

Epidemiologija i rezistencija kliničkih izolata *Acinetobacter baumannii* u Hrvatskoj tijekom desetogodišnjeg razdoblja – što se promijenilo?

Epidemiology and resistance of clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* in Croatia over a ten-year period – what has changed?

Ivana Goić Barišić

Zavod za kliničku mikrobiologiju
Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu,
Klinički bolnički centar Split, Split

Sažetak. *Acinetobacter baumannii* zauzima posebno mjesto unutar skupine uzročnika teških infekcija, poznatije kao „ESKAPE“ mikroorganizmi. Ovaj mikroorganizam postao je vodeći uzročnik hospitalnih infekcija u 21. stoljeću, te su brojna istraživanja usmjerena na epidemiologiju, rezistenciju i nadzor nad ovim patogenom. Epidemiologija i molekularna osnova rezistencije kliničkih izolata *Acinetobacter baumannii* u Hrvatskoj tijekom posljednja dva desetljeća bitno se promijenila u većini zdravstvenih ustanova, uz visoki postotak rezistencije na karbapeneme, kinolone i aminoglikozide te prisutnost multiplo-rezistentnih izolata. U ovom pregledu naglasak je stavljen na rezultate istraživanja epidemiologije i rezistencije kliničkih izolata iz Hrvatske.

Ključne riječi: *Acinetobacter baumannii*; epidemiologija; Hrvatska; rezistencija

Abstract. Among the “ESKAPE” group of serious pathogens *Acinetobacter baumannii* is under a great concern worldwide. This microorganism has become a leading nosocomial pathogen of the 21st century, and numerous studies are focused on the epidemiology, resistance and control measures of this pathogen in the hospital setting. The epidemiology and molecular basis of resistance of clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* in Croatia over the last two decades has changed significantly in most health institutions, with a high percentage of resistance to carbapenems, quinolones and aminoglycosides, and the presence of multi-resistant isolates. In this review, emphasis was placed on the results of research on epidemiology and resistance of clinical isolates from Croatia.

Key words: *Acinetobacter baumannii*; Croatia; epidemiology; resistance

Adresa za dopisivanje:

Prof. prim. dr. sc. Ivana Goić Barišić, dr. med.
Klinički bolnički centar Split
Spinčićeva 1, 21 000 Split, Hrvatska
e-mail: igoic@kbsplit.hr

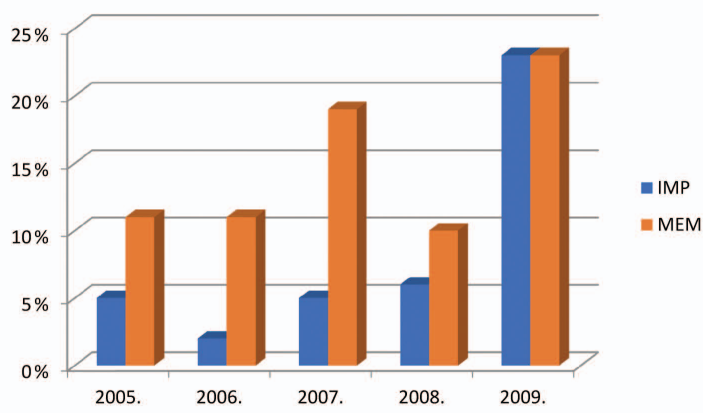
<http://hrcak.srce.hr/medicina>

UVOD

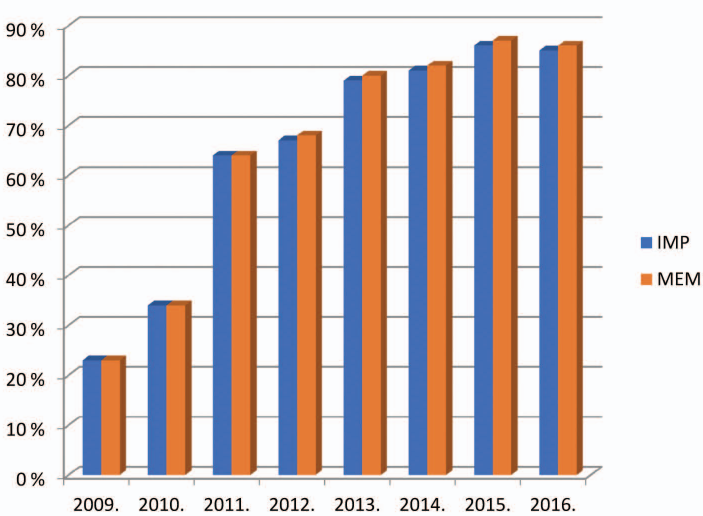
Acinetobacter baumannii jedan je od najčešćih bolničkih mikroorganizama koji uzrokuje infekcije kod pacijenata, u pravilu s oslabljenim sposobnostima obrane imunološkog sustava. Rizik za nastanak infekcije koju uzrokuje ovaj mikroorganizam veći je ako pacijent boravi u jedinici intenzivnog liječenja, ako u anamnezi ima traumu, kirurški zahvat ili potrebu za mehaničkom potpornom ventilacijom¹. Infekcije koje izaziva ovaj mikroorganizam mogu zahvatiti respiratorni (pneumonije povezane s mehaničkom potpornom ventilacijom), urinarni (urinarne infekcije kod osoba s postavljenim kateterom), središnji krvožilni (bakterijemija i sepsa, postavljen centralni vaskularni kateter) i središnji živčani sustav (meningitis)^{1,2}. Smrtnost pacijenata kod kojih je prisutna infekcija ovim uzročnikom u jedinicama intenzivnog liječenja može biti i preko 75 %, naročito ako je respiratorni ili krvožilni sustav mjesto ulaza mikroorganizma³. Američko udruženje infektologa označilo je ovaj mikroorganizam oznakom „crveno“ (engl. *red alert*), naglašavajući problem koji se veže u terapijskom i epidemiološkom smislu za ovaj mikroorganizam s naglaskom na bolničku sredinu. Danas *A. baumannii* zauzima posebno mjesto unutar skupine uzročnika teških infekcija, poznatije kao „ESKAPE“ mikroorganizmi. WHO je tijekom 2017. godine izolate *A. baumannii* s rezistencijom na karbapeneme označio prioritetnom oznakom (grupa 1) naglašavajući potrebu otkrivanja novih antibiotika za ove uzročnike⁴. Prema podacima Odbora za praćenje rezistencije bakterija na antibiotike u Republici Hrvatskoj pri Kolegiju javnog zdravstva Akademije medicinskih znanosti Hrvatske (AMZH) rezistencija na karbapeneme kliničkih izolata *A. baumannii* u 2016. godini iznosila je 86 %⁵. Slikovni prikaz porasta rezistencije na karbapeneme kliničkih izolata *A. baumannii* u Hrvatskoj od 2005. do 2016. godine prikazan je na osnovi podataka AMZH-a (slika 1 i 2). U izvješću Europskog centra za kontrolu i prevenciju bolesti (engl. *European Centre for Disease Prevention and Control*; ECDC) iz 2016. godine Hrvatska po broju i postotku multiplo-rezistentnih izolata *A. baumannii* zauzima drugo mjesto, odmah iza Grčke⁶. Faktori koji pridonose nastanku, perzistenciji i širenju multiplo-rezistentnih izolata *A. baumannii* uključuju

ju veliku potrošnju antimikrobnih lijekova koja dovodi do razvoja adaptivnih mehanizama rezistencije bakterija; nedostatak racionalnog postupnika upravljanja antibioticima (engl. *antimicrobial stewardship*) koji ima za posljedicu korištenje antibiotika širokog spektra i porasta rezistencije kao i

Prema podacima Odbora za praćenje rezistencije bakterija na antibiotike u Hrvatskoj, rezistencija na karbapeneme kliničkih izolata *A. baumannii* u 2016. godini iznosila je 86 %. Prema Europskom centru za kontrolu i prevenciju bolesti (ECDC) u 2016. godini Hrvatska po broju i postotku multiplo-rezistentnih izolata *A. baumannii* zauzima drugo mjesto, iza Grčke.



Slika 1. Rezistencija kliničkih izolata *A. baumannii* na karbapeneme od 2005. do 2009. godine (dominantno prisutan IC1). Izvor podataka www.amzh.hr



Slika 2. Rezistencija kliničkih izolata *A. baumannii* na karbapeneme od 2009. do 2016. godine (dominantno prisutan IC2). Izvor podataka www.amzh.hr

nedostatak mjera i mogućnosti za suzbijanje i kontrolu bolničkih infekcija u svakodnevnom radu². Epidemije koje imaju kao ishodište bolničke pacijente ili bolničko okruženje dobro su dokumentirane u literaturi, ali ostaje dilema posjeduje li ovaj mikroorganizam prirodno stanište izvan bolničke sredine. Pitanja na koja se danas nastoje dobiti odgovori su jesu li pacijent s infekcijom i bolničko okruženje jedini izvor *A. baumannii*, te preživljavaju li klinički izolati i umnažaju li se u prirodnom staništu izvan bolničke sredine.

A. baumannii prenosi se najčešće uporabom respiratora i ovlaživača zraka (aerosolom) te kolonizira respiratorni i probavni sustav, kožu i urogenitalne dijelove tijela. Mjere kontrole bolničkih infekcija zahtijevaju obaveznu izolaciju koloniziranih pacijenata, visoku suradljivost u higijeni ruku, dekontaminaciju površina preparatima na bazi vodikovog peroksida, klorida ili alkohola.

NOVIJE SPOZNAJE O EPIDEMIOLOGIJI I REZULTATI ISTRAŽIVANJA U HRVATSKOJ

Činitelji virulencije koji pridonose kliničkom značaju koji iskazuje ovaj mikroorganizam u bolničkoj sredini svakako su sposobnost preživljavanja u vlažnoj ili suhim abiotskim sredinama, otpornost na dezinficijense, sposobnost stvaranja biofilma te brzi nastanak multiplerezistentnih izolata^{1,3}. Sposobnost bakterije *A. baumannii* da stvara biofilm istražena je u multicentričnom istraživanju na više od 100 prospektivno prikupljenih kliničkih izolata iz južne Hrvatske. Rezultati su pokazali da je 70 % kliničkih izolata imalo sposobnost stvaranja biofilma⁷. Izolati *A. baumannii* prikupljeni tijekom studije iz kliničkih uzoraka aspirata traheje, bronha i bronhoalveolarnog lavata u jedinicama intenzivnog liječenja češće su stvarali biofilm u odnosu na izolate iz ostalih kliničkih uzoraka^{7,8}. Budući da su bakterijski izolati unutar biofilma manje dostupni djelovanju antibiotika, u liječenju respiratornih infekcija uzrokovanih *A. baumannii* potrebno je primijeniti visoke doze antimikrobnog lijeka, često i u kombiniranoj terapiji². Danas je multiplerezistentni *A. baumannii* gotovo endemski prisutan u pojedinim bolničkim sredinama. Novija istraživanja potvrđuju prisutnost i

dominaciju internacionalnog klona 2 (IC2) duže od jednog desetljeća u velikim bolničkim centrima u Hrvatskoj, prvenstveno u KBC Split i KBC Zagreb^{9,10}. Trajna prisutnost *A. baumannii* u bolnicama posljedica je razvoja rezistencije, sposobnosti ove bakterije da stvara biofilm, te otpornosti ovog mikroorganizma na pojedine dezinficijense^{1,11}. Osjetljivost kliničkih izolata *A. baumannii* koji stvaraju biofilm na često korištene dezinficijense, benzalkonijev klorid i klorheksidin, pokazala je ulogu i značaj materijala na kojem mikroorganizam stvara biofilm. Novija istraživanja usporedila su biofilm nastao na keramičkim pločicama (prisutne unutar većine zdravstvenih ustanova) s biofilmom koji je *A. baumannii* stvorio na staklu. Bakterije unutar biofilma bile su otporne na dezinficijense; pri koncentraciji dezinficijensa koja je potpuno uništila planktonske bakterije, unutar biofilma preživjelo je više od 50 % populacije, čak i nakon petominutnog izlaganja dezinficijensima. Značajno je opažanje da su bakterije u obliku biofilma na keramičkim pločicama znatno otpornije na dezinficijense od bakterija u obliku biofilma na staklu, iako je brojnost bakterija bila podjednaka¹¹. Navedeni rezultati upućuju na zaključak da je međudjelovanje materijala i dezinficijensa važan čimbenik koji određuje učinkovitost dezinfekcije. Sposobnost stvaranja biofilma na keramičkim površinama moguće je ishodište i značajno stanište bakterija *A. baumannii* u bolničkom okruženju¹¹. *A. baumannii* u vijabilnom obliku posjeduje sposobnost preživljavanja na suhim površinama i prašini do deset dana, dok inkapsulirani sojevi mogu preživjeti do četiri mjeseca na plastičnim PVC površinama, keramici, gumenim površinama i čeliku¹². Opisano je i preživljavanje ovog mikroorganizma nakon izlaganja dezinficijensima na bazi fenola, glukonata i klorheksidina kao i preživljavanje nakon izlaganja radijaciji^{12,13}. Rezultati istraživanja suradnika na projektu Hrvatske zaklade za znanost (projekt IP-5656) potvrdila su dugotrajnu mogućnost preživljavanja (kroz 50 dana praćenja) kako kliničkih tako i okolišnih izolata *A. baumannii* u različitim vrstama voda poput izvorske i otpadne kanalizacijske vode¹⁴. Dokazana je po prvi put i mogućnost preživljavanja *A. baumannii* u morskoj vodi, kao i put prijenosa rezistentnih kliničkih izolata bolničkom otpadnom vodom¹⁵.

Iako se dugi niz godina kao sinonim za ovaj mikroorganizam koristi gram-negativni MRSA, postoji osnovna razlika u načinu prijenosa infekcija uzrokovanih meticilin rezistentnim stafilokokom koji uglavnom kolonizira nosnice i kožu hospitaliziranih pacijenata, te se prenosi od osobe do druge osobe kontaktom, dok se *A. baumannii* prenosi najčešće uporabom respiratora i ovlaživača zraka (aerosolom), te kolonizira respiratorni i probavni sustav, kožu i urogenitalne dijelove tijela¹⁶. Kolonizirana su mjesta ishodišta kasnijih infekcija te je prema istraživanju omjer koloniziranih i inficiranih pacijenata u jedinicama intenzivne njege 10 : 1¹⁶. Istraživanje belgijske skupine autora tijekom jednogodišnjeg praćenja pacijenata u jedinici intenzivnog liječenja otkrilo je da je 71,4 % pacijenata kolonizirano ili inficirano multiplorezistentnim *A. baumannii*¹⁷. Kao posljedica dugotrajnog preživljavanja u bolničkoj sredini i otpornosti na dezinficijense, pojavu epidemije uzrokovane ovim mikroorganizmom teško je nadzirati. Kroz literaturu također su prisutni i navodi da kad jednom uđe u bolničku sredinu, ovaj mikroorganizam ostaje trajno prisutan¹⁸.

REZISTENCIJA KLINIČKIH ISOLATA *A. BAUMANNII* U HRVATSKOJ I NOVI ANTIMIKROBNI LIJEKOVI

Istraživanje na području rezistencije ovog mikroorganizma kao važnog bolničkog patogena započelo je u Hrvatskoj 2002. godine na izolatima iz KBC-a Split, gdje je molekularno istražena osnova smanjene osjetljivosti na karbapeneme^{19,20}. Prvi podaci o osjetljivosti na karbapeneme kliničkih izolata *A. baumannii* s početka 21. stoljeća prate razliku u osjetljivosti unutar karbapenemske skupine antibiotika (imipenem i meropenem) kao antibiotika rezervne liste u bolničkoj sredini. Podaci Odbora za praćenje osjetljivosti bakterija na antibiotike u Hrvatskoj potvrđuju veći postotak rezistencije na meropenem u odnosu na imipenem u cijeloj Hrvatskoj²¹. Genotipizacija prvih kliničkih izolata sa smanjenom osjetljivosti na jedan ili oba karbapenema dokazala je prisutnost europskog klon 1 (kasnije nazvan Internacionalni) u razdoblju od 2002. do 2007. godine na izolatima iz KBC-a Split, kao i prisutnost intrinzične oksacilinaze (OXA-107) udružene s insercijskom

sekvencom (IsAba 1) kao osnovom smanjene osjetljivosti na karbapeneme¹⁹. Isti mehanizam rezistencije na karbapeneme opisan je nekoliko godina kasnije na izolatima iz sjeverne Hrvatske kao rezultat multicentrične studije¹⁰. Početkom 2009. godine došlo je do epidemijskog širenja novog klona koji pripada IC2, kao posljedica premještanja pacijenata koloniziranog ovim klonom iz OB Mostar (Bosna i Hercegovina) u KBC Split⁹. Karakteristike *A. baumannii* koji pripada novom klonu lako je otkriti u rutinskom testiranju osjetljivosti jer ovaj izolat pokazuje rezistenciju na oba karbapenemska antibiotika s visokim vrijednostima minimalnih inhibitornih koncentracija (MIK > 32 mg/L) na imipenem i meropenem. Uz rezistenciju na karbapeneme, u pravilu je prisutna i korezistencija na aminoglikozide (gentamicin, netilmicin, dijelom i na amikacin) i kinolone (ciprofloksacin, norfloksacin i levofloksacin), te ga možemo označiti kao multiplorezistentan patogen⁹. Molekularno istraživanje većeg broja izolata iz prve polovice 2009. godine prikupljenih u KBC-u Split potvrdilo je da se radi o novom mehanizmu rezistencije gdje je osim intrinzične oksacilinaze (gen OXA-90 unutar OXA-51/66 skupine) prisutna i stečena oksacilinaza OXA-72 (unutar OXA-40 skupine). Ovaj novi klon koji pripada IC2 s potvrđenim epidemiološkim prijenosom iz susjedne Bosne i Hercegovina u prvim publiciranim navodima označen i kao "Mostarski klon", danas je dominantno prisutan u većini zdravstvenih ustanova u Hrvatskoj^{9,22,23}. Prisutnost kliničkih izolata koji pripadaju ovom klonu zabilježena je i unutar starijih ustanova u sjevernoj Hrvatskoj²⁴. U epidemiološkom smislu ovaj novi klon potpuno je potisnuo izolate koji su pripadali IC1 iz 2002. godine, tako da su danas takvi izolati sporadično prisutni u bolničkom okruženju.

Multiplorezistentni izolati koji pripadaju IC2 predstavljaju sve veći izazov za kliničare u liječenju teških infekcija, budući da ostaju osjetljivi na vrlo malo antimikrobnih lijekova, u pravilu kolistin i ampicilin/sulbaktam. Noviji publicirani radovi navode dobar antimikrobni učinak eravaciklina (eravacycline TP-434) kao novog florociklina sa širim spektrom djelovanja na multiplorezistentne gram-negativne bakterije, uključujući i *A. baumannii*, kao i nove generacije aminoglikozida (plazomicin) koji je u trećoj fazi kliničkog istraživanja

pokazao učinkovitost na karbapenem rezistentne bakterije, uključujući i *A. baumannii*².

ZAKLJUČAK

U zaključku je potrebno još jednom naglasiti da se epidemiologija i molekularna osnova rezistencije kliničkih izolata *A. baumannii* u Hrvatskoj tijekom desetogodišnjeg razdoblja promijenila u većini zdravstvenih ustanova, uz visoki postotak rezistencije na karbapeneme, kinolone i aminoglikozide⁵. Mjere kontrole bolničkih infekcija moraju osigurati obaveznu izolaciju koloniziranih pacijenata, edukaciju bolničkog osoblja s naglaskom na higijenu ruku, dekontaminaciju površina preparatima na bazi vodikovog peroksida, klorida ili alkohola²⁵. Dobri rezultati mogu se postići primjenom vodikova peroksida (engl. VHP-*vaporized hydrogen peroxide*) u kombinaciji s ostalim mjerama kontrole bolničkih infekcija. Redovito uzimanje nadzornih kultura obrisa vestibula nosa, pazuha i rektuma na prisutnost multiplorezistentnog *A. baumannii* u jedinicama intenzivnog liječenja pravovremeno može otkriti kolonizaciju kože i probavnog sustava hospitaliziranih pacijenata. U svakodnevnom radu naglasak mora biti na prevenciji infekcija, epidemiološkom nadzoru, naročito u jedinicama intenzivnog liječenja i racionalnoj politici primjene antimikrobnih lijekova.

Izjava o sukobu interesa: autorica izjavljuje da ne postoji sukob interesa.

LITERATURA

1. Towner KJ. *Acinetobacter*: an old friend, but a new enemy. *J Hosp Infect* 2009;73:355-63.
2. Cerceo E, Deitzelzweig SB, Sherman BM, Amin AN. Multidrug-resistant gram-negative bacterial infections in the hospital setting: overview, implications for clinical practise, and emerging treatment options. *Microb Drug Resist* 2016;22:412-31.
3. Antunes LC, Visca P, Towner KJ. *Acinetobacter baumannii*: evolution of a global pathogen. *Pathog Dis* 2014;71:292-301.
4. Guidelines for the prevention and control of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae, *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* in health care facilities. Geneva: World Health Organization; 2017. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
5. Croatian Academy of Medical Sciences, Public Health Collegium, Committee for Antibiotic Resistance Surveillance in Croatia [Internet]. Antibiotic resistance in Croatia 2016 [cited 2018 May 30]. Available from: <http://www.hdkm.hr>.
6. European Centre for Disease Prevention and Control. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in healthcare settings – 8 December 2016. Stockholm: ECDC; 2016.
7. Kaliterna V, Kaliterna M, Hrenović J, Barišić Z, Tonkić M, Goić Barišić I. *Acinetobacter baumannii* in Southern Croatia: clonal lineages, biofilm formation, and resistance patterns. *Infect Dis* 2015;47:902-7.
8. Kaliterna V, Goić-Barišić I. The ability of biofilm formation in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* belonging to two different European clones causing outbreaks in the Split University Hospital. *J Chemother* 2013;25:60-2.
9. Goić Barišić I, Towner KJ, Kovačić A, Šiško Kraljević K, Tonkić M, Novak A et al. Outbreak in Croatia caused by a new carbapenem-resistant clone of *Acinetobacter baumannii* producing OXA-72 carbapenemase. *J Hosp Infect* 2011;77:368-9.
10. Vranić-Ladavac M, Bedenić B, Minandri F, Ištok M, Bošnjak Z, Frančula-Zaninović S et al. Carbapenem resistance and acquired class D beta-lactamases in *Acinetobacter baumannii* from Croatia 2009-2010. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2014;33:471-8.
11. Ivanković T, Goić-Barišić I, Hrenović J. Reduced susceptibility to disinfectants of *Acinetobacter baumannii* biofilms on glass and ceramic. *Arh Hig Rada Toksikol* 2017;68:99-108.
12. Towner KJ. Global epidemiology of *Acinetobacter*. *Clin Microbiol Infect* 2007;13:S47-242.
13. Christensen EA, Gerner-Smidt P, Kristensen H. Radiation resistance of clinical *Acinetobacter* spp: a need for concern? *J Hosp Infect* 1991;18:85-92.
14. Dekić S, Hrenović J. Preživljavanje bakterije *Acinetobacter baumannii* u različitim tipovima vode. *Hrvatske vode* 2018;103:35-8.
15. Kovačić A, Šeruga-Musić M, Dekić S, Tonkić M, Novak A, Rubić Z et al. Transmission and survival of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* outside hospital setting. *Int Microbiol* 2017;20:165-9.
16. Rello J. *Acinetobacter baumannii* infections in the ICU. *Chest* 1999;115:1226-9.
17. Wybo I, Blommaert L, De Beer T, Soetens O, De Regt J, Lacor P et al. Outbreak of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in a Belgian university hospital after transfer of patients from Greece. *J Hosp Infect* 2007;67:374-80.
18. Roca I, Espinal P, Vila-Farrés X, Vila J. The *Acinetobacter baumannii* oxymoron: commensal hospital dweller turned Pan-drug-resistant menace. *Front Microbiol* 2012;3:148.
19. Goić-Barišić I, Bedenić B, Tonkić M, Katić S, Kalenić S, Punda-Polić V. First report of molecular characterization of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in different intensive care units in University Hospital Split, Croatia. *J Chemother* 2007;19:462-4.
20. Goić-Barišić I, Bedenić B, Tonkić M, Novak A, Katić S, Kalenić S et al. Occurrence of OXA-107 and ISAbal1 in carbapenem-resistant isolates of *Acinetobacter baumannii* from Croatia. *J Clin Microbiol* 2009;47:3348-9.
21. Croatian Academy of Medical Sciences, Public Health Collegium, Committee for Antibiotic Resistance Surveillance in Croatia [Internet]. Antibiotic resistance in Croatia 2007 [cited 2018 May 30]. Available from: <http://www.hdkm.hr>.

22. Franolić-Kukina I, Bedenić B, Budimir A, Herljević Z, Vraneš J, Higgins PG. Clonal spread of carbapenem-resistant OXA-72-positive *Acinetobacter baumannii* in a Croatian university hospital. *Int J Infect Dis* 2011;15:706-9.
23. Goić-Barišić I, Kaliterna V. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*-the pathogen with no borders? *Med Glas (Zenica)* 2011;8:312-3.
24. Bedenić B, Beader N, Godić-Torkar K, Vranić-Ladavac M, Luxner J, Veir Z et al. Nursing home as a reservoir of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Microb Drug Resist* 2015;21:270-8.
25. Chmielarczyk A, Higgins PG, Wojkowska-Mach J, Synowiec E, Zander E, Romaniszyn D et al. Control of an outbreak of *Acinetobacter baumannii* infections using vaporized hydrogen peroxide. *J Hosp Infect* 2012;81:239-45.