

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ENOTA MEDODDELČNEGA ŠTUDIJA MIKROBIOLOGIJE

Nežka BOBNAR

**TESTIRANJE DELOVANJA CEFIKSIMA IN
CEFUROKSIMA NA NEKATERE
ENTEROBAKTERIJE, IZOLIRANE IZ VZORCEV
URINA OSKRBOVANČEV DOMOV STAREJŠIH
OBČANOV**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

Ljubljana, 2008

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ENOTA MEDODDELČNEGA ŠTUDIJA MIKROBIOLOGIJE

Nežka BOBNAR

**TESTIRANJE DELOVANJA CEFIKSIMA IN CEFUROKSIMA NA
NEKATERE ENTEROBAKTERIJE, IZOLIRANE IZ VZORCEV
URINA OSKRBOVANECV DOMOV STAREJŠIH OBČANOV**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**TESTING OF THE EFFICIENCY OF CEFIXIME AND
CEFUROXIME FOR SOME OF THE URINARY ISOLATED
ENTEROBACTERIA FROM NURSING HOME RESIDENTS**

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2008

*Če si nečesa zares močno želiš,
bo celo stvarstvo težilo k temu,
da se ti ta želja izpolne.*
(Alkimist, Coelho)

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija mikrobiologije. Opravljeno je bilo na Oddelku za medicinsko mikrobiologijo v Mikrobiološkem laboratoriju na Zavodu za zdravstveno varstvo Novo mesto.

Študijska komisija univerzitetnega študija mikrobiologije je na seji dne 16. junija 2006 odobrila temo diplomske naloge in za mentorico diplomskega dela imenovala doc. dr. Evo Ružič - Sabljic, za recenzentko prof. dr. Katjo Seme.

Mentorica: doc. dr. Eva Ružič – Sabljic

Recenzentka: prof. dr. Katja Seme

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednica: prof. dr. Darja Žgur Bertok
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo

Članica: doc. dr. Eva Ružič – Sabljic
Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta

Članica: prof. dr. Katja Seme
Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta

Datum zagovora:

Delo je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Nežka BOBNAR

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Dn
- DK UDK 579.61+579.24:615.33(043)=863
- KG okužbe sečil / enterobakterije / oskrbovanci domov starejših občanov / cefiksim / cefuroksim / občutljivost enterobakterij za antibiotike
- AV BOBNAR, Nežka
- SA RUŽIČ-SABLJIĆ, Eva (mentorica)/SEME, Katja (recenzentka)
- KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Enota medoddelčnega študija mikrobiologije
- LI 2008
- IN TESTIRANJE DELOVANJA CEFIKSIMA IN CEFUROKSIMA NA NEKATERE ENTEROBAKTERIJE, IZOLIRANE IZ VZORCEV URINA OSKRBOVANCEV DOMOV STAREJŠIH OBČANOV
- TD Diplomsko delo (univerzitetni študij)
- OP X, 55 str., 10 pregl., 6 sl., 2 pril., 88 vir.
- IJ sl
- JI sl/en
- AL Pri oskrbovancih domov starejših občanov so okužbe sečil zelo pogost pojav. Zaradi pogostega zdravljenja okužb sečil veliko po Gramu negativnih bakterij razvije odpornost proti antibiotikom. Odločili smo se ugotoviti najpogostejše povzročitelje okužb sečil med enterobakterijami, izoliranih iz urina oskrbovancev domov starejših občanov in določiti njihovo občutljivost za dva antibiotika. Vzorce urina oskrbovancev domov starejših občanov Novo mesto, Trebnje, Krško, Metlika in Črnomelj so obdelali pri rednem delu na Zavodu za zdravstveno varstvo Novo mesto. Povzročitelje so identificirali s preiskavo urina po Sanfordu in biokemičnimi testi. V našo raziskavo smo vključili le enterobakterijske povzročitelje. Primerjali smo učinkovitost cefiksima in cefuroksim aksetila. Uporabili smo metodo disk difuzije po standardu CLSI (*angl.* Clinical and Laboratory Standards Institute). V skoraj polovici primerov smo v vzorcih dokazali *E. coli*. Poleg nje so bile pogoste povzročiteljice še bakterije iz rodu *Proteus* spp. in *Klebsiella* spp. 83,7 % vseh izolatov je bilo občutljivih za cefiksim in 63,3 % za cefuroksim. Cefiksim je bil tudi na posamezne povzročitelje bolj učinkovit od cefuroksima, še posebno na bakterije iz rodu *Proteus* spp., ki so pokazale 100-odstotno občutljivost za cefiksim. Peroralna oblika cefiksima je *in vitro* bolj učinkovita na izolate enterobakterij iz urina od peroralne oblike cefuroksima

KEY WORDS DOCUMENTATION

- DN Dn
- DC UDC 579.61+579.24:615.33(043)=863
- CX urinary tract infections / enterobacteria / nursing home residents / cefixime / cefuroxime / antibiotic susceptibility of enterobacteria
- AU BOBNAR, Nežka
- AA RUŽIĆ-SABLJIĆ, Eva (supervisor)/SEME, Katja (reviewer)
- PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Interdepartmental Programme in Microbiology
- PY 2008
- TI TESTING OF THE EFFICIENCY OF CEFIXIME AND CEFUROXIME FOR SOME OF THE URINARY ISOLATED ENTEROBACTERIA FROM NURSING HOME RESIDENTS
- DT Graduation Thesis (University studies)
- NO X, 55 p., 10 tab., 6 fig., 2 ann., 88 ref.
- LA sl
- AL sl/en
- AB Urinary tract infections are very common among the residents of nursing homes. Due to the fact that antimicrobial agents for urinary tract infection are very frequently prescribed drugs, high level of antibiotic resistance among the Gram negative bacteria occurs. We decided to determine which of the enterobacteria are the most frequent pathogens of urinary infection and analyse their antibiotic sensitivity patterns. Urine samples from the residents of nursing homes in Novo mesto, Trebnje, Krško, Metlika and Črnomelj were collected in the Institute of Public Health Novo mesto. They identified isolates with Sanford quantitative urine culture method and with biochemical tests. For further investigation, we took into account only the enterobacterial pathogens. The efficiency of oral cefixime and cefuroxime axetil was tested for which the method of disc diffusion according to the CLSI standard was used. *E. coli* was the most prevalent pathogen as it was found in almost 50 % of the isolates, followed by *Proteus* spp. and *Klebsiella* spp. The susceptibility of all isolates to cefixime was 83,7 % and only 63,3 % to cefuroxime. Cefixime was more efficient than cefuroxime, especially for *Proteus* spp., which were 100 % susceptible. To conclude, *in vitro* peroral cefixime is more efficient than peroral cefuroxime when affecting the urinary isolated enterobacteria.

KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
KAZALO VSEBINE	V
KAZALO PREGLEDNIC	VII
KAZALO SLIK	VIII
KAZALO PRILOG	IX
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	X
1 UVOD	1
1.1 NAMEN	1
1.2 HIPOTEZA	1
2 PREGLED OBJAV	2
2.1 OKUŽBE SEČIL	2
2.1.1 Nezapletene in zapletene oblike okužbe sečil	3
2.1.2 Simptomatska in asimptomatska oblika okužb sečil	4
2.1.3 Dejavniki tveganja, ki povečajo možnost nastanka zapletene oblike okužb sečil	4
2.2 USTANOVE ZA DOLGOTRAJNO OSKRBO	6
2.2.1 Okužbe sečil pri starejši populaciji v domovih za starejše občane	6
2.3 POVZROČITELJI OKUŽBE SEČIL	9
2.3.1 Enterobakterije	9
2.3.1.1 <i>E. coli</i>	9
2.3.1.2 <i>Proteus</i> spp.	12
2.3.1.3 <i>Klebsiella</i> spp.	15
2.3.1.4 <i>Morganella</i> spp.	17
2.3.1.5 Ostali povzročitelji okužb sečil	18
2.4 DIAGNOSTIKA POVZROČITELJEV OKUŽBE SEČIL	19
2.4.1 Odvzem in transport vzorca urina	19
2.4.2 Mikrobiološke metode pri preiskavi urina	19
2.4.2.1 Preiskava urina po Sanfordu	19
2.4.2.2 Biokemični testi	20

2.4.2.3 Ugotavljanje bakterijske občutljivosti (metoda disk difuzije)	20
2.5 ZDRAVLJENJE OKUŽBE SEČIL	21
2.5.1 Izkustveno zdravljenje	21
2.5.2 Usmerjeno zdravljenje	22
2.5.3 Priporočila za zdravljenje okužb sečil	23
2.5.4 Cefuroksim in cefiksim	25
2.5.4.1 Cefuroksim aksetil	26
2.5.4.2 Cefiksim	27
2.6 MOŽNI MEHANIZMI ODPORNOSTI ENTEROBAKTERIJ	30
2.6.1 Odpornost proti betalaktamskim antibiotikom	30
3 MATERIAL IN METODE	31
3.1. MATERIAL	31
3.2. METODE	32
3.2.1 Mikrobiološke metode pri preiskavi urina	32
3.2.2 Statistična obdelava podatkov	35
4 REZULTATI	36
4.1 REPREZENTATIVNOST IZBRANEGA VZORCA IZOLATOV	36
4.2 REZULTATI PREISKAVE URINA PO SANFORDU IN BIOKEMIČNE IDENTIFIKACIJE	37
4.3 REZULTATI TESTA ZA UGOTAVLJANJE OBČUTLJIVOSTI	38
4.3.1 Občutljivost izolatov za cefiksim in cefuroksim	38
4.3.2 Primerjava delovanja cefiksima in cefuroksima na najbolj pogosto izolirane enterobakterije	40
5 RAZPRAVA IN SKLEPI	42
5.1. RAZPRAVA	42
5.2 SKLEPI	45
6 POVZETEK	46
7 VIRI	48
ZAHVALA	
PRILOGE	

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1:	Povzročitelji nezapletene in zapletene oblike okužb sečil (Ronald, 2002: 15S).	3
Preglednica 2:	Nekatere lastnosti cefiksima in cefuroksim aksetila (Pancef [®] ..., 2007; Novocef [®] tablete..., 2007).	29
Preglednica 3:	Pomen velikosti con inhibicije za cefuroksim in cefiksim (CLSI M2-A9, 2006).	33
Preglednica 4:	Struktura spola in starost za vključene in ne vključene oskrbovance domov za starejše občane.	36
Preglednica 5:	Število vzorcev urina, odvzetih z različnimi metodami.	37
Preglednica 6:	Število in odstotek rodov / vrst enterobakterij, vključenih v raziskavo.	37
Preglednica 7:	Rezultati testiranja občutljivosti izolatov enterobakterij za cefuroksim.	38
Preglednica 8:	Rezultati testiranja občutljivosti izolatov enterobakterij za cefiksim.	39
Preglednica 9:	Občutljivost izolatov enterobakterij za cefuroksim in cefiksim.	39
Preglednica 10:	Število in delež iz urina izoliranih enterobakterij glede na občutljivost / odpornost za cefuroksim in cefiksim.	41

KAZALO SLIK

Slika 1:	Prikaz reakcije hidrolize uree do amonija (Mobley in Hausinger, 1989: 86).	13
Slika 2:	Kemijska struktura cefuroksim aksetila (O'Neil in sod., 2006).	26
Slika 3:	Kemijska struktura cefiksima. Na položaju 1 je žveplo, ne položaju 3 je vinilna skupina in na 7 je R-oksil-amino skupina (O'Neil in sod., 2006).	28
Slika 4:	Premer cone inhibicije okoli diska s cefiksimom in cefuroksimom pri bakteriji <i>P. mirabilis</i> (CFM: 25 mm; CXM: 18 mm).	33
Slika 5:	Antibiogram kontrolnega seva <i>E. coli</i> ATCC 25922 (CFM: 21 mm; CXM: 22 mm).	34
Slika 6:	Odstotek občutljivosti najpogosteje izoliranih enterobakterij za cefuroksim in cefiksim.	40

KAZALO PRILOG

- Priloga A:** Število in odstotki vseh izoliranih povzročiteljev okužb sečil pri oskrbovancih domov starejših občanov v dolenjski regiji v obdobju od 17. 02. 2006 do 23. 04. 2007 ter od 11. 08. 2007 do 08. 10. 2007. Podatke smo dobili iz arhiva ZZV Novo mesto.
- Priloga B:** Premeri con inhibicij pri antibiogramih s cefiksimom in cefuroksimom ter njihova interpretacija za izolirane enterobakterije oskrbovancev domov starejših občanov Novo mesto, Trebnje, Krško, Metlika in Črnomelj v obdobju od 17. 02. 2006 do 23. 04. 2007 ter od 11. 08. 2007 do 08. 10. 2007.

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

ATCC	<i>angl.</i> The American Type Culture Collection
CFM	cefiksim
CFU	enote, ki tvorijo kolonije (<i>angl.</i> colony forming units)
CLED	gojišče s cistinom, laktozo in elektroliti (<i>angl.</i> cystine-lactose-electrolyte deficient)
CLSI	<i>angl.</i> Clinical and Laboratory Standards Institute
CNF	citotoksični nekrotizirajoči faktor
CXM	cefuroksim
DAF	pospeševalni faktor razgradnje (<i>angl.</i> decay accelerating factor)
DNK	deoksiribonukleinska kislina
ESBL	laktamaze beta z razširjenim spektrom delovanja (<i>angl.</i> extended spectrum betalactamases)
FT	fosfomicin trometamol
IDSA	<i>angl.</i> Infectious Diseases Society of America
IMVC	indol, metil rdeče, Voges-Proskauer, citrat
KDa	kiloDalton (enota)
McF	McFarland (enota)
MHA	Mueller Hinton Agar
MR	metil rdeče
PBP	penicilin vežočni protein (<i>angl.</i> penicilin binding protein)
TMP/SMX	trimetoprim s sulfametoksazolom
ZZV	Zavod za zdravstveno varstvo
ZZZS	Zavod za zdravstveno zavarovanje Slovenije

1 UVOD

Oskrbovanci domov starejših občanov pogosto obolevajo za različnimi okužbami, ki so posledica njihovih osnovnih ali kroničnih bolezni, zmanjšane odpornosti, slabše gibljivosti in starosti. Nemalokrat pri takih bolnikih ugotavljamo okužbe sečil, ki največkrat nastanejo zaradi uporabe urinskih katetrov in/ali inkontinence (nezmožnost zadrževanja urina). Okužbe najpogosteje povzročajo po Gramu negativne bakterije, ki jih zdravimo z antibiotiki. Tu nastane problem razvijanja bakterijske odpornosti in s tem ogrožanje zdravja teh bolnikov.

1.1 NAMEN

Odločili smo se, da ugotovimo najpogostejše povzročitelje okužb sečil med enterobakterijami pri oskrbovancih nekaterih domov starejših občanov na Dolenjskem. Nato smo želeli testirati učinkovitost dveh antibiotika iz skupine cefalosporinov 2. in 3. generacije na izolirane enterobakterije. To sta peroralni obliki cefiksima in cefuroksim aksetila. Njuno delovanje smo nato primerjali med seboj in ugotovili ali sta z mikrobiološkega stališča *in vitro* raziskave primerna za zdravljenje okužb sečil pri starejših ljudeh.

1.2 HIPOTEZA

Predpostavili smo, da so enterobakterije, izolirane iz seča oskrbovancev v večji meri bolj odporne proti antibiotikom, ki se uporabljajo za zdravljenje splošne populacije. Testirana antibiotika, cefiksim in cefuroksim, se ne uporabljata pogosto v rutinskem zdravljenju. Sklepali smo, da naj bi bile izolirane enterobakterije v večji meri občutljive na oba antibiotika. Peroralna oblika cefiksima pa naj bi bila bolj učinkovita od peroralne oblike cefuroksima, najverjetneje zaradi manjše uporabe pri zdravljenju.

2 PREGLED OBJAV

2.1 OKUŽBE SEČIL

Okužba sečil se začne z vdorom mikroorganizmov v sicer sterilna področja sečil. Mikroorganizmi se širijo navzgor v sečni mehur in dalje v ledvice, kjer se razmnožujejo in povzročijo vnetje. Pri zdravem človeku tako širjenje bakterij preprečuje normalen tok, pretok in iztok urina ter normalno delovanje sečnih zaklopk (Petrovska, 2002). Ponavadi okužbo povzročajo bakterije iz črevesa ali vagine, redkeje glive, virusi ali paraziti. Glede na mesto vnetja ločimo okužbo spodnjih sečil (uretritis, cistitis, epididimitis, prostatitis) in okužbo zgornjih sečil (ureteritis, pielonefritis). Okužba se običajno začne z uretritisom, to je vnetje sečnice. Značilen je pekoč občutek v sečnici med uriniranjem, bolečine v spodnjem delu trebuha in izcedek. Cistitis je vnetje sečnega mehurja, kjer bolnik pogosto in pekoče odvaja majhne količine seča. Ta je moten, neprijetnega vonja in včasih tudi krvav. Značilne so tudi bolečine v predelu mehurja. Epididimitis je vnetja moškega organa na zadnji strani testisa, ki se nadaljuje v semenovod, prostatitis pa je vnetje prostate. Pri okužbah zgornjih sečil (pielonefritis) pride do vnetja ledvičnega meha in parenhima. Bolnik se slabo počuti, ima povišano telesno temperaturo in ledvene bolečine (Lindič, 2003). Dizuričnih težav, kot so boleče, pekoče ali ovirano uriniranje bolnik ponavadi nima. Lahko pride tudi do vnetja sečevoda (ureteritis). Cistitis in pielonefritis se največkrat pojavljata v akutni obliki, lahko pa tudi kot kronične okužbe.

Na splošno so okužbe sečil bolj pogoste pri ženskah zaradi anatomskih razlik med moškimi in ženskimi sečili. Pri ženskah se kratka sečnica navzven odpira v vlažno območje vulve, kar predstavlja ugodne razmere za rast bakterij. Dolga moška sečnica pa se odpira v razmeroma suh predel sluznice in kože. Za prenos črevesnih bakterij je pomembna razdalja med anusom in sečnico, ki je manjša pri ženskah (Petrovska, 2002). Tako kar 40-50 % žensk vsaj enkrat v svojem življenju preboli okužbo na sečilih (Franco, 2005) in večina teh je nezapletenih.

2.1.1 Nezapletene in zapletene oblike okužbe sečil

Glede na potek okužbe ločimo nezapletene in zapletene okužbe sečil. Ta razvrstitev je zelo pomembna še pred zdravljenjem zaradi različne diagnostike in samega zdravljenja. Večina okužb sečil je nezapletenih in se pojavljajo pri sicer zdravih ljudeh. V ZDA je najpogostejši povzročitelj nezapletenih oblik *Escherichia coli* (80 %) in *Staphylococcus saprophyticus* (5-15 %) (Ronald, 2002). V preglednici 1 so našteje še ostale vrste ali rodovi, ki jih najdemo pri nezapletenih in zapletenih oblikah.

Zapleteno okužbo sečil obravnavamo pri ljudeh s funkcijskimi ali anatomskimi motnjami sečil, pri sladkornih bolnikih, nosečnicah, imunsko oslabljenih osebah, pri starejših od 65 let, pri bolnikih z nedavnimi urološkimi posegi. Mikroorganizmi, ki redko povzročajo bolezen pri zdravih ljudeh, lahko pri takih bolnikih povzročijo hude oblike okužbe sečil (Ronald, 2002). O zapleteni okužbi govorimo tudi pri bolnišničnih okužbah, pri bolnikih, kjer simptomi okužbe trajajo več kot teden dni in pri bolnikih z vstavljenim trajnim urinskim katetrom. Okužba sečil pri moških se vedno obravnava kot zapletena (Car in Marinko, 2003).

Preglednica 1: Povzročitelji nezapletene in zapletene oblike okužb sečil (Ronald, 2002: 15S).

Nezapletena oblika	Zapletena oblika
<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Klebsiella</i> spp.
<i>Klebsiella</i> spp.	<i>Enterobacter cloacae</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Serratia marcescens</i>
	<i>Proteus mirabilis</i>
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	<i>Enterococcus faecalis</i>
	<i>Streptococcus agalactiae</i>

2.1.2 Simptomatska in asimptomatska oblika okužb sečil

Okužbe sečil se lahko pojavljajo v zgoraj opisani simptomatski obliki, kjer pri bolniku prepoznamo simptome, značilne za določeno mesto okužbe, kot tudi v asimptomatski obliki. Pri asimptomatski okužbi bolnik nima težav, vendar so bakterije prisotne v urinu in govorimo o bakteriuriji. Večina starostnikov v domovih za ostarele ima bakteriurijo, tudi če nimajo vstavljenih urinskih katetrov. Prevalenca bakteriurije pri starejših ženskah v domovih je 25-50 %, pri moških pa 15-40 %. Pomembno je vedeti, da take oblike okužbe v domovih za ostarele ne zdravimo. Študije so pokazale, da z zdravljenjem asimptomatske oblike okužbe sečil ne zmanjšamo bakteriurije, niti ne pogostosti pojava akutne simptomatske oblike okužbe. Zdravljenje ni primerno tudi zaradi ponavljajočih okužb, večanja bakterijske odpornosti za antibiotike in povečanih stroškov v domovih (Nicolle in sod., 1987).

2.1.3 Dejavniki tveganja, ki povečajo možnost nastanka zapletene oblike okužb sečil

Možnost nastanka hujših oblik okužb sečil povečajo določene primarne bolezni in druge lastnosti nekaterih posameznikov, ki jim skupno pravimo dejavniki tveganja. Eden izmed njih je genetski dejavnik. Dokazali so že povečano pojavnost okužb sečil v družini žensk, ki so imele ponavljajoče oblike okužb sečil, iz česar lahko sklepamo na genetski dejavnik (Franco, 2005). Antigeni krvne skupine se vežejo na membranske lipide proteinov na epiteljskih celicah sečil. Prisotnost teh antigenov lahko prepreči vezavo patogenih bakterij. Eden izmed takih je antigen Lewis, ki kontrolira fukozilacijo. Nastala fukoza na epiteljski celični površini zmanjša dostop bakterijam do celičnih receptorjev (Schaeffer in sod., 2001). Pri ženskah s ponavljajočimi okužbami je pogostost tega antigena veliko manjša (Lomberg in sod., 1986). Približno 75 % zdravih žensk nosi zapis za Lewisov antigen, 20 % žensk nima tega gena in 5 % ima recisivni fenotip. Pri ženskah, ki nimajo zapisa za antigene krvne skupine ali imajo recisivni fenotip obstaja veliko večja pojavnost ponavljajočih okužb sečil (Schaeffer in sod., 2001). Pri takih pacientkah so namreč v sluznici večje koncentracije receptorjev za bakterijske adhezine z visoko afiniteto. Vaginalne epiteljske celice izločajo tri take receptorje: glikosfingolipide (GSL), sialozil

gal-globozide (SGG) in disialozil gal-globozide (DSGG), katerih ne najdemo pri nosilkah gena za antigene krvne skupine (Stapleton in sod., 1992).

Okužbe sečil so dokaj pogoste pri ljudeh s sladkorno boleznijo, saj predstavljajo eno od desetih najbolj ponavljajočih bolezni ali zapletov pri tej populaciji. Pojavnost akutnega pielonefritisa je večja pri sladkornih bolnikih kot pri ostalih. Poleg tega je tudi nevarnost zapletov pri okužbi mnogo večja (Ronald in Ludwig, 2001). Povzročitelji okužb sečil so enaki kot pri ostali populaciji, le da je zdravljenje teh okužb pri diabetikih težje. *E. coli* je najbolj pogosta tako pri sladkornih bolnikih (56,1 %), kot pri ostali populaciji (56,8 %) (Bonadio in sod., 1999).

Zapleti lahko nastanejo tudi pri ljudeh z anatomskimi ali fiziološkimi motnjami sečil, ki ovirajo normalno pretakanje seča. Poleg tega lahko k nastanku okužb pripomorejo tudi same vedenjske navade posameznikov. Pod to spadajo spolna aktivnost in uporaba kontracepcije, predvsem spermicidov, diafragme in oralnih kontraceptivov (Franco, 2005).

Uporaba urinskega katetra predstavlja velik dejavnik tveganja. Nastanek okužbe je pri takih bolnikih že skoraj pravilo. Najbolj pogosto se kateter uporablja pri starejši populaciji. Ko govorimo o okužbah sečil, moramo starejše ljudi obravnavati posebej, zaradi mnogih dejavnikov tveganja, ki povečujejo pogostost nastanka okužb.

2.2 USTANOVE ZA DOLGOTRAJNO OSKRBO

Zaradi novih metod zdravljenja in učinkovitejših zdravil se v razvitem svetu število starostnikov ves čas povečuje. Starejši prebivalci, ki potrebujejo stalno nego in zdravstveno oskrbo, prebivajo v posebnih ustanovah, kot so domovi za starejše občane. To so ustanove, ki ljudem nudijo oskrbo, zdravstveno pomoč in bivanje. Večinoma so ti ljudje starejši od 65 let in imajo zaradi starosti številne težave, kot so oslabljen imunski sistem, spremembe na organih in primarne kronične bolezni ter posledično zmanjšana mobilnost, inkontinenca in neaktivnost. Vse to vodi v številne okužbe, samo okolje, v katerem živijo pa jim omogoča še dober prenos teh okužb. Za prenos patogenih bakterij so odgovorni zdravstveni delavci pa tudi oskrbovanci sami (Nicolle in sod., 1996). Najbolj pogoste okužbe v domovih za starejše občane so ravno okužbe sečil (Beier, 1999). Verjetnost nastanka teh okužb še dodatno povečujejo vstavljeni urinski katetri pri oskrbovancih. Pri takih ljudeh, je pojav bakteriemije že skoraj pravilo.

Posledica pogostih okužb v domovih je obsežna raba antibiotikov. Od 50 do 70 % oskrbovancev prejme v enem letu vsaj en antibiotik (Nicolle in sod., 1996). Prepogosta in neprimerna uporaba antibiotikov pa vodi v razvoj odpornih sevov bakterij, kar v domovih predstavlja vse bolj resen problem. Odporni sevi se največkrat prenašajo med oskrbovanci in z okuženimi rokami zdravstvenih delavcev. Osveščenost zdravstvenih delavcev zelo pripomore k preprečevanju prenosa okužb, zato je potrebno med negovanjem oskrbovancev razkuževati roke.

2.2.1 Okužbe sečil pri starejši populaciji v domovih za starejše občane

Številni dejavniki težijo k zelo pogostemu pojavljanju okužb pri starejši populaciji, ki so posledica njihovega staranja, številnih bolezni in samega okolja v katerem živijo. Zaradi starosti se notranji organi pomikajo navzdol, medenično dno oslabi in zato je anatomski položaj sečil drugačen (Rade-Humar, 2007). Na splošno imajo tudi slabše srce, občutljiva pljuča, oslabljen imunski sistem, nepopolno praznjenje mehurja in številne druge težave. Vse to vodi v ponavljajoče in kronične bolezni, ki pogojujejo nastanek številnih okužb

(Garibaldi, 1999). V večini primerov je vzrok za pogosto pojavljanje okužb sečil pri starostnikih vstavljen urinski kateter in inkontinenca. Vstavljanje urinskega katetra je nujno pri bolnikih z zaporo toka seča. Pri zdravljenju inkontinence se je najbolje izogniti uporabi urinskega katetra. Uporabljamo lahko alternativne metode, kot so kondomski katetri pri moških ter negovalni pripomočki (plenice, vložki) pri ženskah (Lindič, 2003).

Vstavljen urinski kateter je najpogostejši vzrok za pojavljanje okužb na sečilih. Približno 5-10 % vseh oskrbovancev v domovih za starejše občane ima vstavljene urinske katetre za dalj časa. V urinu teh bolnikov je največkrat prisotnih več vrst bakterij in govorimo o polimikrobni bakteriuriji (Gross in sod., 1976). Pojavljajo se tako po Gramu pozitivne kot negativne bakterije. Največji dejavnik tveganja pri kateterizaciji je trajanje vstavljenega katetra. Z vsakim dnem, ko je vstavljen kateter, se poveča možnost pojava bakteriurije za 3-10 %. Ločimo kateterizacijo za kratek čas, to je za 2 do 4 dni ter za dalj časa, kjer je kateter vstavljen mesece ali leta. Pri bolnikih, ki imajo kateter le nekaj dni, se največkrat pojavi asimptomatska bakteriurija in jo v večini primerov povzroča *E. coli*, pogosto pa najdemo tudi *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus epidermidis*, *Candida* spp. in enterokoke. Do večjih zapletov prihaja pri oskrbovancih z dalj časa vstavljenim katetrom, kjer je okužba sečil skoraj neizogibna. Pri 95 % takih primerov povzročata okužbo najmanj dve različni vrsti bakterij (Warren, 2001), med katerimi sta najbolj pogosta *Proteus mirabilis* in *Morganella morganii* (Mobley in Warren, 1987). Dalj časa ko je vstavljen kateter, večja je možnost, da ima bolnik poleg vnetja sečil še druge težave kot so zaprtje, ledvični kamni, lokalne infekcije, kronični pielonefritis in rak na mehurju (Warren, 2001). V eni od raziskav so spremljali bolnike z okužbami sečil, ki so jih pridobili kot sekundarno okužbo v bolnišnici od leta 1982 do 1991. Število pacientov se je povečalo iz 2,63 od 1000 na 4,35 od 1000 na dan. Večina od njih (80 %) je imela vstavljen kateter (Bronsema in sod., 1993).

Problem lahko nastane že pri tehniki vstavitve katetra v mehur, ki mora biti sterilna in opravljena v primernem prostoru. Zbiralni sistem mora biti zaprt, da ne pride do kontaminacije iz okolja. Ena sama bakterijska celica, prisotna v urinu, se lahko v določenem času namnoži do 10^5 - 10^6 mikroorganizmov na ml urina (Tambyah, 2004). Oteženo zdravljenje povzročajo bakterije, ki se pritrdijo na površino katetra ali epitelija in

začnejo tvoriti biofilm. V taki strukturi so bolj zaščitene pred urinskim izpiranjem, obrambnimi mehanizmi gostitelja in delovanjem antibiotikov. Poleg tega lahko z urinskim katetrom mehansko poškodujemo epitelij sečil in povzročimo dodatne zaplete. Slaba stran urinskih katetrov je tudi nepopolno delovanje, ko urin ostaja v mehurju. S tem se tam zadržujejo bakterije in razvijajo odpornost proti antibiotikom (Warren, 2001).

Inkontinenca pomeni nezmožnost zadrževanja urina in pripomore k pogostejšemu pojavljanju okužb sečil pri starejši populaciji. Poznamo popolno inkontinenco, kjer pri nepopolno zaprtem sfinktru (krožna mišica zapiralka, ki uravnava iztekanje urina iz sečnega mehurja) stalno uhaja urin. Prelivna inkontinenca nastane, ko je sečni mehur zaradi kroničnega oviranja pretoka prenapolnjen in urin nenehno kaplja. Poznamo tudi stresno inkontinenco, ki nastane pri ljudeh z oslabelemi mišicami. Urin jim uhaja le, ko se poveča intraabdominalni tlak (npr. pri kašlju). Pri okužbi sečil lahko pride do urgentne inkontinence, kjer bolniki ne morejo zadrževati urina več kot nekaj minut po prvem tiščanju na vodo (Slovenski medicinski e-slovar..., 2004). Približno 50-65 % oskrbovancev v domovih za ostarele ima urinarno inkontinenco. Dejavniki tveganja za inkontinenco so različni, največkrat pride do tega zaradi zmanjšanega gibanja in demence. To pomeni, da starejši ne morejo priti do toaletnih prostorov in nimajo motivacije oziroma pozabljajo, da morajo iti na potrebo. V domovih bi se morali truditi in oskrbovance pogosto siliti, da gredo na potrebo ter jim pri tem nuditi pomoč. Tako bi jih spodbujali in zmanjšali možnost nastanka inkontinence in s tem okužbe sečil (Schnelle in Leung, 2004).

2.3 POVZROČITELJI OKUŽBE SEČIL

Okužbe sečil v večini primerov povzročajo bakterije, lahko tudi virusi, glive in paraziti. Najbolj pomembni so po Gramu negativni bacili iz družine Enterobacteriaceae, ki so odgovorni za kar 70 % vseh okužb na sečilih (Murray in sod., 2002). *E. coli* je vodilna uropatogena vrsta, sledijo ji bakterije iz rodov *Staphylococcus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus* in *Enterococcus* (Ronald, 2002). *Candida albicans* in ostale vrste gliv se v ZDA pojavljajo pri 10 % pozitivnih vzorcev urina (Sobel in sod., 2000).

2.3.1 Enterobakterije

V družini Enterobacteriaceae najdemo več kot 130 vrst bakterij, od tega jih le okoli 20 povzroča več kot 95 % vseh okužb pri človeku (Murray in sod., 2002). Vsi so po Gramu negativni bacili, ki imajo bodisi aerobni bodisi fakultativno anareobni metabolizem. Fermentirajo glukozo, reducirajo nitrat, imajo encim katalaza in nimajo oksidaze. Najdemo jih povsod: v zemlji, v vodi, na rastlinah in v normalni črevesni flori človeka in živali (Petrovska, 2002). Največkrat omenjeni in že dalj časa poznani pri okužbah sečil so rodovi *Escherichia*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Citrobacter*, *Enterobacter* in *Providencia*. Večina le teh je del normalne bakterijske flore, ki se ob določenih pogojih, kot so starost, anatomske lastnosti, genetski dejavniki, vstavljeni katetri in druge bolezni, pritrdijo in izzovejo vnetje na sečilih.

2.3.1.1 *E. coli*

Največkrat omenjena in tudi najbolj tipična predstavnik družine Enterobacteriaceae je zagotovo *E. coli*. Uropatogeni sevi *E. coli* so najpogostejši povzročitelji okužb na sečilih. V mnogih raziskavah so pokazali, da je *E. coli* odgovorna za 75 do 95 odstotkov nezapletenih oblik okužb na sečilih (Stratchounski in Rafalski, 2006; Mehnert-Kay, 2005; Franco, 2005). Pri ljudeh starejših od 65 let, kjer so okužbe večinoma kronične in nanje vplivajo številni dejavniki, je ta odstotek pod 50 (Ribič in sod., 2003; Tal in sod., 2005). Glavni vir uropatogenih sevov *E. coli* je lastna črevesna flora (Andlovic, 2002a).

Sevi *E. coli*, ki povzročajo vnetja sečil, imajo specifične virulentne dejavnike, s katerimi se pritrdijo na epiteljske celice, povzročijo vnetje in se branijo pred gostiteljevimi obrambnimi mehanizmi (Petrovska, 2002). Pritrditev na površino sečil je prvi korak pri bakterijski kolonizaciji. Pri tem imajo glavno vlogo adhezini, ki jih delimo na proti manozi odporne in za manozo občutljive adhezine. Kot za manozo odporne adhezine obravnavamo fimbrije P, S in adhezine Dr. Fimbrije tipa 1 pa se v prisotnosti manoze ne vežejo na svoje receptorje in jih zato uvrščamo v za manozo občutljive adhezine (Johnson, 1991). Bakterijsko kolonizacijo pospešujejo še sproščanje toksinov v okolico, kot sta hemolizin in citotoksični nekrotizirajoči faktor 1 (CNF1), sinteza siderofora aerobaktina in tvorba kapsule tipa K1 (Marrs in sod., 2005).

Prve raziskave o vezavi *E. coli* na epiteljske celice sečnih poti segajo v pozna 70. leta prejšnjega stoletja. Svanborg Eden in sodelavci (1976) so primerjali vezavo bakterij *E. coli*, izoliranih iz urina bolnikov z akutnim pielonefritisom ali cistitisom, z bakterijami iz urina pacientov z asimptomatsko bakteriurijo. Ugotovili so, da je vezava bakterij na epiteljske celice sečil veliko večja pri bolnikih s pielonefritisom ali cistitisom. Tako so naredili prvi korak pri razumevanju bakterijske adherence pri okužbi sečil.

Pili ali fimbrije so odgovorni za vezavo uropatogenih sevov *E. coli* na epiteljske celice, kar sta dokazala že Svanborg Eden in Hansson (1978). Fimbrije P se specifično vežejo na receptor Gal(α 1-4)Gal β krvne skupine antigenov P. Ti receptorji so oligosaharidne enote na glikosfingolipidih v celičnih membranah eritrocitov in uroepiteljskih celic (Johnson, 1991). Fimbrije P se močno vežejo na endotelijske in epiteljske celice glomerulov in tubulov v ledvicah, šibkeje pa na epitelij sečnega mehurja. To je tudi razlog, da fimbrije P bolj povezujejo z okužbami zgornjega dela sečil, s pielonefritisom (Virkola in sod., 1988). Analog receptorja, globotrioza inhibira vezavo fimbrije P na receptor, medtem ko D-manoza nima vpliva na vezavo, zato spadajo fimbrije P v skupino proti manozi odpornih adhezinov (Korhonen in sod., 1986).

V isto skupino sodijo tudi adhezini Dr in fimbrije S. Družina adhezinov Dr obsega večje število afimbrijskih in fimbrijskih adhezinov. Pomembni so afimbrijska adhezina AFA-I in AFA-III, adhezini Dr, Dr-II in F-1845, ki se najpogosteje pojavljajo pri sevih, izoliranih iz

urina bolnikov s cistitisom. Vsi se vežejo na receptor DAF (*angl.* decay-accelerating factor) na epiteljskih celicah, le adhezini Dr se poleg tega veže še na kolagen tipa IV (Nowicki in sod., 2001).

Fimbrije S se tudi pojavljajo pri uropatogenih sevih *E. coli*. Vežejo se na sialil galaktozid epiteljskih celic ledvic in sečnega mehurja (Virkola in sod., 1988). Bolj kot pri okužbah sečil pa imajo kot virulentni dejavniki pomembno vlogo pri meningitisu in neonatalni sepsi (Korhonen in sod., 1985).

Kar 90 % patogenih in komezalnih sevov *E. coli* izraža fimbrije tipa 1, ki so sestavljene iz glavne podenote FimA in adhezinske molekule FimH na koncu fimbrije. Receptor za fimbrije predstavljajo manozni ostanki, tako da se ob dodatku D-manoze vezava bakterije in receptorja prekine (Johnson, 1991). Podatki o vezavi na epiteljske celice ledvic in mehurja v eni od raziskav so pokazali, da fimbrije tipa 1 niso najpomembnejši virulentni dejavniki pri pielonefritisu ali cistitisu (Virkola in sod., 1988). Fimbrije ob vezavi na nevtrofilce spodbujajo njihovo fagocitno aktivnost, zato je vnetje močnejše in lahko se razvije tudi fibroza (Petrovska, 2002). Odstotek fimbrij povezanih s pielonefritisom, cistitisom ali asimptomatsko bakteriurijo se razlikuje od raziskave do raziskave (Johnson, 1991), tako da fimbrij ne moremo povezati z določeno obliko okužbe. Pomembne pa so tudi pri okužbah, ki nastanejo zaradi dolgotrajno vstavljenega urinskega katetra. Pogostost izražanja fimbrij tipa 1 je bolj pogosta pri izolatih iz urina bolnikov z dalj časa vstavljenim katetrom, kot pri izolatih bolnikov z vstavljenim katetrom manj kot en teden (Mobley in sod., 1987).

E. coli začne po vdoru v sečila sproščati tudi toksin hemolizin α , ki povzroča razpad eritrocitov (Johnson, 1991) in vnetni odgovor (Marrs in sod., 2005). Poleg hemolizina je pomemben virulentni dejavnik pri okužbah sečil še toksin CNF 1. Dokaz za to je raziskava, kjer so našli 31-48 % izolatov z genom *hly* za hemolizin v urinu bolnikov in le 15 % izolatov s tem genom v fecesu. Ravno tako je bil CNF 1 bolj pogost pri izolatih iz urina bolnikov kot pri vzorcih fecesa (Marrs in sod., 2002).

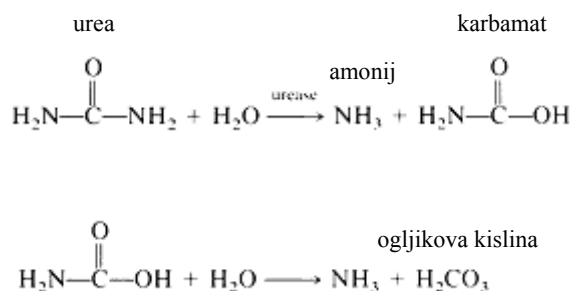
Za prevzem železa iz okolice *E. coli* uporablja hidroksamatni siderofor aerobaktin. Ta virulentni dejavnik mnogi povezujejo z resnimi okužbami, saj omogoča rast bakterij v razmerah z majhnimi koncentracijami železa (Johnson, 1991). *E. coli* lahko poleg aerobaktina sprošča tudi fenolatni tip sideroforja, enterobaktin, vendar so bakterije z aerobaktinom bolj virulentne. Razlog je v načinu vezave železa. Enterobaktin veže železo, ki je vezano na serumskem transferinu, aerobaktin pa železo v gostiteljevih celicah ali tkivih, kar poveča invazivnost bakterij (Brock in sod., 1991).

Pred obrambnimi mehanizmi gostitelja se *E. coli* zaščiti s polisaharidno kapsulo. Poznamo več kot 80 tipov kapsule, med katerimi je najpogostejši K1 pri uropatogenih in fekalnih sevih. Kapsula K1 ščiti bakterijo pred fagocitozo in aktivacijo komplementa (Petrovska, 2002). Sevi s to kapsulo so bolj pogosto prisotni v urinu bolnikov s pielonefritisom, kot pri bolnikih z ostalimi oblikami okužbe sečil.

2.3.1.2 *Proteus* spp.

Iz rodu *Proteus* sta kot povzročitelja okužb sečil pomembna *P. vulgaris* in *P. mirabilis*. Oba prepoznamo po značilnem rojenju na krvnem agarju in posebnem vonju (Andlovic, 2002b). V tekočem gojišču je *P. mirabilis* v obliki vegetativne, plavajoče celice, medtem ko se v trdem in bolj viskozem mediju diferencira v daljšo in roječo obliko z velikim številom flagelov. *P. mirabilis* v prvi vrsti povzroča zapletene oblike okužb sečil pri bolnikih z anatomskimi nepravilnostmi sečil in z vstavljenimi urinskimi katetri (Moblely in Belas, 1995).

Podobno kot *E. coli* tudi *P. mirabilis* izloča hemolizin, ki mu omogoča širjenje do ledvic. Najbolj pomemben dejavnik, ki ločuje *P. mirabilis* od drugih vrst v družini enterobakterij, je visoka aktivnost encima ureaze (Coker in sod., 2000). Ureaza katalizira reakcijo hidrolize uree do amonija in karbamata, kar prikazuje slika 1. Karbamat se hidrolizira naprej do ogljikove kisline in druge molekule amonija. Amonij prevzame proton iz molekule vode in zviša se pH urina.



Slika 1: Prikaz reakcije hidrolize uree do amonija (Mobley in Hausinger, 1989: 86).

Zvišanje pH iz 6,5 na 9,0 povzroči obarjanje dveh polivalentnih ionov, Mg^{2+} in Ca^{2+} , ki sta v normalnih razmerah topna v urinu. Rezultat tega je nastanek kristalov, struvita ($\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) in karbonat apatita [$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6 \text{CO}_3$] (Mobley in Hausinger, 1989). Združitev teh kristalov povzroči nastanek ledvičnih kamnov, ki lahko precej zapletejo okužbo pri bolniku, saj lahko kamni ovirajo odtekanje urina iz sečnega mehurja. Poleg tega ima *P. mirabilis* veliko koristi, saj je obdan s kamni in tako zaščiteno pred antibiotiki in obrambnimi mehanizmi gostitelja. Nenazadnje pa so lahko tudi večje količine amonija toksične za gostiteljeve celice in povzročajo poškodbo tkiva (Coker in sod., 2000). Sevi, ki imajo zapis za ureazo, so dokazano bolj virulentni in vedno prisotni pri pielonefritisu, povzročenemu s *P. mirabilis*. Jones in sod. (1990) so na miših primerjali mutante *P. mirabilis*, ki so imele mutacijo na genu *ure* (zapis za ureazo) s starševskim sevom. Dokazali so, da so sevi, ki ne izločajo ureaze, manj virulentni in ne povzročajo ledvičnih kamnov.

Pri patogenezi so poleg ureaze pomembne tudi fimbrije in adhezini, predvsem MR/P (*angl.* mannose-resistant/*Proteus-like*), PMF (*angl.* *P. mirabilis* fimbria), ATF (*angl.* ambient temperature fimbria), NAF (*angl.* non-agglutinating fimbria) in PMP (*angl.* *P. mirabilis* P-like pilus) (Mobley in Belas, 1995; Coker in sod., 2000). Od teh je najbolj poznana in pomembna fimbrija MR/P, ki aglutinira eritrocite v prisotnosti manoze. S pomočjo mutante na genu *mrpA*, ki kodira fimbrijo MR/P, so dokazali pomen te fimbrije pri kolonizaciji epitelijskih celic v sečnem mehurju in ledvicah miši (Bahrani in sod., 1994). Pomembno vlogo ima tudi pri sami patogenezi pielonefritisa, saj 63 % sevov *P. mirabilis*, ki povzročajo pielonefritis, izraža fimbrije MR/P.

P. mirabilis lahko preživi v okolju, revnim z železom, čeprav ne sintetizira običajnih sideroforov kot *E. coli*. Za prevzem železa uporablja α -keto kislino, ki pa s Fe^{3+} ne tvori zelo stabilnega kompleksa. Kljub temu predstavljata dovolj učinkovit sistem za transport železa v bakterijsko celico. Koncentracija α -keto kisline močno naraste zaradi aminokislinske deaminaze, ki katalizira reakcijo deaminacije aminokislin v α -keto kislino. Poleg *P. mirabilis* imajo aminokislinsko deaminazo še rodovi *Providencia* in *Morganella*, medtem ko je *E. coli* nima (Drechsel in sod., 1993). Gen *aad*, ki kodira zapis za aminokislinsko deaminazo, ni reguliran s koncentracijo železa v okolju, kar kaže na dodatne funkcije tega encima v celični presnovi. Ker je gen *aad* bistvenega pomena za delovanje celične presnove, je z mutacijo težko dokazati njegovo dokončno vlogo pri okužbi, kar ne izključuje vloge α -keto kisline pri prevzemu železa. Predvidevamo lahko le, da mutacija tega encima povzroči propad bakterije (Massad in sod., 1995).

Ena izmed strategij pri patogenezi *P. mirabilis* je izmikanje obrambnim mehanizmom gostitelja. V ta namen sprošča v okolje encim proteazo IgA, imenovan tudi metaloproteaza ZapA (Walker in sod., 1999), ki cepi imunoglobuline A (IgA) v sluznici sečil (Senior in sod., 1987). Encim cepi oba izotipa imunoglobulina A, IgA1 in IgA2, poleg tega pa še protitelesa IgG na dva fragmenta Fab in Fc. Bakterija, ki ima na svoji površini vezane fragmente Fab cepljenih imunoglobulinov, je varna pred vezavo gostiteljevih protiteles (Loomes in sod., 1990). Metaloproteaza ZapA cepi poleg imunoglobulina A in G širok spekter proteinov in peptidov, ki predstavljajo še boljši substrat. Eden izmed teh je antibakterijski peptid hBD1, ki sodeluje pri imunskem odzivu človeka (Belas in sod., 2004). ZapA se sprošča, kadar se bakterija diferencira v roječo obliko. Prepisovanje gena *zapA* se poveča pri prehodu iz plavajoče v roječo obliko celice *P. mirabilis*. V bistvu so vsi virulentni geni pod kontrolo regulatorja roječe oblike celice (Walker in sod., 1999).

2.3.1.3 *Klebsiella* spp.

Rod *Klebsiella* delimo v različne skupine O, glede na antigene O na lipopolisaharidu celične stene ter na različne serotipe K, glede na vsebnost polisaharidne kapsule (Mizuta in sod., 1983). Za človeka najbolj pomembni patogeni vrsti iz rodu *Klebsiella* sta *K. pneumoniae* in *K. oxytoca*. Sta oportunistični patogeni bakteriji, ki povzročata predvsem bolnišnične okužbe pri imunsko oslabljenih osebah in bolnikih s sladkorno boleznijo ali kroničnimi pljučnimi obolenji (Andlovic, 2002b). *K. pneumoniae* je najpogosteje povezana z bolnišničnimi okužbami sečil, pljučnico, sepsa in okužbami ran. Je pomemben povzročitelj okužb, saj je odgovorna za 6 do 17 % vseh okužb pri ljudeh (Schembri in sod., 2005). Najdemo jo povsod, v površinskih in odpadnih vodah, zemlji in rastlinah (Podschun in Ullmann, 1998).

Bakterije iz rodu *Klebsiella* imajo virulentne dejavnike, tako kot ostali predstavniki enterobakterij. Z njimi kolonizirajo epitelij in se branijo pred imunskim odzivom gostitelja. Poglavitna virulentna dejavnika sta fimbrija tipa 1 in polisaharidna kapsula (Matatov in sod., 1999; Struve in Krogfelt, 2003). Aminokislinsko zaporedje fimbrij tipa 1 je identično v 83 % pri *E. coli* in rodu *Klebsiella*, kar kaže na ohranjenost proteina med enterobakterijami (Jones in sod., 1995). Fimbrija tipa 1 ima pomembno vlogo pritrjevanja pri uropatogenih sevih *K. pneumoniae*, saj kar 10 od 11 izolatov iz urina izraža te fimbrije na svoji površini. To lahko primerjamo z izoliranimi sevi *K. pneumoniae* iz vzorcev krvi, kjer od 22 izolatov nobeden ni izražal fimbrij (Matatov in sod., 1999).

Pri obrambi pred gostiteljevim imunskim sistemom, predvsem fagocitozo in pri tvorbi biofilma je zelo pomembna tudi kapsula. Kapsula je debelejša pri *K. pneumoniae* (160 nm), kot pri *E. coli* (10 nm) (Amako in sod., 1988). Poznamo 77 različnih serotipov polisaharidne kapsule (Podschun in Ullman, 1998) in med njimi so najbolj virulentni sevi s kapsulama tipa K1 in K2 (Mizuta in sod., 1983). Zanimivo je dejstvo, da prisotnost kapsule pri *K. pneumoniae* močno ovira pritrjevanje na epiteljske celice v primerjavi s sevi, ki nimajo kapsule (Struve in Krogfelt, 2003). Kapsula ne zavira neposredno tvorbe fimbrijskih podenot, ampak samo njihovo delovanje. Regulacija fimbrij poteka na nivoju sestavljanja fimbrijskih podenot na zunanji membrani in ne na nivoju genske transkripcije

(Matatov in sod., 1999). Kapsula dejansko fizično ovira delovanje fimbrij tipa 1, tako da se adhezin FimH pokrije s polisaharidno plastjo, kar naredi fimbrijo neaktivno (Schembri in sod., 2005).

Poleg fimbrij tipa 1 so pri rodu *Klebsiella* prisotne še fimbrije tipa 3. Glavno podenoto teh fimbrij predstavlja protein MrkA, medtem ko polipeptid MrkD posreduje vezavo na receptor epitelijskih celic. Zapis za adhezinski del fimbrije MrkD nosi gen *mrkD*, ki ni ohranjen med vsemi vrstami *Klebsiella*, razen pri *K. oxytoca* (Schurtz in sod., 1994). Kljub temu skoraj vsi izolati *K. pneumoniae* izražajo fimbrije tipa 3 (Sebghati Schurtz in sod., 1998). Take seve najdemo predvsem pri okužbah sečil in dihalnih poti, iz česar lahko sklepamo na pomen fimbrij tipa 3 pri okužbah. Pomembno vlogo pa ima tudi pri tvorbi biofilma in vitro (na mikrotiterskih ploščah). Izolati *K. pneumoniae*, ki na svoji površini izražajo fimbrije tipa 3, imajo večjo sposobnost tvorbe biofilma, kot pa mutante brez fimbrij. Pri tem ni nujna prisotnost adhezina MrkD, ki je pa po drugi strani nujen za pritrjevanje bakterij na epitelijske celice (Langstraat in sod., 2001).

Za prevzem železa, ki je nujno potreben za rast, skoraj vse vrste iz rodu *Klebsiella* uporabljajo enterobaktin in le nekatere aerobaktin. Aerobaktin predstavlja pomemben virulentni dejavnik (Nassif in Sansonetti, 1986), medtem ko izolati *Klebsiella*, ki sproščajo enterobaktin, niso nič bolj virulentni od izolatov brez enterobaktina. Drugače pa ima enterobaktin večjo afiniteto za vezavo železa kot aerobaktin (Podschun in Ullman, 1998), ravno tako kot pri *E. coli* (Brock in sod., 1991).

2.3.1.4 *Morganella* spp.

Edina vrsta v rodu *Morganella* je *M. morganii*, ki so jo včasih uvrščali skupaj z rodovoma *Proteus* in *Providencia* v skupino *Proteae*. Obstajata še dve podvrsti *morganii* in *sibonii* (O'Hara in sod, 2000). Je oportunistični patogeni mikroorganizem, ki povzroča predvsem sekundarne bolnišnične okužbe. Najdemo jo kot povzročiteljico okužb sečil pri starejših bolnikih z dalj časa vstavljenim urinskim katetrom (Mobley in Warren, 1987). Poleg tega povzroča okužbe ran in verjetno tudi prebavil (Andlovic, 2002b). V preteklosti je bilo objavljenih že nekaj epidemij z *M. morganii* v bolnišnicah, zaradi česar so bolnikom podaljšali bivanje, zaradi okužb ran in sečil (Tucci in Isenberg, 1981; Williams in sod., 1983).

M. morganii je po svojih lastnostih zelo blizu rodovoma *Proteus* in *Providencia*, predvsem po sproščanju encima ureaze. Ureaza se pri vrstah *Proteus* in *Providencia* razlikuje po nekaterih biokemičnih in genskih lastnostih. Ureaza pri *M. morganii* ima največjo afiniteto do substrata, je bolj odporna na inhibitorje ureaze in ima drugačen optimalni pH delovanja kot *Proteus* spp. (Rosenstein in sod., 1981). Encim pri *P. mirabilis* ima najnižjo afiniteto do substrata, vendar šest do trinajstkrat večjo stopnjo hitrosti hidrolize uree. To nam pojasni, zakaj *P. mirabilis* tako pogosto povzroča sečne in ledvične kamne. V primerjavi z ostalima rodovoma je molekulska masa tega encima (712 kDa) največja pri *M. morganii*. Po hibridizaciji DNK *M. morganii* s sondo gena za ureazo bakterije *Providencia stuartii*, je podobnost genov le 2-%. Kljub temu, da gre med rodovi za funkcijsko enak encim, je genska raznolikost precej velika, kar jih ločuje v različne rodove (Jones in Mobley, 1987).

2.3.1.5 Ostali povzročitelji okužb sečil

Poleg zgoraj naštetih patogenih bakterij, obstajajo še druge patogene vrste enterobakterij, ki povzročajo okužbe sečil. Pojavljajo se bolj poredko in zato se jim ne posveča tolikšna pozornost kot na primer *E. coli*. Kot take mikroorganizme lahko omenimo bakterije iz rodov *Providencia*, *Citrobacter* in *Enterobacter*. Večinoma povzročajo okužbe pri imunsko oslabljenih bolnikih.

Iz rodu *Providencia* iz urina bolnikov izoliramo dve vrsti: *Providencia rettgeri* in *P. stuartii*. Obe vrsti največkrat najdemo pri starejših bolnikih z vstavljenim urinskim katetrom. Povzročata lahko tudi bolnišnične okužbe sečil (Whiteley in sod., 1977). Poleg tega sta lahko prisotni v brisih ran.

Rod *Citrobacter* obsega enajst vrst, ki lahko poleg okužb sečil povzročajo tudi meningitis, bakteriemijo, pljučnico in okužbe ran (Andlovic, 2002b). Vir teh bakterij je črevesje, drugače pa živijo tudi v naravi, v zemlji in vodi. Okužbe povzročajo predvsem pri novorojenčkih, otrocih in imunsko oslabljenih odraslih osebah s primarnimi boleznimi. *Citrobacter* je pomemben patogeni mikroorganizem, saj lahko povzroči resne bolnišnične okužbe. Poleg tega pa je v večini odporen na antibiotike, ki se predpisujejo pri običajnem zdravljenju (Mohanty in sod., 2007).

Med enajstimi vrstami iz rodu *Enterobacter* so pomembne povzročiteljice bolnišničnih in oportunističnih okužb *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae* in *Enterobacter agglomerans*. Poleg okužb sečil lahko povzročajo okužbe dihal, ran in krvi, za katere so bolj dovzetni imunsko oslabljeni bolniki. *E. aerogenes* in *E. cloacae* sta del normalne črevesne flore pri ljudeh in živalih, druge vrste pa najdemo tudi v zemlji in vodi (Andlovic, 2002b).

2.4 DIAGNOSTIKA POVZROČITELJEV OKUŽBE SEČIL

2.4.1 Odvzem in transport vzorca urina

Za mikrobiološko analizo urina potrebujemo srednji curek jutranjega urina. Normalno odvzet urin po metodi čistega mokrenja prestrežemo med uriniranjem. Pomembno je, da je vzorec vzet pravilno, saj je drugače lahko v urinu prisotna normalna flora spolovil. Pri bolnikih z vstavljenim urinskim katetrom ni primerno jemati urina iz zbirne vrečke. Zaradi ugodnih pogojev za razmnoževanje je v vrečki število mikroorganizmov na ml mnogo večje, kot je v resnici. Urin mora biti odvzet iz katetra, po katetru ali cistoskopsko. Najbolj invazivna metoda odvzema urina je suprapubična punkcija (aspiracija), kjer z iglo skozi trebušno steno neposredno aspiriramo urin iz mehurja. Je nevarna metoda in se izvaja zelo poredko, vendar z njo dobimo najmanj lažnih pozitivnih rezultatov (BSOP 41, 2007; Petrovska, 2002). V najkrajšem možnem času mora biti urin prenesen v mikrobiološki laboratorij. V primeru odloženega transporta lahko vzorec hranimo največ eno uro na sobni temperaturi ali 24 ur v hladilniku pri temperaturi 4 °C (Dermota in Grmek-Košnik, 2001).

2.4.2 Mikrobiološke metode pri preiskavi urina

2.4.2.1 Preiskava urina po Sanfordu

S kvantitativno preiskavo po Sanfordu opredelimo vrsto in število bakterijskih kolonij, kar je vodilo pri zdravljenju okužbe sečil. Za preiskavo zadostuje že 5 ml urina, ki ga je potrebno analizirati v dveh urah po odvzemu. Urin nacepimo na gojišče CLED, imenovano tudi Sanford agar. Rezultat podamo v enotah, ki tvorijo kolonije na ml (CFU/ml). Po pregledu zraslih kolonij in njihove morfologije na ploščah, lahko že sumimo na povzročitelja (BSOP 41, 2007). V primeru, ko najdemo na gojišču več vrst kolonij, ki se razlikujejo po morfologiji, moramo biti še posebej pozorni. Tak rezultat lahko nakazuje na kontaminiran urin z bakterijami iz normalne flore in najbolje je, da zahtevamo ponovni odvzem vzorca. Previdni pa moramo biti tudi na možnost pojava polibakteriurije, predvsem pri starejši populaciji. To je prisotnost dveh ali največ treh različnih vrst bakterij v urinu, ki povzročajo okužbo. Pri preiskavi urina bolnika z vstavljenim urinskim

katetrom, lahko pričakujemo tudi tri različne vrste bakterij. Včasih pride v laboratorij že nacepljen vzorec iz zdravstvenega doma ali bolnišnice na semikvantitativnem testu (Uricult[®]). Vidne kolonije na testu preštajemo na strani, kjer je gojišče za po Gramu negativne bakterije in ocenimo število kolonizirajočih enot na ml (CFU/ml). Število ocenimo po tabeli, ki je priložena v navodilih proizvajalca (Lindič, 2003).

2.4.2.2 Biokemični testi

Preiskavi po Sanfordu sledi izolacija povzročitelja in njegova biokemična identifikacija z različnimi testi. Eden izmed njih je test IMVC, sestavljen iz štirih posameznih testov (indol, metil rdeče, Voges-Proskauer in citrat). Uporablja se za identifikacijo enterobakterij do vrste. Vsaka vrsta ali rod ima značilne pozitivne ali negativne rezultate testa IMVC, glede na njihove biokemične lastnosti. Na podlagi tega jih med seboj ločimo in identificiramo (MacFaddin, 2000). Poleg testa IMVC obstajajo še komercialni testi za identifikacijo enterobakterij. So zelo enostavni in hitri testi, s katerimi si lahko pomagamo pri identifikaciji bakterij, kjer so rezultati testa IMVC nedoločeni.

2.4.2.3 Ugotavljanje bakterijske občutljivosti (metoda disk difuzije)

Občutljivost bakterij ugotavljamo z metodo disk difuzije po standardni metodi, ki jo določa ameriški standard CLSI (*angl.* Clinical and Laboratory Standards Institute) (CLSI M2-A9, 2006). Izbira najbolj primernih antibiotikov za preverjanje občutljivosti je zelo pomembna. Določi jih vsak laboratorij posebej skupaj z zdravniki in priporočili v določenih standardih, kot je ameriški CLSI. Za izvajanje antibiograma za enterobakterije je najbolj primerno gojišče MHA (Mueller-Hinton Agar), ker omogoča rast večini nezahtevnih patogenih mikroorganizmov. Glede na merila za občutljivost, ki so zapisana v standardu CLSI, določimo ali je sev odporen, občutljiv ali pa zmerno občutljiv. Da zagotovimo zanesljive in natančne rezultate metode, moramo zraven vedno vključiti tudi kontrolni sev. Za vsak kontrolni sev je v standardu CLSI točno določen premer cone inhibicije za posamezen antibiotik. Tako se izognemo nepravilni interpretaciji rezultatov in ob sumljivih rezultatih lahko takoj preverimo ali je morebiti kaj narobe z reagenti.

2.5 ZDRAVLJENJE OKUŽBE SEČIL

2.5.1 Izkustveno zdravljenje

Zdravnik posumi na okužbo sečil, kadar se bolnik pritožuje nad bolečinami v trebušnem predelu in pekočim občutkom med uriniranjem. Glede na okoliščine, torej starost bolnika, primarne bolezni, predhodno zdravljenje z antibiotiki in preobčutljivost na zdravila mora zdravnik oceniti situacijo in presoditi ali gre za zapleteno obliko ali nezapleteno obliko okužbe. Pomembno je tudi takoj ugotoviti mesto okužbe, to je na spodnjih ali zgornjih sečilih. Največkrat se zdravniki odločijo za izkustveno (empirično) zdravljenje, kar pomeni takojšnje ukrepanje pred mikrobiološko preiskavo urina. Glede na lokalizacijo okužbe predpišejo antibiotik ob predpostavki, da je povzročitelj predvidljiv in ima poznano občutljivost na antibiotike. Bakterijska odpornost na izbrani antibiotik v populaciji ne sme presežati 10 do 20 % (Lindič, 2003). Za izbiro pravega antibiotika si zdravniki pomagajo s priporočili za uporabo protimikrobnih zdravil, ki jih izda posebna komisija za antibiotike (Čižman in sod., 2006). Smernice zdravljenja se priporočajo glede na ugotovljeno razvito odpornost uropatogenih bakterij na posameznem geografskem področju. Kar 80 do 90 odstotkov vseh antibiotikov v humani medicini se predpisuje v ambulantah. Možnost, da izbrani antibiotik ni ustrezen, da je predpisan v nepravilnem odmerku ter da je število odmerkov in trajanje zdravljenja neustrezno, je veliko. Neprimerno antibiotično zdravljenje lahko povzroči nepotrebne stranske učinke ter razvoj odpornih bakterij pri bolniku in njegovi širši okolici (Čižman in Beovič, 2002).

V Sloveniji je prva izbira antibiotičnega zdravljenja za okužbe sečil kombinacija trimetoprima in sulfametoksazola (TMP/SMX), znana pod imenom kotrimoksazol (Lindič, 2003). TMP/SMX se kot prva izbira uporablja pri ambulantnem zdravljenju v zdravstvenih domovih in domovih za starejše občane (Mijoč, 2007; Rade-Humar, 2007). Terapija za okužbe sečil s tema antibiotikoma je vodilna že zadnjih 20 let, zato je moč pričakovati vse večjo odpornost bakterij proti TMP/SMX (Nicolle, 2002). Kombinacija teh dveh antibiotikov je učinkovita za okužbe sečil, ker je njuna koncentracija v nožničnih izločkih med zdravljenjem zelo visoka, odstranitev *E. coli* in drugih patogenih mikroorganizmov zelo dobra, na drugi strani pa je učinek na normalno floro spolovil minimalen (Lindič,

2003). Okužbe sečil izkustevno zdravimo s TMP/SMX na področjih, kjer je razširjenost odpornih sevov na ta antibiotika manj kot 20 %. V Sloveniji je občutljivost sevov *E. coli* v povprečju še nad 80 %, vendar je ponekod že slabša, predvsem v domovih za starejše občane, kjer je uporabnost antibiotikov precej visoka (Čižman in sod., 2006).

Druga izbira pri izkustvenem zdravljenju okužb sečil so fluorokinoloni, ki so ravno tako zelo primerni. Fluorokinoloni (ciprofloksacin, fleroksacin, lomefloksacin, ofloksacin in norfloksacin) so enako učinkoviti kot TMP/SMX pri tridnevem zdravljenju (Naber, 2001). Zaradi visoke cene teh antibiotikov so šele druga možnost izbire, razen v primerih odpornosti in alergij na antibiotike prve izbire. Delujejo na girazo in topoizomerozo, ki sta potrebni za pomnožitev bakterijske DNK. Delimo jih na štiri generacije. Na po Gramu negativne bakterije dobro delujejo fluorokinoloni druge generacije, v katero spadajo ciprofloksacin, norfloksacin, pefloksacin in ofloksacin (Čižman in Beovič, 2002). Tridnevno zdravljenje s ciprofloksacinom pri ženskah z akutno okužbo sečil je ravno tako učinkovito kot isto trajajoče zdravljenje s TMP/SMX (McCarty in sod., 1999). Za zdravljenje s fluorokinoloni se zdravniki odločajo pri alergijah na TMP/SMX, empirično pri akutnem pielonefritisu, ponavljajočih okužbah, pri sumu na zapleteno okužbo, pri poznani predhodni odpornosti proti TMP/SMX in pri sumu na okužbo z bakterijami iz rodu *Pseudomonas* ali *Serratia* (Lindič, 2003).

2.5.2 Usmerjeno zdravljenje

Najbolj zanesljivo je usmerjeno zdravljenje, kjer je po mikrobiološki preiskavi urina znan povzročitelj in njegova občutljivost za antibiotike. V praksi bi bil samo tak način zdravljenja nesmiseln, ker preiskave lahko trajajo več dni, cilj zdravljenja pa je čim prejšnje ukrepanje in odprava okužbe. Skoraj vedno se najprej zdravi okužbo glede na klinično sliko in smernice zdravljenja. Vzporedno se da v analizo še urin ali pa se ga da pregledati šele po neuspelem prvotnem zdravljenju. Usmerjeno zdravljenje je priporočeno pri zapletenih oblikah okužbe, kjer so bolniki starejši ljudje, imunsko oslABLJENE osebe, nosečnice, moški, sladkorni bolniki, bolniki s trajnimi urinskimi katetri, s funkcijskimi ali

strukturnimi nepravilnostmi sečil, z nedavnimi urološkimi preiskavami in operacijami (Čižman in sod., 2006).

2.5.3 Priporočila za zdravljenje okužb sečil

Asimptomatske bakteriurije brez pregleda urina sploh ne opazimo. Po ameriških smernicah IDSA (*angl.* Infectious Diseases Society of America) asimptomatske bakteriurije pri zdravih ljudeh, sladkornih bolnicah, starejših ljudeh in bolnikih z vstavljenim urinskim katetrom praviloma ne zdravimo oziroma zdravljenje ne doprinese k zmanjšanju tveganja za nastanek simptomatske oblike okužbe (Nicolle, 2006). Izjemo predstavljajo le nosečnice, ki lahko z asimptomatsko bakteriurijo tvegajo nastanek simptomatske okužbe in s tem tudi možnost prezgodnjega rojstva otroka. Poleg nosečnic je potrebno odkriti in zdraviti asimptomatsko bakteriurijo še pri bolnikih pred urološkimi posegi, saj se tako močno zmanjša možnost nastanka simptomatske oblike okužbe in tudi sepse. Problem pri teh bolnikih lahko nastane zaradi prezgodnjega začetka zdravljenja asimptomatske bakteriurije, saj se lahko do posega razvijejo še bolj odporne bakterije. V tem primeru priporočajo zdravljenje 3 dni ali manj pred posegom (Nicolle, 2006).

Za akutno nezapleteno obliko okužbe sečnega mehurja je prva izbira TMP/SMX. Zdravljenje poteka 3 dni oziroma 7 dni za vse moške bolnike, sladkorne bolnice, bolnice s simptomi, ki trajajo več kot 7 dni in za ženske, pri katerih je bilo preteklo zdravljenje neučinkovito. Pri alergijah in dokazanih odpornostih proti TMP/SMX se predpisujejo norfloksacin, ciprofloksacin ali levofloksacin. Če se v dveh tednih ponovijo simptomi, je potrebno bolnika napotiti k specialistu (Čižman in sod., 2006). Preizkušajo se tudi drugi antibiotiki za zdravljenje nezapletenih oblik okužb in eden izmed njih je fosfomicin trometamol (FT). Učinkovitost tridnevnega zdravljenja s FT je v primerjavi s pet ali sedemdnevnim zdravljenjem s trimetoprimom, cefaleksinom ali norfloksacinom enaka ali malenkost boljša (Lobel, 2003).

Bolnike z akutnim pielonefritisom je potrebno nujno napotiti v bolnišnico, če gre za težjo klinično sliko, če bolnik ne more zaužiti peroralnih oblik antibiotikov in če ambulantno

zdravljenje po 48-72 urah ni učinkovito. Drugače pa se pri blagi obliki akutnega pielonefritisa, ki ga povzročajo predstavniki enterobakterij, enterokoki ali *S. saprophyticus* v ambulantah kot prva izbira predpiše ciprofloksacin. Druge alternativne možnosti so levofloksacin, amoksiklav, cefuroksim in TMP/SMX. Na možno odpornost bakterij moramo biti pri okužbi ledvic še posebej pozorni, ker je taka okužba precej bolj resna in huda. Vsi priporočeni antibiotiki so na razpolago v peroralni in paranteralni obliki. Za zdravljenje doma je primerno le peroralno zdravljenje, v bolnišnicah pa se dajejo tudi paranteralne oblike zdravil, glede na situacijo in resnost bolezni pri bolniku. Zdravljenje akutnega pielonefritisa ponavadi poteka 14 dni, le pri ponovitvi bolezni po dveh tednih ali več je potrebno 4 do 6 tednov dolgo zdravljenje (Čižman in sod., 2006).

Pri bolnišnični okužbi sečil in zapletenih okužbah je potrebno vedno dokazati povzročitelja s semikvantitativno preiskavo urina. Zdravljenje priredimo povzročitelju in njegovi odpornosti proti antibiotikom. Pri okužbi, ki jo povzročijo odporne po Gramu negativne bakterije, *P. aeruginosa*, enterokoki in stafilokoki je prva izbira zdravljenja v bolnišnici paranteralna oblika gentamicina. Alternativa gentamicinu je antibiotik v peroralni obliki, izbran glede na občutljivost povzročitelja. Kot druga možnost izbire antibiotikov v paranteralni obliki so ciprofloksacin, cefepim in piperacilin s tazobaktamom. Če ni možno dajanje antibiotika v paranteralni obliki obstajajo peroralne oblike ciprofloksacina, ceftibutena ali cefiksima kot alternativa. Pri bolnikih z vstavljenim urinskim katetrom je primerno antibiotično zdravljenje le v primeru simptomov bolezni. Če je možno mu odstranimo urinski kateter ali ga vsaj zamenjamo z novim (Čižman in sod., 2006).

Pri ocenjevanju uspešnosti zdravljenja moramo gledati, ali je prišlo do ozdravitve, neuspešnega zdravljenja, relapsa ali reinfekcije. Zdravljenje je uspešno, če bolnika ozdravimo vseh simptomov že pri prvem zdravljenju s kemoterapevtiki. Če se simptomi kljub terapiji še vedno pojavljajo, je zdravljenje neuspešno in je potrebno ukrepati drugače. Vzrok neuspeha je največkrat razvita odpornost povzročitelja na uporabljeni antibiotik. Včasih pa se zgodi, da se kljub izginotju bakteriurije in simptomov pri bolnikih le-ti ponovijo po nekaj dneh ali tednih. Ločimo dve obliki ponovne okužbe glede na čas nastanka ponovnih simptomov, relaps in reinfekcijo. Relaps imenujemo ponovno okužbo, ki nastane v prvih dveh tednih po končanem zdravljenju. Povzroči jo ista bakterija kot

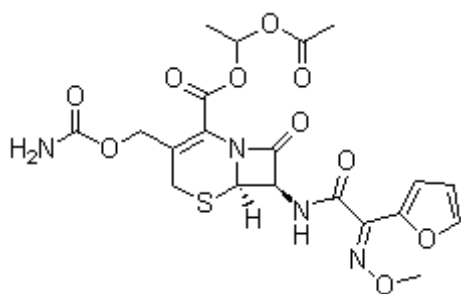
prvotno okužbo, ker jo s pomočjo antibiotikov nismo popolnoma odstranili. Relaps se pogosto dogaja pri bolnikih z ledvičnimi kamni, s cističnimi ledvicami, z brazgotinastimi ledvicami in pri bakterijskem prostatitisu, kjer bakterije ostajajo skrite v žariščih (Lindič, 2003). Reinfekcija pa je nova okužba, ki nastane po dveh tednih končanega zdravljenja prvotne okužbe, zaradi istega povzročitelja ali kadarkoli zaradi drugega povzročitelja. Je bolj pogosta oblika ponovitve, saj jo najdemo v 80 % primerov ponavljajočih okužb sečil. Velikokrat pa je v praksi nemogoče ugotoviti ali gre za relaps ali reinfekcijo (Franco, 2005).

2.5.4 Cefuroksim in cefiksim

Cefiksim in cefuroksim sta antibiotika, ki sodita v skupino cefalosporinov. To so betalaktamski antibiotiki, za katere je značilen šestčlenski betalaktamski obroč, ki vsebuje žveplo. Med seboj se razlikujejo po različnih skupinah na položaju 3 in 7 na betalaktamskem obroču. Na bakterije delujejo baktericidno, ker zavirajo sintezo celične stene. Vplivajo na uvrščanje N-acetilmuraminske kisline in N-acetilglukozamina v peptidoglikansko verigo, ki je osnovna sestavina celične stene. Antibiotik se veže na penicilin vežoče proteine (PBP) ali encime na citoplazemski membrani, ki so pomembni za zamreženje sestavin bakterijske stene. Tako se v bakteriji kopičijo osnovne sestavine, kar sproži bakterijski avtolitični sistem, ki razkroji celico. Cefalosporine delimo v štiri generacije, ki se med seboj razlikujejo predvsem po spektru delovanja, načinu dajanja, metabolični stabilnosti in odpornosti proti delovanju laktamaz beta (Kotnik, 2002). V tej raziskavi smo primerjali učinkovitost delovanja cefiksima in cefuroksima na enterobakterije, ki povzročajo okužbe sečil. Zaradi visoke cene cefalosporinov in dobre učinkovitosti drugih antibiotikov, se zaenkrat še ne uporabljajo pogosto pri zdravljenju okužb sečil. Občutljivost bakterij za njuno delovanje je zato še dokaj visoko. Oba antibiotika naj bi bila primerna za starejšo populacijo ljudi, saj ne obstajajo nobeni zapisi, ki bi temu nasprotovali. Previdnost pri odmerjanju velja upoštevati le pri bolnikih z ledvično okvaro.

2.5.4.1 Cefuroksim aksetil

Cefuroksim je antibiotik II. generacije cefalosporinov. Sam cefuroksim se uporablja za paranteralno zdravljenje. Ester cefuroksima, 1-acetiloksetil (aksetil), pa je zaradi boljše absorpcije iz prebavil v oralni obliki (slika 2). Ta antibiotik se uporablja za zdravljenje okužb zgornjega dela dihal (tonzilitis, sinusitis, vnetje srednjega ušesa), okužb spodnjega dela dihal (akutni bronhitis, pljučnica), okužb sečil, okužb kože in mehkih tkiv ter akutnega in nezapletenega gonokoknega uretritisa in cervicitisa (vnetja sluznice materničnega vratu), podobno kot cefiksimum (preglednica 2). Bolniki z okužbo sečil dobijo eno tableto po 125 mg dvakrat na dan, v primerjavi s cefiksimumom, ki ga dobijo le enkrat na dan (Novocef[®] tablete..., 2007). Antibiotik se uporablja tudi za peroralno nadaljevanje zdravljenja s cefuroksimumom (Čižman in Beović, 2002).



Slika 2: Kemijska struktura cefuroksim aksetila (O'Neil in sod., 2006).

Absorpcija cefuroksim aksetila iz prebavil je najboljša, če se zdravilo vzame takoj po jedi, saj se ga absorbira od 40 do 60 %. Kadar se ga vzame na tešče je biološka uporabnost manjša, 30 do 40 %. Najprej ga v črevesni sluznici hidrolizirajo nespecifične esterase in se naprej v krvni obtok sprošča učinkovit cefuroksim. Na plazemske beljakovine se veže od 40 do 50 % cefuroksima. Biološka razpolovna doba zdravila je ena do dve uri. Z urinom se v 12 urah izloči 43 do 50 % odmerka (Novocef[®] tablete..., 2007).

Cefuroksim aksetil je zelo učinkovit za naslednje po Gramu negativne bakterijske vrste: *Moraxella catarrhalis*, *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus parainfluenzae*, *E. coli*, *Klebsiella* spp., *P. mirabilis*, *P. rettgeri*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Salmonella* spp., *Clostridium* spp. in *Fusobacterium* spp. Deluje tudi na večino po Gramu pozitivnih bakterij, kot so *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Streptococcus*

pneumoniae, *Streptococcus pyogenes* in *Streptococcus agalactiae*. Nekaj bakterij je naravno odpornih proti cefuroksimu. Sem spadajo nekateri sevi iz rodov *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp., *Serratia* spp., *M. morgani*, *Clostridium difficile*, *P. vulgaris* in drugi (Novocef® tablete..., 2007).

Neželeni učinki tega antibiotika se kažejo kot prebavne motnje (slabost, bruhanje, driska), glavobol, nemir, nespečnost, zmedenost in hiperaktivnost. Pojavijo se lahko tudi preobčutljivostne reakcije in psevdomembranski kolitis, vendar zelo redko. Kot pri ostalih antibiotikih iz skupine cefalosporinov se v redkih primerih lahko pojavi multiformni eritem, Stevens-Johnsonov sindrom in toksična epidermalna nekroliza (Novocef® tablete..., 2007). Nekatere lastnosti cefuroksima so prikazane v preglednici 2.

2.5.4.2 Cefiksim

Cefiksim je cefalosporin III. generacije, ki je na voljo za oralno uporabo v obliki tablet in suspenzije. Ena filmsko obložena tableta vsebuje 400 mg cefiksima, suspenzija pa 100 mg/ml. Uporaben je za začetno in nadaljevalno zdravljenje okužb, ki jih povzročajo za cefiksim občutljivi mikroorganizmi. Uspešno se uporablja pri akutnih okužbah zgornjega in spodnjega dela dihal (faringitis, tonzilitis, akutni bronhitis in akutno poslabšanje kroničnega bronhitisa, pljučnica, akutni in kronični sinusitis), akutnem vnetju srednjega ušesa, pri okužbi sečil, nezapleteni gonoreji in drugih okužbah. Prednost cefiksima pred ostalimi antibiotiki je enkratni dnevni odmerek po 400 mg. Lahko se tudi razdeli na dva enaka odmerka po 200 mg na 12 ur. Za zdravljenje okužb spodnjega dela sečil pri ženskah je priporočen enkratni odmerek 400 mg ali tridnevno zdravljenje, odvisno od resnosti okužbe (Pancef®..., 2007). Primeren je tudi za »switch« terapije, to je prehod iz parantalne na peroralno uporabo antibiotika.

Prednost pred ostalimi peroralnimi cefalosporini III. generacije je v tem, da ima spremenjeno kemijsko strukturo in s tem izboljšane farmakokinetične in mikrobiološke lastnosti. Farmakokinetične parametre izboljšuje vinilna skupina na položaju 3 na betalaktamskem obroču (slika 3). Zaradi nje ima cefiksim povečan odpor proti

Večina neželenih učinkov tega antibiotika je blagih in prehodnih. Najpogosteje se pojavljajo prebavne motnje, kot je driska, redko blato, bolečine v trebuhu in bruhanje. Pojavljajo se lahko tudi preobčutljivostne reakcije, glavobol ali vrtoglavica, prehodno zvečanje sečnine ali kreatina v krvi, prehodno zvečanje alkalne fosfataze, genitalna srbečica. Dokazanih je bilo tudi nekaj primerov psevdomembranskega kolitisa. Ob jemanju zdravila so se pojavili tudi primeri multiformnega eritema, Stevens-Johnsonovega sindroma in podobnih serumskih bolezni (Pancef[®] ..., 2007). Nekatere lastnosti cefiksima so povzete v preglednici 2.

Preglednica 2: Nekatere lastnosti cefiksima in cefuroksim aksetila (Pancef[®] ..., 2007; Novocef[®] tablete..., 2007).

Lastnost	Cefiksim	Cefuroksim aksetil
Vrsta antibiotika	cefalosporin III. generacije	cefalosporin II. generacije
Oblika	tablete, 400 mg	tablete 250 mg
	suspenzija, 100 mg/5ml	tablete 500 mg
Indikacije	okužbe dihal	okužbe dihal
	vnetje srednjega ušesa	okužbe sečil
	okužbe sečil	okužbe kože in mehkih tkiv
	nezapletena gonoreja	nezapletena gonoreja
Odmerjanja za okužbe sečil	1 tableta (400 mg) na dan	1 tableta (125 mg) dvakrat na dan
Spekter delovanja	širok	širok
Izločanje z urinom	50 % v 24 urah	43 do 52 % v 12 urah
Razpolovna doba	3 do 4 ure	1 do 2 uri
Absorbcija	40 do 50 % ne glede na obrok	40 do 60 % po jedi
		30 do 40 % na tešče
Cena	20,73 EUR (Pancef [®] ; 10 x 400 mg)	11,89 EUR (Novocef [®] ; 10 x 250 mg)

2.6 MOŽNI MEHANIZMI ODPORNOSTI ENTEROBAKTERIJ

2.6.1 Odpornost proti betalaktamskim antibiotikom

Bakterijska odpornost narašča zaradi vse bolj pogostega in velikokrat tudi neprimerne predpisovanja antibiotikov. Najpogostejši mehanizem za nastanek odpornosti proti antibiotikom z betalaktamskim obročem je delovanje encimov laktamaz beta pri bakterijah. To so encimi, ki razgradijo betalaktamske obroče antibiotikov. Po Gramu negativne bakterije imajo lahko zapis za ta encim na kromosomu, predvsem za encime, ki hidrolizirajo cefalosporine in manj učinkovito peniciline. Zapis za laktamazo beta imajo po Gramu negativne bakterije tudi na plazmidnih genih. Zaradi mutacij na omenjenih kromosomskih ali plazmidnih genih pri enterobakterijah lahko nastanejo laktamaze beta z razširjenim spektrom delovanja ali ESBL (*angl.* extended spectrum betalactamases). Encimi ESBL hidrolizirajo peniciline, cefalosporine I., III. in IV. generacije in aztreonam (Seme, 2002).

Po Gramu negativne bakterije lahko razvijajo še en mehanizem odpornosti proti antibiotikom zaradi prisotnosti porinov v celični steni. To je transmembranski protein, razporejen v obliki kanalčkov v zunanem delu celične stene, skozi katere pridejo v celico tudi betalaktamski antibiotiki. Na genu, ki nosi zapis za porine, lahko pride do mutacije. Posledično se spremenijo porini, ki preprečijo dostop antibiotikom v celico in s tem njihovo delovanje. Nekateri odporni sevi *E. coli* pa lahko aktivno izčrpavajo antibiotik iz celic (Seme, 2002).

3 MATERIAL IN METODE

3.1. MATERIAL

V okviru diplomskega dela smo uporabili naslednja gojišča:

- gojišče TISA (Tryptic Soy Agar)
- gojišče Mueller-Hinton (MHA)

Uporabili smo antibiotika v obliki diska, in sicer cefuroksim aksetil (CXM, 30 µg) in cefiksim (CFM, 5 µg). Za kontrolo smo uporabili sev *E. coli* ATCC 25922.

Vzorci urina oskrbovancev domov starejših občanov Novo mesto, Krško, Metlika, Trebnje in Črnomelj, ki so imeli okužbe sečil, so obdelali pri rednem delu na Oddelku za medicinsko mikrobiologijo v Mikrobiološkem laboratoriju, Zavoda za zdravstveno varstvo (ZZV) Novo mesto od 17. 02. 2006 do 23. 04. 2007 ter od 11. 08. 2007 do 8. 10. 2007. Po končani izolaciji in identifikaciji so vse izolate, ki so spadali v družino enterobakterij zamrznili. Vsak drugi izolat izmed vseh shranjenih izolatov v tem obdobju smo vključili v raziskavo. Skupaj smo jih vključili 98. Od vsakega bolnika smo vključili samo en izolat določene vrste ali rodu v koledarskem letu, da bi se izognili ponavljajočim se izolatom. Izbrane izolate smo testirali na občutljivost za izbrana antibiotika. Izmed izbranih nismo testirali na občutljivost izolatov, ki so imeli encim ESBL ter *M. morgani*, ker imajo že znano odpornost proti vsem cefalosporinom.

3.2. METODE

3.2.1 Mikrobiološke metode pri preiskavi urina

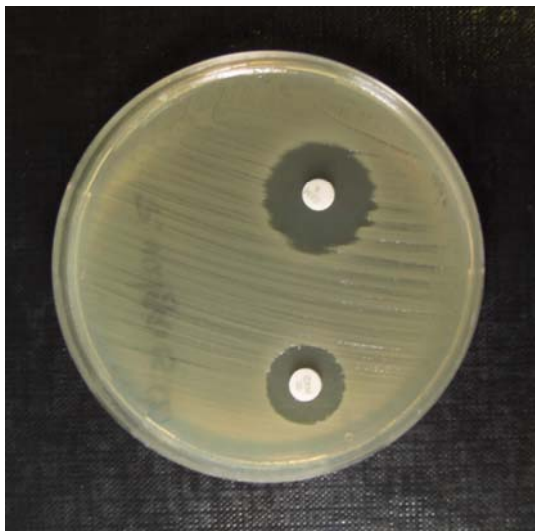
Urin je bil odvzet z metodo prostega mokrenja ali iz katetra (preglednica 3). Transport vzorcev urina je potekal v najkrajšem možnem času do laboratorija. Na urikultu so bile v laboratoriju preštete vidne kolonije. Ostali vzorci urina so bili obdelani po standardnih metodah.

Vzorci so bili najprej vključeni v postopek preiskave urina po Sanfordu. Urin je bil nacepljen na selektivno gojišče CLED, s pomočjo sterilne bakteriološke zanke. Po inkubaciji so bile preštete kolonije, število pomnoženo z ustreznim količnikom in rezultat podan v enotah, ki tvorijo kolonije na ml (CFU/ml) (BSOP 41, 2007). Po pregledu zraslih kolonij in njihove morfologije na ploščah, je bil lahko že podan sum na povzročitelja. Sledila je še biokemična identifikacija s testom IMVC, s pomočjo katerega je bilo ugotovljeno, za kateri rod ali vrsto gre (MacFaddin, 2000). Pri nedoločenih rezultatih testa IMVC se je identifikacija povzročitelja potrdila še s komercialnim testom (ID 32 GN, BioMerieux®).

Pri rednem delu v laboratoriju so za vse izolate izdelali ustrezen antibiogram, ki je določen za po Gramu negativne bakterije. Rezultati tega antibiograma niso vplivali na naše delo in jih tudi nismo upoštevali. Vse enterobakterijske povzročitelje, ki so bili izolirani in identificirani v zgoraj navedenem obdobju, so zamrznili.

V našo raziskavo določanja občutljivosti za antibiotika cefiksim in cefuroksim aksetil smo izmed shranjenih izolatov vključili 98 izolatov. Najprej smo odmrznili izolate in jih dvakrat precepili na neselektivno gojišče TISA, saj je potrebno za antibiogram vedno uporabiti svežo kulturo. Ustrezeni antibiogram smo izdelali z metodo disk difuzije po priporočilih ameriškega združenja CLSI (CLSI M2-A9, 2006). Iz kolonij sveže kulture smo pripravili suspenzijo v 5 ml fiziološke raztopine, v kateri je bila gostota celic 0,5 McFarlanda (McF). Bakterijsko suspenzijo smo nacepili po celotni površini na plošče s premerom 90 mm z gojiščem MHA. Na gojišče smo previdno polizili antibiotična diska

cefiksima ter cefuroksima. Plošče smo inkubirali 24 ur na 36°C. Primer antibiograma po inkubaciji za testirana antibiotika kaže slika 4.



Slika 4: Premer cone inhibicije okoli diska s cefiksimom in cefuroksimom pri bakteriji *P. mirabilis* (CFM: 25 mm; CXM: 18 mm).

Pri interpretaciji rezultatov antibiograma smo uporabili kriterije ameriškega standarda CLSI za določanje občutljivosti in odpornosti, ki so prikazani v preglednici 3.

Preglednica 3: Pomen velikosti con inhibicije za cefuroksim in cefiksim (CLSI M2-A9, 2006).

	Velikost con (mm)	
	Cefuroksim	Cefiksim
R ^a	≤14	≤15
I ^b	15-22	16-18
S ^c	≥23	≥19

^aR: (*angl.* resistant); odpornost, ^bI: (*angl.* intermediate); zmerna občutljivost, ^cS: (*angl.* susceptible); občutljivost

Glede na izmerjene premere con inhibicije okoli diska smo določili občutljive in odporne izolate za cefiksim in cefuroksim. Izolati, ki so bili zmerno občutljivi (I), smo obravnavali posebej in ne kot občutljive izolate (CLSI M2-A9, 2006).

Izolate iz rodu *Klebsiella* spp., ki so imeli encim ESBL (*angl.* extended spectrum betalactamases) in *M. morgani* nismo testirali na občutljivost in smo jih v skladu z ameriškimi priporočili CLSI interpretirali kot odporne proti vsem cefalosporinom, tudi proti cefiksimu in cefuroksimu (CLSI M2-A9, 2006). Njihovo odpornost pa smo upoštevali pri izračunu občutljivosti enterobakterij za cefiksim in cefuroksim.

Rezultati posameznega dne so bili veljavni, če je kontrolni antibiogram s sevom *E. coli* ATCC 25922 dal pričakovane rezultate. Sevu smo določili cone inhibicije za cefuroksim in cefiksim po enakem postopku, kot za ostale seve. S tem smo preverili ponovljivost metode, ustreznost gojišča in antibiotičnih diskov ter natančnost dela posameznika, ki opravlja test (slika 5).



Slika 5: Antibiogram kontrolnega seva *E. coli* ATCC 25922 (CFM: 21 mm; CXM: 22 mm).

3.2.2 Statistična obdelava podatkov

S statistično obdelavo podatkov smo želeli ugotoviti ali je naš vzorec izbranih izolatov reprezentativen za populacijo enterobakterijskih povzročiteljev okužb sečil pri oskrbovancih domov starejših občanov, ki jih nismo vključili v raziskavo. Ugotavljali smo, če so se vključeni izolati enterobakterij po starosti in spolu oskrbovancev ujemali s starostjo in spolom oskrbovancev domov starejših občanov, ki jih nismo vključili v raziskavo. Vzorce smo statistično obdelali s testom χ^2 in t-testom.

Razlike v učinkovitosti delovanja antibiotikov na izolirane enterobakterije smo statistično obdelali z McNemarovim testom. Želeli smo ugotoviti, ali je statistično značilno več občutljivih izolatov za cefiksim ali za cefuroksim. Vse izračune smo naredili s pomočjo računalniškega programa EPI INFO 3.4.1. Kot statistično značilno smo upoštevali vrednost $p < 0,05$.

4 REZULTATI

4.1 REPREZENTATIVNOST IZBRANEGA VZORCA IZOLATOV

Izmed vseh izolatov enterobakterij, ki so jih izolirali iz urina oskrbovancev domov starejših občanov na ZZV Novo mesto v določenem času, smo izbrali 98 izolatov. S pomočjo statistične analize smo ugotovili, da je naš vzorec izolatov, glede na spol in starost oskrbovancev, reprezentativen za populacijo enterobakterijskih povzročiteljev okužb sečil pri oskrbovancih domov starejših občanov v določenem obdobju, ki jih nismo vključili v raziskavo. Razlika v strukturi spolov med našimi izbranimi oskrbovanci in ne vključeno populacijo oskrbovancev, katerih urini so bili pozitivni na enterobakterije, ni statistično značilna. Vrednost p je bila večja kot 0,05 in je znašala 0,5. Struktura spolov med oskrbovanci domov starejših občanov, katerih izolate smo vključili v našo raziskavo je prikazana v preglednici 4.

Primerjali smo tudi povprečno starost med vključenimi in ne vključenimi oskrbovanci. Povprečna starost oskrbovancev, od katerih smo naključno izbrali izolate, je znašala $79,6 \pm 12,3$ let, povprečna starost ne vključenih pa $75,1 \pm 14,2$ leti (preglednica 4). Razlika je bila statistično značilna, saj je bila vrednost $p < 0,02$. Gledano z biološkega vidika pa ta razlika ni pomembna in lahko trdimo, da je vzorec izolatov glede na starost oskrbovancev reprezentativen.

Preglednica 4: Struktura spola in starost za vključene in ne vključene oskrbovance domov za starejše občane.

	MOŠKI		ŽENSKE		Skupaj	
	vključeni	ne vključeni	vključeni	ne vključeni	vključeni	ne vključeni
Število (odstotek)	13 (13,3 %)	17 (16,2 %)	85 (86,7 %)	88 (83,8 %)	98	105
Povprečna starost	63,7 let	57,7 let	79,7 let	78,5 let	79,6 let	75,1 let

V preglednici 5 so prikazani še načini odvzema urina pri oskrbovancih domov starejših občanov. Največ vzorcev urina je bilo odvzetega po metodi čistega mokrenja. Za 40 vzorcev ni znano na kakšen način je bil odvzet urin, saj so v laboratorij prišli le pozitivni semikvantitativni testi (Uricult®)

Preglednica 5: Število vzorcev urina, odvzetih z različnimi metodami.

	Število vzorcev
Keteter	2
Metoda čistega mokrenja	56
Neznani način odvzema	40

4.2 REZULTATI PREISKAVE URINA PO SANFORDU IN BIOKEMIČNE IDENTIFIKACIJE

V izbranih 98 izolatih smo našli naslednje povzročitelje okužb sečil, ki sodijo v družino Enterobacteriaceae: *E. coli*, *Proteus* spp., *Klebsiella* spp., *M. morganii*, *P. stuartii*, *Citrobacter* spp., in *Enterobacter* spp. Od trinajstih izolatov iz rodu *Klebsiella* spp. so bili štirje z encimom ESBL. Pri večini je okužbo povzročila ena sama vrsta, le v enajstih vzorcih urina smo našli najmanj dve različni enterobakteriji. Število in odstotek posameznih vrst ali rodov je prikazano v preglednici 6.

Preglednica 6: Število in odstotek rodov / vrst enterobakterij, vključenih v raziskavo.

	Število izolatov	Odstotek izolatov (%)
<i>E. coli</i>	45	45,9
<i>Proteus</i> spp.	28	28,6
<i>Klebsiella</i> spp.	13	13,3
<i>M. morganii</i>	7	7,1
<i>Citrobacter</i> spp.	2	2
<i>Enterobacter</i> spp.	2	2
<i>P. stuartii</i>	1	1
Skupaj (N)	98	100

4.3 REZULTATI TESTA ZA UGOTAVLJANJE OBČUTLJIVOSTI

4.3.1 Občutljivost izolatov za cefiksim in cefuroksim

Večina izolatov *E. coli*, to je 95,5 %, je bilo občutljivih za cefiksim in le 71,1 % za cefuroksim (preglednica 9). Nekaj več kot četrtino izoliranih bakterij *E. coli* (26,7 %) je bilo zmerno občutljivih za cefuroksim. Le en izolat *E. coli* je bil odporen proti cefuroksimu in en proti cefiksimu (preglednica 7 in 8). Kar 100-odstotno občutljivost za cefiksim smo ugotovili pri izolatih iz rodu *Proteus* spp., pri katerih je občutljivost za cefuroksim nižja za slabih 15 odstotkov (85,7 %). Nobeden od izolatov rodu *Proteus* spp. ni bil odporen proti antibiotikoma. 61,5 % izolatov iz rodu *Klebsiella* spp. je bilo občutljivih za cefiksim, kar je še enkrat več v primerjavi z občutljivostjo za cefuroksim (preglednica 9). Skoraj 40 odstotkov bakterij iz rodu *Klebsiella* spp. pa je bilo odpornih proti cefuroksimu in ravno toliko proti cefiksimu. Naravno odporne so lahko tudi nekatere vrste iz rodu *Citrobacter* spp. in *Enterobacter* spp. (Novocel[®] tablete..., 2007; Pancef[®]..., 2007). V naši raziskavi smo testirali po dva izolata rodov *Citrobacter* spp. in *Enterobacter* spp. (preglednica 6) in našli po eno odporno bakterijo iz vsakega od obeh rodov.

Preglednica 7: Rezultati testiranja občutljivosti izolatov enterobakterij za cefuroksim.

Ime izolata (št.)	S (št.)	I (št.)	R (št.)
<i>E. coli</i> (45)	71,1 % (32)	26,7 % (12)	2,2 % (1)
<i>Proteus</i> spp. (28)	85,7 % (24)	14,3 % (4)	0
<i>Klebsiella</i> spp. (13)	30,8 % (4)	30,8 % (4)	38,5 % (5)
<i>Citrobacter</i> spp. (2)	50 % (1)	0	50 % (1)
<i>Enterobacter</i> spp. (2)	50 % (1)	50 % (1)	0
<i>P. stuartii</i> (1)	100 % (1)	0	0
<i>M. morganii</i> (7)	0	0	100 % (7)

^aR: (*angl.* resistant); odpornost, ^bI: (*angl.* intermediate); zmerna občutljivost, ^cS: (*angl.* susceptible); občutljivost
 št.: število izolatov

Preglednica 8: Rezultati testiranja občutljivosti izolatov enterobakterij za cefiksim.

Ime izolata (št.)	S (št.)	I (št.)	R (št.)
<i>E. coli</i> (45)	95,5 % (43)	2,2 % (1)	2,2 % (1)
<i>Proteus</i> spp. (28)	100 % (28)	0	0
<i>Klebsiella</i> spp. (13)	61,5 % (8)	0	38,5 % (5)
<i>Citrobacter</i> spp. (2)	50 % (1)	0	50 % (1)
<i>Enterobacter</i> spp. (2)	50 % (1)	0	50 % (1)
<i>P. stuartii</i> (1)	100 % (1)	0	0
<i>M. morganii</i> (7)	0	0	100 % (7)

^aR: (*angl.* resistant); odpornost, ^bI: (*angl.* intermediate); zmerna občutljivost, ^cS: (*angl.* susceptible); občutljivost
 št.: število izolatov

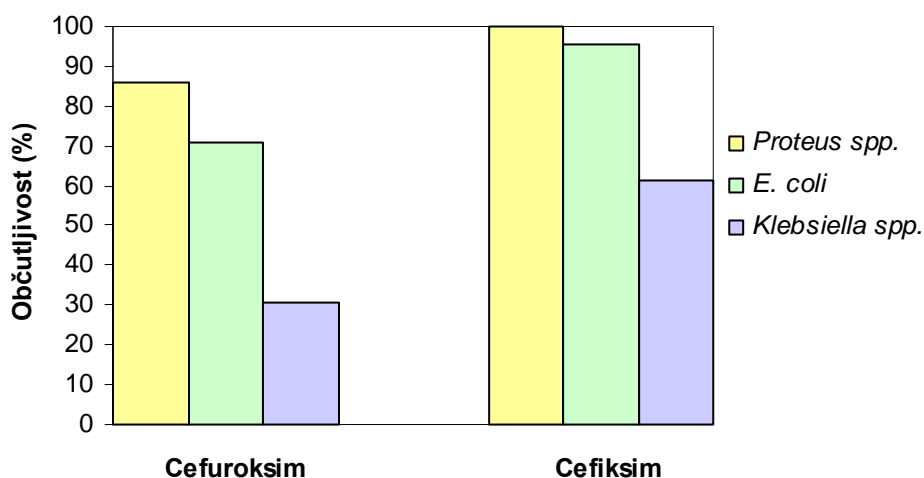
Preglednica 9: Občutljivost izolatov enterobakterij za cefuroksim in cefiksim.

Ime izolata (št.)	Cefuroksim (št)	Cefiksim (št)
<i>E. coli</i> (45)	71,1 % (32)	95,5 % (43)
<i>Proteus</i> spp. (28)	85,7 % (24)	100 % (28)
<i>Klebsiella</i> spp. (13)	30,8 % (4)	61,5 % (8)
<i>Citrobacter</i> spp. (2)	50 % (1)	50 % (1)
<i>Enterobacter</i> spp. (2)	50 % (1)	50 % (1)
<i>P. stuartii</i> (1)	100 % (1)	100 % (1)
<i>M. morganii</i> (7)	0	0

št.: število izolatov

4.3.2 Primerjava delovanja cefiksima in cefuroksima na najbolj pogosto izolirane enterobakterije

Cefiksim je na vse tri najbolj pogosto izolirane vrste bakterij deloval bolj učinkovito od cefuroksima, kar se dobro vidi na sliki 6. To smo potrdili tudi s statistično analizo. Dokazali smo, da je statistično značilno več občutljivih enterobakterij za cefiksim kot za cefuroksim ($p < 0,001$). Odstotki občutljivosti za cefiksim so izredno visoki pri vrstah *Proteus* spp. in *E. coli* (100 % in 95,5%), medtem ko so za cefuroksim očitno nižji (85,7 % in 71,1 %). Za oba antibiotika skupaj je bolj občutljiv *Proteus* spp. (100 % in 85,7 %), sledi mu *E. coli* (95,5 % in 71,1 %). Proti cefuroksimu in cefiksimu so med temi tremi vrstami najbolj odporne bakterije iz rodu *Klebsiella* spp. (slika 6).



Slika 6: Odstotek občutljivosti najpogosteje izoliranih enterobakterij za cefuroksim in cefiksim.

V preglednici 10 je prikazana občutljivost vseh 98 izoliranih enterobakterij za oba antibiotika. Na splošno je cefiksim bolj učinkovit antibiotik, saj je zanj občutljivih 83,7 % (95 % interval zaupanja: 73,7 % – 89,6 %) vseh izoliranih enterobakterij, za cefuroksim pa 63,3 % (95 % interval zaupanja: 52,9 % – 72,8 %). Delež odpornih izolatov proti antibiotikoma znaša pri obeh 15,3 % in večina od teh so bakterije rodov *M. morgani* in izolati z encimom ESBL. Nekaj pa je tudi vrst iz rodov *Enterobacter* spp. in *Citrobacter* spp., ki so že naravno odporne proti antibiotikoma.

Preglednica 10: Število in delež iz urina izoliranih enterobakterij glede na občutljivost / odpornost za cefuroksim in cefiksim.

Antibiotik (št.)	S (št.)	I (št.)	R (št.)
Cefuroksim (98)	63,3 % (62)	21,4 % (21)	15,3 % (15)
Cefiksim (98)	83,7 % (82)	1 % (1)	15,3 % (15)

^aR: (*angl.* resistant); odpornost, ^bI: (*angl.* intermediate); zmerna občutljivost, ^cS: (*angl.* susceptible); občutljivost
št.: število izolatov

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1. RAZPRAVA

Nezapletene okužbe sečil predstavljajo resen problem za zdravje bolnikov v domovih za starejše občane. Najpogostejša povzročiteljica akutnih, nezapletenih okužb sečil, pa tudi zapletenih okužb, povezanih z anatomskimi anomalijami ali s katetrom je *E. coli* (Petrovska, 2002). Pri starejši populaciji so zelo pogoste še druge bakterije iz družine Enterobacteriaceae. V dolnjski regiji je med oskrbovanci domov za starejše občane pri okužbah sečil največkrat prisotna *E. coli* (29,5 %). Podatke smo dobili iz arhiva ZZV Novo mesto (Priloga A). Rezultati so primerljivi z raziskavo opravljeno v Ljubljani, kjer znaša odstotek izoliranih *E. coli* 21,6 (Ribič in sod., 2003). Drugod po svetu je ta odstotek nekoliko višji, 46 % (Tal in sod., 2005). Pri starejših ljudeh, predvsem pri kateteriziranih, so pomembne povzročiteljice okužb sečil tudi bakterije iz rodu *Proteus* spp. in *M. morgani*. V manjšem številu so se pojavljali še rodovi *Klebsiella* spp., *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp. in *P. stuartii*. Odstotki teh izolatov so primerljivi z drugimi raziskavami: na primer *Klebsiella* spp. (vključno s sevi ESBL) se pri nas pojavlja v 8,6 %, v Ljubljani v 6,3 %, *Citrobacter* spp. pri nas v 1 % (Priloga A), v Ljubljani 2 % (Ribič in sod., 2003).

Zaradi vse pogostejšega prilagajanja in razvijanja odpornosti za antibiotike, je nujno potrebno razvijati nova, bolj učinkovita zdravila. Cefiksim je eden izmed novejših in ne tako pogosto uporabljenih antibiotikov, zato je njegovo delovanje precej učinkovito. Ker ga ne uporabljamo pri rutinskem zdravljenju okužb sečil, smo predvidevali, da je večina bakterij nanj občutljiva. Tudi cefuroksim se na splošno ne uporablja velikokrat pri zdravljenju okužb sečil. Pričakovali smo, da bodo enterobakterije nanj dokaj občutljive, da bo ta občutljivost višja od občutljivosti za TMP/SMX, ki se pri nas največkrat predpisuje za zdravljenje okužb sečil. Predvsem je to pomembno pri enterobakterijskih povzročiteljih okužb sečil pri starejši populaciji v domovih za ostarele, kjer so te okužbe pogoste in s tem tudi razvoj odpornosti na uporabljene antibiotike. Podatek, ki pravi, da v povprečju vsak oskrbovanec v domu starejših občanov prejme 5 do 10 različnih zdravil, pove veliko. Poleg antibiotikov prejemajo tudi druga zdravila za primarne bolezni, ki povečujejo verjetnost

nastanka okužb. Primer so pomirjevala, ki lahko povzročajo stranske učinke, kot je zastoj urina (Nicolle in sod., 1996).

83,7 % vseh izoliranih enterobakterij je bilo občutljivih za cefiksim (preglednica 10), kar smo tudi pričakovali. Antibiotik zelo dobro učinkuje na vse povzročitelje iz rodu *Proteus* spp. ter na *E. coli*. Zanimivo je, da so bili popolnoma vsi izolati iz rodu *Proteus* spp. občutljivi za cefiksim. Tudi občutljivost *E. coli* za cefiksim je bila zelo visoka (95,5 %). Proti cefiksimu je bil odporen le izolat *E. coli*, medtem ko ta isti izolat ni kazal odpornosti proti cefuroksimu (preglednica 7). Omenjen primer je bil verjetno že v genski zasnovi odporen proti cefiksimu. Rezultati o občutljivosti izolatov za cefiksim iz rodov *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp. in *P. stuartii* niso bili relevantni, saj je bilo število izolatov premajhno. Skoraj 40 odstotkov izolatov iz rodu *Klebsiella* spp. je bilo odpornih proti cefiksimu. Vzrok temu so naravno odporni izolati rodu *Klebsiella* spp., ki imajo encim ESBL. V naši raziskavi je bilo približno tretjina izolatov z encimom ESBL iz tega rodu. Odpornost takih izolatov lahko predstavlja problem pri izkustvenem zdravljenju, saj so po pogostosti na tretjem mestu med izolati iz urina. Proti cefiksimu je bilo skupno odpornih 15,3 % enterobakterij, kar bi lahko bilo že preveč, da bi ga priporočali za izkustveno zdravljenje okužb sečil pri starejših ljudeh. Če pa ta rezultat primerjamo z odpornostjo enterobakterij proti TMP/SMX, ki znaša skoraj 60 odstotkov (arhiv ZZV Novo mesto), vidimo, da je odpornost proti cefiksimu »zanemarljiva«.

Še nižja, 63,3 %, je bila občutljivost enterobakterij za cefuroksim (preglednica 10). Podobno občutljivost so dobili tudi Ribič in sod. (2003), in sicer 59,2 %. Kot za cefiksim, je bil tudi za cefuroksim najbolj občutljiv rod *Proteus* spp., saj je bila občutljivost kar 85,7 % (preglednica 7). V eni izmed raziskav na Nizozemskem, kjer so imeli mnogo več izolatov *Proteus* spp., je bila ta občutljivost 74 %, (Vromen in sod, 1999). Dalje je bila v naši raziskavi občutljivost *E. coli* za cefuroksim 71,1 % (preglednica 7) in je skoraj enaka občutljivosti (71,2 %), ki so jo dobili v ljubljanski regiji (Ribič in sod., 2003). Zmerno občutljivih izolatov za cefuroksim je bilo 26,7 % pri *E. coli* in slaba tretjina pri izolatih iz rodu *Klebsiella* spp. Takšne izolate moramo obravnavati posebej, ker vsekakor niso občutljivi. Za bolj natančno določanje njihove odpornosti bi morali uporabiti še metodo za ugotavljanje minimalne inhibitorne koncentracije. Občutljivosti izolatov za cefuroksim iz

rodov *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp. in *P. stuartii* ni relevantna, saj je bilo število izolatov premajhno, da bi lahko karkoli trdili. Le 30,8 % izolatov iz rodu *Klebsiella* spp. je občutljivih za cefuroksim. Preostali delež teh izolatov je bilo zmerno občutljivih ali odpornih proti cefuroksimu in večinoma so to izolati z encimom ESBL. Skupna odpornost enterobakterij proti cefuroksimu je bila enaka kot odpornost proti cefiksimu (15,3 %). Po priporočilih naj ne bi odpornost znašala več kot 10 do 20 %, da je antibiotik še primeren za zdravljenje okužb (Lindič, 2003). Tako sta cefiksim in cefuroksim bolj primerna za usmerjeno zdravljenje okužb sečil, kot pa za izkustveno.

Občutljivost enterobakterij, izoliranih iz urina oskrbovancev domov starejših občanov v ljubljanski regiji, za TMP/SMX je le 31,9 % (Ribič in sod., 2003). V dolenskem okolišu je odstotek občutljivih za ta antibiotik 42,4 % (arhiv ZZV Novo mesto). Kljub tako nizki občutljivosti najpogostejših povzročiteljev okužb sečil, je TMP/SMX še vedno prva izbira pri izkustvenem zdravljenju v domovih za starejše občane in v ambulantah zdravstvenih domov (Mijoč, 2007; Rade-Humar, 2007). Tako lahko vidimo, da sta cefuroksim in predvsem cefiksim v primerjavi s TMP/SMX bolj učinkovita in bolj primerna za zdravljenje.

Na podlagi *in vitro* raziskave o občutljivosti enterobakterij izoliranih iz vzorcev urina pri oskrbovancih domov starejših občanov lahko trdimo, da je peroralna oblika cefiksima bolj učinkovita od peroralne oblika cefuroksima. Razlog za takšen rezultat je najverjetneje majhna uporaba cefiksima pri zdravljenju okužb sečil in s tem še nerazvita odpornost pri bakterijah.

5.2 SKLEPI

- Med enterobakterijami izoliranimi iz urina pri oskrbovancev domov starejših občanov smo v polovici primerov izolirali *E. coli*.
- Testirane enterobakterije (razen sevov, ki so že v genski zasnovi odporni na vse cefalosporine) so v visokih odstotkih občutljive za peroralni obliki cefiksima in cefuroksima.
- Za cefuroksim in cefiksim so najbolj občutljive bakterije iz rodu *Proteus* spp. (85,7 % in 100 %), sledijo jim *E. coli* (71,1 % in 95,5 %) in *Klebsiella* spp. (30,8 % in 61,5 %) ter *P. stuartii*, *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp.
- Peroralna oblika cefiksima je *in vitro* bolj učinkovita na izolate enterobakterij iz urina od peroralne oblike cefuroksima.
- Na podlagi mikrobioloških podatkov *in vitro* lahko trdimo, da bi bil cefiksim lahko učinkovito zdravilo za zdravljenje okužb sečil pri starejši populaciji, predvsem pri usmerjenem zdravljenju

6 POVZETEK

Pri oskrbovancih domov starejših občanov se okužbe zelo pogosto pojavljajo. Razlog je v njihovi starosti in z njo povezanimi težavami, kot so oslabljen imunski odziv, osnovne in kronične bolezni ter omejeno gibanje. Okužbe sečil so ene izmed najpogostejših okužb pri tej populaciji, predvsem zaradi vstavljenih urinskih katetrov in inkontinence. Pri starejši populaciji je *E. coli* odgovorna za večino okužb sečil. Poleg nje so pomembni povzročitelji še *Proteus* spp., *M. morgani*, *Klebsiella* spp., *Pseudomonas* spp., *Enterococcus* spp. in *Staphylococcus* ssp. Pri starejših od 65 let lahko govorimo o zapleteni obliki okužbe sečil, zaradi vseh dejavnikov tveganja, ki jih prinaša starost. Uporaba antibiotikov je zaradi pogostih okužb v domovih za starejše občane zelo visoka, posledica tega pa je pojav vse več odpornih sevov bakterij na predpisane antibiotike.

Želeli smo določiti najpogostejše enterobakterijske povzročitelje okužb sečil pri oskrbovancih domov starejših občanov. Naš namen je bil ugotoviti občutljivost enterobakterij za cefuroksim in cefiksim ter primerjati njuno delovanje. To sta antibiotika, II. in III. generacije cefalosporinov, ki sta na voljo tudi v peroralni obliki. Vzorce urina so zbirali v Mikrobiološkem laboratoriju ZZV Novo mesto iz domov starejših občanov v Novem mestu, Krškem, Metliki, Trebnjem in Črnomlju, od februarja 2006 do aprila 2007 ter od avgusta 2007 do oktobra 2007. Za identifikacijo enterobakterij so uporabili metodo preiskave urina po Sanfordu in biokemijski test IMVC. Kot potrditveni test je pri nedoločenih rezultatih služil komercialni test ID 32 GN (BioMerieux®). Izmed vseh vzorcev, kjer so bile povzročiteljice enterobakterije, smo izbrali 98 vzorcev in jih vključili v raziskavo. Občutljivost za cefiksim in cefuroksim smo ugotavljali z metodo disk difuzije.

V skoraj 46 % vzorcev enterobakterijskih povzročiteljev smo našli *E. coli*, sledile so ji bakterijske vrste iz rodu *Proteus* spp. z 28 % in *Klebsiella* spp. (*K. oxytoca* in *K. pneumoniae*) z nekaj manj kot desetimi odstotki. Le v nekaj vzorcih urina smo našli bakterije iz rodu *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp., *M. morgani* in *P. stuartii*.

Občutljivost izoliranih enterobakterij za cefiksim je bila skupaj 83,7 %, za cefuroksim pa 63,3 %. Najbolj občutljive za cefiksim so bile vrste iz rodu *Proteus* spp., saj je bila

občutljivost kar 100 %. Visoko občutljivost so pokazale tudi *E. coli* (95,5 %). Za cefuroksim so bile tudi najbolj občutljive vrste iz rodu *Proteus* spp. s 85,7 %. Občutljivost *E. coli* je bila dosti manjša (71,1 %). 38,5 % izolatov iz rodu *Klebsiella* spp. je bilo odpornih za cefiksim in ravno toliko tudi za cefuroksim. Razlog za visoko odpornost je bila prisotnost izolatov, ki so imeli encim ESBL. Rezultati o občutljivosti izolatov za cefiksim in cefuroksim pri rodovih *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp. in *P. stuartii* niso bili relevantni, saj je bilo število izolatov premajhno. Cefiksim in cefuroksim sta bila v primerjavi z TMP/SMX, ki je še vedno prva izbira pri izkustvenem zdravljenju okužb sečil pri starejših ljudeh, *in vitro* bolj učinkovita in tako bolj primerna za zdravljenje.

Cefiksim bi lahko predstavljal učinkovito antimikrobno sredstvo za usmerjeno zdravljenje nekaterih enterobakterijskih povzročiteljev okužb sečil pri oskrbovancih domov starejših občanov. Cefiksima pa ne moremo priporočati za izkustveno zdravljenje okužb sečil, zaradi priporočene občutljivosti izolatov med 80 in 90 %. Na podlagi mikrobioloških podatkov lahko trdimo, da je peroralna oblika cefiksima bolj učinkovita od peroralne oblike cefuroksima. Vendar bi morali za končno oceno o boljši učinkovitosti cefiksima upoštevati še primernost farmakokinetičnih lastnosti antibiotika za populacijo starejših ljudi nad 65 let in primernost režima odmerjanja za uporabo v domovih za ostarele. Poleg tega bi bilo potrebno preučiti vse neželene učinke antibiotika, ki se lahko pojavijo pri tej populaciji ljudi. Nazadnje pa je pri izbiri pravega antibiotika pomembna tudi cenovna politika ZZS (Zavoda za zdravstveno zavarovanje Slovenije), ki bistveno pripomore k dokončni odločitvi. Cefiksim bi bil kot bolj učinkovit antibiotik tako pomemben predvsem pri okužbah v domovih za ostarele, kjer odpornost bakterij na antibiotike vedno bolj narašča.

7 VIRI

- Amako K., Meno Y., Takade A. 1988. Fine structures of the capsules of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* K1. *Journal of Bacteriology*, 170, 10: 4960-4962
- Andlovic A. 2002a. *Escherichia coli*. V: Medicinska bakteriologija z imunologijo in mikologijo. Gubina M., Ihan A. (ur.). Ljubljana, Medicinski razgledi: 185-188
- Andlovic A. 2002b. Enterobakterije, ki povzročajo oportunistične okužbe. V: Medicinska bakteriologija z imunologijo in mikologijo. Gubina M., Ihan A. (ur.). Ljubljana, Medicinski razgledi: 201-203
- Bahrani F. K., Massad G., Lockatell C. V., Johnson D. E., Russell R. G., Warren J. W., Mobley H. L. T. 1994. Construction of an MR/P fimbrial mutant of *Proteus mirabilis*: role in virulence in a mouse model of ascending urinary tract infection. *Infection and Immunity*, 62, 8: 3363-3371
- Beier M. T. 1999. Management of urinary tract infection in the nursing home elderly: a proposed algorithmic approach. *International Journal of Antimicrobial Agent*, 11: 275-284
- Belas R., Manos J., Suvanasuthi R. 2004. *Proteus mirabilis* metalloprotease degrades a broad spectrum of substrates, including antimicrobial peptides. *Infection and Immunity*, 72, 9: 5159-5167
- Bonadio M., Meini M., Gigli C., Longo B., Vigna A. 1999. Urinary tract infection in diabetic patients. *Urologia Internationalis*, 63, 4: 215-219
- Brock J. H., Williams P. H., Licéaga J., Wooldridge K. G. 1991. Relative availability of transferrin-bound iron and cell-derived iron to aerobactin-producing and enterochelin-producing strains of *Escherichia coli* and to other microorganisms. *Infection and Immunity*, 59, 9: 3185-3190
- Bronsema D. A., Adams J. R., Pallares R., Wenzel R. P. 1993. Secular trends in rates and etiology of nosocomial urinary tract infections at a university hospital. *Journal of Urology*, 150: 414-416
- BSOP 41. 2007. Investigation of urine. British Standard Method. Wales, Health Protection Agency: 37 str.
http://www.hpa.org.uk/srmd/div_esl_su/pdf_bacteriology.htm
- Car J., Marinko T. 2003. Zdravljenje nezapletene okužbe sečnega mehurja pri ženskah v družinski medicini. *Zdravniški vestnik*, 72: 79-83
- CLSI M2-A9. 2006. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved Standard. 9th ed. Wayne, Clinical and Laboratory Standards Institute: 34 str. (Clinical and Laboratory Standards Institute; Vol. 26, No. 1)

- Coker C., Poore C. A., Li X., Mobley H. L. T. 2000. Pathogenesis of *Proteus mirabilis* urinary tract infection. *Microbes and Infection*, 2: 1497-1505
- Čižman M., Beović B. 2002. Priročnik za ambulantno predpisovanje protimikrobnih zdravil. Ljubljana, Arkadija: 159 str.
- Čižman M., Beović B., Marolt-Gomišček M. 2006. Priporočila za uporabo protimikrobnih zdravil. Ljubljana, Klinični center Ljubljana, Komisija za antibiotike v Kliničnem centru: 146 str.
- Dermota U., Grmek-Košnik I. 2001. Mikrobiološke preiskave urina: Sanford in uritest. *Zdravstveno varstvo*, 40, 11-12: 365-369
- Drechsel H., Thieken A., Reissbrodt R., Jung G., Winkelmann G. 1993. α -keto acids are novel siderophores in the genera *Proteus*, *Providencia*, and *Morganella* and are produced by amino acid deaminases. *Journal of Bacteriology*, 175, 9: 2727-2733
- Franco A. V. M. 2005. Recurrent urinary infection. *Best practice & Research Clinical Obstetrics and Gynecology*, 19, 16: 861-873
- Garibaldi R. A. 1999. Residential care and the elderly: the burden of infection. *Journal of Hospital Infection*, 43, Suppl.1: S9-S18
- Gross P. A., Flower M., Barden G. 1976. Polymicrobial bacteriuria: significant association with bacteremia. *Journal of Clinical Microbiology*, 3, 3: 246-250
- Johnson J. R. 1991. Virulence factors in *Escherichia coli* urinary tract infection. *Clinical Microbiology Reviews*, 4, 1: 80-128
- Jones B. D., Lockatell C. V., Johson D. E., Warren J. W., Mobley H. L. T. 1990. Construction of a urease-negative mutant of *Proteus mirabilis*: analysis of virulence in a mouse model of ascending urinary tract infection. *Infection and Immunity*, 58, 4: 1120-1123
- Jones B. D., Mobley H. L. T. 1987. Genetic and biochemical diversity of ureases of *Proteus*, *Providencia*, and *Morganella* species isolated from urinary tract infection. *Infection and Immunity*, 55, 9: 2198-2203
- Jones C. H., Pinkner J. S., Roth R., Heuser J., Nicholes A. V., Abraham S. N., Hultgren S. J. 1995. Fim H adhesin of type 1 pili is assembled into a fibrillar tip structure in Enterobacteriaceae. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92: 2081-2085
- Korhonen T. K., Valtonen M. V., Parkkinen J., Väisänen-Rhen V., Finne J., Ørskov F., Ørskov I., Svenson S. B., Mäkelä P. H. 1985. Serotypes, hemolysin production, and receptor recognition of *Escherichia coli* strains associated with neonatal sepsis and meningitis. *Infection and Immunity*, 48, 2: 486-491

- Korhonen T. K., Virkola R., Holthöfer H. 1986. Localization of binding sites for purified *Escherichia coli* P fimbriae in the human kidney. *Infection and Immunity*, 54, 2: 328-332
- Kotnik V. 2002. Antibiotiki in kemoterapevtiki. V: Medicinska bakteriologija z imunologijo in mikologijo. Gubina M., Ihan A. (ur.). Ljubljana, Medicinski razgledi: 427-438
- Langstraat J., Bohse M., Clegg S. 2001. Type 3 fimbrial shaft (MrkA) of *Klebsiella pneumoniae*, but not the fimbrial adhesin (MrkD), facilitates biofilm formation. *Infection and Immunity*, 69, 9: 5805-5812
- Lindič J. 2003. Bakterijske okužbe sečil pri odraslih. *Krka v medicini in farmaciji*, 24: 11-16
- Lobel B. 2003. Short term therapy for uncomplicated urinary tract infection today. Clinical outcome upholds the theories. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 22, Suppl. 2: S85-S87
- Lomberg H., Cedergren B., Leffler H., Nilsson B., Carlström A. S., Svanborg-Eden C. 1986. Influence of blood group on the availability of receptors for attachment of uropathogenic *Escherichia coli*. *Infection and Immunity*, 51, 3: 919-926
- Loomes L. M., Senior B. W., Kerr M. A. 1990. A proteolytic enzyme secreted by *Proteus mirabilis* degrades immunoglobulins of the immunoglobulin A1 (IgA1), IgA2, and IgG isotypes. *Infection and Immunity*, 58, 6: 1979-1985
- MacFaddin J. F. 2000. Individual biochemical tests. V: Biochemical tests for identification of medical bacteria. McGrew L. (ed.). Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins: 98-451
- Marrs C. F., Zhang L., Tallman P., Manning S., Somsel P., Raz R., Colonder R., Jantunen M. E., Siitonen S., Saxen H., Foxman B. 2002. Variations in 10 putative virulence genes among urinary, faecal and peri-urethral *Escherichia coli*. *Journal of Medicine Microbiology*, 51: 138-142
- Marrs C. F., Zhang L., Foxman B. 2005. *Escherichia coli* mediated urinary tract infection: are there distinct uropathogenic *E. coli* (UPEC) pathotypes? *FEMS Microbiology Letters*, 252: 183-190
- Massad G., Zhao H., Mobley H. L. T. 1995. *Proteus mirabilis* amino acid deaminase: cloning, nucleotide sequence, and characterization of *aad*. *Journal of Bacteriology*, 177, 20: 5878-5883
- Matatov R., Goldhar J., Skutelsky E., Sechter I., Perry R., Podschun R., Sahly H., Thankavel K., Abraham S. N., Ofek I. 1999. Inability of encapsulated *Klebsiella*

- pneumoniae* to assemble functional type 1 fimbriae on their surface. FEMS Microbiology Letters, 197: 123-130
- McCarty J. M., Richard G., Huck W., Tucker R. M., Tosiello R. L., Shan M., Heyd A., Echols R. M. 1999. A randomized trial of short-course ciprofloxacin, ofloxacin, or trimetoprim/sulfamethoxazole for the treatment of acute urinary tract infection in women. American Journal of Medicine, 106: 292-299
- Mehnert-Kay S. A. 2005. Diagnosis and management of uncomplicated urinary tract infection. American Family Physician, 72, 3: 451-456
- Mijoč N. 2007. "Zdravljenje okužb sečil v ambulantah zdravstvenega doma Novo mesto". Novo mesto, Zdravstveni dom Novo mesto (osebni vir, 16. 5. 2007)
- Mizuta K., Ohta M., Mori M., Hasegawa T., Nakashima I., Kato N. 1983. Virulence for mice of *Klebsiella* strains belonging to the O1 group: relationship to their capsular (K) types. Infection and Immunity, 40, 1: 56-61
- Mobley H. L. T., Belas R. 1995. Swarming and pathogenicity of *Proteus mirabilis* in the urinary tract. Trends in Microbiology, 3, 7: 280-284
- Mobley H. L. T., Chippendale G. R., Tenney J. H., Hull R. A., Warren J. W. 1987. Expression of type 1 fimbriae may be required for persistence of *Escherichia coli* in the catheterized urinary tract. Journal of Clinical Microbiology, 25, 12: 2253-2257
- Mobley H. L. T., Hausinger R. P. 1989. Microbial ureases: significance, regulation and, molecular characterization. Microbiological Reviews, 53, 1: 85-108
- Mobley H. L. T., Warren J. W. 1987. Urease-positive bacteriuria and obstruction of long-term urinary catheters. Journal of Clinical Microbiology, 25, 11: 2216-2217
- Mohanty S., Singhal R., Sood S., Dhawan B., Kapil A., Das B. K. 2007. *Citrobacter* infection in a tertiary care hospital in Northern India. Journal of Infection, 54: 58-64
- Murray P. R., Rosenthal K. S., Kobayashi G. S., Pfaller M. A. 2002. Enterobacteriaceae. V: Medical microbiology. Schmitt W., Grigg L.L. (eds.). 4th ed. St. Louis, Mosby: 266-280
- Naber K. G. 2001. Which fluorquinolones are suitable for the treatment of urinary infections? International Journal of Antimicrobial Agents, 17: 331-341
- Nassif X., Sansonetti P. 1986. Correlation of the virulence of *Klebsiella pneumoniae* K1 and K2 with the presence of a plasmid encoding aerobactin. Infection and Immunity, 54, 3: 603-608
- Nicolle L. E., Strausbaugh L. J., Garibaldi R. A. 1996. Infections and antibiotic resistance in nursing homes. Clinical Microbiology Reviews, 9: 1-17

- Nicolle L. E. 2002. Urinary tract infection: traditional pharmacologic therapies. *American Journal of Medicine*, 113, Suppl. 1A: 35S-44S
- Nicolle L. E. 2006. Asymptomatic bacteriuria: review and discussion of the IDSA guidelines. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 28, Suppl. 1: S42-S48
- Nicolle L. E., Mayhew J. W., Bryan L. 1987. Prospective, randomized comparison of therapy and no therapy for asymptomatic bacteriuria in institutionalized women. *American Journal of Medicine*, 83: 2-33
- Novocef® tablete 250 mg. 2007. Ljubljana, Javna agencija Republike Slovenije za zdravila in medicinske pripomočke (4. jun. 2003)
<http://www.zdravila.net> (10. okt. 2007): 4 str.
- Nowicki B., Selvarangan R., Nowicki S. 2001. Family of *Escherichia coli* Dr adhesins: decay-accelerating factor receptor recognition and invasiveness. *The Journal of Infectious Diseases*, 183, Suppl. 1: S24-S27
- O'Hara C. M., Brenner F. W., Miller J. M. 2000. Classification, identification, and clinical significance of *Proteus*, *Providencia*, and *Morganella*. *Clinical Microbiology Reviews*, 13, 4: 534-546
- O'Neil M. J., Smith A., Heckelman P. E., Budavari S. 2006. The Merck index: an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals. 14th ed. Whitehouse Station, Merck & Co.: 1957, 2002
- Pancef®. Povzetek temeljnih značilnosti zdravila. 2007. Ljubljana, Javna agencija Republike Slovenije za zdravila in medicinske pripomočke (4. jun. 2003)
<http://www.zdravila.net> (10. okt. 2007): 5 str.
- Petrovska M. 2002. Okužbe sečil. V: *Medicinska bakteriologija z imunologijo in mikologijo*. Gubina M., Ihan A. (ur.). Ljubljana, Medicinski razgledi: 379-382
- Podschn R., Ullman U. 1998. *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clinical Microbiology Reviews*, 11, 4: 589-603
- Rade-Humar G. 2007. "Zdravljenje okužb sečil v domu starejših občanov v Novem mestu". Novo mesto, Dom starejših občanov Novo mesto (osebni vir, 25. 5. 2007)
- Ribič H., Smole A., Oražem T. 2003. Odpornost bakterij, ki smo jih osamili pri varovancih domov za ostarele. *Zdravstveno varstvo*; 42: 145-156
- Ronald A. 2002. The etiology of urinary tract infection: traditional and emerging pathogens. *American Journal of Medicine*, 113, Suppl. 1A: 14S-19S

- Ronald A., Ludwig E. 2001. Urinary tract infection in adults with diabetes. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 17: 287-292
- Rosenstein I. J., Hamilton-Miller J. M., Brumfitt W. 1981. Role of urease in the formation of infection stones: comparison of ureases from different sources. *Infection and Immunity*, 32,1: 32-37
- Schaeffer A. J., Rajan N., Cao Q., Anderson B. E., Pruden D. L., Sensibar J., Duncan J. L. 2001. Host pathogenesis in urinary tract infection. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 17: 245-251
- Schembri M. A., Blom J., Krogfelt K. A., Klemm P. 2005. Capsule and fimbria interaction in *Klebsiella pneumoniae*. *Infection and Immunity*, 73, 8: 4626-4633
- Schnelle J. F., Leung F. W. 2004. Urinary and fecal incontinence in nursing homes. *Gastroenterology*, 126, Suppl. 1: S41-S47
- Schurtz T. A., Hornick D. B., Korhonen T. K., Clegg S. 1994. The type 3 fimbrial adhesion gene (*mrkD*) of *Klebsiella* species is not conserved among all fimbriate strains. *Infection and Immunity*, 62, 10: 4186-4191
- Sebghati Schurtz T. A., Korhonen T. K., Hornick D. B., Clegg S. 1998. Characterization of the type 3 fimbrial adhesins of *Klebsiella* strains. *Infection and Immunity*, 66, 6: 2887-2894
- Seme K. 2002. Mehanizmi bakterijske odpornosti proti antibiotikom. V: Medicinska bakteriologija z imunologijo in mikologijo. Gubina M., Ihan A. (ur.). Ljubljana, Medicinski razgledi: 439-446
- Senior B. W., Albrechtsen M., Kerr M. A. 1987. *Proteus mirabilis* strains of diverse type have IgA protease activity. *Journal of Medical Microbiology*, 24, 2: 175-180
- Slovenski medicinski e-slovar (elektronska oblika). 2004. Ljubljana, Medicinska fakulteta, Lek
www.lek.si/slovar (5. dec. 2007): CD-ROM
- Sobel J. D., Kauffman C. A., McKinsey D., Zervos M., Vazquez J. A., Karchmer A. W., Lee J., Thomas C., Panzer H., Dismukes W. E. 2000. Candiduria: a randomized, double-blind study of treatment with fluconazole and placebo. *Clinical Infection Diseases*, 30: 19-24
- Stapleton A., Nudelman E., Clausen H., Hakomori S., Stamm W. E. 1992. Binding of uropathogenic *Escherichia coli* R45 to glycolipids extracted from vaginal epithelial cells is dependent on histo-blood group secretor status. *Journal of Clinical Investigation*, 90: 965-972

- Stratchounski L. D., Rafalski V. V. 2006. Antimicrobial susceptibility of pathogens isolated from adult patient with uncomplicated community-acquired urinary tract infection in the Russian Federation: two multicentre studies, UTIAP-1 and UTIAP-2. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 28, Suppl. 1: S4-S9
- Svanborg Eden C., Hanson L. A. 1978. *Escherichia coli* as possible mediators of attachment to human urinary tract epithelial cells. *Infection and Immunity*, 21, 1: 229-237
- Svanborg Eden C., Hanson L. A., Jodal U., Lindberg U., Akerlund A. S. 1976. Variable adherence to normal human urinary-tract epithelial cells of *Escherichia coli* strains associated with various forms of urinary-tract infection. *Lancet*, 4,1: 490-492
- Struve C., Krogfelt K. A. 2003. Role of capsule in *Klebsiella pneumoniae* virulence: lack of correlation between in vitro and in vivo studies. *FEMS Microbiology Letters*, 218: 149-154
- Tal S., Guller V., Levi S., Bardenstein R., Berger D., Gurevich I., Gurevich A. 2005. Profile and prognosis of febrile elderly patients with bacteremic urinary tract infection. *Journal of Infection*, 50: 296-305
- Tambyah P. A. 2004. Catheter-associated urinary infections: diagnosis and prophylaxis. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 24, Suppl. 1: S44-S48
- Tucci V., Isenberg H. D. 1981. Hospital cluster epidemic with *Morganella morganii*. *Journal of Clinical Microbiology*, 14, 5: 563-566
- Virkola R., Westerlund B., Holthöfer H., Parkkinen J., Kekomäki M., Korhonen T. K. 1988. Binding characteristics of *Escherichia coli* adhesins in human urinary bladder. *Infection and Immunity*, 56, 10: 2615-2622
- Vromen M., Van der Ven A. J. A. M., Knols A., Stobbringh E. E. 1999. Antimicrobial resistance patterns in urinary isolates from nursing home residents. Fifteen years of data reviewed. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 44: 113-116
- Walker K. E., Moghaddame-Jafari S., Lockatell C. V., Johnson D., Belas R. 1999. ZapA, the IgA-degrading metalloprotease of *Proteus mirabilis*, is a virulence factor expressed specifically in swarmer cells. *Molecular Microbiology*, 32, 4: 825-836
- Warren J. W. 2001. Catheter-associated urinary tract infections. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 17: 299-303
- Williams E. W., Hawkey P. M., Penner J. L., Senior B. W., Barton L. J. 1983. Serious nosocomial infection caused by *Morganella morganii* and *Proteus mirabilis* in a cardiac surgery unit. *Journal of Clinical Microbiology*, 18, 1: 5-9

Whiteley G. R., Penner J. L., Stewart I. O., Stokan P. C., Hinton N. A. 1977. Nosocomial urinary tract infection caused by two O-serotypes of *Providencia stuartii* in one hospital. *Journal of Clinical Microbiology*, 6, 6: 551-554

ZAHVALA

V prvi vrsti se iskreno zahvaljujem Tatjani Harlander, dr. med., vodji mikrobiološkega laboratorija na ZZV Novo mesto, ker mi je omogočila izvajanje diplomske naloge v tamkajšnjem laboratoriju. Za vsa moja vprašanja si je vedno vzela čas in mi prijazno svetovala. Hvala tudi za pregled diplomske naloge.

Za potrpežljivost pri nastajanju diplomske naloge in natančen pregled diplomske naloge se iskreno zahvaljujem mentorici doc. dr. Evi Ružič-Sabljić. Hvala tudi prof. dr. Katji Seme za recenzijo diplomskega dela.

Za ves trud, odgovore na moja številna vprašanja in dragoceni čas, ki sta si ga vzela za pregled diplomske naloge, se zahvaljujem Petri in Matjažu. V vsakem trenutku sta mi znala strokovno svetovati in me usmerjati. Hvala tudi za vso pomoč pri statistični obdelavi podatkov.

Zahvaljujem se vsem sodelavkam in sodelavcem mikrobiološkega laboratorija ZZV Novo mesto za prijazen sprejem medse, dobro voljo in pomoč pri delu.

Hvala mojim staršem in bratu Borutu, ki so me skozi celoten študij podpirali, me spodbujali pri premagovanju ovir in mi ves čas stali ob strani. Hvala za vse vaše pohvale in veselje ob uspehih ter vse tolažbe v težkih trenutkih.

Hvala Slavkoti za vse vzpodbude in nasmeh, ko sem jih najbolj potrebovala. Ob misli, da te imam, je bilo vse lažje in dosegljivo.

Hvala Sanji R. za angleške prispevke, Janji za kazalo in iskanje knjig ter ostalim rožam Barbi, Nini in Sanji B. za vse trenutke na kavicah, ko ste me nasmejale in poslušale.

PRILOGE

Priloga A: Število in odstotki vseh izoliranih povzročiteljev okužb sečil pri oskrbovancih domov starejših občanov v dolenski regiji v obdobju od 17. 02. 2006 do 23. 04. 2007 ter od 11. 08. 2007 do 08. 10. 2007.

Podatke smo dobili iz arhiva ZZV Novo mesto.

Ime izolata	Število izolatov	Odstotek izolatov (%)	Skupina bakterij, št. (%)	Bakterije glede na barvanje po Gramu (%)
<i>E. coli</i>	86	29,5	enterobakterije: 203 (69,7)	po Gramu negativne: 233 (80)
<i>Proteus</i> spp.	58	20		
<i>Klebsiella</i> spp.	19	6,5		
<i>M. morganii</i>	22	7,5		
<i>Citrobacter</i> spp.	3	1		
<i>Enterobacter</i> spp.	4	1,4		
<i>Providencia</i> spp.	5	1,7		
Sevi ESBL	6	2,1		
Druge po Gramu neg. bakterije	30	10,3	druge: 88 (30,3)	po Gramu pozitivne: 58 (20)
<i>Enterococcus faecalis</i>	51	17,5		
Druge po Gramu poz. bakterije	7	2,4		
SKUPAJ	291	100	100	100

ESBL: laktamaze beta z razširjenim spektrom delovanja (*angl.* extended spectrum betalactamases)

Priloga B: Premeri con inhibicij pri antibiogramih s cefiksimom in cefuroksimom ter njihova interpretacija za izolirane enterobakterije oskrbovancev domov starejših občanov Novo mesto, Trebnje, Krško, Metlika in Črnomelj v obdobju od 17. 02. 2006 do 23. 04. 2007 ter od 11. 08. 2007 do 08. 10. 2007.

Od 17. 02. 2006 do 23. 04. 2007					
Zap. št.	Ime izolata	Cona inhibicije rasti			
		CXM (mm)		CFM (mm)	
1	<i>E. coli</i>	21	I	23	S
2	<i>Proteus spp.</i>	23	S	30	S
3	<i>E. coli</i>	25	S	25	S
4	<i>Citrobacter spp.</i>	24	S	19	S
5	<i>Citrobacter spp.</i>	0	R	0	R
6	<i>Klebsiella spp.-ESBL</i>	0	R	0	R
7	<i>E. coli</i>	19	I	19	S
8	<i>E. coli</i>	25	S	25	S
9	<i>Klebsiella spp.</i>	23	S	27	S
10	<i>E. coli</i>	22	I	20	S
11	<i>E. coli</i>	20	I	22	S
12	<i>Klebsiella spp.-ESBL</i>	0	R	0	R
13	<i>Proteus spp.</i>	18	I	34	S
14	<i>Proteus spp.</i>	26	S	29	S
15	<i>E. coli</i>	24	S	27	S
16	<i>Proteus spp.</i>	24	S	28	S
17	<i>K. pneumonia</i>	15	I	12	R
18	<i>Proteus spp.</i>	25	S	30	S
19	<i>Proteus spp.</i>	29	S	33	S
20	<i>M. morgani</i>	0	R	0	R
21	<i>E. coli</i>	20	I	20	S
22	<i>Proteus spp.</i>	21	I	30	S
23	<i>E. coli</i>	24	S	22	S
24	<i>Proteus spp.</i>	24	S	30	S
25	<i>Klebsiella spp.-ESBL</i>	0	R	0	R
26	<i>E. coli</i>	23	S	24	S
27	<i>E. coli</i>	19	I	10	R
28	<i>E. coli</i>	23	S	30	S
29	<i>Klebsiella spp.-ESBL</i>	0	R	0	R
30	<i>E. coli</i>	23	S	21	S
31	<i>Klebsiella spp.</i>	21	I	26	S
32	<i>Proteus spp.</i>	27	S	32	S
33	<i>Klebsiella spp.</i>	14	R	20	S
34	<i>Enterobacter spp.</i>	0	R	0	R
35	<i>E. coli</i>	23	S	19	S
36	<i>Proteus spp.</i>	28	S	31	S

...se nadaljuje...

...nadaljevanje **Priloga B**: Premeri con inhibicij pri antibiogramih s cefiksimom in cefuroksimom ter njihova interpretacija za izolirane enterobakterije oskrbovancev domov starejših občanov Novo mesto, Trebnje, Krško, Metlika in Črnomelj v obdobju od 17. 02. 2006 do 23. 04. 2007 ter od 11. 08. 2007 do 08. 10. 2007.

Zap. št.	Ime izolata	Cona inhibicije rasti			
		CXM (mm)		CFM (mm)	
37	<i>M. morganii</i>	0	R	0	R
38	<i>K. pneumonia</i>	20	I	24	S
39	<i>E. coli</i>	23	S	21	S
40	<i>E. coli</i>	25	S	23	S
41	<i>E. coli</i>	24	S	24	S
42	<i>E. coli</i>	23	S	24	S
43	<i>E. coli</i>	23	S	23	S
44	<i>Proteus spp.</i>	16	I	23	S
45	<i>E. coli</i>	23	S	22	S
46	<i>Proteus spp.</i>	23	S	28	S
47	<i>E. coli</i>	24	S	24	S
48	<i>Proteus spp.</i>	24	S	30	S
49	<i>Klebsiella spp.</i>	23	S	28	S
50	<i>Proteus spp.</i>	18	I	25	S
51	<i>Enterobacter spp.</i>	21	I	25	S
52	<i>E. coli</i>	21	I	19	S
53	<i>E. coli</i>	23	S	20	S
54	<i>E. coli</i>	23	S	22	S
55	<i>Proteus spp.</i>	24	S	30	S
56	<i>E. coli</i>	12	R	16	I
57	<i>Proteus spp.</i>	24	S	30	S
58	<i>K. oxytoca</i>	23	S	27	S
59	<i>Proteus spp.</i>	25	S	30	S
60	<i>Proteus spp.</i>	23	S	33	S
61	<i>Proteus spp.</i>	25	S	33	S
62	<i>Proteus spp.</i>	24	S	30	S
63	<i>E. coli</i>	23	S	22	S
64	<i>E. coli</i>	25	S	24	S
65	<i>E. coli</i>	21	I	20	S
66	<i>Proteus spp.</i>	25	S	30	S
67	<i>E. coli</i>	26	S	26	S
68	<i>E. coli</i>	24	S	21	S
69	<i>Proteus spp.</i>	26	S	24	S
70	<i>E. coli</i>	25	S	20	S
71	<i>E. coli</i>	23	S	22	S
72	<i>E. coli</i>	21	I	22	S
73	<i>Klebsiella spp.</i>	19	I	22	S
74	<i>Proteus spp.</i>	26	S	33	S
Kontrola	<i>E. coli</i> ATCC 25922	22	S	21	S

...se nadaljuje...

...nadaljevanje **Priloga B**: Premeri con inhibicij pri antibiogramih s cefiksimom in cefuroksimom ter njihova interpretacija za izolirane enterobakterije oskrbovancev domov starejših občanov Novo mesto, Trebnje, Krško, Metlika in Črnomelj v obdobju od 17. 02. 2006 do 23. 04. 2007 ter od 11. 08. 2007 do 08. 10. 2007.

Od 11. 08. 2007 do 08. 10. 2007					
Zap. št.	Ime izolata	Cona inhibicije rasti			
		CXM (mm)		CFM (mm)	
75	<i>E. coli</i>	25	S	26	S
76	<i>E. coli</i>	23	S	24	S
77	<i>E. coli</i>	23	S	22	S
78	<i>E. coli</i>	19	I	22	S
79	<i>P. stuartii</i>	24	S	28	S
80	<i>E. coli</i>	25	S	23	S
81	<i>E. coli</i>	24	S	22	S
82	<i>E. coli</i>	27	S	26	S
83	<i>E. coli</i>	21	I	21	S
84	<i>Klebsiella</i> spp.	26	S	27	S
85	<i>M. morgani</i>	0	R	0	R
86	<i>M. morgani</i>	0	R	0	R
87	<i>Proteus</i> spp.	24	S	30	S
88	<i>M. morgani</i>	0	R	0	R
89	<i>M. morgani</i>	0	R	0	R
90	<i>M. morgani</i>	0	R	0	R
91	<i>Proteus</i> spp.	25	S	30	S
92	<i>Proteus</i> spp.	27	S	32	S
93	<i>E. coli</i>	24	S	24	S
94	<i>E. coli</i>	26	S	25	S
95	<i>E. coli</i>	20	I	22	S
96	<i>E. coli</i>	23	S	23	S
97	<i>Proteus</i> spp.	23	S	24	S
98	<i>Proteus</i> spp.	30	S	37	S
Kontrola	<i>E. coli</i> ATCC 25922	23	S	24	S

ESBL: laktamaze beta z razširjenim spektrom delovanja (*angl.* extended spectrum betalactamases)

^aR: (*angl.* resistant); odpornost, ^bI: (*angl.* intermediate); zmerna občutljivost, ^cS: (*angl.* susceptible); občutljivost

CXM: cefuroksoxim

CFM: cefiksim

