

Dijagnostički značaj hemokultura na području Unsko-sanskog kantona

Nerma Čaušević, Asmir Aldžić

SAŽETAK: Iz mikrobiološkog laboratorija Kantonalne bolnice „Dr. Irfan Ljubijankić“ Bihać, koji vrši mikrobiološku obradu svih bioloških uzoraka hospitaliziranih bolesnika u KB Bihać prikupljeni su podaci o urađenim hemokulturama za periode od 2015. do 2020. godine. Za obradu hemokultura mikrobiološki laboratorij koristi automatizirani sistem za detekciju mikroorganizama u krvi i primarno sterilnim tekućinama – BD BACTEC 9050. Postupak uzorkovanja hemokultura provodi se prema standardnim preporukama za uzorkovanje i obradu hemokultura.

Mikrobiološki laboratorij KB Bihać je ukupno u razdoblju od 2015. do jula 2020. godine obradio 2037 hemokultura. Broj obrađenih uzoraka u mikrobiološkom laboratoriju KB Bihać tokom šest godina se kretao od 208 do 425 parova hemokultura. Udjel pozitivnih hemokultura se kretao od 7 % do 16 %, a udjel kontaminiranih uzoraka je bio od 2 % do 12 %. Najveći broj obrađenih hemokultura je bio 2019. godine. Najveći broj kontaminiranih hemokultura zabilježen je u 2020. godini u iznosu od 12 %, odnosno do jula mjeseca 2020. godine. U obradi podataka korištene su metode deskriptivne statistike.

Među najzastupljenijim, ali i najučestalijim bakterijskim izolatima bila je *Escherichia coli*. ESBL sojevi među izolatima *E.coli* iz krvi se kreće od 1,5 %. Iza *E.coli* slijedi *Staphylococcus aureus*. Visok broj izolata imala je *Brucella spp.*, a *Klebsiella pneumoniae* je imala 12 izolata. Iza nje po ukupnom broju od 12 izolata imali su *Streptococcus pneumoniae* i *Streptococcus beta-haemolyticus* B grupe, dok je *Enterococcus spp.* imao 10. Najmanji broj izolata su imali *Proteus spp.* i *Citrobacter spp.* (po 1 izolat prisutan u 2015. godini gdje nemamo pojavljivanje u ostalim godinama). Ostali izolati su: *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *S.epidermis*, *Alcaligenes faecalis*, *Pseudomonas spp.* i *Streptococcus beta-haemolyticus* C grupe - po 1 izolat u razdoblju od 2015. do 2020. godine.

Ključne riječi: bakterijemija, krv, hemokultura, bakterijski izolati, BACTEC 9050

Diagnostic Significance of Blood Cultures in the Area of Una-Sana Canton

ABSTRACT: From the microbiological laboratory of the Cantonal hospital "Dr. Irfan Ljubijankić" Bihać, who performs microbiological processing of all biological samples of hospitalized patients in the KB Bihać, collected data on performed blood cultures for the periods from 2015 to 2020. For the processing of blood cultures, the microbiological laboratory uses an automated system for the detection of microorganisms in blood and primarily sterile fluids - BD BACTEC 9050. The procedure of causing blood cultures is carried out according to standard recommendations for causing and processing blood cultures.

In the period from 2015 to July 2020, the microbiological laboratory of KB Bihać processed a total of 2,037 blood cultures. The number of processed samples in the microbiological laboratory of KB Bihać during six years ranged from 208 to 425 pairs of blood cultures. The proportion of positive blood cultures ranged from 7% to 16%, and the proportion of contaminated samples ranged from 2% to 12%. The largest number of processed blood cultures was in 2019. The highest number of contaminated blood cultures was recorded in 2020 in the amount of 12% by July 2020. Descriptive statistics methods were used in data processing.

One of the most common, but also the most common bacterial isolates was *Escherichia coli*. ESBL strains among *E. coli* isolates from blood range from 1.5%. Then *E.coli* is followed by *Staphylococcus aureus*. *Brucella spp.* had a high number of isolates, *Klebsiella pneumoniae* had 12 isolates. Behind it in terms of the total number of 12 isolates were *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus beta-haemolyticus* B groups. While *Enterococcus spp.* had 10. The smallest number of isolates had *Proteus spp.* and *Citrobacter spp.* per 1 isolate present in 2015 where we have no occurrence in other years. Other isolates are: *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *S. epidermis*, *Alcaligenes faecalis*, *Pseudomonas spp.* and *Streptococcus beta-haemolyticus* C group 1 isolate each in the period from 2015 to 2020.

Keywords: bacteremia, blood, blood culture, bacterial isolates, BACTEC 9050

UVOD

Prisustvo bakterija u krvi označava se kao bakterijemija, koja predstavlja važan uzrok morbiditeta i mortaliteta kod bolesnika (Begovac i sar. 2006). To je stanje koje podrazumijeva prisutnost živih bakterija u cirkulirajućoj krvi, a dokazuje se izolacijom bakterija iz krvi na bakteriološkim podlogama (Bedenić i sar. 1996). Hemokultura je jedini test koji omogućava otkrivanje mikroorganizama u krvi i on, također, podrazumijeva njihovu identifikaciju i utvrđivanje osjetljivosti na antibiotike. Smatra se zlatnim standardom za potvrdu uzročnika sepse, međutim, pozitivna je u samo približno 1/3 slučajeva.

Intenzitet bakterijemije definira se brojem kolonija bakterija izoliranih iz 1ml krvi, veći je kod Gram-pozitivnih bakterijemija u odnosu na Gram-negativne bakterijemije. Također, intenzitet je veći kod djece i dojenčadi, nego kod odraslih, i u pozitivnom je međuodnosu sa težinom infekcije. Pravilno izvođenje i tumačenje hemokulture zahtijeva poznavanje kliničkih i mikrobioloških aspekata.

Klinički aspekti hemokulture

Klinički značaj imaju samo intermitentna i kontinuirana bakterijemija jer dovode do sepse. Treba uvijek imati na umu da nalaz bakterija ili gljiva u krvi ne znači uvijek oboljenje jer može predstavljati fiziološku prolaznu bakterijemiju, odnosno fungemiju ili, pak, kontaminaciju sa kože bolesnika. Faktori rizika za nastanak bakterijemije, fungemije i sepse su: životna dob (prijevremeno rođena djeca, stare osobe), maligna oboljenja, dijabetes, insuficijencija bubrega, sindrom nedostatka imuniteta, stanja sa oštećenjem kože, primjena intravaskularnih katetera, hirurški zahvati na crijevima i genitourinarnom traktu, terapija kortikosteroidima i drugim agensima gdje je oštećen celularni imunitet (rizik od infekcija intracelularnim patogenima) i terapija citotoksičnim lijekovima koji dovode do granulocitopenije (rizik od infekcija piogenim bakterijama i gljivama) (Reimer i sar. 1997, Hughes i sar. 1996; Weinstein i sar. 1983).

Mikrobiološki aspekti hemokulture

Optimalno izvođenje ove veoma važne analize zavisi od vremena uzimanja krvi, broja uzetih uzoraka, pridržavanja principa antiseptičke pripreme uzimanja i manipulacije uzorcima, količine uzete krvi, osobina hranjivih podloga, sistema koji se koristi za otkrivanje porasta uzročnika i mogućnosti kliničara da tumači dobivene rezultate (Southwick i sar. 2017, Angus i sar. 2001). Idealno bi bilo da se krv uzima kontinuirano, da se bakterije identifikuju i određuje njihov broj, da se bolesnik prati dok se ne uključe antibiotici i da se tako procjenjuje značaj bakterijemije. Ovo, međutim, nije moguće. Umjesto toga uzimaju se male količine krvi u ograničenim intervalima, pa je na taj način serija hemokultura surogat „zlatnog standarda“. Uzorci krvi za hemokulturu uzimaju se kada je to klinički opravdano, u pravo vrijeme te na pravi način, primjenjujući tehniku uzimanja kojom se sprečava kontaminacija uzorka krvi postupkom koji je siguran i za pacijenta i za odgovorno osoblje (Mikić i sar. 1999).

MATERIJAL I METODE

Iz mikrobiološkog laboratorija Kantonalne bolnice „Dr. Irfan Ljubijankić“ Bihać, koji vrši mikrobiološku obradu svih bioloških uzoraka hospitaliziranih bolesnika u KB Bihać, prikupljeni su podaci o urađenim hemokulturama za periode od 2015. do 2020. godine. Za obradu hemokultura mikrobiološki laboratorij koristi automatizirani sistem za detekciju mikroorganizama u krvi i primarno sterilnim tekućinama – BD BACTEC 9050.

Postupak obrade hemokultura u mikrobiološkom laboratoriju Kantonalne bolnice „Dr. Irfana Ljubijankić“ u Bihaću uspješno je akreditiran 1991. godine. U skladu s tim, prilikom uzimanja krvi kod sumnje na bakterijemiju služe se standardnim uputama za uzimanje, čuvanje i transportiranje bolesničkih uzoraka za mikrobiološku pretragu, a koje su dostupne svim zdravstvenim radnicima.

U sklopu obrade hemokultura u mikrobiološkom laboratoriju se prate indikatori kvalitete, koji su mjerljivi, objektivni, brojčani pokazatelji djelotvornosti ključnih segmenata nekog sistema: pokazuju karakteristike procesa, određuju kvalitetu usluga, ukazuju na potencijalne probleme, identificiraju područja za koja je potrebno provesti daljnja ispitivanja, kontinuirano prate promjene.

REZULTATI RADA I DISKUSIJA

Mikrobiološki laboratorij KB „Dr. Irfan Ljubijankić“ Bihać je ukupno u razdoblju od 2015. do jula 2020. godine obradio 2037 hemokultura. Broj obrađenih uzoraka u mikrobiološkom laboratoriju KB Bihać tokom šest godina se kretao od 208 do 425 parova hemokultura (Tabela 1).

Tabela 1. Ukupan broj obrađenih uzoraka krvi na mikrobiološkom odjelu, KB Bihać, u periodu od 2015. do jula 2020. godine

Godina	2015	2016	2017	2018	2019	2020
Broj parova HK	376	301	307	400	425	228

Najveći broj obrađenih hemokultura je bio 2019. godine. S obzirom na to, možemo reći da smo tokom 2015. godine imali povećanu potrebu za obradom hemokultura, zatim smo tokom 2016. i 2017. godine imali mali pad obrade hemokultura, dok je 2018. i 2019. godine zabilježeno znatno povećanje koje se dovodi u vezu s povećanim brojem hospitaliziranih bolesnika u Kantonalnoj bolnici „Dr. Irfan Ljubijankić“. Važno je napomenuti da se istraživanje sprovedo do jula 2020. godine, te je zbog situacije oko SARS-CoV-2 (engl. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2) koja je zadesila cijelu planetu u periodu od marta do maja bio zabilježen smanjen broj hospitaliziranih bolesnika.

Udjel pozitivnih hemokultura se kretao od 7% do 16%, a udjel kontaminiranih uzoraka je bio od 2% do 12%. Važno je napomenuti da je udjel sterilnih uzoraka bio u rasponu od 79- 88% (Tabela 2).

Tabela 2. Ukupan broj i procenat HK na mikrobiološkom odjelu, u periodu od 2015. do jula 2020. godine

Godina	2015	2016	2017	2018	2019	2020
Broj pozitivnih HK	38	27	28	65	34	16
Procenat	10%	8%	9%	16%	8%	7%
Broj kontaminiranih HK	22	19	9	18	36	28
Procenat	5%	6%	2%	4%	8%	12%
Broj sterilnih HK	316	255	270	317	355	184
Procenat	84%	84%	88%	79%	83%	80%

U tabeli 3 je izdvojen dio bakterijskih izolata iz hemokultura u šestogodišnjem razdoblju, a to su: *E. coli*, *E. coli* ESLB soj, *Streptococcus viridans*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Acinetobacter* spp., *Proteus* spp., *Proteus mirabilis*, *Citrobacter* spp., *Enterococcus* spp., *Corynebacterium* spp.

Tabela 3. Prikaz izolata iz hemokultura KB Bihać, 2015. do jula 2020. godine

Izolati	2015	2016	2017	2018	2019	2020
<i>E. coli</i>	14	0	4	8	7	4
<i>E. coli</i> ESLB	0	7	0	0	0	0
<i>S. viridians</i>	2	0	0	0	0	0
<i>K. oxytoca</i>	1	0	1	0	0	0
<i>K. pneumoniae</i>	1	2	2	4	2	1
<i>S. aureus</i>	4	2	9	7	5	7
<i>S. lugdunensis</i>	3	0	0	0	0	0
<i>Acinetobacter</i> spp.	2	0	0	1	0	0
<i>Proteus</i> spp.	1	0	0	0	0	0
<i>P. mirabilis</i>	0	0	0	0	4	0
<i>Citrobacter</i> spp.	1	0	0	0	0	0
<i>Enterococcus</i> spp.	1	1	1	2	4	1
<i>Corynebacterium</i> spp.	2	0	1	1	0	1

Među najzastupljenijim, ali i najučestalijim bakterijskim izolatima bila je *E. coli*. U tabeli 2 je prikazan broj izolata *E. coli* u šestogodišnjem razdoblju, koji se kreće od 4 izolata u jednoj godini do 14, što je i najveći broj izolata u ovoj prikazanoj tabeli koji ukupno iznosi 44. Radi se o najčešćem bakterijskom izolatu iz hemokultura. Udjel sojeva koji luče beta-laktamaze proširenog spektra, tzv. ESBL sojevi među izolatima *E. coli* iz krvi se kreće od 1,5 %.

Iza *E. coli* slijedi *S. aureus* od 34 ukupna izolata, gdje u jednoj godini imamo 2 do 9 bakterijskih izolata. *K. pneumoniae* je imala 12 izolata, dok je *Enterococcus* spp. imao 10. Najmanji broj izolata je imali su *Proteus* spp. i *Citrobacter* spp. sa po 1 izolatom prisutnim u 2015. godini gdje nemamo pojavljivanje u ostalim godinama.

U tabeli 4 imamo prikaz ostalih izolata iz hemokultura za šestogodišnji period, a to su:

Streptococcus spp., *S. pneumoniae*, *Staphylococcus* spp., *S. epidermis*, *Alcaligenes faecalis*, *Brucella* spp., *Salmonella* spp., *Pseudomonas* spp., *P. aeruginosa*, *Canida albicans*, *Neisseria meningitis*, *Serratia* spp., *Streptococcus beta-haemolyticus* A grupe, *Streptococcus beta-haemolyticus* B grupe, *Streptococcus beta-haemolyticus* C grupe.

Tabela 4. Tabela 3. Prikaz izolata iz hemokultura KB Bihać, 2015. do jula 2020. godine

Izolati	2015	2016	2017	2018	2019	2020
<i>Streptococcus</i> spp.	0	1	0	0	0	0
<i>S. pneumoniae</i>	0	0	1	4	5	2
<i>Staphylococcus</i> spp.	0	0	0	1	0	0
<i>S. epidermis</i>	0	0	0	1	0	0
<i>Alcaligenes faecalis</i>	0	0	0	1	0	0
<i>Brucella</i> spp.	0	0	0	28	1	0
<i>Salmonella</i> spp.	0	0	0	1	1	0
<i>Pseudomonas</i> spp.	0	0	0	1	0	0
<i>P. aeruginosa</i>	2	1	0	0	1	0
<i>C. albicans</i>	0	5	0	0	0	0
<i>N. meningitis</i>	0	2	0	0	0	0
<i>Serratia</i> spp.	0	2	0	0	0	0
<i>Streptococcus beta-haemolyticus</i> A grupe	0	0	0	2	1	0
<i>Streptococcus beta-haemolyticus</i> B grupe	0	2	7	2	1	0
<i>Streptococcus beta-haemolyticus</i> C grupe	0	0	0	0	1	0

Ovdje je zanimljivo da je najveći broj izolata imala *Brucella* spp., i to u ukupnom iznosu od 29 u 2018. godini gdje je bilo čak 28 izolata, dok je za 2019. godinu bio samo karakterističan 1 izolat.

Odmah iza nje po ukupnom broju od po 12 izolata bili su *S. pneumoniae* i *Streptococcus beta-haemolyticus* B grupe, a najmanji broj bakterijskih izolata iz hemokulture su imale: *Streptococcus* sp, *Staphylococcus* spp., *S. epidermis*, *Alcaligenes faecalis*, *Pseudomonas* spp. i *Streptococcus beta-haemolyticus* C grupe po 1 izolat u razdoblju od 2015 do 2020. godine. Međutim, njihov značaj ne možemo umanjiti.

Tabela 5. Prikaz izolata iz hemokultura KB Bihać, 2015. do jula 2020. godine

Godina	2015	2016	2017	2018	2019	2020
Broj kontaminiranih HK	22	19	9	18	36	28
Procenat kontaminiranih HK	5%	6%	2%	4%	8%	12%

U tabeli 5 imamo prikaz stepena kontaminacije za obrađene hemokulture. U periodu ispitivanja stepen kontaminacije se kretao od 2% do 12 %. Zabilježen je

blagi opadajući trend tokom 2017. godine, ali i trend povećanja koji se zadržava do 2020. godine.

Iako nisu navedeni u tabelama, važno je spomenuti i izolate koji su identificirani kao koagulaza negativni stafilokoki. Najčešće tokom ovog ispitivanja izolovana vrsta KNS iz uzorka krvi bolesnika sa znacima infekcije krvi je *Staphylococcus epidermidis*. KNS su izolovani u značajnom broju u ispitivanom periodu.

Za veliki dio izolata zaključeno da nisu od posebnog kliničkog značaja jer se ponavljanjem hemokulture ustanovilo da nije došlo do porasta bakterija, te da je njihovo prvobitno izolovanje bilo uzrok kontaminacije.

ZAKLJUČAK

Istraživanje na mikrobiološkom odjelu Kantonalne bolnice „Dr. Irfan Ljubijankić“ nam je pomoglo da steknemo uvid o određenim podacima o hemokulturama. Iako sam postupak vađenja uzorka krvi za hemokulturu djeluje jednostavno, on spada u najzahtjevnije postupke vađenja krvi zbog mogućih kontaminacija.

Razni faktori djeluju na precizno kultiviranje krvi: antisepsija kože, broj i vrijeme kulture, pravilan volumen za krvnu kulturu, kulturni medij i bilo koji dodaci, dužina i atmosfera inkubacije te interpretacija pozitivnih rezultata hemokultura. U svim koracima ovog postupka mogu se desiti razne pogreške koje se mogu odraziti na rezultate pretrage. Pogreške utječu na nalaz, mogu dovesti do pogrešnih spoznaja i pogrešnog postavljanja dijagnoze.

Zbog tih, ali i mnogih drugih razloga, vrlo je važna uloga medicinske sestre u dijagnostičkom postupku utvrđivanja uzročnika iz krvi.

Sam postupak venepunkcije pretpostavlja niz propisanih postupka koje treba provesti, odnosno, koristiti rješenja za sprečavanje ili minimiziranje pogrešaka koje mogu nastati prilikom vađenja hemokultura, a koje su ključne za postavljanje dijagnoze. Povećani udjel krvnih izolata koji predstavljaju kontaminaciju zabrinjava, posebno u okruženju koje zahtijeva ekonomičnu njegu.

Učestalost izolacije koagulaze koja je negativna na stafilokok posebno je problematična, jer je kliničarima često teško utvrditi klinički značaj ovih bakterija.

Smanjenje anaerobne bakterijemije i srazmjerno povećanje gljivica naveli su neke vlasti da preporuče

promjene rutinskih tehnika krvne kulture. Uprkos svim naporima, nekada nije moguće otkriti žarište infekcije niti mikroorganizme u krvi.

Savremeni komercijalni sistemi su u značajnoj mjeri unaprijedili tehniku hemokulture, što je jedno od značajnijih dostignuća u oblasti kliničke mikrobiologije u posljednjoj deceniji.

Bitno je naglasiti da je veoma važna dobra suradnja između kliničkih odjela i mikrobiološkog laboratorija te redovna povratna informacija o rezultatima kvaliteta vađenja. Trajna edukacija je pretpostavka kvalitetnog i dobrog rada.

LITERATURA

- Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR (2001): Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med.* 29:1303-10.
- Begovac J., Božinović D., Lisić M., Baršić B., Schonwald S., (2006): *Infektologija*. 1.izd. Zagreb: Profil;str. 31-95.
- Bedenić B., Božinović D., Kalenić S., Vraneš J., (1996): *Klinička mikrobiologija i parazitologija*, Zagreb; str. 3-16.
- Hughes NE, Alcid DV., (1996): Bacteremia and sepsis. In: Reese RE, Betts RF, editors. *A practical approach to infectious diseases*. 4th ed. Boston: Little, Brown and Co, pg. 25–65.
- Mikić D, Bojić I, Rajić-Dimitrijević R, Trnjak Z, Đokić M, Begović V, et al.,(1999): Značaj određivanja pojedinih kliničko-laboratorijskih parametara u proceni težine i ishoda sepse. *Vojnosanitet Pregl.*56(6): 607–17.
- Reimer LG., Wilson ML., Weinstein MP., (1997): Update on detection of bacteremia and fungemia. *Clin Microbiol Rev.* 10(3): 444–65.
- Southwick F, Ivić I., (2017): Sindrom sepse. U: Southwick F, Ivić I, urednici. *Infektivne bolesti – kratki klinički tečaj*. 2. izdanje, 1. hrvatsko izdanje. Split: Placebo; str. 57-65I.
- Weinstein MP., Murphy JR., Reller LB., Lichtenstein KA., (1883): The clinical significance of positive blood cultures: a comprehensive analysis of 500 episodes of bacteremia and fungemia in adults. II. Clinical observations, with special reference to factors influencing prognosis, *Rev Infect Di*, vol. 5, pg. 54-70.

INFORMACIJE O AUTORIMA

Nerma Čaušević

e-mail: causevic_nerma@hotmail.com

Asmir Aldžić

Univerzitet u Bihaću

Fakultet zdravstvenih studija

Nositelja hrvatskog trolista 4, 77 000 Bihać

e-mail: asmir.aldzic@unbi.ba

e-mail: asmirdzic@hotmail.com