobial therapy. These limitations may be partially overcome by using emerging technologies for rapid identification of bloodstream pathogens which can be applied either on positive blood cultures or blood samples. When combined with antibiotic stewardship programs emerging technologies for rapid identification of bloodstream pathogens may provide clinical benefits for the management of patients with sepsis.

UVOD

Pred skoraj tremi desetletji je bil z uvedbo računalniško vodenih avtomatiziranih sistemov za kultivacijo in zaznavo mikrobnih rasti v hemokulturnih stekleničkah dosežen velik napredek na področju mikrobiološke diagnostike sepse/bakteriemije (1). Vendar

temu razvoju dolgo niso sledile nove izboljšave, ki bi še pospešile prepoznavo povzročiteljev sepse. V zadnjem desetletju smo priča razvoju zanesljivih diagnostičnih testov za hitro prepoznavo povzročiteljev sepse/bakteriemije, ki temeljijo na različnih sodobnih tehnologijah. Glede na vrsto izhodnega vzorca jih lahko razdelimo na tiste, ki omogočajo prepoznavo povzročitelja iz pozitivne hemokulturne stekleničke, potem ko se je bakterija/gliva namnožila v gojišču, in tiste, ki omogočajo določanje povzročitelja neposredno v vzorcu krvi (2, 3). Obenem je vse bolj očitno, da napredek v mikrobiološkem prepoznavanju povzročiteljev sepse/bakteriemije temelji na svežnju ukrepov, ki vključujejo optimizacijo predanalitičnih dejavnikov, hiter začetek nadzorovane inkubacije hemokulturnih stekleničk, reorganizacijo dela laboratorijev/transportne službe (24/7) in tesno sodelovanje članov strokovnih skupin za nadzorovano rabo antibiotikov z mikrobiološkim laboratorijem (4). V prispevku predstavljamo najpomembnejše tehnološke novosti v mikrobiološki diagnostiki sepse.

MIKROBIOLOŠKA DIAGNOSTIKA SEPSE/BAKTERIEMIJE V EVROPI

Nedavno so bili objavljeni rezultati ankete Evropske delovne skupine za okužbe krvi, endokarditis in sepso (ESGBIES, angl. *ESCMID Study Group for Bloodstream Infections, Endocarditis and Sepsis*), ki deluje v okviru Evropskega združenja za klinično mikrobiologijo in infekcijske bolezni (ESCMID, angl. *European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases*). V anketi je sodelovalo 238 laboratorijev iz 28 evropskih držav, med njimi tudi 7 slovenskih. Za mikrobiološko diagnostiko sepse 32,5 % sodelujočih laboratorijev še vedno uporablja samo klasični diagnostični pristop s subkultivacijo vsebine pozitivnih hemokulturnih stekleničk na trdna gojišča, njihovo čeznočno inkubacijo ter identifikacijo povzročitelja sepse/bakteriemije in izdelavo antibiograma iz porasle mikrobnne kulture. 67,5 % sodelujočih laboratorijev že uporablja različne nove tehnologije za hitro prepoznavanje povzročiteljev sepse/bakteriemije. Odsotnost evropskih smernic za mikrobiološko diagnostiko okužb krvi in velike razlike v uporabnosti, razširjenosti in ceni novih tehnologij za hitro prepoznavanje povzročiteljev sepse/bakteriemije so velik izziv za njihovo rutinsko uporabo (5).

NOVOSTI V PREDANALITIČNI FAZI MIKROBIOLOŠKE DIAGNOSTIKE SEPSE

Občutljivost in specifičnost hemokultur sta odvisni od številnih dejavnikov iz predanalitične faze diagnostične preiskave, ki zajema vse procese, ki se zgodijo pred laboratorijsko analizo. Za optimalno izvedbo preiskave je treba dosledno upoštevati navodila za odvzem vzorca. Kri za hemokulturo je treba odvzeti ob pravi indikaciji, pred uvedbo protimikrobnega zdravljenja in na aseptičen način. Zaradi majhne količine bakterij v krvi septičnega bolnika je pri odraslem bolniku za optimizacijo občutljivosti hemokulture treba odvzeti zadosten volumen krvi (praviloma 8 do 10 ml krvi na hemokulturno stekleničko). Ker bakterije niso enakomerno porazdeljene po krvnem obtoku in ker niso ves čas prisotne v krvi, je treba odvzeti 2 do 3 hemokulturne komplete z različnih odzemnih mest (6).

Velik problem je kontaminacija hemokultur, do katere pride največkrat pri odvzemu krvi. Po podatkih iz literature je kontaminiranih 0,6–12,5 % vseh hemokultur in 20–56

% vseh pozitivnih hemokultur. Da bi se izognili kontaminaciji hemokultur pri odvzemu krvi, so pred kratkim razvili odvzemne pripomočke, s katerimi se ob odvzemu prvi alikvot (1 do 2 ml) krvi, ki domnevno vsebuje kontaminante, preusmeri v posebno komoro, šele drugi alikvot krvi pa prestreže v hemokulturno stekleničko. Trenutno sta na tržišču v ZDA dva tovrstna pripomočka. Rezultati nedavno objavljenih raziskav so pokazali, da se je delež kontaminiranih hemokultur ob uporabi teh pripomočkov znižal za 80–90 %, brez sočasne izgube resnično pozitivnih hemokultur (7).

Čas od odvzema krvi za hemokulturo do inkubacije hemokulturne stekleničke v nadzorovanem hemokulturnem sistemu se je izkazal kot eden od najpomembnejših dejavnikov, ki vplivajo na čas do zaznave pozitivne hemokulture (8). Z namenom skrajšanja časa od odvzema do prvega za klinika uporabnega rezultata iz pozitivne hemokulturne stekleničke so razvili tako imenovane satelitske hemokulturne sisteme. Gre za manjše enote avtomatiziranih računalniško vodenih sistemov, ki jih postavimo na oddelke z večjim bremenom hemokultur in povežemo z glavnim hemokulturnim sistemom v laboratoriju. To omogoča takojšnjo inkubacijo hemokulturnih stekleničk v nadzorovanem hemokulturnem sistemu. Uporabniki satelitskih hemokulturnih sistemov poročajo, da so z njihovo pomočjo v primerjavi z drugimi bolnišničnimi oddelki za 6 ur skrajšali čas od odvzema krvi za hemokulturo do vstavitve stekleničk v nadzorovan hemokulturni sistem, za nekaj več kot 13 ur čas do rezultata razmaza vsebine pozitivne hemokulturne stekleničke, obarvanega po Gramu, in za 14 ur čas do končnega izvida (9).

HITRA PREPOZNAVA POVZROČITELJA SEPSE V POZITIVNI HEMOKULTURNI STEKLENIČKI

Številne sodobne mikrobiološke diagnostične metode omogočajo hitro prepoznavo bakterij/gliv v pozitivnih hemokulturnih stekleničkah, ko so se bakterije/glive že dovolj namnožile, da jih tudi vidimo v razmazu, obarvanem po Gramu. Nekatere med njimi, kot je masna spektrometrija MALDI-TOF MS (angl. *matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry*), že skoraj desetletje uporabljamo v medicinskih, diagnostičnih, bakterioloških laboratorijih (10). V večini evropskih laboratorijev je masna spektrometrija že popolnoma nadomestila dolgotrajno, tradicionalno, biokemično identifikacijo bakterijskih/glivnih kultur in se vse bolj uveljavlja tudi za hitro prepoznavo povzročiteljev sepse v pozitivnih hemokulturnih stekleničkah (5). Na tržišču so tudi številni komercialno dostopni testi za hitro prepoznavo povzročitelja sepse v pozitivni hemokulturni steklenički, ki temeljijo na različnih molekularnih metodah, kot so i) fluorescentna hibridizacija *in situ*, ii) mikromreže, iii) hkratni (multiplex) PCR in iv) kombinirane metode (11).

Fluorescentna hibridizacija *in situ*. Za odkrivanje omejenega nabora povzročiteljev sepse v pozitivnih hemokulturnih stekleničkah so že več kot 10 let na tržišču komercialno dostopni testi, ki temeljijo na metodi fluorescentne hibridizacije *in situ* (FISH, angl. *fluorescent in situ hybridization*). Gre za hibridizacijo fluorescentno označenih sond s tarčno rRNA. Rezultat odčitamo s pomočjo fluorescentnega mikroskopa. Diagnostični komplet PNA FISH (AdvanDx, Woburn, ZDA) in njegova hitrejša različica Quick Fish omogočata ločevanje med *Staphylococcus aureus* in koagulazno negativnimi stafilocoki, *Enterococcus faecalis* in *Enterococcus faecium*, po Gramu negativnimi bakterijskimi vrsta-

mi *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* in *Pseudomonas aeruginosa* ter petimi vrstami gliv kvasovk *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida tropicalis* (2, 3, 11).

Nedavno so razvili popolnoma avtomatiziran sistem Accelerate Pheno (Accelerate Diagnostics, Tucson, ZDA), ki na podlagi FISH v približno uri in pol omogoča prepoznavo 15 po Gramu pozitivnih, 11 po Gramu negativnih vrst bakterijskih povzročiteljev sepse ter dveh vrst gliv kvasovk v pozitivni hemokulturni steklenički. V približno sedmih urah ta sistem za 13 bakterijskih vrst na podlagi morfokinetične analize obnašanja bakterijskih celic v prisotnosti različnih koncentracij antibiotikov določi tudi minimalne inhibitorne koncentracije omejenega nabora antibiotikov. Test je za identifikacijo povzročitelja sepse v pozitivni hemokulturni steklenički in določanje občutljivosti za izbrane antibiotike odobrila ameriška agencija za hrano in zdravila (FDA, angl. Food and Drug Administration) (11, 13).

Metoda mikromrež temelji na vrstno in rodovno značilnih lovkah DNA, ki so imobilizirane na čipu in omogočajo specifično hibridizacijo z DNA tarčnih mikroorganizmov. Visoka gostota čipa omogoča uporabo lovk, značilnih za različne mikroorganizme, virulentne dejavnike in gene za odpornost proti protimikrobnim zdravilom. Analitična občutljivost mikromrež znaša med 10 in 10^5 CFU/ml v odvisnosti od povzročitelja, kar omogoča njihovo uporabo samo na pozitivnih hemokulturnih stekleničkah, ne pa za dokazovanje povzročitelja sepse neposredno v krvi (11). Trenutno sta na tržišču dva diagnostična kompleta, ki temeljita na metodi mikromrež in omogočata prepoznavo povzročitelja sepse v pozitivni hemokulturni steklenički: Verigene Gram-Positive Blood Culture System (Nanosphere, Northbrook, ZDA), ki omogoča prepoznavanje devetih vrst in štirih rodov po Gramu pozitivnih bakterij ter treh genov za bakterijsko odpornost (*mecA*, *vanA* in *vanB*); Verigene Gram-Negative Blood Culture System (Nanosphere), ki omogoča prepoznavanje petih vrst in štirih rodov po Gramu negativnih bakterij ter šestih genov za bakterijsko odpornost (*bla*_{CTX-M}, *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{IMP} in *bla*_{OXA}); oba diagnostična kompleta, ki omogočata rezultat v približno dveh urah in pol, je za prepoznavo povzročiteljev sepse v pozitivni hemokulturni steklenički odobrila FDA (3, 11, 12).

Hkratni (multiplex) PCR omogoča, da v eni reakciji s kombinacijo več začetnih oligonukleotidov zaznamo več tarčnih mikroorganizmov. Metoda temelji na principu PCR v realnem času, ki mu sledi detekcija tarč s specifičnimi označenimi sondami. Trenutno je na tržišču nekaj diagnostičnih kompletov, s katerimi je mogoče testirati vnaprej določene nabore mogočih povzročiteljev sepse v pozitivni hemokulturni steklenički. Gene Xpert MSSA/MRSA BC Assay (Cepheid, Sunnyvale, ZDA) in BD Max StaphSR Assay (BD Diagnostic Systems, Québec, Canada) omogočata prepoznavo *S. aureus* in prisotnosti gena *mecA* v uri in pol. Ločita med MSSA in MRSA, StaphSR prepoznavata tudi koagulazno negativne stafilokoke. Glede na rezultate doslej objavljenih raziskav je občutljivost teh testov za prepoznavanje tarčnih povzročiteljev sepse 98–100 % in specifičnost 99–100 % (11).

Diagnostični komplet FilmArray Blood Culture ID (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Francija), ki ga je za prepoznavo povzročitelja sepse v pozitivni hemokulturni steklenički odobrila FDA, je popolnoma avtomatiziran test, ki omogoča prepoznavanje osmih po

Gramu pozitivnih bakterij, 11 po Gramu negativnih bakterij, petih gliv in treh genov za bakterijsko odpornost (*mecA*, *vanA/vanB* in *bla_{KPC}*) v dobri uri. Glede na rezultate doslej objavljenih raziskav občutljivost tega testa za identifikacijo povzročitelja sepse v pozitivni hemokulturni steklenički presega 90 % (11, 16).

Kombinirane metode. Pred kratkim so razvili tudi diagnostične komplete za prepoznavo povzročiteljev sepse v hemokulturnih stekleničkah, ki združujejo prednosti različnih molekularnih metod. Sepsis Flow Chip (Master Diagnostica, Granada, Spain) temelji na hkratnem PCR, ki mu sledi reverzna hibridizacija dot blot. Sposoben je detekcije 36 bakterijskih vrst v pozitivni hemokulturni steklenički, razlikuje *C. albicans* od ostalih vrst iz rodu *Candida* in lahko zazna 20 genov za bakterijsko odpornost v treh urah (11). SystemePlex (GenMarkDx, Carlsbad, ZDA) temelji na inovativni tehnologiji, ki združuje digitalno mikrofluidiko, kompetitivno DNK-hibridizacijo in elektrokemično detekcijo tarčne DNA. Na tržišču so trije paneli, ki omogočajo prepoznavanje 20 različnih po Gramu pozitivnih bakterijskih povzročiteljev sepse s štirimi kazalniki bakterijske odpornosti, 21 po Gramu negativnih bakterijskih povzročiteljev sepse s šestimi kazalniki bakterijske odpornosti ter 16 vrst gliv v pozitivni hemokulturni steklenički v približno uri in pol (11, 17).

PREPOZNAVANJE POVZROČITELJEV SEPSE NEPOSREDNO V KRVI

Prepoznavanje povzročiteljev sepse bi lahko bistveno pospešile mikrobiološke metode za dokazovanje bakterij in gliv neposredno v vzorcu krvi brez predhodne inkubacije. Ker je pri septičnem bolniku v krvi prisotna majhna koncentracija bakterij ali gliv, so za neposreden dokaz povzročitelja v krvi primerne molekularne metode, ki temeljijo na pomnoževanju nukleinskih kislin. Na tržišču je trenutno nekaj diagnostičnih testov, ki omogočajo prepoznavo povzročitelja sepse neposredno v krvi (3, 11). Tovrstni diagnostični pristop uporablja trenutno v Evropi 1 % laboratorijev za vse bolnike, 10 % pa za izbrane bolnike (5).

SepsiTest (Molzys, Nemčija) temelji na širokospektralnem PCR, ki mu sledi sekvenciranje za prepoznavanje več kot 345 različnih bakterij in gliv; SeptiFast (Roche Molecular System, Mannheim, Nemčija) in MagicPlex (Seegene, Seul, Koreja) temeljita na hkratnem PCR v realnem času z možnostjo prepoznave 24 oziroma 26 najpogostejših bakterijskih in glivnih vrst. VYOO (SIRS-Lab, Jena, Nemčija) temelji na hkratnem PCR z detekcijo produktov s pomočjo elektroforeze v gelu za 34 vrst bakterijskih, šest vrst glivnih povzročiteljev sepse in pet genov za bakterijsko odpornost (3, 11).

Med testi, ki omogočajo odkrivanje povzročitelja sepse neposredno v krvi, so najbolj obetajoči tisti, ki temeljijo na inovativni tehnologiji T2MR (T2Biosystems, Lexington, ZDA). Ta povezuje PCR, nanotehnologijo in magnetno resonanco. Trenutno sta dostopna dva popolnoma avtomatizirana diagnostična kompleta, ki temeljita na tej tehnologiji. S T2Candida Panel lahko neposredno v vzorcu krvi v treh do petih urah prepoznamo pet najbolj pogostih vrst kvasovk iz rodu *Candida*, ki povzročajo več kot 95 % kandidemij: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei* in *C. parapsilosis*. Analitična občutljivost testa je 1 CFU/ml (11, 18, 19). V multicentrični klinični raziskavi so ugotovili, da je občutljivost testa 99,4 %, specifičnost pa 91,1 % (18). S T2Bacteria Panel lahko neposredno v vzorcu krvi prepoznamo šest pomembnih bakterijskih povzročiteljev sep-

se: *E. faecium*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *P. aeruginosa* in *E. coli*. V prvi objavljeni evalvaciji bakterijskega panela, ki so ga izvedli v evropski terciarni bolnišnici na 140 vzorcih 129 bolnikov s sumom na sepsa/bakteriemijo, so ugotovili, da je občutljivost panela za tarčne bakterije v primerjavi s hemokulturo 83,3 %, specifičnost pa 97,6 %. Ko so spremenili kriterije za opredeljevanje resnične okužbe, je občutljivost narasla na 89,5 %, specifičnost pa na 98,4 %. Negativna napovedna vrednost rezultata je znašala 99,8 %. Povprečen čas do negativnega rezultata je znašal $6,1 \pm 1,5$ ure, do prepoznave povzročitelja pa $5,5 \pm 1,4$ ure (20). V multicentrični raziskavi diagnostične natančnosti T2Bacteria Panel, ki ni vključevala *A. baumannii* in so jo izvedli v 11 ameriških bolnišnicah na 1427 bolnikih, so ugotovili, da sta bili občutljivost in specifičnost za pet tarčnih bakterij 90 %, negativna napovedna vrednost rezultata testa pa 99,7 % (22).

HITRO DOLOČANJE OBČUTLJIVOSTI POVZROČITELJEV SEPSE ZA ANTIBIOTIKE

Ker s pravočasnim začetkom ustreznega protimikrobnega zdravljenja znižujemo smrtnost in pogostost zapletov pri bolnikih s sepsa, je zelo pomembno ne samo čim hitreje prepoznati povzročitelja sepse, ampak tudi opredeliti njegovo občutljivost za protimikrobna zdravila (23). Določanje protimikrobne občutljivosti z difuzijskimi ali dilucijskimi metodami, pri čemer kri naneseemo na gojišča neposredno iz pozitivne hemokulturne stekleničke, se uporablja že več desetletij. Glavni problem pri tem pristopu je nekontrolirana gostota inokuluma. Pri standardiziranem antibiogramu mora biti gostota bakterijskega izolata umerjena na 0,5 McF, saj neustrezna gostota inokuluma pomembno vpliva na rezultat. Evropska komisija za ugotavljanje občutljivosti za protimikrobna zdravila (EUCAST, angl. *European Committee for antimicrobial susceptibility testing*) je v letu 2019 izdala navodila za izvedbo in standardne mejne vrednosti premerov zaviralnih con za hitro določanje občutljivosti z disk-difuzijsko metodo neposredno iz pozitivne hemokulturne stekleničke po skrajšani inkubaciji (RAST, angl. *rapid antimicrobial susceptibility testing*). Pred izvedbo testa RAST in interpretacijo rezultatov moramo prepoznati povzročitelja sepse/bakteriemije, saj so nabor testiranih antibiotikov in mejne vrednosti premerov zaviralnih con specifični za posamezno bakterijsko vrsto. Za bakterijske vrste *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *E. faecalis*, *E. faecium* in *A. baumannii* lahko na ta način rezultate občutljivosti za omejen nabor antibiotikov interpretiramo že po 4, 6 ali 8 urah inkubacije, če so na gojišču okoli antibiotičnega diska vidne jasne zaviralne cone. Za časovno primerjavo je pomembno vedeti, da standardna disk-difuzijska metoda zahteva pripravo bakterijskega inokuluma umerjene gostote iz bakterijske kulture na trdnem gojišču in 18-urno inkubacijo. Če premera zaviralne cone po 4 urah ni mogoče izmeriti, inkubacijo podaljšamo za 2 uri do skupaj 8 ur. Če meritev tudi po 8 urah inkubacije ne moremo interpretirati, ponovimo celotno testiranje s standardno disk-difuzijsko metodo (24, 25).

Morfokinetična celična analiza je nova tehnologija, s katero lahko določimo občutljivost za protimikrobna zdravila s spremljanjem, analizo in kategorizacijo morfoloških sprememb na posameznih bakterijskih celicah v prisotnosti različnih koncentracij testirane antibiotika. Z mikroskopiranjem v temnem polju se v realnem času spremlja rast in delitev posamezne bakterijske celice v prisotnosti različnih koncentracij antibiotika in

ju primerja z rastjo in delitvijo brez antibiotika, s pomočjo »machine-learning« algoritmov pa se določi minimalna inhibitorna koncentracija. Komerčno dostopni test Accelerate Pheno (Accelerate Diagnostics) je trenutno edini, ki poleg prepoznavanja omejenega nabora povzročiteljev sepse iz hemokulturne stekleničke omogoča tudi testiranje občutljivosti na podlagi morfokinetične celične analize za osem izbranih antibiotikov pri po Gramu pozitivnih povzročiteljih ter za 15 antibiotikov pri po Gramu negativnih povzročiteljih v približno petih urah po identifikaciji bakterije. V prvih multicentričnih raziskavah zanesljivosti rezultatov testiranja občutljivosti povzročiteljev sepse s testom Accelerate Pheno je bilo skupno ujemanje kategorije občutljivosti v primerjavi s standardno metodo med 93,7 in 94,1 % (13, 14). Kasneje je francoska skupina mikrobiologov poročala, da je pri enterobakterijah skupno ujemanje kategorije občutljivosti značilno nižje pri betalaktamskih antibiotikih (84,4 % za cefepim, 86,5 % za piperacilin s tazobaktamom in 87,6 % za ceftazidim). Skupno ujemanje kategorije občutljivosti pri *P. aeruginosa* je bilo za betalaktamske antibiotike še nižje in je znašalo 71,9 % (33,3 % za cefepim, 77,8 % za piperacilin s tazobaktamom in 0 % za ceftazidim) (26).

Nekatere sodobne molekularne metode, ki omogočajo hitro identifikacijo povzročitelja iz pozitivne hemokulturne stekleničke, sočasno omogočajo tudi testiranje prisotnosti nekaterih genov za odpornost proti antibiotikom, vendar trenutno ni niti enega samega komercialno dostopnega molekularnega testa, s katerim bi lahko preverjali prisotnost genov za vse pogoste in pomembne mehanizme odpornosti (27).

Najpomembnejše pomanjkljivosti takšnega pristopa za ugotavljanje bakterijske odpornosti so: (i) omejen nabor povzročiteljev sepse in genov za bakterijsko odpornost proti antibiotikom; (ii) nezmožnost zaznave novih mehanizmov odpornosti in mehanizmov odpornosti, ki niso gensko povzročeni; (iii) prisotnost gena za odpornost ne pomeni nujno, da se ta gen tudi izraža; iv) dobimo samo kvalitativen rezultat in ne minimalnih inhibitornih koncentracij antibiotika (27).

UPORABA SODOBNIH PRISTOPOV V MIKROBIOLOŠKI DIAGNOSTIKI SEPSE SLOVENSkih MIKROBIOLOŠKIH LABORATORIJIH

Večina slovenskih mikrobioloških laboratorijev že nekaj let za hitro prepoznavo povzročiteljev sepse v pozitivnih hemokulturnih stekleničkah v vsakodnevni diagnostiki uporablja masno spektrometrijo MALDI-TOF. Nekateri laboratoriji uporabljajo za hitro prepoznavo povzročiteljev sepse v pozitivnih hemokulturnih stekleničkah bodisi kot edini pristop bodisi kot dopolnilo masni spektrometriji tudi komercialno dostopne molekularne teste, večinoma FilmArray Blood Culture ID (bioMérieux). Lansko leto smo tudi validirali test RAST za hitro določanje občutljivosti z disk-difuzijsko metodo neposredno iz pozitivne hemokulturne stekleničke po skrajšani inkubaciji in ga v nekaterih laboratorijih že uporabljamo v vsakodnevni diagnostiki. Trenutno poteka preverjanje zanesljivosti in uporabnosti testa Accelerate Pheno (Accelerate Diagnostics) ter bakterijskega in glivnega panela T2MR (T2Biosystems). Tehnologija T2MR, ki omogoča odkrivanje povzročitelja sepse neposredno v krvi, veliko obeta, vendar bo treba zaradi (za zdaj) omejenega nabora tarč ter visoke cene za njihovo klinično učinkovito uporabo oblikovati dobro definirane in smiselno omejene indikacije.

ZAKLJUČEK

Z uvedbo novih diagnostičnih mikrobioloških metod smo v zadnjih letih že občutno skrajšali čas prepoznavne povzročitelja sepse. Veliko uspešnejši in prodornejši smo pri hitri prepoznavi povzročitelja v pozitivni hemokulturni steklenički, medtem ko različne pomanjkljivosti (zlasti omejen nabor tarč in visoka cena) mikrobioloških diagnostičnih pristopov, ki omogočajo odkrivanje povzročitelja sepse neposredno v krvi, še preprečujejo njihovo široko uporabo. Sodobne mikrobiološke metode sicer še ne omogočajo uvedbe proti povzročitelju usmerjenega protimikrobnega zdravljenja takoj po tem, ko pri bolniku postavimo diagnozo sepse, omogočajo pa hitrejšo optimizacijo protimikrobnega zdravljenja. V prihodnosti bo treba izvesti klinične raziskave, s katerimi bomo preverili klinično uporabnost (pozitiven vpliv na potek bolnikove obravnave in izid bolezni) novih tehnologij za hitro prepoznavanje povzročiteljev sepse in testiranje njihove občutljivosti in na ta način ugotovili smiselnost njihove uporabe.

Literatura

1. Reimer LG, Wilson ML, Weinstein MP. Update on detection of bacteremia and fungemia. *Clin Microbiol Rev.* 1997; 10: 444–65.
2. Kothari A, Morgan M, Haake DA. Emerging technologies for rapid identification of bloodstream pathogens. *Clin Infect Dis.* 2014; 59: 272–8.
3. Opota O, Jaton K, Greub G. Microbial diagnosis of bloodstream infection: towards molecular diagnosis directly from blood. *Clin Microbiol Infect.* 2015; 21: 323–31.
4. Lamy B, Sundqvist M, Idelevich EA, on behalf of the ESCMID Study Group for Bloodstream Infections, Endocarditis and Sepsis (ESGBIES), Bloodstream infections – Standard and progress in pathogen diagnostics, *Clin Microbiol Infect.* 2020 (in press).
5. Idelevich EA, Seifert H, Sundqvist M, Scudeller L, Amit S, Balode A, et al. Microbiological diagnostics of bloodstream infections in Europe - an ESGBIES survey. *Clin Microbiol Infect.* 2019; 25: 1399–407.
6. Kirn TJ, Weinstein MP. Update on blood cultures: how to obtain, process, report, and interpret. *Clin Microbiol Infect.* 2013; 19 (6): 513–20.
7. Doern GV, Carroll KC, Diekema DJ, Garey KW, Rupp ME, Weinstein MP, Sexton DJ. A comprehensive update on the problem of blood culture contamination and a discussion of methods for addressing the problem. *Clin Microbiol Rev.* 2019; 33 (1): e00009–19.
8. Kerremans JJ, van der Bij AK, Goessens W, Verbrugh HA, Vos MC. Immediate incubation of blood cultures outside routine laboratory hours of operation accelerates antibiotic switching. *J Clin Microbiol.* 2009; 47 (11): 3520–3.
9. Rocchetti A, Rapallo F, Bottino P, Mastrazzo A. Implementation of satellite blood-culture system in an emergency department: impact of time-to results in sepsis detection. *Microbiologia Medica.* 2016; 31 (2): 5859.
10. Buchan BW, Riebe KM, Ledebor NA. Comparison of the MALDI biotyper system using Sepsityper specimen processing to routine microbiological methods for identification of bacteria from positive blood cultures. *J Clin Microbiol.* 2012; 50: 346–52.
11. Paker N, Couto N, Sinha B, Rossen JW. Diagnosis of bloodstream infections from positive blood cultures and directly from blood samples: recent developments in molecular approaches. *Clin Microbiol Infect.* 2018; 24 (9): 944–55.
12. Wojewoda CM, Sercia L, Navas M, Tuohy M, Wilson D, Hall GS, et al. Evaluation of the Verigene gram-positive blood culture nucleic acid test for rapid detection of bacteria and resistance determinants. *J Clin Microbiol.* 2013; 51: 2072–6.
13. Marschal M, Bachmaier J, Autenrieth I, Oberhettinger P, Willmann M, Peter S. Evaluation of the Accelerate Pheno system for fast identification and antimicrobial susceptibility testing from positive blood culture in Gram-negative bloodstream infection. *J Clin Microbiol.* 2017; 55 (7): 2116–26.
14. Pancholi P, Carroll KC, Buchan BW, Chan RC, Dhiman N, Ford B et al. Multicenter evaluation of the Accelerate PhenoTest BC kit for rapid identification and phenotypic antimicrobial susceptibility testing using morphokinetic cellular analysis. *J Clin Microbiol.* 2018; 56: e01329–17.
15. Banerjee R, Teng CB, Cunningham SA, Ihde SM, Steckelberg JM, Moriarty JP, et al. Randomized trial of rapid multiplex polymerase chain reaction-based blood culture identification and susceptibility testing. *Clin Infect Dis.* 2015; 61: 1071–80.
16. Blaschke, et al. Rapid identification of blood cultures by multiplex PCR using the FilmArray system. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2012; 74: 349–55.

-
17. Maubon D, Dard C, Garnaud C, Cornet M. Profile of GenMark's ePlex® blood culture identification fungal pathogen panel. *Expert Rev Mol Diagn.* 2018; 18 (2): 119–32.
 18. Mylonakis E, Clancy CJ, Ostrosky-Zeichner L, Garey KW, Alangaden GJ, Vazquez JA, et al. T2 magnetic resonance assay for the rapid diagnosis of candidemia in whole blood: a clinical trial. *Clin Infect Dis.* 2015; 60: 892–9.
 19. Neely LA, Audeh M, Phung NA, Min M, Suchocki A, Plourde D, et al. T2 magnetic resonance enables nanoparticle-mediated rapid detection of candidemia in whole blood. *Sci Transl Med.* 2013; 5 (182): 182ra54.
 20. De Angelis, Posteraro B, De Carolis E, Menchinelli G, Franceschi F, Tumbarello M et al. T2Bacteria magnetic resonance assay for the rapid detection of ESKAPEc pathogens directly in whole blood, *J Antimicrob Chemother.* 2018; 73 (Suppl 4): iv20–6.
 21. Nguyen MH, Clancy CJ, Pasculle AW, Pappas PG, Alangaden G, Pankey GA, et al. Performance of the T2Bacteria Panel for Diagnosing Bloodstream Infections: A Diagnostic Accuracy Study. *Ann Intern Med.* 2019; 170 (12): 845–52.
 22. Idelevich EA, Reischl U, Becker K. New Microbiological Techniques in the Diagnosis of Bloodstream Infections. *Dtsch Arztebl Int.* 2018; 115 (49): 822–32.
 23. 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: 1589–96.
 24. Fröding I, Vondracek M, Giske CG. Rapid EUCAST disc diffusion testing of MDR *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: inhibition zones for extended-spectrum cephalosporins can be reliably read after 6 h of incubation. *J Antimicrob Chemother.* 2017; 72 (4): 1094–102.
 25. EUCAST. Rapid AST directly from blood culture bottles. http://www.eucast.org/rapid_ast_in_blood_cultures/
 26. Descours G, Desmurs L, Hoang TLT, Ibranosyan M, Baume M, Ranc AG, et al. Evaluation of the Accelerate Pheno system for rapid identification and antimicrobial susceptibility testing of gram-negative bacteria in bloodstream infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2018; 37: 1573–83.
 27. Dubourg G, Lamy B, Ruimy R. Rapid phenotypic methods to improve the diagnosis of bacterial bloodstream infections meeting the challenge to reduce the time to result. *Clin Microbiol Infect.* 2018; 24: 935–43.

OKUŽBE Z VEČKRATNO ODPORNIMI PO GRAMU NEGATIVNIMI BAKTERIJAMI – POGLED KLINIKA

INFECTIONS WITH MULTIDRUG-RESISTANT GRAM-NEGATIVE BACTERIA – CLINICIAN'S VIEWPOINT

Doc. dr. Daša Stupica, dr. med.

Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja,
Univerzitetni klinični center Ljubljana,
in Medicinska fakulteta Univerze v Ljubljani,
Japljeva 2, 1525 Ljubljana
dasa.stupica@kclj.si

Ključne besede: po Gramu negativni, VOB, protimikrobna odpornost

Key words: Gram negative, MDR, antimicrobial resistance

POVZETEK

Zdravljenje kritično bolnih z okužbami, povzročenimi z večkratno odpornimi po Gramu negativnimi bakterijami (VO-GNB), je zahtevno. Za oceno tveganja okužbe z VO-GNB, ki omogoča, da se izognemo izbiri preozkega ali preširokega izkustvenega zdravljenja, sta ključnega pomena ocena bolnika in poznavanje lokalne mikrobiološke epidemiološke situacije. V zadnjih letih imamo na razpolago nove terapevtske možnosti, ki so izboljšale učinkovitost zdravljenja okužb s temi bakterijami, vendar zahtevajo poznavanje značilnosti bolnika ter vse bolj encimsko specifičnih učinkovitosti novih antibiotikov glede na različne mehanizme odpornosti VO-GNB. V prispevku prikazujemo terapevtske možnosti za okužbe, povzročene z VO-GNB.

Abstract

The treatment of multidrug-resistant Gram-negative bacteria (MDR-GNB) infections in critically ill patients presents many challenges. Patient's medical history and updated information about the local microbiological epidemiology remain critical for defining the baseline risk of MDR-GNB infections and guiding empirical treatment, with the aim of avoiding both undertreatment and overtreatment. In the past few years, new treatment options have become available, which have provided some resources for effectively counteracting severe infections due to these organisms, but taking into account the characteristics of the patient and the more and more specific enzyme-level activity of novel antimicrobials with respect to the different resistance mechanisms of MDR-GNB is required. In this paper, we discuss therapeutic possibilities for infections, caused by MDR-GNB.

UVOD

Definicija večkratno odpornih po Gramu negativnih bakterij (VO-GNB) se spreminja. Trenutno velja, da bakterije imenujemo večkratno odporne, če so občutljive za največ

dva nesorodna parenteralna antibiotika oz. za največ en peroralni antibiotik s sistemskim učinkovanjem ali učinkovanjem v zgornjih sečilih (1). Pojav in širjenje VO-GNB sta v zadnjih 15 letih postala javnozdravstveni problem (2), saj so GNB pogosti povzročitelji doma pridobljenih in bolnišničnih okužb, zato ima protimikrobna odpornost teh bakterij pomemben epidemiološki vpliv na predpisovanje antibiotikov in izid zdravljenja. Pristop k zdravljenju okužb, povzročenih z VO-GNB, je individualiziran, med drugim odvisen od mesta in teže okužbe ter profila občutljivosti in mehanizmov odpornosti bakterije (3). Na tržišču so se pojavili novi antibiotiki, ki so učinkoviti proti nekaterim VO-GNB, kot so proti karbapenomu odporne enterobakterije (CRE) in proti karbapenomu odporen *Pseudomonas aeruginosa* (CRPs), kar pa ne pomeni, da je postalo zdravljenje okužb, povzročenih s temi bakterijami, preprosto in vedno uspešno. Vzrokov za to je več: 1) večina novih antibiotikov je slabo učinkovitih proti *Acinetobacter baumannii*; 2) učinkovitost novih kombinacij betalaktamskih antibiotikov z zaviralci betalaktamaz (BL-BLI) je odvisna od tipa karbapenemaze, ki posreduje odpornost proti karbapenomu; 3) pojavljati se je začela odpornost proti novim antibiotikom, zato se je treba izogibati njihovi pretirani rabi, da zmanjšamo selekcijski pritisk ter nadaljnji razvoj odpornosti; 4) že izkustveno zdravljenje mora biti usmerjeno proti VO-GNB pri bolnikih, ki so kritično bolni in imajo dejavnike tveganja za okužbo z VO-GNB, saj je neustrezno izkustveno zdravljenje povezano s slabšim izidom (4).

Polimiksini

Polimiksini delujejo kot detergenti na zunanjo membrano GNB in imajo baktericidni učinek. V humani medicini se uporablja zlasti kolistin (polimiksin E) (1). Polimiksini delujejo proti večini enterobakterij, *A. baumannii*, *P. aeruginosa* in *Stenotrophomonas maltophilia*, nimajo pa učinka na *Burkholderia cepacia*, *Proteus* spp., *Providencia* spp., *Morganella* spp. in *Serratia marcescens* (1, 4). Odpornost *P. aeruginosa* proti kolistinu je redka in se skoraj izključno pojavlja pri izolatih bolnikov s cistično fibrozo (5), med *Klebsiella* spp. pa v Italiji in Grčiji narašča delež izolatov, ki izločajo karbapenemaze (carbapenemase producing *Klebsiella*, CP-K) (2). Kolistin je med zdravili prvega izbora za okužbe z *A. baumannii*, odpornim proti karbapenomu (CRAb), za zdravljenje okužb s CRE in CRPs pa je bolj smiselno uporabiti novejša antibiotika, saj imajo polimiksini svoje omejitve, kot sta nefrotoksičnost in slabo doseganje ustreznih koncentracij, zlasti v pljučih (6). Kaže, da so visoki odmerki, podaljšano zdravljenje, sočasna uporaba vankomicina, hipoalbuminemija in nesteroidni antirevmatiki neodvisni ogrožajoči dejavniki za pojav nefrotoksičnosti (7). Pri bolnikih, ki prejemajo kolistin, je treba skrbno spremljati ledvično delovanje in, če je to izvedljivo, tudi terapevtske koncentracije zdravila v plazmi. Verjetno so za kritično bolne primernejši odmerki, ki dosegajo najvišjo serumsko koncentracijo 5 do 15 mg/L in najnižjo 2 do 6 mg/L, za kar so potrebni višji odmerki od standardnih, ki se uporabljajo za odrasle bolnike s cistično fibrozo (2 mio na 8 ur). Nedavna raziskava okužb, povzročenih z različnimi VO-GNB, je pokazala dobro učinkovitost kolistina pri odmerjanju s polnilnim odmerkom 9 mio, ki mu je sledilo odmerjanje 4,5 mio na 12 ur oz. manj v primeru ledvične okvare, reverzibilna blaga okvara ledvic pa se je pojavila redko (7). Z namenom doseganja najboljšega učinka in omejevanja odpornosti je bil za optimizacijo rabe (odmerkov in indikacij) polimiksinov izdelan mednarodni dogovor o ustreznih rabi polimiksinov v primerih, kjer so nujno potrebni (npr. okužbe s CRAb, CRE

in CRPs, odpornimi proti novim BL-BLI) (6). Za zdravljenje invazivnih okužb s CRE, CRPs in CRAB uporabljamo kolistin v kombinaciji z drugimi antibiotiki in ne v monoterapiji. Pri bolnikih s pljučnico, povezano z mehanskim predihavanjem (angl. *Ventilator associated pneumonia*, VAP), se lahko intravenskemu doda kolistin tudi v obliki aerosola (6). Za optimizirano uporabo aerosoliziranega kolistina pri bolnikih s cistično fibrozo in okužbo s *P. aeruginosa* so objavljena posebna priporočila (5).

Aminoglikozidi

Aminoglikozidi so koncentracijsko odvisni, baktericidni antibiotiki, ki zavirajo ribosomsko podenoto S30 bakterij. Pretežno se uporabljajo v monoterapiji ali v kombinaciji z ožjespektralnim BL za izkustveno zdravljenje okužb sečil in sepse, kadar obstaja verjetnost, da okužbo povzročajo bakterije, izločevalke betalaktamaz razširjenega spektra (ESBL), in/ali AmpC, in želimo varčevati s karbapenemi (3). Aminoglikozidi se uporabljajo tudi za zdravljenje okužb, povzročenih z različnimi GNB, odpornimi proti karbapenemom, zlasti če so odporne proti polimiksinom (4). Njihovo učinkovito rabo omejujejo potencialna toksičnost, doseganje nizkih koncentracij v pljučih ter naraščajoča stopnja odpornosti (1, 2). Parenteralni širokospektralni aminoglikozidi (gentamicin, tobramicin, amikacin) pomenijo alternativo karbapenemom za zdravljenje okužb z VO-GNB. Imajo intrinzično aktivnost proti *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. in enterobakterijam. Odpornost je pretežno posledica bakterijskih encimov, ki spremenijo antibiotik, ali 16S ribosomskih metiltransferaz, ki spremenijo vezavno mesto za aminoglikozide, ali pa nastane zaradi črpalk in zmanjšane prepustnosti za antibiotik. Nedavna metaanaliza je potrdila predhodne ugotovitve, da pri bolnikih brez cistične fibroze kombinacija BL in aminoglikozida ne prispeva k ugodnemu izidu zdravljenja v primerjavi z učinkovitim BL v monoterapiji (8). Novi aminoglikozid plazomicin (9) se izogne skoraj vsem encimom, ki spreminjajo aminoglikozide, dovzeten pa je za plazmidni 16S ribosomski metiltransferazi ArmA in Rmt, ki sta za zdaj prisotni pretežno le v sevih enterobakterij, ki izločajo karbapenemazo NDM-1, ali v *A. baumannii*, ki izloča karbapenemazo OXA-23. Plazomicin je odobrila ameriška agencija za hrano in zdravila (FDA) za zdravljenje zapletenih okužb sečil na podlagi rezultatov raziskave EPIC, ki je prikazala superiornost plazomicina v primerjavi z meropenemom (10). V randomizirani raziskavi so ugotovili manjšo smrtnost pri bolnikih s hudimi okužbami s CRE, ki so prejeli plazomicin, kot pri tistih, ki so prejeli kolistin in tigeciklin ali meropenem, vendar FDA teh dokazov ni štela za zadostne, da bi odobrila uporabo plazomicina za zdravljenje okužb krvi s CRE (1). Aminoglikozidi imajo ozek terapevtski indeks, zato je potrebna posebna pozornost pri njihovem odmerjanju. Treba je meriti plazemske koncentracije in prilagajati intervale odmerjanja glede na rezultat, kar je povezano z nižjo pojavnostjo toksičnosti. Za gentamicin in tobramicin se priporoča odmerek 5 ali 7 mg/kg, za amikacin pa 15 mg/kg/dan, ker so minimalne inhibicijske koncentracije (MIK) za amikacin 2- do 4-krat višje kot MIK za gentamicin, nimamo pa še izdelanih nomogramov za amikacin. Za zdravljenje nizko tveganih okužb, zlasti okužb sečil, ki jih povzročajo CRE, lahko aminoglikozid uporabimo tudi v monoterapiji. Za visoko tvegane okužbe, npr. septični šok, povzročen s CRE, lahko uporabimo aminoglikozid v kombinaciji z enim ali dvema drugima antibiotikoma (npr. karbapenem, BL-BLI, kolistin), odvisno od odpornosti izolirane bakterije

(3). Svetujejo, naj se tobramicin uporablja prednostno pred ostalimi aminoglikozidi za zdravljenje okužb z zanj občutljivimi psevdomonasi (1).

Tigeciklin

Tigeciklin je glicilciklinski antibiotik, polsintetični derivat minociklina, ki se veže na ribosomsko podenoto 30S bakterij in deluje bakteristatično proti večini enterobakterij, ne pa proti *P. aeruginosa*, *Proteus* spp., *Providencia* spp. in *M. morgani* (11). MIK za *A. baumannii* in *S. maltophilia* so običajno nizke (0,25–2 mg/L), vendar nimamo mejnih vrednosti ali prepričljivih raziskav o njegovi učinkovitosti proti tem bakterijam. Podatki o učinkovitosti tigeciklina v kombinaciji z drugimi antibiotiki za zdravljenje hudih okužb s CRE in CRAB temeljijo predvsem na ugodnih rezultatih raziskav in vitro in na opazovalnih raziskavah (12). Zaskrbljujoč je razvoj odpornosti med zdravljenjem okužb z enterobakterijami, *Acinetobacter* spp. in VO-*Klebsiella pneumoniae*. Intravenski tigeciklin je registriran za zdravljenje zapletenih okužb kože in mehkih tkiv, zapletenih okužb v trebuhu in doma pridobljene pljučnice (13, 14), vendar je potrebna previdnost pri uporabi tigeciklina za zdravljenje VAP, skladno z opozorilom FDA, ki temelji na analizi združenih podatkov randomiziranih raziskav, ki je pokazala večjo smrtnost v primerjavi z drugimi antibiotiki pri bolnikih z VAP, smrtnost pa je bila višja tudi pri okužbah, za zdravljenje katerih je bil antibiotik odobren (15). Randomizirane raziskave, ki bi primerjale tigeciklin sam ali v kombinaciji s polimiksini, fosfomicinom, sulbaktamom in drugimi antibiotiki za zdravljenje VO-GNB, niso na voljo. Več metaanaliz, ki so preučevale učinkovitost in varnost tigeciklina na splošno (ne le proti VO-GNB), je dalo nasprotujoče si rezultate. Ena od analiz je pokazala, da je bila klinična učinkovitost tigeciklina manjša kot učinkovitost primerjanih antibiotikov za zdravljenje bolnišnične pljučnice in okužb diabetičnega stopala in da so bili ob uporabi tigeciklina pogostejši gastrointestinalni neželeni sopojavi ter višja smrtnost, verjetno zaradi slabše učinkovitosti (15). Potrebne bodo dodatne raziskave, saj kaže, da se učinkovitost tigeciklina za zdravljenje ventilatorske pljučnice lahko poveča ob uporabi višjih odmerkov (polnitveni odmerek 200 mg, nato 100 mg dvakrat dnevno), ki pa niso povezani s porastom neželenih učinkov (1). Retrospektivna raziskava okužb, povzročenih pretežno z bakterijami, ki izločajo karbapenemaze *K. pneumoniae* (KPC), je pokazala, da bi bila kombinacija tigeciklina z npr. karbapenemi in polimiksini lahko učinkovita (cit. po 1); po zdravljenju s tigeciklinom je preživel 9/19 bolnikov, 0/11 po monoterapiji s kolistinom in 16/23 po kombinirani terapiji s tigeciklinom in kolistinom. Za sedaj ostaja vloga tigeciklina pri zdravljenju okužb z VO-GNB negotova in omejena na uporabo tigeciklina v kombinaciji z drugimi antibiotiki za zdravljenje okužb kože in mehkih tkiv ter okužb v trebuhu, povzročenih z VO-GNB, uporaba v kombinaciji z drugimi antibiotiki za zdravljenje pljučnice, povzročene z VO-GNB, pa je omejena na raziskave in za primere, ko ni druge možnosti. V teh primerih je svetovana uporaba odmerkov, višjih od registriranih (1).

Karbapenemi

Karbapenemi ostajajo antibiotiki izbora za hude okužbe z enterobakterijami – ESBL in so temelj izkustvenega zdravljenja hudih okužb z GNB (16). V metaanalizi 27 randomiziranih kliničnih raziskav se je meropenem izkazal za malenkost bolj učinkovitega od imipenema/cilastatina glede na klinični in mikrobiološki izid zdravljenja (izboljšanje kliničnih simptomov in znakov je nastopilo pri 91,4 % vs. 87,2 %, bakteriološki odziv je

bil dosežen pri 85,1 % vs. 82,8 %). V devetih raziskavah, ki so poročale o smrtnosti, ni bilo pomembnih razlik (7,4 % vs. 9,7 %). Pri izbiri izkustvenega zdravljenja bakteriemije imata meropenem in imipenem zaradi širšega spektra delovanja prednost pred ertapenemom, morda imata zaradi boljšega doseganja farmakokinetičnih/farmakodinamičnih ciljev prednost pred ertapenemom tudi pri zdravljenju VAP. Kasnejša menjava za ertapenem je smiselna, če je izolirana bakterija zanj občutljiva in če menjava omogoča zgodnejši odpust iz bolnišnice, verjetno pa lahko ertapenem kot edini karbapenem brez klinično pomembnega učinka proti *P. aeruginosa* ali *A. baumannii* izvaja manjši selekcijski pritisk za vznik odpornosti teh bakterij kot drugi karbapenemi (17). Uporaba meropenema ali imipenema selekcionira CR-GNB, vključno s predhodno obstoječim CRAB, in mutante porina oprD, ki je najpogostejši mehanizem odpornosti proti imipenemu pri *P. aeruginosa*. Odpornost proti meropenemu je pogosteje povezana s povečano tvorbo encimov MexB, MexY in AmpC (1). Zdravljenje z ertapenemom je povezano s pojavom odpornosti, posredovane z izgubo porinov pri *Klebsiella* spp. in enterobakterijah, ki izločajo ESBL in AmpC. Ker pogosto predpisovanje karbapenemov vodi v porast odpornosti, naj bo izkustvena raba karbapenemov dobro pretehtana. Če se izkaže, da izolirana bakterija ne izloča ESBL ali betalaktamaz AmpC, je treba izkustveno predpisati karbapenem zamenjati za ožjespektralni antibiotik. V Evropi je ertapenem registriran za zdravljenje okužb v trebuhu, ginekoloških okužb in doma pridobljene pljučnice, v ZDA pa tudi za okužbe kože in zapletene okužbe sečil (1). Ertapenem je enako širokospektralni antibiotik kot imipenem in meropenem za enterobakterije, nekatere po Gramu pozitivne bakterije in anaerobe, nima pa učinka na *Acinetobacter* spp. in *P. aeruginosa*. Učinkovitost ertapenema za zdravljenje okužb z enterobakterijami je manj podkrepljena kot učinkovitost imipenema ali meropenema, vendar dokazano dobro učinkuje nanje in vitro. V retrospektivni raziskavi zdravljenja bakteriemij, povzročenih z *E. coli*-ESBL in *K. pneumoniae* – ESBL, je bil izid ob uporabi ertapenema primerljiv z izidom zdravljenja z imipenemom in meropenemom. Odpornost *Klebsiella* spp. in *Enterobacter* spp. proti ertapenemu (MIK ≥ 1 mg/L) in odpornost visoke stopnje (MIK 16 mg/L) je bila povezana s kombinacijo betalaktamaz (pogosto CTX-M ESBL pri *Klebsiella* spp. ali AmpC pri *Enterobacter* spp.) in neprepustnostjo zaradi izgube porinov. Vendar kaže, da imipenem in meropenem delujeta proti večini izolatov z nizko odpornostjo proti ertapenemu, posredovano z navedenimi mehanizmi, pri čemer so MIK zanj višje kot običajno. Pojavljati pa so se začeli tudi izolati, ki izločajo KPC, oksacilinaze 48 (OXA-48) in New-Delhi-metalo-betalaktamaze (NDM) (2). V retrospektivni raziskavi iz ZDA se je izpostavitve kateremukoli antibiotiku v 30 dneh pred pojavom okužbe izkazala za dejavnik, nevaren za okužbo s proti ertapenemu odpornimi enterobakterijami, katerih odpornost sloni na neprepustnosti. Raziskovalci iz Singapurja so ugotovili, da sta bila hospitalizacija in zdravljenje s kinoloni povezana s pojavom proti ertapenemu odpornih, za imipenem občutljivih GNB (1). Pred dostopnostjo novih BL-BLI so se za zdravljenje okužb s CR-GNB uporabljali karbapenemi v kontinuirani infuziji in v kombinaciji z drugimi antibiotiki. Ta pristop je temeljil na možnosti, da lahko proti nekaterim odpornim organizmom z le malo povečano MIK za karbapeneme dosežemo zadostne koncentracije karbapenema, in na možnosti sinergističnega delovanja (4). Sodeč po rezultatih velikih opazovalnih raziskav, je bil ta pristop ustrezen za hude okužbe s CRE, povzročene s sevi, ki izločajo KPC (4), v randomizirani raziskavi pa niso našli razlik v preživetju med bolniki, zdravlje-

nimi zaradi hude okužbe s CRAB z meropenemom in kolistinom, in bolniki, zdravljenimi le s kolistinom (18). Na razpolago je le malo opazovalnih raziskav, ki vključujejo anti-biotično kombinacijo s karbapenemom za CRPs, tako da jasnih zaključkov ni mogoče po-dati (4), pri hudih okužbah s *Klebsiella*-KPC z MIK > 8 in < 64 mg/L pa velja razmisliti o kontinuiranem odmerjanju meropenema, za kar so že izdelani nomogrami odmerjanja (cit. po 1).

Fosfomicin

Fosfomicin je analog fosfoenolpiruvata, ki se vpleta v sintezo prekurzorja peptidogli-kana v bakterijski celični steni in ima širok spekter delovanja. Mejne vrednosti MIK za določanje občutljivosti za fosfomicin so opredeljene le za *E. coli*; *M. morgani* in *Bacteroi-des* spp. so proti njemu inherentno odporni, njegova učinkovitost proti *P. aeruginosa* pa je nedorečena (1). Fosfomicintrometamol se uporablja v peroralni obliki za nezapletene okužbe spodnjih sečil, povzročene z zanj občutljivimi bakterijami, ki so odporne proti drugim peroralnim antibiotikom. Enkratni odmerek 3 g omogoča vzdrževanje zadostne koncentracije zdravila v sečilih dva dni. Intravenski fosfomicin se uporablja za zdravlje-nje okužb z VO-GNB v odmerku 24 g na dan v treh odmerkih oz. manj glede na ledvič-no delovanje, pogosto v kombinaciji z drugimi antibiotiki, kadar so druge terapevtske možnosti izčrpane. Dobro prodira v tkiva, njegov najpogostejši neželeni učinek je hipo-kaliemija (19). V randomizirani raziskavi s 94 bolniki z okužbo, povzročeno s CRAB, ki so prejeli kombinacijo kolistina in fosfomicina ali kolistin v monoterapiji, so ugotovi-li boljši mikrobiološki odziv na kombinirano zdravljenje, vendar se čas preživetja med skupinama ni razlikoval (20). V skupini 48 kritično bolnih (večina je imela VAP), okuže-nih s *K. pneumoniae*-KPC in CRPs-VIM, ki so prejeli fosfomicin v odmerku 8 g na 8 ur 14 dni in večinoma v kombinaciji s tigecklinom ali kolistinom, je bila smrtnost po 28 dneh 37,5 % (21). Ker ni večjih raziskav in obstaja tveganje hitrega razvoja odpornosti, je smiselno, da rabo fosfomicina, verjetno v kombinaciji z drugimi antibiotiki, omejimo le na izjemne primere, saj spada med zdravila zadnjega izbora za VO-GNB (4).

Ceftazidim/avibaktam

Ceftazidim-avibaktam je nova kombinacija BL-BLI, ki ima širok spekter delovanja proti GNB, vključno z enterobakterijami in *P. aeruginosa*. Bakterije, občutljive za ceftazidim, so zanj občutljive, avibaktam pa dodatno deluje proti betalaktamazam razreda A (TEM, SHV, CTX-M, KPC), razreda C (AmpC) in nekaterim razreda D (OXA) (22). Nima inhibi-cijskega učinka proti metalo-betalaktamazam, njegova učinkovitost proti *Acinetobacter* spp. in anaerobom ter po Gramu pozitivnim bakterijam je le minimalna (1). FDA in Evropska agencija za zdravila (EMA) sta ceftazidim/avibaktam odobrili za zdravljenje zapletenih okužb sečil, zapletenih okužb v trebuhu, bolnišnične pljučnice in VAP, EMA pa tudi za zdravljenje drugih okužb z VO-GNB, kjer so terapevtske možnosti omejene. V randomizirani raziskavi je bila učinkovitost ceftazidima/avibaktama podobna učin-kovitosti imipenema/cilastatina za zdravljenje zapletenih okužb sečil (19/27 vs. 21/35) (23). Učinkovitost v kombinaciji z metronidazolom je bila podobna učinkovitosti me-ropenema v randomizirani raziskavi 203 bolnikov z okužbo v trebuhu (24). Podobno sta se v randomizirani raziskavi meropenem in kombinacija ceftazidima/avibaktama z metronidazolom pri 1066 bolnikih z zapleteno okužbo v trebuhu pokazala za enakovre-dna; klinični odziv na ceftazidim/avibaktam in metronidazol je bil dosežen pri 82,5 %

in na meropenem pri 84,9 % bolnikov (cit po 1). V skupini, ki je prejela kombinirano zdravljenje, ni bilo razlike v izidu glede na občutljivost/odpornost izolirane enterobakterije proti ceftazidimu. Še ena randomizirana primerjava ceftazidima/avibaktama in metronidazola z meropenemom pri 333 bolnikih, ki so imeli pretežno zapletene okužbe sečil, povzročene z enterobakterijami, odpornimi proti ceftazidimu, ali s *P. aeruginosa*, je pokazala 91 % ozdravitev (25). Čeprav našteje randomizirane raziskave niso vključevale bolnikov z okužbami s CRE, učinkovitost ceftazidima/avibaktama proti zadnjim potrjujejo ugodni rezultati opazovalnih raziskav (4). Med bolniki z okužbo krvi, povzročeno s *K. pneumoniae* – KPC, je bila 30-dnevna smrtnost nižja med 104 bolniki, ki so prejeli ceftazidim/avibaktam, kot med 104 uravnoteženimi bolniki, ki so prejeli druge antibiotike (36,5 % vs. 55,7 %) (26). Ceftazidim/avibaktam postaja pomembna in učinkovita možnost zdravljenja CRE in alternativa karbapenemom za okužbe z enterobakterijami, ki izločajo ESBL in AmpC, vendar so druge možnosti cenejše. Zato in ker se že pojavlja odpornost proti njemu pri mutantih blaKPC *Klebsiella* spp., je treba njegovo rabo optimizirati (4).

Meropenem/vaborbaktam

Meropenem/vaborbaktam je še en predstavnik novih BL-BLI, ki močno in specifično učinkuje proti bakterijam, ki izločajo KPC. Sprva ga je FDA odobrila za zapletene okužbe sečil, nato pa ga je EMA odobrila za zapletene okužbe v trebuhu, bolnišnično pljučnico in VAP ter okužbe z aerobnimi GNB z omejenimi možnostmi zdravljenja. V raziskavi TANGO-I je bil meropenem/vaborbaktam superioren v primerjavi s piperacilinom/tazobaktamom za zdravljenje zapletenih okužb sečil (cit. po 27). Raziskava TANGO-II, ki je primerjala meropenem/vaborbaktam z najboljšo razpoložljivo terapijo za okužbe s CRE, je bila predčasno prekinjena zaradi izkazane superiornosti meropenema/vaborbaktama. Večina bolnikov je imela bakteriemijo, klinična ozdravitev je bila dosežena pri 65,6 % (21/32) bolnikov, zdravljenih z meropenemom/vaborbaktamom, in pri 33,3 % (5/15) tistih, ki so prejeli primerjano zdravilo (27). Na podlagi teh rezultatov je postal meropenem/vaborbaktam nova možnost za zdravljenje okužb s CRE, ki izločajo KPC. Kljub njegovi učinkovitosti pa ga moramo uporabljati smotrno, saj se lahko pojavi odpornost (4).

Ceftolozan/tazobaktam

Ceftolozan/tazobaktam, oksimino-cefalosporin v kombinaciji s tazobaktamom, je verjetno novi BL-BLI, ki je najbolj učinkovit proti CRPs *in vitro* (ne pa tudi proti sevom, ki izločajo karbapenemaze), nima pa učinka proti CRE. Ceftolozan/tazobaktam je učinkovit proti številnim GNB, vključno z enterobakterijami in *P. aeruginosa* (1). Deluje proti izolatom *P. aeruginosa*, ki so odporni proti običajnim antibiotikom, kot je ceftazidim, zaradi derepresije betalaktamaz AmpC ali povečane sinteze črpalk. Glede na vrednosti MIK je ceftolozan najbolj aktiven BL proti *P. aeruginosa*, odporni so pretežno le sevi z metalo-betalaktamazami ali neobičajnimi ESBL, npr. VEB in GES. Njegova aktivnost proti *Acinetobacter* spp. je različna, *in vitro* učinkuje proti enterobakterijam-ESBL, vključno s TEM, SHV in CTX-M. Slabše učinkuje proti *Klebsiella* spp.-ESBL, verjetno zato ker izločajo encime SHV, spremenljivo učinkuje proti enterobakterijam, ki izločajo obilo AmpC, veliko vrst *Enterobacter* spp. pa je odpornih proti njemu (1). Proti sevom, ki izločajo metalo-betalaktamaze (NDM-1, IMP in VIM), KPC ali OXA-48 nima učinka.

Zato je mesto ceftolozana/tazobaktama drugačno od mesta ceftazidima/avibaktama in ga ne moremo uporabljati za okužbe z enterobakterijami, ki izločajo AmpC ali KPC. FDA in EMA sta ga odobrili za zdravljenje zapletenih okužb v trebuhu in zapletenih okužb sečil na podlagi raziskav ASPECT-cIAI in ASPECT-cUTI (28, 29). V prospektivni, randomizirani, dvojno slepi raziskavi so pri 993 hospitaliziranih bolnikih z zapletenimi okužbami v trebuhu ugotovili ne-inferiornost kombinacije ceftolozana/tazobaktama (1,5 g na 8 ur iv.) in metronidazola v primerjavi z meropenemom (1 g na 8 ur iv.) 4 do 14 dni (28). Pri 50 bolnikih je bil povzročitelj GNB-ESBL; med njimi je bil klinični uspeh dosežen pri 95,8 % (23/24) v skupini s ceftolozanom/tazobaktamom in metronidazolom in pri 88,5 % (23/26) v skupini z meropenemom. V drugi raziskavi, kjer so primerjali ceftolozan/tazobaktam (1,5 g na 8 ur iv.) z levofloksacinom (750 mg na 24 ur iv.) pri 1083 bolnikih z zapleteno okužbo sečil, od katerih jih je imelo 83 % pielonefritis (29), se je ceftolozan/tazobaktam izkazal za ne-inferiornega glede na klinični izid zdravljenja in za superiornega glede na mikrobiološki izid. Pri bolnikih z GNB-ESBL, ki so prejeli ceftolozan/tazobaktam, je bila ozdravitev dosežena pri 90,2 % (55/61), v skupini, zdravljeni z levofloksacinom, pa pri 73,7 % (42/57). Trenutno se zdi, da je najbolj uporaben za zdravljenje okužb s CRPs tudi za neregistrirane indikacije, saj se v pomanjkanju boljših možnosti nabirajo opazovalne raziskave, ki potrjujejo njegovo klinično učinkovitost (4). V raziskavi ASPECT-NP se je za zdravljenje bolnišnične pljučnice in VAP izkazal za ne-inferiornega meropenemu (4). Ceftolozan/tazobaktam bo imel lahko vlogo tudi kot antibiotična možnost, ki varčuje s karbapenemi, za zdravljenje okužb z enterobakterijami-ESBL, zlasti *E. coli*-ESBL; pri *Klebsiella* spp.-ESBL je zaradi večje odpornosti potrebna večja previdnost pri njegovi uporabi (4).

Eravaciklin

Eravaciklin je nov, sintetičen fluorociklin, ki je strukturno podoben tetraciklinu. FDA in EMA sta ga odobrili za zdravljenje zapletenih okužb v trebuhu. Učinkuje proti večini bakterij, katerih odpornost posredujejo črpalke, ki izločajo antibiotik iz celice ali ki vsebujejo ribosomske mehanizme odpornosti in izločajo betalaktamaze. Učinkovit je proti širokemu naboru po Gramu pozitivnih in negativnih ter anaerobnih bakterij, z izjemo *P. aeruginosa* in *B. cepacia*. Zlasti dobro učinkuje proti CRAb (1). Klinično učinkovitost eravaciklina so preizkusili v štirih randomiziranih raziskavah, v katerih se je dobro izkazal pri zdravljenju zapletenih okužb v trebuhu, ne pa tudi zapletenih okužb sečil. V raziskavi IGNITE 1 so intravenski eravaciklin (1 mg/kg na 12 ur) primerjali z ertapenemom (1 g na 24 ur) (cit. po 30). Klinično ozdravitev je doseglo 86,8 % bolnikov, ki so prejeli eravaciklin, in 87,6 %, zdravljenih z ertapenemom, kar je potrdilo ne-inferiornost eravaciklina (4). V raziskavah IGNITE 2 in IGNITE 3 (cit. po 30) so eravaciklin primerjali z levofloksacinom in ertapenemom za zdravljenje zapletenih okužb sečil, vendar v nobeni raziskavi eravaciklin ni dosegel praga ne-inferiornosti, verjetno zaradi svojega slabega prodiranja v sečila (4). V raziskavi IGNITE 4, ki je primerjala eravaciklin z meropenemom za zapletene okužbe v trebuhu, je bil ugotovljen ugoden mikrobiološki odziv; 88,9 % in 100% za eravaciklin pri okužbah z enterobakterijami in *A. baumannii* (30). Eravaciklin je terapevtska možnost za zapletene okužbe v trebuhu, povzročene z VO-GNB, vključno s CRAb. Poleg tega zaradi svoje visoke biološke uporabnosti (> 90 %) omogoča prehod z intravenske na peroralno odmerjanje (4).

ZAKLJUČEK

Pri zdravljenju kritično bolnih z okužbami, povzročeni z VO-GNB, moramo upoštevati vidik čimprejšnjega učinkovitega zdravljenja, pri čemer prav odpornost proti številnim antibiotikom zmanjšuje možnost, da bi bilo izkustveno zdravljenje ustrezno; optimizirati moramo mikrobiološko diagnostiko, ki omogoča upoštevanje načel smotrne rabe antibiotikov, ter dosledno izvajati ukrepe bolnišnične higiene. V zadnjih letih imamo na razpolago nove terapevtske možnosti za nekatere hude okužbe z VO-GNB, vendar jih moramo uporabljati previdno, da bi čim bolj odložili pojav in razsoj odpornosti proti njim.

Literatura

1. Hawkey PM, Warren RE, Livermore DM, et al. Treatment of infections caused by multidrug-resistant gram-negative bacteria: Report of the British society for antimicrobial chemotherapy/healthcare infection society/british infection association joint working party. *J Antimicrob Chemother* 2018; 73: 2–78.
2. European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance of antimicrobial resistance in Europe. Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/surveillance-antimicrobial-resistance-Europe-2018.pdf> 2019.
3. Rodríguez-Baño J, Gutiérrez-Gutiérrez B, Machuca I. Treatment of Infections Caused by Extended-Spectrum-Beta-Lactamase-, AmpC-, and Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae. *Clin Microbiol Rev* 2018; 31: 1–42.
4. Bassetti M, Peghin M, Vena A, Giacobbe DR. Treatment of Infections Due to MDR Gram-Negative Bacteria. *Front Med* 2019; 6: 1–10.
5. Nolan K, Knight H, Clark P. NICE guidance on colistimethate sodium and tobramycin for pseudomonas lung infection in cystic fibrosis. *Lancet Respir Med* 2013; 1: 102–3. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S2213-2600\(13\)70046-8](http://dx.doi.org/10.1016/S2213-2600(13)70046-8).
6. Tsuji BT, Pogue JM, Zavascki AP, et al. International Consensus Guidelines for the Optimal Use of the Polymyxins: Endorsed by the American College of Clinical Pharmacy (ACCP), European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID), Infectious Diseases Society of America (IDSA). *Pharmacotherapy* 2019; 39: 10–39.
7. Dalfino L, Puntillo F, Mosca A, et al. High-dose, extended-interval colistin administration in critically ill patients: Is this the right dosing strategy? A preliminary study. *Clin Infect Dis* 2012; 54: 1720–6.
8. Vardakas KZ, Tansarli GS, Bliziotis IA, Falagas ME. β -Lactam plus aminoglycoside or fluoroquinolone combination versus β -lactam monotherapy for *Pseudomonas aeruginosa* infections: A meta-analysis. *Int J Antimicrob Agents*. 2013; 41: 301–10.
9. Walkty A, Karlowsky JA, Baxter MR, Adam HJ, Zhanel GG. In vitro activity of plazomicin against Gram-negative and Gram-positive bacterial pathogens isolated from patients in Canadian hospitals from 2013 to 2017 as part of the CANWARD surveillance study. *Antimicrob Agents Chemother*. 2019; 63: 1–23.
10. Cloutier DJ, Miller LG, Komirenko AS, et al. Evaluating Once-daily Plazomicin Versus Meropenem for the Treatment of Complicated Urinary Tract Infection and Acute Pyelonephritis: Results From a Phase 3 Study (EPIC) 2017; 1–19. doi: 10.1056/NEJMoa1801467.
11. Pankey GA. Tigecycline. *J Antimicrob Chemother* 2005; 56: 470–80.
12. Rao GG, Ly NS, Diep J, et al. Combinatorial pharmacodynamics of polymyxin B and tigecycline against heteroresistant *Acinetobacter baumannii*. *Int J Antimicrob Agents* 2016; 48: 331–6.
13. Babinchak T, Ellis-Grosse E, Dartois N, Rose GM, Loh E. The Efficacy and Safety of Tigecycline for the Treatment of Complicated Intra-Abdominal Infections: Analysis of Pooled Clinical Trial Data. *Clin Infect Dis* 2005; 41: S354–S67.
14. Ellis-Grosse EJ, Babinchak T, Dartois N, Rose G, Loh E. The efficacy and safety of tigecycline in the treatment of skin and skin-structure infections: results of 2 double-blind phase 3 comparison studies with vancomycin-aztreonam. *Clin Infect Dis* 2005; 41: S341–53.
15. FDA. Drug Safety Communication: FDA warns of increased risk of death with IV antibacterial Tygacil (tigecycline) and approves new Boxed Warning. Available from: <https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/fda-drug-safety-communication-fda-warns-increased-risk-death-iv-antibacterial-tygacil-tigecycline>.
16. Hawkey PM, Livermore DM. Carbapenem antibiotics for serious infections. *BMJ* 2012; 344: 1–7.
17. Nicolau DP, Carmeli Y, Crank CW, et al. Carbapenem stewardship: Does ertapenem affect *Pseudomonas* susceptibility to other carbapenems? A review of the evidence. *Int. J Antimicrob Agents* 2012; 39: 11–5.
18. Paul M, Daikos GL, Durante-Mangoni E, et al. Colistin alone versus colistin plus meropenem for treatment of severe infections caused by carbapenem-resistant Gram-negative bacteria: an open-label, randomised controlled trial. *Lancet Infect Dis* 2018; 18: 391–400.
19. Grabein B, Graninger W, Rodríguez Baño J, Dinh A, Liesenfeld DB. Intravenous fosfomicin—back to the future. Systematic review and meta-analysis of the clinical literature. *Clin Microbiol Infect* 2017; 23: 363–72.

-
20. Sirijatuphat R, Thamlikitkul V. Preliminary study of colistin versus colistin plus fosfomycin for treatment of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* infections. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; 58: 5598–601.
 21. Pontikis K, Karaiskos I, Bastani S, et al. Outcomes of critically ill intensive care unit patients treated with fosfomycin for infections due to pandrug-resistant and extensively drug-resistant carbapenemase-producing Gram-negative bacteria. *Int J Antimicrob Agents* 2014; 43: 52–9.
 22. Montravers P, Bassetti M. The ideal patient profile for new beta-lactam/beta-lactamase inhibitors. *Curr Opin Infect Dis* 2018; 31: 587–93.
 23. Vazquez JA, González Patzán LD, Stricklin D, et al. Efficacy and safety of ceftazidime-avibactam versus imipenem-cilastatin in the treatment of complicated urinary tract infections, including acute pyelonephritis, in hospitalized adults: Results of a prospective, investigator-blinded, randomized study. *Curr Med Res Opin* 2012; 28: 1921–31.
 24. Lucasti C, Popescu I, Ramesh MK, Lipka J, Sable C. Comparative study of the efficacy and safety of ceftazidime/avibactam plus metronidazole versus meropenem in the treatment of complicated intra-abdominal infections in hospitalized adults: Results of a randomized, double-blind, phase II trial. *J Antimicrob Chemother* 2013; 68: 1183–92.
 25. Carmeli Y, Armstrong J, Laud PJ, et al. Ceftazidime-avibactam or best available therapy in patients with ceftazidime-resistant Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa* complicated urinary tract infections or complicated intra-abdominal infections (REPRISE): a randomised, pathogen-directed, phase 3 study. *Lancet Infect Dis* 2016; 16: 661–73.
 26. Tumbarello M, Trearichi EM, Corona A, et al. Efficacy of Ceftazidime-Avibactam Salvage Therapy in Patients with Infections Caused by *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase-producing *K. pneumoniae*. *Clin Infect Dis* 2019; 68: 355–64.
 27. Wunderink RG, Giamarellos-Bourboulis EJ, Rahav G, et al. Effect and Safety of Meropenem-Vaborbactam versus Best-Available Therapy in Patients with Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae Infections: The TANGO II Randomized Clinical Trial. *Infect Dis Ther* 2018; 7: 439–55.
 28. Solomkin J, Hershberger E, Miller B, et al. Ceftolozane/tazobactam plus metronidazole for complicated intra-abdominal infections in an era of multidrug resistance: Results from a randomized, double-blind, phase 3 trial (ASPECT-cIAI). *Clin Infect Dis* 2015; 60: 1462–71.
 29. Wagenlehner FM, Umeh O, Steenbergen J, Yuan G, Darouiche RO. Ceftolozane-tazobactam compared with levofloxacin in the treatment of complicated urinary-tract infections, including pyelonephritis: A randomised, double-blind, phase 3 trial (ASPECT-cUTI). *Lancet* 2015; 385: 1949–56.
 30. Solomkin JS, Gardovskis J, Lawrence K, et al. IGNITE4: Results of a phase 3, randomized, multicenter, prospective trial of eravacycline vs meropenem in the treatment of complicated intraabdominal infections. *Clin Infect Dis* 2019; 69: 921–9.

CELIČNO POSREDOVANA IMUNOST IN OKUŽBE

CELL-MEDIATED IMMUNITY AND INFECTIONS

Prof. dr. Janez Tomažič, dr. med.

Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja,
Univerzitetni klinični center Ljubljana,
Japljeva 2, 1525 Ljubljana
Katedra za infekcijske bolezni in epidemiologijo,
Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana.
janez.tomazic@kclj.si

Ključne besede: motnje celično posredovane imunosti, okužbe

Key words: *disorders of cell-mediated immunity, infections*

POVZETEK

Razumevanje sestavin imunskega sistema, ki prispevajo h gostiteljevi obrambi pred okužbami, je ključ prepoznavanja okužb, ki se pogosteje pojavljajo pri pacientih z imunsko motnjo. Obramba gostitelja pred okužbami je odvisna od kompleksnega, integriranega sistema mehanskih pregrad, naravne in adaptivne imunosti. Prikazane so specifične okvare komponent tega sistema, ki lahko napovedujejo določene okužbe, s poudarkom na motnjah celično posredovane imunosti. Pregledno so prikazani učinki zdravljenja rakavih in avtoimunskih bolezni ter presaditve čvrstih organov in krvotvornih matičnih celic na gostiteljevo obrambo s povezavami na določene okužbe. Poznavanje določenih motenj gostiteljeve obrambe napoveduje specifične okužbe in omogoča zdravniku, da čim bolj učinkovito prepreči, diagnosticira in zdravi okužbe pri bolnikih z imunskimi pomanjkljivostmi.

Abstract

Understanding the components of the immune system that contribute the host defense against infection is key to recognising infections that are more likely to occur in an immunocompromised patient. Host defense from infections depends on a complex, integrated system of physical barriers, innate immunity and adaptive immunity. Specific defects in the components of this system that predispose to particular infections are presented with emphasize to disorders of cell-mediated immunity. The effects of treatment for neoplasia, autoimmune diseases, solid organ and stem cell transplants on host defences are reviewed and associated with susceptibility to particular infections. Knowledge of which host defects predispose to specific infections allows clinician to prevent, diagnose and manage infections in their immunocompromised patients most effectively.

UVOD

Obramba gostitelja pred mikrobi temelji na kompleksnem integriranem sistemu mehanskih pregrad (koža, želodčna kislina, mukociliarno odstranjevanje), naravne imunosti (fagociti, celice naravne ubijalke – celice NK, epitelijske celice, endotelijske celice, komplement) in adaptivne imunosti (limfociti B in T), ki skupaj tvorijo homeostatski mehanizem, potreben za obrambo gostitelja pred okužbami in za potrebne vnetne odzive (Tabela 1). Posameznik ima lahko motnjo v delovanju ene ali več komponent imunskega sistema, kar je povezano s povečano dovzetnostjo za specifične mikrobo. Vsaka sestavina imunskega sistema ima posebno vlogo pri gostiteljevi obrambi, zato so določeni mikrobi povezani s specifičnimi imunskimi motnjami. Ker pa se imunski sistem na vsak mikrob odzove s kompleksno povezavo vseh komponent obrambe, se to razlikovanje lahko nekoliko izgubi. Tako pacient z izolirano motnjo protitelesne imunosti redko zboli s pljučnico *Pneumocystis jirovecii* (PCP) ali kroničnim enterovirusnim meningitisom, medtem ko pri pacientih z motnjo celične imunosti lahko pride do piogenih bakterijskih okužb. Pri ponavljajočih se okužbah na istem anatomskem mestu moramo vedno pomisliti na druge predispozicije (nagnjenosti), kot so ciliarna diskinezija, cistična fibroza, bronhialna obstrukcija itd. V prispevku so prikazani najpomembnejši vzroki okvar adaptivne imunosti s poudarkom na celično posredovanih motnjah imunskih odzivov (1–4).

ADAPTIVNA IMUNOST (PRIDOBljena IMUNOST)

Limfociti B in T prepoznajo tuje snovi (antigene) z »neskončnim repertoarjem« specifičnih receptorjev (imunoglobulinov – Ig na celicah B, T-celičnih receptorjev – TCR na celicah T), ker vsak limfocit ima oz. izraža unikatni antigeni receptor; 2×10^{12} limfocitov pomeni ogromen potencial prepoznavanja različnih antigenov. Ker ima vsak človek svoj repertoar, je kapaciteta raznovrstnosti imunskega sistema skoraj brezmejn in zato je človek »nesmrten v človeštvu«, ker se vedno najde posameznik, ki se lahko učinkovito odzove na mikrobo, kot sta npr. HIV ali *Yersinia pestis* itd. Ponavljajoča se izpostavitve istemu antigenu selekcionira limfocite z največjo afiniteto za tak antigen, sledi klonaska proliferacija s posledičnimi efektorskimi limfociti in spominskimi limfociti; na tej lastnosti adaptivne imunosti npr. temelji cepljenje (5, 6).

Limfociti B imajo na površini specifične receptorje – Ig. Antigen se veže na Ig, sledi proliferacija limfocitov B in tvorba klonov enakih limfocitov B, ki se diferencirajo v plazmatke in izločajo različne Ig. Večina antigenov, ki aktivirajo limfocite B, je odvisnih od limfocitov T. To pomeni, da potrebujejo pomoč (sodelovanje) limfocitov T pomagalk (celice T_h oz. celice CD_4) za optimalno diferenciacijo v plazmatke (efektorske in spominske celice). Za večino antigenov so celice T_h pomembni modulatorji B-celičnih funkcij in vplivajo na stopnjo in kvaliteto protitelesne imunosti. Nekateri antigeni, kot so bakterijski kapsularni polisaharidi, pa so neodvisni od limfocitov T_h in lahko povzročijo neposredno diferenciacijo limfocitov B v plazmatke (5, 6).

Limfociti T so efektorji celično posredovane imunosti in imajo na površini specifične TCR. Limfociti T so tudi pomembni urejevalci (regulatorji obeh komponent) adaptivne imunosti – protitelesne in celične – ter tudi ne-limfatičnih celic, kot so monociti. Enako kot limfociti B imajo tudi limfociti T unikatno antigeno specifičnost. Limfociti T_h ima-

jo imunoregulatorne funkcije, saj sproščajo citokine, ki stimulirajo limfocite B (preko IL-2, IL-4, IL-5), limfocite T (preko IL-2, IL-4), monocite (preko IFN-gama) in hematopoetske prekurzorje limfatičnih in ne-limfatičnih celic (preko IL-3). Nekateri limfokini stimulirajo sekrecijo IgG1, drugi pa sekrecijo IgA in IgE. Ko limfociti proliferirajo, se diferencirajo v različne efektorske celice: celice T_h1 izločajo citokine IL-2, IFN-gama in TNF-alfa, ki stimulirajo celično posredovane imunske odzive, kot so makrofagna baktericidna funkcija, reakcija pozne preobčutljivosti in citotoksičnost (preko celic T_c); celice T_h2 izločajo IL-4 do -6, IL-10, ki povzročajo proliferacijo in diferenciacijo celic B; celice T_h17 izločajo IL-17 in IL-22, ki pospešujeta akumulacijo nevtrofilcev in vnetje ter sta pomembna za obrambo pred zunajceličnimi bakterijami; celice T_{FH} so v bezgavkah in vranici in sprožijo proliferacijo celic B s posledično tvorbo germinalnih centrov in tvorbo protiteles; celice T_{reg} izločajo TGF-beta in IL-10, ki zavirata imunske odzive in vnetje. Večina mikrobov izzove odzive T_h1 ali T_h2 . Obstaja navzkrižna regulacija limfocitov T_h1 in limfocitov T_h2 . T_h1 citokin IFN-gama zavira limfocite T_h2 , T_h2 citokin IL-10 pa zavira limfocite T_h1 .

Citotoksični limfociti T (limfociti T_c) izražajo na površini molekule CD8. Limfociti T_c lahko ubijajo ciljne celice, kot so »z virusi okužene gostiteljske celice«, tumorske celice ali npr. tkivno nesorodne celice presadka. Limfociti T_c se reverzibilno vežejo na ciljne celice s TCR, kot tudi s številnimi drugimi celičnimi površinskimi receptorji (5, 6).

MOTNJE CELIČNO POSREDOVANE IMUNOSTI

Vzrok so lahko primarne ali sekundarne imunske motnje.

Primarne imunske motnje (Tabela 2 in 3): pri hudi kombinirani imunski pomanjkljivosti gre za okvaro protitelesne in celično posredovane adaptivne imunosti. Gre za mutacije v genih za citokinske receptorje. Ker imajo pri regulaciji adaptivne imunosti posredno vlogo celice T_h , so prisotne motnje tako celične kot protitelesne imunosti. Otroci imajo npr. normalno koncentracijo limfocitov B v krvi, vendar se limfociti B ne morejo diferencirati v plazmatke, zato se ne morejo odzvati na določene okužbe. Rešitev je presaditev krvotvornih matičnih celic – PKMC (7, 8).

Sekundarne imunske motnje: vzrok so lahko temeljne bolezni (npr. določeni krvni raki – levkemije, limfomi; hudi vaskulitisi), predvsem pa imunosupresivna zdravila, ki jih uporabljamo za zdravljenje rakavih bolezni (Tabela 4), za preventivo in zdravljenje presadkov ter za zdravljenje revmatskih vnetnih bolezni (RVB) in avtoimunskih bolezni (Tabeli 5 in 6). Pogosto gre za kombinacijo temeljne bolezni in imunosupresivnega zdravila oz. kombinacijo zdravil, ki lahko delujejo sinergistično.

IMUNSKJE MOTNJE GOSTITELJA IN OKUŽBE, POVEZANE S KEMOTERAPIJO IN Z IMUNOSUPRESIVNIMI UČINKOVINAMI (TABELA 4)

Glukokortikoidi: slabijo številne komponente imunskega sistema, učinek je odvisen od odmerka. Pri zdravljenju rakavih bolezni (kemoterapija s citostatiki) skušamo čim bolj specifično uničiti mitotsko aktivne tumorske celice, vendar pa se pri tem uničijo tudi normalne celice, ki se hitro delijo. To so predvsem celice kostnega mozga in ustno-črevesne sluznice (mielosupresija, mukozitis). Pogosto je neizogibna nevtropenija, zaradi

katere se zelo poveča tveganje za okužbe (endogena mikrobiota). Nevtropenija, mukoizitis in podkožni katetri so nevarnostni dejavniki za bakterijske, glivne in virusne okužbe. Tako pri nevtropeničnih kot pri ne-nevtropeničnih pacientih z rakavimi boleznimi so najpogostejše okužbe s po Gramu pozitivnimi bakterijami, predvsem zaradi dolgoletne profilakse s fluorokinoloni. V zadnjem obdobju ponovno naraščajo okužbe s po Gramu negativnimi bakterijami, pogosto večkrat odpornimi proti antibiotikom (VOB).

Citostatiki: med antimetabolite spadajo metotreksat (motnja sinteze purinskih nukleotidov), fluorouracil in gemcitabin. Metotraksat povzroča mielosupresijo s posledično nevtropenijo in od odmerka odvisen ulcerativni mukozitis. Veliki odmerki metotreksata (> 20 mg/kg) povzročijo hudo zavoro kostnega mozga s posledično okvaro tako celične kot protitelesne imunosti in pojavom oportunističnih okužb. Številni pacienti sočasno prejemajo tudi glukokortikoide.

Med alkilirajoče učinkovine spadajo ciklofosamid, klorambucin in melfalan (kemično spremenijo nukleotide, cross-linking DNK ali RNK ter zavrejo sintezo proteinov), ki povzročajo mielosupresijo z nevtropenijo in zmanjšano koncentracijo limfocitov T in B. Dodatek glukokortikoidov vse to še okrepi, zato so ti pacienti nagnjeni k običajnim in tudi oportunističnim okužbam.

Antraciklini (doksorubicin, daunorubicin, idarubicin) zavirajo sintezo RNK in DNK in tako povzročajo citotoksičnost in posledično nevtropenijo in mukozitis. Podobne učinke imajo tudi druge citotoksične učinkovine, kot so vinca alkaloidi, sestavine s platinomom, taksani, glikopeptidni antibiotiki in zaviralci topoizomeraze. Pogostejše so predvsem bakterijske okužbe in invazivna kandidoza.

Purinski analogi (fludarabin, cladribin, pentostatin) zavirajo sintezo DNA in povzročajo hudo mielosupresijo z okvaro limfocitov T in B, nevtrofilcev in monocitov. V obdobju dveh do treh mesecev od začetka zdravljenja pride do zmanjšane koncentracije limfocitov T, še posebno limfocitov Th, in to lahko traja več let. Lahko pride do hipogamaglobulinemije. Pogostejše so navadne bakterijske okužbe kot tudi številne bakterijske, virusne in glivne oportunistične okužbe, tako v zgodnjem obdobju zaradi nevtropenije kot tudi v poznejših obdobjih zaradi okvare celične imunosti. Sočasno zdravljenje z glukokortikoidi poveča pojavnost okužb z listerijami, pnevmocisto in virusom citomegalije (CMV).

Z večjo pojavnostjo okužb in tudi hudih okužb so povezani še: ibrutinib, ki je zaviralec Brutonove tirozinske kinaze (pljučnica; IGO – še posebno invazivna aspergiloza); venetoklaks, ki blokira B-celični limfom 2 protein (okrnjena protitelesna in celična imunost; nevtropenija); zaviralci proteasomov – bortezomib, iksazomib, karfilzomib (zlasti pasovec); imunomodulatorji, ki vsebujejo imid – talidomid, lenalidimid (niso povezani z večjo pojavnostjo okužb), in anti-CD38 monoklonsko protitelo daratumumab (zlasti pasovec) (5, 9–11).

IMUNSKÉ MOTNJE, POVEZANE Z NEKATERIMI KRVNIMI RAKI

Poleg kemoterapije nekateri raki, predvsem levkemije in limfomi s širjenjem v kostni mozeg in bezgavke, lahko uničijo imunske celice, zato se poveča tveganje za okužbe.

Kronična limfatična levkemija (KLL): levkemične celice, ki zamenjajo normalne limfocite v kostnem mozgu in bezgavkah, in učinki kemoterapije povečajo tveganje za okužbe. Pogoste so predvsem okvare protitelesne imunosti, kar poslabšajo še rituksimab in druga zdravila anti-CD20 ter pojav hipogamaglobulinemije. Tovrstni pacienti imajo pogosto oligoklonalne ali monoklonalne gamapatije, ki se lahko kažejo tudi s povečano koncentracijo Ig, vendar z motnjami v protitelesni imunosti. Predvsem je tveganje za okužbe s kapsuliranimi bakterijami. Pomagajo profilaktične infuzije intravenskih Ig (IVIg). Nevtropenija in motnja celične imunosti sta najverjetneje posledica kemoterapije (9, 10, 12).

Diseminiran plazmocitom (multipli mielom): gre za B-celični rak, ki je podoben KLL. Maligni B-celični klon zamenja ostale limfocite B in posledično pride do motnje protitelesne imunosti, kljub temu, da je prisotna povečana koncentracija gamaglobulinov. Mielomske celice izločajo rastni faktor beta, ki zavre vnetne odzive monocitov in makrofagov, ter zmanjšajo tvorbo protiteles IgG in IgM normalnih limfocitov B. Mielomske celice izločajo tudi vaskularni endotelijski rastni faktor, ki uničujoče vpliva na dendritične celice, in posledično pride do motnje v predstavljanju antigenov limfocitom. Odzivi na pnevmokokno cepivo so suboptimalni. Povečano je tveganje za okužbe z bakterijami s kapsulo. Hujše imunske motnje pa so posledica kemoterapije (9, 10, 13).

ANTILIMFOCITNA MONOKLONSKA PROTITELESA (TABELA 5)

Spadajo v skupino bioloških modulatorjev imunskih odzivov (biološka zdravila – BZ). V primerjavi s tradicionalnimi imunosupresivnimi učinkovinami BZ ne povzročijo globalne imunosupresije, zato ker so bolj specifična in selektivno učinkujejo na tarčne molekule in imunske poti (14–16).

Rituksimab, obinutuzumab in ofatumumab: so usmerjeni proti molekulam CD na limfocitih B. Posledično pride do zmanjšane koncentracije limfocitov B, kar traja 6 do 9 mesecev ali celo več. Lahko pride tudi do hipogamaglobulinemije. Večja je pojavnost hudih okužb, tako ne-oportunističnih kot tudi oportunističnih. Lahko je prisotna tudi huda in vztrajna hipogamaglobulinemija, še posebno pri več ciklih zdravljenja. Podobna je na X vezana agamaglobulinemija ali splošna variabilna imunodeficienca (CVID), pri katerih je potrebno preventivno dajanje IVIg.

Alemtuzumab (anti-CD52): se uporablja za zdravljenje: aplastične anemije, perifernega in kožnega T-celičnega limfoma; za pripravo na PKMC; za indukcijo imunosupresije ali zdravljenje akutne zavrnitve pri presaditvi čvrstih organov (PČO), za zdravljenje revmatoidnega artritis (RA) in za preventivo bolezni presadka proti gostitelju (GVHD). Po 14 dneh pride do hude limfopenije (celice B in T) in do zmanjšanja koncentracije celic naravnih ubijalk (celic NK) in monocitov, kar traja 12 mesecev. Pri tretjini pacientov se po 4 tednih razvije hipogamaglobulinemija, ki traja 2 do 3 tedne. Posledično pride v 35 do 65 % do ne-oportunističnih in oportunističnih okužb (najpogosteje reaktivacija CMV in invazivna aspergiloza).

ZDRAVILA, KI JIH UPORABLJAMO PRI REVMATSKIH VNETHIH BOLEZNIH (RVB) IN NEKATERIH DRUGIH IMUNSKIH OZ. VNETHIH BOLEZNIH

Ciklofosamid: je eno od najučinkovitejših imunosupresivnih zdravil. Uporablja se za zdravljenje hudih sistemskih vaskulitov z večorgansko prizadetostjo in za hude, z »imunskimi kompleksi posredovane« oblike sistema eritematoznega lupusa (SLE) (5, 9). Za vzdrževanje remisije uporabimo manj toksične učinkovine: metotreksat, azatioprin, mikofenolatmofetil – MMF ali leflunomid.

Napredek v molekularni imunologiji je omogočil razvoj tarčnih oz. BZ, ki se vpletajo v imunopatogenezo številnih bolezni, tako da vplivajo na delovanje citokinov in limfocitov ter posledično zavirajo aktivacijo celic T in zmanjšajo koncentracijo limfocitov B. Imunosupresija ni tako globalna, vendar lahko zaradi součinkovanja drugih imunosupresivnih učinkovin, ki so pogosto vključene v režime zdravljenja, vseeno pride do hudih okužb. Z meta-analizo 106 randomiziranih kliničnih raziskav so dokazali, da imajo pacienti z RA, pri katerih so v režim zdravljenja vključena BZ, značilno več hudih okužb kot pacienti, ki so se zdravili s tradicionalnimi zdravili (metotreksat, leflunomid, azatioprin, ciklosporin) (5).

Zaviralci tumorje nekrotizirajočega faktorja – TNF (anti-TNF) (Tabela 6): zmanjšajo migracijo vnetnih celic na mesto okužbe. Zaradi zmanjšanja tvorbe granulomov so nevarni predvsem znotrajcelični mikrobi in latentne okužbe, ki so pod nadzorom celične imunosti. Gre za monoklonska protitelesa proti TNF, razen etanercepta, ki je cirkulirajoči topni receptor in deluje kot vaba za TNF; pri etanerceptu je nevarnost za okužbe manjša. Najpogosteje gre za tipično tuberkulozo ter zunajpljučno ali razsejano tuberkulozo, za invazivne glivne okužbe (IGO) ter reaktivacijo virusa hepatitisa B (HBV) in hepatitisa C (HCV) (17, 18).

Anakirna (Tabela 6): zavre IL-1. Uporabljamo jo za zdravljenje RA (je manj učinkovita kot anti-TNF), Stillove bolezni, »periodičnega sindroma, ki je povezan z receptorjem 1 za TNF (TRAPS)«, in za zdravljenje neonatalne multisistemske inflamatorne bolezni (NOMID). Zapleti z okužbami niso tako pogosti kot pri anti-TNF; lahko se pojavi tuberkuloza in druge oportunistične okužbe (19).

Tocilizumab (Tabela 6): zavre IL-6. IL-6 se vpleta v diferenciacijo limfocitov B in T ter v vnetne odzive. Tocilizumab je povezan s pogostimi ne-oportunističnimi (pljučnica, sepsa, celulitis) in oportunističnimi okužbami (pasovec, PCP, okužbe z ne-tuberkuloznimi mikobakterijami, tuberkuloza ter IGO) (20, 21).

Belimumab (Tabela 5): zavira limfocite B in ga uporabljamo za zdravljenje SLE. Pogosteje se pojavljajo ne-oportunistične okužbe (pljučnice, celulitis, okužbe sečil) in oportunistične okužbe (progressivna multifokalna levkoencefalopatija – PML, pljučnica CMV, IGO).

Abatacept (Tabela 5): zavre aktivacijo limfocitov B. Uporablja se za zdravljenje RA. Pojavnost okužbe je podobna kot pri placebo.

Natalizumab (Tabela 6): zavre integrinske molekule in tako prepreči kemotakso v črevesju (Crohnova bolezen) in v osrednjem živčevju (multipla skleroza), kjer zmanjša raz-

merje med CD4/CD8 + limfociti in omogoči reaktivacijo virusa JC (PML) ter herpesvirusov (virus herpesa simpleksa – HSV, virus varičele zostra – VZV).

Fingolimod (Tabela 6): se uporablja za zdravljenje ponavljajoče se multiple skleroze. Blokira sproščanje limfocitov iz bezgavk. Povečano je tveganje za oportunistične okužbe (PML, kriptokokni meningitis, razsejana primarna okužba z VZV ter encefalitis HSV) (5).

Zaviralci JAK (Tabela 6): encimi Janus-kinaze (JAK) se nahajajo predvsem v hematopoetskih celicah. Znotrajcelične poti JAK/STAT uporabljajo številni provnetni citokini, rastni faktorji in hormoni, ki so udeleženi v imunopatogenezi številnih imunsko posredovanih boleznih, vključno z RA. Tofacitinib je zaviralec JAK in ga uporabljamo za zdravljenje RA pri neučinkovitosti metotreksata. Zaradi zmanjšanja imunske aktivacije je povečana pojavnost hudih okužb, še posebno pri sočasnem zdravljenju z glukokortikoidi in včasih tudi z metotreksatom. Najpogostejše so: pljučnice, celulitis, okužbe sečil ter oportunistične okužbe, predvsem pasovec, PCP, okužbe s CMV in virusom BK, lokalna in razsejana kriptokokoza, kandidoza požiralnika ter tudi tuberkuloza (22). Zaviralec JAK-2 ruksolitinib ima podobne, že opisane sopojuje, uporabljamo pa ga pri mieloproliferativnih boleznih.

Ekulizumab (Tabela 6): zavre terminalno aktivnost komplemента, kar ima za posledico večjo dovzetnost za okužbe z bakterijami, ki imajo kapsulo. Uporablja se za zdravljenje atipičnega hemolitično-uremičnega sindroma in paroksizmalne nočne hemoglobinurije. Pride lahko do življenjske ogrožajoče meningokokne okužbe ter okužb s pnevmokoki ter hemofilusi. Pred zdravljenjem je potrebno cepljenje (23).

Fenitoin (Tabela 4): pri 20 % pride do zmanjšanja koncentracije IgA, ki je v 5 % lahko zelo huda. Včasih pride tudi do panhipogamaglobulinemije (5).

IMUNOSUPRESIVNE UČINKOVINE ZA PREVENTIVO IN ZDRAVLJENJE ZAVRINITVENE REAKCIJE PRI PRESADITVI ČVRSTIH ORGANOV

Večinoma se uporablja kombinacija metilprednizolona, antimetabolita (azatioprin ali MMF ali mikofenolična kislina – MPA) in kalcinevrinski zaviralec (ciklosporin ali takrolimus). Pri presaditvi ledvic, če uporabljamo strategijo manjših odmerkov ali odložene uvedbe kalcinevrinskih zaviralcev indukcije imunosupresije, dodamo v imunosupresivni program še protilimfocitna protitelesa, kot sta antitimocitni globulin (ATG), basiliximab ali alemtuzumab. Pozneje postopoma zmanjšamo odmerke imunosupresivnih zdravil.

Antimetaboliti: azatioprin (uporablja se tudi za zdravljenje RA) povzroča predvsem levkopenijo. Je manj učinkovit kot MMF, zato v večini centrov dandanes uporabljajo MMF, ki zavira proliferacijo limfocitov in povzroča predvsem okvare celično posredovane imunosti (nevaren je predvsem pri odmerku > 2 g/dan). Uporablja se ga tudi za zdravljenje številnih avtoimunskih boleznih, ker ni potrebno sočasno zdravljenje z glukokortikoidi.

Ciklosporin (ciklični peptid) in takrolimus (makrolid): uporabljamo ju za preprečevanje zavrinitvenih reakcij in vse bolj za zdravljenje različnih RVB. Znotrajcelično zavreta kalcinevrin, ki je pomemben pri tvorbi citokinov (zavora genov), pomembnih za aktivacijo

limfocitov T, predvsem limfocitov T_h. Glede pojava okužb ni razlik med ciklosporinom in takrolimusom. Pri zadnjem je nekoliko manjša pojavnost reaktivacije CMV ali primarne okužbe, čeprav je 36- do 100-krat bolj učinkovit glede imunosupresije. Verjetno je to povezano z manjšo pojavnostjo zavrnitvenih reakcij. Če se v imunosupresivnem režimu uporabijo tudi »protitelesa proti limfocitom T«, se poveča tveganje za reaktivacijo CMV in za z virusom Epstein-Barr (EBV) povezano popresaditveno limfoproliferativno bolezen (PTLD). Tveganje se poveča tudi za IGO, predvsem pri nevtropeniji (invazivna aspergiloza in invazivna kandidoza) in pri poškodbah kožno-sluzničnih pregrad (invazivna kandidoza). Zanimivo pa je, da kalcinevrinski zaviralci *in vitro* preprečujejo diseminacijo aspergilov in kriptokokov, vendar *in vivo* prevladajo imunosupresivni učinki drugih zdravil.

Sirolimus (rapamicin) in everolimus (Tabela 4): sta makrolidna antibiotika. Zavreta mTOR, ki regulira translacijo mRNA, ki je pomembna za celično delitev. Posledično pride do zavore aktivacije in proliferacije limfocitov T. Poveča se tveganje za okužbe z znotrajceličnimi mikrobi. Zaradi ohranjenih plazmatk je dovolj protiteles, ki pacienta ščitijo pred okužbami z zunajceličnimi bakterijami; zaviralci mTOR ščitijo tudi pred reaktivacijo CMV in IGO.

OKT3 (mišja monoklonska protitelesa; anti-CD3) (Tabela 5): uporabljamo jih pri zavrnitvenih reakcijah, ki so odporne proti glukokortikoidom. Reaktivacija CMV se poveča za petkrat, poveča se tudi tveganje za PTLD ter tveganje za oportunistične in tudi za ne-oportunistične okužbe.

Antitimocitni globulin (ATG) (Tabela 5): gre za zajčja ali konjska poliklonska protitelesa. Limfopenija lahko vztraja še eno leto. Poveča se tveganje za CMV in tudi druge oportunistične okužbe.

Basiliximab (Tabela 5): to so bolj specifična monoklonska protitelesa, ker ciljajo le na določene tarče imunskega sistema. Vežejo se na verigo alfa receptorja IL-2 in tako preprečijo proliferacijo limfocitov T s posledično manjšo pojavnostjo zavrnitvenih reakcij in tudi manj okužbami v primerjavi s starejšimi učinkovinami (5, 24–27).

URNIK OKUŽB PRI PRESADITVI ČVRSTIH ORGANOV (PČO) (TABELA 7)

Z imunosupresivnimi režimi zavremo limfocite T, da preprečimo zavrnitev organa in omogočimo dolgotrajno delovanje presadka. Imunosupresivni režimi so pri vseh PČO podobni: temeljni zdravili sta ciklosporin ali takrolimus plus antimetabolit (MMF) plus majhen odmerek metilprednizolona. Tveganje za okužbe je povezano s stopnjo imunosupresije (odmerek, režim) ter stopnjo izpostavitve mikrobom (prekuženost s herpesvirusi, z virusi hepatitisov itd.). Urnik okužb razdelimo v 3 obdobja:

1) Prvi mesec po presaditvi: okužbe so povezane z darovalcem in/ali s hospitalnimi okužbami.

2) Obdobje od 2. do 6. meseca: v tem obdobju je najhujša celično posredovana imunosupresija. Pomembna je zaščita z valganciklovirom, ki prejemnika ščiti pred CMV in drugimi herpesvirusi, ter zaščita s trimetoprimom/sulfametoksazolom (TMP/SMX), ki prejemnika ščiti prvenstveno pred PCP in tudi toksoplazmozo. Pri tveganju za reaktiva-

cijo HBV je potrebna zaščita z entekavirom ali tenofovirom. V tem obdobju lahko pride do okužbe ali reaktivacije virusa parvo B19 (anemija), aktivacije virusa BK (cistitis, nefritis) in virusa JC (PML). Pride lahko tudi do listerioze, legionarske bolezni, nokardioze, tuberkuloze in IGO (aspergiloza, kriptokokoza, edemske mikoze), redkeje pa do okužbe s paraziti (strongiloidoza, toksoplazmoza, lišmanioza, tripanosomioza itd.), kar je predvsem povezano z izpostavitvami darovalca in/ali prejemnika v endemskih krajih. Običajne virusne okužbe dihal (virusi influence, parainfluenca, respiratorni sincicijski virus – RSV) so lahko zelo hude. Nevarne so tudi bakterijske hospitalne okužbe, ki so pogosto povzročene z VOB.

3) Obdobje več kot 6 mesecev po presaditvi: dovzetnost za okužbe je odvisna predvsem od funkcije presadka (dobrodošla je minimalna potreba po imunosupresiji) in od morebitne prisotnosti kroničnih okužb s CMV, EBV in HBV ali HCV. Tudi pri »ugodnih okoliščinah« moramo pri nejasnih vročinskih stanjih oziroma neopredeljenih okužbah vedno misliti tudi na oportunistične okužbe, ki se lahko pojavljajo še več let po presaditvi (5).

URNIK OKUŽB PRI PRESADITVI KRVOTVORNIH MATIČNIH CELIC – PKMC (TABELA 8 IN 9):

izvor krvotvornih matičnih celic: avtologni ali alogenski kostni mozeg, matične celice periferne krvi ali popkovna kri.

Nevarnosti so predvsem zaradi priprave pacienta pred presaditvijo (eradikacija temeljne bolezni in preprečitev zavrnitve presadka) in zaradi morebitne posledične GVHD. Pred presaditvijo je potrebno obsevanje celega telesa in kemoterapija (ciklofosfamid) s posledično mielotoksičnostjo in mukozitisom. Urnik okužb delimo v 3 obdobja:

1) Pred vsaditvijo oz. začetkom delovanja kostnega mozga (do 30 dni po presaditvi): v tem obdobju so v ospredju kožno-sluznične okvare, nevtropenija z okvaro fagocitoze in motnje delovanja organov. Pojavljajo se predvsem bakterijske okužbe (v zadnjem obdobju so pogostejše spet po Gramu negativne bakterije, pogosto VOB). Glavni vzroki za invazivne kandidoze so kožno-sluznične poškodbe, nevtropenija, uporaba širokospektralnih antibiotikov, večorganske okvare ter kolonizacija kože in sluznic z velikimi koncentracijami kandid (veliko glivno breme). Zaradi dolgoletne profilakse s flukonazolom so vse bolj pogoste invazivne kandidoze, povzročene z *ne-albicans* kandidami. V tem obdobju so možne tudi okužbe z aspergili, z zigomicetami in drugimi plesnimi: hialohifomikoze (*Fusarium*, *Scedosporium*), feohifomikoze (*Alternaria*, *Curvularia*, *Bipolaris*), ki pa niso tako pogoste. Pojavljajo se predvsem pri pacientih, ki imajo zapoznel začetek delovanja kostnega mozga in zato dolgotrajnejšo nevtropenijo. Plesni večinoma prizadenejo pljuča, sinuse in kožo. V odsotnosti zaščite (aciklovir ali valganciklovir) najpogosteje pride do okužb s HSV (mukozitis, ezofagitis, traheobronhitis, pnevmonitis itd.). Pogosti so tudi respiratorni virusi (RSV, parainfluenca, influenza A, B, rinovirusi itd.).

2) Zgodnje obdobje po vsaditvi oz. začetku delovanja kostnega mozga (do 100 dni po presaditvi): v tem obdobju pride zaradi predhodne priprave pacienta na transplantacijo in zaradi mieloablacije v prvi vrsti do okvar celično posredovane imunosti. Predvsem genetska (ne)sorodnost darovalca vpliva na pojav akutne GVHD in posledično povečano tveganje za okužbe. Večje tveganje je pri alogenski PKMC. V primeru, da je darovalec HLA (humani levkocitni antigen) enak in soroden, so bolj podobni tudi minorni antige-

ni HLA kot pri nesorodnih darovalcih, ki imajo enake vse lokuse HLA. Zato je tveganje za GVHD veliko večje pri enakih nesorodnih darovalcih HLA. Tveganje za GVHD pri neenakosti darovalca lahko zmanjšamo z okleščanjem koncentracije limfocitov T, vendar to tudi poveča tveganje za hude okužbe (CMV, invazivna aspergiloza itd.) in v nadaljevanju prav tako za ponovitev krvne rakave bolezni. Tveganje za okužbe se razlikuje tudi glede na izvor krvotvornih matičnih celic: periferna kri, kostni mozeg ali iz popkovne krvi. Tudi v tem obdobju je tveganje za okužbe z bakterijami, kandidami, legionelami, listerijami itd. Ob zaščiti s TMP/SMX je pojavnost PCP zelo majhna (manj kot 1 %). Povečano tveganje pa je za okužbe s plesnimi, zlasti za invazivno aspergilozo, še posebno pri akutnem GVHD ter pri velikih odmerkih glukokortikoidov (metilprednizolon več kot 0,8 mg/kg). Signifikantno večja pojavnost je pri alogenski kot pri avtologni PKMC (5–30 % vs. 1–5 %). CMV se v povprečju pojavi osem tednov po presaditvi (v 70–80 %), kar je odvisno tudi od serološkega statusa prejemnika in darovalca. Zgodnjo bolezen uspešno preprečujemo s profilakso, pozna (po ukinitvi profilakse) pa je problem, predvsem pri kronični GVHD. Možne so tudi druge virusne okužbe, npr. z virusom humanega herpesa tipa 6 (HHV-6) in z respiratornimi virusi; adenovirusi se reaktivirajo pri 80 %, pri manj kot 2 % pa povzročijo bolezen (pnevmonitis, kolitis, nefritis ali cistitis). Med paraziti je najpogostejša toksoplazmoza.

3) Pozno obdobje po vsaditvi oz. začetku delovanja kostnega mozga (več kot 100 dni po presaditvi): okužbe se pojavljajo predvsem pri alogenski PKMC, pri kroničnem GVHD, ki povzroča okvare tako celične kot protitelesne imunosti, hiposplenizem, slabšo opsonizacijo in slabše delovanje MFS. Poleg večje pojavnosti ne-oportunističnih in oportunističnih okužb se zaradi okvare protitelesne imunosti zelo poveča tveganje tudi za okužbe s kapsuliranimi bakterijami. Pri kroničnem GVHD se poveča tveganje tudi za virusne okužbe, še zlasti za EBV. Ta se pojavi 3 do 5 mesecev po PKMC in VZV, ki se pojavlja 6 do 9 mesecev po PKMC. Reaktivacija EBV je pogosta, bolezen pa redka: mononukleozi podobna bolezen, vročina, nevtropenija, aplastična anemija, oralna lasasta levkoplakija in PTLD. Največje tveganje za PTLD je pri alogenski PKMC od enakega nesorodnega darovalca in od neenakega ali z limfociti T okleščenega darovalca, ki ima kronično GVHD in je prejel limfocitna protitelesa za profilakso GVHD. Pri tovrstnih bolnikih lahko pride tudi do izgube B-celične specifične imunosti proti ošpicam, mumpsu, rdečkam, parvovirusom B19, JC ter BK. Reaktivacija HBV in HCV se pojavi pri več kot 70 %, vendar redko pride do bolezni (5).

PREVENTIVA GVHD PRI PKMC

Najpogosteje se uporablja kombinacija metotreksata in ciklosporina. Če ni potrebna zelo intenzivna imunosupresija, pa kombinacija ciklosporina in MMF. Pri nesorodnih in tudi sorodnih darovalcih dodajo ATG. Takrolimus in sirolimus sta alternativni učinkovini, če pride do toksičnosti primarnih režimov. Glukokortikoidi so najprimernejši za zdravljenje akutne oblike GVHD. Pri neodzivnosti pridejo v poštev takrolimus, sirolimus, MMF, ATG, OKT3, etarcept, rituksimab in alemtuzumab. Najpogosteje pa se odločamo za zunajtelesno fototerapijo (fotofereza). Poleg imunosupresivnih zdravil tudi sama GVHD poveča tveganje za okužbe. GVHD kože in sluznic okvari kožno-sluznično pregrado. Kronična GVHD je povezana z okvaro tako celične kot protitelesne imunosti in tudi mononuklearnega fagocitnega sistema (MFS; prej se je imenoval RES).

Zato je povečano tveganje za ne-oportunistične in za oportunistične okužbe, predvsem IGO (invazivna aspergiloza, mukor in druge plesni; PCP), ter za virusne okužbe (CMV, VZV, EBV). Zaradi hipogamaglobulinemije, ki se pogosto pojavlja pri GVHD, se poveča tveganje za okužbe s kapsuliranimi bakterijami (pnevmokoki, hemofilusi) (5, 28–29).

NEMIELOABLATIVNA ALOGENSKA PKMC

Manj intenzivni režimi kondicioniranja se uporabljajo pri starejših bolnikih oz. pri osebah s hudimi temeljnimi boleznimi. Zaradi manj intenzivne priprave je posledično manj mukozitizov, nevtropenije so krajše, ohranjen pa je učinek presadka proti levkemiji. V takih shemah so pogosto fludarabin, busulfan, tiotepa, ciklofosamid. Tveganje za okužbe pa je podobno kot pri mieloablativnih režimih, vključno z reaktivacijo CMV in invazivno aspergilozo. Vse okužbe pa imajo časovni zamik (30).

VIRUS EBV

Okuži limfocite B in povzroči njihovo proliferacijo, dokler ne pride do kontrole okužbe limfocitov T, ki jih vidimo v periferni krvi kot reaktivne limfocite. EBV imajo gen BCRF1, ki je zelo podoben genu za IL-10. Zato z EBV okuženi limfociti B izdelujejo IL-10, ki je faktor za rast in diferenciacijo limfocitov B, poleg tega pa je tudi negativni regulator za aktivnost limfocitov T_H1, ki izločajo IL-2 in IFN-gama, ki sta glavna citokina za reakcijo pozne preobčutljivosti in celično posredovane imunske odzive. Zato so pacienti med infekcijsko mononukleozo in tudi še mesece pozneje lahko anergični z motnjami v imunskih odzivih na virusne in znotrajcelične mikrobe (npr. mikobakterije). EBV lahko povzroči hipogamaglobulinemijo in pancitopenijo (večinoma prehodno). Pri imunsko zdravih redko, pri osebah z na X vezanim limfoproliferativnim sindromom pa lahko EBV povzroči kronično okužbo, pancitopenijo, hudo hipogamaglobulinemijo, hemofagocitno limfohistiocitozo (HLH), limfoproliferativni sindrom ali B-celični limfom (5).

NEKATERE KRONIČNE BOLEZNI

Sistemski eritematozni lupus (SLE): gre za motnje naravne in adaptivne imunosti ter dodatne okvare zaradi zdravil (ciklofosamid, veliki odmerki metilprednizolona, plazmofereza). Gre za globalne imunske motnje.

Kronične jetrne bolezni: v jetrih se tvori komponenta C3 komplementa in posledično pride ob jetrni bolezni zaradi pomanjkanja te komponente do motenj v opsonizaciji bakterij. MFS v jetrih je pomemben filter bakterij v krvi. Pri cirozi pride do portosistemskih obvodov in tako portalna kri pride v sistemski krvni obtok mimo MFS s posledičnimi bakteriemijami. Pacienti s cirozo imajo motnjo v delovanju limfocitov T. Slabše se odzivajo na cepljenje. HCV vpliva na dendritične celice in posledično pride do slabšega predstavljanja antigenov limfocitom T. Podobno je tudi pri HBV.

Končna odpoved ledvic: smrt zaradi sepse je 100- do 300-krat bolj pogosta kot v splošni populaciji. Imunska motnja nastane zaradi slabše fagocitoze, slabšega ubijanja nevtrofilev, manjše koncentracije protiteles in motnje delovanja limfocitov T, tako naivnih kot tudi spominskih. Posledično se poveča tveganje za okužbe (5).

STAROSTNIKI

Gre za motnjo v adaptivni imunosti. Zaradi involucije timusa se po 40. letu starosti zmanjša tvorba naivnih limfocitov T in zato se zmanjša količina potencialnih spominskih celic. Pride tudi do premika imunskih odzivov k limfocitom T_H2 in do relativno zmanjšane razmerja CD4/CD8. Koncentracija serumskih Ig se ne spremeni, vendar pa pride do motnje primarnih in sekundarnih protitelesnih imunskih odzivov. Učinek cepljenja proti gripi je pri mlajših učinkovit v 70 do 90 %, po 65. letu pa samo v 30 do 40 %. Zaradi motenj pri delovanju limfocitov T in B se poveča pojavnost okužb s pnevmokoki, RSV, virusi influence in streptokoki skupine B ter pojavnost sepse, pasovca in tuberkuloze. Naravna imunost ostane s starostjo nespremenjena (5).

ZAKLJUČEK

Za klinika je pomembno zavedanje, da niso vse osebe z imunsko motnjo enako dovzetne za okužbe. Pacienti z določenimi imunskimi motnjami so dovzetni za specifične okužbe oz. infekcijske bolezni: ne-oportunistične in oportunistične; lahko multiple; lahko se razvijejo hitro (septični šok), lahko postopno (PCP, tuberkuloza, kriptokokni meningitis), lahko tudi pozno po ukinitvi imunosupresivnega zdravljenja (npr. eno leto po ukinitvi rituksimaba). Hujšo imunsko motnjo ima pacient in bolj je prizadet, hitreje moramo okužbo prepoznati in zdraviti. Včasih je treba zmanjšati ali celo ukiniti imunosupresivno zdravljenje. Tveganje za določene okužbe lahko preprečimo še pred uvedbo imunosupresivnih zdravil (cepljenje, kemoprofilaksa, svetovanje). Nekatere okvare gostiteljeve obrambe so posledice okolja (npr. izpostavitve imunosupresivnim zdravilom ali določenim virusom), druge pa posledice genetskih značilnosti (npr. primarne imunske motnje). Vpogled v človeški genom nam omogoča spoznanja o genetski variabilnosti (polimorfizmi), zaradi katerih so posamezniki bolj dovzetni za določene okužbe in za toksičnost določenih zdravil.

Tabela 1. Komponente imunskega sistema (5).

Komponenta	Naravna imunost	Adaptivna imunost
celice	nevtrofilci, monociti/makrofagi, celice naravne ubijalke (celice NK)	limfociti B, limfociti T
receptorji	izražene na vseh celicah določenega tipa (npr. na makrofagih); prepoznajo širok nabor mikrobov	klonska razporeditev na posameznih celicah; velika specifičnost
topni dejavniki	komplement, kemokini, citokini, lektin, ki veže manozo	protitelesa, citokini (IL-2, -4, -5, -6, -10)
sprememba pri ponovni izpostavitvi antigenu	ne	da (klonska ekspanzija, spominski limfociti)

IL = interlevkin.

Tabela 2. Primarne imunske motnje (5).

Imunska motnja	Bolezen
protitelesna imunost	na X-vezana agamaglobulinemija, splošna variabilna imunska pomanjkljivost (CVID), pomanjkanje IgA, sindrom Wiskott-Aldrich*
protitelesna in celično-posredovana imunost	huda kombinirana imunska pomanjkljivost
celična imunska pomanjkljivost	kronična kožno-sluznična kandidoza
komplement	klasična pot (pomanjkanje C1q, r, sC4, -2, -3), alternativna pot (faktor D, -I, -H; properdin) terminalne komponente (pomanjkanje C5 do C9) na manan vezana lektinska pot

*Lahko tudi motnje celično-posredovane imunosti

Tabela 3. Bolezni, ki so povezane s primarnimi imunskimi motnjami (5).

Imunska motnja	Okužbe	Druge bolezni
protitelesna imunost	sinu-pulmonalne (piogene bakterije, virusi); črevesne (enterovirusi, Giardia)	avtoimunske bolezni (avtoprotitelesa, kronična vnetna črevesna bolezen)
celično posredovana imunost	širok nabor mikrobov in op. ok.: pljučnica (piogene bakterije, <i>Pneumocystis jirovecii</i> , virusi); črevesne (virusi); koža in sluznice (glive)	
komplement	sepsa (streptokoki, pnevmokoki, meningokoki)	avtoimunske bolezni (SLE, glomerulonefritis)
fagociti	koža, MFS (stafilokoki, enterobakterije, glive, mikobakterije)	

Op. ok. = oportunistične okužbe; SLE = sistemski eritematozni lupus; MFS = mononuklearni fagocitni sistem (prej imenovan RES).

Tabela 4. Imunske motnje gostitelja in okužbe, povezane s kemoterapijo in z nekaterimi drugimi imunosupresivnimi učinkovinami (5, 9–11).

Učinkovina	Vpliv na imunske odzive	Okužbe oz. povzročitelji
glukokortikoidi	↓ kemotaksa, inhibicija fagocitoze, mikrobicidne funkcije in funkcije celic T	običajne ok. ¹ in op. ok. ² (bakterijske, virusne, glivne, parazitske)
citotoksične učinkovine ³	mielosupresija, posebno pri ↑ odmerkih: nevtropenija, včasih limfopenija in mukozitis	bakterijske ok. (po G+ in G-) ⁴ , kandidoza in aspergiloza
purinski analogi ⁵	nevtropenija, limfopenija ± hipogamaglobulinemija	inkapsulirane po G+ in G- bakterije; op. ok.: herpesvirusi, mikobakterije, glive (kandide, aspergili, kriptokoki)
ibrutinib	TLR ⁶ – posredovano prepoznavanje mikrobov, ↑ aktivnost celic naravne imunosti	nekoliko več bakterijskih, glivnih (aspergiloza) in virusnih okužb
venetoklaks	zaviralec BCL-2 ⁷	okrnjena protitelesna in celična imunost; nevtropenija
zaviralci proteasomov	preprečijo razgradnjo proteinov v celicah	pasovec; pljučnica; hujši potek gripe
azatioprin	zavrejo proliferacijo celic B in T, ↓ tvorbo protiteles; mielosupresija	bakterijske ok. (levkopenija), pasovec, CMV ⁸ , virus JC (PML) ⁹ ; reaktivacija HBV in HCV ¹⁰ , PCP ¹¹ , nokardije
ciklosporin, takrolimus	↓ tvorba IL-2 in drugih citokinov, ki jih izločajo limfociti T _h	CMV, EBV (PTLD) ¹² virus JC (PML); BK nefropatija ¹³ , reaktivacija HCV
mikofenolatmofetil (MMF)	↓ proliferacija celic T in B; ↓ tvorba protiteles; levkopenija	herpesvirusi, reaktivacija HBV in HCV ter virusa JC (PML); kožno-sluznična kandidoza; PCP, kriptokokoza, aspergiloza in ok. z <i>Mucor</i> spp.
rapamicin (sirolimus), everolimus	↓ aktivacije in proliferacije celic T; ↓ tvorbe protiteles	herpesvirusi, PCP, EBV (PTLD); BK nefropatija; virus JC (PML); tuberkulozne in ne-tuberkulozne mikobakterije
fenitoin	pomanjkanje IgA ali hipogamaglobulinemija	bakterijske ok. (tudi kapsulirane), respiratorni virusi; enterovirusi; <i>Giardia</i>

¹ ok. = okužbe; ² op. ok. = oportunistične okužbe; ³ citotoksične učinkovine = **antimetaboliti**: metotreksat, f-fluorouracil, gemcitabin; **alkilirajoče učinkovine**: ciklofosamid, klorambucil, melfalan; **antraciklini**: doksorubicin, daunorubicin, idarubicin, mitoksantron; **ostali citostatiki**: vinkristin, vinblastin, cisplatin, bleomicin; ⁴ po Gramu; ⁵ purinski analogi = fludarabin, cladribin, pentostatin; ⁶ TLR = angl. Toll-like receptor (tolični receptorji); ⁷ BCL-2 = B-celični limfom 2 protein; ⁸ CMV = virus citomegalije; ⁹ PML = progresivna multifokalna levkoencefalopatija; ¹⁰ HBV in HCV = virus hepatitisa B in hepatitisa C; ¹¹ pljučnica *Pneumocystis jirovecii*; ¹² EBV (PTLD) = virus Epstein-Barr (posttransplantacijska limfoproliferativna bolezen); ¹³ nefropatija, ki jo povzroča virus BK.

Tabela 5. Biološka zdravila, ki delujejo proti limfocitom (5, 10).

Imunomodulacija	Učinkovine	Tarčna celica	Mehanizem	Imunski učinek	Infekcijski zapleti	Indikacije za zdravljenje
antitimocitni globulin	timoglobulin (zajčji); Atgam (konjski)	limfociti T	poliklonski Ig proti humanim T-celičnim markerjem; ↓ št. celic T s celično smrtjo; ukinitve T-celične/Ag predstavitve	↓ št. cirkulirajočih limfocitov; sprememba delovanja celic T pri protitelesni in celični imunosti	herpesvirusi: posebno CMV, tudi HSV in EBV	zavrnitev presadka; profilaksa GVHD; aplastična anemija
monoklonska At proti celicam T	OKT3	limfociti T	veže se na kompleks TCR-CD3 na celicah T in blokira njihovo delovanje	huda T-celična limfopenija in slaba funkcija	herpesvirusi (HSV, CMV, EBV-PTLD); PCP; listerije; mikobakterije; nokardije in <i>Toxoplasma gondii</i>	akutna zavrnitev presadka
	basilixsimab	limfociti T	vezava na receptor IL-2 (CD25); zavora aktivacije limfocitov	okvara specifičnih citotoksičnih T-celičnih odzivov	če dodamo steroidom in ciklosporinu, se ne ↑ incidenca okužb	zavrnitev presadka; GVHD
monoklonska At proti celicam B	rituksimab, ofatumumab	limfociti B (od pre-B-celic do plazmatk)	B-celična smrt	↓ št. perifernih celic B za > 6–9 mesecev; hipogamaglobulinemija	HBV, CMV, virus JC (PML); herpesvirusi; parvovirus B19; virus ZN; enterovirusni encefalitis; če huda hipogamaglobulinemija, ↑ virusne in bakterijske sinu-pulmonalne okužbe	B-celični ne-Hodgkinov limfom; KLL; RA; GPA; MPA
	belimumab	limfociti B	zavre vezavo BlyS na B-celični receptor	zavre preživetje celic B; zmanjša spremembo celic B v plazmatke	celulitis; pljučnica; virus JC (PML); pljučnica CMV; endemske mikoze	SLE
monoklonska At proti celicam T in B	alemtuzumab (Campath in Lemtrada)	limfociti T in B; monociti; makrofagi; celice NK	od At odvisna in s komplementom posredovana liza po vezavi na CD52	hudo in dolgotrajno ↓ št. celic T in B, celic NK in monocitov	sepsa, pljučnica; herpesvirusi; HBV; HCV; adenovirus; virus JC; IGO; aspergiloza; kriptokokoza; mukormikoza; histoplazmoza; nokardioza; tbc; toksoplazmoza	Compath za B-celično KLL; Lemtrada za relapse multiple skleroze
fuzijski proteini, ki prekinjajo T-celično kostimulacijo	abatacept	limfociti T	veže se na celice CD80 in CD86, ki predstavljajo Ag	zavira aktivacijo celice T	bakterijske pljučnice; celulitis, okužbe sečil	refraktarni RA, juvenilni idiopatski artritis

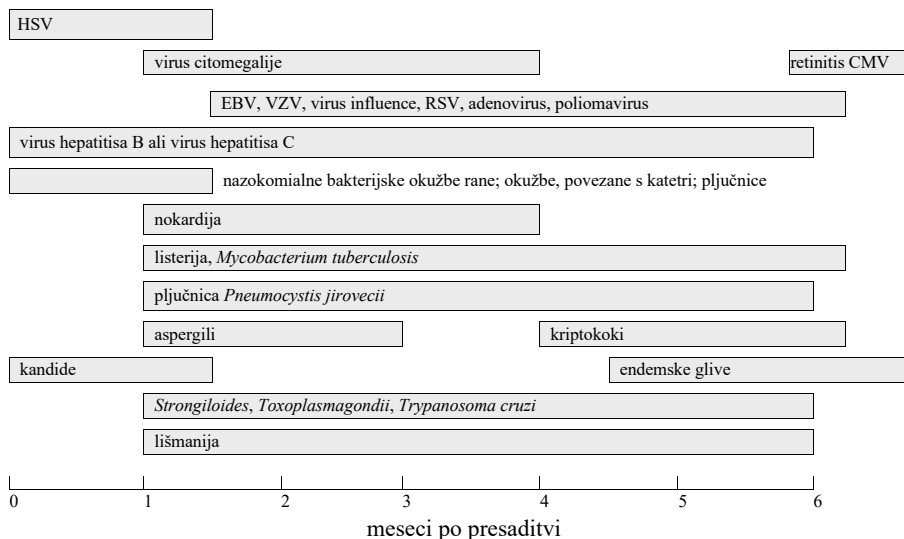
Ig = imunoglobulin; At = protitelo; Ag = antigen; CMV = virus citomegalije; HSV = virus herpesa simpleksa; EBV = virus Epstein-Barr; GVHD = *angl.* Graft versus host disease (bolezen presadka proti gostitelju); TCR = T-celični receptor; PTLT = posttransplantacijska limfoproliferativna bolezen; PCP = pljučnica, povzročena s *Pneumocystis jirovecii*; HBV = virus hepatitisa B; HCV = virus hepatitisa C; PML = progresivna multifokalna levkoencefalopatija; virus ZN = virus zahodnega Nila; SLE = sistemski eritematozni lupus; celice NK = celice naravne ubijalke; IGO = invazivne glivne okužbe; tbc = tuberkuloza; KLL = kronična limfocitna levkemija; RA = revmatoidni artritis; GPA = granulomatoza s poliangiitizmom; MPA = mikroskopski poliangiitis; Ag = antigen; BlyS = stimulator limfocitov B.

Tabela 6. Biološka zdravila, ki delujejo proti citokinom in drugim imunskim glasnikom (mediatorjem) (5, 14).

Imunomodulacija	Učinkovine	Tarča	Mehanizem	Imunski učinek	Infekcijski zapleti	Indikacije za zdravljenje
proticitokinska zdravila	anakirna	receptor IL-1	receptor antagonist r-h IL-1 (IL-1Ra), ki se kompetitivno veže na receptor IL-1	zavre imunske in provnetne aktivnosti IL-1	pri >100 mg/d → ↑ hude bakterijske ok. (celulitis, pljučnica)	RA, NOMID; Stillova bolezen, TRAPS
	tocilizumab	receptor IL-6	kompetitivno blokira interakcijo IL-6 z receptorjem	↓ proliferacija in diferenciacija celic T in B	bakterijske pljučnice; celulitis; sepsa; pasovec; tbc in ne-tbc; PCP, IGO	RA, juvenilni revmatoidni in idiopatski artritis
	infliksimab ¹ adalimumab ² golimumab ³ etanercept ⁴ certolizumab ⁵	TNF	veže se na TNF-alfa	motnje v: diferenciaciji monocitov v makrofage; aktivaciji makrofagov in fagosomov; kemotaksi; tvorbi granulomov	aktivna in latentna tbc; pljučnica; pasovec; ne-tbc mikobakterioza; listerije; legionele; nokardije, HBV, HCV, IGO	RA, psoriatičen artritis; seronegativne spondilartropatije; KVČB; sarkoidoza
zaviralci migracije levkocitov	natalizumab	alfa 4 integrin	blokira povezavo med integrinom in vaskularnimi receptorji in ↓ migracijo levkocitov v tkiva	↓ št. vnetnih celic v prizadetem tkivu	PML; encefalitis HSV in VZV	multipla skleroza; Crohnova bolezen; psoriza
	ingolimod	receptorji za sfingozin-fosfat 1, 3, 4, 5	ingolimod-fosfat se veže na receptorje sfingozin-fosfata 1, 3, 4 in 5	blokira sproščanje limfocitov iz bezgavk	PML; kriptokokni meningitis; diseminiran VZV; encefalitis HSV	multipla skleroza
zaviralci JAK	tofacitinib	zaviralci JAK	zavrtje JAK, prepreči fosforilacijo in aktivacijo STATs	preprečijo s citokini in rastnim faktorjem posredovano ekspresijo genov in znotrajcelično aktivnost imunskih celic; v serumu ↓ št. celic NK in Ig	pljučnica; celulitis; tbc; pasovec; EBV PTLB (pri Tx ledvic); kriptokoki; PCP; CMV, virus BK	RA (pri pacientih, kjer odpove metotraksat)
monoklonska At proti komplementu	ekulizumab	C5	veže se na C5 in prepreči delitev v C5a in C5b	zavre terminalno aktivacijo komplementa	bakteriemija/sepsa: meningokoki; pnevmokoki; hemofilusi	atipični hemolitični uremični sindrom; paroksizmalna nočna hemoglobinemija

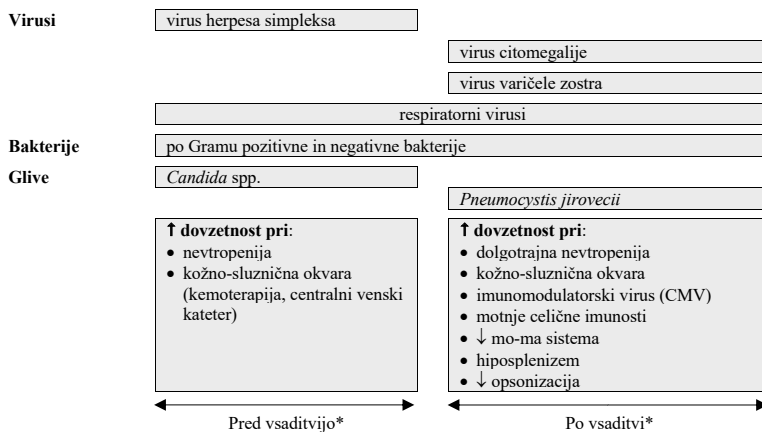
r-h = rekombinantni humani; RA = revmatoidni artritis; NOMID = neonatalna multisistemska inflamatorna bolezen; TRAPS = periodični sindrom, ki je povezan z receptorjem 1 za TNF (TNF = tumorje nekrotizirajoči faktor); tbc = tuberkuloza; PCP = pljučnica, povzročena s *Pneumocystis jirovecii*; IGO = invazivne glivne okužbe; ¹ himerično humano anti-TNF monoklonsko protitelo – mAt; ^{2,3} humano anti-TNF mAt; ⁴ topni TNF-alfa receptor fuzijski proteini; ⁵ pegol-pegiliran Fab fragment humanega mAt; HBV = virus hepatitisa B; HCV = virus hepatitisa C; KVČB = kronična vnetna črevesna bolezen; PML = progresivna multifokalna levkoencefalopatija; HSV = virus herpesa simpleksa; VZV = virus varičele zostra; JAK = Janus-kinaze; STATs = angl. signal transducers and activators of transcription (pretvorniki signala in aktivatorji prepisa); Ig = imunoglobulini; EBV PTLB = z virusom Epstein Barr povzročena posttransplantacijska limfoproliferativna bolezen.

Tabela 7. Urnik okužb po presaditvi čvrstih organov (5).



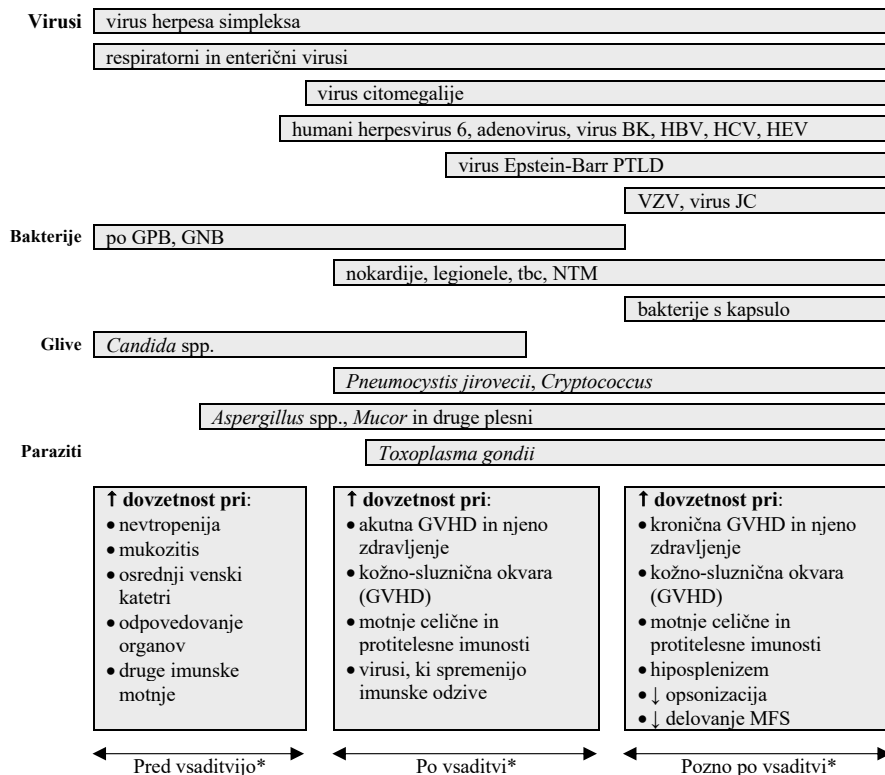
HSV = virus herpesa simpleksa; CMV = virus citomegalije; EBV = virus Epstein-Barr; VZV = virus varičele zostra; RSV = respiratorni sincijski virus.

Tabela 8. Urnik okužb po presaditvi avtoložnih krvotvornih matičnih celic (5).



CMV = virus citomegalije; * vsaditev = začetek delovanja kostnega mozga.

Tabela 9. Urnik okužb po presaditvi alogenskih krvotvornih matičnih celic (5).



* vsaditev = začetek delovanja kostnega mozga; HBV = virus hepatitisa B; HCV = virus hepatitisa C; HEV = virus hepatitisa E; PTLD = posttransplantacijska limfoproliferativna bolezen; VZV = virus varičele zostra; GNB = po Gramu negativne bakterije; tbc = tuberkuloza; NTM = ne-tuberkulozne mikobakterije; GVHD = bolezen presadka proti gostitelju; MFS = mononuklearni fagocitni sistem.

Literatura

1. Chaplin DD. Overview of immune response. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 125 (Suppl 2): S3–S23.
2. Turvey SE, Broide DH. Innate immunity. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 125 (Suppl 2): S24–32.
3. Aderem A. Phagocytosis and the inflammatory response. *J Infect Dis* 2003; 187 (Suppl 2): S340–5.
4. Skattum L, van Deuren M, van der Poll T, Truedsson L. Complement deficiency states and associated infections. *Mol Immunol* 2011; 38: 1643–55.
5. Dropulic LK, Lederman HM. Overview of infections in the immunocompromised host. *Microbiol Spectr* 2016; (4): doi: 10.1128/microbiolspec.DMIH2-0026-2016. Review.
6. Bonilla FA. Adaptive immunity. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 125 (Suppl 2): S33–S40.
7. Chinn IK, Shearer WT. Severe combined immunodeficiency disorders. *Immunol Allergy Clin North Am* 2015; 35: 671–94.
8. Cunningham-Rundles C, Maglione PJ. Common variable immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 129: 1425–6.
9. Maschmeyer G, De Greef J, Mellinghoff SC, Nosari A, Thiebaut-Bertrand A, Bergeron A, et al. Infections associated with immunotherapeutic and molecular targeted agents in hematology and oncology. A position paper by the European Conference on infections in leukemia (ECIL). *Leukemia* 2019; 33 (4): 844–62.

-
10. Los-Arcos I, Aguilar-Company J, Ruiz-Camps I. Risk of infection associated with new therapies for the treatment of lymphoproliferative syndromes. *Med Clin* 2019; S0025-7753(19)30639-6. doi: 10.1016/j.medcli.2019.07.026. [Epub ahead of print].
 11. Mateos MV, Dimopoulos MA, Cavo M, Suzuki K, Jakubowiak A, Knop S, et al. Daratumumab plus Bortezomib, Melphalan, and Prednisone for Untreated Myeloma. *N Engl J Med* 2018; 378 (6): 518–28.
 12. Tsiodras S, Samonis G, Keating MJ, Kontoyiannis DP. Infection and immunity in chronic lymphocytic leukemia. *Mayo Clin Proc* 2000; 75: 1039–54.
 13. Pratt G, Goodyear O, Moss P. Immunodeficiency and immunotherapy in multiple myeloma. *Br J Haematol* 2007; 138: 563–79.
 14. Redelman-Sidi G, Michielin O, Cervera C, Ribi C, Aguado JM, Fernández-Ruiz M, et al. ESCMID Study Group for Infections in Compromised Hosts (ESGICH) Consensus Document on the safety of targeted and biological therapies: an infectious diseases perspective (Immune checkpoint inhibitors, cell adhesion inhibitors, sphingosine-1-phosphate receptor modulators and proteasome inhibitors). *Clin Microbiol Infect* 2018; 24 (Suppl 2): S95–S107.
 15. Di Franco M, Lucchino B, Spaziante M, Iannuccelli C, Valesini G, Iaini G. Lung infections in systemic rheumatic disease: Focus on opportunistic infections. *Int J Mol Sci* 2017; 18: 293–312.
 16. Mikulska M, Lanini S, Gudiol C, Drgona L, Ippolito G, Fernandez-Ruiz M, et al. ESCMID study group for infections in compromised hosts (ESGICH) consensus document on the safety of targeted and biological therapies: an infectious diseases perspective (Agents targeting lymphoid cells surface antigens [I]: CD19, CD20 and CD52). *Clin Microbiol Infect* 2018; 24: S71–S82.
 17. Singh JA, Wells GA, Christensen R, Tanjong GE, Maxwell L, MacDonald JK, et al. Adverse effects of biologics: a network meta-analysis and Cochrane overview. *Cochrane Database Sys Rev* 2011; 2: 17–37.
 18. Richter A, Listing J, Schneider M, Klopsch T, Kapelle A, Kaufmann J, et al. Impact of treatment with biologic DMARDs on the risk of sepsis or mortality after serious infection in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2016; 75 1667–73.
 19. Rutherford AI, Subesinghe S, Hyrich KL, Galloway JB. Serious infection across biologic-treated patients with rheumatoid arthritis: results from the British Society for Rheumatology Biologics Register for Rheumatoid Arthritis. *Ann Rheum Dis* 2018; 77: 905–10.
 20. Skai R, Cho SK, Nanki T, Watanabe K, Yamazaki H, Tanaka M, et al. Head-to-head comparison of the safety of tocilizumab and tumor necrosis factor inhibitors in rheumatoid arthritis patients (RA) in clinical practice: results from the registry of Japanese RA patients on biologics for long-term safety (REAL) registry. *Arthritis Res Ther* 2015; 17: 74–86.
 21. Atsumi T, Ando Y, Matsuda S, Tomizawa S, Tanaka R, Takagi N, et al. Prodromal signs and symptoms of serious infections with tocilizumab treatment for rheumatoid arthritis: Text mining of the Japanese postmarketing adverse event-reporting database. *Modern Rheumatol* 2018; 28: 435–43.
 22. Atzeni F, Tallota R, Nucera V, Marino F, Gerrata E, Sangari D, et al. Adverse events, clinical considerations and management recommendations in rheumatoid arthritis patients treated with JAK inhibitors. *Expert Rev Clin Immunol* 2018; 14: 954–56.
 23. Howard JF Jr, Utsugisawa K, Benatar M, Murai H, Barohn RJ, Illa I, et al. Safety and efficacy of eculizumab in anti-acetylcholine receptor antibody-positive refractory generalised myasthenia gravis (REGAIN): a phase 3, randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre study. *Lancet Neurol* 2017; 16 (12): 976–986.
 24. Alsaeed M, Husain S. Infection in heart and lung transplant recipients. *Crit Care Clin* 2019; 35: 75–93.
 25. Inoue N, Fushimi K. Adjunctive corticosteroids decreased the risk of mortality of non-HIV *Pneumocystis pneumonia*. *Int J Infect Dis* 2018; 79: 109–15.
 26. Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, Huprikar S, Chou S, Danziger-Isakov L, et al. The Transplantation Society international CMV Consensus Group. The Third International Consensus Guidelines on the Management of Cytomegalovirus in Solid-organ Transplantation. *Transplantation* 2018; 102: 900–31.
 27. Haidar G, Singh N. Viral infections in solid organ transplant recipients: novel up-dates and a review of the classics. *Curr Opin Infect Dis* 2017; 30: 579–88.
 28. Paulsen GC, Danziger-Isakov L. Respiratory viral infections in solid organ and hematopoietic stem cell transplantation. *Clin Chest Med* 2017; 38: 707–26.
 29. Sakoda Y, Hashimoto D, Asakura S, Takeuchi K, Harada M, Tanimoto M, et al. Donor-derived thymic-dependent T cells cause chronic graft-versus-host disease. *Blood* 2007; 109: 1756–64.
 30. Maris M, Boeckh M, Storer B, Dawson M, White K, Keng M, et al. Immunologic recovery after hematopoietic cell transplantation with nonmyeloablative conditioning. *Exp Hematol* 2003; 31: 941–52.

OKUŽBE Z VEČKRATNO ODPORNIMI PO GRAMU NEGATIVNIMI BAKTERIJAMI – POGLED MIKROBIOLOGA

INFECTIONS WITH MULTIDRUG-RESISTANT GRAM-NEGATIVE BACTERIA – MICROBIOLOGIST'S VIEWPOINT

Doc. dr. Mateja Pirš, dr. med.

Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo,
Zaloška 4, 1000 Ljubljana,
Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani
mateja.pirs@mf.uni-lj.si

Ključne besede: po Gramu negativne bakterije, večkratno odporne bakterije

Key words: gramnegative bacteria, multidrug-resistant bacteria

POVZETEK

O večkratno odpornih bakterijah (VOB) v splošnem govorimo, kadar je bakterija odporna proti vsaj enemu predstavniku treh ali več kategorij antibiotikov, za katere je bakterijska vrsta sicer naravno občutljiva. Klinično in epidemiološko so kritično pomembne predvsem podskupine VOB, ki so običajno odporne proti več kot trem antibiotičnim razredom (najpogosteje betalaktamskim antibiotikom) in spadajo že v podskupino ekstremno odpornih, kot so na primer proti karbapenemom odporne enterobakterije in rod *Acinetobacter* ter proti karbapenemom in drugim betalaktamskim antibiotikom odporni *Pseudomonas aeruginosa*. Deleži odpornih sevov klinično pomembnih VOB se lahko med različnimi geografskimi območji močno razlikujejo, zato je poznavanje lokalne epidemiološke situacije zelo pomembno. Vnos novih klonov VOB z novimi rezistentnimi ali virulentnimi determinantami, s premeščanjem bolnikov v druge bolnišnice, še posebej z območja z višjo prevalenco VOB na območje z nižjo, lahko vodi v bolnišnične izbruhe. S sodobnimi diagnostičnimi pristopi v mikrobioloških laboratorijih čim hitreje opredelimo občutljivost osamljenih bakterij za antibiotike ter morebitno prisotnost epidemiološko kritičnih prenosljivih mehanizmov odpornosti, kot so karbapenemaze. Na ta način ob dobrem sodelovanju s kliniki prispevamo k čimprejšnji uvedbi ustreznega antibiotičnega zdravljenja in bolj smotrni rabi antibiotikov in ustreznim ukrepom bolnišnične higiene.

Abstract

Multidrug-resistant (MDR) bacteria are broadly defined as acquired non-susceptibility to at least one agent in three or more antimicrobial categories. Clinically most important MDR are extensively resistant to more than three antimicrobial categories (usually beta-lactam antibiotics) such as carbapenem-resistant Enterobacteriaceae and Acinetobacter spp. and carba-

penem and other beta-lactam antibiotic-resistant Pseudomonas aeruginosa. As prevalence of MDR varies considerably between different geographical regions, good local overview of epidemiological situation is essential. Introduction of novel MDR clones with new resistance or virulence determinants via patient transfer in particularly from high MDR-prevalence region to low MDR prevalence region can lead to hospital outbreaks. Modern diagnostic approaches allow timely determination of antimicrobial susceptibility and detection of epidemiologically critically important resistance mechanisms such as carbapenemases, which contribute to timely initiation of appropriate antibiotic treatment, improve antimicrobial stewardship and infection control measures.

UVOD

Odpornost proti antibiotikom je lahko naravno prisotna in je značilna za posamezno vrsto. Pridobljene oblike odpornosti se lahko razvijejo zaradi mutacij celičnih genov (npr. odpornost proti fluorokinolonom) ali pa s pridobitvijo mobilnih genetskih elementov, kot so npr. plazmidi, ki nosijo zapise za rezistenčne gene, kot so npr. betalaktamaze z razširjenim spektrom delovanja (*angl.* extended spectrum beta lactamasis, ESBL) ali karbapenemaze. Encimi ESBL so pomembni predvsem pri nekaterih vrstah enterobakterij. Razgrajujejo večji del betalaktamskih antibiotikov, vključno s tretjo generacijo cefalosporinov, pogosto jih najdemo v kombinaciji z drugimi mehanizmi odpornosti, ki so lahko zapisani na istem plazmidu. Encimi ESBL običajno ne prizadenejo karbapenemov, ki ostajajo najpomembnejši betalaktamski antibiotiki za zdravljenje okužb z enterobakterijami, ki izločajo ESBL, in za zdravljenje težkih okužb sploh. Odpornost proti karbapenemom je lahko posledica karbapenemaz, lahko pa je posledica kombinacije različnih mehanizmov, kot so npr. encimi ESBL, ki jih bakterija pridobi z mobilnimi genetskimi elementi, v kombinaciji z izgubo porinov v zunanji membrani po Gramu negativnih bakterij, do katere pride zaradi mutacij celičnih genov. Geni za epidemiološko pomembne karbapenemaze so pogosto zapisani na plazmidih, ki se lahko horizontalno prenašajo med različnimi rodovi enterobakterij in tudi drugimi po Gramu negativnimi bacili. Pogosto jih najdemo v kombinaciji z drugimi mehanizmi odpornosti, ki so lahko zapisani na istem plazmidu, zato so izolati pogosto odporni proti večini testiranih antibiotikov (1).

O večkratno odpornih bakterijah (VOB) (*angl.* multidrug-resistant, MDR) v splošnem govorimo, kadar je bakterija odporna proti vsaj enemu predstavniku treh ali več kategorij antibiotikov, za katere je bakterijska vrsta sicer naravno občutljiva (1, 2). Takšna opredelitev VOB je zelo široka in vključuje tudi klinično manj pomembne kombinacije antibiotičnih razredov, proti katerim je bakterija odporna. Tako je na primer izolat *Escherichia coli*, ki je odporen proti gentamicinu, trimetoprim-sulfametoksazolu in ciprofloksacinu, po definiciji VOB, za zdravljenje okužb pa ne bi predstavljal večjega problema. Klinično in epidemiološko so kritično pomembne predvsem podskupine VOB, ki so običajno odporne proti več kot trem antibiotičnim razredom (najpogosteje betalaktamskim antibiotikom) in spadajo že v skupino ekstremno odpornih (*angl.* extensively drug resistant, XDR) bakterij. Te so odporne proti vsaj enemu antibiotiku iz vsake kategorije antibiotikov, za katere je bakterijska vrsta sicer naravno občutljiva, razen iz ene ali dveh kategorij (1, 2). Najpomembnejše po Gramu negativne VOB (VOB-

-GNB) najdemo pri vrstah *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* in *Acinetobacter baumannii* (2, 3).

STANJE ODPORNOSTI PROTI ANTIBIOTIKOM PRI IZBRANIH IZOLATIH PO GRAMU NEGATIVNIH BAKTERIJ V EVROPI

Prikazani podatki so zajeti iz poročil EARS-Net (*angl.* European Antimicrobial Resistance Surveillance Network) Evropskega centra za nalezljive bolezni ECDC (*angl.* European center for disease control, ECDC) in poročila CAESAR (*angl.* Central Asian and European Surveillance of Antimicrobial Resistance, CAESAR) Svetovne zdravstvene organizacije ter slovenske komisije za ugotavljanje občutljivosti za protimikrobna zdravila (SKUOPZ). V poročila EARS-Net in CAESAR so vključeni podatki o občutljivosti invazivnih izolatov, osamljenih iz krvi in likvorja. Poročila zajemajo izolate vseh starostnih skupin ter vseh tipov bolnišničnih oddelkov od urgentnih enot in navadnih oddelkov do intenzivnih enot. V poročila SKUOPZ so vključeni podatki o vseh kliničnih kužninah iz vseh starostnih skupin ter vseh tipov zunajbolnišničnih enot ter bolnišničnih oddelkov od urgentnih enot in navadnih oddelkov do intenzivnih enot.

Escherichia coli

Po podatkih EARS-Net odpornost proti 3. generaciji cefalosporinov narašča, povprečje EU/EEA, uteženo na populacijo, je naraslo z 11,9 % leta 2012 na 15,1 % leta 2018, v zadnjih štirih letih sicer ni prišlo do statistično značilnih razlik (4, 5). V Sloveniji (11,3 %) v zadnjih štirih letih ni prišlo do statistično značilnih sprememb, podobno je v sosednji Hrvaški (14,7 %), v Italiji pa sicer opažajo, da je prišlo do upada v prevalenci (28,7 %), ki pa ni bil statistično značilen, če so upoštevali podatke iz regij oz. laboratorijev, ki redno pošiljajo podatke v EARS-Net. Delež izolatov, odpornih proti 3. generaciji cefalosporinov, je v Bosni in Hercegovini znašal 20 %, v Srbiji pa 28 % (6). V Sloveniji je bil v letu 2017 sicer delež izolatov, odpornih proti 3. generaciji cefalosporinov, iz vseh kliničnih kužnin v skladu s pričakovanji nekoliko nižji kot med invazivnimi izolati in je znašal 8,2 % (7). Odpornost proti karbapenemom (*angl.* carbapenem resistant Enterobacteriaceae, CRE) je bila nizka in stabilna, povprečje EU/EEA, uteženo na populacijo, je v letu 2016 znašalo < 0,1 %. V Sloveniji invazivnih izolatov *E. coli* – CRE v letu 2016 nismo odkrili, med vsemi kliničnimi izolati pa smo v letu 2017 opažali le posamezne izolate, ki so bili odporni proti karbapenemom (7, 8). V Italiji je delež znašal 0,4 % (5). V Bosni in Hercegovini invazivnih izolatov *E. coli* – CRE v letu 2018 niso odkrili, v Srbiji je bil delež nizek in je znašal 1 % (6).

Odpornost proti fluorokinolonom je porasla, povprečje EU/EEA je v letu 2018 znašalo 25,3 %; trend sicer ni bil statistično značilen, če so upoštevali podatke samo iz regij oz. laboratorijev, ki redno pošiljajo podatke v EARS-Net. Poleg tega je prišlo do spremembe interpretacijskih kriterijev, kar je lahko prispevalo k večanju deleža odpornosti. Delež v Sloveniji je bil stabilen (22,8 %), na Hrvaškem so opažali statistično značilen porast (30,0 %), prav tako v Avstriji (21,9 %), v Italiji pa upad (41,7 %) (4, 5).

Odpornost proti aminoglikozidom je v zadnjih štirih letih upadla, povprečje EU/EEA, uteženo na populacijo, je v letu 2018 znašalo 11,1 %, do statistično značilnega upada je prišlo tudi v Sloveniji (9,4 %) in v Italiji (16 %), do porasta pa v sosednji Avstriji (8,2 %) (5).

Kombinirana odpornost proti 3. generaciji cefalosporinov, fluorokinolonom in aminoglikozidom se je povečala. Povprečje EU/EEA, uteženo na populacijo, je naraslo s 4,9 % leta 2012 na 6,2 % leta 2018, v zadnjih štirih letih sicer ni prišlo do statistično značilnih razlik. V zadnjih štirih letih v Sloveniji sicer opazujemo upad v deležu izolatov s kombinirano odpornostjo (4,7 %) (4, 5).

Evropska študija o bremenu, ki ga predstavlja odpornost proti antibiotikom, je pokazala, da so največji del bremena okužbe z odpornimi sevi *E. coli*, ki v več kot polovici primerov izvira iz domačega okolja (9). Čeprav odpornost proti karbapenemom med invazivnimi izolati ostaja redka, je nujno potrebno stalno spremljanje stanja, saj bi porast odpornosti pomembno vplival na breme, ki ga predstavlja odpornost proti antibiotikom (10, 11). Čeprav je *E. coli* pogosteje povezana z okužbami v domačem okolju, pa zaradi poraščanja odpornosti proti predvsem tretji generaciji cefalosporinov in fluorokinolonom pomembno prispeva k večanju selekcijskega pritiska zaradi uporabe širokospektralnih antibiotikov.

Klebsiella pneumoniae

Po podatkih EARS-Net je odpornost proti 3. generaciji cefalosporinov nekoliko porasla, povprečje EU/EEA, uteženo na populacijo, je poraslo s 25,8 % leta 2012 na 31,7 % leta 2018, vendar v zadnjih štirih letih niso opazili statistično značilnih razlik. V Sloveniji še vedno opazujemo postopno nižanje deleža med invazivnimi izolati (14,8 %), razlike v zadnjih štirih letih so bile statistično značilne. Delež je bil bistveno višji v sosednji Italiji (53,6 %) in na Hrvaškem (44,3 %) (4, 5). Delež izolatov, odpornih proti 3. generaciji cefalosporinov, je bil v Bosni in Hercegovini 71 %, v Srbiji pa 85 % (6). Med vsemi kliničnimi kužninami je bil leta 2017 v Sloveniji delež izolatov, odpornih proti 3. generaciji cefalosporinov, v skladu s pričakovanji še nekoliko nižji in je znašal 14,2 % (7).

Odpornost proti karbapenemom je v porastu, povprečje EU/EEA, uteženo na populacijo, je naraslo s 6,2 % leta 2012 na 7,5 % leta 2018. V Sloveniji smo v letu 2018 med invazivnimi izolati imeli 0,7 % *K. pneumoniae* – CRE, zaskrbljujoče pa je zlasti dejstvo, da so proti karbapenemom odporni izolati zelo pogosti v sosednji Italiji (26,8 %), kjer so karbapenemaze endemsko prisotne, in da so v zadnjih letih na Hrvaškem občasno poročali o višjem deležu proti karbapenemom odpornih invazivnih izolatov (2,2 % v letu 2018) (4, 5). Delež *K. pneumoniae* – CRE je bil v Bosni in Hercegovini 18 %, v Srbiji pa 36 % (6). V Sloveniji je bil v letu 2017 delež *K. pneumoniae* – CRE iz vseh kliničnih kužnin sicer nizek (0,1 %), med njimi smo opazili posamezne izolate s karbapenemazami (7).

Odpornost proti fluorokinolonom je porasla, povprečje EU/EEA, uteženo na populacijo, je poraslo s 25,3 % v letu 2012 na 31,6 % v letu 2016. V Sloveniji delež odpornosti z leti niha, v letu 2018 je znašal 27,3 % (4, 5).

Odpornost proti aminoglikozidom je upadla, povprečje EU/EEA, uteženo na populacijo, je leta 2012 znašalo 21,5 % leta 2012, leta 2018 pa 22,7 %, vendar so v zadnjih štirih letih opazili statistično značilen upad. V Sloveniji opazujemo nižanje deleža (12,8 %), vendar razlike niso statistično značilne (1, 4, 5).

Delež kombinirane odpornosti proti 3. generaciji cefalosporinov, fluorokinolonom in aminoglikozidom niha, povprečje EU/EEA, uteženo na populacijo, je leta 2012 znašalo 17,7 %, leta 2018 pa 19,6 % (v zadnjih štirih letih niso opazili statistično značilnega

porasta). V zadnjih letih se je delež v Sloveniji sicer znižal, v letu 2018 je znašal 10,0 %, vendar razlike niso bile statistično značilne (4, 5). V Bosni in Hercegovini je kombinirana odpornost znašala 55 %, v Srbiji 59 % (6). V Evropi pa so jo v letu 2018 opažali pri 5,0 % invazivnih izolatov (5).

V letu 2018 v Evropi ostaja zaskrbljujoč porast deleža odpornosti proti karbapenemom; čeprav je v zadnjih štirih letih (2015–2018) porast sicer nižji kot v prejšnjih štirih letih, je nadaljnje spremljanje kritičnega pomena, saj je odpornost proti karbapenemom tipično kombinirana z odpornostjo proti več različnim antibiotičnim razredom, kar lahko vodi v resne težave pri zdravljenju (5). O najvišjih deležih odpornosti proti karbapenemom poročajo predvsem iz južnih in jugovzhodnih držav v Evropi (9, 10, 12). Med tovrstnimi izolati so problematične predvsem *K. pneumoniae*, ki izločajo karbapenemaze (*angl.* carbapenemase producing *Enterobacteriaceae*, CPE), med najbolj prizadetimi državami v Evropi je poleg Grčije (63,9 %) tudi Italija (26,8 %), resne težave pa imajo tudi nekatere države na Balkanu, zlasti Srbija (36 %) (6, 8, 11). Glede na našo lokalno situacijo moramo upoštevati možnost vnosa *K. pneumoniae* – CPE iz sosednjih držav, s premestitvami iz tujih bolnišnic.

Evropska študija o bremenu, ki ga predstavlja odpornost proti antibiotikom, je pokazala, da se je število smrti, ki so jih pripisali okužbam s *K. pneumoniae* – CRE, med letoma 2007 in 2015 povečalo za 6-krat (9). O pravi prevalenci *K. pneumoniae* – CPE iz podatkov, kot so v EARS-Net, ne moremo sklepati; poteka raziskava ECDC, s katero bomo lahko ocenili trenutno situacijo v Evropi, v katero so zajete vse države Evropske unije, vključno s Slovenijo. V okviru te raziskave se zbirajo podatki o *K. pneumoniae* – CRE in *E. coli* – CRE (13). Deleža odpornosti proti kolistinu ali ceftazidimu z avibaktamom med invazivnimi izolati *K. pneumoniae* ni mogoče oceniti iz podatkov EARS-Net, ker antibiotika praviloma nista zajeta v standardni nabor testiranja in je večinoma testirana le subpopulacija izolatov CRE oziroma CPE. Po podatkih SENTRY (*angl.* SENTRY antimicrobial surveillance program) je sicer 5,9 % evropskih izolatov *K. pneumoniae* odpornih proti kolistinu, podatkov za ceftazidim z avibaktamom za zdaj ni na voljo (14).

Pseudomonas aeruginosa

Po podatkih EARS-Net se je odpornost proti piperacilinu s tazobaktamom znižala, povprečje EU/EEA, uteženo na populacijo, je bilo leta 2018 18,3 %. V Sloveniji delež z leti niha (leta 2018 16,1 %), vendar razlike niso statistično značilne. O visokem deležu odpornosti poročajo iz Srbije, 52 % (5, 6).

Odpornost proti ceftazidimu je statistično značilno upadla, leta 2018 je znašalo povprečje EU/EEA, uteženo na populacijo, 14,1 %, v Sloveniji delež z leti niha, leta 2018 je znašal 14,9 %.

Odpornost proti karbapenemom se je v zadnjih štirih letih znižala, povprečje EU/EEA, uteženo na populacijo, je bilo leta 2018 17,2 %, v Sloveniji se delež iz leta v leto spreminja, v letu 2018 je znašal 14,9 %, razlike niso statistično značilne. O visokem deležu odpornosti poročajo iz Bosne in Hercegovine (30 %) in Srbije (56 %) (4, 5) (6). Odpornost proti betalaktamskim antibiotikom med vsemi kliničnimi kužninami v Sloveniji je bila leta 2017 sicer nižja kot med invazivnimi izolati (najvišja je za karbapeneme – 9,0 %,

najnižja za cefepim – 4,6 %), največ težav za zdravljenje pa prinašajo predvsem izolati, ki so odporni proti vsem betalaktamskim antibiotikom (CRPs) (7).

Odpornost proti fluorokinolonom je stabilna, povprečje EU/EEA, uteženo na populacijo, je bilo 20,9 % leta 2012 in 19,7 % leta 2018, v Sloveniji delež niha in je znašal 21,8 % v letu 2018, vendar razlike niso statistično značilne. O visokem deležu odpornosti poročajo tudi iz Bosne in Hercegovine (43 %) in Srbije (59 %) (4, 5, 6).

Odpornost proti aminoglikozidom je statistično značilno upadla, povprečje EU/EEA, uteženo na populacijo, je upadlo s 17,1 % leta 2012 na 11,8 % leta 2018. V Sloveniji opazamo nihanje deleža (6,9 %), vendar razlike v zadnjih štirih letih niso statistično značilne. O visokem deležu odpornosti poročajo iz Bosne in Hercegovine (41 %) in Srbije (59 %) (4, 5).

Kombinirana odpornost proti vsaj trem od petih spremljanih protipsevdomonasnih antibiotikov – piperacilinu s tazobaktamom, ceftazidimu, fluorokinolonom, aminoglikozidom in karbapenemom – se je nekoliko znižala, povprečje EU/EEA, uteženo na populacijo, je bilo leta 2018 12,8 %. V Sloveniji se delež iz leta v leto spreminja, v letu 2018 je znašal 11,5 % (5). Delež izolatov s takšno kombinirano odpornostjo je bil v Bosni in Hercegovini 33 %, v Srbiji pa 56 % (6). Kombinirano odpornost proti vsem spremljanim antibiotikom – piperacilinu s tazobaktamom, ceftazidimu, fluorokinolonom, aminoglikozidom in karbapenemom – so v Evropi v letu 2018 opažali pri 4,1 % invazivnih izolatov (5).

O visokih deležih odpornih invazivnih *P. aeruginosa* poročajo po vsej Evropi, zlasti v vzhodni Evropi in delih jugovzhodne Evrope. Zaskrbljujoča je zlasti kombinirana odpornost, saj je proti trem od petih spremljanih antibiotikov odpornih 12,8 % invazivnih izolatov, proti vsem petim skupinam pa 4,1 %. To je še posebej zaskrbljujoče, saj gre za intrinzično odpornejšo bakterijo, kombinirana odpornost pa zelo omeji možnosti za zdravljenje.

***Acinetobacter* spp.**

Bakterije iz rodu *Acinetobacter* so večinoma manj virulentne, kot so npr. enterobakterije, pretežno gre za okoljske vrste. Izjema so predvsem vrste, ki spadajo v skupino *A. baumannii*, ki so pomembni povzročitelji bolnišničnih okužb dihal (zlasti pri bolnikih na mehanskem predihavanju), okužb, povezanih z osrednjimi žilnimi katetri, okužb sečil, kirurških in drugih ran. Te vrste so intrinzično odporne proti številnim antibiotikom, naravno so sicer občutljive za nekatere karbapeneme, fluorokinolone, aminoglikozide, polimiksine, sulbaktam in tigeciklin in imajo omejen nabor virulentnih dejavnikov (1).

Podatke o *Acinetobacter* spp. je EARS-Net začel zbirati leta 2012. Med evropskimi državami so zelo velike razlike tako v pojavnosti kot tudi v stopnji odpornosti, največje deleže odpornosti najdemo v državah južne, vzhodne in jugovzhodne Evrope ter baltskih državah (5).

Po podatkih EARS-Net je odpornost *A. baumannii* proti karbapenemom (CRAb) visoka, povprečje EU/EEA, uteženo na populacijo, je bilo leta 2018 31,9 %. V Sloveniji opazamo statistično značilen upad CRAb, v letu 2018 je delež odpornosti znašal 17,9 %. V Italiji in na Hrvaškem je delež odpornosti še bistveno višji (79,2 % in 95,5 %), bistveno nižji pa je v Avstriji (4,4 %) (5). Delež CRAb je bil v Bosni in Hercegovini 93 %, v Srbiji pa 96

% (6). Delež CRAB med kliničnimi izolati v Sloveniji je sicer višji, leta 2017 je znašal 32,5 %, v istem obdobju je bil delež med invazivnimi izolati 41,7 % (7).

Odpornost proti fluorokinolonom je visoka, povprečje EU/EEA, uteženo na populacijo, je bilo leta 2018 36,2 %, delež v Sloveniji je statistično značilno upadel in je znašal 28,2 %. Do statistično značilnega porasta je prišlo na Hrvaškem (96,1 %), o visokem deležu so poročali tudi iz Italije (81,1 %). V Bosni in Hercegovini ter Srbiji je delež odpornosti znašal 99 % oziroma 97 % (5, 6).

Odpornost proti aminoglikozidom je visoka, povprečje EU/EEA, uteženo na populacijo, je bilo leta 2018 31,8 %, delež odpornosti proti aminoglikozidom v Sloveniji je statistično značilno upadel in je znašal 20,5 %. V Italiji in na Hrvaškem je delež odpornosti še bistveno višji (77,0 % in 91,5 %), bistveno nižji pa je v Avstriji (8, 7 %) (5).

Kombinirana odpornost proti karbapenemom, fluorokinolonom in aminoglikozidom je visoka, povprečje EU/EEA, uteženo na populacijo, je bilo leta 2018 28,8 %, v Sloveniji pa 17,9 %. V Italiji in na Hrvaškem je delež odpornosti še bistveno višji (75,7 % in 90,8 %), bistveno nižji pa je v Avstriji (4,5 %) (5). Delež izolatov s kombinirano odpornostjo je bil v Bosni in Hercegovini 93 %, v Srbiji pa 92 % (6).

Širjenje CRAB je resen izziv za bolnišnično higieno. ECDC je v zadnji oceni tveganja glede CRAB ugotavljal, da se stanje v Evropi slabša. Odpornost proti karbapenemom je običajno povezana s tvorbo karbapenemaz in po podatkih ECDC projekta EuSCAPE (*angl.* European survey of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae) so CRAB verjetno bolj razširjeni kot CPE (8, 15). Podatki EARS-Net kažejo korelacijo med visokim deležem okužb krvi s *P. aeruginosa* in rodom *Acinetobacter* med vsemi izolati iz krvi in visokim deležem pridobljene odpornosti med po Gramu negativnimi bacili (16). To verjetno odraža skupne dejavnike tveganja, kot je večja poraba širokospektralnih antibiotikov in slabši nivo bolnišnične higiene (npr. manjša poraba razkužil, manjše število enoposteljnih sob, premalo zdravstvenih delavcev, ki se ukvarjajo z bolnišnično higieno) (5).

ODPORNOST PROTI ANTIBIOTIKOM PRI IZBRANIH IZOLATIH PO GRAMU NEGATIVNIH BAKTERIJ V INTENZIVNIH ENOTAH PO EVROPI

Po zadnjih objavljenih podatkih ECDC o bolnišničnih okužbah v enotah za intenzivno zdravljenje (EIZ) so bile v EIZ po Evropi v letu 2017 najpomembnejše oblike odpornosti proti antibiotikom predvsem višje stopnje odpornosti proti karbapenemom pri *P. aeruginosa*, *A. baumannii* in *K. pneumoniae*. Večjih sprememb v trendih v primerjavi s prejšnjimi leti pa niso opazili. V analizo je sicer zajet samo del evropskih držav. Analizirali so številne parametre, med drugim se del podatkov nanaša tudi na občutljivost za antibiotike. Poleg podatkov o občutljivosti izolatov iz krvi so vključeni tudi podatki o občutljivosti izolatov iz drugih predelov, kot so spodnja dihala, sečila itd. Podatki tako niso neposredno primerljivi s podatki EARS-Net, vendar vseeno jasno kažejo višjo stopnjo odpornosti v EIZ pri po Gramu negativnih bacilih. Razlike v stopnji odpornosti pri posameznih patogenih med evropskimi državami so velike, posebej so opazne razlike v deležu bolnišničnih okužb, ki sta jih povzročila *A. baumannii* in *K. pneumoniae*. Proti tretji generaciji cefalosporinov je bilo odpornih 15,9 % izolatov *E. coli* (EARS-Net povprečje EU/EEA za invazivne izolate, uteženo na populacijo, v letu 2017 je bilo 14,9 %) in 39,9

% izolatov iz rodu *Klebsiella* (EARS-Net povprečje EU/EEA za invazivne izolate *K. pneumoniae*, uteženo na populacijo, v letu 2017 je bilo 31,2 %). Proti karbapenemom je bilo odpornih 0,8 % izolatov *E. coli* (EARS-Net povprečje EU/EEA za invazivne izolate, uteženo na populacijo, v letu 2017 je bilo 0,1 %) in 15,2 % izolatov iz rodu *Klebsiella* (EARS-Net povprečje EU/EEA za invazivne izolate *K. pneumoniae*, uteženo na populacijo, v letu 2017 je bilo 7,2 %). Proti ceftazidimu je bilo odpornih 26,5 % izolatov *P. aeruginosa* (EARS-Net povprečje EU/EEA za invazivne izolate, uteženo na populacijo, v letu 2017 je bilo 14,7 %), proti karbapenemom pa 25,9 % izolatov *P. aeruginosa* (EARS-Net povprečje EU/EEA za invazivne izolate, uteženo na populacijo, v letu 2017 je bilo 17,4 %) in 63,9 % izolatov *A. baumannii* (EARS-Net povprečje EU/EEA za invazivne izolate, uteženo na populacijo, v letu 2017 je bilo 37,6 %). Pri *A. baumannii* je sicer treba upoštevati dejstvo, da je bilo, v primerjavi z ostalimi izolati, število izolatov, zajetih v analizo, majhno (12).

TESTIRANJE OBČUTLJIVOSTI ZA ANTIBIOTIKE IN VOB

Rezultati testiranja občutljivosti za antibiotike bistveno prispevajo k pravočasni uvedbi ustreznega antibiotičnega zdravljenja, kar je ključno v primeru klinično pomembnih VOB (17). Fenotipsko določanje občutljivosti za antibiotike je standardizirano, v Sloveniji ga izvajamo po evropskih priporočilih EUCAST. Največje prednosti fenotipskega testiranja občutljivosti za antibiotike so možnost sočasnega testiranja številnih različnih antibiotičnih kategorij, neodvisnost od osnovnih mehanizmov odpornosti pri bakterijskem izolatu in možnost, da lahko na podlagi smernic rezultat kategoriziramo in opredelimo, ali lahko pričakujemo klinični odziv na zdravljenje z določenim antibiotikom. Glavna slabost teh metod pa je odvisnost od hitrosti rasti bakterij, hitrosti izražanja mehanizmov odpornosti, hitrosti rasti odpornih sevov v primeru sočasne prisotnosti občutljivih in odpornih sevov iste vrste.

Osnovni nabor testiranih antibiotikov je dogovorjen na nivoju Slovenije v okviru SKUOPZ. Ta nabor ne vsebuje nekaterih antibiotikov, ki se uporabljajo predvsem za zdravljenje okužb z VOB, kot so npr. kolistin, ceftazidim z avibaktamom ipd. Če pri bolniku ob testiranju občutljivosti za antibiotike ugotovimo, da je izolat VOB – npr. CRE/CPE, CRPs ali CRAB, testiramo še občutljivost za dodatne antibiotike, kar pomeni, da so ti podatki na voljo en dan kasneje (najprej 48 ur po osamitvi izolata iz kužnine). Samega postopka testiranja občutljivosti za tovrstne antibiotike ni mogoče pospešiti, saj nimamo podatkov o zanesljivosti skrajšane inkubacije za te antibiotike (17).

Na voljo so tudi nekatere fenotipske metode, ki omogočajo hitrejše določanje občutljivosti za posamezne antibiotike, kot so na primer testi, s katerimi neposredno iz bakterijske kulture ugotavljamo sposobnost izolata, da hidrolizira posamezne betalaktamske antibiotike, kar nakazuje prisotnost encimov ESBL (ali AmpC) in karbapenemaz. Takšni testi običajno trajajo približno 3 ure in so tehnično zahtevnejši za izvedbo in interpretacijo. V primeru dokazane hidrolize npr. karbapenema lahko sklepamo, da je prisotna karbapenemaza in da je izolat VOB, če pa je test negativen, ne moremo zaključiti, da je izolat občutljiv za karbapenem, saj so lahko prisotni kombinirani mehanizmi odpornosti, kot so produkcija encimov ESBL v kombinaciji z izgubo porinov (18). Obstajajo tudi analogni testi, s katerimi ugotavljamo sposobnost izolata, da raste v prisotnosti kolistina (19). Z novejšimi hitrimi imunokromatografskimi testi lahko ugotavljamo pri-

sotnost specifičnih encimov npr. za glavnih pet karbapenemaz (KPC, NDM, VIM, IMP, OXA-48) neposredno iz bakterijske kulture ali pozitivne hemokulturne stekleničke. Če je test pozitiven, lahko sklepamo, da je karbapenemaza prisotna, če pa je negativen, izolat še vedno lahko tvori redkejšo obliko karbapenemaz oziroma ima lahko prisotne kombinirane mehanizme odpornosti proti karbapenemom (17, 20). Prednost tovrstnih testov je, da v primeru pozitivnega rezultata vemo, katera karbapenemaza je pri izolatu prisotna, kar ima neposreden vpliv na odločitev o zdravljenju, saj antibiotiki, kot je npr. ceftazidim z avibaktamom, niso primerni za zdravljenje okužb, povzročenih z bakterijami, ki izločajo metalobetalaktamaze. Podobno je z molekularnimi testi za dokaz prisotnosti specifičnih mehanizmov odpornosti, ki jih najdemo pri po Gramu negativnih bacilih – običajno so to geni, ki kodirajo pet glavnih karbapenemaz. Iz pozitivnega rezultata lahko sklepamo na odpornost in hkrati preverimo, ali lahko pričakujemo odziv na antibiotike, kot je npr. ceftazidim z avibaktamom (če je pozitiven test za KPC ali OXA-48, bo antibiotik verjetno klinično učinkovit), v primeru negativnega rezultata pa ne moremo sklepati na občutljivost (21).

ISKANJE NOSILCEV VOB-GN

Eden od možnih ukrepov, s katerim preprečujemo širjenje VOB, zlasti CRE/CPE, CRAB in CRPs, je aktivno iskanje koloniziranih bolnikov. Indikacije za testiranje opredeljujejo nacionalna in lokalna priporočila (22, 23, 24). Klasične metode vključujejo kultivacijo na kromogenih gojiščih; v Sloveniji zaradi nizke prevalece karbapenemaz pri enterobakterijah kultivacija vključuje tudi uporabo obogatitvenega gojišča, kar pomeni, da traja postopek 48 ur (drugače od preiskave na ESBL, kjer za kultivacijo zaradi visoke prevalece ne uporabljamo obogatitvenega gojišča in jo zato zaključimo po 24 urah). Če osamimo bakterije, pri katerih sumimo, da so odporne proti karbapenemom, se postopek podaljša še vsaj za 24 ur, da opredelimo občutljivost za antibiotike in prisotnost karbapenemaz (25). Nosilce bakterij, ki izločajo karbapenemaze, lahko iščemo tudi z molekularnim presejalnim testiranjem, s katerim dokazujemo prisotnost glavnih pet karbapenemaz, vendar iz pozitivnega rezultata lahko sklepamo le, da je prisotna bakterija, ki ima gen za karbapenemazo, ne vemo pa, katera bakterijska vrsta je prizadeta, ne vemo niti, ali se gen sploh izraža. Ta podatek je sicer pomemben tako za uvedbo ukrepov bolnišnične higiene kot za odločitev o morebitni prilagoditvi antibiotičnega zdravljenja. Če je rezultat negativen, je možno, da je bolnik koloniziran z izolatom, ki ima redkejšo oblike karbapenemaz, ali pa je nosilec proti karbapenemom odpornih VOB-GN, ki so posledica kombiniranih mehanizmov odpornosti. V Sloveniji to metodo uporabljamo le ob predhodnem dogovoru z lokalno komisijo oziroma službo za obvladovanje bolnišničnih okužb. Metoda je dražja od klasične kultivacije in primerna predvsem za bolnike z visokim tveganjem za kolonizacijo s CPE; to so zlasti bolniki, ki so bili premeščeni iz tujih bolnišnic iz držav z višjo prevalenco in tuji državljani CPE (26).

ZAKLJUČEK

Okužbe z VOB so lahko vzrok za zapoznelo uvedbo ustreznega antibiotičnega zdravljenja, dolgotrajnejšo hospitalizacijo, večjo smrtnost in tudi večje stroške zdravljenja. Delež odpornih sevov, virulentni dejavniki (npr. *E. coli* – sekvenčni tip 131) in dejavniki, ki omogočajo preživetje v bolnišničnem okolju značilnim bolnišničnim patogenom,

kot sta na primer *K. pneumoniae* ali *A. baumannii*, se lahko med različnimi geografskimi območji močno razlikujejo, zato je poznavanje lokalne epidemiološke situacije zelo pomembno. Težave povzročajo predvsem kloni VOB z visokim tveganjem za širjenje (npr. *K. pneumoniae* – sekvenčni tip 258), ki so odporni proti ključnim klinično pomembnim antibiotikom in se zelo učinkovito prenašajo med bolniki, povzročajo dolgotrajno kolonizacijo oziroma hude in/ali invazivne okužbe (27, 28). Vnos novih klonov VOB, z novimi rezistentnimi ali virulentnimi determinantami, s premeščanjem bolnikov v druge bolnišnice, še posebej z območja z višjo prevalenco VOB na območja z nižjo, lahko vodi v bolnišnične izbruhe. S sodobnimi diagnostičnimi pristopi v mikrobioloških laboratorijih lahko, ob dobrem sodelovanju s kliniki, prispevamo k čimprejšnji uvedbi ustreznega antibiotičnega zdravljenja, bolj smotrni rabi antibiotikov in ustreznim ukrepom bolnišnične higijene. To dosežemo s čim hitrejšim podajanjem podatkov o občutljivosti za antibiotike in opredeljevanjem epidemiološko kritičnih podatkov o prenosljivih mehanizmih odpornosti.

Literatura

1. Patel JB, Richter SS. Mechanisms of Resistance to Antibacterial Agents. In: Jorgensen JH, Pfaller MA, Carroll KC, Landry ML, Funke G, Richter SS, et al., eds. Manual of Clinical Microbiology. Washington DC: ASM Press; 2015.
2. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect* 2011; 27; 18 (3): 268–81.
3. Antimicrobial Resistance Global Report on Surveillance 2014 [Internet]. WHO; 2014 [citirano 2020 Jan 10]. Dosegljivo na: <http://www.who.int>.
4. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2015 [Internet]. ECDC; 2017 [citirano 2020 Jan 10]. Dosegljivo na: <https://www.ecdc.europa.eu/en/home>.
5. Surveillance of antimicrobial resistance in Europe 2018 [Internet]. ECDC; 2019 [citirano 2020 Jan 10]. Dosegljivo na: <https://www.ecdc.europa.eu/en/home>.
6. Central Asian and European Surveillance of Antimicrobial Resistance [Internet]. WHO; 2019 [citirano 2020 Jan 10]. Dosegljivo na: <http://www.who.int>.
7. Štrumbelj I, Pirš M, Berce I, Bombek Ihan M, Fišer J, Golle A, et al. Pregled občutljivosti bakterij za antibiotike – Slovenija 2016 [Internet]. SKUOPZ; 2018 [citirano 2020 Jan 5]. Dosegljivo na: <http://www.imi.si/strokovna-zdruzjenja/skuopz/skuopz>.
8. ECDC. Surveillance of antimicrobial resistance in Europe. eCDC. ECDC; 2017 Nov, pp. 1–100.
9. Cassini A, Högberg LD, Plachouras D, Quattrocchi A, Hoxha A, Simonsen GS, et al. Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015: a population-level modelling analysis. *Lancet Infect Dis*. 2019; 19 (1): 56–66.
10. Brolund A, Lagerqvist N, Byfors S, Struelens MJ, Monnet DL, Albiger B, et al. Worsening epidemiological situation of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Europe, assessment by national experts from 37 countries, July 2018. *Euro Surveill*. 2019; 28: 24 (9).
11. Grundmann H, Glasner C, Albiger B, Aanensen DM, Tomlinson CT, Andrasević AT, et al. Occurrence of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in the European survey of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (EuSCAPE): a prospective, multinational study. *Lancet Infect Dis*. 2017; 17 (2): 153–63.
12. Healthcare-associated infections acquired in intensive care units [Internet]. ECDC; 2019 [citirano 2020 Jan 5]. Dosegljivo na: <https://www.ecdc.europa.eu/en/home>.
13. ECDC study protocol for genomic-based surveillance of carbapenem-resistant and/or colistin-resistant Enterobacteriaceae at the EU level [Internet]. ECDC; 2018 [citirano 2020 Jan 10]. Dosegljivo na: <https://www.ecdc.europa.eu/en/home>.
14. JMI laboratories. SENTRY programe [Internet]. JMI laboratories; 2020 [citirano 2020 Jan 5]. Dosegljivo na: <https://sentry-mvp.jmilabs.com/app/sentry-public>.
15. Rapid risk assessment. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in healthcare settings [Internet]. ECDC; 2017 [citirano 2020 Jan 10]. Dosegljivo na: <https://www.ecdc.europa.eu/en/home>.
16. Jarlier V, Diaz Högberg L, Heuer OE, Campos J, Eckmanns T, Giske CG, et al. Strong correlation between the rates of intrinsically antibiotic-resistant species and the rates of acquired resistance in Gram-negative species causing bacteraemia, EU/EEA, 2016. *Euro Surveill*. 2019; 24 (33).

-
17. Idelevich EA, Becker K. How to accelerate antimicrobial susceptibility testing. *Clin Microbiol Infect.* 2019; 25 (11): 1347–55.
 18. Giske C, Martinez-Martinez L, Canton R, Stefani S, Skov R, Glupczynski Y, et al. EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance. 2 izdaja [Internet]. EUCAST; 2017 [citirano 2020 Jan 5]. Dosegljivo na: http://www.eucast.org/resistance_mechanisms/.
 19. Nordmann P, Jayol A, Poirel L. Rapid Detection of Polymyxin Resistance in Enterobacteriaceae. *Emerg Infect Dis.* 2018; 22 (6): 1038–43.
 20. Hopkins KL, Meunier D, Naas T, Volland H, Woodford N. Evaluation of the NG-Test CARBA 5 multiplex immunochromatographic assay for the detection of KPC, OXA-48-like, NDM, VIM and IMP carbapenemases. *J Antimicrob Chemother.* 2018; 215: S28.
 21. Dubourg G, Lamy B, Ruimy R. Rapid phenotypic methods to improve the diagnosis of bacterial bloodstream infections: meeting the challenge to reduce the time to result. *Clin Microbiol Infect.* 2018; 24 (9): 935–43.
 22. Tacconelli E, Cataldo MA, Dancer SJ, De Angelis G, Falcone M, Frank U, et al. ESCMID guidelines for the management of the infection control measures to reduce transmission of multidrug-resistant Gram-negative bacteria in hospitalized patients. *Clin Microbiol Infect.* 2014; 20: 1–55.
 23. UKC. Ukrepi za preprečevanje prenosa bakterij, ki izločajo karbapenemaze [Internet]. NAKOBO; 2015 [citirano 2019 Jan 10]. Dosegljivo na: http://www.mz.gov.si/si/delovna_podrocja_in_prioritete/zdravstveno_varstvo/kakovost_in_varnost/nacionalna_komisija_za_obvladovanje_bolniscicnih_okuzb/strokovnjaki/.
 24. Otter JA, Muters NT, Tacconelli E, Gikas A, Holmes AH. Controversies in guidelines for the control of multidrug-resistant Gram-negative bacteria in EU countries. *Clin Microbiol Infect.* 2015; 21 (12): 1057–66.
 25. Pirs M, Kišek TC, Hergouth VK, Seme K, Premru MM, Jeverica S, et al. Successful control of the first OXA-48 and/or NDM carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* outbreak in Slovenia 2014e2016. *J Hosp Infect.* 2019; 101 (2): 142–9.
 26. Ambretti S, Bassetti M, Clerici P, Petrosillo N, Tumietto F, Viale P, et al. Screening for carriage of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in settings of high endemicity: a position paper from an Italian working group on CRE infections. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2019; 8: 136.
 27. Livermore DM, Pearson A. Antibiotic resistance: location, location, location. *Clin Microbiol Infect.* 2007; 13 (s2): 7–16.
 28. Woodford N, Turton JF, Livermore DM. Multiresistant Gram-negative bacteria: the role of high-risk clones in the dissemination of antibiotic resistance. *FEMS Microbiol Rev.* 2011; 35 (5): 736–55.

INFEKCIJSKI ENDOKARDITIS IN NEOBIČAJNI POVZROČITELJI

INFECTIVE ENDOCARDITIS AND UNUSUAL PATHOGENS

Doc. dr. Tatjana Lejko Zupanc

Klinika za infekcijske bolezni, UKC Ljubljana,
Japljeva 2, 1525 Ljubljana,
Katedra za infekcijske bolezni in epidemiologijo,
Medicinska fakulteta Ljubljana,
Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana

Ključne besede: znotrajcelične bakterije, endokarditis z negativnimi hemokulturami, molekularna diagnostika

Key words: *intracellular bacteria, endocarditis with negative blood cultures, molecular diagnostics*

IZVLEČEK

Najpogostejši povzročitelji infekcijskega endokarditisa so po Gramu pozitivni koki (alfa hemolitični ali zeleneči streptokoki, stafilokoki, enterokoki, piogeni streptokoki) in po Gramu negativne bakterije iz skupine HACEK (*Haemophilus*, *Aggregatibacter*, *Cardiobacterium*, *Eikenella*, *Kingella*). Skupaj povzročajo tri četrtine primerov endokarditisa. Odvisno od epidemiološke situacije so povzročitelji endokarditisa tudi *Bartonella* spp., *Brucella* spp., *Coxiella burnetii*, *Tropheryma whipplei* in še nekatere druge znotrajcelične bakterije. V Sloveniji se srečamo le s posameznimi primeri teh okužb. Delež glivnega endokarditisa je pod 3 %, povzročajo pa ga glive iz rodu *Candida* in *Aspergilu*. Klinična slika in prognoza je pogosto odvisna od povzročitelja, saj ima na primer endokarditis pri mrzlici Q neznačilno klinično sliko, glivni endokarditis pa velike vegetacije in slabo prognozo. Odvzem krvi za hemokulture je standardna in najpomembnejša laboratorijska preiskava, ki pa je v primeru znotrajceličnih povzročiteljev praviloma negativna. Serološke preiskave krvi služijo predvsem za dokaz okužbe s klamidijami, rikacijami, bakterijo *Coxiella burnetii* in bartonelami. Za dokaz etiologije se lahko poslužimo tudi molekularnih metod za dokaz povzročitelja iz krvi ali iz tkiva zaklopke, odvzete med operacijo.

Abstract

The most common infectious agents of infectious endocarditis (IE) are Gram positive cocci (alpha hemolytic or viridans streptococci, staphylococci, enterococci, pyogenic streptococci) and Gram negative bacteria from the HACEK group (Haemophilus spp., Aggregatibacte spp., Cardiobacterium, Eikenella, Kingella.) Altogether they cause approximately three quarters of infective endocarditis cases. Depending on the epidemiological situation, Bartonella spp., Brucella spp., Coxiella burnetii Tropheryma whipplei and some other intracellular bacteria

also cause endocarditis. In Slovenia, there are only individual cases of these infections. The proportion of fungal endocarditis is less than 3% and is caused by fungi of the genus *Candida* and *Aspergillus* spp. Clinical presentation and prognosis are often pathogen-dependent, for example, endocarditis in Q fever has non-specific clinical picture and fungal endocarditis has large vegetations and poor prognosis. Blood cultures are standard and most important laboratory test, which in general is negative in the case of intracellular agents. Serological tests serve primarily to prove the infection with *chlamydia*, *rickettsia*, *Coxiella burnetii* and *bartonella*. Molecular methods may also be used to demonstrate the etiology of endocarditis from blood or from the valves removed during surgery.

UVOD

Infekcijski endokarditis je relativno redka bolezen, identifikacija povzročitelja pa kritična za izbiro ustreznega zdravljenja in siceršnje vodenje bolnikov. Število posameznih primerov endokarditisa, ki so ga povzročili nenavadni povzročitelji, je veliko. Iskanje po ključni besedi »case report« v PubMedu je dalo več kot 13.000 zadetkov. Mikrobi, ki sicer najpogosteje povzročajo IE, so po Gramu pozitivni koki (alfa hemolitični ali zeleneči streptokoki, stafilokoki, enterokoki, piogeni streptokoki). Redkejši povzročitelji so po Gramu negativne bakterije iz skupine HACEK (*Haemophilus*, *Aggregatibacter*, *Cardiobacterium*, *Eikenella*, *Kingella*), *Bartonella* spp., *Brucella* spp., *Coxiella burnetii*, *Tropheryma whippelii* in še nekatere druge znotrajcelične bakterije (Tabela 1). Tudi glivni endokarditis je redek, pojavi se večinoma pri bolnikih po operativnih posegih ter pri intravenskih uživalcih nedovoljenih drog. Hemokulture so pri redkih povzročiteljih pogosto negativne in diagnozo postavimo bodisi serološko bodisi z uporabo molekularne mikrobiološke diagnostike. V prispevku so predstavljene klinične in epidemiološke značilnosti redkih povzročiteljev endokarditisa.

Tabela 1. Povzročitelji infekcijskega endokarditisa na Kliniki za infekcijske bolezni v Ljubljani (1984-2018)

Povzročitelj	1984-2018 N (%)	1984-2011 N (%)	2012-2018 N (%)
Skupaj	952	603	349
<i>Staphylococcus aureus</i> *	329 (30,9)	193 (28,6)	136 (34,9)
Zeleneči streptokoki	228 (21,4)	159 (23,6)	69 (17,7)
Koagulazno negativni stafilokoki	87 (8,1)	57 (8,4)	30 (7,7)
Enterokoki	69 (6,4)	41 (6,1)	28 (7,1)
HACEK**	27 (3,5)	13 (1,9)	14 (3,5)
<i>Streptococcus bovis</i>	26 (2,4)	16 (2,4)	10 (2,5)
Po Gramu negativni bacili	38 (3,5)	17 (2,5)	21 (5,3)
Glive	22 (2)	12 (1,6)	10 (2,5)

Negativne kulture (brez dokazanega povzročitelja)	126 (11,8)	95 (14,1)	31 (7,9)
---	------------	-----------	----------

*Delež *Staphylococcus aureus*, odpornega proti meticilinu MRSA (iz angl. methicillin resistant *Staphylococcus aureus*) je 8 %; ** HACEK – *Haemophilus*, *Aggregatibacter*, *Cardiobacterium*, *Eikenella*, *Kingella*.

EPIDEMIOLOGIJA REDKIH POVZROČITELJEV

Pogostnost redkejših povzročiteljev variira glede na geografske in druge epidemiološke posebnosti.¹ V evropskih državah je letno povprečno evidentiranih od 3 do 10 primerov endokarditisa, povzročena s *C. burnetii*, z izjemo Francije, kjer je incidenca precej višja.² Letna incidenca mrzlice Q je na severu Evrope nižja kot na jugu. Prevalenca endokarditisa, ki ga povzroča bartonela, v Evropi prav tako raste od severa proti jugu (manj kot 1 % v severni Evropi, 1 % v Angliji, 3 % v Franciji in Nemčiji); ≥ 10 % v Tuniziji in Alžiriji.³ Nekateri raziskave kažejo, da je tudi *T. whipplei* verjetno podcenjena kot vzrok endokarditisa. Po podatkih raziskave iz Nemčije naj bi bil delež *T. whipplei* do 6 %, pri nas pa so primeri endokarditisa v sklopu Whipplelove bolezni zelo redki.⁴ Med redkimi vzroki so tudi mikobakterije. Opisani so primeri okužbe z *Mycobacterium chimaerae* in *Mycobacterium abscessus* v povezavi s kontaminiranimi aparati za zunaj telesni krvni obtok.^{5,6} Med glivami so, kot povzročitelj endokarditisa, najpogostejše kvasovke vrste kandida. Dosti redkejši povzročitelj je aspergilus. Delež glivnih endokarditisov večino ne presega 5 %.^{7,8}

POSEBNOSTI KLINIČNIH SLIK

HACEK (Haemophilus, Aggregatibacter, Cardiobacterium, Eikenella, Kingella)

V kohorti 952 bolnikov z endokarditisom na Kliniki za infekcijske bolezni (1984-2018) je bil delež po Gramu negativnih bacilov iz skupine HACEK 3,5 % (skupaj 27 bolnikov). Prevladovali so bolniki, kjer je okužbo povzročil *Haemophilus* ali *Aggregatibacter* (na umetnih zaklopkah). Le pri eni bolnici je bila dokazana okužba z *Eikenello*.⁹ V večji raziskavi primerov endokarditisa so mikroorganizmi skupine HACEK povzročili le 1,3 % primerov endokarditisa (17 od 1209 primerov). *Aggregatibacter* je bil najpogostejši povzročitelj. Bolj natančna analiza je pokazala tendenco k nekoliko večjim vegetacijam in manjšo smrtnost pri bolnikih s HACEK endokarditisom.¹⁰ Ker so HACEK mikroorganizmi počasne rasti, je včasih interpretacija standardnih minimalnih inhibitornih koncentracij (MIK) težka. Nekateri HACEK mikroorganizmi proizvajajo beta-laktamaze, zato ampicilin ni več zdravilo prve izbire. Običajno so občutljivi na ceftriakson, ki je tudi standardno zdravilo za zdravljenje HACEK endokarditisa in sicer v odmerku 2 g dnevno 4 tedne za endokarditis na nativni zaklopki in 6 tednov za endokarditis na umetni zaklopki. V kolikor HACEK mikroorganizmi ne proizvajajo beta-laktamaz je možno zdravljenje s kombinacijo ampicilina (12 g dnevno v štirih do šestih odmerkih) in gentamicina (3 mg/kg/dan v dveh ali treh odmerkih). Ciprofloksacin (400 mg/8-12 h i.v. ali 750 mg/12 h oralno) je prav tako terapevtska možnost, ki pa je slabše ovrednotena.

Bruceloza

Bruceloza je razširjena je po vsem svetu. Gostitelji bakterije so številne živali - govedo, svinje, ovce, koze, psi, podgane. Kužna so tkiva, kri, urin, izločki spolovil, mrtvorojen plod, še posebno posteljica in mleko živali. Bolezen je endemična na področju Bližnjega vzhoda, Mediterana, Južne Azije in Južne Amerike.¹¹ Okužbo pri človeku povzroči ena od treh vrst brucele: *Brucella melitensis*, *Brucella abortus* ali *Brucella suis*. V Sloveniji je okužba izjemno redka in je praviloma vnesena iz drugih držav, vendar so v zadnjem času primeri bruceloze nekoliko bolj pogosti. Opisani so primeri laboratorijskih okužb, možen je tudi spolni prenos. Bruceloza običajno poteka akutno ali subakutno z vročino, ki je lahko kontinuirana, intermitentna ali pa se pojavlja neredno. Ostali simptomi so obilno znojenje, utrujenost, izguba apetita, hujšanje, glavobol, bolečine v sklepih in mišicah. Pri zapleteni brucelozi so prizadeti osrednje živčevje (nevrobruceloza), hrbtenica (spondilodiscitis), srce (endokarditis) in moda (orhitis). Nevrobruceloza in endokarditis sta najpogostejša vzroka smrti zaradi okužbe z brucelo.¹² Brucelozni endokarditis je zelo redek (2 %), vendar predstavlja 80 % smrti zaradi bruceloze. Klinična slika je zelo nespecifična in diagnoza pogosto zakasni. Zelo pomembna je epidemiološka anamneza - bivanje v endemskih področjih z brucelozo, uživanje nepasteriziranega mleka in mlečnih izdelkov iz nepasteriziranega mleka (kozje, ovčje, redko tudi kravje) ter tesen kontakt z okuženimi živalmi. Najbolj izpostavljena skupina so delavci, migranti iz držav bivše Jugoslavije in njihovi družinski člani, ki pogosto bivajo v endemskih področjih. Diagnozo postavimo z mikrobiološkim dokazom. Zaradi velikega tveganja za laboratorijsko okužbo je ključnega pomena, da pri pošiljanju biološkega materiala na kulturo, jasno opozorimo laboratorij, da je možna okužba z brucelo. Okužbo lahko dokažemo tudi serološko (Wrightova reakcija) ali molekularno z reakcijo pomnoževanja z verižno polimerazo (angl. *Polymerase chain reaction* - PCR). Nezapletene primere bruceloze zdravimo z doksiciklinom 100 mg dvakrat dnevno šest tednov v kombinaciji z enim od aminoglikozidov (pri nas običajno gentamicin) dva do tri tedne. Alternativno zdravljenje je z rifampinom 600 do 900 mg in doksiciklinom šest tednov. Ostale terapevtske možnosti so še trimetoprim/sulfametoksazol (TMP/SMX) ali ciprofloksacin z doksiciklinom ali rifampinom.¹³ Za zdravljenje zapletene bruceloze se običajno uporabljajo kombinacije treh antibiotikov. Endokarditis zdravimo s kombinacijo kirurškega in antibiotičnega zdravljenja. Priporočeno antibiotično zdravljenje je kombinacija rifampicina 300 do 600 mg na dan, TMP/SMX 160/800 mg na 12 ur in doksiciklina 200 mg/24 ur oralno tri do šest mesecev.¹⁴ Tudi ceftriakson ima aktivnost proti bruceli in se je v posameznih primerih izkazal kot primerno zdravilo za zdravljenje nevrobruceloze in endokarditisa v kombinaciji z drugimi antibiotiki (npr. aminoglikozidom in rifampicinom), vendar podatki temeljijo le na posameznih kliničnih primerih.¹⁵

Bartoneleza

Bartonela poleg boleznih mačje praske, bacilarne angiomatoze, rovovske mrzlice (angl. »*trench fever*«) in drugih oblik boleznih lahko povzroči tudi infekcijski endokarditis. Bartonele so majhni, ukrivljeni, po Gramu negativni bacili. Naravni rezervoar posameznih vrst bartonele je se razlikuje glede na živalske vrste. Protitelesa proti vrstam bartonele so opazili pri mačkah iz mnogih delov sveta. Kaže, da se lahko vsaka patogena vrsta bartonele prenaša preko členonožcev z različnih živalskih vrst. Pomen bartonel

kot povzročiteljic endokarditisa z negativnimi hemokulturami je bil opisan leta 1993, ko so dokazali okužbo z *Bartonella quintana* pri HIV pozitivnem bolniku z endokarditisom.¹⁶ Kmalu zatem je bilo dokazanih več primerov bartoneloznega endokarditisa pri brezdomcih, ki so bili sicer kronični alkoholiki, vendar imunokompetentni.¹⁷ Ščasoma je postalo jasno, da lahko endokarditis povzročajo tudi druge bartonele in do sedaj so bili opisani primeri okužb z *Bartonella henselae*, *Bartonella alsatica*, *Bartonella elizabethae*, *Bartonella koehlerae*, *Bartonella mayotimonensis* in *Bartonella vinsonii* subsp. *arupensis* in *berkhoffii*. Primer bolnika s kroničnim potekom endokarditisa in dokazano okužbo z *B. henselae* smo opisali tudi pri nas.¹⁸ Bartonela povzroča endokarditis predvsem na predhodno spremenjenih zaklopkah in povzroča hude okvare zaklopk, zato je potrebno kirurško zdravljenje pri več kot 90 % primerov. Serološke preiskave so temelj etiološke diagnoze endokarditisa, povezanega z bartonelo. Vendar pa primanjkuje primerjalnih študij in med različnimi vrstami bartonele lahko pride do navzkrižne reaktivnosti. V kolikor je bolnik operiran, lahko bartonele dokažemo v odstranjeni zaklopki s posebnimi barvanji in z molekularno diagnostiko. Optimalna antibiotična terapija za bartonelozni endokarditis ni definirana. Običajno se priporoča podaljšano zdravljenje z doksiciklinom s 14-dnevnim dodatkom aminoglikozida.¹⁹

Mrzlica Q

Mrzlica Q je zoonoza, razširjena po vsem svetu. Povzroča jo *C. burnetii*, ki je strikten znotrajcelični patogen. Okužba nastane z inhalacijo kužnega aerosola ali z uživanjem kontaminiranega mleka in mlečnih izdelkov. Endokarditis se pojavi pri 70 % primerov kronične okužbe s koksielem, zelo redko pa pri akutni mrzlici Q. Predstavlja 10 % primerov endokarditisa z negativnimi hemokulturami. Incidenca pa se razlikuje glede na lokalno epidemiološko situacijo.²⁰ Čeprav so v Sloveniji endemična področja za mrzlico Q, so bili dokazani le posamezni primeri endokarditisa. Diagnozo mrzlice Q postavimo serološko in s PCR. Na diagnozo endokarditisa posumimo predvsem po preboleli akutni mrzlici Q, ko se pojavijo protitelesa proti fazi I, ki so značilna za kronično okužbo, v titru 1:1024 ali več in v ustreznih epidemioloških okoliščinah. Tveganje za pojav kronične mrzlice Q je večje pri bolnikih z okvarjenimi srčnimi zaklopkami, motnjami imunskega odgovora, okvarami ožilja in ledvično okvaro. Zdravljenje akutne mrzlice Q naj bi preprečevalo pojav endokarditisa pri bolnikih z že prisotno okvaro zaklopk. Zdravljenje endokarditisa je dolgotrajno, ponavadi več kot 18 mesecev. Zdravilo prve izbire je doksiciklin v kombinaciji s hidriksiklorokinom.

Whippleva bolezen

T. whipplei je znotrajcelična po Gramu pozitivna aktinobakterija, ki je ubikvitarna v okolju. Da povzroča endokarditis, so z molekularnimi tehnikami dokazali leta 1997, medtem ko so bakterijo osamili kasneje.²¹ Sama bolezen je redka, primeri endokarditisa pa še redkejši. Največja serija bolnikov je bila opisana v Španiji, kjer so v večji raziskavi (3265 bolnikov) zbrali 17 primerov endokarditisa, povzročenega s *T. whipplei*. Od 17 bolnikov jih je šest imelo osnovno srčno bolezen. Imunosupresivno zdravljenje je prejemal le en bolnik. Glavna klinična manifestacija je bilo srčno popuščanje in sicer pri večini bolnikov. Devet od 17 bolnikov je imelo bolečine v sklepih, pri sedmih bolnikih pa je bolezen trajala več kot šest mesecev. Le šest bolnikov je imelo vročino in le dva klasično klinično sliko Whippleve bolezni. 16 bolnikov je imelo prizadeto aortno zaklopko, pri

šestih je bila obenem prizadeta še mitralna zaklopka. Le pri enem bolniku se je pojavil embolični zaplet. Večina bolnikov (94 %) je bila operiranih, predvsem zaradi srčnega popuščanja ob insuficienci zaklopke. Diagnozo so postavili s PCR preiskavo odstranjenih zaklopk, barvanje po PAS-u pa je bilo pozitivno pri 5 od 6 bolnikov. Začetno zdravljenje je bilo s ceftriaksonom v 64 %, bolnike pa so zdravili z različnimi antibiotiki peroralno vsaj leto dni (TMP/SMX, doksiciklin, v kombinaciji s hidroklorokinom ali brez njega). Potek bolezni je bil ugoden in noben od bolnikov ni umrl.²² Najpogosteje uporabljen in priporočen režim zdravljenja je bil s ceftriaksonom 2 tedna, nato pa leto dni s TMP/SMX, vendar zadnja priporočila Evropskega združenja za kardiologijo priporočajo doksiciklin (100 mg dvakrat dnevno) in hidroklorokin (200 do 600 mg) peroralno za ≥ 18 mesecev.²³

Mycobacterium chimaera

M. chimaera je netuberkulozna mikobakterija, ki pripada *Mycobacterium avium* kompleksu. Je oportunistični patogen. V zadnjih letih je bilo več poročil o okužbah po srčnih operacijah. Značilnost teh okužb je slaba prognoza s smrtnostjo preko 50 %. Prenos okužbe nastane med srčno operacijo zaradi aerosolov, ki jih oddajajo kontaminirane hladilno ogrevalne enote. Klinične slike teh okužb so bile endokarditis, okužbe žilnih vsadkov, okužbe kirurške rane in diseminirane okužbe. V Sloveniji se s to vrsto okužb še nismo srečali. Zdravimo z makrolidom (klaritromicin) v kombinaciji z etambutolom, rifampicinom, amikacinom ali moksifloksacinom.²⁴

MIKROBIOLOŠKA DIAGNOSTIKA ENDOKARDITISA Z NEOBIČAJNIMI POVZROČITELJI

Večino klinično signifikantnih bakterij sodobni sistemi za izolacijo zaznajo že v 48 urah. Za detekcijo fungemije je običajno potrebnih še dodatnih 24 do 48 ur dodatne inkubacije.²⁵ Moderni sistemi za detekcijo pozitivnih hemokultur zaznajo v petih dneh tudi večino t.i. "izbirčnih" patogenov, kot so člani skupine HACEK. *Cutibacterium* (prej *Propionibacterium*) *acnes* je sicer redek vzrok endokarditisa, vendar lahko spregledan, če se hemokulture zavržejo po 5 dneh inkubacije. Mediani čas do detekcije rasti je 7 dni (3 do 9 dni).^{26,27} Kulture ostanejo negativne pri 2 do 7 % bolnikov z endokarditisom, tudi če so še tako skrbno odvezete, pogostnost je večja pri bolnikih, ki so že bili zdravljeni z antibiotiki.²⁸ Skoraj četrtino endokarditsov z resnično negativnimi hemokulturami povzročajo bodisi *C. burnetii* bodisi *Bartonella* spp. Serološki testi na te bakterije so že vključeni v modificirana Dukova merila za infektivni endokarditis.²⁹

Serološko testiranje

Serološko testiranje uporabljamo za dokaz povzročiteljev endokarditisa z negativnimi hemokulturami. Titri protiteles na fazo I proti *C. burnetii* več kot 1:512, so diagnostični za endokarditis pri mrzlici Q, podobno velja tudi za titre proti bartoneli. Žal je pri bolnikih z mrzlico Q lahko prisotna navzkrižna reaktivnost s protitelesi proti bartonelam in klamidijam.³⁰ Poleg tega je vloga klamidij pri etiologiji endokarditisa zelo kontroverzna in vprašljiva. Zaradi navzkrižnih protiteles proti bartoneli jo je tudi težko dokazati. Sistematično testiranje na povzročitelje endokarditisa z negativnimi hemokulturami v naših epidemioloških razmerah ni smiselno, saj gre za zelo redke primere. Bolj smiselno

je testiranje (skupaj z ehokardiografijo) v specifičnih epidemioloških okoliščinah (izbruh mrzlice Q, potovanje v endemska področja bruceloze ipd.)

Molekularne diagnostične metode

Molekularne tehnike, ki uporabljajo širokospektralno PCR za gen za 16S rDNA (za bakterije) ali 18S rDNA (za glive), ki jih je mogoče nato sekvenirati za identifikacijo patogenov, izvedene na reseciranih zaklopkah, so v zadnjih 15 letih omogočile večje odkrivanje mikroorganizmov, povzročiteljev endokarditisa.³¹ PCR je zelo občutljiva metoda, večina kliničnih podatkov je iz raziskav, opravljenih na vzorcih tkiv, odvzetih ob operaciji. V naši raziskavi, kjer je bilo vključenih 26 bolnikov z diagnozo endokarditisa, je bila s širokospektralna PCR za 16S rDNA (evbakterijskim PCR) iz zaklopk, odvzetih ob operaciji, pomembno bolj pogosto pozitivna kot kultura zaklopke (53,8 % vs. 30,7 %, $p < 0.001$).³² Molekularno testiranje tkiva zaklopke je najbolj koristno v primerih, ko etiologije ni možno potrditi s standardnimi mikrobiološkimi testi (kultura ali serologija).³³ PCR je še posebej uporabna pri bolnikih z negativnimi hemokulturami, ki so bili predhodno izpostavljeni antibiotikom, saj bakterijska DNK pogosto vztraja, tudi če so organizmi prisotni v tako majhnem številu, da jih ni mogoče zaznati s kulturo. Ker pa lahko bakterijska DNK vztraja tudi potem, ko ni več prisotnih živih mikrobov in ker je kontaminacija vzorca lahko povezana z lažno pozitivnimi rezultati, je treba ugotovitve PCR razlagati v okviru drugih kliničnih informacij in jih ne smemo uporabljati za usmerjanje trajanja terapije. Med najpogostejše prepoznane bakterije, povzročiteljice endokarditisa, so bili streptokoki, enterokoki, stafilokoki, *Bartonella* spp. in *T. whipplei*.³⁴ Občutljivost PCR za identifikacijo patogenov pri endokarditisu z negativnimi hemokulturami znaša od 40 do 60 %, specifičnost je laboratorijsko odvisna, vendar v nekaterih okoliščinah doseže skoraj 100 %.³⁵ PCR za specifične patogene se je izkazal za bolj občutljiv kot PCR širokega spektra.³⁶

ZAKLJUČEK

V literaturi so opisani številni posamezni primeri endokarditisa, ki so jih povzročili nenavadni povzročitelji. Da gre res za endokarditisa, moramo pomisliti pri bolniku (pogosto s predhodno okvaro zaklopke ali z umetno zaklopko), ki ima vztrajno negativne hemokulture, znake srčnega popuščanja in/ali znake okvare zaklopke ali embolične manifestacije. Diagnozo postavimo v glavnem z ehokardiografijo. Kadar pa ehokardiografsko dokažemo endokarditis in so hemokulture negativne, v ustreznih epidemioloških okoliščinah opravimo serološko ali molekularno testiranje. Pomislimo tudi na neinfekcijske vzroke sprememb na zaklopkah (antifosfolipidni sindrom, revmatična vročina, miksom, marantični endokarditis, vaskulitis).

Literatura

1. Raoult D, Casalta JP, Richet H, Khan M, Bernit E, Rovey C, et al. Contribution of systematic serological testing in diagnosis of infective endocarditis. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 5238–42.
2. Benslimani A, Fenollar F, Lepidi H, Raoult D. Bacterial zoonoses and infective endocarditis, Algeria. *Emerg Infect Dis* 2005; 11: 216–24.
3. Znazen A, Rolain JM, Hammami N, Kammoun S, Hammami A, Raoult D. High prevalence of *Bartonella quintana* endocarditis in Sfax, Tunisia. *Am J Trop Med Hyg* 2005; 72: 503–7.
4. Geissdörfer W, Moos V, Moter A, Loddenkemper C, Jansen A, Tandler R, et al. High frequency of *Tropheryma whipplei* in culture-negative endocarditis. *J Clin Microbiol* 2012; 50: 216–22.

5. Kohler P, Kuster SP, Bloemberg G, Schulthess B, Frank M, Tanner FC, Rössle M, et al. Healthcare-associated prosthetic heart valve, aortic vascular graft, and disseminated *Mycobacterium chimaera* infections subsequent to open heart surgery. *Eur Heart J* 2015; 36: 2745–53.
6. Baker AW, Lewis SS, Alexander BD, Chen LF, Wallace RJ Jr, Brown-Elliott BA et al. Two-Phase Hospital-Associated Outbreak of *Mycobacterium abscessus*: Investigation and Mitigation. *Clin Infect Dis* 2017; 64: 902–11.
7. Ojha N, Dharamoon AS. Fungal Endocarditis. [Updated 2019 Nov 22]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2019 Jan. Dosegljivo na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532987/>
8. Lejko Zupanc T, Logar M. Candida Endocarditis: A Review of Twelve Episodes in Eleven Patients. *J Heart Valve Dis* 2017; 26: 98–102.
9. Tretjak M, Vujašinić M, Piltaver-Vajdec I, Pikelj Pečnik A, Kikec Z. Infekcijski endokarditis na trikuspidalni zakločki, povzročen z bakterijo *Eikenella corrodens*. *Zdrav Vestn* 2015; 84: 491–4.
10. Ambrosioni J, Martínez-García C, Llopis J, García-de-la-Maria C, Hernández-Meneses M, Tellez A, et al. Hospital Clinic Infective Endocarditis Investigators. HACEK infective endocarditis: Epidemiology, clinical features, and outcome: A case-control study. *Int J Infect Dis* 2018; 76: 120–5.
11. Pappas G, Papadimitriou P, Akritidis N, Christou L, Tsianos EV. The new global map of human brucellosis. *Lancet Infect Dis* 2006; 6: 91–9.
12. Corbel MJ, Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization & World Organisation for Animal Health. (2006). Brucellosis in humans and animals. World Health Organization. Dosegljivo na: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/43597>
13. Tuon FF, Cerchiari N, Cequinell JC, Droppa EEH, Moreira SDR, et al.. Guidelines for the management of human brucellosis in the State of Paraná, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 2017; 50: 458–64.
14. Kulkarni SK, Bhairappa S, Rangan K P B. A tale of four valves: outcome of Brucella endocarditis: a case series. *Eur Heart J Case Rep.* 2019 ; 3. doi: 10.1093/ehjcr/ytz03.
15. Fatani DF, Alsanooi WA, Badawi MA, Thabit AK. IDCases. 2019 Sep 5;18:e00633. doi: 10.1016/j.idcr.2019.e00633. eCollection 2019.
16. Spach DH, Callis KP, Paauw DS, Houze YB, Schoenknecht FD, Welch DE, et al. Endocarditis caused by *Rochalimaea quintana* in a patient infected with human immunodeficiency virus. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 692–4.
17. Spach DH, Kanter AS, Dougherty MJ, Larson AM, Coyle MB, Brenner DJ, et al. Bartonella (*Rochalimaea*) quintana bacteremia in inner-city patients with chronic alcoholism. *N Engl J Med* 1995; 332: 424–8.
18. Lejko-Zupanc T, Slemenik-Pusnik C, Kozelj M, Klokočevnik T, Avsic-Zupanc T, Dolenc-Strazar Z, et al. Native valve endocarditis due to *Bartonella henselae* in an immunocompetent man. *Wien Klin Wochenschr.* 2008; 120: 246–9.
19. Edouard S, Nabet C, Lepidi H, Fournier PE, Raoult D. Bartonella, a common cause of endocarditis: a report on 106 cases and review. *J Clin Microbiol.* 2015; 53: 824–9.
20. Elzein FE, Alsharbeeni N, Alnajashi K, Alsufyani E, Akhtar MY, Albalawi R, et al. Ten-year experience of Q fever endocarditis in a tertiary cardiac center in Saudi Arabia. *Int J Infect Dis* 2019; 88: 21–26.
21. Goldenberger D, Kunzli A, Vogt P, Zbinden R, Altwegg M.. Molecular diagnosis of bacterial endocarditis by broad-range PCR amplification and direct sequencing. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 2733–9.
22. García-Álvarez L, Sanz MM, Marín M, Fariñas C, Montejo M, Goikoetxea J, et al. *Tropheryma whipplei* endocarditis in Spain. Case reports of 17 prospective cases. *Medicine (Baltimore).* 2016; 95(26): e4058. doi: 10.1097/MD.0000000000004058
23. Habib G, Lancellotti P, Antunes MJ, Bongiorni MG, Casalta JP, Del Zotti F, et al. 2015 ESC Guidelines for the management of infective endocarditis. *Eur Heart J* 2015; 36: 3075–128.
24. Riccardi N, Monticelli J, Antonello RM, Luzzati R, Gabrielli M, Ferrarese M, et al. *Mycobacterium chimaera* infections: An update. *J Infect Chemother.* 2019. pii: S1341-321X(19)30345-9. doi: 10.1016/j.jiac.2019.11.004. [Epub ahead of print]
25. Doern GV, Brueggemann AB, Dunne WM, Jenkins SG, Halstead DC, McLaughlin JC. Four-day incubation period for blood culture bottles processed with the Difco ESP blood culture system. *J Clin Microbiol.* 1997; 35 : 1290–2.
26. Petti CA, Bhalley HS, Weinstein MP, Joho K, Wakefield T, Reller LB, et al. Utility of extended blood culture incubation for isolation of *Haemophilus*, *Actinobacillus*, *Cardiobacterium*, *Eikenella*, and *Kingella* organisms: a retrospective multicenter evaluation. *J Clin Microbiol.* 2006; 44 : 257–9.
27. Banzon JM, Rehm SJ, Gordon SM, Hussain ST, Pettersson GB, Shrestha NK. *Propionibacterium acnes* endocarditis: a case series. *Clin Microbiol Infect* 2017; 23: 396–9.
28. Hoen B, Selton-Suty C, Lacassin F, Etienne J, Briançon S, Lepout C, et al. Infective endocarditis in patients with negative blood cultures: analysis of 88 cases from a one-year nationwide survey in France. *Clin Infect Dis* 1995; 20: 501–6.
29. Li J, Sexton D, Mick N, Nettles R, Fowler VG Jr, Ryan T, et al. Proposed modifications to the Duke criteria for the diagnosis of infective endocarditis. *Clin Infect Dis* 2000; 30: 633–8.
30. Houpiqian P, Raoult D. Diagnostic methods. Current best practices and guidelines for identification of difficult-to-culture pathogens in infective endocarditis. *Cardiol Clin.* 2003; 21: 207–17.
31. Wollff TY, Moser C, Bubdgaard H, Hoeiby N, Nielsen PH, Thomsen TR. Detection of microbial diversity in endocarditis using cultivation independent molecular techniques. *Scan J Infect Dis.* 2011; 43: 857–69.
32. Müller Premru M, Lejko Zupanc T, Klokočevnik T, Ruzić Sabljic E, Cerar T, et al. Broad-range 16S rDNA PCR on heart valves in infective endocarditis. *J Heart Valve Dis.* 2016; 25: 221–6.
33. Vondracek M, Sartipy U, Aufwerber E, Julander I, Lindblom D, Westling K. 16S rDNA sequencing of valve tissue improves microbiological diagnosis in surgically treated patients with infective endocarditis. *J Infect* 2011; 62: 472–8.

-
34. Fournier PE, Gouriet F, Casalta JP, Lepidi H, Chaudet H, Thuny F, et al. Blood culture-negative endocarditis: Improving the diagnostic yield using new diagnostic tools. *Medicine (Baltimore)* 2017; 96(47): e8392. doi: 10.1097/MD.00000000000008392.
 35. Breitkopf C, Hammel D, Scheld HH, Peters G, Becker K. Impact of a molecular approach to improve the microbiological diagnosis of infective heart valve endocarditis. *Circulation*. 2005; 111: 1415–21.
 36. Morel AS, Dubourg G, Prudent E, Edouard S, Gouriet F, Casalta JP, et al. Complementarity between targeted real-time specific PCR and conventional broad-range 16S rDNA PCR in the syndrome-driven diagnosis of infectious diseases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2015; 34: 561–70.
