

Utjecaj COVID pandemije na učestalost kliničkih izolata *Acinetobacter baumannii* u KBC-u Split

Grulović, Mia

Master's thesis / Diplomski rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, School of Medicine / Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:171:648163>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-04**



Repository / Repozitorij:

[MEFST Repository](#)



SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

I

MEDICINSKI FAKULTET

Mia Grulović

UTJECAJ COVID PANDEMIJE NA UČESTALOST KLINIČKIH IZOLATA
***ACINETOBACTER BAUMANNII* U KBC SPLIT**

Diplomski rad

Akadska godina:

2021./2022.

Mentor:

prof. dr. sc. Ivana Goić Barišić

Split, listopad 2022.

SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

I

MEDICINSKI FAKULTET

Mia Grulović

UTJECAJ COVID PANDEMIJE NA UČESTALOST KLINIČKIH IZOLATA
***ACINETOBACTER BAUMANNII* U KBC SPLIT**

Diplomski rad

Akademska godina:

2021./2022.

Mentor:

prof. dr. sc. Ivana Goić Barišić

Split, listopad 2022.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Kemijsko-tehnološki fakultet i Medicinski fakultet
Integrirani preddiplomski i diplomski studij Farmacija
Sveučilište u Splitu, Republika Hrvatska

Znanstveno područje: Biomedicinske znanosti

Znanstveno polje: Farmacija

Tema rada: prihvaćena je na 74. sjednici Vijeća studija Farmacija te potvrđena na 21. sjednici fakultetskog vijeća Kemijsko tehnološkog fakulteta i 14. sjednici fakultetskog vijeća Medicinskog fakulteta

Mentor: prof. prim. dr. sc. Ivana Goić Barišić, dr. med.

UTJECAJ COVID PANDEMIJE NA UČESTALOST KLINIČKIH IZOLATA *ACINETOBACTER BAUMANNII* U KBC SPLIT

Mia Grulović, broj indeksa: 227

Sažetak

Cilj istraživanja: Odrediti učestalost kliničkih izolata *Acinetobacter baumannii* u tromjesečnom razdoblju praćenja prije i tijekom COVID-19 pandemije u Republici Hrvatskoj te usporediti broj i osjetljivost kliničkih izolata *A. baumannii* u KBC Split.

Materijali i metode: U retrospektivnom, presječnom istraživanju pregledana je dostupna klinička literatura, a podaci koji se odnose na razdoblje 2017.-2021. godine prikupljeni su iz službenih publikacija Odbora za praćenje rezistencije bakterija na antibiotike u Republici Hrvatskoj te iz arhive Kliničkog zavoda za mikrobiologiju i parazitologiju KBC-a Split. Podaci su obrađeni korištenjem programskoga paketa Microsoft Office 365.

Rezultati: U razdoblju od 2017. do 2021. godine, u Republici Hrvatskoj uočen je porast uzoraka *A. baumannii*, s najvećim brojem kliničkih izolata u 2020. (N=2060) i 2021. godini (N=2620), dok je najmanji broj uzoraka prikupljen 2017. godine (N=1563). U skladu s tim, u KBC-u Split zabilježen je značajan porast broja dobivenih uzoraka, s maksimalnim rezultatom u 2020. godini (N=295), dok se potom 2021. godine prati pad broja izolata sa zabilježenom minimalnom vrijednošću (N=133). Kad je riječ o osjetljivosti na antibiotike, najveća rezistencija *A. baumannii* u KBC Split zabilježena je na imipenem, meropenem i ciprofloksacin, nakon čega slijede i gentamicin te amikacin, dok je najveći broj kliničkih izolata pokazao osjetljivost na kolistin (oko 99%) te na fiksnu kombinaciju ampicilina i sulbaktama. Zbog povećane rezistencije na antibiotike, novi se sojevi *A. baumannii* karakteriziraju kao MDR.

Zaključak: Rezultati ovog istraživanja pokazuju povećanje broja kliničkih izolata *A. baumannii* za vrijeme COVID pandemije, što je u skladu s hipotezom diplomskog rada. Smanjenjem broja oboljelih smanjuje se rizik potrebe za hospitalizacijom, poglavito najtežih bolesnika u Jedinice intenzivnog liječenja, te se usporedno smanjuje i broj infekcija uzrokovanih MDR *A. baumannii*. Buduća bi istraživanja trebala utvrditi rizik od smrtnog ishoda u slučaju dvostruke infekcije, odnosno bakterijske koinfekcije u COVID-19 pacijenata, te se svim bolesnicima, osobito starijima i s komorbiditetima, preporučuje cijepljenje kako bi se osigurala prikladna imunološka zaštita.

Ključne riječi: *A. baumannii*, COVID, klinički izolati, infekcija, pandemija

Rad sadrži: 53 stranice, 10 slika, 6 tablica, 58 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

1. doc. prim. dr. sc. Anita Novak, dr. med., predsjednik povjerenstva
2. doc. dr. sc. Diana Gujinović, mag. pharm., član
3. prof. prim. dr. sc. Ivana Goić Barišić, dr. med., mentor

Datum obrane: 26. listopada 2022.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Medicinskog fakulteta Split, Šoltanska 2.

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

**Faculty of Chemistry and Technology and School of Medicine
Integrated Undergraduate and Graduate Study of Pharmacy
University of Split, Croatia**

Scientific area: Biomedical sciences
Scientific field: Pharmacy
Thesis subject: was approved by Council Undergraduate and Graduate Study of Pharmacy, no. 74 as well as by Faculty Council of Faculty of Chemistry and Technology, session no. 21 and Faculty Council of School of Medicine, session no. 14
Mentor: Ivana Goić Barišić, MD, PhD, Prof.

THE IMPACT OF THE COVID PANDEMIC ON THE FREQUENCY OF CLINICAL ISOLATES OF *ACINETOBACTER BAUMANNII* AT THE UNIVERSITY HOSPITAL OF SPLIT

Mia Grulović, index number: 227

Summary

Objective: To determine the frequency of clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* in the three-month monitoring period before and during the COVID-19 pandemic in the Republic of Croatia, and to compare the number and sensitivity of clinical isolates of *A. baumannii* at the University Hospital of Split.

Materials and methods: In a retrospective, cross-sectional study, available clinical literature was reviewed, and data related to the period 2017-2021 were collected from the official publications of the Committee for Monitoring Bacterial Resistance to Antibiotics in the Republic of Croatia and from the archives of the Clinical Institute for Microbiology and Parasitology of the University Hospital of Split. The data were processed using the Microsoft Office 365 software package.

Results: In the period from 2017 to 2021, an increase in *A. baumannii* samples was observed in the Republic of Croatia, with the highest number of clinical isolates in 2020 (N=2060) and 2021 (N=2620), while the lowest number of samples was collected in 2017 (N=1563). Accordingly, a significant increase in the number of samples obtained was recorded at the University Hospital of Split, with the maximum result in 2020 (N=295), while a decrease in the number of isolates with a recorded minimum value (N=133) was observed in 2021. . When it comes to sensitivity to antibiotics, the highest resistance of *A. baumannii* at the University Hospital of Split was recorded to imipenem, meropenem and ciprofloxacin, followed by gentamicin and amikacin, while the largest number of clinical isolates showed sensitivity to colistin (around 99%) and to a fixed combination of ampicillin and sulbactam. Due to increased resistance to antibiotics, new strains of *A. baumannii* are characterized as MDR.

Conclusion: The results of this research show an increase in the number of clinical isolates of *A. baumannii* during the COVID pandemic, which is in line with the thesis hypothesis. By reducing the number of patients, the risk of the need for hospitalization is reduced, especially for the most serious patients in Intensive Care Units, and the number of infections caused by MDR *A. baumannii* is also reduced. Future research should determine the risk of death in case of double infection, i.e. bacterial co-infection in COVID-19 patients, and vaccination is recommended for all patients, especially the elderly and those with comorbidities, in order to ensure adequate immune protection.

Key words: *A. baumannii*, COVID, clinical isolates, infection, pandemic

Thesis contains: 53 pages, 10 figures, 6 tables, 58 references

Original in: Croatian

Defense committee:

1. Anita Novak, MD, PhD, A/Prof., chair person
2. Diana Gujinović, PhD, A/Prof., member
3. Ivana Goić Barišić, MD, PhD, Prof., supervisor

Defense date: October 26th, 2022

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of School of Medicine, Šoltanska 2.

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1. Mikrobiološke karakteristike <i>Acinetobacter baumannii</i>	2
1.1.1. Kultivacija.....	2
1.1.2. Faktori virulencije.....	3
1.2. Dijagnostika i epidemiologija <i>Acinetobacter baumannii</i>	4
1.3. Klinička slika infekcije koju uzrokuje <i>Acinetobacter baumannii</i>	5
1.4. Antimikrobna terapija u liječenju infekcija koje uzrokuje <i>A. baumannii</i>	6
1.5. Opća obilježja koronavirusa	8
1.5.1. Umnožavanje koronavirusa	9
1.5.2. Laboratorijska dijagnostika koronavirusa.....	10
1.6. Razvoj, liječenje i prevencija bolesti COVID-19	11
1.6.1. Epidemiologija bolesti COVID-19	11
1.6.2. Klinička slika bolesti COVID-19	12
1.6.3. Liječenje bolesti COVID-19.....	14
1.6.4. Prevencija bolesti COVID-19.....	15
1.7. COVID-19 i <i>Acinetobacter baumannii</i>	16
2. CILJ ISTRAŽIVANJA	17
3. MATERIJALI I METODE.....	19
3.1. Ustroj istraživanja.....	20
3.2. Protokol istraživanja	20
3.3. Obrada podataka	20
4. REZULTATI	21
4.1. Odbor za praćenje rezistencije bakterija na antibiotike u RH	22
4.2. Dijagnostika <i>Acinetobacter baumannii</i> u Republici Hrvatskoj.....	23
4.3. Dijagnostika <i>Acinetobacter baumannii</i> u KBC Split.....	24
4.4. Osjetljivost <i>A. baumannii</i> na antimikrobnu terapiju u KBC Split.....	25
5. RASPRAVA	30
6. ZAKLJUČAK.....	34
7. LITERATURA	36
8. SAŽETAK	42
9. SUMMARY.....	44
10. ŽIVOTOPIS.....	46

ZAHVALA

Zahvaljujem svojoj mentorici, prof. dr. sc. Ivani Goić Barišić, na savjetima i uputstvima tijekom pisanja ovog diplomskog rada.

Hvala svim mojim prijateljima i kolegama koji su me bodrili i podržavali tijekom fakultetskog obrazovanja.

Najveća zahvala upućena je mojoj obitelji, najviše mojim roditeljima, koji su učinili sve kako bi mi pružili potporu, razumijevanje i snagu na ovom putovanju.

1. UVOD

1.1. Mikrobiološke karakteristike *Acinetobacter baumannii*

Acinetobacter baumannii (*A. baumannii*) je gram-negativan, aerobni, nepokretni kokobacil. Potječe iz porodice *Moraxellaceae* te pripada ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *A. baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Enterobacter spp.*) skupini od šest bolničkih patogena koji su, u pravilu, obilježeni multirezistencijom i virulentnošću. Ova skupina je odgovorna za većinu hospitalnih infekcija i može izbjeći biocidni učinak antimikrobnih sredstava (1). *A. baumannii* se može identificirati na razini roda kao katalaza-pozitivni, oksidaza-negativni, nefermentativni mikroorganizam koji uglavnom posjeduje kapsulu. U mikroskopskom preparatu izgleda kao kratki, zdepasti bacil do kokobacil koji se teško odbojava prilikom bojenja po Gramu te ponekad može stvarati privid gram-pozitivne bakterije (2).

1.1.1. Kultivacija

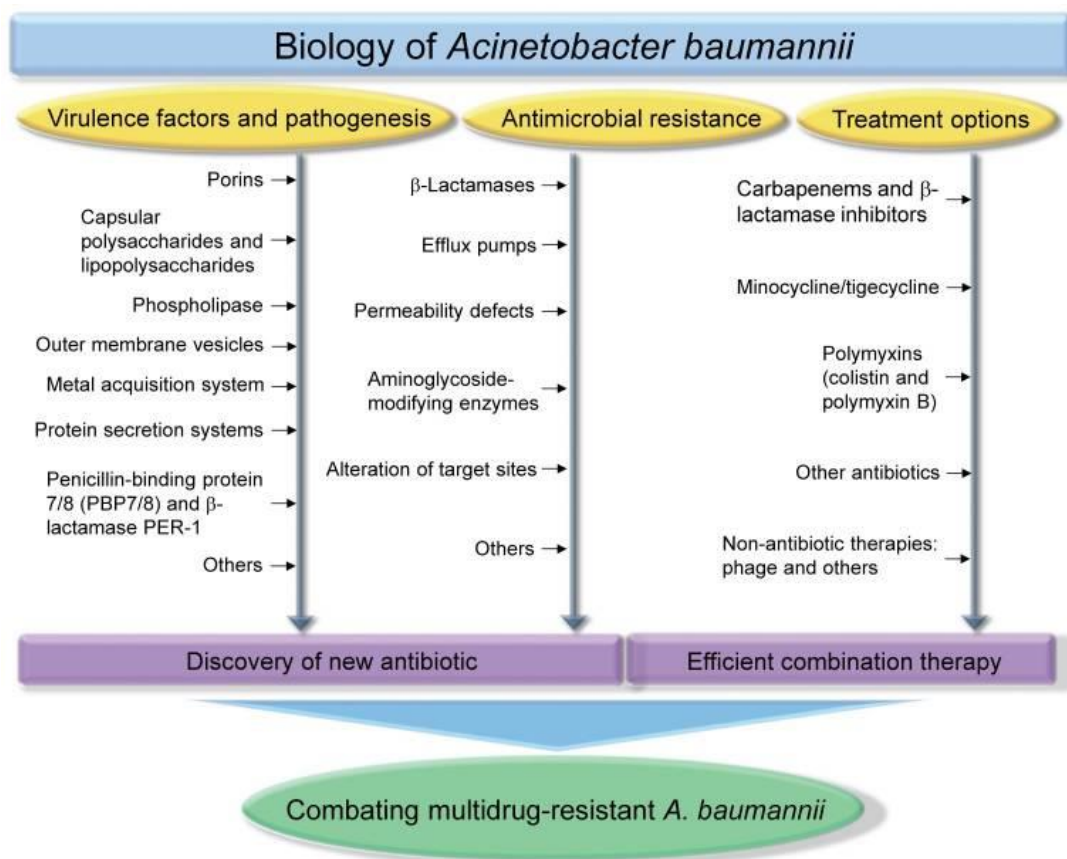
Acinetobacter baumannii lako se uzgaja na uobičajenim hranjivim podlogama poput krvnog agara ili MacConkeyeva agara, pri 37°C, tijekom inkubacije u trajanju 18-24 sata (Slika 1.). Kolonije su prosječno 1,5-3 mm debljine u promjeru, glatke površine, sivobijele boje, ponekad izraženo sluzave, što je karakteristika kapsuliranih sojeva. Kao standard za identifikaciju pojedinih vrsta koristi se DNA-DNA hibridizacija, no to nije rutinska metoda u mikrobiološkim laboratorijima (2). Većina kliničkih mikrobioloških laboratorija danas koristi metodu MALDI-TOF MS identifikacije (engl. *Matrix Assisted LASER Desorption/Ionization Time Of Flight Mass Spectrometry*) koja omogućuje identifikaciju do razine vrste. U svakodnevnom kliničkom radu nužno je razlikovati *A. baumannii* od ostalih acinetobactera zbog njegove virulencije i sposobnosti da izaziva infekcije u hospitaliziranih bolesnika, poglavito u Jedinicama intenzivnog liječenja (JIL) (3).



Slika 1. Petrijeva zdjelica s porastom kulture *Acinetobacter baumannii*, izvor: University of Southampton

1.1.2. Faktori virulencije

Genomskim i fenotipskim analizama identificirano je nekoliko čimbenika virulencije, uključujući porine vanjske membrane, fosfolipaze, proteaze, lipopolisaharide (LPS), kapsularne polisaharide, sustave za lučenje proteina i sustave za keliranje željeza (Slika 2.). Porini kao što su OmpA, Omp33-36, Omp22, CarO i OprD-like zaslužni su za promjenu propusnosti stanične stijenke te imaju ulogu u adherenciji i invaziji, sudjeluju u indukciji apoptoze te stvaranju biofilma. Kapsularni i lipopolisaharidi (LPS) omogućuju rast u serumu i preživljavanje u infekciji tkiva te doprinose izbjegavanju imunološkog odgovora domaćina. Fosfolipaze C i D također pridonose preživljavanju u *in vivo* uvjetima, kao i sustavi za keliranje željeza, acinetobactin (miješani je tip siderofora s oksazolinskim prstenom izvedenim iz treonina) i NfuA (protein koji stvara Fe-S kompleks), koji ubijaju stanice domaćina dovodeći do oksidativnoga stresa. Od sustava za lučenje proteina mogu se izdvojiti tip II, V i VI, pri čemu je tip II odgovoran za *in vivo* preživljavanje, tip V za formaciju biofilma i adherenciju te, konačno, tip VI koji uništava konkurentsku bakteriju i kolonizira stanice domaćina. Od ostalih se faktora mogu izdvojiti penicilin-vezujući protein 7/8 (PBP 7/8) i beta-laktamaza PER-1, čija prisutnost uvelike povećava rezistenciju *A. baumannii* na antibiotike (4).



Slika 2. Biologija *Acinetobacter baumannii*, izvor: PubMed (4)

1.2. Dijagnostika i epidemiologija *Acinetobacter baumannii*

Bakterijski izolati *Acinetobacter baumannii*, ovisno o tipu infekcije, najčešće se izoliraju iz respiratornoga trakta, pleuralne tekućine, urina, krvi te gnojnih infekcija rane (5). Ukoliko je riječ o meningitisu, uzorak se uzima iz cerebrospinalne tekućine, odnosno likvora (6).

Kao ubikvitaran, gram-negativni mikroorganizam, *A. baumannii* može se pronaći unutar različitih okolišnih okruženja, poput vode i tla, te kao komenzal ljudske kože, no ipak se prvenstveno radi o bolničkom patogenu otpornom na utjecaje vanjskoga stresa koji je, u pravilu, multirezistentan (7). Stoga su osnovni čimbenici rizika povezani s nastankom infekcije prolongirana hospitalizacija, boravak u Jedinici intenzivnog liječenja, mehanička potporna ventilacija, nedavni kirurški zahvat, invazivni postupci i teški komorbiditeti (2).

1.3. Klinička slika infekcije koju uzrokuje *Acinetobacter baumannii*

A. baumannii uzrokuje niz bolničkih infekcija na višestrukim anatomskim mjestima. Najčešće se infekcije *A. baumannii* očituju kao pneumonija povezana s mehaničkom potpornom ventilacijom ili infekcija krvotoka, odnosno bakterijemija i/ili sepsa. Rjeđe, *A. baumannii* uzrokuje infekcije kože i mekih tkiva na mjestima kirurških zahvata, kao i infekcije urinarnog trakta povezane s kateterom. Zajedničko svakom od ovih scenarija je probijanje anatomske barijere koja omogućuje ulazak *A. baumannii* izravno na mjesto infekcije. Kada su u pitanju izvanbolnički stečene infekcije, do danas su zabilježene samo kod bolesnika s komorbiditetima, kao što su alkoholizam, dijabetes melitus, karcinomi i drugi opstruktivni plućni poremećaji (8).

Bolnička pneumonija, kao najčešća klinička manifestacija infekcije *A. baumannii*, uglavnom se javlja kod pacijenata na mehaničkoj potpornoj ventilaciji, u Jedinici intenzivnog liječenja. Smatra se da je pneumonija povezana s ventilatorom uzrokovana *A. baumannii* rezultat kolonizacije dišnih putova putem izloženosti okolišu, nakon čega slijedi razvoj upale pluća. Prema dostupnim publiciranim podacima, dokumentirano je da je moguća stopa smrtnosti od pneumonije povezane s mehaničkom potpornom ventilacijom koju uzrokuje *A. baumannii* između 40% i 70% (9).

Kad jednom uđe u krv, *A. baumannii* djeluje na gene uključene u stvaranje biofilma i adheziju te povećava ekspresiju gena povezanih s pokretljivošću poput pilQ, što ukazuje na uključenost planktonskih stanica u diseminaciju (10). Nakon izlaganja ljudskom serumu, dolazi do minimalnog uništavanja *A. baumannii*, što pokazuje smanjenu otpornost seruma (11). Prisustvo kapsule djeluje kao zaštitni mehanizam za preživljavanje unutar domaćina zbog pojačane regulacije gena nakon izlaganja serumu (12). Mnogi izolati *A. baumannii*, posebno oni koji uzrokuju tešku bakterijemiju, otporni su na ubijanje posredovano komplementom, i to pomoću višenamjenskoga proteina Tuf, koji pretvara plazminogen u aktivni plazmin, sposoban proteolitički razgraditi fibrinogen, kao i ključne čimbenike sustava komplementa (13). Nadalje, uočeno je da djelomičnu serumsku rezistenciju daje MltB koji je uključen u remodeliranje peptidoglikana, odnosno stanične stijenke, a čija je inaktivacija značajno smanjila kolonizaciju krvotoka (14). Preživljavanje unutar krvotoka za *A. baumannii* više se oslanja na mehanizme borbe za opstanak i održavanje gustoće bakterija u krvi, nego na tradicionalne čimbenike virulencije, što je specifično za ovaj soj (10).

Infekcije mekog tkiva, kao što su celulitis i nekrotizirajući fascitis, uzrokovane *A. baumannii* pojavile su se kao značajan problem kod vojnika koji su sudjelovali i bili

ozlijeđeni tijekom ratnih operacija u Iraku i Afganistanu. Liječenje takvih infekcija dodatno je zakomplicirano velikim brojem multirezistentnih izolata *A. baumannii* koji su se zatim proširili po američkim bolnicama (9).

Neurokirurški pacijenti imaju visok rizik od razvoja nozokomijalnog meningitisa, s potencijalno smrtonosnim posljedicama, a tijekom posljednja tri desetljeća, *Acinetobacter baumannii* se pojavio kao infektivni uzročnik posebne važnosti u bolnicama diljem svijeta, zbog svoje sposobnosti akumulacije različitih mehanizama rezistencije (15).

Osteomijelitis uzrokovan *A. baumannii* javlja se pretežno kod vojnog osoblja koje pretrpi traumu povezanu s ratom i postao je značajan problem u američkim vojnim operacijama u Iraku i Afganistanu dok je rijetko zabilježena pojava endokarditisa povezana s umjetnim zaliscima (9).

Zbog sve većeg broja izolata koji posjeduju otpornost na više skupina antimikrobnih lijekova, nameće se hitna potreba za novim preventivnim i terapijskim mogućnostima te nadzorom hospitaliziranih bolesnika koji imaju rizik kolonizacije, odnosno infekcije ovim bolničkim patogenom (16).

1.4. Antimikrobna terapija u liječenju infekcija koje uzrokuje *A. baumannii*

Tijekom posljednjih godina, *A. baumannii* pokazao je otpornost na više lijekova (*engl. multi drug resistance*, MDR), dijelom zbog velike zlouporabe antibiotika i lošeg upravljanja nadzorom nad bolničkim infekcijama, a dijelom i zbog brzog stjecanja raznih mehanizama otpornosti. MDR izolati povezani su s medicinskom poviješću dugog boravka u bolnici, prisutnosti katetera i mehaničke potporne ventilacije, dok imunokompromitirani i teško bolesni domaćini stvaraju predispoziciju za invazivne infekcije (17).

Mehanizmi rezistencije na antibiotike mogu se kategorizirati u tri skupine. Prvo, otpornost se može postići smanjenjem propusnosti membrane ili povećanjem efluksa antibiotika i na taj način sprječavanjem pristupa ciljnom mjestu djelovanja. Drugo, bakterije mogu zaštititi cilj antibiotika putem genetske mutacije ili post-translacijske modifikacije, i zadnje, antibiotici se mogu izravno inaktivirati hidrolizom ili modifikacijom pomoću enzima koji djeluju na antimikrobni lijek (17).

U istraživanju provedenom prije nekoliko godina u Republici Hrvatskoj, testirane su otpadne vode grada Zagreba iz kojih je detektiran 21 uzorak *A. baumannii* te su svi izolati pokazali rezistenciju na karbapeneme, dok su bili osjetljivi na trimetoprim-sulfametoksazol i kolistin. Budući da su istovremeno bili otporni na najmanje pet od devet testiranih antibiotika

(amikacin, ciprofloksacin, gentamicin, imipenem, levofloksacin, meropenem, tobramicin), okarakterizirani su kao MDR (18).

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* kontinuirano raste od 2009. godine te je u u 2020. godini iznosila > 90% (19).

Danas polimiksinski antibiotici polimiksin E (kolistin) i polimiksin B predstavljaju zadnje sredstvo u obrani od ozbiljnih gram-negativnih infekcija, u koje spada i MDR *A. baumannii*. Nažalost, sve veća uporaba polimiksina za liječenje ozbiljnih infekcija uzrokovanih ovim patogenima dovodi do širenja rezistencije na ovu skupinu lijekova, gdje je, u jednoj od posljednjih studija, viđena zadržana otpornost na dva od dvanaest izoliranih sojeva ove bakterije na kolistin, bez obzira na gensku modifikaciju. Također, prvi je put zabilježeno da je otpornost na kolistin genetski karakterizirana prijenosom putem plazmida, a ne umjetno stečena *in vitro* selekcijom, te je potrebno i taj mehanizam otpornosti na kolistin istražiti kod *A. baumannii* (20).

Općenito, produkcija beta-laktamaza najčešći je mehanizam rezistencije na beta-laktamske antibiotike, dok unutar skupine karbapenema dodatno dolazi do gubitka proteina vanjske membrane, čime se smanjuje propusnost stijenke za antibiotike. Kod izolata *A. baumannii* rezistencija na karbapeneme je najčešće posljedica prisustva stečenih oksacilinaza (skupina D po Ambler klasifikaciji) ili povećane ekspresije urođenih oksacilinaza (intrinzična OXA-51 skupina). Među stečenim oksacilinzama najčešće su prisutne OXA-23 i OXA-24/40 skupina, te vrsta OXA-72 prisutna od 2009. godine u Kliničkom bolničkom centru Split (KBC Split) (21, 22).

Rezistenciju na aminoglikozide izazivaju enzimi koji ih inaktiviraju pa jedna od prvih linija u liječenju ostaju karbapenemi (imipenem, meropenem), sulbaktam s ampicilinom (iako ampicilin pokazuje intrinzičnu rezistenciju) te, u liječenju multirezistentnih sojeva, kolistin i tigeciklin. Potrebno je uskladiti terapijski pristup s podacima testiranja osjetljivosti na antibiotike, što uključuje i kombinacije antibiotika koji pokazuju sinergistički učinak (2).

Posebna se pozornost usmjerava na prevenciju bolničkih infekcija mjerama kontrole koje uključuju obaveznu izolaciju koloniziranih pacijenata, edukaciju bolničkog osoblja o pravilnoj higijeni ruku te dekontaminaciju površina dezinficijensima na bazi vodikova peroksida, klorida ili alkohola, kao i redovito uzimanje nadzornih kultura u JIL-u, gdje je

poseban naglasak na epidemiološkom nadzoru i racionalnoj politici primjene antimikrobnih lijekova (23).

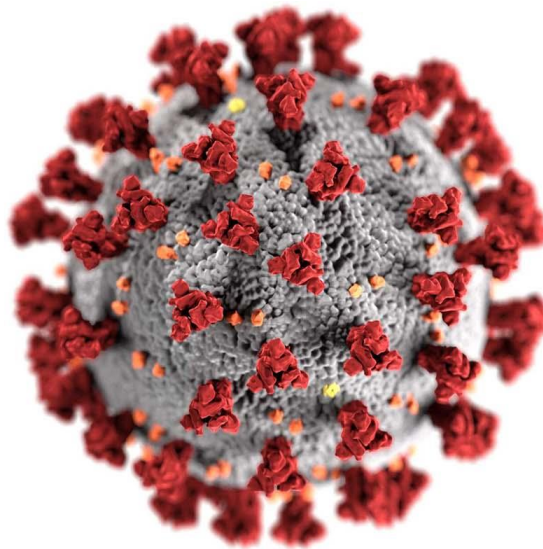
1.5. Opća obilježja koronavirusa

Koronavirusi pripadaju skupini RNK virusa iz reda *Nidovirales*, obitelji *Coronaviridae* i potporodice *Orthocoronavirinae*. Sferičnog oblika, promjera oko 125 nm, obavijeni su izdancima ili šiljcima u obliku palice na površini ostavljajući dojam sunčeve korone (Slika 3.) (24). Koronavirus (CoV) ima jednolančani, nesegmentirani RNK genom pozitivnog polariteta, smješten unutar spiralno simetrične nukleokapside, a njegov virion sadrži 4 glavna strukturna proteina: protein nukleokapside (N), transmembranski (M) protein, protein ovojnice (E) i protein šiljka (S). Protein N primarno služi za vezanje na genom koronavirusa, igra ulogu u replikaciji virusne RNK i staničnom odgovoru domaćina na virusnu infekciju, a njegova lokalizacija u endoplazmatskom retikulumu ima ulogu u sklapanju i pupanju. S glikoprotein olakšava vezanje virusa na osjetljive stanice, uzrokuje spajanje stanica i inducira neutralizirajuća protutijela. U sastavljanju virusa M protein koronavirusa igra središnju ulogu jer pretvara stanične membrane u tvornice u kojima se virus i čimbenici domaćina spajaju kako bi stvorili nove virusne čestice. Konačno, 3 su potencijalne uloge E proteina: interakcija između citoplazmatskih repova proteina M i E, što sugerira da E sudjeluje u sklapanju virusa, njegova hidrofobna transmembranska domena neophodna je za otpuštanje viriona te ima ulogu u patogenezi virusne infekcije (25).

Od četiri roda koronavirusa (α , β , γ , δ), sedam vrsta ljudskih koronavirusa (HCoV) klasificirano je pod α -CoV (HCoV-229E i NL63) i β -CoV (MERS-CoV, SARS-CoV, HCoVOC43 i HCoV-HKU1), od kojih su SARS-CoV, MERS-CoV i SARS-CoV-2 patogeni oblici dok ostali uzrokuju najčešće blage infekcije. Prijenos s čovjeka na čovjeka primarno se ostvaruje bliskim kontaktom putem respiratornih kapljica, izravnim kontaktom sa zaraženim osobama ili kontaktom sa zaraženim predmetima i površinama (24).

Krajem 2019. i početkom 2020. zabilježeno je više slučajeva zaraze novim koronavirusom kod ljudi povezanih s veleprodajnom tržnicom morskih plodova Huanan u Wuhanu, Kina. Dana 7. siječnja 2020., virus je identificiran kao novi koronavirus, a Svjetska zdravstvena organizacija (SZO) službeno ga je nazvala 2019-nCoV, novi koronavirus u 2019. Posljednjih godina novi se koronavirusi povremeno pojavljuju u različitim područjima diljem svijeta, baš kao koronavirus teškog akutnog respiratornog sindroma (SARS-CoV), koji se

pojavio 2002. godine, zarazio 8422 osobe i prouzročio 916 smrtnih slučajeva diljem svijeta tijekom epidemije. Koronavirus Bliskoistočnog respiratornog sindroma (MERS-CoV) prvi je put identificiran 2012. godine, prouzrokovao ukupno 1401 infekciju, od kojih je 543 (~39%) umrlo. Svi slučajevi zaraze i nedavne epidemije pokazuju da koronavirusi predstavljaju stalnu prijetnju ljudima i gospodarstvu jer se pojavljuju neočekivano, lako se šire i dovode do katastrofalnih posljedica (26).



Slika 3. Građa koronavirusa, izvor: Svjetska zdravstvena organizacija (SZO)

1.5.1. Umnožavanje koronavirusa

Ciklus umnožavanja koronavirusa odvija se u citoplazmi stanice, pri čemu se virion veže za receptore ciljne stanice putem glikoproteinskih izdanaka. Funkcionalni receptori razlikuju se ovisno o vrstama koronavirusa pa je tako vezujuća domena za SARS viruse angiotenzin-konvertirajući enzim 2 (ACE2). Ulazak virusa u stanicu i uklanjanje ovojnice posredovano je fuzijom S-glikoproteina na ovojnici virusa i stanične ili endosomalne membrane. Gen virusnog RNA genoma prepisuje se u poliprotein koji, nakon obrade, stvara transkriptaza-replikaza kompleks. Genomska RNA služi kao predložak za sintezu minus RNA lanca koji je zatim osnova za sintezu genoma pune dužine te subgenomskih RNA. Translacija pojedine mRNA u odgovarajući protein počinje isključivo od 5'-kraja mRNA, uključujući nestrukturane proteine. N-protein i novosintetizirana genomska RNA stvaraju nukleokapsidu u obliku heliksa koja se veže za M-protein u odjeljku za pupanje. Interakcija E i M-proteina

pokreće proces pupanja viriona, ovijajući nukleokapsidu. S i HE-glikoproteini su glikolizirani i trimerizirani, povezani s M-proteinom te ugrađeni u virusne čestice koje sazrijevaju. Virioni se oslobađaju fuzijom mjehurića sa staničnom membranom procesom koji nalikuje egzocitozi ili mogu ostati adsorbirani na membrani zaražene stanice. Određeni koronavirusi češće uzrokuju perzistentnu infekciju, nego smrt stanice, te pokazuju visoki stupanj mutacija tijekom svakog ciklusa umnožavanja, što doprinosi nastanku novih sojeva virusa (27).

1.5.2. Laboratorijska dijagnostika koronavirusa

Budući da su u prvim danima pojave bolesti pacijenti s COVID-19 pokazali visoko virusno opterećenje u gornjim i donjim dišnim putevima, nazofaringealni (NP) i/ili orofaringealni (OP) bris često se preporučuje za probir ili dijagnozu rane infekcije. NP bris se preferira jer ga pacijent bolje podnosi i sigurniji je za zdravstvenog djelatnika, iako bi primjerice, za pacijenta s faringitisom kao primarnim simptomom, bio primjereniji OP bris. Kako bi se pravilno dobio uzorak, NP bris se mora umetnuti duboko u nosnu šupljinu. Pacijent će se vjerojatno trgnuti, ali to znači da je bris pogodio metu. Briseve treba držati na mjestu deset sekundi dok ih se tri puta vrti. Trebali bi imati netoksična sintetička vlakna, poput poliestera, kao i ručke od sintetičkog najlona, no treba biti oprezan zbog rizika od prijenosa zaraze i nositi osobnu zaštitnu opremu. Nakon prikupljanja, briseve treba staviti u univerzalni transportni medij za brzi transport u klinički mikrobiološki laboratorij, idealno u rashlađenim uvjetima. Potrebno je isključiti mogućnost infekcije drugim virusnim patogenima, te, u slučaju sumnje na lažno negativan rezultat, ponoviti test. U slučaju kasnog otkrivanja i praćenja pacijenata s teškom pneumonijom, potrebno je uzorkovanje sputuma ili bronhoalveolarna lavaža (28).

NAAT (engl. *Nucleic Acid Amplification Test*) je tehnologija izbora za postavljanje dijagnoze aktivne infekcije COVID-19. Korištenje testa lančane reakcije polimeraze u stvarnom vremenu, odnosno RT-PCR za otkrivanje SARS-CoV-2 RNK iz gornjih dišnih puteva je preferirani početni dijagnostički test, koji detektira proteina šiljka (S), svojstven novom koronavirusu. Bilo koji od sljedećih uzoraka pacijenata - sline, dišnog sustava, stolice, urina, seruma ili plazme - prikladan je za korištenje za izolaciju virusne RNK ovom metodom. Razvijene su i druge NAAT tehnike, kao što je Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) i testovi grupiranih pravilno razmaknutih kratkih palindromskih ponavljanja (CRISPR-based). Testovi za otkrivanje antigena otkrivaju prisutnost SARS-CoV-2 virusnih

proteina na respiratornim uzorcima. Većina komercijalno dostupnih kompleta zahtijeva uzorke iz nosne šupljine ili nazofarinksa dok se novije alternative baziraju na uzorcima sline. Ovi setovi za testiranje obično uključuju sve potrebne materijale i jednostavni su za izvođenje te se mogu koristiti kao laboratorijski testovi ili testovi na mjestu liječenja (engl. *Point-of-care testing*, POCT). Nazivaju se i brzim dijagnostičkim testovima jer mogu dati rezultate za 15-30 minuta. Ograničenje predstavlja smanjena osjetljivost u odnosu na PCR, no prednost je u pojednostavljenoj izvedbi pa ih Svjetska zdravstvena organizacija (SZO) preporučuje u slučajevima kad je PCR nedostupan, te unutar prvih 5-7 dana od pojave simptoma. Testovi za otkrivanje antitijela obično ciljaju dva antigena SARS-CoV-2, protein nukleokapside (N) ili protein šiljka (S). Kao metoda detekcije, za laboratorijske testove obično se koriste enzimski imunotestovi (ELISA) i kemiluminiscencijski imunotestovi (CLIA). Od protutijela, testovi koji koriste IgG antitijela ili ukupni imunoglobulin imaju veću točnost nego testovi koji otkrivaju IgM antitijela, IgA antitijela ili IgM/IgG testovi. Serološki testovi ograničeni su u akutnoj fazi bolesti te veću točnost pokazuju tri do četiri tjedna nakon pojave simptoma (29).

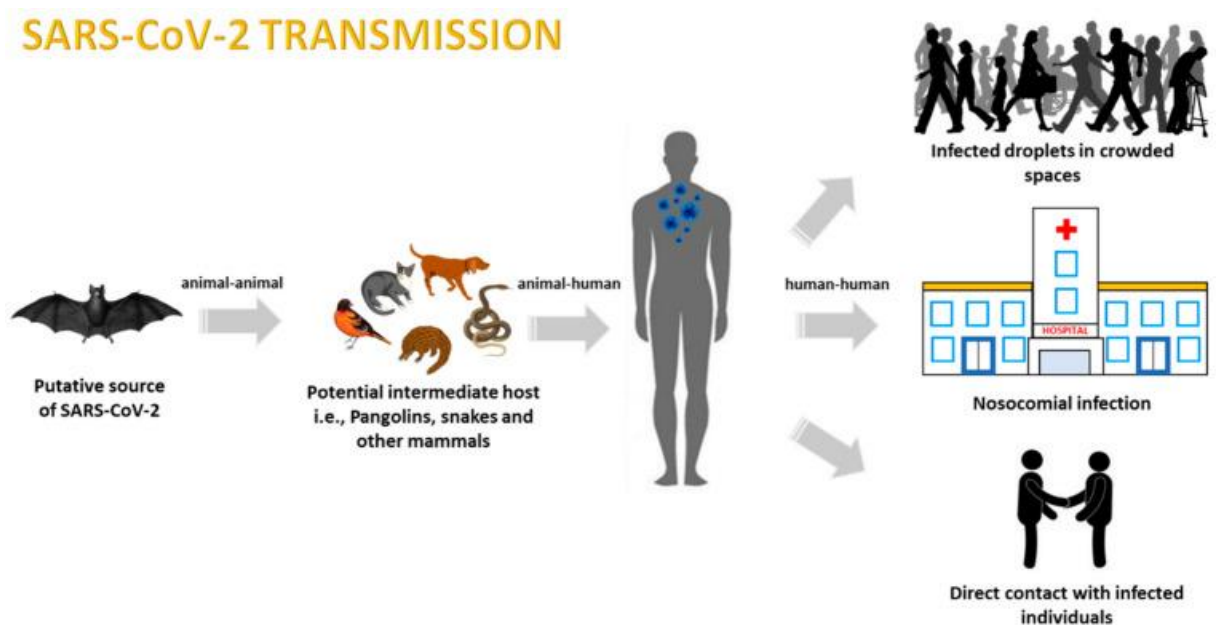
1.6. Razvoj, liječenje i prevencija bolesti COVID-19

Nova ljudska koronavirusna bolest COVID-19 postala je peta dokumentirana pandemija od pandemije gripe 1918. godine. COVID-19 je prvi put prijavljen u Wuhanu u Kini, a potom se proširio svijetom. Međunarodni odbor za taksonomiju na temelju filogenetske analize službeno je novi oblik koronavirusa nazvao teškim akutnim respiratornim sindromom koronavirus 2 (engl. *Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2*, SARS-CoV-2), za koji se vjeruje da je posljedica prelijevanja životinjskog koronavirusa s prilagodbom prijenosa s čovjeka na čovjeka (30).

1.6.1. Epidemiologija bolesti COVID-19

Iako se smatra da novi zoonotski koronavirus nazvan SARS-CoV-2 vjerojatno potječe od šišmiša, vrlo brzo je postala značajna visoka stopa njegova prijenosa s čovjeka na čovjeka, što je uzrokovalo široki spektar kliničkih manifestacija kod pacijenata zaraženih virusom. Više studija ukazalo je na mogućnost prijenosa u zajednici i unutar obitelji, što je navedeno kao glavni razlog širenja SARS-CoV-2. Prijenos s čovjeka na čovjeka uglavnom se odvija u neposrednoj blizini zaražene osobe (<1 m) koja pokazuje respiratorne simptome kao što su kašalj ili kihanje, ali i kontaktnim putem. Udisanjem respiratornih kapljica ili aerosola kroz

usta ili nos, zdrava osoba se inficira. Zaražena osoba potencijalno može prenijeti virus kroz zaražene kapljice svoje sluznice (usta i nos) ili konjunktive (oči). Osim toga, slično kao i drugi koronavirusi, SARS-CoV-2 također je potencijalno odgovoran za izbijanje bolničkih infekcija putem kontaminacije okoliša. Nedavne studije sugeriraju da je kontaminacija okoliša pacijenata pozitivnih na SARS-CoV-2 putem respiratornih kapljica i fekalija potencijalna prijetnja za prijenos bolesti, što je potaknulo državne i zdravstvene djelatnike da uvedu mjere bez presedana, kao što su ograničenja putovanja, uvođenje policijskoga sata te izolacija i karantena zaraženih pojedinaca (31).



Slika 4. Načini prijenosa SARS-CoV-2, izvor: PubMed (42)

1.6.2. Klinička slika bolesti COVID-19

Najčešće prijavljene tegobe su povišena tjelesna temperatura, kašalj, dispneja, umor i oslabljen apetit, a rjeđe gastrointestinalni simptomi poput proljeva i mučnine. Starija dobna skupina (>65 god.) ima veći rizik od razvoja teške infekcije SARS-CoV-2 zbog povećanog udjela prisutnih komorbiditeta, no ta mogućnost postoji i kod mlađih odraslih osoba dok su djeca manje sklona simptomatskoj i kompliciranoj infekciji (31). Dokazano je da je manja vjerojatnost da će populacija s KOPB-om i pušačima biti zaražena SARS-CoV-2 dok ishod same infekcije kod pušača može biti teži (33). Također, jedna je američka studija pokazala

kako se pretilost može smatrati neovisnim čimbenikom rizika za hospitalizaciju i teške bolesti (34).

Nadalje, postoje izvješća o promjenama i gubitku okusa i mirisa dokumentiranim tijekom ranijeg tijeka bolesti (34). Osim toga, kožne manifestacije kao što su eritematozni osip i urtikarija te plikovi slični vodenim kozicama prijavljeni su u zaraženih pacijenata (36). Budući da COVID-19 uzrokuje oštećenje miokarda, pacijenti s već prisutnom kardiovaskularnom bolešću izloženi su lošoj prognozi zbog moguće srčane insuficijencije pa je potrebno posebnu pozornost posvetiti zaštiti kardiovaskularnoga sustava tijekom liječenja infekcije (37). Prijavljene neurološki simptomi podijeljeni su u tri kategorije: manifestacije središnjeg živčanog sustava (SŽS) (vrtoglavica, glavobolja, poremećaj svijesti, akutna cerebrovaskularna bolest, ataksija i napadaji), manifestacije perifernog živčanog sustava (PNS) (poremećaj okusa, poremećaj njuha, poremećaj vida i bol u živcima) te ozljede skeletnih mišića. Od posebne je važnosti saznanje da bi brzo kliničko pogoršanje moglo biti povezano s moždanim udarom, što bi doprinijelo visokoj stopi smrtnosti (38). Kod gotovo trećine pacijenata na intenzivnoj njezi zabilježeni su tromboembolijski događaji, od kojih je najčešća plućna embolija, koja bi nerijetko dovela do fatalnog ishoda, kao i vaskulitis (39). Od ostalih klinički značajnih manifestacija povezanih s bolešću COVID-19 prijavljeno je oštećenje jetre, uslijed čega je hepatotoksičnost često bila povezana s lijekovima te imunološki posredovana citokinskom olujom, kao i multisistemski upalni sindrom u djece i /ili odraslih (MIS-C/A). Od rijetkih, ali ipak prisutnih oftalmoloških tegoba, istakli su se bol u oku, crvenilo i konjunktivitis (32).

Danas, jedan od zabrinjavajućih problema je tzv. dugotrajni COVID ili post-COVID-19 sindrom koji je zabilježen čak i kod mlađih odraslih osoba, djece i onih koji nisu hospitalizirani. Najčešći prijavljeni simptomi su umor i dispneja koji traju mjesecima nakon akutnog COVID-19. Ostali trajni simptomi mogu uključivati kognitivna i mentalna oštećenja, bolove u prsima, zglobovima i mišićima, lupanje srca, poremećaje mirisa i okusa, kašalj, glavobolju te gastrointestinalne (uglavnom proljev, mučninu, refluks) i srčane probleme. Dugi COVID može biti potaknut dugotrajnim oštećenjem tkiva (npr. pluća, mozga i srca) i patološkom upalom (npr. zbog perzistencije virusa, imunološke disregulacije i autoimunosti). Povezani čimbenici rizika mogu uključivati ženski spol, više od pet ranih simptoma, ranu dispneju, prethodne psihijatrijske poremećaje i specifične biomarkere (npr. D-dimer, CRP i broj limfocita), iako su potrebna dodatna istraživanja da bi se potvrdili takvi čimbenici rizika (40). Zanimljivo je da su mnogi pacijenti iskusili i dermatološke simptome, tzv. COVID

nocte, bilo da se radilo o periungualnom eritematoznom edemu nalik na pernio i mikrovaskularnim komplikacijama kao težim oblicima, ili je bila riječ o pojavi tzv. Beauovih linija praćenih leukonihijom, kao i onihomadeze (41).

Pod pretpostavkom da najmanje 10% preživjelih od COVID-19 razvije dugi COVID, što je vjerojatno podcijenjeno, smatra se da se 5 milijuna ljudi globalno suočava s dugim COVID-om. Međutim, bez obzira na brojna istraživanja provedena u protekle dvije godine, mnogo toga još uvijek ostaje nejasno u vezi s ovom bolešću (40).

1.6.3. Liječenje bolesti COVID-19

Budući da ne postoji precizno definirana antivirusna terapija, blaže kliničke slike liječe se ambulantno u karanteni, slično običnoj gripi, antipireticima, nesteroidnim protuupalnim lijekovima, mirovanjem i rehidracijom. U vidu farmakoterapije, najčešći režimi uključuju remdesivir i rekonvalescentnu plazmu kao primarni izbor, te kombinacije klorokina, hidroksiklorokina i azitromicina, kao i lopinavir-ritonavir, koji su pokazali slabiju terapijsku učinkovitost. Svi su podvrgnuti promatranju, studijama i/ili kliničkim ispitivanjima.

Remdesivir je predlijeak nukleotidnog analoga koji se metabolizira u analog adenozin trifosfata i inhibira virusne RNA polimeraze. Dokazano je da je uspješno smanjio količinu virusa kod pacijenata s uznapredovalom kliničkom slikom i skratio vrijeme oporavka. Liječenje rekonvalescentnom plazmom pomoću antitijela osoba koje su preživjele COVID-19 primijenjeno je u nekoliko studija u kojima su sudjelovali pacijenti različite životne dobi, s prisutnim komorbiditetima, a kod kojih je zabilježen terapijski uspjeh, bez značajnih nuspojava. Monoklonska protutijela IL-6, kao što je tocilizumab, uvedena su u liječenje sindroma otpuštanja citokina povezanog s COVID-19 te su pokazala uspjeh u samo nekih pacijenata (42).

Baricitinib, protuupalni lijek inicijalno razvijen za reumatoidni artritis, također je identificiran kao potencijalno terapijsko sredstvo na kojem se provode klinička ispitivanja, baš kao i favipiravir (FPV), koji je pokazao dobre preliminarne kliničke rezultate. Visoke doze intravenoznog imunoglobulina (IVIg) prepoznate su kao terapijska opcija za pacijente s teškim COVID-19 budući da su pokazali kliničko poboljšanje ubrzo nakon primjene IVIg, no ta se terapija ne smatra samostalnim liječenjem i općenito se primjenjuje zajedno s drugim lijekovima radi boljeg oporavka bolesnika te smanjenja broja dana provedenih na mehaničkoj potpornoj ventilaciji (43).

Ovisno o stanju pacijenta, neki ne-antivirusni lijekovi, kao što su metformin, glitazoni, fibrati, statini, sartani i dodaci hranjivim tvarima, mogu pomoći u smanjenju imunopatologije uzrokovane infekcijom i poboljšati stanje pacijenata jačanjem njihovog imunološkog sustava i sprječavanjem ili ograničavanjem učinaka sindroma akutnog respiratornog distresa (engl. *Acute respiratory distress syndrome*, ARDS). U upotrebi su i antibiotici, kako oralni, tako i intravenski, oseltamivir, a kod teške upale pluća i sistemski kortikosteroidi, primjerice metilprednizolon. Preporučuje se i tromboprofilaksa među hospitaliziranim, nepokretnim pacijentima na intenzivnoj njezi, i to u vidu niskomolekularnoga heparina (43).

U slučaju težeg tijeka, nekontrolirane vrućice, teške dispneje ili drugih visokorizičnih pridruženih čimbenika, pacijenta je potrebno hospitalizirati, uz odgovarajuću farmakoterapiju, dok potporne mjere u jedinicama intenzivne njege uključuju mehaničku ventilaciju te izvantjelesnu membransku oksigenaciju (ECMO) (42).

1.6.4. Prevencija bolesti COVID-19

Cjepiva protiv bolesti COVID-19 dokazano učinkovito i na neškodljiv način sprečavaju bolest COVID-19, naročito njezine teške oblike, potrebu bolničkog liječenja i smrtni ishod. Cjepiva također smanjuju učestalost razvoja post-COVID sindroma koji se može razviti i nakon blažeg do umjereno teškog oblika bolesti COVID-19 (44).

U Europskoj uniji, pa tako i u Republici Hrvatskoj, trenutačno su odobrena sljedeća cjepiva protiv bolesti COVID-19: cjepivo Comirnaty (Pfizer/BioNTech) i Spikevax (Moderna) kao mRNA vrste, cjepivo Vaxzevria (AstraZeneca) i cjepivo Jcovden (Janssen) koja sadrže adenoviruse, cjepivo Nuvaxovid koje sadrži umjetno proizveden protein šiljka, i cjepivo protiv COVID-19 (inaktivirano, adjuvantirano) Valneva (45).

Zbog stalnih mutacija virusa i detekcije novih sojeva, cjepiva ostaju najbolja zaštita, a nedavno je odobreno i novo, adaptirano cjepivo protiv omikron varijante (uz dosad zabilježene alfa, beta gama i delta) virusa SARS-CoV-2, kojim je već započelo docjepljivanje u Republici Hrvatskoj (46).

Od ostalih preventivnih mjera, SZO ističe nošenje maske za lice, držanje razmaka od drugih ljudi, provjetravanje prostorija te izbjegavanje boravka u gužvi i zatvorenom prostoru, često pranje i dezinfekciju ruku i površina, kao i izbjegavanje dodirivanja površina na javnim

mjestima, pokrivanje usta maramicom u slučaju kihanja i kašljanja te pravilno odlaganje otpada (47).

1.7. COVID-19 i *Acinetobacter baumannii*

Pandemija COVID-19 izazvala je prekomjernu upotrebu antimikrobnih sredstava kod kritično bolesnih pacijenata. *Acinetobacter baumannii* često uzrokuje bolničke infekcije, osobito u Jedinicama intenzivnog liječenja (JIL), gdje je incidencija s vremenom porasla. Otkako je SZO 2020. godine proglasila pandemiju COVID-19, bolest se brzo proširila, a mnogi pacijenti zaraženi SARS-CoV-2 morali su biti primljeni u JIL, gdje je zaraza sekundarnom infekcijom pogoršala prognozu bolesti (48).

U retrospektivnom istraživanju provedenom u Kliničkoj bolnici Dubrava, od 1. listopada 2020. do 1. ožujka 2021. godine, cilj je bio procijeniti stopu incidencije bolničkih infekcija krvotoka koje uzrokuje *Acinetobacter baumannii* među oboljelima od COVID-19 u JIL-u, te usporediti rezultate s istim razdobljem godinu dana ranije, prije pojave pandemije. Incidencija bolničkih infekcija krvotoka bila je značajno viša u razdoblju COVID-19 nego u non-COVID-19 periodu (49).

Jedna je američka studija pokazala da su pojedine bolnice doživjele veliku epidemiju *Acinetobacter baumannii* otpornog na karbapeneme (CRAB), uključujući prvenstveno pacijente na intenzivnoj njezi, koja se proširila na više jedinica tijekom naglog porasta slučajeva COVID-19. Takve okolnosti zahtijevaju od bolnica da poduzmu mjere bez presedana, koje uključuju pojačane higijenske mjere, korištenje osobne zaštitne opreme i održavanje okoliša, kako bi se održao kontinuitet skrbi za pacijente i zaštitilo zdravstveno osoblje (50).

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Ciljevi istraživanja su:

1. Odrediti učestalost kliničkih izolata *Acinetobacter baumannii* u istom tromjesečnom vremenskom razdoblju prije i tijekom prisutne COVID-19 pandemije.
2. Usporediti broj i osjetljivost kliničkih izolata *Acinetobacter baumannii* u tromjesečnom razdoblju praćenja prema podacima Odbora za praćenje rezistencije bakterija na antibiotike pri Akademiji medicinskih znanosti Hrvatske (AMZH).

Hipoteza diplomskog rada: očekuje se da će broj kliničkih izolata *Acinetobacter baumannii* u KBC Split biti u porastu tijekom pandemijskih godina.

3. MATERIJALI I METODE

3.1. Ustroj istraživanja

Rad se zasniva na retrospektivnom, presječnom istraživanju. Podaci se odnose na uzorke prikupljene tijekom dviju pandemijskih te triju prethodnih godina, odnosno 2017.-2021., u cilju određivanja učestalosti kliničkih izolata *Acinetobacter baumannii*.

3.2. Protokol istraživanja

Prikazani podaci prikupljeni su sa stranice Akademije medicinskih znanosti Hrvatske i Hrvatskog društva za kliničku mikrobiologiju (HDKM), iz službenih publikacija Odbora za praćenje rezistencije bakterija na antibiotike u Republici Hrvatskoj te iz arhive Kliničkog zavoda za mikrobiologiju i parazitologiju KBC-a Split. Podaci su pratili kretanje kliničkih izolata *Acinetobacter baumannii* u Republici Hrvatskoj, kao i u KBC-u Split, te je uspoređena osjetljivost kliničkih izolata MDR *A. baumannii* na antibiotike po godinama praćenja. Rezultati istraživanja prikazani su u obliku tablica i grafikona te je provedena njihova statistička analiza i obrazloženo tumačenje rezultata.

3.3. Obrada podataka

Prikupljeni podaci su obrađeni u programskom paketu Microsoft Office 365, što uključuje programe Microsoft Word za tekstualne i brojčane podatke, i Microsoft Excel za tablične i slikovne prikaze.

4. REZULTATI

4.1. Odbor za praćenje rezistencije bakterija na antibiotike u RH

Rezistencija bakterija na antibiotike je jedan od najvećih problema današnje medicine te je praćenje stopa rezistencije neizostavni dio nacionalnih akcijskih planova i strategija za očuvanjem djelotvornosti antibiotika. Na razini Europe, standardizirano praćenje rezistencije je započelo 1999. g. kroz European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS) projekt, koji je 2009. g. prerastao u kontinuirani program EARS-Net Europskog centra za prevenciju i kontrolu bolesti (engl. *European Center for Disease Control*, ECDC). Hrvatska se uključila u taj projekt od samog početka zahvaljujući već uhodanoj mreži mikrobioloških laboratorija okupljenoj u okviru Odbora za praćenje rezistencije bakterija na antibiotike u RH, koji je osnovan 1996. g. pri Kolegiju za javno zdravstvo Akademije medicinskih znanosti Hrvatske (AMZH). Odbor za praćenje rezistencije bakterija na antibiotike redovito od 1997. g. objavljuje godišnje podatke o kretanju rezistencije u Hrvatskoj.

Od samog početka rada Odbora velika pažnja se polaže na metodologiju testiranja osjetljivosti na antibiotike. Kroz redovite proljetne i jesenske sastanke, tečajeve te redovitu vanjsku kontrolu testiranja osjetljivosti osigurava se visoki stupanj laboratorijske standardiziranosti, što je preduvjet za dobru pouzdanost rezultata. 2003. g. osnovan je i Referentni centar (RC) Ministarstva zdravlja (MZ) za praćenje rezistencije bakterija na antibiotike pri Klinici za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“, koji blisko surađuje s Odborom i pruža laboratorijsku podršku za redovito provođenje vanjske kontrole testiranja osjetljivosti na antibiotike te ponovno testiranje izolata rijetkog i neuobičajenog fenotipa. Na rad Odbora su uvelike utjecale međunarodne inicijative te je tako od 2002. g. započet rad na prikupljanju podataka o potrošnji antibiotika kroz sudjelovanje u European Surveillance of Antimicrobial Consumption (ESAC) projektu. Sljedeće je godine u okviru Odbora osnovana hrvatska podružnica internacionalne organizacije, The Alliance for the Prudent Use of Antibiotics (APUA), a od 2011. g., sukladno europskim preporukama, u okviru Odbora djeluje Povjerenstvo za metodologiju određivanja osjetljivosti na antibiotike.

Odbor i RC za praćenje rezistencije su i glavni nositelji organizacije prigodnih simpozija povodom Europskog dana svjesnosti o antibioticima te nacionalnog Simpozija o rezistenciji bakterija na antibiotike, koji se održava svake tri godine. Od 2006. g. sve aktivnosti iz područja kontrole širenja rezistencije u Hrvatskoj koordinira Interdisciplinarna sekcija za kontrolu rezistencije na antibiotike (ISKRA) Ministarstva zdravlja, što je praćenju rezistencije u Hrvatskoj dalo novu kvalitetu i bolju mogućnost da se podaci iz svakodnevne uporabe vrata u liječničku praksu i utječu na racionalnije propisivanje antibiotika (51).

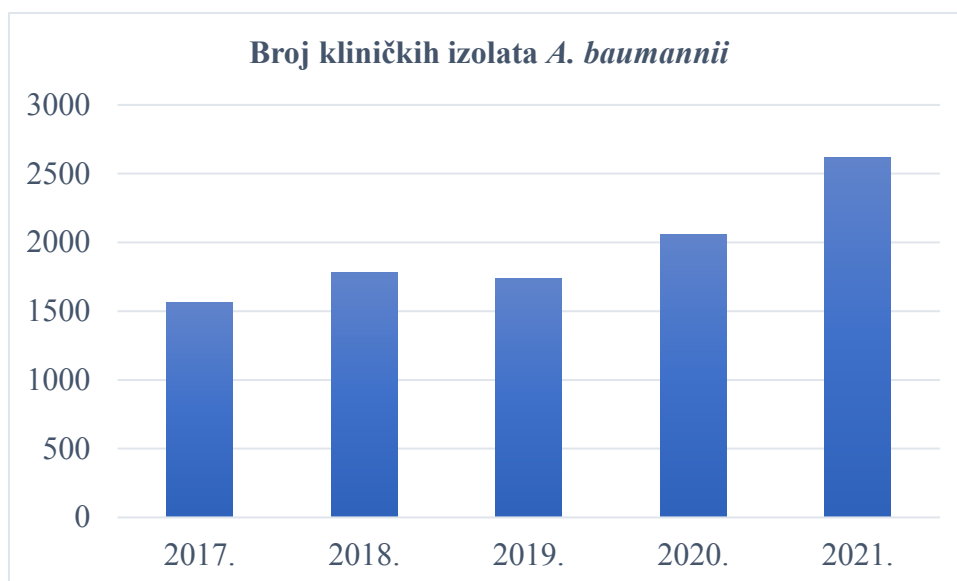
Podaci o rezistenciji i potrošnji antibiotika iz redovitih publikacija Odbora i Referentnog centra za praćenje rezistencije prezentiraju se na mnogim stručnim i znanstvenim skupovima, kao što je CROCMID, zajednički kongres hrvatskih mikrobiologa i infektologa, budući da navedene organizacije već gotovo trideset godina pružaju relevantne brojčane podatke koji su standardizirani i kontinuirano praćeni, svake godine u isto vrijeme (52). Stoga su podaci prikupljeni preko AMZH precizni, pouzdani i usporedivi, te su kao takvi korišteni i u izradi ovog diplomskog rada.

4.2. Dijagnostika *Acinetobacter baumannii* u Republici Hrvatskoj

U razdoblju od 2017. do 2021. godine u Republici Hrvatskoj ukupno je prikupljeno 9766 kliničkih izolata *Acinetobacter baumannii*. U Tablici 1., kao i na Slici 5., može se uočiti vidljivi porast uzoraka *A. baumannii* tijekom pandemijskih godina, s blagim padom u 2019. godini. Najveći broj kliničkih izolata bio je prisutan 2021. godine (N=2620), što podržava pretpostavku da je COVID pandemija imala utjecaja na povećanje broja kliničkih izolata *A. baumannii*, dok je najmanji broj uzoraka prikupljen 2017. godine (N=1563).

Tablica 1. Broj kliničkih izolata *A. baumannii* u RH po godinama

Godina	Broj kliničkih izolata <i>A. baumannii</i>
2017.	1563
2018.	1783
2019.	1740
2020.	2060
2021.	2620



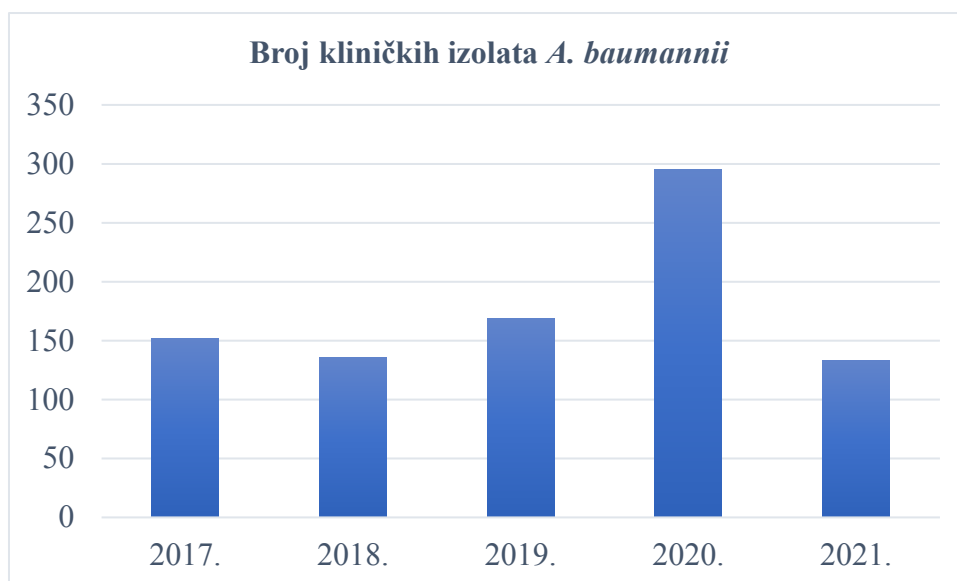
Slika 5. Grafički prikaz porasta broja kliničkih izolata *A. baumannii* u RH po godinama

4.3. Dijagnostika *Acinetobacter baumannii* u KBC Split

U petogodišnjem razdoblju praćenja kliničkih izolata *A. baumannii* u KBC Split, među 885 kliničkih izolata, zabilježen je značajan porast broja dobivenih uzoraka, s maksimalnim rezultatom u 2020. godini kao prvoj pandemijskoj (N=295), dok se potom 2021. godine prati pad broja izolata, te ujedno i najmanja od navedenih vrijednosti (N=133), što se može objasniti smanjenjem hospitalizacije pacijenata oboljelih od COVID-19 bolesti tijekom 2021. godine, kao i blažim kliničkim slikama i simptomima koje izazivaju novi sojevi virusa. Navedeni su podaci vidljivi u Tablici 2., odnosno na Slici 6.

Tablica 2. Broj kliničkih izolata *A. baumannii* u KBC Split po godinama

Godina	Broj kliničkih izolata <i>A. baumannii</i>
2017.	152
2018.	136
2019.	169
2020.	295
2021.	133



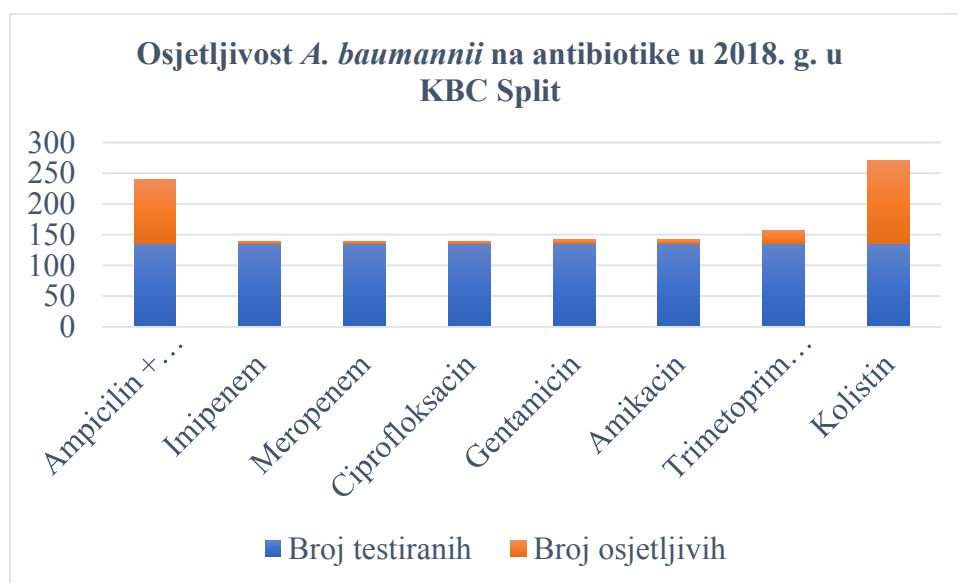
Slika 6. Grafički prikaz kretanja broja kliničkih izolata *A. baumannii* u KBC Split po godinama

4.4. Osjetljivost *A. baumannii* na antimikrobnu terapiju u KBC Split

Kad je riječ o antimikrobnoj terapiji, u godinama prije pandemije, najveća rezistencija *Acinetobacter baumannii* u KBC Split zabilježena je na imipenem, meropenem i ciprofloksacin, nakon čega slijede i gentamicin te amikacin, dok je najveći broj kliničkih izolata pokazao osjetljivost na kolistin (oko 99%) te na fiksnu kombinaciju ampicilina i sulbaktama, što se može vidjeti u priloženim tablicama i grafovima za 2018. (Tablica 3., Slika 7.) i 2019. godinu (Tablica 4., Slika 8.).

Tablica 3. Osjetljivost *A. baumannii* na antibiotike u 2018. g. u KBC Split

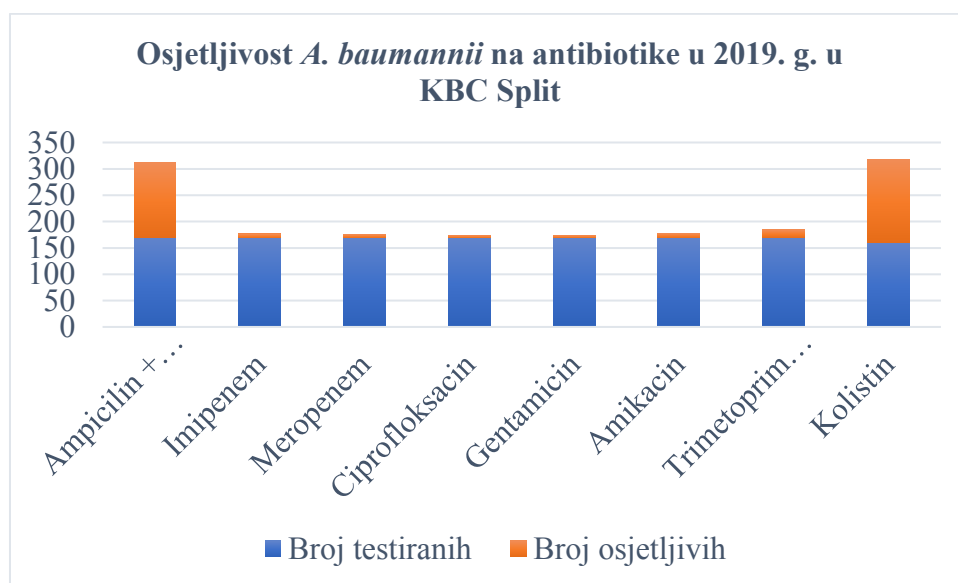
Antibiotik	Broj testiranih	Broj osjetljivih	% osjetljivih
Ampicilin + sulbaktam	136	104	76,5
Imipenem	136	3	2,2
Meropenem	136	3	2,2
Ciprofloksacin	136	3	2,2
Gentamicin	136	6	4,4
Amikacin	136	6	4,4
Trimetoprim + sulfametoksazol	136	21	15,4
Kolistin	136	135	99,3



Slika 7. Grafički prikaz osjetljivosti *A. baumannii* na antibiotike u 2018. g. u KBC Split

Tablica 4. Osjetljivost *A. baumannii* na antibiotike u 2019. g. u KBC Split

Antibiotik	Broj testiranih	Broj osjetljivih	% osjetljivih
Ampicilin + sulbaktam	169	143	84,6
Imipenem	169	8	4,7
Meropenem	169	7	4,1
Ciprofloksacin	169	5	3,0
Gentamicin	169	5	3,0
Amikacin	169	9	5,3
Trimetoprim + sulfametoksazol	169	16	9,5
Kolistin	160	158	98,8

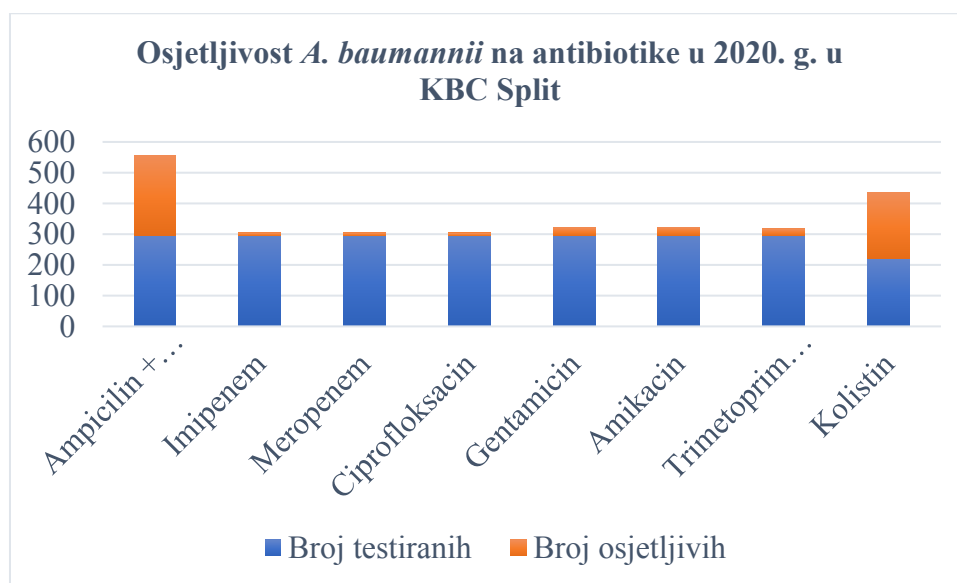


Slika 8. Grafički prikaz osjetljivosti *A. baumannii* na antibiotike u 2019. g. u KBC Split

Nadalje, tijekom pandemijskih godina, osobito u prvom pandemijskom valu 2020. g., primjećuje se veliki porast u broju kliničkih izolata u tromjesečnom razdoblju praćenja (Tablica 5., Slika 9.), što predstavlja statistički značajnu razliku. Kao i prethodnih godina, najveći broj kliničkih izolata u KBC Split bio je rezistentan na karbapeneme, a uglavnom osjetljiv na kolistin i kombinaciju ampicilin/sulbaktam, iako je uočeno da je osjetljivost na kolistin neznatno opala, što se može pripisati prisutnoj COVID pandemiji. Zbog povećane rezistencije na antibiotike, novi se sojevi *A. baumannii* karakteriziraju kao MDR.

Tablica 5. Osjetljivost *A. baumannii* na antibiotike u 2020. g. u KBC Split

Antibiotik	Broj testiranih	Broj osjetljivih	% osjetljivih
Ampicilin + sulbaktam	295	261	88,5
Imipenem	295	10	3,4
Meropenem	295	10	3,4
Ciprofloksacin	295	9	3,1
Gentamicin	295	27	9,2
Amikacin	295	28	9,5
Trimetoprim + sulfametoksazol	295	23	7,8
Kolistin	221	213	96,4

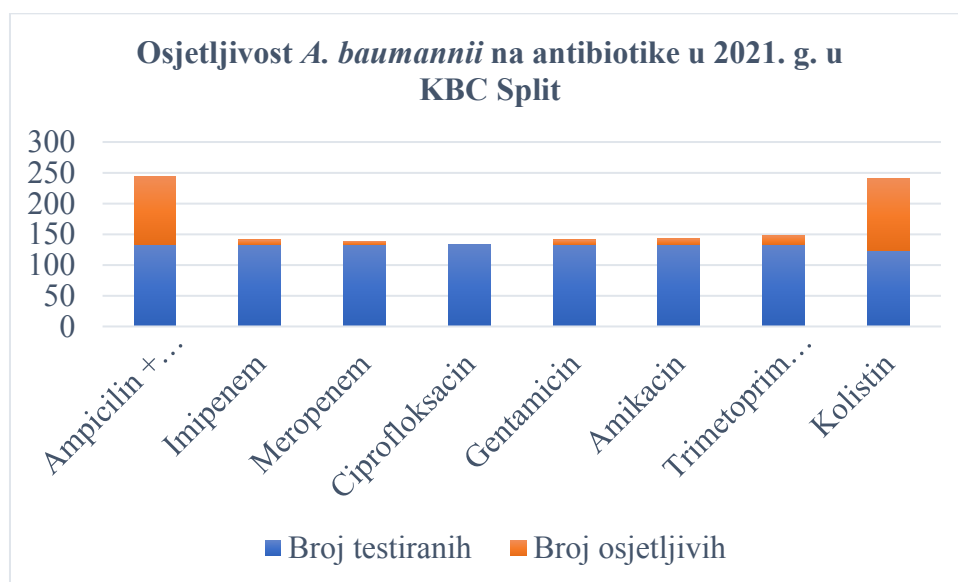


Slika 9. Grafički prikaz osjetljivosti *A. baumannii* na antibiotike u 2020. g. u KBC Split

S pojavom prvoga cjepiva krajem 2020. i početkom 2021. godine, kao i uslijed blažih simptoma novih sojeva koronavirusa u općoj populaciji, došlo je do smanjenja stope hospitalizacije, a samim time i do smanjenja broja kliničkih izolata *Acinetobacter baumannii*. Osjetljivost na antibiotike u 2021. g. u KBC Split ostala je slična onoj iz prethodne godine (Tablica 6. Slika 10.).

Tablica 6. Osjetljivost *A. baumannii* na antibiotike u 2021. g. u KBC Split

Antibiotik	Broj testiranih	Broj osjetljivih	% osjetljivih
Ampicilin + sulbaktam	133	111	83,5
Imipenem	133	8	6,0
Meropenem	133	6	4,5
Ciprofloksacin	133	/	/
Gentamicin	133	8	6,0
Amikacin	133	10	7,5
Trimetoprim + sulfametoksazol	133	15	11,3
Kolistin	123	117	95,1



Slika 10. Grafički prikaz osjetljivosti *A. baumannii* na antibiotike u 2021. g. u KBC Split

5. RASPRAVA

Infekcije uzrokovane MDR *Acinetobacter baumannii* predstavljaju veliki problem kod bolesnika primljenih na Jedinicu intenzivnog liječenja (JIL). Neprikladna terapija i ograničene terapijske mogućnosti odgovorne su za negativan ishod, a ova je infekcija povezana s visokim stopama smrtnosti, osobito u pacijenata na intenzivnoj njezi. Infekcija *A. baumannii* povezuje se sa smrtnim ishodom u trećine do polovice COVID-19 pacijenata (53).

Mehanička ventilacija dio je neophodne potporne njege koja se koristi za pacijente primljene u JIL. Trenutno, sa svjetskom pandemijom koronavirusne bolesti 2019. (COVID-19), mnogi pacijenti imaju teške respiratorne simptome, a upotreba mehaničke potporne ventilacije (MPV) dramatično se povećala. Iako spašava život, MPV može dovesti do pneumonije povezane s visokim stopama smrtnosti, osobito kada su u pitanju bakterije otporne na više lijekova.

Jedna je studija provedena u bolnici u Iranu pokazala da je *A. baumannii* činio 90% koinfekcija kod COVID-19 pozitivnih pacijenata, sa stopama smrtnosti koje su se u prvom pandemijskom valu kretale i do 100%, osobito kada je bila riječ o *A. baumannii* otpornom na karbapeneme (CRAB) u JIL-u (54).

Najbolji tretman za CRAB infekcije je i danas predmet rasprave. Iako se monoterapija polimiksinom naširoko koristi protiv CRAB infekcija, kombinirana terapija je povezana s većim izgledima terapijskog uspjeha, iako su potrebna daljnja istraživanja kako bi se procijenila ta mogućnost.

A. baumannii može dugo preživjeti na površinama, uključujući suhe površine i ljudsku kožu, što bi moglo olakšati njegovu postojanost i širenje u JIL-u. Način prijenosa CRAB-a između opreme (npr. MPV, infuzijskih pumpi i strojeva za hemodijalizu) i pacijenata s COVID-19 može djelomično objasniti početak CRAB epidemije. Nadalje, u nekoliko zemalja zdravstveno osoblje hitno je angažirano kako bi odgovorilo na pandemiju COVID-19, uz odgovarajuću obuku u prevenciji i kontroli infekcije. Uvedene su strože mjere zaštite, čime se povećala učinkovitost probira i nadzora za CRAB. Kultura aktivnog nadzora i učinkovita izvedba multidisciplinarnog tima bili su vrlo važni u otkrivanju i kontroli izbijanja CRAB-a u JIL-u za COVID-19 te su potrebne stalne mjere kontrole infekcije kako bi se zaustavilo širenje CRAB-a u bolničkom okruženju, spriječile epidemije i smanjile stope smrtnosti, posebno u vrijeme pandemije. Uz preopterećene zdravstvene sustave i manjak zdravstvenih radnika obučanih za upravljanje infekcijama, kao i medicinskog potrošnog materijala i opreme, najbolja preventivna mjera ostaje mijenjanje rukavica i pranje ruku (54).

U studiji provedenoj u kolovozu 2021., cilj je bio procijeniti epidemiologiju i uzorke antimikrobne rezistencije (AMR) bakterijskih patogena kod pacijenata s COVID-19 i usporediti rezultate s kontrolnim skupinama iz razdoblja prije i tijekom pandemije.

Od 1447 pacijenata s COVID-19, njih otprilike 3% imalo je bakterijske koinfekcije, dok je oko 4% imalo sekundarne bakterijske infekcije, od kojih je *A. baumannii* bila najzastupljenija bakterija među svim uzorcima respiratornoga trakta (55). Ukupno je umrla gotova jedna trećina COVID-19 pacijenata s pratećim bakterijskim infekcijama. Nedavne studije pokazale su da je ukupna stopa smrtnosti kod pacijenata s COVID-19 4,5%, stoga je razumno sugerirati da su bakterijske infekcije povezane s višim stopama smrtnosti kod pacijenata s COVID-19 (55).

MDR *A. baumannii* je bila najčešća bakterija (9,76%) u uzorcima respiratornog trakta pacijenata s COVID-19 bolesti, a ta je stopa bila značajno viša od one u razdoblju prije pandemije. U drugoj studiji, kada su se slučajevi COVID-19 povećali, zabilježen je povećani broj *A. baumannii* otpornih na karbapeneme (CRAB) (55). Takvi su klinički izolati uglavnom primijećeni među COVID-19 pacijentima koji su primljeni na intenzivnu njegu i koriste mehaničku potpurnu ventilaciju. Svakako je povećanje intervencija potrebnih za pacijente s COVID-19 moglo dovesti do pogoršanja higijenskih uvjeta i povećanja širenja MDR *A. baumannii*.

Konačno, dokazano je da bakterijske koinfekcije kod COVID-19 pacijenata uzrokuju ozbiljnu kliničku sliku s teškim, a nerijetko i fatalnim ishodom. Stoga bi se primjena empirijskih antimikrobnih lijekova širokog spektra pacijentima s COVID-19 trebala pažljivije procijeniti jer pretjerana uporaba antibiotika dovodi do porasta antimikrobne rezistencije. Koinfekcije kod pacijenata s COVID-19 mogu pogoršati ishode bolesti i zahtijevaju daljnje ispitivanje. Bolje razumijevanje prevalencije koinfekcije s drugim respiratornim patogenima u pacijenata s COVID-19 i profila patogena može doprinijeti učinkovitom liječenju bolesnika i upravljanju antibioticima te smanjenju stopa smrtnosti tijekom trenutne COVID pandemije (55).

Prema posljednjim podacima stranice za praćenje stanja COVID-19 pandemije u svijetu, do danas je zabilježeno više od 630 milijuna slučajeva nove koronavirusne bolesti, a trenutni broj prijavljenih smrtnih slučajeva iznosi 6,5 milijuna. U Republici Hrvatskoj, s današnjim danom prijavljeno je 1,2 milijuna slučajeva zaraze koronavirusom, od kojih je više

od 17 tisuća završilo fatalnim ishodom, što državu pozicionira među deset svjetskih zemalja s najvišom stopom smrtnosti od koronavirusa, na milijun stanovnika (56).

Prema najnovijim podacima Svjetske zdravstvene organizacije, do 2. listopada 2022. godine, u Republici Hrvatskoj utrošeno je 5,3 milijuna doza cjepiva, što pokazuje procijepljenost odrasle populacije, koja u ovom trenutku iznosi oko 69% (57).

Sve je više dokaza da je sjeverna hemisfera na putu za porast slučajeva COVID-19 ove jeseni i zime. Novi sojevi omikron varijante SARS-CoV-2 koji izbjegavaju imunološki sustav, promjene u ponašanju i slabljenje imuniteta znače da bi mnoge zemlje uskoro mogle suočiti se s velikim brojem infekcija COVID-19 i potencijalnih hospitalizacija.

Nova cjepiva specifična za omikron nude sličnu zaštitu kao i postojeća docjepljivanja. Kako u mnogim svjetskim, tako i u europskim zemljama, društvena dinamika gotovo se vratila na razinu prije pandemije pa dodatno vrijeme provedeno u zatvorenom prostoru u hladnijim mjesecima potiče bujanje respiratornih virusa.

Znanstvenici su sve sigurniji da će nove varijante omikrona koje se svaki dan otkrivaju diljem svijeta, odnosno barem jedna od njih ili njihova kombinacija, dovesti do novog vala infekcije, i to najvećim dijelom zahvaljujući sposobnosti izbjegavanja imuniteta, ali je ipak teže predvidjeti učinak na stopu hospitalizacije. Također, veliki problem predstavlja i povratak gripe u zimskim mjesecima.

Zaključno sa svim navedenim, izgradnja imuniteta svakoga pojedinca, a samim time i cjelokupne populacije cijepljenjem i dalje je najbolji i najsigurniji izbor u borbi protiv trenutne pandemije. Svi dokazi upućuju na to da su i stara i nova cjepiva protiv COVID-19 i dalje vrlo učinkovita u prevenciji teških bolesti, što znači da je potrebno usredotočiti kampanje docjepljivanja na one koji su izloženi najvećem riziku od teških bolesti, uključujući starije osobe i osobe s pozadinskim zdravstvenim problemima, koji će imati najviše koristi od dodatne zaštite (58).

Smanjenjem broja oboljelih smanjuje se rizik potrebe za hospitalizacijom, poglavito najtežih bolesnika u Jedinice intenzivnog liječenja, te se usporedno smanjuje i broj infekcija uzrokovanih MDR *A. baumannii*.

6. ZAKLJUČAK

Rezultati ovog istraživanja pokazuju povećanje broja kliničkih izolata, odnosno infekcije *Acinetobacter baumannii* za vrijeme trenutne COVID pandemije.

Uočeni se rast može opravdati povećanjem stope hospitalizacije u Jedinicama intenzivnog liječenja (JIL), korištenjem mehaničke potporne ventilacije kao terapijske opcije u liječenju COVID-19 pacijenata, kao i njihovom dugotrajnom hospitalizacijom i teškom kliničkom slikom, koja nerijetko uključuje komorbiditete.

Faktori rizika koji su prisutni za pneumoniju uzrokovanu infekcijom *A. baumannii* najčešće su starija životna dob, prateće bolesti koje dodatno pogoršavaju ionako tešku kliničku sliku, te, u konačnici, korištenje respiratora za održavanje pacijenta na životu u stanjima niske saturacije i nemogućnosti samostalnog disanja.

U skladu s navedenim, buduća bi istraživanja trebala utvrditi rizik od smrtnog ishoda u slučaju dvostruke infekcije, odnosno bakterijske koinfekcije u COVID-19 pacijenata, osobito kada je riječ o multirezistentnim bolničkim patogenima kao što je *A. baumannii*, kako bi se povećala stopa preživljenja bolesnika u JIL-u. Stoga se starijim pacijentima koji su u riziku od razvoja komplikacija bolesti COVID-19, ali i svima onima s već postojećim zdravstvenim problemima, preporučuje cijepljenje i docjepljivanje kako bi se izbjegla potencijalna hospitalizacija te osigurala adekvatna imunološka zaštita od koronavirusa.

7. LITERATURA

1. Ibrahim S, Al-Saryi N, Al-Kadmy IMS, Aziz SN. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* as an emerging concern in hospitals. *Mol Biol Rep.* 2021 Oct;48(10):6987-98.
2. Kalenić S. i sur. *Medicinska mikrobiologija*. Trinaesto izdanje. Zagreb: Medicinska naklada; 2013.
3. Jeong S, Hong JS, Kim JO, Kim KH, Lee W, Bae IK, et al. Identification of *Acinetobacter* Species Using Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry. *Ann Lab Med.* 2016 Jul;36(4):325-34.
4. Lee CR, Lee JH, Park M, Park KS, Bae IK, Kim YB, et al. Biology of *Acinetobacter baumannii*: Pathogenesis, Antibiotic Resistance Mechanisms, and Prospective Treatment Options. *Front Cell Infect Microbiol.* 2017;7:55.
5. Tada T, Uchida H, Hishinuma T, Watanabe S, Tohya M, Kuwahara-Arai K, et al. Molecular epidemiology of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from hospitals in Myanmar. *J Glob Antimicrob Resist.* 2020 09;22:122-5.
6. Ayoub Moubareck C, Hammoudi Halat D. Insights into *Acinetobacter baumannii*: A Review of Microbiological, Virulence, and Resistance Traits in a Threatening Nosocomial Pathogen. *Antibiotics (Basel).* 2020 Mar 12;9(3):E119.
7. Alquethamy SF, Adams FG, Maharjan R, Delgado NN, Zang M, Ganio K, et al. The Molecular Basis of *Acinetobacter baumannii* Cadmium Toxicity and Resistance. *Appl Environ Microbiol.* 2021 10 28;87(22):e0171821.
8. Harding CM, Hennon SW, Feldman MF. Uncovering the mechanisms of *Acinetobacter baumannii* virulence. *Nat Rev Microbiol.* 2018 02;16(2):91-102.
9. McConnell MJ, Actis L, Pachón J. *Acinetobacter baumannii*: human infections, factors contributing to pathogenesis and animal models. *FEMS Microbiol Rev.* 2013 Mar;37(2):130-55.
10. Holmes CL, Anderson MT, Mobley HLT, Bachman MA. Pathogenesis of Gram-Negative Bacteremia. *Clin Microbiol Rev.* 2021 06 16;34(2):e00234-20.
11. Subashchandrabose S, Smith S, DeOrnellas V, Crepin S, Kole M, Zahdeh C, et al. *Acinetobacter baumannii* Genes Required for Bacterial Survival during Bloodstream Infection. *mSphere.* 2016 Jan-Feb;1(1):e00013-15.
12. Quinn B, Rodman N, Jara E, Fernandez JS, Martinez J, Traglia GM, et al. Human serum albumin alters specific genes that can play a role in survival and persistence in *Acinetobacter baumannii*. *Sci Rep.* 2018 10 3;8(1):14741.

13. Koenigs A, Zipfel PF, Kraiczy P. Translation Elongation Factor Tuf of *Acinetobacter baumannii* Is a Plasminogen-Binding Protein. PLoS One. 2015;10(7):e0134418.
14. Crépin S, Ottosen EN, Peters K, Smith SN, Himpsl SD, Vollmer W, et al. The lytic transglycosylase MltB connects membrane homeostasis and *in vivo* fitness of *Acinetobacter baumannii*. Mol Microbiol. 2018 09;109(6):745-62.
15. Cascio A, Conti A, Sinardi L, Iaria C, Angileri FF, Stassi G, et al. Post-neurosurgical multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* meningitis successfully treated with intrathecal colistin. A new case and a systematic review of the literature. Int J Infect Dis. 2010 Jul;14(7):e572-9.
16. Yan Z, Yang J, Hu R, Hu X, Chen K. *Acinetobacter baumannii* Infection and IL-17 Mediated Immunity. Mediators Inflamm. 2016;2016:9834020.
17. Kyriakidis I, Vasileiou E, Pana ZD, Tragiannidis A. *Acinetobacter baumannii* Antibiotic Resistance Mechanisms. Pathogens. 2021 Mar 19;10(3):373.
18. Hrenovic J, Goic-Barisic I, Kazazic S, Kovacic A, Ganjto M, Tonkic M. Carbapenem-resistant isolates of *Acinetobacter baumannii* in a municipal wastewater treatment plant, Croatia, 2014. Euro Surveill. 2016 Apr 14;21(15).
19. [Internet]. Iskra.bfm.hr. 2022 [cited 27 September 2022]. Available from: https://iskra.bfm.hr/wp-content/uploads/2021/12/Knjiga-2020.-za-web_novo.pdf
20. Trebosc V, Gartenmann S, Tötzl M, Lucchini V, Schellhorn B, Pieren M, et al. Dissecting Colistin Resistance Mechanisms in Extensively Drug-Resistant *Acinetobacter baumannii* Clinical Isolates. mBio. 2019 07 16;10(4):e01083-19.
21. Goic-Barisic I, Towner KJ, Kovacic A, Sisko-Kraljevic K, Tonkic 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 Apr;77(4):368-9.
22. Goic-Barisic I, Kovacic A, Medic D, Jakovac S, Petrovic T, Tonkic M, et al. Endemicity of OXA-23 and OXA-72 in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* from three neighbouring countries in Southeast Europe. J Appl Genet. 2021 May;62(2):353-9.
23. Goić Barišić I. Epidemiology and resistance of clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* in Croatia over a ten-year period – what has changed?. Medicina Fluminensis [Internet]. 2018 [pristupljeno 26.09.2022.];54(3):268-273.
24. Malik YA. Properties of Coronavirus and SARS-CoV-2. Malays J Pathol. 2020 Apr;42(1):3-11.

25. Hasöksüz M, Kiliç S, Saraç F. Coronaviruses and SARS-COV-. Turk J Med Sci. 2020 04 21;50(SI-1):549-56.
26. Li G, Fan Y, Lai Y, Han T, Li Z, Zhou P, et al. Coronavirus infections and immune responses. J Med Virol. 2020 04;92(4):424-32.
27. Brooks G, Carroll K, Butel J, Morse S, Mietzner T., Jawetz, Melnick, Adelberg. Medicinska mikrobiologija. Dvadeset šesto američko izdanje. Prvo hrvatsko izdanje. Split: Placebo d.o.o.; 2015.
28. Tang YW, Schmitz JE, Persing DH, Stratton CW. Laboratory Diagnosis of COVID-19: Current Issues and Challenges. J Clin Microbiol. 2020 05 26;58(6):e00512-20.
29. Lai CKC, Lam W. Laboratory testing for the diagnosis of COVID-19. Biochem Biophys Res Commun. 2021 01 29;538:226-30.
30. Liu YC, Kuo RL, Shih SR. COVID-19: The first documented coronavirus pandemic in history. Biomed J. 2020 08;43(4):328-33.
31. Khan M, Adil SF, Alkathlan HZ, Tahir MN, Saif S, Khan M, et al. COVID-19: A Global Challenge with Old History, Epidemiology and Progress So Far. Molecules. 2020 Dec 23;26(1):E39.
32. Ochani R, Asad A, Yasmin F, Shaikh S, Khalid H, Batra S, et al. COVID-19 pandemic: from origins to outcomes. A comprehensive review of viral pathogenesis, clinical manifestations, diagnostic evaluation, and management. Infez Med. 2021 Mar 1;29(1):20-36.
33. Zhang JJ, Dong X, Cao YY, Yuan YD, Yang YB, Yan YQ, et al. Clinical characteristics of 140 patients infected with SARS-CoV-2 in Wuhan, China. Allergy. 2020 07;75(7):1730-41.
34. Lighter J, Phillips M, Hochman S, Sterling S, Johnson D, Francois F, et al. Obesity in Patients Younger Than 60 Years Is a Risk Factor for COVID-19 Hospital Admission. Clin Infect Dis. 2020 07 28;71(15):896-7.
35. Giacomelli A, Pezzati L, Conti F, Bernacchia D, Siano M, Oreni L, et al. Self-reported Olfactory and Taste Disorders in Patients With Severe Acute Respiratory Coronavirus 2 Infection: A Cross-sectional Study. Clin Infect Dis. 2020 07 28;71(15):889-90.
36. Recalcati S. Cutaneous manifestations in COVID-19: a first perspective. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2020 05;34(5):e212-e213.
37. Zheng YY, Ma YT, Zhang JY, Xie X. COVID-19 and the cardiovascular system. Nat Rev Cardiol. 2020 05;17(5):259-60.

38. Mao L, Jin H, Wang M, Hu Y, Chen S, He Q, et al. Neurologic Manifestations of Hospitalized Patients With Coronavirus Disease 2019 in Wuhan, China. *JAMA Neurol.* 2020 06 1;77(6):683-90.
39. Klok FA, Kruip MJHA, van der Meer NJM, Arbous MS, Gommers DAMPJ, Kant KM, et al. Incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19. *Thromb Res.* 2020 07;191:145-7.
40. Yong SJ. Long COVID or post-COVID-19 syndrome: putative pathophysiology, risk factors, and treatments. *Infect Dis (Lond).* 2021 10;53(10):737-54.
41. Wollina U, Kanitakis J, Baran R. Nails and COVID-19 - A comprehensive review of clinical findings and treatment. *Dermatol Ther.* 2021 Sep;34(5):e15100.
42. Boban M. Novel coronavirus disease (COVID-19) update on epidemiology, pathogenicity, clinical course and treatments. *Int J Clin Pract.* 2021 Apr;75(4):e13868.
43. Sharma A, Ahmad Farouk I, Lal SK. COVID-19: A Review on the Novel Coronavirus Disease Evolution, Transmission, Detection, Control and Prevention. *Viruses.* 2021 01 29;13(2):202.
44. Cijepljenje protiv COVID-19: Najčešća pitanja i odgovori [Internet]. Hzzj.hr. 2022 [cited 4 October 2022]. Available from: <https://www.hzzj.hr/sluzba-epidemiologija-zarazne-bolesti/cijepljenje-protiv-covid-19-bolesti-najcesca-pitanja-i-odgovori/>
45. Informacije o odobrenim cjepivima | COVID-19 .: HALMED [Internet]. .: HALMED. 2022 [cited 4 October 2022]. Available from: <https://www.halmed.hr/COVID-19/Informacije-o-odobrenim-cjepivima/Informacije-o-odobrenim-cjepivima/>
46. [Internet]. Hzzj.hr. 2022 [cited 4 October 2022]. Available from: <https://www.hzzj.hr/priopcenja-mediji/vec-prvi-dan-707-osoba-cijepljeno-je-novim-omikron-cjepivom/>
47. Coronavirus disease (COVID-19): How is it transmitted? [Internet]. Who.int. 2022 [cited 4 October 2022]. Available from: <https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/coronavirus-disease-covid-19-how-is-it-transmitted>
48. Rangel K, Chagas TPG, De-Simone SG. *Acinetobacter baumannii* Infections in Times of COVID-19 Pandemic. *Pathogens.* 2021 Aug 10;10(8):1006.
49. SECTION 3 / COVID-19 in various clinical aspects. Liječnički vjesnik [Internet]. 2021 [pristupljeno 04.10.2022.];143(Suppl 4):17-21. <https://doi.org/10.26800/LV-143-suppl4-3>
50. Perez S, Innes GK, Walters MS, Mehr J, Arias J, Greeley R, et al. Increase in Hospital-Acquired Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* Infection and

Colonization in an Acute Care Hospital During a Surge in COVID-19 Admissions - New Jersey, February-July 2020. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2020 Dec 4;69(48):1827-31.

51. [Internet]. 2022 [cited 12 October 2022]. Available from: <https://www.hdkm.hr/wp-content/uploads/2015/02/Osjetljivost-knjiga-2012.pdf>
52. [Internet]. 2022 [cited 13 October 2022]. Available from: <https://www.hdkm.hr/wp-content/uploads/2015/02/Osjetljivost-knjiga-2013.pdf>
53. Russo A, Gavaruzzi F, Ceccarelli G, Borrazzo C, Oliva A, Alessandri F, et al. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections in COVID-19 patients hospitalized in intensive care unit. Infection. 2022 Feb;50(1):83-92.
54. Shinohara DR, Dos Santos Saalfeld SM, Martinez HV, Altafini DD, Costa BB, Fedrigo NH, et al. Outbreak of endemic carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in a coronavirus disease 2019 (COVID-19)-specific intensive care unit. Infect Control Hosp Epidemiol. 2022 06;43(6):815-7.
55. Karataş M, Yaşar-Duman M, Tünger A, Çilli F, Aydemir Ş, Özenci V. Secondary bacterial infections and antimicrobial resistance in COVID-19: comparative evaluation of pre-pandemic and pandemic-era, a retrospective single center study. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2021 Aug 5;20(1):51.
56. COVID Live - Coronavirus Statistics - Worldometer [Internet]. Worldometers.info. 2022 [cited 18 October 2022]. Available from: <https://www.worldometers.info/coronavirus/>
57. Croatia: WHO Coronavirus Disease (COVID-19) Dashboard With Vaccination Data [Internet]. Covid19.who.int. 2022 [cited 18 October 2022]. Available from: <https://covid19.who.int/region/euro/country/hr>
58. Callaway E. Will there be a COVID winter wave? What scientists say. Nature. 2022 10;610(7931):239-41.

8. SAŽETAK

Cilj istraživanja: Odrediti učestalost kliničkih izolata *Acinetobacter baumannii* u tromjesečnom razdoblju praćenja prije i tijekom COVID-19 pandemije u Republici Hrvatskoj te usporediti broj i osjetljivost kliničkih izolata *A. baumannii* u KBC Split.

Materijali i metode: U retrospektivnom, presječnom istraživanju pregledana je dostupna klinička literatura, a podaci koji se odnose na razdoblje 2017.-2021. godine prikupljeni su iz službenih publikacija Odbora za praćenje rezistencije bakterija na antibiotike u Republici Hrvatskoj te iz arhive Kliničkog zavoda za mikrobiologiju i parazitologiju KBC-a Split. Podaci su obrađeni korištenjem programskoga paketa Microsoft Office 365.

Rezultati: U razdoblju od 2017. do 2021. godine, u Republici Hrvatskoj uočen je porast uzoraka *A. baumannii*, s najvećim brojem kliničkih izolata u 2020. (N=2060) i 2021. godini (N=2620), dok je najmanji broj uzoraka prikupljen 2017. godine (N=1563). U skladu s tim, u KBC-u Split zabilježen je značajan porast broja dobivenih uzoraka, s maksimalnim rezultatom u 2020. godini (N=295), dok se potom 2021. godine prati pad broja izolata sa zabilježenom minimalnom vrijednošću (N=133). Kad je riječ o osjetljivosti na antibiotike, najveća rezistencija *A. baumannii* u KBC Split zabilježena je na imipenem, meropenem i ciprofloksacin, nakon čega slijede i gentamicin te amikacin, dok je najveći broj kliničkih izolata pokazao osjetljivost na kolistin (oko 99%) te na fiksnu kombinaciju ampicilina i sulbaktama. Zbog povećane rezistencije na antibiotike, novi se sojevi *A. baumannii* karakteriziraju kao MDR.

Zaključak: Rezultati ovog istraživanja pokazuju povećanje broja kliničkih izolata *A. baumannii* za vrijeme COVID pandemije, što je u skladu s hipotezom diplomskog rada. Smanjenjem broja oboljelih smanjuje se rizik potrebe za hospitalizacijom, poglavito najtežih bolesnika u Jedinice intenzivnog liječenja, te se usporedno smanjuje i broj infekcija uzrokovanih MDR *A. baumannii*. Buduća bi istraživanja trebala utvrditi rizik od smrtnog ishoda u slučaju dvostruke infekcije, odnosno bakterijske koinfekcije u COVID-19 pacijenata, te se svim bolesnicima, osobito starijima i s komorbiditetima, preporučuje cijepljenje kako bi se osigurala prikladna imunološka zaštita.

9. SUMMARY

Diploma thesis title: The impact of the COVID pandemic on the frequency of clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* at the University Hospital of Split.

Objective: To determine the frequency of clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* in the three-month monitoring period before and during the COVID-19 pandemic in the Republic of Croatia, and to compare the number and sensitivity of clinical isolates of *A. baumannii* at the University Hospital of Split.

Materials and methods: In a retrospective, cross-sectional study, available clinical literature was reviewed, and data related to the period 2017-2021 were collected from the official publications of the Committee for Monitoring Bacterial Resistance to Antibiotics in the Republic of Croatia and from the archives of the Clinical Institute for Microbiology and Parasitology of the University Hospital of Split. The data was processed using the Microsoft Office 365 software package.

Results: In the period from 2017 to 2021, an increase in *A. baumannii* samples was observed in the Republic of Croatia, with the highest number of clinical isolates in 2020 (N=2060) and 2021 (N=2620), while the lowest number of samples was collected in 2017 (N=1563).

Accordingly, a significant increase in the number of samples obtained was recorded at the University Hospital of Split, with the maximum result in 2020 (N=295), while a decrease in the number of isolates with a recorded minimum value (N=133) was observed in 2021. .

When it comes to sensitivity to antibiotics, the highest resistance of *A. baumannii* at the University Hospital of Split was recorded to imipenem, meropenem and ciprofloxacin, followed by gentamicin and amikacin, while the largest number of clinical isolates showed sensitivity to colistin (around 99%) and to a fixed combination of ampicillin and sulbactam. Due to increased resistance to antibiotics, new strains of *A. baumannii* are characterized as MDR.

Conclusion: The results of this research show an increase in the number of clinical isolates of *A. baumannii* during the COVID pandemic, which is in line with the thesis hypothesis. By reducing the number of patients, the risk of the need for hospitalization is reduced, especially for the most serious patients in Intensive Care Units, and the number of infections caused by MDR *A. baumannii* is also reduced. Future research should determine the risk of death in case of double infection, i.e. bacterial co-infection in COVID-19 patients, and vaccination is recommended for all patients, especially the elderly and those with comorbidities, in order to ensure adequate immune protection.

10. ŽIVOTOPIS

Osobni podaci

- Ime i prezime: Mia Grulović
- Datum i mjesto rođenja: 4. 5. 1998., Šibenik
- Državljanstvo: hrvatsko
- E-mail: mia.grulovic75@gmail.com

Obrazovanje

- 2005. – 2013. Osnovna škola Petra Krešimira IV., Šibenik
- 2013. – 2017. Gimnazija Antuna Vrančića, Šibenik, prirodoslovno-matematički smjer
- 2017. – 2022. Kemijsko-tehnološki fakultet i Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu, Integrirani preddiplomski i diplomski studij Farmacije

Radno iskustvo

- 2016. – 2022. – rad u sezoni, područje Šibenik, Vodice, Split
- veljača 2022. – kolovoz 2022. – stručno osposobljavanje u Ljekarnama Splitsko-dalmatinske županije (Ljekarna Brda)

Strani jezici

- Engleski jezik – aktivno