

INFEKCIJE KRVOTOKA U BOLESNIKA NAKON TRANSPLANTACIJE JETRE I KRVOTVORNIH MATIČNIH STANICA

ZINAIDA PERIĆ^{1,4}, ARJANA TAMBIĆ-ANDRAŠEVIĆ^{2,4}, ANA MRZLJAK^{1,4}, IVA KOŠUTA^{1,4},
VIŠNJA KOVAČEVIĆ², DENIS GUŠTIN³ i RADOVAN VRHOVAČ^{1,4}

¹Klinika za unutarnje bolesti, Klinička bolnica Merkur, ²Zavod za kliničku mikrobiologiju, Klinika za infektivne bolesti "Dr. Fran Mihaljević", ³Odjel za anesteziju i intenzivno liječenje, Klinička bolnica Merkur i ⁴Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

Cilj ovog retrospektivnog istraživanja je ustanoviti i usporediti incidenciju, vrijeme pojavnosti kao i etiologiju infekcija krvotoka u bolesnika liječenih ortotopnom transplantacijom jetre (OTJ) ili transplantacijom krvotvornih matičnih stanica (TKMS), na temelju iskustva jedne ustanove. Analizirano je 280 uzastopnih transplantacija u vremenskom razdoblju od 34 mjeseca. Zabilježene su 84 epizode infekcija krvotoka (47 kod OTJ bolesnika, 37 kod TKMS bolesnika) s medijanom nastupa 28 dana nakon transplantacije. Relativna incidencija infekcija krvotoka iznosila je 34,6 (OTJ) i 29,4 (TKMS) epizoda na 100 bolesnika, te nije uočena statistički značajna razlika između skupina ($p=0,52$). Infekcije krvotoka su se u TKMS bolesnika javile značajno ranije ($p=0,003$), nego u OTJ bolesnika. Ovo je istraživanje potvrdilo nedavno objavljene podatke o povratku gram-negativnih patogena kao glavnih uzročnika infekcija krvotoka: gram-negativni bacili predominantno su izolirani u OTJ bolesnika, gdje su bili odgovorni za 58,5% slučajeva infekcija krvotoka, a učestalo su izolirani (39%) i kod TKMS bolesnika. Mikrobiološki izolati iz skupine bolesnika s transplantiranom jetrom pokazali su višu incidenciju rezistentnih enterobakterija koje proizvode beta-laktamaze proširenog spektra (ESBL) u usporedbi s izolatima bolesnika s transplantacijom krvotvornih matičnih stanica. *P. aeruginosa* bio je najkompliciraniji mikroorganizam za liječenje u obje skupine s obzirom da je rezistencija na karbapeneme ovog uzročnika iznosila 57% kod OTJ i 44% kod TKMS. U zaključku, infekcije krvotoka su važne komplikacije nakon ortotopne transplantacije jetre, kao i transplantacije krvotvornih matičnih stanica. Nadzor i analiza mikroorganizama koji uzrokuju infekcije krvotoka i druge ozbiljne infektivne komplikacije u transplantiranih bolesnika ostaje glavni preduvjet za planiranje intervencija vezanih uz liječenje infekcija u tih bolesnika.

Ključne riječi: sepsa, transplantacija jetre, transplantacija krvotvornih matičnih stanica, antimikrobna rezistencija

Adresa za dopisivanje: Prof. dr. sc. Radovan Vrhovac, dr. med.
Klinika za unutarnje bolesti
Klinička bolnica Merkur,
Zajčeva 19
10000 Zagreb, Hrvatska
Tel/faks: +38512431393, e-pošta: rvrhovac@mef.hr

UVOD

Ortotopna transplantacija jetre i transplantacija krvotvornih matičnih stanica standardni su oblik liječenja terminalne parenhimne bolesti jetre odnosno hematoloških bolesti visokog rizika (1-3). Zbog primjene mijeloablativne kemoterapije i imunosupresije tijekom i nakon tih zahvata zbog promijenjenog imunološkog statusa bolesnici su podložni velikom broju infektivnih komplikacija (4). Do danas je učinjen veliki napredak u prevenciji i liječenju tih komplikacija. Međutim, mikrobiološka epidemiologija je danas uvelike izmijenjena zbog raširene uporabe antimikrobnih lijekova u prevenciji i liječenju, što rezultira nastankom rezisten-

tnih patogena (5,6). Upravo je zbog toga potreban kontinuirani lokalni nadzor epidemiologa, uz pravodobnu promjenu antimikrobne strategije, kako kod profilakse tako i liječenja pojedinih infekcija.

Infekcija krvotoka je teška komplikacija nakon OTJ i TKMS i važan je uzrok morbiditeta i mortaliteta tih bolesnika. Nakon OTJ, infekcija krvotoka je jedna od najznačajnijih komplikacija, zabilježena i u do 35% bolesnika, s mortalitetom između 24% i 36% (7-14). Infekcija krvotoka je također najčešća ozbiljna komplikacija TKMS (15,16), zabilježena u 13-60% bolesnika (15,17-23) s mortalitetom između 10% i 27% (5,20,24). Zbog razvitka septičkog šoka, smrtnost vezana uz bak-

terijemiju iznosi i do 50% (25). Pravodobna i prikladna empirijska terapija smanjuje smrtnost, posebice u bolesnika s gram-negativnom bakterijemijom.

Poznavanje očekivanog vremena nastupa infekcije krvotoka u određenim skupinama bolesnika omogućava pravodobno prepoznavanje ove komplikacije. Poznavanje epidemiologije i osjetljivosti uzročnika je pak glavni preduvjet za određivanje najprikladnije empirijske terapije.

Cilj ovog istraživanja bio je ocijeniti i usporediti incidenciju, vrijeme nastupa i etiologiju infekcija krvotoka u dvije skupine bolesnika s transplantacijom (ortotopna transplantacija jetre i transplantacija krvotvornih matičnih stanica) kako bi se bolje opisalo epidemiologiju infekcija krvotoka u jednoj ustanovi koja se bavi transplantacijskom medicinom. Osnovna je pretpostavka bila da će se epidemiologija infekcija krvotoka između ove dvije skupine bolesnika razlikovati, budući da se bolesnici razlikuju prema osnovnoj bolesti, načinu transplantacijskog liječenja i primijenjenoj imunosupresiji.

MATERIJALI I METODE:

Plan istraživanja

U ovu retrospektivnu studiju uključeno je ukupno 280 uzastopnih transplantacija, provedenih u jednoj ustanovi, Kliničkoj bolnici Merkur, između siječnja 2005. i listopada 2008. U slučaju višestrukih transplantacija na istome bolesniku, svaka transplantacija razmatrana je kao poseban slučaj. Podaci sakupljeni iz medicinske dokumentacije uključivali su dob, spol, osnovnu bolest, datume uzimanja hemokultura i izolata. Analizirani su podaci do godine dana nakon transplantacije (osim u slučaju nastupa smrti prije tog vremena).

Imunosupresija i antimikrobna profilaksa

Nakon OTJ u svih je bolesnika primijenjena standardna perioperacijska antibiotska profilaksa parenteralnim piperacilin-tazobaktamom 5 dana, te intestinalna dekontaminacija peroralnim gentamicinom i flukonazolom na dan transplantacije, te sljedeća tri dana. Trimetoprim sulfametoksazol tri puta tjedno primijenjen je prvih 6 mjeseci nakon OTJ za profilaksu *Pneumocystis jiroveci*, a valganciklovir u prva tri mjeseca za profilaksu citomegalovirusne infekcije. Imunosupresija se sastojala od indukcije prednizonom (prestanak nakon 3 mjeseca), kalcineurinskih inhibitora (takrolimus ili ciklosporin) i mikofenolat mofetila. Svi hematološki bolesnici primali su oralnu antimikrobnu profilaksu

ciprofloksacinom i flukonazolom od početka terapije kondicioniranja do oporavka vrijednosti leukocita ili razvoja vrućice. Bolesnici su nakon alogenične transplantacije primali antiviralnu profilaksu aciklovirom, te profilaksu *Pneumocystis jiroveci* trimetoprim sulfametoksazolom do kraja imunosupresivne terapije i imunološkog oporavka. Imunosupresivna terapija za profilaksu akutne reakcije transplantata protiv primatelja uključivala je ciklosporin i metotreksat.

Mikrobiološke metode

Hemokulture su analizirane u suradnom mikrobiološkom laboratoriju. Svaki uzorak sastojao se od aerobne i anaerobne bočice koja je inkubirana u BacT/Alert automatiziranom sustavu (BioMerieux, Francuska). Izolati su identificirani korištenjem standardiziranih mikrobioloških protokola (26), a testiranje osjetljivosti na antibiotike provedeno je metodom disk difuzije koristeći standarde i interpretaciju (CLSI M100-S14-18) *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI). Minimalne inhibitorne koncentracije (MIK) određene su kod izolata enterobakterija za koamoksiklav, gentamicin, ciprofloksacin i piperacilin-tazobaktam; u izolata *P. aeruginosa* za ciprofloksacin, piperacilin-tazobaktam, ceftazidim, imipenem, meropenem, gentamicin i amikacin; u izolata *Acinetobacter* spp. za ampicilin-sulbaktam, piperacilin-tazobaktam, imipenem i meropenem; u izolata enterokoka za ampicilin, gentamicin i vankomicin; u *S. aureus* za oksacilin i vankomicin. MIK za kolistin je testiran samo za izolate rezistentne na karbapenem. MIK-ovi su određeni koristeći E-test (AB Biodisk, Švedska).

Definicije

Sve hemokulture su prikupljene nakon nastupa znakova infekcije, najčešće vrućice, koja je definirana kao tjelesna temperatura od najmanje 38°C mjerena barem dva puta tijekom 2 sata ili 38,5°C u jednom navratu. Pozitivne hemokulture su smatrane značajnima po kriterijima CDC-a (*Center for Disease Control*), tj. prepoznatljivi patogeni su smatrani značajnima ako su izolirani iz jedne ili više hemokultura, dok se izolacija kožnih kontaminanata (koagulaza negativni stafilokoki, korinebakterije, mikrokoki) smatrala značajnom, ako je uzročnik bio izoliran u dvije ili više hemokultura uz kliničke znakove sepse (27). Polimikrobna infekcija krvotoka definirana je izolacijom dvaju ili više patogena u jednoj hemokulturi ili različitim uzorcima hemokultura unutar 48 sati. Bakterijemija ili fungemija koja se javila 14 dana nakon prethodne epizode, a između kojih su potvrđene negativne hemokulture, smatrana je novom epizodom.

Statistička analiza

Rezultati su izraženi kao medijan +/- standardna devijacija ili kao udio u ukupnom broju pacijenata ili izolata. U statističkoj analizi kategorijskih varijabli koristio se χ^2 test. Za kontinuirane varijable najprije se testirala normalnost distribucije Kolmogorov-Smirnov testom, a potom se ovisno o distribuciji koristio parametrijski t-test, odnosno neparametrijski Mann-Whitneyev test usporedbe. Vrijednost $p < 0,05$ smatrana je statistički značajnom. Statistička je analiza provedena na StatView™ programu, verziji 5.0.1. (SAS Institute, Cary, NC, SAD).

REZULTATI

Istraživana populacija

Identificirali smo 280 uzastopnih transplantacija u 262 bolesnika. Karakteristike populacije prikazane su u tablici 1. Kod hepatoloških bolesnika najčešće indikaci-

Tablica 1.

Karakteristike bolesnika

Parametri (n=262)	OTJ bolesnici (n=136)	TKMS bolesnici (n=126)
Prosječna dob (raspon)	49 (16 – 75)	45 (19 - 70)
Dijagnoza	Alkoholna ciroza 36%	ALL 10,3%
	Virusni hepatitis 14%	AML 15,1%
	Kriptogena ciroza 9,6%	NHL 49,2%
	HCC 5,1%	MH 7,9%
	Kolestatska bolest jetre 6,6%	MM 17,5%
	Metaboličke bolesti jetre 3,7%	
	Otrovanje 3,7%	
	Policistična bolest jetre 6,6%	
	Ostalo 14,7%	
Tip transplantacije	OTJ 82%	Autologna 8,2%
	Tx bubreg + jetra 7,9%	Alogenična (SD) 19,8%
	reOTJ 4,3%	
	LDLT 3,6%	
	TRJ 1,4%	
	TX gušterača + jetra 0,7%	

OTJ = Ortotopna transplantacija jetre, TKMS = Transplantacija krvotvornih matičnih stanica, ALL = Akutna limfoblastična leukemija, AML = Akutna mijeloična leukemija, HCC = Hepatocelularni karcinom, LDLT = Transplantacija sa živućeg donora, TRJ = Transplantacija reznja jetre, MH = Hodgkinov limfom, MM = Multipli mijelom, SD = Srodni donor, NHL = Ne-Hodgkinov limfom, Tx = Transplantacija, reOTJ = Retransplantacija jetre

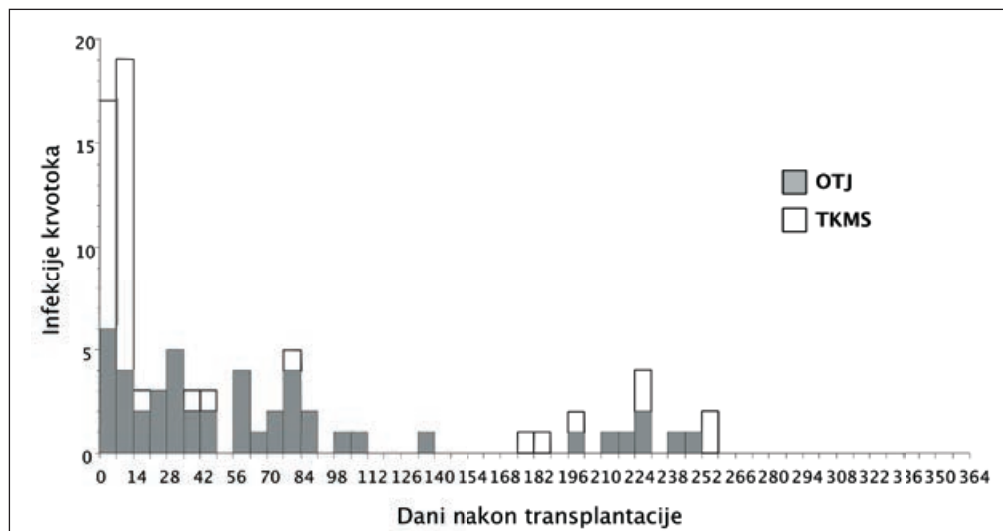
je za transplantaciju jetre bile su alkoholna bolest jetre, hepatitis C i kriptogena ciroza. Šest bolesnika su u razmatranom razdoblju imalo ponovnu transplantaciju; petero zbog primarne disfunkcije presatka ili vaskularnih komplikacija, s retransplantacijom 1-17 (medijan 4) dana nakon prve transplantacije. Jedan je bolesnik podvgnut ponovnoj transplantaciji 14 mjeseci nakon prve transplantacije. Najčešće hematološke bolesti liječene pomoću TKMS bile su ne-Hodgkinov limfom, multipli mijelom i akutna mijeloična leukemija. U većine bolesnika provedena je transplantacija autolognih KMS, a kod transplantacije alogeničnih KMS korištene su matične stanice od srodnih podudarnih darivatelja. U 7 bolesnika s alotransplantacijom korištena je priprema smanjenog intenziteta, dok je u ostalih 18 bolesnika provedena standardna mijeloablativna priprema. U osam TKMS bolesnika transplantacija je učinjena dva puta, 4 bolesnika primila su 'tandem' transplantacije zbog multiplog mijeloma, a dvoje zbog agresivnog ne-Hodgkinovog limfoma. U dva bolesnika provedena je alogenična transplantacija nakon prethodne autologne. U obje su se skupine infekcije krvotoka javile unutar godinu dana od transplantacije, ali nakon druge transplantacije smatrane su vezanima uz zadnju provedenu transplantaciju.

Incidencija i vrijeme pojavnosti infekcija krvotoka

Ukupno su identificirane 84 epizode infekcije krvotoka (47 nakon OTJ i 37 nakon TKMS) s medijanom od 28 (raspon 0-256, SD 78) dana nakon transplantacije. Relativna incidencija od 34,6 i 29,4 septičnih epizoda na 100 OTJ i TKMS bolesnika nije se statistički značajno razlikovala između skupina (χ^2 -test, $p=0,52$). U obje je skupine većina epizoda zabilježena tijekom prvih tri mjeseca nakon transplantacije. Međutim, u bolesnika nakon TKMS, infekcije su se krvotoka javljale značajno ranije (Mann Whitneyev test, $p=0,003$) nego kod OTJ bolesnika (OTJ: medijan 46, raspon 0-248 SD 72 dana; TKMS: medijan 7, raspon 1-256, SD 84 dana). Posebice, većina infekcija krvotoka (70,2%) u TKMS bolesnika zabilježena je unutar prva dva tjedna nakon transplantacije (sl. 1).

Mikrobiološke karakteristike

Mikrobiološke karakteristike prikazane su u tablici 2. Ukupno je identificirano 20 različitih mikroorganizama. Polimikrobne infekcije krvotoka bile su odgovorne za 12,8% epizoda u OTJ skupini i 8,1% epizoda u TKMS skupini. U OTJ skupini je uočena veća incidencija gram-negativnih (GN) infekcija krvotoka u odnosu na TKMS skupinu, ali razlika nije dosegla razinu statističke značajnosti (χ^2 test, $p=0,068$). Ne-fermentativne GN bakterije podjednako su bile zastupljene u obje istraživane skupine, dok su enterobakterije češće



Sl. 1. Incidencija i vrijeme pojavnosti infekcija krvotoka u bolesnika nakon ortotopne transplantacije jetre (OTJ) i transplantacije krvotvornih matičnih stanica (TKMS)

Tablica 2.

Etiologija infekcija krvotoka nakon ortotopne transplantacije jetre (OTJ) i transplantacije krvotvornih matičnih stanica (TKMS).

	OTJ bolesnici (n = 23)	TKMS bolesnici (n = 30)
Broj epizoda	47	37
Broj izolata	53	41
Broj polimikrobnih epizoda	6	3
Gram-negativne infekcije (%)	31 (58,5%)	16 (39%)
<i>P.aeruginosa</i>	7	9
<i>A.baumannii</i>	5	1
<i>K.pneumoniae</i>	12	0
<i>E.coli</i>	6	5
<i>P.mirabilis</i>	1	0
<i>E.aerogenes</i>	0	1
Gram-pozitivne infekcije (%)	15 (28,3%)	18 (43,9%)
MRSA	1	0
CoNS	6	10
<i>E.faecium</i>	6	3
<i>E.faecalis</i>	1	1
<i>E.casseliflavus</i>	0	1
<i>S.mitis</i>	0	2
<i>S.viridans</i>	1	1
Gljivične infekcije (%)	7 (13,2%)	1 (2,5%)
<i>C.albicans</i>	3	1
<i>C.tropicalis</i>	1	0
<i>C.parapsilosis</i>	3	0
Anaerobni izolati (%)	0	6 (14,6%)
<i>B.ureolyticus</i>	0	1
<i>Fusobacterium spp.</i>	0	3
<i>Capnocytophaga spp.</i>	0	2

A.baumannii=*Acinetobacter baumannii*, *B.ureolyticus*=*Bacteroides ureolyticus*, *C.albicans*=*Candida albicans*, *C.parapsilosis*=*Candida parapsilosis*, *C.tropicalis*=*Candida tropicalis*, CoNS=Koagulaza negativni stafilokoki, *E.aerogenes*=*Enterobacter aerogenes*, *E.casseliflavus*=*Enterococcus casseliflavus*, *E.faecalis*=*Enterococcus faecalis*, *E.faecium*=*Enterococcus faecium*, *E.coli*=*Escherichia coli*, *K.pneumoniae*=*Klebsiella pneumoniae*, MRSA=metilicilin rezistentni *Staphylococcus aureus*, *P.aeruginosa*=*Pseudomonas aeruginosa*, *P.mirabilis*=*Proteus mirabilis*, *S.mitis*=*Streptococcus mitis*, *S.viridans*=*Streptococcus viridans*

bile izolirane u OTJ nego u TKMS bolesnika. GN bacili bili su najčešći uzročnici kod bolesnika s transplantiranom jetrom, odgovorni za 58,5% infekcija krvotoka. U bolesnika s transplantiranim krvotvornim matičnim stanicama gram-pozitivni (GP) uzročnici bili su najčešće izolirani patogeni (43,9% infekcija krvotoka).

Najčešće izolirani GN mikroorganizam u svih bolesnika bio je *Pseudomonas aeruginosa*, koji je činio 17% svih izolata, odnosno 34% gram-negativnih izolata. Koagulaza-negativni stafilokoki bili su najčešće izolirani gram-pozitivni (GP) mikroorganizmi (17% udjela u svim patogenima, odnosno 51,5% među GP patogenima), ukupno i u TKMS skupini (24,4%). U OTJ skupini najčešće izolirani GP organizmi bili su enterokoki (13,2%). Klinički značajne bakterijemije izazvane koagulaza-negativnim stafilokokima su bile vezane uz primjenu centralnog venskog katetera. *Staphylococcus aureus* (soj rezistentan na metilicilin) bio je odgovoran za nastanak samo jedne bakterijemije u OTJ skupini.

Anaerobne bakterije su bile izolirane samo iz hemokultura bolesnika TKMS skupine, te su činili 14,6% izolata u ovoj skupini. U OTJ skupini ni jedna infekcija krvotoka nije bila uzrokovana anaerobima (χ^2 -test, $p=0,004$).

Gljivične infekcije bile su učestalije u OTJ skupini (13,2% svih izolata u OTJ skupini, prema 2,5% izolata u TKMS skupini, χ^2 -test, $p=0,06$). Većinu fungemija uzrokovala je *Candida albicans* (50%). U OTJ skupini tri epizode uzrokovala je *Candida parapsilosis*, a jednu *Candida tropicalis*.

Tablica 3.

Osjetljivost na antimikrobne lijekove gram-negativnih izolata u bolesnika nakon ortotopne transplantacije jetre (OTJ) i transplantacije krvotvornih matičnih stanica (TKMS).

	AMC	SAM	TZP	CRO	FEP	CAZ	IMI	MEM	GM	AN	NT	CIP
<i>P. aeruginosa</i>												
OTJ (n=7)	0%	0%	57%	0%	57%	57%	43%	43%	0%	57%	0%	43%
TKMS (n=9)	0%	0%	67%	0%	22%	67%	56%	56%	33%	44%	33%	22%
<i>A. baumannii</i>												
OTJ (n=5)	0%	80%	80%	0%	0%	0%	100%	80%	0%	20%	20%	0%
TKMS (n=1)	0%	100%	100%	0%	0%	0%	100%	100%	0%	100%	100%	0%
<i>Nefermentativni</i>												
OTJ (n=12)	0%	33%	67%	0%	33%	33%	67%	58%	0%	42%	8%	25%
TKMS (n=10)	0%	10%	70%	0%	20%	60%	50%	50%	30%	50%	40%	20%
<i>Enterobakterije</i>												
OTJ (n=19)	84%	32%	63%	58%	58%	58%	100%	100%	47%	53%	74%	21%
TKMS (n=6)	83%	67%	83%	83%	100%	83%	100%	100%	83%	100%	83%	50%
<i>Svi izolati</i>												
OTJ (n=31)	52%	32%	65%	35%	48%	48%	87%	84%	29%	48%	48%	23%
TKMS (n=16)	31%	31%	75%	31%	50%	69%	69%	69%	50%	69%	56%	31%

AMC = koamoksiklav, SAM = ampicilin-sulbaktam, TZP = piperacilin-tazobaktam, CRO = ceftriakson, FEP = cefepim, CAZ = ceftazidim, IMI = imipenem, MEM = meropenem, GM = gentamicin, AN = amikacin, NT = netilmicin, CIP = ciprofloksacin

Antimikrobna osjetljivost

Antimikrobna osjetljivost, testirana pomoću disk difuzije, prikazana je u tablici 3. U istraživanom razdoblju osjetljivost enterobakterija izoliranih u OTJ bolesnika bila je slabija u usporedbi s istim izolatima u TKMS bolesnika. Od 12 izolata *Klebsiella pneumoniae* (svi u OTJ skupini), osam je proizvelo ESBL.

Devet (56%) od 16 izolata *P. aeruginosa* bilo je otporno na više antibiotika. Višestruka otpornost na lijekove definirana je kao otpornost na najmanje tri od sljedećih antibiotskih skupina: penicilini, cefalosporini, karbapenemi, aminoglikozidi i kinoloni. Osam od devet uzoraka bilo je rezistentno na karbapeneme. Osjetljivost na kolistin istraživana je samo u u višestruko rezistentnih sojeva, svi su se pokazali osjetljivima na kolistin. Od šest izolata *A. baumannii* jedan je bio otporan na meropenem. Svi su izolati pokazali osjetljivost na imipenem. Infekcija krvotoka izazvana metilicilin rezistentnim *Staphylococcus aureus* (MRSA) zabilježena je u jednog OTJ bolesnika. *Enterococcus faecium* otporan na vankomicin izazvao je dvije epizode bakterijemije u jednog bolesnika nakon OTJ.

RASPRAVA

Infekcije krvotoka u imunokompromitiranih bolesnika su za život opasno stanje. Naši rezultati potvrđuju bakterijemiju kao važnu komplikaciju transplantacije jetre i transplantacije krvotvornih matičnih stanica, s

pojavnošću od 16,9% u OTJ skupini, odnosno 23,8% u TKMS skupini. U obje skupine naših bolesnika infekcija krvotoka se najčešće javljala u prva tri mjeseca nakon transplantacije. U bolesnika kojima su transplantirane krvotvorne matične stanice infekcija krvotoka se javljala značajno ranije nego u bolesnika s transplantiranom jetrom, i to najčešće u prva tri tjedna nakon transplantacije. Visoka podložnost infekciji u ranom posttransplantacijskom razdoblju u TKMS bolesnika posljedica je kemoterapijom izazvanog oštećenja sluznice i neutropenije, koji se razvijaju u svih hematoloških bolesnika, osim manje skupine koja prima pripremu smanjenog intenziteta prije alotransplantacije. Kemoterapijom izazvan mukozitis i produljeno korištenje intravaskularnih katetera u TKMS pacijenata čimbenici su koji, barem djelomično, objašnjavaju višu incidenciju gram-pozitivnih i anaerobnih bakterija u tih bolesnika.

U bolesnika nakon transplantacije jetre češće su bili izolirani gram-negativni mikroorganizmi, posebno enterobakterije, a učestalija je bila i izolacija gljiva (*Candida* spp.). Nakon uvođenja parcijalne intestinalne dekontaminacije usmjerene protiv gram-negativnih mikroorganizama sredinom 1990-tih, gram-pozitivne bakterije postale su češći uzročnici infekcija krvotoka nakon transplantacije jetre i transplantacije krvotvornih matičnih stanica. Međutim, nedavna istraživanja ukazuju na promjene u epidemiologiji ozbiljnih infekcija i ponovnu pojavu gram-negativnih mikroorganizama u obje skupine bolesnika (28,29). Jedan od razloga za tu promjenu može biti sve veća rezistencija na antibiotike koja u zadnjem desetljeću dolazi do izražaja

ja upravo kod gram-negativnih bakterija. U primatelja krvotvornih matičnih stanica promjena epidemiologije vjerojatno je uzrokovana sve širom uporabom protokola sa smanjenim intenzitetom pripreme tijekom prošlog desetljeća. Takav način kondicioniranja ne dovodi, naime, do izrazitog mukozitisa, čimbenika rizika za nastanak infekcija gram-pozitivnim mikroorganizmima. U ovom istraživanju potvrdili smo veliko značenje gram-negativnih mikroorganizama kao uzročnika infekcija krvotoka, budući da su bili vodeći patogeni OTJ skupine (GN/GP omjer 2,07) i skoro podjednako učestali uzročnici u TKMS skupini (GN/GP omjer 0,89).

U ovoj studiji uočen je visok udio multiplorezistentnih izolata među gram-negativnim bakterijama, pogotovo u OTJ skupini bolesnika. Među gram-negativnim patogenima posebno otporan na liječenje je *Pseudomonas aeruginosa*, koji pokazuje intrinzičnu rezistenciju na brojne antibiotike, a uz to lako razvija rezistenciju na antipseudomonasne antibiotike. U 2008. g. rezistencija *P. aeruginosa* na imipenem je u Hrvatskoj iznosila 11%, u KB Merkur 23%, a u skupini OTJ bolesnika u ispitivanom razdoblju čak 57%. (30). Mogući razlog tome je velika uporaba antibiotika u ovoj populaciji bolesnika, koja uključuje i produženu kiruršku profilaksu. Manjak kontrolne skupine u našem istraživanju (tj. skupine koja je primala antibiotsku profilaksu jednokratno) sprječava nas u donošenju čvrstih zaključaka, no brojne studije ukazuju da proširena uporaba antimikrobne profilakse značajno pridonosi rastućem problemu infekcija izazvanih rezistentnim mikroorganizmima. Porast rezistencije na antibiotike bilježi se u mnogim sredinama među svim vodećim patogenima, a poseban su problem višestruko rezistentni izolati (31-33). Infekcije izazvane višestruko rezistentnim bakterijama povezane su s većim morbiditetom, mortalitetom i povećanim troškovima liječenja (34-38). Najučestaliji gram-pozitivni mikroorganizmi bili su koagulaza negativni stafilokoki. Infekcija krvotoka uzrokovana ovim patogenima u svim je slučajevima bila vezana uz upotrebu katetera, posebice u TKMS bolesnika. Ipak, u našem je istraživanju manji udio ovih patogena kao uzročnika infekcija krvotoka nego kod drugih autora (39). Infekcija krvotoka *S. aureus* zabilježena je u samo jednom slučaju, nakon transplantacije jetre. Izolat je bio rezistentan na meticilin, a infekcija krvotoka je bila povezana s uporabom intravaskularnog katetera. Naši su rezultati pokazali niži udio bakterijemije *S. aureus* nego u sličnim istraživanjima (39,40), najvjerojatnije zbog dobre primjene CDC preporuka vezanih za profilaksu kateterima izazvanih infekcija (pranje ruku, izbjegavanje femoralnih katetera, ispiranje kože klorheksidinom i rano vađenje nepotrebnih katetera) (41).

Incidencija na vankomicin rezistentnog *E. faecium*-a bila je niska; zabilježene su tek dvije epizode bakteri-

jemije, obje u istog bolesnika s više od 3 mjeseca razmaka.

U studiji je zabilježena visoka pojavnost anaerobnih izolata i izolata *Streptococcus viridans* u skupini bolesnika s transplantiranim krvotvornim matičnim stanicama, što je u skladu s drugim objavljenim istraživanjima (42,43). Udio kandidemije među svim uzročnicima u TKMS skupini (2,5%) podjednak je rezultatima iz drugih istraživanja (5,44). Nasuprot tome, u OTJ bolesnika *Candida* spp. bila je učestalija (13%) nego u sličnih istraživanja, u kojih se prije transplantacije provodila i antifungalna profilaksa (45,46). Postoje naznake da se nakon antifungalne profilakse izdvajaju infekcije uzrokovane sojevima *non-albicans*, koje je teško liječiti prvom generacijom azola (47). Osim *Candida albicans* u bolesnika nakon transplantacije jetre pronađena je i *Candida parapsilosis* te *Candida tropicalis*, obje osjetljive na flukonazol (48). U našoj ustanovi, antifungalna profilaksa nije dovela do pojave rezistentnih sojeva *non-albicans*.

Povezano s mikrobiološkom epidemiologijom naši su podaci usporedivi s onima nedavno objavljenih istraživanja u kojima se opisuje ponovna pojava gram-negativnih bakterija kao vodećih uzročnika infekcija krvotoka nakon ortotopne transplantacije jetre i transplantacije krvotvornih matičnih stanica (28,29). Veliki udio gram-negativnih bakterija, uzročnika bakterijemije u našoj ustanovi bio je višestruko rezistentan na antibiotike. Ova je činjenica zabrinjavajuća, te ju je potrebno imati na umu kada se u bolesnika s transplantacijom posumnja na infekciju krvotoka. Liječenje bakterijemije izazvane *P. aeruginosa* i drugim nefermentativnim gram-negativnim bacilima postaje sve veći problem zbog porasta višestruko rezistentnih oblika tih patogena. Empirijska antibiotska terapija može stoga biti neprikladna, a često na raspolaganju ostaje razmjerno malo terapijskih mogućnosti i nakon što je uzročnik poznat. Nefermentativne bakterije rezistentne na karbapeneme sve su učestalije, te je pitanje vremena kada kolistin više neće biti učinkovita zadnja linija liječenja.

U zaključku, naši rezultati potvrđuju ne samo važnost lokalnog nadzora nad rezistencijom na pojedine antibiotike, već i važnost nadzora nad specifičnim skupinama bolesnika. Analize učestalosti i osjetljivosti pojedinih mikroorganizama uzročnika infekcija krvotoka u populaciji bolesnika s transplantacijom ostaju glavni preduvjet za planiranje intervencija vezanih uz prevenciju i liječenje infekcija u toj skupini bolesnika. Budući da je mali broj novih antibiotika na vidiku, posebice onih koji bi bili djelotvorni u liječenju multirezistentnih gram-negativnih bakterija, trebalo bi razborito trošiti sada dostupne antibiotike i strogo slijediti mjere kontroliranja infekcija koje ograničavaju širenje više-

struko rezistentnih mikroorganizama. U našoj su bolnici bolesnici s transplantiranom jetrom najosjetljivija skupina za nastanak višestruko rezistentnih gram-negativnih bakterija te je ovaj nalaz od velike važnosti za našu ustanovu, kao i za druge ustanove sa sličnom populacijom bolesnika. Bliža suradnja mikrobiologa i kliničara nužna je kako bi se bolje razlikovalo kolonizaciju od infekcije izoliranim mikroorganizmima te kako bi se što racionalnije koristilo antimikrobne lijekove.

LITERATURA

1. Merion RM. Current status and future of liver transplantation. *Semin Liver Dis* 2010; 30: 411-21.
2. Vaughan W, Seshadri T, Bridges M, Keating A. The principles and overview of autologous hematopoietic stem cell transplantation. *Cancer Treat Res* 2009; 144: 23-45.
3. Deeg HJ, Sandmaier BM. Who is fit for allogeneic transplantation? *Blood* 2010; 116: 4762-70.
4. Wingard JR, Hsu J, Hiemenz JW. Hematopoietic stem cell transplantation: an overview of infection risks and epidemiology. *Infect Dis Clin North Am* 2010; 24: 257-72.
5. Ortega M, Rovira M, Almela M i sur. Bacterial and fungal bloodstream isolates from 796 hematopoietic stem cell transplant recipients between 1991 and 2000. *Ann Hematol* 2005; 84: 40-6.
6. Candel FJ, Grima E, Matesanz M i sur. Bacteremia and septic shock after solid-organ transplantation. *Transplant Proc* 2005; 37: 4097-9.
7. Lumbreras C, Lizasoain M, Moreno E i sur. Major bacterial infections following liver transplantation. *Hepatogastroenterology* 1992; 39: 362-65.
8. Mora P, Gonwa TA, Goldstein R, Husberg BS, Klintmalm GB. Risk factors of postoperative infection after liver transplantation: A univariate and stepwise logistic regression analysis of risk factors in 140 consecutive patients. *Clin Transplant* 1992; 46: 443-49.
9. Kusne S, Dummer JS, Singh N i sur. Infections after liver transplantation, an analysis of 101 consecutive cases. *Medicine* 1988; 67: 132-43.
10. Singh N, Gayowski T, Wagener M, Yu VL. Infectious complications in liver recipients on tacrolimus: Prospective analysis of 88 consecutive liver transplants. *Transplantation* 1994; 58: 774-78.
11. Wagener MM, Yu VL. Bacteremia in transplant recipients: A prospective study of demographics, etiologic agents, risk factors and outcomes. *Am J Infect Control* 1992; 20: 239-47.
12. George DL, Arnow PM, Fox AS i sur. Bacterial infection as a complication of liver transplantation: Epidemiology and risk factors. *Rev Infect Dis* 1991; 13: 387-96.
13. Wade JJ, Rolando N, Hallar K, Philpott-Howard J, Casewell MW, Williams R. Bacterial and fungal infections after liver transplantation: An analysis of 284 patients. *Hepatology* 1995; 21: 1328-66.
14. Singh N, Gayowski T, Wagener MM, Marino IR. Predictors and outcome of early versus late-onset major bacterial infections in liver transplant recipients receiving tacrolimus (FK 506) as primary immunosuppression. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1997; 16: 821-26.
15. Williamson EC, Millar MR, Steward CG i sur. Infections in adults undergoing unrelated donor bone marrow transplantation. *Br J Haematol* 1999; 104: 560-68.
16. Ninin E, Milpied N, Moreau P i sur. Longitudinal study of bacterial, viral, and fungal infections in adult recipients of bone marrow transplants. *Clin Infect Dis* 2001; 33: 41-7.
17. Engels EA, Ellis CA, Supran SE i sur. Early infection in bone marrow transplantation: quantitative study of clinical factors that affect risk. *Clin Infect Dis* 1999; 28: 256-66.
18. Engelhard D, Elishoov H, Strauss N i sur. Nosocomial coagulase-negative staphylococcal infections in bone marrow transplantation recipients with central vein catheter: A 5 year prospective study. *Transplantation* 1996; 61: 430-4.
19. Lenssen P, Bruemmer BA, Bowden RA, Gooley T, Aker SN, Mattson D. Intravenous lipid dose and incidence of bacteremia and fungemia in patients undergoing bone marrow transplantation. *Am J Clin Nutr* 1998; 67: 927-33.
20. Busca A, Saroglia EM, Giacchino M i sur. Analysis of early infectious complications in pediatric patients undergoing bone marrow transplantation. *Support Care Cancer* 1999; 7: 253-9.
21. Barton T, Collis T, Stadtmauer E, Schuster M. Infectious complications the year after autologous bone marrow transplantation or peripheral stem cell transplantation for treatment of breast cancer. *Clin Infect Dis* 2001; 32: 391-5.
22. Kersun LS, Propert KJ, Lautenbach E, Bunin N, Demichele A. Early bacteremia in pediatric hematopoietic stem cell transplant patients on oral antibiotic prophylaxis. *Pediatr Blood Cancer* 2005; 45: 162-9.
23. Almyroudis NG, Fuller A, Jakubowski A i sur. Pre and post-engraftment bloodstream infection rates and associated mortality in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients. *Transpl Infect Dis* 2005; 7: 11-7.
24. Elishoov H, Or R, Strauss N, Engelhard D. Nosocomial colonization, septicemia and Hickman/Broviac catheter related infections in bone marrow transplant recipients. A 5-year prospective study. *Medicine* 1998; 77: 83-101.
25. Kang CI, Kim SH, Park WB i sur. Bloodstream infections caused by antibiotic resistant Gram-negative bacilli: risk factors for mortality and impact of inappropriate initial antimicrobial therapy on outcome. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 760-6.
26. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC Jr. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. Philadelphia: Lippincott – Raven; 1997.
27. Horan TC, Gaynes RP. Surveillance of nosocomial infections. U: Mayhall CG, ed. *Hospital Epidemiology and Infection Control*, 3rd ed., Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004, 1659-1702.
28. Singh N, Wagener MM, Obman A, Cacciarelli TV, de Vera ME, Gayowski T. Bacteremias in liver transplant recipients: Shift toward Gram-negative bacteria as predominant pathogens. *Liver Transpl* 2004; 10: 844-9.

29. Oliveira AL, de Souza M, Carvalho-Dias VM i sur. Epidemiology of bacteremia and factors associated with multidrug-resistant Gram-negative bacteremia in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Bone Marrow Transplant* 2007; 39: 775-81.
30. Tambić Andrašević A, Tambić T, ur. Osjetljivost i rezistencija bakterija na antibiotike u Republici Hrvatskoj u 2008.g. Zagreb: Akademija medicinskih znanosti Hrvatske, 2009
31. Diekema DJ, Pfaller MA, Jones RN; SENTRY Participants Group. Age-related trends in pathogen frequency and antimicrobial susceptibility of bloodstream isolates in North America. SENTRY Antimicrobial Surveillance Program 1997-2000. *Int J Antimicrob Agents* 2002; 20: 412-8.
32. Diekema DJ, Pfaller MA, Jones RN; SENTRY Participants Group. Survey of bloodstream infections due to Gram-negative bacilli: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada and Latin America for SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997. *Clin Infect Dis* 1999; 29: 595-607.
33. Giamarellou H, Poulakou G. Multidrug-resistant Gram-negative infections: what are the treatment options? *Drugs* 2009; 69: 1879-1901.
34. Livermore DM. Bacterial resistance: origins, epidemiology and impact. *Clin Infect Dis* 2003; 36: S11-23.
35. Paladino JA. Economic justification of antimicrobial management programs: implications of antimicrobial resistance. *Am J Health Syst Pharm* 2000; 57: S10-12.
36. Pollack M. *Pseudomonas aeruginosa* and related bacteria. U: Blacklow NR, eds. *Infectious diseases* (2nd ed.). New York: WB Saunders, 1998, 1824-37.
37. Obritsch MD, Fish DN, MacLaren R, Jung R. Nosocomial Infections Due to Multidrug-Resistant *Pseudomonas Aeruginosa*: Epidemiology and Treatment Options. *Pharmacotherapy* 2005; 25: 1353-64.
38. Aloush V, Navon-Venezia S, Seigman-Igra Y, Cabili S, Carmeli Y. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: risk factors and clinical impact. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50: 43-8.
39. Moreno A, Cervera C, Gavalda J i sur. Bloodstream infections among transplant recipients: Results of a nationwide surveillance in Spain. *Am J Transplant* 2007; 7: 2579-86.
40. Torre-Cisneros J, Herrero C, Canas E, Reguera JM, De La Mata M, Gomez-Bravo MA. High mortality related with *Staphylococcus aureus* bacteremia after liver transplantation. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2002; 21: 385-8.
41. Mermel LA. Prevention of intravascular catheter-related infections. *Ann Intern Med* 2000; 132: 391-402.
42. Mrazova-Studena M, Drgona L, Spanik S i sur. Bacteremia in neutropenic versus nonneutropenic cancer patients: etiology and outcome in 401 episodes. *Neoplasma* 1997; 44: 314-8.
43. Wisplinghoff H, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Current trends in nosocomial bloodstream infections in patients with hematological malignancies and solid neoplasms in hospitals in the United States. *Clin Infect Dis* 2003; 36: 1103-10.
44. Marr KA, Seidel K, White TC, Bowden RA. Candidemia in allogeneic blood and marrow transplant recipients: Evolution of risk factors after the adoption of prophylactic fluconazole. *J Infect Dis* 2000; 181: 309-16.
45. Nieto-Rodriguez JA, Kusne S, Manez R i sur. Factors associated with the development of candidemia and candidemia-related death among liver transplant recipients. *Ann Surg* 1996; 223: 70-6.
46. van Hal SJ, Marriott DJ, Chen SC i sur. Candidemia following solid organ transplantation in the era of antifungal prophylaxis: the Australian experience. *Transpl Infect Dis* 2009; 11: 122-7.
47. Trick WE, Fridkin SK, Edwards JR, Hajjeh RA, Gaynes RP. Secular trend of hospital-acquired candidemia among intensive care unit patients in the United States during 1989-1999. *Clin Infect Dis* 2002; 35: 627-30.
48. Pfaller MA, Diekema DJ; International Fungal Surveillance Participant Group. Twelve years of fluconazole in clinical practice: global trends in species distribution and fluconazole susceptibility of bloodstream isolates of *Candida*. *Clin Microbiol Infect* 2004; 10: 11-23.

S U M M A R Y

BLOODSTREAM INFECTIONS AFTER LIVER AND HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION

Z. PERIĆ^{1,4}, A. TAMBIĆ-ANDRAŠEVIĆ^{2,4}, A. MRZLJAK^{1,4}, I. KOŠUTA^{1,4}, V. KOVAČEVIĆ²,
D. GUŠTIN³ and R. VRHOVAC^{1,4}

¹Clinical Department of Medicine, Merkur University Hospital, ²Department of Clinical Microbiology, Dr Fran Mihaljević University Hospital for Infectious Diseases, ³Department of Anesthesiology and Intensive Care, Merkur University Hospital, and ⁴School of Medicine, University of Zagreb, Zagreb, Croatia

The aim of this retrospective study was to evaluate and compare the incidence, timing and etiology of bloodstream infections (BSIs) in patients treated with liver- (LT) or hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) in a single institution. We evaluated 280 consecutive transplantations over a period of 34 months. Our results demonstrated 84 episodes of BSIs (47 in LT patients and 37 in HSCT patients) at a median of 28 days post-transplantation. Relative incidence of 34.6 and 29.4 BSI episodes *per* 100 LT and HSCT patients, respectively, did not differ significantly between the two groups ($p=0.52$). BSIs in HSCT patients occurred significantly earlier ($p=0.003$) than in LT patients. The recently described reemergence of gram-negative (GN) pathogens as causative agents of BSIs in these patients was confirmed: GN bacilli were the predominant isolates in the LT group, responsible for 58.5% of BSIs and a very frequent (39%) cause of BSIs in the HSCT group. A higher incidence of resistant enterobacteriaceae producing extended spectrum beta-lactamases was found in isolates from LT patients compared to HSCT patients. In both groups, *Pseudomonas aeruginosa* was the most difficult to treat organism, with 57% of these isolates in LT patients and 44% in HSCT patients being resistant to carbapenems. To conclude, BSIs were confirmed to be important infectious complications of both LT and HSCT. Surveillance and analysis of bacteria causing bloodstream and other serious infections in transplanted patients remain the main prerequisites for planning interventions regarding prevention and treatment of infections in these patients.

Key words: sepsis, liver transplantation, hematopoietic stem cell transplantation, antimicrobial resistance