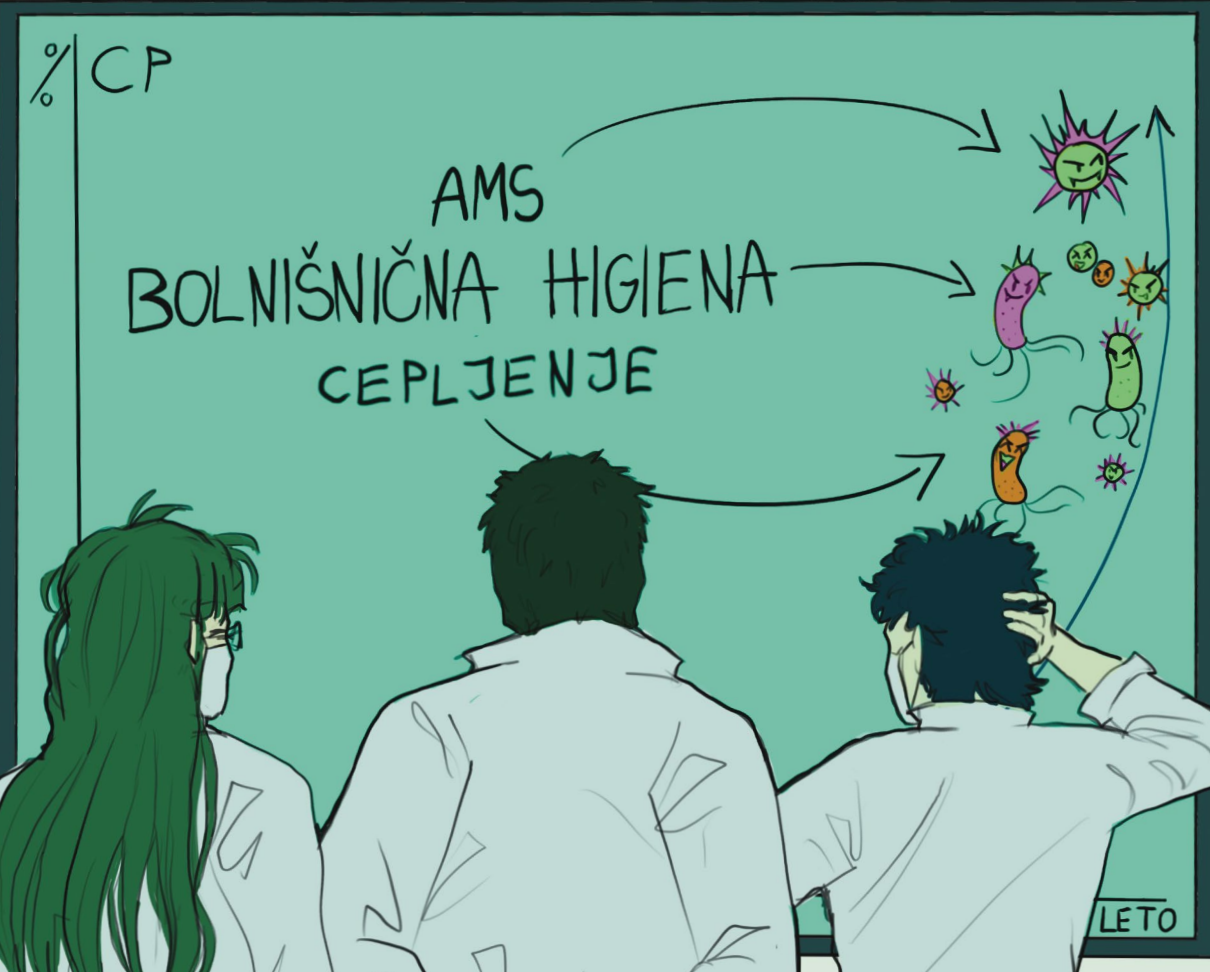


SKUPAJ ZA PRIHODNOST

- Sekcija za protimikrobno zdravljenje pri SZD in
Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja UKCL
- Sekcija za klinično mikrobiologijo in bolnišnične okužbe SZD in
Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo MFUL

Ljubljana, maj 2025



»Skupaj za prihodnost«

Infektološki simpozij 2025 (jubilejni 30.) in
Likarjev simpozij (13. po vrsti)
Simpozij klinične mikrobiologije in infekcijskih bolezni
(SIKMIB)

Sekcija za protimikrobno zdravljenje pri SZD in
Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja UKCL
Sekcija za klinično mikrobiologijo in bolnišnične okužbe SZD in
Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo MFUL

Ljubljana, 15. in 16. 5. 2025

	Skupaj za prihodnost
Naslov	Skupaj za prihodnost Infektološki simpozij 2025 (jubilejni 30.) in Likarjev simpozij (13. po vrsti) Simpozij klinične mikrobiologije in infekcijskih bolezni (SIKMIB)
Podnaslov	Skupaj za prihodnost
Organizatorji srečanja in založniki zbornika	Sekcija za protimikrobno zdravljenje pri SZD in Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja UKCL Sekcija za klinično mikrobiologijo in bolnišnične okužbe SZD in Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo MFUL
Urednika	doc. dr. Mateja Logar, dr. med. izr. prof. dr. Tadeja Matos, dr. med.
Recenzenti	Helena Ribič, dr. med. doc. dr. Lea Papst, dr. med. Ivana Velimirović, dr. med. doc. dr. Mateja Logar, dr. med. doc. dr. Polona Maver Vodičar, dr. med. doc. dr. Tereza Rojko, dr. med. prof. dr. Katja Seme, dr. med. doc. dr. Tadeja Kotar, dr. med. doc. dr. Mateja Pirš, dr. med. izr. prof. dr. Daša Stupica, dr. med. as. dr. Mojca Rožič, dr. med. dr. Julija Germ, dr. med. izr. prof. dr. Tadeja Matos, dr. med.
Lektor	Andrej Gogala, dipl. dram.
Tehnična podpora	Simona Rojs, dipl. ekon. Andreja Sorman, dipl. ekon. Jože Sodnik
Risba na naslovnici	Manca Logar
Izvedba	Studio Signum
Tisk	Birografika Bori
Založnik	Sekcija za protimikrobno zdravljenje SZD
Naklada	180 izvodov

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

616.9(082)
579.61(082)

INFEKTOLOŠKI simpozij (2025 ; Ljubljana)

Infektološki simpozij 2025 (jubilejni 30.) in Likarjev simpozij (13. po vrsti) : simpozij klinične mikrobiologije in infekcijskih bolezni (SIKMIB) : »skupaj za prihodnost« : Ljubljana, 15. in 16. 5. 2025 / [organizatorji srečanja] Sekcija za protimikrobno zdravljenje pri SZD in Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja UKCL [in] Sekcija za klinično mikrobiologijo in bolnišnične okužbe SZD in Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo MFUL ; [uredniki Mateja Logar, Tadeja Matos]. - Ljubljana : Sekcija za protimikrobno zdravljenje SZD, 2025

ISBN 978-961-7092-77-6
COBISS.SI-ID 235008515

Simpozij »Skupaj za prihodnost« so podprli
(po abecednem redu):

AbbVie

Alkaloid - FARM

AOP Orphan Pharmaceuticals

Axon Lab

Biomedis M.B.

BioSpectra

Diahem

El Pharma

Genos

Kemomed

Lek

Lenis

Mediline

Mediasi

Maritim

Medis

Meditrade

Merck Sharp & Dohme

Omega

Mikro + Polo

Pfizer

PROMED

Remas

Roche

VWR International GmbH

KAZALO ZBORNIKA

<i>Uvodnik</i>	7
Šterbenc Železnik A <i>Klinična mikrobiologija in infektologija: včeraj, danes in jutri</i>	8
Serdt M., Klepac P., Korošec A., Lejko Zupanc T., Logar M., Klavs I. <i>Bolnišnične okužbe v Slovenskih bolnišnicah za akutno oskrbo: Rezultati četrte nacionalne presečne raziskave</i>	17
Štrumbelj I., Janežič S., Kavka D., Pirš M. <i>Pojavnost večkratno odpornih bakterij v Sloveniji – izbrani podatki</i>	27
Pirš M., Kramar U., Kavka D., Ribič H., Beović B., Štrumbelj I. <i>Pojavnost enterobakterij s karbapenemazami v Sloveniji</i>	42
Janežič S., Žohar Čretnik T., Strašek Smrdel K., Celar Šturm A., Triglav T. <i>Sekveniranje bakterijskega genoma - spremljanje povzročiteljev in analiza izbruhov</i>	56
Kogoj R., Korva M., Triglav T., Resman Rus K., Lepen L., Bogovič P., Boltežar L., Tomažič J., Matičič M., Petrovec M. <i>Uporabnost metagenomskega sekvenciranja v klinični diagnostiki</i>	70
Mahnič A., Tominc K., Rupnik M. <i>Značilnosti črevesne mikrobiote pri različnih bakterijskih in virusnih okužbah</i>	81
Steyer A., Triglav T., Kotar T. <i>Sindromska diagnostika okužb prebavil</i>	91
Kotar T., Tamše J., Šoba Šparl B., Pirš M., Triglav T. <i>Obravnava akutne infekcijske driske v urgentni ambulanti</i>	98
Vidmar Vovko D., Pezdirec M., Seme K., Petrovec M. <i>Diagnostični algoritmi pri okužbah zgornjih dihal</i>	108
Pečavar B., Vovko T., Ambrožič J., Seme K., Keše D., Germ J. <i>Algoritem obravnave odrasle osebe z doma pridobljeno pljučnico v urgentni ambulanti</i>	118
Adamič P., Logar M., Križan Hergouth V., Ribič H. <i>Algoritem obravnave bolnika z okužbo sečil v urgentni ambulanti</i>	125
Černetič K., Kraševac Glaser A., Saletinger R. <i>Okužbe kože in mehkih tkiv</i>	136

Bogovič P., Zalaznik M., Triglav T., Avšič-Županc T, Poljak M. <i>Diagnostični algoritem pri bolnikih s seroznim meningitisom in encefalitisom</i>	145
Braune Kozjek V., Papst L., , Maver Vodičar P., Triglav T., Cvitković Špik V. <i>Okužbe kosti in sklepov – septični artritis in spondilodiscitis</i>	156
Nahtigal Klevišar M., Ciglar T. <i>Kaj pomeni podatek o nosilstvu večkratno odpornih bakterij za klinika</i>	167
Helena R. in sodelavci <i>Spremljanje odpornosti invazivnih bakterij v okviru mreže EARS-Net v Sloveniji</i>	175
Jereb M., Trebše N., Velimirovič I. <i>Bakteriemija in sepsa</i>	190
Papst L., Kraševac Glaser A, Rak M., Maver Vodičar P. <i>Okužbe ortopedskih in nevrokirurških vsadkov</i>	206
Mavrič M., Velimirovič I., Petek D., Logar M. <i>Diagnostični algoritmi in zdravljenje pri okužbah, povezanih z osrednjimi žilnimi katetri</i>	221
Šoštarič N., Logar M., Velimirovič I., Bredl J. <i>Diagnostika infekcijskega endokarditisa</i>	229
Logar M., Štrumbelj I., Velimirovič I., Pirš M. <i>Infekcijski endokarditis - zdravljenje in novosti EUCAST</i>	237
Štrumbelj I., Pirš M., Kavka D. <i>Pomembne novosti EUCAST v zadnjih letih – izbor</i>	246
Pirš M., Germ J., Štrumbelj I., Braune Kozjek V., Kovačič A., Planinc Strunjaš N. <i>Katere dodatne antibiotike lahko testiramo pri po Gramu negativnih bakterijah s karbapenemazami?</i>	258
Planinc Strunjaš N., Braune Kozjek V., Kovačič A., Štrumbelj I., Germ J., Pirš M. <i>Priporočila za zdravljenje okužb s po Gramu negativnimi bakterijami s karbapenemazami</i>	266
Velušček M., Stupica D. <i>Prihajajoči antibiotiki za zdravljenje okužb s po Gramu negativnimi bakterijami s karbapenemazami</i>	279
Čretnik Žohar T. <i>Kako s sistemom spremljanja nasloviti spreminjajočo se epidemiologijo MRSA</i>	288
Vincek K, Novakovič D., Tavčar N., Prunk Križanec P, Pirš M., Velimirovič I., Ribič H., Kavka D., Glavan U., Plankar Srovin T. <i>Pnevmokokne okužbe – trendi občutljivosti pri otrocih in zdravljenje z ozkospekt(akularni)ralnim penicilinom</i>	296

Rožič M., Kastrin T., Kozinc M., Pokorn M. <i>Ali bomo sčasoma lahko upočasnili razvoj pnevmokoknih cepiv?</i>	305
Rodman Berlot J., Plankar Srovin T., Rojko T. <i>Zdravljenje mikoplazemskih pljučnic pri otrocih in odraslih</i>	317
Budič P., Granda A., Lenarčič Ž., Velimirović I. <i>Kdaj je smiselno naročiti odvzem hemokulture pri otroku z vročino?</i>	325
Bešič H., Mrvič T., Jevšnik Virant M., Skubic L. <i>Kdaj je smiselno uporabiti mikrobiološko diagnostiko okužbe dihal pri otrocih?</i>	337
Markelj G., Ihan A. <i>Prepoznavna hemofagocitne limfohistiocitoze</i>	351
Meglič AM. <i>Okužbe pri bolniku v pediatrični paliativni oskrbi</i>	360
Gregorčič S. <i>Okužbe pri odraslem bolniku v paliativni oskrbi</i>	369
Ružič Sabljic E., Cerar Kišek T., Podgoršek D., Celar Šturm A., Strašek Smrdel K. <i>Predstavitev leptospir, izoliranih pri ljudeh v Sloveniji</i>	375
Mikuletič T., Triglav T. <i>Vpliv epidemije COVID-19 na pojavnost rotavirusnih okužb in razporeditev rotavirusnih genotipov</i>	383
Loboda Č., Kotar T. <i>Aktualne teme v potovalni medicini</i>	390

UVODNIK

Spoštovane kolegice in kolegi.

z velikim veseljem vas pozdravljamo na prvem skupnem simpoziju slovenskih kliničnih mikrobiologov in infektologov – Simpoziju klinične mikrobiologije in infekcijskih bolezni (SIKMIB), ki nosi pomenljiv naslov »*Skupaj za prihodnost*«. Ta ni izbran naključno, temveč simbolizira dolgo pričakovano povezovanje dveh strok, ki si delita skupen cilj: boljše razumevanje in učinkovitejše obvladovanje nalezljivih bolezni, ki še vedno predstavljajo enega največjih izzivov sodobne medicine.

V ospredju letošnjega strokovnega srečanja je aktualna in vse bolj pereča tema – bakterijska odpornost proti antibiotikom. Gre za globalno grožnjo, ki že danes pomembno vpliva na vsakodnevno klinično prakso ter zahteva sistemski pristop, stalno prilagajanje in tesno sodelovanje med mikrobiologi in infektologi. Na simpoziju bomo predstavili najnovejše podatke o pojavnosti večkratno odpornih bakterij v Sloveniji, vključno z bakterijami, ki izločajo karbapenemaze, in spremljanjem odpornosti v okviru mreže EARS-Net. Obravnavali bomo priporočila za zdravljenje okužb s temi povzročitelji in predstavili obetajoča nova protimikrobna zdravila.

Posebno pozornost bomo namenili tudi napredku v diagnostičnih pristopih. Predstavili bomo metagenomsko sekvenciranje, vlogo črevesne mikrobiote pri okužbah, sindromsko diagnostiko ter algoritme za obravnavo najpogostejših okužb – od okužb dihal, sečil, kože in mehkih tkiv, do meningitisa, okužb, povezanih z vsadki in osrednjimi žilnimi katetri. Osvetlili bomo tudi novosti o diagnostiki in zdravljenju infekcijskega endokarditisa, vključno s priporočili EUCAST. Dotaknili se bomo tudi področij iz otroške infektologije, paliativne oskrbe ter aktualnosti s področja potovalne medicine in pnevmokoknih okužb ter cepljenj.

Kongres ni le priložnost za strokovno izobraževanje, temveč tudi za izmenjavo strokovnih izkušenj, osebnih spoznanj in krepitev sodelovanja. Verjamemo, da lahko samo z združenimi močmi ustvarimo trdne temelje za prihodnost, kjer bomo na izzive nalezljivih bolezni odgovarjali pravočasno, strokovno in usklajeno.

Hvala, da ste z nami.

Naj bo kongres navdih za skupne korake naprej.

Za organizatorje simpozija »*Skupaj za prihodnost*«

doc. dr. Mateja Logar, dr. med.

izr. prof. Tadeja Matos, dr. med.

Ljubljana, 15. in 16. maj 2025

KLINIČNA MIKROBIOLOGIJA IN INFEKTOLOGIJA: VČERAJ, DANES IN JUTRI

CLINICAL MICROBIOLOGY AND INFECTIOUS DISEASES – YESTERDAY, TODAY, TOMORROW

Anja Šterbenc

Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

IZVLEČEK

Sodelovanje med kliničnimi mikrobiologi in infektologi je temelj sodobne medicine – in to ne le zaradi nenehnih izzivov, ki jih prinašajo nalezljive bolezni, temveč tudi zaradi skupnega cilja: zagotavljanja optimalne oskrbe bolnikov. V tem kratkem pregledu se s kančkom nostalgije ozremo na začetke uspešnega sodelovanja med kliničnimi mikrobiologi in infektologi, se nato posvetimo aktualnim izzivom obeh specialnosti in se za konec sprašujemo, kakšna bo prihodnost.

Ključne besede: klinična mikrobiologija, infektologija, sodelovanje, pregled, izzivi

ABSTRACT

The collaboration between clinical microbiologists and infectious disease specialists is a cornerstone of modern medicine — not only because of the constant challenges posed by infectious diseases but also due to their shared goal: providing optimal patient care. In this brief review, we take a nostalgic look back at the beginnings of this successful collaboration, explore the current challenges faced by both specialties, and reflect on what the future may hold.

Keywords: clinical microbiology, infectious diseases, collaboration, review, challenges

VČERAJ – IZ ZGODOVINE SODELOVANJA

Ni skrivnost, da so v preteklosti klinični mikrobiologi in infektologi pogosto delovali kot dve ločeni stroki z različnimi prioritetami. Ideja o evropskem združenju kliničnih mikrobiologov je deloma zrasla kot posledica tekmovanja z ameriškim kongresom Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC), ki se je v 80. letih prejšnjega stoletja lahko pohvalil z izjemno obiskovanostjo. Evropsko združenje za klinično mikrobiologijo (ESCM) je bilo ustanovljeno leta 1983, pri čemer je takratni izvršni odbor pravzaprav sestavljala skupina prijateljev. Poznali niso le strokovnega dela svojih kolegov, temveč tudi njihove hobije in družine - včasih so skupaj celo preživljali poletne počitnice. Čeprav so že od samega začetka

potekale razprave o tem, ali naj združenje vključuje tudi infektologe, je bila odločitev o tem sprejeta šele leta 1990, ko je želel takratni predsednik združenja na podlagi tesnega sodelovanja obeh strok in po vzoru španskega nacionalnega združenja združiti obe specialnosti pod eno streho. Njegov predlog je podprlo kar 83% članov, s čimer se je ESCM nedolgo zatem tudi uradno preimenoval v Evropsko združenje za klinično mikrobiologijo in infekcijske bolezni (ang. *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*; ESCMID). Drzna ideja nekaj tesnih prijateljev, ki so sprva sestankovali v gorskih kočah na Bavarskem in v italijanskih Alpah, je prerasla v ugledno organizacijo, ki danes povezuje skoraj 13.000 članov iz 157 držav. Poleg tega se lahko združenje ESCMID pohvali z izjemnimi dosežki na področju izobraževanja: od leta 2015 je bilo pod okriljem združenja podeljenih kar 208 štipendij, od leta 2021 pa organiziranih že 111 tečajev. Posebej izstopa tudi letni kongres ESCMID Global, ki velja za enega največjih dogodkov na področju infektologije in klinične mikrobiologije – leta 2024 je privabil kar 18.599 udeležencev iz 155 držav sveta (1,2).

DANES – IZZIVI IN PRILOŽNOSTI

Kljub izjemnemu napredku na področju klinične mikrobiologije in infektologije v zadnjih desetletjih se zdi, da so dandanes izzivi obeh strok bolj kompleksni kot kdaj koli prej.

Vzpon superbakterij – smo na pragu post-antibiotičnega obdobja?

Odpornost mikrobov proti protimikrobnim zdravilom (mikrobna odpornost) predstavlja eno najresnejših groženj sodobni medicini, saj prispeva k približno 9 % vseh globalnih smrti in je med vodilnimi vzroki umrljivosti. Leta 2019 je bilo zabeleženih 13,7 milijona smrti, povezanih z okužbami, pri čemer se ocenjuje, da je bilo 4,95 milijonov smrti povezanih z odpornostjo bakterij proti antibiotikom, vključno z 1,27 milijonom smrti, ki so bile pripisane okužbam z odpornimi bakterijami (3). Nedavno objavljena sistematična analiza trendov mikrobne odpornosti (4) je pokazala, da se je med letoma 1990 in 2021 število smrti zaradi mikrobne odpornosti med otroki, mlajšimi od 5 let, zmanjšalo za več kot 50 %, medtem ko se je pri odraslih, starih 70 let in več, povečalo za več kot 80 %. Zanimivo je tudi opažanje, da je prišlo med pandemijo covida-19 celo do minimalnega upada v številu smrti zaradi mikrobne odpornosti. Analiza je žal pokazala tudi nekaj zaskrbljujočih trendov - leta 2019 je bila verjetnost, da je bil povzročitelj sepse s smrtnim izidom odporen proti antibiotikom, kar 25 % višja kot leta 1990. Še posebej skrb vzbujajoča je naraščajoča odpornost proti kritično pomembnim antibiotikom, predvsem zaradi bremena, ki ga predstavljajo proti karbapenemom odporne, po Gramu negativne bakterije in večkratno odporni bacili tuberkuloze. Po projekcijah se bo trend naraščanja deleža odpornih mikroorganizmov do leta 2050 še stopnjeval. V tem obdobju naj bi število smrti zaradi mikrobne odpornosti znatno naraslo – kumulativna ocena neposredno z mikrobno odpornostjo povezanih smrti med letoma 2025 in 2050 naj bi znašala 39,1 milijona (95 % interval zaupanja [IZ] 33,0–46,0 milijona), medtem ko bo posredno povezanih smrti v tem obdobju kar 169 milijonov (95 % IZ 145–196 milijonov), če ne bodo uvedeni učinkoviti interventni ukrepi. Leta 2050 bomo na letni ravni predvidoma beležili 1,91 milijona smrti neposredno in 8,22 milijona smrti posredno povezanih z mikrobno odpornostjo (4). Brez ustreznih ukrepov cilja Svetovne Zdravstvene Organizacije (SZO) za leto 2030 – to je 10-odstotno znižanje smrtnosti zaradi mikrobne odpornosti – ne bo mogoče doseči (5).

Kljub zaskrbljujočim napovedim pa vse le ni tako črno. Leta 2015 je SZO vzpostavila globalni sistem za nadzor mikrobne odpornosti in porabe antibiotikov (ang. *Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System*; GLASS), prvo globalno sodelovalno pobudo za standardizacijo nadzora nad mikrobno odpornostjo z zbiranjem, analizo, interpretacijo in izmenjavo podatkov, ki je do leta 2022 vključevala 127 držav (6). Poleg tega je bilo leta 2022 v klinični fazi preizkušanj 80 novih protimikrobnih zdravil, od katerih je 46 tradicionalnih (antibiotiki) in 34 netradicionalnih protimikrobnih učinkovin, kot so monoklonska protitelesa, bakteriofagi, protimikrobni peptidi in genska terapija (7).

Boj proti mikrobni odpornosti zahteva trajnostna in vzajemna prizadevanja, ki vključujejo izboljšanje lokalnih in mednarodnih politik ter izobraževanja o uporabi antibiotikov, krepitev nadzornih sistemov, preprečevanje okužb in prenosa mikroorganizmov, povezanih z mikrobno odpornostjo, ter razvoj novih tehnologij in alternativnih protimikrobnih terapij (7). Brez državne podpore, ustreznega sistema financiranja in tesnega sodelovanja med mikrobiologi in infektologi bomo bitko z večkratno odpornimi bakterijami zagotovo izgubili.

Nove infekcijske grožnje – ali smo (tokrat) pripravljeni?

Pred petimi leti so se v Wuhanu na Kitajskem prvič pojavila poročila o skrivnostni gripi podobni bolezni, ki je kasneje postala znana kot covid-19. Pandemija, ki je sledila, je s 777 milijoni primerov in več kot 7 milijoni zabeleženih smrti do marca 2025 dodobra pretresla svetovno zdravstvo in gospodarstvo (8). Izbruhi novih nalezljivih bolezni, kot so covid-19, mpox in hemoragične mrzlice, opozarjajo na krhkost zdravstvenih sistemov in nepredvidljivost patogenov. Kljub vsemu, pandemije niso nov pojav – vemo, da spremljajo človeštvo vse od prvih zapisov o izbruhih nalezljivih bolezni. Z odkritjem antibiotikov in izboljšanjem sanitarnih pogojev so se glavni povzročitelji le nekoliko spremenili – iz pretežno bakterijskih v antiki in srednjem veku smo v zadnjih stoletjih priča predvsem virusnim povzročiteljem pandemij. Dandanes omogočajo lažje širjenje patogenov in s tem pojav pandemij številni dejavniki. Med najpomembnejšimi so naraščajoče svetovno prebivalstvo in posledično večje povpraševanje po živilih živalskega izvora, vdiranje in izkoriščanje naravnih habitatov divjih živali, kar vodi do pogostejših stikov med ljudmi in živalmi, intenzivne kmetijske prakse, izrazita globalizacija, spremenjeni migracijski vzorci in habitati živali zaradi podnebnih sprememb ter pogoste mutacije RNA virusov (9). Zato ni vprašanje, ali bo prišlo do naslednje pandemije, vprašanje je, kdaj.

Izkušnje iz pandemije covid-19 so neprecenljive in predstavljajo priložnost za izboljšanje pripravljenosti na prihodnje izbruhe. Pri pandemiji covid-19 je bila pomanjkljiva pripravljenost na nove izbruhe razvidna iz zamud pri diagnostiki in iskanju stikov, kar je omogočilo hitro širjenje virusa; nejasnih in marsikdaj ob naglo razvijajoči se situaciji ter novih spoznanjih celo strokovno neutemeljenih navodilih za splošno kot tudi strokovno populacijo (npr. glede nošenja mask in rokavic); omejenem dostopu do osebne zaščitne opreme, pomanjkljive zaščite najbolj ogroženih skupin ter nezadostnega financiranja javnega zdravja (10). Kljub tem izzivom je pandemija covid-19 pospešila tehnološki razvoj in digitalno preobrazbo v številnih panogah, vključno z zdravstvom. Telemedicina, uporaba 3D-tiskalnikov in umetne inteligence v diagnostiki ter zdravljenju, aplikacije za sledenje stikov, robotika in internet medicinskih stvari (ang. *Internet of Medical Things*, IoMT) so med pandemijo doživeli razcvet (11).

Najhitrejši razvoj cepiva v zgodovini medicine je primer uspeha, ki je bil posledica takojšnjega mednarodnega odziva, izdatnega financiranja in prilagodljivih strategij, uporabljenih

v različnih sektorjih, vključno z izdajanjem izrednih odobritev s strani regulatornih organov. Prekrivajoče se in kombinirane faze kliničnih preizkusov skupaj s sprotnim ocenjevanjem kliničnih podatkov so omogočile skrajšanje časa od zasnove do dejanske uporabe cepiv z več (deset) let na manj kot eno leto (12).

Kljub hitremu in neprimerljivemu globalnemu sodelovanju bodo družbene, ekonomske in javnozdravstvene posledice covida-19 občutne še več let. Čeprav ni mogoče napovedati naslednje infekcijske grožnje, lahko premišljene analize in vrednotenje dosedanjih prizadevanj za načrtovanje in odzivanje na izbruhe nalezljivih bolezni omogočijo bolj proaktiven in učinkovit odziv v prihodnosti. Izkušnje iz pandemije covida-19 in priprav na pandemsko gripo poudarjajo naslednje ključne ukrepe: (1) dajanje prednosti raziskavam in razvoju v zgodnjih fazah ter uporabo avtomatiziranih, visoko zmogljivih diagnostičnih sistemov, ki omogočajo identifikacijo širokega nabora patogenov (t.i. platformske tehnologije), krepitev obveščevalnih poti in nabora podatkov o pandemičnih patogenih, ki omogočajo zgodnje prepoznavanje groženj; (2) optimizacija in zmanjševanje tveganja pri zgodnjih intervencijah z namenom doseganja hitrega odziva; (3) ohranjanje in učinkovito izkoriščanje proizvodnih zmogljivosti, zgrajenih med pandemijo covida-19; (4) odpravljanje trgovinskih, regulativnih in nabavnih ovir, ki lahko zavirajo odziv na pandemijo; in (5) krepitev partnerstev za premagovanje zdravstvenih izzivov, saj globalni problemi zahtevajo globalne rešitve (12). Potrebni bodo tudi skupni naporji vseh specialnosti, da ob nadaljnjem upadu zaupanja v zdravniški poklic, ki so ga načela družbena omrežja in dodatno poglobila pandemija covida-19, opremimo zdravstvene delavce z ustreznimi orodji za prepoznavanje in obravnavo medicinskih dezinformacij tako v lokalnem okolju kot tudi na spletu (13). Vsi akterji, vključno z biofarmaceutsko industrijo, imajo ključno vlogo pri pripravljenosti na pandemije, medsebojno sodelovanje pa bo zagotovilo, da bo ob naslednji pandemiji rešenih čim več življenj (12).

Neenakomerno razporejena sredstva za raziskave in razvoj

Eden izmed ključnih problemov v raziskavah nalezljivih bolezni je izrazito nesorazmerje v razporeditvi javnega, zasebnega in korporativnega financiranja (14). Med letoma 2000 in 2017 je bilo na globalni ravni porabljenih več kot 100 milijard dolarjev za raziskave na področju nalezljivih bolezni, vendar to financiranje ni sorazmerno glede na aktualno breme ali stopnjo tveganja, ki ga predstavljajo okužbe s pandemskim potencialom (15). Analiza razporeditve financiranja raziskav v državah članicah skupine G20 je namreč pokazala, da je virologija v tem obdobju prejela večinski, kar 60,0 % delež (62,9 milijard \$) denarja, kar je dvakrat več kot bakteriologija (27,3 milijarde \$, 26,0 %), skoraj šestkrat toliko kot parazitologija (11,5 milijard \$, 11,0 %) in skoraj 40 x več, kot je bilo vložene denarja v mikologijo (1,7 milijarde \$; 1,6 %) (15). Tako na primer raziskave s področja medicinske mikologije paradoksalno trpijo zaradi izrazitega pomanjkanja financiranja na vseh področjih (16) in to kljub temu, da so glivne okužbe na globalni ravni odgovorne za približno 3,7 milijona smrti letno (17), kar je znatno več od skupnega števila smrti zaradi malarije (608.000) (18), virusnega hepatitisa (1,3 milijona) (19) in tuberkuloze (1,32 milijona) (20). Kljub nekaterim pozitivnim trendom (povečanje financiranja za zanemarljive tropske bolezni in raziskave v Afriki) pa je še posebno zaskrbljujoče dejstvo, da je ob naraščajoči mikrobnii odpornosti in pandemskem potencialu različnih patogenov opazen trend zmanjševanja proračunov za raziskave s področja nalezljivih bolezni (14).

Vzpon hitrih in univerzalnih diagnostičnih metod

Zaradi visoke pojavnosti nalezljivih bolezni, ki pogosto povzročajo resna klinična stanja, so zanesljive in hitre diagnostične metode, ki omogočajo pravočasno, natančno in celovito opredelitev etioloških povzročiteljev, nujne za čimprejšnjo postavitev diagnoze in uvedbo primernega zdravljenja. Čeprav predstavljajo tradicionalne mikrobiološke metode temelj diagnostike okužb, pa le-te zaradi nekaterih omejitev, kot so dolgi diagnostični postopki, nizka občutljivost, visoka cena in ozko diagnostično območje (zlasti pri okužbah, ki jih povzročajo redki ali novi patogeni), niso več zadostne za učinkovito obravnavo nalezljivih bolezni (21).

Okužbo lahko dojemamo kot posledico interakcije med patogenom, gostiteljem in okoljem, zaradi česar so možni različni pristopi k diagnostiki nalezljivih bolezni. S stališča patogenov se vse širše odpirajo vrata za uporabo »omskih« tehnologij (22). Metagenomsko sekvenciranje naslednje generacije predstavlja zmogljivo diagnostično metodo, ki omogoča odkrivanje nukleinskih kislin vseh povzročiteljev nalezljivih bolezni, vključno z bakterijami, glivami, virusi in paraziti, v enem samem testu. Metoda je še posebno uporabna pri diagnostiki redkih in kompleksnih nalezljivih boleznih, izjemen potencial pa ima tudi pri hitri diagnostiki mikrobne odpornosti (22, 23). Poleg genomike lahko za diagnostiko okužb uporabljamo tudi transkriptomiko, proteomiko in metabolomiko (22). Na primer, pri okužbah z *Mycobacterium tuberculosis* je razpolovni čas mRNA bistveno krajši kot pri rRNA ali genomski DNA, zato testi, ki imajo za tarčo mikobakterijsko mRNA, bolje odražajo sposobnost preživetja bakterij in so lahko uporabni za spremljanje učinkovitosti protituberkulozne terapije (24). Klasičen primer proteomskega pristopa k identifikaciji povzročiteljev predstavlja uporaba masne spektrometrije (ang. *matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight*, MALDI-TOF) (22). Kar zadeva metabolomiko, je bil med pandemijo covid-19 odobren test, ki omogoča identifikacijo SARS-CoV-2 na podlagi petih hlapnih organskih spojin v izdihanem zraku v manj kot treh minutah (<https://www.fda.gov/media/157720/download>). Posebna encimska metoda SHERLOCK (ang. *Specific High Sensitivity Enzymatic Reporter UnLOCKing*) je molekularna diagnostična platforma, ki združuje pomnoževanje nukleinskih kislin in tehniko genskega urejanja CRISPR-Cas (ang. *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*) in omogoča ultra občutljivo prepoznavo tarčnih DNA ali RNA zaporedij. Uporabljena je bila za detekcijo virusov, kot sta Zika in denga (22).

Označevalci imunskega odziva gostitelja predstavljajo dodatno možnost za dokazovanje okužb. S pomočjo različnih pristopov je namreč v krvi bolnikov možno razločiti transkripcijski podpis različno izraženih genov in gostiteljevih beljakovin, ki so povezani z imunskim odzivom na specifične povzročitelje. Med drugim so bili razviti testi za dokazovanje okužb s SARS-CoV-2 in aktivno tuberkulozo ter tudi takšni, ki omogočajo razločevanje med bakterijskimi in virusno povzročenimi okužbami (22). Nedavno objavljena multicentrična prospektivna kohortna študija na pediatrični populaciji je potrdila visoko diagnostično natančnost testa, ki temelji na gostiteljevem beljakovinskem podpisu, in podprla njegovo uporabnost pri zmanjševanju prekomerne uporabe antibiotikov pri otrocih z virusnimi okužbami (25).

Hitre diagnostične metode in sekvenciranje naslednje generacije so prinesli revolucionarne spremembe v klinični mikrobiologiji, vendar se trenutno še soočajo z izzivi in omejitvami v klinični uporabi, vključno s kontrolo kakovosti, razlikovanjem med patogenimi in kolonizacijskimi mikroorganizmi, stabilnostjo, enostavnostjo izvedbe ter raznolikostjo tarčnih pato-

genov. Čeprav lahko nekateri hitrejši sistemi, kot je sekvenciranje Nanopore, že omogočajo pridobivanje rezultatov v enem dnevu, ostaja ključni problem interpretacija podatkov zaradi velike količine informacij in pomanjkanja standardiziranih protokolov. Ker je lažno pozitivne in negativne rezultate težko razlikovati od klinično pomembnih ugotovitev, kar lahko vodi do napačnih odločitev pri zdravljenju, je nujno tesno sodelovanje med kliničnimi mikrobiologi in infektologi za pravilno interpretacijo rezultatov (21). Zlasti večje poenostavitve mikrobioloških metod lahko namreč pri uporabniku ustvarijo lažen občutek, da so ti testi preprosti za izvedbo in interpretacijo.

Politiki proti nalezljivim boleznim – nevarna igra brez zmagovalcev

Politične odločitve v Združenih državah Amerike (žal) pomembno vplivajo na vsakega posameznika na planetu. Že samo na področju zdravstvenega varstva so odločitve, ki jih je zgolj v prvem tednu vrnitve na oblast sprejel predsednik Trump, nepredstavljive in izredno zaskrbljujoče. Umik ZDA iz SZO, začasna zaustavitev vseh zunanjih komunikacij (npr. izdajanje rednih znanstvenih poročil in posodabljanje spletnih strani) Centra za nadzor in preprečevanje bolezni (ang. *Centers for Disease Control and Prevention*; CDC), Nacionalnega inštituta za zdravje (ang. *National Institutes of Health*, NIH) ter Uprave za hrano in zdravila (ang. *Food and Drug Administration*, FDA), 90-dnevna prepoved izvajanja del in zamrznitev izplačil tuje pomoči, ki bo zlasti prizadela delovanje USAID (ang. *US Agency for International Development*), prekinitve delovanja ocenjevalnih komisij pri NIH, zaustavitev vseh zveznih subvencij in posojil ter pritiski in grožnje z neugodnimi posledicami za strokovno osebje, če bo poskušalo zaščititi vladne programe, namenjene raznolikosti, enakosti in vključenosti, predstavljajo gromozanski korak nazaj v boju proti nalezljivim boleznim. Nalezljivih bolezni namreč ni mogoče učinkovito nadzorovati, preprečevati ali zdraviti brez zagotovljenih sredstev za raziskave in izvajanje pomoči v manj razvitih državah, komunikacije med vrhovnimi zdravstvenimi institucijami na globalni ravni in upoštevanja socio-ekonomskih dejavnikov nalezljivih bolezni (26).

Globalni sklad PEPFAR (ang. *United States President's Emergency Plan for AIDS Relief*), ki ga je ustanovil nekdanji predsednik ZDA George W. Bush z namenom obvladovanja epidemije HIV/aidsa, predstavlja eno največjih zgodb o uspehu na področju javnega zdravja. V zadnjih dvajsetih letih je PEPFAR, ki deluje v več kot 50 državah, rešil 26 milijonov življenj in preprečil 5,5 milijona prenosov okužbe z matere na otroka. Trenutno zagotavlja protiretrovirusna zdravila za več kot 20 milijonov oseb s HIV, vključno s 566.000 otroki. Prispevek ZDA v ta sklad predstavlja kar 70 % globalnega financiranja v odzivu na aids, zato je lahko kakršna koli zaustavitev financiranja in onemogočanje programa v državah v razvoju, ki so najbolj odvisne od tuje pomoči, usodna. Namesto da bi po prvotnih projekcijah do leta 2030 uspeli celo zaustaviti epidemijo HIV, naj bi zaradi nedavnih političnih odločitev prišlo do drastičnega zmanjšanja števila zaposlenih pri USAID (z 10.000 na manj kot 300), kar bo nedvoumno oslabilo dosežen napredek v odzivu na HIV (27, 28). Ko politika spodkoplje javno zdravje, se cena ne meri le v številkah, temveč v izgubljenih življenjih.

JUTRI – KAJ NAM PRINAŠA PRIHODNOST?

V prihodnosti bo zagotovo naraščala potreba po hitrejši diagnostiki, večji standardizaciji testiranja in izboljšani prilagodljivosti za spopadanje z novimi infekcijskimi grožnjami. Že v

bližnji prihodnosti bi se lahko uveljavila polarizirana praksa klinične mikrobiologije, pri kateri bi na eni strani uporabljali hitre in enostavne obposteljne teste (ang. *point-of-care*; POCs) v bolnišnicah, na drugi strani pa bi v centralnih laboratorijih izvajali serijsko testiranje velikega števila vzorcev s popolnoma avtomatiziranimi, visoko zmogljivimi napravami (22).

Prepoznavanje in priznavanje vrednosti, ki jo specialisti infektologije in njihove storitve prispevajo k institucijam, medicinskemu izobraževanju, oskrbi bolnikov in javnemu zdravju, je ključno za oblikovanje prihodnosti te specializacije. Prizadevanja infektologov so v današnjem zdravstvenem in medicinsko-izobraževalnem sistemu pogosto spregledana, podcenjena in nezadostno nagrajena (verjetno kot posledica zastarelega mišljenja, da so nalezljive bolezni obvladane). Ta trend je potrebno obrniti, saj lahko pomembno vpliva na razvoj te specializacije v prihodnje (29).

Hitro napredovanje medicinskega znanja in tehnologij je močno preoblikovalo vse vidike medicine, vključno z izobraževanjem. Prihodnje generacije specializantov bodo sestavljali posamezniki, ki aktivno uporabljajo tehnologijo in družbena omrežja v vseh vidikih svojega življenja ter imajo takojšen dostop do informacij. Temu ustrezno je zato potrebno prilagoditi tudi izobraževanje na področju klinične mikrobiologije in infekcijskih bolezni. Pri tem bodo imele ključno vlogo e-učne vsebine, ki bodo skladne z evropskim temeljnim učnim načrtom in prosto dostopne, saj omogočajo bolj učinkovito, standardizirano usposabljanje ter prilagajanje potrebam posameznega učenca. Digitalna izobraževalna orodja spreminjajo tudi vlogo predavateljev, ki bodo v prihodnje oblikovalci in posredniki izboljšanih učnih izkušenj s pomočjo sodobnih tehnologij (30).

Verjetno se je vsak izmed nas že kdaj vprašal, ali bodo klinične mikrobiologe in specialiste infektologije nadomestili zagonetni algoritmi ter umetna inteligenca? Bill Gates je pred kratkim celo izjavil, da v roku 10 let večina zdravnikov in učiteljev ne bo več potrebnih (31). Ob uvajanju sodobnih diagnostičnih tehnologij pri obravnavi bolnikov je pomembno poudariti, da te ne nadomeščajo kompleksnega razmišljanja, klinične presoje in etičnega odločanja, ki so značilni za človeka. Kljub vse večji vlogi umetne inteligence, avtomatizacije in kompleksnih analiz ostaja zdravnik ključni odločevalec pri interpretaciji rezultatov, postavljanju diagnoze ter določanju optimalnega zdravljenja. Poglavitna vloga novih tehnologij je torej predvsem podporna – gre za orodja, ki zdravnikom pomagajo pri sprejemanju hitrejših, natančnejših in bolj informiranih odločitev. A ravno v tem kontekstu se pokaže, kako pomembna je interdisciplinarnost, saj diagnostika okužb ni zgolj laboratorijski izziv niti le klinični problem, temveč kompleksen proces, ki zahteva usklajen napor vseh deležnikov.

ZAKLJUČEK

V slovenskem zdravstvenem prostoru se lahko pohvalimo z dolgoletnim in izjemno plodnim sodelovanjem med kliničnimi mikrobiologi in infektologi. Tradicija tesnega sodelovanja se kaže na številnih ravneh – v vsakodnevni klinični praksi, pri načrtovanju in izvajanju raziskovalnih projektov, skupnem objavljanju strokovnih prispevkov, pa tudi pri pripravi izobraževalnih programov, nacionalnih smernic in drugih skupnih vsebin. Že vrsto let na strokovnih srečanjih kot so Baničevi dnevi in Infektološki ter Bedjaničev simpozij strokovnjaki obeh področij izmenjujejo znanje, izkušnje in dobre prakse. V času, ko so medicina in okužbe bolj globalizirane kot kdaj koli prej, tovrstno sodelovanje ni zgolj priporočljivo, temveč nujno za

zagotavljanje kakovostne, varne in celostne obravnave bolnikov. Skupno srečanje slovenskih kliničnih mikrobiologov in infektologov zato prihaja v pravem trenutku: da ohranimo dosežene uspehe obeh strok in hkrati ustvarimo prostor za napredek, ki je mogoč le z odprtim dialogom, medsebojnim spoštovanjem in zavestjo, da smo najmočnejši skupaj.

LITERATURA

1. ESCMID. History [Internet]. [Citirano 2025 Mar 1]. Dostopno na: <https://www.escmid.org/about-us/the-society/history/>.
2. ESCMID. The first 35 years [Internet]. [Citirano 2025 Mar 1]. Dostopno na: <https://www.escmid.org/about-us/the-society/history/yearbook-archive/escmid-the-first-35-years/>.
3. Murray CJL, Ikuta KS, Sharara F, Swetschinski L, Robles Aguilar G, Gray A, et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet*. 2022;399:629–55.
4. Naghavi M, Vollset SE, Ikuta KS, Swetschinski LR, Gray AP, Wool EE, et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance 1990–2021: a systematic analysis with forecasts to 2050. *The Lancet*. 2024;404:1199–226.
5. World Health Organization. Global leaders set first targets to control antimicrobial resistance crisis. [Internet]. [Citirano 2025 Apr 15]. Dostopno na: <https://www.who.int/europe/news/item/27-09-2024-global-leaders-set-first-targets-to-control-antimicrobial-resistance-crisis>.
6. World Health Organization. Global antimicrobial resistance and use surveillance system (GLASS) report: 2022 [Internet]. [Citirano 2025 Mar 6]. Dostopno na: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240062702>.
7. Ho CS, Wong CTH, Aung TT, Lakshminarayanan R, Mehta JS, Rauz S, et al. Antimicrobial resistance: a concise update. *Lancet Microbe*. 2025;6:100947.
8. World Health Organization. WHO COVID-19 dashboard [Internet]. [Citirano 2025 Mar 10]. Dostopno na: <https://data.who.int/dashboards/covid19/deaths?n=c>
9. Chiu KHY, Sridhar S, Yuen KY. Preparation for the next pandemic: challenges in strengthening surveillance. *Emerg Microbes Infect*. 2023;12:2240441.
10. Simoes EJ, Jackson-Thompson J. The United States public health services failure to control the coronavirus epidemic. *Prev Med Rep*. 2023 Feb;31:102090.
11. Deepa V Narwani. Healthcare technology trends accelerated by COVID-19. *WXH Insights* [Internet]. [Citirano 2025 Mar 10]. Dostopno na: <https://www.worldhealthexpo.com/insights/health-innovation/healthcare-technology-trends-accelerated-by-covid-19>.
12. Williams BA, Jones CH, Welch V, True JM. Outlook of pandemic preparedness in a post-COVID-19 world. *Npj Vaccines*. 2023;8:178.
13. Tandar CE, Lin JC, Stanford FC. Combating medical misinformation and rebuilding trust in the USA. *Lancet Digit Health*. 2024;6:e773–4.
14. Cloeckaert A, Kuchler K. Grand Challenges in Infectious Diseases: Are We Prepared for Worst-Case Scenarios? *Front Microbiol*. 2020;11:613383.
15. Head MG, Brown RJ, Newell ML, Scott JAG, Batchelor J, Atun R. The allocation of US\$105 billion in global funding from G20 countries for infectious disease research between 2000 and 2017: a content analysis of investments. *Lancet Glob Health*. 2020;8:e1295–304.
16. Head MG, Fitchett JR, Atun R, May RC. Systematic analysis of funding awarded for mycology research to institutions in the UK, 1997–2010. *BMJ Open*. 2014;4:e004129.
17. Denning DW. Global incidence and mortality of severe fungal disease. *Lancet Infect Dis*. 2024;24:e428–38.
18. Venkatesan P. The 2023 WHO World malaria report. *Lancet Microbe*. 2024;5:e214.

19. Iacobucci G. Hepatitis: WHO publishes warning over rise in global deaths. *BMJ*. 2024;385:q833.
20. Global Tuberculosis Report 2024. 1st ed. Geneva: World Health Organization; 2024. 1 p.
21. Gu B, Zhuo C, Xu X, El Bissati K. Editorial: Molecular diagnostics for infectious diseases: Novel approaches, clinical applications and future challenges. *Front Microbiol*. 2023;14:1153827.
22. Wang H, Zhang W, Tang YW. Clinical microbiology in detection and identification of emerging microbial pathogens: past, present and future. *Emerg Microbes Infect*. 2022;11:2579–89.
23. Liu A, Liu S, Lv K, Zhu Q, Wen J, Li J, et al. Rapid detection of multidrug resistance in tuberculosis using nanopore-based targeted next-generation sequencing: a multicenter, double-blind study. *Front Microbiol*. 2024;15:1349715.
24. Atahan E, Saribas S, Demirci M, Babalik A, Akkus S, Balıkcı A, et al. Evaluating the effectiveness of anti-tuberculosis treatment by detecting *Mycobacterium tuberculosis* 85B messenger RNA expression in sputum. *J Infect Public Health*. 2020;13:1490–4.
25. Papan C, Argentiero A, Porwoll M, Hakim U, Farinelli E, Testa I, et al. A host signature based on TRAIL, IP-10, and CRP for reducing antibiotic overuse in children by differentiating bacterial from viral infections: a prospective, multicentre cohort study. *Clin Microbiol Infect*. 2022;28:723–30.
26. Huttner A, Bonten M, Davis J, Leibovici L, Tängdén T, Schwartz I. From medical editors: A call to the global infectious diseases and clinical microbiology community. *CMI Commun*. 2025;2:105062.
27. Burki T. WHO, USAID, PEPFAR: first targets of Trump's presidency. *Lancet Microbe*. 2025;6:101101.
28. World Health Organization. WHO statement on potential global threat to people living with HIV [Internet]. [Citirano 2025 Mar 30]. Dostopno na: <https://www.who.int/news/item/28-01-2025-who-statement-on-potential-global-threat-to-people-living-with-hiv>.
29. Paras ML, Chirch LM, Aziz M, Balba GP, Benson C, Butt S, et al. Shaping the Future of Infectious Diseases: The Journey to Promote Value, Opportunity, and Positive Messaging. *Open Forum Infect Dis*. 2024;11:ofae669.
30. Sayıner AA, Ergönül E. E-learning in clinical microbiology and infectious diseases. *Clin Microbiol Infect*. 2021;27:1589–94.
31. Tom Huddleston Jr. Bill Gates: Within 10 years, AI will replace many doctors and teachers—humans won't be needed 'for most things' [Internet]. CNBC. [Citirano 2025 Mar 31]. Dostopno na: <https://www.cnbc.com/2025/03/26/bill-gates-on-ai-humans-wont-be-needed-for-most-things.html>.

BOLNIŠNIČNE OKUŽBE V SLOVENSKIH BOLNIŠNICAH ZA AKUTNO OSKRBO: REZULTATI ČETRTE NACIONALNE PRESEČNE RAZISKAVE

HEALTHCARE-ASSOCIATED INFECTIONS IN SLOVENIAN ACUTE CARE HOSPITALS: RESULTS OF THE FOURTH NATIONAL SURVEY

Mojca Serdt^{1†}, Petra Klepac^{1†}, Aleš Korošec¹, Tatjana Lejko Zupanc^{2,3},
Mateja Logar^{2,3}, SNPRBO IV Mreža⁴ in Irena Klavs¹

¹Nacionalni inštitut za javno zdravje, Ljubljana

²Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja, UKC Ljubljana

³Katedra za infekcijske bolezni in epidemiologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

⁴SNPRBO IV Mreža: Irena Klavs, Mojca Serdt, Petra Klepac, Aleš Korošec, Manja Grašek, Uroš Glavan, Tatjana Lejko Zupanc, Mateja Logar, Maja Anastasova, Barbara Bitežnik, Matej Dolenc, Samo Jeverica, Katja Kalan Uštar, Darja Kasnik, Milena Kerin Povšič, Božena Kotnik Kevorkijan, Jasmina Kröpf, Tanja Lužnik Bufon, Anže Mibelič, Tatjana Mrvič, Marko Mugoša, Emil Pal, Andreja Pečnik, Lidija Pohar, Primož Brkič, Snežana Ribis, Maja Rojko, Tanja Selič Kurinčič, Irena Virant

[†]Skupno prvo avtorstvo

POVZETEK

Izhodišče: V četrti slovenski nacionalni presečni raziskavi bolnišničnih okužb (SNPRBO IV) v bolnišnicah za akutno oskrbo smo opisali značilnosti bolnikov, njihovo izpostavljenost invazivnim posegom, ocenili prevalenco bolnišničnih okužb (BO), opisali mikroorganizme, ki so bili najpogostejši povzročitelji BO, in pri izbranih mikroorganizmih njihovo odpornost proti nekaterim protimikrobnim zdravilom.

Metode: Slovenski protokol je bil skladen z evropskim protokolom Evropskega centra za preprečevanje in obvladovanje bolezni. V enodnevno presečno raziskavo smo vključili vse bolnike, ki so bili na izbrani dan v obdobju od maja do julija 2023 hospitalizirani v vseh 22 slovenskih bolnišnicah za akutno oskrbo. Zbiralce podatkov v posameznih bolnišnicah so usposobili koordinatorji SNPRBO IV. Izveden je bil dvojni vnos podatkov z uporabo internega spletnega vnašalnika. Opisne analize so bile opravljene z uporabo statističnega programa Stata (verzija, 15.1.).

Rezultati: Med 4925 bolniki je na dan raziskave 6,1 % (95 % interval zaupanja (IZ): 5,5 %–6,8 %) bolnikov imelo vsaj eno BO in dodatnih 2,0 % (95 % IZ: 1,6–2,5 %) bolnikov je bilo še vedno zdravljenih zaradi BO, torej je imelo BO 8,2 % (95 % IZ: 7,4 %–9,0 %) bolnikov oziroma je bila ocenjena prevalenca BO 8,2 %. Najvišja je bila prevalenca pljučnic (2,5 %) sledile so okužbe sečil (1,6 %), okužbe kirurške rane (1,5 %), sistemske okužbe (0,8 %) in okužbe krvi (0,5 %). Delež bolnikov z vsaj eno BO je bil najvišji v enotah za intenzivno zdravljenje (33,3 %). Med 436 epizodami BO so bili povzročitelji na dan raziskave

znani pri 55,3 % epizod BO. Najpogostejša povzročiteljica BO je bila *Escherichia coli* (14,1 %), sledili so *Enterococcus* spp. (12,6 %), *Pseudomonas aeruginosa* (9,6 %), *Klebsiella* spp. (8,4 %) in *Staphylococcus aureus* (9,0 %).

Zaključek: Prevalenca BO v slovenskih bolnišnicah za akutno oskrbo je bila v letu 2023 precej visoka. To kaže, da moramo naša prizadevanja za preprečevanje in obvladovanje BO, ki temeljijo na dokazano učinkovitih ukrepih, okrepiti v posameznih bolnišnicah in tudi na nacionalni ravni organizirati program preprečevanja in obvladovanja BO.

Ključne besede: Okužbe, povezane z zdravstvom, prevalenca, presečna raziskava, Slovenija

ABSTRACT

Aim: In the fourth Slovenian national healthcare-associated infections (HAIs) prevalence survey (SNHPS IV) in acute care hospitals, we described the characteristics of patients, their exposure to invasive procedures, estimated the prevalence of HAIs and described the microorganisms causing HAIs and for selected microorganisms their antimicrobial resistance.

Methods: Our protocol was consistent with the European protocol published by the European Centre for Disease Prevention and Control. Patients from all 22 Slovenian acute care hospitals were enrolled in a one-day cross-sectional study during May to July 2023. Data collectors in individual hospitals were trained by the SNHPS IV coordinators. Data were double-entered using an inhouse web-based data entry solution. Descriptive analyses were performed using the statistical software Stata (Version 15.1).

Results: Among 4925 patients surveyed, 6.1 % had at least one HAI and additional 2.0 % were still treated for previous HAIs on the day of the survey, which corresponded to the estimated prevalence of 8.2 % patients with at least one HAI. The prevalence of pneumonia was the highest (2.5 %), followed by urinary tract infections (1.6 %), surgical site infections (1.5 %), systemic infections (0.8 %) and bloodstream infections (0.5 %). Most frequently isolated microorganism causing HAIs was *Escherichia coli* (14.1 %), followed by *Enterococcus* spp. (12.6 %), *Pseudomonas aeruginosa* (9.6 %), *Klebsiella* spp. (8,4 %) and *Staphylococcus aureus* (9.0 %).

Conclusions: Our results indicate that the prevalence of HAIs in Slovenian acute care hospitals in 2023 was substantial. This suggests there is room for improvement of HAIs prevention and control efforts and requires scale-up of evidence-based HAIs prevention and control activities in individual hospitals and at national level.

Keywords: Healthcare-associated infections, Prevalence, Survey, Slovenia

UVOD

V prispevku opisujemo ključne ugotovitve četrte slovenske nacionalne raziskave o prevalenci bolnišničnih okužb (BO) (SNPRBO IV), izvedene leta 2023, in sicer značilnosti pacientov, hospitaliziranih na dan raziskave, oceno prevalence njihove izpostavljenosti invazivnim postopkom, pacientov z vsaj eno BO, različnih vrst BO ter porazdelitev mikroorganizmov, povzročiteljev BO, in pri nekaterih mikroorganizmih njihovo odpornost proti antibiotikom.

MATERIAL IN METODE

Izvedli smo enodnevno presečno raziskavo v okviru tretje Evropske raziskave okužb, povezanih z zdravstveno oskrbo, in uporabe protimikrobnih zdravil v bolnišnicah za akutno oskrbo, ki jo je koordiniral Evropski center za preprečevanje in obvladovanje bolezni (angl.: European centre for disease prevention and control – ECDC). V Sloveniji sta izvedbo koordinirala Nacionalni inštitut za javno zdravje (NIJZ) in Univerzitetni klinični center Ljubljana (UKCL). Protokol SNPRBO IV je bil skladen s protokolom ECDC (1, 2).

Podatke smo zbrali v vseh bolnišnicah za akutno oskrbo od 8. maja do 17. julija 2023. Vključili smo paciente z vseh oddelkov, razen pacientov urgentnih oddelkov (razen če so bili pod nadzorom več kot 24 ur), pacientov v dnevni oskrbi zaradi operacije, pregleda ali zdravljenja, pacientov v ambulantah in ambulantnih dializnih pacientov. Vključili smo paciente, sprejete na oddelek do 8. ure zjutraj, če še niso bili odpuščeni z oddelka v času zbiranja podatkov, in novorojenčke, rojene do 8. ure zjutraj na dan raziskave ter njihove matere.

O vseh pacientih smo zbrali naslednje podatke: starost, spol, datum sprejema, datum raziskave (datum zbiranja podatkov) in specialnost oddelka. Na podlagi McCabe kriterija smo jih razvrstili v tri skupine: pričakovano preživetje > 5 let (ni smrtna bolezen); pričakovano preživetje 1–4 let (smrtna bolezen) in pričakovana smrt v 1 letu (hitro smrtna bolezen). Zbrali smo tudi podatke o kirurških posegih med hospitalizacijo in izpostavljenosti invazivnim postopkom na dan raziskave (intubacija, periferni žilni kateter, centralni žilni kateter in urinski kateter). BO smo prepoznali s temeljitim pregledom razpoložljive medicinske dokumentacije na oddelku ter posvetovanjem z zdravniki in medicinskimi sestrami na oddelkih. Uporabili smo evropske definicije za BO.

Če so se znaki in/ali simptomi, ki so kazali na okužbo, pojavili tretji dan po sprejemu ali pozneje (pri čemer je prvi dan pomenil dan sprejema), je to kazalo, da gre za BO. Tudi okužbe, ki so bile prisotne ob sprejemu, ali 1. ali 2. dan, in okužbe, ki so jih v tem časovnem okviru še vedno zdravili, so bile opredeljene kot BO, če so ustrezale definicijam in dodatnim kriterijem: pacient je bil odpuščen iz bolnišnice manj kot dva dni pred ponovnim sprejemom; pacient je imel okužbo kirurške rane (OKR) po operaciji v 30 dneh pred raziskavo (ali v primeru vsadkov v 90 dneh pred raziskavo); pri okužbah s *Clostridioides difficile* je bil pacient odpuščen iz bolnišnice manj kot 28 dni pred trenutnim sprejemom; na dan 1 ali 2 je bil vstavljen invazivni pripomoček, povezan z BO. Beležili smo tudi podatke o mikroorganizmih, povezanih z BO, če so bili podatki na voljo ob zbiranju podatkov na oddelku. Pri izbranih mikroorganizmih smo beležili odpornost proti izbranim antibiotikom.

Vse na NIJZ prejete podatke smo pregledali glede manjkajočih vrednosti, morebitnih napak in notranje skladnosti. Po potrebi smo se člani koordinacijske skupine SNPRBO IV posvetovali s koordinatorji zbiranja podatkov v bolnišnicah. Izveden je bil dvojni vnos vseh podatkov s spletnim vnašalnikom z vgrajenimi kontrolami pravilnega kodiranja, filtriranja in notranje skladnosti podatkov. Neskladnosti pri dvojnem vnosu smo preverili s podatki na obrazcih in jih popravili. Nacionalno podatkovno zbirko SNPRBO IV smo shranili na strežniku NIJZ z možnostjo oddaljenega dostopa za ECDC za analize na evropskem nivoju.

Izvedli smo opisne analize z uporabo statističnega programa Stata (različica 15.1, Stata-Corp, College Station, Texas, ZDA). Prevalenco BO smo definirali kot delež pacientov z vsaj eno BO na dan raziskave in tistih, ki so še vedno prejeli protimikrobna zdravila zaradi BO na dan raziskave. Ker so nekateri pacienti lahko imeli več kot eno BO, smo izračunali tudi število BO na 100 pacientov. Pri izbranih mikroorganizmih je bila v skladu s protokolom ocenjena tudi njihova odpornost proti nekaterim protimikrobnim zdravilom (1, 3).

REZULTATI

Sodelujoče bolnišnice, število pacientov in dolžina hospitalizacije

V raziskavi je sodelovalo vseh 22 slovenskih bolnišnic za akutno oskrbo, ki imajo od 16 do 1918 postelj. V raziskavo je bilo vključenih 4925 pacientov. Več kot polovica pacientov (54,3 %) je bila iz treh največjih slovenskih bolnišnic s preko 600 posteljami in le 12,8 % pacientov iz enajstih manjših bolnišnic z manj kot 200 posteljami. Povprečna dolžina hospitalizacije od sprejema do dneva raziskave je bila 17 dni (mediana 5 dni). 35,8 % pacientov je bilo hospitaliziranih od enega do tri dni, 24,2 % pacientov od štiri do sedem dni, 16,7 % od osem do 14 dni, 13,2 % pacientov od 15 do 30 dni in 10,1 % pacientov več kot 30 dni.

Značilnosti pacientov in izpostavljenost invazivnim postopkom

Povprečna starost pacientov je bila 59 let (razpon od 0 do 101, mediana 66 let). 30,0 % je bilo starih manj kot 50 let, 51,1 % je bilo starih med 50 in 79, in 20,9 % pacientov je bilo starih 80 let ali več. Delež moških in žensk je bil enak. Od 4865 pacientov (98,8 % od vseh), za katere je bil opredeljen McCabe indeks, jih je 7,9 % imelo hitro smrtno bolezen in 19,4 % smrtno bolezen.

Na oddelkih interne medicine, vključno z oddelki splošne interne medicine, kardiologije, nevrologije, pulmologije in revmatologije, je bilo hospitaliziranih največ pacientov (38,8 %), sledili so kirurški oddelki z 32,5 % pacientov. Na oddelkih intenzivne terapije je bilo 4,6 % pacientov, na oddelkih ginekologije in porodništva 9,4 %, na pediatričnih oddelkih 4,6 %, na psihiatričnih oddelkih 3,0 %, na oddelkih rehabilitacije in dolgotrajne oskrbe 2,6 %, na geriatričnih oddelkih 0,7 % in na oddelkih drugih, mešanih ali neznanih specialnosti 1,1 % pacientov.

Operativni poseg je v času hospitalizacije opravilo 33,0 % pacientov. Na dan raziskave je imelo 54,3 % pacientov vstavljen periferni žilni kateter, 12,8 % centralni žilni kateter, 22,7 % urinski kateter in 3,4 % je bilo intubiranih. Prevalenca izpostavljenosti različnim invazivnim postopkom, skupaj in glede na specialnost oddelka, je prikazana v tabeli 1.

Tabela 1. Prevalenca izpostavljenosti različnim invazivnim postopkom, skupaj in glede na specialnost oddelka, SNPRBO IV, 2023.

Invazivni postopek	Intenzivna terapija	Interna medicina	Kirurgija	Ginekologija/porodništvo/neonatologija	Pediatrija	Drugo/mešano	Vsi oddelki	
							Skupaj	(95 % IZ)
Periferni žilni kateter	62,2 %	62,6 %	63,2 %	26,8 %	53,0 %	15,0 %	54,3 %	(52,9 %–55,7 %)
Centralni žilni kateter	76,4 %	12,2 %	11,1 %	1,6 %	7,4 %	5,4 %	12,8 %	(11,9 %–13,8 %)
Urinski kateter	80,9 %	25,5 %	22,8 %	7,4 %	0,4 %	9,8 %	22,7 %	(21,5 %–23,9 %)
Intubacija	48,4 %	0,3 %	2,1 %	1,0 %	0,0 %	2,9 %	3,4 %	(2,9 %–3,9 %)
Število pacientov	225	1913	1599	511	230	447	4925	

SNPRBO IV – Četrta slovenska nacionalna presečna raziskava bolnišničnih okužb; IZ – interval zaupanja

Prevalenca in vrste bolnišničnih okužb

Na dan raziskave je imelo najmanj eno BO 6,1 % pacientov (95 % IZ: 5,5 %–6,8 %) in dodatnih 2,0 % pacientov (95 % IZ: 1,6 %–2,5 %) je bilo na dan raziskave še vedno zdravljenih zaradi BO (simptomi in znaki niso bili več prisotni na dan raziskave), kar pomeni prevalenco 8,2 % (95 % IZ: 7,4 %–9,0 %). V posameznih bolnišnicah se je ocena prevalenca BO gibala

od 0,0 % do 14,7 % in je bila najvišja v velikih bolnišnicah s preko 600 posteljami 8,5 % (95 % IZ: 7,4 %–9,6 %) in najnižja v majhnih bolnišnicah z manj kot 200 posteljami 5,7 % (95 % IZ: 4,0 %–7,8 %). Z izključitvijo primerov covid-19 iz vseh BO znaša skupna prevalenca 7,8 % (95 % IZ: 7,1 %–8,6 %).

Delež pacientov z najmanj eno BO, ali še vedno zdravljenih za vsaj eno BO, je bil najvišji v enotah za intenzivno zdravljenje (33,3 %; 95 % IZ: 27,2 %–39,9 %), sledili so oddelki interne medicine (8,6 %; 95 % IZ: 7,4–10,0 %) in kirurški oddelki (8,5 %; 95 % IZ: 7,2–10,0 %). Najnižja prevalenca BO je bila na pediatričnih oddelkih (1,7 %; 95 % IZ: 0,5 %–4,4 %) in oddelkih ginekologije in porodništva (2,0 %; 95 % IZ: 0,9 %–3,6 %).

Glede na vrsto BO je bila najvišja prevalenca pljučnic 2,5 % (95 % IZ: 2,1 %–3,0 %), sledile so okužbe sečil 1,6 % (95 % IZ: 1,2 %–2,0 %), okužbe kirurške rane 1,5 % (95 % IZ: 1,1 %–1,8 %), sistemske okužbe 0,8 % (95 % IZ: 0,5 %–1,0 %) in okužbe krvi 0,5 % (95 % IZ: 0,3 %–0,8 %). Število pacientov z različnimi vrstami BO in ocenjeno prevalenco, skupaj in glede na različno specialnost oddelka, prikazuje tabela 2.

Tabela 2. Število pacientov z različnimi vrstami BO in ocenjeno prevalenco, skupaj in glede na različno specialnost oddelka, SNPRBO IV, 2023

	Intenzivna terapija	Interna medicina	Kirurgija	Ginekologija/ porodništvo	Pedriatrija	Drugo/ mešano	Skupaj
	Število (prevalenca)	Število (prevalenca)	Število (prevalenca)	Število (prevalenca)	Število (prevalenca)	Število (prevalenca)	Število (prevalenca)
Pljučnice	36 (16,0 %)	64 (3,3 %)	22 (1,4 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)	2 (0,4 %)	124 (2,5 %)
Covid-19	4 (1,8 %)	13 (0,7 %)	3 (0,2 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)	20 (0,4 %)
Druge okužbe spodnjega respiratornega trakta	1 (0,4 %)	9 (0,5 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)	10 (0,2 %)
Okužbe sečil	8 (3,6 %)	44 (2,3 %)	19 (1,2 %)	1 (0,2 %)	0 (0,0 %)	5 (1,1 %)	77 (1,6 %)
Okužbe kirurške rane	12 (5,3 %)	3 (0,2 %)	55 (3,4 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)	2 (0,4 %)	72 (1,5 %)
Okužbe prebavil	6 (2,7 %)	6 (0,3 %)	6 (0,4 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)	3 (0,7 %)	21 (0,4 %)
Okužbe krvi s CRIS	9 (4,0 %)	11 (0,6 %)	5 (0,3 %)	0 (0,0 %)	1 (0,4 %)	0 (0,0 %)	26 (0,5 %)
Sistemske okužbe	8 (3,6 %)	14 (0,7 %)	6 (0,4 %)	0 (0,0 %)	1 (0,4 %)	0 (0,0 %)	29 (0,6 %)
Okužbe kože in mehkega tkiva	2 (0,9 %)	4 (0,2 %)	5 (0,3 %)	0 (0,0 %)	1 (0,4 %)	0 (0,0 %)	12 (0,2 %)
Okužbe centralnega živčevja	1 (0,4 %)	1 (0,1 %)	4 (0,3 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)	6 (0,1 %)
Okužba oči, ušes, nosu, žrela in ust	0 (0,0 %)	2 (0,1 %)	0 (0,0 %)	1 (0,2 %)	1 (0,4 %)	0 (0,0 %)	4 (0,1 %)
Okužbe kosti in sklepa	1 (0,4 %)	1 (0,1 %)	16 (1,0 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)	18 (0,4 %)
Okužbe srca in ožilja	0 (0,0 %)	1 (0,1 %)	2 (0,1 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)	3 (0,1 %)
Okužbe, povezane z žilnimi katetri brez okužb krvi	0 (0,0 %)	1 (0,1 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)	1 (0,0 %)
Okužbe reproduktivnega trakta	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)	1 (0,1 %)	4 (0,8 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)	5 (0,1 %)
Specifične bolnišnične okužbe pri novorojenčkih	4 (1,8 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)	4 (0,8 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)	8 (0,2 %)
Pacienti z vsaj eno BO ^a	75 (33,3 %)	165 (8,6 %)	136 (8,5 %)	10 (2,0 %)	4 (1,7 %)	12 (2,7 %)	402 (8,2 %)

BO – bolnišnične okužbe; SNPRBO IV – Četrta slovenska nacionalna presečna raziskava bolnišničnih okužb; CRIS: Mikrobiološko potrjena okužba krvi, povezana z žilnim katetrom

^a Pacienti imajo lahko več kot eno BO, zato ni nujno, da se števila v stolpcih seštejejo v število pacientov z vsaj eno BO.

402 pacientov je imelo 436 epizod BO. 373 pacientov je imelo eno BO, 24 dve BO in pet pacientov je imelo tri epizode BO. Vseh 349 epizod BO (80,0 %), ki so se pojavile med trenutno hospitalizacijo, je bilo povezanih s trenutno hospitalizacijo. Od vseh BO je bilo 20,0 % prisotnih ob sprejemu, od teh je bilo 73,6 % povezanih s predhodno hospitalizacijo v isti bolnišnici in 38,0 % je bilo okužb kirurške rane. Mediana trajanja hospitalizacije do nastopa BO med trenutno hospitalizacijo je bila 14 dni (povprečje 23,6 dni).

Med 436 epizodami BO so bile najpogostejše pljučnice (28,4 %), sledile so okužbe sečil (17,7 %), okužbe kirurške rane (16,5 %) in okužbe krvi (6,0 %). Med 20 primeri covid-19 (4,6 % od vseh BO) je bilo 6 asimptomatskih, 11 z blagim/zmerno težkim potekom in 3 s težkim potekom. Največji delež pljučnic je bil v enotah za intenzivno zdravljenje (39,1 % od vseh epizod BO), okužbe sečil so bile najpogostejše na oddelkih interne medicine (25,3 %), okužbe kirurške rane na kirurških oddelkih (38,2 %) in okužbe krvi na oddelkih pediatrije (25,0 %).

Med pljučnicami je bilo 21,8 % povezanih z intubacijo v 48 urah pred pojavom okužbe, med okužbami sečil pa je bilo 58,4 % povezanih z urinskim katetrom v 7 dneh pred nastopom okužbe. Vse okužbe krvi so bile povezane z izpostavljenostjo centralnemu žilnemu katetru v zadnjih 48 urah pred pojavom okužbe.

Povprečno število epizod BO na pacienta je bilo 1,08. Na 100 pacientov je bilo 8,9 epizod BO. Glede na specialnost oddelkov je bilo to razmerje najvišje v enotah za intenzivno zdravljenje s 123 epizod BO na 100 pacientov, sledili so oddelki interne medicine (106 epizod BO/100 pacientov) in kirurški oddelki (105 epizod BO/100 pacientov).

Mikroorganizmi, ki so povzročali bolnišnične okužbe

Vsaj en mikroorganizem je bil ugotovljen pri 55,3 % epizodah BO, najredkeje pri pljučnicah in okužbah spodnjih dihal (51,3 %) in najpogostejše pri okužbah krvi (96,2 %). En mikroorganizem je bil ugotovljen pri 39,7 % epizodah BO in več kot en pri 15,6 % epizodah BO. Podrobna porazdelitev mikroorganizmov, povezanih z različnimi vrstami BO, je predstavljena v tabeli 3.

Najpogostejši povzročitelji BO so bili *Escherichia coli* (14,1 %), *Enterococcus* spp. (12,6 %), *Pseudomonas aeruginosa* (9,6 %), *Staphylococcus aureus* (9,0 %) in *Klebsiella* spp. (8,4 %), koagulaza negativni stafilokoki (7,2 %), SARS-CoV-2 (6,3 %), *Enterobacter* spp. (5,1 %), *Candida* spp. (5,1 %), *Proteus* spp. (3,9 %), *Clostridioides difficile* (3,0 %) in *Aspergillus* spp. (3,0 %). Drugi manj pogosti mikroorganizmi so bili *Serratia* spp. (1,5 %), *Stenotrophomonas maltophilia* (1,2 %), *Acinetobacter* spp. (0,6 %). Najpomembnejši nov mikroorganizem je bil SARS-CoV-2, ki predstavlja 6,3 % vseh identificiranih mikroorganizmov.

Najpogostejši povzročitelji okužb kirurške rane in okužb krvi so bili po Gramu pozitivni koki, medtem ko so bile enterobakterije najpogostejše povzročiteljice respiratornih okužb in okužb sečil. Med najpogostejšimi povzročitelji okužb prebaval so bili anaerobi, predvsem *C. difficile*.

Odpornost izbranih mikroorganizmov proti protimikrobnim zdravilom

Podatki o odpornosti nekaterih mikroorganizmov proti nekaterim protimikrobnim zdravilom so bili na voljo za 223 mikroorganizmov, povzročiteljev BO. Med 30 izolati *S. aureus* z znanim rezultatom odpornosti je bilo šest izolatov odpornih proti meticilinu. Med 38 izolati *Enterococcus* spp. z znanim rezultatom odpornosti so o odpornosti proti vankomicinu poročali le pri enem izolatu *Enterococcus faecium*. O odpornosti proti cefalosporinom tretje generacije so poročali pri 18 izolatih od 107 izolatov Enterobacterales z znanim rezultatom odpornosti, najpogostejše pri

Tabela 3. Mikroorganizmi kot povzročitelji bolnišničnih okužb (BO), skupaj in po najpogostejših vrstah BO, SNPRBO IV, 2023.

	Pljučnice/ Okužbe spodnjih dihal/covid-19	Okužbe kirurške rane	Okužbe sečil	Okužbe krvi	Okužbe prebavil	Vse BO
	Število	Število	Število	Število	Število	Število
Število BO, vse	154	72	77	26	21	436
Število BO z mikroorganizmom, vse	79	38	59	25	14	241
Število mikroorganizmov	115	60	72	32	16	333
Po Gramu pozitivni koki	18	27	20	16	2	104
<i>Staphylococcus aureus</i>	11	9	1	3	0	30
Koagulazno negativni stafilokoki	3	7	0	9	0	24
<i>Streptococcus</i> spp.	1	3	1	0	0	8
<i>Enterococcus</i> spp.	3	8	18	4	2	42
Po Gramu negativni bacili, Enterobacterales	31	22	45	9	2	118
<i>Citrobacter</i> spp.	2	0	1	1	0	4
<i>Enterobacter</i> spp.	4	5	2	2	1	17
<i>Escherichia coli</i>	5	9	27	4	0	47
<i>Klebsiella</i> spp.	13	2	7	1	1	28
<i>Proteus</i> spp.	4	2	7	0	0	13
<i>Serratia</i> spp.	1	2	1	1	0	5
Druge enterobakterije	2	2	0	0	0	4
Druge po Gramu negativne bakterije	25	3	7	1	1	41
<i>Acinetobacter</i> spp.	2	0	0	0	0	2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	18	2	7	1	0	32
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	4	0	0	0	0	4
<i>Haemophilus</i> spp.	1	1	0	0	0	2
Druge ne-enterobakterije	0	0	0	0	1	1
Anaerobni bacili	1	4	0	2	10	20
<i>Bacteroides</i> spp.	1	0	0	1	0	3
<i>Clostridioides difficile</i>	0	0	0	0	10	10
Drugi anaerobi	0	4	0	1	0	7
Druge bakterije	0	0	0	0	0	1
Glive	18	4	0	4	1	27
<i>Candida</i> spp.	8	4	0	4	1	17
<i>Aspergillus</i> spp.	10	0	0	0	0	10
Virusi	22	0	0	0	0	22
SARS-CoV-2	21	0	0	0	0	21
Drugi virusi	1	0	0	0	0	1
Negativne kode	75	34	18	1	7	195
Mikroorganizem ni bil dokazan	2	0	0	0	0	3
Preiskava ni bila narejena	36	13	5	0	2	71
Sterilni izvid	18	8	1	0	1	60
Podatki niso še na voljo/manjkajoči	19	13	12	1	4	61

SNPRBO IV – Četrta slovenska nacionalna presečna raziskava bolnišničnih okužb;

Escherichia coli (šest izolatov) in *Klebsiella* spp. (šest izolatov). O odpornosti proti karbapenemom so poročali pri dveh izolatih od 99 izolatov Enterobacteriales z znanim rezultatom odpornosti, pri osmih izolatih od 28 izolatov *P. aeruginosa* in pri enem od dveh izolatov *Acinetobacter baumannii*.

Tabela 4. Odpornost izbranih povzročiteljev bolnišničnih okužb (BO) proti protimikrobnim zdravilom, SNPRBO IV, 2023

Mikroorganizmi in odpornost proti protimikrobnim zdravilom	Število izolatov	Število izolatov z znanim rezultatom odpornosti	Število odpornih izolatov	Delež odpornih izolatov med vsemi testiranimi izolati	Delež odpornih izolatov med vsemi izolati
Po Gramu pozitivni koki					
<i>Staphylococcus aureus</i> , OXA-R (MRSA)	30	30	6	20,0 %	20,0 %
Enterokoki, GLY-R (VRE)	42	38	1	2,6 %	2,4 %
<i>Enterococcus faecalis</i> , GLY-R	22	20	0	0,0 %	0,0 %
<i>Enterococcus faecium</i> , GLY-R	19	17	1	5,9 %	5,3 %
Enterobacteriaceae, C3G-R	117	107	18	16,8 %	15,4 %
<i>Escherichia coli</i> , C3G-R	47	41	6	14,6 %	12,8 %
<i>Klebsiella</i> spp., C3G-R	28	27	6	22,2 %	21,4 %
<i>Klebsiella pneumoniae</i> , C3G-R	16	15	2	13,3 %	12,5 %
<i>Klebsiella oxytoca</i> , C3G-R	4	4	1	25,0 %	25,0 %
<i>Klebsiella aerogenes</i> , C3G-R	5	5	3	60,0 %	60,0 %
<i>Enterobacter</i> spp., C3G-R	17	15	5	33,3 %	29,4 %
<i>Enterobacter cloacae</i> , C3G-R	16	14	4	28,6 %	25,0 %
<i>Citrobacter</i> spp., C3G-R	4	4	0	0,0 %	0,0 %
<i>Proteus</i> spp., C3G-R	13	12	0	0,0 %	0,0 %
<i>Serratia</i> spp., C3G-R	5	5	1	20,0 %	20,0 %
<i>Morganella</i> spp., C3G-R	3	3	0	0,0 %	0,0 %
Enterobacteriaceae, CAR-R	117	107	2	1,9 %	1,7 %
<i>Escherichia coli</i> , CAR-R	47	39	0	0,0 %	0,0 %
<i>Klebsiella</i> spp., CAR-R	28	24	1	4,2 %	3,6 %
<i>Klebsiella pneumoniae</i> , CAR-R	16	13	0	0,0 %	0,0 %
<i>Klebsiella oxytoca</i> , CAR-R	4	4	0	0,0 %	0,0 %
<i>Klebsiella aerogenes</i> , CAR-R	5	4	1	25,0 %	20,0 %
<i>Enterobacter</i> spp., CAR-R	17	15	1	6,7 %	5,9 %
<i>Enterobacter cloacae</i> , CAR-R	16	14	1	7,1 %	6,3 %
<i>Citrobacter</i> spp., CAR-R	4	5	0	0,0 %	0,0 %
<i>Proteus</i> spp., CAR-R	13	11	0	0,0 %	0,0 %
<i>Serratia</i> spp., CAR-R	5	5	0	0,0 %	0,0 %
<i>Morganella</i> spp., CAR-R	3	3	0	0,0 %	0,0 %
Druge po Gramu negativne bakterije, CAR-R					
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , CAR-R	32	28	8	28,6 %	25,0 %
<i>Acinetobacter baumannii</i> , CAR-R	2	2	1	50,0 %	50,0 %

SNPRBO IV - Četrta slovenska nacionalna presečna raziskava bolnišničnih okužb; OXA-R – odporen proti oksacilinu/meticilinu; MRSA – na meticilin odporni *Staphylococcus aureus*; GLY-R – odporen proti glikopeptidom; VRE – odporen proti vankomicinu; C3G-R – odporen proti cefalosporinom tretje generacije; CAR-R – odporen proti karbapenemom.

Razpravljanje

S SNPRBO IV smo zagotovili najnovejše podatke o značilnostih pacientov v slovenskih bolnišnicah za akutno oskrbo, ocene pogostosti izpostavljenosti različnim invazivnim postopkom, oceno skupne prevalenice in prevalenice različnih vrst BO, podatke o porazdelitvi mikroorganizmov, ki povzročajo različne vrste BO in njihovi odpornosti proti protimikrobnim zdravilom, kar bo osnova za na podatkih temelječe preprečevanje in obvladovanje BO v bolnišnicah za akutno oskrbo.

Leta 2023 (SNHPS IV) so bili pacienti v primerjavi z letom 2017 (SNHPS III) na dan anketiranja pogostejše izpostavljeni perifernemu žilnemu katetru (54,3 % v primerjavi z 48,2 %; $p < 0,05$), centralnemu žilnemu katetru (12,8 % v primerjavi z 9,4 %; $p < 0,05$) in urinskemu katetru (22,7 % v primerjavi z 19,1 %; $p < 0,05$), dejavnikom tveganja za BO (4)

Leta 2023 je bila ocenjena prevalenca BO v slovenskih bolnišnicah za akutno oskrbo višja v primerjavi z letom 2017 (8,2 % (95 % IZ: 7,4 %–9,0 %), v primerjavi s 6,6 % (95 % IZ: 6,0 %–7,2 %)). To povečanje je bilo deloma posledica pojava COVID-19, povezanega z zdravstveno oskrbo, vendar je razlika ostala statistično značilna ($p < 0,05$), tudi če smo iz ocene prevalenice BO izključili primere COVID-19, povezane z zdravstveno oskrbo.

Ocenjena prevalenca BO (8,2 %) v slovenskih bolnišnicah za akutno oskrbo je bila precej višja v primerjavi z ocenjeno prevalenco BO (7,1 %) v vseh državah Evropske unije (EU) in Evropskega gospodarskega prostora (EGP) v obdobju 2022–2023 (3). Poleg tega je bila tudi prevalenca pljučnice (2,5 %) precej visoka v primerjavi s prevalenco pljučnice (1,5 %) v državah EU/EGP v obdobju 2022–2023 (3). To nakazuje, da moramo izboljšati naša prizadevanja za preprečevanje in obvladovanje BO v bolnišnicah za akutno oskrbo. Na primer, le tri bolnišnice so poročale, da so imele v času raziskave v skladu s Pravilnikom o pogojih za pripravo in izvajanje programa preprečevanja in obvladovanja bolnišničnih okužb (neobjavljeni podatki) zaposlene medicinske sestre in zdravnike za obvladovanje okužb za polni delovni čas. Zato je nujno zagotoviti ustrezne vires za programe preprečevanja in obvladovanja okužb v posameznih bolnišnicah kot tudi na nacionalni ravni v skladu s priporočili Svetovne zdravstvene organizacije (5, 6).

Zagotovili smo optimalno reprezentativnost rezultatov, saj so sodelovale vse slovenske bolnišnice za akutno oskrbo. Ker smo uporabili standardizirane evropske metode, lahko naše rezultate SNPRBO IV primerjamo z rezultati podobnih raziskav, izvedenih v letih 2022–2023 v državah EU/EGP (1, 2).

Oceno prevalenice BO iz SNPRBO IV in oceno prevalenice držav EU/EGP v letih 2023 in 2024, ki jo je objavil ECDC, je treba primerjati previdno, saj sta se lahko občutljivost in specifičnost metod, uporabljenih za ugotavljanje BO v teh raziskavah, razlikovali, ne samo zaradi razlik v delu zbiralcev podatkov, ampak tudi zaradi možnih razlik v značilnostih pacientov in dosegljivosti mikrobioloških preiskav (3).

Glavna omejitev naše raziskave je bila možnost, da sta bili občutljivost in specifičnost pristopov za ugotavljanje BO manj optimalni in sta se lahko razlikovali med posameznimi bolnišnicami. To bi lahko povzročilo podcenjevanje ali precenjevanje različnih ocen za razširjenost BO (na nacionalni ravni, v posameznih bolnišnicah, na oddelkih itd.). Čeprav nismo imeli sredstev za validacijo metod zbiranja podatkov med SNPRBO IV, smo predhodno ocenili občutljivost in specifičnost uporabljenih metod za ugotavljanje šestih pogostih vrst BO v UKCL med SNPRBO II, ki sta bili 83 % in 99 %, kar nakazuje robustnost rezultatov SNPRBO IV (7). Kljub temu bi morali v prihodnjih SNPRBO poskušati zagotoviti sredstva za validacijo metod zbiranja podatkov.

ZAKLJUČEK

Prevalenca BO v slovenskih bolnišnicah za akutno oskrbo leta 2023 je bila precej visoka v primerjavi s prevalenco BO za vse države EU/EEA v obdobju 2022–2023. To kaže na to, da je potrebno izboljšati naša prizadevanja za preprečevanje in obvladovanje BO in zagotoviti ustrezna sredstva za programe preprečevanja in obvladovanja okužb, tako na ravni posameznih bolnišnic kot na nacionalni ravni.

LITERATURA

1. Nacionalni inštitut za javno zdravje (NIJZ). Četrta slovenska nacionalna presečna raziskava bolnišničnih okužb (SNPRBO IV) 2023 – protokol verzija 2.0. 2023 [cited 2024 Aug 21]. Available from: <https://nijz.si/nalezljive-bolezni/amr-in-bolnisnicne-okuzbe/bolnisnicne-okuzbe-za-strokovno-javnost/>
2. European Centre for Disease Prevention and Control. Point prevalence survey of HAIs and antimicrobial use in European acute care hospitals – protocol version 6.1. 2022 [cited 2024 Aug 21]. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/point-prevalence-survey-healthcare-associated-infections-and-antimicrobial-use-vs-6-1>.
3. European Centre for Disease Prevention and Control. Point prevalence survey of healthcare-associated infections and antimicrobial use in European acute care hospitals. 2024 [cited 2024 Aug 20]. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/PPS-HAI-AMR-acute-care-europe-2022-2023>.
4. Klavs I, Serdt M, Korošec A, Lejko Zupanc T, Pečavar B, SNHPS III. Prevalence of and factors associated with healthcare-associated infections in Slovenian acute care hospitals: Results of the third national survey. *Zdr Varst.* 2019; 26;58(2):62-69.
5. World Health Organisation. Global strategy on infection prevention and control. 2023 [cited 2024 Aug 27]. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240080515>.
6. World Health Organisation. Minimum requirements for infection prevention and control. 2019 [cited 2024 Aug 27]. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241516945>.
7. Serdt M, Lejko Zupanc T, Korošec A, Klavs I. Sensitivity and specificity of the method used for ascertainment of healthcare-associated infections in the second Slovenian national prevalence survey. *Zdr Varst.* 2016;55:248-55.

POJAVNOST VEČKRATNO ODPORNIH BAKTERIJ V SLOVENIJI – IZBRANI PODATKI

OCCURRENCE OF MULTIDRUG-RESISTANT BACTERIA IN SLOVENIA – SELECTED DATA

Iztok Štrumbelj¹, Barbara Janžič¹, Daša Kavka¹, Mateja Pirš²

¹Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Center za medicinsko mikrobiologijo, Maribor

²Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

IZVLEČEK

Naraščajoča odpornost bakterij proti antibiotikom je resen globalni javnozdravstveni izziv, izpostavljajo ga mednarodne institucije, za nacionalno obvladovanje pojava je Vlada republike Slovenije leta 2019 sprejela državno strategijo. Obveščevalno vlogo pri obvladovanju tega pojava ima mikrobiološko spremljanje odpornosti, ki vključuje zbiranje podatkov in njihovo posredovanje drugim strokam za ukrepanje. EARS-Net Slovenija je slovenski del evropske mreže za spremljanje odpornosti proti antibiotikom pri ECDC, ki v Sloveniji izvaja sistemsko podprto spremljanje odpornosti, ki pa je za spremljanje večkratno odpornih bakterij (VOB) nezadostno. V prispevku zato prikazujemo rezultate dveh priložnostnih raziskav, ki sta z isto metodo ciljno analizirali število pacientov z VOB v različnih populacijah: primerjalno prikazujemo števila in odstotne deleže izbranih VOB za leta 2018, 2021 in 2024; zadnje leto je predstavljeno podrobneje. Analiza temelji na podatkih, zbranih iz vseh 11 slovenskih medicinskih mikrobioloških laboratorijev, zajema izolate iz kliničnih in nadzornih kužnin. Rezultati kažejo precej stabilno stanje pri večini VOB, kot so: proti meticilinu odporni *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Escherichia coli* in *Klebsiella pneumoniae* z betalaktamazami razširjenega spektra (ESBL) in *Pseudomonas aeruginosa*, ki izloča karbapenemaze (CRPs-CP). Pojavnost proti karbapenemom odporne bakterije *Acinetobacter baumannii* (CRAb) je po velikem porastu leta 2021 do leta 2024 padla na tretjino izhodiščne ravni. Zaskrbljujoč je porast proti vankomicinu odporne bakterije *Enterococcus faecium* (VRE) in predvsem hitro naraščanje enterobakterij, ki izločajo karbapenemaze (CRE-CPE/CPE). Izstopa eksponentni porast *K. pneumoniae* CRE-CPE/CPE: med leti 2018 in 2024 se je število teh izolatov potrojilo približno vsaka 3 leta. Čeprav je v zadnjih letih prišlo do napredka pri molekularnem sledenju izolatov, vsi predvideni ukrepi državne strategije niso bili izvedeni. Za učinkovito obvladovanje in preprečevanje širjenja mikrobne odpornosti so nujni takojšnji sistemski ukrepi na področju spremljanja in ukrepanja, vlaganje v infrastrukturo in razvoj kadra, saj je povečevanje odpornosti praviloma nepovratno.

Ključne besede: večkratno odporne bakterije, spremljanje odpornosti, *Klebsiella pneumoniae*, karbapenemaze, *Enterococcus faecium*

ABSTRACT

The increasing resistance of bacteria to antibiotics is a serious global public health challenge, as highlighted by international institutions. To manage this phenomenon on a national level, the Government of the Republic of Slovenia adopted a national strategy in 2019. An important role in managing this issue is played by microbiological monitoring of resistance, which involves the collection of data and their dissemination to other professionals for timely intervention. EARS-Net Slovenia is the Slovenian component of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network at ECDC, which implements a system-supported monitoring of resistance in Slovenia; however, for multi-drug resistant bacteria (MDR), this monitoring is insufficient.

In this paper, we present the results of two ad hoc studies that targeted the analysis of the number of patients with MDR in different populations using the same methodology. We comparatively report the numbers and percentages of selected VOB for the years 2018, 2021, and 2024; the latest year is presented in greater detail. The analysis is based on data collected from all 11 Slovenian medical microbiology laboratories and includes isolates from both clinical and surveillance sources. The results indicate a fairly stable situation for most VOB, such as methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* with extended-spectrum beta-lactamases (ESBL), and carbapenemase-producing *Pseudomonas aeruginosa* (CRPs-CP). The occurrence of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* (CRAB), after a significant increase in 2021, had dropped to one third of the baseline level by 2024. Concerning is the rise of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* (VRE) and, in particular, the rapid increase of carbapenemase-producing enterobacteria (CRE-CPE/CPE) – notably, an exponential increase in *K. pneumoniae* CRE-CPE/CPE, with the number of these isolates roughly tripling approximately every 3 years between 2018 and 2024.

Although there has been progress in recent years in molecular tracking of isolates, not all measures envisaged in the national strategy have been implemented. For the effective management and prevention of the spread of microbial resistance, immediate systemic measures in monitoring and intervention, investment in infrastructure, and personnel development are necessary, as the increase in resistance is generally irreversible.

Keywords: multidrug-resistant bacteria, AMR surveillance, *Klebsiella pneumoniae*, carbapenemase, *Enterococcus faecium*

UVOD

Odpornost bakterij proti antibiotikom po vsem svetu narašča in je resen globalni javnozdravstveni problem, ki ga po drobcih razkrivajo številni avtorji in institucije. Svetovna zdravstvena organizacija (SZO) in strokovnjaki Evropskega centra za preprečevanje in obvladovanje bolezni (European Centre for Disease Prevention and Control, ECDC) problem izpostavljajo že več desetletij (1–30). Strategijo za njeno obvladovanje je obravnavala tudi Vlada Republike Slovenije, ki je leta 2019 sprejela dokument »Državna strategija »Eno zdravje« za obvladovanje odpornosti mikrobov (2019–2024)« z akcijskim načrtom (9). Slovenska in angleška različica dokumenta sta dostopni na spletni strani Nacionalne medresorske komisije za smiselno rabo protimikrobnih zdravil v Sloveniji (9). Priporočilo za okrepitev ukrepov s tega področja in uredbo o čezmejnih nevarnostih, ki zajema tudi odporne bakterije, sta sprejela Evropski parlament in Svet Evropske unije (10, 11). Pomen odpornosti mikrobov je torej široko prepoznan.

Največ zdravstvene škode povzročijo večkratno odporne bakterije (VOB), zato so posebej pomembne (2, 3, 6, 9, 12, 14, 18–28).

NAMEN

Namen tega prispevka (s poudarkom na VOB): 1. Zanimalo nas je, katere cilje naj bi po priporočilih SZO nacionalno spremljanje odpornosti dosegalo, kako je bilo pri nas nacionalno spremljanje zasnovano in kaj od zasnove v sistemu zdravstva obstaja, s stalno strukturo in viri. 2. Na osnovi priložnostno zbranih podatkov smo predstavili podatke o številu VOB izolatov v treh izbranih letih – 2018, 2021 in 2024, da bi ugotovili grobe trende pri različnih VOB v Sloveniji.

VLOGA IN STRUKTURA SPREMLJANJA ODPORNOSTI

Kakšna je pri obvladovanju odpornosti in posebej pri omejevanju širjenja VOB vloga spremljanja odpornosti?

V nedavno objavljenem priročniku SZO za kritične intervencije na področju obvladovanja odpornosti je med 13 intervencijami spremljanje odpornosti na tretjem mestu (2). Vsebinsko spremljanja SZO opredeli v dveh točkah: 1. določiti in izvajati nacionalno strategijo spremljanja odpornosti mikrobov, ki zagotavlja reprezentativne in kakovostno preverjene podatke o odpornosti mikrobov pod nadzorom in s podporo nacionalnega koordinacijskega centra (NKC); 2. uporabiti zbrane podatke za oblikovanje ukrepov in smernic ter za spremljanje bremena in razširjenosti odpornosti mikrobov proti antibiotikom (2). Spremljanje torej vsebuje dve komponenti, zbiranje in posredovanje podatkov v uporabo drugim deležnikom v NKC (2).

Podobno Državna strategija med 6 ukrepi za učinkovito spremljanje odpornih mikrobov v humani medicini pod točko 1 navaja: »Opredeliti celovit sistem za spremljanje odpornosti mikroorganizmov v humani medicini, vključno s pravnimi podlagami, z določitvijo mreže mikrobioloških laboratorijev, referenčnih mikrobioloških laboratorijev in ustanovitvijo/imenovanjem NKC za spremljanje odpornosti v skladu z dokumenti ECDC in SZO.« (9) Strategija v naslednjih 5 točkah ukrepov (in v akcijskem načrtu) opredeljuje oboje: zbiranje podatkov o odpornosti in njihovo uporabo (9). Kot spremljanje ni navedena le analiza podatkov iz kliničnega dela, podrobno so našteje tudi molekularne preiskave različnih populacij izolatov, saj analiza bakterijskega genoma razloži povezave med izolati in mehanizme odpornosti na molekularni ravni in pomaga do usmerjenih ukrepov (9).

Kakšno je spremljanje odpornosti pri nas danes?

Sistemska podprto spremljanje

Edino sistemsko podprto spremljanje odpornosti v Sloveniji je EARS-Net Slovenija, slovenski del evropske mreže za spremljanje odpornosti proti antibiotikom pri ECDC (angl. *European Antimicrobial Resistance Surveillance Network, EARS-Net*) (4, 5, 12). EARS-Net zbira podatke za 8 vrst bakterij iz invazivnih kužnin (IK), večinoma iz hemokultur (HK); podatke za predhodno leto objavijo konec novembra, za posamezne države in za celoto sodelujočih držav (4, 5). V mreži EARS-Net Slovenija sodelujejo vsi slovenski mikrobiološki laboratoriji in NIJZ, ki na svoji spletni strani objavi letno poročilo v slovenščini (5). Mreža izpolnjuje

zahtevo SZO, da zagotavlja »represntativne in kakovostno preverjene podatke« in omogoča primerjave z drugimi državami. Podatki so zelo uporabni za mednarodno primerljivo oceno »zdravstvene škode« – z matematičnim modelom so strokovnjaki ECDC npr. izračunali, da je le zaradi odpornosti spremljanih bakterij v letu 2015 v Sloveniji umrlo 96 oseb (pripisana smrtnost, angl. *attributed mortality*), izgubljena so bila številna »leta zdravega življenja« (angl. *disability-adjusted life-years, DALYs*) (3).

Vendar ima s stališča spremljanja VOB mreža EARS-Net več omejitev (4, 5, 12, 14). Glede števila povzročiteljev in zajema kužnin: zajema le 8 bakterij iz IK, ostalih vrst bakterij in izolatov iz drugih kliničnih kužnin in iz nadzornih kužnin (NK) ne zajame (4, 5, 12). Podatki niso ciljno usmerjeni na pojav VOB (čeprav se število VOB iz IK iz zbranih podatkov da oceniti), ampak na odpornost proti posameznim antibiotikom (4, 5, 12). Zaradi zasnove delovanja mednarodne mreže podatki ne morejo biti hitro objavljeni (3-5, 12, 14). Na primer: na evropski strani so zdaj dostopni podatki za leto 2023, zadnje objavljeno letno poročilo EARS-Net Slovenija je trenutno za izolate iz leta 2022 (5, 12).

Sistemska nepodprto spremljanje

Prve zbirne podatke o nacionalnem številu najpogostejših VOB iz vseh kliničnih kužnin (KK) je objavil SKUOPZ (Slovenska komisija za ugotavljanje občutljivosti za protimikrobna zdravila) za leto 2017 (14). Ne-prvi izolati so bili izključeni, enako NK, saj je zbiranje podatkov ciljalo predvsem na deleže občutljivosti izolatov iz KK za antibiotike, pri čemer se uporablja metoda prvega izolata (5, 14). Skupnega števila izolatov VOB (ne iz KK, ne iz NK) torej ni bilo mogoče oceniti (14). SKUOPZ je ob sprejetju državne strategije 2019 prenehal zbirati podatke, saj naj bi podatke zbiral novoustanovljeni NKC z ustreznimi viri; SKUOPZ virov nima.

Zavedajoč se naraščanja števila pacientov z VOB je na pobudo Sekcije za klinično mikrobiologijo in bolnišnične okužbe za 14. Baničeve dneve nastal nov način analize, opisan kasneje, v »Metodah« (18–24). Ker metoda šteje »unikate« med izolati iste bakterijske vrste pri pacientu, jo imenujemo »metoda unikatov« (ne nujno prvih izolatov) (18–24). EARS-Net in SKUOPZ poročila so upoštevala le »prvi izolat« bakterije: če je VOB ne-prvi izolat, je izključen (3–5, 12, 14). Metoda »unikata« zajame tudi paciente z VOB, pri katerih je VOB ne-prvi izolat (18–24). Rezultate analize VOB so leta 2023 z vsebinsko poglobljenimi besedili opremili številni soavtorji – podatki za celotno Slovenijo, za šestletno obdobje, 2017–2022, so bili objavljeni na 14. Baničevih dnevih (Okužbe, povezane z zdravstvom, novembra 2023); vsi prispevki so dostopni v zborniku, ki je dostopen na spletu, izšel je leta 2024 (15, 18–24). Vsaka bakterijska skupina / VOB je bila predstavljena posebej, v skupaj 7 prispevkih (18–24).

Podatki o VOB za obdobje 2000–2022: kljub razliki med metodama »prvega izolata« in »unikata« je za prikaz pojava VOB v KK v daljšem obdobju možno obe metodi uporabiti hkrati, zavedajoč se, da gre le za približen prikaz dolgoročnega trenda deležev VOB iz različnih virov (13). Pregled deležev odpornosti izbranih bakterij iz KK od leta 2000 do 2022 smo leta 2024 prikazali v prispevku, ki je, predvsem z grafikoni, prikazal deleže izbranih VOB (13). Iz te objave navajamo dve ugotovitvi: A) da so deleži VOB v KK praviloma za nekaj odstotkov nižji od deležev istih VOB iz IK; B) da je po uvedbi nadzornih kužnin in drugih ukrepov za preprečevanje in obvladovanje okužb delež proti meticilinu odpornega *Staphylococcus aureus* (MRSA) v IK padel z 20,1 % leta 2000 na 7,1 % leta 2006; od takrat se je gibal v bližini 10 %, torej na polovici začetne ravni; ukrepi so bili torej uspešni in daljše obdobje vzdržni (13).

Zajem podatkov

Vsi podatki se nanašajo na nacionalni nivo in izhajajo iz rednega dela 11 laboratorijev, ki v Sloveniji izvajajo humano klinično mikrobiološko diagnostiko na področju bakteriologije, ki vključuje osamitev patogenih bakterij iz kužnin in določitev njihove občutljivosti za antibiotike (18–24).

Sodelujoče institucije in osebe so navedene v primarnih objavah predstavljenih spremljanj odpornosti (18–24); podatki za leti 2018 in 2021 so iz analize 2017–2022; podatke za 2024 smo analizirali posebej za ta prispevek; podatki so bili izvoženi iz laboratorijskega informacijskega sistema MBL® (Infonet, Kranj) in obdelani s programom Excel® (Microsoft, Redmond, ZDA). Zajeli smo tri ločena leta: 2018, 2021 in 2024; leto 2024, ki na 14. Baničevih dnevih ni bilo zajeto, je podrobno predstavljeno.

Analiza podatkov

Zbiranje in analiza podatkov sta potekala brez kakršnegakoli sistemskega vira, s sodelovanjem vseh laboratorijev; podrobnosti metod so opisane predhodno; leto 2024 smo analizirali enako kot leta 2017–2022, z »metodo unikatov« (18–24). Bistvo metode: ni bil upoštevan le prvi izolat bakterije pri bolniku, ampak so bili prednostno šteti izolati VOB; če teh pacient ni imel, je bil štet ne-VOB izolat. Prednost so imele HK pred drugimi KK, druge KK so imele prednost pred NK (18–24). HK so del KK, zaradi pomembnosti so prikazane tudi posebej (18–24). Vsak pacient z izolatoma določene bakterijske vrste bakterij je bil štet le enkrat v letu (unikat).

»VOB izolat« v prispevku pomeni izolat, ki ima opredeljeno »značilno odpornost«, to je večkratno odpornost s splošno sprejetim akronimom in/ali v skladu z veljavnimi slovenskimi priporočili za VOB; akronimi se uporabljajo tudi v vsakodnevnih izvidih (1, 3, 18–25). MRSA smo že opredelili, ostali VOB v prispevku so: enterobakterije z betalaktamazami razširjenega spektra (ESBL), enterobakterije, ki izločajo karbapenemaze (CRE-CPE/CPE), *Pseudomonas aeruginosa*, ki izloča karbapenemaze (CRPs-CP), proti karbapenemom odporni *Acinetobacter baumannii* (CRAb) ter proti vankomicinu odporni enterokoki (VRE) (1, 3, 18–25). Kot »ne-VOB izolat« je bil štet izolat, ki ni ustrezal navedenim kriterijem za VOB (18–24). Izolatov enterobakterij, ki so odporni proti karbapenemom (CRE), a ne izločajo karbapenemaz (brez CPE po slovenski klasifikaciji VOB), v tej analizi nismo zajeli (25).

Za lažjo primerjavo trendov smo v Rezultatih, v Tabeli 1, absolutnim številkam dodali dva stolpca z indeksi. Oba indeksa imata za osnovo leto 2018, za primerjavo je prvič leto 2021, drugič leto 2024. Obe leti, 2021 in 2024, smo primerjali z izhodiščnim letom, da bi »nevtralizirali« izjemno stanje v pandemiji (15). Indeks 1 pomeni, da je stanje v letu enako kot 2018, indeks manj kot 1 pomeni manj VOB, indeks več kot 1 pomeni več VOB kot leta 2018. Indekse smo zaokrožili na eno decimalno, tako da manjše razlike niso vidne.

Tehnična opomba: za 14. Baničeve dneve smo število VOB prikazali tudi z relativnimi števili: število na 100.000 prebivalcev (18–24), v tem prispevku pa smo zaradi hkratne predstavitve številnih VOB v enem prispevku za prikaz rezultatov izbrali zgolj lažje predstavljava absolutna števila izolatov. Pretvorba iz enega na drug način je enostavna, za prehod iz relativnih števil (na 100.000 prebivalcev) na absolutne številke (prebivalci Slovenije) množimo s številom prebivalcev v letu, deljeno s 100.000, v obratni smeri pa z istim številom delimo.

Pretvorbeno število je 20,66880 za leto 2018, število 21,08977 za leto 2021 in 21,26324 za leto 2024 (18–24). Relativni podatki so nujni, da lahko primerjamo število VOB v različnih geografskih enotah (regije, različne države) (18–24).

Tabela 1. Število pacientov z večkratno odpornimi bakterijami iz kliničnih kužnin v letih 2018, 2021 in 2024 v Sloveniji. Oba indeksa z osnovo 1 primerjata stanje z izhodišnim stanjem leta 2018, indeks v predzadnjem stolpcu s stanjem leta 2021, indeks v zadnjem stolpcu pa s stanjem leta 2024.

Vrsta bakterije / značilna večkratna odpornost	Leto 2018, N pacientov z VOB	Leto 2021, N pacientov z VOB	Leto 2024, N pacientov z VOB	Indeks 2021/2018	Indeks 2024/2018
<i>Staphylococcus aureus</i> / MRSA	937	600	749	0,6	0,8
<i>Enterococcus faecalis</i> / VRE	2	3	2	NP ^{0p.1}	NP ^{0p.1}
<i>Enterococcus faecium</i> / VRE	15	102	67	6,8	4,5
<i>Escherichia coli</i> / ESBL	2251	1842	2152	0,8	1
<i>Klebsiella pneumoniae</i> / ESBL	688	784	712	1,1	1
<i>Escherichia coli</i> / CRE-CPE in CPE	0	9 ^{0p.2}	28 ^{0p.2}	NP ^{0p.2}	NP ^{0p.2}
<i>Klebsiella pneumoniae</i> / CRE-CPE in CPE	13	45	134	3,5	10,3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> / CRPs-CP	79	89	76	1,1	1
<i>Acinetobacter baumannii</i> / CRAB	126	389	35	3,1	0,3
Podatki za celoto izolatov	4111	3863	3955	0,9	1

Legenda značilne večkratne odpornosti: MRSA – proti meticilinu odporni *Staphylococcus aureus*; VRE – proti vankomicinu odporni enterokok; ESBL – betalaktamaze razširjenega spektra; CRE-CPE/CPE – enterobakterije, ki izločajo karbapenemaze; CRPs-CP – *Pseudomonas aeruginosa*, ki izloča karbapenemaze; CRAB – proti karbapenemu odporni *Acinetobacter baumannii*.

^{0p.1}: Indeksa ni smiselno računati, ker so številke premajhne: le 2 do 3 izolati letno.

^{0p.2}: Indeksa z osnovo 2018 ni mogoče izračunati, ker deljenje z nič ni možno. Indeks 2024/2021 je 3,1 (28/9).

Rezultati z razpravo

Opredelev: »izolat« v nadaljevanju pomeni »pacient z izolatom«, saj gre za unikate izolatov – šteje en izolat na pacienta, ostali so izključeni. Besedo »izolat« s pomenom »pacient z izolatom« smo uporabili za lažjo berljivost.

V Tabeli 1 je primerjalno navedeno število izolatov VOB iz kliničnih kužnin v letih 2018, 2021 in 2024.

Številke v treh stolpcih, označenih z leti, pomenijo število različnih VOB v posameznem letu in prikazujejo trend rasti ali upada. Daleč najpogostejši VOB v vseh treh predstavljenih letih je *E. coli* ESBL, na drugem in tretjem mestu sta se izmenjevala MRSA in *K. pneumoniae* ESBL.

V Tabeli 2 smo podrobno prikazali zadnje leto pred sedanostjo, leto 2024. Za lažje sledenje razpravi o VOB smo stolpce označili z velikimi tiskanimi črkami. V stolpcu A je navedeno skupno število VOB iz vseh kužnin, v stolpcu B je število VOB, izoliranih le iz NK, v zadnjem stolpcu z oznako H pa je delež VOB, izoliranih le iz NK. Deleži, odkriti le z NK, so pri različnih bakterijah različni (glej stolpec H). Skupni delež VOB, odkrit z NK, je 0,66 (7781 od 11736 VOB). Približno tretjina pacientov z VOB se torej odkrije z izolatom VOB iz KK, dve tretjini pa z izolatom iz NK.

Posebej so navedena števila VOB in vseh izolatov (VOB in ne-VOB) iz vseh KK (stolpca C in D) in posebej iz HK (stolpca Č in E). V stolpcih F in G so navedeni odstotni deleži VOB med vsemi izolati bakterije za vsak VOB posebej, posebej za KK in posebej za HK. Deleži so izračunani iz števil v stolpcih C do E, zaokroženi na eno decimalko. Vsi stolpci skupaj prikažejo dve lastnosti VOB: številčno breme VOB in deleže VOB med vsemi izolati vrste. V nadaljevanju bomo v razpravi o trendih komentirali številke iz tabele 1 (VOB iz KK), za deleže VOB med vsemi izolati bakterijske vrste pa iz tabele 2. Vsi deleži VOB v nadaljevanju se nanašajo na leto 2024 (Tabela 2), česar zaradi boljše berljivosti besedila ne bomo vedno navajali.

Tabela 2. Leto 2024, Slovenija – število pacientov z izolati z značilno odpornostjo iz različnih vrst kužnin in število pacientov z izolatoma bakterijske vrste ne glede na odpornost (šteti le unikati); odstotni deleži VOB v vseh kliničnih kužninah in v hemokulturah posebej; ter delež VOB, ki je bil izoliran samo iz nadzornih kužnin. V zadnji vrstici so črkovne oznake stolpcev.

Vrsta izolata – značilna večkratna odpornost	KK in NK: N pacientov z VOB	NK: N pacientov z VOB	KK: N pacientov z VOB	HK: N pacientov z VOB	KK: N pacientov z vsemi izolati	HK: N pacientov z vsemi izolati	KK: delež VOB izolatov med izolati vrste (%)	HK: delež VOB izolatov med izolati vrste (%)	Delež VOB samo iz NK (ni iz KK)
<i>Staphylococcus aureus</i> – MRSA	2381	1632	749	58	9542	678	7,8	8,6	0,69
<i>Enterococcus faecalis</i> – VRE	6	4	2	0	9965	178	0	0	0,67
<i>Enterococcus faecium</i> – VRE	955	888	67	5	2247	149	3	3,4	0,93
<i>Escherichia coli</i> – ESBL	5788	3636	2152	143	29481	1726	7,3	8,3	0,63
<i>Escherichia coli</i> – CRE-CPE/CPE	179	151	28	1	29481	1726	0,1	0,1	0,84
<i>Klebsiella pneumoniae</i> – ESBL	1694	982	712	47	5992	351	11,9	13,4	0,58
<i>Klebsiella pneumoniae</i> – CRE-CPE/CPE	404	270	134	15	5992	351	2,2	4,3	0,67
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> – CRPs-CP	204	128	76	11	5552	181	1,4	6,1	0,63
<i>Acinetobacter baumannii</i> – CRAB	125	90	35	2	281	6	12,5	33,3	0,72
Oznaka stolpcev tabele	A	B	C	Č	D	E	F	G	H

Legenda: VOB je »izolat bakterije z značilno večkratno odpornostjo« (npr. izolat MRSA), N - število pacientov z določenim izolatoma, KK – klinične kužnine, NK – nadzorne kužnine, HK – hemokultura, »N pacientov z vsemi izolati«: to so unikati vseh izolatov določene bakterijske vrste, VOB ali ne-VOB (npr. *S. aureus*) – stolpec D iz HK, stolpec E iz KK.

IZBRANI PODATKI O POSAMEZNIH VOB

1. MRSA.

Število MRSA iz KK je leta 2021 v primerjavi z izhodiščnim letom 2018 upadlo za 40 %, nato je poraslo, vendar je bilo leta 2024 še vedno 20 % pod izhodiščem.

Leta 2024 je bil delež MRSA v KK 7,8 %, v HK pa 8,6 %. MRSA je bil s 749 izolati iz KK drugi najpogostejši VOB. MRSA je torej pogost VOB z nejasnim trendom – po padanju do leta 2021 je nastopilo rahlo naraščanje.

2. VRE

Izolati vrste *E. faecalis* VRE ostajajo redki. V kliničnih kužninah smo imeli 2 do 3 izolate letno, v HK pa nič. Deleža VOB ni smiselno računati; v letu 2024 smo imeli 6 izolatov iz vseh KK in NK skupaj.

Izolati vrste *E. faecium* VRE so po letu 2018 postali mnogo pogostejši. Leta 2021 so bili 6,8-krat pogostejši kot v letu 2018, nato so nekoliko upadli, a leta 2024 je bilo število še vedno na 4,5-kratniku izhodišča. Delež *E. faecium* VRE v KK je bil 3 %, v HK pa 3,4 %. Stanje torej zahteva pozorno spremljanje, saj je veliko slabše kot leta 2018; tudi rezervoar nosilcev je velik, leta 2024 je bilo iz NK odkritih kar 888 izolatov.

3. *E. coli* ESBL

Število *E. coli* ESBL se je po 20 % upadu leta 2021 do leta 2024 vrnilo na izhodiščno raven. Gre za daleč najpogostejši VOB, v letu 2024 je bilo kar 2152 VOB izolatov iz KK. Delež *E. coli* ESBL v KK je bil 7,3 %, v HK pa 8,3 %. Stanje je stabilno, a predstavlja veliko zdravstveno breme (3).

4. *K. pneumoniae* ESBL

Število *K. pneumoniae* ESBL se je po 10 % povečanju leta 2021 do leta 2024 vrnilo na izhodiščno raven. Delež *K. pneumoniae* ESBL v KK je bil 11,9 %, v HK pa 13,6 %. Stanje je stabilno, a predstavlja veliko zdravstveno breme (3).

Leta 2024 je bilo 712 izolatov iz KK, izolat je bil tretji najpogostejši VOB, približno na isti ravni kot MRSA.

5. *E. coli* CRE-CPE / CPE

S sestavljenim kratico CRE-CPE/CPE označujemo vse enterobakterije, ki izločajo karbapenemaze, lahko so v antibiogramu za imipenem in/ali meropenem odporne (CRE-CPE) ali za oba antibiotika občutljive (CPE) (25).

Leta 2018 *E. coli* CRE-CPE/CPE v KK ni bilo, leta 2021 je bilo 9 izolatov, leta 2024 pa že 28 izolatov. Številke so še majhne, a trend je zaradi hitre rasti zaskrbljujoč, med drugim tudi zaradi 151 izolatov iz NK leta 2024 – rezervoar hitro narašča. Delež *E. coli* CRE-CPE/CPE leta 2024 med vsemi izolati *E. coli* v KK in HK je bil enak, 0,1 %.

6. *K. pneumoniae* CRE-CPE/CPE

K. pneumoniae CRE-CPE/CPE izredno hitro narašča. Indeks je bil leta 2021 3,5, leta 2024 pa že 10,3 – torej se je število izolatov iz KK v 6 letih povečalo za več kot 10-krat, iz 13 izolatov leta 2018 na 134 izolatov leta 2024. Leta 2024 je bilo 11 izolatov iz HK.

Leta 2024 je bil delež *K. pneumoniae* CRE-CPE/CPE med vsemi izolati *K. pneumoniae* 2,2 % v KK in kar 4,3 % v HK, skupno število pacientov z izolati *K. pneumoniae* CRE-CPE/CPE je bilo 404, od tega 15 iz HK, 129 iz ostalih KK, 270 iz NK.

7. *P. aeruginosa* CRPs-CP

Število CRPs-CP je leta 2021 nekoliko poraslo, leta 2024 pa se je vrnilo na izhodiščno raven.

Leta 2024 je bilo število izolatov iz KK 76, kar je npr. dvakrat več od števila izolatov CRAB istega leta. Stanje je videti stabilno.

Delež CRPs-CP med vsemi izolati *P. aeruginosa* v KK je bil 1,4 %, v HK pa je bil delež CRPs-CP nekajkrat večji, 6,1 %.

Kaže, da delež CRPs-CP v KK ni velik, je pa delež CRPs-CP v HK nesorazmerno velik v primerjavi z deležem CRPs-CP v vseh KK. Leta 2024 je bilo iz HK 11 izolatov, kar je pomembno število, saj je CRPs-CP ekstremno odporna bakterija, na katero učinkuje redko kateri antibiotik.

8. *A. baumannii* CRAB

Iz že visoke ravni leta leta 2018 se je pogostost CRAB do leta 2021 še 3-krat povečala, nato pa je do leta 2024 strmoglavila na indeks 0,3, torej se je v zadnjih treh letih pojavnost CRAB desetkrat zmanjšala. Število CRAB iz KK je bilo leta 2018 126, potrojilo se je na 389 izolatov leta 2021 in izjemno hitro padlo na 35 izolatov leta 2024, na tretjino izhodiščne ravni.

Delež CRAB v KK je bil leta 2024 12,5 %, v HK pa 33,3 % (2 izolata med šestimi) – a deleži niso zaskrbljujoči, ker so izračunani iz majhnega števila izolatov. Gre za izjemen uspeh slovenskih zdravstvenih delavcev; CRAB ni izginil, v letu 2024 sta bila 2 izolata iz HK, 35 izolatov iz KK in 90 pacientov s CRAB iz NK, vendar se je pojavnost izredno zmanjšala.

SKUPNA RAZPRAVA

Stoodstotni zajem vseh slovenskih laboratorijev, ki v humani medicini iz kužnin osamijo izolate in ugotavljajo občutljivost izolatov za antibiotike, je izjemna prednost Slovenije; sodelujemo vsi mikrobiološki laboratoriji kljub nezadostnim človeškim virom, ki jih imamo. Če želi regija primerjati svoje podatke z nacionalnimi, nacionalne in svoje podatke (po oceni, koliko prebivalcev laboratorij pokriva) pretvori v relativno število (18–24).

Če povzamemo rezultate iz obeh tabel, podatki o pojavnosti VOB kažejo na precej stabilno stanje pri izolatih MRSA, pri *E. coli* ESB, *K. pneumoniae* ESB in *P. aeruginosa* CRPs-CP.

Izolatov *E. faecalis* VRE skoraj ni, letno osamimo manj kot 10 izolatov skupaj iz vseh kužnin.

Izjemno ugodno se je obrnila pojavnost CRAB, ki se je po silovitem trikratnem porastu med epidemijo COVID-19 do leta 2024 10-kratno zmanjšala – časovno povezavo CRAB s pogostostjo COVID-19 je pokazala posebna raziskava (15). Domnevamo, da za relativno dobro stanje teh VOB lahko pripišemo zasluge dobrim praksam in trudu bolnišničnega in laboratorijskega osebja, ter dobremu sodelovanju laboratorijev z bolnišnicami; še posebej z osebjem, ki skrbi za obvladovanje in preprečevanje okužb, povezanih z zdravstvom.

Pomembne poraste izolatov VOB od leta 2018 smo ugotovili predvsem pri *E. faecium* VRE in *E. coli* CRE-CPE/CPE in *K. pneumoniae* CRE-CPE/CPE.

E. faecium VRE očitno ostaja problem, v primerjavi z 2018 je bil leta 2024 indeks pojavnosti 4,5 zelo velik, a vendar manjši kot leta 2021, ko je bil 6,6. V letu 2024 smo ugotovili velik rezervoar teh VOB, bilo je 888 izolatov iz NK, 67 izolatov iz KK in 5 izolatov iz HK. Delež *E. faecium* VRE med vsemi izolati vrste je okrog 3 %, tako v KK kot v HK. Razvoj dogodkov je težko napovedati, vendar so številke manj zastrašujoče kot trendi enterobakterij, ki izločajo karbapenemaze. Število izolatov *E. faecium* VRE iz KK se je po velikem povečanju v letih do 2021 v zadnjih treh letih zmanjšalo. *E. faecium* je manj virulentna bakterija, kot so enterobakterije: za ilustracijo – leta 2024 je bilo iz HK 149 izolatov *E. faecium* (od tega 5 VRE), izolatov *E. coli* iz HK je bilo npr. 1726 (od tega 143 z ESBL in 1 CRE-CPE/CPE). Ne mislimo, da je *E. faecium* VRE majhen problem, menimo le, da je manjši, kot so enterobakterije CRE-CPE/CPE.

Prikazani podatki šestih let za CRAB nakazujejo hipotetično možnost, da je zdravstveni sistem pri obvladovanju VOB morda ves ta čas na zgornjem robu zmogljivosti. Obvladuje »običajni napad VOB« (MRSA, ESBL), ko pa okoliščine omogočijo okrepljen »napad VOB« in / ali se zmanjša število zdravstvenih delavcev, število VOB ni več obvladljivo in začne naraščati. Obramba nima veliko možnosti, da bi se prilagodila napadu, saj dodatnih zmogljivosti skoraj ni. Hipoteza bi lahko pojasnila gibanje CRAB v analiziranih letih: število CRAB je ob pandemiji, ko je bilo veliko število ranljivih bolnikov z okvarami dihal, silovito naraslo, nato pa po pandemiji, ko velike, za CRAB dovzetne populacije ni bilo več, izjemno hitro upadlo – to si razlagamo tako, da so ukrepi preprečevanja CRAB ves čas bili, vendar so bili ukrepi ob velikem številu pacientov s CRAB, pomanjkanju osebja in hudi prostorski stiski nemočni (15).

Izjemni uspeh zdravstva pri zmanjševanju CRAB pa žal niti teoretično ni prenosljiv na CRE-CPE/CPE bakterije: te bakterije so bolj patogene od CRAB (enterobakterije predstavljajo več kot polovico izolatov iz HK), njihov normalni habitat je črevesje – katerikoli antibiotik, ki ga pacient dobi (in zdravljenju okužb se ni mogoče odreči), je zanje konkurenčna prednost, saj je večina CRE-CPE izolatov odporna proti skoraj vsem običajnim antibiotikom (15).

»Napad« CRE-CPE/CPE se bo torej nadaljeval. *K. pneumoniae* CRE-CPE/CPE in *E. coli* CRE-CPE/CPE močno naraščata. To nista edini vrsti enterobakterij, ki izločata CRE-CPE/CPE; neredki so tudi izolati CRE-CPE/CPE drugih vrst enterobakterij, npr. iz rodu *Citrobacter* in *Enterobacter* (20).

Od kod taka uspešnost *K. pneumoniae* CRE-CPE pri nas v zadnjih letih? Podatek molekularnih mikrobiologov, da med izolati pri nas prevladuje »visoko tvegani klon« *K. pneumoniae* ST 147 z dvema karbapenemazama, NDM-5 in OXA-48, pove, da je »napad« CRE-CPE/CPE izveden z »močnim orožjem«; nasprotno se karbapenemaze pri *E. coli* še niso naselile v tvegani klon, naraščajo nepovezano, sporadično (podatek o klonih *K. pneumoniae* in nepovezanih izolatih *E. coli* je iz prispevka na tem srečanju: Janežič S. et al. *Sekvenciranje bakterijskega genoma – spremljanje povzročiteljev in analiza izbruhov*).

»Visoko tvegani« kloni so kloni, ki imajo dobre prilagoditvene sposobnosti, hitro podvojevanje, sposobni so dolgo preživeti v okolju, pogosto delajo biofilm, imajo številne mehanizme odpornosti proti antibiotikom in lastnost, da se hitro širijo od osebe do osebe; imajo normalno

virulenco, okužbe povzročajo enako kot *K. pneumoniae*, ki ni VOB (7). Te lastnosti omogočajo hitro širjenje; klon ST 147 je dokazano visoko tvegan klon, ki v Evropi v zadnjih letih postaja pogostejši (7). Ti kloni niso hipervirulentni – izjemno nevarni so kloni, ki jih pri nas še nismo zasledili, to so proti karbapenemom odporni hipervirulentni kloni (ti lahko povzročijo hudo okužbo tudi pri povsem zdravi osebi) (7).

Iz tabele 1 je razvidno, da se v navedenih letih število ESBL izolatov ni povečalo, število izolatov *K. pneumoniae* CRE-CPE/CPE iz KK pa se je vsaka 3 leta približno potrojilo; v prvih treh letih od 13 izolatov na 45 (+ 200 %), nato od 45 na 134 izolatov letno (+ 200 %). Teoretično: leta 2027 bi bilo ob takšni dinamiki v Sloveniji približno 400 izolatov *K. pneumoniae* CRE-CPE/CPE, leta 2030 pa 1200 izolatov.

ECDC v osnovi spremlja CRE izolate na osnovi antibiograma, z oznako CRE označuje izolate z in brez karbapenemaz (6, 7). Občasno pripravi oceno tveganja zaradi CRE in v zadnji oceni, februarja 2025, je ob porastu CRE v obdobju 2019–2023 (novejših podatkov ECDC nima) za »zgolj« 57,9 %, v EU/EEA priporočil državam resne ukrepe (7). Naš prirast v zadnjih šestih letih pa je + 200 % vsaka tri leta.

Za nazoren vpogled v najprej počasno, nato pa hitro širjenje CRE-CPE/CPE, pogledajmo nekaj mejnikov. Vsi navedeni podatki so za vrsto *K. pneumoniae* CRE-CPE/CPE: leto 2011 – prvi izolat pri pacientu iz Libije; leti 2014–2015 – prvi lokalni izbruh, z NDM in OXA-48 karbapenemazami, prvič zaznan klon ST 147, izbruh obvladan v 6 mesecih; 2018 – število pacientov iz KK preseže 10; leto 2022 – število pacientov iz KK preseže 50; leto 2024 – število pacientov iz KK preseže 100, število pacientov iz HK preseže 10 (26–28).

Glede na dosedanje trende ocenjujemo, da bo poleg CRE-CPE/CPE verjetno naraščalo tudi število pacientov z *E. faecium* VRE, a je dinamiko pri teh izolatih, zlasti izolatih iz KK in HK, težko napovedati.

Domnevamo lahko torej, da se bo situacija slabšala, resno tveganje za Evropo zaradi CRE napoveduje tudi ECDC (7). Najprej bo porast VOB povzročil dodatno delo v službah za preprečevanje okužb, v mikrobiologiji, v infektologiji in pri drugih lečečih zdravnikih, in najvažneje – zdravljenje bolnikov bo manj uspešno. Povečane bodo tudi težave z nameščanjem bolnikov z VOB v socialne ustanove.

Vse skupaj bo zdravstveni sistem tudi finančno obremenilo, ECDC navaja okvirni podatek, da skupni stroški na enega bolnika s CRE v Franciji znesejo 40.000 Eur, 10 mesečni izbruh CRE v 5 bolnišnicah v Londonu je povzročil 1,1 milijona EUR stroškov (7).

Kaj pa ukrepi za obvladovanje CRE-CPE/CPE in *E. faecium* VRE? Na ravni učinkovanja sta dve skupini ukrepov: 1. upravljanje z antibiotiki in 2. preprečevanje okužb in nadzor nad širjenjem VOB. Analize kažejo, da »zmanjšanje porabe antibiotikov ne bo zadostovalo za obvladovanje odpornosti proti antibiotikom, saj se zdi, da je širjenje odpornih sevov in genov glavni dejavnik za obseg odpornosti.« (16). Potrebna so splošna vlaganja v prostore in sanitarije; ker so enterobakterije doma v črevesju, so sanitarije lahko dolgoročni rezervoar VOB, kot je povzeto v preglednem članku (17). Zakaj je slovenskim zdravstvenim delavcem mnogo težje kot v okolju, kjer prevladujejo enoposteljne sobe, in kjer je dovolj zaposlenih, kaže citat članka, ki opisuje obvladovanje VRE v slovenski bolnišnici: »Predvidevamo, da so glavni vzrok širjenja kolonizacij VRE neustrezne prostorske razmere. Na oddelku so namreč tri petposteljne sobe, ena štiriposteljna, ena triposteljna in dve dvoposteljni. Enoposteljnih

sob ni. Največje tveganje za prenos mikroorganizmov pa predstavljajo skupna stranišča. Na oddelku so štiri skupna stranišča za paciente. Če so na oddelku kolonizirani pacienti, se stranišča označi, vendar pa bolniki to težko upoštevajo. Problem je tudi pomanjkanje negovalnega osebja in velik obrat študentov, ki pomagajo pri negi pacientov. Navsezadnje pa tudi pomanjkanje osebja, ki skrbi za čistočo bolnišnice. Tudi na tem področju so težave, ker gre za slabše plačana dela z velikimi menjavami osebja in številnimi odsotnostmi z delovnega mesta.» (29)

Vrnimo se k osrednji temi tega prispevka, spremljanju odpornosti, ki sicer ničesar ne prepreči, omogoči pa usmerjene ukrepe in smiselno uporabo virov. Smo v obdobju 2019–2023 napredovali? Da – izvedena so bila številna sekvenciranja VOB izolatov z analizami genomskih zaporedij – na tem področju trenutno imamo opremo, usposobljene strokovnjake ter številne rezultate, ki so med drugim pojasnili del vzpona CRE-CPE/CPE – težava je, da to delo večinoma poteka v sklopu mednarodnega projekta »SLOSEQ – Konsolidacija in integracija sekvenciranja celotnega genoma v rutinski monitoring v Sloveniji« (*vir: Janežič et al., glej zgoraj*) – kaj bo po koncu projekta?

Kaj pa »klasično« spremljanje odpornosti z analizo rezultatov antibiograma vsakodnevnih izolatov? Verjetno lahko kot dosežek štejemo dve analizi VOB z »metodo VOB unikatov«, ki smo jih izvedli, z navedenimi objavami; začel je delovati »Slovenski anonimni CPE sledilnik« – vendar so ti trije projekti nastali na osnovi strokovne nuje, ad hoc, brez sistemskega okvira, brez namenskih virov, torej s prekomerno obremenitvijo izvajalcev (13, 15, 18–24). Sistemsko smo pri spremljanju odpornosti ostali v okviru EARS-Net mreže, tam, kjer smo pred 20 leti začeli – to je osnova, ki pa žal ne ustvarja dovolj svežih podatkov o VOB, ki so potrebni za aktivno nacionalno preprečevanje VOB. Domnevamo, da zelo dobro obveščanje o VOB poteka na nivoju mikrobiološki laboratorij – naročnik preiskave.

Kako je s cilji strategije, navedenimi v prvem delu prispevka? Načrtovanih ustreznih pravnih podlag ni, zato mora vsak laboratorij posebej urejati, delno analizirati ter anonimizirati podatke; isti postopki se torej 11-krat ponovijo, šele nato se anonimni združujejo. Poraba človeških virov za spremljanje odpornosti, ki so zelo redki, saj sistemsko niso bili določeni, je posledično neracionalna, saj avtomatizacija obdelave podatkov ni možna, ker pravno ni dopustna; nacionalna avtomatizacija obdelave podatkov se lahko razvija le teoretično. Nacionalna mreža mikrobioloških kliničnih in referenčnih laboratorijev ni postavljena, zato je načrtovanje razvoja težko (draga oprema in dolgotrajno usposabljanje osebja). NKC ni bil ustanovljen in zanj niso bili določeni viri; podatki, ki nacionalno vendarle nastajajo, zaradi ne-ustanovitve NKC niso dovolj učinkovito povezani med seboj in ne dovolj učinkovito posredovani nacionalnim deležnikom, ki delujejo v preprečevanju odpornosti.

ZAKLJUČNE MISLI

Ukrepe, ki so bili predvideni v Državni strategiji 2019–2024, ki je časovno sicer preteklost, saj je leto 2024 že minilo, je treba čim prej uresničiti; izjemno se mudi na področju enterobakterij CPE/CRE-CPE (3, 7, 10, 11). Predvsem gre za naš, nacionalni problem, a odpornost sodi med čezmejne grožnje in gre tudi za uresničevanje zahtev in predlogov evropskih dokumentov (10–11).

Posledice neuresničenega akcijskega plana v mikrobiologiji so ne le pomanjkljivi sistemsko zbrani podatki, umanjale so tudi nujno potrebne zaposlitve in razvoj kadrov za spremljanje

odpornosti (za redne analize in posredovanje ugotovitev deležnikom). Ne vemo, kako je s kadri v drugih strokah, a povečevanje števila nosilcev in bolnikov je poleg povečanja števila preiskav v mikrobiologiji zagotovo povzročilo močno povečan obseg dela tudi pri preprečevanju širjenja VOB in pri zdravljenju bolnikov.

Spremljanje odpornosti je potrebno združiti v okvir NKC – za hitro zbiranje in povezovanje različnih podatkov in posredovanje ugotovitev ostalim strokam, da lahko čim bolj ciljno delujejo – tako naloge NKC opredeljuje SZO (2).

SZO je leta 2012 zapisala, da je posebej zaskrbljujoče, da je odpornost mikrobov kljub ustreznim ukrepom za smotno rabo protimikrobnih zdravil praviloma nepovratna (1). Česar ne narediš danes, ne moreš popraviti jutri. Ključna javnozdravstvena strategija je torej zgodnja uvedba ukrepov proti razvoju odpornosti in za preprečevanje njenega širjenja (1). Leta 2018 so v ECDC za CRE napisali podobno: »Ko stanje postane endemično, bodo nadzorna prizadevanja dražja in manj učinkovita« (6).

Pred trinajstimi leti smo širšo strokovno javnost prvič opozorili na problem CRE-CPE/CPE s člankom v ISIS: Enterobakterije s karbapenemazami – šepet pred viharjem (30). Šepet je postal grmenje, a zaključek članka danes velja še bolj kot tedaj: »Bakterije imajo milijone let izkušenj s prilagajanjem. Med seboj veličastno sodelujejo. Proti njim se je težko boriti. Toda – ali nam preostane kaj drugega?«

ZAHVALA

Iskrena zahvala vsem mikrobiologom, ki so v dveh različnih letih sodelovali pri pridobivanju podatkov za analize, predstavljene v tem prispevku.

LITERATURA

1. World Health Organization. The evolving threat of antimicrobial resistance: options for action. Geneva: World Health Organization; 2012 [citirano 2025 Apr 1]. Dostopno na: <https://iris.who.int/handle/10665/44812>.
2. World Health Organization. 13 critical interventions that support countries to address antimicrobial resistance in human health. Geneva: World Health Organization; 2023 [citirano 2025 Apr 1]. Dostopno na: <https://www.who.int/news/item/19-10-2023-13-critical-interventions-that-support-countries-to-address-antimicrobial-resistance-in-human-health>.
3. 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.
4. European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance Atlas of Infectious Diseases [citirano 2025 Apr 1]. Dostopno na: <http://atlas.ecdc.europa.eu/public/index.aspx>.
5. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance in the EU/EEA (EARS-Net) – Annual epidemiological report 2023. Stockholm: ECDC; 2024 Nov. 2018 [citirano 2025 Apr 1]. Dostopno na: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/antimicrobial-resistance-eueea-ears-net-annual-epidemiological-report-2023>.
6. European Centre for Disease Prevention and Control. Rapid risk assessment: carbapenem-resistant Enterobacteriaceae – first update. Stockholm: ECDC; 2018 [citirano 2025 Apr 1]. Dostopno na: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/rapid-risk-assessment-carbapenem-resistant-enterobacteriaceae-first-update>.

7. European Centre for Disease Prevention and Control. Carbapenem-resistant Enterobacterales – third update: Rapid Risk Assessment, 3 February 2025. Stockholm: ECDC; 2025 [citirano 2025 Apr 1]. Dostopno na: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/carbapenem-resistant-enterobacterales-rapid-risk-assessment-third-update>.
8. European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* ST23 carrying carbapenemase genes in EU/EEA countries, first update. Stockholm: ECDC; 2024 [citirano 2025 Apr 1]. Dostopno na: <https://data.europa.eu/doi/10.2900/993023>.
9. Ministrstvo za zdravje Republike Slovenije. Državna strategija »Eno zdravje« za obvladovanje odpornosti mikrobov 2019–2024. Ljubljana: Ministrstvo za zdravje; 2019 [citirano 2025 Apr 1]. Dostopno na: <https://www.gov.si/zbirke/delovna-telesa/nacionalna-komisija-za-smotrno-rabo-protimikrobnih-zdravil-v-sloveniji/>.
10. Evropski parlament in Svet Evropske unije. Priporočilo Sveta o okrepitevi ukrepov EU v boju proti antimikrobični odpornosti v okviru pristopa »Eno zdravje« (2023/C 220/01). Uradni list Evropske unije; 2023 [citirano 2025 Apr 1]. Dostopno na: <https://data.europa.eu/doi/10.2875/636347>.
11. Evropski parlament in Svet Evropske unije. Uredba (EU) 2022/2371 Evropskega parlamenta in Sveta z dne 23. novembra 2022 o resnih čezmejnih grožnjah za zdravje in razveljavitvi Sklepa št. 1082/2013/EU. Uradni list Evropske unije; 2022 [citirano 2025 Apr 1]. Dostopno na: <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2022/2371/oj>.
12. Ribič H, Glavan U, Klavs I, EARS-Net Slovenija. Odpornost proti antibiotikom pri povzročiteljih invazivnih okužb v Sloveniji v letu 2022 (rezultati EARS-Net Slovenija). Odpornost proti antibiotikom pri povzročiteljih invazivnih okužb v Sloveniji; 2024. p. 1–27 [citirano 2025 Apr 1]. Dostopno na: <https://nijz.si/nalezljive-bolezni/spremljanje-nalezljivih-bolezni/odpornost-proti-antibiotikom-pri-povzrociteljih-invazivnih-okuzb-v-sloveniji/>.
13. Pirš M, Štrumbelj I. Trendi odpornosti bakterij proti antibiotikom v Sloveniji. V: Infektološki simpozij 2024: Infekcijske bolezni danes in tudi jutri; 2024 Apr; Ljubljana. p. 8–20.
14. Štrumbelj I, Pirš M, Berce I, Bombek Ihan M, Fišer J, Golle A, et al. Pregled občutljivosti bakterij za antibiotike – Slovenija 2017. Ljubljana: Slovenska komisija za ugotavljanje občutljivosti za protimikrobna zdravila (SKUOPZ); 2018 [citirano 2025 Apr 1]. Dostopno na: <http://www.imi.si/strokovna-zdruzenja/skuopz>.
15. Knez L, Ribič H, Štrumbelj I, Bombek Ihan M, Pal E. Naraščanje števila okužb z *Acinetobacter baumannii* v Podravski in Pomurski regiji v času pandemije covid-19. V: Matos T, ur. Zbornik prispevkov. 14. Baničevi dnevi: Okužbe, povezane z zdravstvom, in večkratno odporne bakterije; 2023 Nov 17–18; Maribor, Slovenija. V Ljubljani: Sekcija za klinično mikrobiologijo in bolnišnične okužbe; 2024. p. 202–206.
16. Collignon P, Beggs JJ, Walsh TR, Gandra S, Laxminarayan R. Anthropological and socioeconomic factors contributing to global antimicrobial resistance: a univariate and multivariable analysis. *Lancet Planet Health*. 2018;2(9):e398–e405.
17. Valzano F, Coda ARD, Liso A, Arena F. Multidrug-resistant bacteria contaminating plumbing components and sanitary installations of hospital restrooms. *Microorganisms*. 2024;12:136.
18. Kramar U, Ribič H, Pirš M, Tomič V, Stojoska T, Piltaver I, et al. Pojavnost proti karbapenemu odpornega *Acinetobacter baumannii* (CRAB) v Sloveniji med letoma 2017 in 2022. V: Matos T, ur. Zbornik prispevkov. 14. Baničevi dnevi: Okužbe, povezane z zdravstvom; 2023 Nov 17–18; Maribor, Slovenija. V Ljubljani: Sekcija za klinično mikrobiologijo in bolnišnične okužbe; 2024. p. 83–91.
19. Pirš M, Krizan-Hergouth V, Ribič H, Jeverica S, Jurišević Dodić A, Berce I, et al. Pojavnost *Klebsiella pneumoniae*, ki izloča encime ESBL v Sloveniji v letih 2017–2022. V: Matos T, ur. Zbornik prispevkov. 14. Baničevi dnevi: Okužbe, povezane z zdravstvom; 2023 Nov 17–18; Maribor, Slovenija. V Ljubljani: Sekcija za klinično mikrobiologijo in bolnišnične okužbe; 2024. p. 58–66.

-
20. Pirš M, Kramar U, Ribič H, Kavka D, Seme K, Velimirovič I et al. Pojavnost enterobakterij, ki izločajo karbapenemaze, v Sloveniji med letoma 2017 in 2022. V: Matos T, ur. Zbornik prispevkov. 14. Baničevi dnevi: Okužbe, povezane z zdravstvom; 2023 Nov 17–18; Maribor, Slovenija. V Ljubljani: Sekcija za klinično mikrobiologijo in bolnišnične okužbe; 2024. p. 67–82.
 21. Šterbenc A, Pirš M, Tomič M, Stojoska T, Piltaver I, Zdolšek B et al. Pojavnost proti vankomicinu odpornih enterokokov - VRE v Sloveniji od v letih 2017–2022. V: Matos T, ur. Zbornik prispevkov. 14. Baničevi dnevi: Okužbe, povezane z zdravstvom; 2023 Nov 17–18; Maribor, Slovenija. V Ljubljani: Sekcija za klinično mikrobiologijo in bolnišnične okužbe; 2024. p. 49–57.
 22. Štrumbelj I, Seme K, Marič L, Križan Hergouth V, Ribič H, Jurišević Dodić A et al. Pojavnost bakterije *Escherichia coli* z ESBL v Sloveniji v letih 2017–2022. V: Matos T, ur. Zbornik prispevkov. 14. Baničevi dnevi: Okužbe, povezane z zdravstvom; 2023 Nov 17–18; Maribor, Slovenija. V Ljubljani: Sekcija za klinično mikrobiologijo in bolnišnične okužbe; 2024. p. 102–112.
 23. Švent Kučina N, Maver Vodičar P, Kramar U, Križan Hergouth V, Seme K, Velimirovič I et al. Pojavnost proti metilicinu odpornega *Staphylococcus aureus* – MRSA v Sloveniji v letih 2017–2022. V: Matos T, ur. Zbornik prispevkov. 14. Baničevi dnevi: Okužbe, povezane z zdravstvom; 2023 Nov 17–18; Maribor, Slovenija. V Ljubljani: Sekcija za klinično mikrobiologijo in bolnišnične okužbe; 2024. p. 42–48.
 24. Golle A, Germ J, Berce I, Bombek Ihan A, Jeverica S, Jurišević Dodić A et al. Pojavnost proti karbapenemom odpornega *Pseudomonas aeruginosa* – CRPs v Sloveniji v letih 2017–2022. V: Matos T, ur. Zbornik prispevkov. 14. Baničevi dnevi: Okužbe, povezane z zdravstvom; 2023 Nov 17–18; Maribor, Slovenija. V Ljubljani: Sekcija za klinično mikrobiologijo in bolnišnične okužbe; 2024. p. 92–101.
 25. Pirš M, Štrumbelj I, Lejko Zupanc T. Dokument SKUOPZ 003. Enterobakterije, *Acinetobacter baumannii* in *Pseudomonas aeruginosa* – označevanje večkratno odpornih izolatov in okrajšave preiskav nadzornih kužnin – 2. izdaja. Ljubljana: Slovenska komisija za ugotavljanje občutljivosti za protimikrobna zdravila (SKUOPZ); 2022 [citirano 2025 Apr 1]. Dostopno na: <https://imi.si/skuopz/>.
 26. Pirš M, Andlovic A, Cerar T, Žohar Čretnik T, Kobola L, Kolman J, et al. A case of OXA-48 carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in a patient transferred to Slovenia from Libya, November 2011. Euro Surveill. 2011;16(50):20042.
 27. Pirš 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 2014–2016. J Hosp Infect. 2019;101(2):142-9.
 28. Peirano G, Chen L, Kreiswirth BN, Pitout JD. Emerging antimicrobial-resistant high-risk *Klebsiella pneumoniae* clones ST307 and ST147. Antimicrob Agents Chemother. 2020;64(10):10-128.
 29. Grmek Košnik I, Dolenc M, Pretnar Š. Obvladovanje okužb, ki jih povzročijo proti vankomicinom odporni enterokoki, v Splošni bolnišnici Jesenice. V: Matos T, ur. Zbornik prispevkov. 14. Baničevi dnevi: Okužbe, povezane z zdravstvom; 2023 Nov 17–18; Maribor, Slovenija. V Ljubljani: Sekcija za klinično mikrobiologijo in bolnišnične okužbe; 2024. p. 202–206.
 30. Štrumbelj I. Enterobakterije s karbapenemazami – šepet pred viharjem. Isis. 2012;21(6):49–51.
-

POJAVNOST ENTEROBAKTERIJ S KARBAPENEMAZAMI V SLOVENIJI

THE INCIDENCE OF CARBAPENEMASE PRODUCING ENTEROBACTERIA IN SLOVENIA

Mateja Pirš¹, Urška Kramar², Daša Kavka³, Helena Ribič⁴, Bojana Beović^{5,6},
Iztok Štrumbelj⁷ in sodelujoči v Baničevi dnevi 2023/CPE sledilniku

¹Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

²Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Center za medicinsko mikrobiologijo,
Oddelek za medicinsko mikrobiologijo Maribor

³Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Oddelek za medicinsko mikrobiologijo Celje

⁴Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Center za medicinsko mikrobiologijo,
Oddelek za medicinsko mikrobiologijo Kranj

⁵Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja, UKC Ljubljana.

⁶Katedra za infekcijske bolezni z epidemiologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

⁷Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Center za medicinsko mikrobiologijo,
Oddelek za medicinsko mikrobiologijo Murska Sobota

Sodelujoči v Baničevi dnevi 2023/CPE sledilniku:

Katja Seme, Ivana Velimirovič, Veronika Križan Hergouth, Nataša Švent Kučina, Polona Maver Vodičar,
Barbara Zdošek, Maja Bombek Ihan, Tjaša Žohar Čretnik, Ingrid Berce, Matej Kokalj,
Anamarija Jurišević Dodič, Viktorija Tomič, Tanja Stojoska, Dane Lužnik, Anica Slobodnik Kavčič,
Barbara Kovčič Ramšak, Barbara Sodec, Bernarda Benko, Brigita Radovan, Gašper Strugar, Nika Horvat,
Snežana Ribis, Tanja Blatnik, Zala Dodič, Jelena Kovačević, Irena Grmek Košnik

IZVLEČEK

Izhodišča: Naraščanje števila okužb s proti karbapenemom odpornimi enterobakterijami, ki izločajo karbapenemaze (CRE-CPE), oziroma z enterobakterijami, ki izločajo karbapenemaze (CPE), je resen javnozdravstveni izziv. Zdravljenje je težavno, saj so bakterije običajno odporne proti vsem ali večini betalaktamskih antibiotikov; specifične kombinacije betalaktamskih antibiotikov z zaviralci karbapenemaz trenutno v klinični rabi zavirajo le nekatere serinske karbapenemaze, specifičnih zaviralcev metalobetalaktamaz še ni v klinični rabi. Pogosto so ti izolati hkrati odporni tudi proti drugim antibiotičnim razredom, kar resno zmanjšuje izbiro antibiotikov, ki jih lahko uporabimo za zdravljenje okužb. Trenutna slovenska zakonodaja ne omogoča spremljanja posameznikov in populacij, ki so nosilci CRE-CPE/CPE. Februarja 2024 je Ministrstvo za zdravje medicinske mikrobiološke laboratorije zaprosilo, da redno centralno prijavljajo nove anonimizirane primere bolnikov z izolati CRE-CPE/CPE, kar je omogočilo nastanek anonimnega CPE sledilnika. V prispevku so predstavljeni rezultati mikrobiološkega spremljanja CRE-CPE/CPE od 2017 do 2024.

Metode: Retrospektivni del podatkov o pojavnosti pacientov z izolati CRE-CPE/CPE, osamljenimi iz kliničnih in nadzornih kužnin med letoma 2017 in 2022 je bil predstavljen na Baničevih dnevih 2023, prospektivni del pa zbran iz podatkov anonimnega CPE sledilnika.

Rezultati: Analiza pojavnosti CRE-CPE/CPE je pokazala pomembne regionalne razlike in razlike v pojavnosti med enterobakterijami in pomembno naraščanje CRE-CPE/CPE od 2017 dalje. Največji porast pojavnosti CRE-CPE/CPE na 100.000 prebivalcev v obdobju od 2017 do 2024 iz kliničnih in nadzornih kužnin bolnikov v Sloveniji smo ugotovili pri *K. pneumoniae* CRE-CPE/CPE s 23-kratnim porastom (od 0,8/100.000 na 18,6/100.000 prebivalcev). Na drugem mestu je bila *E. coli* CRE-CPE/CPE s skoraj 17-kratnim porastom (od 0,5/100.000 na 8,3/100.000 prebivalcev). Sledita *Citrobacter* spp. CRE-CPE/CPE s skoraj 10-kratnim porastom (od 0,8/100.000 na 7,7/100.000 prebivalcev) in *Enterobacter* spp. CRE-CPE/CPE s 7-kratnim porastom (od 0,4/100.000 na 3/100.000 prebivalcev). Dodatno je zaskrbljujoč velik delež izolatov z metalobetalaktamazami (52,5 % v letu 2024), pri katerih imamo na voljo najmanj učinkovitih antibiotikov.

Zaključki: Od leta 2017 dalje se močno povečuje število pacientov z izolati CRE-CPE/CPE iz kliničnih in nadzornih kužnin. Ustrezna mikrobiološka diagnostika, smotrna raba antibiotikov in regionalni ukrepi bolnišnične higiene brez nacionalnega sistema ne zadostujejo za zamejevanje širjenja CRE-CPE/CPE. Kritično je redno spremljanje trendov odpornosti, sledenje bolnikom, ki so kolonizirani ali okuženi s CRE-CPE/CPE, tako v bolnišničnem kot tudi v domačem okolju, ter izvajanje ustreznih lokalnih in nacionalnih ukrepov, ki se morajo nenehno prilagajati novim epidemiološkim okoliščinam. Anonimno spremljanje, ki je trenutno edina možnost v Sloveniji, je zgolj prvi korak. Ključno je vzpostaviti sistem, ki bo omogočal natančno zbiranje podatkov in hkrati podprl razvoj učinkovitih ukrepov.

Ključne besede: enterobakterije, ki so odporne proti karbapenemom – CRE; enterobakterije, ki izločajo karbapenemaze – CPE; enterobakterije, ki so odporne proti karbapenemom in izločajo karbapenemaze – CRE-CPE; *Escherichia coli*; *Klebsiella pneumoniae*; *Enterobacter* spp.; *Citrobacter* spp., CPE sledilnik

ABSTRACT

Background: Increasing incidence of carbapenem resistant carbapenemase-producing enterobacteria (CRE-CPE) and carbapenemase-producing enterobacteria (CPE) pose a significant public health challenge. Treatment is complicated as these isolates are resistant to most beta-lactam antibiotics. Specific combinations with carbapenemase inhibitors are only effective against certain serine carbapenemases, there are no specific inhibitors for metallo-beta-lactamases currently in clinical use. CRE-CPE/CPE isolates are usually resistant to other antibiotic classes further reducing treatment options. Current Slovenian legislation does not allow the monitoring of individuals and populations with CRE-CPE/CPE isolates. In February 2024, the Ministry of Health called on medical microbiology laboratories conducting microbiological diagnostics to regularly submit centralized anonymous reports of new cases of patients with CRE-CPE/CPE isolates, which enabled the creation of an anonymous CPE tracker. This paper presents the results of microbiological surveillance of CRE-CPE/CPE from 2017 to 2024.

Methods: The retrospective data on the incidence of the patients with CRE-CPE/CPE from clinical and surveillance samples between 2017 and 2022 were presented in 2023 Baničevi dnevi. The prospective data were obtained from the anonymous CPE tracker.

Results: Analysis of the incidence of CRE-CPE/CPE revealed significant regional differences as well as differences in incidence among Enterobacteriaceae and a notable increase in CRE-CPE/CPE cases since 2017. The highest increase in CRE-CPE/CPE incidence per

100,000 inhabitants from clinical and surveillance samples in Slovenia between 2017 and 2024 was observed in *Klebsiella pneumoniae* CRE-CPE/CPE, with a 23-fold increase (from 0.8/100,000 to 18.6/100,000 inhabitants). Second was *Escherichia coli* CRE-CPE/CPE, with an almost 17-fold increase (from 0.5/100,000 to 8.3/100,000 inhabitants). This was followed by *Citrobacter* spp. CRE-CPE/CPE, with an almost 10-fold increase (from 0.8/100,000 to 7.7/100,000 inhabitants), and *Enterobacter* spp. CRE-CPE/CPE, with a 7-fold increase (from 0.4/100,000 to 3/100,000 inhabitants). Additionally, the high proportion of isolates with metallo-beta-lactamases (52.5% in 2024) is concerning, as it further limits the choice of effective treatment.

Conclusions: There has been a substantial increase in patients with CRE-CPE/CPE isolates in Slovenia from 2017 onwards. Optimal microbiological diagnostics, prudent antibiotic use, and regional hospital hygiene measures, without a national system within and outside healthcare facilities, are insufficient. Regular monitoring of resistance trends, tracking colonized or infected patients in both hospital and community settings, and implementing appropriate local and national measures are crucial and should continually adapt to evolving epidemiological circumstances. Anonymous monitoring, currently the only option available in Slovenia, is merely a first step. It is essential to implement a system that enables accurate data collection while simultaneously supporting the development of effective intervention measures.

Keywords: Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae* – CRE; Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae* – CPE; Carbapenem-Resistant Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae* CRE-CPE; *Escherichia coli*; *Klebsiella pneumoniae*; *Enterobacter* spp.; *Citrobacter* spp.; CPE tracker

UVOD

Naraščanje števila okužb z večkratno odpornimi enterobakterijami, ki so odporne proti karbapenemom – CRE (angl. *Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae*), in enterobakterijami, ki izločajo encime karbapenemaze (angl. *Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae*, CPE), oziroma enterobakterijami, ki so odporne proti karbapenemom in izločajo karbapenemaze (CRE-CPE), je postalo eden od pomembnejših javnozdravstvenih problemov (1). Odpornost proti karbapenemom je lahko posledica a) kombiniranih mehanizmov odpornosti, običajno betalaktamaz razširjenega spektra delovanja (angl. *Extended Spectrum Beta Lactamases*, ESBL) ali cefalosporinaz (ampC) v kombinaciji z izgubo porinov v zunanji membrani ali b) produkcije karbapenemaz, ki so običajno zapisane na mobilnih genetskih elementih, kar olajša njihovo širjenje. Dodatno k odpornosti lahko prispeva tudi povečana aktivnost izlivnih črpalk (2). Odpornost proti karbapenemom je v zadnjih dveh desetletjih postala kritična (3–5). CRE povzročajo resne težave pri zdravljenju bolnika, saj so ti izolati odporni proti vsem ali večini betalaktamskih antibiotikov – od penicilinov, cefalosporinov, monobaktamov do karbapenemov, pogosto pa so hkrati odporni tudi proti drugim skupinam antibiotikom, kot so fluorokinoloni in aminoglikozidi. Možnosti za antibiotično zdravljenje so še posebej omejene, če gre za CRE-CPE/CPE (6, 7). Karbapenemaze glede na strukturne oziroma molekularne lastnosti uvrščamo v tri skupine betalaktamaz po klasifikaciji po Amblerju – med serinske karbapenemaze spadajo karbapenemaze skupine A (npr. KPC) in skupine D (npr. encimi družine OXA-48), tretja skupina pa so karbapenemaze skupine B oziroma metalobetalaktamaz (npr. NDM, VIM) (2).

Za zdravljenje okužb s CRE-CPE/CPE imamo na voljo le omejen nabor antibiotikov, posebej problematično je lahko zdravljenje okužb s CRE-CPE/CPE, ki izločajo metalobeta-laktamaze (6, 7). Priporočila za zdravljenje in trenutni nabori dodatnih antibiotikov, ki jih lahko testiramo pri CRE-CPE/CPE so podrobneje predstavljeni v dveh prispevkih v zborniku (Planinc Strunjaš in sod. *Priporočila za zdravljenje okužb s po Gramu negativnimi bakterijami s karbapenemazami*, Pirš in sod. *Katere dodatne antibiotike lahko testiramo pri po Gramu negativnih bakterijah s karbapenemazami?*).

Čeprav se s CRE-CPE/CPE še vedno srečujemo predvsem pri okužbah, povezanih z zdravstvom (OPZ), pa v zadnjih letih poročajo tudi o pojavljanju CRE-CPE/CPE tudi v zunajbolnišničnem okolju ter pri domačih in divjih živalih (8–10).

Spremljanje pojavnosti CRE-CPE/CPE

Večanje pojavnosti CRE v zadnjih 15 letih je skrb vzbujajoče, še zlasti problematično je širjenje CRE-CPE/CPE. Najbolj sistematičen vpogled v razširjenost CRE je na voljo preko Evropskega centra za preprečevanje in obvladovanje bolezni (angl. *European Center for Disease Prevention and Control*, ECDC), kjer v okviru evropske mreže za nadzor odpornosti proti antibiotikom (angl. *European Antimicrobial Resistance Surveillance Network*, EARS-Net) spremljajo podatke o občutljivosti invazivnih izolatov (kri, likvor) osmih bakterijskih vrst oziroma rodov (8, 11). Informacije so omejene na podatke o občutljivosti invazivnih izolatov (vključno s podatki o *Klebsiella pneumoniae* CRE in *Escherichia coli* CRE), podatki o izločanju karbapenemaz v tem sistemu niso na voljo, zato ni natančnega vpogleda v stanje s CRE-CPE/CPE, znano pa je, da v državah z visoko prevalenco CRE-CPE tovrstni izolati prevladujejo. Ker so podatki EARS-Net omejeni na invazivne izolate, ne kažejo pravega bremena CRE-CPE/CPE, zlasti zgodnjih stopenj širjenja CRE-CPE/CPE, ko prevladujejo kolonizacije ali neinvazivne okužbe (npr. okužbe sečil) in ko imamo možnost učinkovito zamejiti oziroma celo preprečiti širjenje. Podatki so zaradi načina zbiranja in obdelave objavljeni običajno z enoletnim zamikom (8, 12). Nedavno objavljena analiza ECDC kaže porast incidence bakteriemij s *K. pneumoniae* CRE v 23 državah EU, predvsem kot posledico že znanega širjenja visoko tveganih linij *K. pneumoniae* CRE v bolnišničnem okolju. Dodatno je zaskrbljujoče, da se pojavljajo sočasno bolj virulentne in odporne linije *K. pneumoniae*, vključno s hipervirulentno linijo *K. pneumoniae* CRE-CPE/CPE ST23 v zdravstvenih ustanovah. Posebej zaskrbljujoče je tudi vse pogostejše opažanje izolatov visoko tveganih linij *E. coli* CRE-CPE/CPE, kar predstavlja pomembno tveganje za širjenje v domačem okolju (8).

Po podatkih Svetovne zdravstvene organizacije (SZO) in ECDC v Evropi delež CRE narašča pri bakterijski vrsti *K. pneumoniae*, v zadnjih letih pa tudi pri vrsti *E. coli* (8, 11).

Delež invazivnih *K. pneumoniae* CRE, utežen na populacijo v EU/EEA, je porasel iz 10,4 % (0,0–58,3 %) leta 2019 na 13,3 % (0,0–69,7 %) leta 2023. Samo 18 % (8/44) držav v evropski regiji je leta 2023 poročalo o manj kot 1 % invazivnih izolatov *K. pneumoniae* CRE, 19 % (9/44) jih je poročalo o več kot 50 % invazivnih izolatov *K. pneumoniae* CRE (13). V Sloveniji je prišlo do izjemnega porasta od 0,3 % v letu 2019 (3 bolniki) na 3,8 % v 2023 (13 bolnikov). Pojavnost *K. pneumoniae* CRE na 100.000 prebivalcev v EU/EEA je bila leta 2023 ocenjena na 3,97 (0,0–21,44), kar predstavlja signifikanten 57,5 % porast od 2019, ko je znašala 2,52 na 100.000 prebivalcev. V Sloveniji je pojavnost leta 2019 znašala 0,05, leta 2023 pa 0,62 na 100.000 prebivalcev, kar predstavlja ogromen – 1.140 % – porast in je

hkrati najvišji porast pojavnosti invazivnih *K. pneumoniae* CRE v EU (na drugem mestu je Madžarska) (13). V Evropi so CRE-CPE/CPE že pred leti dosegle endemske razsežnosti npr. v Italiji in Grčiji, situacija se v zadnjih letih hudo slabša v balkanskih državah s pojavnostjo CRE-CPE/CPE med invazivnimi izolati *K. pneumoniae* na Hrvaškem 27,6 %, v Bosni in Hercegovini 45,1 % in 64,9 % v Srbiji. CRE-CPE/CPE so dosegle endemski status tudi v Turčiji, ZDA, Indiji in nekaterih severnoafriških državah (13–16).

Delež invazivnih *E. coli* CRE, utežen na populacijo, se je v EU/EEA znižal iz 0,4 % (0,0–1,6 %) leta 2019 na 0,3 % (0,0–1,8 %) leta 2023, ko je 23 % (10/44) držav v evropski regiji poročalo o 1 % ali več (največ 1,8 %) invazivnih izolatov *E. coli* CRE. V Sloveniji smo imeli 0,1 % invazivnih izolatov *E. coli* CRE (13). Pojavnost *E. coli* CRE na 100.000 prebivalcev v EU/EEA je bila v 2023 ocenjena na 0,14, kar predstavlja 30 % upad od 2019, ko je znašala 0,2 na 100.000 prebivalcev. V Sloveniji je pojavnost leta 2019 znašala 0,0, leta 2023 pa 0,05 na 100.000 prebivalcev (13). Med balkanskimi državami so na Hrvaškem imeli 0,2 % invazivnih izolatov *E. coli* CRE, v Bosni in Hercegovini je delež izolatov 0,6 %, posebej pa izstopa Srbija s 3,2 % invazivnih izolatov *E. coli* CRE v 2021, zadnji podatki pa kažejo nižji delež leta 2023 1,1 % (13–16).

Spremljanje CRE-CPE/CPE v Sloveniji

V Sloveniji smo zaradi naglega slabšanja situacije na Balkanu v zadnjih letih v neugodnem položaju. Prve CRE-CPE/CPE v Sloveniji smo odkrili že pred več kot desetimi leti, prvi večji izbruh pa smo imeli jeseni 2014 v največji slovenski terciarni bolnišnici kot posledico vnosa iz bolnišnice v Srbiji (17, 18). Do pandemije covid-19 se je pojavnost prehodno znižala, od leta 2020 pa opazamo pomembno naraščanje predvsem primerov nosilcev CRE-CPE/CPE v več regijah. Če smo v preteklosti pogosto opazali vnose CRE-CPE/CPE s premestitvami bolnikov iz bolnišnic iz različnih balkanskih državah, pa je porast v zadnjih letih posledica regijskega in medregijskega širjenja v Sloveniji, zato je zelo pomembno, da dosledno upoštevamo nacionalna priporočila za preprečevanje širjenja CRE-CPE/CPE tudi z aktivnim iskanjem nosilcev med bolniki, ki so bili v stiku z zdravstvenim sistemom ne samo v tujini, ampak tudi v slovenskih bolnišnicah (3, 19).

Kljub urejeni mikrobiološki diagnostiki in ukrepim za obvladovanje CRE-CPE/CPE na lokalni bolnišnični ravni še vedno ostaja pomanjkljiva koordinacija na nacionalni ravni. Vlada Republike Slovenije je septembra 2019 sprejela Državno strategijo »Eno zdravje« za obvladovanje odpornosti mikrobov (2019–2024) z akcijskim načrtom. Kot prioritetni področji sta bili izpostavljeni spremljanje odpornosti mikrobov ter spremljanje, preprečevanje in obvladovanje okužb, povezanih z zdravstvom (20). Med drugim je bila posebej opredeljena vzpostavitev opozorilnega spremljanja večkratno odpornih bakterij (vključno s CRE-CPE/CPE), obveščanje, ukrepanje, sodelovanje med deležniki in poročanje ob pojavljanju CRE-CPE/CPE z namenom pravočasnega in učinkovitega odziva, imenovanje in financiranje nacionalnih referenčnih mikrobioloških laboratorijev ter vzpostavitev nacionalne koordinacije za spremljanje odpornosti mikrobov v humani medicini v Nacionalnem laboratoriju za zdravje, okolje in hrano (NLZOH). Za izvajanje strategije bi bilo treba urediti tudi ustrezne zakonske podlage in pooblastila, vendar žal do izteka veljavnosti strategije to ni bilo vzpostavljeno. Trenutna slovenska zakonodaja ne omogoča spremljanja posameznikov in populacij, ki so nosilci CRE-CPE/CPE, čeprav ima tovrstno prijavo sicer urejeno večina evropskih držav. Spre-

mljanje stanja glede odpornih bakterij predpisuje zakonodaja EU, Uredba (EU) 2022/2371 EVROPSKEGA PARLAMENTA IN SVETA z dne 23. novembra 2022 o resnih čezmejnih grožnjah za zdravje, ki je za države zavezujoča, in Priporočilo Sveta EU o okrepitvi ukrepov EU v boju proti antimikrobični odpornosti v okviru pristopa »Eno zdravje« (2023/C 220/01) (20–22). Na pobudo predstavnikov slovenskih mikrobioloških laboratorijev in Nacionalne medresorske komisije za smiselno rabo protimikrobnih zdravil v Sloveniji je Ministrstvo za zdravje medicinske mikrobiološke laboratorije 15. 2. 2024 zaprosilo, da začnejo izvajati redno centralno anonimno prijavo novih primerov bolnikov z izolati CRE-CPE/CPE v koordinaciji dveh predstavnikov mikrobioloških laboratorijev (IMI in NLZOH). Namen anonimnega spremljanja je zagotavljanje čim bolj uporabnih podatkov o dejanski pojavnosti CRE-CPE/CPE v realnem času v skladu z obstoječo zakonodajo do vzpostavitve nacionalnega centra za spremljanje odpornosti mikrobov v humani medicini v NLZOH. Na podlagi podatkov o pojavnosti CRE-CPE/CPE bi lahko optimizirali lokalne in centralne ukrepe za zamejevanje širjenja CRE-CPE/CPE – in v idealnih okoliščinah – za zmanjševanje njihove pojavnosti, kar bi bila lahko osnova za nadaljnje ukrepe in zamejevanje. S 1. aprilom 2025 smo objavili spletni anonimni CPE sledilnik, ki omogoča sprotno dostopanje do podatkov. Podatke prikazujemo na nivoju Slovenije (23).

V prispevku predstavljamo združene rezultate spremljanja CRE-CPE/CPE v Sloveniji v obdobju 2017–2022 in anonimnega spremljanja CRE-CPE/CPE s CPE sledilnikom.

METODE

V retrospektivnem delu smo zajeli podatke, ki so bili na pobudno Sekcije za klinično mikrobiologijo in bolnišnične okužbe zbrani in predstavljeni na Baničevih dnevih 2023, v prospektivnem delu pa smo zajeli podatke iz CPE sledilnika (3). Metodologija je enaka, podatki o prvih izolatih CRE-CPE/CPE pri bolnikih so zajeti iz lokalnega laboratorijskega informacijskega sistema MBL (SRC Infonet, Naklo) vseh medicinskih mikrobioloških laboratorijev v vseh slovenskih regijah (Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo Medicinske fakultete Univerze v Ljubljani, regijski Oddelki za medicinsko mikrobiologijo NLZOH, Univerzitetna klinika za pljučne bolezni in alergijo Golnik, Splošna bolnišnica Slovenj Gradec in Splošna bolnišnica dr. Franca Derganca Nova Gorica). Podatki se zbirajo in predstavljajo ločeno za *E. coli*, *K. pneumoniae*, rodova *Enterobacter* in *Citrobacter* ter za ostale enterobakterije skupaj. Podatke smo zbrali anonimno po posameznih laboratorijih za vsako koledarsko leto posebej. Zaradi anonimnega zbiranja ni bilo mogoče izločiti morebitnih dvojnikov v primerih, ko je bil pacient v istem koledarskem letu obravnavan v več regijah ali če so pacientovi vzorci prispeli v dva različna mikrobiološka laboratorija v isti regiji, kar predstavlja eno od pomembnih omejitev anonimnega sledenja. Druga pomembna omejitev je, da zaradi anonimnega zbiranja podatkov nimamo podatka o deležu bolnikov, ki so samo kolonizirani oziroma o deležu bolnikov, ki imajo izolat CRE-CPE/CPE iz klinične kužnine; ker je prijavljen samo prvi izolat pri bolniku, sledimo lahko le celokupnemu bremenu. Tretja omejitev pa je, da bolnikov s CRE-CPE/CPE ne moremo spremljati, kar je velika omejitev pri ugotavljanju izvora izbruhov in širjenja izolatov.

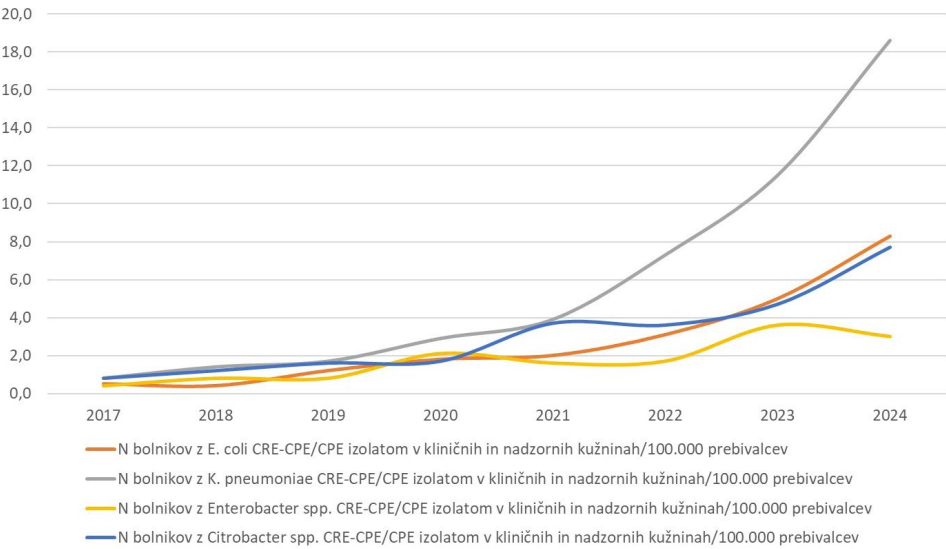
Za opredelitev bremena izolatov CRE-CPE/CPE preučevane vrste ali rodu smo podatke o številu izolatov CRE-CPE/CPE preučevane vrste ali rodu iz analiziranih skupin izrazili na 100.000 prebivalcev Republike Slovenije v tekočem letu (24).

REZULTATI

Pojavnost CRE-CPE/CPE iz kliničnih in nadzornih kužnin

Celokupno breme, ki ga predstavljajo izolati CRE-CPE/CPE v kliničnih in nadzornih kužninah, stalno narašča (Slika 1). Najvišji porast smo zabeležili pri *K. pneumoniae*, sledijo *E. coli*, rod *Citrobacter* in rod *Enterobacter*. Poleg razlik v pojavnosti med različnimi vrstami oziroma rodovi enterobakterij smo opazali tudi pomembne regionalne razlike (podatki niso prikazani).

Slika 1. Pojavnost izolatov CRE-CPE/CPE na 100.000 prebivalcev iz kliničnih in nadzornih kužnin po bakterijskih vrstah v obdobju od 2017 do 2024.



1. Pojavnost bakterije *K. pneumoniae* CRE-CPE/CPE

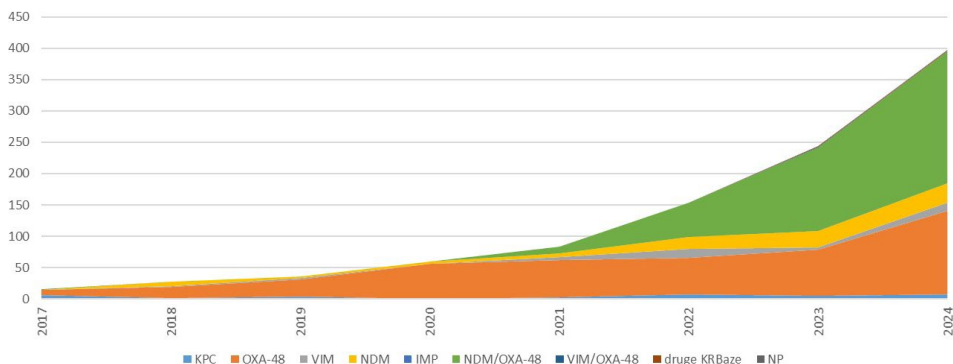
Število bolnikov z izolatoma *K. pneumoniae* CRE-CPE/CPE je poraslo od 16 v letu 2017 na 397 bolnikov v letu 2024 (Tabela 1). Pojavnost bolnikov z izolatoma *K. pneumoniae* CRE-CPE/CPE na 100.000 prebivalcev iz kliničnih in nadzornih kužnin je v obdobju od 2017 do 2024 porasla od 0,8/100.000 prebivalcev na 18,6/100.000 prebivalcev, kar predstavlja 23,3–kratni porast (Tabela 1).

Tabela 1. Število in pojavnost bolnikov z izolatoma *K. pneumoniae* CRE-CPE/CPE iz kliničnih in nadzornih kužnin po bakterijskih vrstah v obdobju od 2017 do 2022.

Bakterijska vrsta	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023	2024
N bolnikov s <i>Klebsiella pneumoniae</i> CRE-CPE/CPE izolatoma v kliničnih in nadzornih kužninah	16	28	36	60	83	154	244	397
N bolnikov s <i>K. pneumoniae</i> CRE-CPE/CPE izolatoma v kliničnih in nadzornih kužninah/100.000 prebivalcev	0,8	1,4	1,7	2,9	3,9	7,3	11,5	18,6

Struktura karbapenemaz pri *K. pneumoniae* CRE-CPE/CPE iz kliničnih in nadzornih kužnin v obdobju od 2017 do 2024 je prikazana na Sliki 2. Delež izolotov z metalobetalaktamazami oziroma izolati s kombinacijo metalobetalaktamaz in OXA-48 je porasel od 12,6 % v letu 2017 na 64,0 % v letu 2024. Leta 2024 so torej prevladovali izolati z metalobetalaktamazami v kombinaciji z OXA-48 z 52,9 %, sledili so izolati z OXA-48 s 33,8 %, izolati z metalobetalaktamazo NDM 7,8 % in metalobetalaktamazo VIM 3,3 %.

Slika 2. Število pacientov z izolati *K. pneumoniae* CRE-CPE/CPE iz kliničnih in nadzornih kužnin ter struktura karbapenemaz v obdobju od 2017 do 2024.



2. Pojavnost bakterije *E. coli* CRE-CPE/CPE

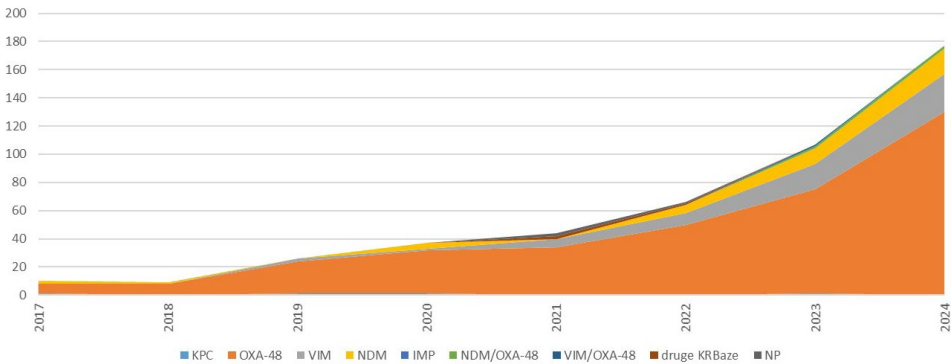
Število bolnikov z izolatoma *E. coli* CRE-CPE/CPE je poraslo od 10 leta 2017 na 177 bolnikov leta 2024 (Tabela 2). Pojavnost bolnikov z izolatoma *E. coli* CRE-CPE/CPE na 100.000 prebivalcev iz kliničnih in nadzornih kužnin je v obdobju od 2017 do 2024 porasla od 0,5/100.000 prebivalcev na 8,3/100.000 prebivalcev, kar predstavlja 16,6-kratni porast (Tabela 2).

Tabela 2. Število in pojavnost bolnikov z izolatoma *E. coli* CRE-CPE/CPE iz kliničnih in nadzornih kužnin po bakterijskih vrstah v obdobju od 2017 do 2022.

Bakterijska vrsta	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023	2024
N bolnikov z <i>Escherichia coli</i> CRE-CPE/CPE izolatoma v kliničnih in nadzornih kužninah	10	9	26	37	42	65	107	177
N bolnikov z <i>E. coli</i> CRE-CPE/CPE izolatoma v kliničnih in nadzornih kužninah/100.000 prebivalcev	0,5	0,4	1,2	1,8	2	3,1	5	8,3

Struktura karbapenemaz pri *E. coli* CRE-CPE/CPE iz kliničnih in nadzornih kužnin v obdobju od 2017 do 2024 je prikazana na Sliki 3. Delež izolotov z metalobetalaktamazami oziroma izolati s kombinacijo metalobetalaktamaz in OXA-48 kaže porast od 20,0 % leta 2017 na 26,6 % leta 2024. V letu 2024 so prevladovali izolati z OXA-48 s 73,4 %, sledili so izolati z metalobetalaktamazo VIM s 15,3 % in izolati z metalobetalaktamazo NDM 10,2 %, izolotov s kombinacijo metalobetalaktamaz in OXA-48 je bilo 1,1 %.

Slika 3. Število pacientov z izolati *E. coli* CRE-CPE/CPE iz kliničnih in nadzornih kužnin ter struktura karbapenemaz v obdobju od 2017 do 2024.



3. Pojavnost bakterij iz rodu *Citrobacter* CRE-CPE/CPE

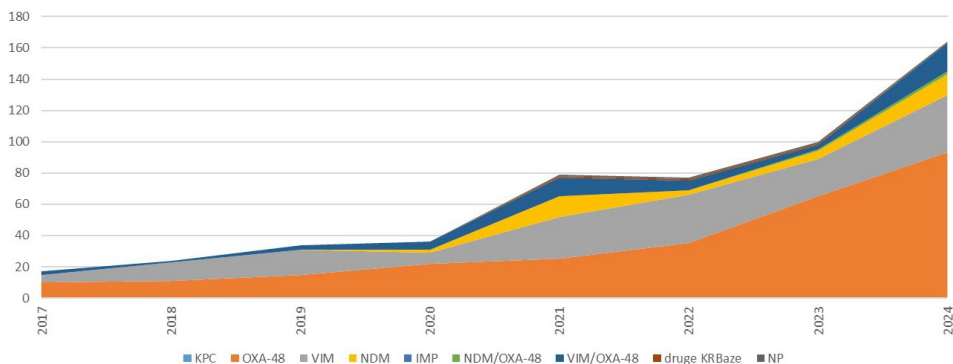
Število bolnikov z izolatom *Citrobacter* spp. CRE-CPE/CPE je poraslo od 17 leta 2017 na 164 bolnikov leta 2024 (Tabela 3). Pojavnost bolnikov z izolatom *Citrobacter* spp. CRE-CPE/CPE na 100.000 prebivalcev iz kliničnih in nadzornih kužnin je v obdobju od 2017 do 2024 porasla od 0,8/100.000 prebivalcev na 7,7/100.000 prebivalcev, kar predstavlja 9,6-kratni porast (Tabela 3).

Tabela 3. Število in pojavnost bolnikov z izolatom *Citrobacter* spp. CRE-CPE/CPE iz kliničnih in nadzornih kužnin po bakterijskih vrstah v obdobju od 2017 do 2022.

Bakterijski rod	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023	2024
N bolnikov s <i>Citrobacter</i> spp. CRE-CPE/CPE izolatoma v kliničnih in nadzornih kužninah	17	24	34	36	78	76	100	164
N bolnikov s <i>Citrobacter</i> spp. CRE-CPE/CPE izolatoma v kliničnih in nadzornih kužninah/100.000 prebivalcev	0,8	1,2	1,6	1,7	3,7	3,6	4,7	7,7

Struktura karbapenemaz pri *Citrobacter* spp. CRE-CPE/CPE iz kliničnih in nadzornih kužnin v obdobju od 2017 do 2024 je prikazana na Sliki 4. Delež izolatov z metalobetalaktamazami oziroma izolati s kombinacijo metalobetalaktamaz in OXA-48 je znašal leta 2017 41,2 %, po prehodnih porastih (največ 2021 66,7 %) je leta 2024 znašal 42,7 %. Leta 2024 so prevladovali izolati z OXA-48 s 56,7 %, sledili so izolati z metalobetalaktamazo VIM s 22,6 %, izolati s kombinacijo metalobetalaktamaz in OXA-48 12,2 % in izolati z metalobetalaktamazo NDM 7,9 %.

Slika 4. Število pacientov z izolati *Citrobacter* spp. CRE-CPE/CPE iz kliničnih in nadzornih kužnin ter struktura karbapenemaz v obdobju od 2017 do 2024.



4. Pojavnost bakterij iz rodu *Enterobacter* – CRE-CPE/CPE

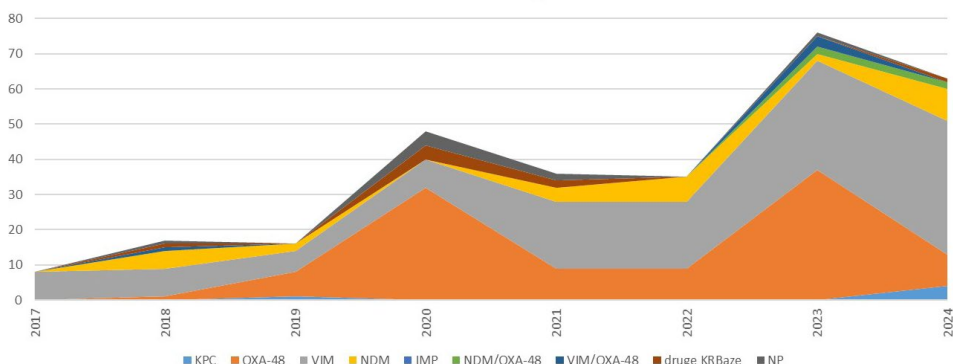
Število bolnikov z izolatom *Enterobacter* spp. CRE-CPE/CPE je poraslo od 8 leta 2017 na 76 leta 2023 in 64 bolnikov leta 2024 (Tabela 4). Pojavnost bolnikov z izolatom *Enterobacter* spp. CRE-CPE/CPE na 100.000 prebivalcev iz kliničnih in nadzornih kužnin je v obdobju od 2017 do 2024 porasla od 0,4/100.000 prebivalcev na 3/100.000 prebivalcev, kar predstavlja 7,5-kratni porast (Tabela 4).

Tabela 4. Število in pojavnost bolnikov z izolatom *Enterobacter* spp. CRE-CPE/CPE iz kliničnih in nadzornih kužnin po bakterijskih vrstah v obdobju od 2017 do 2022.

Bakterijski rod	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023	2024
N bolnikov z <i>Enterobacter</i> spp. CRE-CPE/CPE izolatoma v kliničnih in nadzornih kužninah	8	16	16	44	34	35	76	64
N bolnikov z <i>Enterobacter</i> spp. CRE-CPE/CPE izolatoma v kliničnih in nadzornih kužninah/100.000 prebivalcev	0,4	0,8	0,8	2,1	1,6	1,7	3,6	3

Struktura karbapenemaz pri *Enterobacter* spp. CRE-CPE/CPE iz kliničnih in nadzornih kužnin v obdobju od 2017 do 2024 je prikazana na Sliki 5. Leta 2024 so prevladovali izolati z metalobetalaktamazo VIM s 76,6 %, sledili so izolati z metalobetalaktamazo NDM s 14,1 % in izolati z OXA-48 s 14,1 %, izolati s KPC s 6,3 %, izolati s kombinacijo metalobetalaktamaz in OXA-48 s 3,1 % in 1,6 % izolatov z drugo karbapenemazo.

Slika 5. Število pacientov z izolati *Enterobacter* spp. CRE-CPE/CPE iz kliničnih in nadzornih kužnin ter struktura karbapenemaz v obdobju od 2017 do 2024.



RAZPRAVA

Odpornost enterobakterij proti karbapenemom je v zadnjih dveh desetletjih postala kritična, še posebej je problematično zdravljenje okužb s CRE-CPE/CPE, predvsem z izolati, ki izločajo metalobetalaktamaze, saj imamo na voljo le omejen nabor antibiotikov (6, 7). Okužbe, ki jih povzročajo CRE-CPE/CPE, vodijo v daljše hospitalizacije, višje stroške zdravstvene oskrbe in večjo smrtnost v primerjavi z okužbami, ki jih povzročajo bakterije, ki so za karbapeneme občutljive (25, 26).

V Sloveniji smo zaradi naglega slabšanja situacije na Balkanu v zadnjih letih v neugodnem položaju. Čeprav je pojavnost CRE-CPE/CPE v Sloveniji še vedno nizka v primerjavi z balkanskimi državami, pa zbrani podatki kažejo izrazito naraščanje bremena CRE-CPE/CPE s pomembnimi razlikami v pojavnosti med vrstami oziroma rodovi enterobakterij. Če smo v preteklosti pogosto opažali vnose s premestitvami bolnikov iz bolnišnic iz različnih balkanskih držav, pa je porast v zadnjih letih posledica regijskega in medregijskega širjenja v Sloveniji, zato je zelo pomembno, da dosledno upoštevamo nacionalna priporočila za preprečevanje širjenja CRE-CPE/CPE (3, 19).

Najbolj zaskrbljujoče stanje je pri *K. pneumoniae* CRE-CPE/CPE, kjer smo opažali 23,3-kratni porast pojavnosti in pri *E. coli* CRE-CPE/CPE s 16,6-kratnim porastom. Dodatno je zaskrbljujoč podatek, da v Sloveniji prevladujejo izolati z metalobetalaktamazami (52,5 % leta 2024), kar dodatno zmanjšuje nabor antibiotikov, s katerimi lahko učinkovito zdravimo okužbe.

Že ob prvi analizi, objavljeni leta 2023, je bilo vidno naraščanje števila pacientov in s tem bremena CRE-CPE/CPE od leta 2017 dalje. Porast se je izrazito povečal med pandemijo covida-19, predvsem v letih 2021 in 2022 smo opažali več izbruhov CRE-CPE/CPE v več slovenskih bolnišnicah (neobjavljeni podatki) (3). Podatki, ki jih zbiramo z anonimnim CPE sledilnikom, kažejo, da se trend večanja pojavnosti po pandemiji še vedno povečuje. Še vedno najdemo večji del bolnikov s CRE-CPE/CPE v nadzornih kužninah, vendar z anonimnim sle-

dilnikom ne moremo slediti pojavnosti v kliničnih kužninah, saj prijavljamo le prvi ugotovljen izolat pri bolniku. Anonimni CPE sledilnik ni baza bolnikov s CRE-CPE/CPE – tega trenutna slovenska zakonodaja ne omogoča – gre za anonimno sledenje primerom kolonizacij ali okužb, s katerim lahko sledimo le celokupnemu bremenu (23). Podatki analize, ki smo jih objavili na Baničevih dnevih 2023, sicer kažejo, da je med bolniki s kliničnimi izolati CRE-CPE/CPE v povprečju 7 % pacientov imelo bakteriemijo (3). Čeprav invazivne okužbe s CRE-CPE/CPE pri slovenskih bolnikih (še) ostajajo redke, nas skrbi dejstvo, da se trend večanja pojavnosti ne upočasnjuje in da se stalno povečuje rezervoar pacientov (13). Po podatkih raziskave Štrumbelj in sod. *Pojavnost večkratno odpornih bakterij v Sloveniji*, objavljene v zborniku, narašča število bolnikov CRE-CPE/CPE v kliničnih kužninah – tako smo npr. pri približno tretjini bolnikov s *K. pneumoniae* CRE-CPE/CPE bakterijo osamili (tudi) iz klinične kužnine. Kolonizacije s CRE-CPE/CPE so značilno dolgotrajne – študije kažejo, da je po treh mesecih še vedno kolonizirana polovica oseb, po enem letu četrtnina (25,4 %), del oseb pa še po 2 letih (27).

Za zamejevanje širjenja CRE-CPE/CPE so nujni celostni ukrepi, ki so bili opredeljeni v pretekli Državni strategiji »Eno zdravje« za obvladovanje odpornosti mikrobov z akcijskim načrtom. Nova strategija je sicer v nastajanju, vendar bakterije ne čakajo. Nujno je potrebna koordinacija na nacionalnem nivoju in izvajanje ukrepov še pred oblikovanjem in sprejetjem nove strategije. Izkušnje drugih držav kažejo, da se stanje lahko dramatično poslabša v nekaj letih – od nizkih deležev CRE (1–2 %) na tudi do 30 in več odstotkov – predvsem kot posledica širjenja CRE-CPE/CPE, običajno pri *K. pneumoniae* (8, 12). Z uvedbo ukrepov za obvladovanje CRE se je delež v nekaterih državah sicer stabiliziral, niso pa dosegli večjega znižanja pojavnosti. Zato je izjemno pomembno, da države ukrepajo pravočasno, saj je poslabšanje stanja praviloma nepovratno (8,13).

ZAKLJUČEK

Z velikim naraščanjem CRE (predvsem CRE-CPE/CPE) na Balkanu, ter regijskim in medregijskim širjenjem CRE-CPE/CPE v Sloveniji, smo se znašli v nezavidljivem položaju. Od leta 2017 je prišlo do dramatičnega poraščanja pojavnosti CRE-CPE/CPE v kliničnih in nadzornih kužninah, s čimer smo tudi v Sloveniji dosegli prag, s katerega se deleži in breme odpornosti lahko hitro dvignejo, podobno kot se je to zgodilo na primer v sosednjih Hrvaški in Italiji.

Za zamejevanje širjenja CRE-CPE/CPE so nujni celostni ukrepi, ki so bili opredeljeni v pretekli Državni strategiji »Eno zdravje« za obvladovanje odpornosti mikrobov z akcijskim načrtom. Ustrezna mikrobiološka diagnostika, smotrna raba antibiotikov in regionalni ukrepi bolnišnične higiene brez nacionalnega sistema za spremljanje in obvladovanje CRE-CPE/CPE v zdravstvu in zunaj zdravstvenih ustanov ne zadostujejo. Z vzpostavitvijo anonimnega sledenja CRE-CPE/CPE na nivoju mikrobioloških laboratorijev sicer sledimo trendu naraščanja CRE-CPE/CPE, nujno potrebno pa je vzpostaviti ustrezno ukrepanje na nacionalnem nivoju predvsem s podporo bolnišničnim enotam za obvladovanje okužb in obveščanje strokovne javnosti o slabšanju situacije v Sloveniji ter vzpostavitev nacionalnega centra za spremljanje odpornosti mikrobov v humani medicini. Anonimno spremljanje CRE-CPE/CPE, ki je trenutno edina možnost, ki jo imamo na voljo v Sloveniji, je zgolj prvi korak. Ključno je vzpostaviti sistem, ki bo omogočal natančno zbiranje podatkov in hkrati podprl razvoj učinkovitih ukrepov glede preprečevanja širjenja okužb in ustreznega antibiotičnega zdravljenja.

LITERATURA

1. Pirš M, Štrumbelj I, Lejko Zupanc T, Mrvič T. Dokument SKUOPZ 003. Enterobakterije, *Acinetobacter baumannii* in *Pseudomonas aeruginosa* - označevanje večkratno odpornih izolatov in okrajšave preiskav nadzornih kužnin - 2. izdaja. Ljubljana: Slovenska komisija za ugotavljanje občutljivosti za protimikrobna zdravila (SKUOPZ); 2022 [citirano 28. 4. 2024]. Dostopno na: <https://imi.si/skuopz/>.
2. Nordmann P, Dortet L, Poirel L. Carbapenem resistance in Enterobacteriaceae: here is the storm! *Trends Mol Med*. 2012;18(5):263–72.
3. Pirš M, Kramar U, Ribič H, Kavka D, Seme K, Velimirovič I. Pojavnost enterobakterij, ki izločajo karbapenemaze, v Sloveniji med letoma 2017 in 2022. V: 14. Baničevi dnevi 2023. Okužbe, povezane z zdravstvom, in večkratno odporne bakterije. Sekcija za klinično mikrobiologijo in bolnišnične okužbe. 2023. 71–86.
4. World Health Organization. Antimicrobial resistance: global report on surveillance 2014. Geneva: World Health Organization; 2014. [citirano 15. 4. 2024]. Dostopno na: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/112642>
5. Naghavi M, Vollset SE, Ikuta KS, Swetschinski LR, Gray AP, Wool EE, et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance 1990–2021: a systematic analysis with forecasts to 2050. *Lancet*. 2024;404(10459):1199–226.
6. Paul M, Carrara E, Retamar P, Tängdén T, Bitterman R, Bonomo RA, et al. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) guidelines for the treatment of infections caused by multidrug-resistant Gram-negative bacilli (endorsed by European society of intensive care medicine). *Clin Microbiol Infect*. 2022;28(4):521–47.
7. Tamma PD, Heil EL, Justo JA, Mathers AJ, Satlin MJ, Bonomo RA. Infectious Diseases Society of America 2024 Guidance on the Treatment of Antimicrobial-Resistant Gram-Negative Infections. *Clin Infect Dis*. 2024; 1–56
8. European Centre for Disease Prevention and Control. Carbapenem-resistant enterobacterales: third update. Stockholm: ECDC; 2025 [citirano 15. 4. 2024]. Dostopno na: <https://data.europa.eu/doi/10.2900/8752612>
9. Köck R, Daniels-Haardt I, Becker K, Mellmann A, Friedrich AW, Mevius D, et al. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in wildlife, food-producing, and companion animals: a systematic review. *Clin Microbiol Infect*. 2018;24(12):1241–50.
10. van Duin D, Paterson DL. Multidrug-Resistant Bacteria in the Community. *Infect Dis Clin North Am*. 2020;34(4):709–22.
11. European Centre for Disease Prevention and Control, World Health Organization. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2023 - 2021 data [Internet]. Stockholm: ECDC; 2023. [citirano 15. 4. 2024]. Dostopno na: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/antimicrobial-resistance-surveillance-europe-2023-2021-data>
12. European Centre for Disease Prevention and Control. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae - Second update. 2019; [citirano 15. 4. 2024]. Dostopno na: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/carbapenem-resistantenterobacteriaceae-risk-assessment-rev-2.pdf>.
13. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance in the EU/EEA (EARS-Net) - Annual epidemiological report for 2023. Stockholm: ECDC; 2024; [citirano 15. 4. 2024]. Dostopno na: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/antimicrobial-resistance-annual-epidemiological-report-EARS-Net-2023.pdf>
14. Brkic S, Cirkovic I. Carbapenem-Resistant Enterobacterales in the Western Balkans: Addressing Gaps in European AMR Surveillance Map. *Antibiotics*. 2024;13(9):895.
15. Nordmann P, Poirel L. Epidemiology and Diagnostics of Carbapenem Resistance in Gram-negative Bacteria. *Clin Infect Dis*. 2019;69(S7):S521–8.
16. World Health Organization. WHO - Antimicrobial Resistance Map [Internet]. [citirano 15. 4. 2024]. Dostopno na: <https://worldhealthorg.shinyapps.io/WHO-AMR-Dashboard/>

-
17. Pirs M, Andlovic A, Cerar T, Žohar-Čretnik T, Kobola L, Kolman J, et al. A case of OXA-48 carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in a patient transferred to Slovenia from Libya, November 2011. *Euro Surveill.* 2011;16(50):20042.
 18. 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 2014-2016. *J Hosp Infect.* 2019;101(2):142–9.
 19. SPOBO UKCL, IMI MF, UL, NLZOH. Preprečevanje širjenja bakterij, ki izločajo karbapenemaze v zdravstvenih ustanovah [Internet]. 2023. [citirano 15. 4. 2024]. Dostopno na: <https://www.gov.si/assets/ministrstva/MZ/DOKUMENTI/4-ZBIRKE/Delovna-telesa/UKREPI-ZA-PREPRECEVANJE-PRENOSA-BAKTERIJ-KI-IZLOCAJO-KARBAPENEMAZE.pdf>
 20. Državna strategija »Eno zdravje« za obvladovanje odpornosti mikrobov (2019–2024). 2019 [citirano 15. 4. 2024]. Dostopno na: <https://www.gov.si/assets/ministrstva/MZ/DOKUMENTI/Novice/Strategija-obvladovanje-odpornosti-mikrobov-26092019.doc>.
 21. European Commission. UREDBA (EU) 2022/2371 EVROPSKEGA PARLAMENTA IN SVETA z dne 23. novembra 2022 o resnih čezmejnih grožnjah za zdravje [Internet]. Evropski parlament; 2022 [citirano 15. 4. 2024]. Dostopno na: <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2022/2371/oj>
 22. European Commission. PRIPOROČILO SVETA o okrepitvi ukrepov EU v boju proti anti-mikrobični odpornosti v okviru pristopa „eno zdravje“ [Internet]. 2023 [citirano 15. 4. 2024]. Dostopno na: <https://data.europa.eu/doi/10.2875/636347>
 23. Slovenski anonimni CPE sledilnik [Internet]. [citirano 15. 4. 2024]. Dostopno na: <https://imi.si/cpe-sledilnik/>
 24. Statistični urad Republike Slovenije [Internet]. [citirano 15. 4. 2024]. Dostopno na: <https://www.stat.si/statweb>
 25. 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.
 26. OECD, ECDC. Antimicrobial Resistance Tackling the Burden in the European Union. 2019. [Internet]. 2023 [citirano 15. 4. 2024]. Dostopno na: https://www.oecd.org/en/publications/antimicrobial-resistance-tackling-the-burden-in-the-european-union_33cbfc1c-en.html
 27. Bar-Yoseph H, Hussein K, Braun E, Paul M. Natural history and decolonization strategies for ESBL/carbapenem-resistant Enterobacteriaceae carriage: systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother.* 2016;71(10):2729–39.

SEKVENCIJANJE BAKTERIJSKEGA GENOMA – SPREMLJANJE POVZROČITELJEV IN ANALIZA IZBRUHOV

*Sandra Janežič^{1, 2}, Tjaša Žohar Čretnik^{3, 4, 5},
Katja Strašek Smrdel⁶, Andraž Celar Šturm⁶, Tina Triglav⁶*

¹Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano,
Center za medicinsko mikrobiologijo, Oddelek za mikrobiološke raziskave, Maribor

²Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru

³Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Center za medicinsko mikrobiologijo,
Oddelek za medicinsko mikrobiologijo Celje

⁴Služba za preprečevanje in obvladovanje bolnišničnih okužb, Splošna bolnišnica Celje

⁵Fakulteta za zdravstvene vede Celje

⁶Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

IZVLEČEK

Sekvenčiranje in analiza celotnih genomskih zaporedij sta revolucionarno spremenili področje mikrobiologije, zlasti pri opredeljevanju in spremljanju povzročiteljev okužb ter preiskavah izbruhov. Analiza genomskih zaporedij ponuja visoko ločljivost, ki omogoča natančno analizo genetskih razlik med izolati, s čimer se izboljšuje prepoznavanje prenosov in izbruhov. Poleg tega omogoča natančno identifikacijo izolatov, analizo mehanizmov odpornosti in virulence ter analizo mobilnih genetskih elementov. Kljub številnim prednostim pa se pri sekvenčiranju bakterijskih genomov soočamo tudi z nekaterimi izzivi. Interpretacija podatkov zahteva napredno bioinformatično znanje ter uporabo standardiziranih protokolov in enotne nomenklature, kar trenutno še ni povsem usklajeno med laboratoriji. Poleg tega je analiza odpornosti in virulence omejena na že znane mehanizme, vključene v podatkovne baze, kar pomeni, da novi ali redki mehanizmi lahko ostanejo neodkriti. Kljub tem omejitvam tehnološki napredek in mednarodna prizadevanja omogočajo vse širšo uporabo. Prihodnost vključuje razvoj sekvenčiranja v realnem času in integracijo umetne inteligence ter strojnega učenja, kar bo izboljšalo hitrost analiz in napovedovanje lastnosti bakterijskih izolatov. V prispevku predstavljamo pristope, izzive in praktične primere uporabe sekvenčiranja in analize bakterijskih genomov pri spremljanju bakterijskih povzročiteljev okužb, vključno s spremljanjem širjenja sevov, raziskovanjem izbruhov ter analizo mehanizmov odpornosti in virulence.

Ključne besede: sekvenčiranje celotnega genoma, analiza bakterijskih genomov, prenos, izbruhi, mehanizmi odpornosti, virulentni dejavniki

ABSTRACT

Sequencing has revolutionized the field of microbiology, particularly in the characterization and surveillance of bacteria and in outbreak investigations. Genome sequence analysis provides

high resolution and enables precise analysis of genetic differences between isolates, improving the detection of transmission and outbreaks. It also enables characterization of isolates, the analysis of resistance, and virulence mechanisms and the analysis of mobile genetic elements. Despite its many advantages, bacterial genome sequencing is also associated with some challenges. Data analysis requires advanced knowledge of bioinformatics as well as the use of standardized protocols and uniform nomenclature, which is currently not fully harmonized between laboratories. In addition, the analysis of resistance and virulence is limited to already known mechanisms contained in databases, which means that new or rare mechanisms may remain undiscovered. Despite these limitations, technological advances and international efforts are enabling more widespread use. In the near future, the development of real-time sequencing and the integration of artificial intelligence and machine learning will improve the speed of analysis and the prediction of bacterial isolate characteristics. This paper presents different approaches, challenges and practical examples of the use of bacterial genome sequencing and analysis in transmission, outbreak investigation and analysis of resistance and virulence mechanisms.

Keywords: whole genome sequencing, bacterial genome analysis, transmission, outbreaks, resistance mechanisms, virulence factors

UVOD

Napredek v tehnologiji je v zadnjih dveh desetletjih znatno izboljšal dostopnost sekvenciranja celotnih genomov (angl. whole genome sequencing, WGS) (1). WGS in analiza genomskih zaporedij bakterij so tako postali temelj sodobnega javnozdravstvenega nadzora, ki nadomešča ali dopolnjuje klasične metode (2), saj nam omogoča celovit vpogled v genetsko zasnovo organizma. V nasprotju s tradicionalnimi molekularnimi tipizacijskimi metodami, ki analizirajo le majhen del genoma, nam WGS ponuja ločljivost do posameznega nukleotida na nivoju celotnega genoma. Ta natančnost omogoča odkrivanje subtilnih genetskih razlik med izolati, ki so ključne za ločevanje genetsko povezanih (klonalnih) izolatov, kar je posebej pomembno pri proučevanju prenosov in izbruhov (1, 3). Poleg tega lahko iz genomskih zaporedij pridobimo številne druge informacije, kot so prisotnost mehanizmov, ki so povezani z odpornostjo proti protimikrobnim zdravilom, prisotnost genov za dejavnike virulence, omogoča pa nam tudi natančno identifikacijo bakterijskih izolatov ter analizo mobilnih genetskih elementov, ki so pogosto vključeni v prenose mehanizmov odpornosti med različnimi predstavniki znotraj vrste in tudi med vrstami (2). Vse te ključne informacije, ki jih s klasičnimi metodami pridobimo z uporabo več različnih metod in tehnik, lahko sedaj pridobimo z enim pristopom – WGS. Sekvenčne podatke lahko tudi enostavno shranjujemo in so na voljo za izvedbo dodatnih analiz, če se pojavijo nova vprašanja, kar zagotavlja dodatno vsestranskost in dolgoročno uporabnost. Poleg tega je sekvenčne podatke mogoče enostavno deliti – tako med zainteresiranimi laboratoriji, kot tudi javno, če jih deponiramo v javne baze podatkov. S tem postanejo dostopni vsem raziskovalcem, kar je ključno za hitro zaznavanje čezmejnih prenosov in izbruhov (4). Kljub vsem prednostim, ki jih ponuja analiza genomskih sekvenc, in poenostavljenemu opisu, ki ga podajamo v tem prispevku, se v laboratoriju srečujemo z različnimi izzivi tako pri praktičnem (wet-lab) kot tudi bioinformatičnem (dry-lab) delu analize celotnega genoma bakterij.

V tem prispevku bomo predstavili pristope, izzive in praktične primere uporabe sekvenciranja in analize genomskih zaporedij pri molekularni opredelitvi bakterijskih povzročiteljev

okužb, vključno s spremljanjem širjenja posameznih sevov in raziskovanjem izbruhov, kot tudi pri določanju prisotnosti mehanizmov, povezanih z odpornostjo proti protimikrobnim zdravilom, genov, ki kodirajo dejavnike virulence in analize genomov nekultivabilnih bakterij.

SEKVENCIANJE BAKTERIJSKEGA GENOMA

Sekvenčiranje genoma pomeni določitev nukleotidnega zaporedja celotnega genoma bakterije, ki vključuje tako kromosome kot plazmide. Trenutno je najbolj poznana in razširjena tehnologija sekvenčiranja kratkih odčitkov (1). Postopek se običajno začne z osamitvijo genomske DNA iz izolata, nakar sledi fragmentacija DNA na fragmente, dolge nekaj sto baznih parov. V procesu sekvenčiranja se preberejo nukleotidna zaporedja fragmentov DNA in za posamezen izolat se tako generira milijone kratkih odčitkov. Za bioinformatiko analizo uporabimo zgolj visokokakovostne odčitke, ki jih sestavimo v soseske, te pa tvorijo sestavljen celoten genom. Zaradi narave genoma (ponavljajočih se regij v genomu) iz kratkih odčitkov običajno ne moremo sestaviti sekvence bakterijskega genoma v celoti, ampak je posamezen genom predstavljen v fragmentirani obliki, z nekaj daljšimi kontinuiranimi sekvencami, kar je običajno dovolj, da odgovorimo na večino zastavljenih vprašanj (5). V primerih, ko za analize potrebujemo popolne, zaključene genome, moramo uporabiti druge tehnologije sekvenčiranja, pri katerih lahko določamo zaporedje daljših fragmentov, ki nam omogočajo sestavo in analizo zaključenih kromosomov in tudi plazmidov (1).

PRISTOPI ZA DOLOČANJE SORODNOSTI IN RAZISKOVANJE IZBRUHOV

Po definiciji Centra za nadzor in preprečevanje bolezni (angl. Centers for Disease Control and Prevention, CDC) se za izbruh šteje pojav več primerov okužb ali kolonizacije z določenim povzročiteljem, kot je pričakovano na določenem območju v določenem časovnem obdobju (6). Ob izbruhu je ključnega pomena določiti obseg izbruha in vir okužb. To zahteva analizo izolatov posameznikov, za katere predvidevamo, da so del izbruha, v primeru suma na ne-človeški vir tudi morebitnih izolatov iz okolja, predmetov, instrumentov ali hrane.

Za določanje sorodnosti izolatov na osnovi analize in primerjave genomskih zaporedij se uporabljajo različni pristopi. Dva najpogostejša sta (a) analiza alelnega profila jedra (angl. core genome multiple locus sequence typing, cgMLST) ali celotnega genoma (angl. whole genome MLST, wgMLST), ter (b) analiza polimorfizmov posameznih nukleotidov (angl. single nucleotide polymorphism (SNP) analysis) jedra genoma (7). Sorodstvene odnose med izolati prikažemo s pomočjo filogenetskega drevesa ali minimalnega vpetega drevesa (angl. minimum spanning tree, MST), ki nam prikažeta genomske razdalje med pari izolatov. Bolj kot so si izolati sorodni, manjše so med njimi razdalje (manj nukleotidnih razlik v primeru analize SNP ali manjše število alelnih razlik, če uporabimo MLST pristop) (7).

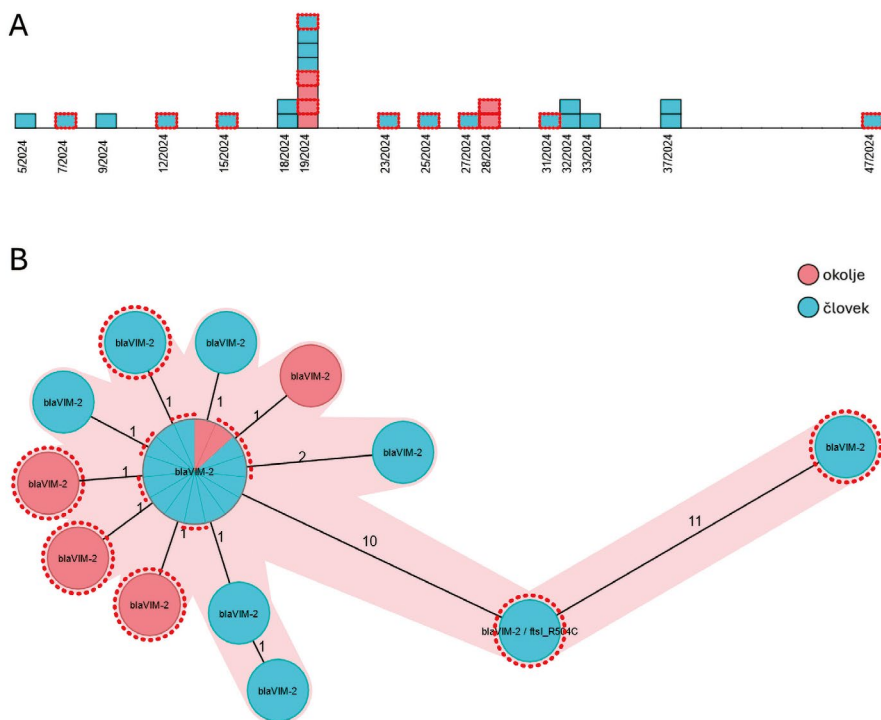
ANALIZA IZBRUHA OKUŽB Z BAKTERIJO *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* V REGIONALNI BOLNIŠNICI

V letu 2024 smo na enem od oddelkov splošne bolnišnice s pomočjo sekvenčiranja celotnih genomov podrobneje opredelili skupino izolatov, za katere zaradi več mesecev trajajočega pojavljanja nismo bili prepričani, da pripadajo istemu izbruhu. Med petim in sedeminštiride-

setim tednom smo odkrili 21 prvih izolatov bakterije *Pseudomonas aeruginosa*, odporne proti karbapenemom, ki so izločali karbapenemaze skupine VIM (CRPs-CP; angl. carbapenemase resistant *P. aeruginosa* (CRPs) – carbapenemase producing (CP)). Pri šestih bolnikih se je razvila okužba, saj so bili primoizolati pri treh bolnikih osamljeni iz urina, pri dveh iz hemo-kulture in pri enem iz mesta okužbe v podkožju. Pri petnajstih bolnikih je šlo za kolonizacijo. Dva pozitivna bolnika sta bila prepoznana ob sprejemu iz druge zdravstvene ustanove. Kot takšen je bil prepoznan ravno primer iz 47. tedna, ki je prekinil desettedensko okno brez novih primerov. Ker se je bolnica pred zdravljenjem v drugi zdravstveni ustanovi zdravila tudi na dotičnem oddelku, kjer je bila sicer ves čas negativna, se je seveda postavilo vprašanje, ali primer razumeti kot del izbruha in še naprej intenzivno iskati skrite vire. Pri preostalih 13 koloniziranih bolnikih smo nosilstvo prepoznali zaradi intenzivnega, več tednov trajajočega dodatnega vzorčenja – odvzemov nadzornih kužnin pri bolnikih, ležečih na oddelku. Skupno smo tako v 33 tednih zabeležili 19 prenosov na istem oddelku. Šest izolatov smo osamili iz vzorcev iz odtokov iz 3 različnih sob na oddelku in odtoka izpiralnice na oddelku. Pojavljanje novih primerov pri bolnikih po tednih je prikazano na Sliki 1-A. Vrh izbruha smo zabeležili v 19. tednu s štirimi primeri, vsi iz nadzornih kužnin. Razen v 18., 32. in 37. tednu, ko smo zabeležili po dva primera, so se v preostalih tednih z evidentiranimi bolniki pojavljali samo posamezni primeri. Od enega do drugega novega primera je poteklo od enega do deset tednov, v povprečju pa 3,4 tedne.

Vseh 21 humanih izolatov in vseh 6 izolatov iz okolja je pripadalo MLST sekvenčnemu tipu 111 (ST111), ki velja za enega najpomembnejših visoko rizičnih klonov *P. aeruginosa* (8). Vsi humani, tudi izolata, kjer je šlo za vnos iz druge zdravstvene ustanove, so spadali v isto klonalno skupino (Slika 1-B). Glede prisotnosti genov, ki posredujejo odpornost proti beta laktamom, se je od za ST111 tipičnega profila *bla*_{OXA-395} (odpornost proti beta laktamom), *bla*_{VIM-2} (odpornost proti karbapenemom), *bla*_{PDC-3} (odpornost proti cefalosporinom) razlikoval le izolat bolnika, pozitivnega ob sprejemu iz druge zdravstvene ustanove iz 7. tedna, in sicer je bila pri tem izolatu prisotna mutacija v genu *ftsL*_R504C, ki posreduje odpornost proti aztreonamu (8). Enako velja za vseh šest okoljskih izolatov. Zaskrbljujoče je, da je bila pri vseh izolatih prisotna mutacija v genu *pmrB* (pmrB_V151), ki kodira senzorsko kinazo PmrB dvokomponentnega senzorskega sistema PmrAB in ima za posledico različne stopnje odpornosti proti kolistinu (9). Od 21 izolatov je bilo za odpornost proti kolistinu testiranih 14 izolatov in kar štirje od petih odpornih izolatov so bili osamljeni iz kliničnih vzorcev. Izolati so tudi nosilci mutacije *parC*_S87L, kar je ena od značilnosti izolatov, ki pripadajo globalno razširjenemu kladu C2 ST111 in med katerimi so tudi sekvencirani izolati iz Slovenije iz leta 2014 (8,10).

Druga ugotovitev, ki potrebuje dodatno potrditev z metodo sekvenciranja z dolgimi očitki, je dejstvo, da smo z metodo sekvenciranja s kratkimi očitki pri 12 humanih izolatih gen za karbapenemazo VIM-2 našli na plazmidu, pri 9 izolatih pa na kromosomu (Slika 1 A in B). Zavedamo se, da je do različne opredelitve lokacije gena lahko prišlo zaradi pomanjkljivosti analize genomov, pridobljenih iz kratkih očitkov, vendar pa dejstvo, da je bila v vseh tednih z več kot enim primerom zaznana različica z genom na plazmidu, ne izključuje možnosti, da ta razlika obstaja in se kaže v različni prenosljivosti. Znano je namreč, da se gen *bla*_{VIM-2} nahaja na integronu tipa I, ki je lahko kot del transpozonov vgrajen bodisi v kromosom, bodisi v plazmid (8, 11).

Slika 1. Epidemiološka krivulja in minimalno vpeto drevo izolatov *P. aeruginosa* iz bolnikov in brisov okolja.

A) Epidemiološka krivulja prikazuje število prvih izolatov bakterije *P. aeruginosa*, ST111, odporne proti karbapenemom iz humanih vzorcev po tednih v letu 2024 med izbruhom na oddelku splošne bolnišnice.

B) Minimalno vpeto drevo, ki prikazuje gručanje 27 izolatov *P. aeruginosa*, na podlagi primerjave 3867 skupnih cgMLST genov. Analiza in drevo sta narejena s programom Ridom SeqSphere+.

Na drevesu vsak krog predstavlja enega ali skupino izolatov z identičnim cgMLST profilom (imajo identično nukleotidno zaporedje v vseh genih, vključenih v analizo). Izolati so obarvani glede na vir (rdeči – brisi površine, modri – bolniki). Številke na črtah, ki povezujejo posamezne kroge, označujejo število alelnih razlik med pari izolatov. Na primer, številka »2« na črti pomeni, da se izolata razlikujeta v 2 genih (v 2 genih imata različno nukleotidno zaporedje). Izolati z največ 12 alelnimi razlikami se uvrstijo v isto klonalno gručo, ti so na sliki obdani z barvo. Izolati, ki imajo zapis za gen *blaVIM-2* v kromosomu, so obdani z rdečo obrobo.

Z molekularno opredelitvijo izolatov smo potrdili, da je vsaj 19 od 21 izolatov pripadalo istemu izbruhu, potrdili smo identičnost okoljskih in humanih izolatov, natančno opredelili genetski rezistotip, ostaja pa dvom, ali je točkovna mutacija v genu *ftsI* dovolj za zaključek, da izolat iz 7. tedna ni del istega izbruha. Do 9. tedna v letu 2025 nismo zabeležili novih primerov in rezultate sekvenciranja tega izolata iz tega tedna še pričakujemo. Kot vedno, smo se v primeru obvladovanja izbruha posluževali svežnja ukrepov – od intenzivnega kontrolnega vzorčenja pri bolnikih, vzorčenja okolja, povečanega nadzora izvajanja vseh ukrepov kontaktne izolacije in čiščenja ter razkuževanja ter podrobnega zbiranja podatkov o posameznih primerih. Da so pomemben vir tega mikroorganizma lahko viri v okolju (odtoki, izlivke) in izbruhu trajajo tudi več let, je v zadnjem času dodatno podkrepljeno z rezultati sekvenciranja celotnih genomov tudi drugod (12).

SPREMLJANJE PROTI KARBAPENEMOM ODPORNIH BAKTERIJ

V Sloveniji analiza genomskih zaporedij ni vključena v sistematično sledenje večkratno odpornih bakterij (VOB) iz humanih vzorcev, kljub temu da je to opredeljeno v državni strategiji »Eno zdravje« za obvladovanje odpornosti mikrobov (2019–2024) (13). V sinergiji z nacionalno strategijo, v projektu »SLOSEQ – Konsolidacija in integracija sekvenciranja celotnega genoma v rutinski monitoring v Sloveniji« obravnavamo vprašanja širjenja VOB v humani medicini s pristopi sekvenciranja in analizami genomskih zaporedij (14). Prednost dajemo VOB v skladu s strateškimi okviri ECDC (15), Svetovne zdravstvene organizacije (16) in nacionalnimi potrebami. Na Nacionalnem laboratoriju za zdravje, okolje in hrano (NLZOH) smo tako vzpostavili in optimizirali delovne postopke, protokole ter analitične in vizualne platforme, ki nam bodo omogočale rutinsko izvajanje sekvenciranja in analize genomskih zaporedij za potrebe nacionalnega nadzora, ter odkrivanje in pojasnjevanje izbruhov. Januarja 2024 smo začeli s pilotnim projektom, kjer sekvenciramo vse prve izolate, ki izločajo karbapenemaze, ne glede na bakterijsko vrsto. Isolate, ki so vključeni v sekvenciranje, pridobimo iz vseh regionalnih diagnostičnih laboratorijev Centra za medicinsko mikrobiologijo, NLZOH.

Izolatom *in silico* iz genomskih sekvenc določimo oziroma potrdimo vrsto, določimo MLST ST, tip karbapenemaze in ostale mehanizme odpornosti proti betalaktamskim antibiotikom in kolistinu, ter analiziramo sorodnosti s pristopom cgMLST. Za leto 2024 smo uspešno sekvencirali in analizirali 824 izolatov, 272 izolatov *Klebsiella pneumoniae*, 113 izolatov *Escherichia coli*, 126 izolatov *P. aeruginosa*, 85 izolatov *Citrobacter freundii* complex, 78 izolatov *Acinetobacter baumannii* in 150 izolatov, ki so pripadali 33 drugim vrstam. Pregled karbapenemaz, potrjenih pri analiziranih izolatih je predstavljen v Tabeli 1.

Z analizo sorodnosti smo pokazali primarno klonalno razširjanje izolatov *K. pneumoniae*, ki pripadajo ST 147 in imajo plazmidno kodirana gena *blaOXA-48* in/ali *blaNDM-5*. Klonalno razširjanje izolatov vidimo še pri *A. baumannii*, ki pripadajo ST2 (z *blaOXA-23/blaOXA-66*), *P. aeruginosa* ST 111 (z *blaVIM-2*), ki se delijo v dve večji klonalni gruči, ter *C. freundii*, kjer se klonalno razširjajo izolati ST8 in ST22. Pri *C. freundii* je klonalno razširjanje izolatov omejeno na posamezne zdravstvene ustanove, z občasnimi prenosi med ustanovami. Po drugi strani pa so izolati *E. coli* genetsko nesorodni, občasni prenosi so pa omejeni na posamezne zdravstvene ustanove.

OPREDELITEV VIRULENTNIH DEJAVNIKOV

Pri bioinformatičnih analizah virulentnih dejavnikov se srečujemo z različnimi izzivi, ki so lahko splošni ali povezani s posamezno bakterijsko vrsto. Pri nekaterih bakterijah so virulentni dejavniki dobro opredeljeni in zastopani v bazah podatkov, medtem ko to ne velja za redke bakterije in številne oportunistične bakterije. Opazimo lahko tudi določena neujemanja med različnimi podatkovnimi bazami. V tem delu prispevka predstavljamo izzive pri analizi bakterijskih genomov na primeru treh bakterijskih vrst, in sicer *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* in *Cutibacterium spp.*

Tabela 1. Pregled karbapenemaz, potrjenih in silico pri izolatih, ki izločajo karbapenemaze, osamljenih iz nadzornih in kliničnih kužnin v laboratorijih NLZOH iz leta 2024.

Vrsta	Karbapenemaza/e	Število izolatov	Vrsta	Karbapenemaza/e	Število izolatov
<i>A. baumannii</i> (n = 78)	<i>blaOXA-23/blaOXA-66</i>	60	<i>K. pneumoniae</i> (n = 272)	<i>blaNDM-5/blaOXA-48</i>	173
	<i>blaOXA-66/blaOXA-72</i>	12		<i>blaOXA-48</i>	73
	<i>blaOXA-66</i>	2		<i>blaNDM-1</i>	12
	<i>blaOXA-23</i>	2		<i>blaVIM-1</i>	8
	<i>blaOXA-23/blaOXA-65</i>	1		<i>blaOXA-181</i>	1
	<i>blaOXA-378/blaOXA-72</i>	1		<i>blaOXA-244</i>	1
<i>C. freundii</i> complex (n = 85)	<i>blaOXA-48</i>	44		<i>blaNDM-5</i>	1
	<i>blaVIM-1</i>	16		<i>blaKPC-3</i>	1
	<i>blaOXA-48/blaVIM-1</i>	15		<i>blaKPC-2</i>	1
	<i>blaNDM-1</i>	5	Ostale vrste (n = 150 izolatov, 33 različnih vrst)	<i>blaVIM-1</i>	49
	<i>blaGES-5/blaVIM-1</i>	2		<i>blaOXA-48</i>	43
	<i>blaNDM-5/blaOXA-48</i>	1		<i>blaNDM-1</i>	24
<i>E. coli</i> (n = 113)	<i>blaOXA-48</i>	44		<i>blaOXA-48/blaVIM-1</i>	3
	<i>blaOXA-244</i>	34		<i>blaKPC-2</i>	3
	<i>blaVIM-1</i>	20		<i>blaNDM-5</i>	3
	<i>blaNDM-1</i>	7		<i>blaIMI-1</i>	2
	<i>blaNDM-5</i>	1		<i>blaVIM-2</i>	1
	<i>blaOXA-181</i>	1		<i>blaIMI-6</i>	1
<i>P. aeruginosa</i> (n = 126)	<i>blaVIM-2</i>	110			
	<i>blaVIM-1</i>	6			
	<i>blaVIM-1/blaVIM-2</i>	1			

Prikazani so samo geni, ki kodirajo karbapenemaze, ostali mehanizmi, ki so lahko odgovorni za odpornost proti karbapenemom, niso vključeni. Analiza je bila narejena s programom Ridom SeqSphere+ in vključeno bazo AMRFinderPlus.

Staphylococcus aureus

Opredelili smo 82 sevov *S. aureus*, odpornih proti metilcinu (MRSA), izoliranih iz krvi bolnikov z bakteriemijo v osrednji Sloveniji, zbranih med letoma 2019 in 2022 (17). Sekvencirali smo celoten genom in z analizo opredelili sekvenčni tip ter preverili prisotnost zapisa za toksine in virulentne dejavnike. Vsi sevi so imeli prisoten zapis za gen *mecA*, ne pa za *mecC*. S tipizacijo MLST smo določili osem sekvenčnih tipov (ST45, ST398, ST22, ST1, ST97, ST5, ST225, ST2883), najpogostejši je bil ST225, novejši pa ST2883. Noben sev ni imel genetskega zapisa za toksine Panton-Valentine levkocidin (*lukSF-PV*), eksfoliativne toksine (*eta*, *etb*, *etd*) ali toksin toksičnega šoka (*tst*). Pri vseh sevih so bili prisotni zapisi za aureolizin (*aur*), alfa (*bla*), beta (*hblb*) in gama-hemolizin A, B in C (*hlgA*, *hlgB*, *hlgC*) ter gen za znotrajcelični adhezin (*icaA*). Zapis za levkocidin (*lukD*, *lukE*) je bil prisoten pri 85,4 % sevov. Stafilokokni inhibitor komplementa (*scn*) ter stafilokinaza (*sak*) sta bila ugotovljena pri 96,3 % sevov. Virulentnih genov nismo zaznali le pri treh sevih (ST1 in ST45). Večina sevov je imela gen *cap5*, le štirje pa *cap8*. Zapis za vsaj en gen za enterotoksin (*sec*, *sed*, *seg*, *seh*, *sei*, *sej*, *sel*, *sem*, *sen*, *seo*, *sep*, *ser*,

seu) je imela večina sevov (79,3 %). V osrednji regiji Slovenije tako krožijo različne genetske linije MRSA, pomembno vlogo v širjenju igra sev ST2883 (18).

IZZIV: Kljub dobro raziskanim virulentnim dejavnikom in številnim zastopanim genomom *S. aureus* v podatkovnih zbirkah lahko sekvenciranje genoma *S. aureus* s kratkimi odčitki predstavlja izziv za analizo. Za razlikovanje posameznih sevov bakterije uporabljamo metodo tipizacije *spa*. Gre za določanje nukleotidnega zaporedja polimorfne regije X dela gena *spa*, ki kodira stafilokokni protein A in vsebuje različno število 24 bp dolgih tandemskih ponovitev zaporedij. Ponavljajoča se kratka zaporedja lahko onemogočijo pravilno sestavljanje gena, saj kratki odčitki ne pokrijejo celotne dolžine ponovljivih regij, posledica česar je nezanesljiva tipizacija seva. Tipizacija je zanesljiva, če upoštevamo dva pogoja: gen *spa* je lahko prisoten le na eni soseski, hkrati pa morata biti prisotni značilni zaporedji na 3' in 5' izven ponovljivih regij gena *spa*. Podoben izziv predstavlja določanje gena *mec*, ki kodira odpornost proti metilcinu. Nahaja se na heterogenem mobilnem genetskem elementu, ki je sestavljen iz genskih kompleksov *mec* in *ccr*, ta pa sta obdana z visoko variabilnimi genskimi regijami. Oba izziva lahko rešimo z uporabo tehnologije dolgih odčitkov, saj lahko ti pokrijejo celotne regije in olajšajo analizo.

Listeria monocytogenes

Virulenco bakterije *L. monocytogenes* določajo številni geni, od katerih so nekateri razpršeni po genomu *L. monocytogenes* ali pa združeni v listerijske otoke patogenosti, kot so LIPI-1, LIPI-3 in LIPI-4. Patogenetski otoki LIPI so pomembni za preživetje, patogenost in virulenco listerij ter lahko služijo kot markerji patogenosti (19,20). Analizirali smo 19 invazivnih sevov *L. monocytogenes* (12 iz hemokultur in 7 iz likvorjev). Sevom smo določili sekvenčni tip z MLST ter pomembnejše virulentne dejavnike. S filogenetsko analizo so se izolati razvrstili v dve genetski liniji, analiza MLST je določila sedem sekvenčnih tipov (ST570, ST26, ST451, ST155, ST224, ST6 ter ST1), med katerimi je bil ST 1 najpogostejši. Le-ta se uvršča v linijo 1, za katero je značilen LIPI3. LIPI1 smo določili pri vseh izbranih izolatih, LIPI4 pri nobenem. Med virulentnimi dejavniki smo določali tudi gene, povezane z odzivom *L. monocytogenes* na stresne razmere, ki se nahajajo na genomskih otokih SSI (angl. stress survival islets) ter gene za internaline. Genomski otok SSI-1 smo določili le pri treh ST (ST26, ST155 in ST224). Večina internalinov (A, B, C, E, F, H, J, K) je bila prisotna pri vseh sevih, izjema je internalin G, ki je bil odsoten pri ST1 in ST224 (Slika 2).

IZZIV: Pri analizi virulentnih dejavnikov vrste *L. monocytogenes* smo opazili neujemanje med podatkovnimi bazami. Gene za virulentne dejavnike naših sevov smo primerjali v treh različnih podatkovnih bazah, ki pa so nam pri nekaterih genih podale različne rezultate: v nekaterih primerih podatkovna zbirka ni vsebovala informacije o določenem genu, v nekaterih pa je orodje prepoznalo le popolne zadetke alelov. Novih alelov s spremenjenim zaporedjem orodje ni prepoznalo in je podalo lažno negativen rezultat. Dodaten izziv je predstavljalo slabo sestavljanje nekaterih genskih regij. Določeni geni so bili po sestavljanju razpolovljeni, polovici pa sta se nahajali vsaka na robu svoje soseske. Delež pokritosti je bil tako pod mejo detekcije, rezultat pa negativen. Pri genih, pri katerih smo zaznali ta odstopanja, smo ustvarili svojo zbirko iskanih sekvenc iz podatkovnih zbirk ter z mapiranjem odčitkov nanje dosegli 100 % pokritost in identičnost zaporedij z visoko globino sekvenciranja, s čimer smo lahko potrdili prisotnost alelov.

Slika 2. Primerjava prisotnosti in odsotnosti genov pri *L. monocytogenes*.

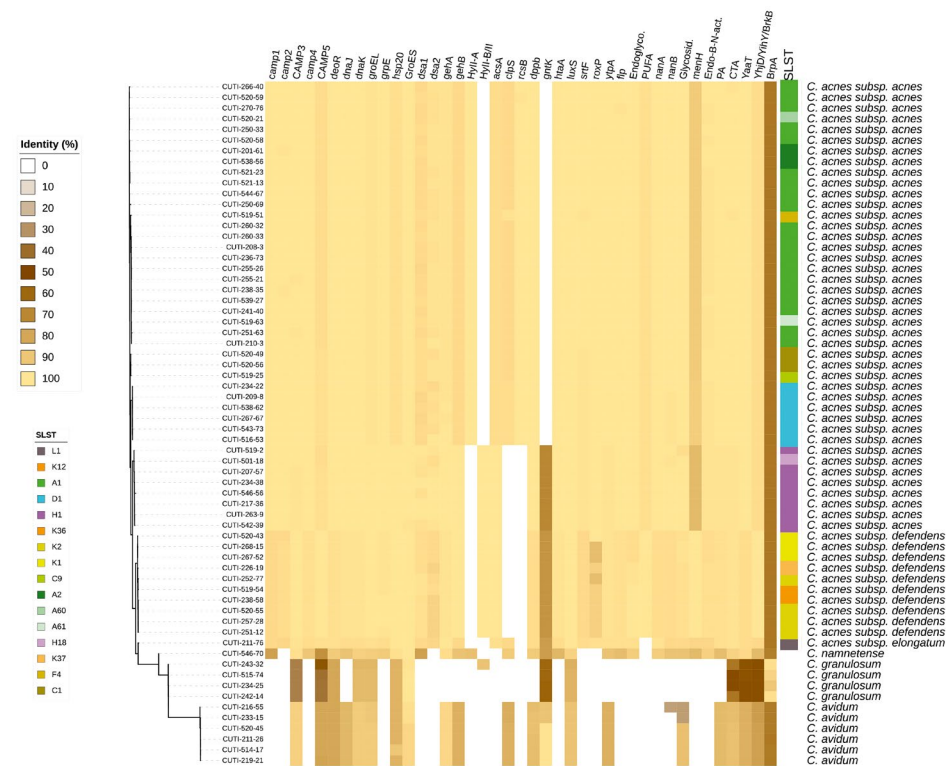
	LIP11					LIP13								LIP14											SSII	ST	Linija		
	prfA	pleA	hly	mpl	actA	pleB	ltaA	ltaB	ltaD	ltaG	ltaH	ltaP	ltaX		ltaY	intA	intB	intC	intE	intF	intG	intH	intJ	intK					
7264																												6	1
12783																												6	1
11939																												1	1
23157																												1	1
32303																												224	1
1927																												1	1
5671																												1	1
2009																												6	1
3357																												1	1
6115																												1	1
7240																												570	2
10514																												155	2
10965																												26	2
13881																												415	2
18385																												155	2
6412																												155	2
16697																												451	2
413																												451	2
2315																												26	2

Cutibacterium spp.

Opredelili smo 64 sevov *Cutibacterium* spp., izoliranih pri bolnikih s sumom na okužbo vsadkov (21), in sicer *C. acnes* (53 sevov), *C. avidum* (šest sevov), *C. granulosum* (štirje sevi) ter *C. namnetense* (en sev). Celotne genome sevov smo pregledali za prisotnost virulentnih dejavnikov, s shemo SLST (angl. single-locus sequencing typing) pa smo uspešno opredelili vse seve *C. acnes* in prepoznali izjemno raznolikost ST tipov, med drugim smo našli šest novih, prej še nikoli določenih ST. Genomska analiza virulentnih dejavnikov ni pokazala pomembnih razlik med različnimi ST, anatomskimi mesti odvzema ali povezave z okužbo. Največje razlike v porazdelitvi virulentnih dejavnikov smo našli med vrstami rodu *Cutibacterium*, podvrstami in filotipi. Povezave z anatomskim mestom odvzema ali klinično sliko nismo zaznali. Virulentni dejavniki, katerih prisotnost smo določili pri vseh sevih *Cutibacterium* spp., so dejavniki, povezani s tvorbo biofilma in dejavniki CAMP, lipaze in proteini, povezani s toplotnim stresom (angl. heat shock proteins) (Slika 3).

IZZIV: Virulentni dejavniki pri komenzalnih bakterijah, kot so npr. predstavniki rodu *Cutibacterium*, so zelo slabo raziskani in zastopani v podatkovnih zbirkah. To močno oteži analizo in raziskovanje genoma, zlasti pri sevih, ki jih najdemo kot povzročitelje okužb. Da bi zaobšli pomanjkanje podatkov o virulentnih dejavnikih rodu *Cutibacterium*, je potrebno v literaturi poiskati že raziskane virulentne dejavnike in narediti svojo podatkovno zbirko z njihovimi sekvencami. Geni se med različnimi vrstami bakterij lahko močno razlikujejo, zato smo se v naši raziskavi lotili analize ortolognih genov (to so geni iz različnih vrst, ki imajo skupnega prednika, a so bili ločeni s speciacijo): bakterijski genom smo najprej anotirali oziroma smo napovedali gen na podlagi določanja odprtih bralnih okvirjev; v naslednjem koraku smo primerjali ortologne skupine genov med seboj. Tako smo lahko določili potencialne virulentne dejavnike tudi pri vrstah, za katere le-ti še niso opisani v literaturi.

1000



ANALIZA CELOTNEGA GENOMA POSAMEZNIH BAKTERIJSKIH IZOLATOV – ZANIMIVI PRIMERI REDKIH OKUŽB

Yersinia pseudotuberculosis

Y. pseudotuberculosis primarno povzroča okužbe prebavil, pri imunsko oslabljenih osebah pa okužba lahko vodi do resne sistemske bolezni (22). Analizirali smo genom bakterije pri prvem kliničnem primeru okužbe v osrednji Sloveniji v zadnjih 20 letih. Na podlagi analize genoma se sev uvršča v serološko skupino O:1b in pripada sekvenčnemu tipu ST42 po MLST-shemi Achtman. Glede na prisotnost določenih virulenčnih dejavnikov: otok patogenosti (angl. high pathogenicity island; HPI), virulenčni plazmid *Y. pseudotuberculosis* (pYV) ter podtip mitogena YPM (angl. *Y. pseudotuberculosis*-derived mitogen) (YPMa/b/c) seve uvrščamo v genetske skupine G1 do G6. Slovenski sev ima prisotna HPI in pYV, gena *ypm* pa nismo zaznali. To naš sev uvrsti kot klinični genotip G2, najpogostejši genotip v Evropi.

IZZIV: Za nekatere bakterijske vrste obstaja več podatkovnih zbirk za določanje virulentnih dejavnikov, a uporabljajo različne metode za njihovo določanje. Pri takih bakterijskih vrstah se priporoča analiza na več načinov. Uporabimo lahko orodja (zbirke), ki sprejemajo

genomske sekvence v več različnih oblikah (v obliki fasta ali pa v obliki že prej anotiranih genov iste sekvence), pri čemer moramo biti pozorni na morebitne neskladnosti med rezultati.

Mycoplasma arginini

M. arginini je bakterija, ki primarno kolonizira respiratorni in urogenitalni trakt različnih živali, tudi hišnih ljubljencev in domačih živali (23). Je nepatogena bakterija za ljudi, pri imunsko oslabljenih osebah pa lahko povzroči resne zaplete, čeprav obstaja zelo malo opisanih primerov okužb (24). Opredelili smo genom mikoplazme, ki je povzročila okužbo pri imunsko oslabljeni osebi s hipogamaglobulinemijo.

IZZIV: Za človeka nepatogene vrste bakterij so manj raziskane in posledično je v podatkovnih zbirkah manj podatkov. Pri takih primerih tudi težje identificiramo povzročitelja do vrste, saj je dostopnih manj genomov za primerjavo. Povzročitelj, ki smo ga poskušali identificirati, je najbolj podoben bakteriji *M. arginini*, vendar podobnost ni dovolj visoka, da bi to lahko zagotovo potrdili. Objavljeni genomi *M. arginini* pripadajo različnim živalskim gostiteljem z različnih geografskih področij, ne pa človeku, kar zelo verjetno pripomore k slabši identifikaciji našega seva. S taksonomsko klasifikacijo smo ugotovili, da 80 % odčitkov pripada *M. arginini*, 20 % pa ni bilo določljivih. Povprečna identiteta nukleotidov, v primerjavi z ostalimi dostopnimi genomi *M. arginini*, je bila 94 %, kar je pod mejo, ki je splošno določena za medvrstno razlikovanje (95 %) (25). Povprečna identiteta aminokislin je bila 96,3 %, kar je sicer nad mejo (95 %), a samo iz teh podatkov zanesljiva identifikacija seva ni možna. Z uporabo spletnega strežnika TYGS (angl. Type Strain Genome Server) za natančno uvrščanje sevov v bakterijsko filogenijo smo nadalje dokazali, da je *M. arginini* najbližji sorodnik našega seva, a ne dovolj podoben, da bi se zanesljivo uvrstil v isto vrsto. Za natančno identifikacijo bi bilo potrebno izvesti še fenotipske analize, na osnovi zgolj genomskih analiz pa lahko govorimo o t.i. "genomospecies": to je skupina bakterijskih sevov, ki so genetsko dovolj različni od ostalih vrst, vendar se fenotipsko ne uvrščajo v svojo vrsto.

ANALIZA CELOTNEGA GENOMA POSAMEZNIH BAKTERIJSKIH IZOLATOV – NEKULTIVABILNE BAKTERIJE

Primer bakterije, ki je ne moremo gojiti na standardnih bakterioloških gojiščih, je *Treponema pallidum*, ki jo razvrščamo v tri podvrste, od katerih *T. pallidum* subsp. *pallidum* povzroča sifilis (26). Ker sevi niso dostopni, je težko pridobiti kakovostno čisto bakterijsko DNK za analizo celotnega genoma. Ta izziv deloma zaobidemo z metodo sekvenciranja amplikonov: z uporabo večjega števila kratkih oligonukleotidnih začetnikov, s katerimi želimo pokriti čim večji del genoma, izvedemo predhodno pomnoževanje. V lanskem letu smo se lotili raziskave, s katero skušamo epidemiološko in geografsko opredeliti slovenske seve *T. pallidum*. Analiza genoma prvih desetih sevov jih razvršča v dve filogenetski liniji; sev Nichols predstavlja približno 20 %, sev Street Strain 14 (SS-14) pa 80 %. Razmerje sevov po svetu je enako slovenskemu (27).

IZZIV: Z osamitvijo nukleinskih kislin direktno iz kužnin redko pridobimo DNK v dovolj visoki koncentraciji za kvalitetno sestavljanje genoma bakterije, zato uporabimo metodo sekvenciranja amplikonov. Glavna omejitev metode je, da določene regije niso sekvencirane. Tako se način sestavljanja celotnega genoma spremeni, saj sestavljanje "de novo" zaradi omejenih nezadovoljivo sekvenciranih regij ne uspe sestaviti celotnega genoma. Pomagamo si z

referenčno sekvenco genoma iz podatkovne zbirke, kjer z načinom referenčnega mapiranja poravnamo amplikonske odčitke na referenčni genom in tako sestavimo genom naših sevov. Na ta način se obdrži struktura genoma, točkovne nukleotidne razlike med našimi odčitki in referenčno sekvenco pa ostanejo. Vseeno moramo biti previdni pri analizi genoma, saj lahko na ta način izgubimo informacije o strukturnih variacijah in potencialnih novih genih, ki niso prisotni pri referenčnem sevu. Kakovostno sestavljanje genoma *T. pallidum* neposredno v kužninah je še vedno izziv tako v svetu kot pri nas.

IZZIVI IN OMEJITVE

Kljub številnim prednostim se pri sekvenciranju in analizah bakterijskih genomov soočamo tudi z različnimi izzivi; nekaj smo jih izpostavili v prispevku. Tehnologija WGS zahteva potrebno infrastrukturo, sekvenatorje, visokozmogljive računalniške sisteme in usposobljeno osebje. Tudi hitrost in cena še vedno predstavljata oviro za rutinsko uporabo. Poleg tega interpretacija podatkov WGS zahteva napredno bioinformatično znanje za ovrednotenje tako same kvalitete sekvenčnih podatkov kot tudi interpretacijo rezultatov (28). Omejitve predstavljajo tudi baze, ki jih uporabljamo za iskanje mehanizmov rezistence in genov za virulentne dejavnike. V genomih lahko iščemo samo znane mehanizme, ki so hkrati tudi vključeni v baze. Mehanizmov, ki v bazi niso zastopani, ne najdemo, četudi so prisotni v genomu.

Analiza genomskih zaporedij zahteva tudi uporabo standardiziranih protokolov in enotne nomenklature. Čeprav se metode, kot sta cgMLST in SNP-analiza, pogosto uporabljajo za spremljanje in raziskovanje izbruhov, lahko razlike v analitičnih pristopih med laboratoriji otežujejo izmenjavo in primerjavo podatkov. Projekti, kot so EURGenRefLabCap (29), si prizadevajo uskladiti protokole, prav tako so, sicer še večinoma samo komercialno dostopne baze, ki omogočajo uporabo enotne nomenklature za povezovanje sorodnih izolatov na globalni ravni (30).

ZAKLJUČEK

Sekvenciranje in analiza genomskih sekvenc sta uporabni orodji za opredeljevanje bakterij in preiskovanje izbruhov. Kljub obstoječim izzivom stalni tehnološki napredek in skupna prizadevanja utirajo pot širši uporabi. Prihodnost WGS na tem področju je obetavna, saj nenehne izboljšave postopoma premagujejo trenutne omejitve. Nadaljnji razvoj tehnologij sekvenciranja v realnem času bo omogočil hitrejšo analizo, medtem ko bi integracija z umetno inteligenco in strojnimi učenjem lahko izboljšala tudi napovedovanje odpornosti in virulence (31).

Delo, opisano v prispevku, je bilo delno sofinancirano iz sredstev EU v okviru projekta SLO-SEQ – Consolidation and Integration of Whole Genome Sequencing (WGS) into Routine Surveillance in Slovenia (No. 101112671).

LITERATURA

1. Quainoo S, Coolen JPM, van Hijum SAFT, et al. Whole-Genome Sequencing of Bacterial Pathogens: the Future of Nosocomial Outbreak Analysis. *Clin Microbiol Rev.* 2017 Oct;30(4):1015–63.
2. Leopold SR, Goering RV, Witten A, et al. Bacterial whole-genome sequencing revisited: portable, scalable, and standardized analysis for typing and detection of virulence and antibiotic resistance genes. *J Clin Microbiol.* 2014 Jul;52(7):2365–70.
3. Parcell BJ, Gillespie SH, Pettigrew KA, Holden MTG. Clinical perspectives in integrating whole-genome sequencing into the investigation of healthcare and public health outbreaks – hype or help? *Journal of Hospital Infection.* 2021 Mar 1;109:1–9.
4. Ludden C, Lötsch F, Alm E, et al. Cross-border spread of blaNDM-1- and blaOXA-48-positive *Klebsiella pneumoniae*: a European collaborative analysis of whole genome sequencing and epidemiological data, 2014 to 2019. *Euro Surveill.* 2020 May 21;25(20):2000627.
5. Carriço JA, Rossi M, Moran-Gilad J, et al. A primer on microbial bioinformatics for nonbioinformaticians. *Clinical Microbiology and Infection.* 2018 Apr 1;24(4):342–9.
6. CDC. Unexplained Respiratory Disease Outbreaks (URDO). 2024. Outbreak and Case Definitions. Available from: <https://www.cdc.gov/urdo/php/surveillance/outbreak-case-definitions.html>
7. Schürch AC, Arredondo-Alonso S, Willems RJL, Goering RV. Whole genome sequencing options for bacterial strain typing and epidemiologic analysis based on single nucleotide polymorphism versus gene-by-gene-based approaches. *Clin Microbiol Infect.* 2018 Apr;24(4):350–4.
8. Matsumara Y, Peirano G, Kock M, Pitout JDD. Genomic Epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* Sequence Type 111. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2025 Feb;44(2):375–81.
9. Moskowitz SM, Brannon MK, Dasgupta N, et al. PmrB mutations promote polymyxin resistance of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from colistin-treated cystic fibrosis patients. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012 Feb;56(2):1019–30.
10. Golle A, Janežic S, Rupnik M. Low overlap between carbapenem resistant *Pseudomonas aeruginosa* genotypes isolated from hospitalized patients and wastewater treatment plants. *PLoS One.* 2017;12(10):e0186736.
11. Poirel L, Naas T, Nicolas D, et al. Characterization of VIM-2, a carbapenem-hydrolyzing metallo-beta-lactamase and its plasmid- and integron-borne gene from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate in France. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000 Apr;44(4):891–7.
12. Cabal A, Hörtenhuber A, Salaheddin Y, et al. Three prolonged outbreaks of metallo- β -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* in an Upper Austrian hospital, 2017–2023. *Microbiol Spectr.* 12(10):e00740-24.
13. Portal GOV.SI [Internet]. 2019. Vlada sprejela Državno strategijo »eno zdravje« za obvladovanje odpornosti mikrobov (2019-2024) z akcijskim načrtom za obdobje 2019-2021 | GOV.SI. Available from: <https://www.gov.si/novice/nov-vlada-sprejela-drzavno-strategijo-eno-zdravje-za-obvladovanje-odpornosti-mikrobov-2019-2024-z-akcijskim-nactrom-za-obdobje-2019-2021/>
14. SLOSEQ [Internet]. NLZOH. Available from: <https://www.nlzoh.si/programi-in-projekti/sloseq/>
15. ECDC strategic framework for the integration of molecular and genomic typing into European surveillance and multi-country outbreak investigations [Internet]. 2019. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/ecdc-strategic-framework-integration-molecular-and-genomic-typing-european>
16. Prioritization of pathogens to guide discovery, research and development of new antibiotics for drug-resistant bacterial infections, including tuberculosis [Internet]. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-EMP-IAU-2017.12>

-
17. Dermota U, Šturm AC, Triglav T, et al. Whole genome sequencing and molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from patients with bacteraemia in Slovenia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2024 May;43(5):969–77.
 18. Dermota U, Šturm AC, Triglav T, et al. Whole genome sequencing and molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from patients with bacteraemia in Slovenia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2024 May;43(5):969–77.
 19. Quereda JJ, Morón-García A, Palacios-Gorba C, et al. Pathogenicity and virulence of *Listeria monocytogenes*: A trip from environmental to medical microbiology. *Virulence*. 2021 Dec 31;12(1):2509–45.
 20. Johansson J, Freitag NE. Regulation of *Listeria monocytogenes* Virulence. *Microbiol Spectr*. 2019 Jul;7(4).
 21. Erbežnik A, Celar Šturm A, Strašek Smrdel K, et al. Comparative Genomic Analysis of *Cutibacterium* spp. Isolates in Implant-Associated Infections. *Microorganisms*. 2023 Dec 12;11(12):2971.
 22. Nuorti JP, Niskanen T, Hallanvuo S, et al. A Widespread Outbreak of *Yersinia pseudotuberculosis* O:3 Infection from Iceberg Lettuce. *J INFECT DIS*. 2004 Mar;189(5):766–74.
 23. Chalker VJ. Canine mycoplasmas. *Res Vet Sci*. 2005 Aug;79(1):1–8.
 24. Yechouron A, Lefebvre J, Robson HG, et al. Fatal Septicemia Due to *Mycoplasma arginini*: A New Human Zoonosis. *Clinical Infectious Diseases*. 1992;15(3):434–8.
 25. Jain C, Rodriguez-R LM, Phillippy AM, et al. High throughput ANI analysis of 90K prokaryotic genomes reveals clear species boundaries. *Nat Commun*. 2018 Nov 30;9(1):5114.
 26. Peeling RW, Mabey D, Chen XS, Garcia PJ. Syphilis. *The Lancet*. 2023 Jul 22;402(10398):336–46.
 27. Beale MA, Marks M, Cole MJ, et al. Global phylogeny of *Treponema pallidum* lineages reveals recent expansion and spread of contemporary syphilis. *Nat Microbiol*. 2021 Dec;6(12):1549–60.
 28. Rossen JWA, Friedrich AW, Moran-Gilad J. Practical issues in implementing whole-genome-sequencing in routine diagnostic microbiology. *Clinical Microbiology and Infection*. 2018 Apr 1;24(4):355–60.
 29. Guidelines - EURGen-RefLabCap. Available from: <https://www.eurgen-reflabcap.eu/protocols-and-guidelines>
 30. cgMLST.org Nomenclature Server (h25) [Internet]. Available from: <https://cgmlst.org/ncs>
 31. Arnold A, McLellan S, Stokes JM. How AI can help us beat AMR. *npj Antimicrob Resist*. 2025 Mar 13;3(1):1–15.

UPORABNOST METAGENOMSKEGA SEKVENCIRANJA V KLINIČNI DIAGNOSTIKI

USING METAGENOMIC NEXT-GENERATION SEQUENCING IN CLINICAL DIAGNOSTICS

Rok Kogoj¹, Miša Korva¹, Tina Triglav¹, Katarina Resman Rus¹, Lidija Lepen²,
Petra Bogovič², Lučka Boltežar^{3, 4}, Janez Tomažič^{2, 4}, Mojca Matičič^{2, 4}, Miroslav Petrovec¹

¹Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska Fakulteta, Univerza v Ljubljani

²Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja, UKC Ljubljana

³Onkološki inštitut Ljubljana

⁴Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

IZVLEČEK

Z razvojem sekvenciranja naslednje generacije (angl. *Next Generation Sequencing*, NGS), ki omogoča določanje nukleotidnega zaporedja vseh nukleinskih kislin v vzorcu, se približujemo univerzalni molekularni metodi, ki omogoča sočasen dokaz bakterij, virusov, gliv in parazitov v kliničnem vzorcu, v enem koraku. Metagenomsko sekvenciranje (mNGS) si postopoma utira pot v klinično diagnostiko, vendar kljub zelo hitremu napredku v zadnjih letih zaenkrat še ni resnično enovitega protokola. Razlog je v raznolikosti bioloških materialov, tipov genoma in struktur celic patogenov, platform za sekvenciranje, bioinformatičnih orodij, cen reagentov in potrebnega časa do pridobitve rezultatov. Posamezni laboratoriji postopoma razvijajo in preizkušajo svoje protokole, pri čemer je potrebno testirati tako laboratorijski del kot tudi bioinformatični del postopka. Pri tem ni cilj le visoka občutljivost in specifičnost, temveč tudi ravnotežje med ceno in časom do pridobitve rezultata. V prispevku opisujemo prednosti in omejitve različnih protokolov mNGS, glavna bioinformatična orodja ter štiri primere uporabe mNGS v klinični diagnostiki: 1) ugotavljanje sočasnih okužb dihal pri bolnici z limfomom in okužbo s SARS-CoV-2, 2) opredelitev kandidata *Campylobacter infans* kot povzročitelja dolgotrajne driske, 3) ugotavljanje izvora okužbe in povzročitelja rombencefalitisa in 4) iskanje povzročiteljev seroznega meningitisa pri skupini bolnikov.

Ključne besede: metagenomika, mNGS, sekvenciranje naslednje generacije, bioinformatika, mikrobiološke tehnike, diagnostika

ABSTRACT

Next Generation Sequencing (NGS) is a way of sequencing all nucleic acids in a sample regardless of its origin and without a prior knowledge. With NGS it seems like we are getting closer to a method that could enable microbiological laboratories to simultaneously detect bacteria, viruses, fungi, and parasites in clinical samples with a single approach. This is known

as metagenomic sequencing (mNGS), and it has progressed significantly in recent years, but as of now, there is no single protocol that works for all situations. This is because of diversity of biological materials, different genomes and pathogen cell structure, accessible sequencing platforms and bioinformatic tools. Thus, each individual laboratory is developing and evaluating their laboratory protocols and bioinformatic pipelines. The aim is to be both very sensitive and very specific, and to balance the cost and time it takes to get and interpret the results. In this paper, we present advantages and limitations of different mNGS protocols, the main bioinformatic tools and four practical examples mNGS. These include: 1) detection of co-infections in a patient with lymphoma and SARS-CoV-2 infection, 2) demonstration of candidatus *Campylobacter infans* as the cause of an unusual diarrhoea, 3) origin of infection and demonstration of the causative agent in rhombencephalitis case and 4) identification of the aetiology of serous meningitis in a cohort of patients.

Keywords: Metagenomics, Next Generation Sequencing, Bioinformatics, Microbiological Techniques, Diagnostics

UVOD

Infekcijske bolezni predstavljajo pomembno breme za posameznika in družbo (1), zato je hiter dokaz povzročitelja okužbe ključen za ustrezno zdravljenje in obvladovanje ter preprečevanje nadaljnjega širjenja okužb (2). Kljub nenehnemu razvoju mikrobioloških tehnik še vedno ostaja vsaj 40 % črevesnih okužb in 50 % vročinskih bolezni ter celo več kot 50 % okužb osrednjega živčevja brez dokazane etiologije (3). Omejitve mikrobioloških metod so še posebej izrazite pri boleznih z nespecifičnimi kliničnimi simptomi in znaki ali pri sočasnih okužbah (1). V teh primerih je potrebno večkratno jemanje kužnin in kombinacija več različnih laboratorijskih metod, kar pomeni večjo obremenitev za bolnika in daljši čas do postavitve diagnoze (4). Posledica tega niso samo višji stroški obravnave bolnika, temveč tudi pogostejša uporaba širokospektralnih antibiotikov (2). Z razvojem sekvenciranja naslednje generacije (angl. *Next Generation Sequencing*, NGS), ki omogoča nespecifično določanje nukleotidnega zaporedja vseh nukleinskih kislin (NK) v vzorcu, se približujemo univerzalni molekularni metodi, ki bo omogočila sočasen dokaz bakterij, virusov, gliv in parazitov v istem koraku (5). Dokaz katerega koli mikroorganizma v kliničnem vzorcu z nepristransko analizo nukleotidnih zaporedij vseh NK v kužnini z NGS imenujemo metagenomsko sekvenciranje (mNGS), ki ga razdelimo na laboratorijske protokole obdelave kliničnega vzorca, bioinformacijsko analizo podatkov ter poročanje rezultatov in končno interpretacijo v kontekstu klinične situacije.

LABORATORIJSKI PROTOKOLI mNGS

Pri laboratorijskih protokolih obdelave kliničnega vzorca za mNGS ločimo dva ključna pristopa: tarčni pristop s pomnoževanjem specifičnih ohranjenih genomskih regij in popolnoma nespecifičen pristop (angl. *shotgun sequencing*).

Pri tarčnem pristopu uporabljamo oligonukleotidne začetnike, ki se vežejo na ohranjene regije genomov bakterij in gliv, kot so 16S ribosomalna ribonukleinska kislina (rRNA) (6), 18S rRNA (7) ali 16S–23S medgenska regija (angl. *internal transcribed spacer*, ITS) (8). V pomnoženem tarčnem odseku genoma določimo nukleotidno zaporedje variabilnih regij, ki so

umeščene znotraj ohranjenih regij, in ga primerjamo z različnimi genskimi bankami, s čimer opredelimo oziroma identificiramo patogene. Za tarčni dokaz virusov uporabljamo set oligonukleotidnih začetnikov, s katerimi pomnožimo celotni genom virusa v manjših amplikonih, ki jih potem sočasno sekvenciramo (9, 10). Poleg pomnoževanja celotnega genoma lahko uporabimo tudi hibridizacijske sonde (set od 50 do 2 milijona različnih, približno 30–120 baznih parov dolgih oligonukleotidov), s katerimi iz vzorca »ulovimo« zaporedja patogenov (11, 12). Prednost tarčnega mNGS je izboljšano razmerje med odčitki patogenov in ostalih nukleinskih kislin v vzorcu, s čimer zvečamo občutljivost metode, vendar ob tem omejimo nabor mikroorganizmov, ki jih lahko dokažemo (13).

V nasprotju s tarčnim mNGS lahko z nespecifičnim pristopom ugotovimo zaporedja vseh NK v vzorcu. Teoretično lahko tako najdemo katerikoli mikroorganizem v kateremkoli tipu vzorca (14, 15). V praksi pa to pomeni iskanje igle v kupu sena, saj običajno 97 %–99 % vseh odčitkov NK pripada človeku (16). Zaradi tega je občutljivost nespecifičnega mNGS odvisna od celotne količine NK v vzorcu, kar je odvisno tudi od biološkega vzorca (17). Ker lahko z naključnim pomnoževanjem pomnožimo le vse NK v vzorcu, ne pa specifično samo tistih, ki pripadajo patogenom, moramo pred pomnoževanjem čim bolj zmanjšati količino človeških NK (18–20). Kljub temu da obstaja veliko različnih encimov in reagentov, ki specifično razgradijo človeške NK, vsak postopek zmanjšanja deloma vpliva tudi na NK patogenov (3). Občutljivost nespecifičnega mNGS lahko povečamo tudi z zvečanjem globine sekvenciranja (števila surovih odčitkov na vzorec), kar pa je povezano z zvišanjem cene na vzorec. Ugotovili so, da lahko patogene mikroorganizme v kliničnem vzorcu dokažemo že pri globini 5×10^5 odčitkov/vzorec, vendar je občutljivost veliko boljša pri $10 \times$ večji globini, idealna pa med 1 in 2×10^7 odčitki/vzorec, še posebej, kadar iščemo majhno količino patogena v kužnini, kjer je prisotna tudi normalna mikrobna flora (21, 22). Priprava knjižnice (bazena vzorcev za sekvenciranje, angl. *pool*) je odvisna od sistema NGS, vendar v osnovi vključuje podobne korake. Za sisteme Illumina® priprava mNGS knjižnic vključuje postopek tagmentacije, pri katerem transpozaza hkrati fragmentira deoksiribonukleinsko kislino (DNA) in doda adapterske sekvence. Sledi pomnoževanje nastalih fragmentov z verižno reakcijo s polimerazo (angl. *Polymerase Chain Reaction*, PCR) in sočasno označevanje vzorcev z indeksi, kar po sekvenciranju omogoča prepoznavo genomskih zaporedij v posameznem vzorcu. Nato knjižnice kvantificiramo in združimo v en sam vzorec, ki ga normaliziramo in sekvenciramo. Podoben postopek je tudi pri sistemu Oxford Nanopore Technologies® (ONT), vendar brez fragmentacije, saj ta tehnologija omogoča sekvenciranje dolgih zaporedij. Ker je relativni delež NK iz posameznih vzorcev v knjižnici uravnotežen, lahko iz kapacitete aparata za NGS (oziroma izplena pretočne celice) in željenega števila surovih odčitkov na vzorec izračunamo, koliko vzorcev lahko vključimo v mNGS.

BIOINFORMACIJSKA ANALIZA mNGS

Surove podatke mNGS, odčitke posameznih fragmentov NK, je treba analizirati z bioinformacijskimi metodami. Ker so surovi odčitki mešanica zaporedij genoma bolnika in mikroorganizmov, moramo poskrbeti tudi za varno shranjevanje ogromnih količin podatkov. Zato po zaključenem sekvenciranju podatke prenesemo na varne delovne postaje ali šifrirane platforme v oblaku. Količina teh podatkov lahko že po nekaj zagonih mNGS postane zelo velika, zato se je treba odločiti o načinu, količini in času hranjenja. Zaenkrat še ni na voljo enovitega

analiznega programa, ki bi vključeval evalvirane in preverjene algoritme za uporabo v diagnostične namene, ob tem pa imel tudi uporabniku prijazen grafični vmesnik. Laboratoriji tako za analizo podatkov večinoma uporabljajo prilagojene podatkovne cevovode, ki jih sestavlja več zaporednih orodij (13).

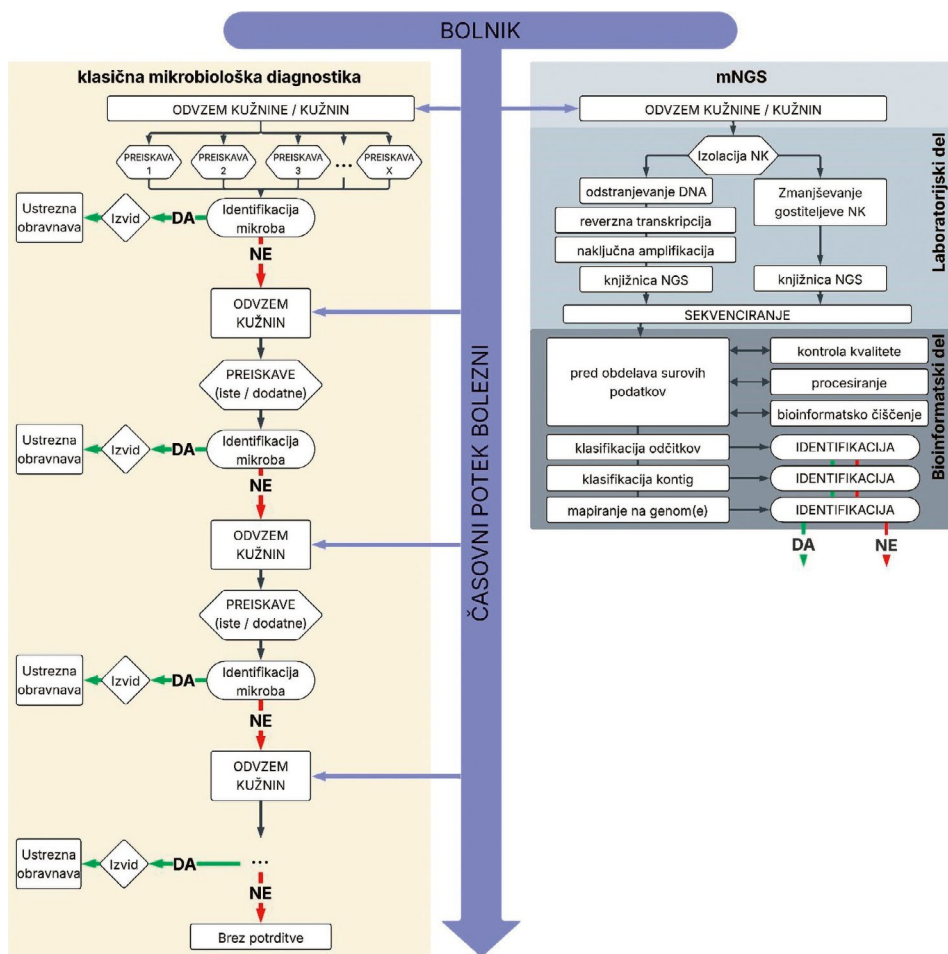
Prvi korak vsake analize je pregled kakovosti pridobljenih podatkov. Tu smo pozorni na ustrezne dolžine odčitkov in sledi sintetičnih zaporedij v odčitkih, ki lahko nastanejo med pripravo knjižnice za mNGS. Sledi čiščenje (angl. *trimming*) odčitkov, s katerim odstranimo adapterska zaporedja ($\leq 1\%$), nekakovostne dele odčitkov (Q30: $\leq 80\%$) in prekratke odčitke (< 50 baz). Ta korak poda informacijo o splošni kvaliteti podatkov in zmanjša količino surovih odčitkov (23). Za tem odstranimo zaporedja, ki nalegajo na človeški genom. Odčitke, ki ostanejo, prilegamo (klasificiramo) na znana zaporedja mikroorganizmov, dostopna v različnih podatkovnih bazah (NCBI nr, NCBI nt, SILVA idr.). Orodja, ki jih pri tem uporabljamo v odčitkih, iščejo krajša zaporedja, tako imenovane K-mere različnih dolžin, ki so značilne za znana zaporedja mikroorganizmov. Klasifikacija odčitkov ima dobro občutljivost, a slabšo specifičnost, zato moramo v naslednjem koraku iz odčitkov sestaviti daljša zaporedja, imenovana kontigi. Nato sledi ponovno prileganje kontigov na zaporedja v bazah podatkov. Takšen način je časovno daljši in zahteva večjo računalniško moč, a zagotovi večjo specifičnost dobljenih rezultatov. Težava, na katero lahko naletimo, je nastanek artefaktnih ali himernih kontig, kjer del zaporedja izhaja iz enega, del pa iz drugega organizma. V zadnjem koraku izvedemo še prileganje odčitkov na referenčne genome patogenov, ki smo jih v prejšnjih dveh korakih prepoznali kot potencialne povzročitelje okužbe. Prileganje na referenčni genom poda informacijo o celotnem številu odčitkov, ki ustrezajo posameznemu genomu, delež pokritosti genoma in povprečno globino sekvenciranja. Nenazadnje lahko rezultat prileganja tudi vizualiziramo in ocenimo njegov vzorec, torej ali so odčitki razpršeni po celotnem genomu ali se prilegajo le določenemu odseku. Enako kot laboratorijske protokole moramo tudi podatkovne cevovode validirati z ustreznimi vzorci (analiza podatkov *in silico* in preverjanje ujemanja z drugimi orodji).

PRIMERI UPORABE mNGS V KLINIČNI DIAGNOSTIKI

Primer 1: Ugotavljanje sočasnih okužb dihal pri bolnici z limfomom in dolgotrajno okužbo s SARS-CoV-2

Obravnavali smo primer 63-letne bolnice z napredovalim folikularnim limfomom in dolgotrajno okužbo s SARS-CoV-2, ki je trajala približno pol leta, kljub temu da je bolnica večkrat prejela kombinirano protivirusno zdravljenje (remdesivir, prebolevniška plazma, baricitinib, nirmatrelvir+ritonavir). Prvič je bila bolnica SARS-CoV-2 rtRT-PCR negativna po štirih mesecih (126. dan po okužbi), vendar se je že po 10 dneh vrnila v bolnišnico zaradi vročine in občasnega kašlja. Dokaz RNA SARS-CoV-2 je bil sicer negativen, vendar pa smo že pred tem, poleg okužbe s SARS-CoV-2, v vzorcih dihal s klasičnimi mikrobiološkimi preiskavami dokazali prisotnost patogenih bakterij in gliv (Tabela 1). Glede na napredovanje temeljne bolezni in dolgotrajen COVID-19, nas je zanimalo, ali in v kolikšni meri bi se rezultati mNGS ujemali z rezultati standardnih mikrobioloških preiskav in ali lahko molekularno opredelimo odpornost bakterij proti antibiotikom. Zato smo izbrali 11 vzorcev dihal (osem brisov nosno žrelnega prostora in tri vzorce izmečka), iz katerih smo osamili celotno NK, knjižnico NGS pa

Slika 1. Shematski prikaz poteka mNGS v primerjavi s klasično mikrobiološko diagnostiko pri infekcijski bolezni z zapletenim potekom.



smo pripravili s komercialnim kompletom Respiratory Pathogen ID/AMR Enrichment Panel Kit (Illumina®, ZDA). Komplet reagentov temelji na obogatitvi s hibridizacijskimi sondami in omogoča identifikacijo več kot 180 vrst bakterij, več kot 40 vrst virusov, več kot 50 vrst gliv in preko 2000 alelov genov za posredovanje odpornosti proti 26 skupinam antibiotikov. Sekvenciranje smo izvedli s tarčno globino vsaj 1×10^6 surovih odčitkov na posamezen vzorec. Za identifikacijo patogenov smo uporabili lasten bioinformatični cevovod MetaAll (24), ki smo mu dodali orodje za ugotavljanje genov za posredovanje odpornosti proti antibiotikom v podatkovni bazi AMRfinderPlus (28).

Tabela 1. Primerjava mikroorganizmov, dokazanih s klasičnimi mikrobiološkimi metodami in mNGS, ter molekularna identifikacija genov za odpornost proti antibiotikom.

Dan po okužbi	Vzorec	Klasična diagnostika	mNGS	Geni za odpornost proti antibiotikom
11	b.NF	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 rinovirusi	/
17	b.NF	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 rinovirusi <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Enterococcus faecium</i>	blaTEM-1
	izmeček	<i>K. pneumoniae</i> <i>Candida albicans</i> <i>Candida krusei</i> <i>Aspergillus fumigatus</i>	SARS-CoV-2 <i>K. pneumoniae</i> / / <i>A. fumigatus</i>	
93	b.NF	SARS-CoV-2 rinovirusi	SARS-CoV-2 rinovirusi <i>Aspergillus flavus</i>	/
95	izmeček	<i>K. pneumoniae</i> <i>C. krusei</i>	SARS-CoV-2 rinovirusi <i>K. pneumoniae</i> / <i>Streptococcus mitis</i> <i>Schaalia odontolytica</i>	erm(B), erm(X)
116	b.NF	SARS-CoV-2 (<i>K. pneumoniae</i> v urinu)	SARS-CoV-2 rinovirusi <i>K. pneumoniae</i> <i>S. mitis</i> <i>S. odontolytica</i> <i>Gemella haemolysans</i>	erm(B)
144	b.NF	SARS-CoV-2 (<i>K. pneumoniae</i> v urinu)	SARS-CoV-2 <i>K. pneumoniae</i> <i>S. mitis</i> <i>S. odontolytica</i> <i>G. haemolysans</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Neisseria meningitidis</i>	erm(B), vga(A)
147	b.NF	SARS-CoV-2 rinovirusi	SARS-CoV-2 rinovirusi <i>S. odontolytica</i> <i>N. meningitidis</i>	erm(B)
162	b.NF	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 <i>E. faecium</i>	ant(6)-Ia, erm(B), mph(C), msr(C)
169	b.NF	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 rinovirusi <i>E. faecium</i>	aph(3')-IIIa, erm(B), erm(C), mecA, msr(C), tet(M)
	izmeček	<i>E. faecium</i> <i>C. krusei</i>	SARS-CoV-2 rinovirusi <i>E. faecium</i> / 	ant(6)-Ia, msr(C)

mNGS – metagenomsko sekvenciranje naslednje generacije, b.NF – bris nosno žrelnega prostora, / – nismo našli

Z mNGS smo v posameznih vzorcih dokazali večinoma enake patogene kot s klasično diagnostiko (rinovirusi, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecium* ter *Aspergillus fumigatus*). Nasprotno pa z mNGS nismo uspeli direktno dokazati kvasovk *Candida krusei* in *Candida albicans*. V vzorcih, odvzetih 17., 95. in 169. dan po okužbi s SARS-CoV-2, smo ugotovili nekaj odčitkov, ki so nalegali na *Candida auris*, vendar bi jih glede na količino in majhno vrednost K-merov, brez dodatnih informacij opredelili kot nepomembne. Te odčitke smo verjetno zaznali zato, ker panel vsebuje hibridizacijske lovke za *C. auris* in možno je, da smo iz vzorcev ujeli le tiste odčitke, ki imajo visoko podobnost s to vrsto kandidate, v resnici pa pripadajo *C. albicans* oziroma *C. krusei*. Z mNGS smo sicer dokazali večje število mikroorganizmov, vendar je šlo pogosto za dokaz DNA bakterij normalne mikrobiote zgornjih dihal in ustne votline, ki nimajo kliničnega pomena. Pri analizi genov za odpornost mikrobov proti antibiotikom smo ugotovili, da število dokazanih genov v posameznem vzorcu narašča s časom, kljub temu da bolnica ni bila zdravljena z vsemi skupinami antibiotikov, za katere smo dokazali prisotnost genov. V vzorcih smo dokazali prisotnost genov za odpornost bakterij proti betalaktamskim antibiotikom, vključno z genom *mecA*, genov proti makrolidom, pa tudi proti aminoglikozidom in tetraciklinom. Za vse dokazane gene, povezane z odpornostjo mikrobov proti antibiotikom, je bil delež ujemanja z referenčnimi geni med 84,11 % in 100 % (Tabela 1). Čeprav smo z mNGS dokazali številne gene, ki so povezani z odpornostjo proti antibiotikom, jih trenutno ni mogoče povezati s posameznimi bakterijskimi vrstami.

Primer 2: Opredelitev *Campylobacter infans* kot povzročitelja dolgotrajne driske

Pri 45-letnem moškem z na novo dokazno selektivno IgA imunsko pomanjkljivostjo in dolgotrajno, ponavljajočo se drisko smo prejeli vzorce iztrebkov v 10., 14., 27. in 29. tednu bolezni. V vseh vzorcih smo s sočasnim rt-PCR za sindromsko diagnostiko gastroenteritisov potrdili DNA *Campylobacter* spp. in izločili vse ostale običajne povzročitelje. Ker smo z molekularnimi metodami dokazali DNA *Campylobacter* spp. z relativno nizkimi vrednostimi Ct (angl. *Cycle threshold*) med 21,3 in 32,2, kultivacija pod standardnimi in razširjenimi pogoji pa ni uspela in tudi bolnikovo stanje se ni izboljšalo po zdravljenju z azitromicinom, ki je prva izbira antibiotika za kampilobakterizo, nas je zanimalo, ali lahko z mNGS ugotovimo vrsto kampilobaktra.

Najprej smo izvedli mNGS s tehnologijo branja kratkih parnih odčitkov (Illumina®) za dokaz DNA in RNA organizmov, ločeno. Za DNA smo izvedli pripravo knjižnic brez predhodne obdelave vzorcev, za RNA pa smo po odstranjevanju DNA signal še dodatno okrepili s pomnoževanjem z naključnimi začetnimi oligonukleotidi (25). Patogenih virusov v vzorcih nismo ugotovili. V vseh štirih vzorcih smo identificirali več vrst rodu *Campylobacter*. Najvišji relativni delež odčitkov, kot tudi *de novo* sestavljenih kontig, je pripadal bakteriji *Candidatus C. infans*. Ker smo poleg tega ugotovili tudi ujemanje z drugimi vrstami *Campylobacter* (tudi *C. coli* in *C. jejuni*), smo preverili neposredno prileganje odčitkov na referenčne genome in ugotovili, da je najvišja pokritost genoma pri *Candidatus C. infans*, in sicer 44,6 %. Pri ostalih vrstah je bila pokritost genoma med 2,6 % in 6,1 %, vendar z visokim številom odčitkov (16.697–38.937), zato smo analizo nadgradili še z mNGS z dolgimi odčitki (ONT) in analizo bakterijske združbe v iztrebkih s 16S rRNA obogatitvijo (metabarkodiranje).

Tudi obe dodatni metodi sta potrdili bakterijo *Candidatus C. infans* v vzorcih. Zato smo prilagodili pogoje kultivacije in iz prvega vzorca uspešno pridobili izolat *Campylobacter* spp., ki

pa ga nismo mogli identificirati z MALDI-TOF MS, vzorec odpornosti proti antibiotikom pa je nakazoval na mešano kulturo. Zaradi tega smo se odločili za identifikacijo kulture z NGS. Z velikim številom odčitkov in visokim odstotkom pokritosti smo dokazali dve vrsti: *Candidatus C. infans* in *C. ureolyticus*. Da bi ugotovili, katera od bakterij je verjetnejša povzročiteljica dolgotrajne driske, smo pri obeh analizirali prisotnost virulentnih dejavnikov. V genomu *Candidatus C. infans* smo ugotovili 23 genov za virulentne dejavnike, v genomu *C. ureolyticus* pa le enega. Vsi rezultati skupaj kažejo, da smo z mNGS uspešno dokazali *Candidatus C. infans* in ga v tem specifičnem primeru opredelili kot najverjetnejšega povzročitelja driske že neposredno iz kliničnega vzorca. Z dodatno analizo pa smo dokazali tudi prisotnost *C. ureolyticus*, ki bi ga izključno z mNGS sicer spregledali.

Primer 3: Ugotavljanje izvora okužbe in povzročitelja rombencefalitisa

V tem primeru je bil mNGS ključen za dokaz bakterije *Listeria monocytogenes* kot povzročiteljice življenje ogrožajočega rombencefalitisa (26). Predhodno zdrav 32 letni moški je bil hospitaliziran zaradi hudega glavobola, motnje vida in govora. Ob pregledu v urgentni ambulanti Nevrološke klinike Univerzitetnega kliničnega centra v Ljubljani (UKCL) se je njegovo stanje vidno slabšalo, zato so uvedli izkustveno zdravljenje z aciklovirrom, ampicilinom in cefotaksimom ter ga premestili v enoto intenzivne terapije na Kliniko za infekcijske bolezni in vročinska stanja UKCL. Obsežna mikrobiološka diagnostika za dokaz povzročitelja v možganski tekočini ni bila povedna, saj so bili vsi rezultati negativni, vključno s preiskavo na patogene bakterije s širokospektralnim bakterijskim PCR, ter molekularnimi preiskavami na prisotnost virusa klopnega meningoencefalitisa (KME), virusov herpesa simpleksa tipov 1 in 2 (HSV-1 in HSV-2), virusa varičele-zostra (VZV), virusa citomegalije (CMV), humanega herpesvirusa tipa 6 (HHV-6), enterovirusov, parehovirusov, virusa Toscana, virusa zahodnega Nila, lymsko boreliozo in *L. monocytogenes*. Nadalje smo izključili še nevrosifilis in tuberkulozo ter prisotnost respiratornih virusov, virusov hepatitisa B, C, E (HBV, HCV, HEV), HIV in *Tropheryma whipplei* ter *Toxoplasma gondii*. Negativni so bili tudi testi za dokaz protiteles proti površinskim nevronskim proteinom in antigangliozidna protitelesa. Zaradi poteka bolezni in anamneze, da je bolnik 20 dni pred začetkom bolezni užival doma pridelan, nepasteriziran sir, je bila *L. monocytogenes* še vedno najverjetnejša povzročiteljica bolezni. Ker z ustaljenimi diagnostičnimi metodami, kljub več zaporednim odvzemom vzorcev, patogena nismo uspeli dokazati, smo se odločili za mNGS iz možganske tekočine, seruma in seča ter vzorca shranjenega sira. Vse vzorce smo sekvencirali z metodo kratkih parnih odčitkov (Illumina®) in po analizi z MetaAll dokazali 8.056 odčitkov in 6.003 edinstvenih k-merov, ki so ustrezali *L. monocytogenes*. S klasifikacijo kontig in s prileganjem na referenčni genom *L. monocytogenes* smo potrdili razpršenost odčitkov po celotnem genomu ter dobili 11,8 % (sir) in 18,9 % (klinični vzorci) pokritost genoma. Pri referenčnem genomu velikosti 2.944.528 nukleotidov (NC_003210) to pomeni 347.454 nukleotidov pri vzorcih sira in 556.516 nukleotidov pri kliničnih vzorcih, kar je za metagenomski dokaz bakterij direktno iz kužnine ob upoštevanju ostalih metrik identifikacije dober rezultat. Neposredne primerjave zaporedij med kliničnim vzorcem in sirom nismo uspeli izvesti zaradi pokritosti različnih regij v genomu. V obeh primerih smo sicer dokazali prisotnost gena za listeriolizin (*hlyA*), ki je tarčni gen za molekularno dokazovanje *L. monocytogenes*, vendar z le delno pokritostjo (12,33–22,3 %), kar razloži negativne rezultate specifičnega PCR v realnem času z dvema različnima testoma. Ta primer poudarja prednost

mNGS pred specifičnim PCR pri diagnosticiranju okužb osrednjega živčevja, kadar so rezultati običajno uporabljenih metod negativni, saj omogoča sočasen dokaz različnih delov genoma in tako omogoči dokaz organizma tudi, če je specifični del genoma, katerega dokazujejo na eno tarčno omejene molekularne metode, poškodovan, spremenjen ali odsoten.

Primer 4: Iskanje povzročiteljev seroznega meningitisa pri skupini bolnikov

V retrospektivno analizo smo vključili 130 bolnikov s seroznim meningitisom po vbodu klopa, pri katerih je bila predhodno izključena okužba z virusom klopnega meningoencefalitisa in bakterijami lymske boreliozе. Pri vseh bolnikih smo uporabili sočasno odvzet vzorec krvi in možganske tekočine. Iz obeh vzorcev smo osamili NK, nato pa jih obdelali po različnih postopkih, pomnožili signal in združili v enotno knjižnico NGS. Na tak način lahko učinkovito zaznamo patogene z DNA in RNA, ne da bi pri tem morali vsak vzorec sekvencirati dvakrat. V primeru dokazanega potencialnega patogena je zaradi kombinirane knjižnice potrebno mesto dokaza (kri / možganska tekočina) preveriti s specifičnim testom iz izhodnih NK ločeno. Kombinirane knjižnice NGS smo sekvencirali z globino 1×10^7 surovih odčitkov na vzorec, s čimer smo zagotovili ustrezno občutljivost mNGS. Po izključitvi virusnih zadetkov, ki so ustrezali bakteriofagom in različnim endogenim virusom, smo pri 17/130 (13,1 %) bolnikih dokazali patogene viruse, kot so enterovirusi A in B, VZV in parvovirus B19. Pri dveh bolnikih smo zaznali odčitke, ki pripadajo pegivirusu (HPgV-1) ter virusu torque-teno midi, ki glede na predhodne raziskave veljata za nepatogena virusa (27, 28). Čeprav smo se z optimizacijo protokola mNGS osredotočali predvsem na ugotavljanje različnih nevropatogenih virusov, smo v vsakem analiziranem vzorcu zaznali odčitke, ki ustrezajo različnim bakterijam. Za serozni bakterijski meningitis pomembnih bakterij, kot so npr. *Borrelia* sp., *L. monocytogenes*, *Treponema pallidum*, mikobakterije, mikoplazme in nekatere bakterije zoonotskega izvora, v testiranih vzorcih nismo zaznali. Ostali bakterijski odčitki so večinoma predstavljali bakterije normalne mikrobiote ali okoljske bakterije, zato je pri interpretaciji teh rezultatov potrebna previdnost in dobra komunikacija med osebjem laboratorija in klinike.

ZAKLJUČEK

Teoretično mNGS predstavlja univerzalno diagnostično metodo, saj sodobni sekvenciratorji z visoko kapaciteto omogočajo analizo velike količine zaporedij NK z majhno stopnjo napak, pri čemer vsaj v teoriji ne bi bilo več potrebno tarčno testiranje na posamezne patogene. Praktično pa kljub vsemu naletimo še na veliko ovir, tako pri optimizaciji laboratorijskih protokolov, kot pri lovljenju ravnotežja med ceno preiskave in globino sekvenciranja ter še pogosteje pri razumevanju in interpretaciji dobljenih rezultatov. Dodatno nas pri mNGS pogosto ovirajo tudi nepopolne baze podatkov, ki se hitro polnijo z zaporedji NK različnih mikroorganizmov iz različnih koncev sveta, vendar so velikokrat slabo vzdrževane za neposredno interpretacijo dobljenih rezultatov, opazamo pa tudi določena neujemanja med različnimi podatkovnimi bazami. Kljub temu mNGS vse bolj prodira tudi v klinično diagnostiko, saj veliko laboratorijev razvija lastne protokole, ki so posebej prilagojeni za določeno kužnino (kri, bronhoalveolarni izpirek, možgansko tekočino, prekatno vodico) in že omogočajo dokaz zelo širokega spektra potencialnih patogenih mikroorganizmov s primerljivo ali celo boljšo občutljivostjo kot PCR. Če pri tem upoštevamo še število potrebnih posameznih ustaljenih testov za dokaz vseh

možnih mikrobnih povzročiteljev v vzorcu, lahko predstavlja mNGS pri infekcijski bolezni z zapletenim potekom celo cenejši in hitrejši pristop. Vseeno je za interpretacijo rezultatov še vedno nujno potreben multidisciplinaren pristop, ki vključuje bioinformatike, mikrobiologe ter specialiste klinične mikrobiologije in infektologije, ki iz dobljenih zaporedij in parametrov identifikacije izluščijo smiselni izvid.

FINANCIRANJE

Izvedba mNGS pri posameznih kliničnih primerih je bila sofinancirana tudi z raziskovalnimi sredstvi Agencije za raziskovanje in inovacijo Republike Slovenije (P3-0083, J3-2515 in J3-50101) in Evropske agencije HADEA (pogodba št. 101112671).

LITERATURA

1. Jamiu, A., Chaguz, C. Metagenomics to improve infectious disease diagnostics in low- and middle-income countries. *Nat Microbiol.* 2024; 9: 1150–1.
2. Liu Y, Ma Y. Clinical applications of metagenomics next-generation sequencing in infectious diseases. *J Zhejiang Univ Sci B.* 2024; 25: 471–4.
3. Han D, Li Z, Li R, Tan P, Zhang R, Li J. mNGS in clinical microbiology laboratories: on the road to maturity. *Crit Rev Microbiol.* 2019; 45: 668–85.
4. Simner PJ, Miller HB, Breitwieser FP, Pinilla Monsalve G, Pardo CA, Salzberg SL, Sears CL, Thomas DL, Eberhart CG, Carroll KC. Development and Optimization of Metagenomic Next-Generation Sequencing Methods for Cerebrospinal Fluid Diagnostics. *J Clin Microbiol.* 2018; 56: e00472-18.
5. Voelkerding KV, Dames SA, Durtschi JD. Next-generation sequencing: from basic research to diagnostics. *Clin Chem.* 2009; 55: 641-58.
6. Fukuda K, Ogawa M, Taniguchi H, Saito M. Molecular Approaches to Studying Microbial Communities: Targeting the 16S Ribosomal RNA Gene. *J UOEH.* 2016; 38: 223-32.
7. Prousková V, Dolinová I, Štillerová K, Klinger T, Jirásek T. 16S, 18S gene, and ITS region Sequencing: Expanded Applications in Pathology Diagnostics and Research. *Cesk Patol.* 2025;60(4):176-80.
8. Ferro M, Antonio EA, Souza W, Bacci M Jr. ITScan: a web-based analysis tool for Internal Transcribed Spacer (ITS) sequences. *BMC Res Notes.* 2014; 27: 857.
9. Quick J, Grubaugh ND, Pullan ST, Claro IM, Smith AD, Gangavarapu K, et al. Multiplex PCR method for MinION and Illumina sequencing of Zika and other virus genomes directly from clinical samples. *Nat Protoc.* 2017; 12:1261-76.
10. Zakotnik S, Knap N, Bogovič P, Zorec TM, Poljak M, Strle F, et.al. Complete Genome Sequencing of Tick-Borne Encephalitis Virus Directly from Clinical Samples: Comparison of Shotgun Metagenomic and Targeted Amplicon-Based Sequencing. *Viruses.* 2022; 14: 1267.
11. García-García G, Baux D, Faugère V, Moclyn M, Koenig M, Claustres M, et al. Assessment of the latest NGS enrichment capture methods in clinical context. *Sci Rep.* 2016; 6: 20948.
12. Metsky HC, Siddle KJ, Gladden-Young A, Qu J, Yang DK, Brehio P, et al. Capturing sequence diversity in metagenomes with comprehensive and scalable probe design. *Nat Biotechnol.* 2019; 37: 160-8.
13. Chiu CY, Miller SA. Clinical metagenomics. *Nat Rev Genet.* 2019; 20: 341-355.

14. Quince C, Walker AW, Simpson JT, Loman NJ, Segata N. Shotgun metagenomics, from sampling to analysis. *Nat Biotechnol.* 2017;35(9):833-844. doi: 10.1038/nbt.3935. Erratum in: *Nat Biotechnol.* 2017; 35:1211.
15. Naccache SN, Federman S, Veeraraghavan N, Zaharia M, Lee D, Samayoa E, Bouquet J, et al. A cloud-compatible bioinformatics pipeline for ultrarapid pathogen identification from next-generation sequencing of clinical samples. *Genome Res.* 2014; 24: 1180-1192.
16. Wilson MR, O'Donovan BD, Gelfand JM, Sample HA, Chow FC, Betjemann JP, et al. Chronic Meningitis Investigated via Metagenomic Next-Generation Sequencing. *JAMA Neurol.* 2018;75(8):947-55. Erratum in: *JAMA Neurol.* 2018; 75: 1028.
17. Schlager R, Chiu CY, Miller S, Procop GW, Weinstock G; Professional Practice Committee and Committee on Laboratory Practices of the American Society for Microbiology; Microbiology Resource Committee of the College of American Pathologists. Validation of Metagenomic Next-Generation Sequencing Tests for Universal Pathogen Detection. *Arch Pathol Lab Med.* 2017; 141: 776-86.
18. Marotz CA, Sanders JG, Zuniga C, Zaramela LS, Knight R, Zengler K. Improving saliva shotgun metagenomics by chemical host DNA depletion. *Microbiome.* 2018; 6: 42.
19. Nelson MT, Pope CE, Marsh RL, Wolter DJ, Weiss EJ, Hager KR, et al. Human and Extracellular DNA Depletion for Metagenomic Analysis of Complex Clinical Infection Samples Yields Optimized Viable Microbiome Profiles. *Cell Rep.* 2019; 26: 2227-2240.e5.
20. Hasan MR, Rawat A, Tang P, Jithesh PV, Thomas E, Tan R, et al. Depletion of Human DNA in Spiked Clinical Specimens for Improvement of Sensitivity of Pathogen Detection by Next-Generation Sequencing. *J Clin Microbiol.* 2016; 54: 919-27.
21. Liu J, Wang X, Xie H, Zhong Q, Xia Y. Analysis and evaluation of different sequencing depths from 5 to 20 million reads in shotgun metagenomic sequencing, with optimal minimum depth being recommended. *Genome.* 2022; 65: 491-504.
22. Liu D, Zhou H, Xu T, Yang Q, Mo X, Shi D, et al. Multicenter assessment of shotgun metagenomics for pathogen detection. *EBioMedicine.* 2021; 74: 103649.
23. Del Fabbro C, Scalabrin S, Morgante M, Giorgi FM. An extensive evaluation of read trimming effects on Illumina NGS data analysis. *PLoS One.* 2013; 8: e85024.
24. Bosilj M, Suljić A, Zakotnik S, Slunečko J, Kogoj R, Korva M. MetaAll: integrative bioinformatics workflow for analysing clinical metagenomic data. *Brief Bioinform.* 2024; 25: bbae597.
25. Djikeng A, Halpin R, Kuzmickas R, Depasse J, Feldblyum J, Sengamalay N, et al. Viral genome sequencing by random priming methods. *BMC Genomics.* 2008; 9: 5.
26. Resman Rus K, Bosilj M, Triglav T, Jereb M, Zalaznik M, Klešnik M, et al. Metagenomic Sequencing for Diagnosing Listeria-Induced Rhombencephalitis in Patient and Contaminated Cheese Samples: A Case Report. *Int. J. Mol. Sci.* 2025; 26: 655.
27. Chivero ET, Stapleton JT. Tropism of human pegivirus (formerly known as GB virus C/hepatitis G virus) and host immunomodulation: insights into a highly successful viral infection. *J Gen Virol.* 2015; 96: 1521-32.
28. Brani P, Manzoor HZ, Spezia PG, Vigezzi A, Ietto G, Dalla Gasperina D, et al. Torque Teno Virus: Lights and Shades. *Viruses.* 2025; 17: 334.

ZNAČILNOSTI ČREVESNE MIKROBIOTE PRI RAZLIČNIH BAKTERIJSKIH IN VIRUSNIH OKUŽBAH

CHARACTERISTICS OF THE GUT MICROBIOTA IN VARIOUS BACTERIAL AND VIRAL INFECTIONS

Aleksander Mahnič^{1,2}, Kaja Tominc¹, Maja Rupnik^{1,2}

*¹Oddelek za mikrobiološke raziskave, Nacionalni laboratorij za zdravje,
okolje in hrano (NLZOH), Maribor*

²Katedra za mikrobiologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru

POVZETEK

Vse več raziskav poudarja ključno vlogo črevesne mikrobiote pri razvoju, poteku, kot tudi možnostih zdravljenja in preprečevanja okužb prebavil. Disbioza, stanje porušene mikrobiote in s tem homeostaze črevesa, zmanjšuje kolonizacijsko odpornost in povečuje dovzetnost za okužbe. Članek ponuja pregled mehanizmov kolonizacijske odpornosti, vključno s produkcijo kratko-verižnih maščobnih kislin, presnovo žolčnih soli, tekmovanjem za hranila in modulacijo imunskega odziva ter sluznične pregrade. Izpostavljena je tudi vloga mikrobnih interakcij in vpliv antibiotikov na dolgoročno sestavo mikrobiote ter širjenje genov za odpornost. Razumevanje teh mehanizmov ponuja nove možnosti za razvoj načinov zdravljenja ali podpornega zdravljenja, usmerjenih v ohranjanje in obnovo zdrave črevesne mikrobiote.

Ključne besede: gastrointestinalne okužbe, črevesna mikrobiota, disbioza, kolonizacijska odpornost

ABSTRACT

An increasing number of studies emphasize the crucial role of the gut microbiota in the development, progression, as well as in the treatment and prevention options of gastrointestinal infections. Dysbiosis, a state of disrupted microbiota and thus intestinal homeostasis, reduces colonization resistance and increases susceptibility to infections. This review thoroughly discusses the mechanisms of colonization resistance, including the production of short-chain fatty acids, bile acid metabolism, competition for nutrients, and modulation of the immune response and mucosal barrier. It also highlights the role of microbial interactions and the impact of antibiotics on the long-term composition of the microbiota and the spread of resistance genes. Understanding these mechanisms offers new opportunities for developing treatment or supportive therapy strategies aimed at maintaining and restoring a healthy gut microbiota.

Keywords: Gastrointestinal infections, gut microbiota, dysbiosis, colonization resistance

UVOD

Okužbe prebavil pri ljudeh povzročajo različni patogeni mikroorganizmi, najpogostejše bakterije in virusi, redkeje tudi praživali in glive. Večina okužb se razreši spontano v nekaj dneh brez potrebe po medicinski intervenciji. V določenih primerih, zlasti pri ogroženih posameznikih, okužbe privedejo do resnejših bolezenskih oblik, ki zahtevajo zdravljenje ali celo hospitalizacijo, v najhujših primerih so lahko tudi smrtne. Pri blagih oblikah, kot je driska, okužbo obvladujemo s peroralno hidracijo, pri hujših bakterijskih oblikah pa je potrebno zdravljenje z antibiotiki. Pri zdravljenju črevesnih okužb trenutno še v veliki meri zanemarjamo vpliv črevesne mikrobiote, razen občasno z uporabo probiotikov in fekalne transplantacije pri okužbah z bakterijo *Clostridioides difficile*.

Črevesna mikrobiota je kompleksna združba bakterij, virusov, gliv, arhej in praživali, ki vzdolž prebavil opravlja številne funkcije, ključne za pravilno delovanje našega organizma. V kontekstu črevesnih okužb sta posebej pomembni modulacija imunskega odziva ter zagotavljanje kolonizacijske odpornosti proti patogenom. Razumevanje mikrobnih interakcij in terapevtska modulacija črevesnega ekosistema bosta vodila v bolj celostno obravnavo črevesnih okužb in personalizirane terapevtske pristope ter sta ključna za učinkovito obvladovanje okužb v obdobju naraščajoče odpornosti proti antibiotikom.

Delno ali popolno izgubo funkcionalnosti črevesne mikrobiote imenujemo disbioza. Disbioza povečuje dovzetnost gostitelja za okužbe zaradi a) vzpostavitve ugodnih pogojev za razrast v črevesu prisotnih patobiontov in b) zmanjšane kolonizacijske odpornosti proti patogenom, katerim smo izpostavljeni v interakciji z okoljem. Ključni dejavniki, ki vodijo v neravnovesje črevesne mikrobiote, so visoka starost, napačna prehrana in uporaba ksenobiotikov (najpogostejše antibiotiki ali inhibitorji protonskih črpalk), kar zmanjšuje raznolikost koristnih mikroorganizmov in omogoča razrast oportunističnih patogenov ali mikroorganizmov, ki ne morejo učinkovito opravljati funkcij zdrave črevesne mikrobiote (1–3).

Komenzali vzdržujejo kolonizacijsko odpornost z različnimi neposrednimi in posrednimi mehanizmi, ki zavirajo rast oziroma virulenco patogenov. Prvi vključujejo tekmovanje za hranila in mikronutriente, zasedanje ekoloških niš ter neposredno zaviranje rasti patogenov (npr. z izločanjem bakteriocinov). Preko posrednih mehanizmov mikroorganizmi ohranjajo ustrezno okolje v črevesu, kot na primer nizek pH, odsotnost kisika, integriteto črevesne pregrade ter pravilni imunski odziv.

Disbiozo povezujemo s specifičnimi spremembami v sestavi mikrobiote, najpogostejše upadom celostne raznovrstnosti, predvsem predstavnikov iz debel *Bacillota* (prej *Firmicutes*) ter *Bacteroidota* (prej *Bacteroidetes*), in hkraten razrast fakultativnih anaerobov, predvsem enterobakterij ter entorokokov (4). Ker je za pravilno delovanje mikrobiote ključno sodelovanje med mikroorganizmi, pogosto opazimo kaskadni učinek porušjenja, pri čemer je stopnja ali tip porušjenja povezan z značilnimi vzorci v mikrobioti ter s stopnjo vnetja (5).

Spremembe v interakcijah med bakterijami ter glivno-bakterijske interakcije pomembno vplivajo na potek disbioze. Antibiotiki spodbujajo prekomerno rast gliv, na primer vrst iz rodu *Candida*, medtem ko antimikotiki vplivajo na bakterijsko sestavo, kar poudarja medsebojno odvisnost mikrobnih kraljestev (6, 7). Komenzalne bakterije nadzorujejo patogene glive z zaviranjem njihove rasti, izražanjem dejavnikov virulence kot tudi z aktivacijo imunskega sistema (8).

Boljše razumevanje vloge črevesne mikrobiote pri okužbah in razvoj terapij, usmerjenih v njeno modulacijo, bosta pripomogla tudi k zmanjšanju negativnih učinkov pogoste uporabe

antibiotikov. Antibiotiki v večini primerov ne vplivajo zgolj na patogene, temveč tudi na komenzalno mikrobioto. Perturbacije mikrobiote kot posledica antibiotikov so zaznavne več mesecev po terapiji, pri čemer vodijo v znižane količine dostopnih metabolitov mikrobnega izvora, ki so ključni za pravilno delovanje črevesnega sistema (9). Večkratne antibiotične terapije dolgoročno prispevajo k ohranjanju genov odpornosti proti antibiotikom v črevesni mikrobioti. Ta predstavlja okolje, kjer se determinante odpornosti lahko horizontalno prenašajo med bakterijskimi vrstami, s čimer črevesna mikrobiota postane rezervoar za ohranjanje in nadaljnje širjenje ter potencialni inkubator za nastanek novih, večkratno odpornih vrst (10). Pretekle študije v kontekstu posledic antibiotičnih terapij dodatno izpostavljajo povečano tveganje za razvoj kroničnih bolezni, vključno z debelostjo, sladkorno boleznijo, astmo, kroničnimi vnetnimi črevesnimi boleznimi (11), shizofrenijo, depresijo in bipolarno motnjo (12).

V nadaljevanju predstavljamo pregled različnih mehanizmov, ki so povezani s kolonizacijsko odpornostjo ali pa omogočajo patogenom, da si mikrobioto podredijo v svojo korist z namenom zagotavljanja uspešne rasti oziroma virulence. Ti mehanizmi predstavljajo aktivno področje trenutnih raziskav predvsem kot potencialne terapevtske tarče.

MEHANIZMI INTERAKCIJE MED ČREVESNIMI PATOGENI IN MIKROBIOTO

Kratko-verižne maščobne kisline

Kratko-verižne maščobne kisline (*ang. short-chain fatty acids* – SCFA), vključno z acetatom, propionatom in butiratom, so mikrobní presnovki, ki nastanejo s fermentacijo neprebavljivih ogljikovih hidratov s strani črevesnih komenzalov. Kratko-verižne maščobne kisline igrajo ključno vlogo pri ohranjanju homeostaze, modulaciji imunskih odzivov ter drugih mehanizmi kolonizacijske odpornosti (13).

Kratko-verižne maščobne kisline se primarno sintetizirajo s strani bakterij debela *Bacillota* (butirat) in *Bacteroidota* (acetat, propionat) v debelem črevesu. Butirat služi kot primarni vir energije za kolonocite, ohranja epiteljsko celovitost in spodbuja anaerobno okolje v črevesju (14). Poleg tega kratko-verižne maščobne kisline znižujejo luminalni pH in s tem lahko zavirajo rast širšega nabora patogenov. Proizvajalci butirata (npr. *Faecalibacterium prausnitzii*) zavirajo kolonizacijo *C. difficile* in salmonele z zniževanjem luminalnega pH ter krepijo epiteljske bariere (15, 16). Vrste rodu *Bacteroides* izločajo propionat, ki spreminja pH v črevesju in zavira enteropatogene, kot je *Bacillus cereus* (17).

Številni mehanizmi vpletenosti kratko-verižnih maščobnih kislin v kolonizacijsko odpornost pa so ožje specifični. Na primer, acetat zavira rast bakterije *Escherichia coli* z zaviranjem biosinteze metionina, kar vodi do toksičnega kopičenja homocisteina (18). Gradienti kratko-verižnih maščobnih kislin vzdolž gastrointestinalnega trakta oblikujejo tudi spremembe v fenotipu patogenov. Visoka koncentracija acetata v ileumu spodbuja invazijo z bakterijo *Salmonella typhimurium* prek regulacije tipa III sekrecijskega sistema. Nasprotno pa povišana koncentracija propionata in butirata v debelem črevesu zavira T3SS-1 in omejuje virulenco salmonelle (19). Kratko-verižne maščobne kisline vplivajo tudi na integriteto črevesne pregrade, acetat iz bifidobakterij na primer na ta način omejuje translokacijo shiga toksina (20). Dodatno probiotiki, kot na primer vrste iz rodu *Lactobacillus*, povečujejo proizvodnjo butirata in zmanjšujejo kolonizacijo z bakterijo *Klebsiella pneumoniae* (16).

Kratko-verižne maščobne kisline prav tako ključno uravnavajo imunski odziv prek receptorjev, sklopljenih z G-proteinom ter z zaviranjem histonskih deacetilaz. Butirat, najmočnejši zaviralec histonskih deacetilaz, na primer modulira več kot 19.000 genov v kolonocitih. Med drugim kratko-verižne maščobne kisline promovirajo diferenciacijo regulatornih T celic, povečujejo aktivacijo B celic ter produkcijo protiteles, vplivajo na prirojeni imunski odziv z regulacijo toličnih receptorjev, nevtrofilcev in makrofagov ter krepijo funkcijo epiteljske bariere (21, 22).

Kratko-verižne maščobne kisline so osrednji dejavnik dinamičnega razmerja med komenzali, patogeni in gostiteljevim imunskim sistemom. Njihova sposobnost modulacije pH, epiteljske celovitosti ter posledično ohranjanja črevesne pregrade, izražanja virulenčnih genov in imunskih odzivov poudarja njihov terapevtski potencial. Vendar pa pogosta dvojna vloga teh kislin kliče po bolj podrobnem razumevanju okolja v črevesju za njihovo uspešno izkoriščanje v terapevtske namene.

Žolčne soli

Žolčne soli se sintetizirajo v jetrih in so ključne za prebavo lipidov. Po izločanju v dvanajstnik se 50–90 % primarnih žolčnih soli ponovno absorbira v ileumu, preostanek pa je izpostavljen mikrobnim presnovi v debelem črevesu. Ravni primarnih žolčnih soli vplivajo na sestavo mikrobiote. Visoke koncentracije soli podpirajo rast predstavnikov debela *Bacillota*, medtem ko nizke koncentracije omogočajo prekomerno rast po Gramu negativnih bakterij (23). Črevesne bakterije, zlasti vrste rodu *Clostridium*, dekonjugirajo primarne žolčne soli s pomočjo hidrolaz v sekundarne (24). Ta proces je ključen za kolonizacijsko odpornost proti različnim patogenom.

Sekundarne žolčne soli delujejo baktericidno z delovanjem na bakterijsko membrano (25, 26). Primarne soli, kot na primer tauroholat, po drugi strani služijo kot germinacijski signal za spore *C. difficile*, medtem ko sekundarne soli, kot na primer deoksiholat, aktivno zavirajo rast te bakterije in sintezo toksinov (27). Deoksiholat ima tudi sistemski učinek, epigenetsko spodbuja kostni mozeg k mobilizaciji granulocitno-monocitnih progenitorjev in nevtrofilcev ter s tem ščiti pred okužbo s praživaljo *Entamoeba histolytica* (28). Žolčne soli tudi aktivirajo ekspresijo kolera toksina pri *Vibrio cholerae* (29) ter igrajo ključno vlogo pri vstopu norovirusa v enterocite (30). Žolčne soli prav tako spremenijo ekspresijo bakterijskih adhezinov, enterohemoragična *E. coli* (EHEC) na primer uporablja le-te za bolj učinkovito pripenjanje na epiteljske celice (31).

Tekmovanje za hranila

Tekmovanje za hranila je dinamična interakcija med porabo virov in presnovno prilagodljivostjo predstavnikov mikrobne združbe. Predstavlja temelj kolonizacijske odpornosti v črevesju, pri katerem komenzali omejujejo razmnoževanje patogenov z izčrpavanjem ključnih hranil. Patogeni po drugi strani v svoj prid uporabljajo alternativne metabolne poti oziroma izkoriščajo stranske produkte komenzalov.

Bakterije iste vrste pogosto tekmujejo za iste hranilne vire. Sevi *E. coli*, na primer, kažejo znotraj-vrstno tekmovanje za aminokisline in sladkorje. Komenzalne *E. coli* izčrpajo zaloge hranil v črevesu, kar posledično zavira rast patogene *E. coli* O157:H7 (32). Mucini, bogati s sialno kislino, fukozo in drugimi glikani, so hidrolizirani s strani komenzalov, kot je *Bacteroides thetaiotaomicron*, ki sproščajo te sladkorje, vendar jih sami niso sposobni presnoviti. Patogeni,

kot sta *C. difficile* in *Salmonella* Typhimurium, te sladkorje izkoriščata za svojo rast. Mutanti *B. thetaiotaomicron* brez sialidazne aktivnosti ne podpirajo rasti patogenov, kar poudarja odvisnost patogenov od presnovne aktivnosti komezalov. Podobno *B. thetaiotaomicron* inducira fukozilacijo, kar poveča količino fukoze v črevesnem lumnu, ki jo izkoriščajo *Salmonella* in EHEC za regulacijo virulenčnih genov (33).

Železo je prav tako ključno mikro-hranilo, za katero patogeni nenehno tekmujejo s komezali. *S. Typhimurium* pridobiva železo med črevesnim vnetjem, vendar probiotik *E. coli* Nissle 1917, učinkovit prevzemnik železa, zmanjša sposobnost salmonele za učinkovito kolonizacijo (34). Patogeni pogosto razvijejo specializirane poti za dostop do alternativnih virov hranil v pomanjkanju. Etanolamin, stranski produkt obnove epitelijskega tkiva, so določeni patogeni, kot na primer EHEC, *Salmonella* spp. in *Listeria monocytogenes*, sposobni presnavljati prek operona *eut*, ki ga večina komezalov nima (35).

Vloga sluznice in imunskega sistema pri gastrointestinalnih okužbah

Gastrointestinalna sluznica je pregrada, sestavljena iz notranje (neprepustne) in zunanje (s komezali poseljene) plasti in predstavlja prvo obrambno linijo pred patogeni. To dinamično strukturo sestavljajo glikoproteini mucini, uravnavajo pa jo mikrobiota, imunski sistem in prehrana (36). Zahodna dieta, za katero je značilna nizka vsebnost kompleksnih ogljikovih hidratov, spodbuja razgradnjo sluznice s strani komezalnih bakterij, kot sta *Akkermansia muciniphila* in *Bacteroides caccae*. Slednje vodi v tanjšanje zunanje plasti in posledično večjo izpostavljenost epitelijskega tkiva (37). Probiotiki, kot je *Bifidobacterium longum*, lahko po drugi strani vodijo v obnavljanje sluznice s spodbujanjem produkcije mucinov (38).

Enteropatogeni, kot sta EHEC in *Citrobacter rodentium*, izločajo mucinaze, s katerimi cepijo mucinske verige, pri čemer k njihovi virulenci prispeva metabolna aktivnost nekaterih komezalov, kot na primer *B. thetaiotaomicron* (39, 40). Razgradnja služi sprošču hranila, na primer fukoze in sukcinat, hkrati pa ustvarja hranilno osiromašeno epitelijsko nišo. *Salmonella* Typhimurium, *C. difficile* in EHEC so sposobni te metabolite uporabljati za rast in povečanje virulence (33, 41).

ŠTUDIJE ČREVESNE MIKROBIOTE PRI OKUŽBAH – NAŠE RAZISKAVE

V preteklosti so bile raziskave usmerjene primarno v sestavo črevesne mikrobiote pri kroničnih vnetnih črevesnih boleznih in raku debelega črevesja. V kontekstu okužb je bila vloga mikrobiote zgodaj odkrita pri bakteriji *C. difficile*, s kopičenjem znanja na področju kolonizacijske odpornosti pa smo ključno vlogo mikrobiote dokazali tudi pri drugih povzročiteljih okužb. Poznavanje sprememb v sestavi črevesne mikrobiote bo v prvi vrsti omogočilo prepoznavanje kritičnih skupin posameznikov z visoko dovzetnostjo za okužbo, dalje pa bo to znanje vodilo v razvoj personaliziranih terapevtskih pristopov oziroma k razvoju tarčnih kombiniranih probiotikov za posamezno okužbo ter posledično bolj učinkovitemu zdravljenju okužb. Pri iskanju bio-označevalcev v črevesni mikrobioti nam prvi izziv predstavlja raznolikost v sestavi črevesne združbe med posamezniki, na katero vplivajo številni dejavniki, kot so okolje, fiziologija, prehrana in genetika (42, 43).

V naših in drugih študijah opažamo, da porušenje v črevesni mikrobioti praviloma sledi dvema vzorcema disbioze. Oba sta povezana z znižanjem v celostni pestrosti mikrobne združbe,

pri čemer pa je za prvi tip značilen porast v proteobakterijah (kamor uvrščamo tudi enterobakterije), za drugi pa porast enterokoka. Že v pretekli študiji smo pokazali, da te globalne spremembe v sestavi združbe niso povezane z bolezenskim stanjem (5).

Trenutno na Oddelku za mikrobiološke raziskave na NLZOH izvajamo študijo primerjave sprememb fekalne mikrobiote pri okužbah s petimi najpogostejšimi bakterijskimi in virusnimi povzročitelji. V največje meri se od preostalih mikrobiot, povezanih z različnimi povzročitelji, razlikuje mikrobiota bolnikov s *C. difficile* ($p < 0,001$). Statistično značilno se še razlikujeta mikrobioti, povezani z okužbo s salmonelo ($p = 0,021$) in kampilobaktrom ($p = 0,030$). Virusne okužbe po drugi strani niso vodile v značilne spremembe v sestavi črevesne mikrobiote. Mikrobiote, povezane z bakterijsko okužbo, so kazale znižanje celostne raznovrstnosti mikrobiote, pri čemer je bilo znižanje značilno v skupini okuženih s *C. difficile* in *Salmonella* spp. ($p < 0,001$). Pri teh dveh bakterijah se je celotna bogatost združbe zmanjšala za približno 30 % (iz povprečno 150 zaznanih bakterijskih skupin na posameznika v kontrolni skupini na < 100 pri okuženih). Dodatno smo ugotovili, da je za mikrobioto ob okužbi s *C. difficile* značilen porast rodu *Enterococcus* ter skupine komezalnih klostridijev, medtem ko smo pri okužbah s salmonelo in kampilobaktrom opazili predvsem povečano zastopanost bakterijskih skupin, ki so tipične za oralno mikrobioto, vključno z rodovi *Streptococcus*, *Granulicatella* in *Haemophilus*.

TERAPEVTSKI PRISTOPI, USMERJENI V MODULACIJO ČREVESNE MIKROBIOTE

Črevesna mikrobiota igra ključno vlogo pri obrambi pred črevesnimi patogeni, njena modulacija pa ponuja obetavne terapevtske možnosti za (podporno) zdravljenje okužb prebavil. Ko razmišljamo o intervencijah, ki obravnavajo pravilno delovanje črevesne mikrobiote, primarno pomislimo na prehrano. Kot osnovna človeška potreba je povezana z najmanj negativnimi ter neznanimi dolgoročnimi posledicami, do katerih lahko vodijo pristopi, opisani kasneje. Tudi v kontekstu okužb prebavil lahko z ustrezno prehrano aktivno pomagamo črevesni mikrobioti pri obrambi pred patogeni. Na živalskih modelih so demonstrirali vpliv zahodne diete na zmanjšano kolonizacijsko odpornost proti adherentno invazivni *E. coli* ter *Citrobacter rodentium* (44, 45). Prehrana z visoko vsebnostjo vlaknin na primer povečuje nivo butirata, ki zavira virulencne gene *Salmonella* spp. (T3SS) (46). Paradoksalno pa lahko diete, bogate z vlakninami, povečajo izražanje receptorjev za shiga toksin pri EHEC (47), kar poudarja potrebo po za patogen-specifičnih prehranskih smernicah.

Za modulacijo črevesne mikrobiote so razviti različni tipi oziroma kombinacije pripravkov, ki temeljijo na principu dodajanja koristnih mikrobov, njihovih metabolitov ali hranil, ki komezalnim mikrobom zagotavljajo pogoje za uspešno izvajanje človeku koristnih nalog. Pripravke v grobem uvrščamo v sledeče kategorije:

- **Probiotiki:** Žive mikrobne celice.
- **Prebiotiki:** Hranila, ki spodbujajo rast koristnih mikrobov, ki so že prisotni v črevesni mikrobioti.
- **Sinbiotiki:** Kombinacija probiotika in prebiotika, ki se med seboj dopolnjujeta.
- **Postbiotiki:** Inaktivirana kompleksna združba mikroorganizmov, pri kateri pozitiven učinek izkazujejo mikrobni metaboliti ali komponente odmrlih mikrobnih celic.

Delovanje tovrstnih pripravkov v kontekstu okužb obravnava različne mehanizme, opisane v prvem delu članka. Lahko krepijo kolonizacijsko odpornost prek tekmovanja za hranila, zasedanja ekoloških niš, proizvodnje protimikrobnih metabolitov, ohranjanja homeostaze

ter imuno-modulacije (48). *Lactobacillus rhamnosus* in *Saccharomyces boulardii* na primer zmanjšujeta občutljivost na toksine *C. difficile* z uravnavanjem proizvodnje mucina (49); *E. coli* Nissle 1917 tekmuje s *Salmonella* Typhimurium za železo (34); ter *B. longum* s krepitvijo epitelijske bariere preprečuje translokacijo shiga toksina EHEC (20). V primeru prebiotikov, inulin na primer povečuje delež *Bifidobacterium* spp., ki zavira *C. difficile* s proizvodnjo acetata in laktata (50).

Fekalna transplantacija

Fekalna transplanatacija omogoča obnovo raznolikosti in funkcije zdrave črevesne mikrobiote pri kompromitiranem bolniku. V kontekstu črevesnih okužb se terapija uporablja predvsem za zdravljenje ponavljajočih se okužb s *C. difficile*, kjer dosega visoko učinkovitost ($\geq 80\%$) (51). Uporaba fekalne transplantacije pri drugih indikacijah je zaenkrat omejena na posamezne klinične študije in se še ne izvaja kot del rutinske klinične prakse. S fekalno transplantacijo so tako na primer dosegli boljšo eliminacijo hepatitis B antigena iz sistema (52), kot tudi izboljšanje s HIV povezane disbioze (53). Fekalna transplantacija po antibiotični terapiji pa je vodila v znižano nasilstvo z večkratno odpornimi bakterijami (54).

Bakteriofagna terapija

Bakteriofagna terapija temelji na uporabi bakterijskih virusov, imenovanih bakteriofagi, ki vrstno specifično vodijo v uničenje oziroma nadzor populacije bakterijskih patogenov z minimalnim vplivom na komezalno mikrobioto. Raziskave bakteriofagov, njihove potencialne uporabe in varnostnih vidikov so trenutno veliko porajajoče se področje raziskav. Fagni koktajli, usmerjeni proti *C. difficile*, na primer dokazano zmanjšajo produkcijo toksinov in sporulacijo tako *in vitro* kot in *in vivo* (55). Čeprav je področje še v začetnih fazah razvoja, se bakteriofagna terapija ponuja kot pomembna alternativa antibiotikom.

ZAKLJUČEK

Razumevanje kompleksnih interakcij med črevesno mikrobioto, patogeni in gostiteljem odpira nove pristope k preprečevanju in zdravljenju okužb prebavil. Namesto osredotočanja zgolj na patogene se vse bolj uveljavlja celostna strategija, ki vključuje krepitev kolonizacijske odpornosti in ohranjanje zdrave sestave črevesne mikrobiote. Poudarek na metabolitih, kot so kratko-verižne maščobne kisline in žolčne soli, ter na prehranskih in probiotičnih intervencijah, predstavlja obetaven terapevtski pristop. Nadaljnje raziskave bodo ključne za razvoj usmerjenih in personaliziranih terapij, zlasti v času naraščajoče odpornosti proti antibiotikom.

LITERATURA

1. Pickard JM, Núñez G. Pathogen Colonization Resistance in the Gut and Its Manipulation for Improved Health. *The American Journal of Pathology*. 2019 Jul 1;189(7):1300–10.
2. Qin Y, Havulinna AS, Liu Y, Jousilahti P, Ritchie SC, Tokolyi A, et al. Combined effects of host genetics and diet on human gut microbiota and incident disease in a single population cohort. *Nat Genet*. 2022 Feb;54(2):134–42.
3. Gupta U, Dey P. Rise of the guardians: Gut microbial maneuvers in bacterial infections. *Life Sci*. 2023 Oct 1;330:121993.

4. Wei S, Bahl MI, Baunwall SMD, Hvas CL, Licht TR. Determining Gut Microbial Dysbiosis: a Review of Applied Indexes for Assessment of Intestinal Microbiota Imbalances. *Appl Environ Microbiol.* 2021 May 11;87(11):e00395-21.
5. Mahnic A, Breskvar M, Dzeroski S, Skok P, Pintar S, Rupnik M. Distinct Types of Gut Microbiota Dysbiosis in Hospitalized Gastroenterological Patients Are Disease Non-related and Characterized With the Predominance of Either Enterobacteriaceae or Enterococcus. *Front Microbiol.* 2020;11:120.
6. Wheeler ML, Limon JJ, Bar AS, Leal CA, Gargus M, Tang J, et al. Immunological Consequences of Intestinal Fungal Dysbiosis. *Cell Host & Microbe.* 2016 Jun;19(6):865–73.
7. Sovran B, Planchais J, Jegou S, Straube M, Lamas B, Natividad JM, et al. Enterobacteriaceae are essential for the modulation of colitis severity by fungi. *Microbiome.* 2018 Sep 1;6(1):152.
8. Cong L, Chen C, Mao S, Han Z, Zhu Z, Li Y. Intestinal bacteria-a powerful weapon for fungal infections treatment. *Front Cell Infect Microbiol.* 2023;13:1187831.
9. Suez J, Zmora N, Zilberman-Schapira G, Mor U, Dori-Bachash M, Bashirdes S, et al. Post-Antibiotic Gut Mucosal Microbiome Reconstitution Is Impaired by Probiotics and Improved by Autologous FMT. *Cell.* 2018 Sep 6;174(6):1406-1423.e16.
10. Anthony WE, Burnham CAD, Dantas G, Kwon JH. The Gut Microbiome as a Reservoir for Antimicrobial Resistance. *J Infect Dis.* 2021 Jun 16;223(12 Suppl 2):S209–13.
11. Patangia DV, Anthony Ryan C, Dempsey E, Paul Ross R, Stanton C. Impact of antibiotics on the human microbiome and consequences for host health. *Microbiologyopen.* 2022 Feb;11(1):e1260.
12. Sorboni SG, Moghaddam HS, Jafarzadeh-Esfehani R, Soleimanpour S. A Comprehensive Review on the Role of the Gut Microbiome in Human Neurological Disorders. *Clin Microbiol Rev.* 2022 Jan 19;35(1):e0033820.
13. Ríos-Covián D, Ruas-Madiedo P, Margolles A, Gueimonde M, de Los Reyes-Gavilán CG, Salazar N. Intestinal Short Chain Fatty Acids and their Link with Diet and Human Health. *Front Microbiol.* 2016;7:185.
14. Litvak Y, Byndloss MX, Bäuml AJ. Colonocyte metabolism shapes the gut microbiota. *Science.* 2018 Nov 30;362(6418):eaat9076.
15. Rivera-Chávez F, Zhang LF, Faber F, Lopez CA, Byndloss MX, Olsan EE, et al. Depletion of Butyrate-Producing Clostridia from the Gut Microbiota Drives an Aerobic Luminal Expansion of Salmonella. *Cell Host Microbe.* 2016 Apr 13;19(4):443–54.
16. Djukovic A, Garzón MJ, Canlet C, Cabral V, Lalaoui R, García-Garcera M, et al. Lactobacillus supports Clostridiales to restrict gut colonization by multidrug-resistant Enterobacteriaceae. *Nat Commun.* 2022 Sep 24;13(1):5617.
17. Brinkman BM, Becker A, Ayiseh RB, Hildebrand F, Raes J, Huys G, et al. Gut microbiota affects sensitivity to acute DSS-induced colitis independently of host genotype. *Inflamm Bowel Dis.* 2013 Nov;19(12):2560–7.
18. Roe AJ, O'Byrne C, McLaggan D, Booth IR. Inhibition of Escherichia coli growth by acetic acid: a problem with methionine biosynthesis and homocysteine toxicity. *Microbiology (Reading).* 2002 Jul;148(Pt 7):2215–22.
19. Lawhon SD, Maurer R, Suyemoto M, Altier C. Intestinal short-chain fatty acids alter Salmonella typhimurium invasion gene expression and virulence through BarA/SirA. *Mol Microbiol.* 2002 Dec;46(5):1451–64.
20. Fukuda S, Toh H, Hase K, Oshima K, Nakanishi Y, Yoshimura K, et al. Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate. *Nature.* 2011 Jan;469(7331):543–7.
21. Kelly CJ, Zheng L, Campbell EL, Saeedi B, Scholz CC, Bayless AJ, et al. Crosstalk between Microbiota-Derived Short-Chain Fatty Acids and Intestinal Epithelial HIF Augments Tissue Barrier Function. *Cell Host Microbe.* 2015 May 13;17(5):662–71.

-
22. Kim CH. Complex regulatory effects of gut microbial short-chain fatty acids on immune tolerance and autoimmunity. *Cell Mol Immunol*. 2023 Apr;20(4):341–50.
 23. Ridlon JM, Kang DJ, Hylemon PB, Bajaj JS. Bile Acids and the Gut Microbiome. *Curr Opin Gastroenterol*. 2014 May;30(3):332–8.
 24. Ridlon JM, Kang DJ, Hylemon PB. Bile salt biotransformations by human intestinal bacteria. *J Lipid Res*. 2006 Feb;47(2):241–59.
 25. Sannasiddappa TH, Lund PA, Clarke SR. In Vitro Antibacterial Activity of Unconjugated and Conjugated Bile Salts on *Staphylococcus aureus*. *Front Microbiol* [Internet]. 2017 Aug 23 [cited 2025 Mar 16];8. Available from: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2017.01581/full>
 26. Thanissery R, Winston JA, Theriot CM. Inhibition of spore germination, growth, and toxin activity of clinically relevant *C. difficile* strains by gut microbiota derived secondary bile acids. *Anaerobe*. 2017 Jun;45:86–100.
 27. Foley MH, Walker ME, Stewart AK, O'Flaherty S, Gentry EC, Patel S, et al. Bile salt hydrolases shape the bile acid landscape and restrict *Clostridioides difficile* growth in the murine gut. *Nat Microbiol*. 2023 Apr;8(4):611–28.
 28. Burgess SL, Leslie JL, Uddin J, Oakland DN, Gilchrist C, Moreau GB, et al. Gut microbiome communication with bone marrow regulates susceptibility to amebiasis. *J Clin Invest*. 2020 Aug 3;130(8):4019–24.
 29. Hung DT, Mekalanos JJ. Bile acids induce cholera toxin expression in *Vibrio cholerae* in a ToxT-independent manner. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005 Feb 22;102(8):3028–33.
 30. Graziano VR, Wei J, Wilen CB. Norovirus Attachment and Entry. *Viruses*. 2019 May 30;11(6):495.
 31. de Jesus MC, Urban AA, Marasigan ME, Barnett Foster DE. Acid and bile-salt stress of enteropathogenic *Escherichia coli* enhances adhesion to epithelial cells and alters glycolipid receptor binding specificity. *J Infect Dis*. 2005 Oct 15;192(8):1430–40.
 32. Fabich AJ, Jones SA, Chowdhury FZ, Cernosek A, Anderson A, Smalley D, et al. Comparison of Carbon Nutrition for Pathogenic and Commensal *Escherichia coli* Strains in the Mouse Intestine. *Infect Immun*. 2008 Mar;76(3):1143–52.
 33. Ng KM, Ferreyra JA, Higginbottom SK, Lynch JB, Kashyap PC, Gopinath S, et al. Microbiota-liberated host sugars facilitate post-antibiotic expansion of enteric pathogens. *Nature* [Internet]. 2013 Sep 1 [cited 2016 Feb 1];advance online publication. Available from: <http://www.nature.com/nature/journal/vaop/ncurrent/abs/nature12503.html>
 34. Deriu E, Liu JZ, Pezeshki M, Edwards RA, Ochoa RJ, Contreras H, et al. Probiotic Bacteria Reduce *Salmonella* Typhimurium Intestinal Colonization by Competing for Iron. *Cell Host Microbe*. 2013 Jul 17;14(1):26–37.
 35. Garsin DA. Ethanolamine utilization in bacterial pathogens: roles and regulation. *Nat Rev Microbiol*. 2010 Apr;8(4):290–5.
 36. Martens EC, Neumann M, Desai MS. Interactions of commensal and pathogenic microorganisms with the intestinal mucosal barrier. *Nat Rev Microbiol*. 2018 Aug;16(8):457–70.
 37. Desai MS, Seekatz AM, Koropatkin NM, Kamada N, Hickey CA, Wolter M, et al. A Dietary Fiber-Deprived Gut Microbiota Degrades the Colonic Mucus Barrier and Enhances Pathogen Susceptibility. *Cell*. 2016 Nov 17;167(5):1339–1353.e21.
 38. Schroeder BO, Birchenough GMH, Ståhlman M, Arike L, Johansson MEV, Hansson GC, et al. Bifidobacteria or Fiber Protects against Diet-Induced Microbiota-Mediated Colonic Mucus Deterioration. *Cell Host & Microbe*. 2018 Jan 10;23(1):27–40.e7.
 39. Szabady RL, Lokuta MA, Walters KB, Huttenlocher A, Welch RA. Modulation of neutrophil function by a secreted mucinase of *Escherichia coli* O157:H7. *PLoS Pathog*. 2009 Feb;5(2):e1000320.
-

40. Curtis MM, Hu Z, Klimko C, Narayanan S, Deberardinis R, Sperandio V. The gut commensal *Bacteroides thetaiotaomicron* exacerbates enteric infection through modification of the metabolic landscape. *Cell Host Microbe*. 2014 Dec 10;16(6):759–69.
41. Ferreyra JA, Wu KJ, Hryckowian AJ, Bouley DM, Weimer BC, Sonnenburg JL. Gut microbiota-produced succinate promotes *C. difficile* infection after antibiotic treatment or motility disturbance. *Cell Host Microbe*. 2014 Dec 10;16(6):770–7.
42. Tasnim N, Abulizi N, Pither J, Hart MM, Gibson DL. Linking the Gut Microbial Ecosystem with the Environment: Does Gut Health Depend on Where We Live? *Front Microbiol*. 2017 Oct 6;8:1935.
43. Mahnic A, Rupnik M. Different host factors are associated with patterns in bacterial and fungal gut microbiota in Slovenian healthy cohort. *PLoS One* [Internet]. 2018 Dec 20 [cited 2019 Feb 24];13(12). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6301613/>
44. Agus A, Denizot J, Thévenot J, Martinez-Medina M, Massier S, Sauvanet P, et al. Western diet induces a shift in microbiota composition enhancing susceptibility to Adherent-Invasive *E. coli* infection and intestinal inflammation. *Sci Rep*. 2016 Jan 8;6(1):19032.
45. An J, Zhao X, Wang Y, Noriega J, Gewirtz AT, Zou J. Western-style diet impedes colonization and clearance of *Citrobacter rodentium*. *PLoS Pathog*. 2021 Apr 5;17(4):e1009497.
46. Jacobson A, Lam L, Rajendram M, Tamburini F, Honeycutt J, Pham T, et al. A Gut Commensal-Produced Metabolite Mediates Colonization Resistance to *Salmonella* Infection. *Cell Host & Microbe*. 2018 Aug 8;24(2):296–307.e7.
47. Zumbun SD, Melton-Celsa AR, Smith MA, Gilbreath JJ, Merrell DS, O'Brien AD. Dietary choice affects Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) O157:H7 colonization and disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013 Jun 4;110(23):E2126–2133.
48. Chandrasekaran P, Weiskirchen S, Weiskirchen R. Effects of Probiotics on Gut Microbiota: An Overview. *Int J Mol Sci*. 2024 May 30;25(11):6022.
49. Szajewska H, Canani RB, Guarino A, Hojsak I, Indrio F, Kolacek S, et al. Probiotics for the Prevention of Antibiotic-Associated Diarrhea in Children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2016 Mar;62(3):495–506.
50. Valdés-Varela L, Hernández-Barranco AM, Ruas-Madiedo P, Gueimonde M. Effect of *Bifidobacterium* upon *Clostridium difficile* Growth and Toxicity When Co-cultured in Different Prebiotic Substrates. *Bifidobacterium*. 2016;738.
51. Porcari S, Baunwall SMD, Occhionero AS, Inghrosso MR, Ford AC, Hvas CL, et al. Fecal microbiota transplantation for recurrent *C. difficile* infection in patients with inflammatory bowel disease: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Autoimmunity*. 2023 Dec 1;141:103036.
52. Chauhan A, Kumar R, Sharma S, Mahanta M, Vayuruu SK, Nayak B, et al. Fecal Microbiota Transplantation in Hepatitis B e Antigen-Positive Chronic Hepatitis B Patients: A Pilot Study. *Dig Dis Sci*. 2021 Mar;66(3):873–80.
53. Serrano-Villar S, Talavera-Rodríguez A, Gosalbes MJ, Madrid N, Pérez-Molina JA, Elliott RJ, et al. Fecal microbiota transplantation in HIV: A pilot placebo-controlled study. *Nat Commun*. 2021 Feb 18;12(1):1139.
54. Huttner BD, de Lastours V, Wassenberg M, Maharshak N, Mauris A, Galperine T, et al. A 5-day course of oral antibiotics followed by faecal transplantation to eradicate carriage of multidrug-resistant Enterobacteriaceae: a randomized clinical trial. *Clin Microbiol Infect*. 2019 Jul;25(7):830–8.
55. Nale JY, Spencer J, Hargreaves KR, Buckley AM, Trzepiński P, Douce GR, et al. Bacteriophage Combinations Significantly Reduce *Clostridium difficile* Growth In Vitro and Proliferation In Vivo. *Antimicrob Agents Chemother*. 2016 Feb;60(2):968–81.

SINDROMSKA DIAGNOSTIKA OKUŽB PREBAVIL

SYNDROMIC TESTING OF GASTROINTESTINAL INFECTIONS

Andrej Steyer¹, Tina Triglav², Tadeja Kotar^{3, 4}

¹Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Oddelek za javnozdravstveno mikrobiologijo Ljubljana

²Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska Fakulteta, Univerza v Ljubljani

³Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja, UKC Ljubljana

⁴Katedra za infekcijske bolezni in epidemiologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

IZVLEČEK

Sindromski pristop v diagnostiki okužb prebavil se je smiselno umestil v rutinsko mikrobiološko diagnostiko, saj prinaša številne prednosti, kot so visoka občutljivost metode, hitrost, hkratno testiranje več možnih povzročiteljev iz enega vzorca in dokazovanje sočasnih okužb. Jasne so postale tudi nekatere omejitve metode, predvsem razlike v občutljivosti in specifičnosti pri posameznih tarčah in določene težave pri interpretaciji pozitivnih rezultatov, ki nimajo vedno jasne povezave s klinično sliko bolnika. Na svetovnem tržišču je na voljo večje število komercialno dostopnih testov, ki se razlikujejo predvsem po tipu testa (kartušni, modularni), trajanju in naboru tarčnih patogenov. Z uporabo sindromskega pristopa namesto naročanja posameznih preiskav izrazito povečamo število etiološko opredeljenih črevesnih okužb, vendar mora interpretacija rezultatov sindromskega testiranja potekati v skladu s klinično sliko. Da bi izkoristili prednosti, ki jih ponuja sindromski pristop k diagnostiki, je nujna njegova smotrna uporaba.

Ključne besede: diagnostika, sindromsko testiranje, molekularne metode, okužbe prebavil

ABSTRACT

The syndromic approach in the diagnosis of gastrointestinal infections has become established in routine microbiological diagnostics as it has numerous advantages, such as high sensitivity, speed, simultaneous testing of several pathogens from one sample and detection of concurrent infections. However, some limitations of the method have also become apparent, such as differences in sensitivity and specificity for individual targets and certain difficulties in interpreting positive results, which do not always show a clear correlation with the patient's presentation. There are many commercially available tests on the global market, which differ mainly in type (cartridge, modular), duration of the test and the number of target pathogens. Using a syndromic approach instead of ordering individual tests can significantly increase the number of etiologically defined gastroenteritis cases, but the interpretation of the results of syndromic tests must be made within the appropriate clinical context. A rational use of syndromic testing is needed in order to fully exploit its diagnostic benefits.

Keywords: diagnostics, syndromic testing, molecular methods, gastrointestinal infections

UVOD

Od leta 2008, ko je ameriška Agencija za hrano in zdravila (angl. *Food and Drug Administration*, FDA) odobrila prvi sindromsko usmerjen diagnostični test za dokazovanje okužb dihal, se je v manj kot 10 letih na svetovnem trgu pojavilo veliko število komercialno dostopnih sindromskih molekularnih testov za dokazovanje okužb zgornjih dihal, prebavil, osrednjega živčevja, spodnjih dihal ter seapse. Sindromski pristop se je hitro uveljavil v mikrobioloških laboratorijih, na strani klinike pa prednost predstavlja predvsem krajši čas do izvida in večje število tarčnih patogenov, kar zmanjša potrebo po naročanju večjega števila preiskav iz posameznega vzorca, hkrati pa so v nekatere panele vključeni določeni mikroorganizmi, ki jih laboratoriji z drugimi metodami prej niso dokazovali. Sčasoma so postale jasne tudi nekatere omejitve metode, predvsem razlike v občutljivosti in specifičnosti pri posameznih tarčah, prekomerno testiranje in težave pri interpretaciji pozitivnih rezultatov, ki nimajo vedno jasne povezave s klinično sliko bolnika. V prispevku opisujemo sindromski pristop k diagnostiki okužb prebavil, navedemo komercialno dostopne teste, opredelimo nekatere prednosti in omejitve testiranja ter ocenjujemo njegovo klinično uporabnost.

1. SINDROMSKA DIAGNOSTIKA OKUŽB PREBAVIL

Poleg hkratnega dokazovanja večjega števila različnih patogenov ima sindromski pristop k diagnostiki prebavil številne ostale prednosti v primerjavi s konvencionalnimi mikrobiološkimi metodami. Skrajšan je čas do izvida, saj so rezultati na voljo najkasneje dan po prejemu vzorcev, kar lahko pomembno vpliva na pravočasno usmerjanje protimikrobne terapije v primerih, ko je le-ta potrebna (1). Objavljena literatura dosledno dokazuje večjo občutljivost molekularnega testiranja v primerjavi s konvencionalnimi metodami, celovito testiranje pa omogoča etiološko opredelitev okužbe prebavil v več primerih, kot le testiranje na posamezne patogene (1, 2). V kolikor izvajamo diagnostiko le v skladu s klinično oceno o verjetni bakterijski ali virusni etiologiji, lahko zgrešimo pomembne patogene tako iz domačega, kot tudi iz bolnišničnega okolja (3). Najdemo lahko tudi sočasne okužbe, ki jih z naročanjem testov za posamezne skupine povzročiteljev ali celo za posameznega povzročitelja ne bi zaznali, torej je sindromski pristop v primeru sočasnih okužb najprimernejši diagnostični test (4, 5). Dodatno prednost predstavlja opredelitev povzročiteljev okužb prebavil za učinkovito pomoč pri epidemiološkem spremljanju in opredeljevanju izbruhov ter možno znižanje skupnih stroškov zaradi izbire ene preiskave namesto več posameznih testov.

Kljub večjemu številu etiološko opredeljenih črevesnih okužb lahko zaradi večje občutljivosti molekularne metode zaznajo tudi majhne količine genoma mikroorganizmov, ki se nahajajo v iztrebkih zaradi preteklih okužb, neviabilne mikroorganizme ali brezsimptomno nosilstvo. Obstaja več raziskav, v katerih so primerjali bolnike s črevesnimi okužbami in zdravo kontrolno skupino. V tovrstnih raziskavah so dokazali dedni material črevesnih patogenov tudi pri zdravih kontrolnih skupinah, kar lahko oteži interpretacijo rezultatov pri bolnikih (6, 7). V primeru *Clostridioides difficile* je testiranje smiselno le ob prisotnosti dejavnikov tveganja, kot je predhodno antibiotično zdravljenje. Predvsem se testiranje odsvetuje pri otrocih, starih manj kot dve leti, saj je asimptomatska kolonizacija prisotna pri 50 % zdravih novorojencev, ki nato postopoma upada z vzpostavljanjem črevesne mikrobiote (8). Nekateri mikrobiološki laboratoriji zato *C. difficile* ne vključujejo med tarčne patogene oziroma rezultatov ne poročajo (1). Asimptomatsko nosilstvo je poleg bakterij dokazano pri gastroenteričnih virusih in parazitih,

kot sta *Cryptosporidium* in *Giardia*, predvsem pri otrocih (9, 10). Interpretacijo rezultatov sindromskega testiranja je torej potrebno izvajati v kontekstu klinične slike bolnika.

Interpretacija pozitivnih rezultatov je težavna tudi pri mikroorganizmih, ki nimajo jasno opredeljenega patogenega potenciala. Primer tega je dokaz enteropatogene (EPEC) ali enteroagregativne (EAEC) *Escherichiae coli*, kjer pozitivni rezultati lahko vodijo do nepotrebnega zdravljenja z antibiotiki (11). Poleg vprašljivega patogenega potenciala, saj EPEC in EAEC najdemo tudi pri zdravih posameznikih (12), je lahko interpretacija molekularnih testov pri EAEC težavna tudi zaradi gentske heterogenosti, saj ne poznamo zanesljivih molekularnih označevalcev (13).

Omejitev komercialno dostopnih sindromskih molekularnih testov je tudi ta, da pogosto ne vemo, katero genomsko področje je bilo izbrano za dokazovanje posameznih patogenov. Poznavanje tarčnega odseka genoma je pomembno predvsem pri patogenih z variabilnim virulentnim potencialom (14), ko je ob pozitivnem rezultatu molekularnega testiranja potreben še poskus kultivacije in tipizacije. Tak primer je *Yersinia enterocolitica*, saj je biotip 1A manj virulenten (15). Zaznavanje biotipa 1A je odvisno od izbranega tarčnega gena, zato prihaja do razlik med komercialno dostopnimi testi.

Pri uporabi hkratne verižne reakcije s polimerazo (iz angl. Polymerase Chain Reaction, PCR) se je potrebno zavedati, da obstajajo razlike v občutljivosti in tudi specifičnosti med posameznimi tarčnimi patogeni. Vrsto-specifični PCR ima večjo občutljivost kot hkratni PCR, v primerih negativnega rezultata molekularnih testov in utemeljenem kliničnem sumu pa je smiselna uporaba drugih metod, kot so koprokultura za bakterije ali mikroskopski pregled vzorca iztrebka na parazite (16). Konvencionalne mikrobiološke metode ostajajo nujne za odkrivanje patogenov, ki niso vključeni v molekularne panele, pri bakterijskih povzročiteljih gastroenteritisov pa tudi za določanje občutljivosti za antibiotike, ki je poleg odločitve o ustreznem zdravljenju pomembno tudi za spremljanje trendov odpornosti.

2. TRENUTNO DOSTOPNI TESTI NA SVETOVNEM TRŽIŠČU

Na tržišču so dostopni številni testi, ki z bolj ali manj razširjenimi paneli zajemajo najpogostejše in manj pogoste povzročitelje črevesnih okužb – bakterije, viruse in parazite (Tabela 1). Večina jih ima odobritev FDA, so pa po poročanjih lahko različno uspešni glede na občutljivost in specifičnost testov (17, 18). Težave nastajajo predvsem zaradi narave vzorcev, ki v določenih primerih vsebujejo inhibitorne snovi in zavirajo reakcijo pomnoževanja tarč in kontrolnih molekul.

Molekularne teste delimo na panele kartušnih sistemov in panele odprtih ali delno odprtih molekularnih sistemov. Kartušni sistemi so že pripravljeni za hitro in enostavno uporabo, zahtevajo minimalno laboratorijsko delo in zajemajo predvsem prenos dela vzorca v pripravljen medij ter prenos suspenzije v kartušni sistem. Celoten proces od osamitve (sprostitve/čiščenja) nukleinske kisline do pomnoževanja in detekcije poteka v zaprtem sistemu, brez dodatnega poseganja ali laboratorijskega dela. Namenjeni so predvsem manjšim laboratorijem ali bolnišničnim laboratorijem, kjer ni vzpostavljenih dodatnih kapacitet za obdelavo vzorcev, izvajanje laboratorijskih procesov in ekspertiz na področju molekularne in klasične mikrobiologije. Tovrstni testi sicer nudijo hitro diagnostiko s širokim panelom različnih povzročiteljev okužb prebavil iz skupine virusov, bakterij in parazitov, a naletimo velikokrat na dilemo o klinični pomembnosti rezultata, kakor tudi na težave lažno pozitivnih ali negativnih rezultatov,

ki zahtevajo naknadno razreševanje podanih rezultatov. Caza in sodelavci so pri primerjavi med kartušnim sistemom FilmArray Gastrointestinal panel® (BioFire Diagnostics, Združene države Amerike) z dodatnimi molekularnimi metodami pokazali, da je pri uporabi tega testa lahko kar do 27,4 % rezultatov za noroviruse lažno pozitivnih (19). Težavna je tudi interpretacija rezultatov z več pozitivnimi tarčami hkrati (20).

Odperti paneli nam dajejo možnost vsaj delnega prilagajanja izbire tarč, ki jih želimo vključiti, kar omogoča bolj usmerjeno diagnostiko in izključevanje tistih tarč, ki niso potrebne v kontekstu klinične slike bolnika. S tem zmanjšamo možnost analitičnih napak ali nepravilnih interpretacij. Pri tovrstnih testih imamo tudi možnost večje analitične kontrole testa in kontrole poteka same preiskave. Vsekakor pa so taki testi primerni za usposobljene in izkušene analitike, ki obvladajo molekularne mikrobiološke metode in so sposobni dobre ocene in kontrole potekajočih preiskav ter imajo ustrezne procese in aparature v laboratoriju, da s spremljajočimi postopki hitro preverijo ali podprejo mikrobiološko analitično diagnostiko. Dodatna prednost je tudi možnost osamitve bakterij in pridobitev bakterijskih izolatov za namene dodatnega testiranja na prisotnost virulentnih dejavnikov in fenotipskega določanja občutljivosti proti protimikrobnim zdravilom. Hkrati imamo s tem priložnost pridobiti bakterijske seve za javnozdravstvene namene – spremljanja širjenja patogenov in opredeljevanja patogenetskih dejavnikov oziroma patogenetskih značilnosti nekaterih epidemiološko pomembnih mikrobov (21).

Po večletnih izkušnjah z uporabo kartušnih sistemov lahko izpostavimo njihovo prednost, ki je predvsem hitrost izvedbe, v kolikor imamo opravka s posameznimi vzorci, ter enostavno rokovanje, saj ne zahtevajo dodatnih priprav ali večjih laboratorijskih procesov predpriprave vzorcev. Pri obdelavi več vzorcev hkrati pa kartušni sistemi niso praktični, saj nam drugi molekularni sistemi nudijo večjo prilagodljivost, hkratno procesiranje več vzorcev in s tem velik prihranek časa pri izvajanju testiranja. Hkrati se poveča racionalnost procesnega pristopa, kar omogoča nižje stroške testiranja. V primeru prilagodljivih panelov se zlahka odločamo za kombinacije testiranih panelov. Kljub visokim stopnjam specifičnosti in občutljivosti, ki jih navajajo proizvajalci, se pri vzorcih iztrebkov soočamo s težavami, zaradi katerih v realnih pogojih rezultati ne dosegajo vedno napovedanih vrednosti. Po večletnih izkušnjah smo ugotovili, da je ključ do dobre diagnostike ustrezna predpriprava vzorca, ki jo je potrebno natančno validirati pred rutinsko uporabo in s tem postaviti diagnostični test na visok kakovosten nivo.

Tabela 1. Najpogostejše uporabljeni paneli na tržišču.

Naziv	Proizvajalec	Št. tarč	Tarčna skupina patogenov	Čas do rezultata	Tip testa
FilmArray Gastrointestinal (GI) Panel®	BioFire	22	Bakterije, virusi, paraziti	~1 ura	Kartušni
QIAstat-Dx Gastrointestinal Panel®	Qiagen	24	Bakterije, virusi, paraziti	~1 ura	Kartušni
Verigene®	Diasorin	9	Bakterije, virusi	2 uri	Kartušni
LightMix Modular Gastro Panel Assay®	Roche	12	Bakterije, virusi, paraziti	~3 ure	Modularni
xTAG Gastrointestinal Pathogen Panel (GPP)®	Luminex	15	Bakterije, virusi, paraziti	~5 ur	Modularni
BDMax®	Becton, Dickinson and Company	16	Bakterije, virusi, paraziti	2–4 ure	Modularni
Allplex Gastrointestinal Panel Assays®	Seegene	25	Bakterije, virusi, paraziti	~5 ur	Modularni

3. KLINIČNA UPORABNOST

Pri obravnavi bolnika z infekcijsko drisko sta izjemno pomembna natančna anamneza s po-udarkom na epidemioloških okoliščinah in klinični pregled, saj nam odločilno pomagata pri oceni teže bolezni in oceni, ali gre za infekcijsko drisko ali za drisko druge etiologije.

Večina mikrobioloških laboratorijev izvaja posamezne diagnostične teste na zahtevo le-čечеga zdravnika, kar v primerih akutne črevesne okužbe pomeni izbiro preiskav pod pred-postavko, da lečeči zdravnik lahko razlikuje med bakterijsko, virusno in parazitsko črevesno okužbo na podlagi anamneze in klinične slike. Massa in sodelavci so pokazali, da tak pristop ni optimalen, saj se z naročanjem le posameznih preiskav namesto sindromskega pristopa izrazito zmanjša število etiološko opredeljenih črevesnih okužb (3). Sindromski pristop ima številne prednosti, a je klinično tolmačenje takšnih izvidov vzorcev iztrebkov občasno za kli-nika izziv, saj z občutljivimi molekularnimi diagnostičnimi metodami zaznamo tudi nežive mikroorganizme in patogene v majhnih količinah, ali pa v vzorcu iztrebka dokažemo več patogenov hkrati. Pojavi se namreč pomembno klinično vprašanje, kateri patogen je dejansko povzročitelj bolezenskih znakov.

Večina raziskav, v katerih avtorji opredeljujejo klinično uporabnost sindromskega pristo-pa k okužbam prebavil, vključuje hitre kartušne molekularne teste. Rezultati kažejo, da nji-hova uporaba nedvomno izboljša etiološko opredelitev okužb prebavil in lahko pripomore k zmanjšanju skupnih stroškov zdravstvene obravnave (22), vendar obstajajo razlike v ugotovi-tvah neposrednega vpliva takšnega diagnostičnega pristopa na obravnavo bolnikov. Castany-Feixas in sodelavci so opisali pomemben vpliv na izboljšano predpisovanje antibiotičnega zdravljenja v pediatrični populaciji (23), medtem ko so Brendish in sodelavci v randomizirani klinični raziskavi pokazali, da je bila uporaba hitrih kartušnih molekularnih testov povezana celo s povečano uporabo antibiotikov (11). Ne glede na to je rutinska uporaba teh testov neposredno vplivala na skrajšanje časa do rezultata in skrajšanje časa, ki ga bolniki prebijejo v izolaciji (11). V večji retrospektivni raziskavi, ki je vključevala 9.402 bolnika, so Axelrad in sodelavci pokazali, da je bilo z uporabo sindromskega diagnostičnega pristopa potrebnih manj endoskopij, manj slikovne diagnostike in da je prišlo do zmanjšanja predpisovanja an-tibiotikov (4).

ZAKLJUČEK

Sindromska diagnostika okužb prebavil se je smiselno umestila v rutinsko mikrobiološko di-agnostiko, saj ponuja veliko prednosti: od večje občutljivosti metode, hitrejšega dokazovanja večjega števila različnih patogenov, opredeljevanja izbruhov do dokazovanja sočasnih okužb. Na tržišču je na voljo večje število komercialno dostopnih testov, ki se razlikujejo predvsem po tipu testa (kartušni, modularni), trajanju in naboru tarčnih patogenov. Predvsem testi, ki imajo veliko število tarčnih patogenov, pogosto vsebujejo tarče, pri katerih klinični po-men pozitivnega rezultata ni jasen. Interpretacija rezultatov sindromskega testiranja mora potekati v skladu s klinično sliko, naloga laboratorijev pa je izbira testa s premišljenim nabo-rom tarčnih patogenov in komunikacija z lečečim zdravnikom oziroma izdajanje izvidov z ustreznimi komentarji. Da bi izkoristili prednosti, ki jih ponuja sindromski pristop k diagno-stiki, je nujna smotrna in premišljena uporaba takšnega diagnostičnega pristopa.

LITERATURA

1. Dien Bard J, McElvania E. Panels and Syndromic Testing in Clinical Microbiology. *Clin Lab Med.* 2020; 40(4):393–420.
2. Steyer A, Jevšnik M, Petrovec M, Pokorn M, Grosek Š, Fratrik Steyer A, et al. Narrowing of the Diagnostic Gap of Acute Gastroenteritis in Children 0–6 Years of Age Using a Combination of Classical and Molecular Techniques, Delivers Challenges in Syndromic Approach Diagnostics. *Pediatr Infect Dis J.* 2016; 35(9):e262–70.
3. Massa B, Van Hoecke F, Vervaeke S. Physician-directed microbiological testing versus syndromic multiplex PCR in gastroenteritis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2024 Mar 1;43(3):417–22.
4. Axelrad JE, Freedberg DE, Whittier S, Greendyke W, Lebwohl B, Green DA. Impact of Gastrointestinal Panel Implementation on Health Care Utilization and Outcomes. *J Clin Microbiol.* 2019; 57(3):e01775-18.
5. Freeman K, Mistry H, Tsertsvadze A, Royle P, McCarthy N, Taylor-Phillips S, et al. Multiplex tests to identify gastrointestinal bacteria, viruses and parasites in people with suspected infectious gastroenteritis: a systematic review and economic analysis. *Health Technol Assess Winch Engl.* 2017;21(23):1–188.
6. Liu J, Kabir F, Manneh J, Lertsethtakarn P, Begum S, Gratz J, et al. Development and assessment of molecular diagnostic tests for 15 enteropathogens causing childhood diarrhoea: a multicentre study. *Lancet Infect Dis.* 2014;14(8):716–24.
7. Bruijnesteijn Van Coppenraet LES, Dullaert-de Boer M, Ruijs GJHM, Van Der Reijden WA, Van Der Zanden AGM, Weel JFL, et al. Case–control comparison of bacterial and protozoan microorganisms associated with gastroenteritis: application of molecular detection. *Clin Microbiol Infect.* 2015;21(6):592.e9–592.e19.
8. Miller JM, Binnicker MJ, Campbell S, Carroll KC, Chapin KC, Gonzalez MD, et al. Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2024 Update by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM) *. *Clin Infect Dis.* 2024 ;ciae104.
9. Hebbelstrup Jensen B, Jokelainen P, Nielsen ACY, Franck KT, Rejkjær Holm D, Schønning K, et al. Children Attending Day Care Centers are a Year-round Reservoir of Gastrointestinal Viruses. *Sci Rep.* 2019 ;9(1):3286.
10. Davies AP, Campbell B, Evans MR, Bone A, Roche A, Chalmers RM. Asymptomatic carriage of protozoan parasites in children in day care centers in the United kingdom. *Pediatr Infect Dis J.* 2009;28(9):838–40.
11. Brendish NJ, Beard KR, Malachira AK, Tanner AR, Sanga-Nyirongo L, Gwiggner M, et al. Clinical impact of syndromic molecular point-of-care testing for gastrointestinal pathogens in adults hospitalised with suspected gastroenteritis (GastroPOC): a pragmatic, open-label, randomised controlled trial. *Lancet Infect Dis.* 2023 ;23(8):945–55.
12. Schuetz AN. Emerging agents of gastroenteritis: Aeromonas, Plesiomonas, and the diarrheagenic pathotypes of Escherichia coli. *Semin Diagn Pathol.* 2019;36(3):187–92.
13. Hebbelstrup Jensen B, Olsen KEP, Struve C, Krogfelt KA, Petersen AM. Epidemiology and clinical manifestations of enteroaggregative Escherichia coli. *Clin Microbiol Rev.* 2014;27(3):614–30.
14. Hu J, Torres AG. Enteropathogenic Escherichia coli: foe or innocent bystander? *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis.* 2015;21(8):729–34.
15. Huovinen E, Sihvonen LM, Virtanen MJ, Haukka K, Siitonen A, Kuusi M. Symptoms and sources of Yersinia enterocolitica-infection: a case-control study. *BMC Infect Dis.* 2010;10(1):122.
16. Ramanan P, Bryson AL, Binnicker MJ, Pritt BS, Patel R. Syndromic Panel-Based Testing in Clinical Microbiology. *Clin Microbiol Rev.* 2018;31(1):e00024-17.

-
17. Maldonado-Garza HJ, Garza-González E, Bocanegra-Ibarias P, Flores-Treviño S. Diagnostic syndromic multiplex approaches for gastrointestinal infections. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2021 ;15(7):743–57.
 18. Huang RSP, Johnson CL, Pritchard L, Hepler R, Ton TT, Dunn JJ. Performance of the Verigene® enteric pathogens test, Biofire FilmArray™ gastrointestinal panel and Luminex xTAG® gastrointestinal pathogen panel for detection of common enteric pathogens. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2016;86(4):336–9.
 19. Caza M, Kuchinski K, Locher K, Gubbay J, Harms M, Goldfarb DM, et al. Investigation of suspected false positive norovirus results on a syndromic gastrointestinal multiplex molecular panel. *J Clin Virol.* 2024 ;175:105732.
 20. Yoo J, Park J, Lee HK, Yu JK, Lee GD, Park KG, et al. Comparative Evaluation of Seegene Allplex Gastrointestinal, Luminex xTAG Gastrointestinal Pathogen Panel, and BD MAX Enteric Assays for Detection of Gastrointestinal Pathogens in Clinical Stool Specimens. *Arch Pathol Lab Med.* 2019 ;143(8):999–1005.
 21. Hata DJ, Powell EA, Starolis MW. Utility and Recommendations for the Use of Multiplex Molecular Gastrointestinal Pathogen Panels. *J Appl Lab Med.* 2023 ;8(6):1148–59.
 22. Beal SG, Tremblay EE, Toffel S, Velez L, Rand KH. A Gastrointestinal PCR Panel Improves Clinical Management and Lowers Health Care Costs. *J Clin Microbiol.* 2018;56(1):e01457-17.
 23. Castany-Feixas M, Simo S, Garcia-Garcia S, Fernandez de Sevilla M, Launes C, Kalkgruber M, et al. Rapid molecular syndromic testing for aetiological diagnosis of gastrointestinal infections and targeted antimicrobial prescription: experience from a reference paediatric hospital in Spain. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2021;40(10):2153–60.

OBRAVNAVA AKUTNE INFEKCIJSKE DRISKE V URGENTNI AMBULANTI

APPROACH TO PATIENTS WITH ACUTE INFECTIOUS DIARRHEA IN THE EMERGENCY ROOM

Tadeja Kotar^{1,2}, Janina Tamše¹, Barbara Šoba Šparl³, Mateja Pirš³, Tina Triglav³

¹Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja, UKC Ljubljana

²Katedra za infekcijske bolezni in epidemiologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

³Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska Fakulteta, Univerza v Ljubljani

IZVLEČEK

Akutne infekcijske driske so pogost vzrok za obolevanje po vsem svetu. Glede na etiologijo jih lahko ločimo na driske, pridobljene v domačem okolju, v bolnišnicah, potovalne driske in driske pri imunsko oslabljenih osebah. Vsaka skupina ima značilne povzročitelje in potek bolezni. Klinična slika običajno vključuje tekoče odvajanje blata, lahko pa tudi slabost, bruhanje, vročino in bolečine v trebuhu. Pomembna je natančna anamneza, ki pomaga pri določanju možnega vzroka. Diagnostika temelji na kliničnem pregledu, po potrebi pa tudi na mikrobioloških preiskavah blata (koprokultura, molekularne metode, mikroskopija) in hemokulturah. Za virusne povzročitelje so najbolj zanesljive molekularne metode, za parazite pa mikroskopski in molekularni pregledi več vzorcev blata. Zdravljenje je večinoma podporno – najpomembnejša je rehidracija. Antibiotiki se uporabljajo le v določenih primerih (huda klinična slika, ogroženi bolniki), saj lahko v določenih primerih celo poslabšajo potek in izid bolezni.

Ključne besede: akutna driska, diagnostika, hidracija, antibiotično zdravljenje

ABSTRACT

Acute infectious diarrhoeas represent a significant cause of morbidity globally. Based on etiology, they can be categorized into community-acquired diarrhea, nosocomial (hospital-acquired) diarrhea, traveler's diarrhea, and diarrhea in immunocompromised individuals. Each category is associated with characteristic pathogens and a distinct clinical course. The clinical presentation typically includes watery stools and may be accompanied by nausea, vomiting, fever, and abdominal pain. A thorough medical history is essential to guide the identification of the likely causative agent. Diagnosis is primarily clinical but may require microbiological investigations, including stool culture, polymerase chain reaction (PCR), microscopy, and blood cultures. Molecular diagnostic methods are the most reliable for detecting viral pathogens, while parasitic infections are best identified through microscopic and molecular examination

of multiple stool specimens. Management is predominantly supportive, with rehydration being the cornerstone of therapy. Antimicrobial treatment is reserved for specific indications, such as severe clinical manifestations or high-risk patients, as inappropriate use may worsen disease progression and outcomes.

Keywords: acute diarrhoea, diagnostics, hydration, antibiotic therapy

UVOD

Definicija driske je odvajanje tekočega blata vsaj trikrat dnevno, katerega pogosto spremljajo simptomi, kot so slabost, bruhanje in krčevite bolečine v trebuhu. Glede na dolžino trajanja lahko drisko razdelimo na akutno (traja manj kot 14 dni), vztrajajočo (od 14 do 29 dni), ter kronično drisko (traja več kot 30 dni) (1). V prispevku smo se osredotočili predvsem na akutne infekcijske driske, s katerimi se največkrat srečujemo v urgentnih ambulantah, in njihovo obravnavo. Akutna driska je večinoma infekcijskega vzroka in že natančna anamneza in klinični pregled nam lahko pomagata pri postavitvi prave diagnoze (2). Dilema, ki se je dotaknemo v prispevku, je predvsem odločitev, v katerih primerih je smiselno etiološko opredeliti akutno drisko ter s katerimi mikrobiološkimi preiskavami in kdaj uvesti izkustveno antibiotično zdravljenje.

EPIDEMIOLOGIJA

Diarealna obolenja so ena izmed napogostejših obolenj, tako v nerazvitem kot tudi v razvitem svetu. V Sloveniji je bilo v letu 2023 prijavljenih 6387 primerov akutnih infekcijskih drisk. Od maja 2018 dalje se sicer posameznih primerov akutnih drisk, kjer povzročitelj ni znan, ne prijavlja več, zato je incidenca od takrat navidezno nižja. Še vedno pa ostaja obvezna prijava akutnih črevesnih okužb, kjer je povzročitelj opredeljen (3). Trije najpogostejši bakterijski povzročitelji akutne infekcijske driske ostajajo *Campylobacter spp.*, *Salmonella spp.* in *Escherichia coli*, so pa v letu 2023 narasle prijave šigeloz, okužb s *Clostridoides difficile* in parazitskih okužb. Med virusi najpogostejše dokažemo noroviruse, rotaviruse in adenoviruse (3, 4). Najpogostejši rezervoar za infekcijsko drisko so predvsem ljudje in nekatere živali. Okužba se prenaša večinoma posredno preko okužene hrane in vode ter preko kontaminiranih površin in rok. Pogostost obolenja je med spoloma približno enaka, glede na starost pa pogostejše zbolevajo otroci. Več primerov infekcijskih drisk zasledimo v poletnih mesecih (4).

ETIOLOGIJA DRISKE

Etiologija driske je poleg individualnih značilnosti posameznika povezana z mestom, kjer je bila pridobljena, zato jo glede na to lahko razdelimo v štiri skupine, in sicer driska, pridobljena v domačem okolju, bolnišnična oziroma nosokomialna driska, potovalna driska in driska pri osebah z imunsko motnjo. (Preglednica 1) (1).

Večinoma bolniki **driske**, ki so **pridobljene v domačem okolju**, prebolijo brez potrebe po zdravniški obravnavi. V takšnem primeru so najpogostejši povzročitelji kampilobaktiri, salmonele, rotavirusi in adenovirusi. V primeru kratkotrajne driske mikrobiološke preiskave niso potrebne, razen v primeru, ko obstaja epidemiološka indikacija (1, 5).

V bolnišnici pridobljena driska je tista, ki se pojavi po 48 urah od sprejema v bolnišnico. Najpomembnejši bakterijski povzročitelj je v tem primeru *C. difficile*, ki povzroča 15 do 30 % vseh epizod driske, povezane z antibiotiki. Med virusnimi povzročitelji prevladujejo rotavirusi in norovirusi. Pri bolnišnično pridobljeni driski je pomembna etiološka opredelitev povzročitelja zaradi uvedbe ustreznega zdravljenja in preprečevanja širjenja bolezni na druge bolnike (6).

Driska pri bolnikih z imunsko oslabeleostjo poteka huje in je povezana s pogostejšimi hospitalizacijami ter večjo smrtnostjo. Tudi sama etiologija driske je drugačna kot pri zdravih posameznikih, driske povzročene z običajnimi povzročitelji črevesnih okužb pa lahko potekajo huje. Pri bolnikih z imunsko oslabeleostjo so pogoste tudi okužbe z oportunističnimi patogeni, pomisliti moramo tudi na neinfekcijske vzroke, kot so z zdravili povzročene driske (antibiotiki, kemoterapevtiki, imunosupresivna terapija ipd.) in GVHD (bolezen presadka proti gostitelju *angl.* Graft versus host disease) pri bolnikih po transplantaciji krvotvornih matičnih celic (1, 7). Pri bolnikih z imunsko motnjo moramo vedno misliti tudi na možnost sistemske okužbe, zato je poleg mikrobiološkega pregleda iztrebkov potrebno odvzeti kri za hemokulture. Za diagnosticiranje določenih črevesnih okužb s paraziti, kot je *Strongyloides stercoralis* (predvsem bolniki na terapiji s kortikosteroidi), so pomembne tudi serološke preiskave (1).

Potovalna driska prizadene 30 do 70 % popotnikov, odvisno od območja in obdobja potovanja. Med bakterijskimi povzročitelji je najpogostejša enterotoksigena *E. coli* (ETEC), sledijo *Campylobacter jejuni*, *Shigella* spp. in *Salmonella* spp. Enterogregativna (EAEC) in druge *E. coli*, ki povzročajo driske, so prav tako pogosti vzrok potovalne driske. Tudi pri popotnikih virusno drisko najpogosteje povzročajo norovirusi, rotavirusi in astrovirusi. Paraziti, kot so *Giardia duodenalis*, *Entamoeba histolytica* in *Cryptosporidium* spp., so pomembni povzročitelji driske pri popotnikih zlasti na daljšem potovanju.

Tabela 1. Opredelitev akutnih infekcijskih drisk.

Driska, pridobljena v domačem okolju	Driska, pridobljena v bolnišničnem okolju	Potovalna driska	Driska pri imunsko oslabilih
Kampilobakteri, salmonela, rotavirus, norovirus	<i>Clostridioides difficile</i> , rotavirus, norovirus	Enterotoksigena in druge <i>Escherichia coli</i> , kampilobakter, šigela, norovirus, rotavirus, astrovirus, paraziti!!	Salmonela, kampilobakter, šigela, norovirusi, citomegalovirus
Bolniki večinoma prebolevajo doma.	Pojavi se 48 ur od sprejema v bolnišnico.	Prizadene 30–70 % popotnikov.	Pogostejše okužbe z oportunističnimi patogeni. Možna sistemska okužba!

ANAMNEZA IN KLINIČNA SLIKA

V razvitih regijah je akutna driska skoraj vedno blago samoomejujoče stanje, ki izzveni v nekaj dneh. Trajanje bolezni in klinična slika se razlikujeta glede na etiologijo driske in dejavnike gostitelja. V diagnostičnem postopku je potrebna skrbna anamneza, saj nam le-ta pomaga bolezen umestiti v epidemiološki prostor, ugotoviti težo bolezni in možnosti za zaplete (8). Tabela 2 prikazuje najpogostejše anamnestične podatke, ki nam pomagajo pri ugotavljanju možnega vzroka in potrebi po nadaljnji diagnostiki.

Tabela 2. Anamnestični podatki pri bolnikih z drisko, povzeto po (9).

Osnovna anamneza glede na simptome:
– začetek simptomov – količina odvajanja blata, pogostost, trajanje – značilnosti blata (barva, konsistenca, prisotnost sluzi, krvi) – slabost, bruhanje, vročina, bolečine v trebuhu
Dodatni pomembni anamnestični podatki:
– nedavna potovanja – izpostavljenost okuženi vodi / hrani – stik z bolnimi osebami – poklic, ki ga bolnik opravlja – anamneza o spolnem vedenju – pridružene bolezni – predhodna uporaba antibiotične terapije in drugih zdravil

Pri bolniku moramo biti pozorni tudi na znake dehidracije ali septičnega dogajanja (2). Klinični pregled mora biti osredotočen predvsem na oceno teže bolezni in stopnje dehidracije. Potrebno je upoštevati splošni videz bolnika, oceniti periferne pulze, turgor kože in kapilarni povratek, saj ti kazalniki pomagajo pri oceni dehidracije (9).

DIAGNOSTIKA

Diagnozo postavimo na osnovi anamneze in kliničnega pregleda. Mikrobiološka diagnostika večinoma ni potrebna, saj je večina okužb samoomejujočih. Glede na izpostavljenost in klinično sliko se odločimo o vrstah preiskav iztrebkov: koprokultura, mikroskopski pregled ali molekularna diagnostika. Na voljo imamo tudi molekularne preiskave v sklopu sindromske diagnostike, ki je natančneje predstavljena v prispevku »Sindromska diagnostika okužb prebavil«.

Mikrobiološka diagnostika je smiselna

- ob sumu na invazivno obliko okužbe
- če simptomi in znaki trajajo več kot 7 dni
- ob anamnezi predhodnega jemanja antibiotika
- v primeru večjega števila obolelih s podobnimi epidemiološkimi podatki,
- po vrnitvi iz tropskih krajev in krajev s slabšimi higienskimi standardi in slabo epidemiološko situacijo glede povzročiteljev črevesnih okužb (npr. Pakistan, Nepal, Maroko, Egipt ...) (epidemiološki pomen)
- zaradi izključitve infektivnega vzroka pri zagonu kronične vnetne črevesne bolezni (KVČB) in
- pri bolnikih z imunskimi motnjami

Hemokulture odvajamo pri otrocih, mlajših od 3 mesecev, pri bolniku katerekoli starosti z znaki sepse (in ob sumu na invazivno obliko okužbe), pri bolnikih z imunsko motnjo in ob sumu na trebušni tifus.

Diagnostika bakterijskih okužb prebavil

Standardni postopek za odkrivanje povzročiteljev bakterijskih drisk je kultivacija z uporabo nabora različnih selektivnih in diferencialnih gojišč, ki omogočijo kultivacijo najpogostejših bakterijskih patogenov. Osnovna preiskava blata v našem okolju običajno vključuje preiskave na salmonele, šigele, kampilobaktrije in jersinije; preiskavo na kratko poimenujemo koprokultura. Salmonele in šigele iščemo na gojišču, kot sta npr. ksiloza-lizin-deoksiholat agar (angl. Xylose lysine deoxycholate agar, XLD agar) ali *Salmonella Shigella* agar (SS agar). Izolacijo salmonel lahko dodatno izboljšamo z uporabo obogatitvenega tekočega gojišča, npr. selenitnega bujona, ki ga po prekonočni inkubaciji subkultiviramo na gojišče za salmonele in šigele. Kultivacijo jersinij izboljšamo z uporabo specifičnih gojišč (pr. Cefsulodin-Irgasan-Novobiocin, CIN agar) ali z uporabo specifičnega kromogenega gojišča; gojišče za jersinije inkubiramo pri nižji temperaturi, običajno med 28–30 °C. Kampilobaktrije iščemo na gojišču za kampilobaktrije, ki običajno vsebujejo oglje (npr. Karmali agar). Izplen lahko izboljšamo z uporabo specifičnega kromogenega gojišča; gojišče za kampilobaktrije, ki povzročajo drisko, inkubiramo v mikroaerofilni atmosferi pri 42 °C. Nabor gojišč lahko vključuje krvni agar, s pomočjo katerega lahko najdemo tudi druge patogene, kot so *Aeromonas* spp., *Plesiomonas* spp. in *Vibrio* spp. (19, 20, 23). Za kultivacijo vibrijev v specifični epidemiološki situaciji se priporoča uporaba alkalne peptonske vode kot transportno in obogatitveno gojišče ter klutivacija na specifičnem gojišču (Thiosulphate citrate bile salts sucrose agar, TCBS) (19, 23).

Predvsem v ZDA, pa tudi v Veliki Britaniji se poleg osnovne preiskave blata na salmonele, šigele in kampilobaktrije priporoča tudi kultivacija diareogenih *Escherichia coli*, ki izločajo šigove toksine (STEC; sinonim so verotoksigene *E. coli*, VTEC) (19, 20, 23). V Evropi se v večini držav detekcija STEC izvaja predvsem v primeru krvave driske in v sklopu diagnostike hemolitično-uremičnega sindroma, predvsem pri otrocih do 15 let, pa tudi pri starostnikih nad 65 let (20, 22, 23). V ta namen lahko uporabljamo določena bolj specifična gojišča (npr. Cefixime tellurite sorbitol MacConkey agar, CT-SMAC za *E. coli* O157), vključno s kromogenimi gojišči, za dokončno potrditev STEC pa je potreben dokaz toksina z antigenскими ali molekularnimi metodami in opredelitev serotipa (19, 23).

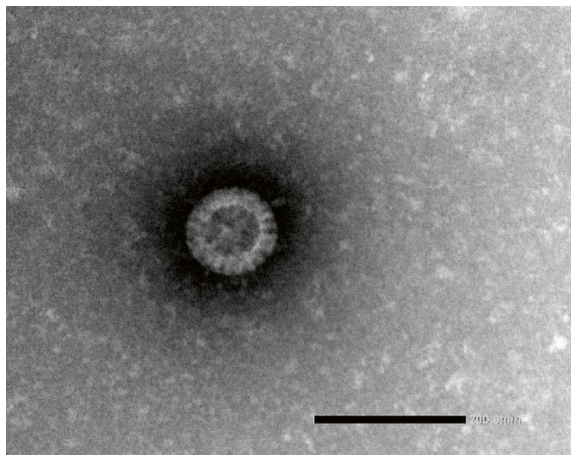
Za dokazovanje okužbe s *C. difficile* po priporočilih ESCMID lahko kot začetni presejalni test dokazujemo prisotnost *C. difficile* z dokazom prisotnosti glutamatdehidrogenaze, osnovni test pa je dokaz prisotnosti gena za toksin z molekularnimi metodami oziroma samega prostega toksina v blatu z antigenским testom. Sočasno lahko izvajamo tudi kultivacijo *C. difficile* na specifičnih gojiščih v anaerobnih pogojih (19, 20, 21, 23).

Diagnostika virusnih okužb prebavil

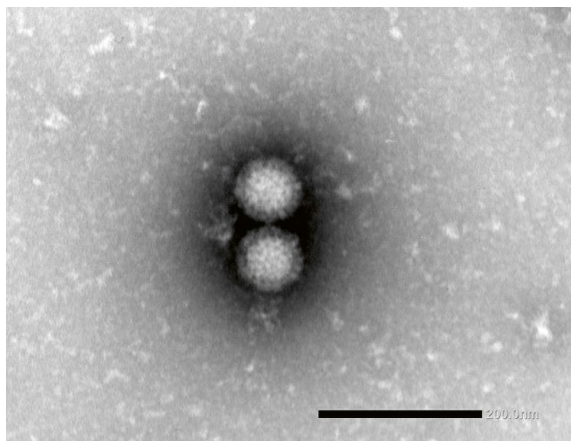
Metoda izbora pri diagnostiki virusnih okužb prebavil je dokaz virusnega genoma v iztrebkih ali izbruhanini z molekularnimi metodami, ki večinoma temeljijo na hkratnem PCR v realnem času (angl. multiplex real-time *polymerase chain reaction* – PCR) (10). Izbruhanina je manj primerna kužnina od iztrebkov, saj je v njej koncentracija virusov manjša. Svetuje se, da se vzorci odvzamejo čim prej po začetku kliničnih znakov bolezni. Z molekularnimi metodami dokazujemo rotaviruse skupine A, noroviruse GI/GII, adenoviruse F 40/41, astroviruse in sapoviruse. Antigenški testi dosegajo veliko občutljivost in specifičnost le za dokazovanje okužb z rotavirusi (10). V iztrebkih lahko viruse dokažemo tudi s transmissijskim elektronskim mikroskopom (TEM). Metoda je

primerna za hitro laboratorijsko diagnostiko, saj z njo lahko vidimo katerikoli virus, če je prisoten v zadostni koncentraciji: več kot 10^6 virusov na 1 ml kužnine (11). Prednost TEM je, da lahko v iztrebkih dokažemo tudi prisotnost virusov, ki niso vključeni v različne nabore hkratnih PCR, torej so molekularni testi negativni. Na Inštitutu za mikrobiologijo in imunologijo smo tako v zadnjem letu dokazali prisotnost reovirusov, rotavirusov skupine C (Slika 1, 2) in adenovirusov, ki ne pripadajo skupini F 40/41. V primeru izbruhov lahko za potrebe molekularno-epidemioloških raziskav opravimo genotipizacijo rotavirusov in norovirusov.

Slika 1. Rotavirus v vzorcu blata (molekularno potrjena skupina C). Negativno kontrastiranje. Velikost merila: 200 nm.



Slika 2. Reovirus. Negativno kontrastiranje. Velikost merila: 200 nm.



Sliki pripravil M. Kolenc.

Mikrobiološka diagnostika ob sumu na drisko, povzročeno s paraziti

Ob sumu na drisko, povzročeno s paraziti, odvezamemo vsaj tri vzorce blata za mikroskopski pregled. Vzorci naj bodo odvzeti v različnih dneh, najbolje vsak drugi dan. Zaradi precej

kompleksnih življenjskih ciklov se paraziti oziroma njihove razvojne oblike v blatu ne izločajo stalno, zato se z večkratnim odvzemom poveča občutljivost preiskave (12). Običajno odvajamo prva dva vzorca v posodici, ki sta polnjeni s konzervansom, zadnji vzorec pa v čisto, prazno posodico, iz katere lahko parazite po potrebi tudi gojimo v/na gojiščih, ali pa jih dokazujemo z molekularnimi preiskavami. Najpogostejši povzročitelji parazitskih drisk, ki so pridobljene v domačem okolju, so prazivali *Cryptosporidium* spp. in *Giardia duodenalis*. Prisotnost kriptosporidijev v blatu ugotavljamo z dokazovanjem njihovih antigenov z neposrednim imunofluorescenčnim testom ali molekularnimi preiskavami v sklopu sindromske diagnostike, pri ugotavljanju prisotnosti giardij pa z omenjenimi preiskavami povečamo diagnostično občutljivost. Helminti (črvi) redko povzročajo driske, med njimi sta njihovi najpogostejši povzročiteljici glisti *Trichuris trichiura* in *S. stercoralis* (12, 13). Za ugotavljanje slednje so poleg mikroskopskega pregleda blata na voljo tudi občutljive molekularne preiskave in zgoraj omenjene posredne serološke preiskave, ki se običajno uporabljajo za presejalno testiranje bolnikov z velikim tveganjem za okužbo. Pri imunsko oslabelem bolniku lahko drisko povzročijo tudi oportunisti, npr. *Cystoisospora belli* ali mikrosporidiji (12). Pri popotnikih je lahko driska posledica okužbe z nekaterimi paraziti, ki v Sloveniji niso endemični, npr. s prazivalmi *Entamoeba histolytica* in *Cyclospora cayetanensis* ter z glisto *Capillaria philippinensis* in povzročitelji intestinalne schistosomoze (14). *E. histolytica* je morfološko zelo podobna nepatogenim, komenzalnim amebam prebavil, zato na osnovi mikroskopskega pregleda med njimi ne moremo ločiti. Potrdimo jo z molekularnimi preiskavami, pri sumu na invazivno amebozo pa lahko naročimo posredne serološke preiskave. Te so na voljo tudi za ugotavljanje protiteles proti schistosomam.

Ne smemo pozabiti, da je lahko driska zgodnji simptom okužbe z glisto *Trichinella spiralis* in da je pogosto prisotna pri bolnikih z malarijo, predvsem tropiko (13).

ZDRAVLJENJE

Pri zdravljenju je najpomembnejša opredelitev stopnje dehidracije. Za večino infekcijskih drisk zadostuje podporna terapija, simptomi izzvenijo že v roku 48 ur. Bolnikom z blago do zmerno dehidracijo tekočine nadomeščamo enteralno s pomočjo oralnih rehidracijskih raztopin, ki jih lahko pripravijo doma ali pa kupijo v lekarni. Pri znakih hude dehidracije ali hudem bruhanju je potreben parenteralni vnos tekočin in elektrolitov (2).

Antibiotično zdravljenje se na splošno odsvetuje pri bolnikih, ki so imunsko zdravi in preblevajo kratkotrajno nekrvavo drisko, ki ni povezana s potovanjem. Izkušvena uporaba antibiotikov ni priporočljiva, saj morebitne koristi v obliki skrajšanja trajanja simptomov ne odtehtajo tveganj, kot so neželeni učinki, razvoj odpornosti bakterij in večja verjetnost okužbe s *C. difficile*. Prav tako se antibiotiki odsvetujejo pri stabilnih bolnikih s sumom na okužbo z *E. coli*, ki tvori toksin šiga (enterohemoragična *E. coli* oziroma EHEC), najpogostejše sev O157:H7. V tem primeru antibiotiki ne zmanjšajo simptomov ali zapletov okužbe, temveč lahko povečajo tveganje za razvoj hemolitično-uremičnega sindroma (15).

Izkustveno antibiotično zdravljenje je priporočljivo pri hudih oblikah bolezni, kadar imamo pri bolniku vročino nad 38,5 °C, ob tem znake hipovolemije, 6 ali več neformiranih iztrebljanj v roku 24 ur ali hude bolečine v trebuhu. Prav tako se svetuje uvedba antibiotika pri bolnikih z visokim tveganjem za zaplete: starejši od 70 let, bolniki s srčnimi obolenji,

imunsko oslabljeni posamezniki, bolniki z vnetnimi črevesnimi boleznimi in nosečnice. V teh primerih korist antibiotične terapije verjetno presega nizko tveganje morebitnih zapletov zaradi zdravljenja potencialne EHEC (15).

Pri odraslih naj bi izkustvena protimikrobna terapija vključevala bodisi ciprofloksacin ali azitromicin, kar je odvisno od lokalnih vzorcev občutljivosti bakterij in potovalne anamneze (16). V Sloveniji so bili v letu 2021 poročani podatki za 856 primarnih izolatov kampilobakterov, od tega 799 *C. jejuni* in 57 *C. coli*, v letu 2022 pa 938 izolatov, od tega 814 *C. jejuni* in 124 *C. coli*. V analize občutljivosti je bilo od tega zajetih 798 izolatov *C. jejuni* in vsi izolati *C. coli* za leto 2021 in vsi izolati obeh bakterij za leto 2022. Potrjeno je, da obe bakteriji ostajata visoko občutljivi za makrolide, saj je bilo manj kot 1 % izolatov obeh vrst odpornih proti makrolidom. Nasprotno pa sta obe vrsti v več kot 80 % odporni proti kinolonom (18).

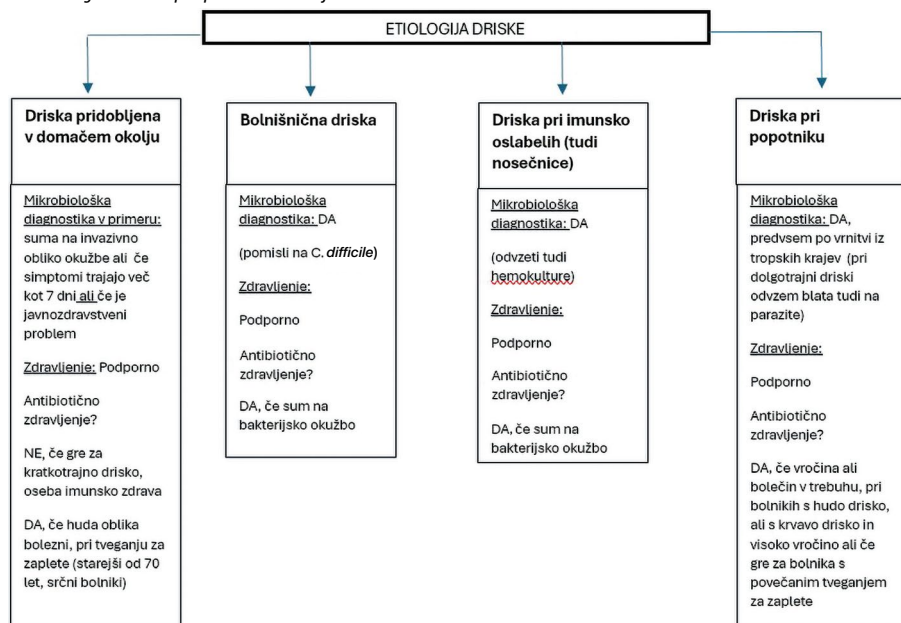
Pri izbiri antibiotične terapije se prednostno uporablja azitromicin, odmerek lahko znaša 1 g v enkratnem odmerku ali 500 mg enkrat dnevno, 3 dni. Ciprofloksacin se lahko uporablja v odmerku 750 mg enkrat dnevno ali 500 mg dvakrat dnevno, skupno tri do pet dni, levofloksacin pa 500 mg enkrat dnevno tri do pet dni. Pri hudih oblikah driske, ki se pojavi po nedavni antibiotični terapiji (znotraj zadnjih treh mesecev), je smiselno izkustveno zdravljenje okužbe s *C. difficile*, če je klinični sum velik. Pri nosečnicah z drisko, ki jo spremljajo vročina ali znaki sistemske okužbe, in ki so bile potencialno izpostavljene bakteriji *Listeria monocytogenes*, zdravljenje pogosto vključuje antibiotike, učinkovite proti tej bakteriji (ampicilin). Pri bolnikih s hudo vodenno drisko in morebitno izpostavljenostjo koleri v primeru potovanja v endemična ali epidemična področja, je smiselno uvesti izkustveno zdravljenje za *Vibrio cholerae*. Pri bolnikih s hudo obliko bolezni in sumom na šigelozo, ki so v rizičnih skupinah za okužbe z odpornimi bakterijami (npr. moški, ki imajo spolne odnose z moškimi, mednarodni popotniki, osebe, okužene s HIV/aidom in brezdomci), je priporočljivo izkustveno zdravljenje s karbapenemi do znanega rezultata občutljivosti bakterij (15).

Za večino popotnikov z drisko se zdravljenje z antibiotiki ne priporoča. Indikacije za zdravljenje vključujejo popotnike z vročino ali bolečinami v trebuhu, tiste s hudo drisko, popotnike s krvavo drisko in visoko vročino ter popotnike z bolezenskimi stanji, ki povečajo tveganje za zaplete ob driski (17).

Koristi specifičnih prehranskih priporočil razen ustrezne oralne hidracije v kontroliranih raziskavah niso bile jasno dokazane, vendar pa je ustrezna prehrana med epizodo akutne driske pomembna za obnovo enterocitov. Če bolnik ob izgubi apetita, slabosti in bruhanju kratkoročno uživa samo tekočine, le-to ne bo škodljivo. Pri bolnikih z vodenno drisko so priporočljiva kuhana škrobna živila in žita (krompir, testenine, riž, pšenica, oves ipd.) ob dodatku soli. Prav tako so primerni krekerji, banane, juhe in kuhana zelenjava. Bolniki naj se izogibajo živilom z visoko vsebnostjo maščob. Mlečni izdelki so pri driski lahko težje prebavljivi zaradi sekundarne laktozne malabsorpcije, zato je priporočljivo, da se bolniki izogibajo hrani, ki vsebuje laktozo (15).

V primeru hude driske lahko uporabimo antiperistaltike (loperamidjev klorid), vendar je potrebna posebna previdnost v primeru krvave driske ali pri vročini. V primeru, da se pojavijo zaprtje ali znaki ileusa, je potrebno z jemanjem takoj prenehati (2).

Slika 3. Algoritem ukrepov pri akutni infekcijski driski.



ZAKLJUČEK

Akutna infekcijska driska predstavlja pogost klinični izziv v urgentni medicini, kjer sta natančna anamneza in klinični pregled ključnega pomena za prepoznavanje vzroka obolenja. Kljub temu da je večina primerov akutne driske samoomejujočih, lahko specifična mikrobiološka diagnostika pripomore k določanju etiologije, vendar le v določenih primerih, kjer to vpliva na obravnavo bolnika. V splošnem se mikrobiološke preiskave izvajajo selektivno, ob upoštevanju klinične slike in epidemioloških dejavnikov. Odločitev o uvedbi antibiotičnega zdravljenja je pogosto zapletena in zahteva premišljen pristop, saj lahko nepotrebna uporaba antibiotikov poslabša potek bolezni in poveča odpornost na antibiotike. Ključni element zdravljenja akutne infekcijske driske ostaja rehidracija, ki predstavlja osnovni terapevtski ukrep, omogoča hitro izboljšanje stanja in preprečuje resne zaplete.

LITERATURA

- Kotar T, Pirš M, Poljšak Prijatelj M, Skvarč M, Lejko Zupanc T. Sodobna diagnostika akutne driske. V: Beović B, Lejko Zupanc T., Tomažič J, eds. Stopenjska diagnostika in zdravljenje pogostih okužb. Infektološki simpozij 2017; 2017: 135-45.
- Javornik K, Kotar T. Gastroenterokolitisi. Šola urgentne medicine 2022 Zbornik 4. letnik II cikel; str. 151 – 7.
- Grilc E, Praprotnik M, Trkov M, Kotnik E, Berce I, Car Drnovšek T. Črevesne nalezljive bolezni in zoonoze v Sloveniji v letu 2023. Epidemiološko spremljanje nalezljivih bolezni v Sloveniji. 2025:1-29. [citirano 19.03.2025]. Dostopno na: <https://nijz.si/nalezljive-bolezni/crevesne-nalezljive-bolezni-in-zoonoze-v-sloveniji/>
- Tomažič J in Srle F s sodelavci. Infekcijske bolezni. Združenje za infektologijo, Slovensko zdravniško društvo Ljubljana 2014/2015, Poglavlje 12, Okužbe prebavil, Infekcijska driska; p. 335-45.

-
5. Zollner-Schwetz I, Krause R. Therapy of acute gastroenteritis: role of antibiotics. *Clin Microbiol Infect.* 2015 Aug;21(8):744-9. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2015.03.002>
 6. Zupanc Lejko T, Logar M. Črevesne bolnišnične okužbe. *Med. Razgl.* 2015; str. 168 – 70.
 7. Gould LH, Bartsch SM, Gauthier J, et al. Acute diarrhea in the hospitalized immunocompromised patient: what is new on diagnostic and treatment? *Curr Opin Crit Care.* 2024;30(5):1-8. doi:10.1097/MCC.0000000000001013
 8. Shane AL, Mody RK, Crump JA, et al. Infectious Diarrhea in Children. In: *Infectious Diseases in Children*, 3rd edition. National Library of Medicine, National Institutes of Health; 2019. Dostopno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK448082/>
 9. Meisenheimer ES, Epstein C, Thiel D. Acute diarrhea in adults. *Am Fam Physician.* 2022;106(1):72-80. Dostopno na: <https://www.aafp.org/pubs/afp/issues/2022/0700/acute-diarrhea.html>
 10. Flynn TG, Olortegui MP, Kosek MN. Viral gastroenteritis. *The Lancet.* 2024 Mar 2;403(10429):862–76.
 11. Goldsmith CS, Miller SE. Modern uses of electron microscopy for detection of viruses. Vol. 22, *Clinical Microbiology Reviews.* 2009. p. 552–63.
 12. Garcia LS. Diagnostic medical parasitology. 6th ed. Washington: ASM Press; 2016
 13. WHO Scientific Working Group. Parasite related diarrhoeas. WHO Scientific Working Group. *Bull World Health Organ.* 1980;58(6):819-30. PMID: 6971185; PMCID: PMC2396014.
 14. Showler AJ, Wilson ME, Kain KC, Boggild AK. Parasitic diseases in travelers: a focus on therapy. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2014 Apr;12(4):497-521. doi: 10.1586/14787210.2014.892827. Epub 2014 Mar 3. PMID: 24579746.
 15. R. LaRocque, J.B. Harris. Approach to the adult with acute diarrhea in resource-abundant settings. [citirano 19.03.2025]. Dostopno na: https://www.uptodate.com/contents/approach-to-the-adult-with-acute-diarrhea-in-resource-abundant-settings?search=diarrhea%20EMPIRIC%20TREATMNT&source=search_result&selectedTitle=1%7E150&usage_type=default&display_rank=1
 16. A. L. Shane, R. K. Mody in sod. IDSA 2017 Clinical Practice Guidelines for Diagnosis and Management of Infectious Diarrhea. [citirano 19.03.2025]. Dostopno na: <https://www.idsociety.org/practice-guideline/infectious-diarrhea/>.
 17. LaRocque, J.B. Harris. Travelers diarrhea: Treatment and prevention. [citirano 19.03.2025]. Dostopno na: https://www.uptodate.com/contents/travelers-diarrhea-treatment-and-prevention?search=travelers%20diarrhea%20treatment&source=search_result&selectedTitle=1%7E61&usage_type=default&display_rank=1
 18. Grilc E, Praprotnik M, Trkov M, Kotnik E, Berce I, Car Drnovšek T. Črevesne nalezljive bolezni in zoonoze v Sloveniji v letu 2022. Epidemiološko spremljanje nalezljivih bolezni v Sloveniji. 2024;1-28. Dostopno na: <https://nijz.si/nalezljive-bolezni/epidemiolosko-spremljanje-nalezljivih-bolezni-v-sloveniji/>
 19. J Michael Miller, et al. Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2024 Update by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM) , *Clinical Infectious Diseases*, 2024;
 20. Humphries RM, Linscott AJ. Laboratory diagnosis of bacterial gastroenteritis. *Clin Microbiol Rev.* 2015; 28: 3–31.
 21. Crobach, M.J.T., T. Planche, C. Eckert, F. Barbut, E.M. Terveer, O.M. Dekkers, M.H. Wilcox, and E.J. Kuijper. 'European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: Update of the Diagnostic Guidance Document for Clostridium Difficile Infection'. *Clinical Microbiology and Infection* 22 (August 2016): S63–81. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2016.03.010>.
 23. Bonacorsi S, Garbarg-Chenon A, and Kortbeek LM. 'Gastroenteritis'. In *European Manual of Clinical Microbiology*, 171–78. SFM/ESCMID. Société française de microbiologie, 2012.
 23. UK Standards for Microbiology Investigations. Gastroenteritis S7, izdaja 2, 2020. dostopno na: <https://www.rcpath.org/static/a05a43b2-1e67-401d-8ca4f1c3af59038b/S-7i22-Gastroenteritis-October-2024.pdf>
-

DIAGNOSTIČNI ALGORITMI PRI OKUŽBAH ZGORNJIH DIHAL

DIAGNOSTIC ALGORITHMS FOR UPPER RESPIRATORY TRACT INFECTIONS

Darja Vidmar Vovko¹, Martina Pezdirec¹, Katja Seme², Miroslav Petrovec²

¹Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja, UKC Ljubljana

²Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

IZVLEČEK

Okužbe zgornjih dihal so najpogostejši vzrok za obisk osebnega zdravnika ali ambulantne dežurne službe. Za etiološko opredelitev povzročitelja okužbe je na voljo veliko diagnostičnih preiskav. Diagnostični algoritmi obravnave bolnikov z okužbami zgornjih dihal so kliničnim zdravnikom lahko v pomoč za strokovno, poenoteno in hitrejšo obravnavo bolnikov. Med povzročitelji okužb prevladujejo virusi, vendar so kljub temu antibiotiki pogosto predpisani. Neustrezno predpisovanje antibiotične terapije ima lahko za posledice neželene učinke zdravil, povečanje stroškov zdravljenja in vpliv na pojav odpornosti proti protimikrobnim zdravilom. Želimo si, da bi z algoritemskim pristopom k okužbam zgornjih dihal znižali tudi delež neustrezno predpisane antibiotične terapije. Pri okužbah, kjer je klinična slika značilna in diagnostični algoritem ni uporaben (npr. epiglottitis, laringitis), opišemo možen diagnostični pristop.

Ključne besede: okužbe zgornjih dihal, algoritmi, vnetje srednjega ušesa, streptokokni tonzilofaringitis, akutni rinosinuzitis, prehlad in gripi podobna bolezen, epiglottitis, laringitis

ABSTRACT

Upper respiratory tract infections are the most common reason for visiting general practitioners or emergency rooms. Many diagnostic tests are available to identify the etiologic agents of the infection. Diagnostic algorithms for treating patients with upper respiratory tract infections can help clinicians treat patients professionally, with standardized and faster approach. Viruses are the most common cause of infection, but antibiotics are often prescribed. Inappropriate prescribing of antibiotic therapy has consequences due to side effects, increased treatment costs and the emergence of antimicrobial resistance. We hope that the algorithmic algorithms for upper respiratory tract infections will also lower the number of inappropriately prescribed antibiotic therapy. When clinical presentation is characteristic and the diagnostic algorithm is not useful (e.g. epiglottitis, laryngitis), we suggest a possible diagnostic approach.

Keywords: upper respiratory infections, algorithms, otitis media, streptococcal tonsillopharyngitis, acute rhinosinusitis, common cold and influenza syndrome, epiglottitis, laryngitis

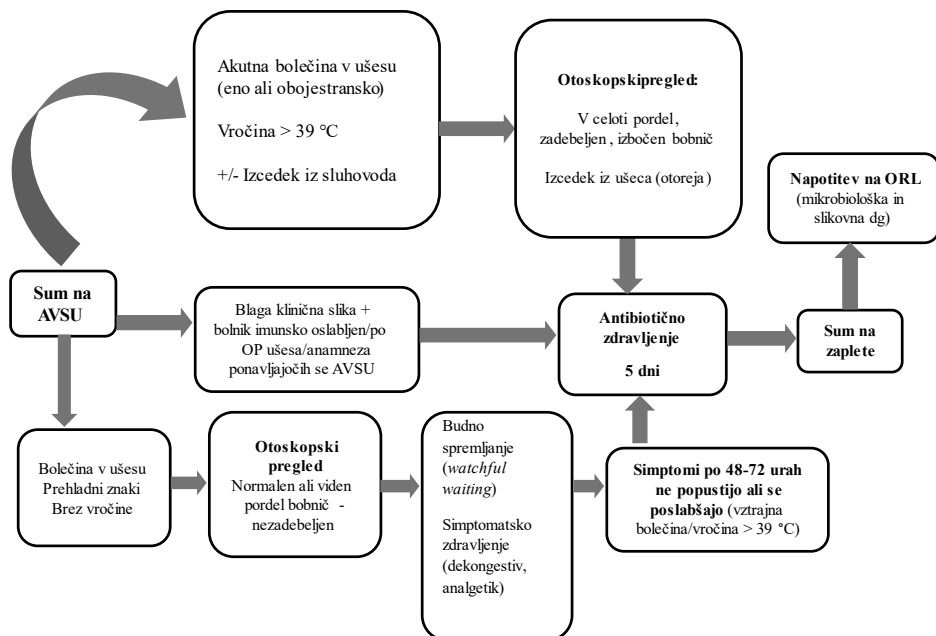
UVOD

V januarju 2025 je bilo med 354 obravnavanimi bolniki v urgentni ambulanti Klinike za infekcijske bolezni in vročinska stanja v Ljubljani v obdobju dveh tednov – 111 diagnosticiranih z okužbo zgornjih dihal (1). V ambulanti družinskega zdravnika je delež teh bolnikov še večji, med diagnozami je najpogostejši prehlad. Pri postavitvi diagnoze okužbe zgornjih dihal si pomagamo z znaki in simptomi, ki so značilni za posamezna stanja. Pri pregledu je potrebno prepoznati bolnike, pri katerih je prišlo do zapletov oziroma potrebujejo bolnišnično zdravljenje. V kolikor preiskovanec bolnišničnega zdravljenja ne potrebuje, je potreben razmislek o smiselnosti diagnostike in potrebi po protimikrobnem zdravljenju (2). V kohortni ameriški raziskavi so med sezono gripe vključili blizu 15.000 pregledovancev z znaki okužbe zgornjih dihal. Med prejemniki antibiotične terapije je bilo 41 % bolnikov, ki niso imeli indikacije za uvedbo antibiotika (3).

AKUTNO VNETJE SREDNJEGA UŠESA

Akutno vnetje srednjega ušesa (AVSU) je redka okužba pri odraslih in nimamo smernic za obravnavo; v praksi si pomagamo s pediatričnimi, ki so na voljo v Sloveniji (4). Ob sumu na AVSU pri odraslemu priporočila Svetovne zdravstvene organizacije (SZO) svetujejo budno spremljanje (angl. *watchful waiting*) ter simptomatsko zdravljenje. V kolikor se po treh dneh stanje ne izboljšuje, bolečina v ušesu vztraja kljub analgetični terapiji ter ima bolnik vročino več kot 39 °C, pričnemo z antibiotičnim zdravljenjem (5).

Diagnostični algoritem akutnega vnetja srednjega ušesa



Vsem smernicam je skupno, da je antibiotik izbire amoksisicilin, v trajanju 5–10 dni. V preglednici 1 so prikazana trenutna slovenska priporočila. Pri mlajših od 2 let in bolnikih s povečanim tveganjem za težji potek se priporoča zdravljenje 7–10 dni, pri starejših od 2 let pa 5 dni (4). Avtorji predlagamo 5-dnevno zdravljenje pri odraslih. Ob neuspešnem antibiotičnem zdravljenju z antibiotikom prve izbire ali pri ponovnem vnetju v roku 1 meseca po zdravljenju se odločimo za amoksisicilin s klavulansko kislino (4).

Preglednica 1. Slovenska priporočila za antibiotično zdravljenje okužb srednjega ušesa (6).

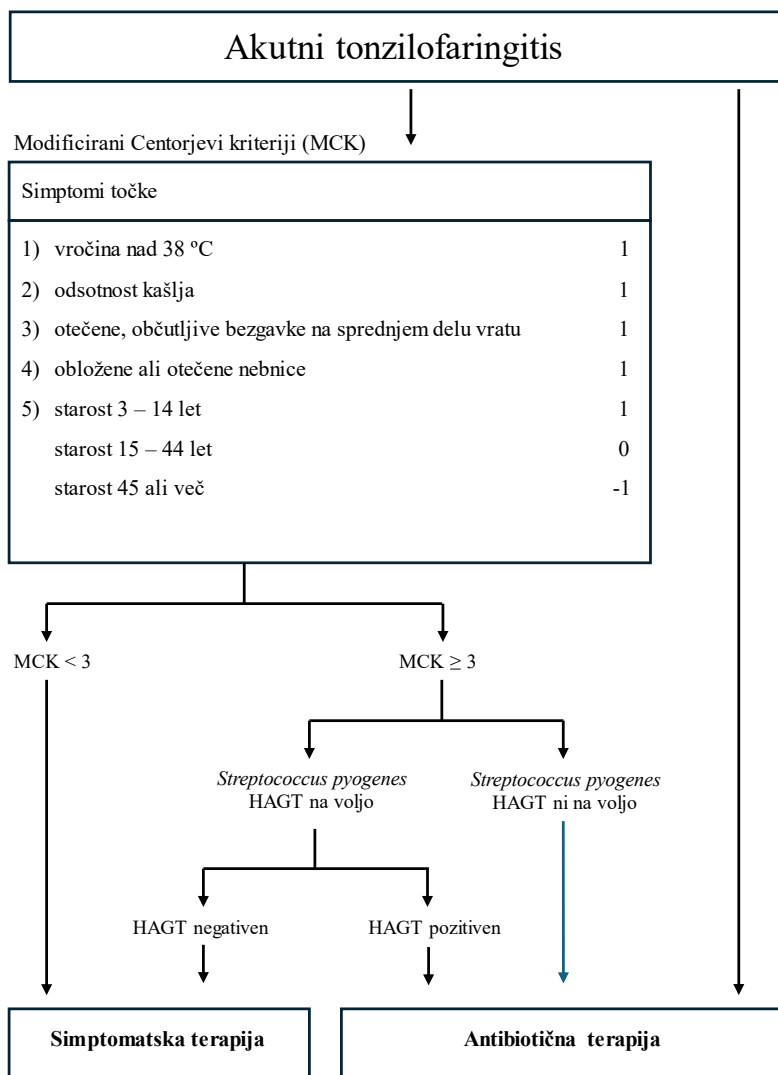
Antibiotiki, odmerki (per os)	Trajanje (dni)
amoksisicilin 500–1000 mg/8 ur	5–10
Neuspeh ali predhodno zdravljenje: amoksisicilin/klavulanska kislina 875/125 mg/12 ur ali 500/125 mg/8 ur cefuroksim aksetil 250–500 mg/12 ur	5–10
Dokazana alergija na penicilinske in cefalosporinske antibiotike: klaritromicin 500 mg/12 ur azitromicin 500 mg/24 ur	10–14 3

Povzročitelji in mikrobiološka diagnostika vnetja srednjega ušesa so podrobno opisani v prispevku »Kdaj je smiselno uporabiti mikrobiološko diagnostiko okužbe dihal pri otrocih«.

AKUTNI BAKTERIJSKI TONZILOFARINGITIS

Streptococcus pyogenes ali betahemolitični streptokok skupine A je povzročitelj akutnega tonzilo-faringitisa, ki ga zdravimo z antibiotikom predvsem zaradi preprečevanja poznih posledic streptokokne okužbe (7). *S. pyogenes* je povzročitelj pri odraslih v 5–15 %. Zapleti tonzilo-faringitisa so peritonzilarni in retrofaringealni absces, parafaringealni absces, sinuzitis, otitis media, mastoiditis, akutna revmatična vročica, glomerulonefritis ter Lemierrov sindrom. Ostali bakterijski povzročitelji so še: betahemolitični streptokoki skupin C in G, *Arcanobacterium haemolyticum*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Francisella tularensis*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae* ter *Treponema pallidum* (8, 9).

Hitri antigenski test (HAGT) na *S. pyogenes* je najpogostejši test, ki se izvaja v diagnostiki akutnega tonzilo-faringitisa in pomembno pripomore k zmanjšanju nepotrebnega predpisovanja antibiotikov. Če je HAGT test negativen, večina smernic za zdravljenje pri odraslih ne svetuje refleksne klasične kulture, ker je pojavnost streptokoknega tonzilo-faringitisa in zapletov redka (10). Pri bolnikih z dejavniki tveganja za hujši potek, z možnimi zapleti okužbe ali alternativnimi diagnozami, je potrebno napotiti k ustreznemu specialistu oziroma razširiti diagnostiko. V mikrobiološkem laboratoriju za klasično bakteriološko diagnostiko lahko iz brisa, odvzetega ob akutnem tonzilo-faringitisu, poleg bakterije *S. pyogenes* osamijo tudi druge možne bakterijske povzročitelje tovrstne okužbe. Pri sumu, da gre za redke in z mikrobiološkega stališča zahtevne bakterijske povzročitelje (*C. diphtheriae*, *N. gonorrhoeae* ali *F. tularensis*) je potrebno o tem neposredno opozoriti mikrobiološki laboratorij (11, 12). Sum na okužbo z *Mycoplasma pneumoniae* zahteva specifično mikrobiološko diagnostiko (PCR; angl. polymerase chain reaction). V zadnjih letih so na voljo tudi hitri molekularni testi za streptokoke skupine A, ki imajo večjo občutljivost (96,8 % vs. 82,3 %) in enako specifičnost kot HAGT (13).



HAGT-hitro antigenski test na *S. pyogenes*, MCK- Modificirani Centurijeji kriteriji

Določanje vrednosti CRP (C-reaktivni protein) v diagnostiki streptokoknega tonzilofaringitisa nima pomena (10).

Zdravljenje je v primeru streptokoknega tonzilofaringitisa antibiotično oziroma zdravimo usmerjeno glede na povzročitelja (npr. sifilis, davica, gonoreja, ipd.) (7, 8). Trenutno je

aktualno krajšanje standardnega 10-dnevnega antibiotičnega zdravljenja. Nemška priporočila svetujejo skrajšano odmerjanje oralnega penicilina na 5–7 dni (12). Britanska priporočila NICE (angl. The National Institute for Health and Care Excellence NICE) povzamejo, da je mikrobiološka ozdravitev pri krajšem režimu zdravljenja občutno manjša, ni pa razlike v ponovitvi oziroma ponovni okužbi v primerjavi med 5 do 7-dnevnim in 10-dnevnim zdravljenjem (7). V Sloveniji nacionalnih smernic zdravljenja streptokoknega tonzilofaringitisa nimamo. V preglednici 2 so zbrana priporočila za zdravljenje.

Preglednica 2. Protimikrobno zdravljenje streptokoknega tonzilofaringitisa (6).

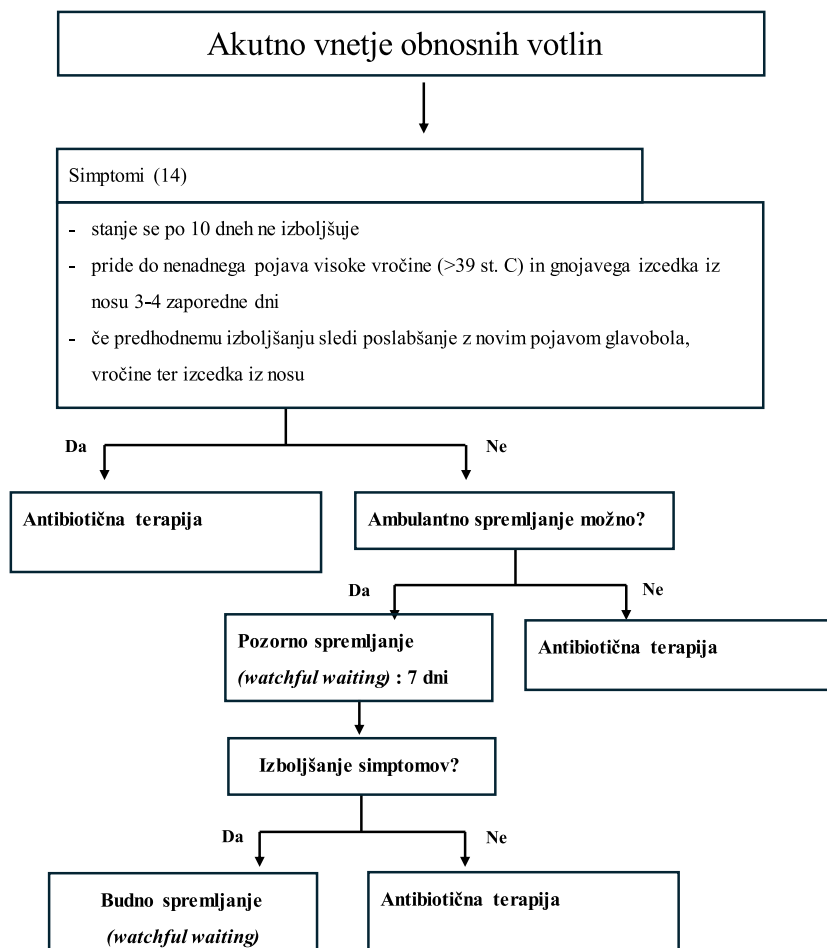
Povzročitelj/bolezen	Antibiotiki, odmerki	Trajanje (dni)
<i>Streptococcus pyogenes</i> , streptokoki skupine C in G	penicilin V 1 M IE/8–12 ur p.o.	10
	benzatin penicilin G 1,2 M IE i.m.	enkratno
	Preobčutljivost za penicilin:	
	cefadroksil 1000 mg/24 ur p.o. (če ni anafilaktična reakcija)	10
	azitromicin 500 mg/24 ur p.o.	3
	azitromicin 1. dan 500 mg/24 ur p.o., nato 4 dni 250 mg/24 ur p.o.	5
	klaritromicin 250–500 mg/12 ur p.o.	10
	klindamicin 300 mg/6–8 ur p.o.	10

p.o. = per oralno; i.m. = intramuskularno

AKUTNO VNETHJE OBNOSNIH VOTLIN

Akutni rinosinuzitis je akutno vnetje nosne in obnosnih votlin, ki traja manj kot 4 tedne, diagnoza pa temelji na klinični sliki. Vnetje je največkrat posledica virusne okužbe zgornjih dihal, bakterije so povzročiteljice le v 0,5–2 %. Ustrezno kužnino za mikrobiološko diagnostiko lahko pridobimo le z endoskopsko aspiracijo, zato zaradi invazivnosti to izvajamo le pri zapletenih primerih. Brisi nosnožrelnega prostora niso povedni (11).

Na Infektološkem simpoziju 2017 je bil predstavljen predlog obravnave bolnikov z akutnim bakterijskim rinosinuzitisom. Diagnozo postavimo glede na klinično sliko. Pri bolniku brez pomembnih temeljnih bolezni, ki ni imunsko oslavljen ali huje bolan, je smiselno uporabiti pristop budnega spremljanja (angl. *watchful waiting*) brez takojšnjega antibiotičnega zdravljenja. Bolnika se naroči na kontrolo čez 7 dni, v primeru poslabšanja pa se mora zgledati takoj. Če v tem času ne pride do izboljšanja ali se stanje poslabša, predpišemo antibiotik (14). V preglednici 3 so zbrani podatki o priporočilih za zdravljenje.



Preglednica 3. Protimikrobno zdravljenje sinuzitisa (6).

Antibiotiki, odmerki (per os)	Trajanje (dni)
amoksisilin 500–1000 mg/8 ur	5–7
Neuspeh primarne terapije: amoksisilin/klavulanska kislina 875/125 mg/12 ur ali 500/125 mg/8 ur ali 2000/125 mg/12 ur (območje visoke stopnje na penicilin odpornih pnevmokokov)	5–7
cefuroksim aksetil 250–500 mg/12 ur	5–7
Preobčutljivost na primarno terapijo: doksiciklin 100 mg/12 ur	5–7
Preobčutljivost na primarno terapijo in neuspeh moksifloksacin 400 mg/24 ur levofloksacin 500 mg/24 ur	5–7 5–7

Če pride do odpovedi prvega in drugega reda zdravljenja, bolnika napotimo k otorinolaringologu oziroma zobozdravniku (14).

PREHLAD IN GRIPI PODOBNA BOLEZEN

Je večinoma samoomejujoča bolezen, ki jo povzročajo respiratorni virusi. Diagnoza je klinična, zato laboratorijskih preiskav ne opravljamo rutinsko. V večini primerov etiološka opredelitev povzročitelja ni potrebna.

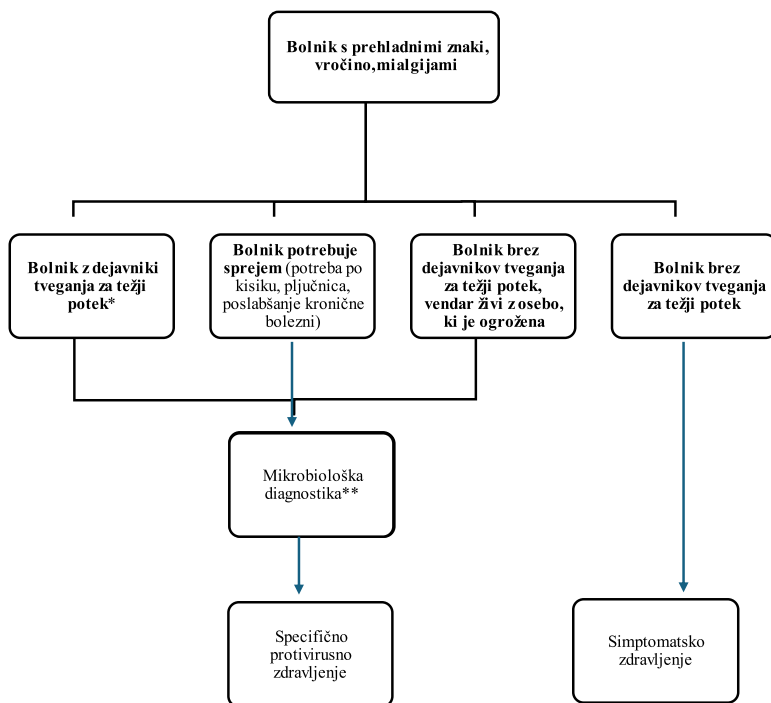
Mikrobiološka diagnostika je smiselna:

- pri bolnikih, ki imajo dejavnike tveganja za hujši potek bolezni in so kandidati za ambulantno protivirusno zdravljenje,
- pri bolnikih, ki imajo poslabšanje temeljne bolezni ali zaplet virusne bolezni, zaradi česar potrebujejo hospitalizacijo (npr. pljučnica, respiratorna insuficienca) in so kandidati za protivirusno zdravljenje,
- pri bolnikih, ki nimajo dejavnikov tveganja za hujši potek bolezni, vendar rezultat testa vpliva na odločitev glede možnega antibiotičnega zdravljenja oziroma nadaljnje diagnostike,
- pri bolnikih, ki so obravnavani ambulantno, vendar živijo z osebo, ki je ogrožena za hujši potek in je kandidatka za profilaktično zdravljenje,
- za odločitev glede kohortne izolacije v primeru hospitalizacije ali odpusta v socialno-varstveni zavod (15).

Za diagnostiko uporabljamo preiskave, kot so HAGT ali v določenih primerih metode za pomnoževanje nukleinskih kislin (PCR). Najprimernejša kužnina je bris nosnožrelnega prostora na virus influence A in B, SARS CoV-2 ter respiratorni sincicijski virus. V kolikor gre za bolnika po transplantaciji ali bolnika, ki bo potreboval sprejem na hemato-onkološki oddelek, odvzamemo bris nosnožrelnega prostora na respiratorne viruse (panel RV) zaradi možnosti težjega poteka virusne okužbe, kohortne izolacije in zdravljenja (16).

Pri uporabi hitrih antigenskih testov se moramo zavedati, da so lahko v primeru manjšega virusnega bremena lažno negativni. Iz laboratorijskih izkušenj vemo, da je lahko do tretjina s HAGT testiranih vzorcev negativnih. Če pri bolniku z negativnim rezultatom HAGT sumimo na okužbo z virusom influence ali SARS CoV-2 ter gre za bolnika, ki zaradi zapletov virusne bolezni ali poslabšanja temeljnih bolezni potrebuje sprejem v bolnišnico, če je bolnik ogrožen za hujši potek bolezni, oziroma če živi z osebo, ki je kandidatka za profilaktično zdravljenje, opravimo dodatno testiranje z metodo PCR (17).

Zdravljenje prehlada in gripi podobne bolezni je simptomatsko. V primeru dokazane okužbe z gripo ali SARS CoV-2 in sočasnem pričakovanem težjem poteku bolezni predpišemo specifično protivirusno terapijo (15).



*vse vrste imunske pomanjkljivosti, ledvične, pljučne in kronične srčne bolezni, v primeru gripe: starost > 65 let, nosečnice, porodnice 2 tedna po porodu, stanovalci socialno-varstvenih zavodov, BMI ≥ 40 .

**hitri antigeni test na gripo A in B, RSV in SARS-CoV-2 (v času sezone) oz. SARS-CoV-2 → če negativen, opravimo še bris nosnožrelnega prostora s PCR. RV panel: hemato-onkološki bolniki, bolniki po transplantaciji.

EPIGLOTITIS

Epiglotitis oziroma supraglotitis je akutno vnetje poklopca in supraglotičnega tkiva. Stanje je lahko življenje ogrožajoče, klinična slika je značilna. Pred uvedbo cepljenja je bil *Haemophilus influenzae* najpogostejši povzročitelj okužbe, sedaj prevladujeta *Streptococcus pneumoniae* in *S. pyogenes*, v nekaterih primerih tudi *Staphylococcus aureus* (18). Ob sumu ne izgubljammo časa z dodatno diagnostiko, temveč bolnika nemudoma odpeljemo k ORL specialistu oziroma izkušenemu intenzivistu (19). Zdravljenje je antibiotično. Pomembno je tudi vzdrževanje prehodnosti dihalne poti, intubacija je potrebna v 15–20 %. Vlažen kisik in monitoriranje je v veliki večini primerov zadosten ukrep. Endotrahealno intubacijo ponavadi opravi izkušen intenzivist oziroma anesteziist v pripravljenosti za takojšnjo krikotiroidotomijo (18).

Diagnostični pristop pri epiglotitisu

Etiološko je povzročitelja epiglotitisa težko opredeliti, ker je v brisu žrela prisotna ustna mikrobiota, hemokulture pa so pozitivne le v približno 10 % (18). Po vzpostavitvi dihalne poti se

svetuje odvzem hemokultur in bris poklopca (po intubaciji, če je ta potrebna) (11). Ko Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo prejme bris poklopca in je na napotnici jasno napisano, da gre za epiglottitis, iščejo samo možne povzročitelje epiglottitisa in ne sporočajo normalne mikrobiote. Bris žrela ni primerna kužnina za mikrobiološko opredelitev povzročitelja epiglottitisa. Podatki o protimikrobnem zdravljenju so zbrani v preglednici 4.

Preglednica 4. Antibiotično zdravljenje epiglottitisa (6).

Antibiotiki, odmerki (parenteralno)	Trajanje (dni)
cefuroksim 1,5 g/8 ur ali cefotaksim 2g/6 ur ali ceftriakson 2 g/12 ur +/- vankomicin 1 g/12 ur (če gre za odporne pnevmokoke ali MRSA)	7–10

LARINGITIS

Akutni laringitis je vnetje grla ter glasilk, ki se kaže z bolečino v grlu ter hripavostjo. Pogosto spremlja akutno virusno okužbo zgornjih dihal. Diagnoza je klinična, mikrobiološka diagnostika ni potrebna. Antibiotično zdravljenje ni priporočljivo, saj prinaša malo koristi v primerjavi z negativnimi učinki zdravljenja. Analiza iz leta 2015, kjer so primerjali rezultate treh randomiziranih kontroliranih raziskav o pomenu uporabe antibiotikov za zdravljenje laringitisa, je pokazala, da antibiotiki sicer imajo manjši vpliv na potek zdravljenja, vendar so koristi majhne v primerjavi z negativnimi posledicami antibiotičnega zdravljenja.

Diagnostični pristop pri laringitisu

Ob sumu na bakterijskega povzročitelja laringitisa (*S. pyogenes*, *S. pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *H. influenzae*, redko *Mycobacterium tuberculosis*) se poslužujemo kultivacije povzročitelja iz izmečka ter metode PCR iz brisa žrela (*M. pneumoniae*) ali iz brisa nosnožrelnega prostora (*Bordetella pertussis*). Zdravimo usmerjeno glede na dokazanega povzročitelja (20, 21).

SKLEP

V Sloveniji nimamo nacionalnih smernic za obravnavo odraslih bolnikov z okužbami zgornjih dihal. Večino bolnikov obravnavajo družinski zdravniki, saj ne potrebujejo specifične diagnostike in praviloma zadostuje simptomatsko zdravljenje. Predvsem je potrebno dobro prepoznavanje kliničnih znakov in simptomov ter morebitnih zapletov okužb zgornjih dihal. Pomembno pa je tudi smotno izvajanje mikrobiološke diagnostike, ki je v Sloveniji strokovna in dostopna. Diagnostični algoritmi so lahko v pomoč kliničnemu zdravniku pri njegovem delu.

LITERATURA

1. Kolšek M. Pregledi v urgentni ambulanti. Infektološki seminar. Ljubljana: Klinika za infektivne bolezni in vročinska stanja; 2025.
2. Sur D, Plesa M. Guidelines for the antibiotic use in adults with acute upper respiratory tract infections. *Am Fam Physician*; 2022; 106: 628-36.
3. Havers FP, Hicks LA, Chung JR, et al. Outpatient antibiotic prescribing for acute respiratory infections during influenza seasons. *JAMA Netw Open*; 2018; 1(2): e180243.
4. Zorko Brodnik A, Kraševac Glaser A. Obravnava otrok z akutnim in ponavljajočim se vnetjem srednjega ušesa ter pregled povzročiteljev akutnega vnetja srednjega ušesa v mariborski regiji

-
- v obdobju 2019 – 2023. V Dolinšek J. XXXIII. Srečanje pediatrov – Infekcijske bolezni pri otrocih, debelost otrok in mladostnikov, pravni pogled na (obvezno) cepljenje v Sloveniji. Maribor: Univerzitetni klinični center; 2025, p. 55–62.
5. World Health Organization. WHO aware antibiotic book [internet]. Ženeva: World Health Organization, 2022. [Citirano 23.03.2025]. Dosegljivo na: <https://www.who.int/publications/item/9789240062382>
 6. QUIBA. Simple guide to antimicrobials; dosegljivo na <https://www.quibaguide.com/Identity/Account/Login?returnUrl=%2F>
 7. National Institute for Health and Care Excellence. Sore throat (acute): antimicrobial prescribing NICE guidance [internet]. Manchester: National Institute for Health and Care Excellence. 2018. [Citirano 26.11.2024]. Dosegljivo na: <https://www.nice.org.uk/guidance/ng84>.
 8. Rakuš J, Lejko Zupanc T: Akutno vnetje žrela. V: Tomažič J, Strle F, ur. Infekcijske bolezni. 2. izdaja. Ljubljana: Združenje za infektologijo, Slovensko zdravniško društvo 2017; p. 252-7.
 9. Flores AR, Caserta MT: Pharyngitis. V: Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ, eds. Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases. 9th edition. Vol. 1. Philadelphia, PA: Elsevier; 2020; p. 824 – 31.
 10. ESCMID sore throat guideline group, Pelucchi C, Grigoryan L, et al. Guideline for the management of acute sore throat. Clin Microbiol Infect. 2012; 18 Suppl 1: 1-28.
 11. Seme K, Tomič V: Mikrobiološka diagnostika bakterijskih okužb dihal. Med Razgledi. 2016; 55 Suppl 4: p. 65–7.
 12. Krüger K, Töpfer N, Berner R, et al. Clinical practice guideline sore throat. Dtsch Arztebl Int 2021; 118: 188–94.
 13. Dubpis C, Semeesters PR, Refers Y et al. Diagnostic accuracy of rapid nucleic acid tests for group A streptococcal pharyngitis: systematic review and meta-analysis. Clin Microbiol Infect. 2021; 27: 1736–45.
 14. Saje A, Beović B, Jenko K et al. Predlog smernic za antibiotično zdravljenje akutnega bakterijskega rinosinuzitisa pri odraslih v s Sloveniji. V Beović B, Lejko-Zupanc T, Tomažič J, eds. Infektološki simpozij 2016 - Stopenjska diagnostika in zdravljenje pogostih okužb. Ljubljana: Sekcija za protimikrobno zdravljenje SZD; 2017, p. 74–81.
 15. Infectious Diseases Society of America IDSA. Clinical practice guidelines for the diagnosis, treatment, chemoprophylaxis, and institutional outbreak management of seasonal influenza [internet]. Arlington: Infectious Disease Society of America. 2018. [Citirano 26.11.2024]. Dosegljivo na: <https://www.idsociety.org/practice-guideline/influenza/#null>
 16. Priporočila Službe za preprečevanje in obvladovanje bolnišničnih okužb (SPOBO). Ljubljana, 2022.
 17. Centers for Disease Control and Prevention CDC. Rapid influenza diagnostic tests. [internet]. Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention. 2024. [Citirano 19.3.2025]. Dosegljivo na: https://www.cdc.gov/flu/hcp/testing-methods/clinician_guidance_ridt.html.
 18. Kivekäs I, Rautiainen M. Epiglottitis: Acute Laryngitis, and Croup. In: Durand ML, Deschlere DG, eds. Infections of the ears, nose, throat and sinuses, 1st edition. Boston, MA. Springer; 2018; p. 247–55.
 19. Trček C. Nujna stanja v otorinolaringologiji – usta, žrelo, grlo in vrat. V Vajd R, Gričar M, ur. Urgentna medicina: izbrana poglavja 2016: zbornik. Ljubljana: Slovensko združenje za urgentno medicino. 2016; 23:108-14.
 20. Reveiz, L, Cardona, AF. Antibiotics for acute laryngitis in adults. The Cochrane database of systematic reviews, 2015(5), CD004783.
 21. Tesini BL, Caserta MT: Acute Laryngitis. In: Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ, eds. Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases. 9th edition. Vol. 1. Philadelphia, PA: Elsevier; 2020; p. 832-4.
-

ALGORITEM OBRAVNAVE ODRASLE OSEBE Z DOMA PRIDOBLENO PLJUČNICO V URGENTNI AMBULANTI

ALGORITHM FOR THE MANAGEMENT OF COMMUNITY ACQUIRED PNEUMONIA IN AN ADULT IN THE EMERGENCY DEPARTMENT

*Blaž Pečavar¹, Tomaž Vovko¹, Jerca Ambrožič¹,
Katja Seme², Darja Keše², Julija Germ²*

¹Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja, UKC Ljubljana

²Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

POVZETEK

Doma pridobljena pljučnica (DPP) je pogosta infekcijska bolezen, ki pomembno prispeva k obolevnosti in smrtnosti ter je pogosto razlog za predpis antibiotičnega zdravljenja. V prispevku predstavljamo predlog obravnave odrasle osebe brez okvare imunskega sistema z DPP glede na hudost bolezni. Podajamo priporočila za mikrobiološko diagnostiko in ustrezno izkustveno antibiotično zdravljenje. Mikrobiološka diagnostika pri bolniku z blažjo pljučnico ni potrebna, pri hudi pljučnici pa je smiselna bolj obširna mikrobiološka diagnostika. Skladno z mednarodnimi priporočili svetujemo 3 do 5-dnevno antibiotično zdravljenje, v primeru hude pljučnice, ki zahteva bolnišnično zdravljenje, pa priporočamo 7-dnevno antibiotično zdravljenje.

Ključne besede: doma pridobljena pljučnica, odrasli, algoritem, mikrobiološka diagnostika, antibiotično zdravljenje.

ABSTRACT

Community-acquired pneumonia (CAP) is a common infectious disease, that contributes significantly to morbidity and mortality and is often the reason for prescribing antibiotic treatment. In this paper, we present a proposal for the management of adults without immunodeficiency with CAP according to disease severity. We provide recommendations for microbiological diagnostics and appropriate empirical treatment. Microbiological diagnostic testing is not necessary in a patient with mild pneumonia, but more extensive microbiological investigations are reasonable in severe pneumonia. In line with international recommendations, we advise 3 to 5 days of antibiotic treatment, and 7 days of antibiotic treatment in cases of severe pneumonia requiring hospitalisation.

Keywords: community acquired pneumonia, adult, algorithm, microbiological diagnostic testing, antibiotic treatment.

UVOD

Doma pridobljena pljučnica (DPP) je vnetje pljučnega parenhima, ki ga ugotovimo na podlagi kliničnih značilnosti in potrdimo s slikovnimi metodami pri osebi, ki zboli zunaj bolnišnice ali v prvih 48 urah po sprejemu v bolnišnico. V to skupino ne spadajo osebe, ki imajo prirojeno ali pridobljeno okvaro imunskega sistema. (1,2)

Pojavnost DPP v Sloveniji pri osebah, starejših od 15 let, je približno 10/1000 prebivalcev. Pogostejša je pri starejših (starejši od 65 let predstavljajo približno 40 % bolnikov). Zdravljenje v bolnišnici potrebuje 20 % bolnikov. DPP ostaja pomemben vzrok smrti. Med bolniki, ki so zdravljeni v bolnišnici, znaša smrtnost 10 % ali več. Smrtnost je najvišja pri bolnikih s pridruženimi kroničnimi obolenji in starostnikih. (3)

Med bakterijskimi povzročitelji DPP je na prvem mestu *Streptococcus pneumoniae*, ki mu sledijo *Haemophilus influenzae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Legionella* spp., *Chlamydia pneumoniae* in *Moraxella catarrhalis*. Vse večji opredeljeni delež predstavljajo virusni povzročitelji, saj jih z uporabo molekularnih in antigenih preiskav pogosteje prepoznavamo. Možna je tudi sočasna bakterijska in virusna okužba. (1–3)

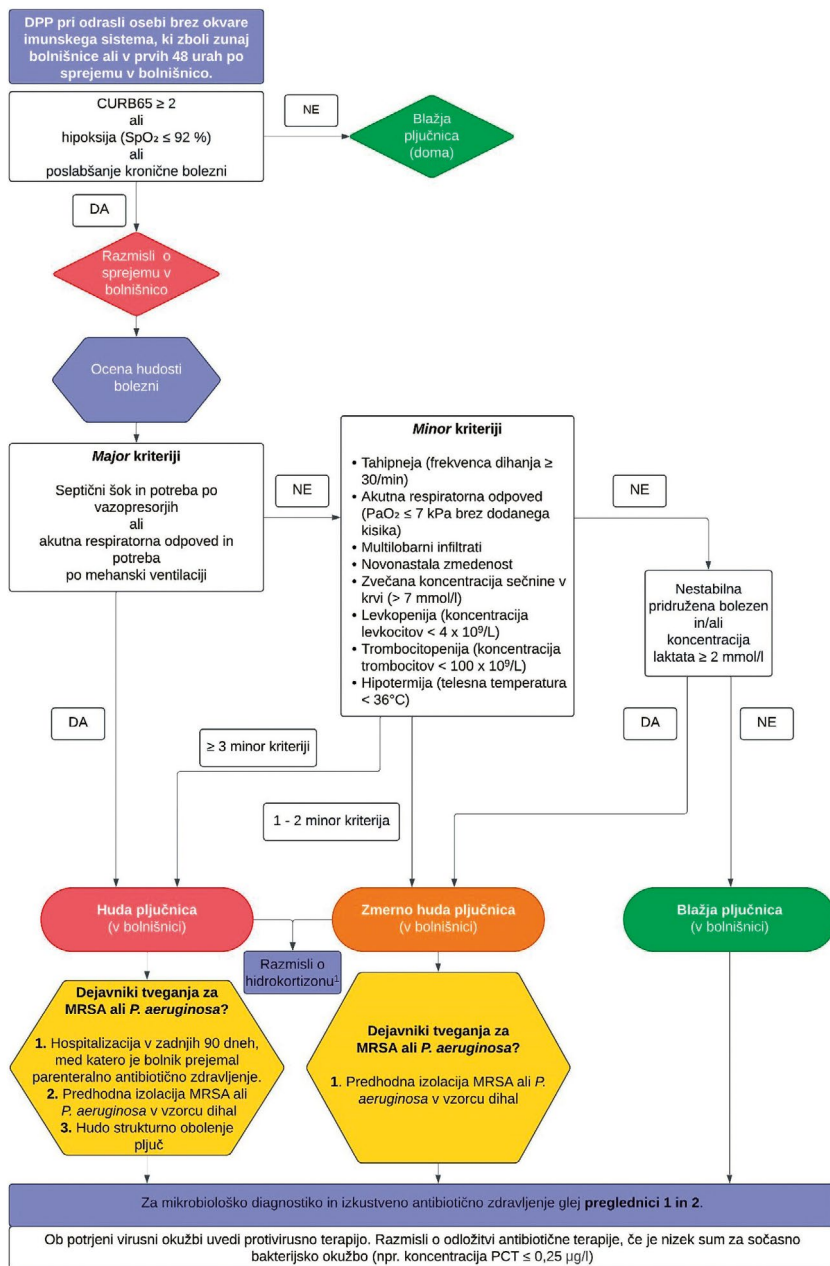
Klinična slika je odvisna od povzročitelja in gostitelja. Običajno je začetek bolezni naden z vročino, kašljem, izmečkom, plevritično bolečino, težkim dihanjem in splošnim slabim počutjem. Pri starostnikih so lahko v ospredju simptomi izven dihal, kot so zmedenost, splošna oslabelost, bruhanje in poslabšanje kroničnih obolenj. Pri avskultaciji pljuč slišimo poke, zamolkline, bronhialni zvok itd. Diagnozo pljučnice potrdimo s slikovno diagnostiko (rentgensko slikanje pljuč, CT prsnega koša). Etiologijo pljučnice lahko opredelimo z mikrobiološkimi preiskavami, ki so podrobneje opisane v prispevku Mikrobiološka diagnostika okužb dihal (4). Tudi z obširno mikrobiološko diagnostiko opredelimo povzročitelja pri le 38 % hospitaliziranih bolnikih z DPP. Na podlagi klinične ocene in epidemioloških podatkov se odločimo za uvedbo izkustvenega antibiotičnega zdravljenja, ki ga ob etiološki opredelitvi prilagodimo. Razlogi za neuspeh zdravljenja DPP so raznoliki: nastanek plevralnega izliva ali empiema, pljučnega abscesa, metastatske okužbe, odpornost povzročitelja, slaba adherenca antibiotične terapije, neučinkovitost antibiotika zaradi motene absorpcije ali premajhnega odmerka, motene lokalne ali sistemske obrambe in napačne diagnoze. (1–3, 5, 6)

Bolniki, ki so že preboleli DPP, imajo večje tveganje za ponovno pljučnico, ki jo lahko preprečimo s sekundarnimi preventivnimi ukrepi (prenehanje kajenja, cepljenje: proti pnevmokokom, gripi, SARS-CoV-2, respiratornemu sincicijskemu virusu, skrb za dobro oralno higieno, ukrepi za preprečevanje aspiracije) (1).

PREDLOG ALGORITMA OBRAVNAVE ODRASLE OSEBE Z DPP V URGENTNI AMBULANTI

V nadaljevanju predstavljamo predlog algoritma obravnave odrasle osebe z DPP, ki nima prirojene ali pridobljene okvare imunskega sistema (Slika 1). Na podlagi kliničnega pregleda, laboratorijskih in radioloških preiskav uvrstimo bolnika v skupino s hudo, zmerno hudo ali blažjo DPP. Hudost bolezni nas nato usmerja pri mikrobiološki diagnostiki (Preglednica 1) in izkustvenemu antibiotičnemu zdravljenju (Preglednica 2). Pri tem moramo vedno upoštevati tudi klinično presojo, epidemiološko anamnezo in posebnosti posameznika.

Slika 1. Predlog algoritma obravnave odrasle osebe z doma pridobljeno pljučnico v urgentni ambulanti (1, 2, 5, 7, 8).



¹glej Priporočila za zdravljenje hude zunajbolnišnične pljučnice z glukokortikoidi (8); DPP – doma pridobljena pljučnica; CURB65 (*confusion* – novonastala zmedenost, *urea* – zvečana koncentracija sečnine v krvi ($> 7 \text{ mmol/l}$), *respiratory rate* – frekvenca dihanja $\geq 30/\text{min}$, *blood pressure* – sistolični krvni tlak $< 90 \text{ mmHg}$ ali diastolični krvni tlak $\leq 60 \text{ mmHg}$, starost ≥ 65 let); SpO_2 – nasičenost krvi s kisikom; PaO_2 – parcialni tlak kisika v krvi; MRSA – proti meticilinu odporen *Staphylococcus aureus*; PCT – prokalcitonin.

Mikrobiološka diagnostika ni potrebna pri vseh bolnikih z DPP. Najpomembnejše vodilo pri mikrobiološki diagnostiki naj bo, ali bo ta vplivala na potek obravnave. Nabor priporočenih preiskav je odvisen od hudosti bolezni (1).

Preglednica 1. Predlog priporočenih mikrobioloških preiskav pri odrasli osebi z doma pridobljeno pljučnico (1, 2, 5, 9, 10).

Hudost bolezni Mesto zdravljenja	Priporočene mikrobiološke preiskave
Blažja pljučnica Doma ali v bolnišnici	- Rutinsko mikrobiološke preiskave niso potrebne. - Mikrobiološke preiskave izvajamo na podlagi epidemiološke slike (npr. v primeru izbruha, epidemije itd.).
Zmerno huda pljučnica V bolnišnici	- Hemokulture. - Razmaz, obarvan po Gramu, in kultura izmečka ali drugega vzorca iz dihal (najkasneje v prvih 4 urah po uvedbi antibiotičnega zdravljenja)¹. - Dokaz pnevmokoknega antigena v seču. - Dokaz topnega antigena <i>Legionella pneumophila</i> v seču ob sumu na legionelo. - Molekularne in serološke metode² v času, ko se pojavljajo okužba z <i>Mycoplasma pneumoniae</i> in/ali respiratorni virusi (SARS-CoV-2, virusi influence). - Razmaz, obarvan po Gramu, in kultura plevralne tekočine (če je prisotna).
Huda pljučnica V bolnišnici	- Hemokulture. - Razmaz, obarvan po Gramu, in kultura izmečka ali drugega vzorca iz dihal (najkasneje v prvih 4 urah po uvedbi antibiotičnega zdravljenja)¹. - Dokaz pnevmokoknega antigena v seču. - Dokaz topnega antigena <i>L. pneumophila</i> v seču. - Molekularne in serološke metode² za dokaz okužbe z <i>M. pneumoniae</i>, respiratorni virusi (SARS-CoV-2, virusi influence), <i>Chlamydia pneumoniae</i> in <i>Pneumocystis jirovecii</i> v času, ko je večja pojavnost teh okužb oziroma v ustreznih okoliščinah.³ - Razmaz, obarvan po Gramu, in kultura plevralne tekočine (če je prisotna).

¹ Če obstaja možnost, je priporočljivo pridobiti vzorce z invazivnejšimi metodami (npr. bronhoskopija, perkutana aspiracija);

² molekularne metode imajo prednost pred serološkimi;

³ za bolnike, ki se ne odzovejo na zdravljenje z betalaktamskimi antibiotiki ali v primeru velikega suma na atipičnega povzročitelja okužbe na podlagi klinične slike, radioloških preiskav ali epidemioloških podatkov.

Izbira antibiotika je odvisna od hudosti bolezni in možnega povzročitelja. Na podlagi hudosti bolezni in odziva na antibiotično zdravljenje se odločamo tudi o trajanju zdravljenja. (1)

Preglednica 2. Predlog izkustvenega antibiotično zdravljenja odrasle osebe z doma pridobljeno pljučnico (1, 2, 5, 9).

Hudost bolezni Mesto zdravljenja	Najprimernejše zdravilo	Zdravilo druge možnosti ¹	Trajanje Opombe
Blažja pljučnica Brez pridruženih obolenj Doma	amoksisilin 1000 mg/8 ur p.o.	doksiciklin 100 mg/12 ur p.o. klaritromicin 500 mg/12 ur p.o. azitromicin 500 mg/24 ur p.o.	Trajanje: 3–5 dni Opombe: 3-dnevno antibiotično zdravljenje predpišemo, če do 3. dne dosežemo stabilno stanje². 5-dnevno antibiotično zdravljenje predpišemo, če do 5. dne dosežemo stabilno stanje³. - Več kot 5-dnevno zdravljenje predpišemo pri bolnikih, ki se jim stanje ne izboljša v skladu s pričakovanji po 5 dneh, v primeru zapletov ali v primeru nekaterih povzročiteljev. - Pljučnico, ki jo povzroča MRSA ali <i>P. aeruginosa</i>, zdravimo 7 dni. - Izkustveno kritje MRSA ali <i>P. aeruginosa</i> ni potrebno.
Blažja pljučnica S pridruženimi obolenji ⁴ Doma ali v bolnišnici	amoksisilin s klavulansko kislino 875/125 mg/12 ur p.o. ali 1,2 g/8 ur i.v.	doksiciklin 100 mg/12 ur p.o. moksifloksacin 400 mg/12 ur p.o./i.v. levofloksacin 500 mg/12 ur p.o./i.v.	Trajanje: 3–5 dni Opombe: 3-dnevno antibiotično zdravljenje predpišemo, če do 3. dne dosežemo stabilno stanje². 5-dnevno antibiotično zdravljenje predpišemo, če do 5. dne dosežemo stabilno stanje³. - Več kot 5-dnevno zdravljenje predpišemo pri bolnikih, ki se jim stanje ne izboljša v skladu s pričakovanji po 5 dneh, v primeru zapletov ali v primeru nekaterih povzročiteljev. - Pljučnico, ki jo povzroča MRSA ali <i>P. aeruginosa</i>, zdravimo 7 dni. - Izkustveno kritje MRSA ali <i>P. aeruginosa</i> ni potrebno.
Zmerno huda pljučnica V bolnišnici	amoksisilin s klavulansko kislino 1,2–2,2 g/8 ur i.v. +/- klaritromicin 500 mg/12 ur p.o. ali azitromicin 500 mg/24 ur p.o./i.v.	levofloksacin 500 mg/12 ur p.o./i.v. moksifloksacin 400 mg/24 ur p.o./i.v.	Trajanje: 3–7 dni Opombe: 3-dnevno antibiotično zdravljenje predpišemo, če do 3. dne dosežemo kriterije za stabilno stanje². 5-dnevno antibiotično zdravljenje predpišemo, če do 5. dne dosežemo stabilno stanje³. - Več kot 5-dnevno zdravljenje predpišemo pri bolnikih, ki se jim stanje ne izboljša v skladu s pričakovanji po 5 dneh, v primeru zapletov ali v primeru nekaterih povzročiteljev. - Pljučnico, ki jo povzroča MRSA ali <i>P. aeruginosa</i>, zdravimo 7 dni. - Ob izboljšanju stanja lahko preidemo na oralno antibiotično zdravljenje. - Kritje MRSA: ob predhodni izolaciji MRSA v vzorcu iz dihal. - Kritje <i>P. aeruginosa</i>: ob predhodni izolaciji <i>P. aeruginosa</i> v vzorcu iz dihal.

Hudost bolezni Mesto zdravljenja	Najprimernejše zdravilo	Zdravilo druge možnosti ¹	Trajanje Opombe
Huda pljučnica V bolnišnici	amoksisilin s klavulansko kislino 1,2–2,2 g/8 ur i.v. ali ampicilin s sulbaktamom 3 g/6–8 ur i.v. ali ceftriakson 2 g/24 ur i.v. ali cefotaksim 2 g/6–8 ur i.v. + klaritromicin 500 mg/12 ur p.o. ali azitromicin 500 mg/24 ur p.o./i.v.	levofloksacin 500 mg/12 ur p.o./i.v. moksifloksacin 400 mg/24 ur p.o./i.v.	Trajanje: 5–7 dni Opombe: • 5-dnevno antibiotično zdravljenje predpišemo, če do 5. dne dosežemo stabilno stanje³. • Več kot 5-dnevno zdravljenje predpišemo pri bolnikih, ki se jim stanje ne izboljša v skladu s pričakovanji po 5 dneh, v primeru zapletov ali v primeru nekaterih povzročiteljev. • Pljučnico, ki jo povzroči MRSA ali <i>P. aeruginosa</i>, zdravimo 7 dni. • Ob izboljšanju stanja lahko preidemo na oralno antibiotično zdravljenje. • Kritje MRSA: ob predhodni izolaciji MRSA v vzorcu iz dihal ali ob predhodni hospitalizaciji (≤ 90 dni), med katero je bolnik prejemal parenteralno antibiotično zdravljenje. • Kritje <i>P. aeruginosa</i>: ob predhodni izolaciji <i>P. aeruginosa</i> v vzorcu iz dihal ali ob predhodni hospitalizaciji (≤ 90 dni), med katero je bolnik prejemal parenteralno antibiotično zdravljenje, ali v primeru hude strukturne bolezni pljuč.

¹ Za drugo možnost se odločimo v primeru preobčutljivosti za antibiotik prve izbire, v drugih primerih slabega prenašanja antibiotika prve izbire ali v nekaterih primerih neuspešnosti zdravljenja z antibiotikom prve izbire;

² kriteriji za stabilno stanje (3-dnevno antibiotično zdravljenje): afebrilno stanje ($\leq 37,8$ °C), pulz < 100 /min, frekvenca dihanja < 24 /min, brez hipoksije ($SpO_2 \geq 90\%$, $PaO_2 \geq 60$ mmHg), sistolni krvni tlak ≥ 90 mmHg (bolnik mora izpolnjevati vse kriterije);

³ kriteriji za stabilno stanje (5-dnevno antibiotično zdravljenje): afebrilno stanje ($\leq 37,8$ °C) plus ≤ 1 izmed sledečih kriterijev: pulz ≥ 100 /min, frekvenca dihanja ≥ 24 /min, hipoksija ($SpO_2 < 90\%$, $PaO_2 < 60$ mmHg), sistolni krvni tlak < 90 mmHg;

⁴ pridružena obolenja: kronično srčno popuščanje, obolenja osrednjega živčevja z motnjami požiranja, huda KOPB, bronhiektazije, priklenjenost na posteljo, PEG; MRSA – proti metiliclinu odporen *Staphylococcus aureus*; PEG – perkutana endoskopska gastrostoma.

ZAKLJUČEK

Predlog algoritma obravnave odrasle osebe z DPP v urgentni ambulanti vsebuje priporočila za lažjo in bolj smotno obravnavo. Njegov namen je zdravnikom pomagati pri oceni hudosti bolezni, ki je pomembna za nadaljnjo obravnavo. Na podlagi hudosti bolezni smo pripravili predlog mikrobioloških preiskav, ki jih je potrebno in smiselno opraviti, ter predlog izkustvenega antibiotičnega zdravljenja. Pri osebah z blažjo obliko DPP mikrobiološka diagnostika ni potrebna in izberemo ozkospektralne antibiotike. Poleg pravočasne uvedbe in pravilne izbire antibiotičnega zdravljenja je pomembno tudi trajanje zdravljenja, ki ga prilagodimo hudosti bolezni in odzivu na antibiotično zdravljenje. Poleg predlaganega algoritma je potrebno vedno upoštevati tudi klinično presojo, epidemiološko anamnezo in posebnosti posameznika.

LITERATURA

1. Vaughn VM, Dickson RP, Horowitz JK, Flanders SA. Community-Acquired Pneumonia: A Review. *JAMA*. 2024; 332(15):1282-95.
2. 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 Practice Guideline of the American Thoracic Society and Infectious Diseases Society of America. *Am J Respir Crit Care Med*. 2019; 200(7):e45–67.
3. Lejko Zupanc T, Pokorn M. Pljučnica. V: Tomažič J, Strle F, ur. Infekcijske bolezni. 2. izdaja. Ljubljana: Združenje za infektologijo, Slovensko zdravniško društvo; 2017. 272-80.
4. Seme K, Pečavar B, Petrovec M. Mikrobiološka diagnostika okužb dihal. V: Beović B, Lejko Zupanc T, Tomažič J, ur. Stopenjska diagnostika in zdravljenje pogostih okužb/Infektološki simpozij 2017. 2017; 53–61.
5. Ewig S, Kolditz M, Pletz M, Altiner A, Albrich W, Drömann D, et al. Behandlung von erwachsenen Patienten mit ambulant erworbener Pneumonie – Update 2021: S3-Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Pneumologie und Beatmungsmedizin (DGP), der Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie (PEG), der Deutschen Gesellschaft für Infektiologie (DGI), der Deutschen Gesellschaft für Internistische Intensivmedizin und Notfallmedizin (DGIIIN), der Gesellschaft für Virologie (GfV), des Kompetenznetzwerks CAPNETZ, der Deutschen Gesellschaft für Allgemeinmedizin (DEGAM), der Deutschen Gesellschaft für Geriatrie (DGG), der Deutschen Gesellschaft für Palliativmedizin (DGP), der Österreichischen Gesellschaft für Pneumologie (ÖGP), der Österreichischen Gesellschaft für Infektionskrankheiten und Tropenmedizin (ÖGIT), der Schweizerischen Gesellschaft für Pneumologie (SGP) und der Schweizerischen Gesellschaft für Infektiologie (SGInf). *Pneumologie*. 2021; 75(09):665–729.
6. 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). *Zdr Vestn*. 2010; 79:245–64.
7. Angrill N, Gallego M, Font J, Vallés J, Morón A, Monsó E, et al. Determinants of empirical antipseudomonal antibiotic prescription for adults with pneumonia in the emergency department. *BMC Pulm Med*. 2020; 20(1):83.
8. Lukić M, Dimitrić V, Harlander M, Jereb M, Osolnik K, Turel M, et al. Priporočila za zdravljenje hude zunajbolnišnične pljučnice z glukokortikoidi. Delovna skupina Združenja za infektologijo, Združenja pnevmologov Slovenije in Slovenskega združenja za intenzivno medicino. 2025. [citirano 2025 March 5]. Dosegljivo na: <https://szi.si/docs/general/Priporocila%20za%20zdravljenje%20hude%20zunajbolnišnične%20pljučnice%20z%20glukokortikoidi.pdf>.
9. WHO. The WHO AWaRe (Access, Watch, Reserve) antibiotic book. World Health Organization. 2022. [citirano 2025 March 5]. Dosegljivo na: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240062382>.
10. Lim WS, Baudouin SV, George RC, Hill AT, Jamieson C, Le Jeune I, et al. BTS guidelines for the management of community acquired pneumonia in adults: update 2009. *Thorax*. 2009; 64(Suppl 3):iii1–55.

ALGORITEM OBRAVNAVE BOLNIKA Z OKUŽBO SEČIL V URGENTNI AMBULANTI

ALGORITHM FOR MANAGEMENT OF URINARY TRACT INFECTIONS IN THE EMERGENCY DEPARTMENT

Peter Adamič¹, Mateja Logar^{1,2,3}, Veronika Križan Hergouth⁴, Helena Ribič⁵

¹Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja, UKC Ljubljana

²Služba za preprečevanje in obvladovanje bolnišničnih okužb, UKC Ljubljana

³Katedra za infekcijske bolezni in epidemiologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

⁴Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

⁵Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Center za medicinsko mikrobiologijo,
Oddelek za medicinsko mikrobiologijo

IZVLEČEK

Okužbe sečil so pogost razlog za obisk urgentne ambulate, letno prizadenejo okrog 150 milijonov posameznikov. Najpogostejše jih povzročajo *Escherichia coli*, *Staphylococcus saprophyticus* in druge enterobakterije, ki se v sečila širijo ascendentno. Glede na predviden potek, zdravljenje in zaplete smo okužbe sečil do sedaj razdelili na zapletene in nezapletene okužbe sečil. Med zapletene okužbe sečil štejemo vse okužbe sečil pri moških, nosečnicah, bolnikih z anatomskimi ali funkcionalnimi nepravilnostmi v področju sečil, z imunskimi motnjami ali z vstavljenim urinskim katetrom. Po nedavno objavljenih priporočilih Evropskega urološkega združenja pa okužbe sečil sedaj delimo na lokalizirane in sistemske okužbe sečil, z ali brez pridruženih dejavnikov tveganja za zaplete. Pri obravnavi v urgentni ambulanti je pomembna natančna anamneza in klinični pregled, ki ju dopolnimo z laboratorijskimi in mikrobiološkimi preiskavami. Pred uvedbo zdravljenja praviloma odvajamo vzorec urina za urinokulturo, razen pri nezapletenih okužbah sečil, kjer to ni potrebno. Za pravilno vrednotenje rezultatov urinokulture so ključni podatki o načinu odvzema vzorca in delovni diagnozi. Izbira antibiotika temelji na mestu okužbe, kliničnih in epidemioloških podatkih o bolniku ter lokalnih podatkih o občutljivosti bakterij za antibiotike. Asimptomatske bakteriurije praviloma ne zdravimo, razen pri nosečnicah in bolnikih pred urološkimi posegi. Pri ambulantnih bolnikih z okužbo zgornjih sečil je smiselno opraviti tudi ultrazvočno ali drugo slikovno preiskavo sečil. Zdravljenje lahko pričnemo z enkratnim odmerkom intravenskega, dolgodelujočega antibiotika pred prehodom na peroralno terapijo. Antibiotično terapijo prilagodimo glede na izvid urinokulture.

Ključne besede: okužbe sečil, urgentna ambulanta, diagnostika, antibiotično zdravljenje, algoritem obravnave

ABSTRACT

Urinary tract infections are a frequent cause of emergency department visits, affecting approximately 150 million individuals annually. They are most frequently caused by *Escherichia coli*,

Staphylococcus saprophyticus and other enterobacteria, which ascend through the urinary tract. Until recently, urinary tract infections were classified as either complicated or uncomplicated based on the expected clinical course, treatment and risk of complications. Complicated urinary tract infections include infections in men, pregnant women, patients with anatomical or functional abnormalities of the urinary tract, those with immunodeficiencies or with an inserted urinary catheter. According to recently published guidelines from the European Association for Urology, urinary tract infections are now classified as either localized or systemic, with or without associated risk factors for complications. In the emergency department, a detailed history and clinical examination are important, supplemented by appropriate laboratory and microbiological tests. Before initiating treatment, an urine sample is taken for urine culture, except in uncomplicated urinary tract infections. Accurate documentation of the sample collection method and the working diagnosis is crucial for interpreting urine culture results. The choice of antibiotic depends on the site of infection, clinical and epidemiological data of the patient and local data on bacterial resistance to antibiotics. Asymptomatic bacteriuria is generally not treated, except in pregnant women and patients before urological procedures. In outpatients with upper urinary tract infections, it is also advisable to perform ultrasound or other imaging of the urinary tract. Treatment can begin with a single intravenous dose of a long-acting antibiotic, followed by oral therapy. Antibiotic therapy is adjusted according to the urine culture results.

Keywords: urinary tract infections, emergency department, diagnostics, antibiotic therapy, diagnostic algorithm

UVOD, PATOGENEZA, DELITEV

Okužbe sečil so eden najpogostejših infekcijskih vzrokov za obisk urgentne ambulante. Ocenjena letna pojavnost pri odraslih je 2–3 %, največ med mlajšimi ženskami z okrog 0,5–0,7 primerov na bolnik-letu. Na letni ravni prizadenejo okrog 150 milijonov ljudi in predstavljajo tudi pomembno finančno breme za zdravstvene sisteme (1–3).

Pri zdravem posamezniku je seč v urogenitalnem traktu od ledvic do sečnice sterilan. Glavni obrambni mehanizmi pred okužbo so stalen pretok seča vzdolž sečil, kisel pH seča, imunološki dejavniki in pregrada urotelne sluznice. Do okužbe pride najpogosteje po ascendentni poti s širjenjem bakterij iz anogenitalnega predela po sečnici do mehurja. Zelo redko pride do okužbe sečil zaradi hematogenega razsoja bakterij iz druga vira. Najpogostejši povzročitelji so *Escherichia coli*, *Staphylococcus saprophyticus* ter druge po Gramu negativne enterobakterije (4).

Okužbe sečil lahko delimo glede na anatomsko mesto na okužbe spodnjih (uretritis, cistitis, epididimitis, prostatitis) ali zgornjih sečil (pielonefritis, ledvični absces), glede na epidemiološke podatke pa na doma pridobljene okužbe, bolnišnične okužbe ali okužbe, povezane s stalnim urinskim katetrom (SUK). Glede na predviden potek, zdravljenje in zaplete pa smo okužbe sečil do nedavne delili na zapletene in nezapletene (3). Nezapletene okužbe sečil so okužbe sečil pri sicer zdravih ženskah, ki niso noseče, ter uretritis pri katerem koli spolu. Med zapletene okužbe sečil pa štejemo vse ostale okužbe pri moških, nosečnicah, bolnikih z anatomskimi ali funkcionalnimi nepravilnostmi v področju sečil, z imunskimi motnjami ali z vstavljenim SUK. Pri zapletenih okužbah sečil je večja verjetnost za okužbo z bolj odpornimi mikrobi in so povezane z večjim deležem zapletov (2, 3, 5, 6). V letu 2025 je Evropska zveza za urologijo izdala nova priporočila za zdravljenje okužb sečil. V novem sistemu razdelitve je

opuščena razdelitev na zapletene in nezapletene okužbe, opredeljena pa je nova delitev na lokalizirane in sistemske okužbe z ali brez pridruženih dejavnikov tveganja. Lokalizirana okužba sečil je cistitis pri katerem koli spolu, ki se kaže z značilnimi lokalnimi simptomi in znaki. Pri sistemski okužbi (pielonefritis, prostatitis) pa so pridruženi še sistemski znaki okužbe (vročina, mrzlica). Tako pri lokaliziranih kot sistemskih okužbah sečil je potrebno ovrednotiti prisotnost dejavnikov tveganja za zaplete in jih upoštevati v predvidenem poteku zdravljenja (6).

Med dejavnike tveganja spadajo večja starost, sladkorna bolezen, kronična ledvična bolezen, prirojena ali pridobljena imunska motnja, prisotnost SUK ali drugih tujkov, nosečnost ter funkcionalne ali anatomske nepravilnosti v področju sečil, ki ovirajo fiziološki pretok urina. Mednje sodijo vezikouretralni refluks, ledvični kamni, benigne ali maligne novotvorbe, hiperplazija prostate, nevrogeni mehur in zastoj seča ter strikture po intraabdominalnih operacijah. Pri mlajših ženskah pomembne dejavnike tveganja predstavljajo tudi spolni odnosi, uporaba spermicidov ter osebna anamneza okužb sečil v preteklosti. Pri moških dejavnik tveganja predstavlja okužba prostate (4–6).

O asimptomatski bakteriuriji govorimo pri bolnikih brez kliničnih znakov ali simptomov okužbe z dokazano pomembno bakteriurijo v semikvantitativni urinokulturi. Pomembna bakteriurija je prisotnost $\geq 10^5$ bakterij iste vrste v enem mililitru pravilno odvzetega vzorca seča (6).

KLINIČNI ZNAKI

Med klinične simptome okužbe sečil uvrščamo bolečino pri mokrenju (dizurija), pogosto odvajanje manjše količine urina (frekvenca), bolečino suprapubično ali ledveno, novonastalo inkontinenco, občutek nepopolnega odvajanja ali občutek siljenja k mokrenju (urgenca) ter znake, kot so spremenjena barva in vonj seča ali hematurija. Specifičnost posameznega simptoma ali znaka je sicer sorazmerno majhna in se giblje med 52 in 91 %. Kombinacija več različnih simptomov, kot so dizurija, frekvenca in hematurija, poveča verjetnost diagnoze cistitisa pri ženskah, medtem ko prisotnost vaginalnega izcedka ali vaginalnega draženja verjetnost zmanjša in kaže na prisotnost ginekološke patologije (2–4, 6).

Ob okužbi zgornjih sečil oziroma pri sistemski okužbi sečil so pridruženi še sistemski znaki, kot so vročina, mrzlica, hipotenzija in tahikardija, splošna oslabeledost, slabost in bruhanje, bolečina v trebuhu ali spremenjen mentalni status oziroma delirij (predvsem pri starejših bolnikih). Ob tem so lahko klasični simptomi, kot so dizurija ali urgenca, tudi odsotni, zato je potrebno premisliti tudi o drugih vzrokih za bolečine v trebuhu z ali brez vročine (holecistitis, apendicitis, ledvične kolike idr.). Pri bolnikih s sumom na okužbo sečil je tako potrebno opraviti natančen klinični pregled vseh organskih sistemov ter dodatne preiskave po potrebi (6, 7).

LABORATORIJSKA IN SLIKOVNA DIAGNOSTIKA

Kot prvi korak v laboratorijski diagnostiki okužbe sečil so na voljo testni lističi, s katerimi ugotavljamo prisotnost levkocitne esteraze, nitritov, urobilinogena, beljakovin, krvi, ketonov, bilirubina, glukoze ter pH urina. Levkocitna esteraza kaže na prisotnost levkocitov v seču, vendar je lahko pozitivna tudi pri vaginalnih vnetjih. Prisotnost nitritov ima sicer visoko (95–98 %) specifičnost pri okužbah sečil, potrebna pa je previdnost pri interpretaciji. Če okužbo povzročajo organizmi, ki ne reducirajo nitratov (*S. saprophyticus*, *Pseudomonas* spp.

ali enterokoki), bo preiskava negativna. Občutljivost pozitivne levkocitne esteraze in nitritov skupaj je pri okužbah sečil 35 % do 84 %, specifičnost pa nad 98 % (4).

V nadaljevanju je potreben še pregled vzorca sedimenta seča pod mikroskopom. Izvid govori v prid okužbi, če so v sedimentu prisotne številne bakterije ter vsaj 10 levkocitov/mm³. Številne epitelne celice so lahko prisotne pri nepravilno odvzetem vzorcu. Eritrociti so prisotni tako pri različnih vrstah vnetja kot pri krvavitvah zaradi drugih razlogov v poteku sečil (4, 6). Pred uvedbo antibiotičnega zdravljenja praviloma odvezamemo še vzorec seča za mikrobiološko preiskavo (urinokulturo), razen pri nezapletenih okužbah sečil, kjer to ni indicirano (3, 6).

V primeru suma na okužbo zgornjih sečil so smiselne tudi laboratorijske preiskave krvi s hemogramom, elektroliti, dušičnimi retenti in CRP. Pri sistemskem vnetju pričakujemo levkocitozo in zvišane kazalce vnetja. Ocena ledvične funkcije je pomembna za odmerjanje antibiotika ter ugotavljanje morebitne akutne ledvične okvare ob okužbi.

Hemokulture odvezamemo zgolj ob sumu na sepsa, pri imunsko oslabilih bolnikih ter ob neprepričljivi diagnozi okužbe sečil, sicer je indiciran samo odvzem urinokulture (6).

Pri vseh bolnikih z zapleno okužbo sečil je potrebno opraviti tudi ultrazvočno diagnostiko sečil za izključitev anatomskih vzrokov za okužbo sečil oziroma za izključitev zapletov (hidronefroza, absces, zastoj seča, ledvični kamni). Če je bolnik klinično stabilen in ne potrebuje hospitalizacije, lahko UZ sečil opravi ambulantno v času antibiotičnega zdravljenja. V primeru vztrajanja vročine 72 ur po uvedbi ustreznega antibiotika, oziroma pri hitrem slabšanju kliničnega stanja, pa je, ob nepovednem izvidu ultrazvoka sečil, smiselno opraviti računalniško tomografijo (4–7).

MIKROBIOLOŠKA PREISKAVA URINA – URINOKULTURA

Osnovni cilj urinokulture je identifikacija povzročiteljev okužb sečil, določitev števila prisotnih bakterij v seču (angl. *colony forming units*, CFU) na mililiter (CFU/ml) in ugotavljanje občutljivosti povzročiteljev za antibiotike. V klinični praksi odvzem seča za urinokulturo večinoma ni potreben pri vsakem bolniku z nezapleno okužbo sečil. Indikacije za urinokulturo so: sistemske okužbe sečil, neznčilna klinična slika ali neuspeh zdravljenja, ponavljajoča vnetja sečnega mehurja, okužbe sečil pri imunsko oslabilih bolnikih in okužbe sečil pri otrocih (8).

ODVZEM VZORCEV

Pravilno odvzet vzorec seča je ključen in pomembno vpliva na kakovost rezultata mikrobiološke preiskave. Če bolnikovo stanje dopušča, seč odvezamemo z neinvazivno metodo; najpogostejše srednji curek seča po metodi čistega mokrenja in pri otrocih mlajših od treh let odvzem z urinsko vrečko. Ker se seč pri teh odvzemih lahko kontaminira z običajno mikrobioto, je pomembno, da se odvzem izpelje skrbno po predhodnem čiščenju periuretralnega področja po priporočenih navodilih. Pri invazivnih odvzemih, kot sta odvzem s katetrom ali suprapubična punkcija, je možnost kontaminacije vzorca sicer manjša, vendar lahko pride do zapletov (vnos bakterij, poškodbe). Pri bolniku s SUK seč odvezamemo aseptično iz odvzemnega mesta po zamenjavi katetra; nikoli iz zbirne urinske vrečke (9–12).

Pri klasični mikrobiološki preiskavi seča – urinokulturi iščemo predvsem običajne povzročitelje okužb sečil. V primeru suma na povzročitelje, kjer moramo uporabiti druge metode kultivacije ali detekcije, je potrebno označiti, da gre za sum na specifične povzročitelje oziroma naročiti ustrezno preiskavo in odvzeti odgovarjajoč vzorec (mikobakterije, anaerobi, klamidije,

mikoplazme). Pri sumu na uretritis je potreben odvzem prvega curka seča najmanj 2 do 3 ure po mokrenju. Prvi curek seča je primeren tudi za ugotavljanje spolno prenosljivih okužb z molekularnimi metodami, predvsem z metodo pomnoževanja nukleinskih kislin s polimerazo – PCR (angl. polymerase chain reaction) (10, 11).

TRANSPORT VZORCEV

Seč odvajamo v sterilno posodico ali epruveto. Na embalaži z vzorcem morajo biti jasno označeni podatki, ki omogočajo identifikacijo: ime in priimek bolnika, vrsta vzorca, čas odvzema vzorca (lahko tudi na spremnem listu) ter vrsta odvzema (obvezno, ko je več odvzemov, npr. nefrostoma in SUK). V spremni dokumentaciji (tj. spremni list) morajo biti poleg osnovnih podatkov o bolniku navedeni podatki glede načina odvzema vzorca (srednji curek seča, odvzem s katetrom, odvzem iz SUK, idr.), sum na diagnozo (npr. cistitis, prostatitis, pielonenefritis, idr.) in podatki o bolezni (simptomatika okužb sečil, druge bolezni ali stanja). Zaželeni so tudi podatki o morebitni prisotnosti levkocitne esteraze in nitritov ter zdravljenju s protimikrobnimi zdravili. Vsi ti parametri pomembno vplivajo na interpretacijo rezultata urinokulture (11).

Po odvzemu je potrebno seč čim hitreje prenesti v mikrobiološki laboratorij in nacepiti na ustrezna gojišča (≤ 2 uri). Če takojšen transport ni možen, seč hranimo v hladilniku, do največ 24 ur. Če pričakovani transport presega 24 ur, lahko uporabimo transportne sisteme (tube, epruvete) s konzervansom (običajno borna kislina), ki ob pravilni uporabi učinkovito ohranjajo začetno število bakterij do 48 ur tudi pri sobni temperaturi (9–11).

VREDNOTENJE REZULTATOV URINOKULTURE

Rezultat urinokulture temelji na oceni relevantnosti rasti, prisotne na gojiščih glede na vrsto mikroorganizmov (Preglednica 1), koncentracijo mikroorganizmov (CFU/ml) in število ugotovljenih različnih vrst mikroorganizmov. Pri vrednotenju se upošteva tudi način odvzema, prisotnost levkocitov, prisotnost simptomov okužbe sečil ter drugi dejavniki, povezani z bolnikom (pridružene bolezni, imunski status, nosečnost in drugo) (8, 11, 13).

Preglednica 1. Razvrstitev povzročiteljev okužb sečil po patogenosti (8).

Patogenost v sečilih		Mikroorganizmi
Primarni patogeni	Povzročajo okužbe tudi pri osebah brez anatomskih ali funkcionalnih anomalij v sečilih.	<i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus saprophyticus</i>
Sekundarni patogeni	Povzročajo predvsem zapletene okužbe sečil, redko pri osebah z normalnimi sečili.	ostale enterobakterije, <i>Enterococcus</i> sp., <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Aerococcus</i> sp., <i>Actinotignum schaalii</i>
Pogojni patogeni	Občasno lahko povzročijo okužbe predvsem v bolnišnicah; lahko samo kolonizatorji.	<i>Streptococcus agalactiae</i> , <i>Acinetobacter</i> sp., glive
Kontaminanti	So del kožne, uretralne ali genitalne mikrobiote; povzročitelji samo izjemoma.	koagulazno neg. stafilokoki*, alfa-hemolitični streptokoki, laktobacili, <i>Corynebacterium</i> sp.**

*lahko tudi pogojni patogeni **razen *C. urealyticum*, *C. seminale* in *C. glucuronolyticum*, ki sodijo med sekundarne uropatogene

Interpretacija urinokulture je relativno enostavna pri nedvoumnem rezultatu, npr. rast odsotna ali prisotna rast običajnih povzročiteljev v koncentraciji $\geq 10^5$ CFU/ml. Težje pa je vrednotiti rezultat, ko je prisotnih več vrst mikroorganizmov ali ko gre za rast v manjši koncentraciji (11).

Rast treh ali več različnih vrst bakterij običajno pomeni kontaminacijo vzorca z genitalno ali periuretralno mikrobioto; večinoma se priporoča ponoven odvzem seča. Če med poraslimi uropatogeni ena vrsta prevladuje ($\geq 10^5$ CFU/ml), se priporoča procesiranje prevladujoče bakterije z opozorilom na možnost kontaminacije (8).

Danes je splošno uveljavljeno stališče, da tudi manjša koncentracija mikroorganizmov v seču ($< 10^5$ CFU/ml) lahko pomeni okužbo in ne izključno kontaminacije, kot je veljalo v preteklosti (11, 13). Nižje postavljena meja pomembne bakteriurije zagotavlja večjo občutljivost preiskave, vendar hkrati znižuje specifičnost, zato je odločitev o izbrani mejni vrednosti vedno iskanje optimalnega ravnovesja med zadostno občutljivostjo in specifičnostjo (11, 12). Večina sodobnih smernic za mikrobiološko diagnostiko okužb sečil priporoča procesiranje vzorcev z manjšo koncentracijo bakterij. Izbrane mejne vrednosti v shemah temeljijo predvsem na načinu odvzema vzorca (+/- simptomatika/ levkociturija) ali na kliničnem sindromu; večinoma upoštevajo tudi spol bolnika ter vrsto mikroorganizmov in število vrst izoliranih bakterij (8–13).

Ugotovljeno je, da je pri ženskah s simptomi okužbe spodnjih sečil lahko pomembna že koncentracija $\geq 10^2$ CFU/ml (predvsem pri *E. coli* ali *S. saprophyticus*) in pri moških $\geq 10^3$ CFU/ml (večinoma prisoten tudi prostatitis) (10, 11, 13). Pri okužbi zgornjih sečil oziroma pielonefritisu je večinoma primerna meja detekcije 10^4 CFU/ml (1–2 vrsti mikroorganizmov) (10). Tudi pri otrocih se kot najprimernejša priporoča meja detekcije $\geq 10^4$ CFU/ml, saj le-ta zagotavlja klinično pomembne rezultate z optimalno občutljivostjo in specifičnostjo, posebno ob potrjeni prisotnosti levkociturije (12). Za asimptomatsko bakteriurijo velja meja $\geq 10^5$ CFU/ml v dveh vzorcih seča pri ženskah in enem vzorcu pri moškem (6).

Glede na način odvzema seča se predvsem pri invazivnih tehnikah priporoča nižja meja detekcije; pri suprapubični punkciji vsaka koncentracija, pri odvzemu iz nefrostome in drugih stom 10^2 CFU/ml, pri cistoskopiji in pri odvzemu s katetrom 10^3 CFU/ml (1–2 vrsti mikroorganizmov) (8–10). Tudi pri simptomatskem bolniku s SUK je meja detekcije 10^3 CFU/ml (14).

Mikrobiološki laboratoriji morajo na podlagi smernic ustvariti lastno shemo za vrednotenje rezultatov, saj je pri vrednotenju potrebno upoštevati še druge parametre, ki so značilni za populacijo njihovih bolnikov. Osnovni pogoj za pravilno vrednotenje rezultatov urinokulture pa je dostopnost in zanesljivost potrebnih podatkov, kar je bilo v prispevku večkrat poudarjeno.

TESTIRANJE OBČUTLJIVOSTI BAKTERIJ ZA ANTIBIOTIKE

Mikrobiološki laboratoriji v Sloveniji izvajajo testiranje občutljivosti za antibiotike po smernicah EUCAST (*angl. European Committee on Susceptibility Testing*). Pri bakterijah, osamljenih iz vzorcev seča, interpretacija rezultata po smernicah EUCAST pri določenih antibiotikih velja samo za lokalizirane okužbe sečil ali za okužbe, ki izvirajo iz sečil; pri nekaterih antibiotikih interpretacija velja samo za določeno bakterijo ali skupino bakterij. Pri nekaterih antibiotikih se interpretativni kriteriji razlikujejo pri peroralni in intravenski aplikaciji (15).

OBČUTLJIVOSTI BAKTERIJ ZA ANTIBIOTIKE V SLOVENIJI

Mikrobiološki laboratoriji občasno zbiramo in analiziramo rezultate občutljivosti za antibiotike pri bakterijah, ki jih ugotovimo iz vzorcev urina. Gre za izolate iz rednega dela laboratorijev, ki vključujejo predvsem vzorce bolnikov z zapletenimi okužbami zgornjih in spodnjih sečil, vzorce bolnikov s ponavljajočimi okužbami ali pa vzorce bolnikov, pri katerih začetno zdravljenje okužbe sečil ni bilo učinkovito. Vzorci seča bolnic z akutnim nezapletenim cistitisom so pri rednem delu mikrobioloških laboratorijev zelo redki, saj večino teh okužb uspešno pozdravimo z izkustveno izbrano protimikrobno učinkovino. Vzorcev seča pri nezapletenem cistitisu v laboratoriju ni mogoče ločiti od drugih vzorcev. Za izkustveno zdravljenje nezapletenega cistitisa so potrebne posebne, usmerjene preiskave. V Sloveniji je bila raziskava, ki je vključevala vzorce seča, pridobljenega pri ambulantnih epizodah nezapletenga cistitisa, izvedena v letih od 2017 do 2019. Rezultati so pokazali, da je bila občutljivost *E. coli* za trimetoprim s sulfometoksazolom 85,5 %, za nitrofurantoin 98,4 %, za ciprofloksacin 98,4 % in za fosfomicin 100 %. Avtorji navajajo tudi primerjavo občutljivosti *E. coli* pri bolnicah z nezapletenim akutnim cistitisom s rezultati raziskave, ki je vključevala rezultate rednega dela laboratorijev leta 2016, in sicer pri bolnikih obeh spolov, starih od 15 do 65 let. Občutljivost *E. coli* je bila pri skupini iz rednega dela manjša za trimetoprim s sulfometoksazolom (62,7 %) in za ciprofloksacin (86,2 %), za nitrofurantoin je bila podobna kot v prvi skupini (99,6 %), podatkov za fosfomicin pa ni na voljo (16, 17).

ZDRAVLJENJE

Izbira antibiotika temelji na mestu okužbe, kliničnih in epidemioloških podatkih o bolniku ter lokalnih podatkih o občutljivosti bakterij za antibiotike. Pred uvedbo antibiotika preverimo, ali je pri bolniku znana kolonizacija z večkratno odpornimi bakterijami (VOB) v danki in ali so prisotni drugi dejavniki tveganj za okužbo z VOB (hospitalizacija ali antibiotično zdravljenje pred nastopom težav). Preverimo tudi, ali so pri bolniku na voljo pretekli izvidi urinokulture v primeru ponavljajočih se okužb sečil. Bolniku svetujemo uživanje zadostne količine tekočin, s čimer pospešimo izločanje bakterij in zmanjšamo njihovo koncentracijo.

Asimptomatske bakteriurije praviloma ne zdravimo z antibiotiki. Zdravljenje uvajamo zgolj pri nosečnicah ter bolnikih pred urološkimi posegi s predvidenim predrtjem sluznice oziroma z večjo sluznično krvavitvijo. Izbira in trajanje antibiotične terapije je v tem primeru enaka kot za akutni cistitis.

Pri uretritisu ali cervicitisu pred uvedbo antibiotika pomislimo na možnost spolno prenosljive okužbe, odvezamemo dodatno usmerjeno anamnezo za dejavnike tveganja ter odvzamemo kužnine (brise) oziroma napolnimo bolnika k ustreznemu specialistu. Zdravljenje spolno prenosljivih okužb je odvisno od dokazanega povzročitelja (4, 6, 18).

Pri moških z okužbo sečil pomislimo na pridružen akutni prostatitis, če je prisotna še bolečina v presredku, zadnjiku, za sramnico ali v spodnjem delu hrbta, pogosto in boleče mokrenje, boleča ali povečana prostata ali novonastala zavora iztoka urina. Čeprav je morebitna asimptomatska prizadetost prostate z zvišanim PSA pogosta pri moških z okužbo sečil, le-ta ne vpliva na izid antibiotičnega zdravljenja. Rutinska kontrola PSA ni smiselna, saj vrednosti niso značilno povezane s klinično sliko ali s spremembami volumna prostate (3, 19). Pri sumu na akutni prostatitis izbiramo antibiotike, ki dobro prodirajo v tkivo

prostate, kot so ciprofloksacin, levofloksacin ali trimetoprim/sulfametoksazol (TMP/SMX). Antibiotično zdravljenje traja vsaj 14 dni. Zdravljenje podaljšamo, če ima bolnik klinično še težave (18).

Cistitis zdravimo pri ženskah 3–5 dni, odvisno od izbranega protimikrobnega zdravila. Zdravljenje podaljšamo do enega tedna, če težave trajajo že 7 dni ali ima bolnica znano sladkorno bolezen. Pri moških zdravimo okužbe spodnjih sečil 7 do 14 dni. Daljše zdravljenje je potrebno v primeru suma na pridružen prostatitis. V primeru, da gre za okužbo, povezano s SUK, lahko čas zdravljenja skrajšamo, če je bil urinski kateter ustrezno zamenjan. Za zdravljenje cistitisa uporabimo peroralne antibiotike. Podrobnosti so zbrane v preglednici 2 (6, 7, 18, 20).

Preglednica 2. Peroralne učinkovine za zdravljenje cistitisa (6, 7, 18, 20).

Učinkovina	Ženske (trajanje dni)	Moški (trajanje dni)	Nosečnice (trajanje dni)
nitrofurantoin	100 mg/12 ur (5)	/	100 mg/12 ur (7)*
fosfomicin	3 g (1)	3 g/72 ur (7–14)	3 g (1)
trimetoprim/sulfametoksazol	160/800 mg/12 ur (3; 7 pri bolnicah s sladkorno boleznijo ali če trajajo simptomi > 7 dni)	160/800 mg/12 ur (7–14)	160/800 mg/12 ur (3)*
amoksicilin s klavulansko kislino	875/125 mg/12 ur (7)	/	875/125 mg/12 ur (7)
cefadroksil	500 mg/12 ur (3)	/	500 mg/12 ur (3)
ciprofloksacin	500 mg/12 ur (3; 7 pri bolnicah s sladkorno boleznijo ali če trajajo simptomi > 7 dni)	500 mg/12 ur (7–14)	/
levofloksacin	250 mg/24 ur (3; 7 pri bolnicah s sladkorno boleznijo ali če trajajo simptomi > 7 dni)	500–750 mg/24 ur (7–14)	/
doksiciklin	/	100 mg/12 ur (7–14)	/

*ne v 3. tromesečju

Za zdravljenje pielonefritisa izbiramo antibiotike, ki dosegajo terapevtske koncentracije tudi v ledvičnem parenhimu. Učinkovini, kot sta nitrofurantoin ali fosfomicin, se skoraj v celoti koncentrirata v seču in zato nista primerni za zdravljenje pielonefritisa. Trajanje zdravljenja je 7–10 dni pri ženskah ter 10–14 dni pri moških, z daljšim zdravljenjem ob sumu na pridružen prostatitis. V večji meta-analizi, ki jo je opravilo Italijansko združenje za interno medicino (SIMI) v sklopu kampanje »Odločaj se pametno« (*angl. Choosing Wisely Campaign*) ni bilo statistično značilnih razlik v stopnji kliničnega ali mikrobiološkega neuspeha zdravljenja med bolniki, ki so prejeli kratkotrajno (≤ 7 dni) ali dolgotrajnejše antibiotično zdravljenje pri nezapletenem pielonefritisu (21). Zdravljenje podaljšamo ob sumu na pridružen prostatitis, oziroma kadar so pri bolniku prisotni drugi dejavniki tveganja za zaplete, npr. anatomske ali funkcionalne nepravilnosti v področju sečil ali imunske motnje.

Pri ambulantnem bolniku, ki ne potrebuje hospitalizacije, lahko pričnemo z enkratnim odmerkom dolgodelujočega antibiotika intravensko (npr. gentamicin 5 mg/kg telesne teže ali ceftriakson 2 g ob ledvični okvari) ter nadaljujemo s peroralno terapijo, ki je zbrana v preglednici 3 (6, 7, 18, 20).

Preglednica 3. Peroralni antibiotiki za zdravljenje pielonefritisa (6, 7, 18, 20).

Učinkovina	Odmerek
cefuroksim aksetil	500 mg/12 ur
amoksicilin s klavulansko kislino	875/125 mg/12 ur
cefiksime	400 mg/24
trimetoprim/sulfametoksazol*	160/800 mg/12 ur (ob znani občutljivosti)
ciprofloksacin**	500 mg/12 ur
levofloksacin**	500–750 mg/24 ur

*ne v 3. trimestru nosečnosti

**ne v nosečnosti

Na območjih, kjer je odpornost *E. coli* (iz seča) proti ciprofloksacinu > 10 % in proti TMP/SMX > 20 %, je svetovan razmislek o intravenskem gentamicinu ali dolgodelujočem intravenskem cefalosporinu do prejema izvida urinokulture zaradi možnosti odpornosti povzročitelja proti fluorokinolonom (4, 14, 18). Peroralni cefalosporini glede na farmakokinetične in farmakodinamske podatke dosegajo majhne serumske koncentracije, zato je potrebna previdnost pri zdravljenju hudo potekajočih okužb. Glede na klinične podatke in prakso pa večjih razlik v učinkovitosti zdravljenja med peroralnimi cefalosporini in drugimi oralnimi antibiotiki ni (22, 23).

Pri sistemskih okužbah sečil svetujemo po uvedbi antibiotika kontrolo pri zdravniku. Neuspeh zdravljenja je lahko posledica okužbe s proti izbranemu antibiotiku odpornim mikrobom, zapore v sečilih, nastanka abscesa ali drugega izvora okužbe izven sečil. Če v 72 urah ne pride do kliničnega in/ali laboratorijskega izboljšanja, ponovimo diagnostiko in opravimo ultrazvočno ali CT preiskavo sečil. Bolnišnična obravnava je potrebna ob sepsi ali septičnem šoku, pri akutni ledvični okvari, nezmožnosti uživanja peroralnih antibiotikov, prisotnosti mikrobov, kjer peroralno zdravljenje ni možno, in pri slabšanju kliničnega stanja kljub ustrezni antibiotični terapiji glede na antibiogram. V primeru kliničnega in laboratorijskega izboljšanja laboratorijska in/ali mikrobiološka kontrola seča ni potrebna (5–7, 14).

ZAKLJUČEK

Okužbe sečil so pogost razlog za pregled v urgentni ambulanti in se pogosteje pojavljajo pri določenih skupinah bolnikov. Glede na najnovejša priporočila jih delimo na lokalizirane in sistemske okužbe sečil, z ali brez pridruženih dejavnikov tveganja za zaplete. Med dejavnike tveganja spadajo starost, sladkorna bolezen, kronična ledvična bolezen, prirojena ali pridobljena imunska oslabeleost, prisotnost tujkov, nosečnost ter funkcionalne ali anatomske nepravilnosti v področju sečil. Pri pregledu je potrebna natančna anamneza in klinični status. Ob sumu na okužbo sečil je potrebno opraviti laboratorijsko analizo pravilno odvzetega vzorca seča. Poslužujemo se lahko testnih lističev, kadar vrednotimo prisotnost levkocitne esteraze in nitritov ali mikroskopske analize sedimenta seča, kadar so pri okužbi prisotne številne bakterije ter vsaj 10 levkocitov/mm³. Pred uvedbo antibiotičnega zdravljenja od vzorca vzamemo vzorec za urinokulturo, razen pri nezapleteni okužbi sečil, kjer to ni indicirano. Za pravilno vrednotenje rezultatov urinokulture mikrobiološki laboratorij potrebuje ključne podatke, predvsem o načinu odvzema vzorca in delovni diagnozi. Hemokulture od vzorca vzamemo samo v primeru suma na seps, pri bolniku z imunsko oslabeleostjo ali neprepričljivi diagnozi okužbe sečil. Pri izbiri

antibiotika upoštevamo mesto okužbe (zgornja ali spodnja sečila), epidemiološke dejavnike tveganja za okužbo z večkratno odpornimi bakterijami (predhodna hospitalizacija ali antibiotično zdravljenje, znana kolonizacija in pretekli izvidi urinokulture) ter bolnikove pridružene bolezni. Asimptomatsko bakteriurijo zdravimo samo pri nosečnicah ter pred načrtovanimi urološkimi posegi. Pri bolnikih z okužbo zgornjih sečil opravimo med antibiotičnim zdravljenjem tudi ultrazvočno diagnostiko sečil za izključitev anatomske zapletov ali vzrokov za okužbo. V primerih nezapletenega pielonefritisa brez dejavnikov tveganja za zaplete ter pri okužbah sečil ob SUK je zadostno kratkotrajnejše antibiotično zdravljenje. Pri ambulantnem bolniku, ki ne potrebuje hospitalizacije, lahko pričnemo z enkratnim odmerkom dolgodelujočega antibiotika intravensko ter nadaljujemo s peroralno terapijo.

LITERATURA

1. Flores-Mireles AL, Walker JN, Caparon M, Hultgren SJ. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nat Rev Microbiol*. 2015 May 8; 13(5):269–84.
2. Bent S. Does This Woman Have an Acute Uncomplicated Urinary Tract Infection? *JAMA*. 2002; 287(20):2701.
3. Tomažič J, Srle F. Infekcijske bolezni. 2. izd. Ljubljana: Združenje za infektologijo, Slovensko zdravniško društvo; 2017. 379–92 p.
4. Dubbs SB, Sommerkamp SK. Evaluation and Management of Urinary Tract Infection in the Emergency Department. Vol. 37, *Emergency Medicine Clinics of North America*. W.B. Saunders; 2019. 707–23 p.
5. Gupta K, Grigoryan L, Trautner B. Urinary Tract Infection. *Ann Intern Med*. 2017; 167(7):ITC49–64.
6. Bonkat G, Kranz J, Cai T, Geerlings SE, Koves B, Pilatz A, Medina-Polo J, et. al. EAU Guidelines on Urological Infections. European Edn. presented at the EAU Annual Congress Madrid, Spain 2025. ISBN 978-94-92671-29-5.
7. Johnson JR, Russo TA. Acute Pyelonephritis in Adults. *New England Journal of Medicine*. 2018; 378(1):48–59.
8. Kouri TT, Hofmann W, Falbo R, Oyaert M, Schubert S, Gertsen JB, et al. The EFLM European Urinalysis Guideline 2023. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2024; 62(9):1653–786.
9. McCarter YS, Burd EM, Hall GS, et al. Cumitech 2C, Laboratory Diagnosis of Urinary Tract Infections. Coordinating ed., Sharp SE. ASM Press, Washington, DC; 2009. p.1–25.
10. Cavallo JD, Tenke P. Urinary Tract Infections. In: *European Manual Of Clinical Microbiology (EMCM)*. 2012; 133–43.
11. Wilson ML, Gaido L. Laboratory Diagnosis of Urinary Tract Infections in Adult Patients. *Clinical Infectious Diseases*. 2004; 38(8):1150–8.
12. Doern C, Richardson SE. Diagnosis of Urinary tract Infections. *J Clin Microb*. 2016; 54(9): 2233–42.
13. Dermota U, Velimirović I, Ribič H. Vrednotenje rezultatov mikrobiološke preiskave seča. *Med Razgl*. 2019; 58 Suppl 4: 31–8.
14. Bonkat G, Bartoletti R, Bruyère F, Cai T, Geerlings SE, Köves B, et al. EAU Guidelines on Urological Infections. Arnhem, The Netherlands: European Association of Urology; 2024. *Eur Urol*. 2024; 86(1): 27–41.
15. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 14.0, EUCAST; 2024. [citirano 3.4.2025] Dosegljivo na: <http://www.eucast.org>.

-
16. Ribič H, Lugovski M, Dermota U, Kavka D. Novosti v mikrobiološki diagnostiki okužbe sečil. In: Govc Eržen J, ur. Aktualno v družinski medicini: zbornik predavanj. Družinska medicina 2017; (15 suppl 5): 32–8.
 17. Ribič H, Berce I, Žohar Čretnik T, Dermota U, Lugovski M, Harlander T. Antimicrobial susceptibility of bacteria causing uncomplicated cystitis in Slovenia. *Zdrav Vestn.* 2023;92(Epub ahead of print):1–9. DOI: <https://doi.org/10.6016/ZdravVestn.3448>.
 18. Čížman Milan, Beović Bojana. Kako predpisujemo protimikrobna zdravila v bolnišnicah. . Ljubljana: Sekcija za protimikrobno zdravljenje Slovenskega zdravniškega društva; 2013. 92–2 p.
 19. Arjunlal TS, Deepanjali S, Manikandan R, Medha R. Frequency and clinical significance of prostatic involvement in men with febrile urinary tract infection: a prospective observational study. *F1000Res.* 2020 Nov 10; 9:617.
 20. Gupta K, Hooton TM, Naber KG, Wullt B, Colgan R, Miller LG, et al. International Clinical Practice Guidelines for the Treatment of Acute Uncomplicated Cystitis and Pyelonephritis in Women: A 2010 Update by the Infectious Diseases Society of America and the European Society for Microbiology and Infectious Diseases. *Clinical Infectious Diseases.* 2011; 52(5):e103–20.21.
 21. Erba L, Furlan L, Monti A, Marsala E, Cernuschi G, Solbiati M, et al. Short vs long-course antibiotic therapy in pyelonephritis: a comparison of systematic reviews and guidelines for the SIMI choosing wisely campaign. *Intern Emerg Med.* 2021; 16(2):313–23.
 22. Vogler S, Pavich E. Pyelonephritis treatment in the community emergency department: Cephalosporins vs. first-line agents. *Am J Emerg Med.* 2018; 36(11):2054–7.
 23. Rodríguez-Gascón A, Aguirre-Quinonero A, Canut-Blasco A. Are oral cefuroxime axetil, cefixime and cefditoren pivoxil adequate to treat uncomplicated acute pyelonephritis after switching from intravenous therapy? A pharmacokinetic/pharmacodynamic perspective. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2020; 38(7):306–11.

OKUŽBE KOŽE IN MEHKIH TKIV

SKIN AND SOFT TISSUE INFECTIONS

Kaja Černetič,¹ Andrej Kraševac Glaser,^{2,3} Rajko Saletinger^{1,4}

¹*Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja, UKC Ljubljana*

²*Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Center za medicinsko mikrobiologijo,
Oddelek za medicinsko mikrobiologijo Maribor*

³*Katedra za mikrobiologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru*

⁴*Katedra za infekcijske bolezni in epidemiologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani*

IZVLEČEK

Okužbe kože in mehkih tkiv sodijo med najpogostejše okužbe, ki jih srečujemo v klinični praksi. V večini primerov gre za nenevarne okužbe kože, medtem ko so okužbe mehkih tkiv, ki imajo pogosto težek potek in visoko smrtnost, na srečo redke. Diagnozo in najverjetnejše povzročitelje večine okužb kože lahko pogosto opredelimo na podlagi klinične slike; občasno, zlasti pri bolnikih z imunsko motnjo, sistemsko prizadetostjo in pri okužbah kroničnih ran ter mehkih tkiv, pa je potrebna dodatna mikrobiološka diagnostika. Večino okužb kože zdravimo z lokalnimi ali sistemskimi antibiotiki, medtem ko je pri okužbah mehkih tkiv poleg sistemskega antibiotičnega zdravljenja nujno potrebno tudi kirurško zdravljenje z odstranitvijo mrtvin.

Ključne besede: povrhnje okužbe kože, gnojne okužbe kože, negnojne okužbe kože, okužbe kroničnih ran, okužbe mehkih tkiv

ABSTRACT

Skin and soft tissue infections are among the most common infections encountered in clinical practice. While most cases involve superficial, non-severe skin infections, soft tissue infections – although rare – may follow a fulminant course and are associated with considerable morbidity and high mortality. In the majority of cases, the diagnosis of skin infections can be established clinically. However, in selected patients, particularly those with immunocompromising conditions, systemic involvement, or chronic wound and deep soft tissue infections, additional microbiological investigations are warranted. Most skin infections can be effectively treated with topical or systemic antibiotics, whereas soft tissue infections require systemic antimicrobial therapy in combination with prompt surgical intervention for the debridement of necrotic tissue.

Keywords: superficial skin infections, non-purulent skin infections, purulent skin infections, chronic wound infections, soft tissue infections

RAZDELITEV OKUŽB KOŽE

Okužbe kože lahko razdelimo na povrhnje okužbe kože, ki zajemajo le vrhnjico (impetigo, folikulitis), gnojne okužbe kože (furunkel, karbunkel, kožni absces) in negnojne okužbe kože (šen, celulitis) (1, 2).

Povrhnje okužbe kože

Impetigo je gnojna, zelo nalezljiva okužba vrhnjice, ki jo največkrat povzroča *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), redkeje *Streptococcus pyogenes* (*S. pyogenes*). Zanj so značilni delno zagnojeni mehurčki v skupinah, iz katerih po razpoku nastane medena krasta. Pri 10

bolnikov je možen pojav zapletov, kot so vnetje mezigovnic, celulitis in stafilokokni sindrom luščenja kože. Po okužbi s *S. pyogenes* lahko pride do akutnega poststreptokoknega glomerulonefritisa. Diagnoza impetiga je klinična. Mikrobiološka diagnostika ni potrebna, razen ob vztrajanju kožnih sprememb kljub antibiotičnemu zdravljenju. V tem primeru odvezamemo bris mehurčka. Zdravljenje je najpogostejše lokalno z antibiotičnim mazilom (npr. fusidna kislina ali mupirocin trikrat dnevno 7 dni). Glede na priporočila Nacionalnega inštituta za odličnost v zdravstvu in negi (angl. *National Institute for Health and Care Excellence*; okr. NICE) se lahko pri bolnikih z lokaliziranim impetigom, ki nimajo sistemskih znakov okužbe in so brez dejavnikov tveganja za zaplete, pred uporabo antibiotičnega mazila uporabi antiseptično mazilo, vodikov peroksid (3). Pri bolnikih z obsežnejšimi kožnimi spremembami ali v primeru zapletov je priporočeno sistemsko zdravljenje (flukloksacilin 500 mg na 6 ur 7 dni, oziroma v primeru preobčutljivosti na β -laktamske antibiotike klindamicin 300 mg–450 mg na 8 ur 7 dni) (1, 2, 4). Folikulitis je okužba lasnega ali dlačnega mešička, ki jo najpogostejše povzroča *S. aureus*. Ob anamnestičnem podatku o kopanju v masažnih kadeh moramo pomisliti tudi na okužbo s *Pseudomonas aeruginosa*. Pri folikulitisu se pogosto pojavljajo majhne rdeče papule z osrednjim gnojnim predelom. Diagnoza je klinična. Zdravljenje je v večini primerov lokalno, z uporabo antibiotičnih mazil (npr. mupirocin ali fusidna kislina). Bolnike z obsežno prizadetostjo kože, celulitisom ali s sistemskimi znaki okužbe zdravimo s sistemskimi antibiotiki (1, 4).

Gnojne okužbe kože

Furunkel in karbunkel: furunkel je omejeno gnojno vnetje kože, ki nastane zaradi okužbe lasnega ali dlačnega mešička in njegove okolice. Karbunkel pa je skupek furunklov. Najpogostejši povzročitelji so stafilokoki, predvsem *S. aureus*. Bolniki s furunkli običajno nimajo sistemskih znakov okužbe, pri bolnikih s karbunkli pa se lahko pojavi vročina. Pri furunklih na srednji tretjini obraza obstaja nevarnost tromboze kavernoznega sinusa. Diagnoza je klinična. Mikrobiološka diagnostika je indicirana le pri obsežnejših in ponavljajočih kožnih spremembah. Takrat odvezamemo vzorec gnoja ali bris dna lezije na patogene bakterije. Antibiotično zdravljenje je potrebno le ob sistemskih znakih okužbe. Kožne spremembe pogosto spontano počijo, kar lahko pospešimo s toplimi obkladki. V tem primeru specifično zdravljenje ni potrebno. Če do spontane drenaže ne pride, je potrebno kirurško zdravljenje - drenažni vrez (1, 2).

Kožni absces je kolekcija gnoja v dermisu in globljih tkivih. Običajno se okužba širi iz površine kože, le v redkih primerih je posledica hematogenega razsoja. Običajno se kaže kot boleč vozliček, ki ga pogosto prekriva pustula in obkroža rob eritematozne otekline. Najpogostejši povzročitelj je *S. aureus*. V okolici ust, spolovila in zadnjika so pogostejše polimikrobne okužbe

(2, 5). Pri ponavljajočih kožnih abscesih ali slabšem odzivu na zdravljenje je pri dokazanih okužbah s *S. aureus* smiselna določitev gena za citolizin Panton-Valentinov levkocidin (PVL), ki je pogosteje povezan z nekaterimi sevi proti meticlinu odpornih *S. aureus* iz domačega okolja (angl. *community acquired MRSA*; okr. CA-MRSA) (6). Diagnoza je klinična. Pri večjih abscesih svetujejo ultrazvočno (UZ) preiskavo za oceno njihove velikosti oziroma za opredelitev natančnejše lokacije (2, 5). Zdravljenje je v osnovi kirurško, potreben je drenažni vrez. Ob operativnem posegu je treba odvzeti vzorec gnoja za mikrobiološke preiskave. Za uvedbo antibiotičnega zdravljenja se odločimo pri (1, 2, 7):

- bolnikov s simptomi in znaki sistemske okužbe,
- bolnikov s sladkorno boleznijo,
- širjenju okužbe v okolico,
- spremembah na obrazu, rokah in spolovilu,
- zelo mladih oziroma starih bolnikov,
- ponavljajočih se abscesih,
- bolnikov z imunsko motnjo,
- sumu na bakteriemijo,
- bolnikov z vsadki.

Antibiotik izbire je flukloksacilin 2 g na 6 ur intravensko (i.v.) oziroma 1000 mg na 6 ur per os (p.o.) za 5–10 dni. V primeru preobčutljivosti na penicilin je priporočeno zdravljenje s klindamicinom 600–900 mg na 8 ur i.v. oziroma 300–450 mg na 8 ur p.o., ali s cefadroksilom 1000 mg na 12 ur p.o., če ne gre za preobčutljivostno reakcijo prvega tipa. Ob sumu na polimikrobno okužbo je antibiotik izbire amoksicilin s klavulansko kislino. Pri sumu na okužbo s *S. aureus*, ki izloča PVL, priporočajo zdravljenje z doksiciklinom, klindamicinom ali linezolidom, ki delujejo na sintezo beljakovin in tako zavirajo nastajanje toksina (1, 2, 6, 8).

Negnojne okužbe kože

Šen je akutno streptokokno vnetje kože, ki poleg vrhnjice lahko zajame tudi usnjico. Najpogosteje nastane na spodnjih udih in obrazu. Glavni povzročitelji so β -hemolitični streptokoki. Šen obraza najpogosteje povzroča *S. pyogenes*, na spodnjih udih pa β -hemolitični streptokoki skupin B, C in G. K nastanku okužbe prispevajo limfedem, venski zastoj, debelost, sladkorna bolezen, kronični alkoholizem in nefrotski sindrom (1, 5).

Celulitis ali flegmona je akutno difuzno vnetje kože. Pojavi se lahko nekaj dni po poškodbi sicer zdrave kože, večinoma pa nastane kot zaplet rane, razjede ali dermatoze. Nevarnostni dejavniki za nastanek celulitisa so moten venski ali limfni obtok, sladkorna bolezen, kronični alkoholizem, poškodbe, razjede, vnetne dermatoze, predhodno vnetje na koži in poškodovana koža med prsti na nogi zaradi maceracije ali glivne okužbe. Celulitis najpogosteje povzročajo po Gramu pozitivni koki, zlasti *S. aureus* in *S. pyogenes*. V določenih okoliščinah lahko okužbo povzročajo tudi anaerobi, po Gramu negativne bakterije in glive. V tabeli 1 so navedeni možni povzročitelji celulitisa glede na posebne okoliščine (1, 2, 5).

Tabela 1. Dodatni možni povzročitelji celulitisa glede na posebne okoliščine (povzeto po 1, 2, 9, 10).

	Dodatni možni povzročitelji
Kronična rana	Polimikrobna okužba
Ugriz mačke/psa/človeka	Polimikrobna okužba, anaerobne bakterije, <i>Pasteurella multocida</i> , <i>Capnocytophaga canimorsus</i> , <i>Eikenella corrodens</i>
Kopanje v sladki vodi	<i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Shewanella algae</i>
Kopanje v slani vodi	<i>Vibrio vulnificus</i> , <i>Vibrio alginolyticus</i> , <i>Shewanella algae</i>
Bolnik z jetno cirozo	po Gramu negativni bacili
Nevtropenični bolnik	po Gramu pozitivni koki, po Gramu negativni bacili, glive
Bolnik z motnjo celične imunosti	Netuberkulozne mikobakterije, <i>Nocardia</i> spp., <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Aspergillus</i> spp., <i>Fusarium</i> spp.

Klinična slika

Šen se začne naglo z mrzlico in vročino. Na koži se pojavi izrazita, ostro omejena rdečina, ki je dvignjena nad raven kože in se naglo širi v okolico. Področne bezgavke so otekle in boleče. Pri bulozni obliki, ki se pojavi pri približno 5 % bolnikov, so poleg rdečine prisotni tudi večji mehurji. V približno 5 % pride lahko do zapletov, kot so kožni absces, nekrotizirajoči fasciitis, gangrena ali tromboflebitis (1).

Za celulitis so značilni rdečina, toplina in otekline ter občutljivost prizadetega dela kože. Za razliko od šena rob rdečine pri celulitisu ni ostro omejen, saj gre za vnetje v globini. Značilno je hitro širjenje rdečine in otekline. Lahko sta prisotna tudi limfangitis in vnetje področnih bezgavk. Včasih se na prizadeti koži pojavijo mehurčki, bule in krvavitve v obliki petehij ali ekhimoz. Ob tem bolniki običajno navajajo tudi splošne težave, kot so vročina, mrazenje in slabo počutje. Najpogostejši zapleti so limfangitis, osteomielitis, gnojni artritis, tromboflebitis, bakteriemija in nekrotizirajoči fasciitis (1).

Biokemična in mikrobiološka diagnostika

Diagnoza šena in celulitisa je klinična. V laboratorijskih izvidih so prisotni povišani vnetni parametri (1, 5). Površinski brisi kože ali mehurčkov niso primerna kužnina, saj praviloma iz njih porašča samo kožna mikrobiota. V večini primerov odvzem hemokultur ni potreben, saj so le-te pozitivne pri ≤ 5 bolnikov. Po priporočilih Ameriškega združenja za infektologijo (angl. *Infectious Disease Society of America*; okr. IDSA) je priporočeno odvzeti hemokulture pri bolnikih z vročino in hipotenzijo, z malignimi obolenji na kemoterapiji, nevtropenijo, motnjo celične imunosti, s poškodbami, ki so posledica skorajšnje utopitve in po ugrizu živali (2). Ob odvzemu kužnin (na primer bris rane ali hemokulture) je ob izpolnjevanju obrazca za mikrobiološke preiskave pomembno, da laboratoriju posredujemo tudi podatke o morebitnih posebnih okoliščinah, navedenih v tabeli 1. Takšne informacije laboratoriju omogočijo usmerjeno diagnostiko, kar poveča verjetnost uspešnejše identifikacije tudi redkejših patogenov. Slikovna diagnostika običajno ni potrebna. Ultrazvočna diagnostika nam je lahko v pomoč pri iskanju abscesov (1).

Zdravljenje

Šen zdravimo s penicilinom G 1–2 milijona enot na 6 ur i.v. ali penicilinom V 0,5–1,5 milijona enot na 6 do 8 ur p.o.. V primeru preobčutljivosti na β -laktamske antibiotike se lahko

odločimo za zdravljenje s klindamicinom, azitromicinom, klaritromicinom ali cefalosporini prve generacije (če ne gre za preobčutljivostno reakcijo prvega tipa) (1, 11, 12).

Celulitis zdravimo s flukloksacilinom 2 g na 6 ur i.v. oziroma flukloksacilinom 500–1000 mg na 6 ur p.o. V primeru preobčutljivosti na β -laktamske antibiotike zdravimo s klindamicinom. Ob sumu na okužbo z MRSA je priporočeno intravensko zdravljenje z vankomicinom 1 g na 12 ur, daptomicinom 4 mg na kg telesne teže na dan ali linezolidom 600 mg na 12 ur. Pri manj prizadetih bolnikih ali ob okužbi s CA-MRSA je možno zdravljenje s klindamicinom 600 mg na 8 ur i.v. ali 300–450 mg na 8 ur p.o., trimetoprim s sulfametoksazolom (TMP/SMX) 160/800 mg na 12 ur i.v. ali 160/800 mg na 12 ur p.o. ali doksiciklinom 100 mg na 12 ur p.o., odvisno od občutljivosti izolata (1, 11, 12).

Intravensko zdravljenje z antibiotiki je glede na smernice IDSA priporočeno pri klinično prizadetih bolnikih, pri bolnikih s hudo imunsko motnjo, ob sumu na okužbo mehkih tkiv, ob slabšem sodelovanju bolnika in neuspehu predhodnega peroralnega antibiotičnega zdravljenja (2).

Za nezapleteni celulitis in šen je priporočeno 5-dnevno antibiotično zdravljenje, ki ga je treba ob slabem regresu okužbe podaljšati do skupno 10 dni (2). Pri bolniku, ki je prizadet, in pri šenu/celulitisu na obrazu (če se vnetje širi proti očesu) je v začetku potrebno intravensko antibiotično zdravljenje. Ob ugotovljenem abscesu, nekrozi ali utesnitvenem sindromu je potrebna kirurška obravnava (1).

Poleg antibiotičnega zdravljenja svetujemo dvig prizadetega uda in hlajenje prizadete kože. Priporočeno je odkrivanje in zdravljenje nevarnostnih dejavnikov za ponavljajoča se negojna vnetja, kot so edem, debelost, pridružene bolezni kože (npr. ekcem), venska insuficienca in glivne okužbe (npr. tinea pedis). Pri bolnikih, ki imajo več kot 3 do 4 epizode šena letno, je priporočena antibiotična zaščita z intramuskularnimi aplikacijami benzatilpenicilina v odmerku 1.200.000 ali 2.400.000 IE na 2 do 4 tedne ali peroralnim penicilinom V v odmerku 500.000 IE do 1.500.000 IE dvakrat dnevno p.o. V primeru preobčutljivosti na β -laktamske antibiotike lahko uporabimo azitromicin 250 mg dnevno p.o. (1, 2). Običajno predpišemo antibiotično zaščito za 6 mesecev in nato ocenimo smiselnost njenega nadaljevanja (3).

OKUŽBA KRONIČNE RANE

Kronična rana je rana, ki se celi dlje od 4 do 6 tednov. Med kronične rane spadajo: venska razjeda, arterijska razjeda, preležanine in razjeda na diabetičnem stopalu. Najpogostejše so venske razjede. Najpogostejši povzročitelji okužb kronične rane so bakterije, ki poseljujejo bolnikovo kožo ali črevo, občasno tudi bakterije iz bolnišničnega okolja. V ranah, ki niso starejše od enega meseca, prevladujejo po Gramu pozitivne bakterije, v dlje časa trajajočih ranah pa so prisotne še po Gramu negativne bakterije in anaerobi (10).

Klinična slika

Značilni znaki okužbe rane, kot so okolna rdečina, topla koža, bolečina in prisotnost gnojnega izcedka, zaradi pridruženih temeljnih bolezni niso vedno izraženi. Zato moramo biti pozorni tudi na druge znake, kot so razbarvanje granulacijskega tkiva, krvavitev iz granulacij, tvorjenje žepov v dnu rane, neprijeten vonj, stopnjevanje bolečine, večanje izcedka, večanje rane in ponovno odprtje že zaceljene rane. Okužbo rane običajno spremljajo sistemski znaki, razen pri povsem povrhnjem vnetju (10, 13).

Biokemična in mikrobiološka diagnostika

V laboratorijskih izvidih beležimo povišane vnetne parametre. Odločitev, ali je kronična rana okužena ali ne, temelji na klinični presoji. Za mikrobiološko diagnostiko se odločimo ob simptomih in znakih za okužbo rane, kadar je indicirana sistemska antibiotična terapija in pri kroničnih ranah, ki kljub ustreznemu protimikrobnemu zdravljenju ne kažejo znakov izboljšanja. V sklopu mikrobiološke diagnostike ločimo kvalitativne in kvantitativne metode vzorčenja. Idealnega vzorca pri okužbah kronične rane ni, kot tudi ni dokončnega mnenja, katera metoda je najboljša. Kljub omejitvam, kot sta večja možnost kontaminacije s površinsko kožno mikrobioto in omejena količina kliničnega vzorca, najpogosteje opravimo globoki bris rane na patogene bakterije. Ta metoda je preprosta in manj invazivna od tkivne biopsije. Pred odvzemom vzorca moramo vsako rano zelo dobro očistiti, ker je lahko površina rane kontaminirana z različnimi mikroorganizmi, ki niso povzročitelji okužbe. Odstraniti je potrebno vso nekrotično tkivo, tujke in gnojni eksudat, kar lahko izvedemo z umivanjem pod tekočo vodo ali s sterilno fiziološko raztopino. Ob tem si lahko pomagamo tudi z mehanskim odstranjevanjem neživega tkiva z uporabo kiretaže, skalpela, škarij, ultrazvoka ali ablativnega laserja. Antiseptikov za diagnostično čiščenje ran ne uporabljamo, saj lahko delujejo na biofilm in patogene mikroorganizme v rani ter tako vplivajo na izvid mikrobiološke preiskave (10, 13, 14).

Pri vzorčenju rane za mikrobiološko diagnostiko sta opisani dve tehniki brisa rane: Levinova tehnika in Z-tehnika. Levinova tehnika vključuje izbiro 1 cm² velikega območja dela na predhodno temeljito očiščeni rani. Uporabimo lahko bombažni, dakronski ali ravonski bris. Vzorec odvajamo tako, da bris ob izvajanju pritiska na rano 5 sekund rotiramo. Redkeje uporabljen način vzorčenja je Z-tehnika, kjer s cikcak gibanjem pobrišemo celotno rano, najmanj 10 točk rane. Razlika med navedenima tehnikama je, da pri Levinovi tehniki pridobimo večjo količino serozne tekočine. Med kvantitativne odvzeme uvrščamo biopsijo tkiva rane in kože s t. i. punch biopsijo, aspiracijo tekočine podkožne kolekcije in kiretažo rane. Kvantitativne metode se izvajajo redkeje, saj je potrebna prisotnost višje izobraženega osebja, sama mikrobiološka diagnostika je daljša in dražja, povezane pa so tudi z več neželenimi učinki in možnimi zapleti. Med neželenimi učinki in zapleti so najpogostejši strah bolnika pred posegom, neprijetnost, bolečina ali krvavitev na mestu odvzema, redkeje lahko pride do razsoja patogenih mikroorganizmov v sistemski obtok in pojava sistemske okužbe. Globoka tkivna biopsija je aseptična metoda, pri kateri lahko uporabimo »punch« tehniko, dermalno kireto ali skalpel. Pri igelni aspiraciji pridobimo vzorec tekočine pod površino rane. Kljub temu, da je manj invazivna od biopsije, je boleča in rezultati niso vedno zanesljivi. Prednost biopsije in aspiracije tekočine je možnost kvantificiranja mikroorganizmov v tkivu ali v tekočini. Rezultat mikrobiološke diagnostike je podan s številom kolonije formirajočih enot (angl. *colony forming units*; okr CFU) bakterij na gram tkiva ali mililiter tekočine. Kljub temu, da je globoka biopsija rane zlati standard mikrobiološke diagnostike, se zaradi potrebe po posebno usposobljenem osebju in zgoraj navedenih neželenih učinkih ter zapletih pogosteje uporablja globoki bris rane po Levinovi metodi, ki je ob pravilni izvedbi enakovreden biopsiji (10, 13, 14).

Zdravljenje

Pri zdravljenju okužb kroničnih ran je na prvem mestu ustrezna lokalna oskrba rane. Antibiotiki imajo manjšo vlogo, ker slabo prodirajo v mrtvino ali gnoj. Antibiotično zdravljenje (tabela 2) je nujno pri pridruženih sistemskih znakih okužbe in obsežni prizadetosti kože. Potrebno je tudi ob sočasno prisotnem osteomielitisu. Priporočena dolžina antibiotičnega zdravljenja okužbe kronične rane je 7 dni (10, 12).

Tabela 2. Priporočila za zdravljenje okužb kroničnih ran (12)

Brez nevarnostnih dejavnikov	amoksisilin/klavulanska kislina 875/125 mg/12 h p.o.
Neuspeh prvotnega zdravljenja ali preobčutljivosti na β -laktamske antibiotike	ciprofloksacin 500–750 mg/12 h p.o. ali levofloksacin 500 mg/12–24 h p.o. + klindamicin 300–450 mg/6 h p.o.
Sum na sepo brez dodatnih nevarnostnih dejavnikov	amoksisilin/klavulanska kislina 1,2 g/8 h i.v. ali cefuroksim 1,5 g/8 h i.v. ali cefotaksim 2 g/8 h i.v. ali ceftriakson 2 g/24 h i.v.
Sum na sepo po nedavnem zdravljenju z antibiotiki	piperacilin/tazobaktam 4,5 g/6 h i.v. ali cefotaksim 2 g/8 h i.v. ali ceftriakson 2 g/24 h i.v. ali ertapenem 1 g/24 h i.v.
Ob okužbi z MRSA	vankomicin 1 g/12 h i.v. ali linezolid 600 mg/12 h i.v. ali daptomicin 6 mg/24 h i.v.
Ob možni okužbi z večkratno odpornimi bakterijami (npr. bakterije, ki izločajo ESBL, odporen sev bakterije <i>P. aeruginosa</i>)	imipenem 500–1000 mg/6–8 h i.v. ali meropenem 1 g/8 h i.v. ali ceftazidim/avibaktam 2,5 g/8 h i.v. ali ceftolozan/tazobaktam 1,5 g/8 h i.v.

p.o.: per os; i.v.: intravensko; MRSA: *S. aureus*, odporen proti metilinu; ESBL: betalaktamaze razširjenega spektra

NEKROTIZIRAJOČE OKUŽBE MEHKIH TKIV

Nekrotizirajoče okužbe mehkih tkiv (NOMT) so redke, imajo pa kljub hitri prepoznavi in ustreznemu zdravljenju visoko smrtnost, zato jih uvrščamo med urgentna stanja. Pri njih gre za okužbo podkožnega tkiva, mišičnih ovojníc in/ali mišic (2).

Na NOMT moramo pomisliti pri (2):

- bolnikov s hudo bolečino, ki je nesorazmerna s kliničnim statusom,
- neodzivnosti na začetno antibiotično zdravljenje,
- tršem občutku podkožnega tkiva ob palpaciji,
- tipnih krepitacijah v prizadetem predelu,
- edemu, ki sega čez območje navidezne prizadetosti kože,
- hudi sistemski prizadetosti,
- buloznih spremembah,
- anesteziji kože,
- prisotnosti kožne nekroze ali ekhimoz.

NOMT tip I; nekrotizirajoči fasciitis tip 1

Klinična slika zajema zgoraj navedene simptome in znake. Tip I zajema od 55–75 % vseh NOMT. Je polimikrobna okužba, ki jo povzročajo po Gramu negativni bacili, po Gramu pozitivni koki in vsaj ena vrsta anaerobnih bakterij. Pogosteje se pojavlja na trupu in presredku. V skupino NOMT tip I uvrščamo tudi Fournierjevo gangreno, ki se pojavlja na presredku, v okolici spolovil in zadnjične odprtine. Vstopno mesto je po navadi poškodba, okužba sečil, absces Bartolinijeve žleze ali kirurški poseg. Prvi znak je običajno mrtvina na presredku, ki se v enem do dveh dneh razširi. Pri moških se lahko širi do baze skrotuma; moda in penis običajno niso prizadeti. Lokalnim znakom so pridruženi tudi sistemski znaki okužbe (2, 4, 15, 16).

NOMT tip II; nekrotizirajoči fasciitis tip II

Klinična slika je podobna NOMT tip I, vendar je potek hitrejši in agresivnejši. Pogosteje se pojavlja na okončinah. Gre za monomikrobno okužbo, ki jo v večini primerov povzroča *S. pyogenes*, lahko skupaj s *S. aureus* (2, 5, 16).

Plinska gangrena oziroma klotridijska mionekroza

Je hitro napredujoča okužba skeletnih mišic. Pojavlja se lahko v dveh oblikah. Pogostejša je travmatska plinska gangrena, ki jo povzroča *Clostridium perfringens* (*C. perfringens*) in se pojavlja na mestu poškodbe ali operacije, najpogostejše na spodnjih udih (5, 16). Poleg *C. perfringens* to obliko plinske gangrene lahko povzročajo tudi *Clostridium histolyticum*, *Clostridium novy* in *Clostridium sordelii* (17). Druga oblika je spontana plinska gangrena, ki jo povzroča *Clostridium septicum*. Nastane kot posledica hematogenega razsoja zaradi translokacije bakterij iz črevesja pri bolnikih s karcinomom črevesja ali divertikulitisom ob predrtju črevesja ali pri nevtropeničnih bolnikih (5, 16). Začetek bolezni je nenaden. Najprej se na prizadetem predelu pojavi bolečina, ki se stopnjuje. Bolniki postanejo tahikardni, hipotenzivni, pride do razvoja ledvične odpovedi in šoka. Vročina je lahko prisotna, vendar praviloma ni visoka. Prizadete mišice so napete in otekle, iz rane lahko izteka zaudarjajoč izcedek, v katerem so vidni zračni mehurčki. Zaradi nekroz postane rana zeleno-črna. Ob palpaciji prizadetega predela lahko čutimo krepitacije (16).

Biokemična in mikrobiološka diagnostika

V laboratorijskih izvidih so prisotni povišani vnetni parametri, anemija, znaki diseminirane intravaskularne koagulacije (DIK) in povišana serumska koncentracija laktata. Občasno ugotavljamo tudi povišane dušične retente, hepatopatijo, povišano koncentracijo kreatin kinaze in mioglobina ter hiponatriemijo (2).

Diagnoza NOMT je klinična. Slikovna diagnostika (računalniška tomografija ali magnetna resonanca), s katero si prikažemo oteklino mehkih tkiv, zadebelitev mišične ovojnice in morebitno prisotnost zraka v tkivih, nima nikakršne prednosti pred kirurškim pregledom, čeprav jo v klinični praksi pogosto izvajamo. Pred uvedbo izkustvenega antibiotičnega zdravljenja odvezamo dva para hemokultur. Med operativnim posegom je treba odvzeti vzorec tkiva za mikrobiološke preiskave in histološki pregled (2, 4, 16).

Zdravljenje

Zdravljenje NOMT je kombinirano – kirurško in antibiotično. Nujna je takojšnja odstranitev mrtvin in vzpostavitev široke drenaže, ki jo morajo kirurgi po potrebi večkrat ponoviti (2, 16). Po odvzemu hemokultur bolniku že pred operativnim posegom uvedemo izkustveno antibiotično zdravljenje (tabela 3). Predvidena dolžina antibiotičnega zdravljenja je 14 dni (11, 12), čeprav obstajajo tudi poročila o varnosti krajšega antibiotičnega zdravljenja (18).

Tabela 3. Priporočila za zdravljenje nekrotizirajočih okužb mehkih tkiv (11, 12).

NOMT tip I	ampicilin/sulbaktam 3 g/6 h i.v. + klindamicin 600 mg/8 h i.v. + gentamicin 5 mg/kg/24 h i.v.
	cefotaksim 2 g/6 h i.v. + klindamicin 600 mg/8 h i.v. ali metronidazol 500 mg/8 h i.v.
	imipenem 500 mg/6 h do 1 g/8 h i.v.
NOMT tip II	vankomicin 1 g/12 h i.v. + gentamicin 5 mg/kg/24 h i.v. ali ciprofloksacin 400 mg/8 h i.v. + metronidazol 500 mg/8 h i.v. ali klindamicin 600 mg/8 h i.v.
	penicilin G 5 milijonov IE/6 h i.v. ali ceftriakson 2 g/24 h i.v. + klindamicin 600–900 mg/6–8 h i.v. ± gentamicin 5 mg/kg/24 h i.v. ± intravenski imunoglobulini 2 g/kg 1 × i.v., nato še 1 × po 48 h, če je bolnik hemodinamsko nestabilen.
Plinska gangrena	penicilin G 5 milijonov IE/4–6h i.v. + klindamicin 600–900 mg/8 h i.v.

i.v.: intravensko

LITERATURA

1. Lotrič-Furlan S, Mrvič T. Okužbe kože: impetigo, folikulitis, furunkel, karbunkel, kožni absces, šen, celulitis. V: Infekcijske bolezni. Združenje za infektologijo, Slovensko zdravniško društvo; 2017. 151–9.
2. Stevens DL, Bisno AL, Chambers HF, Dellinger EP, Goldstein EJ, 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; 15; 59 (2): 10–52.
3. Cellulitis and erysipelas: antimicrobial prescribing | Guidance | NICE [Internet]. NICE; 2019 [citirano 22. marec 2025]. Dosegljivo na: <https://www.nice.org.uk/guidance/ng141>.
4. Pasternack MS, Swartz MN. Cellulitis, Necrotizing Fasciitis and Subcutaneous Tissue Infections. In: Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ, eds. *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Disease*. 9th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2020. p. 1282–305.
5. Breyre A, Frazee BW. Skin and Soft Tissue Infections in the Emergency Department. *Emerg Med Clin North Am* 2018; 36: 723–50.
6. Leistner R, Hanitsch LG, Krüger R, Lindner AK, Stegemann MS, Nurjadi D. Skin Infections Due to Panton-Valentine Leukocidin-Producing *S. Aureus*. *Dtsch Arztebl Int* 2022; 119: 775–84.
7. Speman D, Baddour LM. Cellulitis and skin abscess: Epidemiology, microbiology, clinical manifestations, and diagnosis - UpToDate [Internet]. [citirano 22. marec 2025]. Dosegljivo na: <https://www.uptodate.com/contents/cellulitis-and-skin-abscess-epidemiology-microbiology-clinical-manifestations-and-diagnosis>.
8. Chambers H. Skin Abscess, Boils, Furuncles. (2024). Sanford (Verzija 6.5.8) [Mobilna aplikacija]. Sanford guide. [citirano 22. marec 2025]. Dosegljivo na: <https://www.sanfordguide.com/>.
9. Mohan P, Ramu B, Bhaskar E, Venkataraman J. Prevalence and risk factors for bacterial skin infection and mortality in cirrhosis. *Ann Hepatol* 2011; 10 (1): 15–20.
10. Karner P. Okužbe kroničnih ran. V: Infekcijske bolezni. Združenje za infektologijo, Slovensko zdravniško društvo; 2017. 165–7.
11. Čižman M, Beović B. Kako predpisujemo protimikrobna zdravila v bolnišnicah. 2., dopolnjena izd. Ljubljana: Sekcija za protimikrobno zdravljenje Slovenskega zdravniškega društva; 2013. 89–96.
12. Beović B, Čižman M. (2019). Quiba (Verzija 2.0) [Mobilna aplikacija]. Quiba guide. [citirano 20. marec 2025]. Dosegljivo na: <https://quibaguide.com>.
13. Li S, Renick P, Senkowsky J, Nair A, Tang L. Diagnostics for Wound Infections. *Adv Wound Care (New Rochelle)* 2021; 10: 317–27.
14. Kraševac-Glaser A, Maver-Vodičar P, Breznik V, Bombek-Ihan M. Odvzem kužnin pri okužbah kože in ran. V: 10. Likarjev simpozij Odvzem in transport vzorcev za mikrobiološke preiskave: spletni simpozij, 16. in 17. junij 2021 : zbornik predavanj z recenzijo. Ljubljana: Sekcija za klinično mikrobiologijo in bolnišnične okužbe SZD; 2021. 81–6.
15. Cocanour CS, Chang P, Houston JM, Adams CA, Diaz JJ, Wessel CB, et al. Management and novel adjuncts of necrotizing soft tissue infections. *Surg Infect* 2017; 18: 250–72.
16. Grasseli-Kmet N, Likar K. Okužbe mehkih tkiv: nekrotizirajoči fasciitis, Fournierjeva gangrena in plinska gangrena. V: Infekcijske bolezni. Združenje za infektologijo, Slovensko zdravniško društvo; 2017. 159–62.
17. Stevens DL, Bryant AE. Necrotizing Soft-Tissue Infections. *N Engl J Med*. 2017; 377 (23): 2253–65.
18. Horn DL, Chan JD, Li K, Bulger EM, Lynch JB, Robinson BRH, et al. Defining the Optimal Antibiotic Duration in Necrotizing Skin and Soft Tissue Infections: Clinical Experience from a Quaternary Referral Center. *Surgical Infections*. 2023; 24: 741–8.

DIAGNOSTIČNI ALGORITEM PRI BOLNIKIH S SEROZNIM MENINGITISOM IN ENCEFALITISOM

DIAGNOSTIC ALGORITHM IN PATIENTS WITH ASEPTIC MENINGITIS AND ENCEPHALITIS

*Petra Bogovič¹, Mateja Zalaznik¹, Tina Triglav²,
Tatjana Avšič-Županc², Mario Poljak²*

¹Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja, UKC Ljubljana

²Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

IZVLEČEK

Izčrpna anamneza in natančen telesni pregled sta prva in glavna pristopa, ki nas privedeta do suma na okužbo osrednjega živčevja in ki nam pomagata pri odločanju o hitrosti in vrstnem redu ukrepanja ter vrsti in obsegu preiskav. Ključna preiskava, s katero potrdimo vnetje osrednjega živčevja, je analiza možganske tekočine. Ta je pri bolnikih s seroznim meningitisom in (meningo)encefalitisom bistra; koncentracija levkocitov je blago do zmerno povečana, običajno do $500 \times 10^6/L$, praviloma pa manj kot $1000 \times 10^6/L$. Najpogostejši povzročitelji seroznega meningitisa in encefalitisa so virusi, sledijo nekatere bakterije, medtem ko so glive in paraziti redki, še zlasti v Evropi in pri skupini oseb brez motnje imunosti. Pri iskanju etiologije moramo upoštevati tudi neinfekcijske vzroke. Pri načrtovanju mikrobiološke diagnostike za opredelitev povzročitelja okužbe osrednjega živčevja je potrebno in smiselno iskati predvsem povzročitelje, katerih prepoznava ima za posledico usmerjeno protimikrobno zdravljenje, in tiste, ki so pogostejše prepoznani v določenih okoljih in okoliščinah ali so pomembni z vidika javnega zdravja. V prispevku predstavljamo etiologijo, epidemiologijo in glavne klinične značilnosti sindroma seroznega meningitisa in (meningo)encefalitisa, osnovne klinične pristope k obravnavi bolnikov ter mikrobiološke pristope za opredelitev vzroka vnetja osrednjega živčevja pri odraslih bolnikih.

Ključne besede: serozni meningitis, encefalitis, možganska tekočina, virusna okužba, bakterijska okužba, mikrobiološka diagnostika

ABSTRACT

A comprehensive medical history and a through physical examination are basic approaches that lead us to suspect a central nervous system infection, and guide actions and the extent of investigations. Laboratory and microbiological analyses of cerebrospinal fluid are essential to confirm central nervous system inflammation. In patients with aseptic meningitis and (menin-

go)encephalitis, cerebrospinal fluid is clear and colorless, the leukocyte concentration is slightly to moderately elevated, usually up to $500 \times 10^6/L$, but generally less than $1000 \times 10^6/L$. Viruses are the most common causative agents of aseptic meningitis and encephalitis, followed by selected bacteria, while fungi and parasites are rare, especially in Europe and in immunocompetent individuals. Non-infectious causes must also be strongly considered as differential diagnosis. When planning microbiological diagnostic approach to determine the etiology, it is necessary and reasonable to look in particular for microorganisms whose identification will lead to targeted antimicrobial therapy as well as those that are more common in certain settings and/or are of public health significance. Here we reviewed the etiology, epidemiology and main clinical features of aseptic meningitis and (meningo)encephalitis syndrome, the basic clinical approaches, and microbiological approaches to identify the causative agents of central nervous system infection in adult patients.

Keywords: aseptic meningitis, encephalitis, cerebrospinal fluid, viral infection, bacterial infection, microbiological diagnostics

1. UVOD

Okužbe osrednjega živčevja se kažejo z različnimi bolezenskimi sindromi. Kako se bo bolezen izrazila in kakšen bo njen potek, je odvisno od anatomskega mesta okužbe in povzročitelja, pomemben vpliv pa imajo tudi lastnosti gostitelja (1).

Simptomi in znaki sindroma seroznega (aseptičnega) meningitisa so posledica vnetja možganskih ovojnic (mening), znaki encefalitisa so odraz difuznega ali žariščnega vnetja možganov, znaki mielitisa pa vnetja v predelu hrbtenjače. Klinična slika pogosto ni omejena le na posamezno entiteto, temveč odraža širši spekter s prekrivajočimi se značilnostmi in se največkrat izrazi kot meningoencefalitis ali meningoencefalomielitis (2).

Vzroki sindroma seroznega meningitisa in encefalitisa so številni. Najpogostejši povzročitelji so virusi, sledijo nekatere bakterije, medtem ko so glive in paraziti redki povzročitelji, še zlasti v Evropi in pri skupini oseb brez motnje imunosti. Pojavnost in epidemiologija nekaterih povzročiteljev se razlikujeta glede na zemljepisno področje in sta odvisni od različnih dejavnikov, kot so letni čas, podnebne spremembe, stik z živalmi in podobno. Pri iskanju etiologije moramo upoštevati tudi neinfekcijske vzroke, zlasti sistemske avtoimunske bolezni, žilne in presnovne motnje, toksičnost zdravil in nekatere maligne bolezni (3–6).

Poznavanje klinične slike, etiologije in epidemiologije seroznega meningitisa in (meningo)encefalitisa je ključnega pomena za racionalen in varen pristop k diagnostični obravnavi bolnikov. V prispevku bomo predstavili predlog diagnostične obravnave odraslih bolnikov s sumom na serozni meningitis oziroma (meningo)encefalitis.

2. ETIOLOGIJA, EPIDEMIOLOGIJA IN GLAVNE KLINIČNE ZNAČILNOSTI SINDROMA SEROZNEGA MENINGITISA IN (MENINGO)ENCEFALITISA

Povzročitelja seroznega meningitisa ugotovimo v 60–70 % primerov, povzročitelje (meningo)encefalitisa pa le v približno 50 % primerov (2, 3, 6). Med dokazanimi povzročitelji so na prvem mestu virusi, sledijo nekatere bakterije, razmeroma redko dokažemo glive in v evropskem prostoru še redkeje parazite (5–7). Pri posameznemu povzročitelju je prizadetost živčevja lahko primarna, glavna ali najpogostejša manifestacija simptomatske okužbe, ali pa

se pojavlja le pri delu bolnikov oziroma pretežno pri posebnih skupinah (otroci, starostniki, nosečnice, osebe z motnjo imunosti). Medtem ko so nekateri povzročitelji splošno razširjeni (npr. enterovirusi, virus herpesa simpleksa (HSV), virus varičela zoster (VZV), kriptokok in nekateri drugi), je razširjenost drugih odvisna od razširjenosti prenašalcev in/ali rezervoarja in se spreminja z zemljepisnim področjem ter letnim časom (4, 6, 7).

Večina povzročiteljev okužb osrednjega živčevja lahko povzroči tako vnetje možganskih ovojnic kot tudi možganov, vendar pa je za posameznega povzročitelja bolj verjetno, da bo povzročil bodisi meningitis ali encefalitis. To še posebno velja za viruse (8). Poleg povzročitelja na izraženost/obliko bolezni pomembno vpliva tudi imunsko stanje oziroma odziv gostitelja (4, 9).

Enterovirusi so najpogostejši povzročitelji seroznega meningitisa, odgovorni za 30–75 % vseh primerov. Bolezen se pojavlja pretežno sezonsko, največ obolelih je poleti in jeseni. Pogosteje zboleajo otroci. V večini primerov gre za blago potekajočo bolezen brez zapletov. Pri novorojenčkih ter osebah z agamaglobulinemijo in nekaterimi drugimi imunskimi motnjami lahko enterovirusi povzročijo težje ali kronično potekajoči encefalitis (2). Pri okužbah z enterovirusoma A71 in D68 so opisani primeri mielitisa z ohlapnimi ohromitvami in encelacefalitisa možganskega debla (10). HSV je v svetu najpogostejši povzročitelj akutnega sporadičnega encefalitisa, ki pogosto poteka kot žariščni encefalitis in lahko pusti hude trajne posledice, še posebno če je neprepoznan in neustrezno zdravljen. Letna pojavnost je ocenjena na 2–4 primere na 1.000.000 prebivalcev. Pogostejši je pri odraslih, starejših od 50 let. V več kot 90 % primerov ga povzroča HSV-1. HSV-2 povzroča encefalitis pri novorojenčkih in osebah z motnjo imunosti, zlasti pri bolnikih z aidsom. Pri sicer zdravih odraslih je HSV-2 pomemben povzročitelj virusnega meningitisa in benignega ponavljajočega se meningitisa (Mollaretov meningitis). Večinoma zboleajo mlajši odrasli, ženske 2 do 6-krat pogosteje kot moški (2, 7). V Severni Evropi je HSV-2 tretji najpogostejše prepoznan vzrok seroznega meningitisa pri odraslih (11). Pomemben povzročitelj sporadičnega encefalitisa v zahodnem svetu, z ocenjeno letno pojavnostjo 2–4 na 1.000.000, je tudi VZV (7). Glavni dejavniki tveganja za pojav encefalitisa so starost nad 50 let in različne motnje imunosti. V odrasli dobi je najpogostejše posledica reaktivacije virusa in v polovici primerov poteka brez kožnih sprememb (2, 7).

V Sloveniji in v številnih drugih endemičnih področjih Evrope je pogost povzročitelj okužb osrednjega živčevja virus klopnega meningoencefalitisa (KME); leta 2022 je bila letna pojavnost KME v endemičnih področjih Evrope od 1,6 do 24,3 primera na 100.000 prebivalcev. Večino primerov bolezni dokažemo v obdobju od aprila do oktobra, kar sovпада z aktivnostjo klopi, ki so prenašalci virusa (7, 12, 13). Pri odraslih bolezen najpogosteje poteka s klinično sliko meningitisa (50 %) in meningoencefalitisa (40 %), pri približno 10 % obolelih se pojavijo ohlapne ohromitve, najpogosteje mišic na udih, tretjina prebolelih ima dolgotrajne posledice (14). Okužbe osrednjega živčevja v toplih mesecih leta lahko povzroča tudi virus Zahodnega Nila, ki se v naravi ohranja v krogu med pticami (rezervoar) in komarji (prenašalci). Zboleajo predvsem starejši od 50 let in osebe z imunsko motnjo. O izbruhih bolezni so v zadnjih letih poročali iz več evropskih, tudi nam bližnjih držav (4, 7). Pomemben vzrok seroznega meningitisa in meningoencefalitisa v Sredozemskih državah je v poletnih mesecih okužba z virusom Toscana (7). Sindrom seroznega meningitisa in encefalitisa lahko povzročajo še številni drugi virusi, ki so bodisi redki povzročitelji ali pa večinoma povzročajo okužbe pri posebnih skupinah

oseb (humani herpesvirus 6, virus hepatitisa E, virus Epstein-Barr, virus citomegalije, virus mumpsa, virus ošpic, virus rdečk, virus stekline, poliovirusi ...). Nanje moramo pomisliti zlasti ob ustreznih kliničnih oziroma epidemioloških okoliščinah (4, 7).

Bakterijski povzročitelji seroznega meningitisa so redkejši. Med njimi v Sloveniji prevladuje okužba z bakterijo *Borrelia burgdorferi* sensu lato, povzročiteljico lymske borelioze. Pri odraslih se lymska nevroborelioza najpogosteje izrazi s klinično sliko meningoradikulonevritisa, redkeje meningitisa, encefalitis je redek (15). Prizadetost osrednjega živčevja pri leptospirozi je običajno del kompleksne klinične slike, ki se pojavi v imunski fazi bolezni in se kaže s sliko seroznega meningitisa. Le izjemoma je serozni meningitis edini ali prevladujoči znak leptospiroze (16). Okužbe z bakterijo *Treponema pallidum* so v zadnjih letih v porastu (13). Do razsoja spirohet v osrednje živčevje pride največkrat zgodaj v poteku okužbe. Zgodnje oblike bolezni se običajno kažejo s sliko seroznega meningitisa, medtem ko pozne oblike prizadenejo parenhim možganov in hrbtenjače (17). Tuberkuloza osrednjega živčevja je pri nas redka bolezen. Najpogosteje je posledica razpoka subependimalnega tuberkla, ki je nastal v času primarnega razsoja bacilov. V večini primerov poteka kot kronični meningitis. Vnetni proces je najbolj aktiven v predelu baze možganov, kjer prizadene možganske živce (najpogosteje 3., 6. in 7. možganski živec). Pomemben dejavnik, ki je povezan s tuberkulozo osrednjega živčevja, je imunska oslabeledost (18). Nekateri drugi bakterijski povzročitelji, ki prav tako lahko povzročijo serozno vnetje osrednjega živčevja, so *Brucella* spp., *Mycoplasma* spp., *Chlamydia* spp., *Coxiella burnetii*, *Francisella tularensis*, *Listeria monocytogenes*, rikecije in nekatere druge (3, 4, 7).

Glivne okužbe osrednjega živčevja so redke in večinoma posledica hematogenega širjenja iz oddaljenih žarišč. Pojavljajo se skoraj izključno pri osebah z motnjo imunosti. Kvasovke iz rodu *Candida* in *Cryptococcus*, plesni iz rodu *Aspergillus*, zigomicete ter endemske glive *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides* spp. in *Blastomices dermatitidis* so možni glivni povzročitelji okužb osrednjega živčevja (19).

Paraziti, ki lahko povzročajo serozni meningitis in encefalitis in so prisotni v našem okolju, so *Taenia solium*, ki povzroča nevrocisterkozo, pasja in mačja glista, ki povzročata toksokarozo ter *Toxoplasma gondii*, ki povzroča okužbe osrednjega živčevja zlasti pri osebah z imunsko motnjo (13).

Serozni meningitis lahko prizadene posameznike vseh starosti, vendar je pogostejši pri otrocih. Evropske raziskave poročajo, da je letna pojavnost 70 na 100.000 pri otrocih, mlajših od enega leta, 5,2 na 100.000 pri otrocih, starih od 1 do 14 let, in 7,6 na 100.000 pri odraslih (20). Pojavnost infekcijskega encefalitisa je ocenjena na 1,4–13,8 primerov na 100.000 oseb na leto; višja je pri otrocih in v skupini odraslih, starih nad 65 let. Poleg razlik v populacijah, vključenih v raziskave, so pomembni razlogi za velik razpon v pojavnosti še neenotne definicije primera encefalitisa in razlike v geografski razširjenosti nekaterih povzročiteljev (7). Poročana pojavnost okužb osrednjega živčevja je verjetno podcenjena, in to bolj za serozni meningitis kot za encefalitis; ocenjujejo, da je pojavnost meningitisa približno 10-krat višja kot pojavnost encefalitisa. Primeri se pojavljajo vse leto, vendar je v zmernem podnebnem pasu pojavnost izrazito večja v toplejšem delu leta (7, 20).

Po podatkih Nacionalnega inštituta za javno zdravje je bilo leta 2022 v Sloveniji prijavljenih 173 primerov virusnih obolenj osrednjega živčevja: 125 primerov klopnega meningoencefalitisa, 11 primerov enterovirusnih okužb (9 meningitisov in 2 encefalitisa), 3 meningitisi in 5 encefalitisi ob pasovcu, 7 varičelnih meningitisov in 4 varičelni encefalitisi, 3 herpetični

meningitis in en primer herpetičnega encefalitisa. V ostalih primerih povzročitelj ni bil ugotovljen (13). Podatki zelo verjetno ne ustrezajo resničnemu številu obolelih, najbrž je najbolj podcenjeno število enterovirusnih ter parehivirusnih okužb.

Klinična slika sindroma seroznega meningitisa se običajno razvije postopoma v nekaj dneh. Večina bolnikov ima vročino in glavobol, pogosto so prisotni tudi slabost, bruhanje in fotofobija. Meningitisni znaki so lahko izraziti, nakazani ali pa so odsotni. Simptomi in znaki encefalitisa so precej bolj raznoliki in so odvisni od mesta in obsega možganske prizadetosti. Kažejo se z lahko motnjo zavesti, vedenjskimi in osebnostnimi spremembami, motnjami gibanja, motnjami govora, krči in drugimi nevrološkimi težavami. Pri žariščnem encefalitisu lahko prevladujejo ali pa so izključno prisotne le težave zaradi prizadetosti določenega dela možganov (21). Vedenjske motnje, motnje spomina in krči so značilni za limbični encefalitis, ki ga najpogosteje povzroča HSV-1, redkeje VZV in *T. pallidum*. Brucele in virusi, ki jih prenašajo členonožci (arbovirusi), so najpogostejši povzročitelji encefalitisa možganskega debla, ki se klinično izrazi z ataksijo, okvaro očesnih mišic, motnjami govora in požiranja ter ohromitvami mišic na udih (4). Številne bakterije in virusi, vključno z bakterijo *Bartonella henselae*, *Mycobacterium tuberculosis*, enterovirusom 71, flavivirusi in alfavirusi, lahko povzročijo encefalitis možganskega debla, ki se kaže z avtonomno disfunkcijo, prizadetostjo možganskih živcev v predelu možganske baze ter motnjami dihanja (1, 4). Tremor in druge motnje gibanja so posledica vnetja v predelu talamusa in bazalnih ganglijev in so značilne za encefalitise, povzročene z arbovirusi; v našem okolju je to predvsem virus klopnega meningoencefalitisa. Arbovirusi in nekateri enterovirusi lahko povzročijo vnetje v predelu sprednjih rogov hrbtenjače in povzročijo ohlapne ohromitve (4).

Pri bolnikih z imunsko motnjo in pri starostnikih je potek bolezni pogosto manj značilen.

3. PRISTOP K OBRAVNAVI BOLNIKA S SUMOM NA SINDROM SEROZNEGA MENINGITISA IN (MENINGO)ENCEFALITISA

Izčrpna anamneza in natančen telesni pregled sta prva in glavna pristopa, ki nas privedeta do suma na okužbo osrednjega živčevja in tako pomagata pri odločanju o hitrosti in vrstnem redu ukrepanja ter vrsti in obsegu preiskav. Kvantitativna ali kvalitativna motnja zavesti, krči in drugi žariščni nevrološki znaki kažejo na gnojni meningitis, difuzni ali žariščni encefalitis ali druge lokalizirane okužbe osrednjega živčevja in izključujejo oziroma zmanjšujejo verjetnost seroznega meningitisa ter zahtevajo hitro ukrepanje in praviloma obsežnejšo diagnostiko.

3.1 Dokaz vnetja osrednjega živčevja

Ključna preiskava, s katero potrdimo vnetje osrednjega živčevja, je analiza možganske tekočine. Ta je pri bolnikih s seroznim meningitisom in (meningo)encefalitisom bistra. Koncentracija levkocitov je blago do zmerno povečana (običajno do $500 \times 10^6/L$, praviloma pa manj kot $1000 \times 10^6/L$), zgodaj v začetku bolezni lahko prevladujejo nevtrofilci, kasneje limfociti. Koncentracija beljakovin je normalna ali povečana, koncentracija glukoze ter razmerje z vrednostjo v serumu je običajno normalno ali le blago zmanjšano. Če težave trajajo krajši čas (< 24 ur), je tudi pri bolnikih z izvidom možganske tekočine, ki ustreza seroznemu vnetnemu odzivu, potrebna previdnost, saj gre lahko za začetni gnojni meningitis, ki se klinično in laboratorijsko

še ni izrazil v celoti (21). Raziskave so pokazale, da ima lahko pomembno razločevalno vlogo koncentracija laktata v možganski tekočini (22) in koncentracija prokalcitonina v serumu (23). Redko pri bolnikih z encefalitisom ne dokažemo pleocitoze, še zlasti če punkcijo opravimo zgodaj v poteku bolezni (3, 4, 24).

Da bi se izognili zapletom zaradi zvišanega znotrajlobanjskega tlaka, se pred izvedbo lumbalne punkcije priporoča slikovna diagnostika (računalniška tomografija, CT) pri bolnikih z motnjo imunosti, bolnikih z znano boleznijo osrednjega živčevja, v primeru novega pojava epileptičnih krčev ter pri bolnikih z edemom papile, žariščnim nevrološkim izpadom ali hujšo motnjo zavesti (25). Smernice Združenega kraljestva motnjo zavesti, pri kateri je pred lumbalno punkcijo potrebno opraviti CT, opredelijo natančneje, in sicer z vrednostjo < 12 , ocenjeno po Glasgowski lestvici kome (26), smernice Evropskega združenja za klinično mikrobiologijo in infekcijske bolezni pa z vrednostjo < 10 (27). Lumbalne punkcije ne izvajamo pri bolnikih s povrhnjimi ali globokimi okužbami na mestu punkcije, v primeru trombocitopenije ali drugih stanj s povečano nagnjenostjo h krvavitvam pa jo odložimo do poprave motnje. Neizvedena ali odložena lumbalna punkcija ne sme biti razlog za zakasnitev pri uvajanju protimikrobnega zdravljenja, kadar za to obstaja utemeljena indikacija.

3.2 Laboratorijske preiskave

3.2.1 Preiskave možganske tekočine

Pri vseh bolnikih s sumom na vnetje osrednjega živčevja v možganski tekočini določimo koncentracijo levkocitov in njihovih podvrst, koncentracijo eritrocitov ter proteinov in glukoze; hkrati je potrebno določiti tudi vrednost glukoze v krvi. Pri vseh bolnikih določimo tudi vrednost albuminov ter imunoglobulinov razreda M in imunoglobulinov razreda G, ki nam, ob hkrati določenih serumskih vrednostih, omogočijo oceno okvare krvno-možganske pregrade. Ob ustrezni indikaciji je v možganski tekočini smiselna določitev vrednosti laktata (22).

Analiza možganske tekočine je ključna za potrditev vnetja osrednjega živčevja, hkrati pa je pomembna kužnina za mikrobiološko diagnostiko za opredelitev povzročitelja okužbe. Ob lumbalni punkciji zato odvajamo tudi ustrezne vzorce možganske tekočine glede na vrsto načrtovanih mikrobioloških preiskav ter dodaten vzorec za hrambo za morebitne kasnejše preiskave. Ta vzorec (ali vzorci, ki ostanejo po predhodnih preiskavah) omogočijo stopenjsko diagnostiko, to je dodatne preiskave, brez potrebe po ponovni lumbalni punkciji.

3.2.2 Preiskave krvi

Pri vseh bolniki opravimo osnovne krvne preiskave, ki vključujejo določitev C-reaktivnega proteina, krvne slike z diferencialno krvno sliko, elektrolitov, testov za oceno ledvične in jetrne funkcije ter po potrebi dodatne glede na klinične indikacije. Za izračun okvare krvno-možganske pregrade določimo vrednost albuminov in imunoglobulinov razreda M in G.

Glede na izdelan diagnostični načrt odvajamo tudi vzorce krvi za predvidene mikrobiološke preiskave; v večini primerov je to vzorec seruma, redkeje polne krvi, v primeru dokazovanja nekaterih bakterijskih in glivnih povzročiteljev tudi kri za bakterijsko in glivno kulturo. Dodatno odvajamo še vzorec seruma in polne krvi za hrambo za morebitne kasnejše preiskave. Hramba izhodiščnega seruma je potrebna tudi zaradi morebitnih dodatnih etioloških preiskav, ki vključujejo testiranje akutnega in rekonvalescentnega seruma.

3.3 Opredelitev povzročitelja okužbe osrednjega živčevja

Pri načrtovanju mikrobiološke diagnostike za opredelitev povzročitelja okužbe osrednjega živčevja je potrebno in smiselno iskati predvsem tiste povzročitelje, a) katerih prepoznavnost ima za posledico usmerjeno protimikrobno zdravljenje, b) ki so pogostejše prepoznani v določenih okoljih in okoliščinah in tiste, c) ki so pomembni z vidika javnega zdravja.

Veliko večino etiološko pojasnjenih primerov seroznega meningitisa in (meningo)encefalitisa povzroča razmeroma malo mikroorganizmov; posamezni med njimi so pogostejše prepoznani v določenih okoljih in določenih okoliščinah ali v določenih obdobjih leta (sezonsko pojavljanje).

Pri izboru preiskav za opredelitev povzročitelja okužbe so nam zato v prvi vrsti v pomoč natančni anamnestični podatki (osebna anamneza, izčrpna epidemiološka anamneza, ki vključuje natančne lokacije potovanja, stike z živalmi, izpostavljenost naravnim vodnim virom ...) ter ugotovitve telesnega pregleda, včasih pa tudi laboratorijski izvidi nekaterih krvnih preiskav in preiskav možganske tekočine ter izvidi slikovnih preiskav (4).

Nekateri enostavni klinični in epidemiološki podatki lahko usmerijo ali zožijo začetne diagnostične pristope:

- v sezoni aktivnosti klopotov pri vseh bolnikih s seroznim meningitisom in (meningo)encefalitisom iščemo okužbo z virusom KME in borelijami lymske borelioze;
- pri bolnikih z encefalitisom, ki so huje prizadeti, je smiselno poleg okužbe z virusom KME in borelijami lymske borelioze iskati tudi okužbo s HSV-1, HSV-2 in VZV;
- ob ustreznih epidemioloških anamnezah je lahko primarni pristop iskanje okužbe z enterovirusi;
- pri boleznih, ki se primarno ne kažejo s prizadetostjo osrednjega živčevja, iščemo prizadetost osrednjega živčevja praviloma le v primeru ustrezne klinične simptomatike;
- pri bolnikih z imunsko motnjo naj bo po izključitvi najpogostejših vzrokov, ki so enaki kot v splošni populaciji, nadaljnji pristop individualen, prilagojen bolnikovemu stanju in predvsem vrsti in stopnji imunske motnje.

V tabeli 1 so prikazani osnovni mikrobiološki diagnostični pristopi pri bolnikih s seroznim meningitisom in encefalitisom.

4. ZAKLJUČEK

Izčrpna anamneza in natančen telesni pregled sta odločilna pristopa, ki nas privedeta do suma na okužbo osrednjega živčevja in pomagata pri odločanju o hitrosti, vrsti in obsegu preiskav. Za dokaz vnetja osrednjega živčevja je ključna analiza možganske tekočine. Pri načrtovanju mikrobiološke diagnostike je potrebno in smiselno iskati predvsem povzročitelje, katerih prepoznavnost ima za posledico usmerjeno protimikrobno zdravljenje, tiste, ki so pogostejše prepoznani v določenih okoljih in okoliščinah, in tiste, ki so pomembni z vidika javnega zdravja.

Tabela 1. Izbrani povzročitelji seroznega meningitisa in encefalitisa ter ustrezni diagnostični testi (povzeto po 6, 9, 28, 29).

Povzročitelj	Primarni diagnostični testi	Ostali/dopolnilni diagnostični testi	Opombe
Virus klopnega meningoencefalitisa (KME)	IgM in IgG protitelesa v serumu, IgM in IgG protitelesa v možganski tekočini (pri bolnikih, cepljenih proti KME)	PCR iz krvi (v prvi fazi bolezni)	Pri cepljenih proti KME je potrebno dokazati intratekalno tvorbo specifičnih protiteles. Pri interpretaciji rezultatov je potrebno upoštevati navzkrižno reaktivna protitelesa, ki so posledica okužbe ali cepljenja proti drugim flavivirusom.
<i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato	IgM in IgG protitelesa v serumu in možganski tekočini	Kultivacija borelij in PCR iz možganske tekočine	Potrebno je dokazati intratekalno tvorbo specifičnih protiteles. Testa kultivacija borelij in PCR iz možganske tekočine imata nizko občutljivost.
Virus herpesa simpleksa 1, virus herpesa simpleksa 2	PCR iz možganske tekočine		V primeru negativnega rezultata PCR je priporočeno ponovno testiranje vzorca možganske tekočine čez 3 do 7 dni.
Enterovirusi	PCR iz možganske tekočine	PCR iz vzorcev zgornjih dihal ali blata	Dokaz v ostalih kužninah ni nujno povezan s klinično sliko okužbe osrednjega živčevja.
Virus varičele zoster (VZV)	PCR iz možganske tekočine		Pozitiven izvid PCR iz možganske tekočine je pogost tudi v primeru jasne klinične slike noric ali pasovca, brez kliničnih znakov prizadetosti osrednjega živčevja.
Adenovirusi	PCR iz možganske tekočine	PCR iz vzorcev dihal	
Virus citomegalije	PCR iz možganske tekočine		V možgansko tekočino lahko ob lumbalni punkciji (travmatska punkcija) pridejo krvne celice in s tem CMV DNK (analitično točen, ampak klinično lažno pozitiven izvid).
Virus Epstein-Barr (EBV)	PCR iz možganske tekočine	EBV - specifična protitelesa v serumu	V možgansko tekočino lahko ob lumbalni punkciji (travmatska punkcija) pridejo krvne celice in s tem EBV DNK (analitično točen, ampak klinično lažno pozitiven izvid).
Humani herpesvirus 6 (HHV-6)	PCR iz možganske tekočine	PCR iz dlačnih mešičkov	Dokaz virusa je lahko samo posledica vključitve virusa v gostiteljev kromosom (vertikalni prenos), kar potrdimo s prisotnostjo DNA HHV-6 v dlačnih mešičkih in razmerjem med številom kopij DNA človeških celic ter DNA HHV-6.
Poliomavirus JC	PCR iz možganske tekočine	PCR iz ciljane biopsije možganov	
<i>Toxoplasma gondii</i>	PCR iz možganske tekočine	IgM in IgG protitelesa v serumu, Protitelesa IgG (Western blot)	
<i>Listeria monocytogenes</i>	Razmaz po Gramu in kultivacija iz možganske tekočine	PCR iz možganske tekočine, hemokultura	
<i>Cryptococcus neoformans</i>	Kriptokokni antigen v možganski tekočini	Barvanje z indijskim črnolom, kultivacija in PCR iz možganske tekočine	
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Mikroskopski pregled, kultivacija in PCR iz možganske tekočine	Kultivacija iz drugih kužnin, predvsem dihal, gamainterferonski testi	Za preiskave je potrebne vsaj 6 mL možganske tekočine. Kultivacija se izvaja ne glede na izvid PCR.

Povzročitelj	Primarni diagnostični testi	Ostali/dopolnilni diagnostični testi	Opombe
Virus limfocitnega horiomeningitisa	PCR iz možganske tekočine, IgM protitelesa v serumu	Serokonverzija	Pri sumu na okužbo je pred pošiljanjem vzorca nujno potrebno obvestiti mikrobiološki laboratorij!
<i>Francisella tularensis</i>	IgM in IgG protitelesa v serumu in možganski tekočini	PCR iz možganske tekočine	Pri sumu na okužbo je pred pošiljanjem vzorca nujno potrebno obvestiti mikrobiološki laboratorij!
<i>Treponema pallidum</i>	Treponemska in netreponemska protitelesa v serumu in možganski tekočini	PCR iz možganske tekočine	Negativen rezultat PCR iz možganske tekočine ne izključuje nevrosifilisa.
<i>Leptospira</i> spp.	Celokupna protitelesa v serumu, PCR iz krvi (prva faza), PCR iz urina (druga faza)	Serokonverzija	
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	PCR iz možganske tekočine, serokonverzija	PCR iz brisa žrela ali vzorcev spodnjih dihal	
<i>Brucella</i> spp.	IgM in IgG v serumu	PCR iz možganske tekočine	Pri sumu na okužbo je nujno potrebno obvestiti mikrobiološki laboratorij!
Človeški virus imunske pomanjkljivosti (HIV)	Presejalni test na anti-HIV protitelesa in p24 antigen v serumu ali plazmi	HIV RNA PCR iz krvi, HIV RNA PCR iz možganske tekočine	V primeru suma na kompartmentalizacijo svetujemo določanje odpornosti virusa HIV iz možganske tekočine na protivirusna zdravila.
Parehovirusi	PCR iz možganske tekočine, PCR iz krvi		Pri otrocih do 2. leta se ob negativnem rezultatu testiranja na enteroviruse priporoča še testiranje na parehoviruse. Negativen rezultat PCR iz možganske tekočine ne izključuje možnosti sistemske okužbe, vključno z okužbo osrednjega živčevja.
Virus Zahodnega Nila	IgM protitelesa v možganski tekočini, serokonverzija	PCR iz krvi, možganske tekočine in/ali urina (kratka viremija!)	Pri interpretaciji rezultatov seroloških metod je potrebno upoštevati navzkrižno reaktivna protitelesa, ki so lahko posledica okužbe ali cepljenja proti drugim flavivirusom.
Virus Toscana	PCR iz možganske tekočine (akutna faza), IgM in IgG protitelesa v serumu in možganski tekočini	PCR iz krvi (akutna faza)	
Virus encefalitisa St. Louis*	IgM in IgG protitelesa v serumu in možganski tekočini		Pri interpretaciji rezultatov je potrebno upoštevati navzkrižno reaktivna protitelesa, ki so posledica okužbe ali cepljenja proti drugim flavivirusom.
Virus japonskega encefalitisa*	IgM in IgG protitelesa v serumu in možganski tekočini		Pri interpretaciji rezultatov je potrebno upoštevati navzkrižno reaktivna protitelesa, ki so posledica okužbe ali cepljenja proti drugim flavivirusom.
Virus stekline	PCR iz kože, sline, možganske tekočine, biopsije možganov ter dokaz protiteles v serumu in možganski tekočini		

PCR, verižna reakcija s polimerazo. Povzročitelji, ki prizadenejo pretežno bolnike z imunsko motnjo, so navedeni v sivih poljih.

*Testiranje je smiselno le v primeru potovanja na endemična področja.

LITERATURA

1. Dorsett M, Liang SY. Diagnosis and treatment of central nervous system infections in the emergency department. *Emerg Med Clin North Am.* 2016; 34 (4): 917–42.
2. Studahl M, Lindquist L, Eriksson BM, Günther G, Bengner M, Franzen-Röhl E, et al. Acute viral infections of the central nervous system in immunocompetent adults: diagnosis and management. *Drugs.* 2013; 73 (2): 131–58.
3. Venkatesan A, Tunkel AR, Bloch KC, Luring AS, Sejvar J, Bitnun A, et al. Case definitions, diagnostic algorithms, and priorities in encephalitis: consensus statement of the international encephalitis consortium. *Clin Infect Dis.* 2013; 57 (8): 1114–28.
4. Venkatesan A, Michael BD, Probasco JC, Geocadin RG, Solomon T. Acute encephalitis in immunocompetent adults. *Lancet.* 2019; 393 (10172): 702–16.
5. Schibler M, Eperon G, Kenfak A, Lascano A, Vargas MI, Stahl JP. Diagnostic tools to tackle infectious causes of encephalitis and meningoencephalitis in immunocompetent adults in Europe. *Clin Microbiol Infect.* 2019; 25 (4): 408–14.
6. Olie SE, Staal SL, van de Beek D, Brouwer MC. Diagnosing infectious encephalitis: a narrative review. *Clin Microbiol Infect.* 2025; 31 (4): 522–8.
7. Duerlund LS, Nielsen H, Bodilsen J. Current epidemiology of infectious encephalitis: a narrative review. *Clin Microbiol Infect.* 2025; 31 (4): 515–21. doi: 10.1016/j.cmi.2024.12.025.
8. Vetter P, Schibler M, Herrmann JL, Boutolleau D. Diagnostic challenges of central nervous system infection: extensive multiplex panels versus stepwise guided approach. *Clin Microbiol Infect.* 2020; 26 (6): 706–12.
9. Kanjilal S, Cho TA, Piantadosi A. Diagnostic Testing in Central Nervous System Infection. *Semin Neurol.* 2019; 39 (3): 297–311.
10. Torres SD, Jia DT, Schorr E, Park B, Boubour A, Boehme A1, et al. Central nervous system (CNS) enterovirus infections: a single center retrospective study on clinical features, diagnostic studies, and outcome. *J Neurovirol.* 2019; 26 (1): 14–22.
11. Jakobsen A, Skov MT, Larsen L, Trier Petersen P, Brandt C, Wiese L, et al. Herpes simplex virus 2 meningitis in adults: a prospective, nationwide, population-based cohort study. *Clin Infect Dis.* 2022; 75 (5): 753–60.
12. European Centre for Disease Prevention and Control. Annual Epidemiological Reports (AERs). [vpogled 22. marec 2025]. Dosegljivo na: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/monitoring/all-annual-epidemiological-reports>
13. Nacionalni inštitut za javno zdravje. Letna poročila epidemiološkega spremljanja nalezljivih bolezni v Sloveniji. [vpogled 22. marec 2025]. Dosegljivo na: <https://nizj.si/nalezljive-bolezni/letna-porocila-epidemioloskega-spremljanja-nalezljivih-bolezni-v-sloveniji/>
14. Bogovic P, Strle F. Tick-borne encephalitis: A review of epidemiology, clinical characteristics, and management. *World J Clin Cases.* 2015; 3 (5): 430–41.
15. Stanek G, Wormser GP, Gray J, Strle F. Lyme borreliosis. *Lancet.* 2012; 379 (9814): 461–73.
16. Philip N, Day J. Leptospirosis: Epidemiology, microbiology, clinical manifestations, and diagnosis. UpToDate. [vpogled 20. marec 2025]. Dosegljivo na: <https://www.uptodate.com/contents/leptospirosis-epidemiology-microbiology-clinical-manifestations-and-diagnosis>
17. Ghanem KG. REVIEW: Neurosyphilis: a historical perspective and review. *CNS Neurosci Ther.* 2010; 16 (5): e157–68.
18. Kumar Garg R. Central nervous system tuberculosis: An overview. UpToDate. [vpogled 20. marec 2025]. Dosegljivo na: <https://www.uptodate.com/contents/central-nervous-system-tuberculosis-an-overview>

-
19. Nathan CL, Emmert BE, Nelson E, Berger JR. CNS fungal infections: a review. *J Neurol Sci.* 2021; 422: 117325.
 20. Mount HR, Boyle SD. Aseptic and bacterial meningitis: evaluation, treatment, and prevention. *Am Fam Physician.* 2017; 96 (5): 314–22.
 21. Strle F. Okužbe osrednjega živčevja. V: Tomažič J, Strle F, ur. Infekcijske bolezni, 2. izdaja. Združenje za infektologijo, Slovensko zdravniško društvo, 2017.
 22. Sakushima K, Hayashino Y, Kawaguchi T, Jackson JL, Fukuhara S. Diagnostic accuracy of cerebrospinal fluid lactate for differentiating bacterial meningitis from aseptic meningitis: a meta-analysis. *J Infect.* 2011; 62 (4): 255–62.
 23. Ray P, Badarou-Acossi G, Viallon A, Boutoille D, Arthaud M, Trystram D, et al. Accuracy of the cerebrospinal fluid results to differentiate bacterial from non bacterial meningitis, in case of negative gram-stained smear. *Am J Emerg Med.* 2007; 25 (2): 179–84.
 24. Staal SL, Olie SE, van de Beek D, Brouwer Matthijs C. Low diagnostic accuracy of encephalitis criteria hinders interpretation of the absence of CSF pleiocytosis. *Clin Infect Dis.* 2025:ciaf096.
 25. Tunkel AR, Hartman BJ, Kaplan SL, Kaufman BA, Roos KL, Scheld WM, et al. Practice guidelines for the management of bacterial meningitis. *Clin Infect Dis.* 2004; 39 (9): 1267–84.
 26. McGill F, Heyderman RS, Michael BD, Defres S, Beeching NJ, Borrow R, et al. The UK Joint Specialist Societies guideline on the diagnosis and management of acute meningitis and meningococcal sepsis in immunocompetent adults. *J Infect.* 2016; 72 (4): 405–38.
 27. Van de Beek D, Cabellos C, Dzupova O, Esposito S, Klein M, Kolek AT, et al. . ESCMID guideline: diagnosis and treatment of acute bacterial meningitis. *Clin Microbiol Infect.* 2016; 22 Suppl 3: S37–62.
 28. Miller JM, Binnicker MJ, Campbell S, Carroll KC, Chapin KC, Gonzalez MD, et al. Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2024 Update by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM). *Clin Infect Dis.* 2024; 5: ciae104.
 29. Sigfrid L, Perfect C, Rojek A, Longuere KS, Lipworth S, Harriss E, et al. A systematic review of clinical guidelines on the management of acute, community-acquired CNS infections. *BMC Med.* 2019; 17 (1): 170.

OKUŽBE KOSTI IN SKLEPOV – SEPTIČNI ARTRITIS IN SPONDILODISCITIS

BONE AND JOINT INFECTIONS – SEPTIC ARTHRITIS AND SPONDYLODISCITIS

Veronika Braune Kozjek¹, Lea Papst^{1, 2}, Polona Maver Vodičar³,
Tina Triglav³, Vesna Cvitković Špik³

¹Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja, UKC Ljubljana

²Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

³Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

IZVLEČEK

Septični artritis je bakterijsko vnetje sklepa, ki se kaže z vročim, oteklim in bolečim, najpogostejše solitarnim sklepom. Diferencialno diagnostično največji izziv predstavljajo vnetne kristalopatije. Hiter pričetek ustreznega antibiotičnega zdravljenja je potreben za preprečitev nepovratnih poškodb občutljivega sklepne hrustanca in kostnine. Infekcijski spondilodiscitis je bakterijsko, redkeje glivno vnetje dveh ali več sosednjih vretenc in medvretenčne ploščice med njimi. Klinična slika je manj značilna, čas do postavitve diagnoze pa pogosto dolg. Pomembna sta natančen klinični pregled in dobra slikovna diagnostika. Za izbiro primerne antibiotične terapije obeh stanj je ključna hitra in natančna mikrobiološka diagnostika, kjer zadnja leta v ospredje prihajajo molekularne metode. V prispevku predstavljamo algoritem obravnave septičnega artritisa in infekcijskega spondilodiscitisa pri odraslih v urgentni ambulanti, vse od prepoznavne, diagnostičnih postopkov ter začetnega zdravljenja.

Ključne besede: septični artritis, infekcijski spondilodiscitis, algoritem obravnave, mikrobiološka diagnostika

ABSTRACT

Septic arthritis is a bacterial inflammation of a joint characterised by a hot, swollen and painful, usually single joint, with crystallopathies posing the greatest differential diagnostic challenge. Prompt initiation of appropriate antibiotic is necessary to prevent irreversible cartilage and bone damage. Infectious spondylodiscitis, a bacterial, or rarely fungal, inflammation of the adjacent vertebrae and discs, has a less characteristic clinical presentation and often takes a long time to diagnose. A good radiological diagnostics and a thorough clinical examination are important. Rapid and accurate microbiological diagnosis is crucial for the selection of appropriate antibiotic therapy for both conditions, with molecular methods emerging in recent years. Our paper provides algorithms for the recognition, diagnostic procedures and initial treatment of septic arthritis and infectious spondylodiscitis in adult patients in the emergency department.

Keywords: septic arthritis, infectious spondylodiscitis, management algorithm, microbiological diagnostics

UVOD

Okužbe kosti in sklepov spadajo med nujna stanja, s katerimi se pogosto srečujemo v urgentnih ambulantah. Kljub značilni klinični sliki je razlikovanje od drugih diferencialnih diagnoz pri okužbah sklepov lahko težavno, klinična slika okužb hrbtenice pa je pogosto netipična, zato je čas do postavitve diagnoze neredko (pre)dolg. V prispevku smo pripravili priporočila za obravnavo odraslih bolnikov s septičnim artritisom nativnih sklepov in bolnikov z infekcijskim spondilodiscitisom. Oblikovali smo algoritma obravnav, ki vključujeta tudi diagnostične postopke in začetno zdravljenje teh nujnih stanj.

SEPTIČNI ARTRITIS

Gnojni oziroma septični artritis (SA) je hitro napredujoče in uničujoče bakterijsko vnetje sklepa (1). Gre za nujno stanje, ki potrebuje hitro ukrepanje, saj nezdravljeno lahko vodi v trajno okvaro sklepa. V urgentnih ambulantah pogosto obravnavamo bolnike z oteklimi in bolečimi sklepi ter vročino, pomembno pa je, da med njimi prepoznamo tiste, pri katerih gre za SA.

Epidemiologija in patogeneza

Pojavnost SA je v razvitih državah od 2 do 10 primerov na 100.000 prebivalcev in narašča (2, 3). Porast pojavnosti sovпада s staranjem prebivalstva (in s tem večjo pojavnostjo *Staphylococcus aureus* bakteriemij, ki so pri starostnikih pogostejše), povečanjem števila posegov na sklepih in vse bolj razširjeno uporabo imunosupresivnega zdravljenja. Pogostejše zbolevalo starostniki in majhni otroci, najpomembnejši dejavniki tveganja pa so revmatoidni artritis, s kristali povzročeni artritis, sladkorna bolezen, kronična ledvična bolezen, predhodna operacija ali poškodba sklepa, predhodna aplikacija zdravila v sklep, imunska oslabelost ali uporaba intravenskih drog (3).

SA je najpogostejše posledica razsoja bakterij po krvi, redkeje pa sledi širjenju vnetja iz okolnih mehkotivnih in kostnih struktur na sklep ali neposrednemu vnosu bakterij v sklep s poškodbo, operacijo ali punkcijo (1). Sklepna sinovijska ovojnica je močno prekrvavljena in brez bazalne membrane, zato je še posebno dovzetna za prodiranje bakterij iz krvi v sklep; tam pa lahko kombinacija bakterijskih virulentnih dejavnikov in burnega vnetnega odgovora, ki ga bakterije sprožijo, že v nekaj dneh uniči sklepni hrustanec (3).

Med povzročitelji SA prevladuje *S. aureus*, sledijo mu streptokoki, po Gramu negativni povzročitelji pa so pogostejši predvsem pri starejših in tistih s pridruženimi boleznimi (4). Pri uporabnikih intravenskih drog je pomemben povzročitelj SA tudi *Pseudomonas aeruginosa*, ki ima afiniteto do vezivnohrustančnih sklepnih struktur, kot so simfiza sramnice ter sternoklavikularni in sakroiliakalni sklep (3). *Kingella kingae* je pogost povzročitelj SA predvsem pri otrocih, bolniki pa imajo v primerjavi z drugimi povzročitelji le redko izražene sistemske znake vnetja (5). V 1970-ih in 1980-ih letih vodilni povzročitelj gnojnega (oligo)aritritisa pri mladih spolno aktivnih odraslih v Združenih državah Amerike *Neisseria gonorrhoea* je danes redek in povzroča približno 1 % primerov SA (6); bolezen nastopi ob diseminirani gonokokni okužbi, lahko v sklopu sindroma tenosinovitis-dermatitis ali samostojno (3). Med zoonozami je pomembna bruceloza, ki je razširjena predvsem v Sredozemlju (v našem okolju se pogosto srečujemo s primeri, vnesenimi iz Bosne in Hercegovine), na Arabskem in Indijskem polotoku ter v nekaterih delih Latinske Amerike, v Evropi pa je

največ prijavljenih primerov v Grčiji in na Portugalskem (7). Bruceloza je vročinska bolezen z bolečinami v mišicah, glavobolom, potenjem, hujšanjem in slabim počutjem, najpogostejša zapleta pa sta prizadetost kosti in sklepov (3). Značilno prizadene sakroiliakalne in velike sklepe spodnjih okončin, povzroča pa tudi spondilodiscitis; poleg septičnega povzroča tudi reaktivni artritis (3).

Klinična slika

Začetek SA je nenaden, buren, praviloma z vročino, a navadno brez mrzlice. Okuženi sklep je boleč, zaradi sklepnega izliva tudi otekel in slabše gibljiv, koža nad okuženim sklepom je toplejša, lahko pordela. Najpogostejši je monoartritis, pri odraslih najpogosteje kolena, pri otrocih pa kolčnega sklepa (1); v 10–20 % primerov je prizadetih sklepov več (8). Sistemski znaki vnetja niso vedno prisotni; v različnih prospektivnih analizah bolnikov s SA je bila vročina nad 37,5 °C prisotna v dobri polovici primerov, še redkejša pa sta bila mrzlica (6 %) in potenje (15 %) (9, 10).

Klinično sliko SA najtežje razlikujemo od vnetnih kristalopatij, zato je potrebna dobra anamneza dejavnikov tveganja ali morebitnih predhodnih zagonov bolezni; pri razlikovanju si lahko pomagamo s t.i. točkovnikom za protin (8).

Laboratorijska in slikovna diagnostika

Pri sumu na SA moramo čim prej pridobiti vzorec sklepne tekočine za biokemične in mikrobiološke preiskave; v punktatu določimo koncentracijo levkocitov in delež nevtrofilnih granulocitov, prisotnost in vrsto kristalov ter naredimo razmaz punktata, barvanega po Gramu, in procesiramo za rast na bakterioloških gojiščih. Biokemična meja koncentracije vnetnic v sklepni tekočini med gnojnim in negojnim artritisom je v literaturi zelo različno postavljena, kar dokazuje, da je razlikovanje med SA in predvsem s kristali povzročenim artritisom težko (6, 8, 11). Za predlagan algoritem smo avtorji izbrali biokemično mejo za SA > 50 x 10⁹ levkocitov/L in > 90 % nevtrofilnih granulocitov v vzorcu sklepne tekočine, ki ga je v dokumentu Smernice za obravnavo septičnega artritisa nativnih sklepov (angl. *Guideline for management of septic arthritis in native joints (SANJO)*) objavilo Evropsko združenje za okužbe kosti in sklepov (11). Uvedbo izkustvenega antibiotika ter odvzem krvi za hemokulture pa svetujemo tudi pri vrednostih 2–50 x 10⁹ levkocitov/L in 20–90 % granulocitov, če je sum na okužbo velik. V krvi določimo C-reaktivni protein (CRP) in krvno sliko. Za pomoč pri razlikovanju SA od kristalopatij lahko naročimo tudi vrednost prokalcitonina (PCT) ter vrednost urata. Vrednost PCT v krvi, ki je pri negojnem artritisu glede na raziskave sicer lahko pozitivna, je v povprečju statistično značilno vseeno nižja za približno 1 ng/mL (12, 13).

Slikovna diagnostika ima pri začetni obravnavi SA omejeno vrednost. Ultrazvok je dostopna preiskava, ki dobro prikaže prisotnost in obseg sklepnega izliva ter je v pomoč pri punkciji sklepa. Rentgenogram pokaže spremembe šele po približno dveh tednih bolezni, ko so lahko vidne demineralizacija kosti, zoženje sklepne špranje, še kasneje pa uničenje kosti (1). Scintigrafija kosti, računalniška tomografija (CT) in magnetna resonanca (MR) so bolj občutljive preiskave in že zgodaj dobro prikažejo prisotnost in obseg vnetja v sklepu in okolici, vendar pa tudi z njimi ne moremo razlikovati med SA in drugimi vrstami artritsov (4).

Mikrobiološka diagnostika

V diagnostiki okužb nativnih sklepov kultivacija sklepne tekočine na bakterioloških gojiščih še vedno predstavlja zlati standard, ki nam posreduje tudi ustrezno informacijo o občutljivosti povzročitelja za antibiotike. Ob sumu na SA je vedno potrebno odvzeti tudi hemokulture, ki so pri odraslih bolnikih pozitivne v več kot tretjini primerov (14). V primeru kirurške intervencije so primerne kužnine tudi tkivni vzorci (biopsije) sklepne ovojnice, poslane na mikrobiološko in histopatološko preiskavo (11). Vzorec sklepne tekočine (najmanj 1 mL) je treba čim prej poslati v mikrobiološki laboratorij v sterilni posodici ali epruveti z navojem; če so poleg standardne kultivacije indicirane še druge mikrobiološke preiskave (specifični molekularni testi, bakterijska širokospektralna reakcija s polimerazo (angl. *polymerase chain reaction* oz. PCR)), je potrebno poslati najmanj 2 mL sklepne tekočine. Čas transporta, ki se lahko opravi na sobni temperaturi, ne sme presegati 24 ur. Vzorec sklepne tekočine je mogoče kultivirati tudi v hemokulturnih stekleničkah, kar po nekaterih raziskavah poveča občutljivost metode, vsaj pri identifikaciji mikroorganizmov, ki so zahtevnejši za kultivacijo. Vendar vzorec sklepne tekočine, inokuliran v hemokulturno stekleničko, ni več primeren za izvedbo dodatnih molekularnih testov; posledično je interpretacija rezultatov le-teh zelo zahtevna ali pa celo onemogočena (15).

Mikroskopski pregled preparata iz sklepne tekočine, obarvanega po Gramu, je zaradi enostavnosti in hitrosti lahko v pomoč pri hitri diagnostiki SA in se ga zato še vedno priporoča, vendar je kljub visoki specifičnosti občutljivost mikroskopskega pregleda nizka in ne presega 50 %; negativna napovedna vrednost pa je med 28–83 % (16).

Pri preiskavi na patogene bakterije sklepno tekočino zasejemo na standardna trdna in tekoča bakteriološka gojišča, sama preiskava pa traja 5–7 dni (11). Če je kultivacija kljub utemeljenemu kliničnemu sumu na SA negativna, jo lahko podaljšamo na 10–14 dni, ali pa izvedemo dodatne mikrobiološke molekularne preiskave. Kultivacija je lahko negativna, če so povzročitelji bakterije, ki so občutljive na okoljske dejavnike in se njihova viabilnost pri daljšem transportnem času pomembno zmanjša (npr. *N. gonorrhoeae*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, anaerobne bakterije), ki na standardnih bakterioloških gojiščih ne rastejo (npr. *Borrelia* spp., *Tropheryma whippelii*, *Mycobacterium* spp.) ali rastejo suboptimalno (npr. *K. kingae*, glive), ter v primeru, da je bolnik že predhodno prejemal antibiotično terapijo (4–6).

Molekularne preiskave izvajamo dodatno poleg kultivacije, in sicer pri bolnikih, ki v času odvzema kužnine že prejemajo antibiotično terapijo, kadar sumimo, da so povzročitelji počasi rastoče ali nekultivabilne bakterije, ali kadar je kultura negativna kljub utemeljenemu kliničnemu sumu na SA (11). S tem pri pomembno večjem deležu bolnikov opredelimo etiologijo bolezni in omogočimo optimalno zdravljenje. Pri molekularnih preiskavah je potrebno upoštevati še strožje kriterije odvzema, transporta in shranjevanja kužnine, saj mnogi dejavniki predanalitske faze vplivajo na rezultate. Potreben je strogo aseptičen odzem kužnine, ki ne sme biti redčena, ustrezna sterilna transportna embalaža brez dodatkov ter zadostna količina kužnine za izvedbo vseh preiskav (15).

V molekularni diagnostiki okužb nativnih sklepov se najpogosteje uporablja bakterijski širokospektralni PCR z nadaljnjim sekvenciranjem pomnoženega genomskega odseka, s katerim lahko dokažemo katero koli patogeno bakterijo (z redkimi izjemami, npr. *Borrelia* spp.). V laboratoriju za sindromsko diagnostiko in molekularno bakteriologijo Inštituta za mikrobiologijo in imunologijo Medicinske fakultete v Ljubljani so s to metodo med dokazanimi

patogeni prevladovali klasični povzročitelji SA, ki v kulturi najverjetneje niso porasli zaradi predhodnega prejemanja antibiotikov. Poleg teh smo v vzorcih sklepne tekočine dokazali tudi nekultivabilne *T. whipplei*, za rast zahtevne *K. kingae*, *Mycobacterium* spp., na okoljske dejavnike občutljive *N. gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *S. pneumoniae* in druge (neobjavljeni podatki Laboratorija za sindromsko diagnostiko in molekularno bakteriologijo, Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, MF, UL).

Drug molekularni pristop je uporaba specifičnih testov PCR, ki jih laboratoriji razvijajo za svoje potrebe (angl. *in-house laboratory developed test*). Laboratorijsko razviti PCR so večinoma izdelani za specifično diagnostiko redkejših povzročiteljev, ki ne rastejo na standardnih bakterioloških gojiščih (npr. *Borrelia* spp. *T. whipplei*) ali pri diagnostiki bakterij, ki lahko med procesom kultivacije ogrožajo zdravje zaposlenih v laboratoriju (*Brucella* spp.). Posebej velja omeniti *K. kingae*, ki je med najpogostejšimi povzročitelji okužb sklepov pri otrocih, mlajših od 5 let. Metoda izbora za dokaz okužbe je v teh primerih specifični PCR za *K. kingae*, ki glede občutljivosti močno prekaša tudi kultivacijo v hemokulturnih stekleničkah. To je potrebno upoštevati pri izboru preiskav, ko je kužnine premalo, kar je pri bolnikih te starosti pogosto (5, 15).

Na tržišču je na voljo komercialno dostopen test za diagnostiko okužb sklepov, ki temelji na hkratnem PCR v realnem času (angl. *multiplex real-time PCR*), in sicer BIOFIRE® JI Panel (Biomérieux, Marcy-l'Étoile, Francija), s katerim dokazujemo prisotnost najpogostejših povzročiteljev ter pridobimo podatek o prisotnosti izbranih genov za odpornost proti antibiotikom. Glavna prednost tega testa v primerjavi z bakterijskim širokospektralnim in specifičnim PCR je hitrost, saj lahko rezultat dobimo v eni uri od sprejema vzorca. Glavne slabosti so omejen nabor povzročiteljev, ki jih lahko dokažemo, nižja občutljivost za dokaz nekaterih patogenov iz nabora v primerjavi s specifičnimi PCR testi in visoka cena (17). V doslej največji objavljeni raziskavi, ki je zajemala 34 medicinskih centrov v 19 evropskih državah, so raziskovalci poročali o 88,4 % ujetanju rezultatov identifikacije patogenov med BIOFIRE® JI Panel in kultivacijo pri sumu na SA. S testnim panelom so pogostejše kot s kulturo dokazali *S. aureus*, *Streptococcus* spp., *Enterococcus faecalis*, *K. kingae*, *N. gonorrhoeae* in anaerobne bakterije iz nabora testa (17).

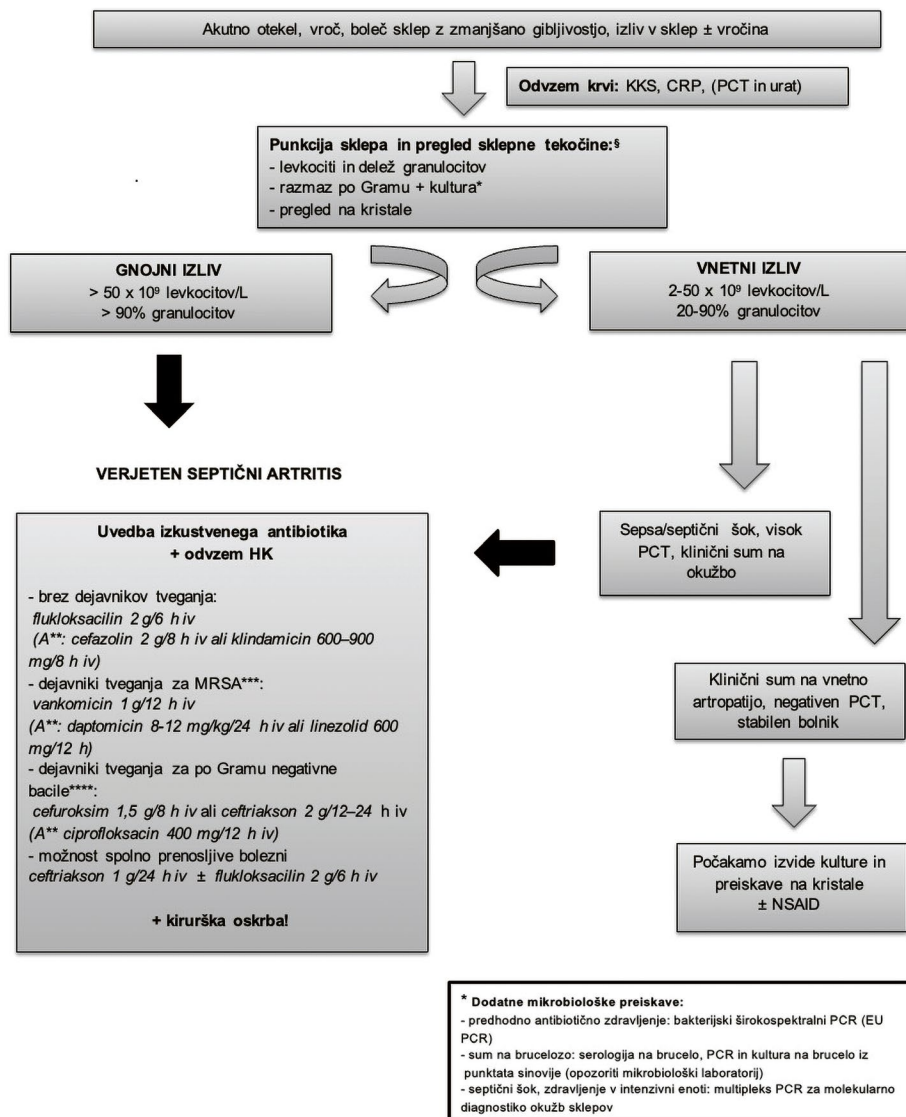
V primeru suma na tuberkulozni artritis je potrebno poslati sklepno tekočino in biopt sklepne ovojnice na specifično preiskavo za dokaz mikobakterij, v okviru katere se izvede pregled mikroskopskega preparata, barvanega z avraminom, kultivacija na specialnih gojiščih in molekularna diagnostika (11). V primeru suma na brucelozni artritis je poleg klasične kultivacije ali specifične molekularne diagnostike potrebno odvzeti tudi kri za serološko testiranje na prisotnost specifičnih protiteles IgG in IgM. Ob sumu na okužbo z brucelo je, zaradi zagotavljanja varnega dela v laboratoriju in v izogib izpostavljenosti in potencialni okužbi, ob pošiljanju kliničnih vzorcev nujno opozoriti tudi mikrobiološki laboratorij.

Izkustveno zdravljenje

Ker lahko bakterijsko vnetje hitro vodi v nepopravljivo okvaro sklepa, je takojšen pričetek primerne antibiotičnega zdravljenja nujen v primeru, da gre za velik klinični sum na SA. V algoritmu (Slika 1) smo predstavili priporočeno izbiro izkustvenega antibiotika glede na dejavnike tveganja. Namen algoritma je, da z njegovo pomočjo po opravljeni diagnostiki prepoznamo bolnike z velikim sumom na SA, pri katerih uvedemo izkustveno antibiotično zdravljenje. Pri ostalih lahko z uvedbo izkustvenega antibiotičnega zdravljenja počakamo.

Pri zdravljenju SA je poleg antibiotika pomembna tudi čimprejšnja kirurška obravnava za preprečitev trajnih okvar.

Slika 1. Obravnava odraslega bolnika s sumom na septični artritis v urgentni ambulanti



§ Če punkcija ne more biti izvedena oz. je suha, uvedemo antibiotik v primeru sepsa/septičnega šoka ali kliničnega suma na okužbo.

A** alternativa v primeru alergije ***znana kolonizacija z proti meticilinu odpornim *Staphylococcus aureus* (MRSA)

****starejši, imunsko oslabei, uporaba intravenskih drog, nedavna okužba sečil ali krg. poseg v trebuhu. KKS: kompletna krvna slika. CRP: c-reaktivni protein. PCT: prokalcitonin. NSAID: nesteroidna protivnetna zdravila. HK: hemokulture. PCR: verižna reakcija s polimerazo.

INFEKCIJSKI SPONDILODISCITIS

Infekcijski spondilodiscitis (ISD) je bakterijski osteomielitis hrbtenice, ki prizadene dve ali več sosednjih vretenc in medvretenčne ploščice med njimi (1). Zaradi neznačilne klinične slike je čas do postavitve diagnoze pogosto dolg; v prospektivni raziskavi so ugotovili, da je od pojava simptomov do postavitve diagnoze minilo v povprečju kar 45,5 dni (18).

Epidemiologija in patogeneza

Pojavnost ISD je v razvitem svetu med 2 in 7 na 100.000 prebivalcev in narašča s starostjo, pri otrocih je bolezen za razliko od SA redka (19, 20). Okužba je v večini primerov posledica hematogenega razsoja, redkeje direktnega vnosa ob operaciji na hrbtenici ali kot posledica širjenja iz okuženih okolnih mehkih tkiv. Najpogostejše je prizadet ledveni del (58 %), sledita prsna (30 %) in vratna hrbtenica (11 %) (21). Večina bolnikov s hematogenim izvorom ima osnovno obolenje, kot so sladkorna bolezen, koronarna bolezen, rakava bolezen, končna ledvična odpoved na nadomestnem zdravljenju s hemodializo, je imunsko oslabela ali pa si injicira droge, kar so tudi najpomembnejši dejavniki tveganja za ISD (21). ISD je pogosto povezan z infekcijskim endokarditisom, pri čemer smer patogeneze ni vedno jasna; v dveh študijah je bil endokarditis prisoten pri 31 % (22) oziroma 12 % ISD (23).

Povzročitelji ISD so po pojavnosti in pogostosti podobni tistim, predstavljenim pri SA, tudi tu je glavni patogen *S. aureus*. Če je bolezen posledica kirurškega posega na hrbtenici, so povzročitelji pogosto koagulaza negativni stafilokoki (20, 21). Posebnost je bakterija *Mycobacterium tuberculosis*, ki povzroča okužbe predvsem pri bolnikih z oslabljeno imunostjo. Glivni povzročitelji so redki, ISD povzročajo predvsem pri imunsko oslabelih, pri bolnikih z osrednjimi žilnimi katetri in osebah, ki si injicirajo droge; potek bolezni je v teh primerih značilno subakuten ali kroničen, osamitev povzročitelja pa težavna (20).

Klinična slika

Bolezen lahko poteka akutno (nastanek v poteku stafilokokne ali po Gramu negativne sepe), subakutno ali kronično. Pri vseh oblikah je najbolj značilen simptom bolečina v predelu hrbtenice; vročina je prisotna v 35–60 %, pogostejše pri akutnem poteku. Nevrološke okvare kot so radikulopatija, retenca seča, šibkost okončin, pareze, dizestezijske in senzorične izgube so redkejšje (20). V krvi so praviloma povečani koncentracija CRP in hitrost sedimentacije eritrocitov (angl. *Erythrocyte sedimentation rate* – SR) ter povečana aktivnost alkalne fosfataze (1, 21). S podobno klinično sliko lahko potekajo poškodbe ali neoplazme hrbtenice, pa tudi vnetja, ki niso kostno-mišičnega izvora, kot sta pankreatitis ali pielonefritis (21).

Slikovna diagnostika

Slikovne preiskave imajo pomembno mesto pri postavitvi diagnoze ISD, pri izključevanju stanj, ki potekajo s podobno klinično sliko (npr. rentgenogram za prikaz zlomov) ter pri ocenjevanju morebitnih gnojnih zapletov, kot so epiduralni ter paravertebralni absces ali absces diska. Najprimernejša diagnostična metoda je MR hrbtenice, ki dobro pokaže spremembe na kosteh, gnojne zaplete ter prizadetost živčnih struktur že zgodaj v poteku bolezni; v primeru kontraindikacij je alternativa pozitronska emisijska tomografija s CT (PET CT) (24). MR zazna ISD z 82–97 % občutljivostjo in 85–93 % specifičnostjo; PET CT z 96 % občutljivostjo in 95 %

specifičnostjo pa je natančnejši pri postavitvi diagnoze predvsem v prvih dveh tednih bolezni, vendar pa za razliko od MR slabše prikaže epiduralne abscese (25). Mesto CT preiskave je prvenstveno pri radiološko vodeni biopsiji, ki je pomembna za etiološko opredelitev okužbe.

Mikrobiološka diagnostika

Ob sumu na ISD je potrebno odvzeti hemokulture pred uvedbo antibiotične terapije; s pomočjo hemokultur identificiramo povzročitelja v največ 59 % primerov (26). Odvzeti je treba vsaj dva para (aerobna in anaerobna steklenička) hemokultur, ki morajo biti napolnjene z ustrezno količino krvi (10 mL) (27). Če v vsaj dveh parih hemokultur poraščajo *S. aureus*, *S. lugdunensis*, enterokoki, betahemolitični streptokoki, po Gramu negativni bacili ali *Brucella* spp., nadaljnja mikrobiološka diagnostika ni potrebna (27). Včasih je za potrditev okužbe potreben odvzem tkivnih biptov, bodisi z igelno punkcijo ali pa s kirurškim posegom, iz katerega s kultivacijo na mikrobioloških gojiščih identificiramo povzročitelja. Uspešnost tovrstne diagnostike je odvisna od izkušenosti izvajalca, števila odvzetih tkivnih vzorcev in predhodnega antibiotičnega zdravljenja (27). Intraoperativno odvzeta biopsija se izvaja pri bolnikih z indikacijo za operativno zdravljenje in omogoča odvzem večje količine tkiva, kar poveča specifičnost mikrobiološke diagnostike; slikovno vodena biopsija ima precej nižji diagnostični izplen (48 %) v primerjavi z odprto kirurško biopsijo (76 %) (28).

Vzorce perivertebralnih abscesov ali tekočinskih kolekcij (najmanj 1 mL) je potrebno čim prej poslati v mikrobiološki laboratorij v sterilni posodici ali epruveti z navojem, lahko pa tudi v hemokulturni steklenički. Če ni mogoče odvzeti vzorca iz abscesa oziroma tekočinske kolekcije, se priporoča odvzem dovolj velikih (približno 1 g) tkivnih vzorcev v zadostnem številu, preferenčno iz vnetega paravertebralnega mehkega tkiva, medvretenčne ploščice in zgornje ali spodnje krovne plošče (27). Vsaj trije tkivni vzorci naj bodo poslani na bakteriološko preiskavo, en vzorec pa za histološko preiskavo (27). Za vsak posamezen tkivni vzorec je potrebno vzeti nov komplet inštrumentov, da se izognemo navzkrižni kontaminaciji. Tkvine vzorce je potrebno poslati v mikrobiološki laboratorij v ločenih sterilnih posodicah; ob daljšem transportu vzorcem dodamo nekaj kapljic sterilne fiziološke raztopine, da preprečimo izsušitev; tkivnih vzorcev ne odlagamo na gazo ali zloženec zaradi možne prisotnosti proste kontaminantne bakterijske deoksiribonukleinske kisline (DNA) iz okolja, kar je še posebej pomembno pri izvedbi bakterijskega širokospektralnega PCR v primeru negativne kulture (15).

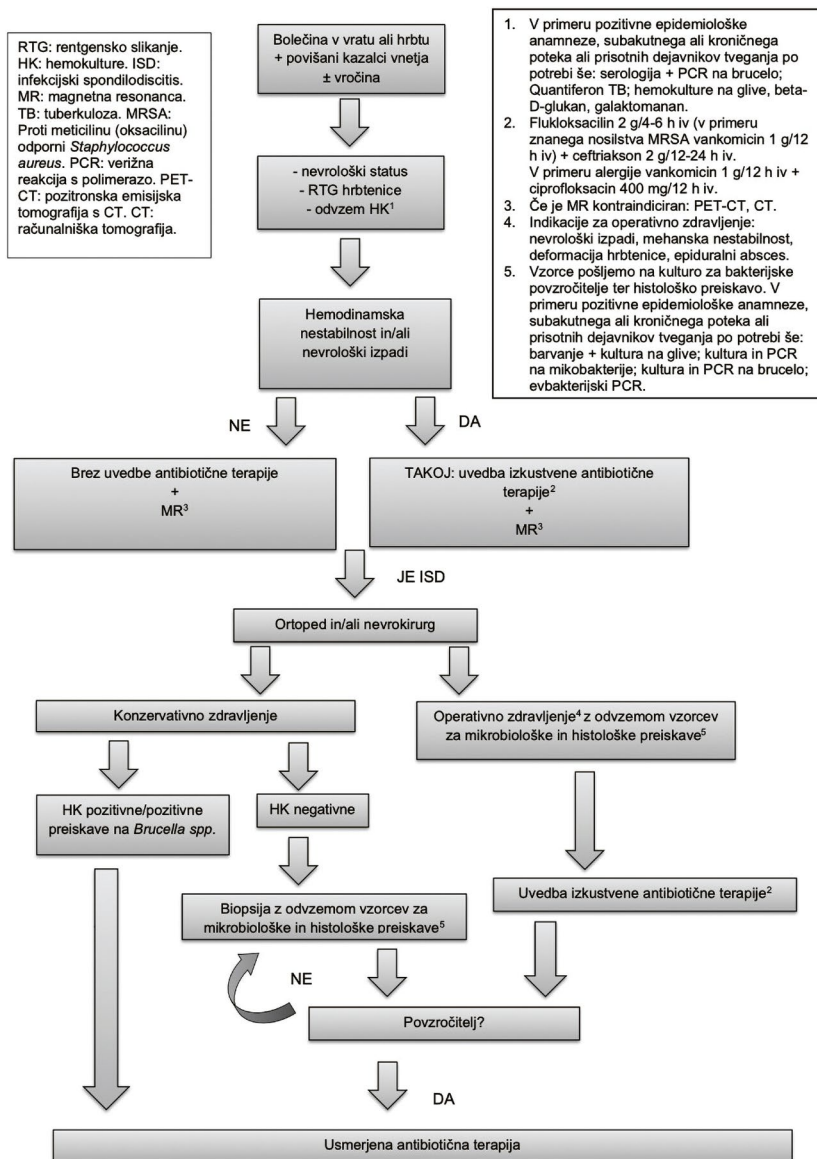
Tudi pri ISD je v primeru negativnega rezultata kultivacije mikrobiološko diagnostiko priporočljivo dopolniti z molekularnimi metodami in pomisliti na manj pogoste povzročitelje, kot so *M. tuberculosis*, *Brucella* spp., *Coxiella burnetii* ali glive (24, 27).

Zdravljenje

Za obravnavo bolnika s sumom na ISD je ključnega pomena, da čim prej opravimo oceno hemodinamskega in nevrološkega statusa, saj je od tega odvisno, ali bomo uvedli izkustveno antibiotično zdravljenje in kako hitro bo opravljena slikovna diagnostika. Za takojšnje izkustveno antibiotično zdravljenje in slikovno diagnostiko se odločimo pri hemodinamsko nestabilnem bolniku z znaki sepse oziroma septičnega šoka in bolniku z nevrološkim izpadom. Takojšen kirurški poseg je indiciran v primeru nevroloških izpadov (pareza, plegija, retenca blata in seča), operacija pa je pogosto potrebna pri nestabilnosti hrbtenice in večjih (predvsem epiduralnih) abscesih. Z uvedbo antibiotika in slikovno diagnostiko praviloma lahko počakamo pri

hemodinamsko stabilnih bolnikov brez nevrološke simptomatike. V teh primerih odvzamemo hemokulture (in po potrebi ostale kužnine). V kolikor ostanejo hemokulture negativne, se po potrditvi spondilodiscitisa s slikovnimi metodami odločimo za biopsijo prizadetega predela. Po osamitvi povzročitelja uvedemo usmerjeno protimikrobno terapijo (1). Izbira izkustvenega antibiotika in mikrobiološka diagnostika sta predstavljeni v algoritmu na Sliki 2.

Slika 2. Obravnava odraslega bolnika s sumom na infekcijski spondilodiscitis v urgentni ambulanti



SKLEP

Incidenca SA in ISD v razvitem svetu naraščata. Z večjim številom bolnikov z imunsko oslabelostjo in globalizacijo postajajo povzročitelji vse manj značilni. Zaradi dolgotrajnega antibiotičnega zdravljenja je mikrobiološka opredelitev izjemnega pomena, bakteriološke in serološke metode pa pogosto dopolnjujemo z molekularno mikrobiološko diagnostiko.

LITERATURA

1. Lotrič-Furlan S, Pokor M, Meglič-Volkar J, Lejko Zupanc T. Okužbe sklepov, kosti in mišic. In: Tomažič J, Strle F, ur. Infekcijske bolezni. 2. dopolnjena izdaja. Ljubljana: Združenje za infektologijo, Slovensko zdravniško društvo; 2017. p. 183–98.
2. Cooper C, Cawley MI. Bacterial arthritis in an English health district: a 10 year review. *Ann Rheum Dis.* 1986;45(6):458–63.
3. Ohl CO. Infectious arthritis of native joints, In: Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ, eds. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 9th Edition. Elsevier, Philadelphia; 2019. p. 1400–17.
4. Mathews CJ, Weston VC, Jones A, Field M, Coakley G. Bacterial septic arthritis in adults. *Lancet.* 2010;375(9717):846–55.
5. Kopitar A, Budič P, Trebše N, Pokorn M, Pirš M, et al. *Kingella kingae* in osteoartikularne okužbe pri otrocih = *Kingella kingae* and osteoarticular infections in children. In: Logar M, , Beović B, Lejko Zupanc T, ur. Infektološki simpozij 2024: infekcijske bolezni danes in tudi jutri: Ljubljana, april 2024. Ljubljana: Sekcija za protimikrobno zdravljenje SZD; 2024. p. 132–43.
6. Ross JJ. Septic Arthritis of Native Joints. *Infect Dis Clin North Am.* 2017;31(2):203–18.
7. European Centre for Disease Prevention and Control. Brucellosis. In: ECDC. Annual epidemiological report for 2022. Stockholm: ECDC; 2024. [cited 2025 April 10]. Available from: https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/BRUC_AER_2022_Report.pdf
8. Praprotnik S, Tomšič M. Okužbe sklepov in hrbtenice. In: Gašperšič N, Ambrožič A, ur. Žepna revmatologija. Ljubljana: Društvo za razvoj revmatologije; 2019. p. 155–68.
9. Gupta MN, Sturrock RD, Field M. A prospective 2-year study of 75 patients with adult-onset septic arthritis. *Rheumatology (Oxford).* 2001;40(1):24–30.
10. Ispahani P, Weston VC, Turner DP, Donald FE. Septic arthritis due to *Streptococcus pneumoniae* in Nottingham, United Kingdom, 1985–1998. *Clin Infect Dis.* 1999;29(6):1450–4.
11. Ravn C, Neyt J, Benito N, Abreu MA, Achermann Y, Bozhkova S, et al. The Sanjo Guideline Group. Guideline for management of septic arthritis in native joints (SANJO). *J Bone Jt Infect.* 2023;8(1):29–37.
12. Zhao J, Zhang S, Zhang L, Dong X, Li J, Wang Y, et al. Serum procalcitonin levels as a diagnostic marker for septic arthritis: A meta-analysis. *Am J Emerg Med.* 2017;35(8):1166–71.
13. Talebi-Taher M, Shirani F, Nikanjam N, Shekarabi M. Septic versus inflammatory arthritis: discriminating the ability of serum inflammatory markers. *Rheumatol Int.* 2013;33(2):319–24.
14. Long B, Koyfman A, Gottlieb M. Evaluation and Management of Septic Arthritis and its Mimics in the Emergency Department. *West J Emerg Med.* 2019;20(2):331–41.
15. Cvitković Špik V, Cerar Kišek T, Strašek Smrdel K, Triglav T, Ružič Sabljic E. Kaj moramo vedeti, preden pošljemo vzorec za molekularno mikrobiološko preiskavo. In: Matos T ur. 10. Likarjev simpozij: Odvzem in transport vzorcev za mikrobiološke preiskave: spletni simpozij, 16. in 17. junij 2021: zbornik predavanj z recenzijo. Sekcija za klinično mikrobiologijo in bolnišnične okužbe SZD; 2024. p. 37–48.

16. Zhang J, Stevenson A, Zhou AK, Khan F, Geetala R, Krkovic M. The accuracy and diagnostic value of gram staining joint aspirates in suspected joint infections. *Hip Int.* 2024;34(4):546–52.
17. Pascual S, Noble B, Ahmad-Saeed N, Aldridge C, Ambretti S, Amit S, et al. Potential value of a rapid syndromic multiplex PCR for the diagnosis of native and prosthetic joint infections: a real-world evidence study. *J Bone Jt Infect.* 2024;9(1):87–97.
18. Jean M, Irisson JO, Gras G, Bouchand F, Simo D, Duran C, et al. Diagnostic delay of pyogenic vertebral osteomyelitis and its associated factors. *Scand J Rheumatol.* 2017;46(1):64–8.
19. Akiyama T, Chikuda H, Yasunaga H, Horiguchi H, Fushimi K, Saita K. Incidence and risk factors for mortality of vertebral osteomyelitis: a retrospective analysis using the Japanese diagnosis procedure combination database. *BMJ Open.* 2013;3(3):e002412.
20. Aaron J, Tande AJ, Steckelberg JM, Osmon DR, Berbari EF. Osteomyelitis, In: Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ, eds. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases.* 9th Edition. Elsevier, Philadelphia; 2019. p. 1418–29.
21. Zimmerli W. Clinical practice. Vertebral osteomyelitis. *N Engl J Med.* 2010;362(11):1022–9.
22. Pigrau C, Almirante B, Flores X, Falco V, Rodríguez D, Gasser I, et al. Spontaneous pyogenic vertebral osteomyelitis and endocarditis: incidence, risk factors, and outcome. *Am J Med.* 2005;118(11):1287.
23. Morimoto T, Hirata H, Otani K, Nakamura E, Miyakoshi N, Terashima Y, et al. Vertebral Osteomyelitis and Infective Endocarditis Co-Infection. *J Clin Med.* 2022;11(8):2266.
24. Berbari EF, Kanj SS, Kowalski TJ, Darouiche RO, Widmer AF, Schmitt SK, et al. Infectious Diseases Society of America. 2015 Infectious Diseases Society of America (IDSA) Clinical Practice Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Native Vertebral Osteomyelitis in Adults. *Clin Infect Dis.* 2015;61(6):e26–46.
25. Smids C, Kouijzer IJ, Vos FJ, Sprong T, Hosman AJ, de Rooy JW, et al. A comparison of the diagnostic value of MRI and 18F-FDG-PET/CT in suspected spondylodiscitis. *Infection.* 2017;45(1):41–9.
26. Sobottke R, Seifert H, Fätkenheuer G, Schmidt M, Gossmann A, Eysel P. Current diagnosis and treatment of spondylodiscitis. *Dtsch Arztebl Int.* 2008;105(10):181–7.
27. Lacasse M, Derolez S, Bonnet E, Amelot A, Bouyer B, Carlier R, et al; Review group. 2022 SPILF - Clinical Practice guidelines for the diagnosis and treatment of disco-vertebral infection in adults. *Infect Dis Now.* 2023;53(3):104647.
28. McNamara AL, Dickerson EC, Gomez-Hassan DM, Cinti SK, Srinivasan A. Yield of Image-Guided Needle Biopsy for Infectious Discitis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2017;38(10):2021–7.

KAJ POMENI PODATEK O NOSILSTVU VEČKRATNO ODPORNIH BAKTERIJ ZA KLINIKA

CLINICAL IMPLICATIONS OF COLONIZATION WITH MULTIDRUG RESISTANT BACTERIA

Mirijam Nahtigal Klevišar, Tadeja Ciglar

Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja, UKC Ljubljana

IZVLEČEK

Okužbe, povzročene z večkratno odpornimi bakterijami (VOB), predstavljajo veliko grožnjo za javno zdravje, saj so povezane z visokim številom smrti in podaljšanim zdravljenjem v bolnišnici. Kolonizacija z VOB lahko vodi v okužbo in igra pomembno vlogo pri širjenju teh bakterij v bolnišnicah. Pri odločanju o izkustveni antibiotični terapiji pri nosilcu VOB morajo zdravniki upoštevati relativno tveganje za okužbo z enakim patogenom, pri čemer je ključna klinična presoja z upoštevanjem resnosti okužbe, gostitelja, različnih patogenov in časa. Raziskave so pokazale, da je nosilstvo VOB dejavnik tveganja za okužbe z enakimi sevi, pri čemer so najvišja tveganja prisotna pri nosilcih bakterij, odpornih proti karbapenemom.

Ključne besede: odpornost, kolonizacija, dejavniki tveganja, izkustvena terapija

ABSTRACT

Infections caused by multidrug-resistant bacteria pose a significant public health threat, as they are associated with high mortality rates and prolonged hospital treatment. Colonization with multidrug-resistant bacteria may precede infection and plays an important role in the spread of these bacteria in hospitals. When making decisions regarding empirical antibiotic therapy for carriers of multidrug-resistant organisms (MDRO), physicians must consider the relative risk of infection with the same pathogen, with clinical judgment being crucial, taking into account the severity of the infection, the host, various pathogens, and timing. Research has shown that MDRO colonization is a risk factor for infections with the same strains, with the highest risks present in carriers of carbapenem-resistant bacteria.

Keywords: resistance, colonization, risk factors, empiric therapy

UVOD

Globalno breme obolevnosti in umrljivosti zaradi okužb, povzročenih z večkratno odpornimi bakterijami (VOB), je visoko (1). Ocenjujejo, da je bilo leta 2021 na globalni ravni kar 1,14

milijonov smrti neposredno povezanih s protimikrobno odpornostjo. Od leta 1990 do 2021 se je smrtnost zaradi protimikrobne odpornosti pri odraslih, starih 70 let ali več, povečala za več kot 80 %. Odpornost proti antibiotikom predstavlja eno največjih groženj javnemu zdravju, tako v Evropi kot po svetu (2). Raziskave, ki temeljijo na podatkih EARS-Net (Evropske mreže za spremljanje odpornosti proti antibiotikom, angl. *European Antimicrobial Resistance Surveillance Network*), kažejo, da je v državah Evropske unije in Evropskega gospodarskega prostora več kot 865.000 okužb letno povzročenih z odpornimi bakterijami, 33.000 bolnikov zaradi takih okužb umre. Okužbe z VOB ustvarjajo dodaten pritisk na evropske bolnišnice. Vsako leto bolniki preživijo več kot 9,5 milijonov dodatnih dni v bolnišnici (v Sloveniji po ocenah dodatnih 29.036 dni) zaradi zdravljenja odpornih okužb in njihovih posledic (kar je enakovredno celotni kapaciteti akutnih bolnišničnih postelj v državi, kot je Portugalska, za leto 2020) (3). Še precej pogostejše kot okužbe srečamo kolonizacijo z VOB, to je nosilstvo na koži in sluznicah brez znakov okužbe. Kolonizacija je pomembna, saj se običajno pred okužbo pojavi krajša ali daljša kolonizacija (4). Načrtovanje izobraževanj in intervencij na področju nadzorovane rabe antibiotikov je ključnega pomena za preprečevanje in nadzor okužb, povzročenih z VOB. Prepoznavanje nosilcev VOB je bistvenega pomena za obvladovanje bolnišničnih okužb, saj je upoštevanje ustreznih izolacijskih protokolov eden glavnih previdnostnih ukrepov, potrebnih za preprečevanje širjenja teh patogenov v bolnišnici (5).

DEJAVNIKI TVEGANJA ZA NOSILSTVO VOB

Dejavniki, ki vplivajo na kolonizacijo z VOB, so: visoka starost, bivanje v negovalnih ustanovah in v ustanovah za dolgotrajno oskrbo, dolgotrajna hospitalizacija, prisotnost in teža osnovnih bolezni, premeščanje med ustanovami, hospitalizacija v državah, kjer je visoka prevalenca VOB, kirurški posegi v trebuhu, presaditve organov, izpostavljenost invazivnim posegom, vstavljeni osrednji žilni katetri in izpostavljenost antibiotikom (6, 7).

VOB se najpogosteje prenašajo med bolniki v bolnišnici, lahko pa VOB pridobijo tudi povsem zdravi posamezniki. Opisali so tri rizične skupine. Prva je vezana na okolje: posebej izpostavljeni so ljudje, ki živijo na območjih z visoko prevalenco VOB ali tja potujejo. Druga skupina je vezana na poklicno tveganje: izpostavljenost zdravstvenih delavcev in veterinarjev ter kmetov. Tretja rizična skupina pa je vezana na posameznike, pri katerih zdravstveno stanje (pridružene bolezni, npr. sladkorna bolezen, visoka starost, antibiotično zdravljenje) vpliva na prisotnost nosilstva VOB (8). V metaanalizi so prikazali, da je tudi uporaba zaviralcev protonske črpalke povezana s povečano verjetnostjo kolonizacije z VOB. Pozvali so k zmanjšanju nepotrebne uporabe zaviralcev protonske črpalke (9).

IZKUSTVENO ANTIBIOTIČNO ZDRAVLJENJE

Odločitev o uvedbi antibiotičnega zdravljenja predstavlja ravnovesje med verjetnostjo, da bolnik dejansko ima okužbo, in potencialno škodo, ki jo antibiotiki lahko povzročijo (kot npr. okužba s *Clostridioides difficile*, akutna ledvična okvara, razvoj protimikrobne odpornosti, porušenje črevesne mikrobiote). Izbira izkustvenega antibiotičnega zdravljenja je odvisna od mesta okužbe, resnosti bolezni in značilnosti gostitelja (npr. imunski status, epidemiološki dejavniki tveganja). Pred izbiro izkustvenega zdravljenja mora torej zdravnik najprej ugotoviti mesto okužbe, najverjetnejše povzročitelje okužbe in oceniti verjetnost slabega izhoda zdravlje-

nja v primeru neustrezne terapije. Globalen porast protimikrobne odpornosti dodatno otežuje odločitev o izkustvenem antibiotičnem zdravljenju in predstavlja neodvisen dejavnik tveganja za neustrezno izkustveno antibiotično zdravljenje (10). Neučinkovito izkustveno antibiotično zdravljenje pa predstavlja znan dejavnik tveganja za slabši izhod bolezni (1).

V študijah so prikazali, da kolonizacija z VOB poveča tveganje za okužbe z enakimi sevi. Odločitev, kako pogosto uporabiti širokospektralno antibiotično terapijo v primeru kolonizacije bolnika z VOB, zahteva poglobljeno razumevanje relativnega tveganja okužbe z VOB v odvisnosti od mesta in resnosti okužbe, gostitelja, različnih patogenov in časa (1). Willems s sodelavci je v metaanalizi želel oceniti tveganje za okužbo z enakimi patogeni pri nosilcih večkratno odpornih gramnegativnih bakterij (VOB-GN) in nosilcih proti vankomicinu odpornega enterokoka (VRE) v prebavilih ali sečilih. Združil je rezultate 40 opazovalnih študij, v katere je bilo vključenih 5015 nosilcev VRE in 9034 nosilcev VOB-GN. V primarni analizi je prikazal, da je tveganje za okužbo z enakim patogenom večje pri nosilcih VOB-GN kot pri nosilcih VRE. V 30 dneh je tveganje za okužbo pri nosilcih VOB-GN znašalo 14 % (pri nosilcih proti karbapenemom odpornih enterobakterij (CRE) 19 % in pri nosilcih enterobakterij, odpornih proti 3. generaciji cefalosporinov (3GCephRE) 8 %), pri nosilcih VRE pa 8 %. Tveganje za okužbo je bilo največje pri bolnikih, koloniziranih s CRE, in je bilo skoraj 5-krat večje kot tveganje za okužbo z VRE pri bolnikih, ki so nosilci te bakterije. Stratifikacija glede na vrsto odpornosti proti karbapenemom je pokazala višjo incidenco okužb pri nosilcih bakterij, ki izločajo karbapenemaze (CRE-CPE). Kumulativna incidenca okužb pri nosilcih CRE-CPE je znašala 26 % v 28 dneh v primerjavi s 13 % v 30 dneh pri nosilcih CRE, ki ne izločajo karbapenemaz. Do večine okužb pri nosilcih pride zgodaj po zaznani kolonizaciji, znotraj približno 3 mesecev (11). Raziskava je zlasti pomembna za klinike, ki morajo pri svojem delu uravnesiti ustreznost izkustvene antibiotične terapije z njeno prekomernostjo. Hkrati se moramo zavedati, da nosilstvo VOB ni edini dejavnik tveganja za okužbe z VOB. Pri odločitvi o izbiri izkustvene antibiotične terapije moramo torej upoštevati celotno oceno tveganja, ki temelji na vsakem posameznem primeru (1). Dejavniki tveganja za okužbo z VOB, poleg podatka o nosilstvu VOB, vključujejo pridružene kronične bolezni, prisotnost umetnih materialov, imunski status, nedavne okužbe, izpostavljenost antibiotikom v zadnjih 3 mesecih ter okolje pridobljene okužbe (doma pridobljena, bolnišnična). Prav nič ne more nadomestiti klinične presoje, ki pri izbiri izkustvenega protimikrobnega zdravljenja upošteva vse spremenljivke in dejavnike tveganja. Pri izbiri antibiotične terapije mora klinik poznati tudi lokalne podatke o občutljivosti bakterij, zaradi česar je ključnega pomena sodelovanje z mikrobiološkimi laboratoriji (10).

Nosilci enterobakterij, odpornih proti cefalosporinom 3. generacije (3GCephRE)

Okužbe, ki jih povzročajo 3GCephRE (zaradi izločanja betalaktamaz razširjenega spektra (angl. *extended spectrum beta-lactamase*, ESBL), AmpC ali drugih mehanizmov), so v porastu po vsem svetu. Posledično smo priča povečani uporabi antibiotikov, odpornih proti učinku betalaktamaz (na primer karbapenemov), s čimer se poveča tveganje za razvoj odpornosti proti karbapenemom (12). Predvidevajo, da je na globalni ravni do 14 % zdravih posameznikov koloniziranih z enterobakterijami, ki izločajo ESBL. Študije, ki so ocenjevale tveganje za okužbo z enterobakterijami, ki izločajo ESBL, pri bolnikih, ki so kolonizirani z enakimi organizmi, so pokazale različne rezultate (10). V študiji bolnikov s hematološkimi malignostmi so ugotovili,

da imajo nosilci ESBL 3,5-krat večjo verjetnost za razvoj bakteriemije z enakim sevom, če jih primerjamo z nekoloniziranimi bolniki (13). Tveganje za okužbe, povzročene z enterobakterijami, ki izločajo ESBL, je večje pri bolnikih, ki so nosilci *Klebsiella pneumoniae* – ESBL v primerjavi z nosilci *Escherichia coli* – ESBL. Nosilstvo *K. pneumoniae* – ESBL je povezano s povečanim tveganjem za prenos z bolnika na bolnika, okužbo, resnost okužbe, smrtnost in dolžino hospitalizacije (14).

Rottier s sod. je zaključil, da ima pri bolnikih s sepo predhodna kolonizacija z 3GCephRE ter predhodno antibiotično zdravljenje nizko pozitivno napovedno vrednost za okužbe, povzročene s 3GCephRE. Retrospektivno je analiziral bolnike s sumom na okužbo, povzročeno z gramnegativnimi bakterijami, pri katerih so bile pred uvedbo zdravljenja odvzete hemokulture. Od 9422 epizod so v 8,2 % (773 epizod) beležili bakteriemijo, povzročeno z enterobakterijami; 0,7 % (64) epizod bakteriemij je bilo povzročenih z 3GCephRE. Nosilstvo 3GCephRE (90-dnevno okno) je predstavljalo 7,4 % pozitivno napovedno vrednost za bakteriemijo, povzročeno z enakimi bakterijami, predhodna antibiotična terapija s cefalosporini ali kinoloni (30-dnevno okno) pa 1,3 % pozitivno napovedno vrednost; ob prisotnosti katerega koli od navedenih dejavnikov je pozitivna napovedna vrednost znašala 1,8 % (12). Kang s sod. je v svoji raziskavi ugotovil, da pri bolnikih z bakteriemijo *K. pneumoniae* – ESBL odložitev uvedbe antibiotika, usmerjenega glede na občutljivost povzročitelja, ni vplivala na smrtnost. Njegovi rezultati nakazujejo smiselnost omejene rabe karbapenemov za izkustveno zdravljenje (15).

Stupica s sod. je v retrospektivni opazovalni raziskavi ocenjevala pozitivno napovedno vrednost nosilstva enterobakterij, ki izločajo ESBL (ESBL-E) za sepo, ki jo povzročajo ESBL-E in vpliv izkustvene terapije na izhod zdravljenja. Vključila je 653 nosilcev ESBL-E z doma pridobljeno sepo. Pozitivna napovedna vrednost nosilstva ESBL-E je bila najvišja za sepo z izvorom v sečilih (62,6 %), manjša pa pri sepsi z izvorom v dihalih (24,5 %). Od 653 bolnikov je bilo 177 zdravljenih z izkustvenim karbapenemom, ostali pa so prejeli ne-karbapenemski antibiotik, pretežno betalaktam z inhibitorjem betalaktamaz. V multipli regresijski analizi (vpliv starosti, spola, točkovnika Charlson, resnosti, izvora in etiologije sepse) ni prikazala statistično pomembnih razlik v smrtnosti med skupinama. Zaključila je, da pri nosilcih ESBL-E z doma pridobljeno sepo, ki niso kritično bolni, lahko uporabimo ne-karbapenemski izkustveni antibiotik, zlasti, če sepsa ne izvira iz sečil (16). Tudi v kohorti INCREMENT, kjer so raziskovali vpliv izkustvenega zdravljenja bolnikov z bakteriemijo, povzročeno z ESBL-E, niso prikazali, da je bilo izkustveno zdravljenje z drugimi učinkovitimi antibiotiki v primerjavi s karbapenemi povezano s slabšim izходом (17).

Nosilci enterobakterij, odpornih proti karbapenemom (CRE)

Pri bolnikih, ki so nosilci CRE, so dejavniki tveganja za izolacijo enakih organizmov v klinično pomembnih kužninah bivanje v enoti za intenzivno terapijo (EIT), prisotnost osrednjih žilnih katetrov, predhodno antibiotično zdravljenje in sladkorna bolezen (10). Nosilci proti karbapenemom odporne *K. pneumoniae* (KP-CRE) imajo 9 % tveganje za posledično okužbo; glavni dejavniki tveganja za okužbo so predhodni invazivni posegi, sladkorna bolezen, čvrsti tumorji, prisotnost traheostome, vstavev urinskega katetra in zdravljenje z antibiotikom z anti-pseudomonasno učinkovitostjo (18).

Giannella s sod. je raziskoval dejavnike tveganja za razvoj bakteriemije, povzročene s KP-CRE pri nosilcih te bakterije v rektumu. V prospektivni opazovalni multicentrični raziskavi je

identificiral 1813 nosilcev KP-CRE v rektumu, od katerih jih je 7,8 % razvilo okužbo z enako bakterijo (mediana 19 dni po prvem pozitivnem brisu rektuma). Spremenljivke, povezane z razvojem bakteriemije s KP-CRE, so bile: sprejem v EIT, osnovna hematološka bolezen, število dodatnih mest z zaznano kolonizacijo (poleg rektuma), invazivni postopki ali vstavljeni umetni materiali, kemo- ali radioterapija, nevtropenija in zdravljenje z aminoglikozidi in karbapenemi. Najmočnejši napovedovalec bakteriemije je bilo nosilstvo KP-CRE na več mestih (19). Za oceno verjetnosti bakteriemije, povzročene s KP-CRE pri bolnikih, ki so nosilci te bakterije, si lahko pomagamo s točkovnikom (angl. *Gianella risk score*, GRS). Točkovnik vključuje: sprejem v EIT (2 točki), invazivni posegi v trebušni votlini (3 točke), kemoterapija/obsevanje (4 točke), kolonizacija dodatnega mesta (poleg blata) (5 točk za vsako dodatno mesto). Rezultat 2 točki je povezan z 12 % verjetnostjo bakteriemije povzročene s KP-CRE, seštevek 12 točk ali več pa je povezan s 100 % verjetnostjo bakteriemije (10).

Cano s sod. je točkovnik validiral v prospektivni opazovalni raziskavi, v katero je vključil odrasle nosilce *K. pneumoniae*, ki izloča karbapenemazo tipa KPC (KP-KPC) v rektumu. Vključil je 94 bolnikov, od katerih je 42 (44,7 %) razvilo okužbo, povzročeno s KP-KPC (22 bolnikov z bakteriemijo), 34 bolnikov (36,2 %) je razvilo okužbo z drugimi povzročitelji (7 bolnikov z bakteriemijo), 18 bolnikov (19,1 %) pa ni razvilo okužbe. GRS je pokazal linearno povezavo s pogostostjo okužb (3,8 %, 30 %, 76 % in 100 % za vrednosti GRS 0–3, 4–7, 8–12 in 15–20). Meja < 7 in ≥ 7 je predstavljala 92,9 % občutljivost; samo 3 bolniki od 48 z vrednostjo GRS < 7 so razvili okužbo, povzročeno s KP-KPC. Specifičnost je znašala 84,8 % (39 od 46 bolnikov z vrednostjo GRS ≥ 7 je razvilo okužbo s KP-KPC). Specifičnost pri seštevku točkovnika ≥ 15 je bila 100 %. V raziskavi so prikazali dobro pozitivno napovedno vrednost GRS točkovnika, ne samo za razvoj bakteriemije (za oceno katere je bil točkovnik razvit), ampak tudi za razvoj drugih okužb s KP-KPC (20).

Nosilci večkratno odpornih grampozitivnih bakterij

Na globalni ravni je največ smrti zaradi protimikrobne odpornosti posledica okužb z bakterijo *Staphylococcus aureus*, odporno proti metilcinu (MRSA) (21). Dejavniki tveganja za okužbe, povzročene z MRSA, so nedavna hospitalizacija, bivanje v ustanovi za dolgotrajno oskrbo, nedavni operativni poseg, odvisnost od hemodialize, predhodno antibiotično zdravljenje in visok seštevek APACHE (10). Nosilstvo MRSA poveča tveganje za okužbo, povzročeno z MRSA, med ali po hospitalizaciji. V kohorti veteranov so prikazali, da je okužbo z MRSA razvilo 5,5 % nosilcev MRSA, pri katerih je bilo nosilstvo ugotovljeno ob sprejemu, in 7 % bolnikov, ki so pridobili nosilstvo med hospitalizacijo. Ti bolniki so imeli več kot 20-kratno povečanje tveganja za okužbo z MRSA v primerjavi z nekoloniziranimi bolniki (22). Podobno je Ramarathnam s sod. prikazal, da je 8,5 % nosilcev MRSA razvilo okužbo znotraj 3 mesecev. Neodvisni dejavniki tveganja za razvoj kasnejše okužbe so bili nastanek razjede zaradi pritiska med bivanjem v bolnišnici in zdravljenje z glukokortikoidi pred sprejemom v bolnišnico (23).

Prevalenca MRSA znaša v nekaterih evropskih državah manj kot 1 % (v Sloveniji je bilo med izolati *S. aureus* v letu 2022 8,7 % odpornih proti metilcinu (24)), v določenih predelih Južne Amerike, Azije in ZDA pa do 60 %. Glede na regionalne razlike v epidemiologiji MRSA je Zasowski s sod. v multicentrični opazovalni prospektivni raziskavi ocenjeval uspešnost različnih točkovnikov za oceno verjetnosti okužbe kože in mehkih tkiv z MRSA. Vključil je 203 bolnike z okužbami kože in mehkih tkiv na sedmih mednarodnih lokacijah. Za oceno

tveganja za okužbo z MRSA je uporabil naslednji točkovnik: nosilstvo MRSA/predhodna okužba z MRSA (2 točki), hospitalizacija v preteklem letu, antibiotično zdravljenje v preteklih 6 mesecih, kronična ledvična bolezen, uporaba intravenskih drog, okužba s HIV, sladkorna bolezen z debelostjo (vsak po 1 točko). Seštevek točkovnika 0 točk je imel visoko negativno napovedno vrednost (več kot 90 % pri prevalenci MRSA 30 % ali manj). Točkovnik je izkazal večjo napovedno vrednost v primerjavi z izključnim upoštevanjem nacionalnih podatkov o prevalenci MRSA (25).

Dejavniki tveganja za nosilstvo VRE so imunska oslabeledost, nevtropenija, ledvična okvara, hospitalizacija v EIT ali na onkološkem oddelku ter predhodna antibiotična terapija. V raziskavi bolnikov, koloniziranih z VRE, je v 4-letnem obdobju 13,4 % bolnikov razvilo bakteriemijo, povzročeno z VRE; dejavniki tveganja so bili uporaba vankomicina, sladkorna bolezen, akutna ledvična okvara in diagnostične preiskave prebavil (10). V kanadski raziskavi so prikazali, da je okužbo z VRE znotraj 11–119 dni (mediana 37 dni) razvilo 2,8 % nosilcev VRE. V primerjavi z ostalimi VOB je bilo tveganje za okužbo pri nosilcih VRE najnižje (26).

SKLEP

Nosilstvo VOB predstavlja dejavnik tveganja za okužbo z enakim patogenom, naloga klinika pa je, da oceni velikost tega tveganja glede na mesto okužbe, resnost okužbe in značilnosti bolnika ter na osnovi zbranih podatkov izbere ustrezno izkustveno antibiotično zdravljenje. Pri izbiri mora upoštevati lokalne podatke o občutljivosti bakterij ter načela nadzorovane rabe antibiotikov. Pri odločanju naj se opre na lokalne smernice in priporočila. Razvoj in implementacija novih, hitrih diagnostičnih testov za identifikacijo odpornih patogenov bo v prihodnosti morda olajšala tvegano ugibanje pri izbiri ustreznega antibiotičnega zdravljenja in posledično pomagala pri ohranjanju novih protimikrobnih zdravil.

LITERATURA

1. Walker M, Kadri SS. Predicting infection risk from surveillance cultures: frustrating or foretelling? *Lancet Infect Dis.* 2023; 23 (6): 642–44.
2. GBD 2021 Antimicrobial Resistance Collaborators. Global burden of bacterial antimicrobial resistance 1990–2021: a systematic analysis with forecasts to 2050. *Lancet.* 2024; 404 (10459): 1199–226.
3. Fighting antimicrobial resistance in EU and EEA countries. Embracing a one health approach (internet). Organisation for Economic Co-operation and Development; 2023. [citirano 2025 Mar 21]. Dosegljivo na: https://www.oecd.org/content/dam/oecd/en/publications/reports/2023/11/fighting-antimicrobial-resistance-in-eu-and-eea-countries_aa49a732/fdb1629f-en.pdf
4. Kotnik Kevorkijan B, Zamuda M, Kolar S. Večkratno odporne bakterije. In: Kotnik Kevorkijan B, ur. Zbornik predavanj: 13. Bedjaničev simpozij: večkratno odporne bakterije v zunajbolnišničnem okolju; 2023 Oct 13–14; Maribor, Slovenija; p. 21–31.
5. Para O, Caruso L, Blasi E, Pestelli G, Guidi S, et al. Clinical Implications of Multi-Drug Resistant Organisms' Gastrointestinal Colonization in an Internal Medicine Ward: The Pandora's Box. *J Clin Med.* 2022; 11 (10): 2770.
6. Lejko Zupanc T, Logar M. Večkratno odporne bakterije. In: Tomažič J, Strle F. Infekcijske bolezni. 2. izdaja. Ljubljana: Združenje za infektologijo, Slovensko zdravniško društvo; 2017; p. 607–10.

-
7. Herrera S, Torralbo B, Herranz S, Bernal-Maurandi J, Rubio E, Pitart C, et al. Carriage of multidrug-resistant Gram-negative bacilli: duration and risk factors. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2023; 42 (5): 631–8.
 8. Neut C. Carriage of multidrug-resistant bacteria in healthy people: recognition of several risk groups. *Antibiotics*. 2021; 10, 1163.
 9. Willems RPJ, van Dijk K, Ket JCF, Vandenbroucke-Grauls CMJE. Evaluation of the Association Between Gastric Acid Suppression and Risk of Intestinal Colonization With Multidrug-Resistant Microorganisms: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Intern Med*. 2020; 180 (4): 561–71.
 10. Strich JR, Heil EL, Masur H. Considerations for Empiric Antimicrobial Therapy in Sepsis and Septic Shock in an Era of Antimicrobial Resistance. *J Infect Dis*. 2020; 222 (Suppl 2): 119–31.
 11. Willems RPJ, van Dijk K, Vehreschild MJGT, Biehl LM, Ket JCF, Remmelzwaal S, et al. Incidence of infection with multidrug-resistant Gram-negative bacteria and vancomycin-resistant enterococci in carriers: a systematic review and meta-regression analysis. *Lancet Infect Dis*. 2023; 23 (6): 719–31.
 12. Rottier WC, Bamberg YR, Dorigo-Zetsma JW, van der Linden PD, Ammerlaan HS, Bonten MJ. Predictive value of prior colonization and antibiotic use for third-generation cephalosporin-resistant enterobacteriaceae bacteremia in patients with sepsis. *Clin Infect Dis*. 2015; 60 (11): 1622–30.
 13. Cornejo-Juárez P, Suárez-Cuenca JA, Volkow-Fernández P, Silva-Sánchez J, Barrios-Camacho H, Nájera-León E, et al. Fecal ESBL *Escherichia coli* carriage as a risk factor for bacteremia in patients with hematological malignancies. *Support Care Cancer*. 2016; 24 (1): 253–9.
 14. Denkel LA, Maechler F, Schwab F, Kola A, Weber A, Gastmeier P, et al. Infections caused by extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacterales after rectal colonization with ESBL-producing *Escherichia coli* or *Klebsiella pneumoniae*. *Clin Microbiol Infect*. 2020; 26 (8): 1046–51.
 15. Kang CI, Kim SH, Park WB, Lee KD, Kim HB, Kim EC, et al. Bloodstream infections due to extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: risk factors for mortality and treatment outcome, with special emphasis on antimicrobial therapy. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004; 48 (12): 4574–81.
 16. Stupica D, Lusa L, Klevišar MN, Terzić S, Pirš M, Premru MM, et al. Should we consider faecal colonisation with extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in empirical therapy of community-onset sepsis? *Int J Antimicrob Agents*. 2017; 50 (4): 564–71.
 17. Palacios-Baena ZR, Gutiérrez-Gutiérrez B, Calbo E, Almirante B, Viale P, Oliver A, et al; Spanish Network for Research in Infectious Diseases (REIPI)/European Study Group of Bloodstream Infections and Sepsis (ESGBIS)/INCREMENT Group. Empiric Therapy With Carbapenem-Sparing Regimens for Bloodstream Infections due to Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae: Results From the INCREMENT Cohort. *Clin Infect Dis*. 2017; 65 (10): 1615–23.
 18. Borer A, Saidel-Odes L, Eskira S, Nativ R, Riesenberg K, Livshitz-Riven I, et al. Risk factors for developing clinical infection with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in hospital patients initially only colonized with carbapenem-resistant *K. pneumoniae*. *Am J Infect Control*. 2012; 40 (5): 421–5.
 19. Giannella M, Trecarichi EM, De Rosa FG, Del Bono V, Bassetti M, Lewis RE, et al. Risk factors for carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection among rectal carriers: a prospective observational multicentre study. *Clin Microbiol Infect*. 2014; 20 (12): 1357–62.
 20. Cano A, Gutiérrez-Gutiérrez B, Machuca I, Gracia-Ahufinger I, Pérez-Nadales E, Causse M, et al. Risks of Infection and Mortality Among Patients Colonized With *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase-Producing *K. pneumoniae*: Validation of Scores and Proposal for Management. *Clin Infect Dis*. 2018; 66 (8): 1204–10.
-

21. Antimicrobial Resistance Collaborators. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *Lancet*. 2022; 399: 629–55.
22. Nelson RE, Evans ME, Simbartl L, Jones M, Samore MH, Kralovic SM, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Colonization and Pre- and Post-hospital Discharge Infection Risk. *Clin Infect Dis*. 2019; 68 (4): 545–53.
23. Ramarathnam V, De Marco B, Ortegon A, Kemp D, Luby J, Sreeramoju P. Risk factors for development of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection among colonized patients. *Am J Infect Control*. 2013; 41 (7): 625–8.
24. Ribič H, Glavan U, Klavs I, EARS-Net Slovenija. Odpornost proti antibiotikom pri povzročiteljih invazivnih okužb v Sloveniji v letu 2022 (Rezultati EARS-Net Slovenija). Odpornost proti antibiotikom pri povzročiteljih invazivnih okužb v Sloveniji. 2024: 1–27. Dostopno na: <https://nijz.si/nalezljive-bolezni/spremljanje-nalezljivih-bolezni/odpornost-proti-antibiotikom-pri-povzrociteljih-invazivnih-okuzb-v-sloveniji/>
25. Zasowski EJ, Trinh TD, Claeys KC, Dryden M, Shlyapnikov S, Bassetti M, et al. International Validation of a Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Risk Assessment Tool for Skin and Soft Tissue Infections. *Infect Dis Ther*. 2022; 11 (6): 2253–63.
26. Blagojevic C, Brown KA, Diong C, Fridman DJ, Johnstone J, Langford BJ, et al. Long-term Risk of Infection Among Patients Colonized With Antimicrobial-Resistant Pathogens: A Population-wide Cohort Study. *Open Forum Infect Dis*. 2024; 11 (12): ofae712.

SPREMLJANJE ODPORNOSTI INVAZIVNIH BAKTERIJ V OKVIRU MREŽE EARS-NET V SLOVENIJI

ANTIMICROBIAL RESISTANCE SURVEILLANCE OF INVASIVE BACTERIA WITHIN THE EARS-NETWORK IN SLOVENIA

Helena Ribič¹ sodelujoči v mreži po abecednem vrstnem redu:

*Ingrid Berce², Maja Bombek Ihan³, Uroš Glavan⁴,
Anamarija Jurišević Dodič⁵, Tamara Kastrin⁶, Irena Grmek Košnik⁷,
Barbara Janžič³, Dane Lužnik⁸, Irena Piltaver Vajdec⁹, Mateja Pirš¹⁰,
Snežana Ribič¹¹, Ana Slobodnik Kavčič¹², Zoran Simonovič⁴,
Iztok Štrumbelj¹³, Ivana Velimirovič¹⁰, Barbara Zdolšek¹⁴*

¹Nacionalni inštitut za javno zdravje, Center za nalezljiva bolezni, Ljubljana in
NLZOH, Center za medicinsko mikrobiologijo, Oddelek za medicinsko mikrobiologijo Kranj

²Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Center za medicinsko mikrobiologijo,
Oddelek za medicinsko mikrobiologijo Nova Gorica

³Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Center za medicinsko mikrobiologijo,
Oddelek za medicinsko mikrobiologijo Maribor

⁴Nacionalni inštitut za javno zdravje, Center za nalezljive bolezni, Ljubljana

⁵Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Center za medicinsko mikrobiologijo,
Oddelek za medicinsko mikrobiologijo Koper

⁶Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Center za medicinsko mikrobiologijo,
Oddelek za javnozdravstveno mikrobiologijo, Ljubljana

⁷Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Center za medicinsko mikrobiologijo,
Oddelek za medicinsko mikrobiologijo Kranj

⁸Univerzitetna klinika za pljučne bolezni in alergijo Golnik

⁹Splošna bolnišnica Slovenj Gradec

¹⁰Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Univerza v Ljubljani

¹¹Splošna bolnišnica dr. Franca Derganca Nova Gorica

¹²Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Center za medicinsko mikrobiologijo,
Oddelek za medicinsko mikrobiologijo Novo mesto

¹³Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Center za medicinsko mikrobiologijo,
Oddelek za medicinsko mikrobiologijo Murska Sobota

¹⁴Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Center za medicinsko mikrobiologijo,
Oddelek za medicinsko mikrobiologijo Celje

IZVLEČEK

Odpornost bakterij proti antibiotikom ostaja pomemben globalni javno-zdravstveni izziv. Redno sistematično spremljanje odpornosti izbranih invazivnih bakterij v evropski mreži EARS-Net prispeva k oceni in spremljanju stanja v državah Evropske unije (EU) in Evropskega gospodarskega prostora (EGP). V prispevku prikazujemo rezultate spremljanja izbranih kom-

binacij bakterija/antibiotik v obdobju od 2014 do 2023 v Sloveniji in primerjavo s skupnimi rezultati držav EU/EGP. Deleži odpornih invazivnih izolatov so bili v Sloveniji v celotnem obdobju manjši od povprečja EU/EGP, izjemi sta proti karbapenemom odporni bakteriji *Pseudomonas aeruginosa* in *Acinetobacter* spp., katerih deleži odpornosti so v zadnjih nekaj letih večji od povprečja EU/EGP. V obdobju od 2019 do 2023 se je v Sloveniji ocenjena incidenca okužb krvi (število okužb na 100.000 prebivalcev) z bakterijo *Escherichia coli*, odporno proti fluorokinolonom, in z vrsto *Streptococcus pneumoniae*, odporno proti makrolidom, statistično značilno zmanjšala, medtem ko se je statistično značilno povečala incidenca okužb krvi z bakterijo *Klebsiella pneumoniae*, odporno proti karbapenemom, cefalosporinom tretje generacije, aminoglikozidom in sočasno odporno proti trem skupinam antibiotikov, cefalosporinom tretje generacije, fluorokinolonom in aminoglikozidom. Podatki za države EU/EGP skupaj statistično značilnih sprememb pri ocenjenih incidencah okužb krvi z *E. coli* ne kažejo. Pri *K. pneumoniae* so trendi podobni kot v Sloveniji; statistično značilno povečanje incidence so v državah EU/EGP skupaj ugotovili pri vseh omenjenih kombinacijah *K. pneumoniae*/antibiotik. Pri *P. aeruginosa* so ugotovili statistično značilno povečanje incidence okužb krvi z izolati, odpornimi proti piperacilinu s tazobaktamom, ceftazidimu in karbapenemom ter z izolati *Enterococcus faecium*, odpornimi proti vankomicinu (VRE); pri proti meticilinu odpornem *Staphylococcus aureus* (MRSA) pa so ugotovili statistično značilno zmanjšanje incidence okužb krvi. V Sloveniji pri incidenci okužb krvi z odpornimi izolati *P. aeruginosa*, *E. faecium* VRE in MRSA nismo ugotovili statistično značilnih sprememb.

V Sloveniji je, podobno kot v številnih državah EU/EGP, pri invazivnih izolatih *K. pneumoniae* zaskrbljujoč trend naraščanja odpornosti proti cefalosporinom tretje generacije in proti karbapenemom. Glede na priporočene cilje Sveta EU do leta 2030 smo v Sloveniji (v 2023) cilj za incidenco okužb krvi s proti cefalosporinom tretje generacije odpornimi izolati *E. coli* že dosegli, pri MRSA in pri okužbah s proti karbapenemom odpornimi izolati *K. pneumoniae* pa smo daleč od zastavljenega cilja. Incidenca okužb s tema vrstama odpornih bakterij se je celo povečala, kar kaže, da so potrebni odločnejši in učinkovitejši ukrepi za zadržanje odpornosti na več ravneh.

Ključne besede: invazivne bakterije, ocenjena incidenca okužb krvi, odpornost proti antibiotikom

ABSTRACT

Antimicrobial resistance remains an important global public health challenge. Regular systematic monitoring of resistance of selected invasive bacteria in the European network EARS-Net contributes to the assessment and monitoring of the situation in the countries of the European Union (EU) and the European Economic Area (EEA). In this paper, we present the results of monitoring selected combinations of bacteria/antibiotics in the period from 2014 to 2023 in Slovenia and a comparison with the overall results of the EU/EEA countries. The proportions of resistant isolates in Slovenia were lower than the EU/EEA average throughout the period, with the exception of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* spp. with resistance to carbapenems, in which the proportions of resistance have been higher than the EU/EEA average in several years. In the period 2019–2023, the estimated incidence of bloodstream infections per 100,000 inhabitants in Slovenia decreased statistically significantly in *Escherichia coli* with resistance to fluoroquinolones and in *Streptococcus pneumoniae* with resistance to macrolides; a

statistically significant increase in *Klebsiella pneumoniae* infections with resistance to carbapenems, third-generation cephalosporins, fluoroquinolones, aminoglycosides and with combined resistance to three groups of antibiotics, third-generation cephalosporins, fluoroquinolones and aminoglycosides. Data for the EU/EEA countries do not show statistically significant changes in the estimated incidences of *E. coli* infections. For *K. pneumoniae*, the trends are similar to those in Slovenia; a statistically significant increase in the incidence of blood infections was found in the EU/EEA countries for all the aforementioned *K. pneumoniae*/antibiotic combinations, *P. aeruginosa* with resistance to piperacillin with tazobactam, ceftazidime and carbapenems and vancomycin resistant *Enterococcus faecium* (VRE). A statistically significant decrease in the estimated incidence of infections was found in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA).

In Slovenia, as in many EU/EEA countries, there is a worrying trend of increasing incidence of *K. pneumoniae* with resistance to third-generation cephalosporins and carbapenems. According to the EU Council's recommended targets until 2030, Slovenia has already achieved the target for the incidence of bloodstream infections with third-generation cephalosporin-resistant *E. coli* in 2023, but we are far from the target for MRSA and carbapenem-resistant *K. pneumoniae*, and the incidence of infections with resistant isolates has even increased, which indicates that more decisive and effective measures are needed to contain resistance at multiple levels.

Keywords: invasive bacteria, estimated incidence of blood stream infection, antimicrobial resistance

UVOD

Slovenija v evropski mreži EARS-Net (angl. *European Antimicrobial Resistance Surveillance Network*) sodeluje že petindvajseto leto. V mreži spremljamo osem invazivnih bakterij, ki smo jih v kliničnih mikrobioloških laboratorijih izolirali iz krvi (t. i. hemokulture) ali likvorja med rednim delom. Te bakterije so: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* in *Acinetobacter* spp. (1). V mreži sodelujejo države Evropske unije in Evropskega gospodarskega prostora (EGP), koordinira pa jo Evropski center za preprečevanje in obvladovanje bolezni (angl. *European Centre for Disease Prevention and Control*; ECDC). Spremljanje podatkov v sodelujočih državah poteka po enotni metodologiji na standardiziran način in omogoča spremljanje časovnih trendov v posamezni državi in celotni mreži ter primerjavo med državami (1–3).

Da bi premostili vrzel podatkov v evropskih državah, ki niso del EU in EGP, ter v azijskih državah, je Regionalni urad za Evropo Svetovne zdravstvene organizacije v letu 2012 ustanovil mrežo CAESAR (angl. *Central Asian and Eastern European Surveillance of Antimicrobial Resistance*). Mreža je prevzela metodologijo EARS-Net, rezultati spremljanja so primerljivi z EARS-Net, kar omogoča pripravo skupnih poročil. V letu 2023 je v mreži CAESAR sodelovalo 21 držav, podatke za mrežo pa jih je prispevalo 15: Armenija, Bosna in Hercegovina, Črna gora, Gruzija, Kazahstan, Kirgizistan, Kosovo, Moldavija, Severna Makedonija, Srbija, Švica, Turčija, Turkmenistan, Ukrajina in Velika Britanija (4, 5).

Rezultati spremljanja odpornosti v okviru EARS-Net so osnova za nadaljnje analize in priporočila. Med njimi so ocena zdravstvenega bremena okužb krvi s proti antibiotikom

odpornimi bakterijami, Priporočilo Sveta EU o okrepitevi ukrepov EU v boju proti anti-mikrobični odpornosti v okviru pristopa »Eno zdravje« (2023/C 220/01), poročila OECD (angl.: *Organisation for Economic Co-operation and Development*) o ekonomskih posledicah okužb z odpornimi bakterijami in skupno poročilo ECDC, EFSA (angl. *European Food Safety Authority*) in EMA (angl. *European Medicines Agency*), ki po principu »Eno zdravje« analizira medsebojni vpliv porabe protimikrobnih zdravil in odpornosti mikrobov pri ljudeh in živalih za proizvodnjo hrane (JIACRA IV, 2024) (6–10).

MATERIALI IN METODE

V mreži EARS-Net sodelujoče države vsako leto poročajo o zbranih rezultatih rutinskega dela medicinskih mikrobioloških laboratorijev za omenjenih osem bakterij. Podatki se v vseh sodelujočih državah zbirajo na standardiziran način po enotni metodologiji, in sicer za prve invazivne okužbe, povzročene z izbrano bakterijo v opazovanem letu pri posameznem bolniku (1, 11). V Sloveniji podatki izvirajo iz rednega dela mikrobiološke diagnostike desetih medicinskih mikrobioloških laboratorijev, ki skupaj z NIJZ tvorijo mrežo EARS-Net v Sloveniji (EARS-Net Slovenija). To so: regionalni laboratoriji Centra za medicinsko mikrobiologijo Nacionalnega laboratorija za zdravje, okolje in hrano (NLZOH) (Oddelek za medicinsko mikrobiologijo (OMM) Celje, OMM Koper, OMM Kranj, OMM Maribor, OMM Murska Sobota, OMM Novo mesto), Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo Medicinske fakultete Univerze v Ljubljani, mikrobiološki laboratorij Univerzitetne klinike za pljučne bolezni in alergijo Golnik, mikrobiološki laboratorij Splošne bolnišnice Slovenj Gradec in mikrobiološki laboratorij Splošne bolnišnice dr. Franca Derganca v Novi Gorici. Ti laboratoriji so podatke za mrežo EARS-Net zbrali ob rednem delu – preiskovanju vzorcev krvi in likvorja bolnikov iz večine slovenskih bolnišnic za akutno oskrbo. Poleg omenjenih treh bolnišnic z lastnim mikrobiološkim laboratorijem se za EARS-Net Slovenija zbirajo podatki še iz Univerzitetnega kliničnega centra Ljubljana, Univerzitetnega kliničnega centra Maribor, Splošne bolnišnice (SB) Brežice, SB Celje, SB Izola, SB Jesenice, SB Muska Sobota, SB Novo mesto, SB Ptuj, SB Trbovlje, Onkološkega inštituta Ljubljana, Bolnišnice Topolšica in Bolnišnice za ginekologijo in porodništvo Kranj (11).

Za metodologijo testiranja občutljivosti za antibiotike in interpretacijo rezultatov so v obdobju 2019 do 2023 vsi sodelujoči laboratoriji uporabljali smernice Evropskega odbora za testiranje občutljivosti na protimikrobna zdravila (v angl.: *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* – EUCAST); metodologija je podrobneje opisana v letnem poročilu mreže (11, 12).

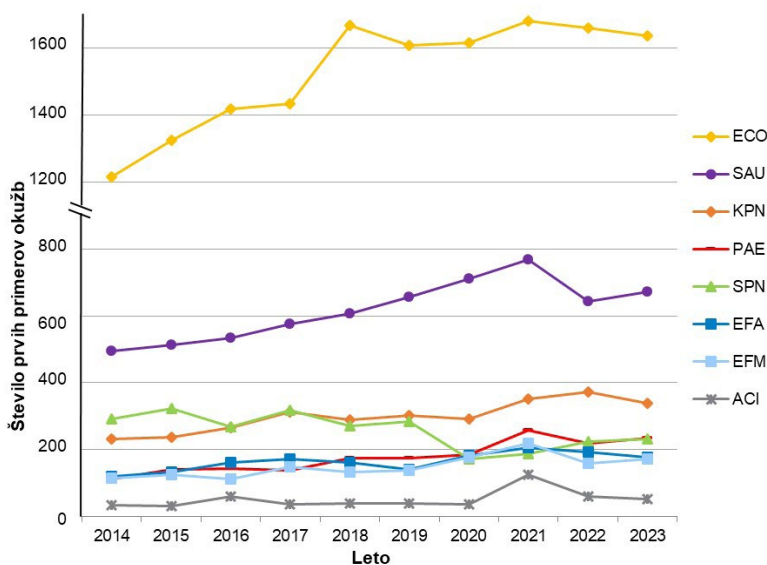
V prispevku prikazujemo rezultate spremljanja javno-zdravstveno pomembnih proti antibiotikom odpornih invazivnih bakterij v Sloveniji v obdobju od 2014 do 2023 in primerjavo z rezultati mreže EARS-Net (države EU/EGP skupaj). Mreža se je v desetih letih nekoliko spreminjala: od 2014 do 2019 je sodelovalo vseh 28 držav EU in 2 državi EGP (Islandija in Norveška). Po izstopu iz EU je leta 2020 prenehala sodelovati Velika Britanija. Od leta 2022 dalje, ko se je priključil Lihtenštajn, v mreži sodeluje vseh 30 držav EU/EGP. Leta 2023 je bilo zelo okrnjeno sodelovanje Francije: z izjemo rezultatov spremljanja pnevmokokov drugi podatki za Francijo niso na voljo. Zato ECDC v poročilu mreže za leto 2023 za analizo trendov pri ostalih sedmih bakterijah Francije ne upošteva, saj je po definiciji za spremljanje trendov

potrebno sodelovanje v vseh letih analize, to je od 2019 do vključno 2023 (1). Tako se rezultati spremljanja za celotno EU/EGP v poročilu 2023 za leta 2019–2022 razlikujejo od poročila iz leta 2022, ko je Francija sodelovala v celoti s podatki za vseh osem spremljanih bakterij (1, 2). V prispevku smo za primerjavo rezultatov EU/EGP s slovenskimi rezultati za leta od 2019 do 2023 upoštevali podatke iz poročila mreže za 2023, za leta od 2015 do 2018 poročilo mreže za 2018 in za leto 2014 poročilo mreže za 2014 (1, 13, 14).

REZULTATI

Kot je prikazano na Sliki 1, je v vseh letih od 2014 do 2023 prevladovala in predstavljala približno polovico prvih invazivnih bakterij *E. coli*. V 2023 je *E. coli* s 1.639 izolati (77,3/100.000 prebivalcev) predstavljala 46,6 % vseh spremljanih bakterij. Na drugem mestu po pogostosti je z 19,1 % sledil *S. aureus* (673 izolatov; 31,7/100.000 prebivalcev), na tretjem mestu pa z 9,6 % *K. pneumoniae* (339 izolatov; 16,0/100.000 prebivalcev). Ostale bakterije (*P. aeruginosa*, *S. pneumoniae*, *E. faecalis*, *E. faecium* in *Acinetobacter* spp. so predstavljale od 1,5 % (*Acinetobacter* spp.) do 6,7 % (*P. aeruginosa*) izolatov (1).

Slika 1. Trend prvih invazivnih izolatov po bakterijskih vrstah, EARS-Net Slovenija, 2014–2023



Legenda: ECO – *Escherichia coli*, SAU – *Staphylococcus aureus*, KPN – *Klebsiella pneumoniae*, PAE – *Pseudomonas aeruginosa*, EFM – *Enterococcus faecium*, EFA – *Enterococcus faecalis*, SPN – *Streptococcus pneumoniae*, ACI – *Acinetobacter* spp.

V Tabelah 1 in 2 prikazujemo število testiranih in odstotne deleže izolatov s fenotipsko odpornostjo po bakterijskih vrstah in antibiotikih v Sloveniji v letu 2023 ter trende v letih od 2019 do 2023 po izračunih ECDC (1, 11).

Tabela 1. Število testiranih in odstotni deleži prvih invazivnih izolatov s fenotipsko odpornostjo po bakterijskih vrstah po Gramu negativnih bakterij in antibiotikih v Sloveniji v letu 2023 ter trendi v Sloveniji v letih od 2019 do 2023

Antibiotik ali skupina antibiotikov	Bakterija											
	<i>Escherichia coli</i>			<i>Klebsiella pneumoniae</i>			<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			<i>Acinetobacter spp.</i>		
	N	% R	Trend 2019–2023*	N	% R	Trend 2019–2023*	N	% R	Trend 2019–2023*	N	% R	Trend 2019–2023*
Ampicilin	1639	49,0	–	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
Piperacilin s tazobaktamom	1639	5,0	NP	339	20,6	NP	234	10,7	–	NP	NP	NP
Cefotaksim in/ali ceftriakson in/ali ceftazidim	1639	8,7	–	339	23,0	↑	NP	NP	NP	NP	NP	NP
Ceftazidim	1639	7,6	NP	339	22,1	NP	234	11,1	–	NP	NP	–
Karbapenemi: imipenem in/ali meropenem	1639	0,1	–	339	3,8	↑	234	12,0	–	52	23,1	–
Fluorokinoloni: ciprofloksacin in / ali levofloksacin	1639	15,9	↓	339	27,1	–	234	9,4	↓	52	25,0	–
Aminoglikozidi: gentamicin in/ali tobramicin**	1639	7,0	–	339	17,1	↑	230	1,7	NP	52	25,0	–

N = število testiranih izolatov; % R = odstotek odpornih izolatov; NP = ni podatka; * = statistično značilen trend v letih 2019–2023 po izračunih ECDC;

↑ = statistično značilen trend večanja odpornosti; ↓ = statistično značilen trend manjšanja odpornosti; – = ni statistično značilnega trenda;

** = pri *P. aeruginosa* je upoštevan le tobramicin (1, 11)

Tabela 2. Število testiranih in odstotni deleži prvih invazivnih izolatov s fenotipsko odpornostjo po bakterijskih vrstah po Gramu pozitivnih bakterij in antibiotikih v Sloveniji v letu 2023 ter trendi v Sloveniji v letih od 2019 do 2023

Antibiotik ali skupina antibiotikov	Bakterija											
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>			<i>Staphylococcus aureus</i>			<i>Enterococcus faecalis</i>			<i>Enterococcus faecium</i>		
	N	% R	Trend 2019–2023*	N	% R	Trend 2019–2023*	N	% R	Trend 2019–2023*	N	% R	Trend 2019–2023*
Penicilin	232	0	–	652	87,7	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
Penicilin - ne divji tip (I + R)	232	11,6	–	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
Ampicilin	NP	NP	NP	NP	NP	NP	177	0	NP	171	90,6	NP
Cefotaksim in/ali ceftriakson	232	0	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
Cefotaksim in/ali ceftriakson (I + R)	232	0,9	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
Oksacilin in/ali cefoksitin***	NP	NP	NP	673	10,1	–	NP	NP	NP	NP	NP	NP
Imipenem	NP	NP	NP	NP	NP	NP	177	0	NP	171	90,6	NP
Vankomicin	232	0	NP	672	0	NP	177	0	–	171	4,7	–
Teikoplanin	NP	NP	NP	432	0	NP	169	0	NP	159	3,1	NP
Eritromicin	232	6	↓	672	15,0	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
Klindamicin	232	3,4	NP	673	14,0	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
Gentamicin - HLAR	NP	NP	NP	NP	NP	NP	174	10,9	↓	168	13,7	–
Linezolid	NP	NP	NP	661	0	NP	177	0	NP	171	1,2	NP

N = število testiranih izolatov; % R = odstotek odpornih izolatov; I = občutljivost ob povečani izpostavljenosti antibiotiku; NP = ni podatka;

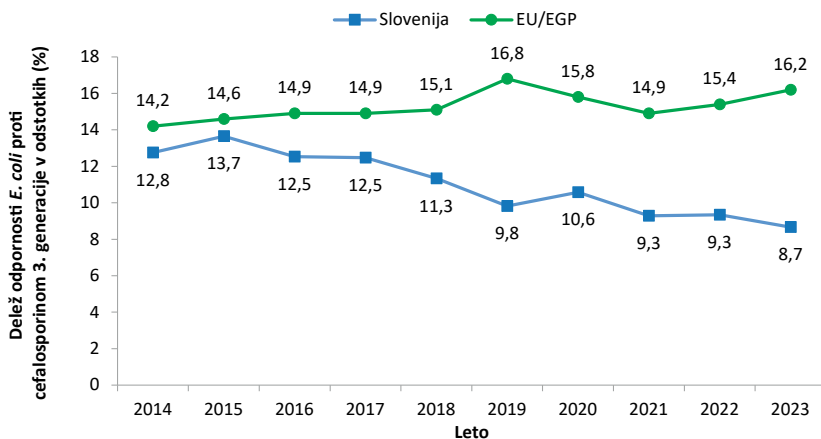
* = pri *S.pneumoniae* pri penicilinu in cefotaksimu/ceftriaksonu rezultat vključuje odpornost in občutljivost ob povečani izpostavljenosti;

** = statistično značilen trend v letih 2019–2023 po izračunih ECDC; ↑ = statistično značilen trend večanja odpornosti; ↓ = statistično značilen trend manjšanja odpornosti; – = ni statistično značilnega trenda; *** pri *S. aureus* je delež proti oksacilinu in/ali cefoksitinu odpornih izolatov enak deležu MRSA; HLAR = visoka stopnja odpornosti proti gentamicinu (angl.: high level aminoglycoside resistance) (1, 11)

Na Slikah 2 do 10 prikazujemo rezultate spremljanja deležev odpornosti za izbrane kombinacije bakterija/antibiotik za Slovenijo in za vse države EU/EGP skupaj v obdobju od 2014 do 2023: proti cefalosporinom 3. generacije (cef3g) odpornih invazivnih izolatov *E. coli* in *K. pneumoniae* (Slika 2 in 3), proti karbapenemom odpornih invazivnih *K. pneumoniae* (CRE, v angl. *Carbapenem resistant enterobacteriaceae*, Slika 4), proti karbapenemom odpornih invazivnih *P. aeruginosa* (Slika 5) in *Acinetobacter* spp. (Slika 6), delež proti meticilinu odpornih invazivnih izolatov *S. aureus* (MRSA, iz angl. *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*; Slika 7), delež invazivnih izolatov *E. faecium* VRE (proti vankomicinu odporni enterokoki, v angl. *Vancomycin Resistant Enterococci*; Slika 8), delež invazivnih izolatov *S. pneumoniae*, občutljivih za penicilin ob povečani izpostavljenosti in odpornih proti penicilinu (ne divji tip za penicilin, Slika 9) in delež invazivnih izolatov *S. pneumoniae* odpornih proti makrolidom (Slika 10).

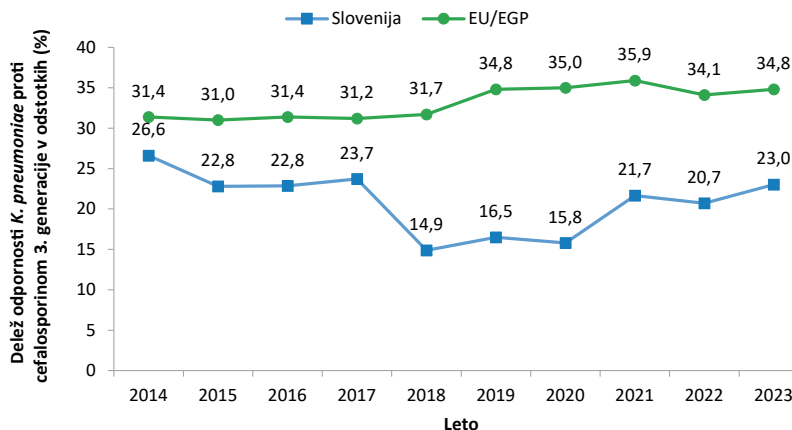
Delež proti cef3g odpornih invazivnih izolatov *E. coli* se je v Sloveniji od leta 2014, ko je znašal 12,8 %, do leta 2023 zmanjšal na 8,7 %; v državah EU/EGP pa se je v enakem obdobju povečal s 14,2 % na 16,2 % (Slika 2), (1, 13, 14). Velika večina proti cef3g odpornih izolatov *E. coli* in *K. pneumoniae* predstavljajo izolati z encimi betalaktamaze razširjenega spektra (ESBL, iz angl. *Extended Spectrum Beta Lactamases*) (1, 2).

Slika 2. Delež prvih invazivnih izolatov *E. coli*, odpornih proti cefalosporinom 3. generacije, v Sloveniji in v državah Evropske unije in Evropskega gospodarskega prostora v letih od 2014 do 2023 (1, 13, 14).



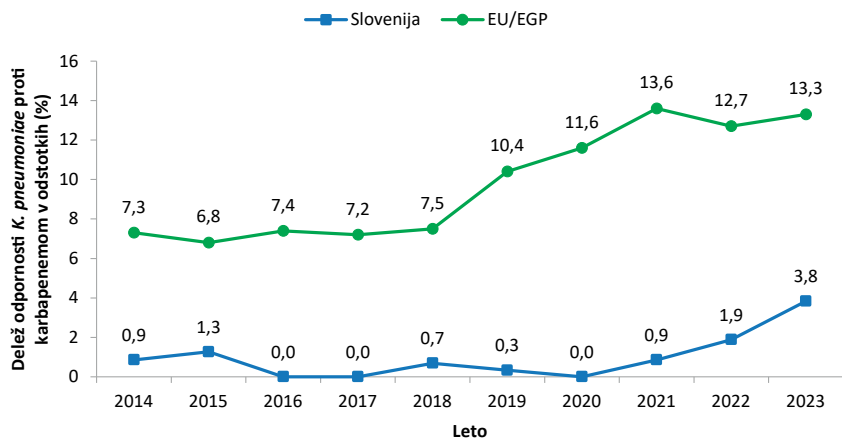
Delež *K. pneumoniae*, odpornih proti cef3g, se je v Sloveniji od leta 2014 do leta 2018 zmanjšal s 26,6 % na 14,9 % (Slika 3). V obdobju od 2018 do 2020 je ostal približno enak, nato pa se je leta 2021 začel ponovno večati in največjo vrednost dosegel v letu 2023, 23 %. V državah EU/EGP se je delež *K. pneumoniae*, odpornih proti cef3g, od 2014 do 2021 povečal iz 31,4 % na 35,9 %, nato se je nekoliko zmanjšal in leta 2023 znašal 34,8 % (1, 13, 14).

Slika 3. Delež prvih invazivnih izolatov *K. pneumoniae*, odpornih proti cefalosporinom 3. generacije, v Sloveniji in v državah Evropske unije in Evropskega gospodarskega prostora v letih od 2014 do 2023 (1, 13, 14).



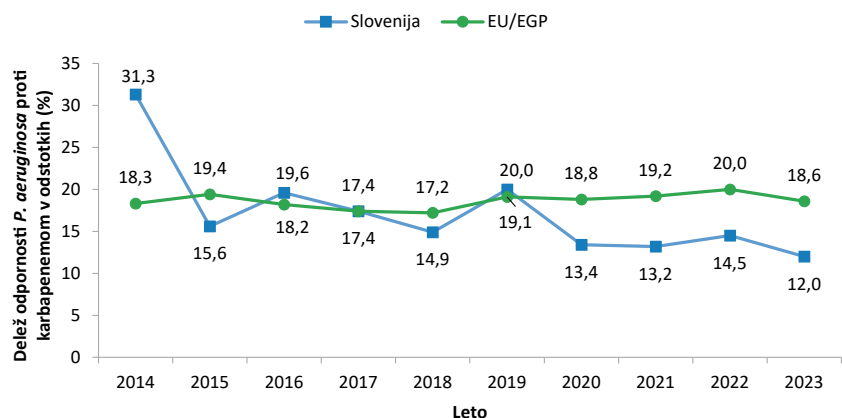
Delež *K. pneumoniae* CRE (Slika 4) je v Sloveniji od leta 2014 do leta 2020 znašal od 0 % (2016, 2017 in 2020) do 1,3 % (2015), leta 2021 se je začel večati in je leta 2023 dosegel 3,8 %. V državah EU/EGP je bil delež v celotnem obdobju večji, leta 2014 je znašal 7,3 %; 2018 7,5 %; nato se je začel strmo večati in je leta 2023 dosegel 13,3 % (1, 13, 14).

Slika 4. Delež prvih invazivnih izolatov *K. pneumoniae*, odpornih proti karbapenemom, v Sloveniji in v državah Evropske unije in Evropskega gospodarskega prostora v letih od 2014 do 2023 (1, 13, 14).



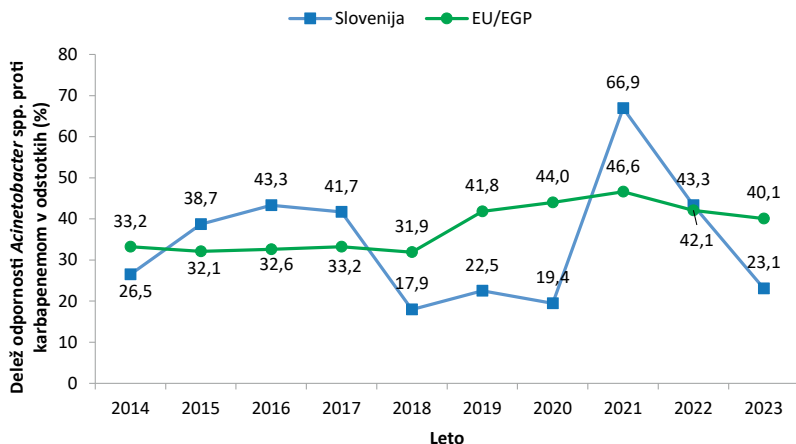
Delež proti karbapenemom odpornih invazivnih izolatov *P. aeruginosa* (Slika 5) se je v Sloveniji od 2014 do 2023 zmanjšal od 31,3 % na 12 %, v državah EU/EGP pa se je v enakem obdobju le malo spreminjal, znašal je med 17,2 % in 20 %; v 2023 je bil 18,6 % (1, 13, 14).

Slika 5. Delež prvih invazivnih izolatov *P. aeruginosa*, odpornih proti karbapenemom, v Sloveniji in v državah Evropske unije in Evropskega gospodarskega prostora v letih od 2014 do 2023 (1, 13, 14).



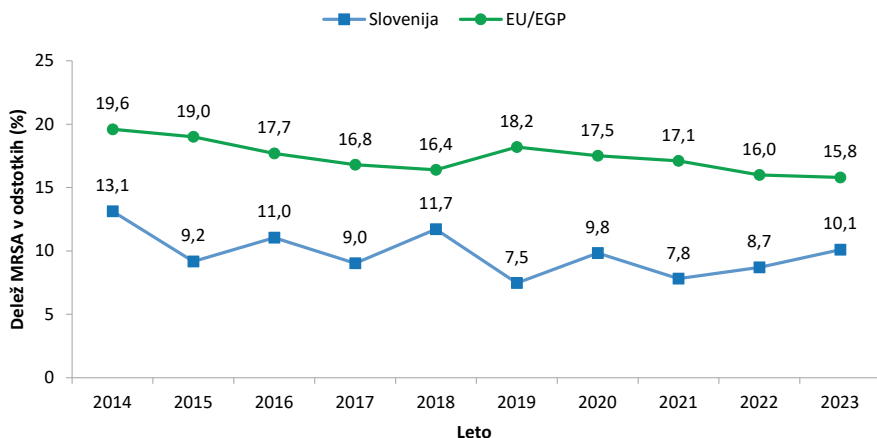
Med vsemi spremljanimi bakterijami se je v Sloveniji najbolj spreminjal delež proti karbapenemom odpornih invazivnih izolatov *Acinetobacter* spp., Slika 6. Največjo vrednost, 66,9 %, je dosegel v letu 2021, ko je bilo zdravstvo v Sloveniji najbolj obremenjeno s COVID-19; nato se je manjšal in leta 2023 dosegel 23,1 %. V državah EU/EGP se je delež od 2014 do 2023 povečal (s 33,2 % na 40,1 %); največjo vrednost je dosegel leta 2021, 46,6 % (1, 13, 14).

Slika 6. Delež prvih invazivnih izolatov *Acinetobacter* spp., odpornih proti karbapenemom, v Sloveniji in v državah Evropske unije in Evropskega gospodarskega prostora v letih od 2014 do 2023 (1, 13, 14).



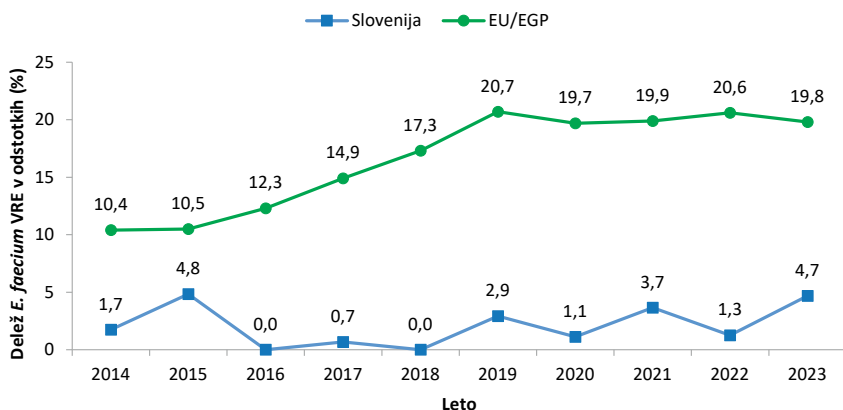
Delež MRSA v Sloveniji je bil v obravnavanem obdobju največji v letu 2014, ko je znašal 13,1 % (Slika 7). Najnižjo vrednost, 7,5 %, je dosegel leta 2019, od takrat dalje pa je opaziti trend naraščanja, leta 2023 je delež znašal 10,1 %. V državah EU/EGP se je delež MRSA zmanjšal z 19,6 % leta 2014 na 15,8 % leta 2023 (1, 13, 14).

Slika 7. Delež prvih invazivnih izolatov *S. aureus*, odpornih proti meticilinu (MRSA), v Sloveniji in v državah Evropske unije in Evropskega gospodarskega prostora v letih od 2014 do 2023 (1, 13, 14).



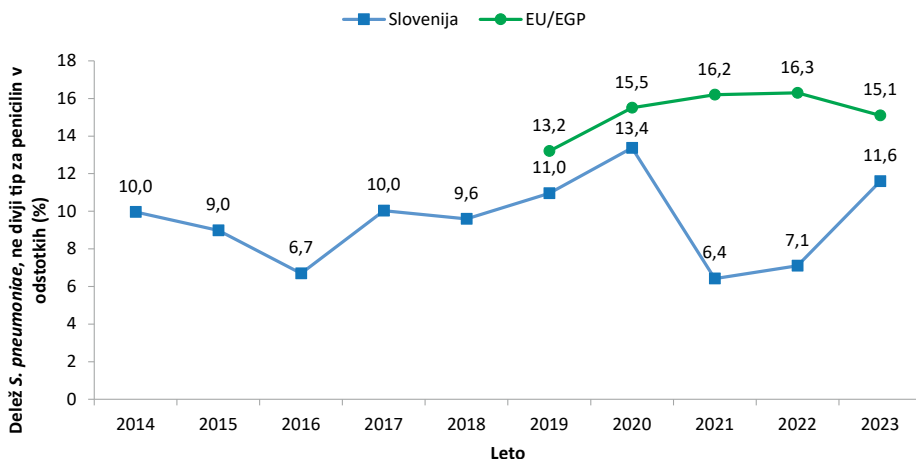
Delež *E. faecium* VRE je v obravnavanem obdobju v Sloveniji majhen, od 0 % (2016 in 2018) do 4,8 % (2015); v 2023 je znašal 4,7 % (Slika 8). V državah EU/EGP je delež od 2014, ko je znašal 10,4 %, naraščal do 2019 (20,7 %), nato se je le malo spreminjal, leta 2023 je znašal 19,8 % (1, 13, 14).

Slika 8. Delež prvih invazivnih izolatov *E. faecium*, odpornih proti vankomicinu (VRE), v Sloveniji in v državah Evropske unije in Evropskega gospodarskega prostora v letih od 2014 do 2023 (1, 13, 14).



Kot prikazujemo na Sliki 9, smo najmanjši delež za penicilin ne-divjih tipov invazivnih izolatov *S. pneumoniae* (izolati, občutljivi ob povečani izpostavljenosti penicilinu in proti penicilinu odporni izolati) v Sloveniji zabeležili v letu 2021, 6,4 %; v 2023 se je delež povečal na 11,6 %. Podatki za EU/EGP skupaj so na voljo le od leta 2019 dalje. Delež *S. pneumoniae* ne-divjih tipov za penicilin se je od leta 2019 do 2022 večal (od 13,2 % na 16,3 %), v 2023 se je zmanjšal na 15,1 % (1, 13, 14).

Slika 9. Delež prvih za penicilin ne-divjih tipov invazivnih izolatov *S. pneumoniae*, (izolati, občutljivi ob povečani izpostavljenosti penicilinu in proti penicilinu odporni izolati) v Sloveniji in v državah Evropske unije in Evropskega gospodarskega prostora v letih od 2014 do 2023 (1, 13, 14).

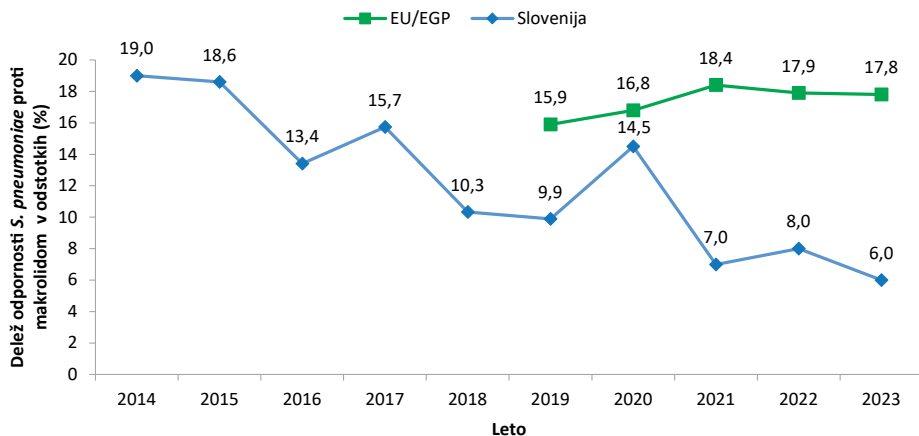


Opomba: za države Evropske unije in Evropskega gospodarskega prostora skupaj so na voljo le podatki od leta 2019 do 2023.

Delež proti makrolidom odpornih invazivnih izolatov *S. pneumoniae* je v Sloveniji leta 2014 znašal 19,0 % (Slika 10), nato se je postopno manjšal in leta 2023 dosegel najnižjo

vrednost, 6,0 %. V državah EU/EGP je bil delež odpornosti večji kot v Sloveniji, leta 2023 je znašal 17,8 % (1, 13, 14).

Slika 10. Delež prvih invazivnih izolatov *S. pneumoniae*, odpornih, proti makrolidom v Sloveniji in v državah Evropske unije in Evropskega gospodarskega prostora v letih od 2014 do 2023 (1, 13, 14).



Opomba: za države Evropske unije in Evropskega gospodarskega prostora skupaj so na voljo le podatki od leta 2019 do 2023.

RAZPRAVA IN ZAKLJUČEK

Med bakterijami, ki jih spremljamo v mreži EARS-Net, je v Sloveniji v opazovanem desetletnem obdobju največ primerov prvih invazivnih okužb povzročila *E. coli* (leta 2023 77,3/100.000 prebivalcev), po pogostosti sta sledili bakterijski vrsti *S. aureus* (leta 2023 31,7/100.000 prebivalcev) in *K. pneumoniae* (leta 2023 16,0/100.000 prebivalcev). Podobne razmere so tudi v EU/EGP: leta 2023 je bilo ugotovljenih največ primerov invazivnih okužb z *E. coli* (71,4/100.000 prebivalcev), sledili sta bakteriji *S. aureus* (36,9/100.000 prebivalcev) in *K. pneumoniae* (24,2/100.000 prebivalcev). V primerjavi s Slovenijo je opaziti večjo razliko v incidenci *E. faecalis*; v državah EU/EGP je bila skoraj dvakrat večja in je znašala 14,1/100.000 prebivalcev, v Sloveniji pa 8,3/100.000 prebivalcev (1).

Deleži proti antibiotikom odpornih izolatov so bili v Sloveniji v letu 2023 pri vseh spremljanih bakterijah manjši od povprečja EU/EGP, a večji od deležev v državah severne Evrope, s katerimi se želimo primerjati (Danska, Finska, Norveška idr.) (1, 15). V poročilu mreže so za vsako državo posebej in za vse sodelujoče države skupaj prikazani rezultati dveh analiz odpornosti: v prvi so deleži odpornosti izolatov posamezne vrste bakterij, v drugi pa rezultati ocenjene incidence okužb krvi z izbranimi kombinacijami bakterija/antibiotik na 100.000 prebivalcev (1). V obdobju od 2019 do 2023, ki ga obravnava zadnje poročilo mreže, smo statistično značilno zmanjšanje deležev odpornih invazivnih izolatov v Sloveniji ugotovili pri proti fluorokinolonom odpornih bakterijah *E. coli* in *P.aeruginosa*, pri *E. faecalis*, z visoko stopnjo odpornih proti aminoglikozidom in pri *S. pneumoniae*, odpornih proti makrolidom; statistično značilno povečanje pa pri invazivnih okužbah s *K. pneumoniae*, odporno proti karbapenemom, cef3g in aminoglikozidom (Tabeli 1 in 2) ter pri okužbah s *K. pneumoniae*,

sočasno odporno proti trem skupinam antibiotikov (cef3g, fluorokinoloni in aminoglikozidi) (1). V enakem obdobju je bila ocenjena incidenca okužb krvi v Sloveniji statistično značilno manjša pri okužbah z *E. coli*, odporno proti fluorokinolonom in pri okužbah s *S. pneumoniae*, odporno proti makrolidom; statistično značilno večja pa pri okužbah s *K. pneumoniae*, odporno proti karbapenemom, cef3g, fluorokinolonom in aminoglikozidom ter pri okužbah s *K. pneumoniae*, sočasno odporno proti cef3g, fluorokinolonom in aminoglikozidom. Podatki za države EU/EGP skupaj statistično značilnih sprememb pri ocenjenih incidencah okužb krvi z *E. coli* ne kažejo, pri *K. pneumoniae* so trendi podobni kot v Sloveniji, statistično značilno povečanje incidence so ugotovili pri vseh omenjenih kombinacijah *K. pneumoniae*/antibiotik. Ugotovili so tudi statistično značilno povečanje incidence okužb s *P. aeruginosa*, odporno proti piperacilinu s tazobaktamom, ceftazidimu in proti karbapenemom ter okužb z *E. faecium* VRE; pri bakteriji MRSA pa so ugotovili statistično značilno zmanjšanje incidence (1). V Sloveniji pri omenjenih kombinacijah *P. aeruginosa*/antibiotik, pri VRE in MRSA statistično značilnih sprememb incidence invazivnih okužb nismo zaznali (1).

Priporočila Sveta EU iz leta 2023 o krepitvi ukrepov za obvladovanje odpornosti mikrobov med drugim priporočajo racionalno uporabo antibiotikov ter zmanjšanje ocenjene incidence okužb krvi s proti cef3g odporno bakterijo *E. coli*, MRSA in s *K. pneumoniae* CRE do leta 2030. Deleži zmanjšanja so za države različni, odvisni so od razmer v posamezni državi v izhodiščnem letu 2019 (8). Sledenje ciljem priporočil je za Slovenijo pokazalo, da je bila ocenjena incidenca okužb krvi s proti cef3g odporno bakterijo *E. coli* v letu 2023 v primerjavi z letom 2019 manjša za 11,6 %, incidenca okužb krvi z MRSA večja za 36,1 % in incidenca okužb krvi s *K. pneumoniae* CRE večja za 1140 %. Absolutno število izolatov *K. pneumoniae* CRE je bilo majhno, leta 2019 smo ugotovili en izolat (0,05/100.000 prebivalcev), leta 2023 pa 13 izolatov (0,62/100.000 prebivalcev). Pri *E. coli* z odpornostjo proti cef3g smo tako priporočeni cilj, zmanjšanje incidence okužb krvi za 10 %, že dosegli, pri ostalih dveh bakterijah pa smo daleč od zastavljenega cilja, ki je pri MRSA zmanjšanje incidence za 6 % in pri *K. pneumoniae* CRE zmanjšanje za 2 % (1, 8, 11).

Tako v Sloveniji kot tudi v številnih drugih evropskih državah velik problem predstavljajo proti karbapenemom odporne enterobakterije (CRE), med njimi predvsem enterobakterije, ki izločajo karbapenemaze. Od leta 2019 dalje smo v Sloveniji ugotavljali večanje števila invazivnih izolatov *K. pneumoniae* CRE: leta 2019 smo ugotovili 1 izolat (0,3 %), leta 2021 3 izolate (0,9 %), leta 2022 7 izolatov (1,9 %) in leta 2023 13 izolatov (3,8 %). Leta 2020 invazivnih izolatov *K. pneumoniae* CRE nismo ugotovili. V te rezultate niso bili vključeni invazivni izolati *K. pneumoniae* z encimi karbapenemazami, ki so bili za karbapeneme občutljivi, rezervoar izolatov *K. pneumoniae* s karbapenemazami je torej večji, kot ga prikazujejo rezultati mreže (1, 11, 12). Povečanje incidence invazivnih okužb s *K. pneumoniae* CRE je zaskrbljujoče, invazivne okužbe z odpornimi bakterijami namreč kažejo le vrh ledene gore, število vseh okužb s *K. pneumoniae* CRE je bistveno večje (1, 11, 16). Ker gre za bakterije, ki so sočasno odporne proti večini drugih skupin antibiotikov, je zdravljenje okužb težavno in nemalokrat neuspešno. V EU/EGP je bila v letu 2023 ocenjena incidenca okužb krvi, povzročenih s *K. pneumoniae* CRE, 3,97/100.000 prebivalcev, kar je 57,5 % več od vrednosti leta 2019, ko je znašala 2,52/100.000 prebivalcev (1). Slovenija je bila leta 2019 precej pod evropskim povprečjem, leta 2023 pa se mu je zelo približala. Razlike v deležih *K. pneumoniae* CRE so bile med državami velike: deleži so se gibali od 1 % ali manj v skandinavskih državah,

na Irskem ter na Islandiji, do več kot 50 % v Bolgariji in Romuniji ter 69,7 % v Grčiji (15). V sosednjih državah je bil delež v Avstriji 1,8 %, na Madžarskem 5,8 %, v Italiji 26,5 % in na Hrvaškem 27,6 % (15). Visoke deleže *K. pneumoniae* CRE, proti karbapenemom odpornih invazivnih izolatov *Acinetobacter* spp., MRSA, VRE in drugih odpornih invazivnih bakterij so v 2023 zabeležili tudi v Srbiji, Bosni in Hercegovini, Severni Makedoniji in drugih balkanskih državah; s številnimi med njimi imamo pogoste stike in premestitve bolnikov (4).

Razmere kažejo, da so tako v Sloveniji kot tudi v EU potrebni odločnejši in učinkovitejši ukrepi za zadržanje, pri določenih bakterijah pa tudi za zmanjšanje odpornosti bakterij, in sicer po načelu Eno zdravje (angl. *One Health*), ki vključuje ukrepe v humani medicini, veterini in v okolju. Med njimi so ukrepi bolnišnične higiene, smotrne rabe in rednega spremljanja porabe protimikrobnih zdravil, redno spremljanje odpornih mikrobov, zgodnje zaznavanje odpornih mikrobov in učinkovito ukrepanje za zamejitev širjenja (8, 11, 17). Ukrepi so potrebni tako na lokalni kot tudi na nacionalni ravni, potrebna so tudi politična podpora in ustrezna finančna sredstva (18).

ZAHVALA

Zahvaljujemo se vsem sodelujočim, ki so prispevali k delovanju v mreže v Sloveniji in sodelovali pri zbiranju in pripravi rezultatov.

LITERATURA

1. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance in the EU/EEA (EARS-Net) - Annual Epidemiological Report for 2023. Stockholm: ECDC; 2024. Dostopno 18. 11. 2024 na: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/antimicrobial-resistance-e-ueea-ears-net-annual-epidemiological-report-2023>
2. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance in the EU/EEA (EARS-Net) - Annual Epidemiological Report for 2022. Stockholm: ECDC; 2023. Dostopno 18. 11. 2024 na: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/surveillance-antimicrobial-resistance-europe-2022>.
3. ECDC. European Antimicrobial Resistance Surveillance Network. Dostopno 24. 9. 2024 na: <https://www.ecdc.europa.eu/en/about-us/networks/disease-networks-and-laboratory-networks/ears-net-data>
4. European Centre for Disease Prevention and Control, World Health Organisation – European region. Surveillance of antimicrobial resistance in Europe, 2023 data, Executive summary, 2024. Dostopno 11. 3. 2025 na: <https://www.who.int/europe/publications/i/item/9789289061544>
5. World Health Organisation. Antimicrobial resistance map. Dostopno 20. 3. 2025 na: https://world-healthorg.shinyapps.io/WHO-AMR-Dashboard/?_ga=2.172166563.1827800992.1668654440-1324205868.1668654440
6. 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 Jan; 19(1):56-66. Dostopno 30. 8. 2024 na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6300481/pdf/main.pdf>.
7. European Centre for Disease Prevention and Control. Assessing the health burden of infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU/EEA, 2016-2020. Stockholm: ECDC; 2022. Dostopno 17. 9. 2024 na: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/Health-burden-infections-antibiotic-resistant-bacteria.pdf>

-
8. Priporočilo SVETA EU o okrepitevi ukrepov EU v boju proti antimikrobični odpornosti v okviru pristopa »Eno zdravje«. Uradni list Evropske Unije 2023; C 220: 1–20. Dostopno 15. 7. 2023 na: [https://eur-lex.europa.eu/legal-content/SL/TXT/PDF/?uri=CELEX:32023H0622\(01\)](https://eur-lex.europa.eu/legal-content/SL/TXT/PDF/?uri=CELEX:32023H0622(01)).
 9. OECD (2023), fighting antimicrobial resistance in EU and EEA countries. OECD. Embracing a One Health Approach. Policy brief. Dostopno 24. 9. 2024 na: https://www.oecd.org/en/publications/fighting-antimicrobial-resistance-in-eu-and-eea-countries_fdb1629f-en.html
 10. ECDC, EFSA and EMA (European Centre for Disease Prevention and Control, European Food Safety Authority and European Medicines Agency), (2024). Antimicrobial consumption and resistance in bacteria from humans and food-producing animals. *EFSA Journal*, 22(2), e8589. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2024.8589>
 11. Ribič H, Glavan U, Klavs I, Berce I, Bombek Ihan M, Grmek Košnik I, et al. Odpornost proti antibiotikom pri povzročiteljih invazivnih okužb v Sloveniji v letu 2023 (rezultati EARS-Net Slovenija). NIJZ. v pripravi.
 12. Ribič H, Glavan U, Klavs I, EARS-Net Slovenija. Odpornost proti antibiotikom pri povzročiteljih invazivnih okužb v Sloveniji v letu 2022 (Rezultati EARS-Net Slovenija). NIJZ 2024. Dostopno 11.3 2025 na: <https://nijz.si/nalezljive-bolezni/spremljanje-nalezljivihbolezni/odpornost-proti-antibiotikom-pri-povzrociteljih-invazivnih-okuzb-v-sloveniji/>
 13. European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance of antimicrobial resistance in Europe 2018. Stockholm: ECDC; 2019. Dostopno 11. 3. 2025 na: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/surveillance-antimicrobial-resistance-europe-2018>
 14. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2014. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Stockholm: ECDC; 2015. Dostopno 11. 3. 2025 na: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/antimicrobial-resistance-surveillance-europe-2014>
 15. Surveillance Atlas of Infectious Diseases – Antimicrobial resistance. [internet]. Dostopno 11. 3. 2025 na: <https://www.ecdc.europa.eu/en/antimicrobial-resistance/surveillance-and-disease-data/data-ecdc>
 16. Pirš M, Kramar U, Ribič H in sod. Pojavnost enterobakterij, ki izločajo karbapenemaze, v Sloveniji med letoma 2017 in 2022. V: Matos T (ur). 14. Baničevi dnevi - Okužbe, povezane z zdravstvom, in večkratno odporne bakterije. Maribor, 17. in 18. november 2023. *zbornik predavanj z recenzijo*. Ljubljana: Sekcija za mikrobiologijo in bolnišnične okužbe SZD, 2024. Dostopno 11.3.2025 na:<https://imi.si/wp-content/uploads/2024/07/14.-Banicevi-dnevi-1.pdf>
 17. Državna strategija »eno zdravje« za obvladovanje odpornosti mikrobov 2019 do 2024. Ministrstvo za zdravje republike Slovenije; 2019. Dostopno 25. 9. 2024 na: <https://www.gov.si/novice/nov-vlada-sprejela-drzavno-strategijo-eno-zdravje-za-obvladovanje-odpornosti-mikrobov-2019-2024-z-akcijskim-nacrtom-za-obdobje-2019-2021/>
 18. European Commission. A European One Health Action Plan against Antimicrobial Resistance (AMR). Brussels:European Commision; 2017. Dostopno 25. 9. 2024 na: https://health.ec.europa.eu/system/files/2020-01/amr_2017_action-plan_0.pdf.

BAKTERIEMIJA IN SEPSA

Matjaž Jereb,^{1,3} Neža Trebše,¹ Ivana Velimirovič²

¹Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja, UKC Ljubljana

²Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska Fakulteta, Univerza v Ljubljani

³Katedra za nalezljive bolezni in epidemiologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

IZVLEČEK

Sepsa je sistemski odgovor organizma na okužbo in je pogost vzrok obolevnosti in umrljivosti bolnikov. Smrtnost zaradi sepsa ostaja visoka in številni bolniki imajo po preboleli bolezni trajne posledice. Patogeneza sepsa se odvija na nivoju endotelija drobnega žilja in je posledica delovanja molekul, povezanih z mikroorganizmi na eni, kakor tudi z okvarjenimi celicami tkiv na drugi strani. Pri sepsi so v serumu sprva zvišani provnetni citokini, temu sledi protivnetni odgovor, imunosupresivna faza sepsa in okvara organov. Najpogostejši povzročitelji sepsa med po Gramu pozitivnimi bakterijami so stafilokoki in streptokoki, med po Gramu negativnimi bakterijami pa enterobakterije. Opredelitev povzročitelja sepsa in določitev njegove občutljivosti za antibiotike pomembno vplivata na obravnavo bolnika.

ABSTRACT

Sepsis is a systemic response of the organism to infection and is a common cause of morbidity and mortality in patients. Mortality due to sepsis remains high and many patients have permanent consequences after recovering from the disease. The pathogenesis of sepsis occurs at the level of the endothelium of small vessels and is a consequence of the action of molecules associated with microorganisms on the one hand and with damaged tissue cells on the other. In sepsis, pro-inflammatory cytokines are initially increased in the serum, followed by an anti-inflammatory response, the immunosuppressive phase of sepsis and organ damage. The most common causative agents of sepsis among Gram-positive bacteria are staphylococci and streptococci, and among Gram-negative bacteria, enterobacteria. Identification of the causative agent of sepsis and determination of its sensitivity to antibiotics have a significant impact on the treatment of the patient.

UVOD

Sepsa je življenjsko nevarna okužba, ki se kaže z motnjo v delovanju organov in neustreznim bolnikovim imunskim odzivom (1). Pojavnost bolezni narašča, kar je posledica različnih vzrokov. Široka in pogosto nekritična uporaba antibiotikov, ki vodi v razvoj odpornih bakterij, agresivni kirurški posegi, presajanje organov in s tem povezano imunosupresivno zdravljenje,

invazivni diagnostični postopki, zdravljenje na intenzivnih oddelkih, kemoterapija in obsevanje bolnikov z rakom, pa tudi vse višja povprečna starost prebivalstva, so pomembni dejavniki tveganja. Sepsa je ena dražjih bolezni, ki jih zdravimo v bolnišnici in stroški še naraščajo. Po podatkih Svetovne zdravstvene organizacije vsako leto na svetu zaradi sepse zboli do 50 milijonov ljudi in okoli 11 milijonov jih tudi umre (2).

Do 40 % bolnikov po preboleli sepsi in odpustu znotraj 90 dni potrebuje ponovno bolnišnično obravnavo. Med preživelimi polovica bolnikov popolnoma okreva, tretjina jih umre v enem letu in med njimi je polovica smrti neposredno povezana z zapleti po sepsi. Več kot 20 % bolnikov ima trajne posledice. Lahko gre za okvare tkiv in organov zaradi same bolezni in tudi zdravljenja. Nekatere posledice težko natančno opredelimo in vse niso vedno povezane s prebolelo sepsjo. Bolniki tožijo zaradi živčno mišične oslabelosti, kroničnih bolečin, so depresivni, utrujeni in imajo kognitivne motnje, motnje spanja ali koncentracije (3).

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). Bolniki lahko umrejo v zgodnjem obdobju prevlade burnega provnetnega dogajanja ali pozneje, ob izčrpanju vnetnega odziva, v obdobju podaljšane imunosupresije. Smrt je lahko posledica neobvladane prvotne okužbe (vztrajanje žarišča okužbe) ali pridobljene bolnišnične okužbe. Več kot 70 % bolnikov, ki umrejo zaradi sepse, umre po treh dneh bolezni (5).

Da je imunosupresija pomemben vzrok smrti zaradi sepse, potrjuje tudi dejstvo, da raziskovalci v številnih kliničnih raziskavah niso dokazali učinkovitosti različnih protivnetnih zdravil, s katerimi so v zgodnjem obdobju bolezni skušali zavreti vnetni odziv (6). Celo nasprotno, pri nekaterih, kot je npr. zaviralec TNF- α , je bila smrtnost večja (7). Na drugi strani nekatera zdravila, ki spodbujajo imunski odziv (spodbujevalci granulocitov in monocitov – GM-CSF) ali zavirajo smrt celic (IL-7), lahko izboljšajo prognozo bolnikov s sepsjo (8).

Sepsa posredno in neposredno vpliva na delovanje vseh celic, ki so nosilke obrambe pred okužbo. Imunosupresija v odmaknjenem obdobju bolezni je posledica različnih vplivov in dogajanj. V poteku bolezni pride do izčrpanja in odmrta limfocitov T, limfocitov B, dendritičnih celic v vranici, bezgavkah in limfatičnem tkivu črevesja. Prizadeto je tudi delovanje nevtrofilcev in zmanjšana je njihova učinkovitost odstranjevanja mikroorganizmov. Zmanjša se sproščanje vnetnih citokonov iz monocitov, sposobnost tvorbe protivnetnih posrednikov pa ostaja enaka ali se celo poveča. Zaradi oslabiljene obrambe prihaja do sekundarnih okužb z relativno nizko virulentnimi mikroorganizmi (9).

Drug posreden dokaz imunosupresije je reaktivacija nekaterih virusov. Znani so opisi sepse in sočasne viremije z virusom citomegalije (CMV) ali reaktivacije virusa herpes simpleks tip 1 (HSV-1) in pnevmonitisa (10, 11). Walton s sod. je pri bolnikih s sepsjo dokazal sočasno reaktivacijo več virusov. Sama reaktivacija in virusno breme sta bila v razmerju s težo bolezni. Prisotnost virusov v krvi je bila dokazana pri 60 % bolnikov s sepsjo in kar 42,7 % bolnikov je imelo v krvi več kot en virus. Pri bolnikih s sepsjo je bila najpogosteje dokazana prisotnost virusa anelo (77,5 %), sledili so virus Epstein Barr v 52,7 %, CMV v 20,6 %, HSV-1 v 12,5 % in humani herpesvirus 6 (HHV-6) v 6,9 % (8).

Sepsa povzročajo različne po Gramu negativne in po Gramu pozitivne bakterije ter redkeje tudi glive. Smrtnost bolnikov s sepsjo ali septičnim šokom je podobna, ne glede ali gre za okužbe s po Gramu negativnimi ali pozitivnimi bakterijami. Med po Gramu negativnimi

povzročitelji je višja smrtnost opisana pri bolnikih s sepo, povzročeno s *Pseudomonas aeruginosa*, med po Gramu pozitivnimi povzročitelji pa slabšo prognozo povezujejo z okužbami, ki jih povzroča *Staphylococcus aureus*, predvsem v primerih, ko gre za seve, odporne na meticilin. Slabšo prognozo imajo še bolniki z bolnišnično, polimikrobno in glivno sepo. Najpogostejši izvor okužbe pri bolnikih s sepo so dihalna, sledijo trebuh, sečila, koža in mehka tkiva ter redkeje tudi nekateri drugi organi. Pri približno 20 % bolnikov s sepo primarnega mesta in izvora okužbe klinično ne prepoznamo. Dokončna diagnoza sepse temelji na osamitvi bakterij iz krvi, žal pa postopek zahteva določen čas in kultura krvi je lahko lažno negativna. V 60 do 70 % sepo vzročno opredelimo. Z molekulernimi preiskavami je lahko ta odstotek še višji (12–14).

V klinični praksi so nam pri odločitvi glede protimikrobnega zdravljenja v pomoč različni biomarkerji sepse. Poznamo več kot sto molekul, ki predstavljajo označevalce sistemske bakterijske okužbe in jih lahko povežemo s posameznimi obdobji v poteku sepse. V praksi pri bolnikih s sepo najpogosteje določamo levkocite z diferencialno belo krvno sliko, C-reaktivni protein (CRP) in prokalcitonin (PCT). Njihova diagnostična ali prognostična vloga je omejena in z njimi ne moremo zanesljivo ločiti bolnikov s sepo od bolnikov z različnimi vnetnimi boleznimi, ki niso odraz okužbe (15).

Pri izbiri izkustvenega antibiotičnega zdravljenja upoštevamo značilnosti gostitelja, mesto okužbe, lokalne epidemiološke podatke ter farmakokinetiko in farmakodinamiko protimikrobnega zdravila. 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. Kumar s sodelavci poroča, da je preživetje bolnikov s septičnim šokom 80 %, v kolikor antibiotik prejmejo znotraj ene ure po nastopu hipotenzije. Z vsako zamujeno uro se smrtnost zviša za 7,6 % (16). Odločilna je lahko tudi izbira ustreznega antibiotika. Raziskave kažejo, da je smrtnost v primeru neustrezne izbire izkustvenega antibiotičnega zdravljenja znatno višja (17).

Prognoza bolnikov s sepo se v zadnjih desetih letih predvsem v razvitem svetu izboljšuje, kar gre na račun več dejavnikov. Pomembna je zgodnja prepoznavna boleznin in upoštevanje svežnjev ukrepanja. Na boljši izhod sepse nedvomno vpliva tudi boljše poznavanje patogenetskih mehanizmov bolezni z vplivom na klinično sliko, odstranitev vira okužbe povsod tam, kjer je to možno in obvladovanje sočasnih bolnišničnih okužb, ki zaradi neustreznega imunskega odziva v poteku bolezni dodatno ogrožajo bolnika (14).

DEFINICIJA

Sepsa je življenje ogrožujoče stanje, ki nastane zaradi neustreznega in prekomernega odziva organizma na okužbo in vodi v večorgansko prizadetost. V kolikor je ne prepoznamo in ustrezno ne zdravimo, lahko napreduje v septični šok. Okvaro organov ocenjujemo s točkovnim sistemom SOFA (*angl.* Sequential organ failure assessment score) (Tabela 1) in v kolikor število točk zaradi okužbe poraste za dve ali več, bolezen po najnovejši definiciji ustreza sepsi. Večorganska odpoved (*angl.* MOF – multiple organ failure ali MODS – multiple organ dysfunction syndrome) je okvara delovanja dveh ali več organov ali organskih sistemov in je posledica padca krvnega tlaka ter neustrezne prekrvavitve. Popravi se po zdravljenju z infuzijo tekočine. Večorganska odpoved je pogosto del klinične slike sepse, lahko pa nastane po kakršnem koli cirkulatornem šoku.

Septični šok opredeljujejo kot sepo s tako hudo okvaro organov, da je umrljivost bolnikov bistveno povečana. Vsebinsko gledano je septični šok hujša oblika sepse. V praksi postavimo diagnozo septičnega šoka, če so prisotne naslednje značilnosti: znižan krvni tlak (srednji arterijski krvni tlak nižji od 65 mmHg), neodzivnost znižanega tlaka na infuzijo tekočine in potreba po zdravljenju z vazopresornimi zdravili (npr. noradrenalin) za vzdrževanje srednjega arterijskega tlaka nad 65 mmHg in serumska koncentracija laktata nad 2 mmol/l (1).

EPIDEMIOLOGIJA

Incidenca 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 sepo zelo verjetno občutno višje. 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 incidenca sepse več kot 2.600 primerov na 100.000 prebivalcev letno (2). Incidenca sepse je pomembno višja tudi pri osebah s sočasnimi kroničnimi boleznimi, hudo imunsko pomanjkljivostjo ali rakom. Več kot 20 % bolnikov, ki so v bolnišnico sprejeti zaradi sepse, ima eno od malignih bolezni in pri bolnikih na dolgotrajni hemodializi je sepsa kar 40-krat pogostejša kot v splošni populaciji (18, 19).

Smrtnost zaradi sepse in septičnega šoka se med geografskimi območji zelo razlikuje. V državah z visokimi prihodki se smrtnost zaradi sepse giblje med 15 % in 25 %, pri septičnem šoku pa lahko doseže 40 %. V državah z nizkimi in srednjimi prihodki pa so stopnje smrtnosti bistveno višje, pogosto presežejo 40 % pri sepsi in 50 % pri septičnem šoku. V zadnjih letih se je smrtnost zaradi sepse, zlasti v državah z visokimi prihodki, znižala. V ZDA se je smrtnost od začetka 2000-ih let zmanjšala z več kot 35 % na 15–20 %. Podobno je tudi v evropskih državah. V nasprotju s tem pa smrtnost zaradi sepse v državah z nizkimi in srednjimi prihodki ostaja visoka. Države z nizkimi in srednjimi prihodki nosijo nesorazmerno visoko breme zaradi pogostejših okužb, omejenega dostopa do zdravil in diagnostike ter slabše zdravstvene infrastrukture. V državah z visokimi prihodki pa k bremenu bolezni prispevajo predvsem starajoče se prebivalstvo, porast kroničnih bolezni in odpornost mikroorganizmov na antibiotike (20).

Zadnja slovenska presečna epidemiološka raziskava je bila opravljena leta 2004. V raziskavo je bilo vključenih več kot 95,6 % postelj v enotah za intenzivno zdravljenje (EIZ) v Sloveniji, in ocenjena incidenca sepse je bila 1,18 primerov na 1000 prebivalcev na leto. Po oceni v naši državi zaradi sepse neposredno umre več kot 1000 oseb letno (21).

ETIOLOGIJA IN PATOGENEZA

Etiologija

Sepso povzročajo različne po Gramu negativne in po Gramu pozitivne bakterije ter redkeje tudi glive. Po Gramu negativne bakterije, ki najpogosteje povzročijo sepo, so enterobakterije, kot sta *Escherichia coli* in *Klebsiella* spp., po Gramu pozitivne bakterije, ki najpogosteje povzročajo sepo, pa so *S. aureus*, koagulazno negativni stafilokoki in streptokoki. V bolnišničnem okolju sepo pogosteje povzročajo proti antibiotikom odporne bakterije, med po Gramu pozitivnimi

zlasti na meticilin odporen *S. aureus* in na vankomicin odporni enterokoki, med po Gramu negativnimi pa *P. aeruginosa*, vse pogostejše pa tudi enterobakterije, ki izločajo betalaktamaze razširjenega spektra (angl. Extended spectrum beta-lactamase, ESBL). Pogosto je prisotna sočasna odpornost proti več skupinam antibiotikov in takrat govorimo o večkratno odpornih bakterijah (VOB). Enterobakterije najdemo v črevesju ljudi in živali kot del normalne črevesne flore. Zaradi pretirane uporabe betalaktamskih antibiotikov raste odpornost teh mikroorganizmov na cefalosporine, ne samo v bolnišničnem, temveč tudi domačem okolju. V ZDA se je leta 2001 pojavil tudi sev, odporen proti karbapenemom (CRE), ki se je do leta 2012 razširil že v več kot 200 bolnišnicah v 42 državah. V zadnjih letih dodatno težavo predstavljajo bakterije, ki tvorijo karbapenemaze. Odpornost proti antibiotikom lahko razvijejo ali pridobijo tudi druge skupine bakterij, kot sta *Acinetobacter spp.* in *P. aeruginosa*. Te bakterije se zelo učinkovito prenašajo med bolniki in se različno dolgo zadržujejo na površinah bolnikove okolice in v telesu koloniziranih ljudi. Pomembno je upoštevanje pravil bolnišnične higiene, aktivno iskanje nosilcev in ustrezna izolacija bolnikov ob dokazani kolonizaciji z odpornimi bakterijami. Po podatkih mreže EARS-Net (angl. European Antimicrobial Resistance Surveillance Network), v okviru katere se zbirajo podatki o odpornosti invazivnih izolatov izbranih bakterijskih vrst iz držav članic Evropske unije, je bil delež *Klebsiella pneumoniae* ESBL v Sloveniji leta 2023 23 %, *E. coli* ESBL 8,7 % in delež *K. pneumoniae*, odpornih proti karbapenemom, 3,8 %. Leta 2023 smo v slovenskih bolnišnicah osamili 23,1 % večkratno odpornih *Acinetobacter spp.* (R na flurokinolone, aminoglikozide, karbapeneme) in 6,5 % večkratno odpornih *P. aeruginosa* (R na piperacilin s tazobaktamom, cef-tazidim, flurokinolone, aminoglikozide, karbapeneme), ki so povzročili invazivno okužbo krvi ali likvorja. Delež na meticilin odpornih invazivnih izolatov *S. aureus*, je bil leta 2023 10,1 % (22).

Glive povzročajo sepsa v približno petih odstotkih primerov, najpogostejše *Candida spp.* V zadnjih letih delež bolnikov z glivno sepsa narašča. Med glivami največkrat dokažemo *Candida albicans*, vse pogostejše pa se pojavljajo t.i. vrste »ne-albicans«, kot so *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Issatchenkia orientalis* (*Candida krusei*) itd. V Sloveniji spremembe niso tako izrazite, čeprav tudi pri nas v zadnjih letih pogostejše osamimo glive nekaterih vrst »ne-albicans«. V obdobju 2013–2017 je bila v Sloveniji iz hemokultur bolnikov najpogostejše osamljena vrsta *C. albicans* (51,7 %), sledile so ji *C. glabrata* (27,7 %), *C. parapsilosis* (6,6 %), *Issatchenkia orientalis* (3,7 %) in *Candida tropicalis* (3,1 %) (23).

Patogeneza sepse

Koža in sluznice prebavi, spolovil, sečil, dihal in oči so pomembna mehanska obramba pred vdorom mikrobov v tkiva ter kri. Vsaka njihova poškodba, ki je lahko neznatna, klinično nerazpoznavna in brez jasnih znakov lokalne okužbe, olajša vstop mikroorganizmom. Zlasti v bolnišničnem okolju je okvara telesnih površin in posledična sepsa pogosto povezana z operativnimi posegi, z vstavitvijo znotrajžilnih in urinskih katetrov ali orotrahealnih tubusov. V bolnišnicah, predvsem na oddelkih za intenzivno zdravljenje, je pomemben nevarnostni dejavnik za zaplet in razvoj sepse predhodna poselitev kože ali sluznic z bakterijami ali glivami, ki so pogosto odporne proti različnim antibiotikom oziroma antimikotikom.

Ob invaziji mikroorganizma se gostitelj na njegove sestavine odzove z vnetimi in imunskimi odzivi. Glavno patogenetsko vlogo imajo biološko aktivne sestavine bakterijske celične stene: peptidoglikan in lipoteihoična kislina pri po Gramu pozitivnih bakterijah ter peptidoglikan in lipopolisaharid (LPS) pri po Gramu negativnih bakterijah. Ključni element v

molekuli lipopolisaharida je lipid A, ki deluje kot endotoksin. Z infuzijo endotoksina lahko pri preiskovancih sprožimo vnetni odziv s sepsi podobnimi kliničnimi simptomi in znaki. Po Gramu pozitivne bakterije lahko sprožijo vnetni odziv organizma tudi preko sproščenih toksinov, ki lahko učinkujejo kot superantigeni. Toksin obide antigen predstavitvene celice in se veže neposredno na celice monocitno-makrofagnega sistema, iz katerih se izplavijo velike količine vnetno aktivnih citokinov. Po vdoru mikrobov v kri se biološko aktivne molekule vežejo na receptorje, ki se nahajajo na površini monocitov, makrofagov in nevtrofilcev. Endotoksin po Gramu negativnih bakterij se v krvi veže na LPS-vezavno beljakovino, ki se tvori v jetrih, nastali lipopolisaharidni kompleks pa na receptorje CD14, ki se nahajajo na površini monocitno-makrofagnih celic. Znotrajcelične reakcije lahko sproži samo preko ko-receptorske povezave s toličnim receptorjem 4 (*angl.* toll-like receptor, okr. TLR 4). Pri po Gramu pozitivnih bakterijah so znotrajcelični odzivi posledica aktiviranja drugih receptorjev, med katerimi je najpomembnejši receptor TLR 2. Posledica vezave bakterijskih molekul na humane receptorje je sprožitev kaskade vnetnih odzivov gostitelja in sproščanje posrednikov vnetja, kar vodi v značilno sliko sepse, okvaro tkiv in v najhujših primerih povzroči celo smrt. Glavni posredniki, ki spodbujajo vnetje, so TNF- α ter IL-1, IL-6 in IL-8. V poteku sepse se sproščajo tudi številni protivnetni posredniki, ki nevtralizirajo biološke sestavine bakterij, zavrejo sintezo ali sproščanje vnetnih citokinov ter uravnavajo celični odziv. Najpomembnejši protivnetni glasniki so IL-4, IL-10, IL-13 ter topni receptor za IL-1. Pri sepsi v serumu sprva ugotavljamo povečano koncentracijo vnetnih citokinov, pozneje pa protivnetnih citokinov (24).

Pomembni procesi v patogenezi sepse se odvijajo na ravni endotela drobnih žil. Predvsem posredniki TNF- α , IL-1 in IFN- γ aktivirajo endotel preko indukcije encima sintaze dušikovega monoksida. Visoke koncentracije dušikovega monoksida povzročijo vazodilatacijo, zmanjšan pretok skozi tkiva in povečano prepustnost žilja. Na okvarjeno endotelno površino se vežejo levkociti, iz katerih se dodatno sproščajo citokini in številne druge biološko aktivne snovi (prosti radikali, prostaglandini, levkotrieni, proteaze, bradikinin), ki se vpletajo v prehod različnih molekul in tekočine v tkiva ter povzročajo njihovo dodatno okvaro. Aktiviranje endotela je v različnih organih verjetno različno; spremembe so najbolj očitne na ravni endotela mikrocirkulacije v pljučih, ledvicah, jetrih in možganih, ki so ob hudi sepsi ali septičnem šoku najbolj prizadeti (14, 25).

DIAGNOSTIKA

Kriteriji za odvzem hemokultur

Hemokultura ostaja zlati standard v diagnostiki sepse, s katero opredelimo povzročitelja in dobimo podatek o občutljivosti mikroorganizma za protimikrobna zdravila (26). Omogoča nam usmerjeno antibiotično zdravljenje z antibiotiki ožjega spektra, kar ima posredno ugoden vpliv na nižjo protimikrobno odpornost. Kriteriji za odvzem hemokultur niso standardizirani. S pravilno klinično oceno naraste predtestna verjetnost osamitve bakterij iz krvi. Odvzem hemokultur se vedno priporoča pri bolnikih s kliničnim sumom na sepo ali septični šok, gnojni meningitis, epiduralni absces, infekcijski endokarditis, sum na druge intravaskularne okužbe (okužba grafta, tromba ...), spondilodiscitis/osteomielitis, septični artritis, nekrotizantne okužbe mehkih tkiv, sum na katetrsko okužbo, nekrotizantno pljučnico, pri bolnikih po splenektomiji z vročino ali drugimi kliničnimi znaki okužbe, bolnikih z oslajeno imunostjo

in vročino in bolnikih s febrilno nevtropenijo. Odvzem hemokultur pri bolnikih s srednje visoko verjetnostjo razvoja bakteriemije se priporoča, kadar pred začetkom protimikrobne terapije nimamo opredeljenega povzročitelja okužbe iz primarnega vira okužbe ali gre za bolnika, pri katerem obstaja tveganje za endovaskularno okužbo. Odvzem hemokultur se rutinsko ne priporoča pri bolnikih s sindromi, pri katerih je verjetnost bakteriemije majhna, kot so okužbe kože in podkožja pri bolniku z ohranjeno imunostjo, pri okužbah spodnjih sečil in nezapletenih okužbah zgornjih sečil, pri zunajbolnišnični pljučnici z lažjim potekom, opredeljeno s točkovnikom za oceno resnosti pljučnice (*angl.* Pneumonia severity index, PSI I, II, III) in pri bolnikih z vročino do 48 ur po operaciji (Slika 1) (27).

Občutljivost in specifičnost hemokultur sta odvisni od številnih dejavnikov. Kri za hemokulturo odvajamo ob utemeljenem sumu na bakteriemijo, pred uvedbo protimikrobnega zdravljenja in na aseptičen način. Kri za preiskave odvajamo iz periferne vene, iz žilnega katetra pa samo ob sumu na sepsa, povezano z osrednjim žilnim katetrom (28). Zaradi majhne količine bakterij v krvi bolnika s sepsa, pri odraslih odvajamo 2–3 vzorce z zadostnim volumenom krvi (praviloma 8 do 10 ml krvi na hemokulturno stekleničko) (29). Čas od odvzema krvi za hemokulturo do inkubacije hemokulturne stekleničke v nadzorovanem hemokulturnem sistemu v mikrobiološkem laboratoriju se je izkazal kot eden od najbolj pomembnih dejavnikov, ki vplivajo na občutljivost preiskave. Razvoj manjših satelitskih enot avtomatiziranih računalniško vodenih hemokulturnih sistemov, ki jih lahko namestimo na različnih bolnišničnih oddelkih in so povezani z glavnim hemokulturnim sistemom v mikrobiološkem laboratoriju, omogoča takojšnjo nadzorovano inkubacijo hemokulturnih stekleničk in znatno skrajša čas od odvzema do prvega uporabnega rezultata (30).

Mediana časa do pozitivnosti hemokultur je za večino bakterijskih povzročiteljev sepse od 12 do 36 ur. Pri nekaterih bakterijah in glivah je ta čas lahko občutno daljši. Ko je hemokultura zaznana kot pozitivna, je prvi korak barvanje po Gramu, ki mu sledijo standardni postopki osamitve na bakterioloških gojiščih. Ob uporabi tradicionalnih mikrobioloških metod potrebujemo za dokončno prepoznavo povzročitelja in opredelitev njegove občutljivosti za protimikrobna zdravila nadaljnjih 48 do 72 ur (26).

Pri odvzemu hemokultur lahko pride do kontaminacije vzorca. Po podatkih iz literature je kontaminiranih 0,6–12,5 % vseh hemokultur in 20–56 % vseh pozitivnih hemokultur. Kontaminaciji hemokultur se lahko izognemo z uporabo odvzemnih pripomočkov, s katerimi ob odvzemu prvi alikvot (1 do 2 ml) krvi, ki domnevno vsebuje kontaminante, preusmerimo v posebno komoro, šele drugi alikvot krvi pa prestrežemo v hemokulturno stekleničko. Rezultati raziskav so pokazali, da se je delež kontaminiranih hemokultur ob uporabi teh pripomočkov znižal za 80–90 %, brez sočasne izgube resnično pozitivnih hemokultur (31).

Ponoven kontrolni odvzem hemokultur se svetuje:

- v primeru *S. aureus* ali *Staphylococcus lugdunensis* bakteriemije (po 48–72 ur od začetka zdravljenja),
- pri sumu na infekcijski endokarditis ali drugo znotrajžilno okužbo,
- v primeru ene pozitivne hemokulture (osamitev bakterije, ki poseljuje kožo) pri bolniku z žilnimi vsadki ali umetno srčno zaklopko,
- v primeru ene pozitivne hemokulture (osamitev bakterije, ki poseljuje kožo) pri bolniku z osrednjim žilnim katetrom,
- v primeru glivne sepse.

Sodobne mikrobiološke metode, ki omogočajo prepoznavo povzročitelja sepse v pozitivni hemokulturni steklenički

Številne sodobne mikrobiološke diagnostične metode omogočajo hitro prepoznavo bakterij/gliv v pozitivnih hemokulturnih stekleničkah, ko so se bakterije ali glive že dovolj namnožile, da jih vidimo v neposrednem razmazu, obarvanem po Gramu. Masna spektrometrija MALDI-TOF MS (*angl.* matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry), je ena od njih in je del uveljavljenega dela v sodobnih mikrobioloških laboratorijih. Uveljavlja se tudi za hitro prepoznavo povzročiteljev sepse neposredno iz pozitivnih hemokulturnih stekleničk (32).

Na tržišču imamo tudi druge teste za hitro prepoznavo povzročitelja sepse v pozitivni hemokulturni steklenički, ki temeljijo na molekularnih metodah, kot so: večkratna verižna reakcija s polimerazo (PCR – polymerase chain reaction), fluorescentna hibridizacija in situ, mikromreže, in kombinirane metode (33). Z večkratnim PCR lahko zaznamo več tarč sočasno. Metoda temelji na principu PCR v realnem času, ki mu sledi določitev tarč s specifičnimi označenimi sondami. S tem pristopom lahko že v dobri uri prepoznamo omejeno število najpogostejših povzročiteljev sepse v pozitivni hemokulturni steklenički in določimo posamezne gene, odgovorne za bakterijsko odpornost na antibiotike.

Najnovejša različica komercialno dostopnega diagnostičnega kompleta »FilmArray Blood Culture Identification Panel« (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Francija) omogoča prepoznavo 11 po Gramu pozitivnih bakterij, 15 po Gramu negativnih bakterij, sedmih gliv in 10 označevalcev bakterijske odpornosti. Test ima več kot 90 % občutljivost za opredelitev povzročitelja sepse v pozitivni hemokulturni steklenički (34).

Sodobne mikrobiološke metode, ki omogočajo odkrivanje povzročitelja sepse neposredno v krvi

Količina bakterij ali gliv je v krvi bolnikov s sepso praviloma izjemno majhna. Povzročitelja lahko neposredno v krvi opredelimo z metodo PCR ali z eno od metod, ki temelji na postopkih sekvenciranja naslednje generacije (*angl.* next-generation sequencing, NGS). Testi, ki temeljijo na pomnoževanju tarčnih nukleinskih kislin neposredno v krvi, so zahtevni in primerni samo za izkušene mikrobiološke molekularne laboratorije. Širšo uporabo omejuje tudi visoka cena. V primerjavi s hitrimi molekularnimi testi, ki omogočajo prepoznavo povzročitelja sepse v pozitivni hemokulturni steklenički, so ti testi zamudnejši. Do rezultatov pridemo v treh in pol do osmih urah.

Testi, ki temeljijo na NGS omogočajo dokazovanje mikrobne brezcelične DNA v krvi. Postopki so zapleteni, vezani na drago opremo in na usposobljeno osebje. Rezultati so na voljo v 12 do 48 urah. Dodaten izziv predstavljajo lažno pozitiven ali lažno negativen izvid ter več zaznanih mikroorganizmov v enem vzorcu. Metoda ni del vsakodnevne diagnostike.

Ena od sodobnejših metod za odkrivanje povzročitelja sepse neposredno v krvi je T2MR (T2Biosystems, Lexington, ZDA). Ta povezuje PCR, nanotehnologijo in magnetno resonanco. Trenutno sta dostopna dva avtomatizirana diagnostična kompleta. Prvi omogoča prepoznavo petih najbolj pogostih vrst gliv kvasovk iz rodu *Candida spp.*, ki povzročajo več kot 95 % kandidemij, in drugi za šest bakterijskih povzročiteljev sepse. Rezultati so na voljo v treh do petih urah (35, 36).

Določanje občutljivosti povzročiteljev seapse za antibiotike

Občutljivost mikroorganizmov za protimikrobna zdravila določamo z difuzijskimi ali dilucijskimi metodami. Pri standardiziranem antibiogramu mora biti gostota bakterij v pozitivnem vzorcu hemokulture umerjena na 0,5 McF, ker neustrezna gostota 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 razmejitvene vrednosti premerov zaviralnih con za hitro določanje občutljivosti z disk-difuzijsko metodo neposredno iz pozitivne hemokulture stekleničke po skrajšani inkubaciji (angl. rapid antimicrobial susceptibility testing- RAST). Pred izvedbo testa in vrednotenjem rezultatov moramo opredeliti povzročitelja, ker so nabor ocenjevanih antibiotikov in mejne vrednosti premerov zaviralnih con specifični za posamezno bakterijsko vrsto. Za bakterijske vrste *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* in *Acinetobacter baumannii* lahko na ta način rezultate občutljivosti za omejen nabor antibiotikov interpretiramo že po 4, 6, 8 ali 16 do 20 urah inkubacije (37).

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 testiranega antibiotika. Z mikroskopiranjem v temnem polju se v realnem času spremlja rast in delitev posamezne bakterijske celice v prisotnosti različnih koncentracij antibiotika in primerja z rastjo in delitvijo brez antibiotika in s pomočjo »machine-learning« algoritmov določi minimalna inhibitorna koncentracija (38).

Nekatere sodobne molekularne metode, ki omogočajo hitro identifikacijo povzročitelja iz pozitivne hemokulture stekleničke, sočasno omogočajo tudi testiranje prisotnosti nekaterih genov za odpornost proti antibiotikom. Pomanjkljivosti genotipskega določanja občutljivosti so predvsem omejen nabor povzročiteljev in genov markerjev odpornosti in nezmožnost zaznave novih mehanizmov odpornosti (39).

OBRAVNAVA IN ZDRAVLJENJE

Farmakokinetične in farmakodinamične lastnosti antibiotikov

Pri življenjsko ogroženih bolnikih s sepsa in septičnim šokom nista pomembna samo čas, kdaj začnemo protimikrobno zdravljenje, in izbira pravilnega antibiotika, vsaj tako pomembni so tudi ustrezni odmerki zdravila, ki so pri teh bolnikih pogosto prenizki. Pomembno je poznavanje lastnosti antibiotikov, kot sta hidrofilnost (betalaktami, glikopeptidi, lipopeptidi, aminoglikozidi) in lipofilnost (fluorokinoloni, kloramfenikol, rifampicin, sulfonamidi), ki določata porazdelitev zdravila v plazmi in tkivih. Volumen porazdelitve je pri hidrofilnih antibiotikih manjši.

Pri sepsi se volumen porazdelitve v telesu poveča, posledica tega je prenizka koncentracija antibiotika v plazmi in tkivih. Na porazdelitev antibiotikov vplivajo vsa tista stanja in bolezni, ki spremenijo delež telesne vode v telesu ali premik tekočine v tretji prostor, kar se pri bolnikih s sepsa zaradi okvare endotelija drobnih žil tudi dogaja. Predvsem so velike razlike v volumnu porazdelitve pri hidrofilnih antibiotikih, manj pa pri lipofilnih. Na razporeditev lipofilnih antibiotikov bolj vpliva povečan delež maščobnega tkiva pri bolnikih s prekomerno telesno težo.

Pri antibiotikih z majhnim volumnom porazdelitve so zato potrebni polnilni začetni odmerki in enako velja za antibiotike, ki jih odmerjamo v kontinuirani infuziji.

Antibiotike delimo na časovno odvisne in na koncentracijsko odvisne. Za časovno odvisne velja, da je njihov protimikrobni učinek opredeljen kot odstotek časa znotraj 24-urnega intervala, ko je koncentracija nevezanega zdravila nad minimalno inhibitorno koncentracijo (MIK). Učinek je optimalen, ko je ta delež 90-100 odstotkov. Za betalaktamske antibiotike predlagajo, naj bi bila njihova koncentracija pri kritično bolnih od štiri do osemkrat nad MIK-om tekom 100 % intervalnega časa. V skupino časovno odvisnih protimikrobnih zdravil uvrščamo betalaktamske antibiotike (peniciline, cefalosporine, monobaktame in karbapeneme), pa tudi glikopeptide in linezolid, čeprav je za slednja pomemben dejavnik učinkovitosti še razmerje med celotno izpostavljenostjo, ki jo opredelimo kot površina pod krivuljo v 24h-ih urah (AUC_{0-24}) v razmerju z MIK-om.

Za koncentracijsko odvisne antibiotike velja, da se učinkovitost baktericidnega delovanja in vitro povečuje, ko se povečuje razmerje med najvišjo koncentracijo antibiotika (C_{max}) in MIK-om. Antibiotiki iz te skupine so aminoglikozidi, pri katerih znaša optimalno razmerje C_{max}/MIK vsaj 8-10, in fluorokinoloni, pri katerih naj bo C_{max}/MIK najmanj 10-12. Dodatni dejavnik učinkovitosti v tej skupini je tudi razmerje med AUC_{24}/MIK . Ti antibiotiki imajo tudi dobro izražen poantibiotski učinek, ki traja do šest ur (40).

Odmerke protimikrobnih zdravil, ki se izločajo skozi ledvice, je potrebno pri poslabšanju ledvične funkcije prilagoditi. Za prilagajanje odmerkov aminoglikozidov in vankomicina pri bolnikih z ledvično okvaro spremljamo plazemske koncentracije. Na drugi strani odmerkov antibiotikov s širokim terapevtskim indeksom pri kritično bolnih septičnih bolnikih z akutno ledvično okvaro po zadnjih priporočilih prvih 48 ur ne prilagajamo. Pri bolniki s sepsa in kronično ledvično okvaro odmerke prilagodimo že po 24 urah (41).

Priporočljivo bi bilo merjenje koncentracije vseh antibiotikov, ki jih pri kritično bolnih predpisujemo in dajemo. Z merjenjem plazemske koncentracije protimikrobnih zdravil in prilagajanjem odmerkov lahko nadzorujemo varnost in preprečujemo škodljive neželene učinke zdravil. Na drugi strani pa lahko z merjenjem koncentracije antibiotikov v plazmi in prilagajanjem odmerkov vplivamo na učinkovitost in uspešnost zdravljenja. V vsakodnevni klinični praksi v Sloveniji danes lahko merimo koncentracije aminoglikozidov (gentamicin, amikacin, tobramicin), glikopeptidov (vankomicin) in azolov (vorikonazol, posakonazol). Koncentracij betalaktamskih antibiotikov, ki so najpogostejše predpisani antibiotiki, pri nas trenutno še ne merimo. Tudi sicer je v svetu to še vedno pogostejše del raziskav kot pa vsakodnevne rutine (40).

Pri časovno odvisnih antibiotikih, kot so betalaktami, se v zadnjem času vse bolj uveljavlja odmerjanje v podaljšani ali kontinuirani infuziji. Izkazalo se je, da je tak način v primerjavi z intervalnim odmerjanjem protimikrobnih zdravil pri bolnikih s sepsa ali septičnim šokom učinkovitejši in ga lahko spremlja nižja smrtnost (42). Še posebno je kontinuiran način odmerjanja antibiotikov pomemben pri sepsi, povzročeni z bakterijami, ki so slabše občutljive na izbran antibiotik, pri bolnikih s povečanim volumnom porazdelitve in s povečanim ledvičnim očistkom. Pogoji za tak način odmerjanja zdravila je ustrezna stabilnost antibiotika v pripravljeni infuzijski raztopini (43). V raziskavi Roberta in sod. so bolniki, ki so prejeli betalaktamski antibiotik v podaljšani infuziji, pogostejše dosegli zastavljene farmakodinamične cilje (kontinuirano odmerjanje 93 % : intervalno odmerjanje 80 %). Dosežena koncentracija antibiotika nad MIC več kot 50 % odmernega časovnega intervala ($> 50 \% fT > MIC$) je bila povezana z boljšimi kliničnimi izidi (44).

Izkustvena antibiotična terapija sepse

Hitro in ustrezno antibiotično zdravljenje bolnikov s sepo ali septičnim šokom pomembno izboljša prognozo. Po zadnjih priporočilih za obravnavo bolnikov s sepo in septičnim šokom iz leta 2021 (*angl.* Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021), z izkustvenim antibiotičnim zdravljenjem bolnikov z utemeljenim sumom septičnega šoka pričnemo povezave med zgodnjim protimikrobnim zdravljenjem in nižjo smrtnostjo bolnikov s septičnim šokom. Na drugi strani je ta povezava pri bolnikih s sepo, ki so hemodinamsko stabilni manj čvrsta (45). Na izbiro antibiotika vplivajo dejavniki, kot so: lokalne epidemiološke razmere, eventuelna predhodna kolonizacija bolnika z odpornimi mikroorganizmi, primarno anatomsko mesto okužbe in izvor sepse, starost bolnika, prisotnost vsadkov, morebitno predhodno ali sočasno imunosupresivno zdravljenje, prisotna nevtropenija ipd.

Trajanje antibiotičnega zdravljenja

Čas antibiotičnega zdravljenja bolnikov s sepo je odvisen od teže bolezni, povzročitelja, izbranega zdravila in izvora okužbe. Krajše zdravljenje je pomemben del nadzorovane rabe antibiotikov in ima pomemben vpliv na pojavnost odpornosti mikroorganizmov na protimikrobna zdravila. (Tabela 2). Krajšega zdravljenja ne spremljajo dodatni zapleti ali višja smrtnost, v kolikor je klinični odziv na uvedeno antibiotično zdravljenje ustrezen in/ali vir okužbe odstranjen (45). Čas antibiotičnega zdravljenja lahko skrajšamo s sledenjem koncentracije PCT. V raziskavi Deliberata in sod. so bolniki s sepo ali septičnim šokom dobivali antibiotik statistično bistveno krajši čas, v kolikor je bilo antibiotično zdravljenje nadzorovano s sledenjem koncentracije PCT. V primerjavi s standardno obravnavo ni bilo razlik v smrtnosti in času zdravljenja v EIZ ali v bolnišnici (46).

Daljši čas antibiotičnega zdravljenja je potreben za bolnike s počasnim kliničnim odzivom, če vira okužbe ni možno odstraniti, pri bakteriemiji s *S. aureus*, sistemskih glivnih okužbah, endokarditisu, osteomielitisu, velikih abscesih ter pri okužbah z večkratno odpornimi po Gramu negativnimi bakterijami, kjer so možnosti zdravljenja omejene. Prav tako daljše zdravljenje potrebujejo bolniki z nevtropenijo ali bolniki s hudo imunsko motnjo (45).

Sprejem bolnika v enoto za intenzivno zdravljenje

Ustrezna obravnava v ustreznem okolju, kjer lahko izvajamo vse oblike usmerjenega in podpornega zdravljenja, pomembno vpliva na prognozo bolnikov s sepo ali septičnim šokom. Na sprejem bolnika v EIZ vpliva klinična slika, dostopnost virov in organizacija dela v posamezni zdravstveni ustanovi. Bolniki s septičnim šokom in bolniki z dihalno odpovedjo, ki potrebujejo podporo aparata za mehansko predihavanje, sodijo v EIZ.

Po priporočilih za obravnavo bolnikov s sepo in septičnim šokom iz leta 2021 bolnike s sepo ali septičnim šokom v EIZ sprejememo znotraj šestih ur. Cardoso s sod. poroča, da odložen sprejem v EIZ statistično znatno poveča smrtnost. Z vsako odloženo uro sprejema je tveganje za smrt večje za 1,5 % (47). V obsežni raziskavi, v katero je bilo vključenih 50 322 bolnikov s sepo, se je smrtnost občutno povečala, v kolikor je bil sprejem v EIZ odložen za več kot šest ur (17 % proti 12,9 %). Odložen sprejem je vplival tudi na večjo potrebo po mehanskem predihavanju in podaljšal čas bolnišničnega zdravljenja (48).

Bolnike s sepo, ki dobro sprejmejo tekočinsko oživiljanje in antibiotike, lahko varno zdravimo tudi na oddelkih. Tudi potreba po vazoaktivnih zdravilih ni vedno razlog za sprejem v EIZ (49).

ZAKLJUČEK

Sepa je sistemska okužba, ki bolnika neposredno življenjsko ogroža in jo kljub napredku medicine spremlja nesprejemljivo visoka smrtnost. Pričakovati je, da bo število bolnikov s sepo v prihodnosti še naraščalo, kar je treba upoštevati pri načrtovanju zdravstvene politike, izobraževanju strokovne in osveščanju laične javnosti. Poznavanje epidemiologije, patogenetskih mehanizmov in z njimi povezane klinične slike je predpogoj za zgodnje odkrivanje bolnikov s sepo s vsemi ukrepi, ki temu sledijo. Sodobne mikrobiološke metode skrajšajo čas do prepoznavne povzročitelja in vplivajo na izbiro pravilnega protimikrobnega zdravljenja. Število bolnikov s sepo ali septičnim šokom lahko učinkovito zmanjšamo tudi s splošnimi higienskimi ukrepi in cepljenjem.

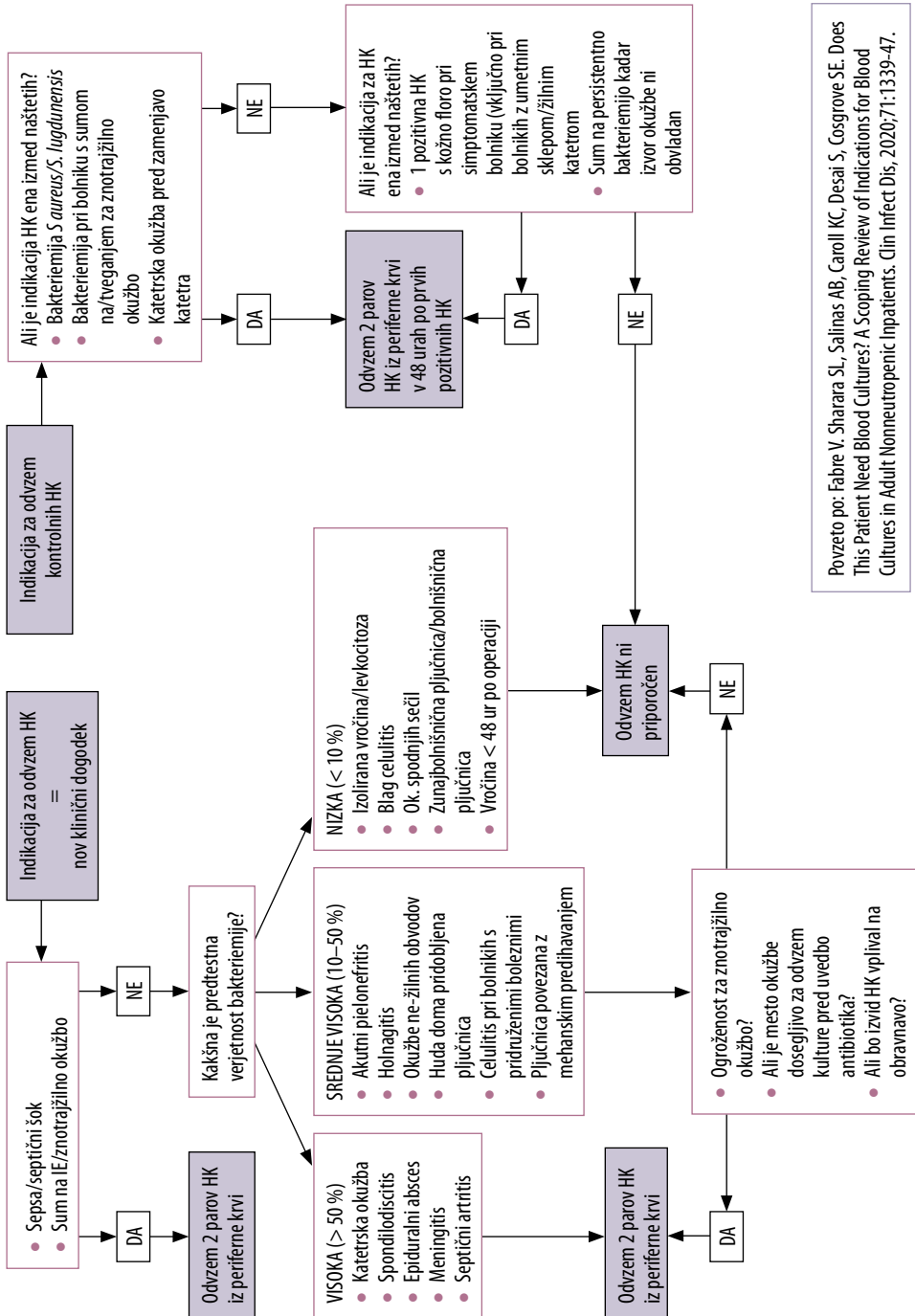
Tabela 1. Točkovni sistem SOFA (angl. Sequential organ failure assessment score).

	0	1	2	3	4
Dihala PaO ₂ /FiO ₂ kPa (mmHg)	≥ 53,3 (400)	< 53,3 (400)	< 40 (300)	< 26,7 (200)*	< 13,3 (100) *
Koagulacija Trombociti x10 ³ /μl	≥ 150	< 150	< 100	< 50	< 20
Jetra Bilirubin mg/dl (μmol/l)	< 1,2 (20)	1,2–1,9 (20–32)	2,0–5,9 (33–101)	6,0–11,9 (102–204)	> 12 (204)
Srčno-žilni sistem	MAP ≥ 70 mmHg	MAP ≤ 70 mmHg	dopamine < 5 dobutamin (vsak odmerek)**	dopamin 5,1–15 noradrenalin ≤ 0,1 adrenalin ≤ 0,1	dopamin > 15 noradrenalin > 0,1 adrenalin > 0,1
Osrednje živčevje GCS	15	13–14	10–12	6–9	< 6
Ledvice Kreatinin μmol/l (mg/dl) količina urina ml/dan	< 110 (1,2)	110–170 (1,2–1,9)	171–299 (2,0–3,4)	300–440 (3,5–4,9) < 500	> 440 (5,0) < 200

Tabela 2. Priporočen čas zdravljenja sepse

Okužba	Priporočeno trajanje	Opombe
Sepa brez zapletov	5–7 dni	Če je vir okužbe oskrbljen in je klinični odziv dober.
Septični šok	7–10 dni	Če je vir okužbe oskrbljen in je klinični odziv dober.
Bakteriemija (razen <i>S. aureus</i>)	7–14 dni	Odvisto od povzročitelja.
Bakteriemija s <i>S. aureus</i>	Najmanj 14 dni po zadnji negativni hemokulturi.	Daljšo zdravljenje je potrebno pri zapletenih <i>S. aureus</i> okužbi in glede na vir oz. zaplete (endokarditis, osteomielitis, septični artritis. ...).
Znotrajtrebušna okužba	5 dni	Po ustrezni kirurški oskrbi vira okužbe.
Sepa s virom iz sečil	7 dni	Če je okužba nezapletena in je klinični odziv dober.
Meningitis	5–21 dni	Odvisto od povzročitelja.
Endokarditis	4–6 tednov	Odvisto od povzročitelja in kliničnega poteka.
Glivne okužbe (npr. <i>Candida spp.</i>)	Najmanj 14 dni po zadnji negativni hemokulturi.	

Slika 1. Algoritem odvzema hemokultur



Povzeto po: Fabre V, Sharara SL, Salinas AB, Carroll KC, Desal S, Cosgrove SE. Does This Patient Need Blood Cultures? A Scoping Review of Indications for Blood Cultures in Adult Nonneutropenic Inpatients. Clin Infect Dis. 2020;71:1339-47.

LITERATURA

1. Seymour CW, Liu VX, Iwashyna TJ, Brunkhorst FM, Rea TD, Scherag A, et al. Assessment of clinical Criteria for sepsis: For the third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016; 315: 762–74.
2. Rudd KE, Johnson SC, Agesa KM, Shackelford KA, Tsoi D, Kievlan DR, et al. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990–2017: analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet*. 2020; 395: 200–11.
3. Meyer NJ, Prescott HC. Sepsis and Septic Shock. *N Engl J Med*. 2024; 391: 2133–46.
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: 801–10.
5. Daviaud F, Grimaldi D, Dechartres A, Charpentier J, Geri G, Marin N, et al. Timing and causes of death in septic shock. *Ann Int Care*. 2015; 5:16.
6. Hotchkiss RS, Monnaret G, Payen D. Immunosuppression in sepsis: a novel understanding of the disorder and a new therapeutic approach. *Lancet Infect Dis*. 2013; 13: 260–8.
7. Cohen J, Carlet J. INTERSEPT: an international, multicenter, placebo-controlled trial of monoclonal antibody to human tumor necrosis factor-alpha in patients with sepsis. International Sepsis Trial Study Group. *Crit Care Med*. 1996; 24: 1431–40.
8. Walton AH, Muenzer JT, Rasche D, Boomer JS, Sato B, Brownstein BH, et al. Reactivation of Multiple Viruses in Patients with Sepsis. *PLOS ONE*. 2014; 9: e98819.
9. Kwok AJ, Allcock A, Ferreira RC, Cano-Gamez E, Smee M, Burnham KL, et al. Neutrophils and emergency granulopoiesis drive immune suppression and an extreme response endotype during sepsis. *Nat Immunol*. 2023; 24: 767–79.
10. Cook CH, Martin LC, Yenchar JK, Lahm MC, McGuinness B, Davies EA, et al. Occult herpes family viral infections are endemic in critically ill surgical patients. *Crit Care Med*. 2003; 31: 1923–29.
11. Bruynseels P, Jorens PG, Demey HE, Goossens H, Pattyn SR, Elseviers MM, et al. Herpes simplex virus in the respiratory tract of critical care patients: a prospective study. *Lancet*. 2003; 362: 1536–41.
12. Prescott HC. The epidemiology of sepsis. In: Wersinga WJ, Seymour CW, eds. *Handbook of sepsis*, Cham, Switzerland: Springer International Publishing, 2018: 15–28.
13. Kalantar KL, Neyton L, Abdelghany M, Mick E, Jauregui A, Caldera S, et al. Integrated host-microbe plasma metagenomics for sepsis diagnosis in a prospective cohort of critically ill adults. *Nat Microbiol*. 2022; 7: 1805–16.
14. Van der Poll T, Wiersinga J. Sepsis and septic shock. In: Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ eds. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. Philadelphia: Elsevier, 2020: 990–1008.
15. He RR, Yue GL, Dong ML, Wang JQ, Cheng C. Sepsis Biomarkers: Advancements and Clinical Applications-A Narrative Review. *Int J Mol Sci*. 2024; 25: 9010.
16. Kumar A, Roberts D, Wood KE, Light B, Parrillo JE, Sharma S, 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.
17. Martin GS. Sepsis, severe sepsis and septic shock: changes in incidence, pathogens and outcomes. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2012; 10: 701–6.
18. Hensley MK, Donnelly JP, Carlton EF, Prescott HC. Epidemiology and outcomes of cancer-related versus non-cancer-related sepsis hospitalizations. *Crit Care Med*. 2019; 47: 1310–6.

19. Sakhuja A, Nanchal RS, Gupta S, Amer H, Kumar G, Albright RC, et al. Trends and outcomes of severe sepsis inpatients on maintenance dialysis. *Am J Nephrol.* 2016; 43: 97–103.
20. La Via L, Sangiorgio G, Stefani S, Marino A, Nunnari G, Cocuzza S, et al. The global burden of sepsis and septic shock. *Epidemiologia.* 2024; 5: 456–78.
21. Beović B, Hladnik Z, Požnenl P, Siuka D. Epidemiology of Severe Sepsis in Slovenian Intensive Care Units for Adults. *J Chemother.* 2008; 20: 134–6.
22. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance in the EU/EEA (EARS-Net) – Annual Epidemiological Report 2023. Stockholm: ECDC; 2022. (dostopano; 7. 4. 2025).
23. Golle A, Pirš M, Tomazin R, Novak Z, Košir U, Rojnik A, et al. Kandidemija: nacionalna epidemiološka raziskava, 2013–2017. *Med Razgl.* 2018; 57 (Suppl 3): 3–16
24. Laszlo I, Trasy D, Molnar Z, Fazakas J. Sepsis: From Pathophysiology to Individualized Patient Care. *J Immunol Res.* 2015; 2015: 510436.
25. Remick DG. Pathophysiology of Sepsis. *Am J Pathol.* 2007; 170: 1435–44.
26. United Kingdom Health Security Agency (UKHSA). UK Standards for Microbiology Investigations. Sepsis and systemic or disseminated infection. UKHSA; 2023. (dostopano; 7. 4. 2025).
27. Fabre V, Sharara SL, Salinas AB, Carroll KC, Desai S, Cosgrove SE. Does This Patient Need Blood Cultures? A Scoping Review of Indications for Blood Cultures in Adult Nonneutropenic Inpatients. *Clin Infect Dis.* 2020; 71: 1339–47.
28. Lamy B, Dargère S, Arendrup MC, Parienti JJ, Tattévin P. How to optimize the use of blood cultures for the diagnosis of bloodstream infections? *Front Microbiol.* 2016; 7: 697.
29. Kirn TJ, Weinstein MP. Update on blood cultures: how to obtain, process, report, and interpret. *Clin Microbiol Infect.* 2013; 19: 513–20.
30. 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: 5859.
31. Doern GV, Carroll KC, Diekema DJ, Garey KW, Rupp ME, Weinstein MP, et al. A comprehensive update on the problem of blood culture contamination and a discussion of methods for addressing the problem. *Clin Microbiol Rev.* 2019; 33: e00009–19.
32. 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.
33. Opota O, Jaton K, Greub G. Microbial diagnosis of bloodstream infection: towards molecular diagnosis directly from blood. *Clin Microbiol Infect.* 2015; 21: 323–31.
34. Cortazzo V, D'Inzeo T, Giordano L, Menchinelli G, Liotti FM, Fiori B, et al. Comparing BioFire FilmArray BCID2 and BCID Panels for Direct Detection of Bacterial Pathogens and Antimicrobial Resistance Genes from Positive Blood Cultures. *J Clin Microbiol.* 2021; 59: e03163–20.
35. Samuel L. Direct-from-blood detection of pathogens: a review of technology and challenges. *J Clin Microbiol.* 2023; 61: e0023121.
36. Peri AM, Harris PNA, Paterson DL. Culture-independent detection systems for bloodstream infection. *Clin Microbiol Infect.* 2022; 28: 195–201.
37. Rapid AST directly from blood culture bottles. EUCAST; 2022. (dostopano; 7. 4. 2025).
38. 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.

-
39. 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.
 40. Roger C. Understanding antimicrobial pharmacokinetics in critically ill patients to optimize antimicrobial therapy: A narrative review. *J Intensive Med.* 2024; 4: 287–98.
 41. Crass RL, Rodvold KA, Mueller BA, Pai MP. Renal Dosing of Antibiotics: Are We Jumping the Gun? *Clin Infect Dis.* 2019; 68: 1596–1602.
 42. Veiga RP, Paiva JA. Pharmacokinetics-pharmacodynamics issues relevant for the clinical use of beta-lactam antibiotics in critically ill patients. *Crit Care.* 2018; 22: 233.
 43. Vardakas KZ, Voulgaris GL, Maliaros A, Samonis G, 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: 108–20.
 44. Roberts JA, Paul SK, Akova M, Bassetti M, De Waele JJ, Dimopoulos G, et al. DALI: defining antibiotic levels in intensive care unit patients: are current β -lactam antibiotic doses sufficient for critically ill patients? *Clin Infect Dis.* 2014; 58: 1072–83.
 45. Evans L, Rhodes A, Alhazzani W, Antonelli M, Coopersmith CM, French C, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021. *Intensive Care Med.* 2021; 47: 1181–1247.
 46. Deliberato RO, Marra AR, Sanches PR, Valle Martino MD, dos Santos Ferreira CE, Pasternak J, et al. Clinical and economic impact of procalcitonin to shorten antimicrobial therapy in septic patients with proven bacterial infection in an intensive care setting. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2013; 76: 266–71.
 47. Cardoso LT, Grion CM, Matsuo T, Anami EH, Kauss IA, Seko L, et al. Impact of delayed admission to intensive care units on mortality of critically ill patients: a cohort study. *Crit Care.* 2011; 15: R28.
 48. Chalfin DB, Trzeciak S, Likourezos A, Baumann BM, Dellinger RP. Impact of delayed transfer of critically ill patients from the emergency department to the intensive care unit. *Crit Care Med.* 2007; 35: 1477–83.
 49. Hallengren M, Åstrand P, Eksborg S, Barle H, Frostell C. Septic shock and the use of norepinephrine in an intermediate care unit: Mortality and adverse events. *PLOS ONE.* 2017; 12: e0183073.

OKUŽBE ORTOPEDSKIH IN NEVROKIRURŠKIH VSADKOV

INFECTIONS OF ORTHOPAEDIC AND NEUROSURGICAL IMPLANTS

Lea Papst^{1, 2}, Andrej Kraševac Glaser^{3, 4}, Mitja Rak⁵, Polona Maver Vodičar⁶

¹Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja, UKC Ljubljana

²Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

³Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano Maribor

⁴Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru

⁵Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano Koper

⁶Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

IZVLEČEK

Okužbe predstavljajo enega izmed resnejših zapletov zdravljenja z vsadki, ki imajo lahko za bolnika uničujoče posledice, njihova obravnava pa je običajno zahtevna, dolgotrajna in draga. Najboljše uspehe pri zdravljenju okužb vsadkov dosežemo s kombinacijo operativnega in protimikrobnega zdravljenja. Mikrobiološka diagnostika je ključnega pomena za identifikacijo povzročitelja in optimizacijo protimikrobnega zdravljenja. Kultura tkivnih vzorcev in sonikacijske tekočine ostaja zlati standard, že zdaj pa pomoč nudijo tudi novejšje molekularne metode. Predstavljamo analizo sonikacij umetnih sklepov in osteosintetskega materiala, ki so bile opravljene v zadnjih petih letih v laboratorijih Inštituta za mikrobiologijo in imunologijo (IMI) in Nacionalnega laboratorija za zdravje, okolje in hrano (NLZOH) v Mariboru in Kopru. V petletnem obdobju je bilo opravljenih skupno 3618 sonikacij: 631 v NLZOH Maribor, 924 v NLZOH Koper in 2063 na IMI. V vseh treh laboratorijih so bili najpogostejše izolirani *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* in *Cutibacterium acnes*, kar je skladno s pričakovanimi povzročitelji okužb, povezanih z umetnimi vsadki.

Ključne besede: ortopedski vsadki, nevrokirurški vsadki, okužba, sonikacija, multidisciplinarni tim

ABSTRACT

Infections are one of the most serious complications of treatment with implants and can have detrimental consequences for the patient. Their management is usually complex, time-consuming and expensive. The best results in the treatment of implant infections are achieved with a combination of surgical and antimicrobial treatment. Microbiological diagnostics is the key to identifying the causative pathogen and optimising antimicrobial treatment. While tissue culture and sonication fluid remain the gold standard, the newer molecular methods are increasingly contributing to improved diagnostic accuracy. We present the results of a five-year analysis of sonications from orthopaedic and traumatology departments carried out in the laboratories of the Institute of Microbiology and Immunology (IMI) and the National

Laboratory of Health, Environment and Food (NLZOH) in Maribor and Koper. During this period, 3618 sonications were carried out: 631 at NLZOH Maribor, 924 at NLZOH Koper and 2063 at IMI. In all three laboratories, the most frequently isolated pathogens were *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* and *Cutibacterium acnes*, which corresponds to the expected causative microorganisms in implant-associated infections.

Keywords: orthopaedic implants, neurosurgical implants, infection, sonication, multidisciplinary team

UVOD

Z razvojem medicine se je v 20. stoletju razmahnilo zdravljenje z medicinskimi vsadki, ki rešujejo življenja in/ali omogočajo bistveno izboljšanje kvalitete življenja bolnikov. Okužbe predstavljajo enega izmed resnejših zapletov zdravljenja z vsadki, ki imajo lahko za bolnika uničujoče posledice, njihova obravnava pa je običajno zahtevna, dolgotrajna in draga. Okužbe vsadkov so posledica zapletenih interakcij med povzročiteljem okužbe, vsadkom in imunskim odzivom gostitelja. Mikroorganizmi na površini vsadka tvorijo biofilm. Gre za strukturirano združbo mikrobov (bakterij in/ali gliv), ki je obkrožena z zunajceličnim polimernim matriksom. Mikroorganizmi površino vsadka kolonizirajo že med samim posegom ali kasneje preko hematogenega širjenja iz oddaljenih žarišč. Znotraj biofilma se obdajo s plastjo eksopolisaharidov, proteinov in lipidov ter preidejo v presnovno manj aktivno fazo, zato so manj dovzetni za delovanje antibiotikov, ki hkrati bistveno težje prodrejo skozi biofilm, poleg tega pa so mikroorganizmi znotraj biofilma dobro zaščiteni tudi pred delovanjem imunskega sistema gostitelja (1). Biofilm na površini vsadkov lahko tvorijo tako po Gramu pozitivne kot po Gramu negativne bakterije. Zaradi tvorbe biofilma ter mehanizmov, s katerimi se mikrobi izognejo imunskemu sistemu ali prilagodijo njegovo delovanje, je zdravljenje tovrstnih okužb velik izziv.

V prispevku opisujemo osnovne principe obravnave in sodobno mikrobiološko diagnostiko okužb vsadkov v ortopediji in travmatologiji ter nevrokirurških vsadkov. Predstavljamo tudi analizo sonikacij iz ortopedskih in travmatoloških oddelkov, ki so bile opravljene v zadnjih petih letih v laboratorijih Inštituta za mikrobiologijo in imunologijo (IMI) in Nacionalnega laboratorija za zdravje, okolje in hrano (NLZOH) v Mariboru in Kopru.

OKUŽBE VSADKOV V ORTOPEDIJI IN TRAVMATOLOGIJI

V ortopediji in travmatologiji se v vsakdanji praksi najpogosteje srečujemo z okužbami umetnih sklepov in osteosintetskega materiala. Najpogostejši povzročitelji okužb tovrstnih vsadkov so *Staphylococcus aureus*, koagulazno negativni stafilokoki, *Cutibacterium acnes*, redkeje tudi streptokoki, enterokoki in enterobakterije (2, 3). Pri akutno potekajočih okužbah oziroma okužbah hematogenega izvora pogosteje izoliramo *S. aureus*, streptokoke in enterobakterije, medtem ko pri bolnikih z manj izrazitimi simptomi in dlje časa trajajočimi težavami večkrat izoliramo manj virulentne bakterije, kot so koagulazno negativni stafilokoki in *C. acnes*. Okužbe osteosintetskega materiala po odprtih zlomih so običajno posledica eksogenega vnosa mikroorganizmov zaradi samega travmatskega dogodka, oteženega celjenja ran ali poznega prekrivanja z mehkimi tkivi, zato lahko v večji meri pričakujemo polimikrobne okužbe, z večjim deležem anaerobov ter okoljskih bakterij in gliv (4). Incidenca okužb sklepnih protez po primarnih artroplastikah znaša 1–2 %, podobna je incidenca okužb, povezanih z zlomi, kadar gre za osteosintezo zaprtih zlomov (1–2 %). V primeru odprtih zlomov znaša incidenca okužb tudi do 30 % (3–5).

Diagnoza okužbe umetnega sklepa je zlasti v primerih akutnega poteka in zelo patogenega povzročitelja hitra in jo lahko postavimo že z anamnezo in kliničnim pregledom bolnika, v ostalih primerih pa si pomagamo s kombinacijo več diagnostičnih metod. V letu 2021 so bile pod okriljem EBJIS (angl. *European Bone and Joint Infection Society*) objavljene smernice, ki poskušajo poenotiti predhodno obstoječe definicije okužb sklepnih vsadkov različnih strokovnih združenj. Smernice EBJIS temeljijo na interdisciplinarnem pristopu in vključevanju različnih diagnostičnih parametrov pri postavitvi dokončne diagnoze, ki je umeščena v tri različne kategorije: a) okužba ni verjetna (angl. *infection unlikely*), b) možna okužba (angl. *infection likely*) in c) potrjena okužba (angl. *infection likely*) (6). Pri postavitvi diagnoze si pomagamo z anamnezo in klinično sliko, intraoperativnimi najdbami, laboratorijskimi parametri vnetja, analizo vnetnih celic in biomarkerjev v sklepnici tekočini, mikrobiološko in patohistološko diagnostiko ter slikovnimi metodami. Upoštevanje diagnostičnih kriterijev nam olajša velikokrat težavno razločevanje med aseptičnim mehanskim omajanjem in kronično potekajočimi okužbami, ki jih praviloma povzročajo predstavniki kožne mikrobiote.

Algoritem za diagnostiko okužb, povezanih z zlomi, sta EBJIS in AO Foundation (nem. *Arbeitsgemeinschaft für Osteosynthesefragen*; ena vodilnih neprofitnih organizacij, ki se ukvarja z razvojem zdravljenja zlomov in mišično-skeletnih obolenj) objavili leta 2020 (7). Vključuje potrditvene in podporne kriterije za okužbo, pri čemer največjo težo nosijo klinična slika/intraoperativne najdbe, mikrobiološka diagnostika in histologija. Slikovna diagnostika in vnetni parametri večinoma pomagajo pri odločanju, vendar samostojno niso dovoljšnji za postavitev diagnoze.

Mikrobiološka diagnostika okužbe umetnih sklepov

Rutinska mikrobiološka diagnostika okužbe umetnih sklepov temelji na kultivaciji in identifikaciji povzročitelja iz vzorcev sklepne tekočine, obproteznega tkiva in sonikacijske tekočine odstranjenega vsadka, pri čemer sonikacijsko tekočino obdelujemo s kvantitativno kulturo, kjer določamo število CFU/ml dokazanega mikroorganizma (6). Brisi niso primerna kužnina. Občutljivost kulture predoperativno odvzete sklepne tekočine je nizka in je ni mogoče uporabiti kot izključitev okužbe umetnega sklepa (6). Poleg sklepne tekočine je priporočljiva kultivacija vsaj petih intraoperativno odvzetih vzorcev obproteznega tkiva, ki jih je potrebno odvzeti z uporabo ločenih kirurških instrumentov v izogib potencialne navzkrižne kontaminacije in jih čim prej poslati v mikrobiološki laboratorij. Pridobiti je potrebno anatomske reprezentativne tkivne vzorce, predvsem so priporočljivi vzorci, odvzeti na stiku kosti in vsadka; homogenizacija ob sklepnih tkiv izboljša občutljivost kultivacije, premalo oziroma preveč tkivnih vzorcev pa lahko vpliva na znižanje občutljivosti ali specifičnosti (8–10). Prejemanje antibiotične terapije lahko vpliva na rezultate kultivacije, zato se v primerih, ko je to mogoče, priporoča vsaj dvotedensko okno brez antibiotikov pred revizijsko operacijo in odvzemom kliničnih vzorcev (6).

Odstranjen umetni sklep je potrebno med posegom čim prej shraniti v sterilno in vodo tesno posodo, ter umetni sklep zaliti s sterilno fiziološko ali Ringerjevo raztopino, da tekočina pokrije približno 90 % vsadka. Pri sonikaciji z uporabo ultrazvočnih valov nizkofrekvenčnega valovanja (40 kHz) v kombinaciji s stresanjem razbijamo in odstranjujemo biofilm s površine umetnega sklepa v obdajajočo sonikacijsko tekočino, ki jo lahko dalje uporabimo za izbrane mikrobiološke preiskave (8). Cementi z dodanim antibiotikom pri okužbah umetnih sklepov lahko pri postopku sonikacije vplivajo na povečano število lažno negativnih rezultatov kultivacije, kar moramo upoštevati pri interpretaciji rezultatov (9, 11).

Zlati standard mikrobiološke diagnostike še vedno ostaja kultura. Rezultati kulture okužbo potrjujejo v primeru, ko v najmanj dveh intraoperativno odvzetih vzorcih potrdimo prisotnost fenotipsko identičnega mikroorganizma z enakim antibiogramom, ali če v sonikacijski tekočini potrdimo prisotnost več kot 50 CFU/ml mikroorganizma. Občutljivost kultivacije sonikacijske tekočine pri 50 CFU/ml naj bi po podatkih iz literature znašala 79 %, specifičnost pa 99 % (8). V primeru, ko je pozitivna samo kultura predoperativno odvzete sklepne tekočine, ko mikroorganizem osamimo samo v enem samem tkivnem vzorcu ali ko je količina mikroorganizma v sonikacijski tekočini manj kot 50 CFU/ml, je potrebna previdnost pri interpretaciji rezultatov kulture, ki morajo biti ovrednoteni skupaj z ostalimi parametri (klinična slika, laboratorijski rezultati, histološka preiskava), še posebej kadar v kulturi osamimo manj virulentne bakterije, kot so koagulazno negativni stafilokoki ali *C. acnes* (6). Če v kulturi osamimo virulentno bakterijo (npr. *S. aureus*, po Gramu negativni bacili), ki običajno niso kontaminanti, je okužba bolj verjetna (6).

Klinične vzorce (sonikacijska tekočina, tkivni homogenizati in sklepni punktat) kultiviramo v aerobnih in anaerobnih pogojih pri 35 ± 2 °C na bakterioloških trdnih in tekočih gojiščih. Podatki v literaturi so glede trajanja inkubacije neenotni. Na splošno velja, da zaradi nekaterih počasni rastočih mikroorganizmov, predvsem *C. acnes*, kultivacijo podaljšamo do 14 dni (12). Občutljivost kulture sonikacijske tekočine je izboljšana ob uporabi hemokulturnih stekleničk (12, 13). V nekaterih raziskavah so dokazali tudi boljšo občutljivost kulture periprostetičnih tkiv, kadar so inokulirana v hemokulturnih stekleničkah (14). Porasle bakterijske kolonije identificiramo z metodo masne spektrometrije MALDI-TOF (angl. *Matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight*). Zaradi nizke občutljivosti barvanje po Gramu in mikroskopiranje vzorcev sklepne ali sonikacijske tekočine ni priporočeno (12). Brisi sklepne tekočine ali brisi fistule niso primerni klinični vzorci.

Uporaba molekularnih metod

V diagnostiki okužb sklepnih vsadkov se med molekularnimi metodami uporabljajo: a) komercialno dostopni testi ali laboratorijsko razviti testi, ki temeljijo na hkratnem (multipleks) specifičnem PCR (mPCR) – le-ta omogoča dokazovanje izbranega nabora povzročiteljev v eni sami reakciji PCR s kombinacijo ustreznih začetnih oligonukleotidov, značilnih za te povzročitelje; b) širokospektralni bakterijski PCR (16S rRNA PCR) z nadaljnjim sekvenciranjem pomnoženega genomskega odseka; c) sekvenciranje naslednje generacije (angl. *next-generation sequencing*, NGS), kjer lahko v razmeroma kratkem času določimo nukleotidno zaporedje velikemu številu zaporedij DNK in se mu v zadnjem času namenja vedno več pozornosti. Pri tem sta v uporabi dva pristopa: tarčno usmerjen (tNGS – *targeted* NGS) in naključni metagenomski pristop (sNGS – *shotgun* NGS).

Specifični PCR v realnem času je na tržišču v obliki komercialno dostopnih testov, Unyvero i60 ITI (Curetis GmbH, Holzgerlingen, Nemčija) in pogostejše uporabljani BIOFIRE® JI Panel (Biomérieux, Marcy-l'Étoile, Francija). Raziskave so pokazale, da je bila pri uporabi BIOFIRE® JI Panel občutljivost odlična za mikroorganizme, vključene v panel, vendar pa je bila celotna občutljivost pri okužbah sklepnih vsadkov nizka, saj v panelu ni vključene tarče *S. epidermidis* in *C. acnes*, ki sta za *S. aureus* najpogostejša povzročitelja okužb sklepnih vsadkov (12, 15).

Najnovejši sistematični pregled z meta-analizo Olearo in sodelavcev (2025) je poskušal ovrednotiti diagnostično točnost vseh treh molekularnih pristopov: mPCR, 16s rRNA PCR

in NGS. V analizo so vključili 79 raziskav s 3940 bolniki z okužbami vsadkov in 4700 kontrolnimi bolniki brez okužbe (16). Celotna občutljivost/specifičnost je znašala 80,0 % /94,0 % za 16S rRNA PCR; 62,2 % /96,2 % za mPCR; in 88,6 % /93,2 % za NGS. Pri mPCR je bila najvišja kombinirana občutljivost in specifičnost ugotovljena pri testiranju sonikacije tekočine, medtem, ko je bila občutljivost pri 16S rRNA PCR in NGS najvišja pri intraoperativnih tkivnih vzorcih ali kombinaciji vzorcev (sonikacijska tekočina, sklepna tekočina, tkiva) (16). Zanimivo je, da v nasprotju s pričakovanji rezultati niso pokazali jasnega izboljšanja diagnostične točnosti z uporabo molekularnih metod pri bolnikih na antibiotični terapiji (16).

Čeprav je imela uporaba NGS najvišjo diagnostično vrednost, rutinska klinična uporaba ostaja otežena zaradi visokih stroškov, omejene dostopnosti, zapletenosti interpretacije rezultatov, potrebe po specializirani bioinformatiki in standardizaciji ter daljšega časa obdelave v primerjavi s ciljno usmerjenimi metodami. Za vključitev NGS v vsakodnevno diagnostiko so potrebne dodatne raziskave in razvoj (16).

Analiza Olearo in sodelavcev (2025) je pokazala, da vključitev molekularnih metod kot dopolnilo kulturi lahko pomembno izboljša diagnostično točnost. Heterogenost med vključenimi raziskavami (različne definicije okužbe vsadkov, različne vrste vzorcev in vpliv antibiotične terapije) pa je ponovno razkrila potrebno po standardizaciji diagnostičnih kriterijev in metodoloških pristopov za nadaljnji razvoj diagnostike okužbe vsadkov (16). Dokler ni dokazana klinična vrednost naprednih molekularnih tehnik, so le-te v večini primerov uporabne le za klinični sum na okužbo sklepnega vsadka, kjer je kultura negativna (12).

Mikrobiološka diagnostika okužb osteosintetskega materiala

Tudi pri okužbah ob osteosintetskem materialu je potrebno povzročitelja dokazati v vsaj dveh ločenih tkivnih vzorcih, oziroma v enem vzorcu, če gre za visoko virulentne bakterije, kot so *S. aureus*, enterobakterije ali beta-hemolitični streptokoki. Priporočljivo je odvzeti vsaj pet intraoperativnih tkivnih vzorcev, vsakega s svojim kirurškim inštrumentom, da preprečimo možnost navzkrižne kontaminacije vzorcev. Površinski vzorci, kot so brisi ran ali brisi fistul, so neprimerni vzorci za mikrobiološke preiskave.

Vloga sonikacije odstranjenega osteosintetskega materiala pri okužbah, povezanih z zlomi, je manj raziskana, vendar se lahko izkaže za koristen dodatek pri mikrobiološki diagnostiki (3). V izogib lažno negativnim rezultatom kultivacije je priporočena ukinitvev antibiotičnega zdravljenja vsaj dva tedna pred odvzemom kliničnih vzorcev, kadar je to mogoče. Laboratorijski postopki (homogenizacija tkivnih vzorcev, sonikacija, trajanje in pogoji kultivacije) so podobni kot pri diagnostiki okužb umetnih sklepov. Zelo pomemben je tudi odvzem tkivnih vzorcev za histopatološko analizo, ki ima odlično potrditveno vrednost (17).

Rezultati analize sonikacij umetnih sklepov in osteosintetskega materiala

Opravili smo retrospektivno analizo mikrobioloških rezultatov, pridobljenih iz mikrobiološkega informacijskega sistema MBL (Infonet, Naklo) Inštituta za mikrobiologijo in imunologijo (Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani) in Centra za medicinsko mikrobiologijo, NLZOH (lokaciji Maribor in Koper). Podatke smo obdelali s pomočjo programa Kocka K27 (Infonet, Naklo) in Qqlikview (Qlik, ZDA) ter s statističnim programom Microsoft Excel. Analiza je zajemala obdobje petih let od 1. 1. 2020 do 31. 12. 2024, pri čemer smo obravnavali število opravljenih sonikacij, delež negativnih in pozitivnih vzorcev, pogostnost

bakterijskih izolatov ter kumulativne antibiogrami za najpogostejše patogene. V analizo so bili vključeni vzorci, pri katerih je bila opravljena sonikacija (vsadki, osteosintetski material, proteze, umetni in kirurški materiali) iz travmatoloških in ortopedskih kirurških oddelkov UKC Ljubljana, UKC Maribor, Ortopedske bolnišnice Valdoltra, Splošne bolnišnice Jesenice, Splošne bolnišnice Slovenj Gradec, Splošne bolnišnice Murska Sobota, Splošne bolnišnice Ptuj in Splošne bolnišnice Dr. Franca Derganca Nova Gorica ter določenih zasebnih kirurških klinik iz Osrednjeslovenske regije.

V petletnem obdobju je bilo opravljenih skupno 3618 sonikacij umetnih sklepov in osteosintetskega materiala: 631 v NLZOH Maribor, 924 v NLZOH Koper in 2063 na Inštitutu za mikrobiologijo in imunologijo. Število in delež negativnih rezultatov preiskave sta bila 351/631 (55,6 %) pri vzorcih, obdelanih v Mariboru, 612/924 (66,2 %) pri vzorcih, obdelanih v Kopru in pri 1030/2063 (50 %) pri vzorcih, obdelanih v Ljubljani. Pozitivne rezultate smo zaznali pri 280 (44,4 %) bolnikih v Mariboru, 312 (33,8 %) bolnikih v Kopru in pri 1033 (50 %) bolnikih v Ljubljani.

V preglednici 1 so po posameznih letih prikazani skupno število opravljenih sonikacij ter število in deleži negativnih ter pozitivnih rezultatov preiskav. Kot pozitiven rezultat preiskave smo upoštevali vse primere, kjer je porasel katerikoli izolat, vključno z izolati, ki so porasli v številu, nižjem od 50 CFU/ml, in izolati, ki so porasli iz tekočih obogatitvenih gojišč ali iz hemokulturnih stekleničk.

Preglednica 1. Število in odstotek opravljenih sonikacij umetnih sklepov in osteosintetskega materiala po laboratorijih v obdobju 2020–2024.

LABORATORIJ	Leto	Število pozitivnih sonikacij (%)	Število negativnih sonikacij (%)	Vsota
NLZOH Mb	2020	39 (39,8)	59 (60,2)	98
	2021	62 (43,1)	82 (56,9)	144
	2022	70 (50,7)	68 (49,3)	138
	2023	53 (42,4)	72 (57,6)	125
	2024	56 (44,4)	70 (55,6)	126
	Vsota	280 (44,37)	351 (55,63)	631
NLZOH Kp	2020	46 (37,8)	76 (62,2)	122
	2021	47 (35,4)	86 (64,6)	133
	2022	70 (34,9)	131 (65,1)	201
	2023	67 (30,1)	156 (69,9)	223
	2024	82 (33,5)	163 (66,5)	245
	Vsota	312 (33,8)	612 (66,2)	924
IMI	2020	197 (47,8)	215 (52,2)	412
	2021	171 (48,6)	181 (51,4)	352
	2022	200 (48)	216 (52)	416
	2023	232 (52,6)	209 (47,4)	441
	2024	233 (52,7)	209 (47,3)	442
	Vsota	1033 (50)	1030 (50)	2063

V vseh treh laboratorijih so bili najpogostejše izolirani *S. aureus*, *S. epidermidis* in *C. acnes*, kar je skladno s pričakovanimi povzročitelji okužb, povezanih z umetnimi vsadki. Pri nekaterih bolnikih smo izolirali več kot enega povzročitelja. NLZOH Maribor je analiziral 389 izolatov, pri čemer je bil najpogostejši *S. aureus* (84 izolatov, 21,6 %), sledila sta mu *S. epidermidis* (67 izolatov, 17,2 %) in *C. acnes* (49 izolatov; 12,6 %). NLZOH Koper je obdelal 391 izolatov, najpogostejše so izolirali *S. aureus* (70 izolatov, 17,9 %), *S. epidermidis* (47 izolatov, 12 %) in *C. acnes* (39 izolatov, 9,9 %). Na IMI so identificirali 1547 izolatov, najpogostejše *S. aureus* (274, 17,7 %), *S. epidermidis* (234, 15,1 %) in *C. acnes* (154, 10 %). Ostali izolati – beta-hemolitični streptokoki, korinebakterije, enterokoki, po Gramu negativne bakterije in anaerobi so bili dokazani v nizkem številu. V preglednici 2 so predstavljeni pogostejši izolati in njihovi deleži za vse tri laboratorije.

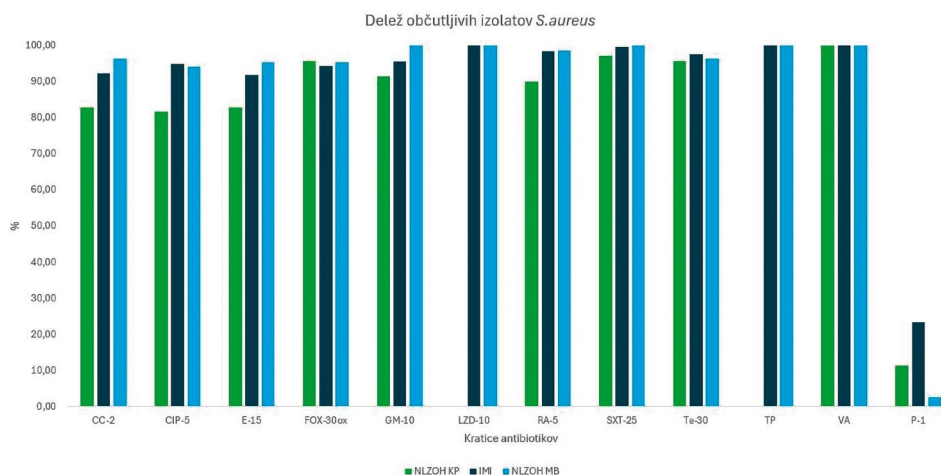
Preglednica 2. Število in deleži identificiranih izolatov pri preiskavi sonikacija, razporejeni po laboratorijih, v obdobju 2020–2024.

Izolat	NLZOH Mb		NLZOH Kp		IMI	
	N (število izolatov)	Odstotek (%)	N (število izolatov)	Odstotek (%)	N (število izolatov)	Odstotek (%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	84	21,6	70	17,9	274	17,7
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	67	17,2	47	12	234	15,1
<i>Cutibacterium acnes</i>	49	12,6	39	9,9	154	10,0
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	9	2,3	16	4,1	38	2,5
KNS*	30	7,7	43	11	291	18,8
<i>Corynebacterium</i> spp.	8	2,0	10	2,5	54	3,5
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	12	3,1	25	6,4	23	1,5
<i>Streptococcus agalactiae</i>	7	1,8	18	4,6	24	1,6
<i>Enterococcus faecalis</i>	14	3,6	8	2	28	1,8
<i>Enterococcus faecium</i>	2	0,5	2	0,5	8	0,5
<i>Escherichia coli</i>	9	2,3	5	1,2	25	1,6
<i>Klebsiella</i> spp.	6	1,5	3	0,8	10	0,6
<i>Proteus mirabilis</i>	8	2,1	7	1,8	10	0,6
<i>Enterobacter cloacae</i> complex	13	3,3	7	1,8	39	2,5
<i>Serratia marcescens</i>			6	1,5	9	0,6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11	2,8	4	1	34	2,2
Po Gramu pozitivni anaerobi	25	6,4	31	7,9	116	7,5
Po Gramu negativni anaerobi	6	1,5	2	0,5	28	1,8
Glive (<i>C. albicans</i> , <i>C. parapsilosis</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. fabianii</i> , <i>C. haemulonii</i>)	3	0,7	0	0	6	0,4

* KNS – koagulazno negativni stafilokoki (*S. capitis*, *S. caprae*, *S. hominis*, *S. cohnii*, *S. piscifermentans*, *S. simulans*, *S. haemolyticus*, *S. warneri*, *S. xylosus*, *S. pettenkoferi*, *S. saccharolyticus*, *S. sciuri*, *S. condimenti*, *S. massiliensis*, *S. petrasii*)

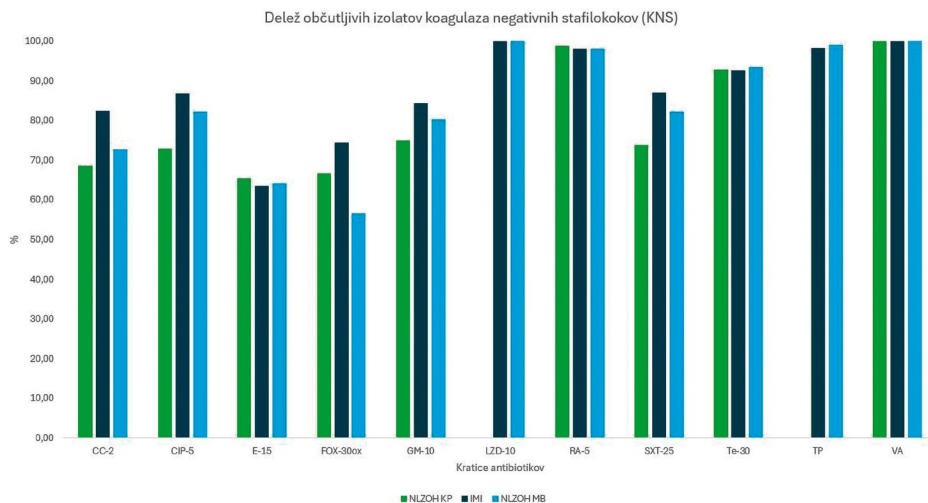
Analizirali smo kumulativne antibiogramе za *S. aureus*, *S. epidermidis* in celovito za KNS (koagulazno negativni stafilokoki) v petletnem obdobju 2020–2024. Občutljivost izolatov *S. aureus* je prikazana na sliki 1.

Slika 1. Kumulativni antibiogram za *S. aureus* (NLZOH Mb, NLZOH Kp, IMI)



Legenda antibiotikov: CC-klindamicin, CIP-ciprofloksacin, E-eritromicin, FOX -cefoksitin, GM-gentamicin, LZD-linezolid, RA-rifampicin, SXT-trimetoprim/sulfametoksazol, Te-tetraciklin, TP-teikoplanin, VA-vankomicin, P-penicilin

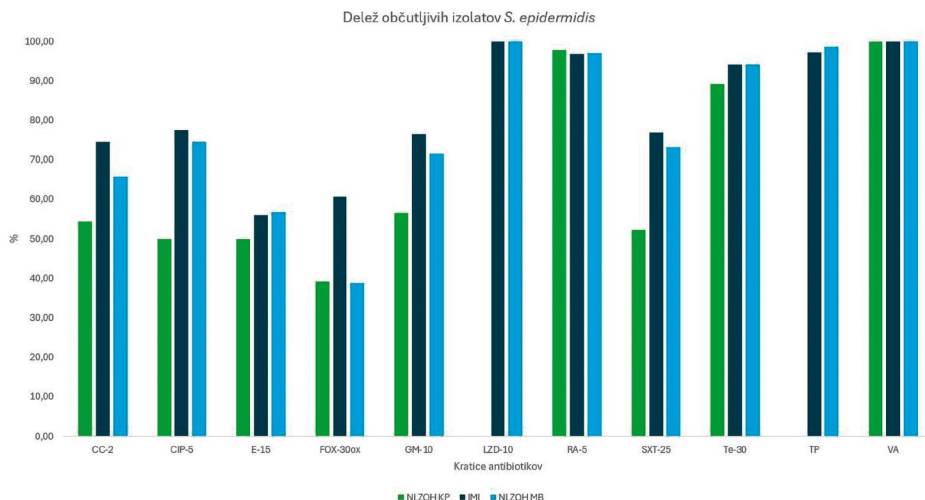
Za *S. aureus* je razvidna visoka občutljivost za večino testiranih antibiotikov. Glikopeptidni antibiotiki (vankomicin, teikoplanin) in linezolid so bili pri vseh izolatih občutljivi. Pri cefoksitinu, rifampicinu, trimetoprim/sulfametoksazolu, eritromicinu, tetraciklinu in aminoglikozidih se pri nekaterih izolatih pojavlja odpornost, a so bili občutljivi v $\geq 95\%$. V petletnem obdobju smo izolirali 4 izolate MRSA (proti metilcinu odporen *S. aureus*) v NLZOH Maribor, 3 MRSA v NLZOH Koper in 14 MRSA na IMI. Za zdravljenje okužb z MSSA (za metilcin občutljiv *S. aureus*) so primerni flukloksacilin, rifampicin, trimetoprim/sulfametoksazol, medtem ko so za MRSA primerni glikopeptidni antibiotiki (vankomicin, teikoplanin) in linezolid. Za zdravljenje okužb s prisotnostjo biofilma se pri teh izolatih priporoča kombinacija vankomicina in rifampicina. Kumulativni antibiogram kaže stabilno občutljivost sevov *S. aureus* za ključne antibiotike, bolj pozorni moramo biti le pri uporabi fluorokinolonov (npr. ciprofloksacin), kjer je odpornost nekoliko višja (5,9%). Uporaba antibiotikov mora biti, kljub dobri občutljivosti *S. aureus* za testirane antibiotike, prilagojena antibiogramu, da je izbrana najbolj optimalna terapija in da se prepreči nadaljnje širjenje odpornosti.

Slika 2. Občutljivost koagulazno negativnih stafilokokov – KNS (NLZOH Mb, NLZOH Kp, IMI)

Legenda antibiotikov: CC-klindamicin, CIP-ciprofloksacin, E-eritromicin, FOX -cefoksitin, GM-gentamicin, LZD-linezolid, RA-rifampicin, SXT-trimetoprim/sulfametoksazol, Te-tetraciklin, TP-teikoplanin, VA-vankomicin, P-penicilin

Pri koagulazno negativnih stafilokokih (slika 2) po pričakovanju opazimo večjo odpornost proti antibiotikom kot pri *S. aureus*. Vsi izolati KNS so bili občutljivi za glikopeptidne antibiotike (z nekaj redkimi izjemami, odpornimi proti teikoplaninu) in linezolid, kar pomeni, da ti predstavljajo najboljšo izbiro za zdravljenje okužb z večkratno odpornimi sevi KNS. Med antibiotiki z visoko občutljivostjo ($\geq 90\%$) izstopata tetraciklin (93,4 %) in rifampicin (98,1 %), ki sta lahko uporabna pri zdravljenju okužb vsadkov. Odpornost proti betalaktamskim antibiotikom je pričakovano visoka, cefoksitin je bil občutljiv le v 56,6 % primerov KNS. Prav tako je odpornost proti eritromicinu (35,8 %) in klindamicinu (27,4 %) precej visoka, kar omejuje njuno uporabo. Fluorokinoloni (ciprofloksacin) in aminoglikozidi (gentamicin) so srednje učinkoviti, saj je odpornih 17–20 % sevov KNS.

Slika 3. Občutljivost *S. epidermidis* (NLZOH Mb, NLZOH Kp, IMI)



Legenda antibiotikov: CC-klindamicin, CIP-ciprofloksacin, E-eritromicin, FOX-cefoksitin, GM-gentamicin, LZD-linezolid, RA-rifampicin, SXT-trimetoprim/sulfametoksazol, Te-tetraciklin, TP-teikoplanin, VA-vankomicin, P-penicilin

Ker ima *S. epidermidis* med izolati KNS posebno mesto, saj je druga najpogostejša bakterija, ki jo identificiramo pri okužbah umetnih vsadkov, smo zanj naredili ločeno analizo občutljivosti. Vsi izolati *S. epidermidis* so bili občutljivi za glikopeptidne antibiotike (z redkimi izjemami, odpornimi proti teikoplaninu) in linezolid, kar pomeni, da ti antibiotiki predstavljajo najboljšo izbiro za zdravljenje okužb, povzročenih s *S. epidermidis*. Podobno kot pri celovitih antibiogramih koagulazno negativnih stafilokokov smo opazili ≥ 90 % občutljivost rifampicina (99 %) in tetraciklina (94 %), ki se lahko uporabljata pri zdravljenju okužb umetnih vsadkov, pri katerih je prisoten biofilm. Odpornost proti betalaktamskim antibiotikom je visoka, proti cefoksitinu je odpornih 40–60 % izolatov. Za makrolide, fluorokinolone in aminoglikozide je delež občutljivih izolatov < 80 %, kar omejuje njihovo uporabo.

OKUŽBE NEVROKIRURŠKIH VSADKOV

Vsadki v nevrokirurgiji zajemajo notranje ventrikularne drenaže (ventrikulo-peritonealne, ventrikulo-pleuralne, ventrikulo-atrijske drenaže), zunanje ventrikularne drenaže, črpalke za intratekalno aplikacijo zdravil, elektrode za globoko možgansko stimulacijo ter kostne nadomestke (umetna kost). Najpogostejši mehanizem okužbe je kolonizacija vsadka med operativnim posegom, drugi mehanizmi okužbe pa so hematogeno širjenje, prenos preko kože (punkcije drenažnih rezervoarjev, erozija kože nad podkožnimi deli sistemov). Pri drenažah je možna tudi retrogradna okužba, ki izvira iz distalnega dela vsadka (18). Najpogostejši povzročitelji okužb nevrokirurških vsadkov so stafilokoki, predvsem *S. aureus* v približno 50 % in *S. epidermidis* v 20 %, sledi *C. acnes* v 5 %, medtem ko so streptokoki in po Gramu negativne bakterije redkeje identificirani povzročitelji (12). Incidenca okužb nevrokirurških vsadkov je odvisna od vrste vsadka; pri notranjih ventrikularnih drenažah znaša manj kot 4 %, zunanjih

ventrikularnih drenažah do 22 %, intratekalnih črpalkah 3,6–20 % in elektrodah globokih možganskih jeder 0,6–14,3 % (18).

Diagnostika okužb nevrokirurških vsadkov je zahtevna, značilni znaki in simptomi niso zmeraj prisotni, takrat si pomagamo tudi z drugimi preiskavami, kot so biokemične in mikrobiološke preiskave likvorja ter slikovna diagnostika (18). Na okužbo nevrokirurškega vsadka pomislimo ob vsakem novem glavobolu, spremembi mentalnega statusa, bruhanju, lokalnih znakih vnetja nad podkožnimi deli sistemov in vročini, za katero ne najdemo drugega vzroka. Pri notranjih drenažah se lahko okužba kaže tudi z vnetjem v distalnem delu sistema (peritonitis, plevritis). Običajno je v likvorju prisotno povišano število levkocitov, povišani proteini in znižana glukoza, vendar tudi normalen likvorski izvid ne izključuje okužbe nevrokirurškega vsadka. Pri diagnozi si dodatno pomagamo tudi z vrednostmi laktata in PCT v likvorju (18).

Mikrobiološka diagnostika okužb nevrokirurških vsadkov

Priporoča se aspiracija likvorja neposredno iz likvorskega obvoda za mikroskopski preparat, obarvan po Gramu, in kultivacija (12). Likvor je potrebno odvzeti pred začetkom antibiotične terapije. Rutinska kultura iz komponent odstranjenih likvorskih obvodov ali drenov ni potrebna, razen če obstaja klinični sum na okužbo centralnega živčnega sistema (12, 18).

Ponovitev kulture likvorja je smiselna pri bolnikih s prvotno negativnimi kulturami, pri katerih obstaja klinični sum na okužbo. Pri sumu na okužbo ventrikuloatrijskega obvoda ali pri sumu na meningitis je potrebno odvzeti tudi najmanj dva para hemokulturnih stekleničk (12, 18). Sonikacija je lahko v pomoč pri diagnostiki predvsem pri odstranitvi velikih nevrokirurških vsadkov, pa tudi likvorskih obvodov ali zunanjih ventrikularnih drenov, pri kateri se priporoča podaljšana kultivacija do 14 dni (12, 19, 20).

Uporaba molekularnih testov za diagnozo okužb nevrokirurških vsadkov zahteva nadaljnje študije. Mikroorganizmi, vključeni v panel BioFire Meningitis/Encefalitis, se ne ujemajo dobro s patogeni, ki povzročajo okužbe nevrokirurških vsadkov, kot uporabna dopolnilna diagnostika pa se je izkazal širokospektralni bakterijski PCR, s katerim so v eni od študij zaznali bakterijskega povzročitelja v skoraj 50 % primerov, kjer je bila kultura negativna (21).

ZDRAVLJENJE OKUŽB VSADKOV

Najbolj optimalne uspehe pri zdravljenju okužb vsadkov dosežemo s kombinacijo operativnega in protimikrobnega zdravljenja. Izbira protimikrobnega je v začetku izkustvena ter prilagojena lokalni epidemiologiji in morebitnim individualnim tveganjem za okužbo z odpornimi mikroorganizmi. V večini primerov pričnemo zdravljenje s kombinacijo vankomicina in betalaktamskega antibiotika z aktivnostjo proti *Pseudomonas aeruginosa*. Izjemno pomembna je izvedba mikrobiološke diagnostike, saj po identifikaciji povzročitelja preidemo na najbolj optimalno usmerjeno antibiotično terapijo. Dolžina zdravljenja in izbor antibiotikov sta odvisna od kirurškega plana. V kolikor je vsadek zamenjan ali ostane *in situ*, zdravimo z antibiotiki, ki delujejo proti biofilmu, običajno 12 tednov; v primeru odstranitve vsadka pa lahko zdravimo krajši čas, odvisno od mesta okužbe (5, 20, 22, 23). V kliničnih in *in vitro* raziskavah imamo največ podatkov o delovanju proti biofilmu za rifampicin (deluje proti stafilokoknim biofilmom) in fluorokinolone (delujejo proti biofilmom po Gramu negativnih bakterij) (24). Pri zdravljenju okužb vsadkov je pomembno tudi to, da za zdravljenje izberemo protimikrobna zdravila z dobrim

prodiranjem v tkiva, ki jih zdravimo (tj. v kost pri zdravljenju ortopedskih vsadkov in osrednje živčevje v primeru nevrokirurških vsadkov). Zahvaljujoč raziskavi OVIVA, ki je pokazala primerljive rezultate med skupinami bolnikov z osteoartikularnimi okužbami (z ali brez vsadkov), ki so prejeli parenteralno ali peroralno antibiotično terapijo, sodobni protokoli predvidevajo prehod na peroralno zdravljenje okužb kosti in sklepov in ortopedskih vsadkov že po 1–2 tednih parenteralne terapije (25). Stalnica zdravljenja okužb vsadkov v ortopediji in travmatologiji je tudi lokalna aplikacija antibiotikov. V nevrokirurgiji se lokalne aplikacije (intratekalno) protimikrobnih zdravil poslužujemo v primerih okužbe z večkratno odpornimi povzročitelji (18, 26).

Okužbe vsadkov v ortopediji in travmatologiji v osnovi delimo na zgodnje (< 4 tedne po operativnem posegu) in pozne (> 4 tedne po operativnem posegu); posebna entiteta so hematogene okužbe, ki se lahko pojavijo kadarkoli po posegu in imajo običajno akutni potek (5). Pri zdravljenju okužb sklepnih protez se ponavadi odločamo med tremi možnimi strategijami: enostopenjsko menjavo proteze, dvostopenjsko menjavo ali pa ohranitev proteze s temeljito nekrektomijo in protimikrobnim zdravljenjem (DAIR - debridement, antimicrobial therapy, and implant retention). Odločitev za vrsto strategije se praviloma sprejme pred operativnim posegom, odvisna pa je od splošnega stanja bolnika, trajanja okužbe, stanja mehkih tkiv nad sklepom, povzročitelja (v kolikor je ta znan) in njegove protimikrobne občutljivosti, pričakovanega postoperativnega funkcionalnega izida ter želja in pričakovanj bolnika.

Popolno eradikacijo okužbe najlažje dosežemo z odstranitvijo vsadka, kar pa velikokrat vodi v slabši funkcionalni izid. Ohranitev vsadka (z ali brez menjave mobilnih delov) z nekrektomijo (DAIR) je tehnično manj zahtevna, vendar učinkovita samo, kadar so izpolnjeni naslednji pogoji: gre za zgodnjo ali hematogeno okužbo, kjer znaki in simptomi okužbe trajajo manj kot 3 tedne, gre za stabilen vsadek z dobro ohranjenostjo mehkih tkiv, in okužbo s patogenom, kjer lahko za zdravljenje izberemo antibiotike, ki delujejo proti biofilmu. Meja 3 tednov je postavljena na podlagi *in vitro* raziskav biofilmov, ki kažejo, da je znotraj tega časovnega okvirja biofilm še v zgodnji fazi nastanka, ko lahko nanj delujemo s protimikrobnimi zdravili (5). Zdravljenje kroničnih okužb z DAIR praviloma ni učinkovito, v teh primerih je potrebna menjava ali odstranitev proteze. Ostale možnosti zdravljenja, ki dajejo slabše končne rezultate, so artrodeza, amputacija ali pa supresivna antibiotična terapija v primerih, ko bolnik zavrača operativni poseg oz. zanj ni sposoben.

Principi zdravljenja okužb osteosintetskega materiala v travmatologiji so v osnovi enaki kot pri zdravljenju sklepnih protez, vendar je pri njihovi obravnavi potrebno upoštevati še vidik zdravljenja zloma. Stabilnost v področju zloma omogoča nastanek kostnega kalusa in je predpogoj za zdravljenje okužbe. V primeru nestabilnosti namreč prihaja do poškodbe okolnih mehkih tkiv s spodbujanjem lokalnega vnetja in nastanka hematov, prav tako je motena neovaskularizacija, kar zmanjšuje prodiranje sistemskih antibiotikov in imunskih celic v področje okuženega zloma, zaradi osteolize pa prihaja še do dodatnega omajanja osteosintetskega materiala (27).

Tudi pri zdravljenju nevrokirurških vsadkov velja, da najboljše izide dosežemo s kombinacijo kirurškega in protimikrobnega zdravljenja. Objavljenih algoritmov zdravljenja je malo, večinoma se svetuje odstranitev vsadkov oz. njihova zamenjava (18, 26, 28). Zlasti pri bolnikih, ki potrebujejo likvorsko drenažo, je po odstranitvi notranje okužene drenaže prehodno potrebno vstaviti zunanjo ventrikularno drenažo. Trajanje zdravljenja okužbe ventrikularne drenaže je odvisno od povzročitelja; pred vstavitvijo nove notranje drenaže uspešnost zdravljenja preveri-

mo z odvzem kontrolnih kultur, ki morajo ostati negativne (18). Za ostale vrste nevrokirurških vsadkov (elektrode za globoko možgansko stimulacijo, umetne kosti) se svetuje odstranitev. V literaturi je opisanih nekaj primerov, kjer je bilo zdravljenje uspešno z ohranitvijo vsadka, šlo je za zgodnje okužbe, pri katerih so se poslužili zdravljenja z antibiofilmskimi antibiotiki v skupnem trajanju 12 tednov (28).

Zaradi izjemno zahtevne obravnave okužb vsadkov je uspeh odvisen od sodelovanja specialistov različnih strok. V svetu in tudi pri nas so se (bodisi formalno bodisi neformalno) v zadnjih desetletjih razvili timi strokovnjakov, ki s skupnimi močmi obravnavajo okužbe vsadkov. V timu običajno sodelujejo kirurgi, infektologi, klinični mikrobiologi, radiologi, patohistologi in drugi zdravstveni delavci. Podatki v literaturi kažejo na boljše izide zdravljenja z multidisciplinarnim pristopom, saj je odločitev o obravnavi bolnika sprejeta znotraj kroga strokovnjakov s specifičnimi znanji in izkušnjami (29). V kolikor je v proces odločanja aktivno vključen tudi bolnik, je izplen strokovna obravnava, prilagojena bolniku.

Obravnava bolnikov z okužbami vsadkov v Sloveniji ob skupnih naporih kirurgov, infektologov in kliničnih mikrobiologov sledi trendom sodobne medicine. Prepoznana je bila potreba po povezovanju in skupnem delu, kljub temu pa ostaja še veliko prostora za izboljšanje, kot so formalizacija multidisciplinarnih timov, nacionalne in lokalne klinične smernice za obravnavo okužb vsadkov in pa seveda registri tovrstnih okužb, ki omogočajo sledenje trendom okužb, analizo intervencij in primerjavo z domačimi in tujimi centri. V kolikor je možno, je potrebno zdravljenje prilagoditi specifični bolnikovi situaciji in v analize uspehov zdravljenja vključiti tudi postoperativne kazalnike kakovosti življenja bolnikov, ki jim je ta obravnava namenjena.

ZAKLJUČEK

Sodobna obravnava okužb vsadkov zahteva multidisciplinarno obravnano bolnikov. Za optimizacijo protimikrobnega zdravljenja je nujno potrebna mikrobiološka diagnostika. Kultura tkivnih vzorcev in sonikacijske tekočine ostaja zlati standard, že zdaj pa pomoč nudijo tudi novejša molekularne metode. Analiza sonikacij treh slovenskih laboratorijev je pokazala rezultate, skladne z mednarodno literaturo.

REFERENCE

1. Arciola CR, Campoccia D, Montanaro L. Implant infections: adhesion, biofilm formation and immune evasion. *Nat Rev Microbiol.* 2018; 16 (7): 397-409.
2. Triffault-Fillit C, Ferry T, Laurent F, Pradat P, Dupieux C, Conrad A, et al. Microbiologic epidemiology depending on time to occurrence of prosthetic joint infection: a prospective cohort study. *Clin Microbiol Infect.* 2019; 25 (3): 353-8.
3. Depypere M, Morgenstern M, Kuehl R, Senneville E, Moriarty TF, Obremskey WT, et al. Pathogenesis and management of fracture-related infection. *Clin Microbiol Infect.* 2020; 26 (5): 572-8.
4. Thompson E, Qureshi A. Pathogens in FRI - Do bugs matter? - An analysis of FRI studies to assess your enemy. *J Orthop.* 2024; 12:53:59-72. doi: 10.1016/j.jor.2024.02.011.
5. Sigmund IK, Ferry T, Sousa R, Soriano A, Metsemakers WJ, Clauss M, et al. Debridement, antimicrobial therapy, and implant retention (DAIR) as curative strategy for acute periprosthetic hip and knee infections: a position paper of the European Bone & Joint Infection Society. *J Bone Jt Infect.* 2025; 10: 101-38.

-
6. McNally M, Sousa R, Wouthuyzen-Bakker M, Chen AF, Soriano A, Vogely HC, et al. The EBJIS definition of periprosthetic joint infection. *Bone Joint J*. 2021; 103 B(1): 18-25.
 7. Govaert GAM, Kuehl R, Atkins BL, Trampuz A, Morgenstern M, Obremskey WT, et al. Diagnosing fracture-related infection: current concepts and recommendations. *J Orthop Trauma*. 2020; 34 (1): 8-17.
 8. Trampuz A, Piper KE, Jacobson MJ, Hanssen AD, Unni KK, Osmon DR, et al. Sonication of removed hip and knee prostheses for diagnosis of infection. *N Engl J Med*. 2007; 357 (7): 654-63.
 9. Izakovicova P, Borens O, Trampuz A. Periprosthetic joint infection: current concepts and outlook. *EFORT Open Rev*. 2019; 4 (7): 482-94.
 10. Li C, Renz N, Trampuz A, Ojeda-Thies C. Twenty common errors in the diagnosis and treatment of periprosthetic joint infection. *Int Orthop*. 2020; 44 (1): 3-14.
 11. Kummer A, Tabin UF, Borens O. Effect of Sonication on the Elution of Antibiotics from Polymethyl Methacrylate (PMMA). *J Bone Jt Infect*. 2017; 2 (4): 208-12.
 12. Azad MA, Patel R. Practical Guidance for Clinical Microbiology Laboratories: Microbiologic diagnosis of implant-associated infections. *Clin Microbiol Rev*. 2024; 37 (2): e0010423.
 13. Portillo ME, Salvadó M, Trampuz A, Siverio A, Alíer A, Sorli L, et al. Improved diagnosis of orthopedic implant-associated infection by inoculation of sonication fluid into blood culture bottles. *J Clin Microbiol*. 2015; 53 (5): 1622-7.
 14. Peel TN, Spelman T, Dylla BL, Hughes JG, Greenwood-Quaintance KE, Cheng AC, et al. Optimal periprosthetic tissue specimen number for diagnosis of prosthetic joint infection. *J Clin Microbiol*. 2017; 55: 234–243.
 15. Pascual S, Noble B, Ahmad-Saeed N, Aldridge C, Ambretti S, Amit S, et al. Potential value of a rapid syndromic multiplex PCR for the diagnosis of native and prosthetic joint infections: a real-world evidence study. *J Bone Jt Infect*. 2024; 9 (1): 87-97.
 16. Olearo F, Zein SE, Portillo ME, Zapf A, Rohde H, Barbari EF, et al. Diagnostic accuracy of 16S rDNA PCR, multiplex PCR and metagenomic next-generation sequencing in periprosthetic joint infections: a systematic review and meta-analysis. *Clin Microbiol Infect*. 2025; S1198-743X(25)00083-7. doi: 10.1016/j.cmi.2025.02.022.
 17. Morgenstern M, Kühl R, Eckardt H, Acklin Y, Stanic B, Garcia M, et al. Diagnostic challenges and future perspectives in fracture-related infection. *Injury*. 2018 ; 49 Suppl 1: S83-S90.
 18. Tunkel AR, Hasbun R, Bhimraj A, Byers K, Kaplan SL, Scheld WM, et al. 2017 Infectious Diseases Society of America's clinical practice guidelines for healthcare-associated ventriculitis and meningitis. *Clin Infect Dis*. 2017; 64: e34–e65.
 19. Apostolakis S. Use of Focused Ultrasound (Sonication) for the Diagnosis of Infections in Neurosurgical Operations: A Systematic Review and Meta-Analysis. *World Neurosurg*. 2020; 136: 364-73. e2.
 20. Conen A, Raabe A, Schaller K, Fux CA, Vajkoczy P, Trampuz A. Management of neurosurgical implant-associated infections. *Swiss Med Wkly*. 2020; 150: w20208.
 21. Banks JT, Bharara S, Tubbs RS, Wolff CL, Gillespie GY, Markert JM, et al. Polymerase chain reaction for the rapid detection of cerebrospinal fluid shunt or ventriculostomy infections. *Neurosurgery*. 2005; 57: 1237–43.
 22. Tai DBG, Patel R, Lovecchio F, Kwee T, Wouthuyzen-Bakker M. State-of-the-art review: Diagnosis and management of spinal implant infections. *Clin Infect Dis*. 2024; 79 (6): e65-71.
 23. Depypere M, Kuehl R, Metsemakers WJ, Senneville E, McNally MA, Obremskey WT, et al. Recommendations for systemic antimicrobial therapy in fracture-related infection: A consensus from an international expert group. *J Orthop Trauma*. 2020; 34 (1): 30-41.
-

24. Senneville E, Gachet B, Blondiaux N, Robineau O. Do anti-biofilm antibiotics have a place in the treatment of diabetic foot osteomyelitis? *Antibiotics*. 2023; 12 (2): 317.
25. Li HK, Rombach I, Zambellas R, Walker AS, McNally MA, Atkins BL, et al. Oral versus intravenous antibiotics for bone and joint infection. *N Engl J Med*. 2019; 380 (5): 425-36.
26. Hussein K, Bitterman R, Shofty B, Paul M, Neuberger A. Management of post-neurosurgical meningitis: narrative review. *Clin Microbiol Infect*. 2017; 23 (9): 621-8.
27. Foster AL, Moriarty TF, Zalavras C, Morgenstern M, Jaiprakash A, Crawford R, et al. *Injury*. 2021; 52 (1): 43-52.
28. Renz N, Özdirik B, Finger T, Vajkoczy P, Trampuz A. Infections after cranial neurosurgery: Prospective cohort of 103 episodes treated according to a standardized algorithm. *World Neurosurg*. 2018; 116: e491-9.
29. Ferguson J, Alexander M, Bruce S, O'Connell, Beecroft S, McNally M. A retrospective cohort study comparing clinical outcomes and healthcare resource utilisation in patients undergoing surgery for osteomyelitis in England: a case for reorganising orthopaedic infection services. *J Bone Jt Infect*. 2021; 6 (5): 151-63.

DIAGNOSTIČNI ALGORITMI IN ZDRAVLJENJE PRI OKUŽBAH, POVEZANIH Z OSREDNJIMI ŽILNIMI KATETRI

DIAGNOSTIC ALGORITHMS AND TREATMENT OF INFECTIONS ASSOCIATED WITH CENTRAL VENOUS CATHETERS

Matej Mavrič¹, Ivana Velimirović², Davor Petek³, Mateja Logar^{1, 4, 5}

¹Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja, UKC Ljubljana

²Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

³Oddelek za infekcijske bolezni in vročinska stanja, UKC Maribor

⁴Služba za preprečevanje in obvladovanje bolnišničnih okužb, UKC Ljubljana

⁵Katedra za infekcijske bolezni in epidemiologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

IZVLEČEK

Okužbe, povezane z osrednjimi žilnimi katetri (angl. *Catheter-related Bloodstream Infections*, CRBSI), so pomemben vzrok bolnišničnih okužb z visoko smrtnostjo in stroški zdravljenja. Klinični znaki okužbe so pogosto nezanesljivi, zato je za potrditev diagnoze ključna mikrobiološka diagnostika, ki vključuje odvzem hemokultur iz periferne vene in žilnega katetra ter kultura konice žilnega katetra. Pri zdravljenju je pomembna zgodnja uvedba izkustvenega antibiotika, ki deluje proti vsem pričakovanim povzročiteljem, žilni kateter pa praviloma odstranimo. Ohranitev katetra je možna pri nezapletenih okužbah in stabilnih bolnikih, ob sočasni uporabi t. i. antibiotične kopeli (*Antibiotic Lock Therapy*, ALT). Pri tem je potrebno upoštevati določene posebnosti glede na povzročitelja okužbe.

Ključne besede: okužbe, osrednji žilni kateter, diagnostika, zdravljenje

ABSTRACT

Catheter-related bloodstream infections (CRBSI) are a significant cause of hospital-acquired infections, with high mortality and treatment costs. Clinical signs of infection are often unreliable, making microbiological diagnostics crucial. This includes blood cultures from both peripheral veins and the catheter, as well as catheter tip cultures. Early initiation of empirical antibiotics targeting all expected pathogens is essential in treatment, and catheter removal is typically recommended. Retention of the catheter may be considered in uncomplicated infections and stable patients, with concurrent use of antibiotic lock therapy (ALT). The approach may vary depending on the specific pathogen involved.

Keywords: infections, central venous catheter, diagnostics, treatment

UVOD

Okužbe, povezane z osrednjimi žilnimi katetri (angl. *Catheter-related Bloodstream Infections*, CRBSI) so pomemben vzrok bolnišničnih okužb, in so povezane z visoko obolevnostjo in umrljivostjo bolnikov ter visokimi stroški zdravljenja. Lokalne in sistemske okužbe so najpo-

gostejši zaplet vstavitve osrednjega žilnega katetra (OŽK), njihova pogostnost pa je povezana s številnimi dejavniki, kot so vrsta katetra in namen njegove uporabe, mesto vstavitve, izkušnje in veščine zdravnika, ki vstavlja kateter, nega katetra po sami vstavitvi, koliko časa je kateter vstavljen, predvsem pa upoštevanje preventivnih ukrepov za preprečitev okužbe ob vstavitvi. V prispevku prikazujemo najnovejša spoznanja s področja diagnostike in zdravljenja CRBSI.

DIAGNOSTIKA OKUŽB, POVEZANIH Z OSREDNJI MI ŽILNIMI KATETRI

Okužbe žilnih katetrov najenostavneje delimo na nezapletene in zapletene okužbe; ločimo katetrsko kolonizacijo, lokalno okužbo (okužbo vbodnega mesta, tunela ali podkožnega porta) ter sistemske okužbe, med katere uvrščamo okužbe krvi, povezane z OŽK (angl. *Catheter-related Bloodstream Infections*, CRBSI), kjer lahko pride do septičnega šoka ali razvoja vnetnih žarišč (npr. endokarditis, osteomielitis, septični tromboflebitis), oziroma okužbe OŽK pri bolniku z imunsko motnjo. **Pri vsakem bolniku z vstavljenim žilnim katetrom in kliničnimi znaki vročine ali mrzlice ter drugimi sistemskimi znaki okužbe (tudi ob odsotnih lokalnih znakih) moramo ob izključenih drugih vnetnih žariščih pomisliti na možno okužbo žilnega katetra.** To še posebno velja za bolnike z znaki razvoja mikroorganizmov po krvi (npr. septični embolizmi po pljučih) ali persistentno in rekurentno bakteriemijo z mikroorganizmi, ki so del normalne kožne mikrobiote. Pri tem je potrebno poudariti, da imajo klinični znaki slabo napovedno vrednost za okužbo žilnega katetra, zato imajo v diagnostiki pomembno vlogo mikrobiološke preiskave (1, 2). Temelj mikrobiološke diagnostike za potrditev CRBSI predstavlja dokaz bakteriemije (prisotnost bakterij v krvi bolnika) z metodo hemokultur. Pri vsakem bolniku s sumom na CRBSI je potrebno vzeti vsaj **dva para hemokultur hkrati**, po en par iz periferne vene in en par iz žilnega katetra, po možnosti pred uvedbo antibiotičnega zdravljenja (1, 2). Nekatere smernice pri katetrih z več lumni priporočajo odvzem hemokultur iz vsakega lumna žilnega katetra (1).

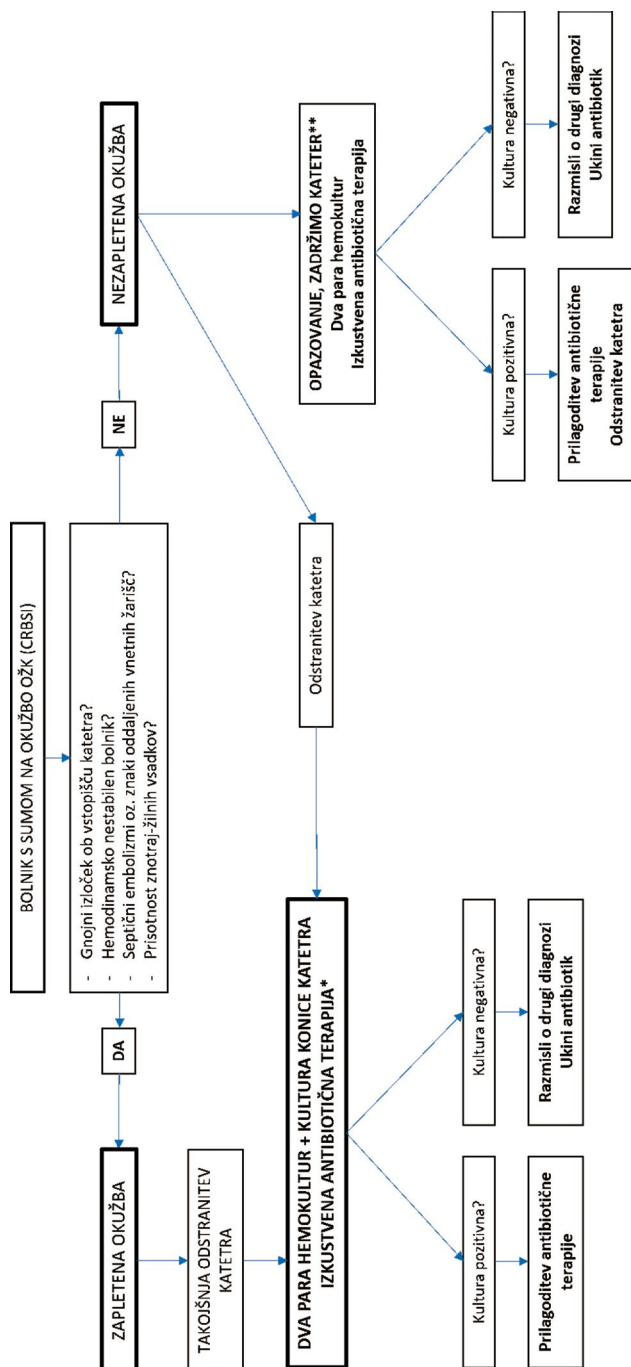
Diagnostični kriteriji za CRBSI so predstavljeni v *Tabeli 1*. Za potrditev diagnoze CRBSI je običajno potrebna odstranitev katetra za mikrobiološko preiskavo kulture konice žilnega katetra. Za kultivacijo žilnih katetrov uporabljamo metodo po Makiju, ki poleg odvzema hemokultur vključuje kultivacijo distalnega dela katetra (3–5 cm) po njegovi odstranitvi. Metoda kultivacije konice žilnega katetra je pol-quantitativna in temelji na valjanju konice katetra po krvnem agarju ter inkubaciji v bujonu. Kateter se smatra za kontaminiran ali le koloniziran, kadar na agarju po 48 urni inkubaciji poraste manj kot 15 kolonij. Če na agarju poraste 15 ali več kolonij, gre za verjetno okužbo. Omejitev metode je, da zaznava le mikroorganizme na zunanji površini katetra, ne pa tudi tistih znotraj lumna. O potrjeni okužbi krvi zaradi žilnega katetra (CLBSI) govorimo, v kolikor poraste isti mikroorganizem iz vsaj ene hemokulture periferno odvzete krvi in iz konice katetra, bolnik pa nima drugega jasnega septičnega žarišča. Čeprav je le 15 % CRBSI endoluminalnega izvora, obstajajo tudi metode za določanje prisotnosti mikroorganizmov v lumnu katetra, kot sta vorteksiranje in sonikacija katetra pred nacepitvijo. Kot mejna vrednost za pozitiven rezultat se uporablja več kot 1000 CFU/mL. Ker je kvantitativna obdelava izvedbeno zahtevna in obstaja možnost kontaminacije, je pol-quantitativna metoda kultivacije konice žilnega katetra pogostejše uporabljena v kliničnih mikrobioloških laboratorijih. (3, 4). V nedavnem pregledu literature in meta-analizi podatkov (45 raziskav, 11.232 bolnikov) so avtorji ugotovili, da sta celotna občutljivost in specifičnost med pol-quantitativnimi in kvantitativnimi metodami podobni

(85 in 85 % oz. 84 in 95 %), pri čemer so opažali veliko heterogenost podatkov (5). Konico katetra pošiljamo v mikrobiološko preiskavo le ob sumu na okužbo. Med odstranjevanjem katetra je potrebno čim bolj zmanjšati možnost kontaminacije z razkuževanjem kože. Če gre za povsem implantirani kateter, kultiviramo tudi vsebino rezervoarja (4). Diagnostični algoritem obravnave bolnika s sumom na CRBSI prikazuje Slika 1. Kadar katetra ne odstranimo, je možna posredna mikrobiološka diagnostika s pomočjo časa do pozitivnosti hemokultur (angl. *differential time to positivity*, DTP) in kvantitativnih hemokultur. DTP uporabljamo za prepoznavanje okužb krvi, povezanih z žilnimi katetri, predvsem z namenom preprečevanja njihovega nepotrebnega odstranjevanja. Čas do pozitivnosti predstavlja čas od vstavitve posamezne stekleničke v hemokulturni aparat do trenutka, ko aparat stekleničko prepozna kot pozitivno. Da bi lahko primerjali čas do pozitivnosti, se hkrati odvzame hemokulturi iz obeh odvzemnih mest, žilnega katetra in periferne vene. Če v obeh hemokulturah zraste isti mikroorganizem, pri čemer hemokultura iz katetra postane pozitivna več od 120 min prej kot tista iz periferne krvi, je verjetno prisotna okužba krvi, povezana z OŽK. (6). Razlika v času do pozitivnosti med obema hemokulturama več od 120 min ima po podatkih različnih raziskav visoko občutljivost in specifičnost za napoved CRBSI (72–100 %), kar pa ne drži za bakteriemijo, povzročeno s *Staphylococcus aureus* in *Candida* spp. (3–5). Omejitev metode predstavlja vpliv predanalitičnih dejavnikov, kot sta: volumen odvzete krvi in/ali čas od odvzema do inkubacije hemokulturnih stekleničk (7). Tretja možnost za potrditev diagnoze CLBSI je uporaba kvantitativnih hemokultur, ki temelji na razliki v številu poraslih kolonij iz parno odvzetih hemokultur. Če je število kolonij, poraslih v krvi, odvzeti iz katetra, vsaj trikrat večje kot v krvi iz periferne vene, gre verjetno za katetrsko okužbo. Za natančno določitev števila mikroorganizmov je treba uporabiti posebne sisteme za kvantitativno ali pol-kvantitativno kultivacijo krvi, zato metoda v večini mikrobioloških laboratorijev rutinsko ni v uporabi (3).

Tabela 1. Diagnostični kriteriji za okužbe, povezane z žilnimi katetri (povzeto po 8, 11)

Diagnostični kriteriji za CRBSI	
Potrjena okužba žilnega katetra	
Osamitev istega mikroorganizma iz:	
Hemokulture, odvzete iz periferne vene IN kvantitativne kulture konice žilnega katetra (> 15 CFU).	
ALI	
Hemokulture, odvzete iz periferne vene IN hemokulture, odvzete iz osrednjega žilnega katetra, kjer je slednja pozitivna več kot dve uri prej (DTP).	
ALI	
Kvantitativne hemokulture - število kolonij poraslih iz krvi, odvzeti iz katetra, vsaj trikrat večje kot v krvi, odvzeti iz periferne vene.	
Verjetna okužba žilnega katetra	
- Osamitev istega mikroorganizma iz hemokulture, odvzete iz periferne vene in hemokulture, odvzete iz osrednjega žilnega katetra, ki ne zadosti zgornjim kriterijem. IN - Povzročitelj je koagulaza-negativni stafilokok ali <i>Staphylococcus aureus</i> ali <i>Candida</i> spp. IN - Izključena so druga vnetna žarišča.	
Možna okužba žilnega katetra	
Osamitev mikroorganizma iz konice katetra (> 15 CFU) ali pri sonikaciji (> 1000 CFU) ob negativni hemokulturi IN prisotnost kliničnih znakov okužbe IN izključena druga vnetna žarišča.	
ALI	
Osamitev tipičnega mikroorganizma iz hemokulture (<i>Staphylococcus epidermidis</i>, <i>Staphylococcus aureus</i>, <i>Candida</i> spp.) IN upad vročine v manj kot 48 urah po odstranitvi katetra IN izključena druga vnetna žarišča.	

Slika 1. Diagnostični algoritem obravnave bolnika s sumom na okužbo, povezano z osrednjim žilnim katetrom (povzeto po 1, 2)



*Vankomicin 15-20 mg/kg vsakih 8-12 ur i. v. + antibiotik aktiven proti po Gramu negativnim bakterijam (npr. piperacilin/tazobaktam 4,5g vsakih 6 ur i. v.) ob dejavnih tveganja (npr. dolgotrajno zdravljenje v EIT, kolonizacija z GNB, femoralni kateter), glej tudi Tabela 2

**Kateter lahko ohranimo le pri bolnikih, ki niso v septičnem šoku, nimajo znotraj-žilnih vsadkov, okužbo pa povzročajo koagulaza-negativni stafilokoki (razen *S. lugdunensis*) ali po Gramu negativni bacili, občutljivi na antibiotike, ki jih uporabljajo za antibiotično kopel.

ZDRAVLJENJE

Pri sumu na CRBSI je potrebna čim prejšnja uvedba protimikrobnega zdravljenja, ki je usmerjeno proti stafilokokom (tako *S. aureus* kot koagulaza-negativni stafilokoki, KNS), še posebno pri bolnikih s sepsa ali septičnim šokom (1, 2, 8). Dodatek antibiotika, ki deluje proti po Gramu negativnim povzročiteljem, dodamo pri hemodinamsko nestabilnih bolnikih, bolnikih s hudo imunsko motnjo (npr. nevtropenija, hematološka maligna bolezen, stanje po presaditvi organov ali krvotvornih matičnih celic), dolgotrajnem zdravljenju v enoti za intenzivno zdravljenje oziroma velikem sumu na kolonizacijo s po Gramu negativnimi bacili, ter pri bolnikih, ki imajo vstavljen žilni kateter v femoralni veni. Pri izbiri upoštevamo lokalne smernice in epidemiološke razmere (uporabimo cefalosporin četrte generacije, piperacilin s tazobaktamom ali karbapenem, ki jih lahko kombiniramo z aminoglikozidom). O dodatku antimikotika je potrebno razmisliti pri bolnikih s hemodinamsko nestabilnostjo in dejavniki tveganja za invazivno glivno okužbo (npr. parenteralna prehrana, dolgotrajno zdravljenje s širokospektralnimi antibiotiki, maligna bolezen, kolonizacija z glivami rodu *Candida* na več mestih). Prednost imajo chinokandini (1, 2). Usmerjeno protimikrobno zdravljenje CRBSI prikazuje *Tabela 2*. Dolžina protimikrobnega zdravljenja je odvisna od povzročitelja okužbe, prisotnosti zapletov in dejavnikov na strani gostitelja. Medtem ko pri nezapletenih okužbah zadostuje krajše protimikrobno zdravljenje (3–5 dni), pa je potrebno zdravljenje pri zapletenih okužbah podaljšati (1, 2, 8, 10). Tako se priporoča vsaj 14-dnevno zdravljenje, če okužbo povzročajo *S. aureus* in *Candida* spp., v primeru oddaljenih ali lokalnih vnetnih žarišč (endokarditis, osteomielitis, septični tromboflebitis), pa je primerno dolgotrajno zdravljenje (vsaj 4–6 tednov) (9, 10). Izsledki nedavnega pregleda literature, kjer so vključili večinoma retrospektivne raziskave, niso pokazali pomembnih razlik v smrtnosti in relapsu okužb pri uporabi kratkotrajnega (3–7 dni) v primerjavi z dolgotrajnim protimikrobnim zdravljenjem bolnikov z nezapletenimi CRBSI, kjer so bile okužbe povzročene s koagulaza-negativnimi stafilokoki, enterokoki ali po Gramu negativnimi bakterijami (11). Pri bolnikih z nezapletenimi okužbami in ustrezno protimikrobno občutljivostjo, pri katerih smo žilni kateter odstranili in izključili oddaljena žarišča okužbe, lahko po začetnem parenteralnem zdravljenju sestopimo na peroralni antibiotik.

Tabela 2. Priporočeno usmerjeno antibiotično zdravljenje okužb žilnih katetrov (CRBSI)

Povzročitelj	Zdravilo prve izbire	Alternativno zdravljenje
<i>Staphylococcus aureus</i>, KNS • Občutljiv za meticilin • Odporen proti meticlinu	Flukloksacilin 2 g/4 ure i.v. Vankomicin 15–20 mg/kg/12 ur i.v.	Cefazolin 2 g/8 ur i.v. Daptomicin 6–8 mg/kg /24 ur i.v.
<i>Enterococcus</i> spp. • Občutljiv za ampicilin • Odporen proti vankomicinu	Ampicilin 2 g/4-6 ur i.v. +/- Gentamicin 1 mg/kg /8 ur i.v. Daptomicin 6 mg/kg /24 ur i.v.	Vankomicin 15–20 mg/kg/12 ur i.v. Linezolid 600 mg/12 ur i.v.
Po Gramu negativni bacili	Piperacilin/tazobaktam 4,5 g/6 ur i.v. ALI Cefepim 2 g/8 ur i.v. ALI Meropenem 2 g/8 ur i.v. ALI Imipenem 500 mg/6 ur i.v.	Glede na občutljivost povzročitelja oz. lokalno epidemiologijo
<i>Candida</i> spp.	Anidulafungin 200 mg i.v., nato 100 mg dnevno ALI Mikafungin 100 mg dnevno i.v. ALI Kaspofungin 70 mg i.v., nato 50 mg dnevno i.v.	Flukonazol 800 mg i.v., nato 400 mg dnevno glede na občutljivost povzročitelja

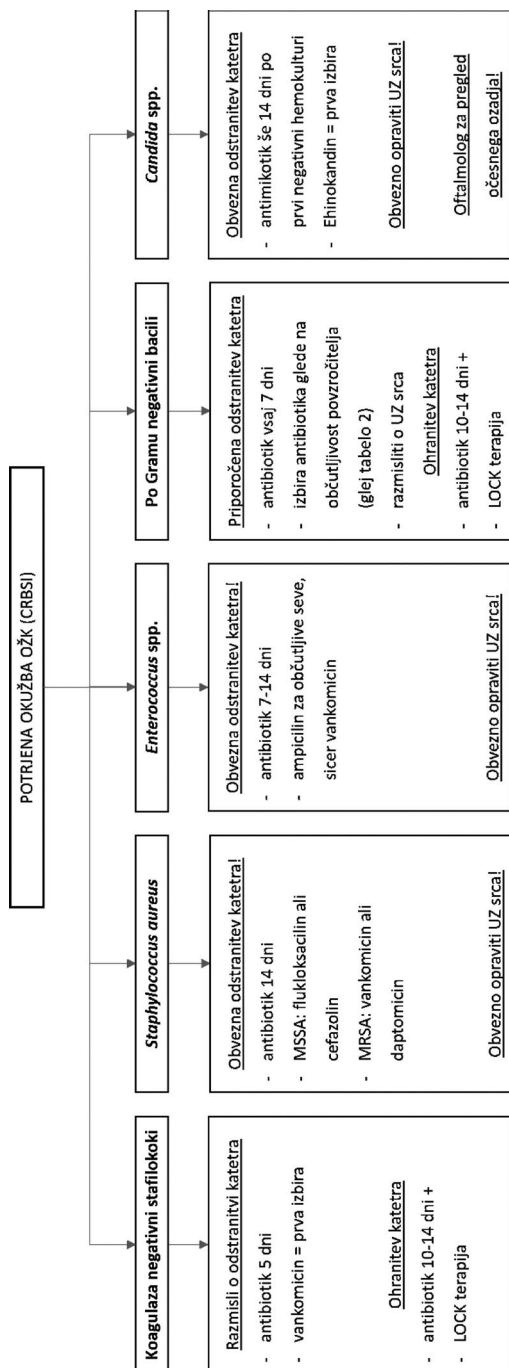
Osrednji žilni kateter je pri sumu na okužbo potrebno odstraniti (1, 2, 8), kadar okužbo povzročijo *S. aureus*, *Candida* spp. ali po Gramu negativne bakterije, sej je odstranitev katetra povezana z izboljšanim preživetjem. Konzervativno zdravljenje z ohranitvijo žilnega katetra lahko izjemoma uporabimo pri hemodinamsko stabilnih bolnikih brez oddaljenih žarišč okužbe, kjer je okužba povzročena z mikroorganizmi z nizko virulenco (npr. KNS, redkeje drugi povzročitelji, kot so enterokoki, korinebakterije in po Gramu negativni bacili). Poleg sistemskega protimikrobnega zdravljenja pri teh bolnikih pogosto uporabimo zdravljenje s t. i. **antibiotično kopeljo (angl. antibiotic lock therapy, ALT)** (1, 2). V tem primeru uporabimo velike koncentracije antibiotika (100–1000-krat nad minimalno inhibitorno koncentracijo, MIK), ki ga običajno razredčimo z antikoagulantom. Uporabimo zadostni odmerek (2–5 ml), da izpolnimo celotno svetlino katetra, raztopino pa pustimo v svetlini več ur (jasnih priporočil ni); z zdravljem nadaljujemo 7 do 14 dni. Tak način zdravljenja pride v poštev pri katetrih za dolgotrajno zdravljenje (npr. tunelirani katetri za hemodializo), vedno pa presodimo koristi in potencialna tveganja, povezana s toksičnostjo in razvojem protimikrobne odpornosti (2, 8). Žilni kateter vedno odstranimo pri hemodinamsko nestabilnem bolniku s sepo ali septičnim šokom, pri bolnikih z endokarditisom ali septičnim tromboflebitisom, pri bolnikih s persistentno bakteriemijo, ki vztraja več od 72 ur kljub ustrezni protimikrobni terapiji, ter pri okužbah, ki jih povzročajo *S. aureus*, večkratno odporni po Gramu negativnimi bacili in glive (8, 9). Vstavev novega žilnega katetra se priporoča 48 do 72 ur po odstranitvi okuženega katetra ob negativnih kontrolnih hemokulturah, v kolikor stanje bolnika to dopušča. Menjava žilnega katetra preko vodilne žice se odsvetuje, občasno pride v poštev pri bolnikih z omejenimi žilnimi pristopi (npr. hude opekline, morbidna debelost, huda koagulopatija), kjer okužba ni neposredno dokazana (1, 8).

Pri bolnikih z bakteriemijo, ki jo povzroča *S. aureus*, ali kandidemijo, je potrebno odvzeti nov par hemokultur vsakih 48 do 72 ur do negativnega izvida. Kontrolne hemokulture odvezamemo tudi pri bolnikih, kjer se odločimo za ohranitev žilnega katetra. Pri vseh bolnikih z bakteriemijo, ki jo povzroča *S. aureus*, je potrebno opraviti ultrazvok srca, še posebno pri tistih z dejavniki tveganja za endokarditis (npr. uživalci intravenskih drog, vsadne srčne naprave, umetne zaklopke, predhodni endokarditis, strukturne nepravilnosti srca). Razmislek o ultrazvoku srca je smiseln tudi pri bakteriemiji z enterokoki in kandidemiji oziroma pri vseh bolnikih s persistentno bakteriemijo (1, 9). Prednost ima transezofagealna ehokardiografija. Algoritem zdravljenja okužb, povezanih z osrednjim žilnim katetrom, je prikazan na *Sliki 2*.

ZAKLJUČEK

CRBSI se relativno pogosto pojavljajo pri zdravljenju na oddelku za intenzivno nego, vendar jih je v nasprotju z drugimi bolnišničnimi okužbami mogoče učinkovito preprečiti. Pri tem so ključni elementi higiena rok, razmislek o indikaciji za vstavev katetra in ustrezna izbira mesta vstavitve, ustrezna uporaba zaščitnih ukrepov ob vstavitvi s poudarkom na čiščenju kože z raztopino klorheksidina, ustrezna nega žilnega katetra in odstranitev katetra takoj, ko ta ni več potreben. Ključno je ustrezno spremljanje okužb in stalno izobraževanje zdravstvenih delavcev. V primeru pojava CRBSI pa je potrebna ustrezna diagnostika in zdravljenje, odvisno od vrste (zapletena ali ne) in povzročitelja okužbe.

Slika 2. Priporočila za zdravljenje okužb, povezanih z osrednjim žilnim katetrom (povzeto po 1, 2)



LITERATURA

1. Chaves F, Garnacho-Montero J, Del Pozo JL, Bouza E, Capdevila JA, de Cueto M, et al. Diagnosis and treatment of catheter-related bloodstream infection: Clinical guidelines of the Spanish Society of Infectious Diseases and Clinical Microbiology and (SEIMC) and the Spanish Society of Spanish Society of Intensive and Critical Care Medicine and Coronary Units (SEMICYUC). *Med Intensiva (Engl Ed)*. 2018;42(1):5-36.
2. Mermel LA, Allon M, Bouza E, Craven DE, Flynn P, O'Grady NP, et al. Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of intravascular catheter-related infection: 2009 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2009;49(1):1-45.
3. Miller JM, Binnicker MJ, Campbell S, Carroll KC, Chapin KC, Gonzalez MD, et al. Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2024 Update by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM). *Clin Infect Dis*. 2024;5:ciae104.
4. United Kingdom Health Security Agency (UKHSA). UK Standards for Microbiology Investigations Investigation of intravascular cannulae and associated specimens UKHSA; 2017. Dostopno na: <https://www.rcpath.org/static/25c2d1b7-9bef-44e4-97d7df8dd8492092/UK-SMI-B-20i-61-June-2017-Investigation-of-intravascular-cannulae-and-associated-specimens.pdf>
5. Zhang Y, Yang L, Chu Y, Wu L. Comparison of semi-quantitative and quantitative methods for diagnosis of catheter-related blood stream infections: a systematic review and meta-analysis of diagnostic accuracy studies. *Epidemiol Infect*. 2020;148:e171.
6. Raad I, Hanna HA, Alakech B, Chatzinikolaou I, Johnson MM, Tarrand J. Differential time to positivity: a useful method for diagnosing catheter-related bloodstream infections. *Ann Intern Med*. 2004; 140:18–25.
7. Lamy B. Blood culture time-to-positivity: making use of the hidden information. *Clin Microbiol Infect*. 2019;25(3):268-271.
8. Böll B, Schalk E, Buchheidt D, Hasenkamp J, Kiehl M, Kiderlen TR, et al. Central venous catheter-related infections in hematology and oncology: 2020 updated guidelines on diagnosis, management, and prevention by the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society of Hematology and Medical Oncology (DGHO). *Ann Hematol*. 2021;100(1):239-259.
9. Timsit JF, Baleine J, Bernard L, Calvino-Gunther S, Darmon M, Dellamonica J, et al. Expert consensus-based clinical practice guidelines management of intravascular catheters in the intensive care unit. *Ann Intensive Care*. 2020;10(1):118.
10. Buetti N, Timsit JF. Management and Prevention of Central Venous Catheter-Related Infections in the ICU. *Semin Respir Crit Care Med*. 2019;40(4):508-523.
11. Muff S, Tabah A, Que YA, Timsit JF, Mermel L, Harbarth S, et al. Short-Course Versus Long-Course Systemic Antibiotic Treatment for Uncomplicated Intravascular Catheter-Related Bloodstream Infections due to Gram-Negative Bacteria, Enterococci or Coagulase-Negative Staphylococci: A Systematic Review. *Infect Dis Ther*. 2021;10(3):1591-1605.

DIAGNOSTIKA INFEKCIJSKEGA ENDOKARDITISA

DIAGNOSTIC APPROACH IN PATIENTS WITH INFECTIVE ENDOCARDITIS

Nejc Šoštarčič¹, Mateja Logar^{1, 2, 3}, Mateja Brecl Jakob⁴, Ivana Velimirovič⁴

¹Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja, UKC Ljubljana

²Služba za preprečevanje in obvladovanje bolnišničnih okužb, UKC Ljubljana

³Katedra za infekcijske bolezni in epidemiologijo, Medicinska Fakulteta, Univerza v Ljubljani

⁴Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska Fakulteta, Univerza v Ljubljani

IZVLEČEK

Infekcijski endokarditis (IE) je huda okužba endokarda, pogosto prizadene srčne zaklopke, lahko pa tudi umetne srčne vsadke. Po poteku se deli na akutnega, subakutnega in kroničnega. Najpogostejše ga še vedno povzročajo stafilokoki (zlasti *Staphylococcus aureus*), vedno pogostejše pa kot povzročitelje dokažemo enterokoke in ustne streptokoke. Glede na epidemiološke podatke prihaja do porasta pojavnosti bolezni pri starejši populaciji z več pridruženimi boleznimi ter vedno pogostejše vstavljenimi srčnimi vsadki. Smrtnost ostaja visoka (okoli 17 %).

Diagnoza temelji na posodobljenih Dukovih kriterijih (2023), ki vključujejo patomorfološka, mikrobiološka, slikovna in kirurška merila. Pomembna je pravilna in pravočasna mikrobiološka diagnostika, predvsem hemokulture, PCR, serologija in v določenih primerih napredne metode kot metagenomsko sekvenciranje in sonikacija.

Zdravljenje zahteva multidisciplinarni pristop, optimalno izbiro antibiotikov in v nekaterih primerih kirurško zdravljenje. Kljub sodobnim diagnostičnim metodam IE ostaja bolezen z velikim bremenom, predvsem zaradi starajoče se in ranljive populacije.

Ključne besede: okužbe srčnih zaklopk, okužbe srčnih vsadkov, obnovljeni Dukovi kriteriji, mikrobiološka diagnostika

ABSTRACT

Infective endocarditis (IE) is a serious infection of the endocardium, often affecting heart valves, but it can also affect artificial heart implants. It is divided into acute, subacute, and chronic forms according to its course. It is still most often caused by staphylococci (especially *Staphylococcus aureus*), but enterococci and oral streptococci are increasingly being identified as causative agents. Epidemiological data indicate an increase in the disease among the elderly population with multiple comorbidities and with the increasingly frequent placement of heart implants. Mortality remains high (around 17%).

The diagnosis is based on the updated Duke criteria (2023), which include pathomorphological, microbiological, imaging, and surgical criteria. Correct and timely microbiological

diagnostics are important, especially blood cultures, PCR, serology, and, in certain cases, advanced methods such as metagenomic sequencing and sonication.

Treatment requires a multidisciplinary approach, optimal selection of antibiotics, and, in some cases, surgical intervention. Despite modern diagnostic methods, IE remains a disease with a high burden, mainly due to an aging and vulnerable population.

Key words: heart valves infection, heart implant infections, revised Duke criteria, microbiologic diagnostics

UVOD

Infekcijski endokarditis (IE) je definiran kot mikrobnno vnetje notranje plasti srčne opne (*lat. endocard*), pojavi se pa lahko tudi na umetnih zaklopkah in ostalih umetnih srčnih vsadnih napravah (npr. elektrodah srčnega spodbujevalnika). Najpogostejše se pojavi v predelu srčnih zaklopk, prizadene pa lahko vse predele endokarda kot na primer defekti v pretinu, na srčnih hordah ali srčni steni, kjer se pojavlja turbulentni tok krvi in posledično večja mehanska okvara površine. Histopatološko gre za nabiranje fibrinskih oblog, trombocitov, vnetnih celic in bakterij na predelu prizadetega endokarda. Po časovnem poteku in težavnosti poteka ga delimo na akutnega, subakutnega in kroničnega. Zgodovinsko so v predantibiotskem obdobju zbolevali mlajši, s staranjem populacije in napredkom antibiotičnega zdravljenja, uspešnim zdravljenjem kroničnih bolezni in pogostejši vstavitvi srčnih vsadkov, pa se vrh pojavnosti premika k starejši populaciji (1).

EPIDEMIOLOGIJA IN ETIOLOGIJA IE

Po podatkih evropskega registra za infekcijski endokarditis ESC-EURO-ENDO, zbranih med januarjem 2016 in marcem 2018, v Evropi prevladuje IE na nativnih zaklopkah (56,6 %), na umetnih zaklopkah ga dokažemo manj pogostejše (30,1 %), najredkeje pa na ostalih srčnih vsadnih napravah (9 %). Vedno pogostejše se IE pojavlja pri bolnikih s prirojenimi srčnimi napakami (11,9 %). Moški obolevajo pogostejše (69,9 %), povprečna starost obolelih je približno 59 let. V dveh tretjinah gre za okužbe v domačem okolju (65,7 %). Hemokulture so bile po poročanju registra pozitivne v 79 %, približno 20 % je bilo mikrobiološko neopredeljenih (*angl. blood culture negative IE - BCNE*). Približno 7 % bolnikov predstavljajo osebe, ki si injicirajo droge (OID). Etiološko prednjačijo stafilokoki (44,1 %), sledijo jim ustni streptokoki (12,3 %), enterokoki (15,8 %) in drugi streptokoki (*Streptococcus gallolyticus* 6,6 %). Najpomembnejša razlika med evropskimi in ne-evropskimi državami je v pojavnosti za meticilin občutljivega *Staphylococcus aureus*, ki se kot povzročitelj v Evropi pojavlja v 25,7 %, v svetu pa v 17,7 % ($p = 0,0002$). Kljub napredkom v diagnostiki, vzrocnem in podpornem zdravljenju, IE še vedno predstavlja visoko finančno breme z vztrajajočo visoko bolnišnično smrtnostjo (17,1 %), ki je večja pri bolnikih z IE na umetni srčno zaklopki, kot pri tistih s prizadetimi nativnimi zaklopkami (2).

Podatki za Slovenijo so skopi. Zadnja pregledna študija obravnave IE v regionalni bolnišnici je bila opravljena leta 2014. Jeraj s sodelavci je zbral podatke bolnikov z diagnozo IE v regionalni bolnišnici v desetletnem obdobju od 2005 do 2014. V tem času je bilo zabeleženih 51 primerov IE pri 48 bolnikih (dva sta imela več epizod IE). Povprečna starost bolnikov je bila 59,9 let, prevladovali so moški (61 %). Prevladoval je levostranski IE (88 %), v 29 % je

šlo za IE na umetni zaklopki ali srčnih vsadnih napravah. Število OID z IE je bilo v primerjavi z evropskim povprečjem skoraj dvakrat večje (11%).

Trend pojavnosti in smrtnosti bolnikov z IE narašča. Hamond-Haley s sodelavci je v študiji globalnega bremena bolezni, objavljeni leta 2023, opravljeni v 15 evropskih in drugih državah z visokim bruto državnim prihodkom (BDP), retrospektivno opisal trende pojava in poteka bolezni bolnikov z IE od leta 1990 do 2019. Porast števila bolnikov z IE in večjo smrtnost lahko pripisujemo več dejavnikom: starost bolnikov, ki utrpijo IE, se večja, prav tako so to bolniki z več pridruženimi boleznimi, več je bolnikov z umetnimi srčnimi zaklopkami in drugimi srčnimi ali žilnimi pripomočki (npr. transaortna menjava zaklopke – *ang. transaortic valve replcement – TAVR*, srčni spodbujevalniki, hemodializni katetri, venski porti). V zadnjih nekaj letih je sicer nakazan trend nekoliko nižje pojavnosti in smrtnosti bolnikov z IE. Prav tako je v tem časovnem obdobju diagnostični vidik iz pretežno kliničnega prešel k natančnejšim naprednim slikovnim preiskavam v obliki transezofagealnega ultrazvoka (TEU), računalniške tomografije (*ang. computer tomography – CT*) srca in pozitronske emisijske računalniške tomografije (PET/CT), spremenile so se tudi mednarodne smernice antibiotične preventive pred posegi pri bolnikih, ki so ogroženi za razvoj IE. Prehodno so postale bolj restriktivne, z manj indikacijami, v zadnjih smernicah pa je ponovno poudarjena pomembnost antibiotične profilakse pri bolnikih z visokim tveganjem nastanka IE. Dodatno je izpostavljena pomembnost splošnih preventivnih ukrepov pri bolnikih z visokim in srednjim tveganjem (3–5).

Etiologija IE se v več desetletjih skoraj ni spremenila. S pomočjo natančnejših in bolj učinkovitih mikrobioloških preiskav pogosteje dokažemo povzročitelja okužbe. Kot glavni povzročitelj še vedno prevladujejo stafilokoki (44,1 %), tri četrtine le-teh predstavlja *S. aureus*. V porastu je IE povzročen z *Enterococcus faecalis* (15,8 %), predvsem pri starejših bolnikih. Podatki o vplivu spremenjenih smernic antibiotične preventive so v različnih raziskavah sicer nasprotujoči, vendar je po zadnjih podatkih število oralnih virov okužbe nižje kot prej, prav tako so okužbe z oralnimi streptokoki v upadu (12,3 %) (2, 5).

POSTAVITEV DIAGNOZE IE

Diagnoza IE je že vrsto let definirana s pomočjo Dukovih kriterijev, ki so bili prvič vpeljeni v veljavo leta 1994, nadgrajeni leta 2000 in 2015 in najkasneje obnovljeni v letu 2023. Ohranjena je delitev na potrjen, možen in ovržen IE. Prav tako je ohranjena razdelitev na glavna in pomožna merila oziroma kriterije, pri katerih pa so poleg mikrobioloških in slikovnih meril dodali še ugotovitve ob operativnem posegu – kirurška merila (6, 7).

Potrjen IE se potrdi s patomorfološkimi ali kliničnimi kriteriji – izpolnjeno mora biti vsaj eno od patomorfoloških meril ali kombinacija glavnih in pomožnih kliničnih meril:

- Patomorfološki merili za IE:

a) **Dokazani mikroorganizmi** (s kulturo, tkivnim barvanjem, imunološkimi preiskavami, verižno reakcijo s polimerazo (*ang. polymerase chain reaction – PCR*) ali drugimi načini pomožnega nukleinskih kislin (NK), metagenomskim sekvenciranjem ali direktnim dokazom v parafinsko obdelanem vzorcu), ob prisotnosti kliničnih znakov aktivnega IE v vegetaciji, srčnem tkivu, odstranjeni zaklopki ali obroču, graftu ascendetne aorte s prizadetostjo zaklopke, odstranjenem drugem srčnem vsadku ali arterijskem embolusu.

- b) **Aktivni endokarditis** (akutni, subakutni ali kronični), ki se kaže kot vegetacija, destrukcija lističev ali kot dodatno tkivo ob nativni ali umetni zaklopki, ki kaže različne stopnje in stadije vnetja in celjenja, dokazan v ali na vegetaciji, srčnem tkivu, odstranjeni zaklopki ali obroču, graftu ascendetne aorte s prizadetostjo zaklopke, odstranjenem drugem srčnem vsadku ali arterijskem embolusu.
- Klinična merila:
 - a) **dve glavni (major) merili;**
 - b) **eno glavno in tri pomožna (minor) merila;**
 - c) **pet pomožnih meril.**

Možen IE se diagnosticira, ko bolnik izpolnjuje:

- **eno glavno in eno pomožno merilo;**
- **tri pomožna merila.**

IE je ovržen, ko je pri bolniku:

- dokazana druga diagnoza, ki razloži stanje;
- simptomi in znaki izzvenijo po manj kot štirih dneh protimikrobnega zdravljenja;
- brez mikrobioloških ali patoloških dokazov IE, pridobljenih med operativnim posegom ali obdukciji (po manj kot štirih dneh protimikrobnega zdravljenja);
- bolnik ne izpolnjuje meril za možni IE.

Glavna (major) mikrobiološka merila so:

1. Pozitivne hemokulture:

- a) Tipični povzročitelj IE, dokazan iz dveh parov hemokultur, odvzetih ob različnih časih (*S. aureus*, *Staphylococcus lugdunensis*, *E. faecalis*, streptokoki vseh skupin, razen *Streptococcus pneumoniae* in *Streptococcus pyogenes*, *Granulicatella* spp. in *Abiotrophia* spp, bakterije skupine HACEK) – v primeru umetnih zaklopk ali umetnih srčnih vsadnih naprav spadajo v to skupino še koagulazno negativni stafilokoki, *Corynebacterium striatum* in *Corynebacterium jeikeium*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Cutibacterium acnes*, netuberkulozne mikobakterije (predvsem *Mycobacterium chimaerae*) ter glive *Candida* spp in *Aspergillus* spp.

ALI

- b) Netipični povzročitelji IE, dokazani iz treh ali več parov hemokultur, odvzetih ob različnih časih.

2. Pozitivne mikrobiološke najdbe:

- a) Pozitiven PCR ali druge metode pomnoževanja NK iz krvi za bakterije *Coxiella burnetii*, *Bartonella* spp. ali *Tropheryma whippelii*.

ALI

- b) Osamitev *C. burnetii* iz ene hemokulture ali pozitivna serologija (protitelesa IgG) proti fazi I v titru $\geq 1:800$.

ALI

- c) Indirektni imunofluorescenčni test (IFT) za dokaz protiteles IgM in IgG proti *Bartonella quintana* ali *Bartonella henselae* v titru IgG $\geq 1 : 800$.

Glavna (major) slikovna merila so:

1. Ultrazvočna (UZ) preiskava ali CT srca:

- a) Na UZ ali CT srca vidna vegetacija, perforacija ali anevrizma lističa ali zaklopke, absces, psevdoanevrizma ali intrakardialna fistula.

ALI

- b) Z UZ ugotovljena pomembna novonastala insuficienca zaklopke v primerjavi s prejšnjo preiskavo. Poslabšanje ali sprememba insuficienca zaklopke ni zadovoljivo merilo.

ALI

- c) Z UZ ugotovljena novonastala delna dehiscenca umetne zaklopke v primerjavi s prejšnjimi preiskavami.

2. PET/CT z označeno 18-fluorodeoksiglukoza (¹⁸F-FDG PET/CT) – abnormalna metabolna aktivnost oziroma prevzem FDG na nativni (kakršna koli aktivnost) ali umetni zaklopki (povišana fokalna/multifokalna aktivnost več kot 3 mesece po vstavitvi umetne zaklopke), ob graftu ascendentne aorte (z ali brez prizadetosti zaklopke), na elektrodah znotraj srčne naprave ali drugih srčnih vsadnih napravah.

Glavna (major) kirurška merila – potrditev IE ob makroskopskem pregledu zaklopk med kirurškim posegom brez glavnih slikovnih meril ali posledične histološke ali mikrobiološke potrditve.

Pomožna (minor) merila so:

1. Dejavniki tveganja za IE: predhoden IE, prisotnost umetne zaklopke, kirurško popravljena zaklopka, prirojena srčna hiba, več kot blaga regurgitacija ali stenoza katere koli etiologije, prisotna umetna znotrajžilna srčna naprava, hipertrofična obstruktivna kardiomiopatija, OID.
2. Vročina 38 °C ali več.
3. Žilni pojavi: klinični ali slikovni dokazi arterijskih embolizmov, septični pljučni embolizmi, abscesi možganov ali vranice, mikotične anevrizme, krvavitve v osrednje živčevje, veznične krvavitve, Janewayeve lezije, gnojna purpura.
4. Imunski pojavi: pozitivni revmatoidni faktor, Oslerjevi vozlički, Rothove pege, glomerulonefritis, povzročen z imunskimi kompleksi.
5. Mikrobiološka merila, ki ne sodijo med glavna (major) merila:
 - Pozitivna hemokultura z mikroorganizmom, ki povzroča IE, ki ne izpolnjuje glavnih meril.
 - Pozitivna hemokultura, PCR ali druga metoda pomnoževanja NK z dokazanim mikroorganizmom, ki povzroča IE iz primarno sterilnega mesta/kužnine, ki ni srčno tkivo, srčna zaklopka ali arterijski embolizem ALI solitarno pozitiven PCR za bakterijo kožne mikrobiote na zaklopki ali elektrodi, brez drugih kliničnih ali mikrobioloških dokazov.
6. Slikovna merila: abnormalna metabolna aktivnost oziroma prevzem FDG manj kot 3 mesece po vstavitvi umetne zaklopke, grafta ascendentne aorte (z ali brez prizadetosti zaklopke), elektrod znotraj srčne naprave ali drugega umetnega srčnega vsadka.
7. Merila, ugotovljena s telesnim pregledom: novonastali šum ob avskultaciji, ko UZ ni dostopen. Poslabšanje ali sprememba prej znanega šuma ni zadostno merilo.

NOVOSTI V MIKROBIOLOŠKI DIAGNOSTIKI IE

V zadnjih obnovljenih smernicah je bilo ohranjeno razlikovanje med »tipičnimi« in »občasnimi« povzročitelji IE. Pri tipičnih povzročiteljih je značilnost ta, da niso nujno pogosti povzročitelji IE, njihova najdba v hemokulturah pa je zelo pogosto povezana s pojavom IE.

S podatki zadnjih etioloških študij IE so bili v glavna mikrobiološka merila dodani *S. lugdunensis*, *E. faecalis* kot edini iz družine enterokokov in vsi streptokoki, razen *S. pneumoniae* in *S. pyogenes*, ki sta se izkazala kot redka povzročitelja IE (8–10). Prav tako se je seznam tipičnih povzročiteljev pri bolnikih z umetno zaklopko ali umetnimi srčnimi napravami razširil in bolj definiral (glej zgoraj) (6).

Pri BCNE sta kot glavni merili dodana serološko testiranje IFT za *B. quintana* in *B. henselae*. Med glavna merila so dodali tudi PCR in druge načine pomnoževanja NK, ki so se izkazali kot visoko občutljivi in specifični pri dokazovanju mikroorganizmov pri bolnikih z bakteriemijo in IE, kot glavna slabost pa je izpostavljena visoka cena preiskav (6, 11).

PODROBNOSTI MIKROBIOLOŠKE DIAGNOSTIKE

Odvzem krvi za aerobno in anaerobno hemokulturo ostaja ključnega pomena pri obravnavi bolnika s sumom na IE. Osamitev povzročitelja iz krvi omogoča testiranje občutljivosti za antibiotike in nadaljnjo ustrezno obravnavo bolnika. Hemokulture je treba odvzeti z upoštevanjem navodil za pravičen odvzem krvi na aseptičen način in praviloma pred začetkom protimikrobnega zdravljenja. Smernice evropskega združenja za kardiologijo priporočajo odvzem vsaj dveh do treh vzorcev krvi v 30-minutnih intervalih pri akutnem, in 12 urnih intervalih pri subakutnem poteku (5). Ločene venepunkcije po posodobljenih Dukovih kriterijih iz leta 2023 sicer niso več nujne, vendar ostajajo močno priporočena praksa, saj zmanjšujejo tveganje za kontaminacijo in povečujejo občutljivost odkrivanja povzročiteljev. Čeprav nekatere smernice še vedno priporočajo določen časovni razpored odvzemov, dokazi kažejo, da je uspešnost hemokultur neposredno povezana z volumnom krvi (8–10 mL krvi na steklenico), zato sta najmanj 2 para z ustreznim volumnom krvi ključna za zanesljivo mikrobiološko diagnostiko (6, 12). Ker je bakteriemija pri IE načeloma stalna, odlašanje z odvzemom zaradi čakanja na povišanje telesne temperature ni smiselno. Če je le mogoče, odvezamo kri iz periferne vene, saj je v primerjavi z odvzemom krvi iz katetrov manjša verjetnost kontaminacije (5).

Mediana časa do pozitivnosti hemokultur znaša za večino bakterijskih povzročiteljev bakteriemije 12 do 36 ur, medtem ko je čas za določene bakterije in glive daljši. Sodobni avtomatizirani hemokulturni sistemi v petih dneh zaznajo tudi večino zahtevnih patogenov, kot so bakterije iz skupine HACEK. Ob sumu na bolj redke povzročitelje, kot je *Propionibacterium spp.*, je potreben daljši čas inkubacije (13).

Če so po 72 urah inkubacije hemokulture še vedno negativne, se lahko mikrobiološka diagnostika razširi na nekultivabilne in zahtevne mikroorganizme. To lahko vključuje ponovni odvzem hemokultur, podaljšano inkubacijo že odvzetih hemokultur, serološko in molekularno preiskavo na *C. burnetii*, *Bartonella spp.* in *Brucella spp.*, če gre za specifične epidemiološke okoliščine, ter molekularno preiskavo na *T. whipplei*. V primeru, da gre za skupino imunsko oslabljenih bolnikov z dejavniki tveganja za glivno etiologijo, se priporoča določanje glivnih antigenov beta D glukan in galaktomanan ter molekularno preiskavo na *Candida spp.* iz *Aspergillus spp.* v krvi bolnikov (12).

Z mikrobiološkimi preiskavami lahko potrdimo diagnozo IE tudi iz operativno odstranjenega tkiva srčnih zaklopk ali protetičnega materiala, oziroma dokažemo povzročitelja s klasično kultivacijo ali z uporabo molekularnih metod (12). Molekularne metode, ki uporabljajo širokospektralno PCR za pomnoževanje regije gena za 16S rDNA (za bakterije) ali 18S rDNA (za glive), ki jih nato sekvenciramo in določimo nukleotidno zaporedje za identifikacijo patogenov, so v zadnjih 15 letih omogočile večje odkrivanje mikroorganizmov, povzročiteljev endokarditisa (14). Uporaba širokospektralnega PCR na vzorcu tkiva zaklopke je najbolj primerna v primerih, ko etiologije ni možno potrditi s standardnimi mikrobiološkimi testi (kultivacija ali serologija). Ker bakterijsko DNA lahko dokažemo tudi, če v vzorcu ni mogoče zaznati živih mikroorganizmov, je metoda primerna za vzorce bolnikov z negativnimi hemokulturami, ki so bili predhodno izpostavljeni protimikrobnim zdravilom. Zaradi visoke občutljivosti metode je kontaminacija vzorca lahko povezana z lažno pozitivnimi rezultati, zato je treba rezultat preiskave interpretirati v okviru drugih kliničnih podatkov. Pri IE na umetnih zaklopkah in vsadnih srčnih napravah imamo na voljo še možnost uporabe predhodne obdelave vzorca z metodo sonikacije za dokazovanje povzročiteljev v biofilmih, ki se razvijejo na umetnih materialih (15). S predhodno obdelavo vzorcev s pomočjo sonikacije imamo do dvakrat pogostejše pozitivno kulturo vzorca, v slabi tretjini primerov pa je rezultat molekularne preiskave sonikata edina pozitivna mikrobiološka najdba (16). V primeru uporabe sonikacije na pridobljenem vzorcu je potrebna previdnost pri interpretaciji rezultata kultivacije in molekularnih preiskav, saj se poveča število pozitivnih vzorcev oziroma dokazov bakterij, ki so potencialni kontaminanti in ne predstavljajo vedno pravega povzročitelja IE (najpogostejše *C. acnes* v majhnem številu) (15, 17).

V najnovejši objavi ameriškega združenja za kardiologijo so v algoritem za obravnavo endokarditisa z negativnimi hemokulturami vključili metagenomsko sekvenciranje plazme ali polne krvi. Za pridobitev uporabnih rezultatov so potrebni specializirana, draga oprema, posebej usposobljeno osebje, zaradi česar metoda še vedno ni rutinsko v uporabi v večini mikrobioloških laboratorijev. Dodaten izziv predstavljajo težave pri interpretaciji lažno negativnih, lažno pozitivnih rezultatov ter več povzročiteljev, zaznanih v enem vzorcu (12).

ZAKLJUČEK

IE kljub napredku v diagnostiki, zdravljenju in multidisciplinarnemu vodenju bolnikov ostaja infekcijsko obolenje z veliko smrtnostjo in visokim bremenom za zdravstveni sistem. Z modernimi mikrobiološkimi preiskavami lahko pogostejše dokažemo povzročitelja in potencialno optimiziramo antibiotično zdravljenje. Prav tako nam opredelitev povzročitelja okužbe in potrditev oziroma ovržba diagnoze lahko spremeni kirurški pristop in pa časovno trajanje zdravljenja, kar vse vodi v bolj optimalno obravnavo bolnika z manj zapleti. Sočasno se moramo zavedati omejitev novih diagnostičnih metod, ki bodo lahko ob zmeraj večjemu številu bolnikov, ogroženih za razvoj IE, predstavljale nove izzive pri diagnostiki in zdravljenju ogrožene populacije, ki je vedno starejša in krhkejša.

LITERATURA

1. Mylonakis E, Calderwood SB. Infective Endocarditis in Adults. *N Engl J Med*. 2001; 345(18): 1318–30.
2. Habib G, Erba PA, Iung B, Donal E, Cosyns B, Laroche C, idr. Clinical presentation, aetiology and outcome of infective endocarditis. Results of the ESC-EORP EURO-ENDO (European infective endocarditis) registry: a prospective cohort study. *Eur Heart J*. 2019; 40(39): 3222–32.
3. Hammond-Haley M, Hartley A, Al-Khayatt BM, Delago AJ, Ghajar A, Ojha U, idr. Trends in the incidence and mortality of infective endocarditis in high-income countries between 1990 and 2019. *Int J Cardiol*. 2023; 371: 441–51.
4. Chen H, Zhan Y, Zhang K, Gao Y, Chen L, Zhan J, idr. The Global, Regional, and National Burden and Trends of Infective Endocarditis From 1990 to 2019: Results From the Global Burden of Disease Study 2019. *Front Med*. 2022; 9: 774224.
5. Delgado V, Ajmone Marsan N, de Waha S, Bonaros N, Brida M, Burri H, idr. 2023 ESC Guidelines for the management of endocarditis: Developed by the task force on the management of endocarditis of the European Society of Cardiology (ESC) Endorsed by the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS) and the European Association of Nuclear Medicine (EANM). *Eur Heart J*. 2023; 44(39): 3948–4042.
6. Fowler VG, Durack DT, Selton-Suty C, Athan E, Bayer AS, Chamis AL, idr. The 2023 Duke-International Society for Cardiovascular Infectious Diseases Criteria for Infective Endocarditis: Updating the Modified Duke Criteria. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2023; 77(4): 518–26.
7. Ažman-Juvan K. Infekcijski endokarditis. Društvo slovenskih kardiokirurgov; 2019. 90 str.
8. Aldman MH, Rasmussen M, Olaison L, Pählman LI. Endocarditis due to *Staphylococcus lugdunensis*-a retrospective national registry-based study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol*. 2021; 40(5): 1103–6.
9. Dahl A, Fowler VG, Miro JM, Bruun NE. Sign of the Times: Updating Infective Endocarditis Diagnostic Criteria to Recognize *Enterococcus faecalis* as a Typical Endocarditis Bacterium. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2022; 75(6): 1097–102.
10. Chamat-Hedemand S, Dahl A, Østergaard L, Arpi M, Fosbøl E, Boel J, idr. Prevalence of Infective Endocarditis in Streptococcal Bloodstream Infections Is Dependent on Streptococcal Species. *Circulation*. 2020; 142(8): 720–30.
11. Eichenberger EM, Degner N, Scott ER, Ruffin F, Franzone J, Sharma-Kuinkel B, idr. Microbial Cell-Free DNA Identifies the Causative Pathogen in Infective Endocarditis and Remains Detectable Longer Than Conventional Blood Culture in Patients with Prior Antibiotic Therapy. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2022; 76(3):e 1492–500.
12. DeSimone DC, Garrigos ZE, Marx GE, Tattevin P, Hasse B, McCormick DW, idr. Blood Culture–Negative Endocarditis: A Scientific Statement From the American Heart Association. *J Am Heart Assoc*. 2025; 14(8): e040218.
13. M47-A: Principles and Procedures for Blood Cultures; Approved Guideline.
14. Miller RJH, Chow B, Pillai D, Church D. Development and evaluation of a novel fast broad-range 16S ribosomal DNA PCR and sequencing assay for diagnosis of bacterial infective endocarditis: multi-year experience in a large Canadian healthcare zone and a literature review. *BMC Infect Dis*. 2016; 16: 146.
15. Gomes A, van Oosten M, Bijker KLB, Boiten KE, Salomon EN, Rosema S, idr. Sonication of heart valves detects more bacteria in infective endocarditis. *Sci Rep*. 28. 2018; 8(1): 12967.
16. Kokosar Ulcar B, Lakic N, Jeverica S, Pecavar B, Logar M, Cerar TK, idr. Contribution of sonicate-fluid cultures and broad-range PCR to microbiological diagnosis in vascular graft infections. *Infect Dis Lond Engl*. 2018; 50(6): 429–35.
17. Heinen FJ, Arregle F, van den Brink FS, Ajmone Marsan N, Bernts L, Houthuizen P, idr. Clinical Characteristics and Outcomes of Patients With *Cutibacterium acnes* Endocarditis. *JAMA Netw Open*. 2023; 6(7): e2323112.

INFEKCIJSKI ENDOKARDITIS – ZDRAVLJENJE IN NOVOSTI EUCAST

INFECTIOUS ENDOCARDITIS – TREATMENT AND EUCAST UPDATES

Mateja Logar^{1, 2, 3}, Iztok Štrumbelj⁴, Ivana Velimirović⁵, Mateja Pirš⁵

¹Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja, UKC Ljubljana

²Služba za preprečevanje in obvladovanje bolnišničnih okužb, UKC Ljubljana

³Katedra za infekcijske bolezni in epidemiologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

⁴Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Center za medicinsko mikrobiologijo.

Oddelek za medicinsko mikrobiologijo Murska Sobota

⁵Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

IZVLEČEK

Infekcijski endokarditis (IE) je sicer sorazmerno redka bolezen, vendar se pojavnost v zadnjih letih povečuje. Spreminja se tudi nabor najpogostejših povzročiteljev; tako so v zadnjih desetletjih najpogostejši povzročitelji različne vrste stafilokokov, medtem ko se delež IE, ki jih povzročajo streptokoki, zmanjšuje, večji pa je delež IE, ki jih povzročajo enterokoki. Izkuštevno antibiotično zdravljenje je sestavljeno iz kombinacije antibiotikov, s katerimi delujemo proti najpogostejšim povzročiteljem, učinkovine morajo imeti baktericidno delovanje in dosegajo velike serumske koncentracije. V zadnjih letih je vedno več dokazov, da je pri skrbno izbranih bolnikih možen varen in učinkovit prehod na peroralno zdravljenje IE; trenutno priporočila svetujejo kombinacijo dveh različnih antibiotikov. Podrobneje predstavljamo tudi priporočila EUCAST (2024, 2025) za testiranje in interpretacijo antibiograma pri IE.

Ključne besede: infekcijski endokarditis, antibiotično zdravljenje, peroralno zdravljenje, EUCAST

ABSTRACT

Infective endocarditis (IE) is a relatively rare disease, but its incidence has been increasing in recent years. The spectrum of the most common causative organisms is also changing – in recent decades, various species of *Staphylococcus* have become the most frequent pathogens. The proportion of streptococcal IE cases is decreasing, while the proportion of IE caused by *Enterococcus* species is on the rise.

Empirical antibiotic therapy consists of a combination of antibiotics targeting the most common pathogens. The chosen agents must have bactericidal activity and achieve high serum concentrations. In recent years, growing evidence suggests that a carefully selected group of patients can safely and effectively transition to oral treatment of IE. Current guidelines recommend a combination of two different antibiotics for this approach EUCAST recommendations (2024, 2025) for testing and interpreting antibiograms in IE are presented in detail.

Keywords: Infectious endocarditis, antibiotic therapy, peroral therapy, EUCAST

UVOD

Infekcijski endokarditis (IE) je bolezen, ki prizadene endokardne površine srca. Prizadete so predvsem srčne zaklopke (naravne ali umetne), srčna stena in septum. Endokarditis se lahko pojavi tudi na vsadnih srčnih napravah. IE delimo na endokarditis na nativnih zaklopkah in endokarditis na umetnih zaklopkah oziroma na vsadnih srčnih napravah. Klinične manifestacije bolezni so posledica sistemskih znakov in simptomov ter lokalne prizadetosti srčnih struktur. IE je bil prvič opisan leta 1674. V preteklosti je bila bolezen pogosta predvsem pri mladih odraslih s predhodno okvarjenimi zaklopkami predvsem zaradi revmatske vročice. Potek je bil subakuten, najpogostejši povzročitelji so bili zeleneči streptokoki. Konec 80-ih let prejšnjega stoletja je prišlo do pomembnih sprememb v epidemiologiji IE. Bistveno se je povečalo število ljudi z umetnimi zaklopkami in vsadnimi srčnimi napravami, več je bilo invazivnih posegov, povečala se je starost prebivalcev, ob tem se je zmanjšalo število oseb s prizadetostjo zaklopk zaradi revmatske vročice. V tem obdobju se je pričel povečevati delež IE, ki jih povzroča *Staphylococcus aureus*. Potek bolezni je postal bistveno bolj akuten, pogostejši je pri starejših, razširil se je tudi spekter povzročiteljev IE (1).

EPIDEMIOLOGIJA

Na svetovni ravni se je število primerov IE in z njim povezanih smrtnih primerov v zadnjih 30 letih močno povečalo, in sicer z ocenjenih 478.000 primerov leta 1990 na 1.090.530 leta 2019 in ocenjeno število smrti iz 28.750 leta 1990 na 66.320 leta 2019 (2). Letna pojavnost med letoma 1970 in 2000 je bila približno 3,0–10,0 primerov na 100.000 prebivalcev. Do leta 2019 pa se je nato povečala na 13,8 na 100.000 prebivalcev (1). Pojavnost IE je večja pri moških. Razmerje med moškimi in ženskami se giblje od 3 : 2 do 9 : 1 v različnih raziskavah (1, 3, 4). Vendar pa je razmerje med smrtnostjo in pojavnostjo večje pri ženskah kot pri moških (3, 4). Razlogi za razlike med pojavnostjo in smrtnostjo med spoloma ostajajo neznani. V zadnjih letih je opazen trend naraščanja pojavnosti IE s starostjo. V letu 2019 so bolniki, stari 50 let in več, predstavljali skoraj 63 % vseh primerov IE, delež med umrlimi pa je bil 79 %, kar je predstavlja statistično značilno povečanje v primerjavi z letom 1990 (2). Med mlajšo populacijo ostajajo prirojene srčne bolezni glavni dejavnik tveganja za IE. Med bolniki z IE se v zadnjih desetletjih povečuje tudi delež oseb, ki si injicirajo droge (OID). V raziskavi, ki so jo izvedli Yucell in sod. so ugotovili, da se je v obdobju od 2005 in 2016 med osebami, starimi od 15 do 34 let, število sprejemov v bolnišnico zaradi IE, povezanega z intravensko uporabo prepovedanih drog, povečalo za štirikrat, delež sprejemov OID zaradi IE pa se je skoraj podvojil s 6,9 % na 12,1 % (5). Zadnji evropski podatki iz EURO-ENDO raziskave zajemajo več kot 3.000 prospektivno vključenih bolnikov z IE. V raziskavi so ugotovili, da ima 56,6 % bolnikov IE na nativni zaklopki in kar 30,1 % na umetni zaklopki. IE na vsadnih srčnih napravah so dokazali pri 9,9 % primerov. Glavni povzročitelji so bili stafilokoki, ki so bili osamljeni v 44,1 % mikrobiološko potrjenih primerih IE. Kar 70 % bolnikov je imelo opravljeno tudi kardiovaskularno operacijo v času zdravljenja IE; smrtnost v času hospitalizacije je bila 17 % (6).

ETIOLOGIJA

Pozitiven izvid hemokultur pri bolnikih z IE navajajo v 45,4 do 79,0 % primerov. Stafilokoki, streptokoki in enterokoki povzročajo približno 80 % etiološko opredeljenih primerov IE (1). Glede na svetovne podatke *S. aureus* povzroča 35 do 40 % IE na nativni zaklopki, sledijo ze-

leneči streptokoki z 20 %, *Streptococcus gallolyticus* s 15 % in enterokoki z 10 % (7). Med po Gramu negativni povzročitelji IE so najpogostejše bakterije iz skupine HACEK (*Haemophilus parainfluenzae*, *Aggregatibacter* spp., *Cardiobacterium* spp., *Eikenella* spp. in *Kingella* spp.), ki predstavljajo 1–3 % vseh IE in so pogostejši povzročitelj IE pri otrocih kot pri odraslih (8). Približno 1–2 % IE povzročajo glive, predvsem *Candida* spp. (1). V evropski raziskavi Habiba in sod. so bili najpogostejši povzročitelji IE stafilokoki (44,1 %), ki so jim sledili enterokoki (15,8 %), ustni streptokoki (12,4 %) in *S. gallolyticus* (6,6 %). Na umetnih zaklopkah so v prvem letu po operativnem posegu najpogostejši povzročitelji IE *S. aureus*, koagulazno negativni stafilokoki, po Gramu negativne bakterije in glive. V kasnejšem obdobju so povzročitelji podobni kot pri nativni zaklopki, višji ostaja delež koagulazno negativnih stafilokokov. V nedavni retrospektivni raziskavi Berisha s sod. so bili najpogostejši povzročitelji: α -hemolitični streptokoki in *S. gallolyticus* (29 %), *S. aureus* (22 %), enterokoki (14 %), koagulazno negativni stafilokoki (10 %), *Cutibacterium acnes* (6 %), β -hemolitični streptokoki in *Streptococcus pneumoniae* (4 %), HACEK (3 %), *Candida* spp. (2 %) in *Corynebacterium* spp. (2 %) (6).

ZDRAVLJENJE

Od odkritja antibiotikov temelji zdravljenje IE na dolgotrajni intravenski uporabi antibiotikov. Običajno zdravimo bolnike z IE od 4 do 6 tednov. Ta pristop izhaja iz razumevanja, da mikrobi poselijo tkivo endokarda in tudi globlje srčne strukture. Te strukture sodijo v področja, kamor antibiotiki slabo prodirajo in so zato njihove koncentracije v teh strukturah majhne. Osnovni terapevtski princip zdravljenja IE se je razvil v času, ko je bil penicilin najučinkovitejši antibiotik, ki je bil na voljo za zdravljenje IE, in je bil uporabljen izključno intravensko zaradi nezanesljive absorpcije peroralnih oblik.

Kljub razvoju številnih novih razredov antibiotikov je IE še vedno povezan z veliko smrtnostjo, ki je posledica kombinacije dejavnikov na strani bolnika, povzročitelja in poteka bolezni. Kombinacija kirurškega zdravljenja in zdravljenja z antibiotiki je bistveno izboljšala prognozo bolnikov z IE. Vedno več je dokazov, da zgodnje kirurško zdravljenje pomembno izboljša prognozo bolnikov z IE. Tako so ugotovili boljše preživetje, če je bilo protimikrobnemu zdravljenju pridruženo kirurško zdravljenje pri bolnikih, ki so imeli v poteku IE napredovano srčno popuščanje, neobvladano okužbo ali perzistentne periferne embolizacije (10). Trenutna priporočila Evropskega združenja za kardiologijo (*angl. European Society for Cardiology – ESC*) za izkustveno zdravljenje IE so zbrana v preglednici 1 (11).

Preglednica 1. Priporočila Evropskega združenja za kardiologijo za izkustveno zdravljenje infekcijskega endokarditisa (11)

	Povzročitelji	Primarna izbira	Alergija na β -laktamske antibiotike
IE na nativni zaklopki ali več kot 1 leto po vstavitvi umetne zaklopke	stafilokoki, streptokoki, enterokoki	ampicilin (12 g/dan) + ceftriakson (4 g/dan) ali flukloksacilin (12 g/dan) + gentamicin (3 mg/kg/dan)	cefazolin (6 g/dan) ali vankomicin (30 mg/kg/dan) + gentamicin (3 mg/kg/dan)
zgodnji IE na umetni zaklopki (manj kot 12 mesecev po vstavitvi)	proti metilicinu odporni streptokoki, enterokoki, po Gramu negativni bacili (ne HACEK)	vankomicin (30 mg/kg/dan) ali daptomicin (10 mg/kg/dan) + gentamicin (3 mg/kg/dan) + rifampicin (900–1200 mg/dan; po negativizaciji hemokultur)	

IE – infekcijski endokarditis

Po prejemu izvidov hemokultur z občutljivostjo povzročitelja IE preidemo na usmerjeno antibiotično zdravljenje. Zdravljenje IE na nativni zaklopki traja 4 do 6 tednov, zdravljenje IE na umetni zaklopki pa vsaj 6 tednov. Podrobnosti so zbrane v preglednici 2 (11).

Preglednica 2. Usmerjeno zdravljenje najpogostejših povzročiteljev infekcijskega endokarditisa po priporočilih Evropskega združenja za kardiologijo (11).

Povzročitelj	Primarna izbira	Alergija na β -laktamske antibiotike	Trajanje (tedni)
za penicilin občutljivi ustni streptokoki in <i>Streptococcus gallolyticus</i>	penicilin G (12–18 M I.E./dan, v 4 do 6 odmerkih) ali amoksisilin oz. ampicilin (12 g/dan, v 4 do 6 odmerkih) ali ceftriakson 2 g/dan, v 1 odmerku	vankomicin (30 mg/dan, v 2 odmerkih)	nativna zaklopka 4 tedne nativna zaklopka – nezapleten potek: 2 tedna v kombinaciji z gentamicinom (3 mg/kg/dan) umetna zaklopka 6 tednov
ustni streptokoki in <i>Streptococcus gallolyticus</i> z zmanjšano občutljivostjo* ali odporni proti penicilinu	penicilin G (24 M I.E./dan, v 4 do 6 odmerkih) ali amoksisilin oz. ampicilin (12 g/dan, v 4 do 6 odmerkih) ali ceftriakson 2 g/dan, v 1 odmerku) + gentamicin (3 mg/kg/dan, v 1 odmerku) – 2 tedna	vankomicin (30 mg/dan, v 2 odmerkih) + gentamicin (3 mg/kg/dan, v 1 odmerku) – 2 tedna pri IE na umetni zaklopki	nativna zaklopka 4 tedne umetna zaklopka 6 tednov
<i>Staphylococcus aureus</i> , občutljiv za meticilin	flukloksacilin (12 g/dan, v 4 do 6 odmerkih) ali cefazolin (6 g/dan, v 3 odmerkih)	cefazolin (6 g/dan, v 3 odmerkih) ali daptomicin (10 mg/kg/dan, v 1 odmerku) v kombinaciji s ceftarolinom (1800 mg/dan, v 3 odmerkih) ali fosfomicinom (8–12 g/dan, v 4 odmerkih)	nativna zaklopka 4–6 tednov umetna zaklopka vsaj 6 tednov; + gentamicin 3 mg/kg/dan 2 tedna in rifampicin 900 mg/dan po negativizaciji hemokultur
<i>Staphylococcus aureus</i> , odporen proti meticilinu	vankomicin (30 mg/dan, v 2 odmerkih) ali daptomicin (10 mg/kg/dan, v 1 odmerku) v kombinaciji s flukloksacilinom (12 g/dan, v 4 do 6 odmerkih) ali ceftarolinom (1800 mg/dan, v 3 odmerkih) ali fosfomicinom (8–12 g/dan, v 4 odmerkih)		nativna zaklopka 4–6 tednov Umetna zaklopka vsaj 6 tednov; + gentamicin (3 mg/kg/dan, v 1 odmerku) 2 tedna in rifampicin (900 mg/dan, v 3 odmerkih) po negativizaciji hemokultur
<i>Enterococcus</i> spp., občutljiv za β -laktame	amoksisilin ali ampicilin (12 g/dan, v 4 do 6 odmerkih) + ceftriakson (4 g/dan, v 2 odmerkih) – 6 tednov ali gentamicin (3 mg/kg/dan, v 1 odmerku) – 2 tedna	vankomicin (30 mg/kg/dan) + gentamicin (3 mg/kg/dan)	nativna ali umetna zaklopka 6 tednov
<i>Enterococcus</i> spp., odporen proti β -laktamom	vankomicin (30 mg/kg/dan, v 2 odmerkih) + gentamicin (3 mg/kg/dan v enem odmerku)		nativna ali umetna zaklopka 6 tednov
Proti vankomicinu odporni enterokoki	daptomicin (10 mg/kg/dan v 1 odmerku) + ampicilin (12 g/dan, v 4 do 6 odmerkih) ali fosfomicin (12 g/dan, v 4 odmerkih) ali ceftarolin (1800 mg/dan, v 3 odmerkih) ali ertapenem (2 g/dan, v 1 odmerku)		nativna ali umetna zaklopka 6 tednov
HACEK	cefriakson (2 g/dan, v 1 odmerku) ali amoksisilin oz. ampicilin (12 g/dan v 4 do 6 odmerkih) + gentamicin (3 mg/kg/dan, v 1 odmerku, 2 tedna)		nativna zaklopka 4 tedne umetna zaklopka 6 tednov

M – milijonov; I.E. – internacionalnih enot; * podrobnosti so predstavljene v Preglednici 4

PREHOD NA PERORALNO ZDRAVLJENJE

V zgodnjih 30-ih letih prejšnjega stoletja so za zdravljenje IE poskušali uporabiti peroralne sulfonamide, vendar je bila smrtnost skoraj 100 % v primerjavi s 15 % smrtnostjo, če so bili bolniki zdravljeni s parenteralnim penicilinom G (12). Kljub slabim rezultatom so se nadaljevali poskusi zdravljenja IE s peroralnimi oblikami makrolidov, tetraciklinov in sulfonamidov, ki so bili neuspešni zaradi majhnih serumskih koncentracij uporabljenih antibiotikov. Kljub temu, da so se v 50-ih letih pojavili peroralni β -laktamski antibiotiki, je ostala skrb, da so serumske koncentracije nezanesljive in zato niso primerni za zdravljenje IE (10). V zadnjih letih se je ponovno obudil trend prehoda na peroralno zdravljenje IE. Številni strokovnjaki ocenjujejo, da je učinkovitost zdravljenja odvisna od zadostne koncentracije zdravila na mestu okužbe ne glede na način aplikacije zdravila, zato je omejujoči dejavnik, ali peroralni antibiotik po absorpciji dosega zadosti velike koncentracije na endokardnih površinah, ki zagotavljajo eradikacijo mikrobov. Znano je, da novejši oralni antibiotiki lahko dosegajo koncentracije, ki so nad minimalnimi bakteriциdnimi koncentracijami v krvi za posamezne mikrobe. Narejenih je bilo več randomiziranih kliničnih raziskav, katerih rezultati so pokazali, da ta zdravila v pravih odmerkih tudi v peroralni obliki omogočajo sterilizacijo krvi v primeru okužbe s po Gramu pozitivnimi povzročitelji (10).

Kljub temu, da je objavljenih zelo malo randomiziranih, kliničnih raziskav, ki opredeljujejo prehod na peroralno zdravljenje IE, se je ESC v zadnjih smernicah pozitivno opredelila do prehoda na peroralno zdravljenje IE, če ga povzročajo po Gramu pozitivni povzročitelji in gre za nezapleten potek ali je bila narejena menjava zaklopke (11). Prednosti prehoda na peroralno so številne, najpomembnejše pa so: manjše tveganje za zaplete parenteralnega zdravljenja, kot so tromboflebitis, okužbe, povezane z venskimi pristopi in sepsa, krajša hospitalizacija, ki pomembno vpliva na kakovost življenja bolnikov ter nižji stroški zdravljenja, ki so posledica krajše hospitalizacije in manjšega števila zapletov (10). Najpomembnejša randomizirana klinična raziskava na tem področju je študija POET (*angl. Partial Oral versus Intravenous Antibiotic Treatment of Endocarditis*), objavljena leta 2018. Vključeni so bili stabilni bolniki z levostranskim IE po vsaj 10 dneh intravenske terapije, pri katerih so bili povzročitelji IE *Streptococcus* spp., *Enterococcus faecalis*, *S. aureus* in koagulazno negativni stafilokoki. Bolniki so bili randomizirani v nadaljevanje intravenskega zdravljenja ali v prehod na peroralno kombinacijo antibiotikov. Kombinacije oralnih antibiotikov so bile skrbno izbrane glede na občutljivost, farmakokinetiko in biološko uporabnost. Skupina bolnikov, ki je bila zdravljena s peroralnimi antibiotiki, je imela ne-inferiorne izide v primerjavi s skupino, ki je nadaljevala s parenteralni antibiotičnim zdravljenjem, glede umrljivosti, ponovitve IE, potrebe po ponovni hospitalizaciji ali hudih neželenih dogodkov (13). V novejši metaanalizi so primerjali izide zdravljenja med skupinami bolnikov, ki so bili ves čas zdravljeni s parenteralnimi antibiotiki (860 bolnikov), s tistimi, ki so prešli na peroralno antibiotično zdravljenje (677 bolnikov). Ugotovili so, da ni bilo statistično pomembnih razlik v neuspehu zdravljenja, da so bili bolniki zdravljeni s peroralnimi antibiotiki sicer krajši čas hospitalizirani, vendar razlika ni dosegla statistično značilnega praga, statistično značilno manj pa je bilo zapletov, povezanih z zdravljenjem. Prav tako je bila v skupini, ki je prešla na peroralno zdravljenje, nižja smrtnost, vendar razlika ni bila statistično značilna. V skupini, ki je prešla na peroralno zdravljenje, je bilo statistično značilno manj relapsov bolezni. V dodatni analizi, ki je vključevala samo podatke treh randomiziranih raziskav, pa so bile razlike statistično značilne v prid skupine, ki je prešla na peroralno zdravljenje, za neuspeh zdravljenja, relaps IE in zaplete (10).

Za prehod na peroralno zdravljenje je potrebno upoštevati določene kriterije: IE povzročajo *S. aureus*, streptokoki, *Enterococcus faecalis* ali koagulazno negativni stafilokoki, ki so občutljivi za peroralne antibiotike, ki se dobro absorbirajo; bolnikovo stanje mora biti stabilno, brez vročine vsaj 48 ur, kontrolne hemokulture naj bi bile negativne manj kot 72 ur od začetka učinkovitega antibiotičnega zdravljenja, C-reaktivni protein je manj kot 25 % izhodiščne vrednosti, koncentracija levkocitov manj kot $15 \times 10^9/L$, parenteralno zdravljenje z antibiotiki je trajalo vsaj 10 oziroma vsaj 7 dni po kardiovaskularni operaciji, indeks telesne mase mora biti manj kot 40 in delovanje prebavil mora biti normalno. Opravljen mora biti tudi transezofagealni ultrazvok srca za izključitev morebitnih indikacij za kirurško zdravljenje, če to ni bilo že predhodno opravljeno; bolnik ne prejema redne antikoagulantne terapije. Bolnik mora biti motiviran in zanesljiv pri jemanju zdravil, potrebno je urejeno domače okolje. Trenutna priporočila svetujejo kombinacijo dveh učinkovitih oralnih antibiotikov. Priporočila so zbrana v preglednici 3 (11).

Preglednica 3. Priporočila za uporabo peroralnih antibiotikov za nadaljevanje zdravljenja infekcijskega endokarditisa (11).

<i>Staphylococcus aureus</i> in koagulazno negativni stafilokoki, občutljivi za penicilin in metilicilin	<i>Staphylococcus aureus</i> in koagulazno negativni stafilokoki, občutljivi za metilicilin	Koagulazno negativni stafilokoki, odporni proti metilicilinu	<i>Enterococcus faecalis</i>	Streptokoki, občutljivi za penicilin	Streptokoki, odporni proti penicilinu
amoksisicilin 1 g/6 ur rifampicin 600 mg/12 ur	dikloksacilin 1g/6 ur rifampicin 600 mg/12 ur	linezolid 600 mg/12 ur rifampicin 600 mg/12 ur	amoksisicilin 1g/6 ur moksifloksacin 400 mg/dan	amoksisicilin 1 g/6 ur rifampicin 600 mg/12 ur	linezolid 600 mg/12 ur rifampicin 600 mg/12 ur
amoksisicilin 1 g/6 ur fusidična kislina 750 mg/12 ur	dikloksacilin 1 g/6 ur fusidična kislina 750 mg/12 ur	linezolid 600 mg/12 ur fusidična kislina 750 mg/12 ur	amoksisicilin 1g/6 ur linezolid 600 mg/12 ur	amoksisicilin 1g/6 ur moksifloksacin 400 mg/dan	moksifloksacin 400 mg/dan rifampicin 600 mg/12 ur
moksifloksacin 400 mg/dan rifampicin 600 mg/12 ur	moksifloksacin 400 mg/dan rifampicin 600 mg/12 ur		amoksisicilin 1g/6 ur rifampicin 600 mg/12 ur	amoksisicilin 1g/6 ur linezolid 600 mg/12 ur	linezolid 600 mg/12 ur moksifloksacin 400 mg/dan
linezolid 600 mg/12 ur rifampicin 600 mg/12 ur	linezolid 600 mg/12 ur rifampicin 600 mg/12 ur		linezolid 600 mg/12 ur moksifloksacin 400 mg/dan	linezolid 600 mg/12 ur rifampicin 600 mg/12 ur	
linezolid 600 mg/12 ur fusidična kislina 750 mg/12 ur	linezolid 600 mg/12 ur fusidična kislina 750 mg/12 ur		linezolid 600 mg/12 ur rifampicin 600 mg/12 ur	linezolid 600 mg/12 ur moksifloksacin 400 mg/dan	

INFEKCIJSKI ENDOKARDITIS IN NOVOSTI EUCAST

Uvodoma naj glede terminologije povzročiteljev IE pojasnimo, da se poimenovanji skupine bakterij, ki jo ESC imenuje »ustni streptokoki in *Streptococcus gallolyticus*«, ter EUCAST (*angl.* European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) »streptokoki viridans« oziroma zeleneči streptokoki, vsebinsko dobro ujemata. V tem prispevku obravnavamo obe kot sinonima, pri navajanju smernic ESC uporabljamo prvo, v mikrobiološkem kontekstu

(npr. za interpretacijo antibiograma) pa drugo terminologijo – ta se uporablja v mikrobiologiji za izbor antibiograma (11, 14).

V zadnjih dveh letih je prišlo do medsebojnega sklicevanja med ESC in EUCAST (11, 14, 15). ESC v zadnji verziji navodil za zdravljenje IE (iz leta 2023) ne navaja posebnih, »svojih« MİK, na katerih bi temeljilo zdravljenje, ampak prepušča določanje razmejitvenih vrednosti EUCAST in sprejema tudi standardne EUCAST interpretacije kategorij S, I in R, ki so podrobno razložene tudi v slovenskih navodilih za interpretacijo antibiograma (11, 14–16).

Vendar ravno za IE te kategorije niso ustrezne, kar je EUCAST pojasnil v posebnem dokumentu (14). Kategorija »S« pomeni »občutljiv, standardni režim odmerjanja«, kar predpostavlja: »Verjetnost uspešnega zdravljenja je velika z uporabo standardnega odmerjanja.« (15, 16). Pri IE pa se praviloma uporabljajo odmerki, ki so blizu maksimalnih, pogosto večji od »velikih odmerkov« – torej oznaka »S« pri IE ni primerna kategorija, saj se ne uporablja standardnih odmerkov. – Ker gre za specifično klinično področje, EUCAST ni predlagal novih kratic, temveč predpostavlja, da zdravniki, ki IE zdravijo, vedo, da pri tem standardni odmerek ne zadošča, ampak se uporabljajo zelo veliki odmerki (glej Preglednici 2 in 3). Prav tako kategorija »I«, ki pomeni »občutljiv, povečana izpostavljenost«, kar predpostavlja: »verjetnost uspešnega zdravljenja je velika, ko je izpostavljenost zdravilu povečana zaradi: povečanega odmerjanja ali zaradi koncentriranja zdravila na mestu okužbe.«, ni ustrezna za penicilin pri zelenečih streptokokih v kontekstu IE. Zato je EUCAST kategorijo I pri penicilinu za indikacijo IE leta 2025 ukinil (Preglednica 4). Podobno kot pri meningitisu (slabo prodiranje antibiotikov v možgansko tekočino), tudi v tkivu vegetacij pri IE antibiotiki ne dosegajo zadostnih običajnih tkivnih koncentracij, ampak manjše, potrebna pa je dolgotrajna izpostavljenost velikim koncentracijam na mestu stika antibiotik – bakterija (14). EUCAST, za razliko od meningitisa, za večino bakterij in antibiotikov ni uvedel posebnih razmejitvenih vrednosti za IE – ampak je posebne vrstice v razmejitvene tabele leta 2025 uvedel izjemoma – kot je v primeru zelenečih streptokokov in penicilina (Preglednica 4). Za druge skupine bakterij pa so dodana pojasnila v obliki posebnih opomb, kako ugotovimo, ali je za nadaljevalno oralno zdravljenje antibiotik v kombinaciji smiselno (rezultat ne bo izražen kot S-I-R kategorija, ampak sporočilo zdravniku) (14, 15). Pomembno je tudi, da večinoma ni ločenih razmejitvenih vrednosti (angl. *breakpoints*) posebej za IE in posebej za druge okužbe, ker ob bakteriemiji v začetku pogosto še ni jasno, ali gre za IE. V redkih primerih, ko se S-I-R kategorije razlikujejo glede na različne indikacije (okužbe), morajo biti te jasno razvidne iz izvidov.

Posebnosti v tabeli EUCAST so pri penicilinu pri zelenečih streptokokih; zdravnik mora dobiti informacijo za tri različne okoliščine (različen rezultat preiskave v antibiogramu pri določenih MİK/zaviralnih conah). Menimo, da je najbolj smiselno, da mikrobiologi v tabeli antibiograma na izvidu navedejo interpretacijo za endokarditis, kjer je to potrebno (Preglednica 4), ter dodatno informacijo za druge okoliščine (15).

EUCAST poudarja, da ni potrebno določati MİK antibiotika, saj je disk-difuzija primerna metoda. Poročanje v skladu z vsebino, ki je navedena v Preglednici 4, bo v Sloveniji uvedeno s smernicami EUCAST 2025 predvidoma konec maja 2025. Takrat bodo znane tudi končne tehnične rešitve za prikaz rezultatov: bodisi v obliki treh ločenih vrstic (za vsak »penicilin« posebej, ki bi imel poleg besede penicilin specifično opredelitev okoliščin), bodisi z uporabo opomb, kot je v Preglednici 4 – bistveno je, da je vsebina skladna s smernicami EUCAST (15).

Preglednica 4. Zeleneči streptokoki – interpretacija različnih MIK penicilina in ampicilina ali zaviralnih con okoli obeh antibiotičnih diskov pri infekcijskem endokarditisu in v drugih okoliščinah.

Antibiotik	MIK (mg/L)	Cona > (mm)	Rezultat za IE	Razlaga za različne okoliščine
Penicilin	≤ 0,25	≥ 21	S	Rezultat S velja za vse okužbe – tudi endokarditis – glej smernice za zdravljenje. ^{Op.1}
Penicilin	0,5–1,0	20–12	R	Rezultat R v osnovi velja za penicilin pri endokarditisu, rezultat (I) – I v oklepaju – velja za endokarditis za kombinacijo betalaktama v kombinaciji z drugim antibiotikom (glej smernice za zdravljenje). Za okužbe, ki niso endokarditis, velja rezultat I.«. ^{Op.2}
Penicilin	≥ 2	≤ 11	R	Rezultat R velja za vse okužbe. ^{Op.3}
Ampicilin	≤ 0,5	≥ 21	S	Rezultat S i.v. velja za vse okužbe, tudi endokarditis – glej smernice za zdravljenje. Rezultat velja tudi za amoksicilin in piperacilin.
Ampicilin	1,0–2,0	20–15	R	Rezultat R velja pri endokarditisu. Za okužbe, ki niso endokarditis, velja rezultat I.
Ampicilin	≥ 4	≤ 14	R	Rezultat R velja za vse okužbe.

Opomba 1: pričakovati je, da bo približno 75 % izolatov zeleničnih streptokokov v kategoriji S za penicilin. Kategorija S pomeni, da izolat nima nobenih pridobljenih mehanizmov odpornosti proti betalaktamom, zato S velja tudi za druge ustrezne betalaktame (ampicilin, amoksicilin, piperacilin, cefuroksim, ceftriakson, cefotaksim, cefepim, karbapeneme). Njihovo testiranje ni potrebno. Za oralni penicilin in protistafilokoke peniciline velja, da ni interpretacije (kategorija IE, angl. *insufficient evidence*). Oralni amoksicilin je uporaben za okužbe, ki niso IE, medtem ko za zdravljenje IE veljajo smernice ESC.

Opomba 2: EUCAST omenja, da v tej kategoriji (MIK 0,5–1 mg/L ali cona 12–20 mm) ni dovolj podatkov o uspešnosti zdravljenja za različne načine zdravljenja. Bolniki so zdravljeni po smernicah v Preglednici 2, bodisi z dvema antibiotikoma, bodisi z monoterapijo s ceftriaksonom, če je bil izolat zanj občutljiv (15, 17).

Opomba 3: Očitno EUCAST meni, da pri MIK ≥ 2 mg/L oz. coni ≤ 11 mm penicilin ni primerna izbira, saj kategorija R pomeni »velika verjetnost neuspešnega zdravljenja«.

AKUTNO ZDRAVLJENJE – POJASNILA K PREGLEDNICI 2.

EUCAST se ne opredeljuje glede izbora antibiotikov (ali kombinacije antibiotikov), prav tako ne glede odmerkov – oboje je pač specifično za IE (11). EUCAST pojasni le, katere antibiotike je mogoče testirati *in vitro* in na kakšen način, katerih pa ne (14, 15). To ne pomeni, da oporeka kombinaciji, ki jih predvidevajo smernice ESC, le testiranje včasih ni smiselno ali izvedljivo. Npr. daptomicina pri enterokokih ni mogoče testirati, ker so odmerki, ki se uporabljajo pri IE, večji od odmerka v navodilih, ki jih je odobrila EMA, EUCAST pa ne sme razvijati razmejitvenih vrednosti za neodobrene odmerke – možno je določiti MIK daptomicina, a brez interpretacije (16). Podobno je pri ceftriaksonu in fosfomicinu pri enterokokih – oba se lahko uporabljata v kombinirani terapiji, testiranje pa ni možno (14, 16). Pri uporabi gentamicina za sinergistično zdravljenje ni sprememb – ugotavlja se, ali ima izolat pridobljeno odpornost. Rezultat je opredeljen kot nizka ali visoka stopnja odpornosti: v primeru slednjega sinergističnega učinka ni pričakovati.

NADALJEVALNO PERORALNO ANTIBIOTIČNO ZDRAVLJENJE – POJASNILA K PREGLEDNICI 3

Uporabljata se dva antibiotika hkrati. Za večino kombinacij je možno običajno testiranje občutljivosti obeh antibiotikov s poročanjem rezultatov v kategorijah S-I-R rezultati. Vendar za nekatere učinkovine te možnosti ni, ker antibiotik ni predviden za samostojno zdravljenje in razmejitvenih vrednosti ni na voljo (11, 15). Primer za to je moksifloksacin pri zeleničnih streptokokih in enterokokih. Zanj imamo na voljo epidemiološke mejne vrednosti (ECOFF), oziroma MIK ali zaviralne cone okoli diska antibiotika, ki ločujejo divje tipe sevov od sevov s pridobljeno odpornostjo, vendar se rezultat ne poroča kot S-I-R rezultat, temveč s sporočilom: je / ni pridobljena odpornost (11, 15). Menimo, da je tema in obravnava takšnih primerov primerna za neposredni posvet zdravnika, ki zdravi, in mikrobiologa, podrobnosti so razvidne v referencah (11, 15).

ZAKLJUČEK

V zadnjih desetletjih je na področju diagnostike in zdravljenja IE prišlo do pomembnih sprememb, najpomembnejše spremembe pri zdravljenju so vključitev možnosti prehoda na peroralno zdravljenje IE, ki ga povzročajo stafilokoki, streptokoki ali enterokoki, pri izbranih bolnikih. V naslednjih letih pričakujemo bolj jasna navodila glede najbolj optimalnega režima peroralnega zdravljenja pri posameznih povzročiteljih.

LITERATURA

1. Li M, Kim JB, Sastry BKS, Chen M. Infective endocarditis. *Lancet*. 2024; 404: 377–92.
2. Chen H, Zhan Y, Zhang K, Gao Y, Chen L, Zhan J, Chen Z, et al. The global, regional, and national burden and trends of infective endocarditis from 1990 to 2019: Results From the Global Burden of Disease Study 2019. *Front Med*. 2022; 9: 774224.
3. Slouha E, Al – Geizi H, Albalat BR, Burle VS, Clunes LA, Kollias TF. Sex differences in infective endocarditis: a systematic review. *Cureus*. 2023; 15: e49815.
4. Hammond – Haley M, Hartley A, Al – Khayatt BM, Delago AJ, Ghajar A, Ojha U, Marshall DC, et al. Trends in the incidence and mortality of infective endocarditis in high – income countries between 1990 and 2019. *Int J Cardiol*. 2023; 371: 441–51.
5. Yucel E, Bearnot B, Paras ML, Zern EK, Dudzinski DM, Soong CP, Jassar AS, et al. Diagnosis and management of infective endocarditis in people who inject drugs: JACC State-of-the-Art Review. *J Am Coll Cardiol*. 2022; 79: 2037–57.
6. Habib G, Erba PA, Iung B, Donal E, Cosyns B, Laroche C, Popescu BA, Prendergast B, et al. Clinical presentation, aetiology and outcome of infective endocarditis. Results of the ESC-EORP EURO-ENDO (European infective endocarditis) registry: a prospective cohort study. *Eur Heart J*. 2019; 40:3222–33.
7. Chambers HF, Bayer AS. Native-Valve Infective Endocarditis. *N Engl J Med*. 2020; 383: 567–76.
8. Khaledi M, Sameni F, Afkhami H, Hemmati J, Asareh Zadegan Dezfuli A, Sanae MJ, Validi M. Infective endocarditis by HACEK: a review. *J Cardiothorac Surg*. 2022; 17:185.
9. Berisha B, Ragnarsson S, Olaison L, Rasmussen M. Microbiological etiology in prosthetic valve endocarditis: A nationwide registry study. *J Intern Med*. 2022; 292:428–37.
10. Barda B, Schindler C, Bernasconi E, Bongiovanni M. Breaking the Dogma of Intravenous Treatment for Infective Endocarditis: A Systematic Review and Meta – Analysis. *J Clin Med*. 2024; 13:7518.
11. Delgado V, Ajmone Marsan N, de Waha S, Bonaros N, Brida M, Burri H, Caselli S, et al. 2023 ESC Guidelines for the management of endocarditis. *Eur Heart J*. 2023; 44:3948–4042.
12. Spellberg B, Chambers HF, Musher D, Walsh TL, Bayer AS. Evaluation of a paradigm shift from intravenous antibiotics to oral step-down therapy for the treatment of infective endocarditis: A narrative review. *JAMA Intern Med*. 2020; 180: 769–77.
13. Iversen K, Ihlemann N, Gill SU, Madsen T, Elming H, Jensen KT, Bruun NE, et al. Partial Oral versus Intravenous Antibiotic Treatment of Endocarditis. *N. Engl. J. Med*. 2019; 380: 415–24.
14. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. EUCAST guidance document on infective endocarditis: Reporting of antimicrobial susceptibility testing results. December 2024. [citirano 21. 4. 2025]. Dostopno na: <https://www.eucast.org>
15. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 15.0, 2025. [citirano 21. 4. 2025]. Dostopno na: <https://www.eucast.org>
16. Štrumbelj I, Pirš M. Dokument SKUOPZ 001. Osnove antibiograma po smernicah EUCAST, 4. izdaja, junij 2024.[citirano 21. 4. 2025]. Dostopno na: <https://imi.si/skuopz>
17. Escruihuela-Vidal F, Berbel D, Fernández-Hidalgo N, Escolà-Vergé L, Muñoz P, Olmedo Met al. Impact of intermediate susceptibility to penicillin on antimicrobial treatment and outcomes of endocarditis caused by viridans and gallolyticus group streptococci. *Clin Infect Dis*. 2023; 77(9):1273-81.

POMEMBNE NOVOSTI EUCAST V ZADNJIH LETIH – IZBOR

IMPORTANT EUCAST UPDATES IN RECENT YEARS – A SELECTION

Iztok Štrumbelj¹, Mateja Pirš², Daša Kavka¹

¹Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Center za medicinsko mikrobiologijo, Maribor

²Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

IZVLEČEK

Prispevek povzema ključne spremembe, ki jih je EUCAST uvedel v zadnjih letih, s posebnim poudarkom na prilagoditvi smernic za Slovenijo. Predstavljen je pomen SKUOPZ kot nacionalnega organa, ki sodeluje z EUCAST in posodablja evropske smernice v letnih ciklih pri nas. Avtorji opisujejo, kako se spremembe kliničnih razmejitvenih vrednosti (KRV) in interpretacij minimalnih inhibitornih koncentracij (MIK) ter zaviralnih con vnesejo v laboratorijske informacijske sisteme, kar je ključno za uspešno interpretacijo rezultatov antibiograma.

Članek loči med vrstno specifičnim antibiogramom, kjer so zbrani ustrezni podatki za uvrstitev v kategorije S, I in R, ter vrstno nespecifičnim antibiogramom, pri katerem so rezultati komentarji. Poseben poudarek je namenjen tudi primerom, ko isti antibiotik pri istem izolatu različno deluje zaradi razlik odmerjanja ali načina aplikacije – pomembno pri zdravljenju okužb, kot so meningitis, endokarditis in okužbe sečil. Poleg tega so omenjeni specifični izzivi pri testiranju antibiotikov ter pomen pravilnega interpretiranja rezultatov za racionalno uporabo antibiotikov.

Ključne besede: EUCAST, SKUOPZ, MIK, klinične razmejitvene vrednosti, antibiogram

ABSTRACT

The paper outlines key updates introduced by EUCAST over recent years, focusing on the introduction of these guidelines in Slovenia. It emphasizes the role of SKUOPZ as the national committee collaborating with EUCAST to implement annual updates. The discussion covers how changes in clinical breakpoints, minimal inhibitory concentrations (MICs), and zone diameters are integrated into laboratory information systems, ensuring accurate antimicrobial susceptibility testing (AST) interpretation.

A clear distinction is made between species-specific AST – which provide sufficient data for S, I, and R categorization; and species- non-specific AST, where result is commentary. The article also highlights instances where identical antibiotics yield different results based on dosing regimens or administration routes, particularly in infections such as meningitis, endocarditis, and urinary tract infections. Furthermore, issues related to the testing of some

agents are discussed, underscoring the importance of correct result interpretation in the effective management of antibiotic therapy.

Keywords: EUCAST, SKUOPZ, MICs, clinical breakpoints, antimicrobial susceptibility testing

UVOD

V Sloveniji že desetletje uporabljamo evropske smernice za izvedbo in interpretacijo antibiograma, po smernicah Evropske komisije za ugotavljanje občutljivosti za protimikrobna zdravila EUCAST, angl. *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (1–3).

Slovensko komisijo za ugotavljanje občutljivosti za protimikrobna zdravila SKUOPZ je leta 2010 ustanovil Razširjeni strokovni kolegij za mikrobiologijo in imunologijo pri Ministrstvu za zdravje (3). V organizacijski strukturi EUCAST je SKUOPZ nacionalni organ, angl. *National Antimicrobial Susceptibility Testing Committee, NAC*, ki uvaja novosti smernic EUCAST v državo in z EUCAST sodeluje pri sprejemanju sprememb (1–3). Dokumenti EUCAST so dostopni na spletni strani <https://www.eucast.org>, dokumenti SKUOPZ na spletni strani <https://imi.si/skuopz>.

Namen prispevka je predvsem temeljito predstaviti ogrodje sistema, bistvene novosti iz let 2023 in 2024; za prakso pomembne novosti za leto 2025 bodo navedene v naslednji izdaji dokumenta SKUOPZ 001, ki bo izšla junija 2025. V prispevku ne primerjamo, kako je bilo prej in kdaj je bila kakšna sprememba uvedena, temveč prikazujemo prenovljeno sedanje stanje. Vsebinsko utegne biti pusta, ker vsebuje številne opredelitve, vendar brez teh ni mogoče razumeti sistema, saj temelji na sosledju opredelitev, ki jih na ustreznih mestih sproti navajamo (1–3). Predstavljamo le najbolj nujno potrebne kocke, iz katerih si bralec lahko sestavi svoj osnovni mozaik razumevanja antibiograma po EUCAST. Navedenih je tudi nekaj novosti, ki bodo pri nas v uporabi od junija 2025.

VSAKOLETNA POSODOBITEV SMERNIC EUCAST V SLOVENIJI

EUCAST vsako leto 1. januarja objavi novosti za tekoče leto, za njihovo praktično uporabo v laboratoriju pa je potrebno opraviti zapletene dejavnosti (3, 4). SKUOPZ, čeprav brez virov, vsako leto do junija objavi posodobljene letne smernice EUCAST za Slovenijo; enako junija letno posodobitev naredi veliko francosko združenje (3, 4).

Posodobitve, ki jih januarja objavi »evropski EUCAST« in so vsako leto bolj zahtevne, je treba preučiti in najti način, kako jih vnesti v laboratorijski informacijski sistem MBL®, ki ga uporabljajo vsi medicinski mikrobiološki laboratoriji v Sloveniji. Delo večinoma izvedejo mikrobiologi in klinični mikrobiologi, skupaj z dobaviteljem programa MBL® (Infonet, Kranj). V MBL je potrebno spremeniti interpretacije zaviralnih con, interpretacije minimalnih inhibitornih koncentracij (MIK), izoblikovati ustrezne opombe, jih pravilno vezati na rezultate, vnesti opozorila in podobno. Sestavni del uvedbe sprememb je nov dokument SKUOPZ z osnovnim naslovom »Osnove antibiograma po smernicah EUCAST«, novo številko izdaje in letnico izdaje; ima tudi oznako Dokument SKUOPZ 001 (3). To je navodilo za osnovno uporabo antibiograma, dostopno na spletni strani SKUOPZ. Namenjeno je lečečim zdravnikom in mikrobiologom (3). Junija 2024 je bila objavljena četrta izdaja, s poudarkom na novostih EUCAST 2024, povzela pa je tudi osnove iz prejšnje izdaje (3).

Junija 2025 bo sledila peta izdaja s smernicami EUCAST za 2025, kjer bo poudarek na novostih 2025.

OSNOVNA NALOGA EUCAST – DOLOČITI KLINIČNE RAZMEJITVENE VREDNOSTI (KRATICA: KRV); NA PODLAGI KATERIH LABORATORIJ IZOLATE UVRSTI V RAZLIČNE KATEGORIJE OBČUTLJIVOSTI

Razvrščanje izolatov v kategorije občutljivosti temelji na tabeli EUCAST s KRV za MIK in zaviralne cone, angl. »Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters« (1–2).

Prvi proces je določitev KRV v obliki MIK, določitev KRV za metodo disk-difuzije v obliki zaviralnih con je povsem drugačen proces. Oba postopka, posebej prvi, sta zapletena, točno opredeljena in ju izvede EUCAST (5–6). Standardni metodi za določanje MIK sta mikrodilucija, ki se uporablja pogosteje, in redkeje uporabljena agar dilucija. Standardna metoda za določitev MIK, ki jo priznava EUCAST, je navedena na vrhu vsake strani s KRV za posamezno skupino bakterij (1, 2).

Standardna metoda po EUCAST je tudi metoda disk-difuzije. Zanj EUCAST natančno opredeljuje način izvajanja in nadzora ter ustrezne KRV (7).

Kalibracijo za katerokoli nestandardno komercialno metodo določanja MIK, tudi mikrodilucijo ali gradient difuzijsko metodo, izvede proizvajalec glede na standardno metodo. EUCAST ne preverja komercialnih metod, razen če dobi obvestilo, da je kakšna metoda sumljiva. Če potrdi pomanjkljivost metode, objavi na svoji spletni strani opozorilo, angl. *Warnings*, npr. da trenutno ni ustrezne komercialne metode za določanje MIK cefiderokola (8). KRV se z razvojem znanosti in novimi podatki lahko spreminjajo, posodobitve se objavi vsako leto.

Opozarjamo, da sta metodi za določanje MIK in zaviralnih con sicer kvantitativni, vendar so številke le vmesni korak do končnega rezultata – določitve kategorije občutljivosti izolata za antibiotike (1–3). Antibiotogram je kvalitativna metoda – rezultat je kategorija S-I-R-(S)-(I) (1–3).

Uporaba zgolj MIK, namesto KRV kategorij občutljivosti, je pri izbiri antibiotika tvegana; ključni članek, ki govori o pasteh neposredne uporabe MIK, je referenca 9 (9).

EUCAST, VRSTNO SPECIFIČNI IN VRSTNO NESPECIFIČNI ANTIBIOGRAM

VRSTNO SPECIFIČNI ANTIBIOGRAM je specifičen za tiste bakterijske vrste (za eno ali več vrst), za katere je dovolj podatkov, da za njihov antibiotogram EUCAST presodi, da je mogoče z veliko verjetnostjo napovedati, ali bo klinično zdravljenje uspešno ali ne. Rezultati so podani s kategorijami S-I-R-(S)-(I) (1–3).

VRSTNO NESPECIFIČNI ANTIBIOGRAM je nespecifičen za bakterijske vrste, na katere se nanaša. Za te vrste ni dovolj podatkov, da bi za njihov antibiotogram EUCAST presodil, da je mogoče z veliko verjetnostjo napovedati, ali bo klinično zdravljenje uspešno ali ne. Rezultati so podani s pogojnimi stavki oziroma izjavo/komentarjem in brez kategorij (1–3, 10).

EUCAST, TESTIRANJE UČINKA KOMBINACIJE DVEH UČINKOVIN, KI NISTA DEL ISTEGA ZDRAVILA

Testiranje učinkovanja kombinacije dveh ali treh samostojnih antibiotikov ni predmet smernic EUCAST (1–3, 11, 12). Primer je antibiotično zdravljenje endokarditisa, kjer se pogosto uporablja kombinacije zdravil. EUCAST pove, katere mikrobiološke analize so smiselne, katere nesmiselne; presojanje delovanja in uporaba kombinacij dveh ali treh ločenih učinkovin je izven pristojnosti EUCAST (11, 12) (v tem zborniku predstavljeno v: *M. Logar et al. Infekcijski*

endokarditis – zdravljenje in novosti EUCAST). Tradicionalno je določanje sinergizma aminoglikozidov z betalaktami ali glikopeptidi s kratico LLR (angl. *low level resistance*) in HLR (angl. *high level resistance*), a tudi tu EUCAST ne ocenjuje uporabe dveh antibiotikov v kombinaciji, temveč zgolj preverja prisotnost sinergizma z aminoglikozidom (1–3).

ODNOS EUCAST Z EVROPSKO AGENCIJO ZA ZDRAVILA – PRAVILO S-R, I-R ALI S-I-R

Nova opredelitev kategorij S in R je bistvena sprememba smernic EUCAST v preteklih letih (1–3).

EUCAST določi kategorije S-I-R po preučitvi številnih dejavnikov ter določitvi KRV za posamezno kombinacijo bakterija/antibiotik (5–7). KRV so kriterij za interpretacijo MIK in zaviralnih con. Če EUCAST ne določi KRV za kombinacijo bakterija/antibiotik, lahko za izbrano kombinacijo določimo MIK, interpretacija občutljivosti s kategorijami S-I-R pa ni možna (1–3).

Ena od bistvenih nalog EUCAST je določanje KRV za nova protimikrobna zdravila za Evropsko agencijo za zdravila (*European Medicines Agency* – EMA) (5–7). EUCAST v tabeli KRV občasno posodobi KRV tudi za stare antibiotike (1–3).

EUCAST ne določa KRV za odmerke zdravil, ki niso odobreni s strani EMA in niso navedeni v »povzetku glavnih značilnosti zdravila« (angl. *summary of product characteristics, Smpc*) (5, 12–13). Zato npr. za zdravljenje enterokoknega endokarditisa z daptomicinom EUCAST ne navaja KRV za odmerke daptomicina, ki jih za navedeno indikacijo priporoča Evropsko združenje za kardiologijo in so večji od tistih, ki jih je odobrila EMA v Smpc za daptomicin (5, 14).

Če povzetek glavnih značilnosti zdravila vsebuje standardno odmerjanje in veliko odmerjanje, so rezultati občutljivosti za izbrani antibiotik podani v treh kategorijah: S-I-R (1–3). Če je v Smpc navedeno le eno (standardno) odmerjanje, je rezultat antibiograma možno podati na dva načina, S-R ali I-R (1–3).

OPREDELITEV DIVJIH SEVOV – ODSOTNOST PRIDOBLENE ODPORNOSTI SEVA

DIVJI SEVI so sevi bakterij, ki nimajo pridobljenih mehanizmov odpornosti proti antibiotiku, ampak imajo svojo naravno občutljivost (večjo ali manjšo); ne gre za klinično razdelitev na seve S ali R, ne gre za ločevanje sevov glede na KRV, gre za naravno lastnost bakterij. ECOFF (angl. *epidemiological cut-off value*) je najvišji MIK izolatov določene bakterijske vrste, ki nimajo pridobljene odpornosti proti testiranemu antibiotiku, so divji sevi (1–3). Izraz sam nima povezave s klinično učinkovitostjo antibiotika. Izolati, ki imajo MIK večji od ECOFF, imajo pridobljeno mikrobiološko odpornost, ki ni sinonim za klinično odpornost (1–3).

OPREDELITVE POGOSTEJŠIH KATEGORIJ, KI SO REZULTAT VRSTNO SPECIFIČNEGA ANTI BIOGRAMA: S-I-R

Dve kategoriji, S in I, sta obe »občutljivost« – glej spodaj podrobnosti; klinična kategorija R je odpornost; kategorije napovedujejo verjetno uspešnost ali neuspešnost antibiotičnega zdravljenja (1–3). Kategoriji I in S napovedujeta veliko verjetnost uspešnega zdravljenja (1–3).

S – OBČUTLJIV, STANDARDNI REŽIM ODMERJANJA. Pomeni: verjetnost uspešnega zdravljenja je velika z uporabo standardnega odmerjanja. Komentar: standardno odmerjanje je zadostno za ustrezno izpostavljenost antibiotiku.

I – OBČUTLJIV, POVEČANA IZPOSTAVLJENOST. Pomeni: verjetnost uspešnega zdravljenja je velika, ko je izpostavljenost zdravilu povečana zaradi velikega odmerjanja ali zaradi koncentriranja zdravila na mestu okužbe.

R – ODPOREN. Pomeni: verjetnost, da zdravljenje ne bo uspešno, je velika, čeprav je izpostavljenost zdravilu povečana.

S PRIMEROM DO POTRDTITVE – KATEGORIJI I IN S POMENITA OBČUTLJIVOST

Podajamo prikaz povečane izpostavljenosti zaradi velikega odmerjanja na primeru dveh antibiotikov pri isti bakteriji.

V EUCAST tabeli KRV na listu DOSAGES (Odmerjanje), je navedeno standardno in veliko odmerjanje zdravil (razen, če ima zdravilo le eno, torej standardno odmerjanje), ki ga EUCAST uporablja za določitev KRV (1, 2). To niso odmerki za konkretnega pacienta, to so temelji za določitev KRV (1–3). EUCAST za vsako odmerjanje (standardno ali veliko odmerjanje), ki je navedeno v Smpc, določi svojo KRV, kot bi šlo za dve različni zdravili.

Poglejmo primer: divji sev *Pseudomonas aeruginosa* (torej sev brez pridobljene odpornosti) testiramo s ceftazidimom in z novo kombinacijo ceftazidim-avibaktam. Za oba testirana antibiotika je cona 25 mm. Pogledamo tabelo KRV za *P. aeruginosa* in ugotovimo, da ima ceftazidim rezultat I, ceftazidim-avibaktam pa rezultat S. Ceftazidim-avibaktam torej po kategoriji izgleda bolj primeren za zdravljenje? Rezultat se zdi nesmiseln, saj inhibitor avibaktam ni mogel prinesiti dodane vrednosti proti divjemu sevu, ker ni imel česa inhibirati, coni obeh diskov sta enaki, količina ceftazidima v obeh diskih je enaka (1–3).

Odgovor je v besedici »izgleda« – v tem primeru je očitno, da kombinacija ni boljša od ceftazidima samega; le iz zgodovinskih razlogov, starega pomena črke I, ki ne velja več, imamo lahko lažni občutek, da je S boljši kot I.

Razlago različnosti kategorij za ceftazidim in ceftazidim-avibaktam v tem primeru najdemo v tabeli DOSAGES (1, 2). Standardno odmerjanje ceftazidima je 1 g x 3. Za *P. aeruginosa* je to odmerjanje neustrezno, zato kategorija S za takšno odmerjanje ne obstaja. Za *P. aeruginosa* je ustrezno le veliko odmerjanje 2 g x 3, ki po EUCAST pomeni rezultat I (1, 2). Za ceftazidim-avibaktam v tabeli DOSAGES najdemo le eno, standardno odmerjanje, to je 2 g x 3 ceftazidima (+ avibaktam), po EUCAST pa standardno odmerjanje pomeni kategorijo S za testirani antibiotik (1, 2). Kombinacija ceftazidim-avibaktam je registrirana z velikim odmerkom ceftazidima, ceftazidim pa ima registrirani standardno in veliko odmerjanje, zato enkrat rezultat S, drugič I; oboje pomeni občutljivost (1–3). Zdravljenje z enim ali drugim zdravilom bi z veliko verjetnostjo privedlo do uspešnega zdravljenja, saj bi pacient v obeh primerih dobil primerno odmerjen ceftazidim, 2 g x 3, vendar bi bilo zdravljenje s kombinacijo nekajkrat dražje, nepotrebno širokega spektra in povezano z možnimi dodatnimi sopojavi nepotrebnega avibaktama.

Zaradi neustrezne interpretacije, da je S boljši kot I, se za okužbe s *P. aeruginosa* verjetno pre pogosto in po nepotrebnem predpisuje širokospektralno zdravljenje z navedenimi neželenimi posledicami (15). Po uvedbi nove opredelitve kategorij S-I-R se je pogostost uporabe meropenema v švicarski bolnišnici podvojila (15). Ker je po novi opredelitvi meropenem

edini klinično učinkovit beta-laktamski antibiotik, ki ima za divje seve *P. aeruginosa* rezultat S, ceftazidim, piperacilin-tazobaktam in cefepim imajo rezultat I, se v zadnjih letih pogosteje izbere širokospektralni meropenem (1–3, 15).

RAZLIKA MED S IN I – STANDARDNO ODMERJANJE IN POVEČANA IZPOSTAVLJENOST

Pogoj za učinkovitost zdravila kategorije I je »povečana izpostavljenost zdravilu« v primerjavi s standardnim odmerjanjem pri S. To dosežemo z velikim odmerjanjem zdravila ali v primerih, ko se antibiotik koncentrira na mestu okužbe. Ob uresničitvi navedenega pogoja oba rezultata, I in S, pomenita občutljivost in napovedujeta veliko verjetnost uspešnega zdravljenja.

Zaključek: pri izbiri antibiotika enakovredno upoštevamo obe kategoriji občutljivosti, I in S; ob pogoju, da mora biti pri I povečano odmerjanje, ali se zdravilo koncentrira na mestu okužbe (1–3).

OPREDELITVI (S) IN (I), POIMENOVANI TUDI POGOJNA OBČUTLJIVOST ALI BOLJŠE: S ALI I V OKLEPAJU

V različnih primerih uporabe (S) in (I) gre za različne okoliščine, ki so navedene v Tabeli 1 in Tabeli 2.

(S) – pogojno občutljiv ali **S v oklepaju**. Pomeni: izolat je občutljiv, če so izpolnjeni posebni pogoji.

(I) – pogojno občutljiv ali **I v oklepaju**. Pomeni: izolat je občutljiv, če se uporabi povečano odmerjanje zdravila in so izpolnjeni posebni pogoji.

Tehnično/mikrobiološko razlikovanje med kategorijami (S) ali (I) in R temelji na vrednostih ECOFF. Kategoriji (S) ali (I) pomenita: pridobljeni mehanizmi odpornosti so odsotni, gre za divji sev.

Tabela 1. Primeri, ko EUCAST za divje seve uporablja kategorijo (S), to je S v oklepaju. Za pridobljeno odpornost uporablja kategorijo R.

Antibiotiki	Velja za naslednje bakterije	Interpretacija rezultata (S) v teh primerih
Kolistin	Vse gramnegativne bakterije	Kolistin ni primeren za samostojno uporabo; pri sistemskih okužbah ga moramo uporabiti z drugim učinkovitim zdravljenjem ali z drugim učinkovitim antibiotikom. Samostojno se lahko uporabi za nezapletene okužbe sečil – izjema znotraj kategorije (S).
Aminoglikozidi	Vsi stafilokoki	Pri stafilokoknih okužbah lahko aminoglikozid uporabljamo le skupaj z drugim učinkovitim zdravljenjem, ne kot samostojno zdravilo.
Aminoglikozidi	Enterobakterije, <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Acinetobacter</i> spp.	Okužbe, ki izvirajo iz sečil, lahko zdravimo z aminoglikozidom v monoterapiji – izjema znotraj kategorije (S). Pri ostalih okužbah aminoglikozid uporabljamo le v kombinaciji z drugim učinkovitim zdravljenjem.
Amoksicilin per os, Amoksicilin s klavulansko kislino per os	Vse enterobakterije, na katere amoksicilin z ali brez klavulanske kisline naravno deluje; osnovni rezultat ampicilna v tabeli izvida je S.	V izvidu so v komentarju za amoksicilin in amoksicilin s klavulansko kislino opisane različne okoliščine; za okužbe, ki ne izvirajo iz sečil, je rezultat per os odmerka pogojna občutljivost (S). (V drugih okoliščinah veljajo za amoksicilin z ali brez klavulanske kisline drugi rezultati, ki niso (S), navedeni so na sliki 1.)

Tabela 2. Primera, ko EUCAST za divje seve (brez pridobljene odpornosti) uporablja kategorijo (I), to je I v oklepaju. Gre za kombinacijo pomena črke I in pomena oklepaja. Za pridobljeno odpornost uporabimo kategorijo R.

Antibiotiki	Velja za naslednje bakterije	Kaj rezultat (I) v tem primeru pomeni
Ciprofloksacin	Vsi stafilokoki	Pomeni povečano odmerjanje ciprofloksacina hkrati z drugim učinkovitim zdravljenjem.
Amoksicilin per os Smernice 2025.	<i>Enterococcus faecalis</i>	Pomeni povečano odmerjanje amoksicilina hkrati z drugim učinkovitim zdravljenjem. (za sistemske okužbe; za ostalo, glej sliko 2).

Pri zapisih moramo biti previdni, da je jasno, da ne gre za običajni pravopisni oklepaj, ampak črko v oklepaju s posebnim pomenom: (S) ali (I). Posebni pogoji, ki jih simbolizira oklepaj okrog črke, praviloma pomenijo, da zdravljenje samo s tem antibiotikom ne bo dovolj za ozdravitev (glej Tabelo 1 za izjeme).

Oklepaj pomeni, da antibiotik ni primeren za zdravljenje sistemskih okužb; razen če ga uporabimo ga v kombinaciji z drugim učinkovitim zdravljenjem, ki je lahko: A) sočasno kirurško zdravljenje ali sočasni drugi ukrepi, ki niso dodatni antibiotik ali B) istočasna uporaba drugega antibiotika, za katerega je izolat občutljiv. Točna interpretacija, kaj pri pacientu pomeni A in/ali B, je prepuščena zdravniku, ki zdravi.

REZULTAT Z ZVEZDICO OB ČRKI – S*, I* ALI R* – PODROČJE TEHNIČNE NEGOTOVOSTI

Rezultati z zvezdico S*-I*-R* pomenijo, da se rezultat nahaja v področju tehnične negotovosti (angl. *area of technical uncertainty*, ATU). Včasih je tehnično negotovost mogoče razrešiti z drugo metodo. Zvezdica ob črki kategorije občutljivosti je opozorilo, ki označuje področje negotovosti in opozarja na nezanesljivost rezultata. V teh primerih običajno v antibiogramu izolata najdemo soroden antibiotik, ki je učinkovit in podobnega spektra, rezultat zanj pa zanesljiv.

Primer nerešljive tehnične negotovosti: rezultati disk-difuzijske metode za cefiderokol so z seve z metalo-betalaktamazami pogosto v področju tehnične negotovosti, vendar na svetu trenutno ni vsakodnevno uporabne laboratorijske metode za določitev MIK, ki bi razrešila tehnično negotovost – glej opozorilo EUCAST (8). Če izolat ni v kategoriji S ali R, je torej rezultat cefiderokola z zvezdico edina možnost – zanesljivega rezultata za cefiderokol v coni tehnične negotovosti ni mogoče izdati.

DRUGE KRATICE V TABELI ANTIBIOGRAMA

Najpogostejša je kratica NI, ki je okrajšava za NI INTERPRETACIJE. Večinoma je razlog za odsotnost interpretacije naveden na izvidu.

Tradicionalno verjetni sinergizem gentamicina z betalaktami ali glikopeptidi izražamo s črkami LLR odsotnost sinergizma pa s črkami HLR (1–3). V tem primeru ne gre za kategorijo občutljivosti, ampak sinergizem.

NEKATERI OD REZULTATOV V ANTIBIOGRAMU VELJAJO LE ZA DOLOČENE, PO EUCAST OPREDELJENE OKUŽBE SEČIL

Navajamo opredelitev okužb sečil po EUCAST, ki jo je treba poznati in upoštevati za pravilno razumevanje antibiograma. EUCAST opredeljuje dve vrsti okužb sečil:

A. NEZAPLETENE OKUŽBE SEČIL: so akutne, sporadične ali ponavljajoče se okužbe spodnjih sečil (npr. nezapleteni cistitis) pri bolnikih, pri katerih niso znane anatomske ali funkcionalne nepravilnosti na sečilih ali sočasne bolezni (1–3).

B. OKUŽBE, KI IZVIRAJO IZ SEČIL: okužbe, ki izvirajo iz sečil, a niso omejene na sečila: vključujejo akutni pielonefritis in okužbe krvi, ki izvirajo iz sečil (1–3).

Opredelitev, da gre za rezultat, veljaven le za nezapletene okužbe sečil, ni le del poročanja za antibiotike, ki imajo več rezultatov (primera na sliki 2 in 3). To je v izvidu izpisano tudi za zdravila, ki so primerna izključno za nezapletene okužbe sečil, npr. peroralni nitrofurantoin in fosfomicin (1–3).

ISTI ANTIBIOTIK IMA PRI ISTEM IZOLATU VEČ REZULTATOV, KI VELJAJO V RAZLIČNIH OKOLIŠČINAH

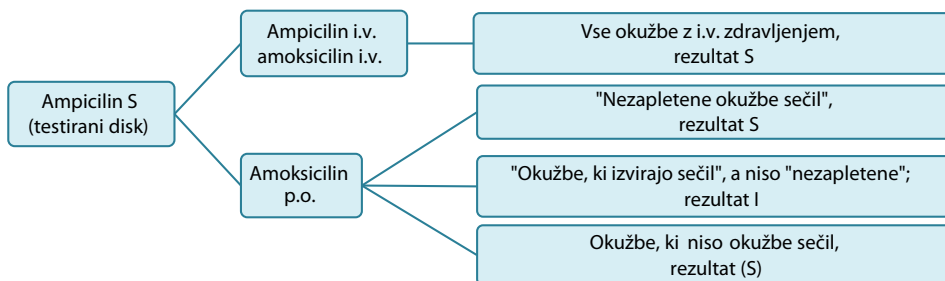
Glede na opredelitve S-I-R je osrednji pogoj učinkovanja ustrezna izpostavljenost bakterije zdravilu na mestu okužbe, ki je lahko različna zaradi 1.) lastnosti okužbe ali 2.) zaradi načina aplikacije antibiotika.

Zato od »splošne izpostavljenosti, povprečja« najboljši izstopa izpostavljenost antibiotiku pri okužbah, ko gre: A) za tkiva, kjer se antibiotik koncentrira (npr. okužbe sečil), ali B) tkiva, kamor antibiotik slabo prodira (npr. meningitis, endokarditis).

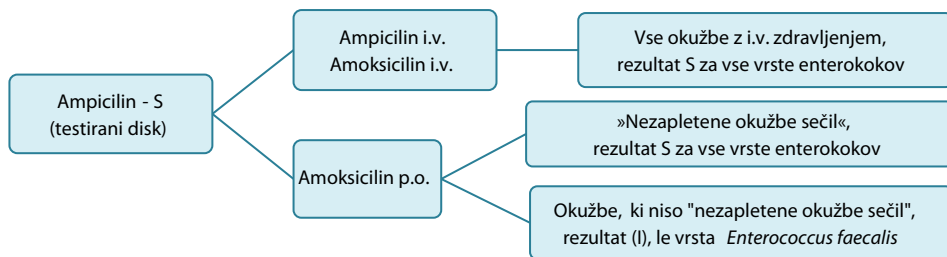
Glede na način aplikacije antibiotika je izpostavljenost lahko zelo različna (npr. odmerjanje peroralno, p.o., ali intravenozno, i.v., v intermitentni ali podaljšani infuziji, odmerjanje različno velikih odmerkov) (1–3).

V takih primerih se zgodi, da ima isti antibiotik več rezultatov za različne okoliščine pri istem izolatu. Ena od »okoliščin« je tudi prenosljivost rezultata testiranega antibiotika na sorodne antibiotike: npr. z ampicilina na amoksicilin, kot prikazujemo na Sliki 1 in 2 (1–3). Dodatek klavulanske kisline amoksicilinu pri enterokokih nima učinka, zato pri enterokokih rezultati amoksicilina v celoti veljajo tudi za amoksicilin s klavulansko kislino (3).

Slika 1. Enterobakterije. Interpretacija rezultata – kategorije S pri testiranju diska ampicilina za različne farmacevtske oblike ampicilina in amoksicilina in za različne vrste okužb. Prikaz z diagramom.



Slika 2. Enterokoki, EUCAST 2025. Interpretacija rezultata - kategorije S pri testiranju diska ampicilina za različne farmacevtske oblike ampicilina in amoksicilina in za različne vrste okužb. Prikaz z diagramom.



Ob tem se pojavi težava, kako več rezultatov enega zdravila izpisati v izvid. Dokler je bilo takih primerov malo, smo za vsak antibiotik izpisali novo vrstico v tabelo, antibiotik pa je dobil označbo okoliščine – npr. prvi rezultat za cefuroksim i.v., drugi rezultat za cefuroksim p. o., z opombo, da rezultat velja samo za nezapletene okužbe sečil (1–3). Kasneje je dodajanje »novih vrstic antibiotikov z opombami« postalo neizvedljivo zaradi nepreglednosti (3). Dva primera (za enterobakterije in enterokoke) za več rezultatov za isti antibiotik (ampicilin) sta prikazana na Sliki 1 in Sliki 2. V izvidu v tabeli navedemo le rezultat za ampicilin, okoliščine, kdaj je rezultat enak ali drugačen kot v tabeli, pa izpišemo v komentar pod tabelo – komentar je sestavni del izvida. S slike 1 je razvidno, da se isti tehnični rezultat za antibiotik ampicilin – kategorija S pri enterobakterijah v tabeli izvida v opombi lahko pretvori v štiri možne rezultate: S – za i.v. aplikacijo, S – p. o. za nezapletene okužbe sečil, I – p. o. za okužbe, ki izvirajo iz sečil, (S) – p. o. za okužbe, ki niso okužbe sečil. Pri enterokoku je ena možnost manj (Slika 2). Možnosti R – odpornost proti ampicilinu, ni na sliki. Če je rezultat R, velja za vse okoliščine, zato izvida z rezultatom R, ki nima komentarjev, nismo prikazali na sliki.

BAKTERIJSKI MENINGITIS

Za »posebno okoliščino« meningitis navaja EUCAST posebne odmerke za številne kombinacije bakterija/antibiotik in posebne KRV za interpretacijo rezultatov testiranja občutljivosti. To pomeni, da je lahko izolat z istim MIK/isto zaviralno cono pri drugih okužbah opredeljen kot občutljiv (je v kategoriji S ali I), pri meningitisu pa je za isti antibiotik rezultat MIK/zaviralne cone opredeljen z R (1–2).

Ker mikrobiologi avtomatično uporabimo za meningitis specifične KRV le, če je vzorec likvor, ali če nas lečeči zdravnik obvesti o sumu na bakterijski meningitis (1–3). Zato je na vseh izvidih pod tabelo antibiograma navedeno: ZARADI MOŽNE POSEBNE INTERPRETACIJE REZULTATOV ANTI BIOGRAMA PRI BAKTERIJSKEM MENINGITISU JE OB SUMU NA BAKTERIJSKI MENINGITIS POTREBNO OBVESTITI MIKROBIOLOŠKI LABORATORIJ (3).

VRSTNO NESPECIFIČNI ANTI BIOGRAM – NOV PRISTOP V LETU 2024

Pri bakterijah, ki so redko povzročitelji okužb pri človeku, nimamo na voljo vseh podatkov za izdelavo vrstno specifičnih antibiogramov. Največkrat manjkajo podatki o bakteriji (npr. distri-

bucija MIK divjih sevov bakterijske vrste) in klinični učinkovitosti antibiotikov za zdravljenje okužb, ki jih povzročajo (10).

EUCAST je za bakterijske vrste, za katere nimamo vseh potrebnih podatkov, leta 2024 razvil poseben postopek zbiranja in analize podatkov za izdelavo VRSTNO NESPECIFIČNIH ANTIBIOGRAMOV, ki niso specifični za določeno vrsto bakterij, temveč splošni, podrobnosti so navedene le za tri velike skupine bakterij: po Gramu pozitivne aerobe, po Gramu negativne aerobe in vse anaerobe (10). Postopek je mnogo bolj natančen, kot so bile prejšnje PK/PD kategorije, v bistvu gre za ekspertno mnenje.

Rezultat analize niso kategorije S-I-R, temveč NI (ni interpretacije), ki ji sledi MIK. Predlog možne uporabnosti ali neprimernosti antibiotika je naveden v komentarju pod tabelo, in se začne z »nakazuje«, kar poudari manjšo zanesljivost kot pri rezultatih, podanih s kategorijami S-I-R (10).

Za vrstno nespecifični antibiogram po analizi EUCAST je v izvidu pod imenom bakterije in tabelo naveden uvodni komentar k rezultatom: »EUCAST pri tej bakterijski vrsti nima vrstno specifičnih razmejitvenih vrednosti, kategorije S, I ali R ne obstajajo. Spodaj podani komentarji za posamezen antibiotik temeljijo na analizi po metodi EUCAST (10).« Rezultate analize so podani z eno od naslednjih dveh možnosti:

Antibiotik X: analiza nakazuje, da bi antibiotik lahko uporabili za zdravljenje (10).

Antibiotik Y: analiza nakazuje, da antibiotik ni primeren za zdravljenje (10).

NOVOSTI IN POSEBNOSTI ANTIBIOGRAMA PRI NEKATERIH ANTIBIOTIKIH ALI BAKTERIJAH

AZTREONAM–AVIBAKTAM. Za enterobakterije je EUCAST določil KRV konec maja 2024 in objavil tehnične podatke za testiranje (testira se normalno) (1). Za *P. aeruginosa* EUCAST ne podaja KRV (ni dovolj podatkov), kategorij S-I-R pri *P. aeruginosa* ni (1). Antibiotik je registriran v Evropi, dostopen je pri nas, indikacije so v referenci (13).

Če je pri nekem izolatu rezultat testiranja aztreonama R, aztreonam-avibaktam pa ima rezultat S, to kaže na sinergizem aztreonama z avibaktamom.

DAPTOMICIN IN ENTEROKOKI. Pri zelo odpornih enterokokih pri endokarditisu je uporaba daptomicina možna (včasih nujna, če ni druge alternative), vendar odmerki daptomicina, ki jih EMA navaja, niso zadostni za enterokokni endokarditis (8). V takih primerih je možna določitev MIK, rezultata pa ni mogoče interpretirati. O tem je bil pravkar objavljen posodobljen razlagalni dokument EUCAST (14).

BAKTERIJSKE VRSTE IZ KOMPLEKSA *BURKHOLDERIA CEPACIA*. Tem izolatom lahko določimo MIK, vendar rezultatov ne moremo interpretirati, saj iz rezultatov testiranja občutljivosti bakterij kompleksa *B. cepacia* in vitro ni mogoče zanesljivo sklepati na uspeh zdravljenja (1–3, 16).

POVZETEK VSEBINE IZVIDA

Rezultat antibiograma je podan s črkami v tabeli in komentarji pod njo, za ustrezno interpretacijo se predpostavlja dobro poznavanje pomena kategorij po EUCAST.

NOVOSTI EUCAST 2025

Posodobljeno interpretacijo za ampicilin pri enterokokih smo kot primer predstavili na sliki 2. Novost pri enterokokih so tudi nove interpretacije EUCAST za tigeciklin in eravaciklin, vendar oba navedena antibiotika nista primerna za okužbe krvi in sečil, ker hitro preideta v tkiva (2). V praksi bo najbrž zelo dobrodošel razširjeni test z diski za testiranje občutljivosti za betalaktamske antibiotike pri *Streptococcus pneumoniae*, ki je mikrobiološko poenostavljen, računalniško gledano pa zapleten (2). Precej novosti bo tudi pri bakteriji *Stenotrophomonas maltophilia*, v različnih drugih tabelah je veliko manjših sprememb v conah in MIK (2).

Vse bistvene novosti 2025 bodo na spletni strani SKUOPZ predstavljene v bodočem spremnem dokumentu ob uvedbi smernic 2025, predvidoma v začetku junija: Osnove antibiograma po smernicah EUCAST, 5. izdaja, 2025. Novosti EUCAST 2025 bodo pričele veljati po vnosu v MBL in obvestilu naročnikom.

ZAKLJUČEK

Učinek antibiotika ni DA/NE, temveč je analogen: stopnjuje se lahko od bakterioestaze do bolj ali manj hitrega ubijanja bakterij, odvisno od lastnosti antibiotika in izpostavljenosti, ter vrste okužbe. Vsi antibiotiki, za katere velja, da so bakterije zanje »občutljive«, niso enako učinkoviti v vseh okoliščinah. Napačno je soditi, da je antibiotik kategorije I sam po sebi slabši od antibiotika kategorije S, razlika v učinkovitosti je povezana z izpostavljenostjo antibiotiku na mestu okužbe.

Izbor med zdravili v kategorijah I in S je začetek usmerjenega zdravljenja. Pri izboru optimalnega antibiotika so pomembni še številni podatki o pacientu (starost, teža, druge bolezni ...), zdravilu (učinkovanje zdravila, sopojava), okužbi, socialne okoliščine, skrb za preprečevanje odpornosti ... Lečeči zdravnik podatke strne ter interpretira sam ali s pomočjo infektologa in/ali kliničnega farmacevta, zlasti če gre za antibiotike z ozkim terapevtskim oknom. Naš namen je bil podrobno pojasniti prvi korak – razumevanje antibiograma. Že ta ni enostaven.

REFERENCE

1. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 14.0, 2024. [citirano 2025 Apr 1]. Dostopno na: <https://www.eucast.org>
2. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 15.0, 2025. [citirano 2025 Apr 1]. Dostopno na: <https://www.eucast.org>
3. Štrumbelj I, Pirš M. Dokument SKUOPZ 001. Osnove antibiograma po smernicah EUCAST, 4. izdaja, junij 2024 [internet]. [citirano 2025 Apr 1]. Dostopno na: <https://imi.si/skuopz>
4. Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Recommandations 2024. V.1.0 Juin. [citirano 2025 Apr 1]. Dostopno na: https://www.sfm-microbiologie.org/boutique/_comite-de-lantibiogramme-de-la-sfm-ca-sfm-v1-0-juin-2024
5. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. EUCAST SOP 1.4 Standard Operating Procedure Setting breakpoints for new antimicrobial agents, 2 December 2021. [citirano 21. 4. 2025]. Dostopno na: <https://www.eucast.org>

-
6. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Standard Operating Procedure. Procedure for establishing zone diameter breakpoints and quality control criteria for new antimicrobial agents. EUCAST SOP 9.3. 21 July 2022. [citirano 21. 4. 2025]. Dostopno na: <https://www.eucast.org>
 7. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Antimicrobial susceptibility testing [citirano 21. 4. 2025]. Dostopno na: https://www.eucast.org/ast_of_bacteria
 8. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Warnings. 12. Cefiderocol - advice pertaining to AST and the use of commercial [citirano 21. 4. 2025]. Dostopno na: <https://www.eucast.org/ast-of-bacteria/warnings>
 9. Mouton, J. W., Muller, A. E., Canton, R., Giske, C. G., Kahlmeter, G., & Turnidge, J. MIC-based dose adjustment: facts and fables. *J Antimicrob Chemother* 2018; 73(3), 564-568.
 10. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. EUCAST guidance on when there are no breakpoints in breakpoint tables? September 2024. [citirano 21. 4. 2025]. Dostopno na: <https://www.eucast.org>
 11. Delgado V, Ajmone Marsan N, de Waha S, Bonaros N, Brida M, Burri H, Caselli S, et al. 2023 ESC Guidelines for the management of endocarditis. *Eur Heart J*. 2023; 44:3948 – 4042.
 12. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. EUCAST guidance document on infective endocarditis: Reporting of antimicrobial susceptibility testing results. December 2024. [citirano 21. 4. 2025]. Dostopno na: <https://www.eucast.org>
 13. Emblaveo 1,5 g/0,5 g prašek za koncentrat za raztopino za infundiranje. Centralna baza zdravil. [citirano 21. 4. 2025]. Dostopno na: <http://www.cbz.si/cbz/bazazdr2.nsf/o/078A-9CA6AD1C0C34C1258B200083B15D?opendocument>
 14. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Warnings. Daptomycin in endocarditis and bloodstream infections caused by enterococci (revised 23 April, 2025). [citirano 28. 4. 2025]. Dostopno na: https://www.eucast.org/eucast_news
 15. Munting, A., Regina, J., Damas, J., Lhopitallier, L., Kritikos, A., Guery, B.,... & Viala, B. Impact of 2020 EUCAST criteria on meropenem prescription for the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections: an observational study in a university hospital. *Clin Microbiol Infect*, 2022; 28(4): 558-563
 16. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Guidance Documents. Antimicrobial susceptibility testing of *Burkholderia cepacia* complex (BCC), 19 July 2013. [citirano 21. 4. 2025]. Dostopno na: <https://www.eucast.org>

KATERE DODATNE ANTIBIOTIKE LAHKO TESTIRAMO PRI POGRAMU NEGATIVNIH BAKTERIJAH S KARBAPENEMAZAMI?

WHICH ADDITIONAL ANTIBIOTICS CAN WE TEST FOR IN CARBAPENEMASE-PRODUCING GRAM-NEGATIVE BACTERIA?

Mateja Pirš¹, Julija Germ¹, Iztok Štrumbelj²,
Veronika Braune Kozjek³, Alenka Kovačič⁴, Natalija Planinc Strunjaš³

¹Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

²Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano

³Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja, UKC Ljubljana

⁴Splošna bolnišnica Murska Sobota

IZVLEČEK

V prispevku prikazujemo priporočene nabore dodatnih antibiotikov, ki jih lahko trenutno v Sloveniji testiramo pri izolatih po Gramu negativnih večkratno odpornih bacilov, ki so odporni proti karbapenenom in/ali izločajo karbapenemaze. Slovenska komisija za ugotavljanje občutljivosti za protimikrobna zdravila (SKUOPZ) in slovenski mikrobiološki laboratoriji, ki izvajajo klinično diagnostiko, redno sledijo razvoju in registraciji novih antibiotikov v Evropi (in Sloveniji) ter možnostim za zanesljivo določanje občutljivosti *in vitro* in sproti posodablajo nabor dodatnih antibiotikov.

Ključne besede: po Gramu negativni večkratno odporni bacili, ki so odporni proti karbapenenom (CR GNB), po Gramu negativni večkratno odporni bacili, ki izločajo karbapenemaze (CP GNB), CRE, CRE-CPE / CPE, CRPs / CRPs-CP, CRAB

ABSTRACT

In this paper, we present the recommended sets of additional antibiotics that can currently be tested in Slovenia on isolates of Gram-negative multidrug-resistant bacilli that are resistant to carbapenems and/or produce carbapenemases. Slovenian national antimicrobial committee (SKUOPZ) and Slovenian diagnostic microbiology laboratories regularly monitor the development and registration of new antibiotics in Europe (and Slovenia) as well as the possibilities for reliable *in vitro* susceptibility testing, and continuously update the selection of additional antibiotics.

Keywords: Carbapenem-resistant Gram-negative multidrug-resistant bacilli, carbapenemase-producing Gram-negative multidrug-resistant bacilli, CRE, CRE-CPE / CPE, CRPs / CRPs-CP, CRAB

UVOD

Naraščanje števila okužb z večkratno odpornimi po Gramu negativnimi bacili (GNB), ki so odporni proti karbapenemom – CR (angl.: *carbapenem resistant*), in GNB, ki izločajo karbapenemaze – CP (angl.: *carbapenemase producing*), je postal eden izmed pomembnejših javnozdravstvenih problemov. Odpornost proti karbapenemom je lahko posledica kombiniranih mehanizmov odpornosti, običajno betalaktamaz razširjenega spektra delovanja (ESBL) ali cefalosporinaz (ampC) v kombinaciji z izgubo porinov v zunanji membrani ali pa produkcije karbapenemaz; dodatno k odpornosti prispeva tudi delovanje izlivnih črpalk (1). Izolati so pogosto hkrati odporni tudi proti antibiotikom drugih razredov, kar omejuje možnosti za učinkovito antibiotično zdravljenje (2, 3).

Betalaktamaze so zelo velika in kompleksna skupina encimov, ki jih delimo po dveh komplementarnih klasifikacijskih shemah glede na a) funkcionalne lastnosti glede na substratni profil in profil zaviralcev betalaktamaz (BLI) (klasifikacija po Bush-Jacoby) in b) strukturne oziroma molekularne lastnosti na štiri skupine A do D (klasifikacija po Amblerju) (4, 5). Encime ESBL najdemo v skupini serinskih betalaktamaz A in D, cefalosporinaze v skupini C, karbapenemaze pa najdemo v treh od štirih skupin betalaktamaz po Amblerju – med serinske karbapenemaze spadajo karbapenemaze skupine A (pr. KPC) in skupine D (npr. encimi družine OXA-48), tretja skupina pa so karbapenemaze skupine B oziroma metalobetalaktamaze (1, 5, 6). Pričakovani substratni profil karbapenemaz je predstavljen v Tabeli 1.

Tabela 1. Substratni profil pogostih skupin karbapenemaz (povzeto po Queenan in Bush (7)).

Razred po Amblerju	Glavni predstavnik	Učinkovitost razgradnje štirih skupin betalaktamskih antibiotikov			
		Penicilini	Cefalosporini	Karbapenemi	Monobaktami
A	KPC	+	+	+	+
B	NDM, VIM	+	+	+	–
D	družina OXA-48	+	–	+	–

Za ohranjanje aktivnosti določenih betalaktamskih antibiotikov (BL) lahko uporabimo kombinacije BL/BLI. Pregled BLI, ki so že v klinični uporabi, je predstavljen v Tabeli 2. Glavni BLI, ki delujejo na ESBL skupine A, so klavulanska kislina, sulbaktam in tazobaktam. Glavni zaviralci karbapenemaz iz skupine A in delno iz skupine D (npr. družina OXA-48) so avibaktam, vaborbaktam in relebaktam, ki zavirajo tudi delovanje encimov ESBL in betalaktamaz iz skupine C (Tabela 2) (8, 9).

Tabela 2. Pregled aktivnosti zaviralcev betalaktamaz (BLI), ki so že v klinični uporabi, proti glavnim betalaktamazam (povzeto po (8, 9)).

BLI	Učinkovanje BLI na glavne predstavnike BL				
	ESBL	AmpC	KPC	NDM, VIM	Družina OXA-48
Klavulanska kislina	+	–	–	–	–
Tazobaktam	+	–	–	–	–
Enmetazobaktam	+	–	– (+)*	–	–
Avibaktam	+	+	+	–	+
Relebaktam, Vaborbaktam	+	+	+	–	–

* Nezanесljivo delovanje proti KPC

Proti izolatoma z epidemiološko najpomembnejšimi serinskimi karbapenemazami so večinoma učinkovite kombinacije novih zaviralcev karbapenemaz (avibaktam ipd.) s klasičnimi betalaktamskimi antibiotiki, to so npr. ceftazidim/avibaktam, imipenem/relebaktam. Specifičnih zaviralcev karbapenemaz skupine B (metalobetalaktamaz) zaenkrat še ni v klinični rabi, uporabna pa je lahko v letu 2024 odobrena kombinacija aztreonam/avibaktam, ker je aztreonam odporen proti metalobetalaktamazam, avibaktam pa inhibira druge betalaktamaze, ki razgrajujejo aztreonam. Od novejših betalaktamskih antibiotikov je za zdravljenje okužb z GNB-CP lahko primeren še sideroforni cefalosporin cefiderokol. Običajno ostajajo učinkoviti tudi antibiotiki iz drugih skupin, kot so kolistin za večino GNB-CP, fosfomicin in tigeciklin pa za enterobakterije in acinetobakte (2, 3).

Namen prispevka je prikazati priporočene nabore dodatnih antibiotikov, ki jih lahko trenutno v Sloveniji testiramo pri izolatih CP/CR GNB. Priporočila glede zdravljenja so opisana v prispevku Planinc Strunjaš in sod. *Priporočila za zdravljenje okužb s po Gramu negativnimi bakterijami s karbapenemazami.*

OPREDELITVE ODPORNOSTI PROTI KARBAPENEMOM PRI ENTEROBAKTERIJAH, PSEUDOMONASIH IN ACINETOBAKTRIJI

Opredelitve odpornosti proti karbapenemom pri enterobakterijah, psevdomonasih in acinetobaktirih so opisane v dokumentu Slovenske komisije za ugotavljanje občutljivosti za protimikrobna zdravila (SKUOPZ) in prikazane v Tabeli 3 (10).

TESTIRANJE OBČUTLJIVOSTI ZA ANTIBIOTIKE PRI CP/CR GNB

V Sloveniji testiramo občutljivost za antibiotike po smernicah evropske komisije za testiranje protimikrobne občutljivosti – EUCAST (11). V prvem koraku pri bakterijskem izolatu enterobakterij, psevdomonasov in acinetobaktrov naredimo standardni antibiogram, ki vključuje glavne skupine antibiotikov, ki so primerni za zdravljenje okužb z osamljeno bakterijo, ne vključujejo pa antibiotikov za zdravljenje okužb s CP/CR GNB. Nabor dodatnih antibiotikov, ki jih lahko testiramo pri CP/CR GNB, se razlikuje za posamezne GNB, v splošnem pa vključuje kombinacije BL/BLI (npr. ceftolozan/tazobaktam, ceftazidim/avibaktam, imipenem/relebaktam, aztreonam/avibaktam) in dodatna BL, aztreonam in cefiderokol. Cefiderokol je sideroforni cefalosporin, pri katerem lahko občutljivost po smernicah EUCAST določamo z disk difuzijsko metodo. Klinične razmejitvene vrednosti pri tem antibiotiku po smernicah EUCAST tako pri enterobakterijah kot tudi pri *Pseudomonas aeruginosa* vključujejo področje tehnične negotovosti, rezultat testiranja z disk difuzijsko metodo je pogosto S* ali R*, zato bi bil v takšnih primerih koristen podatek o minimalni inhibitorni koncentraciji (MIK), vendar je določanje MIK cefiderokola tehnično zahtevno; uporabo komercialnih testov za določanje MIK pa EUCAST odsvetuje zaradi neustreznih rezultatov njihovih neodvisnih ocen (12, 13). Od ostalih skupin antibiotikov lahko testiramo še npr. kolistin, tigeciklin, eravaciklin (2, 3). Smernice omenjajo tudi fosfomicin, smernice EUCAST imajo razmejitvene kriterije samo za *E. coli* za nezapletene okužbe sečil in okužbe, ki izvirajo iz sečil; v kolikor je potrebno določanje MIK, ga lahko določimo samo z metodo agar-dilucije (11, 14). V vseh ostalih okoliščinah in za vse druge enterobakterije testiranje občutljivosti ni smiselno, saj niso ugotovili korelacije med ugotovljenimi MIK za fosfomicin in kliničnimi izidi zdravljenja (15). Zdravljenje s

kombinacijo fosfomicina in drugega antibiotika je po smernicah lahko smiselno, vendar je uporaba kombinacij izkustvena, saj ni zanesljive metode za testiranje skupne občutljivosti *in vitro* za kombinacijo dveh zdravil (15).

Tabela 3. Opredelitve, oznake in opombe epidemiološko pomembnih CP/CR GNB (povzeto po SKUOPZ (10)).

Vrsta izolata	Mikrobiološki kriterij – antibiotik in/ali tvorba karbapenemaz ¹	Značilnost (oznaka) izolata ²	Opomba, besedilo k izolatu z določeno značilnostjo
Enterobakterije	odpornost - R: meropenem in/ali imipenem	CRE	Izolirani sev je odporen proti karbapenemom. Posvetujte se z infektologom ali s kliničnim mikrobiologom. Potrebna je dosledna izolacija bolnika.
	odpornost - R: meropenem in/ali imipenem in tvorba karbapenemaz	CRE-CPE	Izolirani sev izloča karbapenemazo. Posvetujte se z infektologom ali s kliničnim mikrobiologom. Potrebna je dosledna izolacija bolnika.
	občutljiv - S/I - za: meropenem in imipenem in tvorba karbapenemaz	CPE	Izolirani sev izloča karbapenemazo. Posvetujte se z infektologom ali s kliničnim mikrobiologom. Potrebna je dosledna izolacija bolnika.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	odpornost - R: piperacilin/tazobaktam + imipenem in/ali meropenem + ceftazidim in/ali cefepim	CRPs	Izolirani sev je odporen proti karbapenemom in drugim betalaktamskim antibiotikom. Posvetujte se z infektologom ali s kliničnim mikrobiologom. Potrebna je dosledna izolacija bolnika.
	odpornost - R: piperacilin/tazobaktam + imipenem in/ali meropenem + ceftazidim in/ali cefepim in tvorba karbapenemaz	CRPs-CP	Izolirani sev izloča karbapenemazo. Posvetujte se z infektologom ali kliničnim mikrobiologom. Potrebna je dosledna izolacija bolnika.
<i>Acinetobacter baumannii</i> (kompleks)	odpornost - R: imipenem in/ali meropenem	CRAb	Izolirani sev je odporen proti karbapenemom. Posvetujte se z infektologom ali s kliničnim mikrobiologom. Priporočljiva je dosledna izolacija bolnika.
	odpornost - R: imipenem in/ali meropenem in tvorba karbapenemaz	CRAb-CP	Izolirani sev izloča karbapenemazo. Posvetujte se z infektologom ali s kliničnim mikrobiologom. Potrebna je dosledna izolacija bolnika.

¹ Z zanesljivimi fenotipskimi in / ali molekularnimi metodami potrjen mehanizem odpornosti, tvorba karbapenemaz.

² Značilnost (oznaka) izolata, ki se uporablja v mikrobiološkem laboratorijskem informacijskem sistemu MBL; kratica, dodana imenu izolata, povezuje mehanizem odpornosti (karbapenemaze) ali vzorec odpornosti proti določenim antibiotikom. Oznake, ki predstavljajo t.i. kritične značilnosti (KZ), prožijo avtomatska opozorila v MBX oziroma v bolnišničnih informacijskih sistemih.

NABOR DODATNIH ANTIBIOTIKOV, KI JIH LAHKO TESTIRAMO PRI CRE IN CRE-CPE / CPE

Nabor dodatnih antibiotikov, ki jih lahko testiramo pri CRE in CRE-CPE / CPE, je prikazan v Tabeli 4. Predstavljeni nabor ne pomeni, da je aktivnost teh antibiotikov pričakovana, potrebno je počakati na rezultat testiranja občutljivosti *in vitro* in mehanizmov odpornosti proti

karbapenemom. Običajno testiramo celoten nabor, kljub temu da določeni antibiotiki morda niso primerni za zdravljenje (pr. ceftolozan/tazobaktam pri CRE-CPE / CPE). Priporočila glede zdravljenja so opisana v prispevku Planinc Strunjaš in sod. *Priporočila za zdravljenje okužb s po Gramu negativnimi bakterijami s karbapenemazami.*

Tabela 4. Nabor dodatnih antibiotikov, ki jih lahko testiramo pri CRE in CRE-CPE / CPE (povzeto po (2,11)).

Antibiotik	CRE	CRE-CPE / CPE
Ceftolozan/tazobaktam	variabilno	ne ¹
Ceftazidim/avibaktam	da	variabilno ²
Imipenem/relebaktam	da	variabilno ²
Aztreonam	variabilno	variabilno
Aztreonam/avibaktam	da	da
Cefiderokol	da	da
Eravaciklin	da ³	da ³
Kolistin	da	da
Tigeciklin	da ⁴	da ⁴

Da – potencialna občutljivost *in vitro* glede na mehanizem odpornosti proti karbapenemom; potrebno je testiranje občutljivosti za antibiotik, možen razvoj odpornosti. Ne – pričakovana odpornost glede na mehanizem odpornosti proti karbapenemom.

¹ Izolati, ki izločajo OXA-48, so lahko občutljivi *in vitro* za cefalosporine (tazobaktam ni aktiven proti OXA-48 ali drugim karbapenemazam).

² Ni učinkovit pri CRE-CPE / CPE izolatih, ki izločajo metalobetalaktamaze (npr. NDM, VIM).

³ Razmejitvene vrednosti samo za okužbe z *E. coli*, ki izvirajo iz sečil.

⁴ Razmejitvene vrednosti samo za *E. coli* in *Citrobacter koseri*, pri ostalih enterobakterijah ni interpretacije.

Monobaktamski antibiotik aztreonam je lahko del osnovnega ali razširjenega antibiograma. Nanj ne učinkujejo metalobetalaktamaze in karbapenemaze iz družine OXA-48, razgrajujejo ga karbapenemaze KPC in pogosto tudi encimi ESBL in AmpC (Tabela 1). Meropenem/vaborbaktam se v Sloveniji redko uporablja, po podatkih Centralne baze zdravil trenutno ni na voljo (16). Različne smernice omenjajo tudi parenteralni fosfomicin kot možno zdravljenje okužb s CRE in CRE-CPE / CPE (2, 3). Po smernicah EUCAST so na voljo samo klinične razmejitvene vrednosti za *E. coli* za nezapletene okužbe sečil in okužbe, ki izvirajo iz sečil (14). Za druge okužbe, ki jih povzroča *E. coli*, oziroma za okužbe z drugimi enterobakterijami EUCAST zaradi pomanjkljivih podatkov o povezavi med MIK in klinično učinkovitostjo nima postavljenih kliničnih razmejitvenih vrednosti in ne priporoča testiranja občutljivosti. Hkratno zdravljenje s fosfomicinom in drugim antibiotikom je lahko smiselno, vendar je uporaba kombinacij izkusvena, saj ni zanesljive metode za testiranje občutljivosti *in vitro* za kombinacije antibiotikov (15). Parenteralni fosfomicin v Sloveniji ni registriran. Med novejšimi kombinacijami je v Evropi registriran tudi cefepim/enmetazobaktam, vendar v Sloveniji ni registriran (16).

NABOR DODATNIH ANTIBIOTIKOV, KI JIH LAHKO TESTIRAMO PRI CRPS / CRPS-CP

Nabor dodatnih antibiotikov, ki jih lahko testiramo pri CRPs / CRPs-CP je prikazan v Tabeli 5. Predstavljeni nabor ne pomeni, da je aktivnost teh antibiotikov pričakovana, potrebno je počakati na rezultat testiranja občutljivosti *in vitro* in mehanizmov odpornosti proti karbapenemom. Tudi tukaj običajno testiramo celoten nabor, kljub temu da določeni antibiotiki morda niso primerni za zdravljenje (npr. ceftolozan/tazobaktam pri CRPs-CP). Priporočila

glede zdravljenja so opisana v prispevku Planinc Strunjaš in sod. *Priporočila za zdravljenje okužb s po Gramu negativnimi bakterijami s karbapenemazami.*

Tabela 5. Nabor dodatnih antibiotikov, ki jih lahko testiramo pri CRPs / CRPs-CP (povzeto po (2, 11)).

Antibiotik	CRPs	CRPs-CP
Ceftolozan/tazobaktam	da	ne ¹
Ceftazidim/avibaktam	da	variabilno/ne ²
Imipenem/relebaktam	da	variabilno/ne ²
Aztreonam	variabilno	da
Cefiderokol	da	da
Kolistin	da	da

Da – potencialna občutljivost *in vitro* glede na mehanizem odpornosti proti karbapenemom; potrebno je testiranje občutljivosti za antibiotik, možen razvoj odpornosti. Ne – pričakovana odpornost glede na mehanizem odpornosti proti karbapenemom.

¹ Ni učinkovit pri izolatih CRPs-CP.

² Ni učinkovit pri izolatih CRPs-CP, ki izločajo metalobetalaktamaze.

Za zdravljenje z aztreonamom so potrebni veliki odmerki (interpretacija v antibiogramu je I), v pošteved pride predvsem pri okužbah s CRPs-CP, ki izločajo metalobetalaktamaze in nimajo izraženih drugih mehanizmov odpornosti. EUCAST nima kliničnih razmejitvenih vrednosti za kombinacijo aztreonam/avibaktam in zaenkrat ni dokazov, da bi imela ta kombinacija večjo prednost (17, 18). Različne smernice omenjajo tudi parenteralni fosfomicin kot možni antibiotik za zdravljenje okužb s CRPs / CRPs-CP (2, 3). EUCAST meni, da testiranje občutljivosti ni smiselno, saj niso ugotovili korelacije med MIK za fosfomicin in klinično učinkovitostjo (15). Hkratno zdravljenje s fosfomicinom in drugim antibiotikom je lahko smiselno, vendar je uporaba kombinacij izkustvena, saj ni zanesljive metode za testiranje občutljivosti *in vitro* za kombinacije antibiotikov (15). Parenteralni fosfomicin v Sloveniji ni registriran (16).

NABOR DODATNIH ANTIBIOTIKOV, KI JIH LAHKO TESTIRAMO PRI CRAB

Nabor dodatnih antibiotikov, ki jih lahko testiramo pri CRAB, je prikazan v Tabeli 6. Predstavljeni nabor ne pomeni, da je aktivnost teh antibiotikov pričakovana, potrebno je počakati na rezultat testiranja občutljivosti *in vitro* in mehanizmov odpornosti proti karbapenemom. Priporočila glede zdravljenja so opisana v prispevku Planinc Strunjaš in sod. *Priporočila za zdravljenje okužb s po Gramu negativnimi bakterijami s karbapenemazami.*

Tabela 6. Nabor dodatnih antibiotikov, ki jih lahko testiramo pri CRAB (povzeto po (2, 11)).

Antibiotik	CRAB/ CRAB-CP
Cefiderokol	da ¹
Kolistin	da
Tigeciklin (eravaciklin, minociklin)	da ²

Da – potencialna občutljivost *in vitro* glede na mehanizem odpornosti proti karbapenemom; potrebno je testiranje občutljivosti za antibiotik, možen razvoj odpornosti. Ne – pričakovana odpornost glede na mehanizem odpornosti proti karbapenemom.

¹ Ni dovolj kliničnih dokazov, da bi uporabili klinični kategoriji S ali R, v izvidu izpišemo NI (ni interpretacije), natančnejša obrazložitev glede možnosti zdravljenja s cefiderokolom je v komentarju k izolatu.

² Ni zadostnih dokazov, da je antibiotik učinkovit za zdravljenje okužb z *A. baumannii*. Lahko določimo MIK, nimamo interpretacije po EUCAST.

Nabor je še vedno zelo omejen. Iz skupine tetraciklinskih antibiotikov običajno dodatno testiramo tigeciklin, vendar EUCAST nima kliničnih razmejitenih vrednosti zanj, saj ni dokazov, da je učinkovit za zdravljenje okužb z *Acinetobacter baumannii*, zato določimo samo MIK in podamo interpretacijo NI – ni interpretacije (14). Različne smernice omenjajo tudi parenteralni fosfomicin kot možni antibiotik za zdravljenje okužb s CRAB/ CRAB-CP (2, 3). EUCAST meni, da testiranje občutljivosti ni smiselno, saj niso ugotovili korelacije med MIK za fosfomicin in klinično učinkovitostjo (15). Hkratno zdravljenje s fosfomicinom in drugim antibiotikom je lahko smiselno, vendar je uporaba kombinacij izkustvena, saj nimamo zanesljive metode za testiranje občutljivosti in vitro za kombinacije antibiotikov (15). Parenteralni fosfomicin v Sloveniji ni registriran (16).

ZAKLJUČEK

V prispevku smo prikazali priporočene nabore dodatnih antibiotikov, ki jih lahko trenutno v Sloveniji testiramo pri izolatih najpomembnejših CP/CR GNB, torej CRE in CRE-CPE / CPE, CRPs / CRPs-CP ter CRAB. SKUOPZ in slovenski mikrobiološki laboratoriji redno sledijo razvoju in registraciji novih antibiotikov v Evropi (in Sloveniji), možnostim za zanesljivo določanje občutljivosti *in vitro* ter sproti posodabljaajo nabor dodatnih antibiotikov za CP/CR GNB.

LITERATURA

1. Nordmann P, Dortet L, Poirel L. Carbapenem resistance in *Enterobacteriaceae*: here is the storm! Trends Mol Med. 2012; 18(5):263–72.
2. Paul M, Carrara E, Retamar P, Tängdén T, Bitterman R, Bonomo RA, et al. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) guidelines for the treatment of infections caused by multidrug-resistant Gram-negative bacilli (endorsed by European society of intensive care medicine). Clin Microbiol Infection. 2022; 28(4):521–47.
3. Tamma PD, Heil EL, Justo JA, Mathers AJ, Satlin MJ, Bonomo RA. Infectious Diseases Society of America 2024 Guidance on the Treatment of Antimicrobial-Resistant Gram-Negative Infections. Clin Infect Dis. 2024; 1-56
4. Ambler R. The structure of beta-lactamases. Phil Trans R Soc Lond B. 1980; 289:321–31.
5. Bush K, Jacoby GA. Updated Functional Classification of Beta Lactamases. Antimicrob Agents Chemoth. 2010; 54(3):969–76.
6. Bush K, Bradford PA. Interplay between β -lactamases and new β -lactamase inhibitors. Nat Rev Microbiol. 2019; 17(5):295–306.
7. Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. Clin Microb Rev. 2007; 20(3):440–58
8. Mojica MF, Rossi MA, Vila AJ, et al. The urgent need for metallo- β -lactamase inhibitors: an unattended global threat. Lancet Infect Dis. 2022;22(1):e28–34.
9. Bonnin RA, Jeannot K, Santerre Henriksen A, et al. In vitro activity of cefepime-enmetazobactam on carbapenem-resistant Gram negatives. Clin Microbiol Infect. 2025; 31(2):240–9.
10. Pirš M, Štrumbelj I, Lejko Zupanc T, Mrvič T. Dokument SKUOPZ 003. Enterobakterije, *Acinetobacter baumannii* in *Pseudomonas aeruginosa* - označevanje večkratno odpornih izolatov in okrajšave preiskav nadzornih kužnin - 2. izdaja. Ljubljana: Slovenska komisija za ugotavljanje občutljivosti za protimikrobna zdravila (SKUOPZ); 2022 [citirano 28. 4. 2024]. Dostopno na: <https://imi.si/skuopz/>.

-
11. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing - EUCAST [Internet]. [citirano 28. 4. 2024]. Dostopno na: <https://www.eucast.org/>
 12. EUCAST warnings concerning antimicrobial susceptibility testing products or procedures [Internet]. [citirano 28. 4. 2024]. Dostopno na: <https://www.eucast.org/ast-of-bacteria/warnings>
 13. EUCAST. Guidance document on broth microdilution testing of cefiderocol [Internet]. [citirano 28. 4. 2024]. Dostopno na: https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Guidance_documents/Cefiderocol_MIC_testing_EUCAST_guidance_document_January_2024.pdf
 14. EUCAST guidance on use of fosfomycin i.v. breakpoints [Internet]. [citirano 28. 4. 2024]. Dostopno na: https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Guidance_documents/Use_of_fosfomycin_iv_breakpoints_General_advice_20240528.pdf
 15. Centralna baza zdravil. Republika Slovenija Ministrstvo za zdravje, Javna agencija za zdravila in medicinske pripomočke, Zavod za zdravstveno varstvo Slovenije, Nacionalni inštitut za javno zdravje. [Internet]. [citirano 28. 4. 2024]. Dostopno na: <http://www.cbz.si>
 16. EUCAST Clinical breakpoints - breakpoints and guidance [Internet]. [citirano 28. 4. 2024]. Dostopno na: https://www.eucast.org/clinical_breakpoints
 17. Karlowsky JA, Kazmierczak KM, De Jonge BLM, Hackel MA, Sahm DF, Bradford PA. In Vitro Activity of Aztreonam-Avibactam against *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas aeruginosa* Isolated by Clinical Laboratories in 40 Countries from 2012 to 2015. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017;61(9):e00472-17.
 18. Lee M, Abbey T, Biagi M, Wenzler E. Activity of aztreonam in combination with ceftazidime-avibactam against serine- and metallo- β -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa*. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2021;99(1):115227.

PRIPOROČILA ZA ZDRAVLJENJE OKUŽB S PO GRAMU NEGATIVNIMI BAKTERIJAMI S KARBAPENEMAZAMI

TREATMENT RECOMMENDATIONS FOR CARBAPENEMASE PRODUCING GRAM-NEGATIVE BACTERIAL INFECTIONS

Natalija Planinc Strunjaš¹, Veronika Braune Kozjek¹,
Alenka Kovačič⁴, Iztok Štrumbelj², Julija Germ³, Mateja Pirš³

¹Klinika za infektivne bolezni in vročinska stanja, UKC Ljubljana

²Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Maribor

³Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

⁴Splošna bolnišnica Murska Sobota

IZVLEČEK

Bakterijska odpornost proti antibiotikom je pomemben javnozdravstveni in klinični izziv. Izločanje karbapenemaz, encimov, ki razgrajujejo širok spekter betalaktamov in jih zaviralci betalaktamaz večinoma ne zavrejo, je klinično in epidemiološko najpomembnejši mehanizem te odpornosti. Prispevek povzema priporočila za zdravljenje okužb, ki jih povzročajo po Gramu negativne bakterije s karbapenemazami (zlasti enterobakterije, *Pseudomonas aeruginosa* in *Acinetobacter baumannii*), ter predstavi smernice IDSA in ESCMID ter v Sloveniji odobrene antibiotike.

Ključne besede: odpornost proti antibiotikom, proti karbapenemom odporne bakterije, karbapenemaze, CRE, CRPs, CRAB

ABSTRACT

Antibiotic resistance in bacteria is a significant public health and clinical challenge. The production of carbapenemases – enzymes that hydrolyze a broad range of beta-lactams and are mostly not inhibited by beta-lactamase inhibitors – is the most clinically and epidemiologically important mechanism of this resistance. This article summarizes the recommendations for the treatment of infections caused by Gram-negative bacteria producing carbapenemases (particularly Enterobacterales, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Acinetobacter baumannii*), and presents the IDSA and ESCMID guidelines as well as antibiotics approved for use in Slovenia.

Key words: antimicrobial resistance, carbapenem resistant bacteria, carbapenemases, CRE, CRPs, CRAB

UVOD

Protimikrobna odpornost je med desetimi največjimi javnozdravstvenimi grožnjami. Letno povzroči skoraj 5 milijonov smrti, največjo nevarnost pa predstavljajo odporne po Gramu

negativne bakterije (GNB) (1, 2). Ključna sta hitra mikrobiološka diagnostika za zgodnje prepoznavanje odpornih bakterij in učinkovito zdravljenje. Članek povzema priporočila IDSA in ESCMID za zdravljenje okužb z GNB, ki izločajo karbapenemaze; posebej obravnava enterobakterije, *Pseudomonas aeruginosa* in *Acinetobacter baumannii*.

DEFINICIJE

Odpornost proti karbapenemom (CR) pri GNB je lahko posledica tvorbe karbapenemaz (CP) ali posledica kombiniranih mehanizmov, običajno tvorbe betalaktamaz (BL) z razširjenim spektrom (angl. *extended-spectrum β -lactamase*, ESBL) ali cefalosporinaz (AmpC), v kombinaciji z zmanjšano prepustnostjo zunanje membrane zaradi izgube porinov; dodatno k odpornosti prispeva tudi povečana aktivnost izlivnih črpalk (3). Karbapenemaze poleg karbapenemov razgrajujejo še peniciline ter variabilno cefalosporine in monobaktame; spekter delovanja je odvisen od razreda, ki mu encim pripada (4). Delovanja karbapenemaz starejši zaviralci betalaktamaz (ang. *beta-lactamase inhibitors*; BLI) večinoma ne zavrejo, izjema so novejši (avibaktam, vaborbaktam, relebaktam), ki zavirajo le specifične razrede. Po Amblerjevi klasifikaciji karbapenemaze delimo na razrede A, B in D. V razredu A in D so serinske BL, v razredu B pa so metalo-betalaktamaz (MBL) (4). V razredu A so najpomembnejše karbapenemaze KPC (angl. *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase; KPC), prisotne pri različnih GNB, zlasti *K. pneumoniae*. Razgrajujejo vse skupine betalaktamskih antibiotikov (4). V razredu D so ključne oksacilinaze (angl. *oxacillinase*; OXA) OXA-23, OXA-24, OXA-58 (običajno jih najdemo pri acinetobaktarih) in OXA-48 (enterobakterije). OXA-48 ne razgrajujejo cefalosporinov (5). Ključni predstavniki razreda B (MBL) so IMP (angl. *imipenemase*; IMP), VIM (angl. *Verona integron-encoded metallo- β -lactamase*; VIM) in NDM (angl. *New Delhi metallo- β -lactamase*; NDM), ki ne razgrajujejo monobaktamov (4). Geni za karbapenemaze se pogosto nahajajo na mobilnih genetskih elementih in se zlahka prenašajo med bakterijskimi vrstami (6). Najpogosteje se pojavljajo pri enterobakterijah ter pri nefermentativnih bacilih iz rodov *Pseudomonas* in *Acinetobacter* (6). Zaradi kliničnega in epidemiološkega pomena določenih večkratno odpornih bakterij (VOB) te izolate posebej označujemo. V Sloveniji jih v laboratorijskem sistemu označujemo s »kritičnimi značilnostmi« (npr. ESBL) in opredelitve pomembnih CP/CR GNB temeljijo na kriterijih SKUOPZ (glej Tabelo 1). Mednarodne oznake so večinoma usklajene, izjema so CP/CR GNB, zlasti *P. aeruginosa*. Leta 2012 je bila predlagana mednarodna opredelitev VOB: odpornost na ≥ 1 antibiotik v ≥ 3 skupinah (7). Evropska mreža za spremljanje protimikrobne odpornosti (angl. *European Antimicrobial Resistance Surveillance Network*; EARS-Net) pri invazivnih izolatih *P. aeruginosa* uporablja definicijo VOB kot odpornost proti ≥ 3 skupinam (piperacilin/tazobaktam, ceftazidim, karbapenemi, fluorokinoloni, aminoglikozidi); to velja tudi v nekaterih evropskih državah (8, 9). Takšna sistematična opredelitev ima pomanjkljivosti, saj je lahko klinično težavna za interpretacijo in slabše korelira z izidom. V ZDA so predlagali novo opredelitev – bakterije z odpornostjo, ki so težavne za zdravljenje (angl. *difficult to treat*; DTR), neobčutljive na antibiotike prve izbire: karbapeneme, BL/BLI kombinacije in fluorokinolone (10, 11). Slovenska opredelitev je ožja in vključuje hkratno odpornost proti piperacilin/tazobaktamu, cefalosporinom in karbapenemom (Tabela 1). Pri branju tuje literature je ključno preveriti uporabljeno definicijo (12).

Tabela 1. Opredelitve, oznake in opombe klinično in epidemiološko pomembnih CP/CR GNB (povzeto po SKUOPZ (12)).

Vrsta izolata	Mikrobiološki kriterij – antibiotik in/ali tvorba karbapenemaz ¹	Značilnost (oznaka) izolata ²	Opomba, besedilo k izolatu z določeno značilnostjo
Enterobakterije	odpornost - R: meropenem in/ali imipenem	CRE	Izolirani sev je odporen proti karbapenemom. Posvetujte se z infektologom ali kliničnim mikrobiologom. Potrebna je dosledna izolacija bolnika.
	odpornost - R: meropenem in/ali imipenem in tvorba karbapenemaz	CRE-CPE	Izolirani sev izloča karbapenemazo. Posvetujte se z infektologom ali kliničnim mikrobiologom. Potrebna je dosledna izolacija bolnika.
	občutljiv - S/I - za: meropenem in imipenem in tvorba karbapenemaz	CPE	Izolirani sev izloča karbapenemazo. Posvetujte se z infektologom ali kliničnim mikrobiologom. Potrebna je dosledna izolacija bolnika.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	odpornost - R: piperacilin/tazobaktam in imipenem in/ali meropenem in ceftazidim in/ali cefepim	CRPs	Izolirani sev je odporen proti karbapenemom in drugim betalaktamskim antibiotikom. Posvetujte se z infektologom ali kliničnim mikrobiologom. Potrebna je dosledna izolacija bolnika.
	odpornost - R: piperacilin/tazobaktam in imipenem in/ali meropenem in ceftazidim in/ali cefepim in tvorba karbapenemaz	CRPs-CP	Izolirani sev izloča karbapenemazo. Posvetujte se z infektologom ali kliničnim mikrobiologom. Potrebna je dosledna izolacija bolnika.
<i>Acinetobacter baumannii</i> (kompleks)	odpornost - R: imipenem in/ali meropenem	CRAb	Izolirani sev je odporen proti karbapenemom. Posvetujte se z infektologom ali kliničnim mikrobiologom. Priporočljiva je dosledna izolacija bolnika.
	odpornost - R: imipenem in/ali meropenem in tvorba karbapenemaz	CRAb-CP	Izolirani sev izloča karbapenemazo. Posvetujte se z infektologom ali kliničnim mikrobiologom. Potrebna je dosledna izolacija bolnika.

¹Z zanesljivimi fenotipskimi in / ali molekularnimi metodami potrjen mehanizem odpornosti, tvorba karbapenemaz

²Značilnost (oznaka) izolata, ki se uporablja v mikrobiološkem laboratorijskem informacijskem sistemu MBL; kratica, dodana imenu izolata, povzema ali mehanizem odpornosti (karbapenemaze) ali vzorec odpornosti proti določenim antibiotikom. Oznake, ki predstavljajo t.i. kritične značilnosti (KZ), prožijo avtomatska opozorila v MBX oziroma v bolnišničnih informacijskih sistemih.

EPIDEMIOLOGIJA

Epidemiologija CRE je raznolika in zaskrbljujoča zaradi naraščajoče odpornosti, tudi v Evropi. Geografska porazdelitev karbapenemaz je specifična, a se zaradi globalnega prenosa hitro spreminja. Svetovna zdravstvena organizacija (SZO) in Evropski center za preprečevanje in obvladovanje bolezni (angl. *European Centre for Disease Prevention and Control*; ECDC) poročata o naraščajoči pojavnosti CR pri *K. pneumoniae*, v zadnjih letih tudi pri *Escherichia coli* (13, 14). EARS-Net 2023 navaja veliko variabilnost deleža *K. pneumoniae* CR pri invazivnih okužbah – od 0 % do 69,7 % med državami. V Sloveniji se je delež CR pri *K. pneumoniae* povečal z 0,3 % (2019) na 3,8 % (2023) (14). Pojavnost okužb krvi s *K. pneumoniae* CR v Evropi se je povečala z 2,52 (2019) na 3,97/100.000 prebivalcev v 2023 (razpon 0,0–21,44). V Sloveniji se je pojavnost povečala z 0,05 (2019) na 0,62/100.000 prebivalcev (2023), kar pomeni 1.140 % porast – največji v EU (sledila je Madžarska) (9). Delež *E. coli* CR je, kljub bistveno večjemu absolutnemu številu invazivnih izolatov, manjši – delež odpornih izolatov

v 2023 je znašal med 0–1,8 % (v Sloveniji 0,1 %); pojavnost se je od leta 2019 zmanjšala z 0,2 na 0,14/100.000 prebivalcev v letu 2023 (9). Na zahodnem Balkanu okužbe najpogosteje povzroča *K. pneumoniae* CR, sledijo *E. coli* in *Enterobacter* spp. Leta 2021 je bila pojavnost *K. pneumoniae* CR 37,1 % v Bosni in Hercegovini (BiH) in 62,7 % v Srbiji (13). Sprva je med karbapenemazami prevladovala NDM (Srbija, Kosovo, Črna gora), zdaj pa prevladuje OXA-48, zlasti v Srbiji in BiH (15).

EARS-Net 2023 poroča o veliki variabilnosti deleža CRAb (angl. *carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii*; CRAb) pri invazivnih okužbah (0,0–95,8 %), povprečno 40,1 %. V Sloveniji se je delež pomembno spreminjal v zadnjih 5 letih od 22,5 % (2019) na 66,9 % (2021), po pandemiji pa 23,1 % (2023) (9). Pojavnost okužb krvi s CRAb je v letu 2023 v Evropi zrasla z 2,45 (2019) na 2,98/100.000 (21,6 % porast). V državah južno od Slovenije, ki sodijo v balkansko regijo, delež invazivnih sevov CRAb presega 95 % (9, 13). Podrobnosti za Slovenijo so predstavljeni v prispevkih Štrumbelj (VOB) in Pirš (CPE). Podatki EARS-Net za *P. aeruginosa* niso povsem primerljivi, ker slovenska opredelitev VOB *P. aeruginosa* (CRPs) odstopa od ECDC (9). Prisotnost karbapenemaz je pogosta predvsem v bolnišnicah na oddelkih za intenzivno zdravljenje. Podatke o slovenskih trendih CRPs podajajo v prispevku Štrumbelj in sod. Stalno spremljanje trendov je ključno za prilagajanje preventivnih in terapevtskih strategij. Pomembno je poznati lokalne vzorce odpornosti, saj se razširjenost karbapenemaz med regijami razlikuje. Hitro širjenje plazmidnih karbapenemaz zahteva globalno usklajeno ukrepanje.

LABORATORIJSKA DIAGNOSTIKA

Slovenski mikrobiološki laboratoriji za ugotavljanje odpornosti proti karbapenemom sledijo priporočilom SKUOPZ (Strokovna komisija za ugotavljanje okužb, povezanih z zdravstveno oskrbo), ki temeljijo na smernicah EUCAST (angl. *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*) (16, 17). Prvi t.i. presejalni korak je določanje občutljivosti za karbapeneme in druge betalaktame. Za psevdomonase in acinteobakte presejalni kriteriji ustrezajo kliničnim mejam za R kategorijo antibiotikov, ki opredeljujejo CR bakterije. Za enterobakterije so presejalni kriteriji EUCAST strožji od kliničnih razmejitvenih vrednosti, kar omogoča zaznavo CPE (angl. *carbapenemase-producing Enterobacterales*; CPE), ki še ni CRE-CPE (angl. *carbapenem-resistant Enterobacterales-carbapenemase-producing Enterobacterales*; CRE-CPE). Po EUCAST ima najboljše razmerje med specifičnostjo in senzitivnostjo za presejanje CPE meropenem (16, 17). Ob sumu na CP pri *Pseudomonas* spp. ali enterobakterijah izvedemo potrditvene teste in določimo aktivnost in tip encima. Pri CRAb tipa karbapenemaze običajno ne določamo, saj (zaenkrat) ne vpliva na izbiro zdravljenja (17).

ZDRAVLJENJE OKUŽB Z GNB, KI SO ODPORNE PROTI KARBAPENEMOM IN/ALI IZLOČAJO KARBAPENEMAZE

Okužbe s CR bakterijami vodijo v daljše hospitalizacije, večje stroške in večjo smrtnost, zlasti če gre za GNB CP (1,18). Zadnja priporočila ESCMID (angl. *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*) (2022) in IDSA (angl. *The Infectious Diseases Society of America*) (2024) obravnavajo zdravljenje okužb z večkratno odpornimi GNB (11,19). Pri okužbah z GNB CP se včasih uporabljajo starejši antibiotiki (amikacin, polimiksini, tigeciklin, fosfomicin), saj so še vedno učinkoviti pri nekaterih izolatih, a so omejeni zaradi toksičnosti, slabe tkivne penetracije

ali potrebe po kombiniranem zdravljenju. V zadnjih letih je bilo odobrenih več novih zdravil (ceftazidim/avibaktam, aztreonam/avibaktam, ceftolozan/tazobaktam, cefepim/enmetazobaktam, cefiderokol, eravaciklin, meropenem/vaborbaktam, imipenem/cilastatin/relebaktam, sulbaktam/durlobaktam - še ni registriran v Evropi). Novejši antibiotiki so manj toksični, a pogosto klinično manj preizkušeni. Sledijo priporočila po skupinah bakterij, skladno s slovenskimi mikrobiološkimi opredelitvami, kot jih najdemo na mikrobioloških izvidih (11, 19).

ENTEROBAKTERIJE, ODPORNE PROTI KARBAPENEMOM

Najpogostejši povzročitelji okužb s CRE in CRE-CPE/CPE so *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Citrobacter* spp. in *Enterobacter* spp. Zdravljenje je odvisno od tipa karbapenemaze, občutljivosti, mesta okužbe in bolnikovega stanja. Priporočila IDSA in ESCMID so večinoma usklajena in temeljijo na najnovejših kliničnih dokazih (11,19).

Proti karbapenemom odporne enterobakterije s karbapenemazo KPC

CRE-CPE/CPE-KPC, predvsem *K. pneumoniae*, so globalno razširjene, a v Sloveniji redke in epidemiološko manj pomembne (16, 21). IDSA priporoča ceftazidim/avibaktam kot prvo izbiro pri potrjenih okužbah (bakteriemija, pljučnica, okužbe sečil) (11). Tudi ESCMID priporoča ceftazidim/avibaktam kot prvo izbiro, zlasti pri hudih okužbah (19). Alternativi sta meropenem/vaborbaktam in imipenem/cilastatin/relebaktam. Meropenem/vaborbaktam je priporočljiv pri občutljivih izolatih, zlasti pri okužbah z veliko potrebo po tkivni penetraciji (npr. v trebuhu) (11). ESCMID ga navaja kot enakovredno možnost, a opozarja na omejene izkušnje pri določenih enterobakterijah (19).

Proti karbapenemom odporne enterobakterije s karbapenemazami iz družine OXA-48

K. pneumoniae in *E. coli* predvsem v regijah z visoko prevalenco pogosto izločajo OXA-48 in druge serinske karbapenemaze. Ceftazidim/avibaktam je učinkovit proti CRE-CPE/CPE-OXA-48; medtem ko meropenem/vaborbaktam in imipenem/relebaktam nista. Po priporočilih IDSA in ESCMID je ceftazidim/avibaktam prva izbira (11, 19). Prednost ima pred velikimi odmerki karbapenemov zaradi širšega spektra proti sočasnim serinskim betalaktamazam; ob visoki MİK za karbapeneme je smiselna kombinacija (npr. gentamicin, če je občutljiv). Cefiderokol je pri CRE-CPE/CPE-OXA-48 priporočljiv po IDSA (ob potrjeni občutljivosti); ESCMID ga omejuje na primere brez drugih možnosti. Cefepim-enmetazobaktam je nov antibiotik, učinkovit proti bakterijam, ki izločajo CP OXA-48. Odobren je za zapletene okužbe sečil, bolnišnično pljučnico in bakteriemijo, povezano z zgoraj navedenimi okužbami (26).

Proti karbapenemom odporne enterobakterije s karbapenemazami iz družine metalobetalaktamaz (VIM, IMP, NDM ipd.)

CRE-CPE/CPE-MBL so odporne proti večini betalaktamov, vključno s kombinacijami z avibaktamom, vaborbaktamom ali relebaktamom. ESCMID in IDSA priporočata ceftazidim/avibaktam v kombinaciji z aztreonamom kot primarno strategijo zdravljenja. Aztreonam je stabilen proti MBL, avibaktam pa zavira sočasne serinske betalaktamaze, kar omogoča učinkovito kombinirano delovanje. Opazovalne raziskave potrjujejo, da je kombinacija učinkovita

pri hudih okužbah, z izboljšanimi izidi v primerjavi s kolistinom ali tigeciklinom (11, 19). Aztreonam/avibaktam je novo registrirana učinkovina, ki je *in vitro* dobro učinkovita proti enterobakterijam, vključno s CRE-CPE/CPE sevi, ki izločajo MBL. Faze 3 raziskav (REVISIT, ASSEMBLE) potrjujejo visoko klinično učinkovitost pri zapletenih znotrajtrebušnih okužbah in bolnišnični pljučnici, z rezultati, primerljivimi ali boljšimi od standardne terapije (20, 21, 22). IDSA priporoča cefiderokol kot alternativo pri CRE-CPE/CPE-MBL, predvsem pri omejenih možnostih ali intoleranci za aztreonam. Pri NDM je v 20–30 % primerov prisotna odpornost (11, 23). ESCMID ga priporoča le pogojno – ob dokazani občutljivosti (19).

Proti karbapenemom odporne enterobakterije s karabapenemazami – ne glede na vrsto karbapenemaze

IDSA dopušča monoterapijo z velikimi odmerki karbapenemov le pri majhni MIK (≤ 8 mg/L, kategorija I po EUCAST), zaradi tveganja razvoja odpornosti (11). ESCMID to možnost odsvetuje, razen če novejši BLI niso na voljo (19). Kombinirano zdravljenje ni priporočeno, če gre za okužbe, povzročene s sevi, občutljivimi za ceftazidim/avibaktam, meropenem/vaborbaktam ali cefiderokol. Pri MBL se, kadar ni na voljo aztreonam/avibaktam, priporoča kombinacija ceftazidim/avibaktama in aztreonama. Kombinirano zdravljenje je priporočeno tudi, če je *in vitro* občutljivost omejena le na polimiksine, aminoglikozide, tigeciklin ali fosfomicin oziroma če novejša zdravila niso dostopna. Nimamo jasnih priporočil glede izbire kombinacije. Pri pan-odpornih sevih GNB je priporočena uporaba antibiotikov z najnižjo ugotovljeno MIK glede na razpoložljive mejne vrednosti občutljivosti (11, 19).

Proti karbapenemom odporne enterobakterije brez karabapenemaz

Za zdravljenje CRE IDSA priporoča ceftazidim/avibaktam, meropenem/vaborbaktam in imipenem/cilastatin/relebaktam (11). V primeru občutljivosti izolata za meropenem in odpornosti proti imipenemu (ali obratno) priporoča uporabo meropenema le za blažje okužbe (11). Za okužbe sečil so priporočljivi starejši antibiotiki (trimetoprim-sulfametoksazol, fluorokinoloni, nitrofurantoin, peroralni fosfomicin); alternativa so novejši BL/BLI in cefiderokol (11). Alternativa pri okužbah sečil so aminoglikozidi; pri cistitisu tudi kolistin (11). ESCMID ne podaja jasnih usmeritev zdravljenja CRE (19). Pri blažje potekajočih okužbah priporoča premišljeno uporabo starejših antibiotikov glede na *in vitro* občutljivost in mesto okužbe (19). Cefepim/enmetazobaktam, ki še ni vključen v priporočila, je učinkovit pri CRE (24–26).

Proti karbapenemom odporne enterobakterije in ne-betalaktamski antibiotiki

Tigeciklin in eravaciklin sta možni alternativni ob kontraindikacijah za betalaktame, a nista priporočljiva za bakteriemije ali okužbe sečil zaradi nezadostnih koncentracij v krvi/seču (11, 19). ESCMID zaradi pomanjkanja podatkov ne daje jasnih priporočil za uporabo eravaciklina pri CRE (18, 19). EUCAST določa razmejitvene vrednosti za tigeciklin le za *E. coli* in *C. koseri*, za eravaciklin pa le za *E. coli* (27). EUCAST in IDSA navajata parenteralni fosfomicin kot eno od možnosti zdravljenja CRE in CRE/CPE (11, 19). EUCAST določa razmejitvene vrednosti za fosfomicin le za *E. coli* pri okužbah sečil. Za druge okužbe in druge enterobakterije EUCAST ne priporoča testiranja fosfomicina, ker ni dovolj podatkov o povezavi MIK s kliničnim izidom (27). Kombinacija fosfomicina z drugim antibiotikom je lahko upravičena,

a temelji predvsem na izkustvenih podatkih. Zanesljive *in vitro* metode za testiranje kombinacij ne obstajajo. Parenteralni fosfomicin v Sloveniji ni registriran (29). V Tabeli 2 so zbrani antibiotiki, ki jih lahko uporabimo za zdravljenje okužb s CRE in CRE-CPE/CPE.

Tabela 2. Antibiotiki, ki jih lahko uporabimo za zdravljenje okužb s CRE in CRE-CPE/CPE. Podatki so povzeti po virih (11, 19, 21, 24, 25, 28, 30, 31).

Generično ime	Lastniško ime	Indikacije	CRE	CRE-CPE/CPE-KPC	CRE-CPE/CPE-OXA-48	CRE-CPE/CPE-MBL	EUCAST kriteriji (27)	Posebne opombe
Ceftolozan/tazobaktam	Zerbaxa®	cUTI, dAI,	ne	ne	ne	ne	da	Pri CRE in CRE-CPE/CPE ne pričakujemo klinične učinkovitosti.
Ceftazidim/avibaktam	Zavicefta®	cUTI, dAI, HAP/VAP, bakteriemija	variabilno	da	da	ne	da	Prva izbira za CRE-CPE/CPE KPC in OXA-48.
Meropenem/vaborbaktam	Vaborem®	cUTI, dAI, HAP/VAP, bakteriemija	variabilno	da	ne	ne	da	Alternativa za KPC, v Sloveniji ni dostopen
Imipenem/cilastatin/relebaktam	Recarbrio®	cUTI, dAI, HAP/VAP, bakteriemija	variabilno	da	ne	ne	da	Alternativa za KPC.
Cefiderokol	Fetroja®	cUTI, HAP/VAP, bakteriemija	da	da	da	da	da	Učinkovito pri dokazani občutljivosti; omejena klinična učinkovitost pri NDM, rezultati testiranja so pogosto v območju tehnične negotovosti.
Aztreonam	AZACTAM® Tigeciklin AptaPharma® Tigeciklin Accord®	cUTI, dAI, HAP/VAP, bakteriemija, meningitis, SSTI	ne*	ne	ne*	da*	da	Največ izkušenj z uporabo v kombinaciji s ceftazidim avibaktamom.
Aztreonam/avibaktam	Emblaveo®	cUTI, dAI, HAP/VAP, bakteriemija	variabilno	da	da	da	da	Primarna strategija za MBL.
Eravaciklin	Xerava®	dAI	da	da	da	da	EUCAST razmejitvene vrednosti samo za <i>E. coli</i> , ni smiselno testiranje pri okužbah izven trebuha	Alternativa pri kontraindikacijah za betalaktame; ne dosega zadostnih koncentracij v krvi ali seču.
Tigeciklin	TYGACIL® Tigeciklin AptaPharma® Tigeciklin Accord®	dAI, SSTI	da	da	da	da	EUCAST razmejitvene vrednosti samo za <i>E. coli</i> in <i>C. koseri</i>	Ne dosega zadostnih koncentracij v krvi ali seču.

Da – potencialna občutljivost *in vitro* glede na mehanizem odpornosti proti karbapenemom; potrebno je testiranje občutljivosti za antibiotik, možen razvoj odpornosti.

Ne – pričakovana odpornost glede na mehanizem odpornosti proti karbapenemom.

MBL – metalo- β -laktamaza; EUCAST evropski odbor za določanje občutljivosti na protimikrobna zdravila (angl. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing); CRE – enterobakterije, odporne proti karbapenemom (ne glede na mehanizem odpornosti); CPE – (angl. *carbapenemase-producing Enterobacteriales*) enterobakterije s prisotnostjo karbapenemaze; CRE-CPE – enterobakterije, odporne proti karbapenemom zaradi prisotnosti karbapenemaze; KPC – *K. pneumoniae* karbapenemaza; OXA – oksacilinaza; NDM – New Delhi metalo- β -laktamaza; CAP, pljučnica, pridobljena v domačem okolju (angl. *community-acquired pneumonia*); dAI, zapletene okužbe v trebuhu (angl. *complicated intra-abdominal infections*); cUTI, zapletene okužbe sečil (angl. *complicated urinary tract infections*); HAP, bolnišnična pljučnica (angl. *hospital-acquired pneumonia*); SSTI, okužbe kože in mehkih tkiv (angl. *skin and soft-tissue infections*); VAP, pljučnica, povezana z mehanskim predihavanjem (angl. *ventilator-associated pneumonia*).

PSEUDOMONAS AERUGINOSA, ODPOREN PROTI KARBAPENEMOM

P. aeruginosa je zaradi naravne odpornosti in hitro pridobljenih mehanizmov (npr. zmanjšanje prepustnosti zunanje membrane – pr. mutacije OprD, izlivne črpalke, karbapenemaze) posebej problematičen patogen. Pomembno je ločevanje med CRPs-CP in CRPs brez karbapenemaz, kjer je odpornost posledica kombiniranih mehanizmov. Zdravljenje okužb, povzročenih s CRPs-CP, temelji na tipu karbapenemaze, občutljivosti, mestu okužbe in bolnikovem stanju. ESCMID in IDSA podajata večinoma usklajena, delno različna priporočila, ki temeljijo na najnovejših dokazih (11, 19).

Proti karbapenemom odporen *P. aeruginosa* s karbapenemazami

CRPs-CP so pogosto večkratno odporni in zahtevajo prilagojeno zdravljenje. Najpomembnejše so MBL, z najširšim spektrom odpornosti. IDSA v tem primeru priporoča ceftazidim/avibaktam + aztreonam kot primarno izbiro (11). ESCMID podpira kombinacijo pri hudih okužbah, a poudarja pomanjkanje kliničnih dokazov (19). Aztreonam/avibaktam je bil odobren šele po izidu priporočil ESCMID in IDSA, zato vanje še ni vključen. Deluje proti *P. aeruginosa*, a ima podoben spekter kot standardni antibiotiki (piperacilin/tazobaktam, meropenem, ceftazidim). Zaradi pomanjkanja dokazov o superiornosti aztreonam/avibaktam pri *P. aeruginosa* ni prednostna izbira (30). Imipenem/cilastatin/relebaktam je po IDSA možna izbira za CRPs-CP, a le v določenih primerih. Deluje proti serinskim karbapenemazam (npr. KPC, redko), ne pa proti MBL, saj relebaktam teh encimov ne zavira. Lahko se uporabi pri občutljivih sevih, odpornih proti ceftazidimu ali ceftolozan/tazobaktamu, a ni prva izbira zaradi šibke učinkovitosti pri mehanizmih odpornosti *P. aeruginosa* in pogostih MBL. ESCMID ga ne izpostavlja kot prednostno možnost za CRPs-CP zaradi pomanjkanja dokazov (19). IDSA kot alternativo za CRPs-CP z MBL navaja cefiderokol, učinkovit proti večkratno odpornim *P. aeruginosa*. Zaradi variabilne občutljivosti pri MBL IDSA priporoča predhodno testiranje (11). ESCMID navaja cefiderokol za rezervno možnost ob omejenih terapevtskih možnostih ali neuspehu primarne terapije (19).

Proti karbapenemom odporen *P. aeruginosa* brez karbapenemaz

Odpornost pri CRPs je običajno posledica izgube porinov, prekomerne ekspresije izlivnih črpalk in hiperprodukcije kromosomske AmpC. IDSA priporoča ceftolozan/tazobaktam za prvo izbiro pri hudih okužbah. Ceftolozan ima povečano afiniteto za beljakovine, ki vežejo peniciline (angl. *penicillin-binding proteins*, PBP) in je stabilen proti izlivnim črpalkam in encimom AmpC. Klinične raziskave potrjujejo njegovo učinkovitost pri okužbah z večkratno odpornim *P. aeruginosa*, z manjšo smrtnostjo kot pri starejših režimih (11, 19). Ceftazidim/avibaktam je alternativa pri potrjeni občutljivosti, zlasti če ceftolozan/tazobaktam ni dostopen (IDSA) (11). ESCMID podpira oba, pri pljučnicah pa rahlo preferira ceftolozan/tazobaktam zaradi boljše penetracije v pljuča (19). IDSA omenja imipenem/cilastatin/relebaktam pri odpornosti na ceftazidim, a je podprt z manj podatki (11).

Proti karbapenemom odporen *P. aeruginosa* z ali brez karbapenemaz in ne-betalaktamski antibiotiki

Kolistin je zadnja možnost pri večkratno odpornih sevih, če novejši antibiotiki niso dostopni ali so neučinkoviti. Zaradi tveganja za odpornost se priporoča uporaba kolistina v kombinaciji (npr. z meropenemom ali fosfomicinom). EUCAST in IDSA navajata možnost zdravljenja CRPs/CRPs-CP s parenteralnim fosfomicinom (11, 19). EUCAST odsvetuje testiranje občutljivosti za fosfomicin. Kombinacija z drugim antibiotikom je lahko smiselna, a temelji le na izkustvenih podatkih, saj *in vitro* testiranja kombinacij ni (28). Tabela 3 prikazuje podatke o antibiotikih, ki se lahko uporabljajo za zdravljenje okužb s CRPs/CRPs-CP.

Tabela 3. Antibiotiki, ki jih lahko uporabimo za zdravljenje okužb s CRPs in CRPs-CP. Podatki so povzeti po virih (11,19,30, 32–34)

Generično ime	Lastniško ime	Indikacije	CRPs	CRPs-CP-MBL	EUCAST kriteriji (27)	Posebne opombe
Ceftolozan/tazobaktam	Zerbaxa [*]	cUTI, cIAI, HAP/VAP	da	ne	da	Prva izbira za CRPs.
Ceftazidim/avibaktam	Zavicefta [*]	cUTI, cIAI, HAP/VAP, bakteriemija	da	ne	da	Alternativa za CRPs, kombinacija z aztreonamom za MBL.
Aztreonam	AZACTAM [*]	cUTI, cIAI, HAP/VAP, bakteriemija, meningitis, SSTI	variabilno	da	da	Zdravljenje z velikimi odmerki; lahko uporaba v kombinaciji s ceftazidim/avibaktamom.
Aztreonam/avibaktam	Emblaveo [*]	cUTI, cIAI, HAP/VAP, bakteriemija	malo podatkov	malo podatkov	ni kriterijev (nezadostni podatki za postavitev razmejitvenih vrednosti)	Malo kliničnih podatkov; vprašljiv doprinos avibaktama pri CRPs-CP-MBL, MIK se zmanjša, ni znan klinični pomen (<i>in vitro</i> podatki).
Imipenem/cilastatin/relebaktam	Recarbrio [*]	cUTI, cIAI, HAP/VAP, bakteriemija	da	ne	da	Ne zavira MBL.
Cefiderokol	Fetcroja [*]	cUTI, HAP/VAP, bakteriemija	da	da	da	Rezervna možnost pri dokazani občutljivosti.

Da – potencialna občutljivost *in vitro* glede na mehanizem odpornosti proti karbapenemom; potrebno je testiranje občutljivosti za antibiotik, možen razvoj odpornosti.

Ne – pričakovana odpornost glede na mehanizem odpornosti proti karbapenemom.

MBL – metalo- β -laktamaza; CRPs – *Pseudomonas aeruginosa*, odporen proti karbapenemom; CRPs-CP – *Pseudomonas aeruginosa*, odporen proti karbapenemom zaradi prisotnosti karbapenemaz; MIK – minimalna inhibitorna koncentracija; CAP, pljučnica, pridobljena v domačem okolju (angl. *community-acquired pneumonia*); cIAI, zapletene okužbe v trebuhu (angl. *complicated intra-abdominal infections*); cUTI, zapletene okužbe sečil (angl. *complicated urinary tract infections*); HAP, bolnišnična pljučnica (angl. *hospital-acquired pneumonia*); SSTI, okužbe kože in mehkih tkiv (angl. *skin and soft-tissue infections*); VAP, pljučnica, povezana z mehanskim predihavanjem (angl. *ventilator-associated pneumonia*).

ACINETOBACTER BAUMANNII, ODPOREN PROTI KARBAPENEMOM

A. baumannii je pomemben bolnišnični patogen, pogosto izloča karbapenemaze skupine OXA. Čeprav ločimo CRAB in CRAB-CP, se v praksi uporablja predvsem oznaka CRAB, saj je odpornost večinoma posledica izločanja CP-OXA (12). Zaradi naravne odpornosti je zdravljenje okužb, ki jih povzroča CRAB, močno omejeno. Kombinirano zdravljenje se priporoča zlasti pri imunsko oslabljenih in bolnikih s sepsa. Cefiderokol je učinkovit proti večini CRAB, a pri redkih CRAB-CP z MBL lahko pride do odpornosti (do 41 %). IDSA ga priporoča le ob neučinkovitosti drugih zdravil; ESCMID ga pogojno odsvetuje zaradi pomanjkanja dokazov (11, 19). Alternativni nebetalaktami, ki jih uporabljamo, so: tigeciklin (v kombinaciji npr. z meropenemom ali kolistinom za okužbe izven krvnega obtoka in sečil), eravaciklin (primeren za okužbe zunaj sečil in krvi) ter aminoglikozidi v kombinaciji npr. s kolistinom ali sulbaktamom (če je občutljivost potrjena), zlasti pri okužbah sečil in pljučnicah. Kolistin ostaja pomembno rezervno zdravilo za CRAB, zlasti pri sevih, odpornih proti betalaktamom. ESCMID in IDSA odsvetujeta monoterapijo zaradi tveganja za razvoj odpornosti in manjše učinkovitosti. IDSA priporoča kombinacijo kolistina (npr. z meropenemom ali tigeciklinom), če je $MIC \leq 2$ mg/L (kar ustreza kategoriji »S« po EUCAST), ter poudarja prilagoditev odmerjanja. ESCMID podpira kombinirano zdravljenje in opozarja na nefrotoksičnost ter potrebo po spremljanju ledvične funkcije. EUCAST in IDSA navajata parenteralni fosfomicin kot možnost za zdravljenje CRAB (11, 19). EUCAST testiranje občutljivosti za fosfomicin odsvetuje. Kombinacija fosfomicina z drugim antibiotikom je izkustvena, saj zanesljive metode za testiranje kombinacij *in vitro* ni (28). Tabela 4 podaja podatke o antibiotikih, ki jih lahko uporabljamo za zdravljenje okužb s CRAB/CRAB-CP.

Tabela 4. Antibiotiki, ki jih lahko uporabimo za zdravljenje okužb s CRAB/CRAB-CP. Podatki so povzeti po virih (11, 19)

Generično ime	Lastniško ime	Indikacije	CRAB/CRAB-CP	EUCAST kriteriji (27)	Posebne opombe
Cefiderokol	Fetcroja®	cUTI, HAP/VAP, bakteriemija	da	ločevanje sevov brez mehanizmov odpornosti od sevov s pridobljenimi mehanizmi, ki lahko vplivajo na klinični odziv	Učinkovito, a možna odpornost pri MBL.
Eravaciklin	Xerava®	cIAI	da	ni kriterijev (nezadostni podatki za postavitev razmejitvenih vrednosti)	Primerno za okužbe zunaj sečil.
Tigeciklin	TYGACIL® Tigeciklin AptaPharma® Tigeciklin Accord®	cIAI, SSTI	da	ni kriterijev (nezadostni podatki za postavitev razmejitvenih vrednosti)	Kombinacija s kolistinom za hude okužbe.

Da – potencialna občutljivost *in vitro* glede na mehanizem odpornosti proti karbapenemom; potrebno je testiranje občutljivosti za antibiotik, možen razvoj odpornosti.

Ne – pričakovana odpornost glede na mehanizem odpornosti proti karbapenemom.

CRAB – *Acinetobacter baumannii*, odporen na karbapeneme; CRAB-CP – *Acinetobacter baumannii*, odporen na karbapeneme zaradi prisotnosti karbapenemaze; MBL – metalo- β -laktamaza; CAP, pljučnica, pridobljena v domačem okolju (angl. *community-acquired pneumonia*); cIAI, zapletene okužbe v trebuhu (angl. *complicated intra-abdominal infections*); cUTI, zapletene okužbe sečil (angl. *complicated urinary tract infections*); HAP, bolnišnična pljučnica (angl. *hospital-acquired pneumonia*); SSTI, okužbe kože in mehkih tkiv (angl. *skin and soft-tissue infections*); VAP, pljučnica, povezana z mehanskim predihavanjem (angl. *ventilator-associated pneumonia*).

ZAKLJUČEK

Okužbe z GNB, ki so odporni proti karbapenemom (CRE, CRPs, CRAB), zahtevajo natančno mikrobiološko diagnostiko in zdravljenje, prilagojeno tipu karbapenemaze in mestu okužbe. Novejši antibiotiki (ceftazidim/avibaktam, ceftolozan/tazobaktam, aztreonam/avibaktam, cefiderokol), podprti s priporočili ESCMID in IDSA, so učinkovitejši kot starejši režimi (npr. polimiksini, tigeciklin). Pomembno je, da kljub obetavni *in vitro* aktivnosti številnih novih učinkovin vemo, da za nekatere med njimi še vedno primanjkuje trdnih kliničnih podatkov, kar je treba upoštevati pri izbiri terapije. Pri tem so nam lahko v pomoč ključni podatki o odmerjanju, indikacijah in aktivnosti antibiotikov, ki so povzeti v tabelah 2–4. Smotrna, usmerjena uporaba antibiotikov in spremljanje lokalnih vzorcev odpornosti sta ključna za omejevanje širjenja odpornosti in ohranjanje učinkovitosti razpoložljivih terapij.

LITERATURA

1. 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.
2. Naghavi M, Vollset SE, Ikuta KS, Swetschinski LR, Gray AP, Wool EE, et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance 1990–2021: a systematic analysis with forecasts to 2050. *The Lancet*. 2024; 404(10459): 1199–226.
3. Nordmann P, Dortet L, Poirel L. Carbapenem resistance in Enterobacteriaceae: here is the storm! *Trends Mol Med*. 2012; 18(5): 263–72.
4. Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev*. 2007; 20(3): 440–58.
5. Walther-Rasmussen J, Høiby N. OXA-type carbapenemases. *J Antimicrob Chemother*. 2006 1; 57(3): 373–83.
6. Nordmann P, Poirel L. Epidemiology and Diagnostics of Carbapenem Resistance in Gram-negative Bacteria. *Clin Infect Dis*. 2019; 69(Supplement_7): S521–8.
7. 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*. 2012; 18(3): 268–81.
8. Definition multiresistenter gramnegativer Erreger nach den Empfehlungen der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) [Internet]. Robert Koch Institut; 2012. Dostopno na: https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Krankenhaushygiene/Kommission/kommission_node.html. Dostopano 1.5.2025
9. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Antimicrobial resistance in the EU/EEA (EARS-Net) – Annual epidemiological report for 2023. Stockholm: ECDC; 2024. Dostopno na: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/antimicrobial-resistance-eu-eea-ears-net-annual-epidemiological-report-2023> Dostopano: 24. april 2025.
10. Cosentino F, Viale P, Giannella M. MDR/XDR/PDR or DTR? Which definition best fits the resistance profile of *Pseudomonas aeruginosa*? *Curr Opin Infect Dis*. 2023; 36(6):564–71.
11. Tamma PD, Heil EL, Justo JA, Mathers AJ, Satlin MJ, Bonomo RA, et al. Infectious Diseases Society of America 2024 guidance on the treatment of antimicrobial-resistant Gram-negative infections. *Clin Infect Dis*. 2024; ciae403.
12. Pirš M, Štrumbelj I, Lejko Zupanc T. Dokument SKUOPZ 003: Enterobakterije, Acinetobacter baumannii in *Pseudomonas aeruginosa* – označevanje večkratno odpornih izolatov in okrajšave

-
- preiskav nadzornih kužnin. 2. izdaja, april 2022 [internet]. 2022. Dostopno na: <https://imi.si/skuopz/> Dostopano: 26. april 2025.
13. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), World Health Organization (WHO). Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2023 – 2021 data [internet]. Stockholm: ECDC; 2023. Dostopno na: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/antimicrobial-resistance-surveillance-europe-2023-2021-data> Dostopano: 27. april 2025.
 14. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Carbapenem-resistant Enterobacterales: third update [internet]. Luxembourg: Publications Office of the European Union; 2025 [citirano 26. aprila 2025]. Dostopno na: <https://data.europa.eu/doi/10.2900/8752612>
 15. Brkic S, Cirkovic I. Carbapenem-Resistant Enterobacterales in the Western Balkans: Addressing Gaps in European AMR Surveillance Map. *Antibiotics*. 2024; 13(9): 895.
 16. Giske C, Martínez-Martínez 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. EUCAST; 2017. Dostopno na: https://www.eucast.org/resistance_mechanisms/ Dostopano: 25. april 2025
 17. Štrumbelj I, Pirš M. Smernice za mikrobiologijo – ugotavljanje odpornosti proti karbapenemom in ugotavljanje karbapenemaz: enterobakterije, *Acinetobacter baumannii* in *Pseudomonas aeruginosa*. Dokument SKUOPZ 002, 3. izdaja. April 2022 [internet]. 2022. Dostopno na: <https://imi.si/wp-content/uploads/2022/04/Smernice-za-karbapenemaze-in-CR-za-mikrobiologijo-3.-izdaja-april-2022.pdf> Dostopano: 22. april 2025.
 18. OECD, ECDC. *Antimicrobial Resistance: Tackling the Burden in the European Union*. Paris: OECD Publishing; 2019. Dostopno na: <https://www.oecd.org/publications/antimicrobial-resistance-9789264309385-en.htm>. Dostopano: 1. maj 2025
 19. Paul M, Carrara E, Retamar P, Tängdén T, Bitterman R, Bonomo RA, et al. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) guidelines for the treatment of infections caused by multidrug-resistant Gram-negative bacilli (endorsed by European society of intensive care medicine). *Clin Microbiol Infect*. 2022; 28 (4): 521–47.
 20. Al Musawa M, Bleick CR, Herbin SR, Caniff KE, Van Helden SR, Rybak MJ. Aztreonam–avibactam: The dynamic duo against multidrug-resistant gram-negative pathogens. *Pharmacother J Hum Pharmacol Drug Ther*. 2024; 44(12): 927–38.
 21. Carmeli Y, Cisneros JM, Paul M, Daikos GL, Wang M, Torre-Cisneros J, et al. Aztreonam–avibactam versus meropenem for the treatment of serious infections caused by Gram-negative bacteria (REVISIT): a descriptive, multinational, open-label, phase 3, randomised trial. *Lancet Infect Dis*. 2024; S1473309924004997.
 22. European Medicines Agency (EMA). Emblaveo (aztreonam/avibaktam): Povzetek glavnih značilnosti zdravila [internet]. 2024. Dostopno na: https://www.ema.europa.eu/sl/documents/product-information/emblaveo-epar-product-information_sl.pdf Dostopano: 27. april 2025.
 23. Karakostas S, Rousaki M, Vassilopoulou L, Kritsotakis EI. Global prevalence of cefiderocol non-susceptibility in Enterobacterales, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, and *Stenotrophomonas maltophilia*: a systematic review and meta-analysis. *Clin Microbiol Infect*. 2024; 30(2): 178–88.
 24. Bhowmick T, Canton R, Pea F, Quevedo J, Henriksen AS, Timsit JF, et al. Cefepime–enmetazobactam: first approved cefepime- β -lactamase inhibitor combination for multi-drug resistant Enterobacterales. *Future Microbiol*. 2025; 20(4): 277–86.
 25. Bonnin RA, Jeannot K, Santerre Henriksen A, Quevedo J, Dortet L. In vitro activity of cefepime–enmetazobactam on carbapenem-resistant Gram negatives. *Clin Microbiol Infect*. 2025; 31(2): 240–9.
 26. European Medicines Agency (EMA). Exblifep (cefepim/enmetazobaktam): Povzetek glavnih značilnosti zdravila [internet]. 2024. Dostopno na: <https://www.ema.europa.eu/en/>
-

- documents/product-information/exblifep-epar-product-information_en.pdf. Dostopano: 1. maj 2025.
27. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Clinical breakpoints – breakpoints and guidance [internet]. [citirano 1. decembra 2023]. Dostopno na: https://www.eucast.org/clinical_breakpoints. Dostopano 24.4.2025
 28. EUCAST guidance on use of fosfomycin i.v. breakpoints [Internet]. 2024. Dostopno na: https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Guidance_documents/Use_of_fosfomycin_iv_breakpoints_General_advice_20240528.pdf. Dostopano: 24.4.2025
 29. JAZMP, ZZZS, NIJZ. Centralna baza zdravil [Internet]. 2025 [cited 2025 Apr 25]. Dostopno na: <http://www.cbz.si> Dostopano: 24.4.2025
 30. Karlowsky JA, Kazmierczak KM, De Jonge BLM, Hackel MA, Sahm DF, Bradford PA. In Vitro Activity of Aztreonam-Avibactam against Enterobacteriaceae and Pseudomonas aeruginosa Isolated by Clinical Laboratories in 40 Countries from 2012 to 2015. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017; 61(9): e00472–17.
 31. Albac S, Anzala N, Chavanet P, Dunkel N, Quevedo J, Santerre Henriksen A, et al. In vivo efficacy of enmetazobactam combined with cefepime in a murine pneumonia model induced by OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Microbiol Spectr*. 2024; 12(12): 1–10.
 32. Parkins, M.D., J.D.D. Pitout, D.L. Church, J.M. Conly, and K.B. Laupland. 'Treatment of Infections Caused by Metallo- β -Lactamase-Producing *Pseudomonas aeruginosa* in the Calgary Health Region'. *Clin Microbiol Infect*. 2007; 13(2): 199–202.
 33. Montero MM, Domene-Ochoa S, Prim N, Ferola E, López-Causapé C, Gomis-Font M, et al. Addressing carbapenemase-producing extensively drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: the potential of cefiderocol and ceftazidime/avibactam plus aztreonam therapy. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* [Internet]. 2025 Feb 18 [cited 2025 Apr 29]; Dostopno na: <https://link.springer.com/10.1007/s10096-025-05061-4> Dostopano 24.4.2025
 34. Lee M, Abbey T, Biagi M, Wenzler E. Activity of aztreonam in combination with ceftazidime–avibactam against serine- and metallo- β -lactamase–producing *Pseudomonas aeruginosa*. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2021; 99(1): 115227.

PRIHAJAJOČI ANTIBIOTIKI ZA ZDRAVLJENJE OKUŽB S PO GRAMU NEGATIVNIMI BAKTERIJAMI S KARBAPENEMAZAMI

PIPELINE ANTIBIOTICS FOR TREATING INFECTIONS CAUSED BY CARBAPENEMASES PRODUCING GRAM NEGATIVE BACTERIA

Maša Velušček¹, Daša Stupica^{1, 2}

¹Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja, UKC Ljubljana

²Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

IZVLEČEK

Okužbe z večkratno odpornimi po Gramu negativnimi bakterijami (GNB) težko zdravimo z obstoječimi antibiotiki. Z obsežno rabo karbapenemov smo prispevali k razširjeni odpornosti bakterij proti njim in posledično so postali proti karbapenemom odporni enterobakterije, *Acinetobacter baumannii* (CRAb) in *Pseudomonas aeruginosa* pogosti povzročitelji bolnišničnih okužb. V zadnjih desetih letih so razvili nove antibiotike proti GNB, med njimi plazomicin (nov aminoglikozidni antibiotik) z učinkom na proti karbapenemom odporne enterobakterije, eravaciklin (nov tetraciklinski antibiotik) z *in vitro* učinkovitostjo proti CRAb in cefiderokol (sintetični konjugat) za zdravljenje okužb z GNB s karbapenemazami. Kombinacije znanih β -laktamskih antibiotikov z nedavno razvitimi zaviralci β -laktamaz, kot so ceftazidim-avibaktam, ceftolozan-tazobaktam, meropenem-vaborbaktam in imipenem-cilastatin-relebaktam so postali možna terapevtska izbira za okužbe z bakterijami s karbapenemazami, vendar niso učinkovite proti vsem karbapenemazam in že poročajo o odpornosti kliničnih izolatov tudi proti njim. V prispevku navajava nekaj podatkov o *in vitro* in klinični učinkovitosti prihajajočih antibiotikov za zdravljenje okužb z GNB s karbapenemazami.

Ključne besede: karbapenemaze, mikroba odpornost, novi antibiotiki, po Gramu negativne bakterije

ABSTRACT

Infections by multi-drug resistant Gram-negative bacteria (GNB) are difficult to treat using available antibiotics. Extensive use of carbapenems has contributed to widespread resistance to these antibiotics; as a result, carbapenem-resistant *Enterobacteriales*, *Acinetobacter baumannii* (CRAb), and *Pseudomonas aeruginosa* have become common causes of healthcare-associated infections. Recently, new antibiotics have been evaluated against Gram-negative bacteria, including plazomicin (a new aminoglycoside) to treat CRE infections, eravacycline (a novel tetracycline) with *in vitro* activity against CRAb, and cefiderocol (a synthetic conjugate) for the treatment of nosocomial pneumonia by carbapenem-non-susceptible GNB. Furthermore,

combinations of known β -lactams with recently developed β -lactam inhibitors, such as ceftazidime-avibactam, ceftolozane-tazobactam, meropenem-vaborbactam, and imipenem-cilastatin-relebactam, have been suggested for the treatment of infections by carbapenemases producing GNB. Nonetheless, they are not active against all carbapenemases, and there are reports of resistance to these combinations in clinical isolates. This review summarizes some information on the *in vitro* and clinical efficacy of the pipeline antibiotics for treating infections caused by carbapenemases producing GNB.

Keywords: carbapenemases, microbial resistance, new antibiotics, Gram negative bacteria

UVOD

Leta 2024 je Svetovna zdravstvena organizacija posodobila seznam bakterijskih povzročiteljev, za katere ocenjuje, da so globalnega pomena glede na merila, kot so smrtnost, incidenca, prenosljivost, trend odpornosti in možnosti zdravljenja okužb z njimi. V kritični skupini bakterij, za katere je treba prioritarno raziskovati in razvijati nove antibiotike, so še vedno (v primerjavi s predhodnim seznamom iz leta 2017) po Gramu negativne bakterije, odporne proti karbapenemu (GNB-CR), in GNB, ki izločajo karbapenemaze (GNB-CP) (1). Okužbe z večkratno odpornimi GNB iz vrst enterobakterij (E), *Pseudomonas aeruginosa* in *Acinetobacter baumannii* so postale globalna težava. Te bakterije so pogosti povzročitelji bolnišničnih okužb sečil, bolnišnične pljučnice (HAP), okužb v trebuhu, z umetnim predihavanjem povezane pljučnice (VAP) in bakteriemije (2). Karbapenemi, tigeciklin in kolistin so bili do nedavnega terapevtska možnost za okužbe z nekaterimi od teh GNB-CP/CR, obsežna raba širokospektralnih antibiotikov pa je prispevala k odpornosti tudi proti njim (3). Za zdravljenje okužb s temi bakterijami imamo omejen nabor antibiotikov in okužbe z njimi so povezane z veliko smrtnostjo, zlasti pri bolnikih v enotah intenzivnega zdravljenja (1). V zadnjem desetletju so bili za zdravljenje okužb s proti karbapenemu in drugim betalaktamskim antibiotikom odpornim *P. aeruginosa* (CRPs) na voljo cefiderokol in kombinacije β -laktamov z β -laktamazami, kot so ceftazidim/avibaktam in ceftolozan/tazobaktam (1,4). Za zdravljenje okužb s proti karbapenemu odpornim *A. baumannii* (CRAb) se uporabljajo polimiksini, tigeciklin in sulbaktam. Drugi antibiotiki, kot so minociklin, trimetoprim-sulfametoksazol, rifampicin, fosfomicin in aminoglikozidi, so le slabo učinkoviti in imajo farmakokinetične pomanjkljivosti (4). Pojavljajo pa se že okužbe s CRAb, ki je odporen proti vsem razredom antibiotikov, razen polimiksinom in tigeciklinu (angl. *extensively drug resistant*, XDR), in s CRAb, odpornim proti kolistinu in tigeciklinu (angl. *pan-resistant*) (1,4).

MEHANIZMI ODPORNOSTI PROTI KARBAPENEMOM

Bakterije imajo različne mehanizme, ki posredujejo odpornost proti karbapenemu, kot so zmanjšana tvorba porinov zunanje membrane, izražanje iztočnih črpalk in/ali izločanje β -laktamaz, kot so cefalosporinaze AmpC in karbapenemaze, ki hidrolizirajo β -laktamski obroč antibiotikov (1, 4). Po Amblerjevi klasifikaciji delimo β -laktamaze glede na njihovo aminokislinsko zaporedje v štiri razrede: A, C in D, ki vsebujejo na aktivnem mestu serin, ter razred B (metalo- β -laktamaze, MBL), ki potrebujejo za svojo aktivnost bivalentni kovinski ion, običajno Zn^{2+} . Tvorba β -laktamaz je med najpogostejšimi mehanizmi odpornosti GNB-CR.

Karbapenemaze razreda A, npr. karbapenemaza *Klebsiella pneumoniae* (KPC), so najpogostejše pri enterobakterijah (4). Karbapenemaze razreda B, npr. New Delhi (NDM), z integronom Verona kodirana MBL (VIM), imipenemaza (IMP), MBL Sao Paulo (SPM), Nemška imipenemaza (GIM), imipenemaza Seoul (SIM) in nizozemska imipenemaza (DIM) so največkrat opisane pri *P. aeruginosa* in enterobakterijah. Za MBL nimamo učinkovitih zaviralcev. Kromosomsko kodirane MBL imajo nekatere nefermentativne bakterije, pridobljene MBL pa so prisotne pri enterobakterijah in *P. aeruginosa* (4). β -laktamaze razreda D, npr. oksicilinaze (OXA), hidrolizirajo peniciline in karbapeneme. Kodirajo jih kromosomski in plazmidni geni različnih enterobakterij in *A. baumannii*, pri enterobakterijah so najpogostejše karbapenemaze, podobne OXA-48. Za najoptimalnejše zdravljenje okužb z bakterijami s karbapenemazami moramo poznati gene, ki jih kodirajo (4).

PRIHAJAJOČI ANTIBIOTIKI

Novi zaviralci β -laktamaz in kombinacije z β -laktamskimi antibiotiki

Cefepim/zidebaktam

Cefepim je široko-spektralni β -laktamski antibiotik, katerega učinkovitost v kombinaciji z zaviralcem β -laktamaze zidebaktamom so preizkušali *in vitro* (cefepim/zidebaktam, 8/8 mg/L). Zidebaktam je ne β -laktamska molekula, diazabiciklooktanski derivat z dvema mehanizmoma delovanja. Selektivno se veže z veliko afiniteto na penicilin vezavne protine (PBP)2 GNB, poleg tega pa deluje kot zaviralec β -laktamaz (5). Učinkuje proti enterobakterijam in *P. aeruginosa* s KPC, AmpC in MBL. Rezultati *in vitro* kažejo, da so enterobakterije občutljive za cefepim/zidebaktam (minimalna inhibitorna koncentracija (MIK)50/90 za seve CPE/CRE s KPC je bila 0,25/1 mg/L, MIK50/90 za seve CPE/CRE z VIM, IMP in NDM je bila 0,5/8 mg/L). Ta protimikrobna kombinacija je učinkovita tudi proti *P. aeruginosa* (MIK50/90 je bila 4/8 mg/L za seve CRPs-CP z VIM in IMP) (6). V drugi raziskavi se je izkazalo, da je cefepim/zidebaktam učinkovito zaviral večino (190/210; 90,5 %) izolatov CRE-CPE/CPE z MBL in CRPs-CP z MBL (97/103; 94,5 %) (5). Ta kombinacija je bila zmerno učinkovita tudi proti CRAb z OXA-23/24/58 (MIK50/90 je bila 32/32 mg/L) (5). Kombinacija cefepim/zidebaktam je v fazi III kliničnega preizkušanja, uspešno pa so jo že uporabili tudi kot reševalno zdravljenje okužb s CRPs-CP z MBL (7, 8).

Ertapenem/zidebaktam

Trenutno poteka klinično preizkušanje faze I tudi za kombinacijo zidebaktama z ertapenemom, ki se je izkazala kot učinkovita *in vitro* proti CPE/CRE z MBL (7).

Cefepim-taniborbaktam

Taniborbaktam (predhodno imenovan VNRX-5133) ima širok spekter učinkovanja. Molekula je ciklični boronatni zaviralec β -laktamaze, ki v kombinaciji s cefepimom deluje proti CPE/CRE in CRPs z β -laktamazami in neposredno zavira encime razredov A, B, C in D po Amblerjevi klasifikaciji (9). V raziskavi, v kateri so ocenili *in vitro* učinkovitost cefepim/taniborbaktama proti kliničnim izolatom CPE/CRE ($n = 247$) in CRPs ($n = 170$), ki so jih prospektivno zbrali od bolnikov z različnimi okužbami, obravnavanih v osmih bolnišnicah v Španiji, so ugotovili, da je bil cefepim/taniborbaktam v primerjavi z drugimi antibiotiki najbolj

učinkovit za izolate enterobakterij (97,6 % MİK ≤ 8/4 mg/L) in *Pseudomonas* spp. (67,1 % MİK ≤ 8/4 mg/L). MİK je bil > 8 mg/L za 6/247 (2,4 %) izolatov enterobakterij (3 izolati *K. pneumoniae* CPE s KPC, 1 *Enterobacter cloacae* CPE z VIM, 1 *E. Cloacae* CPE z IMP in 1 *Escherichia coli* CPE z NDM) in 56/170 (32,9 %) izolatov *Pseudomonas*, od katerih jih je bilo 19 CRPs-CP s karbapenemazami (15 VIM, 2 GES, 1 GES in VIM ter 1 GES in KPC). Proti enterobakterijam z MİK za meropenem > 2 mg/L (138/247) je bil cefepim/taniborbaktam najbolj učinkovit med vsemi testiranimi antibiotiki, tako proti izolatom s serinskimi karbapenemazami (107/138) kot tistim z MBL (31/138); pri 97,2 % oziroma 93,5 % izolatov je bil MİK ≤ 8/4 mg/L. Učinkovitost cefepim/taniborbaktama je bila večja kot učinkovitost primerjanih zdravil, zlasti proti izolatom z MBL (učinkovitost ceftazidim/avibaktama 94,4 % in 12,9 %; meropenem/vaborbaktama 85,0 % in 64,5 %; imipenem/relebaktama 76,6 % in 9,7 %, ceftolozan/tazobaktama 1,9 % in 0 %, piperacilin/tazobaktama 0 % in 0 %). Tudi proti izolatom *Pseudomonas*, odpornim proti meropenemu (163/170; MİK > 2 mg/L), je bila učinkovitost cefepim/taniborbaktama za izolate s serinskimi β-laktamazami (35/163) oziroma MBL (43/163) 88,6 % oziroma 65,1 %, kar je več od deleža občutljivosti za primerjane antibiotike: ceftazidim/avibaktam 88,5 % oziroma 16,0 %, meropenem/vaborbaktam 8,5 % oziroma 7,0 %, imipenem/relebaktam 2,9 % oziroma 2,3 %, ceftolozan/tazobaktam 0 % oziroma 2,3 %, piperacilin/tazobaktam 0 % oziroma 0 %. Navedeni mikrobiološki rezultati kažejo, da je cefepim/taniborbaktam potencialna terapevtska možnost za okužbe s CPE/CRE in CRPs, vključno s sevi z MBL (10).

Učinkovitost cefepim/taniborbaktama so preizkusili tudi v dvojno slepi, randomizirani klinični raziskavi faze III (CERTAIN-1), v katero so vključili hospitalizirane bolnike z zapleteno okužbo sečil (11). Bolniki so prejeli v razmerju 2 : 1 intravenski cefepim/taniborbaktam (2,5 g) ali meropenem (1 g) vsakih 8 ur 7 dni; v primeru bakteriemije so trajanje zdravljenja lahko podaljšali na 14 dni. Primarni izid raziskave je bil sestavljen iz mikrobiološkega in kliničnega uspeha zdravljenja na dan 19 do 23 v mikrobiološko opredeljeni populaciji (bolniki z opredeljeno GNB kot povzročiteljem okužbe, ki je bil občutljiv za obe študijski zdravili); teh je bilo 436 od 661 (66,0 %) randomiziranih bolnikov: 57,8 % bolnikov je imelo zapleteno okužbo sečil, 42,2 % akutni pielonefritis in 13,1 % bakteriemijo. Uspeh zdravljenja so zabeležili pri 207/293 (70,6 %) bolnikov v skupini s cefepim/taniborbaktamom in pri 83/143 (58,0 %) bolnikov v skupini z meropenemom, razlika 12,6 % točk (95 % interval zaupanja 3,1 do 22,2; $p = 0,009$). Razlika v odzivu na zdravljenje je bila prisotna tudi po 28 in 35 dneh od vključitve v raziskavo. Neželeni sopojavi, med katerimi so bili najpogostejši glavobol, driska, zaprtje, povišan krvni tlak in slabost, so se pojavili primerljivo pogosto v obeh terapevtskih skupinah, pri 35,5 % oziroma 29,0 % bolnikov v skupini s cefepim/taniborbaktamom oziroma meropenemom. Raziskovalci so sklenili, da se je cefepim/taniborbaktam izkazal za superiornega meropenemu za zdravljenje zapletenih okužb sečil in imel primerljiv varnostni profil (11). Zdravilo je trenutno v postopku pridobivanja tržne odobritve s strani Ameriške agencije za hrano in zdravila (FDA) (7, 8).

QPX7728

QPX7728 je nov, zelo široko spektralni zaviralec β-laktamaz, ki v kombinaciji z β-laktami učinkuje proti bakterijam s serinskimi karbapenemazami ali z MBL. Njegovo učinkovitost v kombinaciji z različnimi β-laktami so ocenili na modelu nevtropeničnih miši z okužbo s

K. pneumoniae-CP/CR. Kombinacije QPX7728 z aztreonamom, biapenemom, cefepimom, ceftazidimom, ceftolozanom in meropenemom so pri vseh izbranih odmerkih QPX7728 delovale baktericidno, kar kaže na njegovo potencialno učinkovitost za zdravljenje okužb s *K. pneumoniae*-CP/CR (7). QPX7728 v kombinaciji s cefalosporini ali karbapenemi je bil odlično učinkovit tudi proti CPE/CRE s serinskimi betalaktamazami ali z MBL (7,14).

Sulbaktam/durlobaktam

Durlobaktam (predhodno imenovan ETX2514) je novi predstavnik diazabiciklooktanskih zaviralcev β -laktamaz s širokim spektrom delovanja proti serinskim β -laktamazam razredov A, C in D. Sulbaktam, ki je pol sintetična penicilanska kislina, je zaviralec β -laktamaz z omejenim učinkom na β -laktamaze razreda A, ima pa protibakterijski učinek na *Acinetobacter* spp. (7). Kombinacija sulbaktam/durlobaktam se je izkazala za klinično učinkovito (7) ter učinkovito *in vitro* proti večkratno odpornim sevom *A. baumannii* z MIK90 med 2/4 do 4/4 mg/L. Učinkovitost *in vivo* so dokazali na mišjih modelih okužbe z *A. baumannii*-XDR z MIK od 0,5/4 do 4/4 mg/L (7). Glede na ugotovitve o ugodni učinkovitosti *in vitro* je bilo zasnovanih več kliničnih raziskav o učinkovitosti sulbaktam/durlobaktama za zdravljenje okužb s CRAB. Po zaključku raziskave ATTACK (15) je FDA maja 2023 odobrila sulbaktam/durlobaktam za zdravljenje HAP in VAP, povzročene z občutljivim CRAB pri odraslih bolnikih. V navedeni raziskavi so primerjali učinkovitost sulbaktam/durlobaktama in kolistina, obeh v kombinaciji z imipenem/cilastatinom za zdravljenje s CRAB povezane HAP, VAP in bakteriemije. Sulbaktam/durlobaktam ni bil inferioren kolistinu (28-dnevna smrtnost zaradi vseh vzrokov 19,0 % vs. 32,3 %, razlika -13,2 %; 95 % IZ -30,0 do 3,5), povezan pa je bil s precej manj neželenimi učinki, od katerih so bili najpogostejši glavobol, slabost in flebitis na mestu injiciranja. Ker imamo za zdravljenje okužb s CRAB omejene možnosti, sulbaktam/durlobaktam pa se je izkazal za učinkovitega proti CRAB pri bolnikih s pljučnico, ga lahko smatramo za možno terapevtsko izbiro. Ni jasno, kakšna je vloga sočasno odmerjenega imipenem/cilastatina in potrebne bodo dodatne raziskave, da se bolje opredeli vloga sulbaktam/durlobaktama samega ali v kombinaciji z drugimi učinkovitimi protimikrobnimi zdravili za zdravljenje pljučnice in drugih okužb s CRAB. Za bolnike z normalnim ledvičnim delovanjem priporočajo odmerek 1000 mg sulbaktama in 1000 mg durlobaktama vsakih 6 ur v 3-urni infuziji (16).

Nakubaktam

Nakubaktam je zaviralec β -laktamaz iz razreda diazabiciklooktanov z učinkom na serinske β -laktamaze razredov A, C in D. Poleg tega zavira tudi PBP2 *E. coli* (4, 8) in v kombinaciji z β -laktami spodbuja njihov učinek. Spodbujevalni učinek je posledica sočasnega učinkovanja kombinacije na več PBP (8). Učinkovitost nakubaktama proti več enterobakterijam z β -laktamazami je bila ugotovljena *in vitro*. V kombinaciji z β -laktami (aztreonam, cefepim, meropenem) je bil učinkovit na mišjem modelu pljučnice, povzročene z *E. cloacae* in *K. pneumoniae*. Proti sevom CP/CR *E. cloacae* in *K. pneumoniae*, odpornim proti karbapenemom (sevi z geni za IMP-1, IMP-6 ali KPC), so bile kombinirane terapije bolj učinkovite *in vitro* kot monoterapija (8). Kombinacijo aztreonam/nakubaktam preizkušajo v klinični raziskavi faze III (7). Celo kombinacija nakubaktama s cefepimom, ki je prav tako v fazi III kliničnega preizkušanja, je presenetljivo izkazala aktivnost *in vitro* proti CPE/CRE z MBL (7), kar je verjetno posledica β -laktamskega učinka nakubaktama. Izboljšane aktivnosti kombinacije cefepim/nakubaktama v primerjavi s cefepimom pa niso opazili proti *P. aeruginosa* (7). Nakubaktam so

preizkušali tudi v kombinaciji z meropenemom, ki je trenutno v fazi I kliničnega preizkušanja (8, 17), vendar spodbujevalnega β -laktamskega učinka nakubaktama, kakršnega so zaznali v kombinaciji z aztreonomom, piperacilinom ali cefepimom, niso ugotovili za kombinacijo z meropenemom. To je morda posledica dvojnega β -laktamskega učinka nakubaktama, ki se veže na PBP2, aztreonam, piperacilin in cefepim pa se vežejo predvsem na PBP3, medtem ko ima meropenem veliko afiniteto zlasti za PBP2 [17].

ETX1317-cefpodoksim

ETX1317 je novi diazabiciklooktan, ki povrne protimikrobno aktivnost več razredom β -laktamov, vključno s tretjo generacijo cefalosporinov, ker zavira serinske β -laktamaze razredov A, C in D. V kombinaciji s cefpodoksim proksetilom je bil ETX1317 v peroralni obliki učinkovit v mišjem modelu okužbe s CPE/CRE (7,18).

KSP-1007

Meropenem izkazuje v kombinaciji z novim β -laktamom KSP-1007 dobro učinkovitost *in vitro* proti serinskim karbapenemazam in MBL (7).

Kseruborbaktam

Kseruborbaktam je biciklični boronatni zaviralec β -laktamaz, ki ga v kombinaciji s cefiderokolom v intravenski obliki in ceftibutenom v peroralni obliki preizkušajo v kliničnih raziskavah faze I. Zavira lahko različne β -laktamaze, vključno z MBL NDM in VIM (7).

Polimiksini

Polimiksini, ki učinkujejo na zunanjo celično membrano in povečajo njeno prepustnost, so se pogosto uporabljali za zdravljenje okužb z GNB z MBL, čeprav so povezani s tveganjem nefrotoksičnosti in nevrotoksičnosti ter suboptimalno učinkoviti. V fazi I kliničnega preizkušanja so polimiksini upleganani (SPR206), MRX-8 in QPX9003, za katere se kaže, da so morda manj toksični kot trenutno uporabljani polimiksini (7).

SPR741 (predhodno NAB741) je derivat polimiksina-B, ki je manj nefrotoksičen zaradi manjšega pozitivnega naboja. MIK kombinacije SPR741-rifampin za *A. baumannii* je bila 128 mg/L do 4 mg/L. Ob prisotnosti 2,0 mg/L SPR741 se je MIK rifampina zmanjšala s 4,0 na 0,5 mg/L. V kombinaciji z azitromicinom je bil SPR741 učinkovit *in vivo* proti večkratno odpornim enterobakterijam z MIK za azitromicin ≤ 16 mg/L, kar kaže na možnost njegove klinične rabe (7). Kombinacija rifampina in SPR741 je bila učinkovita tudi proti bakterijam z MBL, vendar bi hiter razvoj odpornosti proti rifampinu lahko zavrl nadaljnji razvoj te kombinacije (7). Klinična raziskava faze I SPR741 je pokazala, da je bilo zdravlilo varno za uporabo pri zdravih preiskovancih (19).

SPR206 je polimiksinski derivat z dobro učinkovitostjo *in vitro* in *in vivo* proti *A. baumannii*, *P. aeruginosa* in nekaterim klinično pomembnim enterobakterijam, tudi tistim z β -laktamazami razredov A, B, C in D. MIK SPR206 (0,12 do 0,5 mg/L) so bile nižje kot MIK kolistina in meropenema za *A. baumannii*, *K. pneumoniae* in *P. aeruginosa* (7, 8). Toksikološke analize na živalih so pokazale, da je SPR206 manj nefrotoksičen od kolistina in polimiksina B. V dvojno slepi, s placebom kontrolirani raziskavi, v kateri so 94 zdravim preiskovancem aplicirali naraščajoče odmerke SPR206, so ugotovili, da je bilo zdravlilo varno in so ga preiskovanci dobro prenašali (7,20).

QPX9003 je polimiksin analog z boljšim varnostnim profilom od obstoječih polimiksinov. Ocenjevali so njegov učinek na *P. aeruginosa* (n = 1.000), CRAB (n = 503) in enterobakterije (n = 1.105). V analizah *in vitro* so ugotovili štirikrat večjo učinkovitost proti *P. aeruginosa* kot za kolistin (MIK50/90 0,25/0,25 mg/L za QPX9003 in MIK50/90 1/1 mg/L za kolistin). QPX9003 je bil bolj učinkovit od kolistina tudi proti CRAB (MIK50/90 0,125/1 mg/L za QPX9003 in MIK50/90 0,5/4 mg/L za kolistin), MIK QPX9003 za enterobakterije, odporne proti cefalosporinom in/ali karbapenemom, je bila 0,06 mg/L (MIK50/90 0,06/16 mg/L) (7,20). Čakamo rezultate randomizirane dvojno slepe klinične raziskave faze I o varnosti in farmakokinetiki različnih odmerkov intravenskega QPX9003, ki so jo izvedli na 80 zdravih odraslih preiskovancih (8).

Antibiotiki z učinkom na membranske proteine in drugimi mehanizmi

Murepavidin (POL7080) je novi peptidomimetični antibiotik, ki zavira proteine zunanje membrane (LptD, ki je vpleten v tvorbo lipopolisaharida) in je bil razvit za zdravljenje okužb z odpornim *P. aeruginosa*. V analizi 300 izolatov večkratno odpornega *P. aeruginosa* in 167 izolatov *P. aeruginosa*-XDR je bila MIK50/90 murepavadin 0,12/0,25 mg/L za obe skupini izolatov (8). Dobro učinkovitost je izkazal tudi proti kliničnim izolatom *P. aeruginosa*-XDR; MIK za 96,7 % od 785 izolatov je bila $\leq 0,5$ mg/L (8). Zaradi nesprejemljivo pogoste nefrotoksičnosti v skupini bolnikov, ki so za zdravljenje HAP (raziskava PRISM-UDR) in VAP (raziskava PRISM-MDR) prejeli murepavidin, so navedeni klinični raziskavi faze III predčasno prekinili (8). Murepavidin v inhalacijski obliki je trenutno v fazi Ib/IIa kliničnega preizkušanja (7, 20).

Aktivnost *in vitro* proti GNB-CR so ugotovili tudi za apramicin (EBL-1003), ki je novi aminoglikozid, trenutno v fazi I kliničnega preizkušanja (7).

Aminometilciklin tretje generacije zifanociklin (KBP-7072), ki je trenutno v fazi I kliničnega preizkušanja, je izkazal učinkovitost *in vitro* proti CRAB-MBL (7). Kaže, da je njegova učinkovitost le minimalno okrnjena s pridobljenimi geni za odpornost proti tetraciklinom (7).

BWC0977 je novi nefluorokinolonski zaviralec topoizomeraze, ki učinkuje proti različnim GNB (7,20), vendar še nimamo podatkov o njegovi učinkovitosti proti GNB-MBL.

RECCE 327 je sintetični polimer z novim mehanizmom delovanja, ki moti proizvodnjo energije v bakteriji, celično rast in delitev in je *in vitro* učinkovit proti GNB-CR, nimamo pa še podatkov o njegovi učinkovitosti proti GNB-MBL (7, 20).

OMN6 je sintetični ciklični peptid, ki deluje protibakterijsko tako, da deluje uničujoče na membrano bakterij in je učinkovit *in vitro* proti različnim GNB; trenutno ga preizkušajo v kliničnih raziskavah faze I (7, 20).

ZAKLJUČEK

Nekaj novih antibiotikov in antibiotičnih kombinacij je bilo nedavno odobrenih za zdravljenje okužb z GNB s karbapenemazami, nekaj jih je še v razvoju. Te nove terapevtske možnosti moramo uporabljati skrbno, da bi minimizirali nastanek odpornosti in ohranili njihovo uporabnost. Okužbe z bakterijami z MBL ostajajo najzahtevnejše za zdravljenje, saj je le malo antibiotikov učinkovitih proti njim, zato ne smemo spregledati ukrepov nadzorovane rabe antibiotikov, kakršen je npr. sestop (deeskalacija) na druge antibiotike, če smo izkustveno

uporabili antibiotik z učinkom proti GNB z MBL, kasneje pa smo izključili oziroma nismo potrdili okužbe s temi povzročitelji.

LITERATURA

1. WHO bacterial priority pathogens list. Bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance. Geneva: WHO; 2024.
2. Lee XJ, Stewardson AJ, Worth LJ, Graves N, Wozniak TM. Attributable Length of Stay, Mortality Risk, and Costs of Bacterial Health Care-Associated Infections in Australia: A Retrospective Case-Cohort Study. *Clin Infect Dis* 2021; 72 (10), e506–e514.
3. Aung AH, Kanagasabai K, Koh J, et al. Epidemiology and Transmission of Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae* in a Health Care Network of an Acute-Care Hospital and Its Affiliated Intermediate- and Long-Term-Care Facilities in Singapore. *Antimicrob Agents Chemother* 2021; 65 (8), e0258420.
4. Tamma PD, Heil EL, Justo J, Mathers AJ, Satlin MJ, Bonomo RA. Infectious Diseases Society of America 2024 Guidance on the Treatment of Antimicrobial-Resistant Gram-Negative Infections. *Clin Infect Dis* 2024; Aug 7: ciae403.
5. Sader HS, Mendes RE, Duncan LR, Carvalhaes CG, Castanheria M. Antimicrobial activity of ceftazidime/avibactam (ZSCT 5222), a beta-lactam/beta-lactam enhancer combination, against clinical isolates of Gram-negative bacteria collected worldwide (2018-19). *J Antimicrob Chemother* 2022; 77(10): 2642–9.
6. Jean SS, Ko WC, Lu MC, Lee WS, Hsueh PR. Multicenter Surveillance of *In Vitro* Activities of Ceftazidime-Avibactam, Ceftazidime-Enmetazobactam, Omadacycline, Eravacycline, and Comparator Antibiotics Against *Enterobacteriales*, *Pseudomonas Aeruginosa*, and *Acinetobacter Baumannii* Complex Causing Bloodstream Infection in Taiwan 2020. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2022; 11: 1–13.
7. Bassetti M, Vena A, Larosa B, Giacobbe DR. New antibiotics in clinical pipeline for treating infections caused by metallo- β -lactamases producing Gram-negative bacteria. *Curr Opin Infect Dis* 2024 Dec 1; 37(6): 582–8.
8. Cruz-López F, Martínez-Meléndez A, Morfin-Otero R, et al. Efficacy and *In Vitro* Activity of Novel Antibiotics for Infections With Carbapenem-Resistant Gram-Negative Pathogens. *Front Cell Infect Microbiol* 2022; 12: 884365.
9. Hamrick JC, Docquier JD, Uehara T. VNRX-5133 (Taniborbactam), a Broad-Spectrum Inhibitor of Serine- and Metallo-Beta-Lactamases, Restores Activity of Ceftazidime in *Enterobacteriales* and *Pseudomonas Aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 2020; 64(3): e01963-19.
10. Hernández-García M, García-Castillo M, Ruiz-Garbajosa P, et al. *In Vitro* Activity of Ceftazidime-Taniborbactam Against Carbapenemase Producing *Enterobacteriales* and *Pseudomonas Aeruginosa* Isolates Recovered in Spain. *Antimicrob Agents Chemother* 2022; 66(3): e0216121.
11. Wagenlehner FM, Gasink LB, McGovern PC, et al. Ceftazidime-taniborbactam in complicated urinary tract infection. *N Engl J Med* 2024; 390: 611–22.
12. Cornely OA, Cisneros JM, Torre-Cisneros J, et al. Pharmacokinetics and Safety of Aztreonam/Avibactam for the Treatment of Complicated Intra-Abdominal Infections in Hospitalized Adults: Results From the REJUVENATE Study. *J Antimicrob Chemother* 2020; 75 (3): 618–27.
13. Falcone M, Daikos GL, Tiseo G, et al. Efficacy of Ceftazidime-Avibactam Plus Aztreonam in Patients With Bloodstream Infections Caused by Metallo- β -Lactamase-Producing *Enterobacteriales*. *Clin Infect Dis* 2021; 72 (11): 1871–8.

-
14. Lomovskaya O, Rubio-Aparicio D, Nelson K, et al. In Vitro Activity of the Ultrabroad-Spectrum Beta-Lactamase Inhibitor QPX7728 in Combination With Multiple Beta-Lactam Antibiotics Against *Pseudomonas Aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 2021; 65 (6): e00210–e00221.
 15. Kaye KS, Shorr AF, Wunderink RG, et al. Efficacy and safety of sulbactam-durlobactam versus colistin for the treatment of patients with serious infections caused by *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus* complex: a multicentre, randomised, active-controlled, phase 3, non-inferiority clinical trial (ATTACK). *Lancet Infect Dis.* 2023; 23(9): 1072–84.
 16. Innoviva Specialty Therapeutics, Inc. Xacduro (sulbactamdurlobactam). Dosegljivo na: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2023/216974Orig1_s000Correctedlbl.pdf
 17. Paterson DL. Antibacterial agents active against Gram negative bacilli in phase I, II, or III clinical trials. *Expert Opin Investig Drugs* 2024; 33:371–87.
 18. Miller AA, Shapiro AB, McLeod SM, et al. Characterization of ETX1317, a Broad-Spectrum β -Lactamase Inhibitor That Restores and Enhances β -Lactam Activity Against Multi-Drug-Resistant. *ACS Infect Dis* 2020; 6 (6): 1389–97.
 19. Eckburg PB, Lister T, Walpole S, et al. Safety, Tolerability, Pharmacokinetics, and Drug Interaction Potential of SPR741, an Intravenous Potentiator, After Single and Multiple Ascending Doses and When Combined With β -Lactam Antibiotics in Healthy Subjects. *Antimicrob Agents Chemother* 2019; 63 (9): e00892–19.
 20. World Health Organization. 2023 Antibacterial agents in clinical and preclinical development: na overview and analysis. Dosegljivo na: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240094000>

KAKO S SISTEMOM SPREMLJANJA OBVLADOVATI SPREMINJAJOČO SE EPIDEMIOLOGIJO MRSA

HOW TO ADDRESS THE CHANGING EPIDEMIOLOGY OF MRSA WITH A SURVEILLANCE SYSTEM

Tjaša Žohar Čretnik

*Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Center za medicinsko mikrobiologijo,
Oddelek za medicinsko mikrobiologijo Celje
Splošna bolnišnica Celje, Služba za preprečevanje in obvladovanje bolnišničnih okužb
Fakulteta za zdravstvene vede Celje*

IZVLEČEK

V prispevku podajamo pregled razpoložljivih podatkov o klonalni strukturi populacije proti meticilinu odporne bakterije *Staphylococcus aureus* (MRSA; angl. methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) in pomembnih spremembah v epidemiologiji MRSA v Sloveniji, ki narekujejo uvedbo sistematičnega molekularnega sledenja tega povzročitelja na nacionalnem nivoju. V državi so za ta namen vzpostavljene ustrezne kapacitete in metode. Podajamo predlog za nabor izolatov, s katerimi bi pridobili reprezentativne podatke, saj se je izkazalo, da izolati iz hemokultur za ta namen ne zadoščajo, saj njihovo število upada in zato s to skupino izolatov pridobimo le približno tretjino informacij o klonalni strukturi izolatov.

Ključne besede: MRSA, uspešni kloni, sledenje

ABSTRACT

In this paper, we provide an overview of the available data on the clonal structure of the methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) population and significant changes in the epidemiology of MRSA in Slovenia, which dictate the introduction of systematic molecular surveillance of this pathogen at the national level. Appropriate capacities and methods for this purpose have already been established. We provide a proposal for a set of isolates with which to obtain representative data, since it has been shown that isolates from blood cultures are not sufficient for this purpose. As their number is decreasing, this group of isolates provides only approximately one third of the information on the clonal structure of MRSA isolates.

Keywords: MRSA, successful clones, surveillance

POMEN MOLEKULARNEGA SPREMLJANJA MRSA

Mednarodne javnozdravstvene inštitucije in strokovnjaki prepoznavajo MRSA kot enega največjih tveganj za zdravje ljudi in stabilnost zdravstvenih sistemov (1, 2, 3). Po obsežni oceni bremena, ki ga predstavljajo večkratno odporne bakterije, je MRSA na svetu v letu 2019 povzročil več kot 100.000 smrti in je glede bremena, ki ga predstavlja, med vodilnimi šestimi večkratno odpornimi mikroorganizmi na vseh celinah (4). Deleži MRSA med izolati *S. aureus* v nekaterih okoljih še vedno presegajo 80 %, v 13 evropskih državah pa so v letu 2021 deleži izolatov MRSA med invazivnimi izolati *S. aureus* še vedno presegali 25 % (3, 5).

Molekularno spremljanje mikroorganizmov in med njimi tudi MRSA, se v razvitih državah izvaja z namenom doseganja več ciljev, od katerih se nekateri prekrivajo s cilji sistemov spremljanja različnih okužb in/ali sistemov spremljanja nalezljivih bolezni, doseganje drugih pa v danem trenutku še nima neposrednih posledic za posameznega pacienta ali skupino v populaciji (6). Raziskovanje in prepoznavanje povezav med genotipom in fenotipom mikroorganizma v najširšem možnem obsegu ter razumevanje, ali te lastnosti za mikroorganizem predstavljajo selekcijsko prednost, je za ocenjevanje tveganj, povezanih z mikroorganizmi, in pravočasno ukrepanje za preprečevanje njihovega širjenja, odločilno (6, 7). Smo v fazi, ko znamo prepoznati zmagovalce in jih podrobno opisati, razvili smo metode, s katerimi lahko obdelujemo in modeliramo ogromne količine podatkov, manjka pa nam dovolj informacij, da bi v prisotni populaciji prepoznali potencialne zmagovalce in proti njim ukrepali na način, da ne bi povzročili naslednjega epidemičnega vala. Da je s pravočasnim ukrepanjem mogoče preprečiti naslednji epidemični val, je Cooper s sodelavci z matematičnim modeliranjem pokazal že v letu 2004 (8).

Poleg lastnosti mikroorganizma in lastnosti gostitelja je za razumevanje širjenja mikroorganizmov pomembno tudi proučevanje vrste in trajanja stikov med ljudmi. Gibanje posameznika v zdravstvenem sistemu je individualno in vsa gibanja skupaj tvorijo kompleksno mrežo stikov. Proučevanje takšne mreže je na primer na Švedskem pokazalo, da nekateri posamezniki nesorazmerno prispevajo k prenosom MRSA. S pomočjo prikazanega načina obdelave podatkov so lahko ovrednotili parametre, kot so reprodukcijsko število, čas od prvega primera do pojava epidemije znotraj ustanove, čas, v katerem mikroorganizem doseže druge oddelke in ustanove, koliko oddelkov in ustanov je v določenem času prizadetih ter dolžine in obseg epidemičnih valov (9). Če bi ob tem poznali tudi podatek, kateremu klonu je posamezen izolat pripadal in kakšne so bile njegove lastnosti, bi lahko opazili tudi razlike med kloni in na ta način primerjali njihovo uspešnost. Posledično bi lahko načrtovali ukrepe tudi glede na prisotnost različnih klonov iste vrste mikroorganizma.

POMEMBNI PREMIKI V POJAVLJANJU MRSA V SVETU

Med uveljavljenimi kloni MRSA poznamo takšne, ki so razširjeni po vsem svetu, in takšne, ki so prevladujoči le na omejenem geografskem področju. Isti klon postane prevladujoč na različnih geografskih področjih v različnih obdobjih (10). Zakaj, kdaj in kako hitro en prevladujoči klon izpodrine drugega, ni jasno.

Med vodilne svetovne klonalne komplekse sodijo CC5, CC8, CC22, CC30 in CC45. CC5 in CC8 sta razširjena na vseh kontinentih. Od 60 najuspešnejših klonov pa jih je le 21 (35 %) prisotnih na več kot enem od sedmih, v preglednem članku opredeljenih geografskih območij, le eden (ST239-III) pa je razširjen na vseh sedmih (10).

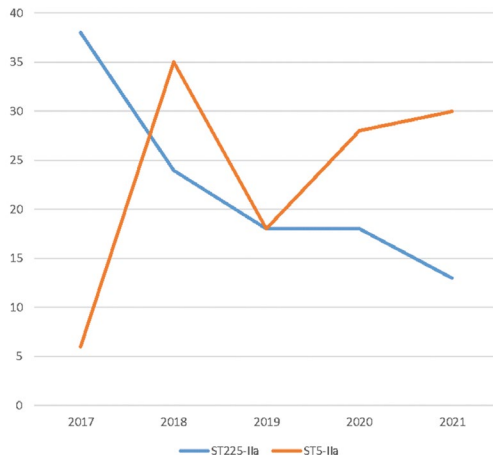
Kot globalne trende v pojavljanju MRSA bi lahko opredelili povečevanje skupnega bremena MRSA, uveljavljanje CA-MRSA (angl. community-acquired MRSA) v domačem okolju, uveljavljanje LA-MRSA (angl. livestock-associated MRSA) med rejnimi živalmi ter prodiranje CA-MRSA in LA-MRSA v bolnišnično okolje in izpodrivanje klonov HA-MRSA (angl. hospital-associated MRSA) (4, 10).

PREVLADUJOČI KLONI HA-MRSA V SLOVENIJI

Tako kot po svetu, se je tudi epidemiološka situacija v Sloveniji v zadnjih 20 letih pomembno spremenila. V savinjski in posavski regiji smo doslej opravili dve obsežni raziskavi klonalne strukture MRSA, eno v obdobju od 1993 in 2001, drugo pa v letih od 2017 do 2021 (11, 12). S PFGE smo v prvi raziskavi v devetletnem kot prevladujoče opisali tri tipe izolatov, ki so bili tesno genetsko povezani z iberskim klonom, izolate, ki so bili verjetno genetsko povezani z brazilskim klonom, in izolate, ki niso bili genetsko povezani z nobenim od takrat znanih šestih pandemičnih klonov in so bili še najbližje pediatričnemu klonu (11). Slednji pripada ST5-II in CC5, katere del sta tudi v drugi raziskavi prevladujoča pripadnika rensko-hessenskega klona ST5 in ST225 (12).

Klonoma ST5-IIa in njegovi varianti na locusu *tpi* ST225-IIa je v obdobju od 2017 do 2021 pripadalo 85 od 306 (27,8 %) oziroma 81 od 306 izolatov (26,5 %) (12). Dinamika pojavljanja, oziroma zamenjave vodilnih klonov je prikazana v Grafu 1.

Graf 1. Število vseh izolatov MRSA, ki so v letih od 2017 do 2021 v savinjski in posavski regiji pripadali prevladujočima klonoma ST225-IIa in ST5-IIa.



Vrhovi posameznih epidemičnih valov v obeh raziskavah v savinjski in posavski regiji so si sledili v intervalih od štirih do petih let, ne glede na klon, ki je epidemični val povzročil (11, 12). V osrednjeslovenski regiji so raziskovalci v obdobju med letoma 2019 in 2022 med invazivnimi izolati kot prevladujoči klon opredelili ST225-II, ki mu je pripadalo 45,1 % analiziranih izolatov (13). Klonu ST5-II je pripadalo le 3,7 % izolatov in klona ST225-II še ni nadomestil, kot se je to zgodilo v savinjski in posavski regiji. Kaže celo, da se med invazivnimi izolati osrednjeslovenske regije bolj uveljavlja klon ST2883-IIa, ki mu je pripadalo

14,6 % izolatov (13), medtem ko ga v drugi naši raziskavi med invazivnimi izolati sploh nismo zaznali (12). Raziskava iz obdobja med letoma 2006 in 2013, opravljena v največji zdravstveni ustanovi v podravski regiji, je kot prevladujoči *spa* tip opredelila t003 (29,1 %) (14), ki se je v savinjski in posavski regiji izkazal kot povezan s klonom ST225-IIa v 90,1 %. V istem obdobju je *spa* tip t002, ki je v raziskavi v savinjski in posavski regiji povezan s ST5-IIa v 87,1 %, predstavljal le 1,9 % od 519 analiziranih izolatov (12, 13). Rezultati kažejo, da je bil ST225-IIa najverjetneje prevladujoči klon tudi drugod po Sloveniji, vrhovi epidemičnih valov pa v posameznih regijah niso povsem sočasni, kar je glede na dinamiko premeščanja pacientov tudi pričakovano.

Slovenija je z 10 in 22 MRSA izolati sodelovala tudi v dveh raziskavah Grundmanna in sodelavcev o prisotnosti različnih klonov med invazivnimi izolati *S. aureus* v Evropi. Prva je bila opravljena za obdobje od septembra 2006 do februarja 2007, druga pa za obdobje od januarja 2011 do julija 2011. Izolate MRSA je prispevalo 11 oziroma 10 slovenskih laboratorijev za 12 oziroma 13 bolnišnic. Med MRSA izolati iz Slovenije so bili v obeh primerih prisotni po trije *spa* tipi (15, 16). V prvi raziskavi je bil na prvem mestu *spa* tip t041 (15). V drugi raziskavi struktura *spa* tipov po državah ni bila predstavljena, pokazala pa je povezavo med t041 in ST228, ki pripada južnonemškemu klonu MRSA (16). Tipizacija 111 invazivnih izolatov MRSA iz enajstih slovenskih bolnišnic, osamljenih med letoma 2000 in 2001, je prav tako pokazala prevlado klona, zelo podobnega južnonemškemu klonu (17).

SPREMEMBE V POJAVLJANJU CA-MRSA IN LA-MRSA V SLOVENIJI

Opis prve epidemije CA-MRSA v Sloveniji sovпада s prvimi opisi izolatov CA-MRSA v Evropi, ki so bili objavljeni v obdobju med letoma 2003 in 2008 (18, 19, 20). Tudi v primeru novih, pomembnih klonov MRSA velja, da so izolati tega tipa že dodobra razširjeni, preden vzbudijo zanimanje raziskovalcev. Tako je Vandenesch s sodelavci za evropske CA-MRSA izolate že v letu 2003 poročal, da so bili tisti, ki so jih prispevali francoski raziskovalci, osamljeni v desetih bolnišnicah (18). Tudi za Slovenijo je verjetno, da so bili izolati CA-MRSA prisotni že v letu 1995, saj je bilo v raziskavo v savinjski in posavski regiji med letoma 1993 in 2001 vključenih šest izolatov, ki ustrezajo fenotipskim kriterijem za opredelitev domnevnega CA-MRSA (odpornost proti oksacilinu in občutljivost za vsaj dva od naslednjih: ciprofloksacin, eritromicin, klindamicin, gentamicin), ki smo jih v Sloveniji od leta 2010 uporabljali za namen sledenja domnevnih CA-MRSA (23). Pet izolatov je bilo osamljenih v letu 1995, eden pa leta 1999 (11).

Prvo opisano epidemijo CA-MRSA v Sloveniji je med majem 2003 in junijem 2004 povzročil ST80-IV (evropski klon), in sicer v bolnišničnem okolju (18). Slednji je v obdobju med letoma 2006 in 2013 ostal redek, saj je v nacionalni zbirki domnevnih CA-MRSA predstavljal le 0,5 % (21). Prav tako nobeden od izolatov iz savinjske in posavske regije med leti 2017 in 2021 ter nobeden od invazivnih izolatov iz osrednjeslovenske regije iz obdobja med letoma 2019 in 2022 ni pripadal omenjenemu klonu, kar kaže, da se evropski klon v Sloveniji ni uveljavil (12, 13).

Zanimivo je, da je v Sloveniji opis prve zunajbolnišnične epidemije sledil opisu prve bolnišnične epidemije CA-MRSA. V oktobru 2004, ko je zbolelo 12 od 26 članov nogometne ekipe, je pri 11 osebah okužbo povzročil ST5-IV-t002. Eden od izolatov je pripadal ST152 in

takrat novemu *spa* tipu, in sicer t454. Vsi izolati so bili PVL-pozitivni (22). Izolat s profilom ST152-V-t454 in PVL-pozitiven smo v letu 2018 osamili iz vzorca rane (12). Izolati s profilom ST5-I-t002, pozitivni na PVL, kasneje niso bili opisani (12, 13).

Ker je bilo sistematično spremljanje domnevnih CA-MRSA edino nacionalno spremljanje pojavljanja izolatov MRSA, predstavlja dragocen vir informacij za Slovenijo, čeprav so bili zajeti izolati glede na fenotipsko opredeljen profil odpornosti proti protimikrobnim zdravilom (21, 23). Med zajetimi izolati so zato prisotni tudi predstavniki tipov MLST, ki pripadajo HA-MRSA ali LA-MRSA, kot so ST1, ST5, ST97, ST130, ST225, ST228 in ST398 (21). Fenotipski kriteriji za opredelitev domnevnega CA-MRSA so se v primerjavi z genetsko opredelitvijo v raziskavi v savinjski in posavski regiji med leti 2027 in 2021 izkazali za 65,1 % občutljive in 80,5 % specifične (12). Trije pomembni CA-MRSA kloni (ST22-IVa, ST45-IVa in ST5-IVa) so bili med invazivnimi izolati opisani tako v osrednjeslovenski regiji, kot v savinjski ter posavski regiji med leti 2017 in 2022, pri čemer je bil v obeh primerih najpogostejše prisoten klon ST22-IVa s 13,9-% in 9,8-% deležem izolatov (12, 13). Primerjave podatkov iz objav rezultatov spremljanja domnevnih CA-MRSA in novejših raziskav otežuje dejstvo, da se pri domnevnih izolatih CA-MRSA ni določal tip *SCC_{mec}* in da za redkejša genetske linije podatki o pogostosti pojavljanja in povezave med tipi MLST in *spa* tipi niso podani (21). Ne glede na omejitve lahko zaključimo, da je bilo šest CA-MRSA klonov, ki so bili opisani med leti 2017 in 2021 (ST5, ST8, ST22, ST30, ST45, ST88 in ST152) v Sloveniji prisotnih že vsaj od leta 2010 (21). Glede na to, da je bilo v letih 2010, 2014 in 2015 iz kliničnih vzorcev osamljenih od 13,7 % do 17,4 % izolatov, slednji pa večinoma izhajajo iz bolnišničnega okolja, bi lahko sklepali, da so se kloni CA-MRSA v bolnišničnem okolju uveljavili že v obdobju šestih let po opisu prve epidemije (21). V raziskavi v savinjski in posavski regiji med leti 2027 in 2021 smo 66,7 % vseh izolatov CA-MRSA osamili iz vzorcev, odvzetih pri hospitaliziranih pacientih, pri čemer so ti izolati predstavljali 19,8 % vseh izolatov iz bolnišničnega okolja. Ob tem so CA-MRSA izolati tvorili osem cgMLST gruč, (21,1 %), vse te pa so bile prisotne v bolnišničnem okolju, sedem pa tudi v zunajbolnišničnem okolju, kar kaže na to, da so se kloni CA-MRSA dobro uveljavili v bolnišničnem okolju. Raziskava iz leta 2010, v kateri je bilo v vsej Sloveniji od 151 domnevnih izolatov CA-MRSA kar 126 (83,4 %) osamljenih iz vzorcev, odvzetih v prvih 48 urah hospitalizacije, in so torej v bolnišnično okolje vnešeni iz drugih okolij, pa opozarja na dejstvo, da iz obstoječih podatkov ne moremo opredeliti obsega intrahospitalnega prenosa CA-MRSA (23). Zagotovo pa lahko na podlagi razpoložljivih rezultatov zaključimo, da se kloni CA-MRSA v zunajbolnišničnem in bolnišničnem okolju v Sloveniji širijo najmanj dve desetletji in se njihova vloga postopoma, a le zmerno krepi.

Večina podatkov o zgodnjem pojavljanju LA-MRSA v Sloveniji prav tako izhaja iz spremljanja pojavljanja domnevnih CA-MRSA izolatov, prvi *mecC* pozitivni izolat pa je bil osamljen iz brisa rane v letu 2007 in je pripadal tipu *spa* t834. (21, 23, 24). Slednjemu so pripadali še štirje od skupno vseh sedmih *mecC* pozitivnih izolatov iz obdobja med letoma 2006 in 2013 iz nacionalne zbirke domnevnih izolatov CA-MRSA (24). Poleg *mecC* pozitivnih izolatov LA-MRSA so bili med domnevnimi izolati CA-MRSA že v letu 2010 prepoznani štirje (ST1, ST5, ST130 in ST398) od sedmih tipov MLST, ki jim pripadajo izolati LA-MRSA (23). Nadalje v leto 2014 sega prvi opis ST97, ki pa je v tem letu z 9,8-% deležem že zasedel drugo mesto med domnevnimi CA-MRSA izolati (21). V letih 2014 in 2015 so bili izolati ST398 med domnevnimi izolati CA-MRSA z 22,9-% in 27,5-% deležema na prvem mestu

po pogostosti, v letu 2010 pa s 15,2-% deležem na drugem mestu (21). Verjetno je, da so bili LA-MRSA izolati v Sloveniji že pred letom 2000, saj smo en izolat, ki ustreza fenotipski definiciji LA-MRSA, ki so jo Avberškova in sodelavci uporabili za opredelitev domnevnih izolatov LA-MRSA (odpornost proti cefoksitinu in tetraciklinu), opisali v letu 1995 (11, 25). Drugi izolat, prav tako iz leta 1995, pa je bil odporen le proti oksacilinu (11). Takšen profil odpornosti je bil v raziskavi v savinjski in posavski regiji med leti 2017 in 2021 opazen le pri izolatih LA-MRSA. Ker nobeden od izolatov z izraženo odpornostjo le proti oksacilinu ni pripadal ST398 in obratno, nobeden od izolatov, ki so pripadali drugim klonom LA-MRSA, ni bil odporen le proti oksacilinu, lahko sklepamo, da je takšen profil odpornosti označevalec ne-ST398 LA-MRSA (12). Fenotipski kriteriji za opredelitev domnevnih LA-MRSA so se sicer v isti raziskavi izkazali kot 38,9-% občutljivi in 92,7-% specifični v primerjavi z genetsko opredelitvijo izolatov (12).

V obdobju med letoma 2013 in 2016 so nadalje Avberškova in sodelavci izvedli raziskavo prenosov LA-MRSA med rejnimi živalmi in človekom ter za izbor izolatov uporabili prej omenjeni fenotipski kriterij. Poročali so, da je bilo v Sloveniji v omenjenem obdobju z domnevnim LA-MRSA koloniziranih, oziroma okuženih 135 pacientov. 63 jih je poročalo o stiku z rejnimi živalmi, pri čemer je bilo 59 koloniziranih, pri štirih pa je bila ugotovljena okužba z LA-MRSA. V nadaljevanju so raziskovalci s sekvenciranjem celotnega genoma analizirali 49 izolatov LA-MRSA pri 14 od 63 pacientov, njihovih članov gospodinjstva ter vzorcev, odvzetih od rejnih živali in iz okolja kmetij. Vseh 49 izolatov je pripadalo ST398-Vc, t011 in t034 (25). Oba *spa* tipa smo med izolati ST398-Vc opredelili tudi v raziskavi v savinjski in posavski regiji med letoma 2017 in 2021, in sicer jih je šest (2,0 %) pripadalo t011, dva (0,7 %) pa t034 (12). Med invazivnimi izolati iz osrednjeslovenske regije sta le dva izolata (2,4 %) pripadala ST398-Vc-t011 (13).

V raziskavi v savinjski in posavski regiji med letoma 2017 in 2021 so izolati LA-MRSA tvorili štiri (10,5 %) cgMLST gruč, ki so bile sicer vse prisotne tudi v bolnišničnem okolju in je le ena od njih ostala omejena na bolnišnično okolje. Kar 24 (44,4 %) izolatov LA-MRSA se ni razvrstilo v nobeno od cgMLST gruč in 16 (29,6 %) od teh je bilo odvzetih pri hospitaliziranih pacientih iz kliničnih vzorcev, kar kaže na to, da gre za številne ločene vnose v bolnišnično okolje in pomembno razširjenost LA-MRSA v domačem okolju (12). Glede na to, da so slovenski raziskovalci zelo verjeten znotrajbolnišnični prenos opisali že v obdobju od julija 2014 do oktobra 2016, ob naraščajočih deležih izolatov LA-MRSA in številnih novih vnosih v bolnišnično okolje ni pričakovati, da bi znotrajbolnišnični prenosi ostali redkost (25).

KAKO NAPREJ

Metodo sekvenciranja celotnih genomov z analizami genomskih sekvenc smo v Sloveniji uspešno vzpostavili za celo vrsto mikroorganizmov in med njimi tudi za MRSA. Za izvajanje vseh postopkov obstajajo tudi zadostne kapacitete. Po drugi strani obstajajo orodja in modeli za študij mrež stikov, ki nam lahko pomagajo razumeti dinamiko prenosov mikroorganizmov. Če želimo raziskovati in razumeti razlike v uspešnosti klonov, je informacije o izolatih potrebno dopolniti z njihovimi genetskimi lastnostmi, to je klonalno pripadnostjo ter nosilstvom rezistentnih in virulencnih genov. Ker zaradi stroškov vseh teh informacij ne bomo mogli pridobiti za vse izolate, je še toliko bolj pomembno, da v analize zajamemo vsaj reprezentativno skupino

izolatov, pri čemer je potrebno reprezentativnost preveriti. Z raziskavo, katere glavni namen je bil opredeliti za sledenje reprezentativni vzorec izolatov MRSA, smo s pomočjo izolatov iz hemokultur sicer pridobili podatke o prevladujočih klonih MRSA, a smo zajeli le 21,3 % ugotovljenih *spa* tipov, 24,1 % fenotipskih rezistenčnih profilov in 28,2 % MLST-SCC*mec* genetskih linij. Preiskava izolatov iz mehkih tkiv, kot najuspešnejše skupine izolatov, pa je zajela 65,3 % *spa* tipov, 58,6 % fenotipskih rezistenčnih profilov, 71,8 % MLST-SCC*mec* tipov, 100 % virulenčnih genov in 82,5 % rezistenčnih genov, zaradi česar še vedno predlagamo, da je to skupino izolatov poleg izolatov iz hemokultur smiselno vključiti v sistem sledenja (12).

LITERATURA

1. Tacconelli E, Carrara E, Savoldi A, Harbarth S, Mendelson M, Monnet DL, Pulcini C, Kahlmeter G, Kluytmans J, Carmeli Y, Ouellette M, Outterson K, Patel J, Cavalieri M, Cox EM, Houchens CR, Grayson ML, Hansen P, Singh N, Theuretzbacher U, Magrini N; WHO Pathogens Priority List Working Group. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *Lancet Infect Dis*. 2018 Mar;18(3):318–27.
2. Centers for Disease Control and Prevention. Antibiotic resistance threats in the United States 2019. 2019. Dostopno na: <https://www.cdc.gov/drugresistance/biggest-threats.html>.
3. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2023 – 2021 data. Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control and World Health Organization; 2023.
4. Antimicrobial Resistance Collaborators. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *Lancet*. 2022 Feb 12;399(10325):629–55.
5. World Health Organization. Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System (GLASS) Report 2021. WHO; 2022
6. European Centre for Disease Prevention and Control. Long-term surveillance framework 2021–2027. April 2023. ECDC: Stockholm; 2023.
7. Defining collaborative surveillance: a core concept for strengthening the global architecture for health emergency preparedness, response, and resilience (HEPR). Geneva: World Health Organization; 2023.
8. Cooper BS, Medley GF, Stone SP, Kibbler CC, Cookson BD, Roberts JA, Duckworth G, Lai R, Ebrahim S. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in hospitals and the community: steth dynamics and control catastrophes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004 Jul 6;101(27):10223–8.
9. Rocha LEC, Singh V, Esch M, Lenaerts T, Liljeros F, Thorson A. Dynamic contact networks of patients and MRSA spread in hospitals. *Sci Rep*. 2020 Jun 9;10(1):9336.
10. Lakhundi S, Zhang K. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: molecular characterization, evolution and epidemiology. *Clin Microbiol Rev* 2018;31(4):1–103.
11. Žohar Čretnik T. Opredelitev endemskih tipov proti meticilinu odpornega *Staphylococcus aureus* v Splošni bolnišnici Celje s pomočjo pulzne elektroforeze : magistrsko delo. Ljubljana: 2005.
12. Žohar Čretnik T, Marič L, Rupnik M, Janežič S. Different sampling strategies for optimal detection of the overall genetic diversity of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Microbiology spectrum*. [Spletna izd.]. May 2024.
13. Dermota U, Šturm AC, Triglav T, Smrdel KS, Velimirović I. Whole genome sequencing and molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from patients with bacteraemia in Slovenia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2024 May;43(5):969–77.
14. Kevorkian BK, Petrovič Ž, Kocuvan A, Rupnik M. MRSA diversity and the emergence of LA-MRSA in a large teaching hospital in Slovenia. *Acta Microbiol Immunol Hung*. 2019 Jun 1;66(2):235–46.

-
15. Grundmann H, Aanensen DM, van den Wijngaard CC, Spratt BG, Harmsen D, Friedrich AW; European Staphylococcal Reference Laboratory Working Group. Geographic distribution of *Staphylococcus aureus* causing invasive infections in Europe: a molecular-epidemiological analysis. *PLoS Med*. 2010 Jan 12;7(1):e1000215.
 16. Grundmann H, Schouls LM, Aanensen DM, Pluister GN, Tami A, Chlebowicz M, Glasner C, Sabat AJ, Weist K, Heuer O, Friedrich AW; ESCMID Study Group on Molecular Epidemiological Markers; European Staphylococcal Reference Laboratory Working Group. The dynamic changes of dominant clones of *Staphylococcus aureus* causing bloodstream infections in the European region: results of a second structured survey. *Euro Surveill*. 2014 Dec 11;19(49):20987.
 17. Križan-Hergouth V. Epidemiološka genotipizacija proti meticilinu odporne bakterije *Staphylococcus aureus* (MRSA) izolirane iz krvi bolnikov s sepsa v Sloveniji : magistrsko delo. Ljubljana, 2004.
 18. Dermota U, Grmek-Košnik I, Ravnik M, Budimir A, Ribič H, Cerkenik-Škafar A. First report of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from a Slovenian hospital. *J Hosp Infect*. 2011 Nov;79(3):271–2.
 19. Otter JA, French GL. The emergence of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at a London teaching hospital, 2000–2006. *Clin Microbiol Infect*. 2008;14:670–6.
 20. Vandenesch F, Naimi T, Enright MC, et al. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying Panton-Valentine leukocidin genes: worldwide emergence. *Emerg Infect Dis*. 2003;9:978–84.
 21. Dermota U, Košnik IG, Janežič S, Rupnik M. Changing Epidemiology of Presumptive Community-associated-methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Slovenia in 2014–2015 Compared To 2010. *Zdr Varst*. 2020 Oct 18;59(4):236–44.
 22. Müller-Premru M, Strommenger B, Alikadic N, Witte W, Friedrich AW, Seme K, Kucina NS, Smrke D, Spik V, Gubina M. New strains of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with Panton-Valentine leukocidin causing an outbreak of severe soft tissue infection in a football team. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2005 Dec;24(12):848–50.
 23. Dermota U, Mueller-Premru M, Švent-Kučina N, Petrovič Ž, Ribič H, Rupnik M, Janežič S, Zdovc I, Grmek-Košnik I. Survey of community-associated-methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Slovenia: identification of community-associated and livestock-associated clones. *Int J Med Microbiol*. 2015 Sep;305(6):505–10.
 24. Dermota U, Zdovc I, Strumbelj I, Grmek-Košnik I, Ribič H, Rupnik M, Golob M, Zajc U, Bes M, Laurent F, Mueller-Premru M. Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying the *mecC* gene in human samples in Slovenia. *Epidemiol Infect*. 2015 Apr;143(5):1105–8.
 25. Avberšek J, Golob M, Papič B, Dermota U, Grmek Košnik I, Kušar D, Očepek M, Zdovc I. Livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: Establishing links between animals and humans on livestock holdings. *Transbound Emerg Dis*. 2021 Mar;68(2):789–801.

PNEVMOKOKNE OKUŽBE – TRENDI OBČUTLJIVOSTI PRI OTROCIH IN ZDRAVLJENJE S PENICILINOM

PNEUMOCOCCAL INFECTIONS – ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TRENDS IN CHILDREN AND TREATMENT WITH PENICILLIN

Katarina Vincek¹, Darja Novakovič¹, Nada Tavčar¹,
Petra Prunk Križanec¹, Mateja Pirš², Ivana Velimirovič²,
Helena Ribič³, Daša Kavka⁴, Uroš Glavan⁵, Tina Plankar Srovin¹

¹Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja, UKC Ljubljana

²Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

³Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Oddelek za medicinsko mikrobiologijo Kranj

⁴Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Oddelek za medicinsko mikrobiologijo Celje

⁵Nacionalni inštitut za javno zdravje

IZVLEČEK

Streptococcus pneumoniae je najpogostejši povzročitelj tipičnih pljučnic in bakteriemij pri otrocih. Antibiotik prve izbire za zdravljenje pnevmokoknih okužb je penicilin ali amoksisilin. V prispevku predstavljamo podatke občutljivosti invazivnih in neinvazivnih pnevmokokov pri otrocih v Sloveniji v letih 2022–2024. Analizirali smo tudi zdravljenje bakteriemij in pljučnic pri 516 hospitaliziranih otrocih v tem časovnem obdobju na Kliniki za infekcijske bolezni in vročinska stanja, pri katerih je bil najverjetnejši povzročitelj pnevmokok. V več kot 90 % smo otroke izkustveno zdravili in jih tudi uspešno pozdravili z visokimi odmerki penicilina, redko je bilo antibiotik potrebno zamenjati. Tudi mikrobiološki podatki so pokazali, da so bili vsi invazivni in 98,8 % neinvazivnih izolatov občutljivi za parenteralni penicilin, če zdravimo okužbe, ki niso meningitis. V letu 2024 smo opazili približno 8 % porast pnevmokokov, občutljivih za penicilin ob povečani izpostavljenosti antibiotiku (I). Nezapletene okužbe s temi bakterijami lahko pozdravimo z višjimi odmerki intravenskega penicilina, ki jih že sedaj uporabljamo za zdravljenje pljučnic in bakteriemij. V luči naraščajoče odpornosti bo potrebno skrbno spremljanje občutljivosti pnevmokokov in učinkovitosti zdravljenja s penicilinom še naprej. Za zmanjšanje bremena okužb moramo tudi povečati precepljenost otrok proti pnevmokomu, ki trenutno znaša le 56 %.

Ključne besede: otroci, pnevmokoki, občutljivost, penicilin

ABSTRACT

Streptococcus pneumoniae is the most common causative agent of typical pneumonia and bacteremia in children. The antibiotic of first choice for the treatment of pneumococcal

infections is penicillin or amoxicillin. In this paper, we present data on the susceptibility of invasive and non-invasive pneumococci in children in Slovenia in the period 2022–2024. We also analyzed the treatment of bacteremia and pneumonia in 516 hospitalized children during this time period at the Department of Infectious Diseases and Febrile Illness, in which pneumococcus was the most likely causative agent. In more than 90% of cases, children were treated empirically with high doses of penicillin, rarely the antibiotic had to be replaced. Also, microbiological data showed that all invasive and 98.8% of noninvasive isolates were sensitive to parenteral penicillin when treating infections other than meningitis. In 2024, we have seen an approximately 8% increase in susceptible with increased exposure (I) pneumococci. Uncomplicated infections with these bacteria can be cured with higher doses of intravenous penicillin, which we already use to treat pneumonia and bacteremia. In light of increasing resistance, careful monitoring of pneumococcal antimicrobial susceptibility and the effectiveness of penicillin treatment will continue to be necessary. To reduce the burden of infections, we also need to increase the pneumococcal vaccination rate of children, which currently stands at only 56%.

Key words: children, pneumococci, sensitivity, penicillin

UVOD

Penicilin je ozkospektralni antibiotik, ki ga v Sloveniji priporočamo za izkustveno in usmerjeno zdravljenje najpogostejših doma pridobljenih bakterijskih okužb, zaradi katerih otroci potrebujejo antibiotično zdravljenje v bolnišnici, to sta bakterijska pljučnica in bakteriemija (1, 2). Ob visoki precepljenosti proti *Haemophilus influenzae* tip B (Hib) je najpogostejši bakterijski povzročitelj doma pridobljenih pljučnic in bakteriemij pri sicer zdravih otrocih *Streptococcus pneumoniae* (2, 3).

Pnevmokoki so bili v obdobju pred covidom-19 v Sloveniji dobro občutljivi za zdravljenje z ustrezno visokimi odmerki penicilina. V praksi pre pogosto vidimo, da se otroke z doma pridobljeno pljučnico in bakteriemijo zdravi s širokospektralnimi antibiotiki, predvsem z amoksicilinom s klavulansko kislino (AMC). Odpornost proti betalaktamskim antibiotikom pri pnevmokokih se razvija zaradi sprememb penicilin vezočih beljakovin (ang. *penicillin-binding proteins*, PBP). Ker pnevmokoki ne izločajo betalaktamaz, dodajanje zaviralcev betalaktamaz nima prednosti v klinični uporabi (4, 5).

Namen prispevka je prikazati občutljivost invazivnih in neinvazivnih izolatov pnevmokokov v Sloveniji ter zdravljenje bakteriemij in bakterijskih pljučnic pri hospitaliziranih otrocih na Kliniki za infekcijske bolezni in vročinska stanja (KIBVS) v post-covidnem obdobju.

METODE

Zbiranje in obdelava kliničnih podatkov: retrospektivno smo pregledali zdravstveno dokumentacijo vseh otrok, starih od 1 meseca do 18 let, ki so bili med januarjem 2022 in decembrom 2024 hospitalizirani na otroškem oddelku KIBVS zaradi pljučnice (po MKB: J13, J14, J15.0 – J16.0, J17.0, J18.0 – J18.9) in bakteriemije (MKB klasifikacija ne kodira diagnoze bakteriemija, zato smo pregledali dokumentacijo otrok, odpuščenih z odpustnimi diagnozami A49.9, A40.3, A41.9, B96.88 in B95.3). V analizo smo nato vključili le otroke, ki so imeli

pljučnico ali prikrito bakteriemijo, pri katerih je bil najverjetnejši povzročitelj pnevmokok in je bilo indicirano izkustveno zdravljenje s penicilinom. Iz analize smo izključili pljučnice, pri katerih je bilo zaradi možnih drugih povzročiteljev indicirano zdravljenje s širše spektralnimi antibiotiki (sum na aspiracijsko pljučnico, pljučnica ob bronhiolitisu, pljučnica po gripi, empiem, viden že ob sprejemu, pljučnica pri otroku, ki ni bil cepljen proti Hib, alergija na penicilin), ter dokazane atipične pljučnice. Iz analize podatkov otrok s prikrito bakteriemijo smo izključili otroke, ki niso bili cepljeni proti Hib, saj je pri njih indicirana izkustvena antibiotična terapija z AMC (1).

Zbrali smo demografske značilnosti, laboratorijske izvide, podatke o cepljenju proti Hib, rezultate mikrobioloških preiskav ter podatke o izkustvenem parenteralnem in nato peroralnem antibiotičnem zdravljenju. Zbrane podatke smo vnašali v Excel tabelo.

Pri analizi smo upoštevali etična načela Helsinške deklaracije, Oviedske konvencije o človekovih pravicah ter Kodeksa medicinske deontologije. Podatki so bili anonimizirani, zagotovljena je bila tajnost vseh podatkov, na podlagi katerih bi bilo mogoče razpoznati identitete vključenih oseb.

Zajem mikrobioloških podatkov: iz laboratorijskega informacijskega sistema MBL (Infonet, Kranj) Inštituta za mikrobiologijo in imunologijo Medicinske fakultete Univerze v Ljubljani in Nacionalnega laboratorija za okolje, zdravje in hrano (NLZOH) smo zbrali podatke o občutljivosti pnevmokokov pri otrocih do 18. leta starosti za obdobje od 2022 do 2024. Podatke smo razdelili na invazivne (izolati iz hemokultur in likvorja) in neinvazivne izolate (po metodi spremljanja EARS-Net (angl. *European Antimicrobial Resistance Surveillance Network*)). Časovne trende občutljivosti za antibiotike po letih smo lahko določili samo za neinvazivne izolate, invazivnih izolatov je bilo premalo (skupno število bolnikov v 3-letnem obdobju je bilo 75).

Obdelava mikrobioloških podatkov: Po priporočilih Evropske komisije za ugotavljanje občutljivosti za protimikrobna zdravila (EUCAST) se za določanje odpornosti pnevmokokov proti betalaktamskim antibiotikom uporablja presejalni algoritem, ki temelji na disk difuzijski metodi (premer zaviralne cone okoli 1 µg oksacilinskega diska); druga možnost je določanje minimalne inhibitorne koncentracije (MIK) benzilpenicilina. EUCAST ima ločene razmejitvene vrednosti glede na tip okužbe – za pnevmokokni meningitis in ostale pnevmokokne okužbe – za ampicilin, parenteralni amoksicilin, cefotaksim, ceftriakson in meropenem (4). V letu 2025 je EUCAST algoritem presejalnega testiranja pnevmokokov za občutljivost za betalaktamske antibiotike sicer posodobil; podatki, ki jih prikazujemo v prispevku, so obdelani v skladu s prvotnim algoritmom (6).

Če je premer zaviralne cone okoli 1 µg oksacilinskega diska ≥ 20 mm ali MIK benzilpenicilina $\leq 0,06$ mg/L, je presejalni test negativen, kar pomeni, da je izolat občutljiv – S – za vse betalaktamske antibiotike, za katere so na voljo klinične razmejitvene vrednosti (razen cefaklor – občutljiv, povečana izpostavljenost – I) ne glede na tip okužbe. Dodatno testiranje občutljivosti posameznih betalaktamskih antibiotikov pri negativnem presejalnem testu ni potrebno, kar je v mikrobiološkem izvidu označeno z opombo pod antibiogramom.

Presejalni test za določanje odpornosti pnevmokokov proti betalaktamskim antibiotikom je pozitiven, če je premer zaviralne cone okoli 1 µg oksacilinskega diska manjši od 20 mm ali MIK benzilpenicilina višji od 0,06 mg/L. Pozitiven presejalni test kaže na prisotne me-

hanizme odpornosti proti betalaktamskim antibiotikom, zato sledimo EUCAST algoritmu. Pnevmonokni izolat s pozitivnim presejalnim testom je odporen proti fenoksimetilpenicilinu (peroralni penicilin) in v primeru meningitisa odporen (R) proti benzilpenicilinu (parenteralni penicilin). Pri pnevmokoknih okužbah, ki niso meningitis, je za opredelitev občutljivosti za benzilpenicilin (parenteralni penicilin) potrebno določiti MIK. Za ostale betalaktamske antibiotike je interpretacija ob pozitivnem presejalnem testu po algoritmu odvisna od premera zaviralne cone ali od vrednosti MIK in velja za meningitis in druge tipe okužb. Če je premer zaviralne cone okoli 1 µg oksacilinskega diska med 9 in 19 mm, lahko izolat brez specifičnega testiranja interpretiramo kot občutljiv za ampicilin, amoksicilin in piperacilin (z ali brez zaviralca betalaktamaz), cefepim, cefotaksim, ceftarolin, ceftobiprol, ceftriakson, imipenem ter meropenem; za opredelitev občutljivosti ostalih betalaktamskih antibiotikov, ki niso naštet v algoritmu, je potrebno specifično testiranje občutljivosti. Če je premer zaviralne cone okoli 1 µg oksacilinskega diska manjši od 9 mm, moramo opredeliti občutljivost posameznega betalaktamskega antibiotika in v primeru meningitisa moramo obvezno določiti MIK. Pri pnevmokoknih okužbah, ki niso meningitis, lahko občutljivost penicilinskih antibiotikov (pr. ampicilin, amoksicilin z ali brez zaviralcev betalaktamaz) opredelimo na osnovi občutljivosti ampicilina, pri cefalosporinih pa moramo za vsak posamezni antibiotik določiti MIK (4).

V osnovnem naboru za testiranje v skladu s priporočili EUCAST do vključno z letom 2024 občutljivost za betalaktamske antibiotike v slovenskih laboratorijih opredeljujemo po presejalnem algoritmu. Pri izolatih z zmanjšano občutljivostjo je občutljivost za druge betalaktamske antibiotike (pr. ampicilin, cefotaksim) vedno opredeljena pri invazivnih izolatih, pri neinvazivnih izolatih pa ne. Pri neinvazivnih izolatih zato za posamezne betalaktamske antibiotike ne moremo dokončno opredeliti občutljivosti oziroma odpornosti, ampak lahko le opredelimo, kakšen je najmanjši delež izolatov, ki je občutljiv oziroma odporen.

REZULTATI

1. Rezultati analize kliničnih podatkov

Pljučnice: V 3-letnem obdobju (2022–2024) smo pregledali dokumentacijo 745 otrok, starih od 1 meseca do 18 let, ki so bili zdravljeni na KIBVS zaradi bakterijske pljučnice.

V Tabeli 1 prikazujemo zdravljenje 334 otrok, ki so ustrezali vključitvenim kriterijem pnevmokokne pljučnice in je bilo indicirano izkustveno zdravljenje s penicilinom.

Tabela 1. Antibiotično zdravljenje suspektnih pnevmokoknih pljučnic (tipična pljučnica pri otrocih, cepljenih proti Hib) pri otrocih, starih od 1 meseca do 18 let po letih.

Leto hospitalizacije, število bolnikov	Izkustveno parenteralno zdravljenje		Menjava parenteralnega AB	Nadaljevanje peroralnega zdravljenja			
	Antibiotik	Število in delež bolnikov	Število in delež bolnikov	PEN V	AMO	AMC	DRUGO
2022 N = 91							
	PEN G	83 (91,2 %)	11 (13 %) (CTX 3, AMC 8 → 5x nato nazaj v PEN G po prejetju mikrobioloških preiskav)	77	3	1	CTR 2, 1 dokončal iv. zdravljenje v bolnišnici s PEN
	AMC	8 (8,8 %)	/	0	0	7	1 dokončal iv. zdravljenje v bolnišnici
2023 N = 101				PEN V	AMO	AMC	DRUGO
	PEN G	97 (96,0 %)	6 (6 %) (AMC 5, CTX 1)	76	15	6	0
	AMC	4 (6,4 %)	/	0	0	4	
2024 N = 142				PEN	AMO	AMC	DRUGO
	PEN G	138 (97,2 %)	6 (4 %) (CLI 1, AMC 3, CTX 1, CTR + MET 1)	120	11	3	0
	AMC	4 (2,8 %)	/	0	0	4	0

Legenda: PEN G – kristalni penicilin, AMC – amoksicilin s klavulansko kislino, CTX – cefotaksim, CTR – ceftriakson, CLI – klindamicin, MET – metronidazol, AMO – amoksicilin, PEN V – penicilin, N – št. bolnikov

Antibiotično zdravljenje s penicilinom smo večinoma zamenjali za širšespektralne antibiotike zaradi zapletov, kot so plevralni izliv, empiem ali nekrozantna pljučnica. V petih primerih smo antibiotik po prejemu pozitivnega molekularnega testa na pnevmokoka iz plevralne tekočine zamenjali nazaj za penicilin. Dvakrat je bil iz plevralne tekočine osamljen *H. influenzae*. Zaradi anafilaktične reakcije na penicilin smo enkrat le-tega zamenjali za klindamicin.

Bakteriemije: V 3-letnem obdobju (2022–2024) smo na KIBVS hospitalizirali 196 otrok, starih od 1 meseca do 18 let, s sumom na prikrito bakteriemijo. V končno analizo smo vključili 182 bolnikov, ki so ustrezali vključitvenim kriterijem pnevmokokne bakteriemije in je bilo indicirano izkustveno zdravljenje s penicilinom. Iz analize smo izključili otroke, ki niso bili cepljeni proti Hib, saj je pri njih indicirana izkustvena antibiotična terapija z AMC (1).

V letu 2022 smo *S. pneumoniae* iz krvi osamili v 4 primerih, v letu 2023 v 2 primerih, leta 2024 je bila hemokultura pozitivna pri 4 bolnikih. Vsi, razen enega izolata leta 2024, so bili dobro občutljivi za penicilin. Antibiotično zdravljenje bakteriemij prikazuje Tabela 3.

Tabela 3. Antibiotično zdravljenje bakterijemij pri otrocih, starih od 1 meseca do 18 let, cepljenih proti Hib, po letih.

Izkustveno parenteralno zdravljenje		Menjava parenteralnega zdravljenja	Nadaljevanje peroralnega zdravljenja			
Leto 2022, N = 61						
Antibiotik	Število in delež bolnikov	Antibiotik	PEN V	AMO	AMC	DRUGO
PEN G	57 (93,4 %)	AMC 1	53	1	2	1 dokončal iv. zdravljenje v bolnišnici
AMC	3 (4,9 %)	PEN G 1	1	0	2	0
DRUGO: 1 x CRX (alergija na penicilin)						
Leto 2023, N = 47						
Antibiotik	Število in delež bolnikov	Antibiotik	PEN V	AMO	AMC	DRUGO
PEN G	44 (93,6 %)	AMC 1	40	3	1	0
AMC	3 (6,4 %)	0	0	0	3	0
DRUGO: 1x CTX (do negativne lumbalne punkcije), nato PEN G						
Leto 2024, N = 74						
Antibiotik	Število in delež bolnikov	Antibiotik	PEN V	AMO	AMC	DRUGO
PEN G	71 (95,9 %)	AMC 1 CTX 1 (pnevmokok I za penicilin -MIK 0,5)	63	7	1	0
AMC	2 (2,7 %)		0	0	2	0
DRUGO: 1x CTX (do negativnega izvida lumbalne punkcije), nato AMC						

Legenda: KP – kristalni penicilin, AMC – amoksicilin s klavulansko kislino, CRX – cefuroksim, CTX – cefotaksim, AMO – amoksicilin, PEN – penicilin, N-št. bolnikov

Kristalni penicilin smo pri treh otrocih zamenjali za AMC zaradi vztrajanja vročine. V letu 2024 smo zaradi osamljenega *S. pneumoniae*, ki je bil občutljiv za penicilin ob povečani izpostavljenosti (I) enkrat zamenjali za cefotaksim, ker je bil otrok po 4 odmerkih penicilina še febrilen, vročina je izzzvenela 24 ur po uvedbi cefotaksima.

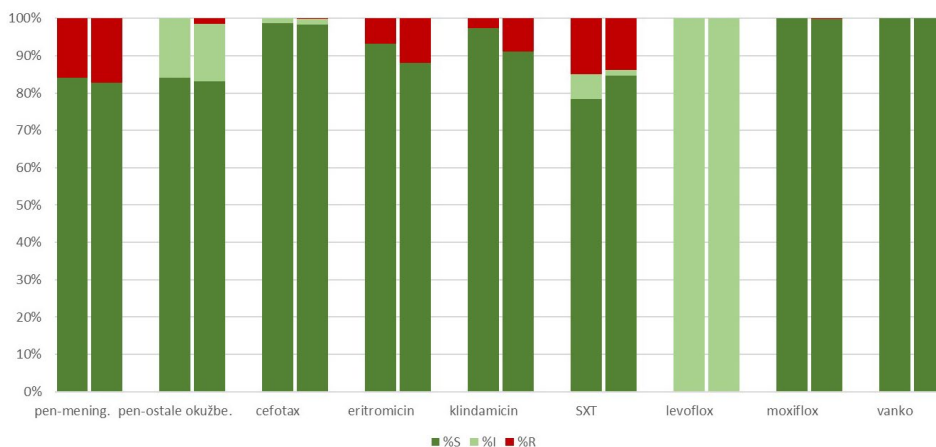
2. Mikrobiološki rezultati

V obdobju 3 let (2022–2024) je bilo med skupno 75 invazivnimi izolati 84 % izolatov občutljivih za penicilin po meningealnem kriteriju. Po razmejitenih vrednostih za pnevmokokne okužbe, ki niso meningitis, so bili vsi izolati občutljivi za penicilin (parenteralni penicilin), od tega S 84,0 % in I 16,0 %; odpornih izolatov ni bilo. Vsi izolati so bili občutljivi za cefotaksim, od tega S 98,7 % in I 1,3 % (Slika 1). Za amipicilin iz podatkov ni možno dokončno opredeliti deleža občutljivosti, saj so za posamezne izolate podatki pomanjkljivi; občutljivih je bilo najmanj 94,6 % izolatov (od tega S 93,3 % in I 1,3 %).

Po razmejitenih vrednostih za pnevmokokne okužbe, ki niso meningitis, je bilo med skupno 725 neinvazivnimi izolati 98,8 % izolatov občutljivih za penicilin (parenteralni penicilin),

od tega S 83,5 % in I 15,3 %; 1,2 % izolatov je bilo odpornih proti penicilinu. Za ampicilin iz podatkov ni možno dokončno opredeliti deleža občutljivosti, saj so bili za del izolatov (9,1 %) podatki pomanjkljivi; občutljivih je bilo najmanj 90,1 % (od tega S 89,4 %, I 0,7 %), najmanj 0,8 % jih je bilo odpornih. Podobno velja za amoksisilin (občutljivih je bilo najmanj 88,4 % od vseh izolatov; za 11,6 % izolatov so bili podatki pomanjkljivi) in parenteralni cefuroksim (občutljivih je bilo najmanj 89,7 % (od tega S 89,0 %, I 0,7 %), najmanj 4,7 % jih je bilo odpornih; za 5,7 % izolatov so bili podatki pomanjkljivi).

Slika 1. Primerjava med občutljivostjo invazivnih in neinvazivnih izolatov *S. pneumoniae* pri otrocih do 18 leta starosti za posamezni antibiotik. Levi stolpci prikazujejo občutljivost invazivnih izolatov, desni stolpci pa občutljivost neinvazivnih izolatov.



Legenda: pen – penicilin, cefotax – cefotaksim, SXT – trimetoprim s sulfametoksazolom, levoflox – levofloksacin, moxiflox – moksifloksacin, vanko – vankomicin, % S – delež za antibiotik občutljivih izolatov, I delež izolatov, občutljivih ob povečani izpostavljenosti antibiotiku, % R delež proti antibiotiku odpornih izolatov

Občutljivost neinvazivnih izolatov smo analizirali tudi po letih. Za penicilin po meningealnem kriteriju in za fenoksimetilpenicilin (peroralni penicilin) je bilo leta 2022 občutljivih 85,1 %, leta 2023 87,9 %, leta 2024 pa 77,7 %. Za penicilin (parenteralni penicilin) je bilo po kriterijih za pnevmokokne okužbe, ki niso meningitis, leta 2022 občutljivih 98,9 % (S 87,0 %, I 12 %), leta 2023 100 % (S 88,3 %, I 11,7 %), leta 2024 pa 97,7 % (S 78,0 %, I 19,7 %). Za makrolide je bilo leta 2022 občutljivih 91,0 %, leta 2023 90,1 %, leta 2024 pa 85 %. Za respiratorne fluorokinolone se je občutljivost gibala med 99,5 % do 100 %.

RAZPRAVLJANJE

Kljub uvedbi konjugiranih pnevmokoknih cepiv, ostaja *S. pneumoniae* najpogostejši povzročitelj tipičnih bakterijskih pljučnic in bakteriemij pri otrocih, pa tudi drugih pogostih okužb pri otrocih, kot je vnetje srednjega ušesa in sinusitis (1, 3). V Sloveniji je antibiotik izbire za zdravljenje teh okužb penicilin ali amoksisilin (1). V praksi pogosto vidavamo, da so ti otroci zdravljeni s širšespektralnimi antibiotiki, največkrat z AMC, ki nima prednosti pri zdravljenju pnevmokoknih okužb, saj mehanizem odpornosti pri pnevmokokih ni izločanje laktamaz beta, pač pa spremembe v PBP (4, 5).

Glede na zadnje podatke EARS-Neta iz leta 2022 iz 12 evropskih držav je bilo 12,8 % osamljenih invazivnih pnevmokokov odpornih proti penicilinu (7). V ameriški raziskavi so ugotavljali še višjo stopnjo odpornosti proti penicilinu, predvsem pri neinvazivnih sevih, ko je odpornost v letih med 2011 do 2020 dosegla 43 % (8).

V tokratni analizi podatkov, ki je zajela invazivne in neinvazivne pnevmokokne seve v post-covidnem obdobju v Sloveniji pri otrocih, starih od 0–18 let, smo ugotovili, da je občutljivost za priporočene odmerke penicilina in amoksicilina, ki jih uporabljamo pri otrocih za suspektne pnevmokokne okužbe, še vedno zelo visoka. Vsi invazivni sevi in 98,8 % neinvazivnih sevov je bilo občutljivih za visoke odmerke intravenskega penicilina, ki jih uporabljamo za zdravljenje pljučnic in bakteriemij (1). Za amoksicilin je bilo občutljivih najmanj 88,4 % izolatov, ostali izolati pa niso bili testirani.

Glede na ugotovitve Heffelfinger s sodelavci leta 2000 so za zdravljenje pljučnic, ki so jih povzročali pnevmokoki z MIK-om do 2 mg/L (oz. celo do 4 mg/L), ustrezni odmerki intravenskega penicilina od 100.000–300.000 IE/kg/dan:4 oziroma standardni odmerki amoksicilina (45 mg/kg/dan:3) (9). Klinične izkušnje na naši kliniki v treh letih po covid-u so pokazale, da smo večino tipičnih, doma pridobljenih pljučnic pri otrocih, cepljenih proti Hib, uspešno pozdravili z nekaj odmerki intravenskega in z nadaljevanjem peroralnega penicilina v priporočenem, visokem odmerku, to je 200.000 IE/kg/dan:4 (1). Pri otrocih, težjih od 50 kg, smo za dokončanje zdravljenja večinoma uporabljali peroralni amoksicilin, ker so presegali maksimalne odmerke peroralnega penicilina.

V primeru neustreznega kliničnega odziva na začetne odmerke intravenskega penicilina ali pridruženega plevralnega izliva običajno sprva povišamo odmerek penicilina na 250.000–300.000 IU/kg/dan:4 (neprikazani podatki). EUCAST odmerki za otroke glede na različne MIK-e so v pripravi (10).

Klinično smo neuspeh penicilina pri pljučnicah ugotavljali pri 7 % otrok, najmanj v letu 2024. Od tega smo samo v 1,8 % zamenjali penicilin za cefotaksim, ker smo menili, da bi lahko šlo za slabše občutljiv pnevmokok ob nekrozantni pljučnici z empiemom. V ostalih primerih smo penicilin zamenjali z AMC, večinoma zaradi vztrajanja vročine ali pojava plevralnega izliva/empiema. Če je bil iz izliva/empiema nato osamljen ali pa samo z molekularno metodo dokazan pnevmokok, smo praviloma AMC ponovno zamenjali s penicilinom, vendar smo uvedli višje odmerke (od 300.000–350.000 IU/kg/dan:4). Dvakrat smo penicilin zamenjali z AMC zaradi osamljenega *H. influenzae* iz plevralne tekočine, dvakrat pa zaradi aspiracijske pljučnice.

V več kot 93 % primerov smo tudi bakteriemije pri otrocih izkustveno zdravili v skladu s trenutno priporočenimi smernicami, z visokimi odmerki intravenskega penicilina. Samo v treh primerih smo zaradi vztrajanja vročine penicilin zamenjali z AMC. Pri enem otroku smo penicilin po štirih odmerkih zamenjali za cefotaksim, ker je bila javljena odpornost proti penicilinu in je bil otrok še febrilen. Naslednji dan se je izkazalo, da je bil pnevmokok občutljiv za penicilin ob povečani izpostavljenosti (I), vendar smo nadaljevali zdravljenje s cefotaksimom, čeprav običajno v takih primerih zvišamo odmerek penicilina.

Približno 5 % pljučnic in približno 4 % bakteriemij nismo pričeli izkustveno zdraviti s penicilinom, kljub temu da je bil glede na cepilni status otroka najverjetnejši povzročitelj pnevmokok. Pri pljučnicah je bil vzrok za to skoraj vedno plevralni izliv, kar ne opravičuje naše odločitve. Pri sumu na bakteriemijo smo se za izkustveno zdravljenje z AMC največkrat odločili zaradi visokega CRP in normalnih vrednosti levkocitov, ki niso tako značilni za pnevmokokno okužbo (11) ali pa zato, ker so bili otroci samo 1-krat cepljeni proti Hib. Enkrat smo po dveh odmerkih AMC zamenjali s KP. Smo pa s penicilinom zaradi levkocitoze nad 20.000/mm³, ki je značilna za pnevmokokno okužbo, pozdravili tudi 2 otroke, ki predhodno nista bila cepljena proti Hib (11).

ZAKLJUČEK

Spremljanje odpornosti bakterij proti antibiotikom je ena od ključnih aktivnosti za pripravo priporočil za izkustveno zdravljenje, spremljanje njihove ustreznosti kot tudi za oblikovanje ustreznih strategij za upočasnitev naraščanja odpornosti bakterij proti antibiotikom (12). Tako mikrobiološki podatki kot klinične izkušnje pri otrocih v zadnjih treh letih kažejo, da je penicilin še vedno učinkovit antibiotik za zdravljenje pljučnic in bakteriemij pri otrocih v Sloveniji, pri katerih je najverjetnejši povzročitelj pnevmokok (tipična pljučnica ali okultna bakteriemija pri otrocih, ki so cepljeni proti Hib).

V letu 2024 opažamo porast deleža pnevmokokov, ki so občutljivi za penicilin ob povečani izpostavljenosti (I), zato je potrebno skrbno spremljanje in letno poročanje o občutljivosti. Nezapletene okužbe s takimi pnevmokoki (razen meningitisa) lahko pozdravimo z visokimi odmerki penicilina. Prizadevati si moramo tudi za višjo precepljenost otrok proti pnevmokoku, ki je bila v letu 2024 le 56 % (13).

LITERATURA

1. Quiba-Simple Guide to Antimicrobials. Aplikacija za smotrno predpisovanje protimikrobnih zdravil za zdravstvene delavce. [Citirano 2025 Maj 3]; Dostopno na: <https://www.quibaguide.com/Identity/Account/Login?returnUrl=%2F>
2. Meyer Sauter PM. Childhood community-acquired pneumonia. Eur J Pediatr. 2023 Dec 19;183(3):1129–36.
3. Berg AS, Inchley CS, Aase A, Fjaerli HO, Bull R, Aaberge I, et al. Etiology of Pneumonia in a Pediatric Population with High Pneumococcal Vaccine Coverage. Pediatric Infectious Disease Journal. 2016 Mar;35(3):e69–75.
4. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Verzija 14.0, 2024. [cited 2025 May 3]; Dostopno na: https://www.eucast.org/ast_of_bacteria/previous_versions_of_documents
5. Mueller Premru M PM. Antibiotiki in kemoterapevtiki ter mehanizmi odpornosti bakterij proti antibiotikom. Petrovec I, editor. Vol. 9. Ljubljana: Medicinska fakulteta, Institut za mikrobiologijo in imunologijo, Katedra za mikrobiologijo in imunologijo; 2020. 64–74 p.
6. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Verzija 15.0, 2025. [Internet]. [cited 2025 May 3]. Dostopno na: https://www.eucast.org/clinical_breakpoints
7. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Invasive pneumococcal disease - Annual Epidemiological Report for 2022. [cited 2025 May 4]; Dostopno na: https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/PNEU_AER_2022_Report.pdf
8. Mohanty S, Feemster K, Yu KC, Watts JA, Gupta V. Trends in Streptococcus pneumoniae Antimicrobial Resistance in US Children: A Multicenter Evaluation. Open Forum Infect Dis. 2023 Mar 3;10(3).
9. Heffelfinger JD, Dowell SE, Jorgensen JH, Klugman KP, Mabry LR, et al. Management of community-acquired pneumonia in the era of pneumococcal resistance: a report from the Drug-Resistant Streptococcus pneumoniae Therapeutic Working Group. Arch Intern Med 2000;160 (10):1399–408.
10. Clinical breakpoints – breakpoints and guidance. Dostopno na: [Doses_v_15.0_Breakpoint_Tables.pdf](#)
11. Manor J, Wiener-Well Y, Ganzel C. Pneumococcal infection is associated with relatively marked peripheral blood leukocytosis. J Infect. 2016;72(6):756–759.
12. World Health Organization. WHO: Global action plan on antimicrobial resistance. [Internet]. WHO 2015. Dostopno na: <http://www.who.int/antimicrobial-resistance/global-action-plan/en/>
13. Nacionalni inštitut za javno zdravje. NIJZ. Precepljenost predšolskih otrok v Sloveniji v letu 2024 PRELIMINARNI PODATKI. Dosegljivo na: Obvezniki so osebe, rojene v določenem časovnem obdobju, na določenem območju

ALI BOMO SČASOMA LAHKO UPOČASNILI RAZVOJ PNEVMOKOKNIH CEPIV?

WILL IT EVER BE POSSIBLE TO SLOW DOWN THE DEVELOPEMENT OF PNEUMOCOCCAL VACCINES?

Mojca Rožič^{1, 2}, Tamara Kastrin^{3}, Mojca Kozinc¹, Marko Pokorn^{1, 4, 5}*

¹*Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja, UKC Ljubljana*

²*Katedra za infekcijske bolezni in epidemiologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani*

³*Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Ljubljana*

⁴*Pediatrična klinika, UKC Ljubljana*

⁵*Katedra za pediatrijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani*

**Slovenska skupina za invazivno pnevmokokno bolezen*

*(Ivana Velimirovič, Maja Bombek Ihan, Marica Lugovski, Helena Ribič, Irena Grmek Košnik,
Anamarija Jurišević Dodič, Iztok Štrumbelj, Irena Piltaver Vajdec,
Dane Lužnik, Tanja Stojoska Shurbanovska)*

IZVLEČEK

Pnevmokokne okužbe preprečujemo s 23-valentnim pnevmokoknim polisaharidnim cepivom (PPV23) in pnevmokoknimi konjugiranimi cepivi (PCV), ki sedaj vsebujejo do 21-serotipov (PCV21). Čeprav je skupno breme pnevmokoknih bolezni upadlo, pa je uvedba PCV povzročila zamenjavo serotipov z necepilnimi serotipi. Tako je nujno epidemiološko in molekularno epidemiološko spremljanje invazivne pnevmokokne bolezni (IPB).

Pojavnost IPB v Sloveniji je v letu 2015 dosegla najvišjo vrednost 16,1/100.000 in istega leta smo v Sloveniji v program cepljenja uvedli neobvezno cepljenje s PCV10. Nato je sledilo upadanje in spremenila se je sestava serotipov v populaciji. V letu 2022 je bila v Evropski uniji incidenca prijavljene IPB 5,1/100.000, največ pri dojenčkih (13,4 primerov/100.000) in pri starejših od 65 let (12,6 primerov/100.000). Najpogostejši serotipi so bili 3, 8, 19A, 22F, 6C, 23B, 9N, 4, 23A, 11A in 15A, ki so predstavljali 73,9 % tipiziranih izolatov.

Nadaljnji razvoj pnevmokoknih cepiv je izredno pomemben. V razvoju so večvalentna PCV in cepiva, ki temeljijo na pnevmokoknih beljakovinah, in tudi kombinacije cepiv PCV z beljakovinskimi cepivi, pa tudi cepiva, ki vsebujejo serospecifične polisaharide ter med serotipi ohranjene beljakovine. Ob razvoju je potrebno upoštevati navzkrižno reaktivnost posameznih serotipov in smotrno je načrtovati sočasno rabo PCV pri otrocih in odraslih, ki vsebujejo druge serotipe.

Za obvladovanje IPB je vsekakor potrebno poskrbeti za dobro precepljenost tako otrok kot odraslih z obstoječimi cepivi.

Ključne besede: pnevmokokna cepiva, molekularna epidemiologija pnevmokokov, pnevmokokna cepiva v razvoju

ABSTRACT

Pneumococcal infections are prevented with the 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine (PPV23) and pneumococcal conjugate vaccines (PCV), which now contain up to 21 serotypes (PCV21). Although the overall burden of pneumococcal disease has decreased, the introduction of PCV has led to the replacement of serotypes with non-vaccine serotypes. Thus, epidemiological and molecular epidemiological monitoring of invasive pneumococcal disease (IPD) is essential.

The incidence of IPD in Slovenia reached its highest value of 16.1/100,000 in 2015, and in the same year, non-mandatory vaccination with PCV10 was introduced into the vaccination program in Slovenia. This was followed by a decline and the composition of serotypes in the population changed. In 2022, the incidence of reported IPD in the European Union was 5.1/100,000, most commonly in infants (13.4 cases/100,000) and in those over 65 years of age (12.6 cases/100,000). The most common serotypes were 3, 8, 19A, 22F, 6C, 23B, 9N, 4, 23A, 11A and 15A, accounting for 73.9 % of typed isolates.

The further development of pneumococcal vaccines is of utmost importance. Multivalent PCV and vaccines based on pneumococcal proteins, as well as combinations of PCV with protein vaccines, as well as vaccines containing serospecific polysaccharides and proteins conserved between serotypes, are under development. During development, it is necessary to take into account the cross-reactivity of individual serotypes and it is advisable to plan the simultaneous use of PCV in children and adults containing other serotypes.

To control IPD, it is definitely necessary to ensure good vaccination coverage of both children and adults with existing vaccines.

Keywords: pneumococcal vaccines, pneumococcal molecular epidemiology, development of pneumococcal vaccines

UVOD

Okužbe s pnevmokoki preprečujemo z rabo pnevmokoknega polisaharidnega cepiva (PPV) in z rabo konjugiranih pnevmokoknih cepiv (angl. *pneumococcal conjugate vaccine*, PCV). S PCV, ki jih uporabljamo in razvijamo že več kot 20 let, smo krepko posegli v epidemiologijo pnevmokoknih okužb. Z rabo prvih PCV (PCV7, PCV10, PCV13) smo do l. 2019 znatno znižali pojavnost invazivnih pnevmokoknih bolezni (IPB), povzročenih s cepilnimi serotipi. Ta pojavnost se je pri otrocih znižala za 98 % in pri odraslih za 87 %. Z rabo PCV se je zmanjšala tudi pojavnost neinvazivnih okužb, koloniziranost nosno-žrelnega prostora s pnevmokoki in s tem prenos med posamezniki, ter sprva tudi odpornost na antibiotike, saj so zgoraj omenjena PCV vključevala serotipe, ki so bili bolj odporni (1–4). Zaradi rabe cepiva se je posledično povečala pojavnost okužb, povzročenih z necepilnimi serotipi, kar je vodilo v razvoj novih PCV, ki sedaj vključujejo že do 21 serotipov (2, 4, 5).

Ker raba pnevmokoknih cepiv močno posega v epidemiologijo pnevmokoknih okužb, je namen prispevka osvetliti pomen nadaljnega razvoja pnevmokoknih cepiv skozi pregled dosedanje in trenutne rabe pnevmokoknih cepiv ter skozi prikaz molekularne epidemiologije v svetu in v Sloveniji.

CEPIVA PROTI PNEVMOKOKNIM OKUŽBAM

Cepiva proti pnevmokoknim okužbam v svetu

Prvo, 14-valentno polisaharidno cepivo je bilo v Združenih državah Amerike registrirano leta 1977. Leta 1983 ga je zamenjalo 23-valentno polisaharidno cepivo (PPV23). Prvo PCV, 7-valentno (PCV7), je bilo registrirano leta 2000, v Evropi leto kasneje. Leta 2010 ga je povsod zamenjalo 10-valentno PCV (PCV10), kmalu za tem pa je bilo s strani Evropske agencije za zdravila (EMA) registrirano tudi 13-valentno PCV (PCV13). Konec leta 2021 je bilo v Evropi registrirano 15-valentno PCV (PCV15), februarja 2022 20-valentno PCV (PCV20), konec marca 2025 pa za rabo pri strejših od 18 let tudi 21-valentno PCV (PCV21) (5–7). Vsebnost serotipov v posameznih pnevmokoknih cepivih prikazuje Tabela 1.

Cepiva proti pnevmokoknim okužbam v Sloveniji

Cepljenje proti pnevmokoknim okužbam je v Sloveniji na voljo od leta 1995. Sprva je bilo na voljo le PPV23, ki je od leta 2022 tudi v programu cepljenja za odrasle, stare 65 let in več, ter za osebe z zdravstvenimi indikacijami, ki so opredeljene kasneje v našem članku. Leta 2002 smo registrirali prvo PCV, PCV7. Od leta 2009 sta v Sloveniji registrirani tudi cepivi PCV10 in PCV13. V nacionalni program cepljenja otrok je bilo cepljenje proti pnevmokoknim okužbam vključeno z letom 2015, ko smo pričeli cepiti otroke s PCV10. Leta 2019 smo prešli na uporabo PCV13. Od decembra 2024 imamo za cepljenje otrok v Sloveniji na voljo tudi PCV20 (8, 9). In zadnja novost je 21-valentno PCV (PCV21), ki ga je EMA odobrila konec marca letos za osebe, starejše od 18 let (5). Tabela 2 prikazuje pnevmokokna cepiva registrirana v Sloveniji.

Tabela 2. Cepiva proti pnevmokokom, ki so registrirana v Sloveniji (8).

Ime cepiva (proizvajalec)	Tip cepiva	Leto registracije	Leto uvedbe v program cepljenja
Pneumovax 23® (MSD)	PPV23	2019	2022
Prevenar® (Pfizer)	PCV7	2002	
Synflorix® (GSK)	PCV10	2009	2015
Prevenar 13® (Pfizer)	PCV13	2009	2019
Vaxneuvance® (Merck)	PCV15	2022	
Prevenar 20® (Pfizer)	PCV20	2022	december 2024
Capvaxive® (MSD)	PCV 21	2025	

Legenda: PCV – pnevmokokno konjugirano cepivo, PPV – pnevmokokno polisaharidno cepivo.

CEPLJENJE S CEPIVI PROTI PNEVMOKOKNIM OKUŽBAM V SLOVENIJI

Cepljenje s pnevmokoknimi konjugiranimi cepivi

Od decembra 2024 imamo za cepljenje otrok, starejših od 6 tednov, na voljo PCV20 (10). Priporočljiva shema cepljenja je navedena v Tabeli 3. Če se s cepljenjem prične pred 12. mesecem starosti, je potreben vsaj 4-tedenski razmik med posameznimi odmerki cepiva; v kolikor se s cepljenjem prične po 12. mesecu starosti, pa je potreben vsaj 8-tedenski razmik (11).

Tabela 1. Serotipi v cepivih proti pnevmokoknim okužbam v Evropi (8).

CEPIVO	SEROTIPI	1	2	3	4	5	6A	6B	7F	8	9N	9V	10A	11A	12F	14	15A	15B	16F	17F	18C	19A	19F	20	22F	23A	23B	23F	24F	31	33F	35B
PPV 23																																
PCV 7				4			6B					9V				14					18C		19F					23F				
PCV 10	1			4	5		6B	7F				9V				14					18C		19F					23F				
PCV 13	1			3	4	5	6A	6B	7F			9V				14					18C	19A	19F					23F				
PCV 20	1			3	4	5	6A	6B	7F	8		9V	10A	11A	12F	14	15B				18C	19A	19F		22F			23F			33F	
PCV 15	1			3	4	5	6A	6B	7F			9V				14					18C	19A	19F		22F			23F			33F	
PCV 21				3			6A	7F	8	9N		10A	11A	12F			15A	15B	16F	17F		19A		20A	22F	23A	23B		24F	31	33F	

Legenda: PPV – prevmokokno polisaharidno cepivo, PCV – prevmokokno konjugirano cepivo

Tabela 3. Shema cepljenja otrok s PCV20 (11).

Starost ob pričetku (mesece)	Osnovno cepljenje	Poživitveni odmerek [#]
3–6 ⁺	3 odmerki [*]	1 odmerek v starosti 11–18 mesecev
7–11	2 odmerka [*]	1 odmerek v 2. letu starosti
12–23	2 odmerka [*]	0
24–59	1 odmerek	0

Legenda: ⁺ – s cepljenjem se lahko prične po 6. tednu starosti, ^{*} – najmanj 4-tedenski presledek, ^{*} – najmanj 8-tedenski presledek, [#] – najmanj 8-tedenski presledek po osnovnem cepljenju

Za otroke, ki so bili predhodno cepljeni z enim ali dvema odmerkoma PCV13, Nacionalni inštitut za javno zdravje (NIJZ) priporoča nadaljevanje cepljenja po shemi, ki je navedena v Tabeli 4. V primeru, da PCV13 ni na voljo, se priporoča, da se otroke, ki so bili cepljeni z 1 odmerkom PCV13, cepi po shemi 3 + 1. Za otroke, ki so prejeli 2 odmerka PCV13, pa NIJZ priporoča le še en poživitveni odmerek v starosti 11–18 mesecev (11).

Tabela 4. Shema cepljenja s PCV 13 (12).

Starost ob pričetku (mesece)	Osnovno cepljenje	Poživitveni odmerek
3–11 ⁺	2 odmerka [*]	1 odmerek v starosti 11–18 mes [*]
12–23	2 odmerka [*]	0
24–59	1 odmerek	0

Legenda: ⁺ – s cepljenjem se lahko prične po 6. tednu starosti, ^{*} – najmanj 2 mesečni presledek, ^{*} – najmanj 2 mesečni presledek po zadnjem odmerku

Cepljenje s polisaharidnim pnevmokoknim cepivom

Cepljenje s PPV je priporočeno za vse starejše od 65 let in za otroke po drugem letu starosti ter za odrasle s kroničnimi boleznimi (kronične bolezni obtočil, dihal, sečil, maligna obolenja, nekatere bolezni krvi in krvotvornih organov, bolezni in stanja z oslabljenim imunskim odzivom), anatomsko ali funkcionalno asplenijo, polževim vsadkom ali s sumom na likvorfistulo. Osebam s stanji, ki slabijo imunski odziv, se priporoča enkratna revakcinacija vsaj 5 let po prvem cepljenju (13).

MOLEKULARNA EPIDEMIOLOGIJA PNEVMOKOKNIH OKUŽB V SVETU

Polisaharidna kapsula je eden od najpomembnejših virulentnih dejavnikov bakterije *S. pneumoniae* in na podlagi le-te razvrščamo pnevmokoke na trenutno poznanih 100 serotipov (14). Čeprav obstajajo razlike v geografski porazdelitvi serotipov, je 20 do 25 prevladujočih serotipov odgovornih za približno 90 % primerov IPB (15, 16). Uvedba PCV je pomenila mejnik v boju proti IPB. Ta cepiva, ki ciljajo na določeno število najbolj pogostih oziroma pomembnih serotipov pnevmokokov, so močno zmanjšala pojavnost pnevmokokne bolezni, tako IPB kot tudi neinvazivne, zlasti pri otrocih in drugih ranljivih skupinah (17, 18). Ta učinek je bil še posebej opazen v državah z visoko precepljenostjo, kot so Združene države Amerike, nekatere evropske države in Avstralija (19). Po podatkih Centra za nadzor in preprečevanje bolezni (CDC), je pojavnost IPB pri otrocih, mlajših od 5 let, od leta 1998 do 2021 padla za 95 %. Padec pojavnosti IPB so zaznali tudi v populaciji odraslih kot posledico tako imenovane kolektivne imunosti (20).

Čeprav je skupno breme pnevmokoknih bolezni upadlo, pa je uvedba PCV povzročila zamenjavo serotipov, v večjem deležu so se začeli pojavljati necepilni serotipi (21). Lochen in sodelavci so v svoji raziskavi izvedli analizo trendov, v kateri so zbrali razpoložljive dokaze o vplivu uvedbe PCV v programe cepljenj na pojavnost IPB na Finskem, v Franciji, na Norveškem, v Severni Ameriki in Avstraliji. Dokazali so učinkovitost cepiv proti cepilnim serotipom v populaciji otrok, medtem ko je vpliv na celotno pojavnost IPB variiral, predvsem zaradi zamenjave serotipov. Trenutno se v omenjenih državah povečuje število necepilnih serotipov, zlasti serotipov 8, 9N, 15A in 23B, čeprav se pojavljajo tudi drugi necepilni serotipi, ki variirajo po posameznih državah in starostnih skupinah. Kljub pojavljanju novih serotipov niso zaznali prevladujočega serotipa IPB, kot je bil pred cepljenjem prevladujoč serotip 14 in po uvedbi PCV7 v Združenih državah Amerike serotip 19A. To nakazuje, da bodo bodoča cepiva z dodatnimi serotipi manj učinkovita pri ciljanju krožečih serotipov in zmanjševanju IPB od prejšnjih PCV. Povečano pojavljanje različnih necepilnih serotipov poudarja nujno potrebo po podatkih in nacionalnem spremljanju IPB (21).

Po poročilu Evropskega centra za nadzor in preprečevanje bolezni (ECDC) za leto 2022, je bila v Evropski uniji na podlagi prijavljenih potrjenih primerov incidenca IPB 5,1 na 100.000. Največ dokazanih primerov je bilo pri dojenčkih, mlajših od enega leta (13,4 primerov/100.000), in starejših od 65 let (12,6 primerov/100.000). Najpogostejši serotipi so bili 3, 8, 19A, 22F, 6C, 23B, 9N, 4, 23A, 11A in 15A, ki so predstavljali 73,9 % tipiziranih izolatov. V skupini mlajših od pet let je bilo 46 % primerov, povzročenih s serotipi, ki so v PCV13. V skupini 65 let in več je bilo 71 % primerov, povzročenih s serotipi, ki so v PPV23, in 41 % primerov, povzročenih s serotipi, ki so v PCV13 (22).

NACIONALNO SPREMLJANJE INVAZIVNIH PNEVMOKOKNIH BOLEZNI V SLOVENIJI

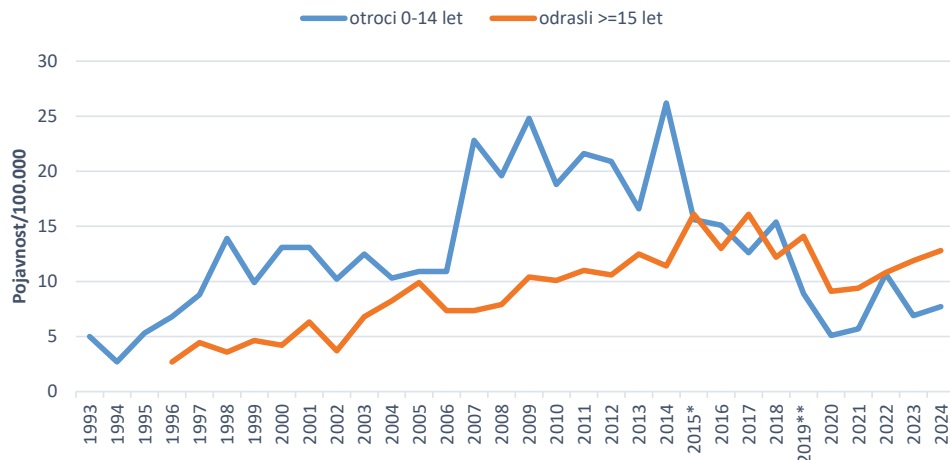
Na Oddelku za javnozdravstveno mikrobiologijo Nacionalnega laboratorijskega centra za zdravje, okolje in hrano (NLZOH) od leta 1993 poteka nacionalni projekt Epidemiologija invazivnih obolenj, povzročenih s *Haemophilus influenzae*, z *Neisseria meningitidis* in s *Streptococcus pneumoniae* pri otrocih v Sloveniji. Projekt so leta 1996 razširili še na odrasle bolnike. V okviru tega projekta pošiljajo vsi medicinski mikrobiološki laboratoriji NLZOH (Maribor, Celje, Kranj, Novo mesto, Nova Gorica, Murska Sobota, Koper), Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo Medicinske fakultete v Ljubljani, Splošna bolnišnica Šempeter, Splošna bolnišnica Slovenj Gradec in Bolnišnica Golnik laboratoriju vse invazivne izolate omenjenih treh bakterij, ki jih osamijo iz primarno sterilnih vzorcev, večinoma iz hemokulture in likvorja. Tako zbrani podatki so reprezentativni za celotno državo, nacionalna zbirka izolatov pa omogoča kakovosten vpogled in proučevanje značilnosti teh mikrobov.

Leta 2015 smo v Sloveniji v nacionalni program cepljenja uvedli neobvezno cepljenje s PCV10 in ga leta 2019 zamenjali s PCV13. Precepljenost otrok je od začetka uvedbe v letu 2015 od 48,8 % narasla na 69,7 % v letu 2020. V letu 2023 je odstotek precepljenih otrok znašal 57,9 % (23).

Pojavnost IPB v Sloveniji je naraščala vse od začetka spremljanja in dosegla najvišjo vrednost 16,1/100.000 v letu 2015. Takrat smo v Sloveniji uvedli cepljenje in nato je sledilo upadanje pojavnosti, ki je leta 2023 znašala 11,1/100.000 populacije. V letu 2020 in 2021 smo beležili najnižje vrednosti pojavnosti IPB, kar je bilo povezano z pandemijo COVID-19 (24). V letu 2024 smo zabeležili rahel porast pojavnosti na 12,1/100.000 populacije. Trend znižanja

nja pojavnosti je še bolj izrazit v populaciji otrok, kjer je pojavnost dosegla najvišjo vrednost 26,2/100.000 v letu 2014 in upadla na 7,7/100.000 v letu 2024 (slika 1). Največja pojavnost IPB je bila v letu 2024 v starostni skupini 65 let in starejših, kjer je dosegla 31,9/100.000, in v skupini otrok, mlajših od 2 let, z vrednostjo 26,2/100.000.

Slika 1. Pojavnost invazivnih bolezni, povzročenih z bakterijo *Streptococcus pneumoniae* pri otrocih in odraslih od leta 1993 do 2024 v Sloveniji.

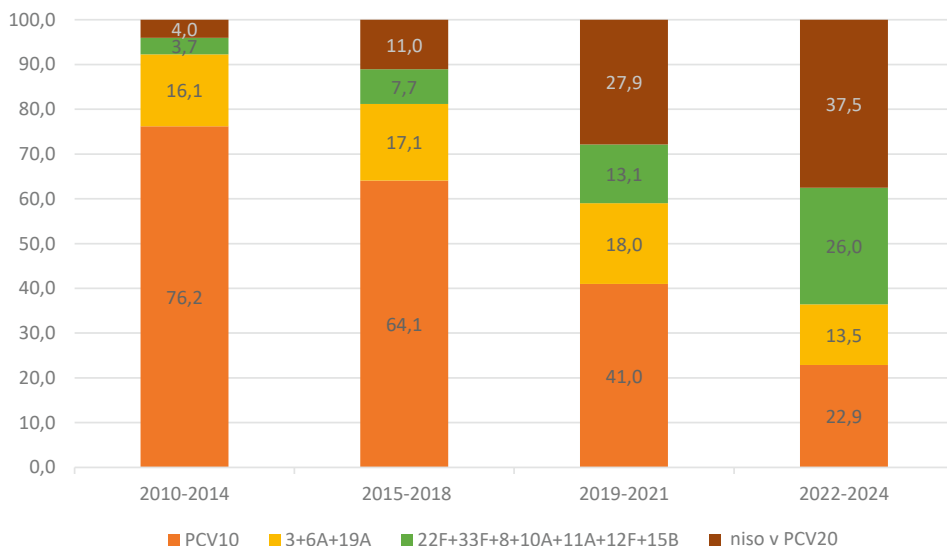


Legenda: * uvedba PCV10, ** uvedba PCV13.

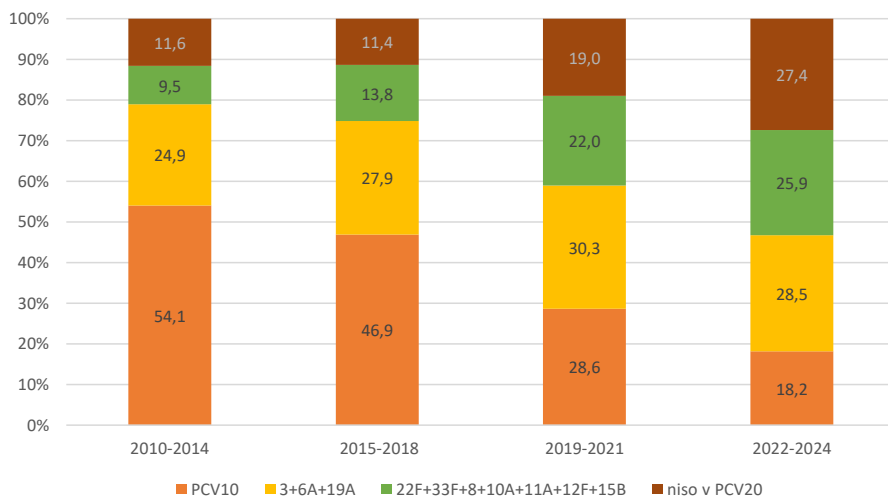
Učinek uvedbe cepljenja je viden poleg upada pojavnosti IPB tudi na sestavi serotipov, ki se pojavljajo v populaciji. Od leta 2015, ko smo v populaciji zaznali 81,6 % serotipov, ki so prisotni v PCV13, se je delež le-teh znižal in v letu 2024 znašal 46,9 %. V obdobju pred cepljenjem so prevladovali cepilni serotipi, po uvedbi cepljenja se je njihov delež znižal. Ta učinek je zelo izrazit v otroški populaciji, kjer se je delež serotipov PCV10 iz 76,2 % pred cepljenjem (l. 2010–2014) znižal na 22,9 % v obdobju 2022–2024. Za serotipe PCV13 se je iz 92,3 % pred cepljenjem (l. 2010–2014) znižal na 36,4 % v obdobju 2022–2024. Delež serotipov, ki niso v cepivu, se je zvišal iz 4,0 % pred cepljenjem na 37,5 % v obdobju 2022–2024 (Slika 2). Tako je v letu 2024 znašal delež vseh IPB, povzročen s serotipi, ki so prisotni v PCV13, pri otrocih mlajših od 15 let, 41,7 %, s serotipi, prisotnimi v PCV20 je le-ta znašal 79,2 %.

V populaciji odraslih smo prav tako opazili učinek cepljenja otroške populacije. Delež serotipov PCV10 se je iz 54,1 % pred cepljenjem (l. 2010–2014) znižal na 18,2 % v obdobju 2022–2024 (Slika 2). Za serotipe PCV13 se je iz 78,9 % pred cepljenjem znižal na 46,7 % v obdobju 2022–2024. Delež serotipov, ki niso v cepivu, se je zvišal iz 11,6 % pred cepljenjem na 27,4 % v obdobju 2022–2024. Pri odraslih bolnikih (15 let in več) je bilo v letu 2024 s serotipi, prisotnimi v PCV13, povzročenih 47,4 % primerov IPB, s serotipi, prisotnimi v PPV23 76,7 % primerov IPB, s serotipi v PCV20 71,6 % primerov IPB in s serotipi v PCV21 66,4 % primerov IPB.

Slika 2. Deleži serotipov IPB glede na njihovo prisotnost v konjugiranih cepivih (PCV10, dodatni trije iz PCV13, dodatnih sedem iz PCV20, niso v PCV20) v štirih časovnih obdobjih pri otrocih, mlajših od 15 let, v Sloveniji.



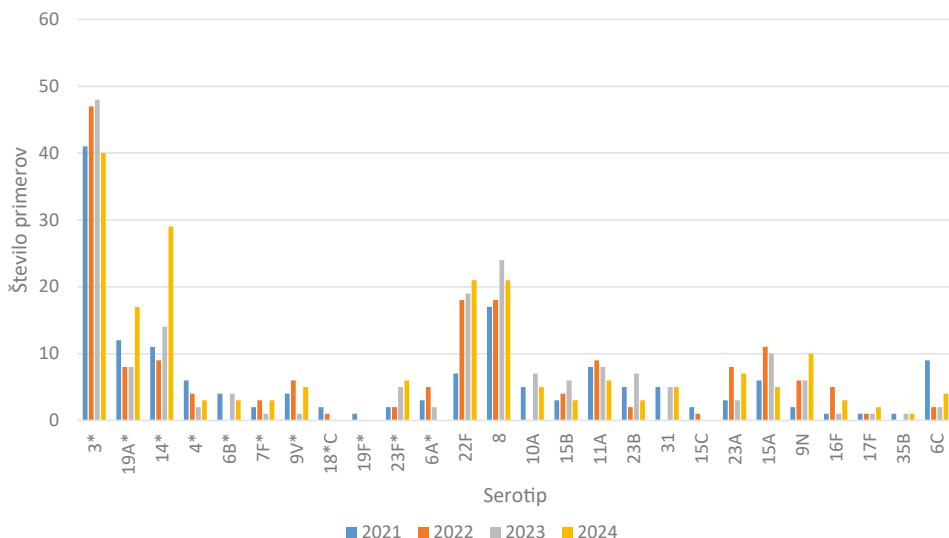
Slika 3. Deleži serotipov IPB glede na njihovo prisotnost v konjugiranih cepivih (PCV10, dodatni trije iz PCV13, dodatnih sedem iz PCV20, niso v PCV20) v štirih časovnih obdobjih pri odraslih, 15 let in več, v Sloveniji.



V letu 2024 pri odraslih bolnikih (15 let in več) v Sloveniji močno prevladuje serotip 3 (17,2 %), sledijo serotipi 14 (12,5 %), 22F in 8 (9,1 %), 19A (7,3 %), 9N (4,3 %), ostali serotipi so bili prisotni v manjšem deležu (slika 4). Velika večina primerov IPB pri odraslih gre na račun starostne skupine starejših od 65 let (64 %). V skupini otrok, mlajših od 15 let, je največ primerov IPB v starosti mlajših od 5 let (71 %). V skupini otrok se posamezni serotipi pojavljajo razpršeno v manjšem številu. V letu 2024 smo določili največ, in sicer največ primerov serotipa

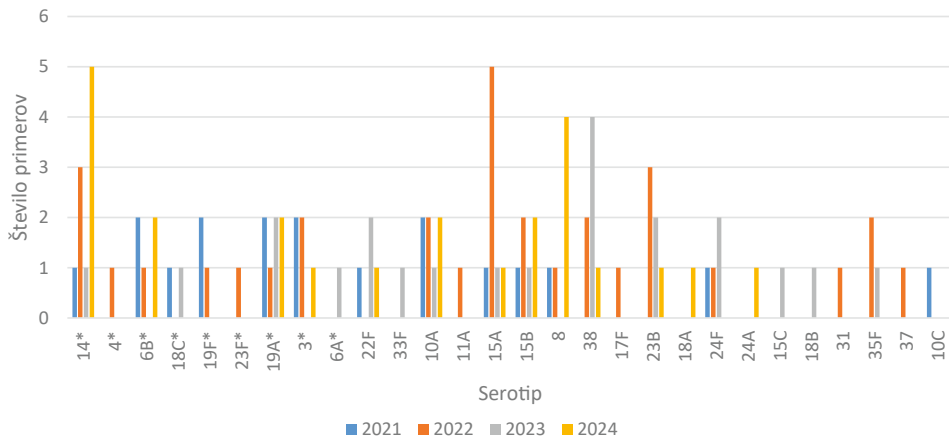
14 (5 primerov), sledijo serotipi 8 (4 primeri), 10A, 6B, 19A, 15B (po 2 primeri), ostali tipi so bili določeni v posameznih primerih (slika 5).

Slika 4. Število primerov serotipov IPB pri odraslih, starejših od 15 let, v letih 2021–2024 v Sloveniji.



Legenda: *serotip prisoten v PCV13.

Slika 5. Število primerov serotipov IPB pri otrocih, mlajših od 15 let, v letih 2021–2024 v Sloveniji.



Legenda: *serotip prisoten v PCV13.

RAZVOJ CEPIV PROTI PNEVMOKOKNIM OKUŽBAM

Glede na pomen tako invazivnih kot neinvazivnih pnevmokoknih okužb ter glede na zgoraj opisane spremembe molekularne epidemiologije, ki jo raba teh cepiv potegne za seboj, je nadaljnji razvoj pnevmokoknih cepiv izredno pomemben.

Razvoj pnevmokoknih konjugiranih cepiv

Konjugirana pnevmokokna cepiva so se izkazala za učinkovita in nadaljnji razvoj PCV vključuje več strategij (25). Ena od njih je zvišanje števila serotipov, ki so vključeni v cepiva za otroke in odrasle (25). Ob tem se pojavi vprašanje, ali lahko v cepivo dodajamo serotipe v nedogled? Zaenkrat raziskave kažejo, da to ni mogoče, saj večanje števila serotipov v PCV znižuje imunogenost cepiva in za zaščito pred okužbami sluznic (akutno vnetje srednjega ušesa, pljučnica) in kolonizacijo bi bile potrebne višje koncentracije zaščitnih protiteles. To pomeni, da bi bila pasivna zaščita necepljenih oseb slabša (2). V fazah preizkušanja so: PCV31 (VAX31, Vaxcyte), PCV24 (VAX 24, Vaxcyte) in PCV25 (2, 26, 27).

Dalje je pomembno, kateri serotipi so vključeni v cepivo (Tabela 1) ter poznavanje navzkrižne reaktivnosti med posameznimi serotipi. Tako lahko cepivo zaradi pojava navzkrižne reaktivnosti nudi posredno zaščito proti necepljnim serotipom (2, 3).

Razvoj PCV za odrasle, ki vključujejo druge serotipe kot PCV za otroke, in optimalna sočasna raba PCV pri otrocih in odraslih, je še ena od razvojnih strategij (2, 25). Odrasli bi bili zaradi čredne imunosti, dosežene s cepljenjem otrok s PCV20, posredno zaščiteni s sevi, ki so v PCV20, ob tem pa bi jih cepili s PCV21 in zanje tako dosegli skupno zaščito proti več serotipom (Tabela 1) (2, 4). In sedaj je tudi v Sloveniji za rabo pri odraslih že na voljo PCV21 (Capvaxive®), ki vključuje precej drugih serotipov kot PCV20 (5).

Za učinkovito preprečevanje pnevmokoknih okužb je potrebno poznati tudi razmerje med imunogenostjo in efektivnostjo PCV. Le-to je to odvisno tudi od starosti, sočasnih obolenj, geografske lokacije in vsebnosti serotipov v PCV in je različno za kolonizacijo in okužbo (2). Vsekakor bi si želeli boljšo precepljenost s PCV pri odraslih (25).

Druga pnevmokokna cepiva v razvoju

V razvoju so tudi cepiva, ki vsebujejo zgolj pnevmokokne beljakovine (pnevmokokna površinska beljakovina A – *PspA*, pnevmokokna histidinska trojna beljakovina D – *PhtD*, pnevmokokna beljakovina, ki veže holin – *PcpA*, pneumolizin – *Phy*). Ta cepiva so lahko mono- ali več-valentna (npr. *PhtD-Phy-PcpA*). Le nekaj takšnih cepiv je v kliničnih fazah preizkušanja (25).

Nekatera cepiva, ki vsebujejo pnevmokokne beljakovine, ne dosežejo zadostne zaščite pred kolonizacijo, kar je uspeh PCV. Problem teh cepiv je tudi, da imajo nekatere teh beljakovin variabilne regije in so učinkovita samo za nekatere serotipe (25). Zato tudi raziskujejo možnosti cepiva, ki bi vsebovalo PCV in hkrati med več serotipi ohranjene beljakovine. Eno izmed takšnih cepiv je PCV 10 v kombinaciji s *Phy-PhtD* (25, 28, 29). Podobno je tudi cepivo MAPS24 (angl. *Multiple Antigen Presenting System*, Affinivax®, GSK), ki vsebuje serospecifične polisaharide in med serotipi ohranjene skupne beljakovine in zato deluje podobno kot celocelični sistem. Cepljenje s tem cepivom izzove širok in dlje časa trajajoč imunski odziv (protitelesa, limfociti B, limfociti T – Th1, Th17). Zaenkrat je to cepivo še v fazah preizkušanja (2, 30).

ZAKLJUČEK

Za razvoj novih pnevmokoknih cepiv in njihovo rabo je ključno spremljanje pojavnosti pnevmokoknih okužb ter spremljanje molekularne epidemiologije, saj ob rabi obstoječih PCV prihaja do višje prevalence necepljenih serotipov in pojava novih serotipov (2–4). Glede na težo pnevmokoknih

okužb in poznan učinek dosedanje rabe pnevmokoknih cepiv na pojavnost teh okužb je razvoj pnevmokoknih cepiv v prihodnje še kako pomemben. Otroci so še vedno glavni vir pnevmokokov in cepljenje otrok posledično vpliva na pojavnost bolezni v vseh starostnih skupinah, tudi pri necepljenih odraslih. Tako se moramo vsekakor zavzemati tudi za dobro precepljenost odraslih in majhnih otrok (1, 2).

LITERATURA

1. Flasche S, Lipsitch M, Ojal J, Pinsent A. Estimating the contribution of different age strata to vaccine serotype pneumococcal transmission in the pre vaccine era: a modelling study. *BMC Med.* 2020 Jun 10; 18(1): 129.
2. Thindwa D, Shapiro ED, Weinberger DM. The Complex Landscape of Updated Pneumococcal Conjugate Vaccines. *Open Forum Infect Dis.* 2025 Jan 28;12(2).
3. Feemster K, Hausdorff WP, Bannietts N, Platt H, Velentgas P, Esteves-Jaramillo A et al. Implications of Cross-Reactivity and Cross-Protection for Pneumococcal Vaccine Development. *Vaccines (Basel).* 2024 Aug 28; 12(9): 974.
4. Cohen R, Levy C, Varon E. The latest news in France before distribution of third-generation pneumococcal conjugate vaccines. *Infect Dis Now.* 2024 Aug; 54(5): 104937.
5. European medicines agency. Science medicines health. Capvaxive (pneumococcal polysaccharide conjugate vaccine (21-valent)). [citirano 20. 4.2025]. Dostopno na: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/capvaxive>.
6. Hall E, Wodi A.P., Kobayaski M. Pink book. 14th ed. Centers for Disease Control and Prevention. Epidemiology and Prevention of Vaccine-Preventable Diseases. Washington, D.C. Public Health Foundation, 2021. [citirano 15.3.2025]. Dostopno na: <https://www.cdc.gov/pinkbook/hcp/table-of-contents/chapter-17-pneumococcal-disease.html#:~:text=The%20first%20pneumococcal%20polysaccharide%20vaccine,14%20different%20types%20of%20pneumococci>.
7. Science medicines health. European medicines agency. Vaxneuvance (pneumococcal polysaccharide conjugate vaccine, 15-valent, adsorbed): An overview of Vaxneuvance and why it is authorised in the EU; 2025. [citirano 20.3.2025]. Dostopno na: https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/vaxneuvance-epar-medicine-overview_en.pdf.
8. Centralna baza zdravil. Cepiva proti pnevmokoknim okužbam (J07AL). [citirano 20.4.2025]. Dostopno na: <http://www.cbz.si/cbz/bazazdr2.nsf/Search?SearchView>.
9. Učakar V, Jeraj I, Krnc K, Bertole T, Vrh M. Spremljanje izvajanja cepljenja in precepljenosti v Sloveniji v letih 2021 in 2022. Spremljanje precepljenosti (delež cepljenih). 2024:1-64. Dostopno na: <https://nijz.si/nalezljivebolezni/cepljenje/spremljanje-precepljenosti-deleza-cepljenih>.
10. European medicines agency. Science medicines health. Prevenar 20 (pneumococcal polysaccharide conjugate vaccine, 20-valent, adsorbed): An overview of Prevenar 20 and why it is authorised in the EU; 2025. [citirano 20.3.2025]. Dostopno na: https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/prevenar-20-previously-apexxnar-epar-medicine-overview_en.pdf.
11. Nacionalni inštitut za javno zdravje. Navodila za izvajanje rednega cepljenja otrok proti pnevmokoknim okužbam ob zamenjavi 13-valentnega konjugiranega cepiva z 20-valentnim. 2025. [citirano 20.3.2025]. Dostopno na: https://nijz.si/wp-content/uploads/2025/01/Cepljenje-s-konj-pnevmo-za-otroke-PCV20_4feb2025.pdf.
12. Nacionalni inštitut za javno zdravje. Priporočila za cepljenje otrok do 5. leta starosti s konjugiranim 13-valentnim pnevmokoknim cepivom. 2025. [citirano 20.3.2025]. Dostopno na: <https://nijz.si/wp-content/uploads/2024/12/Priporocila-za-cepljenje-otrok-do-5.-leta-starosti-s-konjugiranim-13-valentnim-pnevmonoknim-cepivom.pdf>.
13. Nacionalni inštitut za javno zdravje. Priporočila za cepljenje in revakcinacijo s pnevmokoknim polisaharidnim cepivom. 2022. [citirano 20.4.2025]. Dostopno na: https://nijz.si/wp-content/uploads/2019/05/cepljenje_in_revakcinacija_s_ppv_update_2022.pdf.

14. Ganaie F, Saad JS, McGee L, van Tonder AJ, Bentley SD, Lo SW et al. A New Pneumococcal Capsule Type, 10D, is the 100th Serotype and Has a Large *cps* Fragment from an Oral Streptococcus. *mBio*. 2020 May 19; 11(3): e00937-20.
15. Aliberti S, Mantero M, Mirsaedi M, Blasi F. The role of vaccination in preventing pneumococcal disease in adults. *Clin Microbiol Infect*. 2014 May; 20 Suppl 5(0 5): 52-8.
16. Suaya JA, Mendes RE, Sings HL, Arguedas A, Reinert RR, Jodar L et al. Streptococcus pneumoniae serotype distribution and antimicrobial nonsusceptibility trends among adults with pneumonia in the United States, 2009–2017. *J Infect*. 2020 Oct; 81(4): 557-66.
17. O'Brien KL, Wolfson LJ, Watt JP, Henkle E, Deloria-Knoll M, McCall N, et al. Hib and Pneumococcal Global Burden of Disease Study Team. Burden of disease caused by Streptococcus pneumoniae in children younger than 5 years: global estimates. *Lancet*. 2009 Sep 12; 374 (9693): 893-902.
18. Mackenzie, Grant A et al. 2021. Impact of the introduction of pneumococcal conjugate vaccination on invasive pneumococcal disease and pneumonia in The Gambia: 10 years of population-based surveillance. *The Lancet Infectious Diseases*, Volume 21, Issue 9, 1293 – 302.
19. Pilishvili T, Lexau C, Farley MM, Hadler J, Harrison LH, Bennett NM et al. Active Bacterial Core Surveillance/Emerging Infections Program Network. Sustained reductions in invasive pneumococcal disease in the era of conjugate vaccine. *J Infect Dis*. 2010 Jan 1; 201(1): 32-41.
20. CDC. Active bacterial core surveillance (ABCs). Dostopno na: <https://www.cdc.gov/abcs/bact-facts/data-dashboard.html>
21. Løchen, A., Croucher, N.J. & Anderson, R.M. Divergent serotype replacement trends and increasing diversity in pneumococcal disease in high income settings reduce the benefit of expanding vaccine valency. *Sci Rep* 10, 18977 (2020).
22. ECDC. Invasive pneumococcal disease. Annual Epidemiological Report for 2022. Dostopno na: https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/PNEU_AER_2022_Report.pdf
23. NIJZ. Precepljenost predšolskih otrok v Sloveniji v letu 2023 PRELIMINARNI PODATKI Dostopno na: https://nijz.si/wp-content/uploads/2024/03/Predsolski-otroci_precepljenost_2023_preliminarno-porocilo_21032024.pdf
24. Kastrič T, Mioč V, Mahnič A, Čizman M, Slovenian Meningitidis Study Group. Impact of the COVID-19 Pandemic on Community Consumption of Antibiotics for Systemic Use and Resistance of Invasive *Streptococcus pneumoniae* in Slovenia. *Antibiotics* (Basel). 2023 May 23; 12 (6): 945.
25. Ramos B, Vadlamudi NK, Han C, Sadarangani M. Future immunisation strategies to prevent Streptococcus pneumoniae infections in children and adults. *Lancet Infect Dis*. 2025 Mar 17: S1473-3099(24)00740-0.
26. Wassil J, Sisti M, Fairman J, Rankin B, Clark J, Bennett S, et al. A phase 2, randomized, blinded, dose-finding, controlled clinical trial to evaluate the safety, tolerability, and immunogenicity of a 24-valent pneumococcal conjugate vaccine (VAX-24) in healthy adults 65 years and older. *Vaccine*. 2024 Nov 14; 42(25): 126124.
27. Vaxcyte. Pipeline. High-Fidelity Vaccines Engineered to Go the Distance. Dostopno na: <https://vaxcyte.com/pipeline/>
28. Prymula R, Pazdiora P, Traskine M, Rüggeberg JU, Borys D. Safety and immunogenicity of an investigational vaccine containing two common pneumococcal proteins in toddlers: a phase II randomized clinical trial. *Vaccine*. 2014 May 23; 32(25): 3025-34.
29. Leroux-Roels G, Maes C, De Boever F, Traskine M, Rüggeberg JU, Borys D. Safety, reactogenicity and immunogenicity of a novel pneumococcal protein-based vaccine in adults: a phase I/II randomized clinical study. *Vaccine*. 2014 Nov 28; 32(50): 6838-46.
30. Borys D, Rupp R, Smulders R, Chichili GR, Kovanda LL, Santos V, et al. Safety, tolerability and immunogenicity of a novel 24-valent pneumococcal vaccine in toddlers: A phase 1 randomized controlled trial. *Vaccine*. 2024 Apr 11;42(10):2560-2571.

ZDRAVLJENJE MIKOPLAZEMSKIH PLJUČNIC PRI OTROCIH IN ODRASLIH

TREATMENT OF *MYCOPLASMA PNEUMONIAE* PNEUMONIA IN CHILDREN AND ADULTS

Jasna Rodman Berlot^{1,3}, Tina Plankar Srovin^{2,3}, Tereza Rojko^{2,3}

¹Služba za pljučne bolezni, Pediatrična klinika Ljubljana, UKC Ljubljana

²Klinika za infektivne bolezni in vročinska stanja, UKC Ljubljana

³Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

IZVLEČEK

Mycoplasma pneumoniae (Mp) je pogost vzrok pljučnic tako pri otrocih kot tudi pri odraslih. Čeprav večina okužb poteka z blago klinično sliko in zahteva zgolj ambulantno zdravljenje, se v določenih primerih lahko razvije resnejša oblika bolezni s potencialno usodnimi posledicami ali trajnimi okvarami prizadetih organskih sistemov. Heterogenost kliničnih manifestacij Mp okužb najverjetneje izvira iz zapletene večfaktorske patogeneze, kjer se prepletajo neposredni patogeni učinki bakterije in imunopatološki mehanizmi gostiteljevega odziva. Od zaključka pandemije COVID-19, ko je bila incidenca Mp pljučnic izrazito znižana, smo imeli leta 2023 in 2024 v Sloveniji ponovno epidemijo teh okužb, vključno s težjimi primeri, ki so zahtevali dolgotrajno hospitalizacijo, zdravljenje z visokimi pretoki kisika in zdravljenje v enotah intenzivne terapije. Za optimizacijo antibiotičnega zdravljenja in jasnejšo opredelitev indikacij za uporabo glukokortikoidov ter imunoglobulinov pri težje potekajočih primerih, smo oblikovali celovita klinična priporočila za diagnostično in terapevtsko obravnavo Mp pljučnic. Ta priporočila predstavljajo temelj za standardizirano in z dokazi podprto klinično prakso pri obravnavi tovrstnih okužb v Sloveniji.

Ključne besede: *Mycoplasma pneumoniae*, pljučnica, zdravljenje

ABSTRACT

Mycoplasma pneumoniae (Mp) is a common cause of pneumonia in children and adults. Although most infections present with mild clinical symptoms requiring only outpatient treatment, in certain cases, a more severe form of the disease can develop, with potentially fatal outcomes or permanent damage to the affected organ systems. The heterogeneity of clinical manifestations of Mp infections is likely caused by a complex, multifactorial pathogenesis involving both the bacteria's direct pathogenic effects and the host response's immunopathological mechanisms. Since the end of the COVID-19 pandemic, when the incidence of Mp pneumonia was significantly reduced, Slovenia had an epidemic of these infections in 2023 and 2024, including more severe

cases requiring prolonged hospitalization, high-flow oxygen therapy, and treatment in intensive care units. To optimize antibiotic treatment and clearly define indications for using glucocorticoids and immunoglobulins in more severe cases, we have developed comprehensive clinical recommendations for diagnosing and treating Mp pneumonia. These guidelines provide a foundation for standardized, evidence-based clinical practice in managing such infections in Slovenia.

Key words: *Mycoplasma pneumoniae*, pneumonia, treatment

UVOD

Mycoplasma pneumoniae (Mp) predstavlja pogost vzrok pljučnic tako pri pediatrični kot tudi odrasli populaciji (1). Gre za bakterijo brez celične stene, kar jo pomembno razlikuje od drugih patogenih bakterij in posledično vpliva na njeno občutljivost za določene skupine antibiotikov (1). Medtem ko večina okužb poteka z blago klinično sliko in zahteva zgolj ambulantno obravnavo, se lahko v določenih primerih razvije resnejša oblika bolezni s potencialno usodnimi posledicami ali trajnimi okvarami prizadetih organskih sistemov (1, 2). Širok razpon klinične slike, ki je značilen za Mp, je najverjetneje posledica večfaktorske patogeneze okužbe z Mp (3, 4). Pri patogenezi okužb dihal je ključna pritrditev bakterije na gostiteljsko celico in neposredna okvara, ki jo povzroča bakterija. Predvideva pa se, da težja klinična slika pljučne okužbe odraža tako neposredne učinke bakterije kot tudi posreden vpliv gostiteljevega imunskega odziva (3).

Klinična slika pljučnice, povzročene z *Mycoplasma pneumoniae*

Prenos Mp poteka kapljično ob tesnem stiku z obolelim ali asimptomatskim nosilcem. Inkubacijska doba znaša približno tri tedne (1, 2). V istem gospodinjstvu je stopnja sekundarne okužbe visoka in dosega do 90 % izpostavljenih oseb (1, 4). Protitelesni odziv po preboleli okužbi ne zagotavlja dolgotrajne zaščitne imunosti, čeprav lahko protitelesa vztrajajo več let (2, 3).

Epidemiološki vzorec Mp okužb kaže sezonsko variabilnost z vrhom incidence poleti in zgodaj jeseni, čeprav se okužbe pojavljajo skozi vse leto (1, 2). Značilna je ciklična pojavnost z epidemičnimi vrhovi vsakih 3–7 let (1, 2).

Mp povzroča širok spekter kliničnih manifestacij, vendar večina okužb poteka asimptomatsko (1, 2, 5). Klinični potek delimo na pljučne manifestacije, ki predstavljajo najpogostejšo prezentacijo bolezni, in zunajpljučne manifestacije, ki se pojavljajo redkeje (1, 2, 4, 5). Čeprav okužbe praviloma potekajo blago in samoomejujoče, lahko pri bolnikih vseh starostnih skupin zasledimo tudi težje poteka (6).

Mikoplazemska pljučnica predstavlja najpogostejšo klinično manifestacijo pri otrocih, zlasti v šolskem obdobju (7). Klinična slika se navadno razvija postopoma z začetnimi nespecifičnimi simptomi, kot so glavobol, splošno slabo počutje in blaga vročina, ki jim sledi progresivno napredujoč kašelj (1, 2, 5). Pri otrocih s potrjeno mikoplazemsko pljučnico prevladujejo nespecifični simptomi, vključno z vročino, pretežno neproduktivnim kašljem, ki lahko vztraja več tednov ali mesecev, utrujenostjo in dispnejo. V približno tretjini primerov so prisotne tudi zunajpljučne manifestacije bolezni (4).

Težko potekajoča in refraktarna pljučnica

Kljub pravočasnemu zdravljenju z antibiotiki se pri nekaterih otrocih in odraslih lahko razvije **težko potekajoča pljučnica** (*angl.* SMPP – *Severe Mycoplasma pneumoniae Pneumonia*), ki se kaže z znaki povečanega dihalnega dela, hipoksemijo in potrebo po bolnišnični obravnavi (8, 9).

V klinični praksi se srečujemo tudi z **refraktarno mikoplazemsko pljučnico**, ki jo opredeljujemo kot odsotnost kliničnega izboljšanja po sedmih dneh ustreznega antimikrobnega zdravljenja. Vzrok za težko potekajočo in refraktarno pljučnico še ni povsem pojasnjen, vendar raziskave kažejo na ključno vlogo imunskih mehanizmov, vključno s čezmerno aktivacijo imunskih celic (predvsem limfocitov T) in povečanim sproščanjem vnetnih citokinov (IL-2, IL-5, IL-6, IL-8, IL-18) (8, 9).

V svetu, zlasti v azijskih državah, opažamo naraščajoč delež **Mp, odporne na zdravljenje z makrolidnimi antibiotiki** (*angl. MRMP – Macrolide Resistant Mycoplasma pneumoniae*). Ta odpornost ni nujno povezana s težjim potekom bolezni, temveč pogosteje z daljšim trajanjem zdravljenja, saj bolnik z zakasnitvijo prejme ustrezen antibiotik (10).

Diagnostika mikoplazemske okužbe spodnjih dihal

Tako kot klinična slika so tudi laboratorijski kazalci in radiološke značilnosti nespecifični ter pogosto posnemajo virusno etiologijo okužb spodnjih dihal (1, 3, 5, 7, 10). Radiološke spremembe variirajo od od intersticijskih infiltratov do lobarne pljučnice, lahko je pridružen plevralni izliv. Vrednosti CRP in levkocitov sta lahko povsem v mejah normale. Ob huje potekajočih okužbah je vrednost CRP lahko zelo visoka (1, 3, 5, 7).

Molekularna diagnostika z dokazom bakterijske DNA z metodo PCR iz brisa žrela predstavlja najzanesljivejšo in najhitrejšo potrditev okužbe pri bolnikih z akutno simptomatiko atipične pljučnice. Ker klinično, laboratorijsko in radiološko težko ločimo mikoplazemsko od virusne pljučnice, svetujemo, da v času, ko ni epidemije mikoplazemskih okužb, pred uvedbo antibiotika potrdimo mikoplazemsko pljučnico z odvzemom brisa. V času epidemije mikoplazemskih okužb mikrobiološka diagnostika pri ambulantno obravnavanih bolnikih z atipično pljučnico običajno ni indicirana (1, 2). Antibiotik lahko predpišemo zgolj na podlagi pozitivne epidemiološke anamneze stika z mikoplazemsko pljučnico. Mikrobiološko testiranje se priporoča pri hospitaliziranih bolnikih, zlasti pri tistih z imunsko oslabeledostjo, pridruženimi dejavniki tveganja (npr. kronična pljučna obolenja) ali zunajpljučnimi manifestacijami s težjim potekom (1, 2). Diagnostika je upravičena tudi v primerih kliničnega poslabšanja kljub podpornemu zdravljenju ali neodzivnosti na antibiotično zdravljenje (1, 2).

Serološka diagnostika s potrditvijo serokonverzije ali značilnega porasta titrov protiteles (2-kratno povišanje za IgM, 4-kratno za IgG) v razmiku dveh tednov predstavlja alternativno diagnostično metodo, ki pa se zaradi časovne zamudnosti v primerjavi s PCR diagnostiko v klinični praksi manj uporablja (1, 2).

Zdravljenje mikoplazemske pljučnice pri otrocih

Antibiotično zdravljenje

Ker so Mp brez celične stene, so intrinzično odporne na več antibiotičnih razredov. Učinkoviti antibiotiki so makrolidi, tetraciklini in kinoloni (5, 11):

1. Azitromicin: 10 mg/kg (največ 500 mg) peroralno/intravensko prvi dan, nato 5 mg/kg dnevno (največ 250 mg) 4 dni,
2. Klaritromicin: 7,5 mg/kg/dan: 2 (največ 500 mg/12 ur), 7–10 dni.
3. Doksiciklin: 4 mg/kg/dan: 2 peroralno (največ 100 mg/12 ur), 10 dni. Nima pomembnih stranskih učinkov in je primeren za vse starosti, če je indiciran in zdravljenje traja do 21 dni; primeren za zdravljenje okužbe z MRMP.

4. Levofloksacin*: Alternativna možnost pri okužbi z MRMP ali pri predhodnem neuspešnem zdravljenju z makrolidi; za otroke 6 mesecev–5 let: 16–20 mg/kg; 2; nad 5 let: 10 mg/kg enkrat dnevno (največ 750 mg/dan), 7–10 dni (5, 11).
Moksifloksacin*: 10 mg/kg/dan (največ 400 mg/dan).

*Pri okužbah z MRMP so priporočeni tetraciklini ali kinoloni (10). Kinolone zaradi stranskih učinkov in večjega vpliva na pojav odpornih bakterij uporabljamo le, če ni drugih možnosti zdravljenja.

Okužb zgornjih dihal, pri katerih je povzročitelj Mp, ne zdravimo z antibiotiki, saj klinične koristi takšnega zdravljenja niso dokazane (1, 2).

Široka uporaba makrolidnih antibiotikov, še posebej dolgodelujočega azitromicina, je pripeljala do naraščajoče odpornosti pnevmokokov in Mp proti makrolidom. Mikoplazemske pljučnice lahko potekajo tudi v blagi obliki, so samoomejujoče ter se pozdravijo brez antibiotičnega zdravljenja in brez posledic. V trinajstih švicarskih pediatričnih centrih poteka dvojno slepa, s placebom kontrolirana raziskava zdravljenja različno težkih mikoplazemskih pljučnic z azitromicinom v primerjavi s placebom, s katero želijo ugotoviti učinkovitost in potrebnost antibiotičnega zdravljenja (12).

Protivnetno zdravljenje

Pri težjem poteku mikoplazemske pljučnice se razvije prekomeren imunski odziv, kar zahteva zmanjšanje vnetja. Sistemski glukokortikoidi so pri tem učinkoviti; kombinacija z makrolidi in/ali intravenskimi imunoglobulini (IVIG) pri težko potekajoči in refraktarni mikoplazemski pljučnici običajno hitro izboljša klinično stanje, skrajša potrebo po dodatku kisika in trajanje hospitalizacije. Višji odmerki glukokortikoidov so dokazano učinkovitejši brez pomembno povečanega tveganja za neželene učinke (8, 9). Zgodnja uvedba glukokortikoidov izboljša izide zdravljenja; če vročina vztraja več kot 72 ur po uvedbi antibiotičnega zdravljenja, se priporoča povečanje odmerka glukokortikoidov ali dodatek intravenskih imunoglobulinov (8, 9).

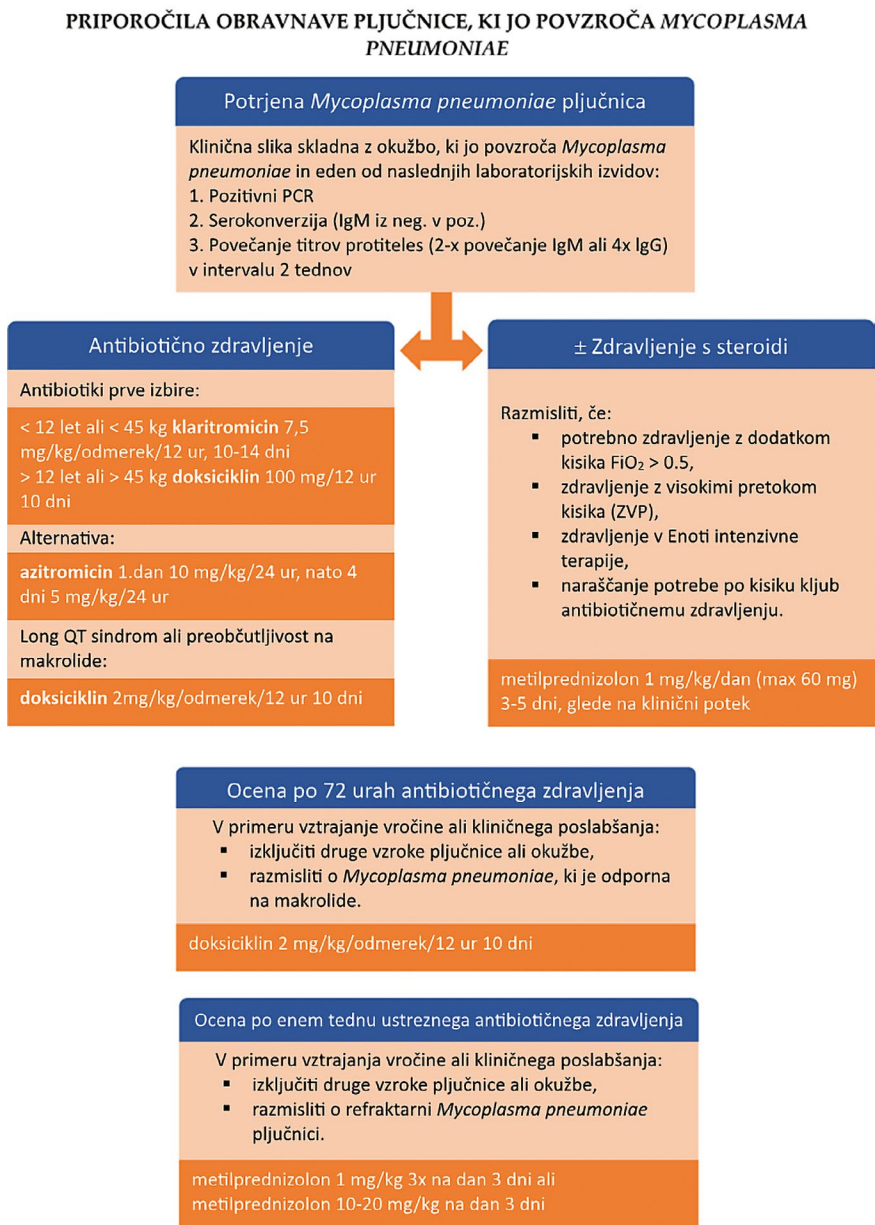
Priporočila za zdravljenje mikoplazemskih pljučnic pri otrocih v Sloveniji

Zaradi opažanja porasta okužb z Mp v Sloveniji, ki pogosto potekajo s težjo klinično sliko in potrebo po bolnišnični obravnavi, smo na oddelku Službe za pljučne bolezni Pediatrične klinike Ljubljana v sodelovanju z Otroškim oddelkom Klinike za infekcijske bolezni in vročinska stanja Ljubljana pripravili priporočila za obravnavo pljučnic, povzročenih z Mp pri otrocih (Slika 1).

V Sloveniji je pojavnost MRMP zaenkrat še nizka (13), vendar si prizadevamo omejiti predpisovanje makrolidnih antibiotikov za okužbe dihal predvsem na tiste primere, pri katerih je diagnoza mikoplazemske pljučnice potrjena z značilno klinično sliko in enim od laboratorijskih izvidov: pozitivnim molekularnim testom PCR na Mp, serokonverzijo (sprememba IgM iz negativne v pozitivno vrednost) ali povečanjem titrov protiteles (2-kratno povečanje ravni IgM ali 4-kratno povečanje IgG) v intervalu dveh tednov. V času epidemije okužb z Mp za potrditev diagnoze ob skladni klinični sliki zadošča tesen stik z bolnikom, ki prebolela okužbo z Mp.

Kot antibiotik prve izbire pri mlajših od 12 let ali lažjih od 45 kg priporočamo klaritromicin, pri starejših od 12 let in težjih od 45 kg pa doksiciklin. Azitromicin priporočamo kot antibiotik druge izbire, doksiciklin pri mlajših otrocih pa v primeru sindroma dolgega intervala QT ali preobčutljivosti na makrolide (Slika 1).

Slika 1. Priporočila za obravnavo pljučnice, ki jo povzroča *Mycoplasma pneumoniae* pri otrocih.



^aV času epidemije okužb z *Mycoplasma pneumoniae* zadošča tesen stik z bolnikom, ki preboleva okužbo z *Mycoplasma pneumoniae*.

^bLahko se uporablja pri < 12 let, če je trajanje zdravljenja < 21 dni. (Vir: American Academy of Pediatrics. Tetracyclines. In: Red Book: 2024-2027 Report of the Committee on Infectious Diseases, 33rd ed, Kimberlin DW, Banerjee R, Barnett ED, Lynfield R, Sawyer MH (Eds), American Academy of Pediatrics, Itasca, IL 2024. p.1005)

Pri težko potekajoči mikoplazemski pljučnici, kjer predvidevamo, da je težja klinična slika vsaj deloma posledica prekomernega imunskega odziva gostitelja na okužbo, je smiselno razmisliti o zdravljenju s sistemskimi glukokortikoidi (metilprednizolon 1 mg/kg/dan, maksimalni odmerek 60 mg, v trajanju 3–5 dni, glede na klinični potek). To velja zlasti v primerih, ko bolnik potrebuje zdravljenje z dodatkom kisika s koncentracijo kisika v vdihanem zraku (FiO_2) $> 0,5$, zdravljenje z visokim pretokom kisika (ZVP) ali zdravljenje v enoti intenzivne terapije.

Če vročina vztraja ali se klinično stanje slabša kljub 72 uram antibiotičnega zdravljenja, je treba najprej izključiti druge vzroke pljučnice ali okužbe ter morebitne zaplete pljučnice, nato pa razmisliti o možnosti okužbe z MRMP in antibiotično zdravljenje zamenjati z doksiciklinom (Slika 1). V primeru, da vročina vztraja, se klinično stanje poslabšuje ali vztraja potreba po zdravljenju s kisikom kljub enemu tednu ustreznega antibiotičnega zdravljenja, je potrebno ponovno izključiti druge vzroke pljučnice ali okužbe, zaplete pljučnice, in razmisliti o refraktarni mikoplazemski pljučnici. Tudi v takem primeru uvedemo zdravljenje s glukokortikoidi.

Mikoplazemska pljučnica pri odraslih

Mp pri odraslih povzroča 4 % do 8 % vseh zunajbolnišničnih pljučnic, v času epidemije Mp okužb pa je ta delež še bistveno večji in lahko znaša do 40 % (14). Čeprav mikoplazemska pljučnica pri odraslih večinoma poteka z blažjo klinično sliko, pri nekaterih bolnikih lahko poteka tudi v težji obliki. Tako je bilo v nedavno objavljeni francoski raziskavi MYCADO med 1309 bolniki, starejšimi od 15 let, ki so bili v letih 2023–2024 zaradi Mp pljučnice sprejeti v bolnišnico, 415 (31,7 %) bolnikov sprejetih v intenzivno enoto, 28 (2,1 %) jih je v bolnišnici umrlo. Težji potek pljučnice je bil pogostejši med bolniki s pridruženimi boleznimi (arterijska hipertenzija, debelost, kronična jetrna okvara), zunajpljučnimi manifestacijami, alveolarnimi ali obojestranskimi zgostitvami na CT prsnega koša in povečanimi vnetnimi parametri z nevtrofilijo ali limfopenijo. Dejavnika, povezana s smrtnim izidom v bolnišnici, sta bila starost ≥ 75 let in imunska oslabelost. Verjetnost za težji potek pljučnice je bila manjša pri bolnikih, ki so že pred sprejemom v bolnišnico prejeli za mikoplazemsko pljučnico ustrezno antibiotično zdravljenje (15).

Za zdravljenje mikoplazemske pljučnice pri odraslih priporočajo doksiciklin (100 mg/12 ur 7–14 dni) (16, 17), na področjih z nizko odpornostjo Mp na makrolide, kamor zaenkrat sodi tudi Slovenija (13), azitromicin (500 mg prvi dan, nato 250 mg dnevno 2. do 5. dan) (16, 17) ali klaritromicin (500 mg/12 ur 7–14 dni) (11). Učinkovito je tudi zdravljenje z respiratornimi kinoloni (moksifloksacin 400 mg dnevno 7–14 dni (16) ali levofloksacin 750 mg dnevno 5 dni (17)), ki pa naj glede na neželene učinke in indukcijo odpornosti ne predstavljajo zdravila prve izbire.

Tudi pri odraslih bolnikih s težko potekajočo ali refraktarno mikoplazemsko pljučnico v klinični praksi pogosto uporabljajo adjuvantno zdravljenje z glukokortikoidi, večinoma metilprednizolonom (9, 18), vendar podatkov o dobiti tovrstnega zdravljenja iz prospektivnih raziskav v tej skupini bolnikov ni na voljo (19). Adjuvantno zdravljenje z glukokortikoidi (hidrokortizonom) je v letošnjih priporočilih slovenskega Združenja za infektologijo, Združenja pulmologov Slovenije in Slovenskega združenje za intenzivno medicino priporočeno pri večini odraslih bolnikov s hudo zunajbolnišnično pljučnico (20), kar temelji na izsledkih večje randomizirane multicentrične raziskave CAPE COD (angl. *Extended Steroid Use in Community-Acquired Pneumonia*), v katero je bilo sicer vključenih manj kot 1 % bolnikov z mikoplazemsko pljučnico (21), in rezultatih večje meta-analize kontroliranih raziskav (22).

ZAKLJUČEK

Okužbe z Mp predstavljajo pomemben javnozdravstveni izziv, zlasti v luči naraščajoče incidence, pogostejših težjih kliničnih primerov in naraščajoče odpornosti proti makrolidnim antibiotikom. Pravočasno prepoznavanje in ustrezno zdravljenje mikoplazemske pljučnice sta ključna za zmanjšanje obolenosti in preprečevanje zapletov.

Za optimalno obravnavo bolnikov s težkim potekom je ključno razumevanje patogeneze, ki vključuje tako neposredne učinke povzročitelja kot tudi prekomeren imunski odziv gostitelja. Sistemski glukokortikoidi se v teh primerih pri otrocih, poleg antibiotikov, kažejo kot učinkovito dopolnilno zdravljenje, ki pomembno izboljša klinični izid. Čeprav se v klinični praksi adjuvantno sistemsko zdravljenje z glukokortikoidi pogosto uporablja tudi pri odraslih s težko potekajočo mikoplazemsko pljučnico, prepričljivih podatkov iz prospektivnih raziskav za uporabo sistemskih glukokortikoidov v tej skupini bolnikov zaenkrat (še) ni na voljo. Ob vse večjem pojavu MRMP, zlasti v azijskih državah, je pomembno racionalno predpisovanje makrolidov in upoštevanje epidemioloških podatkov.

LITERATURA

1. Atkinson TP, Waites KB. *Mycoplasma pneumoniae* infections in childhood. *Pediatr Infect Dis J*. 2014; 33: 92–4.
2. Waites KB, Xiao L, Liu Y, Balish MF, Atkinson TP. *Mycoplasma pneumoniae* from the respiratory tract and beyond. *Clin Microbiol Rev*. 2017; 30: 747–809.
3. Hu J, Ye Y, Chen X, Xiong L, Xie W, Liu P. Insight into the Pathogenic Mechanism of *Mycoplasma pneumoniae*. *Curr Microbiol*. 2022; 80: 14.
4. Narita M. Classification of extrapulmonary manifestations due to *Mycoplasma pneumoniae* infection on the basis of possible pathogenesis. *Front Microbiol*. 2016; 7: 23.
5. Butpech T, Tovichien P. *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia in children. *World J Clin Cases*. 2025; 13(5): 99149.
6. Meyer Sauter PM, Unger WWJ, van Rossum AMC, Berger C. The Art and Science of Diagnosing *Mycoplasma pneumoniae* Infection. *Pediatr Infect Dis J*. 2018; 37: 1192.
7. Kurty PK, Jain S, Taylor TH, et al. *Mycoplasma pneumoniae* Among Children Hospitalized With Community-acquired Pneumonia. *Clin Infect Dis*. 2019; 68(1): 5–12.
8. Tsai TA, Tsai CK, Kuo KC, Yu HR. Rational stepwise approach for *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia in children. *J Microbiol Immunol Infect*. 2021; 54(4): 557–65.
9. Miyashita N, Kawai Y, Inamura N, Tanaka T, Akaike H, Teranishi H, Wakabayashi T, Nakano T, Ouchi K, Okimoto N. Setting a standard for the initiation of steroid therapy in refractory or severe *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia in adolescents and adults. *J Infect Chemother*. 2015; 21(3): 153–60.
10. Leng M, Yang J, Zhou J. The molecular characteristics, diagnosis, and treatment of macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae* in children. *Front. Pediatr*. 2023; 11.
11. Atypical pneumonia. Dosegljivo na: www.quibaguide.com
12. Meyer Sauter PM, Seiler M, Tilen R, Osuna E, von Wantoch M, Sidorov S, et al. A randomized controlled non-inferiority trial of placebo versus macrolide antibiotics for *Mycoplasma pneumoniae* infection in children with community-acquired pneumonia: trial protocol for the MYTHIC Study. *Trials*. 2024; 25(1): 655.
13. Kogoj R, Mrvic T, Praprotnik M, Kese D. Prevalence, genotyping and macrolide resistance of *Mycoplasma pneumoniae* among isolates of patients with respiratory tract infections, Central Slovenia, 2006 to 2014. *Euro Surveill*. 2015; 20(37).

14. Waldeck F, Kramer TS, Boutin S, Matten J, Kramer J, Rupp J. Re-emergence of *Mycoplasma pneumoniae* before and after COVID-19 pandemic in Germany. *BMC Infect Dis.* 2025; 6; 25(1): 318.
15. Gavaud A, Holub M, Asquier-Khati A, Faure K, Leautez-Nainville S, Le Moal G, et al. *Mycoplasma pneumoniae* infection in adult inpatients during the 2023-24 outbreak in France (MYCADO): a national, retrospective, observational study. *Lancet Infect Dis.* 2025; S1473-3099(24)00805-3.
16. Holzman RS, Simberkoff MS, Leaf HL. *Mycoplasma pneumoniae* and atypical pneumonia. In: Bennett JE, Dolin R and Blaser MJ, eds. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases.* 9th ed. Elsevier, Philadelphia, 2020. p. 2332–8.
17. Gilbert D. *Mycoplasma pneumoniae*. The Sanford Guide to Antimicrobial Therapy 2025. Dosegljivo na: <https://www.sanfordguide.com/>.
18. Izumikawa K. Clinical Features of Severe or Fatal *Mycoplasma pneumoniae* Pneumonia. *Front Microbiol.* 2016; 7: 800.
19. Hagman K, Nilsson AC, Hedenstierna M, Ursing J. Outcomes of Adjunctive Corticosteroid Treatment in Hypoxemic Adults Hospitalized for *Mycoplasma pneumoniae* Pneumonia: A Retrospective Cohort Study. *Clin Infect Dis.* 2025; 80(2): 454–60.
20. Lukić M, Dimitrić V, Harlander M, Jereb M, Košnik M, Osolnik K, et al. Priporočila za zdravljenje hude zunajbolnišnične pljučnice z glukokortikoidi. *Isis : glasilo Zdravniške zbornice Slovenije.* [Tiskana izd.]. feb. 2025, letn. 34, št. 2, str. 39-41, ilustr. ISSN 1318-0193. Dostopno na: <https://online.pubhtml5.com/agma/ubga/#p=39>.
21. Dequin PF, Meziani F, Quenot JP, Kamel T, Ricard JD, Badie J, et al. Hydrocortisone in Severe Community-Acquired Pneumonia. *N Engl J Med.* 2023; 388(21): 1931–41.
22. Cheema HA, Musheer A, Ejaz A, Paracha AA, Shahid A, Rehman MEU, et al. Efficacy and safety of corticosteroids for the treatment of community-acquired pneumonia: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Crit Care.* 2024; 80: 154507. 10.

KDAJ JE SMISELNO NAROČITI ODVZEM HEMOKULTURE PRI OTROKU Z VROČINO?

Primož Budič¹, Aida Granda¹, Živa Lenarčič¹, Ivana Velimirovič²

¹Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja, UKC Ljubljana

²Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

IZVLEČEK

Odvzem hemokulture (HK) pri otroku s povišano telesno temperaturo je ključnega pomena za postavitev pravilne diagnoze in nadaljnjo obravnavo. Hkrati lahko predstavlja odvečen odvzem krvi in vodi v nepotrebno antibiotično zdravljenje. Izplen otroških HK je nizek, največji vpliv nanj ima volumen odvzete krvi. Čas odvzema glede na povišano telesno temperaturo ni bistven. Pri odločanju o odvzemu se opiramo na priporočila, ki pa ne morejo nadomestiti klinične presoje. V prispevku bomo glede na pregled literature in klinične izkušnje poskušali prikazati indikacije za odvzem HK pri otrocih.

Ključne besede: hemokultura, otroci, bakteriemija, volumen krvi, kontrolna hemokultura.

ABSTRACT

Blood culture (BC) collection during the work up of a child with fever is crucial for establishing the correct diagnosis and further treatment. At the same time, it can represent a redundant blood withdrawal and results in unnecessary antibiotic use. The yield of children's BC is low, and the volume of collected blood has the greatest impact on it. The time of collection in relation to fever is not essential. When deciding on collection, we rely on recommendations, which cannot replace clinical judgment. In this article, we will try to present the indications for BC collection in children, based on a review of the literature and clinical experience.

Key words: blood culture, children, bacteriemia, blood volume, repeated blood cultures.

UVOD

Zdravnik, ki pregleduje otroka z vročino v urgentni ambulanti, je postavljen pred dilemo, ali naj ob odvzemu krvi za hematološke in biokemične preiskave naroči še odvzem krvi za hemokulturo (HK). HK je zlati standard pri sumu na bakteriemijo in ena najpogostejše naročenih mikrobioloških preiskav (1). HK je nujna preiskava za postavitev diagnoze in nadaljnjo ustrezno obravnavo otroka s sumom na sepsa. Osamitev povzročitelja potrdi diagnozo, identifikacija le-tega omogoča testiranje občutljivosti na antibiotike, kar prispeva k optimizaciji

antibiotičnega zdravljenja (zožitev spektra in opredelitev trajanja zdravljenja). Pri odločitvi za naročilo HK se opiramo na priporočila, ki pa ne morejo nadomestiti klinične presoje (1, 2).

Ob naročanju odvzema krvi se moramo zavedati tudi morebitnih negativnih posledic. Z odvečnim odvzemom krvi prispevamo k iatrogeni anemiji. Pozitivni izvid HK je potrebno umestiti v klinično sliko in pri tem upoštevati morebitne dejavnike tveganja: imunsko pomanjkljivost, prisotnost dolgotrajnih žilnih katetrov ...). Razlikovati moramo med bakteriemijo in kontaminacijo vzorca, saj se le tako izognemo nepotrebnemu bolnišničnemu zdravljenju in neustrezni rabi antibiotikov. Najvišji delež kontaminiranih HK običajno beležijo na urgentnih oddelkih, sprejemljiv delež v bolnišničnem okolju naj bi bil do 3 % (3). V raziskavi iz UKC Ljubljana je delež kontaminacij v l. 2017–2021 dosegel celo 28 % (4).

Na epidemiologijo bakteriemije in sepse pri otrocih je pomembno vplivalo cepljenje. Po začetku cepljenja proti *Haemophilus influenzae* tip b (v Sloveniji od leta 2000) je bakteriemija, povzročena s to bakterijo, postala izjemno redka. Uvedba 10-valentnega konjugiranega cepiva proti pnevmokokom leta 2015 je v letih od 2015 do 2018 prinesla 44 % upad števila invazivnih pnevmokoknih okužb in dodaten 43 % upad po letu 2019, s prehodom na 13-valentno cepivo (5). V Sloveniji se precepljenost proti pnevmokoknim okužbam v zadnjih treh letih zmanjšuje, ocena je, da je leta 2024 znašala 56 % (6). V številnih raziskavah, tudi nedavni iz UKC Ljubljana, so ugotavljali, da so invazivne okužbe povzročali serotipi, ki jih cepivo ne vsebuje (6). Od decembra 2024 je za cepljenje otrok na voljo 20-valentno cepivo (7).

Prispevek v prvem delu obravnava tehnični postopek in okoliščine odvzema krvi za HK. V drugem delu bomo glede na pregled literature in klinične izkušnje poskušali prikazati indikacije za odvzem krvi za HK pri otroku z vročino in indikacije za odvzem krvi za kontrolno HK.

TEHNIČNI POSTOPEK IN OKOLIŠČINE ODVZEMA KRVI ZA HEMOKULTURO

1. Volumen krvi

Volumen odvzete krvi je eden ključnih dejavnikov, ki vplivajo na uspešno osamitev povzročitelja v HK. Odvzem zadostnega volumna krvi pomembno vpliva na občutljivost, specifičnost in čas do pozitivnosti HK (8, 9). Pri odraslih je količina standardizirana, 8–10 ml na hemokulturno stekleničko; navadno so odvzeti 2–3 pari (par sestavljata aerobna in anaerobna steklenička). Pri pediatrični populaciji, še posebej pri nižjih starostnih skupinah, smo omejeni predvsem z manjšim znotrajžilnim volumnom in posledično večjim tveganjem za iatrogeno anemijo. Pri otrocih tako predstavlja odvzem krvi za HK izziv zaradi težav pri določanju potrebnega optimalnega volumna, pri čemer se številna priporočila trenutno zelo razlikujejo. Dolgo časa je bilo razširjeno mnenje, da je pri otrocih koncentracija bakterij v krvi med bakteriemijo običajno višja kot pri odraslih. Raziskave kažejo, da so pri otrocih v znatnem odstotku prisotne bakteriemije z nizko ali zelo nizko koncentracijo bakterij. Pogosto citirana priporočila glede priporočenega volumna krvi pri otrocih avtorjev Kellogg J.A. in sodelavcev niso primerna za klinično uporabo, zlasti pri otrocih z nizko telesno maso (≤ 2 kg) in novorojenčkih, saj zahtevajo odvzem 4 % skupnega volumna krvi, za katerega je vprašljivo, ali ga bo bolnik, če je v kritičnem stanju, sploh lahko nadomestil (10). Mnoga priporočila, ki temeljijo na telesni masi, vključno z najnovejšimi smernicami Ameriškega mikrobiološkega združenja (angl. American Society for Microbiology, ASM) in Društva za nalezljive bolezni Amerike (angl. Infectious Diseases Society of America, IDSA) iz leta 2024, temeljijo na priporočenem

volumnu in predpostavki, da je varno odvzeti in nadomestiti do 4 % celotnega volumna krvi. Nekatera priporočila so bolj konservativna in priporočajo odvzem manj kot 1 % celotnega krvnega volumna (11, 12). Ne glede na priporočila so formule za določitev količine krvi na osnovi telesne mase pogosto kompleksne, kar lahko otežuje njihovo dosledno upoštevanje v praksi ob odvzemu krvi. Tudi smernice Evropskega združenja za klinično mikrobiologijo in infektivne bolezni ter Francoskega mikrobiološkega društva v Priročniku za klinično mikrobiologijo (angl. European Manual of Clinical Microbiology, EMCM) priporočajo odvzem do 4 % celotnega krvnega volumna, čeprav se priporočeni maksimalni volumen glede na telesno maso razlikuje od priporočil ASM/IDSA (Tabela 1) (10, 13).

Enostavnejša za uporabo, a nekoliko manj natančna, je določitev volumna glede na otrokovo starost, kar uporabljamo tudi pri v UKC Ljubljana (Tabela 2). Raziskave, ki bi neposredno primerjale priporočila glede na starost in telesno težo, zaenkrat še niso na voljo.

Tabela 1. Priporočila za volumen odvzetih hemokultur v pediatrični populaciji (8)

Priporočila glede na telesno težo otroka										
		Set hemokultur (IDSA/ASM)*				Set hemokultur (EMCM)**				
Teža (kg)	Skupni volumen krvi otroka, ml (IDSA/ASM)*	Odvzem št. 1 (ml)	Odvzem št 2 (ml)	Skupni volumen odvzete krvi, ml (%)	aerobna	anaerobna	Skupni volumen odvzete krvi, ml (%)			
≤ 1	50–99	2	...	2 (2–4)	...	0,5–2	0,5–2 (0,5–4)			
1,1–2	100–200	2	2	4 (2–4)	...	1,5–4,5	1,5–4,5 (0,75–4,5)			
2,1–12,7	> 200	4	2	6 (3)	-	3–6	3–6 (1,5–3)			
12,8–36,3	> 800	10	10	20 (2,5)	5	5–7	10–12 (1,25–1,5)			
> 36,3	> 2200	20–30	20–30	40–60 (1,8–2,7 ali manj)	10	10	20 (0,9 ali manj)			
Priporočila glede na starost otroka (CHCO)***										
Starost (leta)	< 1	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Volumen krvi (ml)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

Legenda: *IDSA/ASM – angl. Infectious Diseases Society of America American Society for Microbiology, **EMCM European Manual of Clinical Microbiology, ***CHCO Children's Hospital Colorado

Tabela 2. Priporočen volumen krvi za odvzem hemokulture v UKC LJ v pediatrični populaciji glede na starost otroka (po priporočilih Inštituta za mikrobiologijo in imunologijo (14))

Starost (leta)	Količina krvi	Število stekleničk	Hemokulturna steklenička
Do 1 leta	1–3 ml	1	BD Bactec Peds™ (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA)
1–6 let	1 x 5 ml ali 2 x 3 ml	1 ali 2	BD Bactec Peds™
6–12 let	5 ml	2	BD Bactec Peds™
Nad 12 let	8–10 ml	2	BD Bactec™

2. Število odvzetih hemokultur

Za razliko od odraslih se pri otrocih redkeje priporoča odvzem več parov vzorcev krvi za HK (13). Odvzem vsaj dveh parov, z različnih mest venepunkcij in ob različnih časih, poveča verjetnost osamitve povzročitelja in omogoča lažje razlikovanje med pravo okužbo in kontaminacijo. Odvzem več kot enega vzorca krvi za HK poveča verjetnost izolacije povzročitelja pri prehodnih bakteriemijah in zaznavanja bolj zahtevnih povzročiteljev, specifičnih za pediatrično populacijo, kot je *Kingella sp.* Skladno s smernicami IDSA je pri otrocih, težjih od 1 kg, priporočljiv odvzem dveh vzorcev krvi za HK s prilagojeno skupno količino krvi glede na telesno maso (Tabela 1). V pediatrični populaciji ima gotovo pomemben vpliv tudi dodaten stres ob večkratnih odvzemih krvi, nelagodje, oteženo sodelovanje otrok, potreba po dodatno specializiranem osebju za odvzem krvi pri otrocih in tveganje za poglobljanje anemije pri kritično bolnih otrocih (9, 15).

V obsežni raziskavi, ki je zajela vse izraelske bolnišnice z otroškimi oddelki, so primerjali uspešnost odvzema enega proti dveh vzorcem krvi za HK pri otrocih. Ugotovili so, da je bil delež pozitivnih HK pri enem odvzetem vzorcu bistveno nižji kot pri odvzemu dveh (1,0 % proti 8,9 %, $p < 0,001$). Zaključili so, da odvzem dveh vzorcev krvi za HK pri otrocih izboljša občutljivost preiskave ter odraža višjo predtestno verjetnost okužbe. Za optimizacijo diagnostike so potrebne jasne smernice, ki ob prisotni indikaciji priporočajo odvzem dveh vzorcev krvi za HK, zlasti na urgentnih oddelkih (15).

3. Čas odvzema

Tradicionalno je veljalo, da je za optimalen izplen HK priporočljivo kri odvzeti ob naraščanju telesne temperature. V raziskavi iz leta 2016 so Kee in sodelavci ugotovili, da povišana telesna temperatura pred odvzemom HK ni občutljiv niti specifičen dejavnik, ki bi vplival na pozitivnost HK (16). Avtorji so zaključili, da čas odvzema HK glede na prisotnost ali odsotnost vročine pri otrocih ni pomemben. V primeru indikacije za odvzem krvi za HK torej ni potrebno čakati, da se temperatura pri bolniku prične zviševati. Omenjeno potrjuje tudi retrospektivna multicentrična raziskava na odraslih bolnikih iz leta 2008, v kateri pri 1436 bolnikih niso dokazali statistično pomembne povezave med časom odvzema glede na telesno temperaturo in večjim izplenom pozitivnih HK (17).

4. Anaerobno gojišče

Patogeni, ki povzročajo bakteriemijo v pediatrični populaciji, so pretežno aerobi, zato je smiselno odvzeti vzorec krvi v aerobno hemokulturno stekleničko. Dodaten odvzem v anaerobno stekleničko načeloma ni potreben, saj bakteriemije, povzročene z obligatnimi anaerobi, predstavljajo manj kot 1 % vseh primerov okužb krvi pri otrocih (9, 18). Kljub temu nedavne raziskave poudarjajo določene prednosti uporabe anaerobnih hemokulturnih stekleničk. V raziskavi je Dien Bard s sodelavci izključno iz anaerobnih gojišč izolirala 31 klinično pomembnih fakultativnih anaerobov, vključno z vrstami *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* in *Streptococcus pneumoniae* (19). V raziskavi Ransona s sodelavci (20) pa so od 389 anaerobnih hemokultur, odvzetih pri otrocih, v 15 (1,8 %) primerih identificirali skupaj 16 obligatornih anaerobov, med njimi tudi *Fusobacterium necrophorum*. Glede na literaturo je odvzem krvi v anaerobne hemokulturne stekleničke

lahko priporočen, v kolikor z dodatnim odvzemom ne presežemo 4 % celotnega volumna krvi. Možne indikacije so: sepsa, ki izvira iz trebuha, sepsa, ki izvira iz kože, povzročena s potencialnimi anaerobi (hud mukozitis, ugrizi, razjede v križničnem predelu, zmečkanine), bolnišnična sepsa po abdominalni ali travmatološki operaciji, sepsa z hipotenzijo, ki je slabo odzivna na zdravljenje, odontogeni vzrok febrilnega stanja, kronične okužbe (sinusitis, osteomielitis), bolniki z okvaro imunosti (1).

5. Postopek odvzema

Kri za HK odvajamo ob utemeljenem sumu na bakteriemijo z upoštevanjem navodil za odvzem, v aseptičnih pogojih s punkcijo iz periferne vene z zaprtim sistemom s pomočjo adapterja. Pri sumu na okužbo žilnega pristopa kri odvajamo tudi iz tega. Prvi vzorec, odvzet iz katetra, praviloma zavržemo. V kolikor odvajamo dva para, ju odvajamo v razmiku od 10 do 60 minut (optimalno 30 minut) z različnih mest. Vedno najprej napolnimo kri v aerobno stekleničko, da preprečimo dostop zraka v anaerobno stekleničko in s tem povečamo verjetnost izolacije morebitnih anaerobnih mikroorganizmov (14).

Optimalni čas transporta v laboratorij je do 2 uri pri sobni temperaturi, v kolikor to ni mogoče, lahko vzorec shranimo do največ 12 ur pri sobni temperaturi oziroma po navodilu proizvajalca, zaščiten pred svetlobo.

6. Transport in analiza hemokultur

V večini bolnišnic so otroci s sumom na sepsa deležni izkustvenega antibiotičnega zdravljenja in kliničnega spremljanja najmanj 48 ur oziroma do prejema rezultatov HK. Ameriška akademija za pediatrijo (angl. American Academy of Pediatrics, AAP) priporoča prekinitev antibiotičnega zdravljenja pri novorojenčkih, zdravljenih zaradi suma na zgodnjo neonatalno sepsa, po 48 urah, če so HK negativne in to omogočajo klinične okoliščine (21). Več raziskav, izvedenih pri dojenčkih, mlajših od 90 dni, je v času uporabe sodobnih avtomatiziranih hemokulturnih aparatov za neprekinjeno spremljanje rasti v HK postavilo pod vprašaj upravičenost trajanja empiričnega antibiotičnega zdravljenja in opazovanja. Ugotovili so, da je bilo ≥ 90 % vseh HK pozitivnih že v 36 urah, ter da skrajšanje obdobja izkustvenega antibiotičnega zdravljenja in opazovanja na 24–36 ur ni bilo povezano s povečanjem neželenih izidov (22, 23).

Čas do pozitivnosti hemokultur (angl. time to positivity, TTP) je prav tako odvisen od volumna krvi, inokulirane v stekleničko, pri čemer je za manjše količine vzorca krvi potrebna daljša inkubacija. Pomembno je poudariti, da TTP predstavlja čas od vstavitve posamezne stekleničke v hemokulturni aparat do trenutka, ko aparat stekleničko prepozna kot pozitivno in ne od trenutka odvzema vzorca. Vzorci, ki so odvzeti izven običajnega delovnega časa, so pogosto procesirani šele naslednje dan. Poleg tega lahko odvzem krvi na eni lokaciji in njen transport v centralizirani laboratorij pomembno podaljša čas prevoza, kar še dodatno podaljša čas do začetka inkubacije. Na podlagi trenutnih dokazov lahko zaključimo, da je TTP odvisen od številnih dejavnikov, vendar iz literature lahko povzamemo, da bi inkubacija od 36 ur za zgodnjo neonatalno sepsa in 48 ur v večini drugih kliničnih primerov brez zaznane rasti mikroorganizmov v HK, zadoščala za sporočanje preliminarne negativnega izvida (24). Pomanjkljivosti trenutno razpoložljivih podatkov o optimalni uporabi časa do pozitivnosti (TTP) pri odločanju o trajanju izkustvenega antibiotičnega zdravljenja pri sumu na sepsa so:

pomanjkanje podatkov za starejše pediatrične skupine izven zgodnjega neonatalnega obdobja, odsotnost multicentričnih raziskav in pomanjkanje podrobne karakterizacije lastnosti gostitelja in patogena.

INDIKACIJE ZA ODVZEM VZORCA KRVI ZA HEMOKULTURE PRI OTROKU Z VROČINO (v sprejemni ambulantni / na otroškem oddelku)

V literaturi zasledimo različne smernice glede indikacij za odvzem vzorca krvi za HK pri otrocih (1, 2). Pričujoča stališča smo oblikovali predvsem na podlagi epidemioloških podatkov o verjetnosti bakteriemije pri posameznih kliničnih stanjih. Pri odločanju o odvzemu krvi za HK je potrebno upoštevati tudi resnost stanja in vpliv izvida preiskave na nadaljnjo obravnavo. V prispevku se osredotočamo na otroke brez pridruženih bolezni z vročino, izhodišča pa smo razmejili glede na prisotnost izvornega mesta okužbe, ob čemer je nestabilno hemodinamsko stanje otroka spremenljivka, ki narekuje odvzem vzorca krvi za HK ne glede na omenjene ugotovitve. Poudarjamo, da lahko prispevek služi kot oprijemljivo izhodišče, ob večplastnosti odločitve pa ostaja ključnega pomena klinična presoja lečečega zdravnika (25).

1. Indikacije za odvzem krvi za HK pri otroku z vročino brez jasnega mesta okužbe (1)

Odvzem vzorca krvi za HK je **vedno priporočen**:

- pri sumu na sepo / septični šok / toksični šok
- pri sumu na meningokokcemijo
- pri mlajših od 3 mesecev^a
- pri otroku z vročino dlje kot 7 dni
- pri otroku z motnjo imunosti ali dolgotrajnim žilnim katetrom
- pri popotnikih po vrnitvi iz tropskih krajev^b

Razmisli o odvzemu vzorca krvi za HK pri:

- otrocih, starih od 3 do 36 mesecev, ki so nepopolno cepljeni^c
- otrocih, starejših od 3 mesecev, ki so v dobrem splošnem stanju in polno cepljeni^c

- a. Verjetnost prikrite bakteriemije (PB) je v prvih treh mesecih 2–2,2 %, v povezavi s pozitivno urinokulturo pa znaša 4,4 % (26), zato je odvzem vzorca krvi za HK v tem obdobju priporočen pri dojenčkih, mlajših od treh mesecev z vročino brez jasnega izvora, ki je enaka ali višja od 38 °C (27). Vročina, višja od 40 °C, se je izkazala za dober napovedni dejavnik resne bakterijske okužbe pri dojenčkih, mlajših od 3 mesecev. Pri starejših otrocih je korelacija med stopnjo vročine in verjetnostjo za resno bakterijsko okužbo manj jasna. Trajanje vročine ali odziv na antipiretike nista povezana z višjim tveganjem za bakterijsko okužbo (28).
- b. Ob anamnezi potovanja v kraje, kjer je povečano tveganje za tropske bolezni, je odvzem vzorca krvi za HK indiciran predvsem zaradi možnosti tifusa in ob večji verjetnosti bakterijskih okužb ob malariji.
- c. Po vzpostavitvi rutinskega cepljenja proti *H. influenzae* tipa b (Hib) je verjetnost bakteriemije pri dojenčkih in malčkih upadla iz 3–11 % na 1,6–4,3 % tudi v skupini nepopolno cepljenih otrok zaradi učinka kolektivne imunosti. V državah, kjer dosegajo večjo precepljenost s pnevmokoknim cepivom, poročajo o dodatnem upadu pojavnosti PB in o spremenjeni epidemiologiji povročiteljev PB. Številne raziskave niso potrdile večje pojavnosti PB pri nepopolno cepljenih ali necepljenih otrocih (29, 30).

2. Indikacije za odvzem krvi za HK pri otroku z vročino, pri katerem klinično ugotavljamo mesto okužbe

Odvzem HK je **priporočen** ob sumu na katero koli od naslednjih stanj:

- bakterijski meningitis^a
- endokarditis^b
- osteoartikularne okužbe (osteomielitis/septični artritis) ^c
- huda bakterijska pljučnica^d
- pljučnica z zapleti^d
- globoke okužbe mehkih tkiv (piomiozitis, nekrotizirajoči fasciitis), povrhnje okužbe kože in mehkih tkiv z zapleti ^e
- okužba sečil pri mlajših od dveh mesecev^f
- zapletena okužba sečil^f
- dojenčki, mlajši od treh mesecev, z znanim mestom okužbe, ki terja hospitalno zdravljenje
- okužba pri otrocih z motnjo imunosti oz. dejavniki tveganja (znotrajžilni katetri)

Razmisli o odvzemu HK:

- bakterijska pljučnica s potrebo po parenteralnem antibiotičnem zdravljenju^d
- okužba sečil s potrebo po parenteralnem antibiotičnem zdravljenju^f
- apendicitis/peritonitis z zapleti^g
- zaplet okužb v področju glave in vratu (mastoiditis, sum na para/retrofaringealni absces)^h

Odvzema HK **praviloma ne izvajamo**:

- nezapletene površinske okužbe kože in mehkih tkiv^e
- doma pridobljena in ambulantno zdravljena pljučnica^d
- nezapletene okužbe sečil pri starejših od 2 mesecev^f

- a. Ob sumu na bakterijski meningitis ima odvzem hemokultur visoko diagnostično vrednost, saj je rezultat pozitiven pri 40–90 % potrjenih primerov (31). V primeru, da lumbalna punkcija ni izvedena, je lahko hemokultura edina kužnina, ki omogoča usmerjeno zdravljenje.
- b. Ob sumu na infekcijski endokarditis (IE) so potrebni vsaj trije ločeni odvzemi v 24 urah z vsaj enournimi razmiki (32).
- c. V literaturi poročajo o različnih deležih pozitivnih HK pri otrocih z osteoartikularnimi okužbami. McNeil idr. ugotavljajo, da občutljivost HK pri otrocih s septičnim artritisom (SA) znaša 46 % (33). Glede na dostopnost preiskave in visok diagnostični izplen (> 50 %) je ob sumu na osteoartikularno okužbo pred uvedbo antibiotične terapije vedno indiciran odvzem krvi za HK, tudi pri afebrilnih bolnikih (34, 35).
- d. Verjetnost bakteriemije pri doma pridobljeni pljučnici znaša od 2,1 do 7 %. Pozitivno HK pogosteje beležimo pri pljučnici z zapleti (10 %), od tega v najvišjem deležu pri pljučnici z empiemom (20 %) (36). Mikrobiološke preiskave za dokaz povzročitelja na primarni ravni niso potrebne, odvzem krvi za HK pa opravimo v primeru hude bakterijske pljučnice in pljučnice z zapleti (37). Glede na izkušnje KIBVS je pozitivna HK pri otrocih z bakterijsko pljučnico z nezapletenim potekom sicer redek, vendar potencialno dragocen vir podatkov o občutljivosti povzročitelja, zato jih praviloma odvajamo pri vseh otrocih, ki potrebujejo parenteralno antibiotično zdravljenje.
- e. Izsledki raziskave (n = 580) pri imunsko zdravih otrocih izpostavljajo ničelno pojavnost bakteriemije pri otrocih s povrhnjo okužbo kože in mehkih tkiv z nezapletenim potekom, medtem ko so v primeru zapletov ugotavljali pozitivno HK v 12,5 % (38).
- f. Verjetnost bakteriemije pri otroku z okužbo sečil in vročino upada s starostjo otroka. V novorojenčkovem obdobju znaša do 20 %, pri otrocih, starejših od 3 mesecev, pa je nižja od 5 % (1). Medtem ko je odvzem krvi za HK nedvomno indiciran pri otrocih z okužbo sečil, mlajših od 2 mesecev, pa pri starejših otrocih rutinsko jemanje HK ni potrebno. Pozitivna HK namreč večinoma ne spremeni vrste zdravljenja, ker bakterijo, ki je bila osamljena iz krvi, osamimo tudi v urinokulturi. Vedno odvajamo vzorec krvi za HK ob sumu na zapleteno okužbo sečil (39, 40).
- g. Pri otrocih s sumom na okužbo v trebušni votlini je verjetnost za mikrobiološki dokaz povzročitelja s HK relativno nizka (1,42 %), od tega so le v 0,05 % potrdili obligatne anaerobe (41), kar je potrebno upoštevati ob izbiri gojišča. Za odvzem krvi za HK se odločamo glede na klinično stanje otroka in verjetnost zapletov ter ob prisotnosti peritonitisa. V primeru potrebe po kirurškem posegu so zlati diagnostični standard mikrobiološki vzorci, odvzeti iz abdominalne votline med operacijo (1).
- h. V literaturi so podatki o pojavnosti bakteriemije pri otrocih z zapleti okužb v področju glave in vratu omejeni. Pri otrocih, ki zaradi suma na globoko okužbo v tem področju potrebujejo sprejem v bolnišnico, je priporočen tudi odvzem HK (1).

INDIKACIJE ZA ODVZEM VZORCA KRVİ ZA KONTROLNO HEMOKULTURO

Klinična korist rutinskega jemanja vzorcev krvi za kontrolno HK je vprašljiva. Z odvzemom se pojavi tveganje za lažno pozitiven rezultat, kar bolnika obremeni z dodatnimi odvzemi krvi, slikovnimi preiskavami in nepotrebnim protimikrobnim zdravljenjem, kar povečuje stroške in podaljšuje trajanje bolnišničnega zdravljenja. Po drugi strani večje število odvzetih HK povečuje diagnostični izplen pri infekcijskem endokarditisu. Zabeležena odsotnost bakteriemije ima vpliv na trajanje antibiotičnega zdravljenja, ki ga štejemo od zadnje negativne kulture (42).

Raziskav pri otrocih, ki bi bili podlaga za smernice za odvzem kontrolnega vzorca krvi za HK, je zelo malo. Puthawala je v raziskavi pri 402 otrocih ugotavljala, da so le *S. aureus*, kvasovke in *Pseudomonas aeruginosa* imeli stopnjo pozitivnosti kontrolne HK višjo od 25 % (43). Ugotavljali so še povezavo vztrajajoče bakteriemije s prisotnostjo osrednjega znotrajžilnega katetra in predhodne nedavne bakteriemije, ne pa tudi z imunskim statusom bolnika. Iz kontrolnih HK niso dokazali anaerobov, enterokokov ali streptokokov. Poudarili pa so, da je odvzem vzorca krvi za kontrolno HK lahko koristen, v kolikor dvomimo v učinkovitost zdravljenja bakteriemije, povzročene s *P. aeruginosa*, nefermentativnimi po Gramu negativnimi bacili, koagulaznonegativni stafilokoki iz osrednježilnega katetra ali črevesnimi po Gramu negativnimi bacili (43).

Raziskava pri otrocih, mlajših od treh mesecev z okužbo sečil, je pokazala, da so pozitivno kontrolno HK pogostejše imeli tisti, pri katerih je iz prve HK porasel *Enterobacter sp.*, in dojenčki z vezikouretralnim refluksom. Zdravi dojenčki z okužbo sečil, povzročeno z *E. Coli*, so imeli nizko tveganje za pozitivno kontrolno HK (44).

Pri odločanju za odvzem krvi za kontrolno HK pri otrocih so nam v oporo smernice za odrasle bolnike (45). Tako je odvzem **kontrolnih HK potreben** pri:

- Sumu na endovaskularno okužbo: endokarditis, tromboflebitis, bolnikov s trajnim epiduralnim katetrom, vgrajenim srčnim spodbujevalnikom ali kardioverter defibrilatorjem.
- Bakteriemiji, povzročeni s *S. aureus* – vztrajajoča bakteriemija terja odstranitev vira okužbe in podaljša trajanje zdravljenja (pri infektivnem endokarditisu vsaj 4 tedne, nezapletena bakteriemija 14 dni).
- Kandidemiji: pri vztrajajoči kandidemiji s slikovnimi preiskavami aktivno iščemo vir okužbe. Po začetnem zdravljenju z ehinokandinom le-tega lahko zamenjamo s flukonazolom pri občutljivem izolatu, klinično stabilnem bolniku in negativni kontrolni HK.
- Pri bolnikih z IE ali drugo endovaskularno okužbo, povzročeno s *S. aureus*, enterokoki ali po Gramu negativnimi bacili, je potreben odvzem vzorca krvi za kontrolno HK za potrditev terapevtskega odziva pred morebitnim preходом na ambulantno parenteralno antibiotično zdravljenje.
- Bakteriemiji, povzročeni z večkrat odpornimi po Gramu negativnimi bakterijami – negativna kontrolna HK potrdi učinkovitost zdravljenja, v primeru vztrajanja pozitivne HK je včasih potrebna kombinacija antibiotikov s sinergističnim učinkom.
- Febrilni nevtropeniji: pri več kot 10% bolnikov je kontrolna HK pozitivna po začetni negativni, vendar so iz kontrolne HK večkrat osamili nizkopatogene organizme, pomemben je bil tudi delež koagulazno negativnih stafilokokov (46). Predhodna nedavna bakteriemija se je izkazala za napovedni dejavnik za pozitiven izvid hemokulture pri ponavljajoči se febrilni nevtropeniji (47).

- Vztrajajoči ali novi okužbi: vztrajanje vročine, levkocitoze ali drugih znakov okužbe 72 ur po začetku ustreznega antibiotičnega zdravljenja terja ponoven odvzem vzorca krvi za HK ob sumu na novo epizodo sepse ali pri bakteriemiji, povezani z dolgotrajnimi znotrajžilnimi katetri. Vztrajanje bakteriemije je povezano s trajanjem antibiotičnega zdravljenja (od zadnje negativne kulture) in odločitvijo o odstranitvi ali ohranitvi katetra. Čas vstavitve novega katetra je odvisen od prejema negativnega izvida kontrolne HK (48).
- Nerazrešenem žarišču okužbe (absces, okužba sklepa, ohranjen osrednji venski kateter)
- Bakteriemiji neznanega izvora: pri vztrajanju pozitivne HK moramo iskati izvor okužbe.

Odvzem kontrolne HK **ni rutinsko potreben** pri:

- streptokokni bakteriemiji
- nezapleteni bakteriemiji, povzročeni s po Gramu negativnimi bakterijami
- bakteriemiji zaradi zamejene okužbe (celulitis, doma pridobljena pljučnica, pielonefritis)
- vztrajanju vročine v prvih 72 urah antibiotičnega zdravljenja

Glede pogostosti jemanja vzorcev krvi za kontrolne HK ni smernic, ki bi temeljile na dokazih. IDSA priporoča odvzem na 2–4 dni pri bakteriemiji zaradi proti meticilinu odpornega *S. aureus* (MRSA) in vsak dan ali vsak drug dan pri kandidemiji. Splošno veljavno pravilo za odvzem kontrolnih HK je 48–72 ur po prvi pozitivni HK (45).

ZAKLJUČEK

Hemokultura je ena temeljnih mikrobioloških preiskav, ki je pri bakterijskih okužbah pogosto ključna za identifikacijo povzročitelja in ustrezno zdravljenje. Pravilen odvzem vzorca krvi za hemokulturo neposredno vpliva na relevantnost rezultata preiskave, zmanjša možnost kontaminacije ali lažno negativnega rezultata, kar vse skupaj vodi k boljšem kliničnem izidu. Večina indikacij za odvzem vzorca krvi za hemokulturo je jasnih in splošno znanih, v nekaterih primerih se priporočila razlikujejo glede na lokalne razmere, vedno pa ostaja nezanemarljivega pomena klinična presoja lečečega zdravnika.

LITERATURA

1. Hernández-Bou S, Álvarez Álvarez C, Campo Fernández MN, García Herrero MA, Gené Giralte A, Giménez Pérez M, et al. Hemocultivos en urgencias pediátricas. Guía práctica de recomendaciones: indicaciones, técnica de extracción, procesamiento e interpretación [Blood cultures in the paediatric emergency department. Guidelines and recommendations on their indications, collection, processing and interpretation]. *An Pediatr*. 2016;84(5):294.e1-9.
2. Mass General Brigham. Guidelines for Initial Blood Culture Collection in Children. <https://shea-online.org/wp-content/uploads/2024/08/Mass-General-Brigham-Guidelines-for-Initial-Blood-Culture-Collection-in-Children.pdf> (Dostopano 12.4.2025)
3. Dodson J, Badawy M, Tekippe M, Hennes H. Utility of Blood Cultures in Healthy Children with a History of Fever Presenting to the Emergency Department: A Comparison of Afebrile Versus Febrile on Presentation. *J Pediatr Emerg Intensive Care Med*. 2021;8(2):101-8.
4. Kučan R, Mramor M, Velimirović I, Pirš M, Pokorn M. Bakteriemija in sepsa pri otrocih, obravnavanih v Univerzitetnem kliničnem centru: mikrobiologija in klinična slika = Bacteremia and sepsis in children treated at the University medical center Ljubljana : microbiology and clinical features. V: Logar M, Beović, B, Lejko-Zupanc T, ur. *Infektološki simpozij 2022 : zoonoze - včeraj, danes, jutri*. Ljubljana: Sekcija za protimikrobno zdravljenje SZD, 2022. Str. 185-93.

5. Kučan R, Jarc Georgiev K, Strajnar K, Velimirović I, Pirš M, Kastrin T, et al. Vpliv cepljenja na pojavnost invazivnih pnevmokoknih okužb pri otrocih, hospitaliziranih v UKC Ljubljana med letoma 2013 in 2021 = The impact of vaccination on the incidence of invasive pneumococcal infections in children hospitalized at the UMC Ljubljana from 2013 to 2021. In Sekcija za protimikrobno zdravljenje SZD; Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja, Univerzitetni klinični center; Katedra za infekcijske bolezni in epidemiologijo MF Univerze; 2023. p. 224–31.
6. https://nizj.si/wp-content/uploads/2025/04/Predsolski-otroci_precepljenost_2024_preliminarno-porocilo_23042025.pdf (Dostopano 28.4.2025)
7. https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2024/20240311161892/anx_161892_sl.pdf (dostop 5.5.2025)
8. Truong TT, Lu J, Dien Bard J. Blood Cultures in Children: Maximizing Their Usefulness. *Pediatr Infect Dis J.* 2024;43(10):e354-7.
9. Huber S, Hetzer B, Crazzolaro R, Orth-Höller D. The correct blood volume for paediatric blood cultures: a conundrum? *Clin Microbiol Infect.* 2020;26(2):168-73.
10. Kellog JA, Manzella JP, Bankert DA. Frequency of low-level bacteremia in children from birth to fifteen years of age. *J Clin Microbiol.* 2000;38:2181-5.
11. Lancaster DP, Friedman DF, Chiotos K, et al. Blood volume required for detection of low levels and ultralow levels of organisms responsible for neonatal bacteremia by use of Bactec Peds PLUS/F, plus Aerobic/F medium, and the BD Bactec FX system: an in vitro study. *J Clin Microbiol.* 2015;53:3609-3613
12. Clinical and Laboratory Standards Institute. CLSI Document M47-E2:Principles and procedures for blood cultures; approved guideline. 2nd ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2022.
13. Miller JM, Binnicker MJ, Campbell S, Carroll KC, Chapin KC, Gonzalez MD, et al. Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2024. Update by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM). *Clin Infect Dis.* 2024:ciae104.
14. Univerzitetni klinični center Ljubljana. Odvzem hemokultur pri otrocih. <https://edge.kclj.si/#documents/%20046cab3f1d984256a8a09dab5e32b8d6/?searchText=odvzem%20hemokultur%20pri%20otrocih&pageSize=15&page=1> Dostopano 7.5.2025.
15. Zalmanovich A, Temkin E, Biran D, Carmeli Y. The Yield of One vs. Two Blood Cultures in Children: Under-Detection and Over-Testing. *Antibiotics (Basel).* 2024;13(2):113.
16. Kee, PPL, Chinnappan M, Nair A, Yeak D, Chen A, Starr M, et al. Diagnostic Yield of Timing Blood Culture Collection Relative to Fever. *Pediatr Infect Dis J.* 2016;35(8):846-50.
17. Riedel S, Bourbeau P, Swartz B, Brecher S, Carroll KC, Stamper PD, et al. Timing of specimen collection for blood cultures from febrile patients with bacteremia. *J Clin Microbiol.* 2008;46(4):1381-5. Erratum in: *J Clin Microbiol.* 2008;46(7):2475.
18. Zaidi AK, Knaut AL, Mirrett S, Reller LB. Value of routine anaerobic blood cultures for pediatric patients. *J Pediatr.* 1995;127(2):263-8.
19. Dien Bard J, Chang TP, Yee R, Manshadi K, Lichtenfeld N, Choi HJ, et al. The Addition of Anaerobic Blood Cultures for Pediatric Patients with Concerns for Bloodstream Infections: Prevalence and Time to Positive Cultures. *J Clin Microbiol.* 2020;58(9):e01844-19.
20. Ransom EM, Burnham CD. Routine Use of Anaerobic Blood Culture Bottles for Specimens Collected from Adults and Children Enhances Microorganism Recovery and Improves Time to Positivity. *J Clin Microbiol.* 2022;60(9):e0050022.
21. Polin RA, Committee on Fetus and Newborn. Management of neonates with suspected or proven early-onset bacterial sepsis. *Pediatrics* (2012) 129:1006–15
22. Biondi EA, Mischler M, Jerardi KE, Statile AM, French J, Evans R, et al. Blood culture time to positivity in febrile infants with bacteremia. *JAMA Pediatr.* 2014;168:844–9.
23. Byington CL, Reynolds CC, Korgenski K, Sheng X, Valentine KJ, Nelson RE, et al. Costs and

-
- infant outcomes after implementation of a care process model for febrile infants. *Pediatrics*. 2012;130(1):e16–24.
24. Dierig A, Berger C, Agyeman PKA, Bernhard-Stirnemann S, Giannoni E, Stocker M, et al. Swiss Pediatric Sepsis Study. Time-to-Positivity of Blood Cultures in Children With Sepsis. *Front Pediatr*. 2018 Aug 8;6:222.
 25. Woods-Hill CZ, Nelson MN, Eriksen W, Rendle KA, Beidas RS, Bonafide CP, et al. Determinants of Blood Culture Use in Critically Ill Children: A Multicenter Qualitative Study. *Pediatr Qual Saf*. 2023; Apr 10;8(2):e647.
 26. Gómez B, Mintegi S, Benito J, Egireun A, Garcia D, Astobiza E. Blood culture and bacteremia predictors in infants less than three months of age with fever without source. *Pediatr Infect Dis J*. 2010;29(1):43–7.
 27. Fever in under 5s: assessment and initial management NICE guideline. 2019 [cited 2025 Mar 12]; Available from: www.nice.org.uk/guidance/ng143.
 28. Ishimine P. Risk Stratification and Management of the Febrile Young Child. *Emerg Med Clin North Am*. 2013;31(3):601–26.
 29. Dunnick J, Taft M, Tisherman RT, Nowalk AJ, Hickey RW, Wilson PM. Association of Bacteremia with Vaccination Status in Children Aged 2 to 36 Months. *J Pediatr*. 2021;232:207–213.e2.
 30. Rudinsky SL, Carstairs KL, Reardon JM, Simon L V., Riffenburgh RH, Tanen DA. Serious bacterial infections in febrile infants in the post-pneumococcal conjugate vaccine era. *Acad Emerg Med*. 2009; 16(7):585–90.
 31. Brouwer MC, Tunkel AR, Van De Beek D. Epidemiology, Diagnosis, and Antimicrobial Treatment of Acute Bacterial Meningitis. *Clin Microbiol Rev*. 2010;23(3):467.
 32. Vincek K, Mramor M, ur. Bolj ali manj nujna stanja v pediatriji. Ljubljana: Društvo za pomoč otrokom s presnovnimi motnjami, 2017.118-9.
 33. Chase McNeil J, Kaplan SL, Vallejo JG. The Influence of the Route of Antibiotic Administration, Methicillin Susceptibility, Vancomycin Duration and Serum Trough Concentration on Outcomes of Pediatric *Staphylococcus aureus* Bacteremic Osteoarticular Infection. *Pediatr Infect Dis J*. 2017;36(6):572–7.
 34. Peltola H, Pääkkönen M, Kallio P, Kallio MJT, Aalto K, Anttolainen I, et al. Clindamycin vs. first-generation cephalosporins for acute osteoarticular infections of childhood—a prospective quasi-randomized controlled trial. *Clinical Microbiology and Infection*. 2012;18(6):582–9.
 35. Autore G, Bernardi L, Esposito S. Update on Acute Bone and Joint Infections in Paediatrics: A Narrative Review on the Most Recent Evidence-Based Recommendations and Appropriate Antinfective Therapy. *Antibiotics*. 2020;9(8):486.
 36. Myers AL, Hall M, Williams DJ, Auger K, Tieder JS, Statile A, et al. Prevalence of bacteremia in hospitalized pediatric patients with community-acquired pneumonia. *Pediatr Infect Dis J*. 2013;32(7):736–40.
 37. Community-acquired pneumonia in children - Symptoms, diagnosis and treatment | BMJ Best Practice US [Internet]. Mar 11]. <https://bestpractice.bmj.com/topics/en-us/3000363> (Dostopano 11.3. 2025).
 38. Malone JR, Durica SR, Thompson DM, Bogie A, Naifeh M. Blood cultures in the evaluation of uncomplicated skin and soft tissue infections. *Pediatrics*. 2013;132(3):454–9.
 39. Rus R, Granda A, Meglič A. Akutna okužba sečil pri dojenčku, otroku in mladostniku. *Slov Pediatrija*. 2023;30(4):171–5.
 40. Blejc Novak A, Ključevšek D, Plankar Srovin T, Pšeničny Ažman E, Novljan G. Zapletene okužbe sečil pri otrocih. *Slov Pediatrija*. 2023;30(4):176–82.
 41. Gross I, Gordon O, Abu Ahmad W, Benenson S, Piatkowski BS, Eventov-Friedman S, et al. Yield of Anaerobic Blood Cultures in Pediatric Emergency Department Patients. *Pediatr Infect Dis J*. 2018;37(4):281–6.
-

42. Tabriz MS, Riederer K, Baran J Jr, Khatib R. Repeating blood cultures during hospital stay: practice pattern at a teaching hospital and a proposal for guidelines. *Clin Microbiol Infect.* 2004;10(7):624-7.
43. Puthawala CM, Feinn RS, Rivera-Viñas J, Lee H, Murray TS, Peaper DR. Persistent bloodstream infection in children: examining the role for repeat blood cultures. *J Clin Microbiol.* 2024;62(11):e0099824.
44. Franz-O'Neal E, Olson J, Thorell EA, Cipriano FA. Follow-Up Blood Cultures in Young Infants With Bacteremic Urinary Tract Infections. *Hosp Pediatr.* 2021 hpeds.2021-006012.
45. Mushtaq A, Bredell BX, Soubani AO. Repeating blood cultures after initial bacteremia: When and how often? *Cleve Clin J Med.* 2019;86(2):89-92.
46. Rosenblum J, Lin J, Kim M, Levy AS. Repeating blood cultures in neutropenic children with persistent fevers when the initial blood culture is negative. *Pediatr Blood Cancer.* 2013;60(6):923-7.
47. Wattier RL, Dvorak CC, Auerbach AD, Weintrub PS. Repeat blood cultures in children with persistent fever and neutropenia: Diagnostic and clinical implications. *Pediatr Blood Cancer.* 2015 62(8):1421-6.
48. Shah H, Bosch W, Thompson KM, Hellinger WC. Intravascular catheter-related bloodstream infection. *Neurohospitalist.* 2013 Jul;3(3):144-51.

KDAJ JE SMISELNO UPORABITI MIKROBIOLOŠKO DIAGNOSTIKO OKUŽBE DIHAL PRI OTROCIH?

WHEN IS IT APPROPRIATE TO USE MICROBIOLOGICAL DIAGNOSTICS FOR RESPIRATORY INFECTIONS IN PEDIATRIC POPULATION?

Hana Bešić,¹ Monika Jevšnik Virant,²
Tatjana Mrvič¹, Lucijan Skubic³

¹Klinika za infektivne bolezni in vročinska stanja, UKC Ljubljana

²Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

³Klinični inštitut za specialno laboratorijsko diagnostiko, Pediatrična klinika, UKC Ljubljana

IZVLEČEK

V prispevku predstavljamo osnovne principe mikrobiološke diagnostike virusnih in bakterijskih okužb dihal. Diagnostika virusne etiologije je potrebna le v primeru potrebe po uvedbi protivirusne terapije in profilakse ali pri kohortni izolaciji. Diagnozo akutnega streptokoknega vnetja žrela postavimo z uporabo hitrega antigeneskega testa ob upoštevanju Centorjevih kriterijev. Dokazovanje adenovirusa je smiselno v primeru eksudativnega faringitisa z visokimi vnetnimi kazalci zaradi razločevanja od bakterijske okužbe, pri kateri je potrebno antibiotično zdravljenje. Za diagnostiko oslovskega kašlja so ob začetku bolezni uporabne molekularne metode za dokaz dednega materiala bakterije iz brisa nosnega dela žrela, kasneje je diagnoza serološka. Pri okužbi zunanjega sluhovoda, akutnem vnetju srednjega ušesa ter akutnem sinusitisu za uvedbo empirične antibiotične terapije mikrobiološka diagnostika ni potrebna. Pri tipični pljučnici za opredelitev etiologije lahko uporabimo osamitev povzročitelja iz sputuma, hemokulture (ki so redko pozitivne) ter pri starejših otrocih dokaz pnevmokoknega antigena v urinu. Diagnostika atipičnih pljučnic je zaradi uvedbe antibiotika smiselna v primeru suma na okužbo z *Mycoplasma pneumoniae* in *Chlamydia pneumoniae*, uporabljajo se molekularni testi iz brisa žrela.

Ključne besede: okužbe dihal, mikrobiološka diagnostika, otroci

ABSTRACT

This article outlines the fundamental principles of microbiological diagnostics for viral and bacterial respiratory infections. Diagnosis of viral etiology is only necessary when antiviral therapy or cohort isolation is required. The diagnosis of acute streptococcal pharyngitis is made using a rapid antigen test, considering the values of the Centor criteria. The detection of adenovirus is relevant in differentiating from bacterial infection, especially in cases of exudative pharyngitis with high inflammatory markers. For the diagnosis of pertussis, molecular

methods from nasopharyngeal swabs are useful at the onset of the disease, while later the diagnosis is serological. In cases of acute otitis externa, acute otitis media, and acute sinusitis, microbiological diagnostics are not required to initiate empirical antibiotic therapy. Sputum and blood cultures (rarely positive) can be used for typical pneumonia to determine the etiology. In older children, pneumococcal antigen testing from urine can also be employed. Diagnostics of atypical pneumonias is useful when there is suspicion of infection with *Mycoplasma pneumoniae* and *Chlamydia pneumoniae*, using molecular tests from throat swabs.

Keywords: respiratory tract infection, microbiological diagnostics, pediatric population

1. UVOD

Okužbe dihal spadajo med najpogostejše vzroke za pregled pri pediatru in so povezane s pomembno obolevnostjo. Poznavanje verjetnih povzročiteljev okužb dihal pomaga pri usmerjanju zdravljenja ter ima pomembno vlogo pri spremljanju epidemiologije nalezljivih bolezni (1).

Pri obravnavi otroka z okužbo dihal je pred odločitvijo za uporabo diagnostičnega testa pomembno premisliti, kaj od preiskave pričakujemo. Ali je poznavanje vzroka določene okužbe dihal pomembno za zdravljenje pacienta, obvladovanje izbruha bolezni ali epidemiološki nadzor? Pomembno je razumeti, katera je najbolj primerna kužnina, katere preiskave so na voljo, in rezultate preiskav pravilno interpretirati. Potrebno je izbrati ustrezen vzorec, ga pravilno odvzeti, shraniti in transportirati v laboratorij. Pravilen in kvaliteten odvzem je ključen za kakovosten mikrobiološki rezultat (2). Premisliti je potrebno tudi, kdaj je najprimernejši čas za odvzem kužnine glede na trajanje oziroma potek bolezni in ali je preiskava glede na starost bolnika smiselna. Poznati je potrebno tudi omejitve posameznih diagnostičnih testov (3). Poleg identifikacije patogenov lahko klinični mikrobiološki laboratorij zagotovi tudi informacije o tipizaciji sevov in o občutljivosti za protimikrobna sredstva. Pri izbiri ustrezne preiskave in njeni interpretaciji je v pomoč sodelovanje s specialistom klinične mikrobiologije (1).

Okužbe dihal so povezane z visoko porabo antibiotikov, kljub temu da antibiotično zdravljenje ni potrebno v vseh primerih. Nepotrebno in neustrezno predpisovanje antibiotikov vodi k nastanku protimikrobne odpornosti. Ustrezna uporaba mikrobioloških diagnostičnih metod je smiselna pri preprečevanju nepotrebne predpisovanja antibiotikov (4).

V članku se bomo osredotočili na obravnavo bolnikov na primarnem nivoju, v urgentnih ambulantah in oddelkih. Ne bomo se dotaknili obravnave v enotah intenzivne terapije, prispevek ne bo zajel diagnostike okužb dihal pri bolnikih z okvaro imunosti, s cistično fibrozo in z zapletenimi okužbami (npr. empiem in pljučni absces).

Prvi del prispevka je namenjen teoretični predstavitvi diagnostike virusnih okužb ter izzi-
vov, s katerimi se ob tem zdravnik srečuje. Sledi predstavitev okužb dihal glede na anatomsko mesto okužbe ter mikrobioloških metod za etiološko opredelitev povzročiteljev okužb in indikacij za njihovo uporabo.

2. O MIKROBIOLOŠKI DIAGNOSTIKI VIRUSNIH OKUŽB DIHAL NA SPLOŠNO

V otroški dobi so najpogostejši virusni povzročitelji okužb dihal respiratorni sincicijski virus (RSV), virus influence A in B, in človeški rinovirusi (HRV), sledijo virus parainfluence 1–4 (PIV 1–4), človeški adenovirusi (HAdVs), človeški metapneumovirus (HMPV), človeški boka-

virus (HBoV) in enterovirusi (EV) (5). Virusi se najbolj intenzivno izločajo z nosnimi izločki od 2. do 4. dne bolezni, takrat je virusno breme v področju nosnega dela žrela najvišje (4).

Hitri antigeni testi (HAGT) so omejeni predvsem na uporabo v zdravstvenih ustanovah direktno ob pacientu, medtem ko molekularne mikrobiološke preiskave z metodo verižne reakcije s polimerazo (PCR, molekularni testi), ki veljajo za zlati standard za diagnostiko virusov, zaradi visoke občutljivosti in specifičnosti izvajajo mikrobiološki laboratoriji.

2.1 Hitri antigeni testi

Najbolj enostavni za uporabo, cenovno ugodni in hitri so HAGT. HAGT so dobro občutljivi pri visokem virusnem bremenu, vendar se občutljivost testa z nižanjem koncentracije virusa hitro zmanjša. Na virusno breme vpliva čas poteka bolezni (le-to je nizko na začetku pojava simptomov ter na koncu bolezni), cepilni status (npr. pri gripi, covid-19 in okužbi z RSV). HAGT ne zajamejo vseh virusnih različic. Poleg tega se virusi najhitreje spreminjajo ravno v beljakovinah, ki se pri HAGT uporabljajo za dokazovanje virusa. HAGT so pri otrocih bolj občutljivi kot pri odraslih zaradi višjega virusnega bremena. Kljub temu pa HAGT nikoli ne dosežejo občutljivosti in specifičnosti molekularnih testov. Pri testiranju otrok s HAGT v primerjavi z molekularnimi metodami lahko zaradi nizke občutljivosti zgrešimo 11,1 % pozitivnih otrok s SARS-CoV-2, 20,9 % z RSV in 8,4 % z virusom influence A in B (3).

2.2 Molekularne preiskave

2.2.1 Predanalitična faza

Za zanesljiv rezultat molekularnih testov je potrebno poskrbeti za pravilno mesto odvzema ter kakovosten od vzem. Kako dobro je vzorec odvzet, lahko mikrobiološki laboratorij oceni glede na količino prisotnih epitelnih celic v vzorcu (2–3). Poskrbeti je potrebno za uporabo pravilnega nosilca, ustrezno shranjevanje in transport kužnine, kar je navedeno v navodilih mikrobiološkega laboratorija (3).

Za opredelitev virusnega povzročitelja okužbe dihal je ustrezen od vzem brisa nosnega dela žrela (bris NF) ali kombinacija brisa NF in brisa ustnega dela žrela. Pri sumu na virusno okužbo žrela se odvzame bris žrela: večji bris z neupogljivo palčko (6). Občutljivost molekularnih metod določanja adenovirusov in virusa influence A (H1N1) je višja iz brisa ustnega dela žrela, za influenco B iz brisa NF, za občutljivost določanja HMPV, RSV ali influence A (H3N2) pa ni razlike, ali je odvzet bris NF ali ustnega dela žrela (7).

Bris NF ni ustrezna kužnina v primeru trombocitopenije, po operaciji sinusov ali v področju lobanjske baze ali po poškodbi lobanjske baze. V teh primerih je bolj ustrezno odvzeti bris nosu in ustnega dela žrela (8–9).

2.2.2 Diagnostične možnosti, ki so na voljo v Sloveniji

V okviru molekularnih preiskav s pomočjo metode PCR v realnem času (RT-PCR) v vzorcih lahko dokažemo prisotnost virusnega dednega materiala (4). Tovrstne preiskave se običajno opravljajo v mikrobioloških laboratorijih. V Sloveniji imajo medicinsko mikrobiološke laboratorije Klinika Golnik, Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano (v Mariboru, Ljubljani, Kranju, Celju, Kopru, Novem mestu, Novi Gorici in Murski Soboti), Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo Medicinske fakultete v Ljubljani, Splošna bolnišnica dr. Franca Derganca Nova Gorica in Univerzitetni klinični center Ljubljana.

Respiratorni paneli se med mikrobiološkimi laboratoriji razlikujejo tako po različnih kombinacijah vključenih tarč kakor tudi po občutljivosti in specifičnosti. Vključujejo lahko naslednje virusne tarče: virus influence A s podtipi, virus influence B, RSV (A in B), HMPV, PIV 1–4, HRV, EV, človeški koronavirusi (HCoV), SARS-CoV-2, parehavirus, HAdVs in HBoV. Paneli lahko kot tarče vključujejo tudi nekatere glavne bakterijske povzročitelje okužb dihal (npr. *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis*, *Mycoplasma pneumoniae* in *Chlamydia pneumoniae*).

Kadar je obravnava otroka odvisna od hitrega rezultata mikrobiološke diagnostike, lahko vzorce testiramo s hitrim molekularnim testom (npr. respiratorni panel Biofire FilmArray, Biomerieux), ki omogoča rezultate v 1–2 urah po sprejemu vzorca in vključuje širok spekter virusnih tarč (med katerimi nista zajeta HBoV in parehavirus) in štiri bakterije (*M. pneumoniae*, *C. pneumoniae*, *B. pertussis* in *B. parapertussis*). Primeren vzorec za preiskavo je bris NF (10). Vendar pa test zaradi visoke občutljivosti in kvalitativnega rezultata velikokrat ne omogoča smotrne analize, zaradi česar pride do zapletov pri interpretaciji rezultatov.

2.2.3 Izzivi pri interpretaciji izvida

Molekularni testi ne omogočajo ločevanja med dejanskimi povzročitelji okužbe in kolonizatorji/kontaminanti, zato je interpretacija rezultatov pogosto zapletena. Sama prisotnost virusa v izločkih dihal pri bolniku z respiratorno okužbo ne pomeni nujno, da dokazan virus povzroča tudi bolezen, saj ti testi dokažejo dedni material živih in tudi mrtvih virusov in bakterij (5).

Virus lahko asimptomatsko kolonizira dihalne poti. Tako pri asimptomatskih otrocih v vrtcu kot tudi pri otrocih, hospitaliziranih zaradi okužbe izven področja dihal, so v približno 30 % ugotovili prisotnost vsaj enega respiratornega virusa. Virusno breme je pri asimptomatskih nosilcih praviloma nižje kot pri otrocih z znaki okužbe dihal. Dokaz virusa influence, RSV, HMPV in PIV se smatra kot povzročitelj okužbe, saj se omenjeni virusi kot asimptomatska kolonizacija pojavljajo zelo redko. V nasprotju s tem se HRV, HBoV, adenovirusi (dokazani pri do 11 % otrok brez znakov okužbe dihal), *M. pneumoniae* in *C. pneumoniae* lahko pojavljajo kot kolonizatorji zgornjih dihal (5).

Interpretacijo rezultata zapleta tudi dolgotrajno izločanje virusov. Trajanje izločanja virusov po preboleli okužbi se med posameznimi virusi razlikuje. Na splošno velja, da se virusi, ki ne povzročajo asimptomatskega nosilstva, izločajo le še nekaj dni po okužbi, nasprotno pa velja za viruse, ki dihalne poti pogosteje kolonizirajo. Pri virusu influence je izločanje virusa najvišje prvi dan po začetku simptomov in lahko traja do 8 dni. Izločanje RSV traja med 3,4 in 7,4 dni. V nasprotju s tem lahko HRV, HBoV in adenoviruse dokažemo še več tednov po preboleli okužbi. Prisotnost virusov v področju dihal je lahko dolgotrajna tudi pri bolnikih z okvaro imunosti (5).

Virus lahko naključno dokažemo tudi znotraj inkubacijske dobe, ko še ni prisotnih znakov okužbe dihal. Inkubacijska doba respiratornih virusov je kratka: od 0,6 dneva za virus influence B do 4,4 dni za RSV (5).

Pri interpretaciji rezultatov molekularnih testov je potrebna previdnost tudi glede opredelitve koncentracije virusa v vzorcu. Molekularni testi omogočajo zgolj okvirno kvantifikacijo virusnega bremena na podlagi vrednosti praznega cikla (vrednosti Ct), natančna kvantifikacija virusnega bremena pa s to metodo/pristopom ni mogoča, ker je odvisna od zunanjih dejavnikov (npr. kvalitete odvzema brisa), uporabljene metode osamitve nukleinskih kislin, uporabljene metode za pomnoževanje tarčnih odsekov. Samo kvaliteto odvzema brisa je težko

standardizirati, saj je količina ob odvzemu brisa pridobljenih celic pri vsakem posamezniku različna, kljub temu, da je v navodilih za odvzem določeno kolikokrat je potrebno bris zavrteti.

Molekularni testi tudi ne izključujejo prisotnosti drugih patogenov, ki niso zajeti kot tarče v testiranem panelu. Poleg tega lahko tudi pri molekularnih testih pride do lažno negativnih rezultatov, ko so tarčni patogeni prisotni v koncentraciji, nižji od meje zaznavnosti testa (5).

Pogoste so tudi sočasne okužbe z vsaj dvema virusoma ali virusom in bakterijo (5). Prospektivna kohortna raziskava, ki je potekala med letoma 2011 in 2013 v Veliki Britaniji, je vključila 1317 otrok z okužbo dihal, ki so jih obravnavali v ambulantah primarnega sistema. V brisu ustnega dela žrela so s PCR metodo pri 66 % otrocih dokazali prisotnost genetskega materiala vsaj enega virusa (pri 23 % dveh virusov, pri 3,5 % treh virusov). V 28 % je bil dokazan HRV, v 10 % RSV, v 10 % skupno virusa influence A in B, v 9 % EV in PIV, v 8 % adenovirus in v 7 % HMPV (11). V korejski raziskavi iz leta 2022 so bili pri hospitaliziranih otrocih med virusnimi povzročitelji najpogostejše dokazani HRV, adenovirus, RSV, PIV, HBoV, influenza in HMPV (12). Približno polovica otrok je imela dokazan en virus, druga polovica vsaj dva virusa, kar je bilo najpogostejše pri mlajših od 6 let. Najpogostejše kombinacije virusov so bile adenovirus + HRV, RSV + HRV in HBoV + HRV. Pri približno 5 % otrok so bili prisotni trije različni virusi, najpogostejše adenovirus + HRV + HBoV (12).

3. MIKROBIOLOŠKA DIAGNOSTIKA OKUŽB ZGORNJIH DIHAL

Med okužbe zgornjih dihal spadajo prehlad, okužbe obnosnih votlin, okužbe žrela in grla ter okužbe zunanega in srednjega ušesa (4). Običajno so monomikrobne in jih povzročajo predvsem virusi, z nekaj pomembnimi izjemami, povzročenimi s specifičnimi bakterijami (npr. akutni streptokokni faringitis) (1).

3.1 Prehlad in gripi podobna bolezen

Prehlad je skupek nespecifičnih simptomov in znakov v področju zgornjih dihal (4). Prehlade povzročajo virusi, ki jih uvrščamo v 7 različnih virusnih družin, 18 različnih vrst s številnimi antigenskimi tipi, podtipi in genotipi (4). Diagnozo postavimo na osnovi klinične slike (4). Zaradi blagega in samoomejujočega poteka bolezni mikrobiološka diagnostika ni v rutinski uporabi (1, 4).

Nacionalni inštitut za javno zdravje definira gripi podobno bolezen kot nenadno nastalo slabo počutje z vročino, kašljem ter možno prisotnostjo tudi drugih simptomov in znakov v področju dihal (13).

Pri obravnavi otrok na Kliniki za infekcijske bolezni in vročinska stanja (KIBVS) so v uporabi sledeča navodila:

1. Odvzem HAGT (gripa A, B, RSV, SARS-CoV-2; četrverček) v otroški urgentni ambulanti KIBVS ob sumu na okužbo z gripo ali SARS-CoV-2, in to:
 - a. vpliva na predpis protivirusne terapije ali
 - b. vpliva na predpis profilakse pri kontaktih
 - c. ob okužbi spodnjih dihal v sezoni okužb gripe in RSV
2. Odvzem četrverček PCR:
 - a. ob negativnem HAGT pod točko 1.a in 1.b ali
 - b. pri hospitaliziranih otrocih z negativnim HAGT ali če HAGT še ni bil opravljen

3. Odvzem panela na respiratorne viruse (PCR):

- a. otroci, ki so premeščeni/sprejeti v enoto intenzivne terapije brez znane etiologije okužbe in/ali
- b. imunsko oslabei otroci brez znane etiologije okužbe in/ali
- c. otroci, pri katerih izvid brisa vpliva na odločitev o ne-predpisu/ukinitvi antibiotika in/ali
- č. ob negativnem HAGT in negativnem četverčku PCR ob potrebi za kohortno izolacijo.

Vsa tega suma na virusno okužbo dihal ni potrebno mikrobiološko potrjevati, če je klinična slika jasna. Izven obdobja kroženja omenjenih štirih virusov uporaba testa četverček ni priporočljiva zaradi nizke predtestne vrednosti.

Večina raziskav v sklopu sistematičnega pregleda literature o vplivu uporabe HAGT za diagnostiko virusov influence pri otrocih je poročala o pomembnem zmanjšanju porabe antibiotikov pri bolnikih s pozitivnim izvidom v primerjavi z bolniki z negativnim izvidom, povečala pa se je uporaba virostatikov (14). Tudi leta 2022 objavljena raziskava v sklopu multicentrične evropske raziskave MOFICHE znotraj projekta PERFORM je prikazala zmanjšano predpisovanje antibiotikov pri otrocih z vročino in znaki okužbe dihal v primeru pozitivnega rezultata HAGT na viruse influence v primerjavi z otroki, pri katerih HAGT ni bil opravljen (15). Pri otrocih s klinično sliko gripe in pozitivnim HAGT je glede na študije redkeje opravljen odvzem krvi ali urina ter rentgenogram prsnega koša. Otroci so manj pogosto sprejeti v bolnišnico oziroma je hospitalizacija krajša (5).

Obravnava bolnika ob sumu na gripi podobno bolezen je bolj poglobljeno opisana v tudi prispevku »Diagnostični algoritmi pri okužbah zgornjih dihal«.

3.2 Akutno vnetje žrela (AVŽ)

Najpogostejši povzročitelj AVŽ so virusi (adenovirusi, influenza A in B, PIV 1–3, EV, Epstein Barr virus (EBV) ter drugi), v 15–30 % primerov okužbo povzroča *S. pyogenes* (4, 6). Pri najstnikih z akutnim ali subakutnim faringitisom so v primeru negativnega rezultata kulture na betahemolitične streptokoke in negativnih diagnostičnih testov za EBV možni povzročitelji tudi anaerobne bakterije. Pri spolno aktivnih najstnikih je potrebno pomisliti tudi na okužbo s *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Treponema pallidum* in na akutni HIV sindrom (4).

Algoritem obravnave AVŽ je predstavljen v prispevku »Diagnostični algoritmi pri okužbah zgornjih dihal«.

3.2.1 Akutno streptokokno vnetje žrela

Pri večjih otrocih je običajno začetek bolezni nenaden z mrzlico, visoko vročino, bolečino pri požiranju in glavobolom, otroci pogosto bruhajo in navajajo bolečine v trebuhu. Žrelo je izrazito pordelo, uvula otekla, lahko so prisotne petehije na mehkem nebu, nebniči sta pokriti z belimi čepki ali sivobelimi oblogami, prisotna je limfadenopatija vratnih bezgavk. Pri otrocih do tretjega leta starosti lahko streptokokna okužba poteka le z blago vročino ali brez nje, sluznica žrela je skoraj nespremenjena, vratne bezgavke so povečane, pogosto je prisoten gnojen izcedek iz nosu. Mikrobiološka diagnostika okužbe s *S. pyogenes* je smiselna zaradi potrebe po uvedbi antibiotičnega zdravljenja. Kljub temu da je potek bolezni samoomejujoč, je antibiotično zdravljenje potrebno, saj z njim skrajšamo trajanje bolezni ter lahko preprečimo pojav lokalnih gnojnih zapletov in revmatične vročice. Na zmanjšanje pojava poststreptokoknega glomerulonefritisa uporaba antibiotičnega zdravljenja nima vpliva (4, 16).

Diagnozo okužbe žrela s *S. pyogenes* omogočajo HAGT iz brisa nebnic ali žrela, osamitev povzročitelja iz kužnine ali dokaz njegovega dednega materiala z molekularnim testom (17). Za katerokoli od navedenih preiskav je treba z ustreznim brisom dobro obrisati nebnici oziroma njuni ležišči, uvulo, zadnjo steno žrela, ter pri tem paziti, da se ne dotaknemo jezika in ustne sluznice. Neustrezna kužnina zmanjša občutljivost mikrobioloških preiskav. Večina HAGT ima visoko specifičnost (> 95 %) in dobro občutljivost (med 86 in 95 %) (17).

Priporočila Evropskega združenja za klinično mikrobiologijo in infekcijske bolezni (ESC-MID) za obravnavo AVŽ priporočajo uporabo kliničnih točkovnih sistemov (npr. Centorjev točkovni sistem), s katerimi ocenjujemo verjetnost streptokokne okužbe in na osnovi katerih se odločimo o smiselnosti mikrobiološke diagnostike (17). Zaradi neznačilne klinične slike in zelo majhne verjetnosti pojava revmatične vročice dokazovanje okužbe s *S. pyogenes* pri otrocih, mlajših od treh let, ni priporočeno. Testiranje pri otrocih, mlajših od treh let, z znaki akutnega vnetja žrela je smiselno le v primeru prisotnosti sorojenca, ki preboleva streptokokni faringitis (18).

Uporaba Centorjevih meril je pri otrocih manj zanesljiva kot pri odraslih, zaradi česar so razvili prilagojene Centorjeve kriterije, ki vključujejo tudi starost bolnika (9). Pri bolnikih z visokim točkovnim seštevkom (3 ali 4 po Centorjevih kriterijih) evropska priporočila svetujejo uporabo HAGT za dokaz okužbe s *S. pyogenes*. V primeru nižjega rezultata (≤ 2) uporaba HAGT ni smiselna. V primeru negativnega izvida HAGT glede na evropske smernice ni potrebno opraviti kulture brisa žrela za osamitev povzročitelja okužbe (17, 19).

S kombinacijo uporabe kliničnih kriterijev s točkovniki ter HAGT se zmanjša nepotrebno predpisovanje antibiotikov (19).

Za diagnostiko streptokoknega faringitisa serološke preiskave (npr. antistreptolizinski titer) niso smiselne, kultura po končanem zdravljenju navadno ni potrebna (6, 18–19).

Klinično sliko, podobno okužbi s *S. pyogenes* (vročina, eksudativni faringitis, cervikalna limfadenopatija), povzročajo tudi streptokoki skupine C in G. Večina raziskav v zvezi s kliničnim potekom faringitisa, povzročene s streptokoki skupine C in G, prikazuje blažji oziroma podoben potek kot pri AVŽ, povzročenem s *S. pyogenes*, posamezne raziskave ter prikazi primerov pa poročajo o težkem poteku oziroma rekurentnem faringitisu. Streptokoki skupine C in G povzročajo tudi okužbe kože in mehkih tkiv, osteoartikularne okužbe, pnevmonitis, infekcijski endokarditis, bakteriemijo oziroma sepsa, meningitis, epiglotitis, perikarditis, okužbe sečil in sinuzitis (19, 20). Po okužbi se zelo redko pojavi akutni glomerulonefritis ali reaktivni artritis, o pojavu revmatske vročice ni poročil. Okužbe pogosto potekajo v izbruhih, lahko so povezane z uživanjem kontaminirane hrane. Glede na literaturo ni jasnega odgovora, ali je dokazovanje okužb, povzročenih s streptokoki skupine C in G potrebno, enako velja za potrebo po zdravljenju (4, 6, 20). Teh povzročiteljev z uporabo HAGT ali molekularnih testov ne moremo dokazati. Dokažemo jih lahko samo z osamitvijo.

Tako *S. pyogenes* kot streptokoki skupine C in G so lahko prisotni v žrelu tudi pri osebah, ki nimajo simptomov ali znakov AVŽ; govorimo o klicenoštvu. Opravljene so bile številne raziskave, ki so prikazale prisotnost *S. pyogenes* pri tudi več kot 20 % asimptomatskih šolskih otrok (4, 19). Pri nosilcih *S. pyogenes* je tveganje za zaplete zelo nizko, enako velja za možnost širjenja okužbe (18).

3.2.2 Virusni faringitisi

Na virusnega povzročitelja akutnega vnetja žrela pomislimo ob simptomih in znakih zunaj žrela (prehladni znaki, konjunktivitis, prizadetost drugih organov, npr. jeter in vranice) ter glede na izvide laboratorijskih preiskav, med katerimi je zlasti v pomoč diferencialna krvna

slika (4). Ameriške smernice svetujejo mikrobiološko diagnostiko le v primeru suma na okužbo z EBV, HSV in HIV (6).

Adenovirusi (tipi 3, 4, 7, 14, 21) so povzročitelji približno 5 % primerov akutnega vnetja žrela. Pri AVŽ, ki ga povzročajo adenovirusi, je prisotna vročina, bolečine v žrelu so izrazite, žrelo je pordelo, z belimi oblogami. V tretjini do polovici primerov je pridruženo vnetje očesnih veznic, kar klinično sliko razlikuje od streptokoknega AVŽ (4).

Ker okužba z adenovirusi lahko poteka v obliki eksudativnega faringitisa z vročino in visokimi vnetnimi kazalci in je zato razločevanje med adenovirusno in bakterijsko okužbo oteženo, je diagnosticiranje okužbe z adenovirusi smiselno. Predvsem na primarnem nivoju ter v urgentnih centrih so v uporabi HAGT (lahko tudi v kombinaciji adenovirusa z drugimi virusi). Preiskava ima visoko specifičnost, omejena pa je z nizko občutljivostjo, zlasti pri starejših od 24 mesecev in po preteku več od 72 ur od začetka težav (21–22).

Po izkušnjah na KIBVS v primeru otroka s klinično sliko vročinskega stanja z eksudativnim faringitisom in visokimi vnetnimi kazalci ob kliničnem sumu na adenovirozo določamo adenovirus z molekularnim testom iz brisa žrela.

EV povzročajo herpangino, za katero so značilne 1–2 mm velike vezikule na področju mehkega neba, uvule in sprednjih nebnihih lokov. Diagnoza je klinična (4).

3.3 Laringitis in laringotraheitis

Značilni so inspiratorni stridor, kašelj in hripavost. Bolezen pretežno povzročajo virusi (v 80 % virusi PIV 1–4 ter tudi drugi virusi, ki prizadenejo spodnja dihalna, vključno s SARS CoV-2 in virusi influence), redko gre za primarno bakterijsko okužbo (*M. pneumoniae*, *B. pertussis*, *Mycobacterium tuberculosis* itd.). Diagnoza je klinična, mikrobiološka diagnostika večinoma ni potrebna in zdravljenje je simptomatsko. Etiološko diagnozo potrdimo v brisu NF z uporabo prej omenjenega testa PCR četverček v primeru odločitve o uvedbi protivirusnih zdravil ali ob potrebi po skupinski osamitvi bolnikov (4, 23).

3.3.1 Oslovski kašelj

Povzročitelje oslovskega kašlja (*B. pertussis* in *B. parapertussis*) lahko v prvih dveh tednih po začetku simptomov dokažemo iz brisa ali aspirata nosnožrelnega prostora. Bris ustnega dela žrela ni primerna kužnina, saj bakterija izraža tropizem za migetalčni epitelij dihal. Osamitev bakterije iz kužnine še vedno ostaja zlati standard v diagnostiki oslovskega kašlja, vendar se zaradi slabše občutljivosti (manj od 60 %), počasne rasti in občutljivosti bakterije za neugodne vplive okolja manj uporablja. V vsakodnevni diagnostiki jo vse bolj nadomeščajo molekularni testi, ki so bolj občutljivi (70–99 %), visoko specifični (86–100 %) in hitri (rezultat v nekaj urah) (23–25).

Bolezen lahko potrdimo tudi serološko z dvema parnima vzorcema (prvi odvzet ob nastanku simptomov, drugi štiri do šest tednov kasneje) ali z enim vzorcem vsaj dva tedna (idealno štiri do osem tednov) po začetku kašlja. Pri posameznikih, ki kašljajo manj kot tri tedne, je priporočljiva kombinacija obeh metod: molekularnega testa in serologije. Serološka diagnostika ni primerna za osebe znotraj enega leta od zadnjega cepljenja (23–25).

Nekateri mikrobiološki laboratoriji v Sloveniji uporabnikom izdajo transportna gojišča, ki omogočajo tako izvedbo molekularnih testov kot osamitev bakterije. Iz vseh pozitivnih vzorcev na molekularno testiranje se poskuša tudi osamiti povzročitelja oslovskega kašlja (23–25).

3.4 Akutno vnetje zunanjega sluhovoda

Akutno difuzno nezapleteno vnetje zunanjega sluhovoda se najpogosteje pojavlja pri šolskih otrocih, zlasti pri rednih plavalcih. Najpogostejša bakterijska povzročiteljica sta *Pseudomonas aeruginosa* in *S. aureus*, redkeje difteroidi ali enterobakterije. Glivične okužbe najpogosteje povzročata *Candida* in *Aspergillus* (4). Diagnoza se v nezapletenih primerih postavi na podlagi anamneze, klinične slike in terapevtskega učinka empirično uvedenih topičnih zdravil, saj po pričetku zdravljenja pride do izboljšanja že v nekaj urah. Bris za mikrobiološke preiskave se odvzame v primeru neuspeha zdravljenja ali pri hitrem širjenju vnetja (26). Pri ponavljajočih se ali kroničnih težavah za etiološko opredelitev opravimo gramski razmaz in poskušamo povzročitelja osamiti iz brisa zunanjega sluhovoda (4).

3.5 Akutno vnetje srednjega ušesa (AVSU)

AVSU je ena najpogostejših okužb v otroštvu in je najpogostejši razlog za predpisovanje antibiotikov. Pojavlja se predvsem v starosti 6 do 24 mesecev. Okoli 80 % otrok do 5. leta starosti preboli vsaj eno epizodo AVSU, pri 40 % otrok pa se vnetje ponovi 6-krat ali več do 7. leta starosti. Okužbo povzročajo bakterije in virusi. Med bakterijami v vseh starostnih skupinah prevladujeta *S. pneumoniae* ter *Haemophilus influenzae* (prevladujejo sevi, ki jih ni mogoče tipizirati), pri približno 10 % otrok je povzročitelj *Moraxella catarrhalis*, redkejši povzročitelji so *S. aureus*, *S. pyogenes*, *P. aeruginosa*. Viruse so (izolirano ali skupaj z bakterijami) dokazali v tekočini srednjega ušesa v največ četrtini primerov. Prevladujejo RSV, virus influence in HRV (4, 6, 27).

Glede na večino evropskih smernic diagnozo AVSU postavimo s kombinacijo kliničnih meril. Za zanesljivo diagnozo morajo biti izpolnjena vsa tri glavna merila: nenaden začetek simptomov in znakov, ki kažejo na AVSU (otalgija, vročina), znaki vnetja bobniča ob otoskopiji in prisotnost izliva v srednjem ušesu. Najbolj zanesljiv znak, ki loči AVSU od seroznega vnetja, je napet, močno izbočen bobnič s prisotno tekočino v srednjem ušesu. Vedno pa gre za AVSU, kadar je ob odsotnosti znakov vnetja zunanjega sluhovoda prisoten gnojni izcedek v sluhovodu; ob tem je lahko vidna tudi perforacija bobniča, ki pa se pogosto zaceli že v nekaj urah. Bobnič je spremenjene barve, moten ali neprosojen, lahko izbočen ali retrahiran. Izrazito rdeč bobnič hemoragičnega videza ni tako značilen za AVSU, kot se velikokrat predvideva v praksi (4, 27, 28).

Za etiološko opredelitev AVSU je potreben invaziven odvzem tekočine iz srednjega ušesa z diagnostično timpanocentezo ali odvzem izcedka ob spontanem razpoku bobniča oziroma pri bolnikih z vstavljenimi timpanalnimi cevkami. Povzročitelja poskušamo iz kužnine osamiti z bakterijsko kulturo. Bris NF ni priporočljiva kužnina za mikrobiološko diagnostiko AVSU. Zaradi zelo dobre negativne napovedne vrednosti je sicer pogojno uporaben negativen rezultat poskusa osamitve povzročitelja AVSU iz brisa NF, medtem ko je pozitivna napovedna vrednost nizka (17 % in 71 %). Dokazovanje virusnih povzročiteljev pri akutnem vnetju srednjega ušesa ni smiselno (6, 17).

Poskus osamitve povzročitelja iz invazivno odvzete kužnine je priporočen ob sumu na septični zaplet, pri bolnikih s pridobljeno ali prirojeno okvaro imunosti, v primeru ponavljajočih se okužb ali klinične slike neodzivnosti na antibiotično zdravljenje (23, 28–29).

3.6 Vnetje obnosnih votlin in preseptalni celulitis

Ocenjuje se, da približno 7,5 % okužb zgornjih dihal pri otrocih spremlja akutni sinuzitis. Kljub pogostosti pa je sinuzitis pogosto spregledan pri majhnih otrocih, saj so klinične manifestacije lahko nespecifične in zaradi zmotnega prepričanja, da je bakterijski sinuzitis v tej starostni skupini redek. Akutni bakterijski sinuzitis se običajno kaže z vztrajajočimi simptomi in znaki okužbe zgornjih dihal, ki brez izboljšanja trajajo več kot 10 dni, ali ponovnim poslabšanjem po že predhodnem izboljšanju; z okužbo zgornjih dihal z visoko vročino in gnojnim izcedkom iz nosu, ki traja vsaj 3 zaporedne dni; ter z dvofaznim ali poslabšujočim se potekom bolezni. Posebna entiteta v otroški dobi je preseptalni celulitis: okužba očesnih vek in okolne kože. Večinoma nastane kot posledica širjenja okužbe iz etmoidalnih sinusov, redkeje po poškodbi kože ali hematogeno (4, 6).

Večino primerov sinuzitisa povzročajo virusi, samo 0,5–2 % pa bakterije, med katerimi 50–70 % primerov predstavljata *S. pneumoniae* in *H. influenzae*, ki jih ni možno tipizirati. Pri preseptalnem celulitisu, v povezavi z vnetjem obnosnih votlin, so povzročitelji enaki, ob poškodbi ali piku pa sta najpogostejša povzročitelja *S. aureus* in *S. pyogenes* (4, 6, 30).

Diagnoza je klinična. Ob sumu na sinuzitis zaradi možnosti bakteriemijske odvzameмо hemokulturo. Vloga hemokultur je bolj natančno opredeljena v prispevku »Kdaj je smiselno naročiti odvzem hemokulture pri otroku z vročino?«.

Za etiološko opredelitev vnetja obnosnih votlin je potrebna aspiracijska punkcija obnosne votline z igelno aspiracijo ali endoskopskim posegom, kar v pediatrični populaciji ni v rutinski uporabi (30). Odvzem brisa nosne votline za osamitev povzročitelja ni ustrezna kužnina, saj ujemanje rezultatov osamitve patogenih bakterij iz brisa nosne votline in aspirata obnosne votline v nobeni raziskavi ni preseglo 64 %. (6).

4. MIKROBIOLOŠKA DIAGNOSTIKA OKUŽB SPODNJIH DIHAL

Med okužbe spodnjih dihal uvrščamo traheitis, akutni brohiolitis in bronhitis, pljučnico, pljučni absces in empiem (4). Okužbe spodnjih dihal povzroča širok spekter virusnih in bakterijskih patogenov. Zlasti pri pljučnici je zaporedna ali sočasna polimikrobna okužba lahko relativno pogosta, natančne vloge posameznih mikroorganizmov in način njihovih interakcij pa še vedno niso dobro razumljene (1).

4.1 Pljučnica

Večino pljučnic pri otrocih brez osnovnih bolezni povzročijo virusi in bakterije. Delež posameznih povzročiteljev se razlikuje glede na starost otrok: virusi prevladujejo pri majhnih otrocih, z naraščajočo starostjo se večja delež bakterijskih povzročiteljev, med katerimi je po uvedbi cepljenja proti *H. influenzae* tip B na prvem mestu *S. pneumoniae*. Pri šolski populaciji pridejo v poštev tudi atipične bakterije (*M. pneumoniae* in *C. pneumoniae*), ki povzročajo izbruhe okužb vsakih nekaj let. Pljučnica, ki jo povzroča *Legionella pneumophila*, je pri otrocih zelo redka (4, 31).

Etiološka opredelitev pljučnice je zanesljiva, če smo ob ustrezni klinični sliki pljučnice osamili potencialno patogeno bakterijo iz primarno sterilne kužnine (kri, plevralni izliv, transtrahealni aspirat, transtorakalni aspirat). Izbira preiskav, ki jih opravimo, je odvisna od dejavnikov, povezanih z bolnikom (starost, pridružene bolezni), teže bolezni in epidemiološke situacije (4, 23).

4.2 Tipična pljučnica

Mikrobiološke preiskave, opravljene na vzorcih zgornjih dihal ali induciranjem sputumu, lahko pri večini otrok odkrijejo potencialni patogen. Težava nastane pri interpretaciji, saj je nemogoče razlikovati med organizmi, ki kolonizirajo ali povzročajo okužbo zgornjih dihal, in tistimi, ki dejansko povzročajo pljučnico. Zanesljivo lahko opredelimo povzročitelja le v primeru dokaza mikobakterij ali legionele, ki ne kolonizirata zgornjih dihal (31).

Osnovna neinvazivna kužnina za osamitev povzročitelja iz spodnjih dihal je (inducirani) izmeček, ki ga je v otroški populaciji zahtevno pridobiti. Za mikrobiološko diagnostiko so uporabni le vzorci, ki vsebujejo manj kot 10 celic ploščatega epitela in več kot 25 nevtrofilnih levkocitov na vidno polje pri mikroskopskem pregledu pod majhno (100-kratno) povečavo. Pomanjkljivost vzorca je njegova nehomogenost. Pregled razmaza izmečka, obarvanega po Gramu, omogoča hitro informacijo o povzročitelju pljučnice. Pri prevladovanju ene značilne bakterijske oblike v razmazu je verjetnost pravilne opredelitve povzročitelja velika. Kadar pri bolniku, ki ni prejemal antibiotikov, v kvalitetnem vzorcu ne vidimo bakterij, je to lahko znak, da gre za atipičnega povzročitelja (6, 17).

Zlati mikrobiološki diagnostični standard pri otrocih s tipično pljučnico ostajajo hemokulture, ki imajo zelo visoko specifičnosti, vendar je bakteriemičnih le nekaj odstotkov bakterijskih pljučnic (31–32). Vloga hemokultur je bolj natančno opredeljena v prispevku »Kdaj je smiselno naročiti odvzem hemokulture pri otroku z vročino?«.

Dokazovanje pnevmokoknega antigena v urinu pri otrocih ni smiselno, saj ne loči med okužbo in nosilstvom pnevmokoka v nosno-žrelnem prostoru, ki je pri otrocih zelo pogosto. Natančna starost, od katere dalje je uporaba pnevmokoknega antigena iz urina smiselna, v literaturi ni opredeljena (17, 31, 33).

4.3 Atipična pljučnica

Povzročitelji atipičnih pljučnic so virusi ter nekatere bakterije (mikoplazme, klamidije, legionele, riketije) ter glive (*Pneumocystis jirovecii*) (4).

Dokazovanje virusnih povzročiteljev ni potrebno, razen v primeru potrebe po uvedbi protivirusnega zdravljenja.

Pri sumu na pljučnico, povzročeno z atipičnimi bakterijami (*M. pneumoniae* in *C. pneumoniae*), odvezamemo bris žrela (31). Ker *M. pneumoniae* in *C. pneumoniae* povzročata pljučnico s podobnimi kliničnimi znaki, je smiselno hkrati dokazovati obe povzročiteljici. V ta namen uporabljamo molekularne teste. Njihovo uporabnost omejuje dejstvo, da lahko *M. pneumoniae* v žrelnem prostoru dokažemo še več tednov (2 dni do 7 mesecev, mediana 7 tednov) po ustreznem zdravljenju z antibiotiki in klinični ozdravitvi, pozitiven izvid za *C. pneumoniae* pa je lahko prisoten še več mesecev (4, 5, 34). Atipični bakteriji sta zajeti tudi v sindromskih molekularnih testih, a so za njuno dokazovanje bolj občutljivi in specifični diagnostični protokoli, ki dokazujejo posameznega povzročitelja (34).

Za dokazovanje okužb z atipičnimi bakterijami so na voljo tudi serološke metode (4, 34). Možno je tudi dokazovanje genetskih mutacij, ki so povezane z rezistenco *M. pneumoniae* na makrolide.

Diagnostika mikoplazemske pljučnice vključno z indikacijami zanjo je razložena tudi v prispevku »Zdravljenje mikoplazemskih pljučnic pri otrocih in odraslih«.

Legionelno pljučnico lahko dokažemo z dokazom topnega legionelnega antigena v urinu. V primeru utemeljenega suma na legionelo in negativnega rezultata antigena v urinu diagnostiko dopolnimo z dokazom legionele v vzorcih zgornjih dihal z molekularnim testom (31).

4.4 Akutni bronhiolitis in bronhitis

Akutni bronhiolitis je vnetje spodnjih dihal pri otrocih do drugega leta starosti, povzročajo ga virusi (najpogostejše RSV, HMPV, HRV in HBoV). V primeru blagega poteka bronhiolitisa etiološka diagnostika ni potrebna. Pri obravnavi na sekundarnem in terciarnem nivoju pa jo izvajamo z namenom dokazovanja virusnih povzročiteljev, pri katerih pričakujemo težji potek bolezni oziroma zaplete (RSV, HMPV). Tudi dokazovanje virusov influence je smiselno; če akutni bronhiolitis z dihalno stisko povzroča virus influence, je potrebno protivirusno zdravljenje.

V sezoni kroženja RSV sprva uporabimo HAGT na SARS-CoV-2, RSV in influenco A in B ali molekularni test za omenjene viruse, ob negativnem izvidu ali izven sezone kroženja RSV je smiselno odvzem panela RV z namenom skupinske osamitve in preprečevanja bolnišničnih okužb.

Akutni bronhitis je vnetje velikih in srednje velikih dihalnih poti pri otrocih, starejših od 2 let. Bolezen večinoma povzročajo virusi ter le v manj kot 10 % bakterije (*M. pneumoniae*, *C. pneumoniae*, *B. pertussis*). Etiološka opredelitev pri večini bolnikov ni potrebna, povzročitelja dokazujemo v primeru suma na okužbo z virusi influence (v primeru potrebe po uvedbi protimikrobnega zdravljenja), *B. pertussis* in *M. pneumoniae* (4, 23).

5. ZAKLJUČEK

Okužbe dihal so eden izmed glavnih vzrokov za pregled pri pediatru. Postavitev ustrezne diagnoze zaradi pogosto zahtevnega razločevanja med virusnimi in bakterijskimi povzročitelji okužbe predstavlja izziv. Pri kliničnem odločanju pridejo v poštev mikrobiološki diagnostični testi. Osnovni pogoji za kvaliteten izvid so odvzem ustreznega vzorca v ustreznih okoliščinah ter primerno shranjevanje in transport vzorca. S sodelovanjem pediatra (na vseh nivojih zdravstvene oskrbe) ter zaposlenih v mikrobiološkem laboratoriju lahko etiološko opredelimo povzročitelja, kjer je to smiselno ali potrebno, ter s tem pripomoremo k ustreznemu predpisovanju antibiotikov ter protivirusnih zdravil in smotrni uporabi dostopnih finančnih sredstev.

Zahvala: Za vso vsebinsko in strokovno pomoč in usmeritve pri pisanju prispevka se zahvaljujemo prof. dr. Katji Seme, dr. med., vodji Laboratorija za bakteriološko diagnostiko respiratornih infekcij na Inštitutu za mikrobiologijo in imunologijo Medicinske fakultete Univerze v Ljubljani.

LITERATURA

1. Murdoch DR, Werno AM, Jennings LC. Microbiological diagnosis of respiratory illness: recent advances. In: Kendig's Disorders of the Respiratory Tract in Children. Philadelphia: Elsevier; 2019. p. 396-405.
2. Uršič T, Kogoj R, Šikonja J, Jevšnik Virant M, Petrovec M. A simplified nasopharyngeal swab collection procedure for minimizing patient discomfort while retaining sample quality. Front Public Heal. 2023;11:1-4.

-
3. Garcia-Rodriguez J, Janvier F, Kill C. Key insights into respiratory virus testing: sensitivity and clinical implications. *Microorganisms*. 2025;13(63):1-13.
 4. Tomažič J, Strle F. Infekcijske bolezni. Ljubljana: Združenje za infektologijo, Slovensko zdravniško društvo; 2017. p. 249-314.
 5. Esposito S, Mencacci A, Cenci E, Camilloni B, Silvestri E, Principi N. Multiplex platforms for the identification of respiratory pathogens: are they useful in pediatric clinical practice? *Front Cell Infect Microbiol*. 2019;9(196):1-8.
 6. Miller JM, Binnicker MJ, Campbell S, Carroll KC, Chapin KC, Gonzalez MD, et al. Guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2024 Update by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM). *Clin Infect Dis*. 2024;67(6):1-94.
 7. Kim C, Ahmed JA, Eidex RB, Nyoka R, Waiboci LW, Erdman D, et al. Comparison of nasopharyngeal and oropharyngeal swabs for the diagnosis of eight respiratory viruses by real-time reverse transcription-PCR assays. *PLoS One*. 2011;6(6): p.1-6.
 8. Hakimi AA, Goshtasbi K, Kuan EC. Complications associated with nasopharyngeal COVID-19 testing: an analysis of the MAUDE database and literature review. *Am J Rhinol Allergy*. 2021;36(2):281-4.
 9. Greenmyer JR, Kohorst MA, Thompson WS, Kaczor M, Alajbegovic K, Kranz LA, et al. Nasopharyngeal swabs in pediatric patients with thrombocytopenia and anticoagulant use. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2023;45(7):910-4.
 10. Molekularne preiskave. Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano. [cited 2025 Mar 21]. Available from: <https://www.nlzoh.si/storitve/medicinska-mikrobiologija/nase-preiskave/molekularne-preiskave/>.
 11. McGeoch LJ, Thornton H V, Blair PS, Christensen H, Turner NL, Muir P, et al. Prognostic value of upper respiratory tract microbes in children presenting to primary care with respiratory infections: a prospective cohort study. *PLoS One*. 2022;17(5):1-14.
 12. Hwang JK, Na JY, Kim JH, Oh JW, Kim YJ, Choi YJ. Age-specific characteristics of adult and pediatric respiratory viral infections: a retrospective single-center study. *J Clin Med*. 2022;11(11)2-10.
 13. Sočan M, Prosenc Trilar K, Berginc N. Integrirano mrežno spremljanje gripe, covid-19 in ostalih akutnih okužb dihal v Sloveniji v sezoni 2022/2023. Nacionalni inštitut za javno zdravje. [cited 2025 Mar 26]. Available from: <https://nizj.si/wp-content/uploads/2024/06/Integrirano-mrežno-spremljanje-gripe-covid-19-in-ostalnih-akutnih-okuzb-dihal-v-Sloveniji-v-sezoni-2022-2023.pdf>.
 14. Centers for Disease Control and Prevention CDC. Rapid influenza diagnostic tests. [internet]. Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention. 2024. [cited 2025 Mar 19]. Available from: https://www.cdc.gov/flu/hcp/testing-methods/clinician_guidance_ridt.html.
 15. Tan CD, Hagedoorn NN, Dewez JE, Borensztajn DM, Von Both U, Carrol ED, et al. Rapid viral testing and antibiotic prescription in febrile children with respiratory symptoms visiting emergency departments in Europe. *Pediatr Infect Dis J*. 2022;41(1):39-44.
 16. Sauve L, Forrester AM, Top KA. Group A streptococcal pharyngitis: a practical guide to diagnosis and treatment. *Paediatr Child Health*. 2021;26(5):319.
 17. Shulman ST, Bisno AL, Clegg HB, Gerber MA, Kaplan EL, Lee G et al. Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of group A streptococcal pharyngitis: 2012 Update by IDSA. *Clin Infect Dis*. 2012;55(10):86-102.
 18. Seme K, Tomič V. Mikrobiološka diagnostika bakterijskih okužb dihal. *Med Razgl*. 2016;55(4):65-71.
 19. Pelucchi C, Grigoryan L, Galeone C, Esposito S, Huovinen P, Little P, et al. Guideline for the management of acute sore throat. *Clin Microbiol Infect*. 2012;18(1):1-27.
 20. Baracco GJ. Infections caused by group C and G *Streptococcus* (*Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* and others): epidemiological and clinical aspects. *Microbiol Spectr*. 2019;7(2):1-11.
-

21. Buonsenso D, Camporesi A, Viozzi F, Lazzareschi I, Manca L, Caci A. Determinants of antibiotic prescription in children with adenovirus respiratory tract infections. *Eur J Pediatr*. 2024;183:3489-97.
22. Romero-Gómez MP, Bloise-Sánchez I, Gómez-Arroyo B, González-Donapetry P, Cendejas-Bueno E, García-Rodríguez J. Rapid antigen test for adenovirus in children: age and onset of symptoms are important. *Enfermedades Infecc y Microbiol Clin (English ed)*. 2023;41(10):617-20.
23. Seme K, Pečavar B, Petrovec M. Mikrobiološka diagnostika okužb dihal. In: *Infektološki simpozij 2017*. 2017;53-61.
24. Seme K. Oslovski kašelj: novosti v epidemiologiji, diagnostiki in preprečevanju. *Med Razgl*. 2008;(47)3:101-8.
25. Kastrin T. Diagnostika in molekularna epidemiologija oslovskega kašlja. In: *Izzivi prepoznavne, zdravljenja in prepoznavne oslovskega kašlja*. Ljubljana: Združenje za infektologijo pri SZD; 2023. p. 12–20.
26. Battelino S. Obravnava vnetij zunanega sluhovoda. In: *Otorinolaringološke bolezni v vsakdanji praksi*. Ljubljana: Založba UL MF; 2025. p71-80.
27. Zorko Brodnik A, Kraševac Glaser A. Obravnava otrok z akutnim in ponavljajočim se vnetjem srednjega ušesa ter pregled povzročiteljev akutnega vnetja srednjega ušesa v mariborski regiji v obdobju 2019-2023. In: *Dolinšek J. XXXIII. Srečanje pediatrov – Infekcijske bolezni pri otrocih, debelost otrok in mladostnikov, pravni pogled na (obvezno) cepljenje v Sloveniji*. Maribor: Univerzitetni klinični center; 2025. p. 55-62.
28. Suzuki HG, Dewez JE, Nijman RG, Yeung S. Clinical practice guidelines for acute otitis media in children: a systematic review and appraisal of European national guidelines. *BMJ Open*. 2020;10:1-10.
29. Lieberthal AS, Carroll AE, Chonmaitree T, Ganiats TG, Hoberman A, Jackson MA, et al. The diagnosis and management of acute otitis media. *Pediatrics*. 2013;131(3):964-99.
30. Leung AKC, Hon KL, Chu WCW. Acute bacterial sinusitis in children: an updated review. *Drugs in Context*. 2020;9:1-11.
31. Bahovec N, Plankar Srovin T, Seme K. Izzivi zdravljenja pljučnic pri otrocih. In: *Infektološki simpozij 2022*Ljubljana: Sekcija za prrotimikrobno zdravljenje SZD; 2022. p. 177-84.
32. Harris M, Clark J, Coote N, Fletcher P, Harnden A, McKean M, et al. British Thoracic Society guidelines for the management of community acquired pneumonia in children: update 2011. *Thorax*. 2011;66(2):1-26.
33. Loens K, Van Heirstraeten L, Malhotra-Kumar S, Goossens H, Ieven M. Optimal sampling sites and methods for detection of pathogen possibly causing community-acquired lower respiratory tract infections. *J Clin Microbiol*. 2009;47(1):21-31.
34. Keše D, Kogoj R. Novosti v mikrobiološki diagnostiki atipičnih bakterij. *Med Razgl*. 2016;55(4):73-8.

PREPOZNAVA HEMOFAGOCITNE LIMFOHISTIOCITOZE

Gašper Markelj,¹ Alojz Ihan²

*¹Klinični oddelek za alergologijo, revmatologijo in klinično imunologijo,
Pediatrična klinika, UKC Ljubljana*

²Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

IZVLEČEK

Ob boljšem prepoznavanju ter uvajanju novih vrst zdravljenja incidenca hemofagocitne limfohistiocitoze (HLH) narašča. Ker se HLH lahko razvije akutno s kliničnimi znaki, podobnimi sepsi, ali pa postopoma z blagimi znaki, ki se stopnjujejo, se lahko pogosto spregleda. Ob čezmerni in nekontrolirani aktivaciji imunskega odziva s citokinsko nevihto lahko vodi v multiorgansko odpoved in smrt. Pomembni so zgodnja prepoznavna in čimprejšnja postavitve diagnoze ter ustrezno zdravljenje, ki zahteva sodelovanje različnih specialnosti. V prispevku predstavljamo značilnosti, ki pomagajo pri zgodnji postavitvi diagnoze in optimalnem zdravljenju.

ABSTRACT

With improved recognition and the advent of novel therapeutic approaches, the incidence of hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH) is on the rise. HLH may present acutely with clinical features mimicking sepsis or follow a more insidious course with gradually progressive, nonspecific symptoms, often leading to delayed or missed diagnosis. The condition is characterized by excessive and dysregulated immune activation, resulting in a cytokine storm that can progress to multiorgan failure and death. Timely identification and early initiation of appropriate therapy are critical and necessitate multidisciplinary collaboration. This article reviews the clinical characteristics that facilitate early diagnosis and outlines principles for optimal management.

UVOD

Prvi opisi hudega sindroma s prekomerno vnetno reakcijo, ki neprepoznan in neustrezno zdravljeno lahko vodi v odpoved organov in smrt, so bili zabeleženi v sredini 20. stoletja. Pri bolezni je značilen neustrezen in nekontroliran imunski odziv zaradi vztrajno aktiviranih citotoksičnih limfocitov T (CD8+ limfociti T) in naravnih celic ubijalk (NK celice). Te preko stalne stimulacije makrofagov spodbujajo prekomerno nastajanje vnetnih citokinov in neselektivno fagocitozo krvnih celic. Simptomi in znaki so raznoliki in obsegajo od vročine,

citopenije, splenomegalije, diseminirane intravaskularne koagulacije do šokovnega stanja in odpovedi več organov (1, 2, 3).

Hemofagocitno limfohistiocitozo (HLH) pogosto razvrščamo v primarno obliko, ki se pojavlja predvsem pri otrocih, in sekundarno obliko, ki je pogostejša pri odraslih. Primarna oblika HLH sodi v skupino prirojenih okvar imunosti z znano okvaro genov, ki vplivajo na več imunoloških mehanizmov: neustrezno delovanje citotoksičnih zrcn, čezmerno aktivnost inflammasomov in okvaro omejevanja in odstranjevanja mikroorganizmov (1, 2, 3, 4) (Razpredelnica 1).

Pri sekundarni hemofagocitni limfohistiocitozi (sHLH) jasnih genetskih nepravilnosti ne poznamo. Najverjetneje skupek več dejavnikov v povezavi z okužbo privede do praga, kjer vnetje postane nekontrolirano in se razvije fulminantna HLH. Med dejavnike tveganja verjetno sodijo manjše spremembe (genetski polimorfizmi) v delovanju mehanizmov, opredeljenih pri primarnih oblikah HLH, različne vnetne bolezni ter zdravila in okužbe, ki vplivajo na delovanje imunosti (1, 2, 3, 4) (Slika 1).

Ob hitrem ukrepanju je HLH pogosto ozdravljiva, vendar zaradi pozne prepoznavne in intenzivnosti vnetja še vedno vodi do nepotrebne umrljivosti. Enoletno preživetje pri HLH se znatno razlikuje glede na različne vzroke. Pri bolnikih z hematološkimi malignomi je enoletno preživetje okoli 20 %, pri bolnikih z revmatološkimi obolenji pa okoli 75 % (1,2).

Prepoznavanje HLH se v zadnjih letih izboljšuje, saj ob naraščajočem zdravljenju s celičnimi terapijami, kot je npr. zdravljenje s T-celicami s himernim T celičnim receptorjem (CAR T-celična terapija), pogostejše prihajamo v stik z zapleti, kot so citokinske nevihte (1, 2).

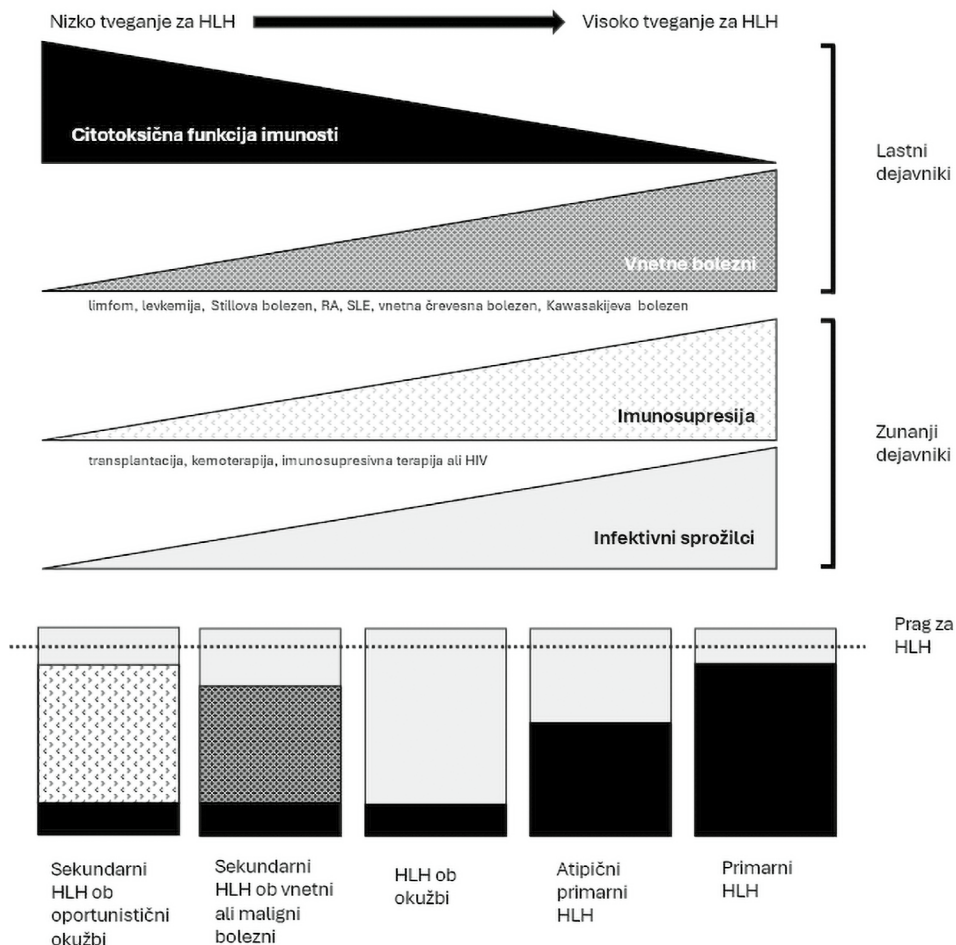
Tako v zadnjih letih poročajo o naraščanju incidence HLH (2).

Razpredelnica 1. Glavni mehanizmi, ki pripeljejo do HLH, in nekatere genetske bolezni, povezane s primarno obliko HLH;

Vzrok	Mehanizem	genetska okvara
Neustrezno delovanje citotoksičnih zrcn	Nenadzorovana aktivacija celic T – čezmerno izločanje IFN γ	FHL1 – okvara perforina FHL2-5 – okvara degranulacije GS2 in CHS – okvara degranulacije XLP-1 – neustrezno odstranjevanje limfocitov B, okuženih z EBV
Čezmerna aktivnost inflammasomov	Povečana aktivnost makrofagov – čezmerno izločanje pro-vnetnih mediatorjev	NLRP4 – okvara inflammasoma XLP2, WAS – okvara inhibicije inflammasoma CGD – čezmerna stimulacija inflammasoma
Okvara mehanizmov, ki odstranjujejo mikroorganizme	Dolgotrajna aktivacija imunskega sistema	CGD (S)CID

FHL 1–5 – familiarna oblika HLH, GS2 – Griscellijev sindrom tip II; CHS – Chediak Higashijev sindrom; XLP – na X vezana limfoproliferativna bolezen, NLRP4 – beljakovina, ki sestavlja inflammasom: mutacije, ki beljakovino stalno aktivirajo, povzročajo bolezen; WAS – Wiscott Aldrichov sindrom: neustrezno delovanje citoskeleta povzroči stalno aktivacijo infalmasoma; CGD – kronična granulomatozna bolezen; (S)CID – različne genetske bolezni, ki okvarijo celično imunost. Povzeto po (6).

Slika 1. Shematski prikaz različnih dejavnikov, ki privedejo do hemfagocitne limfohistiocitoze (HLH); RA – revmatoidni artritis, SLE – sistemski lupus eritematosus, HIV – virus človeške pomanjkljivosti. Povzeto po (1).



KLINIČNA SLIKA IN DIAGNOSTIČNA MERILA

HLH se lahko razvije akutno s kliničnimi znaki, podobnimi sepsi, lahko pa tudi sprva z blagimi znaki, ki se stopnjujejo. V obeh primerih se lahko HLH spregleda. Pri bolnikih s težjim kliničnim potek bolezni in neustreznim odzivom na zdravljenje je potrebno vedno pomisliti na možno razvijajočo HLH (1, 2, 3, 4). Kot značilni alarmni znaki se je pri 90 % bolnikov z HLH izkazala kombinacija visoke vročine, povišane vrednosti feritina in upad krvnih celic. Ob antipiretični terapiji ali hlajenju telesa ob dializi oziroma zdravljenju z zunajtelesnim krvnim obtokom je lahko povišana temperatura manj izrazita (1, 2).

Za postavitev diagnoze HLH opravimo razširjene laboratorijske in slikovne preiskave. Značilno ugotavljamo citopenijo, večkrat najprej le relativno trombocitopenijo, povišane transaminaze, visok feritin in trigliceride ter nizek fibrinogen. Pogosto je pridružena hiponatremija, hipoalbuminemija, hiperbilirubinemija, povišani so vnetni parametri in D-dimer ter LDH. V nadaljevanju bolezni se lahko razvijejo jetrna odpoved ter prizadetost osrednjega živčevja. Večinoma je prisotna hepatosplenomegalija, medtem ko limfadenopatija in izpuščaj ne predstavljata kliničnega znaka HLH, ampak pogosteje nakazujeta vzročne bolezni, kot so okužba (EBV), limfom ali levkemija (1, 2, 5).

Pomembno je pogosto spremljanje izvidov, saj so v začetnih fazah bolezni vrednosti fibrinogena in hitrost sedimentacije eritrocitov sprva povišane, kasneje pa upadejo. Pri nekaterih bolnikih bomo ob začetku procesa padajoče krvne celice izmerili še v območju normalnega razpona (1, 2, 3).

Kot najpogostejši laboratorijski pokazatelj pri postavitvi diagnoze in spremljanju bolezni se uporablja feritin. V pediatrični populaciji je zelo občutljiv in specifičen za HLH. Pri vrednostih, ki presegajo 10.000 µg/L, je občutljivost za HLH 90 %, specifičnost pa celo 98 %. V odrasli populaciji pa so višje vrednosti feritina prisotne pri različnih obolenjih, kot so okužbe, maligna obolenja, okvare jeter, ledvična odpoved ali Stillova bolezen, vendar so vrednosti pri HLH znatno višje kot pri drugih stanjih. Mediana vrednost pri odraslih bolnikih z HLH se giblje med 5000–6000 µg/L (2).

Povišane vrednosti topnega receptorja za IL-2 (topni CD25) so bile ugotovljene pri več kot 97 % pediatričnih bolnikov s HLH, vendar se povišane vrednosti pojavljajo tudi pri drugih stanjih, kjer so aktivirani limfociti T. Višje vrednosti so izmerili pri revmatoloških obolenjih in malignih hematoloških obolenjih (2).

Čprav je hemofagocitoza zajeta v poimenovanju HLH, za samo postavitev diagnoze ni nujno potrebna. Hemofagocitozo dokažemo z biopsijo kostnega mozga, jeter, vranice ali bezgavke. Pri bolnikih je ob pričetku bolezenskega procesa pogosto ni in se lahko potrdi šele ob daljšem bolezenskem procesu ob ponovitvah preiskave (1, 2, 5).

V retrospektivni študiji 314 odraslih je imelo 70 % bolnikov s končno diagnozo HLH hemofagocitozo ugotovljeno tudi na vzorcih biopsije kostnega mozga. Ob tem pa so hemofagocitozo ugotovili tudi pri 39 % bolnikov, kjer diagnoza HLH ni bila potrjena.

Ker se hemofagocitoza lahko razvije pri različnih vnetnih stanjih, kot so sepsa, različne okužbe, pri aktivnih revmatoloških boleznih ali celo po transfuzijah krvi, samostojno ugotovljena hemofagocitoza ni zadosti specifična niti dovolj senzitivna za HLH (2).

Laboratorijsko testiranje HLH

Pri HLH je okvarjena citotoksična dejavnost celic NK in citotoksičnih limfocitov T (CD8). Ob nezadostnem in neustreznem delovanju sledi silovita aktivacija vnetnega odziva. Ob skokovitem porastu vnetnih citokinov se pojavijo visoka vročina, povečana vranica, izjemno velike koncentracije vnetnih proteinov CRP, topnega receptorja za IL-2 ... Hiperaktivirani makrofagi neselektivno fagocitirajo krvne celice, kar vodi v hitro napredujočo citopenijo.

Pri bolnikih navadno izmerimo limfopenijo, pomanjkanje celic NK in nezmožnost citotoksičnega mehanizma. Laboratorijsko HLH testiramo tako, da bolnikove citotoksične limfocite v kulturi vzdražimo s stimulansom za eksocitozo (IL-2 za celice NK in CD3/CD28 protitelesa za CTL), nato pa spremljamo, ali eksocitoza (celic NK in citotoksičnih limfocitov T) uspešno poteče (pojav markerja citotoksičnih zrn CD107a na celični membrani).

Nabor kliničnih znakov in laboratorijskih preiskav, ki pomagajo pri postavitvi diagnoze, je bil objavljen leta 2004 v protokolu za obravnavo bolnikov s HLH (HLH-2004) (8). Pomembno je izključiti maligne bolezni in atipične okužbe. V letu 2024 so bila diagnostična merila revidirana in ovrednotena na kohorti bolnikov z družinsko obliko hemofagocitne limfohistiocitoze (FHL). Laboratorijski dokaz znižane aktivnosti NK celic je postal samostojno diagnostično merilo. Klinično diagnozo sedaj postavimo ob izpolnjevanje najmanj 5 od 7 kliničnih in laboratorijskih kriterijev z 99 % natančnostjo (občutljivost 96,2 %, specifičnost 99,5 %) (9).

Diagnostična merila so predstavljena v Razpredelnici 2.

Razpredelnica 2. Revidirana diagnostična merila: HLH-2004. Povzeto po (9).

A) Dokazana genetska napaka, skladna s HLH
B) Dokazana celična okvara, skladna s HLH
C) Vsaj 5 od 7 kliničnih in laboratorijskih kriterijev • Vročina $\geq 38,5^{\circ}\text{C}$ • Splenomegalija ($\geq 2\text{ cm}$ pod rebnim lokom) • Citopenija (≥ 2 celičnih linij) – koncentracija hemoglobina $< 90\text{ g/L}$, novorojenčki $< 100\text{ g/L}$ – koncentracija trombocitov $< 100 \times 10^9/\text{L}$ – koncentracija nevtrofilcev $< 1,0 \times 10^9/\text{L}$ • Hipertrigliceridemija ($> 3\text{ mmol/L}$) ali hipofibrinogenemija ($< 1,5\text{ g/L}$) • Povečana koncentracija serumskega feritina ($> 500\text{ ng/ml}$) • Hemofagocitoza v kostnem mozgu, vranici, bezgavkah ali v jetrih • Koncentracija topnega receptorja za IL-2 $> 2400\text{ U/ml}$ (povečane koncentracije glede na laboratorijske norme)

Našteti kriteriji so nam le v pomoč pri postavitvi diagnoze, saj na primer ne vključujejo prizadetosti osrednjega živčevja (OŽ), kljub temu da se lahko pojavi pri 30–76 % bolnikov. V zgodnjem poteku bolezni ali pri atipični obliki, pri kateri je v klinični sliki prisotna le prizadetost enega organa (jetrna odpoved ali prizadetost OŽ), bolniki ne izpolnjujejo vsaj 5 potrebnih kliničnih meril in je postavitve diagnoze zelo težavna (1, 2).

Prizadetost OŽ v sklopu primarne in sekundarne HLH je slab prognostični dejavnik. Občasno se lahko HLH pojavi z izoliranim vnetjem v OŽ, vendar je OŽ pogosteje prizadeto v sklopu sistemskega procesa (1, 2, 3).

Razpon nevroloških manifestacij HLH je zelo širok in vsaka prizadetost OŽ zahteva natančen nevrološki pregled in zgodnjo vključitev specialista nevrologa v obravnavo. Nevrološke manifestacije so lahko posledica hemofagocitoze v možganih, lahko posledica infiltracije tkiva s sprožilcem HLH, lahko gre za encefalopatijo v sklopu globalne nevronske disfunkcije zaradi citokinskega viharja, presnovne motnje ali toksičnosti zdravil. Pri encefalopatiji ob sicer normalnem nevrološkem pregledu ugotavljamo znižano ali nihajoče stanje zavesti, občasno zmedenost in razdražljivost, lahko občasne konvulzije. Pri vseh bolnikih z nevrološkim okvarami v sklopu HLH se svetuje MRI glave s kontrastom, lumbalna punkcija za vrednotenje vnetja in izključevanja okužb OŽ (2, 3).

Z namenom prepoznavanja sekundarne HLH v odrasli populaciji je bil leta 2014 razvit točkovni sistem HScore, ki vključuje tri klinične značilnosti, pet osnovnih laboratorijskih preiskav in histološko dokazano hemofagocitozo (10).

Med klinične značilnosti so vključeni vročina, prisotnost hepatosplenomegalije in morebitno osnovno imunosupresivno stanje – okužba s HIV ali dolgotrajna imunosupresivna te-

rapija. Pri laboratorijskih preiskavah so pomembne citopenije, vrednosti feritina, trigliceridov, fibrinogena in AST (aspartat aminotransferaze). Vsak izmed kriterijev je različno točkovno ovrednoten, skupna ocena doseže 337 točk. Vrednosti nad 169 z več kot 90 % verjetnostjo diagnosticirajo sekundarni HLH pri odraslih (93 % občutljivost in 86 % specifičnost). Prednosti HScore so njegova validacija v različnih odraslih populacijah ter uporaba široko dostopnih laboratorijskih parametrov. Edina invazivna preiskava je histološki dokaz, je pa relativno malo obtežena pri izračunu točk v primerjavi z drugimi testi (razpredelnica 3) (10).

Razpredelnica 3. Točkovni sistem HScore. Povzeto po (10).

Osnovno imunosupresivno stanje Dolgotrajna imunosupresivna zdravila, HIV	DA	+18
Vročina	< 38,4 °C 38,4–39,4 °C > 39,4 °C	0 +33 +49
Organomegalija	NE povečana jetra ALI vranica povečana jetra IN vranica	0 +23 +38
Citopenije Hb ≤ 92; Levkociti ≤ 5,0; Trombociti ≤ 110	1 krvna linija 2 krvni liniji 3 krvne linije	0 +24 +34
Feritin (µg/L)	< 2000 2000–6000 > 6000	0 +35 +50
Trigliceridi (mmol/L)	< 1,5 1,5–4,0 > 4,0	0 +44 +64
Fibrinogen (g/L)	> 2,5 ≤ 2,5	0 +30
AST (U/L?)	> 30	+19
Znaki hemofagocitoze na aspiratu kostnega mozga	DA	+35

Ob postavitvi diagnoze se svetuje podrobna oceno resnosti stanja in premislek o zgodnji premestitvi v enoto intenzivne terapije, saj lahko bolezenski proces hitro napreduje. Slabi prognostični dejavniki so višja starost, izrazito visok feritin, nizke vrednosti albumina in hujša citopenija. Prav tako ima slabšo prognozo HLH v sklopu maligne bolezni in prizadetosti osrednjega živčevja (2, 3, 4).

DIAGNOSTIČNI ALGORITEM

Ob sumu na HLH je potreben razširjen klinični pregled in izključevanje ostalih kliničnih stanj, ki imajo lahko podobno klinično sliko. Izpolnjevanje meril za HLH ne izključuje okužbe, malignega stanja ali revmatološke bolezni. Za ustrezno zdravljenje in učinkovito umiritev vnetnega procesa pa je ključna identifikacija sprožitelja HLH (1, 2, 3).

Izključevanje okužb

Okužbe so najpogostejši vzrok HLH, bodisi kot primarni povzročitelj ali pa dodatni sprožilec pri predisponiranih bolnikih. Zelo je priporočljiva zgodnja vključitev specialista za nalezljive bolezni v obravnavo bolnikov s sumom na HLH. Med prvotno iskanje možnih okužb se vključijo krvne kulture, serološke preiskave in PCR na virus Epstein-Barr (EBV) in citomegalovirus (CMV). Serološko se izključuje okužbe z virusnimi hepatitis, HIV ter parvovirusom, v specifičnih okoliščinah pa tudi s človeškim T-limfotropnim virusom 1 in 2 (HTLV). Priporočajo se brisi žrela za izključitev dihalnih virusov, vključno s SARS-CoV-2. Odvzeme je potrebno opraviti pred morebitnim zdravljenjem z intravenskimi imunoglobulini. Mikrobiološko diagnostiko se opravi tudi pri pridobljenih biološki vzorcih, kot so aspirati kostnega mozga, morebitna biopsija jeter, bezgavk. Izključujejo se okužbe z mikobakterijami ali Leishmanio (1, 2, 3).

Najbolj izrazito je v potek HLH vpleten virus Epstein-Barr. Virus lahko sproži HLH kot primarna okužba ali reaktivacija latentnega virusa, kar nam pomaga razlikovati serologija. V obeh primerih zaznamo visoko virusno obremenitev s PCR, sam trend spremljanja viremije s serijskimi vzorci pa nam pomaga pri iskanju morebitnih primarnih vzrokov za HLH. Pogosto pride do reaktivacije EBV ob HLH, sproženem z drugimi vzroki. Takrat je zaznana virusna obremenitev običajno nizka. Večkrat pa se HLH sproži zaradi limfoma, vezanega na EBV okužbo. Tu nam pri razlikovanju pomaga serumska laktat dehidrogenaza (LDH), podrobne slikovne preiskave in biopsije (2, 3).

Izključevanje avtoimunskih in avtoinflamatornih bolezni

HLH se pogosto pojavlja pri Stillovi bolezni pri odraslih in otrocih (sistemska oblika juvenilnega idiopatskega artritis). Pri otroški obliki Stillove bolezni se HLH klinično izrazi pri do 10 % bolnikov, subklinično pa pri nadaljnjih 30–40 %. Pri tej skupini bolezni je poleg že znanih citokinov v patogenezo specifično vpleten IL-18.

Večkrat se HLH opisuje tudi pri sistemskemu lupusu eritematosusu, sarkoidozi, revmatoidnem artritisu, Kawasakijevi bolezni, sistemski sklerozii ter tudi pri drugih sistemskih vnetnih boleznih, vključno z vnetno črevesno boleznijo. Ob samih mehanizmih bolezni pri avtoimunskih in vnetnih boleznih k večjemu tveganju za razvoj HLH pripomorejo tudi dolgotrajna imunomodulatorna zdravila (1, 2, 3).

Izključevanje malignih bolezni

Še posebej pri odraslih so potrebne podrobne preiskave za izključitev malignih bolezni kot sprožilnega dejavnika HLH. Pri vseh bolnikih s sumom na HLH je potrebna vključitev hematologa v obravnavo. Poleg aspiracijske biopsije kostnega mozga se svetuje tudi podrobna slikovna diagnostika in nizek prag za dodatne biopsije sumljivih predelov. V kolikor je to mogoče, je smiselno slikovne preiskave in morebitne biopsije opraviti pred uporabo steroidov, saj lahko vplivajo na interpretacijo histoloških preiskav (1, 2, 3).

Izključevanje primarnih vzrokov bolezni

Za opredelitev primarne oblike HLH je v nekaterih laboratorijih možno presejalno testiranje na najpogostejše opredeljene genetske nepravilnosti (npr. izražanje gena za perforin, izražanje specifičnih proteinov (SAP, XIAP, CD 107a), testiranje citotoksičnosti celic NK). Pri pozi-

tivnih najdbah na presejalnih testih ali ob sumu na druge primarne oblike HLH je potrebna genetska diagnostika (1, 2, 3).

ZDRAVLJENJE

Pri zdravljenju želimo zgodaj zavreti čezmeren imunski odziv, tako da umirimo citokinsko nevihto in odstranimo aktivirane celice T in makrofage. Temelj zdravljenja so imunosupresivna, kemoterapevtska in biološka zdravila. Pri zdravljenju želimo čimprej doseči remisijo bolezni, nadzorovati morebitne povzročitelje, nato remisijo vzdrževati in ob nezadostno umirjenem procesu stopnjevati zdravljenje ter dokončno pozdraviti stanja, ki so privedla do HLH (1, 2, 3, 5).

Nezdravljena HLH povzroči multiorgansko odpoved in smrt, zato je treba zdravljenje ob sumu na HLH pričeti čimprej. Pomembno je pred pričetkom zdravljenja s steroidi ali kemoterapevtiki izključiti morebitne maligne vzroke (npr. z biopsijo kostnega mozga, bezgavke, prizadetega tkiva) (1, 2, 5).

Podporno zdravljenje

Za nadzor nad infektivnimi povzročitelji je pomembna ustrezna protimikrobna terapija. V večini primerov se priporoča tudi aplikacija intravenskih imunoglobulinov (3).

Bolniki zaradi intenzivne imunosupresivne terapije potrebujejo profilakso pred okužbo *Pneumocystis jirovecii*, drugimi glivami in virusi. Priporočeno je tedensko spremljanje morebitne reaktivacije latentnih okužb (EBV, CMV, adenovirus, aspergilusni antigen). V primeru HLH, sproženega z okužbo EBV, zdravljenje z rituksimabom lahko odstrani celice B, okužene z virusom (1, 3, 5).

Ob hujših oblikah je potrebno intenzivno podporno zdravljenje, nadomeščanje krvnih derivatov in korekcija koagulopatije (1, 4, 5).

Specifično zdravljenje

Klasičen pristop, definiran v protokolu HLH-2004, je usmerjen k odstranjevanju celic in vključuje zdravljenje z deksametazonom, etopozidom in ciklosporinom A (1, 6). Bolniki s prizadetostjo CŽS se zdravijo tudi z intratekalnimi aplikacijami metotreksata (1). Pri primarnih oblikah HLH se lahko uporabljajo beljakovine, usmerjene proti limfocitom – antitimocitni globulini (ATG) in alemtuzumab (humanizirano monoklonsko protitelo, usmerjeno proti antigenu CD52) (2, 3, 5).

Pri boleznih, pri katerih je osnovni mehanizem čezmerno tvorjenje citokinov, so učinkovita zdravila, ki te citokine odstranjujejo ali zmanjšujejo njihov vpliv. V raziskavah zdravljenja primarnih oblik HLH je učinkovalo biološko zdravilo, usmerjeno proti INF- γ (emapalumab). V nekaterih primerih so učinkovita tudi biološka zdravila, usmerjena proti IL-18. Predvsem pri sekundarnih oblikah HLH pa so uspešna zdravila, kot so inhibitorji JAK in biološka zdravila proti IL-1 (anakinra), IL-6 (tocilizumab) in proti TNF- α (2, 3, 5).

Dokončno zdravljenje

Bolniki s težjimi primarnimi oblikami imajo tudi po umiritvi aktivne HLH doživljenjsko povečano tveganje za ponoven ogrožajoč zagon HLH. V teh primerih za zdaj ostaja edina

možnost dokončnega zdravljenja alogena transplantacija krvotvornih matičnih celic (KMČ). Priporoča se zdravljenje s transplantacijo čimprej po doseženi zadovoljivi remisiji bolezni. Pri posameznikih, pri katerih pa je bilo genetsko tveganje za primarno obliko HLH potrjeno že pred prvim zagonom HLH, se priporoča celo predhodno zdravljenje z alogensko transplantacijo KMČ (2, 3, 5).

ZAKLJUČEK

Prepoznavanje in zdravljenje primarne HLH se je v zadnjih letih izrazito izboljšalo. Pri bolezni, ki je bila skoraj vedno usodna, sedaj razumemo mehanizme na molekularni ravni, bolezen hitro prepoznamo in pogosto uspešno dokončno pozdravimo.

Razumevanje mehanizmov prekomernega nekontroliranega življenjsko nevarnega vnetja prepoznavajo zdravniki različnih specialnosti in njihovo skupno sodelovanje pomaga pri uspešnem zdravljenju.

Ob tem pa sekundarna HLH še vedno pogosto ostaja neprepoznana. Večja ozaveščenost bo pomagala prepoznati in uspešno zdraviti prekomerni vnetni odziv pri različnih bolezenskih stanjih.

LITERATURA

1. Henter JI. Hemphagocytic Lymphohistiocytosis. *N Engl J Med* 2025; 392: 584-98
2. Cox MF, Mackenzie S, et al. Diagnosis and investigation of suspected haemophagocytic lymphohistiocytosis in adults: 2023 Hyperinflammation and HLH Across Speciality Collaboration (HiHASC) consensus guideline. *Lancet Rheumatol.* 2024 Jan;6(1):e51-e62.
3. Shakoory B, Geerlinks A, et al. The 2022 EULAR/ACR Points to Consider at the Early Stages of Diagnosis and Management of Suspected Haemophagocytic Lymphohistiocytosis/MacrophageActivation Syndrome (HLH/MAS). *Arthritis Rheumatol.* 2023; 75(10):1714-1732.
4. Canna SW, Marsh RA. Pediatric hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Blood by The American Society of Hematology.* 2020; 135: 1332–1343.
5. Hines MR, Greenwood TvB, Beutel G, Beutel K, Hays JA, Horne AC et al. Consensus-Based Guidelines for the Recognition, Diagnosis, and Management of Hemophagocytic Lymphohistiocytosis in Critically Ill Children and Adult. *Crit Care Med.* 2022; 50: 860–872.
6. Silič K, Česen M, Markelj G. Primarna in sekundarna hemofagocitna limfohistiocitoza. V: Kritično bolan otrok: kritično bolan otrok z okvaro imunosti, opekline in vdihavanje plina pri otroku. Klinični oddelek za intenzivno terapijo otrok, Pediatrična klinika, Univerzitetni klinični center; Medicinska fakulteta Univerze v Ljubljani, Katedra za pediatrijo; 2024: 29-38.
7. Wegehaupt O, Wustrau K, Lehmborg K, Ehl S. Cell Versus Cytokine – Directed Therapies for Hemophagocytic Lymphohistiocytosis (HLH) in Inborn Errors of Immunity. *Frontiers in Immunology.* 2020; 808: 1–11.
8. Henter JI, Horne AC, Arico M, Egeler M, Filipovich AH, Imashuku S et al. HLH-2004: Diagnostic and Therapeutic Guidelines for Hemophagocytic Lymphohistiocytosis. *Pediatr Blood Cancer* 2007; 48:124–131.
9. Henter JI, Sieni E, et al.. Diagnostic guidelines for familial hemophagocytic lymphohistiocytosis revisited. *Blood.* 2024 Nov 28;144(22):2308-2318.
10. Fardet L, Galicier L, et al. Development and validation of the HScore, a score for the diagnosis of reactive hemophagocytic syndrome. *Arthritis Rheumatol.* 2014 Sep;66(9):2613-20.

OKUŽBE PRI BOLNIKU V PEDIATRIČNI PALIATIVNI OSKRBI

INFECTIONS IN A PATIENT RECEIVING PEDIATRIC PALLIATIVE CARE

Anamarija Meglič

Tim za paliativno oskrbo otrok, Pediatrična klinika Ljubljana, UKC Ljubljana

IZVLEČEK

Največji delež pediatričnih bolnikov v paliativni oskrbi so otroci in mladostniki z napredujočimi in neozdravljivimi stanji, ki so kronična in kompleksna, z večorgansko prizadetostjo in težko nevrološko okvaro. Ti bolniki so še posebej dovzetni za okužbe, zlasti za okužbe spodnjih dihal. Vzroki za pogostost okužb spodnjih dihal so kompleksni, večfaktorski in se razlikujejo od bolnika do bolnika. Smernic za antibiotično zdravljenje okužb dihal teh otrok pri nas še ni. V praksi se odločamo podobno, kot predpisujejo nemške smernice za zdravljenje pljučnice pri otrocih s težko nevrološko okvaro. Zelo koristno je, da je sodobna paliativna oskrba uvedena dovolj zgodaj, da lahko s podpornimi ukrepi, predpisom in uporabo pripomočkov in priporočilom o cepljenju akutna poslabšanja, kot so okužbe, preprečimo. S pravočasno pripravo Načrta paliativne oskrbe lahko združeni zdravstveni delavci različnih področij skupaj s starši pred akutnim poslabšanjem ob okužbi načrtujejo ustrezno ukrepanje tudi v teh situacijah.

Ključne besede: težka nevrološka okvara, otrok, paliativna oskrba, respiratorne okužbe

ABSTRACT

The largest proportion of pediatric patients in palliative care consists of children and adolescents with progressive and incurable conditions that are chronic and complex, involving multi-organ impairment and severe neurological impairment. These patients are particularly susceptible to infections, especially lower respiratory tract infections. The causes of frequent lower respiratory tract infections are complex, multifactorial, and vary from patient to patient. Currently, there are no national guidelines for antibiotic treatment of respiratory infections in these children. In practice, treatment decisions are made similarly to the German guidelines for pneumonia management in children with severe neurological impairment. It is highly beneficial for modern palliative care to be introduced early enough to help prevent acute deteriorations, such as infections, through supportive measures, the prescription and use of assistive devices, and vaccination recommendations. With timely preparation of a Palliative Care Plan, healthcare professionals from various fields, together with parents, can plan ap-

appropriate interventions in advance for these situations, even before an acute deterioration due to infection occurs.

Keywords: severe neurologic impairment, child, palliative care, respiratory infections

UVOD

Pediatrična paliativna oskrba vključuje aktivno celostno obravnavo novorojenčkov, otrok in mladostnikov z neozdravljivo boleznijo in podporo njihovim bližnjim. Paliativni pristop v obravnavi bolnika naj bi se pričel že zgodaj po postavitvi diagnoze neozdravljive bolezni in se sprva tudi prepletal z zdravljenjem, usmerjenim k upočasnitvi napredovanja osnovne bolezni. Oskrba umirajočega bolnika je le del celostne paliativne oskrbe (1).

Paliativna oskrba otrok se pomembno razlikuje od paliativne oskrbe odraslih:

- spekter bolezni, ki povzročijo smrt otroka pred odraslostjo, je zelo širok, med njimi mnoge spadajo med t.i. redke bolezni;
- nekatere genetske bolezni prizadenejo tudi več otrok v družini;
- ker se med potekom bolezni otrok razvija, tako telesno kot tudi čustveno in kognitivno, se spreminjajo tudi njegove zdravstvene in družbene potrebe ter hkrati otrokovo razumevanje bolezni in smrti;
- skrb za otroka poteka v različnih okoljih, tudi npr. v šoli; zagotavljanje izobraževanja tudi za neozdravljivo bolnega otroka je bistveno, zato je za kakovostno paliativno oskrbo pomembno učinkovito povezovanje številnih udeležencev;
- starši teh otrok so pogosto socialno izolirani in zaradi zdravstvene nege zapustijo trg dela, imajo slabši finančni status;
- oskrba otroka je za starše veliko čustveno in fizično breme;
- zakonodaja in pobude za paliativno oskrbo odraslih so bistveno drugačne od potreb paliativne oskrbe otrok;
- čeprav formalno usposabljanje o paliativni oskrbi otrok še ni široko dostopno, mora biti osebje, ki izvaja paliativno oskrbo otrok v vseh okoljih, posebej usposobljeno in izkušeno za oskrbo otrok. V paliativno oskrbo otrok nikoli ne vključujemo timov, ki skrbijo za odrasle (2–4).

V kolikor paliativno oskrbo uvedemo čim prej, ko bolezen diagnosticiramo kot neozdravljivo in napredujočo, z zgodnjim prepoznavanjem poslabšanj in ustreznim takojšnjim ukrepanjem lahko pomembno povečamo kvaliteto življenja otroka in njegove družine in celo podaljšamo življenje sprejemljive kvalitete.

Celotno zdravstveno obravnavo, upoštevajoč družinske razmere in njihove željene cilje, individualno prilagodimo izključno otrokovim koristim. Ob hkratnem zdravljenju sicer neozdravljive osnovne bolezni, ki z zapleti vodi do zgodnejše smrti, kot če bi bil otrok zdrav, uvedemo različne ukrepe, ki so usmerjeni v izboljšanje kakovosti življenja otroka in otrokove družine, opustimo pa neučinkovita in obremenjujoča zdravljenja ter izvajanje nesmiselnih pregledov in preiskav, zmanjšamo število hospitalnih obravnav in skrajšamo hospitalizacije.

Najpogostejša bolezenska stanja v pediatriji, ki zahtevajo paliativno oskrbo, razvrstimo v štiri skupine (prirejeno po 5,6):

1. bolezni, pri katerih je usmerjeno zdravljenje sicer možno, a lahko neuspešno:

- napredovala ali napredujoča rakava bolezen ali rak s slabo napovedjo izida bolezni;
- kompleksna in huda prirojena ali pridobljena bolezen srca;

2. kronično potekajoča potencialno napredujoča bolezenska stanja, ki za ohranjanje kakovosti življenja zahtevajo intenzivno in dolgotrajno zdravljenje:

- težka oblika bulozne epidermolize;
- težke oblike imunske pomanjkljivosti;
- kronična težka dihalna odpoved;
- ledvična odpoved, če dializa in/ali presaditev nista mogoči;
- težke neoperabilne malformacije prebavil;

3. napredujoče bolezni, pri katerih usmerjeno zdravljenje ni možno:

- napredujoče presnovne in nevrodegenerativne bolezni;
- nekatere kromosomske nepravilnosti (npr. trisomija 13 ali trisomija 18);

4. nenapredujoča, a nepopravljiva stanja z veliko verjetnostjo zdravstvenih zapletov:

- stanja s hudimi nevrološki posledicami zaradi nalezljivih bolezni centralnega živčevja;
- obsežna hipoksična poškodba možganov ob rojstvu ali kasneje;
- težke možganske malformacije.

OTROK V PALIATIVNI OSKRBI IN POVEČANO TVEGANJE ZA OKUŽBE DIHAL

Največji delež pediatričnih bolnikov v paliativni oskrbi so otroci in mladostniki z napredujočimi in neozdravljivimi stanji, ki so kronična in kompleksna, z večorgansko prizadetostjo in težko nevrološko okvaro: otroci s hipoksično okvaro centralnega živčevja ob rojstvu ali nastalo kasneje, s posledicami po meningoencefalitisu v zgodnjem obdobju življenja, po možganski poškodbi, otroci z nevrodegenerativnimi boleznimi, npr. mitohondrijskimi obolenji, z nevromuskularnimi boleznimi ali prirojenimi možganskimi nepravilnostmi. Za vse je značilna motnja v razvoju z gibalno oviranostjo, motnja v duševnem razvoju, okvara sluha in vida, pogosto imajo epilepsijo. Zaradi motnje požiranja in prehranjevanja so pogosto nezadostno prehranjeni, potrebujejo nosno-žrelno cevko ali perkutano gastrostomo. Zaradi motnje praznjenja sečnega mehurja potrebujejo intermitentne kateterizacije mehurja. Ker so nepokretni, se razvije inaktivitetna osteoporoza, pojavijo se spontani zlomi. Prejemanje številnih zdravil, npr. antiepileptikov, lahko vpliva na delovanje kostnega mozga in kot stranski učinek povzroči okvaro imunosti (7). Dokazano je, da je pri otrocih s težko nevrološko okvaro zmanjšano število monocitov in CD8+ T celic in spremenjen odziv vnetnih in imunskih celic (8).

Ta skupina bolnikov je še posebej dovzetna za okužbe, zlasti za okužbe spodnjih dihal (9, 10). Pljučnice v paliativni oskrbi otrok pomenijo pomemben delež obolevnosti in so povezane s povečanim tveganjem smrti v primerjavi z okužbami spodnjih dihal pri zdravih otrocih. Ponavljajoče pljučnice lahko povzročijo progresivno respiratorno insuficienco in posledično vplivajo na kakovost življenja teh bolnikov in njihovih družin (7).

Vzroki za pogostost okužb spodnjih dihal so kompleksni, večfaktorski in se razlikujejo od bolnika do bolnika. Odvisno od starosti in obstoječe imunosti večino pljučnic povzročajo predvsem respiratorni virusni patogeni; respiratorni sincicijski virus (RSV), virus gripe in SARS-CoV-2 lahko povzročijo hude okužbe, zlasti pri otrocih s težko nevrološko okvaro (11, 12, 13). Poleg virusnih okužb so ti bolniki še posebej nagnjeni k bakterijskim pljučnicam (14).

Večina bolnikov s težko nevrološko okvaro ima oslabeledost dihalnih mišic in zmanjšano sposobnost izkašljevanja, povečano zadrževanje sluzi v pljučih zaradi stalnega ležече položaja, lahko tudi restriktivno motnjo pljuč zaradi deformacije prsnega koša ob skoliozi. Pogosto imajo motnjo

požiranja in posledično zatekanje izločkov v pljuča, lahko tudi hrane in tekočine, v kolikor so hranjeni skozi usta. Do vdihanja želodčne vsebine lahko pride ob bruhanju, epileptičnem napadu, ob gastroezofagealnem refluksu (15–19). Bolniki, ki so bili rojeni kot nedonošeni, imajo lahko kronično prizadetost pljuč, bronhopulmonalno displazijo (20). Zaostali izločki dihalnih poti v pljučih spodbujajo trdovratno endobronhialno nevtrofilno vnetje, ki vodi do strukturne pljučne bolezni spodnjih dihalnih poti, npr. bronhiektazij in kroničnih atelektaz (7). Navedeni razlogi vodijo do večje dovzetnosti za bakterijske okužbe, kot sta zunajbolnišnična pljučnica in aspiracijska pljučnica, povzročeni s klicami neposredno iz orofarinksa in posredno iz želodčne vsebine (21). Ugotovili so, da prejetje zaviralcev protonske črpalke lahko spodbudi orofaringealno in želodčno kolonizacijo z bakterijskimi patogeni (22). Vstavljen tracheostoma pomeni povečano tveganje za okužbo spodnjih dihal zaradi kolonizacije z bakterijami, ki povzročijo nastanek biofilma na površini kanile (23). Pogosti obiski zdravstvenih ustanov, odvisnost od medicinskih pripomočkov in večkratna zdravljenja z antibiotiki širokega spektra sčasoma privedejo do večjega deleža kolonizacije in posledične okužbe z organizmi, odpornimi na več zdravil (24).

ZDRAVLJENJE OKUŽBE DIHAL PRI OTROKU S KRONIČNIM KOMPLEKSNIH STANJEM V PALIATIVNI OSKRBI

Razlikovati med virusnimi in bakterijskimi okužbami spodnjih dihal pri pediatričnih bolnikih s težko nevrološko okvaro je v klinični praksi še vedno izziv, saj so klinični znaki pljučnice enaki (15). Težave pri pravočasnem prepoznavanju kliničnih znakov bakterijske pljučnice povzročijo zapoznel začetek ustreznega zdravljenja (25).

Klinični znaki okužbe spodnjih dihal pri teh bolnikih vključujejo tahipnejo ali dispnejo, zvišano telesno temperaturo, kašelj, izrazitejši gost izloček dihal, nov pojav ali povečano potrebo po kisiku ali patološki izvid avskultacije prsnega koša. Lahko se pojavijo tudi nespecifični znaki, kot so gastrointestinalni simptomi, izguba teže, povečan nemir. Pri bolnikih z akutnim poslabšanjem je potrebno pravočasno prepoznati septični šok in druge s sepo povezane organske disfunkcije ter zagotoviti ustrezno zdravljenje (26).

Ob pregledu tuje literature avtorji navajajo različna priporočila. V nemških priporočilih iz l. 2024 (7) pri bakterijskih okužbah spodnjih dihal navajajo antibiotično zdravljenje glede na resnost okužbe, pri čemer priporočajo aminopenicilin z zaviralcem beta-laktamaze za zunajbolnišnične okužbe in piperacilin-tazobaktam za bolnike s kronično pljučno boleznijo ali tracheostomo. Ob pozitivni epidemiološki anamnezi ob sumu na pljučnico, povzročeno z mikoplazmo, svetujejo pred predpisom makrolidov ali doksiciklina odvzem ustrezne kužnine. Ob sumu na gripo priporočajo čim prejšnji začetek 5-dnevnega zdravljenja z oseltamivirjem. Navajajo, da so pri bolnikih z okužbo z gripo ali takoj po njej pnevmokoki in *S. aureus* najpogostejši povzročitelji bakterijske sočasne okužbe (27).

Ob zdravljenju bolnika priporočajo prilagoditve antibiotične terapije na podlagi identifikacije patogena in optimizacijo podporne oskrbe (7).

Kljub temu, da se sodobna paliativna oskrba v našem okolju hitro širi, s tem pa tudi znanje in izkušnje, smernic za antibiotično zdravljenje okužb dihal teh otrok pri nas še ni. Velja, da je zdravljenje v domačem okolju zanje ugodnejše kot v bolnišnici, če je to le mogoče; s tem je povezan predpis antibiotika, ki ga bolnik lahko prejme po perkutani gastrostomi ali nosno-žrelni cevki. Tudi v kolikor nastavitev periferne intravenske poti ni otežkočena ali imajo

celo centralni pristop v obliki podkožnega rezervoarja, možnosti parenteralne antibiotične terapije na domu v praksi pri nas še ni. Ker bolnik vsaj v začetku okužbe ostaja doma, kužnina pred začetkom empirične antibiotične terapije, npr. aspirat traheje, ni odvzeta. Odločitev o empirični antibiotični terapiji sprejme večinoma zdravnik tima za paliativno oskrbo ali pa osebni pediater na podlagi poznanega celostnega bolezenskega stanja otroka. V praksi se otroka sprejme v bolnišnico le v primerih, ko potrebuje zdravstveno oskrbo, ki doma ni možna, npr. dodajanje kisika ali pa takrat, ko starši doma oskrbe ne zmorejo več. Pogosto se tem bolnikom ob okužbi poslabša epilepsija ali drugi znaki nevrološke bolezni, npr. boleč mioklonus, lahko popolnoma zavračajo hranjenje in bruhanje, pojavi se visoka telesna temperatura in dihalna stiska, s tem pa želja staršev po oskrbi otroka s strani zdravstvenega osebja.

Po naših izkušnjah se ob sumu na okužbo spodnjih dihal večinoma empirično predpiše aminopenicilin z zaviralcem beta-laktamaze (amoksicilin s klavulansko kislino). Cefalosporinom vseh generacij se po nacionalnem priporočilu izogibamo. Tudi v primeru sprejema v bolnišnico, na Pediatrično kliniko Ljubljana, v večini primerov nadaljujemo z istim antibiotikom. V času pogostih virusnih okužb odvezamemo nosno-žrelni bris in v primeru dokazane gripe predpišemo oseltamivir.

Dodatno uvedemo vse nefarmakološke podporne ukrepe: intenziviramo fizioterapijo prsnega koša do stopnje, ki jo otrok še ugodno prenese, lahko predpišemo bronhodilatatorno terapijo, privzdignjeno vzglavje, hranjenje z manjšimi obroki. Ob dihalni stiski pomirimo bolnika, zagotovimo prisotnost staršev in mirnega okolja, poskrbimo za nižjo temperaturo okolice in za dotok svežega zraka, ugoden je lahko ventilator, usmerjen v obraz. Hladen zrak spodbudi trojejni živec, kar deluje centralno inhibitorno na občutek dispneje. Za oceno stopnje dihalne stiske upoštevamo dihalno delo, frekvenco dihanja in prisotno stokanje, manj pomembna je vrednost saturacije s kisikom. Pomemben podporni ukrep je izpraznitev črevesa, v kolikor otrok neredno odvaža. Dodatek kisika uvedemo, v kolikor otroku s tem olajšamo dihalno stisko in ga nosni nastavke ali obrazna maska ne vznemirja. Vir kisika, npr. preko obrazne maske lahko nastavimo pred obraz. Pri bolnikih s hipoksemijo lahko s kisikom zmanjšamo občutek dispneje, pri bolnikih z normoksemijo pa je učinek kisika na zmanjšanje dispneje primerljiv z zrakom (28, 29).

Glede na splošno stanje otroka od diagnostičnih preiskav prihaja v poštev obposteljni UZ pregled za diagnostiko plevralnega izliva in rentgenogram pljuč. V kolikor se stanje slabša in bolnik še nima oblikovanega dokumenta Načrt paliativne oskrbe, se sestane multidisciplinarni tim lečečih zdravnikov, medicinskih sester, resp. fizioterapevtov in zdravstvenih delavcev z dodatnim znanjem iz paliativne oskrbe in načrt pripravi skupaj z otrokovimi starši. Tem otrokom intubacija, umetna ventilacija in ostalo intenzivno zdravljenje ni v korist, ampak je velika verjetnost, da bi jim, v kolikor bi preživel, invazivni postopki poslabšali kvaliteto življenja v nesprejemljivo oz. le podaljševali človeka nevredno življenje. Zato se za tovrstno zdravljenje pri napredovalih bolnih otrocih ne odločimo. Tudi postopki neinvazivne ventilacije bi otroka le obremenili in večinoma ne prihajajo v poštev. Ob obilnem plevralnem izlivu zunanja drenaža lahko olajša dihalno stisko ali pa pomeni le dodatno nekoristno obremenitev bolnika. V primeru otroka v zgodnji paliativni oskrbi, ki je zbolel z okužbo spodnjih dihal, za katerega pričakujemo ozdravitev okužbe in nadaljnje življenje, sicer neozdravljivo in napredujočo boleznijo, po odvzetju kužnine v multidisciplinarnem timu vedno sodeluje tudi pediatrični infektolog. V takih primerih prihaja v poštev katerakoli antibiotična terapija, npr.

piperacilin-tazobaktam, tudi v parenteralni obliki. Odločanje za vsakega otroka je popolnoma individualno, v luči njegove največje koristi, upoštevajoč cilje družine (30).

Ob težki okužbi dihal pri otroku z napredovalim kompleksnim stanjem je nujno, da ni boleče in da vedno dobiva zadostno in redno analgezijo (31).

Ob dihalni stiski je nepogrešljivo zdravilo morfin. Delovanje opioidov sicer ni še natančno pojasnjeno, znano pa je, da zmanjšujejo potrebo po dihanju, zmanjšujejo odziv dihalnega centra v možganskem deblu na hipoksijo in hiperkapnijo, spreminjajo centralno zaznavanje dispneje in zmanjšujejo anksioznost. Če so ustrezno titrirani, ne povzročajo depresije dihanja, slabšanja oksigenacije ali pomembnega poslabšanja hiperkapnije (32). Ker učinkujejo tudi kot periferni vazodilatatorji, zmanjšajo priliv krvi v srce, kar pri bolnikih s srčnim popuščanjem in pljučno hipertenzijo deluje ugodno (33). Izmed opioidov je zdravilo prve izbire za obvladovanje dispneje morfin v odmerku, ki znaša 30–50 % odmerka morfina za zdravljenje bolečine. Pri opioidno naivnih bolnikih z intermitentno dispnejo začnemo z najnižjim odmerkom in ga ob neučinkovitosti povečujemo za 30–50 %. Začnemo z bukalno aplikacijo oralnega preparata morfina, ki je na tržišču v obliki raztopine po 20 mg/ml. Za dojenčke je potrebna priprava razredčene raztopine, npr. 0,4 mg/ml. Pri bolnikih, ki že sicer redno prejemajo opioide, za prekinjanje dispneje uporabljamo odmerke za prebijajočo bolečino (1/6 dnevnega odmerka morfina). Pri daljši dispneji uporabljamo morfin v trajni podkožni ali intravenski infuziji. Inhalacije morfina se zaenkrat v raziskavah niso izkazale kot učinkovit način lajšanja dispneje pri otrocih (34). Pri zdravljenju z opiodi nujno vključimo tudi odvajalo in v prvih dneh antiemetik, saj opiodi povzročajo zaprtje in slabost (35).

ZDRAVLJENJE DRUGIH OKUŽB PRI OTROKU S KRONIČNIM KOMPLEKSNI STANJEM V PALIATIVNI OSKRBI

V primeru drugih okužb, npr. okužb sečil, prebavil, okužbe centralnega živčevja po vstavitvi ventrikularne drenaže in drugih, se odločamo vedno za diagnostiko in zdravljenje, ki bosta otroku koristila in se ne ravnamo po siceršnjih kliničnih poteh za zdrave otroke. V vseh primerih je ugodno, da okužbo prepoznamo zgodaj; da pred uvedbo antibiotične terapije odvzamemo ustrezne kužnine; da empirično antibiotično terapijo spreminjamo glede na izolirano klico in antibiogram. V praksi pri kronično kompleksnem otroku z napredujočim slabšanjem stanja to vedno ni možno ali pa zanj ni optimalno. Otroka bi prevoz v zdravstveno ustanovo za odvzem kužnin lahko tako utrudil, da bi se splošno stanje poslabšalo; zdravljenje v bolnišnici prinaša neugodje otroku in staršem; intravenozna aplikacija antibiotika je povezana z bolečim zbadaanjem ob nastavljanju perifernega venskega pristopa in podobno. Smisel sodobnega paliativnega pristopa je v individualno prilagojenem zdravljenju bolnika brez nepotrebnih, bolečih in obremenjujočih postopkov za zagotavljanje življenja sprejemljive kvalitete zanj in za njegovo družino. Stanje teh otrok je kompleksno, zato je nujno povezovanje zdravstvenih delavcev različnih strokovnih področij in stalno pretehtavanje koristi posameznih ukrepov, ob dobrem poznavanju komunikacijskih veščin (36).

PREPREČEVANJE OKUŽB IN NAČRT PALIATIVNE OSKRBE

Zelo koristno je, da je sodobna paliativna oskrba uvedena dovolj zgodaj, da lahko s podpornimi ukrepi, predpisom in uporabo pripomočkov in priporočilom o cepljenju akutna poslabšanja, kot

so okužbe, preprečimo. Med tovrstne ukrepe za bolnike s težko nevrološko okvaro nedvomno sodi fizioterapija prsnega koša, zgodnja diagnostika motenj požiranja in potrebe po aspiracijah slin in drugih izločkov, zagotovitvi druge poti za hranjenje kot preprečitev okužb dihal, tudi aspiracijske pljučnice; uvedba intermitentnih kateterizacij mehurja pri neustreznem praznjenju mehurja kot preprečitev ponavljajočih okužb sečil; dohranjevanju s kaloričnimi dodatki za zagotavljanje optimalne prehranjenosti in podobno. S pravočasno pripravo dokumenta Načrt paliativne oskrbe lahko združeni zdravstveni delavci različnih področij skupaj s starši pred akutnim poslabšanjem ob okužbi načrtujejo ustrezno ukrepanje tudi v teh situacijah. Načrt paliativne oskrbe kot pisni dokument mora biti na razpolago vsem zdravstvenim delavcem, ki oskrbujejo otroka, tudi urgentni službi na terenu. S tem optimiziramo zdravstveno oskrbo otroka in bistveno zmanjšamo psihično obremenitev staršev in zdravstvenih delavcev.

ZAKLJUČEK

Zdravljenje okužb pri otrocih v paliativni oskrbi, ki so večinoma bolniki s kroničnimi kompleksnimi napredujočimi in neozdravljivimi stanji s težko nevrološko okvaro, je nedvomno lahko velik izziv. Indikacija in izbira antibiotične terapije za bakterijsko okužbo sta lahko težavni, ker ni na dokazih podprtih priporočil za zdravljenje te heterogene, a ranljive populacije bolnikov. Pogosta prekomerna uporaba antibiotikov širokega spektra ali rezervnih antibiotikov pri tej populaciji bolnikov povečuje razvoj rezistentnih klic. Odločitev zdravstvenega tima o diagnostiki in zdravljenju okužbe naj bo vedno bolniku individualno prilagojena, najbolje po vnaprej pripravljenem Načrtu paliativne oskrbe, ki naj vključuje tudi ukrepanje ob okužbi in ukrepe za preprečitev okužb.

LITERATURA

1. Anon. WHO Definition of Palliative Care. Dostopno na: <https://www.who.int/cancer/palliative/definition/en/>
2. Anon. Principles of children's palliative care. Dostopno na: <http://www.icpcn.org/principles-of-cpc/>.
3. American Academy of Pediatrics. Committee on Bioethics and Committee on Hospital Care. Palliative Care for Children. *Pediatrics*. 2000; 106 (2):351–7.
4. O'Shea ER, Kanarek RB. Understanding Pediatric Palliative Care : What It Is and What It Should Be. *Journal of Pediatric Oncology Nursing*. 2013;30(1):34–44.
5. Himmelstein BP, Hilden JM, Boldt AM, Weissman D. Pediatric palliative care. *N Engl J Med*. 2004; 350(17):1752–62.
6. Fraser J, Harris N, Berringer AJ, Prescott H, Finlay F. Advanced care planning in children with life-limiting conditions - the Wishes Document. *Arch Dis Child*. 2010;95(2):79.
7. Mauritz MD, von Both U, Dohna-Schwake C, Gille C, Hasan C, Huebner J, et al. Clinical recommendations for the inpatient management of lower respiratory tract infections in children and adolescents with severe neurological impairment in Germany. *Eur J Pediatr*. 2024;183(3):987-99.
8. Allen J, Isaza-Correa J, Kelly L, et al. Severe neurological impairment and immune function: altered neutrophils, monocytes, T lymphocytes, and inflammasome activation. *Pediatr Res*. 2024;95, 1611–6.

-
9. Millman AJ, Finelli L, Bramley AM, Peacock G, Williams DJ, Arnold SR, et al. Community-Acquired Pneumonia Hospitalization among Children with Neurologic Disorders. *J Pediatr*. 2016;173:188–95.e4.
 10. Lin JL, Haren KV, Rigdon J, Saynina O, Song H, Buu MC, et al. Pneumonia Prevention Strategies for Children with Neurologic Impairment. *Pediatrics*. 2019;144:e20190543.
 11. Armann J, Doenhart M, Hufnagel M, Diffloth N, Reichert F, Haas W, et al. Risk Factors for Hospitalization, Disease Severity and Mortality in Children and Adolescents with COVID-19: Results from a Nationwide German Registry. [(accessed on 18 April 2022)];medRxiv. 2021 Available online: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2021.06.07.21258488v1.article-info.2021.06.07.21258488>
 12. Kondrich J, Rosenthal M. Influenza in Children. *Curr. Opin. Pediatr*. 2017;29:297–302.
 13. Simon A, Prusseit J, Müller A. Respiratory Syncytial Virus Infection in Children with Neuromuscular Impairment. *Open Microbiol. J*. 2011;5:155–8.
 14. Mauritz MD, Hasan C, Schmidt P, Simon A, Knuf M, Zernikow B. Lower Respiratory Tract Infections in Pediatric Patients with Severe Neurological Impairments: Clinical Observations and Perspectives in a Palliative Care Unit. *Children (Basel)*. 2022;9(6):852.
 15. Thomson J, Hall M, Berry JG, Stone B, Ambroggio L, Srivastava R, et al. Diagnostic Testing and Hospital Outcomes of Children with Neurologic Impairment and Bacterial Pneumonia. *J. Pediatr*. 2016;178:156–63.
 16. Cherchi C, Testa MBC, Deriu D, Schiavino A, Petreschi F, Ullmann N, et al. All You Need Is Evidence: What We Know About Pneumonia in Children with Neuromuscular Diseases. *Front. Pediatr*. 2021;9:625751.
 17. Panitch HB. Viral Respiratory Infections in Children with Technology Dependence and Neuromuscular Disorders. *Pediatr. Infect. Dis. J*. 2004;23:S222–S227.
 18. Koumbourlis AC. Scoliosis and the Respiratory System. *Paediatr. Respir. Rev*. 2006;7:152–60.
 19. Boel L, Pernet K, Toussaint M, Ides K, Leemans G, Haan J, Hoorenbeeck KV, et al. Respiratory Morbidity in Children with Cerebral Palsy: An Overview. *Dev. Med. Child Neurol*. 2019;61:646–53.
 20. Seddon PC, Khan Y. Respiratory Problems in Children with Neurological Impairment. *Arch. Dis. Child*. 2003;88:75.
 21. Arslan SS, Demir N, Karaduman AA. Both Pharyngeal and Esophageal Phases of Swallowing Are Associated with Recurrent Pneumonia in Pediatric Patients. *Clin Respir J*. 2018;12:767–71.
 22. Souza BD, Richardson SE, Cohen E, Mahant S, Avitzur Y, Carsley S, et al. Gastric Flora in Gastrostomy Fed Children with Neurological Impairment on Antacid Medication. *Children*. 2020;7:154.
 23. Tan C-Y, Chiu N-C, Lee K-S, Chi H, Huang F-Y, Huang DT-N, et al. Respiratory Tract Infections in Children with Tracheostomy. *J. Microbiol. Immunol. Infect*. 2020;53:315–20.
 24. Enninger A, Schmidt P, Hasan C, Wager J, Zernikow B. Multidrug-Resistant Organisms in Palliative Care: A Systematic Review. *J Palliat Med*. 2021;24:122–32.
 25. Berry JG, Poduri A, Bonkowsky JL, Zhou J, Graham DA, Welch C, et al. Trends in Resource Utilization by Children with Neurological Impairment in the United States Inpatient Health Care System: A Repeat Cross-Sectional Study. *PLoS Med*. 2012;9:e1001158.
 26. Weiss SL, Peters MJ, Alhazzani W, et al. Surviving sepsis campaign international guidelines for the management of septic shock and sepsis-associated organ dysfunction in children. *Pediatr Crit Care Me*. 2020;21:e52–e106.
-

27. Klein EY, Monteforte B, Gupta A, et al. The frequency of influenza and bacterial coinfection: a systematic review and meta-analysis. *Influenza Other Resp.* 2016;10:394–403.
28. Friedrichsdorf SJ, Collins JJ. Management of Non-Pain Symptoms in Pediatric Palliative Care. *Med Princ Pract* 2007;16(suppl 1):3–9.
29. Baker Rogers J, Modi P, Minter JF. Dyspnea in Palliative Care. [Updated 2023 Apr 3]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK526122/>
30. Bogetz JF, Lemmon ME. Pediatric Palliative Care for Children With Severe Neurological Impairment and Their Families. *J Pain Symptom Manage.* 2021 Sep;62(3):662–7.
31. Fishman I, Siden H, Vadeboncoeur C. Evaluation of children with severe neurological impairment admitted to hospital with pain and irritability. *BMC Pediatr.* 2022;22,571.
32. Ebert Moltara M, Malačič S, Gumilar I (Ur.). Priročnik paliativna oskrba. Ljubljana: Slovensko združenje za paliativno in hospic oskrbo, 2021. ISBN/EAN: 9789619430149
33. Tyler LS. Dyspnea in palliative care patients. New York: Haworth Press, 1999:109–28.
34. Cohen SP, Dawson TC. Nebulized morphine as a treatment of dyspnea in a child with cystic fibrosis. *Pediatrics* 2002;110:e38
35. Homan M, Lepej D, Šuštar N, Česen M, Avčin S, Kitanovski L, Meglič A. Obravnava telesnih simptomov v pediatrični paliativni oskrbi. V: Battelino T. (ur.): Izbrana poglavja iz pediatrije 31. Zdravo spanje za zdravo odrasčanje. Pediatrična paliativna oskrba. Antibiotiki v pediatriji – ne na pamet, ampak po pameti. (156 strani). Ljubljana: Medicinska fakulteta, Katedra za pediatrijo, 2019: 69-92. ISSN 1408-354X. COBISS.SI-ID 6474412.
36. Benini F, Papadatou D, Bernadà M, Craig F, De Zen L, Downing J, et al. International Standards for Pediatric Palliative Care: From IMPaCCT to GO-PPaCS. *J Pain Symptom Manage.* 2022;63(5):e529-e543.

OKUŽBE PRI ODRASLEM BOLNIKU V PALIATIVNI OSKRBI

INFECTIONS IN PALLIATIVE CARE ADULT PATIENTS

Sergeja Gregorčič

Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja, UKC Ljubljana

POVZETEK

Z napredkom medicine in staranjem prebivalstva se širijo potrebe in področja paliativne oskrbe. Sodobna paliativna oskrba vključuje pravočasno načrtovanje nadaljnje oskrbe brez obremenjujoče diagnostike in zdravljenja ter ukrepe za lajšanje simptomov. Na ta način želimo zagotoviti čim boljše kakovost življenja in dostojno slovo. Okužbe pogosto zapletajo obravnave pacientov v paliativni oskrbi. V zgodnjih obdobjih paliativne oskrbe se o zdravljenju okužb odločamo skladno s priporočili in smernicami, v poznem obdobju so odločitve individualne v korist bolnika, v obdobju umiranja pa zdravljenje okužb večinoma nima več pravega mesta.

Ključne besede: paliativna oskrba, okužbe, odrasli

ABSTRACT

With the advancement of medicine and the aging of the population, the needs and areas of palliative care are expanding. Modern palliative care includes timely planning of further care without burdensome diagnostics and treatment, as well as measures to relieve symptoms. In this way, we want to ensure the highest possible quality of life and a dignified farewell. Infections often complicate the treatment of patients in palliative care. In the early stages of palliative care, decisions about the treatment of infections are made in accordance with recommendations and guidelines, in the late stages, decisions are individual in the patient's best interest, and in the dying phase, the treatment of infections is mostly no longer relevant.

Key words: palliative care, infections, adults

UVOD

V zadnjih nekaj desetletjih se paliativna oskrba (PO) v številnih državah zelo intenzivno razvija, saj so potrebe velike in pričakovati je, da bodo še naraščale. PO predstavlja celostno podporo bolnikom z življenje ogrožajočimi boleznimi in stanji, ter njegovim bližnjim, za zagotavljanje čim boljše kakovosti življenja in lajšanje trpljenja. Celostna oskrba vključuje obravnavo telesnih simptomov ter skrb za psihološke, socialne in duhovne potrebe posameznika. PO ni opredeljena z določenim obolenjem, starostjo bolnika ali njegovim prepričanjem, temveč temelji na oceni stanja bolnika, prognozi njegove bolezni ter oceni specifičnih potreb bolnika

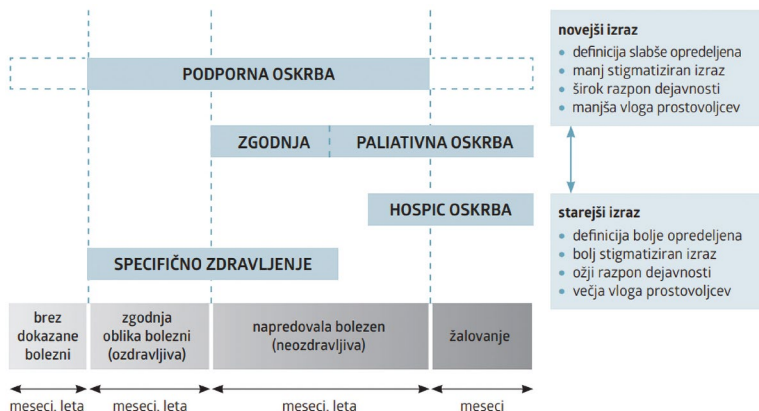
in njegovih bližnjih. Osnovna PO, ki zadosti potrebam približno 80 % bolnikov, ni ločena specialnost, temveč sestavni del dobre medicinske prakse na vseh nivojih zdravstvene oskrbe. Za približno petino odraslih bolnikov ter celotno pediatrično populacijo pa so potrebni specializirani paliativni timi (1, 2). Okužbe so pogoste spremljevalke bolnikov v PO in pogosto tudi neposredni vzrok smrti.

Obdobja paliativne oskrbe pri kroničnih obolenjih

V prispevku se bomo omejili na PO pri kroničnih obolenjih. Kronična obolenja so opredeljena kot neozdravljive bolezni, ki jih kljub napredkom medicine zaenkrat še ne znamo pozdraviti. Pri mnogih kroničnih obolenjih ob zgodnji prepoznavi bolezni razpolagamo s specifičnim vzročnim zdravljenjem v obliki zdravil ali drugih postopkov (npr. operativno zdravljenje, kemoterapija, radioterapija ...), s katerimi dosežemo upočasnitev napredovanja bolezni (zazdravitev) ali zmanjšanje bremena osnovne bolezni (1, 3). PO se začne s prepoznavo take bolezni in se skozi potek bolezni spreminja. S časom izčrpamo možnosti specifičnega zdravljenja in se intenzivirajo oblike podpornega zdravljenja. Izrazoslovje, povezano s časovnimi obdobji PO, je prikazano na sliki 1 (3).

Glede na sodobne usmeritve bi vsi bolniki z neozdravljivimi boleznimi poleg specifičnega zdravljenja potrebovali tudi sočasno PO, ki dokazano izboljšuje kakovost življenja in s tem lahko vpliva tudi na podaljšanje preživetja (1, 2). Po ocenah Svetovne zdravstvene organizacije (SZO) je najvišji nivo PO dostopen le 14 % svetovnega prebivalstva, večinoma v evropskih državah. Slovenija je bila leta 2017 po ravni PO uvrščena visoko, med države s centri za PO na več lokacijah, z možnostjo oskrbe v hospicijih, zagotovljenim financiranjem in vzpostavljenim programom izobraževanja (4).

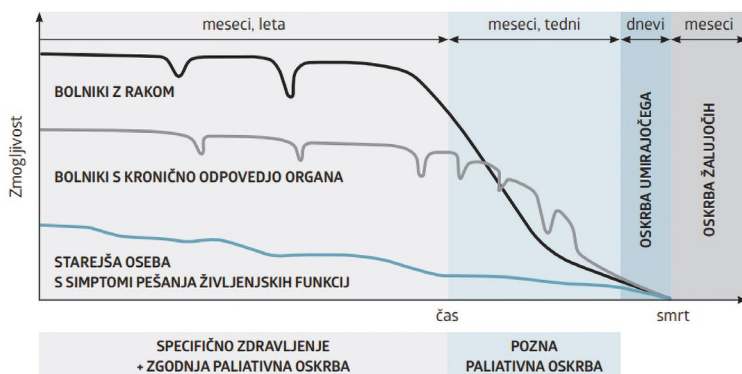
Slika 1. Časovna umeščenost obdobji paliativne oskrbe skozi potek bolezni (3).



Naravni poteki kroničnih obolenj so različni, nanje dodatno vplivajo bolnikove individualne značilnosti in druge okoliščine (3, 5). Bolniki z nekaterimi neozdravljivimi oblikami rakave bolezni s pomočjo najnovejših načinov zdravljenja živijo tudi več let po postavitvi diagnoze. Pri bolnikih z neozdravljivo rakavo boleznijo nastopi pozno obdobje PO, ko je specifično onkološko zdravljenje izčrpano. V ostalih medicinskih specialnostih in pri določenih bolezenskih

stanjih (npr. odpovedi organov, demenca ...) so pri dolgotrajnem, večletnem poteku bolezni prehodi med obdobji PO bolj zabrisani (slika 2) (3–5, 6).

Slika 2. Naravni potek bolezni in obdobja paliativne oskrbe (3)



Osnovna paliativna oskrba

Večino potreb PO lahko oskrbijo zdravstveni delavci z osnovnimi znanji o PO:

- osnovno obvladovanje bolečine in drugih pogostih simptomov (vključno z depresijo in tesnobo);
- priprava, spremljanje in prilagajanje paliativnega načrta obravnave;
- izvajanje pogovorov glede izida in ciljev zdravljenja;
- pogovori o vsebinah, kot so trpljenje, umiranje, smrt in druga težka vprašanja.

S prepoznavanjem pomembnosti in razvojem PO v Slovenji se ta znanja vključujejo v redne izobraževalne programe za vse zdravstvene profile (1).

Ključna vloga osnovne PO je pravočasno prepoznavanje bolnikov, ki potrebujejo PO, ocena trenutnih potreb in izraženost simptomov, ocena stanja, osnovno obvladovanje simptomov ter prepoznavanje bolnikov, ki imajo kompleksne potrebe in potrebujejo vključitev specializiranih paliativnih dejavnosti (1, 2).

Orodja za prepoznavo potreb po paliativni oskrbi

Pravočasna prepoznava potreb po PO je zahtevna in hkrati zelo pomembna, ker omogoča zagotavljanje oskrbe, izboljša nadzor nad simptomi, zmanjšuje strah ter stisko pri bolniku in bližnjih, omogoča obravnavo, kot si jo bolnik sam želi, in poveča verjetnost, da bo bolnik umrl v domačem okolju. Zmanjšuje torej t.i. agresivnost zdravljenja, praviloma pa tudi zmanjšuje stroške obravnave (1, 7).

Najpreprostejše orodje za prepoznavo potrebe po PO je pritrdilni odgovor na t.i. vprašanje presenečenja: »Ali bi bili presenečeni, če bi bolnik umrl v 12 mesecih?« (1). Da bi se izognili subjektivni oceni zdravstvenih delavcev, so se razvila druga bolj kompleksna orodja, med katerimi so najbolj poznani SPICIT kriteriji (*angl.* Supportive and Palliative Care Indicators Tool) (1, 8). Le-ti vključujejo splošne kazalnike, kazalnike ob nekaterih pogostih bolezenskih stanjih in odpovedi organov (slika 3) (8).

Slika 3. SPICIT kriteriji za vključitev v paliativno oskrbo (8, slovenski prevod osebni vir, še neobjavljeno)



Kazalniki za prepoznavo potrebe po podpornem in paliativnem zdravljenju – orodje SPICIT™



Orodje SPICIT™ se uporablja kot pomoč pri prepoznavanju bolnikov, katerih zdravstveno stanje se slabša. Z orodjem SPICIT ocenite, ali ima bolnik potrebe po podpornem in paliativnem zdravljenju. Oblikujte načrt nadaljnje obravnave.

Bodite pozorni na splošne kazalnike slabega zdravja ali slabšanja zdravstvenega stanja.

- Nenačrtovani sprejem(i) v bolnišnico.
- Zmogljivost bolnika je slaba ali se slabša, možnosti za izboljšanje pa so omejene (npr. oseba več kot polovico dneva preživi v postelji ali na stolu).
- Bolnik je zaradi čedalje večjih telesnih in/ali duševnih težav odvisen od oskrbe drugih. Oseba, ki zanj skrbi, potrebuje več pomoči in podpore.
- Postopno izgubljanje telesne teže; vztrajanje pre nizke telesne teže; nizka mišična masa.
- Vztrajanje simptomov kljub optimalnemu zdravljenju osnovnih bolezni.
- Bolnik (ali družinski člani) želi paliativno oskrbo; se odloči za zmanjšanje, prekinitev ali opustitev zdravljenja.

Bodite pozorni na klinične kazalnike ene ali več neozdravljivih bolezni.

Rak

Poslabšanje funkcionalnih sposobnosti zaradi napredovalega raka.
Bolnik je preslaboten za zdravljenje raka ali pa je zdravljenje namenjeno obvladovanju simptomov.

Demenca/slabotnost

Bolnik se brez pomoči ne more obleči, hoditi ali jesti.
Manj pije in je; težave pri požiranju.
Urinska in fekalna inkontinenca.
Nezmožnost verbalne komunikacije; omejena družbena dejavnost.
Pogosti padci; zlom stegenice.
Ponavljajoča se vročinska stanja ali okužbe; aspiracijska pljučnica.

Nevrološke bolezni

Postopno slabšanje telesnih in/ali kognitivnih funkcij kljub optimalnemu zdravljenju.
Motnje govora in čedalje večje težave s sporazumevanjem in/ali požiranjem.
Ponavljajoče se aspiracijske pljučnice; težka sapa ali dihalna odpoved.
Trajna paraliza po možganski kapi z znatno izgubo funkcij in trajno onesposobljenostjo.

Srčno-žilna obolenja

Srčno popuščanje ali obsežna neozdravljiva koronarna bolezen s težko sapo ali bolečina v prsih ob mirovanju ali manjšem naporu.
Huda neoperabilna periferna žilna bolezen.

Bolezni dihal

Huda kronična pljučna bolezen z zasoplostjo ob mirovanju ali manjšem naporu med poslabšanji.
Vztrajajoča hipoksija, ki zahteva trajno zdravljenje s kisikom.
Oseba je potrebovala umetno ventilacijo zaradi dihalne odpovedi ali pa je umetna ventilacija kontraindicirana.

Druge bolezni

Poslabšanje zdravstvenega stanja zaradi pridruženih obolenj, polimorbidnosti in/ali zapletov, ki jih ni mogoče ozdraviti, najboljše razpoložljivo zdravljenje pa vodi v slab izid.

Bolezni ledvic

Kronična bolezen ledvic 4. ali 5. stopnje (eGFR < 30 ml/min) s poslabšanjem zdravstvenega stanja.
Okvara ledvic, ki lahko povzroči zaplete pri drugih življenjsko ogrožajočih boleznih ali zdravljenjih.
Prekinitev ali neuedba dialize.

Bolezni jeter

Ciroza z enim ali več zapletov v preteklem letu:
▪ ascites, ki se ne odziva na diuretike
▪ jetna encefalopatija
▪ hepatorenenalni sindrom
▪ bakterijski peritonitis
▪ ponavljajoče se krvavitve iz varic
Presaditev jeter ni možna

Pregled trenutne oskrbe in načrtovanje zdravljenja.

- Preverite, ali trenutna obravnava in zdravlila bolniku zagotavljata optimalno oskrbo; bodite pozorni na polifarmacijo.
- Če so simptomi ali težave zapleteni in težje obvladljivi, razmislite o morebitni napotitvi k specialistu.
- Z bolnikom in njenimi skrbniki oblikujte načrt za trenutno in prihodnjo oskrbo. Nudite podporo skrbnikom in negovalcem.
- Čim prej načrtujte nadaljnjo oskrbo, zlasti v primerih, ko grozi zgodnja izguba zmognosti odločanja.
- Beležite in prilagajajte načrt oskrbe ter ga delite z drugimi.

Okužbe pri bolnikih v paliativni obravnavi

Okužbe so pogoste spremljevalke bolnikov v PO, predvsem v poznem obdobju. Nemaokrat so prisotne ob smrti, vendar je težko zaključiti, ali je bolnik umrl z okužbo ali zaradi nje. Obdukcijski izvidi 48 bolnikov v PO zaradi različnih obolenj, ki so umrli v teksaški bolnišnici, so pri 79 % obduciranih opisovali znake pljučnice, pri 44 % pa je bila pljučnica neposredni vzrok smrti (9). V tem poznem obdobju je tudi največ dilem, kdaj in v kakšni meri je pričakovati dobrobiti protimikrobnega zdravljenja, ki ga načeloma predpisujemo za doseganje ozdravitve, v PO lahko tudi samo za lajšanje simptomov. Raziskave ocenjujejo, da so antibiotiki za lajšanje simptomov potencialno učinkoviti pri približno tretjini okužb, najpogosteje pri zdravljenju okužb sečil (10–12). Ocene so pogosto nezanesljive, saj je pri tej skupini bolnikov diagnoza okužbe pogosto klinična, bolezenski simptomi in znaki napredovane osnovne bolezni pa težko ločljivi od okužbe (11). Protimikrobnih zdravil ni v naboru »paliativnih« zdravil za simptomatsko lajšanje telesnih težav, so pa kljub odsotnosti prepričljivih dokazov, da so v tem obdobju učinkovita zdravila, pogosto predpisana. Pogosto zaradi upanja, da se bo potencialna akutna okužba pozdravila. Zato je tudi smrti zaradi okužbe pri paliativnih bolnikih pogosto težje sprejemljiva kot smrt zaradi osnovne bolezni ali drugih akutnih stanj, pri katerih je smrtnost pričakovano visoka (13). Ob upanju, da bomo z antibiotikom dosegli vsaj prehodno izboljšanje, je pred odločitvijo o predpisu potrebno razmisliti tudi o potencialni škodi zaradi možnih neželenih učinkov in hkrati upoštevati željo bolnika in svojcev, še posebej če to pomeni sprejem v bolnišnico zaradi potrebe po parenteralnem zdravljenju. Iz vseh naštetih razlogov se dopušča t.i. terapevtski poskus, ki pa mora biti časovno opredeljen – priporoča se 48–72 ur zdravljenja z dogovorjenimi scenariji ukrepanj glede na možen razplet (14, 15).

V zgodnji PO se pri predpisovanju antibiotikov ravnamo skladno s priporočili in smernicami za zdravljenje okužbe, v obdobju umiranja pa se predpisovanju antibiotikov izogibamo (14).

Paliativni načrt

PO se ves čas prilagaja trenutnim potrebam bolnika in njegovih bližnjih. Z aktivnim načrtovanjem učinkovito preprečujemo nove in nepotrebne zaplete. Del dobre PO je t.i. paliativni načrt, ki se oblikuje ob prepoznani potrebi po PO na kateremkoli nivoju zdravstvene obravnave in je del zdravstvene dokumentacije. Vsebinsko se v poteku bolezni spreminja in prilagaja potrebam bolnika. Ne opredeljuje se samo glede opuščanja in odtegotovanja življenje ohranjajočih medicinskih posegov, ampak je oblikovan individualno z navedbami, kaj bolniku koristi, kakšna naj bodo ukrepanja ob poslabšanjih (kje, kaj, kdo?) ter kaj bolniku ne koristi in se zato v bodoče ne izvaja (1, 2, 16).

ZAKLJUČEK

Čeprav ni enotnih priporočil in jih zaradi individualiziranih pristopov verjetno nikoli ne bo, za zdravljenje okužb pri bolnikih v PO razpolagamo z usmeritvami, ki nam lahko pomagajo pri odločanju. Za zagotavljanje kakovostne PO bolnikov je ključen pretok informacij, ki zdravniku na katerem koli nivoju in lokaciji obravnave omogoči vpogled v zastavljen načrt PO in ga opolnomoči pri sprejemanju najboljših odločitev za bolnika.

LITERATURA

1. Ebert Moltara M, Bernot M. Modeli organizacije paliativne oskrbe odraslih. *Zdrav Vestn.* 2024;93(9 –10):339–51.
2. Ebert Moltara M, Koritnik B, Meglič A. Organizacija paliativne oskrbe v našem okolju. In: Ebert Moltara M, Malačič S, Gumilar I, ur. *Paliativna oskrba*. Ljubljana: Slovensko združenje paliativne in hospic oskrbe; 2021. p.13–20.
3. Ebert Moltara M, Bernot M, Benedik J, Žist A, Golob N, Malačič S, et al. Temeljni pojmi in predlagano izrazoslovje v paliativni oskrbi (Basic expressions and recommended terminology in palliative care). Ljubljana: Slovensko združenje paliativne in hospic oskrbe; 2020 [citirano 2025 Mar 20]. Dostopno na: https://www.onko-i.si/fileadmin/onko/datoteke/dokumenti/Paliativna_oskrba/TEMELJNI_POJMI_in_PREDLAGANO_IZRAZOSLOVJE_v_paliativni_oskrbi.pdf
4. World health organization. *Global Atlas of Palliative Care 2nd Edition*, London: WHO, 2020. [citirano 2025 May 7]. Dostopno na: [https://cdn.who.int/media/docs/default-source/integrated-health-services-\(ihs\)/csy/palliative-care/whpca_global_atlas_p5_digital_final.pdf?sfvrsn=1b54423a_3](https://cdn.who.int/media/docs/default-source/integrated-health-services-(ihs)/csy/palliative-care/whpca_global_atlas_p5_digital_final.pdf?sfvrsn=1b54423a_3)
5. Murray SA, Sheikh A. Care for all at the end of life. *BMJ.* 2008;336:958–9.
6. Gregorčič S, Ridič A, Benedik J. Antibiotična terapija pri bolniku v paliativni oskrbi. In: Logar M, Beović B, Lejko-Zupanc T, ur. *Zbornik prispevkov: Infektološki simpozij*; 2019 Oct; Ljubljana, Slovenija. V Ljubljani: Sekcija za protimikrobno zdravljenje SZD; 2019. p. 96–101.
7. Radbruch L, Payne S. White Paper on standards and norms for hospice and palliative care in Europe : part 2. *Eur J Palliat Care.* 2010;17(1):22–33.
8. Supportive and Palliative Care Indicators Tool (SPICT). Edinburgh: National Health Service; 2017. [citirano 2025 Mar 20]. Dostopno na: <https://www.spict.org.uk>.
9. Abdel-Karim IA, Sammel RB, Prange MA. Causes of death at autopsy in an inpatient hospice program. *J Palliat Med.* 2007;10(4):894–8.
10. Reinbolt RE, Shenk AM, White PH, Navari RM. Symptomatic treatment of infections in patients with advanced cancer receiving hospice care. *J Pain Symptom Manage.* 2005;30(2):175–82.
11. Clark MD, Halford Z, Herndon C, Middendorf E. Evaluation of Antibiotic Initiation Tools in End-of-Life Care. *Am J Hosp Palliat Care.* 2022;39(3):274–81.
12. Rosenberg JH, Albrecht JS, Fromme EK, Noble BE, McGregor JC, Comeret AC. Antimicrobial use for symptom management in patients receiving hospice and palliative care: a systematic review. *Palliat Med.* 2013;16:1568–74.
13. Crispim DH, da Silva IO, de Carvalho RT, Levin AS. End-of-life use of antibiotics: a survey on how doctors decide. *Int J Infect Dis.* 2022;114:219–25.
14. Sinert M, Stammet Schmidt MM, Lovell AG, Protus BM. Guidance for Safe and Appropriate Use of Antibiotics in Hospice Using a Collaborative Decision Support Tool. *J Hosp Palliat Nurs.* 2020;22(4):276–82.
15. Karlin D, Pham C, Furukawa D, Kaur I, Martin E, Kates O et al. State-of-the-Art Review: Use of Antimicrobials at the End of Life. *Clin Infect Dis.* 2024;78(3):e27–36.
16. General medical council. *Treatment and care towards the end of life: good practice in decision making.* [citirano 2025 Mar 20]. Dostopno na: <https://www.gmc-uk.org/professional-standards/the-professional-standards/treatment-and-care-towards-the-end-of-life>

PREDSTAVITEV LEPTOSPIR, IZOLIRANIH PRI LJUDEH V SLOVENIJI

PRESENTATION OF LEPTOSPIRA STRAINS ISOLATED FROM HUMANS IN SLOVENIA

Eva Ružič Sabljic,¹ Tjaša Cerar Kišek,^{1, 2} Daša Podgoršek,³
Andraž Celar Šturm,¹ Katja Strašek Smrdelj

¹Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

²Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano, Ljubljana

³Oddelek za patologijo in citologijo, Splošna bolnišnica Celje

IZVLEČEK

Leptospiroza je pomembna zoonoza po vsem svetu, ki se pojavlja tudi v Sloveniji. Kultivacija in osamitev leptospir iz kužnin je zahtevna metoda. Kljub temu smo uspešno izolirali 13 sevov človeških leptospir iz bolnikov med letoma 2002 in 2023. Za fenotipsko in genotipsko opredelitev sevov smo uporabili različne metode. Tako smo potrdili prisotnost štirih patogenih vrst (*Leptospira kirschneri*, *Leptospira interrogans*, *Leptospira borgpetersenii* ter *Leptospira santarosai*) ter treh seroloških skupin (Grippotyphosa, Icterohaemorrhagiae in Sejroe) v Sloveniji.

Ključne besede: leptospira, izolacija, vrsta, serovar, serološka skupina

ABSTRACT

Leptospirosis is an important worldwide zoonosis that also occurs in Slovenia. The cultivation and isolation of *Leptospira* species is difficult, even though we successfully cultured 13 human *Leptospira* strains from patients between 2002 and 2023. We used different methods for phenotypic and genotypic characterization of the strains. In this way, we were able to confirm the presence of four *Leptospira* species (*Leptospira kirschneri*, *Leptospira interrogans*, *Leptospira borgpetersenii* ter *Leptospira santarosai*) and three serogroups (Grippotyphosa, Icterohaemorrhagiae and Sejroe) in Slovenia.

Keywords: leptospira, isolation, species, serovar, serological group

UVOD

Leptospiroza je najbolj razširjena zoonoza na svetu, ki jo povzročajo spirohete iz družine Leptospiraceae (1). V naravi krožijo med prostoživečimi živalmi, ki jih s sečem izločajo v okolje, saj se leptospire po okužbi naselijo v ledvicah svojega gostitelja. Najpomembnejši gostitelji

so glodavci, predvsem podgane in miši. Z leptospirami se lahko okužijo tudi domače živali (govedo, prašiči, ovce, psi) in človek (1, 2). S sečem izločene leptospire preživijo več tednov v toplem in vlažnem okolju, a se ne razmnožujejo. Tako je pojavnost leptospiroze sezonska in naraste ob deževnem obdobju in poplavih (od julija do novembra); največ okužb je v tropskem in subtropskem področju sveta (1, 2). V evropskih državah je pojavnost avtohtone leptospiroze veliko manjša kot v tropskih in subtropskih področjih, a je tudi tu povezana z okoljskimi dejavniki (visoke temperature, deževna obdobja s poplavi) in dejavnostjo človeka (dela in oprava v naravi, rekreacija, šport) (1–4).

Leptospiroza je prijavljiva bolezen in jo prijavljamo Nacionalnemu inštitutu za javno zdravje (NIJZ). Podatke za države Evropske unije (EU), tudi za Slovenijo, sporoča Evropski center za preprečevanje in obvladovanje bolezni (European Centre for Disease Prevention and Control, ECDC) (Tabela 1) (3, 4). Najvišjo pojavnost leptospiroze v EU beležijo Estonija, Irska, Portugalska, Slovenija in Litva. Podatki za leto 2020 so prikazani na sliki 1 (4).

Tabela 1. Podatki Nacionalnega inštituta za javno zdravje (NIJZ) in Evropskega centra za preprečevanje in obvladovanje bolezni (European Centre for Disease Prevention and Control, ECDC) o pojavnosti leptospiroze (3, 4).

Leto	Slovenija število prijav / 100.000	Evropske države število prijav / 100.000
2011	0,44	–
2012	0,19	–
2013	0,00	0,09
2014	1,5	0,21
2015	0,53	0,13
2016	0,82	0,17
2017	1,16	0,20
2018	0,87	0,16
2019	2,8	0,21
2020	0,57	0,14
10-letno povprečje 2011–2020	0,89	–
2021	0,47	0,20
2022	0,33	0,18

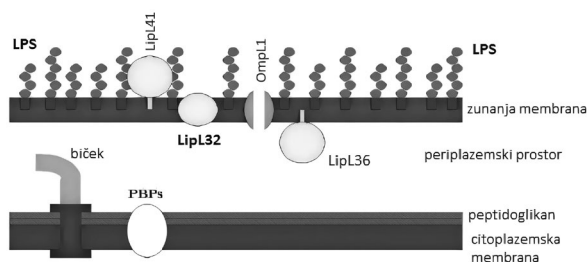
Slika 1. Prijavljeni primeri leptospiroze v Evropski uniji (EU) v letu 2020 (4).



SEROVARI IN SEROLOŠKE SKUPINE LEPTOSPIR

Leptospire so antigensko precej heterogene bakterije. Osnovna taksonomska enota je serovar, ki temelji na raznolikosti strukture površinske molekule lipopolisaharida (LPS) (Slika 2) (5). Površinski LPS ima več nalog: je protektivni antigen leptospir, ki sproži tvorbo zaščitnih in aglutinirajočih protiteles, pomemben je za opsonizacijo, in je osnova za razvoj cepiva za domače živali.

Slika 2. Shematski prikaz zunanje membrane leptospir – modificirano po (5).



Posamezni serovar lahko opredelimo le na osnovi molekularne analize genoma. Danes poznamo več kot 260 različnih serovarov leptospir, ki jih lahko združimo v 23 seroloških skupin (1, 2). Serološke skupine opredelimo z uporabo imunskih serumov, ki jih dobimo iz referenčnih laboratorijev. Obstaja več metod tipizacije leptospir in vse se izvajajo v referenčnih laboratorijih.

Tipizacija leptospir ni klinično pomembna, je pa pomembna za javno zdravje in epidemiološke študije, kar vključuje spremljanje razširjenosti serovarov, spremembe pojavnosti serovarov, povezave z rezervoarjem ter s klinično sliko bolnika. Na podlagi (lokalne) geografske razširjenosti določenih serovarov lahko pripravimo ustrezen serološki test za ugotavljanje prisotnosti protiteles pri bolniku. Poznavanje krožečih serovarov na določenem področju je pomembno tudi za pripravo primernih cepiv za domače živali (1, 2).

PATOGENEZA, KLINIČNA SLIKA, DIAGNOSTIKA LEPTOSPIROZE

Človek se okuži ob vstopu v kontaminirano področje, najpogosteje ob stiku s kontaminirano vodo (reka, jezera, vodnjaki), delu v naravi (vojaki, živinorejci, poljedelci, vrtnarji, rudarji, veterinarji) ali pri rekreaciji oz. športu (kopalci, kanuisti, kajakaši, lovci). Leptospire aktivno vdrejo v telo skozi kožo ali sluznice (oko, ustna votlina), lahko pa tudi z inhalacijo ali zaužitjem kontaminirane vode (1, 2).

Klinična slika zgodnje akutne leptospiroze se kaže s splošnimi znaki okužbe, kot so vročina, bolečine v mišicah, glavobol; pri mnogih bolnikih lahko le z enim od naštetih znakov. Težka klinična slika s prizadetostjo več organov (ledvice, jetra, pljuča, drugi), ko bolnik potrebuje bolnišnično zdravljenje, je relativno redka (v 5–10 %) (1, 2).

Diagnostika leptospiroze se prične ob bolniku z bolj ali manj značilno klinično sliko ter z zbiranjem anamnestičnih in epidemioloških podatkov. Leptospiroza je za diagnostiko zahtevna okužba; za njeno potrditev se uporabljajo molekularni testi (PCR) in testi za dokaz specifičnih protiteles. Ker gre za redko okužbo, je njena diagnostika vezana zgolj na referenčne laboratorije. Kultivacija (in osamitev) povzročitelja iz kliničnih vzorcev (predvsem krvi in urina) je razmeroma zapletena, saj je potrebno precejšnje sodelovanje kliničnih mikrobiologov in infektologov. Klinična slika na začetku okužbe je običajno neznčilna, zato se pogosto ne odvzamejo kužnine z namenom kultivacije leptospir, se pa hitro uvede protimikrobno zdravljenje. Čez dan ali dva, ko se klinična slika leptospiroze bolj izrazi, so kužnine neprimerne za kultivacijo zaradi že uvedenega protimikrobnega zdravljenja (1). Poleg tega večina bolnikov pride do bolnišnice preko urgentnega centra, ki zaradi svoje narave dela (zapletena primarna diagnostika, 24 urna obravnava bolnikov, izvajanje dejavnosti na širšem geografskem področju in, najpomembnejše, redke pojavnosti okužbe) nima možnosti pravočasnega posveta z mikrobiološkim laboratorijem.

PREDSTAVITEV SLOVENSКИH IZOLATOV LEPTOSPIR

Kako smo pridobili izolate leptospir?

V Sloveniji je Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo Univerze v Ljubljano edini mikrobiološki (referenčni) laboratorij za diagnostiko leptospiroze, zato prejemamo kužnine bolnikov s sumom na leptospirozo iz vse Slovenije. Večinoma so vzorci (kri, urin) poslani za ugotavljanje prisotnosti genoma leptospir in/ali specifičnih protiteles proti leptospiram. Do sedaj smo ob pozitivnem izvidu bodisi serologije in/ali molekularnega testa poiskali in poklicali bolnikovega lečečega zdravnika, se pozanimali o klinični sliki in morebitnem odvzemu hemokultur v času prve obravnave, pred uvedbo protimikrobnega zdravljenja. Ob pritrdilnem odgovoru smo zdravnika prosili za dovoljenje, da iz bolnikove hemokulture stekleničke poskusimo osamiti

leptospire. S področnimi laboratoriji smo se nato dogovorili za pošiljanje negativnih hemokulturnih stekleničk po končani inkubaciji v njihovem laboratoriju. Po prejemu hemokulturnih stekleničk v naš laboratorij smo iz vsake stekleničke nakapljali vzorec v specifično tekoče gojišče za leptospire in epruvete za 12 tednov inkubirali pri temperaturi 28 °C. Vsi izolati leptospir, ki jih predstavljamo v tem prispevku, so pridobljeni iz hemokulturnih stekleničk (6).

Leptospira – izolirani sevi

Vsi sevi, predstavljeni v tem prispevku, so bili izolirani med letoma 2002 in 2023 iz krvi bolnikov, primarno nacepljene v hemokulturno stekleničko (Tabela 2). Vsi sevi razen seva št. 13 v Tabeli 2 (sev PL 10647/23) so bili predstavljeni v prispevku Ružić in sod. 2023 (6). Glede na retrospektivno študijo raziskovalcev Nadrah in sodelavcev na kongresu ECCMID 2019 (neobjavljeno) so klinični simptomi leptospiroze blagi: prevladujejo povišana telesna temperatura (90 %) in okorelost (66 %), sledijo glavobol (56 %), bolečine v mišicah (44 %) in sklepah (34 %). Izid okužbe je običajno dober, tudi pri bolnikih, ki potrebujejo intenzivno zdravljenje. Kot dejavnik tveganja pri slovenskih bolnikih prevladujeta stik z vodo in nedavno potovanje na endemična področja.

Tabela 2. Sevi leptospir, leto izolacije in uporabljene metode za opredelitev sevov.

Št.	Izolat	Leto izolacije	Serološka skupina opredeljena	Serovar opredeljen	WGS
1	SS 166/02	2002	DA	DA	DA
2	KB 185/02	2002	DA	DA	NE
3	VV 206/02	2002	DA	DA	NE
4	FF 291/02	2002	DA	DA	DA
5	ČP 226/02	2002	DA	DA	DA
6	PZ 9474/06	2006	DA	DA	NE
7	MJ 112721/08	2008	DA	NE	DA
8	DDA 10944/10	2010	DA	NE	DA
9	OD 8720/11	2011	DA	DA	DA
10	SS 8049/14	2014	DA	DA	DA
11	LA 9525/17	2017	DA	NE	DA
12	PM 155/20	2020	DA	NE	DA
13	PL 10647/23	2023	DA	NE	DA

OPREDELITEV SLOVENSКИH LEPTOSPIR

Seve leptospir, ki so bili shranjeni v tekočem dušiku, smo odmrznili in nacepili v gojišče EMJH (Ellinghausen McCullough, modificirano po Johnson in Harris) ter vzorce inkubirali v temi pri temperaturi 28 °C.

Za **opredelitev serološke skupine** smo uporabili imunske serume, ki smo jih pridobili iz referenčnega laboratorija v Amsterdamu, kjer so bili pripravljeni (6). Posamezni imunski serum

smo v mikrotitrski plošči redčili od 1 : 400 do 1 : 51200. Vsak izolat leptospir smo zmešali z vsakim posameznim imunskim serumom; po 45 minutni inkubaciji pri 37 °C smo odčitali razredčino, pri kateri je še bila vidna aglutinacija leptospir. Test smo odčitali z mikroskopiranjem v temnem polju. Kultura leptospir je pripadala tisti serološki skupini, katere imunski serum je aglutiniral leptospire pri najvišji redčitvi (1, 2, 5, 6).

Z imunskimi serumi smo serološko skupino uspešno določili vsem kliničnim izolatom (Tabela 2). Največ smo jih uvrstili v serološko skupino Grippotyphosa, sledi ji Icterohaemorrhagiae (Tabela 3). Obe sta v Evropi najbolj razširjeni. V Sloveniji je prisotna še Sejroe, le en izolat pa je pripadal serološki skupini Bataviae (Tabela 3). Imunski serumi za določanje serološke skupine leptospir se poleg opredelitve leptospir uporabljajo za opredelitev aglutinirajočih lastnosti sevov, ki so vključeni v rutinski serološki test. Mikroaglutinacijski test (MAT) je enostaven za uporabo, rezultati pa so ponovljivi, zato je tipizacija z imunskimi serumi zelo primerna za opredelitev novih izolatov leptospir. Težave se lahko pojavijo, kadar izolat pripada serološki skupini, katere imunskega seruma nismo vključili v test, kadar ima sev, ki ga želimo opredeliti, slabše aglutinacijske lastnosti, ali kadar se aglutinacija zgodi le zaradi navzkrižnosti protiteles. Takrat je potrebno uporabiti drugo tipizacijsko metodo. Slabost metode je tudi, da je njena izvedba nevarna za laboratorijsko osebje, saj zahteva delo z živimi leptospirami. Kljub temu se metoda še vedno uporablja v rutinski tipizaciji leptospir povsod po svetu (7).

Za **opredelitev serovara** smo ekstrahirali celotno genomsko DNA v agaroznem bloku in jo nato razrezali z restrikcijskim encimom *NotI*. Nastale fragmente DNA smo ločili s pulzno gelsko elektroforezo (*NotI*-RFLP; RFLP, angl. restriction fragment length polymorphism), gel obarvali z etidijevim bromidom in slikali. Dobljene restrikcijske profile naših izolatov smo primerjali z restrikcijskimi profili referenčnih sevov in slovenskim določili pripadajoč serovar. Metoda je zapletena in zamudna, izvesti pa jo je potrebno hitro, saj je pri nekaterih sevih značilna prisotnost avtolitičnih encimov, med njimi tudi DNaz, ki razgradijo DNA, zaradi česar je praktično nemogoče pridobiti pulzotip *NotI*. Zgolj osmim slovenskim izolatom smo z metodo *NotI*-RFLP določili serovar in pri teh se je serovar ujemal s serološko skupino (Tabela 3). Najpogostejši serovar slovenskih človeških leptospir je Grippotyphosa, sledi mu serovar Icterohaemorrhagiae (Tabela 3), obenem sta tudi oba serovara prisotna na evropskem ozemlju. Glavna prednost metode *NotI*-RFLP je njena široka uporaba, saj omogoča tipizacijo vseh patogenih sevov ne glede na vrsto in je zato primerna tudi za identifikacijo potencialno novih serovarov. Poleg tega je metoda dobro ponovljiva in posledično omogoča standardizacijo in primerjavo med laboratoriji (1, 2, 5).

Zaradi kompleksnosti metode *NotI*-RFLP sevov, izoliranih po letu 2015 nismo analizirali z omenjeno metodo. Nadomestili smo jo s sekvenciranjem celotnega genoma (WGS, whole genome sequencing), s katerim smo sekvencirali vse zbrane izolate, ki smo jih uspeli ponovno oživeti oz. namnožiti. Uporabili smo metodo sekvenciranja s kratkimi odčitki.

Leptospire so genetsko zelo raznolike, zato obstaja več shem MLST (MLST angl. multi-locus sequence typing) za določanje sekvenčnega tipa (ST). Za naše izolate smo uporabili shemo MLST #1. S kombinacijo dveh molekularnih metod (PCR in sekvenciranje po Sangerju ter WGS) smo večini izolatov uspešno določili ST (Tabela 3). Med slovenskimi leptospirami krožijo trije ST: ST 17 (*Leptospira interrogans*), ST110 (*Leptospira kirschneri*) ter ST155 (*Leptospira borgpetersenii*). ST17 je tudi najpogostejši sekvenčni tip v Evropi. Slovenski izolati so bili deponirani v dveh bazah: v PubMLST (<https://pubmlst.org/>), v kateri je

trenutno (17. 3. 2025) zabeleženih 1797 izolatov, od tega jih je 107 iz Evrope, od teh je 29 sevov izoliranih iz bolnikov (osem je slovenskih, zadnji je v procesu). V bazi NCBI – Genome (NCBI, angl. National Center for Biotechnology Information) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/>) je vodenih 1025 genomov leptospir, osem slovenskih, zadnji je v procesu dodajanja (17. 3. 2025).

Pri analizi podatkov WGS smo se soočili s težavnim izolatom DDA 10944/10 (Tabela 2). Večina podatkov je pripadala vrsti *L. santarosai*, v manjšem številu pa so bili prisotni tudi odčitki, pripadajoči vrstam *L. interrogans* in *L. noguchii*. To je verjetno vzrok, da nismo mogli določiti ST temu izolatu, hkrati pa je imel izolat nedoločljiv vzorec *NotI*-RFLP (Tabela 3). Iz anamneze smo ugotovili, da je bolnik potoval preko več celin (Južna Amerika, Salamonovi otoki, Slovenija), prava geografska lokacija okužbe pa ni znana. Velika verjetnost je, da se bolnik ni okužil v Sloveniji (6).

Tabela 3. Opredelitev slovenskih izolatov leptospir.

Izolat	Serološka skupina	Serovar (<i>NotI</i> -RFLP)	Kmer Finder (WGS)	MLST #1
SS 166/02	Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	<i>L. interrogans</i> serovar Copenhageni strain FDAARGOS	17
KB 185/02	Grippityphosa	Grippityphosa	NK*	110
VV 206/02	Grippityphosa	Grippityphosa	NK*	110
FF 291/02	Grippityphosa	Grippityphosa	<i>L. kirschneri</i> strain FMAS_PN5	110
ČP 226/02	Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	<i>L. interrogans</i> serovar Copenhageni strain FDAARGOS	17
PZ 9474/06	Grippityphosa	Grippityphosa	NK*	110
MJ 112721/08	Sejroe	ND+	<i>L. borgpetersenii</i> strain FMAS_AP4	155
DDA 10944/10	Bataviae	nedoločljivo	<i>L. santarosai</i> serovar Shermani strain LT 821	ND
OD 8720/11	Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	<i>L. interrogans</i> serovar Copenhageni strain FDAARGOS	17
SS 8049/14	Grippityphosa	Grippityphosa	<i>L. kirschneri</i> strain FMAS_PN5	110
LA 9525/17	Sejroe	ND+	<i>L. borgpetersenii</i> strain FMAS_AP4	155
PM 155/20	Sejroe	ND+	<i>L. borgpetersenii</i> strain FMAS_AP4	155
PL 10647/23	Grippityphosa	ND+	<i>L. kirschneri</i> strain FMAS_PN5	110

Legenda: *NK = neuspešna kultivacija; +ND = ni izvedeno

Opredelitev leptospir, osamljenih pri bolnikih iz Slovenije, nam poda informacijo o tem, kateri sevi so prisotni na našem geografskem področju in s kakšno klinično sliko so povezani. Obenem je to pomemben podatek za diagnostiko: s poznavanjem lokalno krožečih sevov namreč le-te lahko vključimo v test MAT in s tem povečamo specifičnost in občutljivost serološkega testa, ki je še vedno zlati standard za diagnostiko leptospiroze (1, 2, 5).

Izolacija leptospir iz bolnikovih vzorcev je dolgotrajna in slabo občutljiva metoda, vendar je izolirani sev pomemben za epidemiološke študije. Z različnimi tipizacijskimi metodami dobimo različne podatke o posameznem izolatu. Podatki o serološki skupini oz. serovaru, ki nam ga podajo serotipizacijske metode, so pomembni predvsem za ugotavljanje razširjenosti posameznega serovara na določenem geografskem področju, na podlagi česar nato najpogostejše serovare vključimo v izvedbo seroloških testov, kot je npr. test MAT. Vendar pa serovar ne

omogoča ugotavljanja genetskih in evolucijskih povezav med posameznimi sevi, zato pridejo tu v ospredje genotipizacijske metode, posebej metoda MLST, ki ima veliko razlikovalno moč ter z dobro organizirano podatkovno bazo omogoča enostavno primerjavo med laboratoriji; pridruži se ji metoda WGS (1, 2, 5).

ZAKLJUČEK

S kombinacijo klasičnih in sodobnih metod smo slovenskim izolatom leptospir določili tri patogene vrste, to so *L. kirschneri* (ST 110), ki je najpogostejše identificirana vrsta, sledita ji *L. interrogans* (ST 17) ter *L. borgpetersenii* (ST 155). Glavne serološke skupine identificiranih vrst so Grippotyphosa, Icterohaemorrhagiae in Sejroe. Z analizo človeških sevov leptospir smo dopolnili evropsko sliko razširjenosti posameznih sevov. S sprotno analizo sevov posodabljammo tudi specifičnost testa, ki je namenjen urgentni diagnostiki leptospiroze.

LITERATURA

1. Galloway RL. Leptospira. In: Manual of Clinical Microbiology [Internet]. 13th ed. Wiley; 2023. p. 1167–75.
2. Samrot AV, Sean TC, Bhavya KS, Sahithya CS, Chan-drasekaran S, Palanisamy R, et al. Leptospiral Infection, Pathogenesis and Its Diagnosis—A Review. Pathogens. 2021 Feb 1;10(2):145.
3. Nacionalni Inštitut za Javno Zdravje. Epidemiološko spremljanje nalezljivih bolezni v Sloveniji v letu 2019 in 2020. Ljubljana; 2022 [Citirano 17.3.2025]. Available from: https://nijz.si/wp-content/uploads/2021/05/epidemiolosko_spremljanje_nalezljivih_bolezni_v_sloveniji_v_letu_2019_in_2020_0.pdf.
4. Leptospirosis - Annual Epidemiological Report for 2022. ECDC; [Citirano 17.3.2025] Available from: https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/LEPT_AER_2022_Report.pdf
5. Adler B, Faine S. The Genus Leptospira. In: Prokaryotes. 3rd ed. SpringerLink; 2006. p. 294–317.
6. Ružić-Sabljić E, Podgoršek D, Strašek Smrdel K, Celar Šturm A, Logar M, Pavlović A, et al. First Report on Leptospira Species Isolated from Patients in Slovenia. Microorganisms. 2023 Nov 9;11(11):2739.
7. World Health Organization. Human leptospirosis: guidance for diagnosis, surveillance and control. Geneva: World Health Organization; 2003 [Citirano 17.3.2025]. 110 p. Available from: Human leptospirosis : guidance for diagnosis, surveillance and control

VPLIV PANDEMIJE COVID-19 NA POJAVNOST ROTAVIRUSNIH OKUŽB IN RAZPOREDITEV ROTAVIRUSNIH GENOTIPOV

THE IMPACT OF THE COVID-19 PANDEMIC ON ROTAVIRUS GENOTYPE DISTRIBUTION

Tina Mikuletič, Tina Triglav

Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

IZVLEČEK

Izhodišča Rotavirusi so pomembni povzročitelji akutnih gastroenteritisov, zlasti pri otrocih, mlajših od 5 let. Pri ljudeh večino okužb povzročajo rotavirusi skupine A, ki jih glede na nukleotidno zaporedje genov VP7 in VP4 uvrščamo med genotipe G/P. V raziskavi nas je zanimal vpliv ukrepov zaradi pandemije COVID-19 na razporeditev rotavirusnih genotipov, ki jih v Sloveniji aktivno spremljamo od leta 2007.

Metode V raziskavo smo vključili 594 vzorcev blata iz petih sezon, in sicer od 2018/2019 do 2022/2023. Z določanjem nukleotidnega zaporedja genov VP7 in VP4 smo rotaviruse uvrstili v genotipe G/P. Izvedli smo dvostopenjski RT-PCR in za določitev genotipa pridelke analizirali z elektroforezo v agaroznem gelu. Mešane ali nejasne genotipe smo potrdili z določanjem nukleotidnega zaporedja po Sangerjevi metodi.

Rezultati V sezoni 2021/2022 smo zaznali povečano pojavnost genotipa G9P[8]. Nasprotno se je pojavnost genotipa G3P[8], ki je bil do tedaj najbolj pogost genotip, med pandemijo nižala. Podobno smo opazili za genotip G1P[8]. Genotipa G2P[4] in G4P[8] sta med letoma 2020–2022 popolnoma izginila, zaznali pa smo pojav dveh redkejših genotipov, G8P[8] in G3P[9].

Zaključek Ukrepi za zaježitev pandemije COVID-19 so vplivali ne samo na pojavnost rotavirusov, temveč tudi na razporeditev krožečih genotipov.

Ključne besede: rotavirus; genotip; pandemija COVID-19; razporeditev genotipov

ABSTRACT

Introduction Rotaviruses are an important cause of acute gastroenteritis, particularly in children aged 0–5 years. The majority of infections are caused by group A rotavirus, which is further classified into G/P genotypes. In Slovenia, the distribution of rotavirus genotypes has been actively monitored since 2007. Our aim was to analyse the impact of the COVID-19 pandemic on the distribution of rotavirus genotypes compared to previous seasons.

Methods This study covered five rotavirus seasons, from 2018/2019 to 2022/2023. A total of 594 rotavirus-positive stool samples were analysed to determine G/P genotypes according to VP7 and VP4 rotavirus genes. Mixed or undefined genotypes, determined by gel electrophoresis, were confirmed using Sanger sequencing.

Results In the 2021/2022 season, the first season after COVID-19 preventive measures were lifted, a significant increase in the G9P[8] genotype was observed (59.5% compared to 12.5% in the previous season). The G3P[8] genotype, which was the most prevalent genotype in the 2019/2020 season, decreased season by season during the pandemic. A similar decline was observed for the G1P[8] genotype. Additionally, G2P[4] and G4P[8] genotypes completely disappeared between 2020–2022. Two less common rotavirus genotypes, G8P[8] and G3P[9], emerged during these seasons.

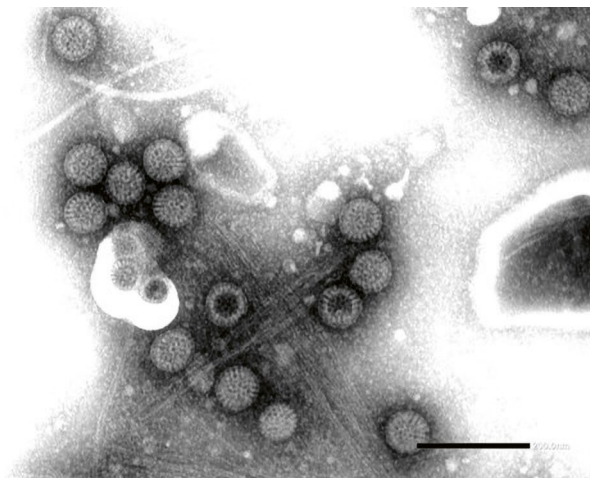
Conclusion. The COVID-19 preventive measures had an impact on the incidence of various infectious diseases, including rotavirus infection. Our study observed a shift in rotavirus genotype distribution during the pandemic and post-lockdown.

Keywords: rotavirus; genotype; COVID-19 pandemic; genotype distribution

1. UVOD

Rotavirusi predstavljajo enega najpogostejših povzročiteljev akutnih gastroenteritisov po vsem svetu. Največjo obolevnost beležimo pri otrocih, mlajših od pet let, pri katerih lahko zaradi driske in bruhanja hitro pride do klinično pomembne dehidracije. Rotavirusi so zelo kužni, saj se v blatu okuženih oseb izločajo v velikih količinah (**Slika 1**). Prenos poteka predvsem fekalno-oralno preko kontaminiranih rok, predmetov in površin, možno pa je tudi širjenje z aerosoli, ki nastajajo pri bruhanju. Največji delež okužb se pojavlja v zimskih in zgodnjepomladanskih mesecih. Pri ljudeh večino okužb povzročajo rotavirusi skupine A, redkeje pa tudi rotavirusi skupine B in C (1–3).

Slika 1. Rotavirusi iz blata bolnika. Posnetek s transmissijskim elektronskim mikroskopom med redno diagnostiko gastroenteričnih virusov (merilo: 200 nm).



Genom rotavirusov je sestavljen iz dvoverižne RNK (angl. double stranded ribonucleic acid, dsRNA) in vključuje 11 genomskih segmentov, ki skupaj kodirajo 12 beljakovin. Za genotipizacijo rotavirusov se uporabljata dva gena, in sicer VP7 in VP4, ki vsebujeta zapis za površinski kapsidni beljakovini virusa. Obe beljakovini sodelujeta pri vezavi virusa na gostiteljsko celico. Na podlagi njunih nukleotidnih zaporedij ločimo virusne tipe G (glede na VP7) in P (glede na VP4) (1, 4).

Na svetovni ravni, pa tudi v Sloveniji, so rotavirusne okužbe najpogostejše povezane z genotipi G1P[8], G2P[4], G3P[8], G4P[8] in G9P[8] (1, 5, 6). Najprej v Laboratoriju za elektronsko mikroskopijo in diagnostiko gastroenteričnih virusov, trenutno pa v Laboratoriju za sindromsko diagnostiko in molekularno bakteriologijo Inštituta za mikrobiologijo in imunologijo od leta 2007 sodelujemo pri sezonskem spremljanju pojavnosti rotavirusnih genotipov v okviru evropskega projekta EuroRotaNet. V projektu, ki neprekinjeno poteka od leta 2007, trenutno sodeluje 13 evropskih držav. Namen projekta je spremljanje krožečih rotavirusnih genotipov po Evropi, tako v obdobjih pred uvedbo cepiv kot tudi po njihovi uvedbi.

Pred okužbo z rotavirusi se je možno zaščititi s cepljenjem. V Sloveniji je bilo cepljenje proti rotavirusom uvedeno leta 2007 kot del dodatnega programa cepljenja za dojenčke do starosti šestih mesecev (6). Sprva je bilo uporabljeno živo, oslajeno oralno cepivo Rotarix™, ki primarno nudi zaščito pred genotipom G1P[8]. Od leta 2010 sta na voljo dve cepivi, poleg Rotarix™ tudi petvalentno živo, oslajeno oralno cepivo RotaTeq™, pri katerem osnovo predstavlja goveji sev WC3, ki je kombiniran z najpogostejšimi antigeni človeških rotavirusov, G1-G4 in P[8]. Precepljenost otrok do enega leta starosti je v Sloveniji v letu 2009 znašala 27 %, v naslednjih letih je postopno upadala (6). Najnižja precepljenost je bila leta 2014 (7), od tedaj je ponovno naraščala. Po zadnjih dostopnih podatkih za leto 2022 je precepljenost otrok proti rotavirusnim okužbam v Sloveniji s 1. odmerkom cepiva znašala 34,3 %, z 2. odmerkom cepiva pa 31,1 % (8).

Pandemija COVID-19 in z njo povezani ukrepi za preprečevanje širjenja okužb so imeli izrazit vpliv na pojavnost nalezljivih bolezni, vključno z virusnimi gastroenteritisi. Ukrepi, kot so omejevanje socialnih stikov, prepoved zbiranja, omejitve prehajanja meja ter delo od doma in izobraževanje na daljavo, so pomembno prispevali k zmanjšanemu prenosu ne le virusa SARS-CoV-2, temveč tudi drugih virusnih in bakterijskih patogenov. V diagnostičnih laboratorijih se je v tem obdobju zaznalo zmanjšanje števila analiziranih vzorcev, kar se je posledično odrazilo tudi v manjšem številu pozitivnih rezultatov. Obdobje pandemije je tako pomembno vplivalo na sezonsko pojavnost patogenov, ki so se po sprostitvi ukrepov začeli ponovno pojavljati, vendar pogosto zunaj običajnih sezonskih vzorcev in z drugačno dinamiko širjenja. V okviru te raziskave nas je zanimal vpliv zaprtja družbe zaradi pandemije COVID-19 na pojavnost in razporeditev rotavirusnih genotipov.

2. METODE

V študijo smo vključili pet sezon (2018/2019 do 2022/2023), ki so zajemale obdobje pred pandemijo COVID-19, med pandemijo z omejitvenimi ukrepi ter po pandemiji, ko so bili vsi ukrepi sproščeni. Za genotipizacijo rotavirusov smo analizirali vse vzorce blata, pri katerih smo z rutinsko sindromsko molekularno diagnostiko na najpogostejše povzročitelje gastroenteritsov s hkratno obratno transkripcijo in verižno reakcijo s polimerazo v realnem času (angl. multiplex real-time reverse transcription polymerase chain reaction, multiplex real-time

RT-PCR) potrdili prisotnost rotavirusne RNK. Skupno smo v tem obdobju genotip rotavirusa določili pri 594 vzorcih. Genotipizacijo smo izvedli na genih VP7 in VP4 ter rezultat podali v obliki virusnega genotipa G/P. Postopek genotipizacije je vključeval dvostopenjski RT-PCR. V prvi stopnji smo pomnožili del genomskega odseka VP7 (881 bp) in VP4 (663 bp). V drugi stopnji smo izvedli vgnezdni hkratni PCR s specifičnimi začetnimi oligonukleotidi za posamezen genotip. Pridelke vgnezdene hkratne PCR smo analizirali z elektroforezo v 1 % agaroznem gelu pri napetosti 100 V in po preteku 45 minut. Po osvetlitvi gela z UV-svetlobo smo odčitali dolžino pomnoženih pridelkov in na podlagi le-teh določili rotavirusni genotip. Pri mešanih genotipih ali v primerih, kjer genotipa z agarozno elektroforezo ni bilo mogoče določiti, smo pridelkom iz prve stopnje RT-PCR določili nukleotidno zaporedje po Sangerjevi metodi. Pridobljena nukleotidna zaporedja smo analizirali z orodjem NCBI BLAST (ang. National Center for Biotechnology Information Basic Local Alignment Search Tool) in genotip določili glede na najvišje ujemajoče se zaporedje v bazi podatkov.

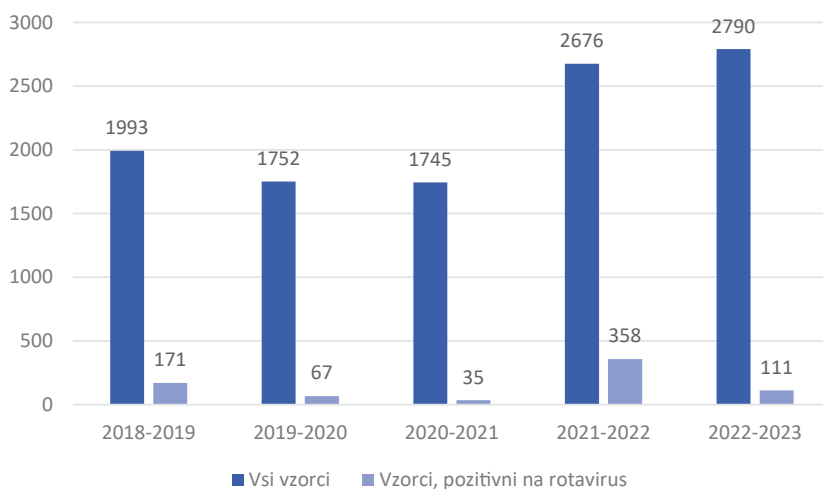
3. REZULTATI

3.1 Vpliv pandemije COVID-19 na število testiranih vzorcev in pojavnost rotavirusov

Med pandemijo COVID-19 (sezoni 2019/2020 in 2020/2021) se število vzorcev, naročenih na molekularno diagnostiko rotavirusov, v primerjavi s predpandemijsko sezono 2018/2019 ni bistveno zmanjšalo (približno 14 % manj). Kljub temu smo v tem obdobju zabeležili izrazit upad števila pozitivnih vzorcev na rotavirus – s 171 primerov (9 %) v sezoni 2018/2019 na 35 primerov (2 %) v sezoni 2020/2021.

Po sprostitvi epidemioloških ukrepov smo v sezoni 2021/2022 opazili izrazito povečanje števila rotavirusnih okužb, saj je delež pozitivnih vzorcev znašal 13,5 % (358 primerov). Sočasno se je povečalo tudi skupno število testiranih vzorcev – s 1745 v sezoni 2020/2021 na 2676 v sezoni 2021/2022 (**Slika 2**).

Slika 2. Število vseh vzorcev, testiranih na rotavirus, v primerjavi s številom vzorcev, pozitivnih na rotavirus.



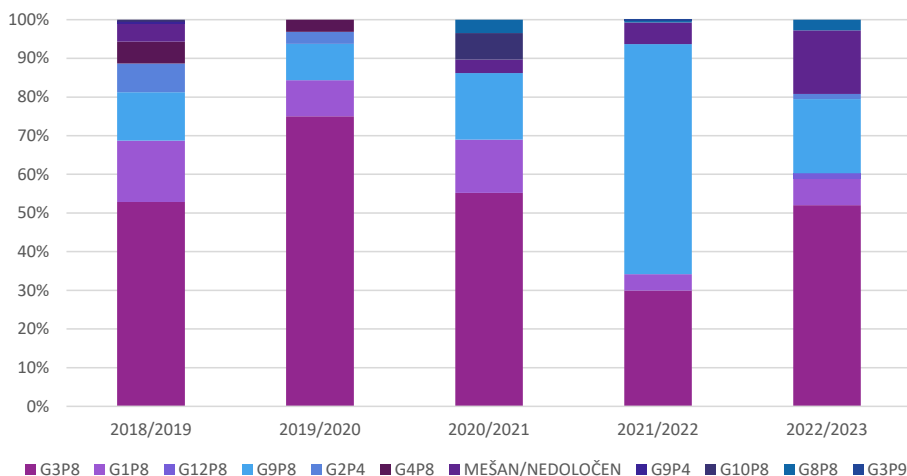
3.2 Spremembe v razporeditvi rotavirusnih genotipov po pandemiji COVID-19

V prvi sezoni po sprostitvi epidemioloških ukrepov (2021/2022) smo zaznali izrazit porast pojavnosti genotipa G9P[8], ki je predstavljal kar 59,5 % (169 primerov) vseh določenih genotipov. Za primerjavo: v sezoni 2020/2021, ki je potekala v času pandemije COVID-19, je bilo zaznanih le 5 primerov tega genotipa (12,5 %). Po drugi strani se je pojavnost genotipa G3P[8], ki je bil najpogostejši v sezoni 2018/2019, med pandemijo izrazito zmanjšala, vendar se je po sprostitvi ukrepov znova pokazal porast. Podoben trend smo opazili tudi pri genotipu G1P[8]. Opazili smo, da se je med pandemijo močno zmanjšala pojavnost genotipov G2P[4] in G4P[8], v letih 2020–2022 pa se celo sploh nista pojavila. V istem obdobju pa so se na novo pojavili genotipi G8P[8], G3P[9], sporadično pa se pojavljata tudi genotipa G12P[8] in G10P[8] (Tabela 1, Slika 3).

Tabela 1. Genotipi rotavirusov v posameznih sezonah 2018/2019–2022/2023

Genotip	2018/2019	2019/2020	2020/2021	2021/2022	2022/2023
G3P[8]	93	24	16	85	38
G1P[8]	28	3	4	12	5
G12P[8]	0	0	0	0	1
G9P[8]	22	3	5	169	14
G2P[4]	13	1	0	0	1
G4P[8]	10	1	0	0	0
G9P[4]	1	0	0	0	0
G10P[8]	1	0	2	0	0
G8P[8]	0	0	1	1	2
G3P[9]	0	0	0	1	0
Mešan/nedoločen	8	0	1	16	12
Skupaj	176	32	29	284	73

Slika 3. Razporeditev rotavirusnih genotipov v obdobju september 2018 do avgust 2023.



4. RAZPRAVA

Naši rezultati kažejo, da je pandemija COVID-19 pomembno vplivala ne le na absolutno število okužb z rotavirusi, temveč tudi na genotipsko raznolikost krožečih sevov. Medtem ko je bilo število pozitivnih vzorcev na rotavirus v času najstrožjih epidemioloških ukrepov izrazito zmanjšano, smo po sprostitvi ukrepov opazili nenaden porast okužb, ki je presegal deleže pred pandemijo. Hkrati se je bistveno spremenila tudi struktura prevladujočih genotipov.

Analiza pojavnosti rotavirusnih genotipov v obdobju pandemije COVID-19 kaže na spremenjeno razporeditev krožečih genotipov v primerjavi s prejšnjimi sezonami. Genotip G3P[8], ki je bil prevladujoč v več sezonah pred pandemijo, je bil v času pandemije izpodrinjen, saj je začel prevladovati genotip G9P[8], ki smo ga v Sloveniji prvič zaznali julija 2001 (9). To lahko nakazuje na morebitno selektivno prednost tega genotipa v populaciji z zmanjšano izpostavljenostjo rotavirusom ali na pomanjkanje čredne imunosti. Nasprotno so nekateri prej pogosti genotipi, kot sta G2P[4] in G4P[8], v obdobju pandemije popolnoma izginili, kar bi lahko odražalo spremembe v prenosu, imunski odpornosti populacije ali konkurenčnosti virusnih sevov. Ponovni porast genotipov G1P[8] in G3P[8] po sprostitvi ukrepov kaže na njihovo sposobnost ponovnega uveljavljanja v populaciji. V določeni meri so spremembe v pojavnosti in razporeditvi genotipov tudi posledica naravnega nihanja.

Pojav redkejših genotipov (npr. G8P[8], G3P[9], G12P[8], G10P[8]) bi lahko bil posledica preseljevanja in potovanj ter morebitnih zoonotskih prenosov. O pojavu redkejših genotipov med pandemijo poročajo tudi ponekod po svetu, na primer v Braziliji so med pandemijo COVID-19 zaznali pojav genotipa G6P[8], ki prej v populaciji ni bil pogost (10), vendar smo že v preteklosti tudi v Sloveniji opazili sporadično pojavljanje redkejših genotipov (5, 11–13). Tovrstna dinamika poudarja pomen stalnega nadzora rotavirusnih genotipov, zlasti v obdobjih po večjih epidemioloških dogodkih, saj spremembe v raznolikosti genotipov lahko vplivajo tudi na učinkovitost cepiv in strategije javnega zdravja.

5. ZAKLJUČEK

Ukrepi za zajezitev pandemije COVID-19 so vplivali ne samo na pogostnost pojavljanja rotavirusov, temveč tudi na razporeditev krožečih genotipov. Nadaljnje spremljanje dinamike krožečih rotavirusnih genotipov bo ključnega pomena za razumevanje epidemiologije teh enteričnih patogenov.

LITERATURA

1. Patton JT. Rotavirus diversity and evolution in the post-vaccine world. *Discov Med.* 2012;13(68):85-97.
2. Flynn TG, Olortegui MP, Kosek MN. Viral gastroenteritis. *Lancet.* 2024;403(10429):862-76.
3. Desselberger U. Rotaviruses. *Virus Res.* 2014;190:75-96.
4. Matthijnsens J, Ciarlet M, McDonald SM, Attoui H, Banyai K, Brister JR, et al. Uniformity of rotavirus strain nomenclature proposed by the Rotavirus Classification Working Group (RCWG). *Arch Virol.* 2011;156(8):1397-413.
5. Steyer A, Poljsak-Prijatelj M, Bufon TL, Marcun-Varda N, Marin J. Rotavirus genotypes in Slovenia: unexpected detection of G8P[8] and G12P[8] genotypes. *J Med Virol.* 2007;79(5):626-32.

-
6. Steyer A, Sagadin M, Kolenc M, Poljsak-Prijatelj M. Molecular characterization of rotavirus strains from pre- and post-vaccination periods in a country with low vaccination coverage: the case of Slovenia. *Infect Genet Evol.* 2014;28:413-25.
 7. Učakar V, Jeraj I, Krnc K, Bertole T, Vrh M. Spremljanje izvajanja cepljenja in precepljenosti v Sloveniji v letih 2021 in 2022. Spremljanje precepljenosti (delež cepljenih). 2024:1-64. Dostopno na: <https://nijz.si/publikacije/spremljanje-izvajanja-cepljenja-in-precepljenosti-v-sloveniji-v-letih-2021-in-2022/> (6.5.2025) .
 8. Učakar V, Jeraj I, Grgič Vitek M, Kraigher A. Analiza izvajanja cepljenja v Sloveniji v letu 2014. 2016:1-90. Dostopno na: <https://nijz.si/publikacije/analiza-izvajanja-imunizacijskega-programa-2014/> (6.5.2025) .
 9. Steyer A, Poljsak-Prijatelj M, Barlic-Maganja D, Bufon T, Marin J. The emergence of rotavirus genotype G9 in hospitalised children in Slovenia. *J Clin Virol.* 2005;33(1):7-11.
 10. Gutierrez MB, de Assis RMS, Andrade J, Fialho AM, Fumian TM. Rotavirus A during the COVID-19 Pandemic in Brazil, 2020-2022: Emergence of G6P[8] Genotype. *Viruses.* 2023;15(8).
 11. Steyer A, Bajzelj M, Iturriza-Gomara M, Mladenova Z, Korsun N, Poljsak-Prijatelj M. Molecular analysis of human group A rotavirus G10P[14] genotype in Slovenia. *J Clin Virol.* 2010;49(2):121-5.
 12. Steyer A, Naglic T, Jamnikar-Ciglenecki U, Kuhar U. Detection and Whole-Genome Analysis of a Zoonotic G8P[14] Rotavirus Strain Isolated from a Child with Diarrhea. *Genome Announc.* 2017;5(41).
 13. Steyer A, Sagadin M, Kolenc M, Poljsak-Prijatelj M. Whole genome sequence analysis of bovine G6P[11] rotavirus strain found in a child with gastroenteritis. *Infect Genet Evol.* 2013;13:89-95.

AKTUALNE TEME V POTOVALNI MEDICINI

CURRENT TOPICS IN TRAVEL MEDICINE

Črt Loboda¹, Tadeja Kotar^{1, 2}

¹Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja, UKC Ljubljana

²Katedra za infekcijske bolezni in epidemiologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani

IZVLEČEK

V zadnjih desetletjih se vse pogosteje soočamo z nalezljivimi boleznimi, ki jih prenašajo vektorji, zlasti zaradi podnebnih sprememb, globalizacije in povečane mednarodne mobilnosti. Med temi boleznimi je pomembna lišmanioza, v Evropi prisotna predvsem v sredozemskih državah. V svetu narašča tudi pojavnost virusnih bolezni, kot sta denga in čikungunja, ki ju prenašajo komarji iz rodu *Aedes*, pa tudi bolezni, ki jih prenašajo drugi vektorji, kot sta Marburgova vročica in vročica Oropouche. Epidemiološki podatki kažejo, da se bolezni, ki so bile nekoč omejene na tropske in subtropske regije, zdaj širijo na nova območja, kar predstavlja izziv za javno zdravje. V članku bomo predstavili epidemiološko sliko lišmanioze v Evropi, obravnavali primere denge in čikungunje ter izpostavili vročici Marburg in Oropouche kot nove grožnje. Prav tako bomo pregledali trenutne strategije preprečevanja in zdravljenja, vključno z razvojem cepiv.

Ključne besede: potovalna medicina, lišmanioza, denga, čikungunja, Oropouche, Marburg

ABSTRACT

In recent decades we are witnessing a surge in vector-borne infectious diseases, primarily due to climate change, globalization, and increased international mobility. Among these diseases, leishmaniasis is particularly significant, being present in Europe mainly in Mediterranean countries. Globally, the incidence of viral diseases such as dengue and chikungunya, transmitted by *Aedes* mosquitoes, is rising, along with other vector-borne diseases such as Marburg fever and Oropouche fever. Epidemiological data indicate that diseases once confined to tropical and subtropical regions are now spreading to new areas, posing a challenge to public health. In this article, we will present the epidemiological landscape of leishmaniasis in Europe, discuss cases of dengue and chikungunya, and highlight Marburg fever and Oropouche fever as emerging threats. Additionally, we will review current prevention and treatment strategies, including vaccine development.

Keywords: travel medicine, leishmaniasis, dengue, Chikungunya, Oropouche, Marburg

UVOD

Po podatkih statističnega urada Republike Slovenije je v poletnih mesecih leta 2024 vsaj eno potovanje opravilo približno 60 % prebivalcev Slovenije, starih 15 let ali več. Največ potovanj so opravili

posamezniki, stari 45–64 let (37 %), sledila je starostna skupina 25–44 let (35 %). Večina zasebnih potovanj (64 %) je potekala v tujini. Med priljubljenimi destinacijami je prevladovala Hrvaška (67 %), sledili sta Bosna in Hercegovina (7 %) ter Italija (5 %) (1). Potovanja v države z nizkim in srednjim dohodkom predstavljajo pomemben dejavnik tveganja za razvoj različnih zdravstvenih težav. Študije kažejo, da med 43 % in 79 % popotnikov v takšna okolja med potovanjem ali po njem razvije bolezenske znake. Večina teh obolenj je blagih in prehodnih, vendar se pri nekaterih posameznikih razvijejo dovolj resne težave, da zahtevajo medicinsko obravnavo. Čeprav se večina okužb, povezanih s potovanji, klinično manifestira kmalu po vrnitvi, so inkubacijska obdobja zelo raznolika, nekatere bolezni pa se lahko pojavijo šele mesece ali celo leta po izpostavitvi (2).

LIŠMANIOZA V EVROPI

Med 31 vrstami *Leishmania spp.*, ki okužijo ljudi in živali, je *Leishmania infantum* edina avtohtona vrsta v Evropi, razen sporadičnih primerov lokalnega prenosa *Leishmania tropica* v Grčiji in *Leishmania donovani sensu stricto* na Cipru. *L. infantum* lahko pri človeku povroči kožno ali visceralno obliko bolezni. Med letoma 2005 in 2020 je bilo v 17 evropskih državah Svetovni zdravstveni organizaciji (SZO) prijavljenih 8.367 primerov lišmanioze, od tega 69 % visceralne in 31 % kožne. Najvišja kumulativna incidenca visceralne lišmanioze je bila v Albaniji (2,15/100.000); v Črni gori, na Malti, v Grčiji, Španiji in Severni Makedoniji, in se je gibala med 0,53 in 0,42, v Italiji 0,16, na Portugalskem 0,09, v preostalih državah pa med 0,07 in 0,002. Za kožno obliko je bila incidenca najvišja na Malti (0,95), v Španiji, na Cipru in v Franciji, in sicer med 0,11 in 0,10, v Italiji, Albaniji ter na Hrvaškem med 0,07 in 0,06, v drugih državah pa pod 0,04. V Črni gori, Severni Makedoniji in Srbiji primerov kožne lišmanioze niso prijavili (3).

V Sloveniji so primeri bolezni redki in vneseni iz tujine. Na Kliniki za infekcijske bolezni in vročinska stanja (KIBVS) smo od leta 2017 do marca 2025 obravnavali osem bolnikov s kožno in dva z visceralno lišmaniozo. Večina se jih je domnevno okužila v okoliških državah (Hrvaška, Italija), nekateri pa so se okužili med potovanjem na oddaljena endemična področja (glej Tabelo 1).

Tabela 1. Število obravnavanih primerov lišmanioze na KIBVS glede na obliko bolezni po letih ter mesta možne izpostavitve (interni podatki).

Leto	Št. primerov kožne lišmanioze	Št. primerov visceralne lišmanioze	Področje možne izpostavitve
2017	/	1	Hrvaška (Brač)
2019	2	/	Turčija, Armenija, Gruzija, Iran
2020	1	/	Etiopija
2022	1	/	Hrvaška, Tajska
2023	3	/	Hrvaška (Hvar), Hrvaška (Šolta), Sirija
2024	1	/	Italija (Rimini)
2025 do marca	/	1	Hrvaška (Hvar)

Za kožno lišmaniozo so značilne neboleče, plitke razjede z jasno omejenimi, induriranimi robovi. Po inkubaciji (nekaj tednov do več mesecev) se bolezen začne kot majhna papula, ki sčasoma ulcerira, včasih s pridružno limfadenopatijo. Večina lezij spontano izzveni v 3–18 mesecih, odvisno od povzročitelja. Diagnoza temelji na dokazu parazita v kužnini, priporočena je kombinacija histopatoloških in molekularnih metod. Serološke metode so pri kožni lišmani-

ozi večinoma negativne (4). Nezapleteno bolezen pri imunokompetentnem bolniku z eno ali nekaj majhnimi lezijami (< 1 cm) na neizpostavljenih mestih lahko zgolj spremljamo, saj lahko spontano izzveni. Sistemsko zdravljenje je potrebno pri okužbi z vrstami, povezanimi s kožno-služnično lišmaniozo, ob več kot štirih lezijah > 1 cm, pri lezijah > 5 cm, podkožnih vozličih, limfadenopatiji, lezijah na obrazu, prstih ali spolovilu, pri imunsko oslabljenih bolnikih ali ob neuspehu lokalnega zdravljenja. V Sloveniji je za sistemsko zdravljenje na voljo liposomalni amfotericin B (3 mg/kg na dneve 1–5 in 14). Celjenje traja več tednov, cilj zdravljenja pa je popolna ozdravitev v treh mesecih, bolnike zaradi možnosti ponovitve spremljamo vsaj dve leti (5).

Visceralna lišmanioza večinoma poteka subakutno. Po inkubaciji (nekaj tednov do let, običajno 2–6 mesecev) se postopoma razvijejo slabo počutje, vročina, hujšanje in povečana vranica, pogosto tudi jetra. Redko poteka akutno. Značilna je zavora kostnega mozga. Sprva se pojavi levkopenija in anemija, kasneje tudi trombocitopenija, kar skupaj z jetrno okvaro poveča tveganje za krvavitve. Napredovanje bolezni lahko povzroči kaheksijo, hipoalbuminemijo ter posledične perifernih edeme. Pogosta je poliklonalna hipergamaglobulinemija s hiperproteinemijo. Sprva se pojavi levkopenija in anemija, kasneje tudi trombocitopenija, kar skupaj z jetrno okvaro poveča tveganje za krvavitve. Pri težjih primerih lahko pride do diseminirane intravaskularne koagulacije ali hemofagocitne limfohistiocitoze, prav tako se povečuje tveganje za sekundarne okužbe. Diagnozo potrdimo z neposrednim dokazom lišmanij s histopatološko ali molekularno analizo. Najprimernejši vzorec je aspirat kostnega mozga, lahko pa tudi biopsija jeter, bezgavk ali polne krvi. Biopsija vranice se zaradi tveganja zapletov odsvetuje. Pri negativnih neposrednih testih so lahko v pomoč serološki testi, ki pa ne razlikujejo med prebolelo in aktivno okužbo. V Sloveniji je od zdravljen na voljo le liposomalni amfotericin B, ki je tudi sicer zdravilo prve izbire. Pri sicer zdravih osebah ga odmerjamo 3 mg/kg na dneve 1–5 ter 10. in 21. dan. Pri osebah z imunsko motnjo (IM) je potrebno bolj intenzivno zdravljenje in v primeru slabega odziva na zdravljenje razmislek o zmanjšanju imunosupresijske terapije. Po zaključenem zdravljenju bolnike spremljamo vsaj dve leti (6).

DENGA IN CEPIVO

SZO je dengo leta 2019 uvrstila med največje globalne grožnje javnemu zdravju. Njena incidenca narašča, zaradi česar je postala najhitreje širjena vektorska bolezen. Leta 2024 je aktivni prenos poročalo približno 90 držav, največ primerov pa so zaznali v Braziliji, Argentini in Mehiki. Od januarja do novembra 2024 so prijavili 13,86 milijona primerov in 9990 smrti, večinoma v Latinski Ameriki (12,67 milijona primerov, 7713 smrti) ter jugovzhodni Aziji (694.000 primerov, 2002 smrti) (7). Dejansko breme bolezni je verjetno večje, saj so številne okužbe asimptomatske ali napačno diagnosticirane. Ocenjujejo, da se je pojavnost v zadnjih 50 letih povečala 30-krat, v zadnjih 20 letih pa 8-krat. Letno naj bi zbolelo 390 milijonov ljudi, več kot polovica svetovnega prebivalstva pa je izpostavljena tveganju za okužbo (8). Denga je v Evropi endemična, večina primerov pa se pojavi pri popotnikih, ki se okužijo na endemičnih območjih. Ko so okoljski pogoji ugodni in ker so prisotni kompetentni vektorji, lahko viremični okuženi popotniki sprožijo lokalni prenos virusa, kar so potrdili skoraj vsakoletni izbruhi od leta 2010 naprej, predvsem na območju južne Evrope (Hrvaška, Španija, Italija, Francija) (9). Do največjega izbruha kot posledica lokalnih prenosov vnešene okužbe je prišlo leta 2024 v Italiji, kjer so med avgustom in oktobrom zabeležili 214 primerov denge, leta 2023 pa so v Italiji in Franciji našli po nekaj čez 80 avtohtonih primerov (10).

Leta 2009 je SZO posodobila klasifikacijo denga in jo razdelila na tri kategorije: denga brez opozorilnih znakov, denga z opozorilnimi znaki in huda denga. Denga brez opozorilnih znakov se kaže s povišano telesno temperaturo, slabostjo, bruhanjem, izpuščajem in splošnimi bolečinami ter ima nizko smrtnost. Denga z opozorilnimi znaki vključuje hude bolečine v trebuhu, kopičenje tekočine in posturalno hipotenzijo. Huda denga je opredeljena s kapilarno prepustnostjo, ki vodi v dihalno stisko, šok, krvavitve ali odpoved organov. Z ustrezno podporno oskrbo lahko smrtnost hude denge zmanjšamo z več kot 20 % na manj kot 1 % (7). Huda oblika denge je pogostejša pri sekundarni okužbi z drugim serotipom ali pri dojenčkih z materinimi protitelesi. Mehanizem s protitelesi spodbujenega pojava (angl. *antibody-dependent enhancement – ADE*), še ni popolnoma pojasnjen, ob okužbi z drugim serotipom se nevtralizacijska protitelesa vežejo na virus, a s tem omogočijo lažji vstop v celice, kar vodi v višjo viremijo in težji potek bolezni. Najhujše oblike se pojavijo več kot dve leti po prvi okužbi (11).

Registrirani sta dve živi oslavljeni tetravalentni cepivi proti virusu Denge (DENV), Dengvaxia® in Qdenga®. Dengvaxia® temelji na virusu rumene mrzlice in je bila uvedena leta 2015. Klinične študije so pokazale 60-odstotno učinkovitost proti virološko potrjeni dengi (VPD). V tretjem letu spremljanja pa so pri naivnih mlajših otrocih, ki so prejeli cepivo, v primerjavi s placebom, beležili povečano tveganje za hospitalizacijo. Cepivo je zdaj omejeno za cepljenje oseb, ki so že prebolele dengo, in ni na voljo v neendemskih državah. V dveh velikih randomiziranih raziskavah, ki so ju izvedli v Aziji in Latinski Ameriki, so dokazali 60,3 % učinkovitost cepiva Dengvaxia® za preprečevanje simptomatske bolezni (Principi N, Esposito S. Development of Vaccines against Emerging Mosquito-Vectored Arbovirus Infections. Vaccines (Basel). 2024 Jan 15;12(1):87). Opažali so, da se je po cepljenju pri otrocih, ki denge še niso preboleli, povečalo tveganje za težji potek bolezni, če so se kasneje okužili. Najverjetneje je šlo za tako imenovani s protitelesi spodbujen pojav (angl. *antibody-dependent enhancement*), ki ga poznamo s kliničnega poteka bolezni (12), zato je cepivo Dengvaxia® kontraindicirano pri posameznikih, ki denge še niso preboleli. Cepivo Qdenga® temelji na hrbtenici DENV2 z rekombinantnimi sevi za DENV1,3,4. Cepilna shema vključuje dva odmerka s presledkom treh mesecev. Cepivo je kontraindicirano pri osebah z IM ter nosečnicah in doječih materah. Učinkovitost cepiva Qdenga® je bila preučevana v študiji TIDES, ki je vključevala 20.000 otrok in mladostnikov iz Latinske Amerike in Azije. V prvem letu je bila učinkovitost proti VPD 80 %, pri preprečevanju hospitalizacije pa 95 %. Učinkovitost je bila najvišja pri DENV2 (98 %) in najnižja pri DENV3 (63 %). Za DENV4 ni bila dokazana zaradi majhnega števila primerov. Kumulativna učinkovitost po 4,5 letih je bila 59 % pri preprečevanju VPD in 84 % pri preprečevanju hospitalizacij. Učinkovitost je bila višja pri tistih, ki so predhodno preboleli dengo. Pri naivnih osebah je bila učinkovitost proti VPD 50 %, proti DENV3 in DENV4 pa ni bilo zaščite. Potekajo študije o potrebi po poživitvenem odmerku, ki bo verjetno potreben pri naivnih osebah (13). V Sloveniji cepivi proti dengi zaenkrat nista na voljo.

TV003/Butantan-DV je tetravalentno živo oslajljeno cepivo v fazi III kliničnih raziskav. Komponente DENV-1, DENV-3 in DENV-4 so oslajljene z delecijami, DENV-2 pa je himerni virus z geni premembranskega in ovojnega proteina iz divjega seva DENV-2. V fazah I in II se je cepivo izkazalo za varno in učinkovito. En odmerek je pri večini sprožil nevtralizacijska protitelesa proti več serotipom DENV. Faza III se je začela v Braziliji leta 2016 z 16.235 udeleženci. Po dveh letih je bila učinkovitost 79,6 %, pri seronegativnih 73,6 %, pri seropozitivnih 89,2 %. Proti DENV-1 je bila 89,5 %, proti DENV-2 69,6 %, primerov DENV-3 in DENV-4 niso zaznali. Zaradi nizkega števila primerov ni bilo mogoče oceniti učinkovitosti proti hudim oblikam bolezni (14).

CEPIVO PROTI ČIKUNGUNJI

Po ocenah ECDC je bilo leta 2024 na svetu približno 620 000 primerov čikungunje in 213 smrti (15). Čikungunja v Evropi ni endemična, večina primerov se pojavi pri potnikih. Vnosi okužb iz tujine so povzročili nekaj lokalnih izbruhov bolezni zaradi sekundarnih prenosov iz okuženih popotnikov po vrnitvi, predvsem v južni Evropi (Italija, Francija), kjer je prisoten kompetenten vektor *Aedes albopictus* (9). V Sloveniji smo čikungunjo od leta 2007 do marca 2025 dokazali pri 19 popotnikih (glej Tabela 2).

Tabela 2. Število potrjenih vnesenih primerov čikungunje v Sloveniji glede na leta; leta, v katerih primerov nismo potrdili, niso prikazana (še neobjavljeni podatki).

Leto	2007	2008	2009	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2024
Število primerov	3	1	1	1	1	3	1	1	4	2	1

Cepivo IXCHIQ

Evropska agencija za zdravila (EMA) je leta 2024 odobrila prvo cepivo proti virusu čikungunje (CHIKV) za uporabo v Evropski uniji (EU). IXCHIQ je živo oslajljeno cepivo, ki se daje kot enkratni intramuskularni odmerek. Raziskav o učinkovitosti zaenkrat še ni na voljo. Podpora za uporabo IXCHIQ izhaja iz raziskav, ki so pokazale imunogenost cepiva. V raziskavi v Združenih Državah Amerike so pri 99 % cepljenih zaznali seroprotektivna nevtralizirajoča protitelesa po 28 dneh, pri 96 % pa so vztrajala še po 180 dneh. Po dveh letih so zaščitne ravni ostale pri 97 % prejemnikov. Cepivo je dobro prenašano, najpogostejši neželeni učinki so bili glavobol (32 %), utrujenost (29 %), bolečine v mišicah (24 %), sklepov (18 %) in vročina (14 %). Nekateri prejemniki so imeli prehodne simptome, podobne okužbi s čikungunjo (16, 17).

Cepivo Vimkunya

Januarja 2025 je Odbor za zdravila EMA podal pozitivno mnenje za uporabo pri ljudeh za cepivo Vimkunya (Bavarian Nordic A/S) za preprečevanje čikungunje pri osebah, starejših od 12 let. Cepivo vsebuje virusom podobne delce iz kapsidnega proteina C in ovojnčnih proteinov E1 in E2. V tretji fazi kliničnih preizkušanj je cepivo pri 97 % posameznikov (12–64 let) povzročilo ustrezen protitelesni odgovor po dveh tednih in pri 86 % po šestih mesecih (18). Pri osebah, starejših od 65 let, so zaščitna protitelesa zaznali pri 82 % po dveh tednih, 87 % po treh tednih in 76 % po šestih mesecih (19). Cepivo je pokazalo ugoden varnostni profil. Evropska komisija trenutno obravnava vlogo za odobritev.

VIRUSNA BOLEZEN OROPOUCHE

Bolezen oropouche je bila prvič opisana leta 1961 v Vegi de Oropouche na Trinidadu na Karibih. Povzroča jo istoimenski virus (OROV) iz rodu Orthobunyavirus in družine Bunyaviridae, pri čemer so identificirani štirje genotipi. Prvi izbruh je bil zabeležen leta 1961 v Braziliji, od takrat pa je virus povzročil več epidemij in občasne primere predvsem v tropskih območjih Brazilije, Peruja, Paname, Haitija, Kolumbije, Bolivije, Ekvadorja in Francoske Gvajane (20). Med decembrom 2023 in junijem 2024 je v Latinski Ameriki prišlo do obsežnega izbruha bolezni na endemičnih območjih, hkrati pa se je virus razširil v nove predele Južne Amerike

in Kube, kjer prej ni bil zabeležen. Do avgusta 2024 je bilo v Boliviji, Braziliji, Kolumbiji, na Kubi in v Peruju potrjenih več kot 8.000 laboratorijsko potrjenih primerov (21). Obsežni izbruhi so povzročili tudi primere, povezane s potovanji. Med junijem in julijem 2024 so v EU prvič potrdili 19 vnesenih primerov: 12 v Španiji, 5 v Italiji in 2 v Nemčiji. Osemnajst bolnikov je poročalo o nedavnem potovanju na Kubo, eden pa v Brazilijo (22).

OROV se ohranja v silvatičnem in urbanem ciklu. Za glavni vektor OROV velja mušica *Culicoides paraensis*. V urbanem ciklu so glavni vretenčarski gostitelji ljudje. Ni jasno, ali je urbani prenos OROV prehodni in povezan s človeškimi migracijami ali pa je trajen, vendar na nizki ravni in zato neopažen. Vloga domačih živali kot možnih ojačevalnih gostiteljev še ni dovolj raziskana. Silvatični cikel je slabše poznan, saj natančni rezervoarji in ojačevalni gostitelji še niso identificirani. Protitelesa proti OROV so bila dokazana pri divjih pticah, lenivcih, nečloveških primatih in glodavcih, virus pa so občasno izolirali iz lenivcev in nečloveških primatov v Braziliji (20). Pri nosečih ženskah, okuženih z OROV, so poročali o nepravilnosti pri plodu in spontanah splavih, kar kaže na možnost prenosa okužbe z matere na plod. Glede na prisotnost virusa v krvi bi do prenosa lahko tudi prišlo preko krvi in organov (21). Virus je bil zaznan tudi v spermi, kar kaže tudi na možnost prenosa preko spolnega stika (23).

Po inkubacijski dobi, ki traja 3–10 dni, se bolezen običajno začne z nenadnim pojavom vročine, mrzlice, glavobola, mialgij in artralgi. Drugi simptomi vključujejo retroorbitalno bolečino, fotofobijo, bruhanje, drisko, utrujenost, makulopapulozni izpuščaj, hiperemijo veznice in bolečine v trebuhu. Začetni simptomi običajno trajajo nekaj dni, vendar pri do 70 % bolnikov pride do ponovitve simptomov v nekaj tednih po začasnem izboljšanju. Čeprav bolezen večinoma poteka blago, se lahko v redkih primerih pojavijo hemoragične manifestacije (npr. epistaksa, gingivalna krvavitev, melena, menoragija, petehije) ali nevroinvazivna bolezen (npr. meningitis, meningoencefalitis). Smrtnost med okuženimi je nizka, v izbruhu leta 2024 pa sta bila prijavljena dva smrtna primera med več kot 8000 okuženimi (21). Diagnozo postavimo z dokazom virusne RNA v krvi, kar je običajno mogoče v prvem tednu bolezni. Pri nevroinvazivni obliki bolezni so poročali o zaznavi RNA in izolaciji virusa iz likvorja ter prisotnosti IgM protiteles v likvorju. Po akutni fazi bolezni je priporočljivo molekularno diagnostiko dopolniti s serološkimi testi, ki omogočajo zaznavo specifičnih IgM in IgG protiteles v serumu, plazmi in likvorju. Ob testiranju IgM v likvorju je priporočljivo opraviti tudi testiranje IgM v parnem vzorcu seruma ter izračun intratekalne sinteze protiteles. Zdravljenje je podporno, saj specifična zdravila niso na voljo (20).

VIRUSNA BOLEZEN MARBURG

Prvi znani izbruh virusne bolezni Marburg (angl. Marburg viral diseases – MVD) se je zgodil leta 1967 v Nemčiji in Jugoslaviji (SFRJ) zaradi uvoza okuženih opic iz Ugande. Od takrat so bili izbruhi bolezni zabeleženi samo na področju Afrike. Naslednji primer, in prvi prepoznani primer v Afriki, je bil leta 1975 pri popotniku, ki je potoval skozi Zimbabve (bivša Rodezija), diagnoza pa je bila postavljena v Južnoafriški republiki. Kasnejši izbruhi MVD so bili prijavljeni v Demokratični republiki Kongo (DRC), Keniji, Ugandi, Angoli, Gani in Ruandi. Izmed teh sta bila dva večja in dolgotrajnejša, prvi v DRC od leta 1998 do 2000 in drugi v Angoli od 2004 do 2005. Izbruh v DRC je vključeval 154 primerov s 128 smrtmi (83 % smrtnost), medtem ko je največja skupina v Angoli obsegala 422 prijavljenih primerov in 356 smrtnih žrtev (84 %

smrtnost). V zadnjih petih letih beležimo pojavljanje MVD na področjih Afrike, kjer se bolezen v preteklosti ni pojavljala. Do prvega primera v zahodni Afriki je prišlo leta 2021 v Gvineji, šlo je za izoliran primer. Leta 2022 je bil prijavljen prvi izbruh MVD v Gani, zboleli so trije člani iste družine. Leta 2023 sta bila prijavljena prva izbruha v Ekvatorialni Gvineji in Tanzaniji (24). Septembra 2024 je Ministrstvo za zdravje Ruande potrdilo prisotnost prvega izbruha MVD v Ruandi (25). V začetku leta 2025 je prišlo do ponovnega izbruha MVD v Tanzaniji, v regiji Kagera (26). Trenutno ni licenciranih preventivnih cepiv, prav tako ni na voljo terapevtskih monoklonskih protiteles ali protivirusnega zdravila za zdravljenje okužbe. Zdravljenje temelji predvsem na agresivni podporni oskrbi, s ciljem preprečitve razvoja šoka in drugih zapletov okužbe, medtem ko imunski sistem bolnika obvlada okužbo (25).

ZAKLJUČEK

Lišmanioza v Evropi ostaja endemična v sredozemskih državah, medtem ko so primeri v Sloveniji redki in povezani s potovanji. Denga in čikungunja predstavljata naraščajočo grožnjo zaradi širjenja komarjev *Aedes* v Evropi, medtem ko vročici Marburg in Oropouche ostajata pomembni bolezni s potencialom za širitev. Razvoj cepiv proti dengi in čikungunji odpira nove možnosti za zaščito prebivalstva, medtem ko za vročici Marburg in Oropouche specifičnega cepiva ni. Celostni pristop k spremljanju bolezni, preventivnim ukrepom in dostopnosti zdravljenja bo bistven za obvladovanje teh zdravstvenih groženj v prihodnosti.

LITERATURA

1. Statistični Urad Republike Slovenije. Turistična potovanja domačega prebivalstva, 3. četrletje 2024. [citirano 20. marec 2025]. Dosegljivo na: <https://www.stat.si/StatWeb/News/Index/13279>.
2. General approach to the returned traveler. CDC Yellow Book 2024. [citirano 20. marec 2025]. Dosegljivo na: <https://wwwnc.cdc.gov/travel/yellowbook/2024/posttravel-evaluation/general-approach-to-the-returned-traveler>.
3. Maia C, Conceição C, Pereira A, Rocha R, Ortuño M, Muñoz C, et al. The estimated distribution of autochthonous leishmaniasis by *Leishmania infantum* in Europe in 2005–2020. *PLoS Negl Trop Dis*. 2023; 17: e0011497.
4. Burza S, Croft SL, Boelaert M. Leishmaniasis. *The Lancet*. 2018; 392: 951–70.
5. Aronson N, Herwaldt BL, Libman M, Pearson R, Lopez-Velez R, Weina P, et al. Diagnosis and Treatment of Leishmaniasis: Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society of Tropical Medicine and Hygiene (ASTMH). *Am J Trop Med Hyg*. 2017; 96: 24.
6. Loboda Č, Saje A. Lišmanioza – (še en) veliki posnemovalec. *Medicinski razgledi (Supplement)*. 2023; 171–80.
7. Zhang WX, Zhao TY, Wang CC, He Y, Lu HZ, Zhang HT, et al. Assessing the global dengue burden: Incidence, mortality, and disability trends over three decades. *PLoS Negl Trop Dis*. 2025; 19: e0012932.
8. Soneja S, Tsarouchi G, Lumbroso D, Tung DK. A Review of Dengue's Historical and Future Health Risk from a Changing Climate. *Curr Environ Health Rep*. 2021; 8: 245–65.
9. Loboda Č, Logar M. Spremenjena epidemiologija tropskih bolezni = The changing epidemiology of tropical diseases. V: Logar M, Beović B, Lejko zupanc T, uredniki. *Infektološki simpozij 2024 : infekcijske bolezni danes in tudi jutri*. Ljubljana: Sekcija za protimikrobno zdravljenje SZD; 2024. str. 261–70.

-
10. European Centre for Disease Prevention and Control. Local transmission of dengue virus in mainland EU/EEA, 2010-present. Stockholm: ECDC; 2025 [citirano 31. marec 2025]. Dosegljivo na: <https://www.ecdc.europa.eu/en/all-topics-z/dengue/surveillance-and-disease-data/autochthonous-transmission-dengue-virus-eueea>.
 11. Harapan H, Michie A, Sasmono RT, Imrie A. Dengue: A Minireview. *Viruses*. 2020; 12.
 12. Sridhar S, Luedtke A, Langevin E, Zhu M, Bonaparte M, Machabert T, idr. Effect of Dengue Serostatus on Dengue Vaccine Safety and Efficacy. *N Engl J Med*. 2018; 379: 327–40.
 13. Angelin M, Sjölin J, Kahn F, Ljunghill Hedberg A, Rosdahl A, Skorup P, et al. Qdenga® - A promising dengue fever vaccine; can it be recommended to non-immune travelers? *Travel Med Infect Dis*. 2023; 54: 102598.
 14. Kallás EG, Cintra MAT, Moreira JA, Patiño EG, Braga PE, Tenório JC V, et al. Live, Attenuated, Tetravalent Butantan-Dengue Vaccine in Children and Adults. *N Engl J Med*. 2024; 390: 397–408.
 15. European Centre for Disease Prevention and Control. Chikungunya virus disease case notification rate per 100 000 population, January 2024–December 2024. Stockholm: ECDC; 2025 [citirano 20. marec 2025]. Dosegljivo na: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/chikungunya-virus-disease-case-notification-rate-100-000-population-january-2024>.
 16. Schneider M, Narciso-Abraham M, Hadl S, McMahon R, Toepfer S, Fuchs U, et al. Safety and immunogenicity of a single-shot live-attenuated chikungunya vaccine: a double-blind, multicentre, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet*. 2023; 401: 2138–47.
 17. McMahon R, Toepfer S, Sattler N, Schneider M, Narciso-Abraham M, Hadl S, et al. Antibody persistence and safety of a live-attenuated chikungunya virus vaccine up to 2 years after single-dose administration in adults in the USA: a single-arm, multicentre, phase 3b study. *Lancet Infect Dis*. 2024; 24: 1383–92.
 18. Richardson JS, Anderson DM, Mendy J, Tindale LC, Muhammad S, Loreth T, et al. Chikungunya Virus VLP Vaccine: Phase 3 Trial in Adolescents and Adults. 2024. medRxiv doi: <https://doi.org/10.1101/2024.10.11.24315179>
 19. Tindale LC, Richardson JS, Anderson DM, Mendy J, Muhammad S, Loreth T, et al. Chikungunya Virus VLP Vaccine: Phase 3 Trial in Adults ≥65 Years of Age. 2024. medRxiv doi: <https://doi.org/10.1101/2024.10.10.24315205>
 20. Wesselmann KM, Postigo-Hidalgo I, Pezzi L, de Oliveira-Filho EF, Fischer C, de Lamballerie X, et al. Emergence of Oropouche fever in Latin America: a narrative review. *Lancet Infect Dis*. 2024; 24: e439–52.
 21. Morrison A, White JL, Hughes HR, Guagliardo SAJ, Velez JO, Fitzpatrick KA, idr. Oropouche Virus Disease Among U.S. Travelers - United States, 2024. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2024; 73: 769–73.
 22. European Centre for Disease Prevention and Control. Oropouche virus disease cases imported to the European Union. 2024 [citirano 19. marec 2025] Dosegljivo na: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/TAB-Oropouche-august-2024.pdf>
 23. Castilletti C, Huits R, Mantovani RP, Accordini S, Alladio F, Gobbi F. Replication-Competent Oropouche Virus in Semen of Traveler Returning to Italy from Cuba, 2024. *Emerg Infect Dis*. 2024; 30: 2684–6.
 24. Srivastava S, Sharma D, Kumar S, Sharma A, Rijal R, Asija A, et al. Emergence of Marburg virus: a global perspective on fatal outbreaks and clinical challenges. *Front Microbiol*. 2023; 14.
 25. Grobusch MP, Jokelainen P, Wyllie AL, Gupta N, Paño-Pardo JR, Barac A, et al. Marburg virus disease outbreak in Rwanda, 2024. *Clin Microbiol Infect*. 2025; 31: 161–3.
 26. Venkatesan P. Marburg virus outbreak in Tanzania. *Lancet Microbe*. 2025; 101121.
-

