



## **Središnja medicinska knjižnica**

**Marušić, Ante (2010) *Epidemiologija, slikovni prikaz i kliničko značenje infekcija uzrokovanih netuberkuloznim mikobakterijama.* Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu.**

<http://medlib.mef.hr/928>

University of Zagreb Medical School Repository

<http://medlib.mef.hr/>

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Ante Marušić**

**Epidemiologija, slikovni prikaz i  
kliničko značenje infekcija  
uzrokovanih netuberkuloznim  
mikobakterijama**

**DISERTACIJA**



**Zagreb, 2010.**

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Ante Marušić**

**Epidemiologija, slikovni prikaz i  
kliničko značenje infekcija  
uzrokovanih netuberkuloznim  
mikobakterijama**

**DISERTACIJA**

**Zagreb, 2010.**

Disertacija je izrađena uz veliku pomoć i suradnju prim. Vere Katalinić-Janković, dr.med. voditeljice Odsjeka za dijagnostiku netuberkuloznih mikobakterija Odjela za dijagnostiku tuberkuloze Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo u sklopu kojeg je napravljen veći dio disertacije. Disertacija je rađena i u sklopu KBC Zagreb, Kliničkog zavoda za torakalnu radiologiju Jordanovac te Klinike za plućne bolesti Jordanovac.

Voditelj rada: doc.dr.sc. Sanja Popović-Grle, dr.med.

Posebno se zahvaljujem prim. Veri Katalinić-Janković na velikom trudu uloženom u izradu ove disertacije. Zahvaljujem se i svojoj mentorici doc.dr.sc. Sanji Popović-Grle na pomoći i stalnoj podršci. Zahvaljujem se svojoj obitelji na potpori i strpljenju.

## SADRŽAJ

1. UVOD, CILJEVI I SVRHA RADA .....	1.
1.1. UVOD .....	2.
1.1.1. Epidemiologija i taksonomija netuberkuloznih mikobakterija .....	2.
1.1.2. Slikovni prikaz u infekcijama uzrokovanim netuberkuloznim mikobakterijama .....	8.
1.1.3. Klinički značaj infekcija uzrokovanih netuberkuloznim mikobakterijama .....	15.
1.1.3.1. Smjernice Američkog torakalnog društva i Društva za zarazne bolesti Amerike za dijagnostiku, terapiju i prevenciju bolesti uzrokovanih s netuberkuloznim mikobakterijama .....	19.
1.2. HIPOTEZA, CILJEVI I SVRHA RADA .....	21.
1.2.1. Hipoteza .....	21.
1.2.2. Ciljevi .....	21.
1.2.3. Svrha rada .....	22.
2. MATERIJAL I METODE .....	23.
3. REZULTATI .....	31.
3.1. UVOD.....	32.
3.2. EPIDEMIOLOGIJA .....	33.
3.3. SLIKOVNI PRIKAZ .....	45.
3.4. KLINIČKI ZNAČAJ .....	50.
4. RASPRAVA .....	59.
4.1. EPIDEMIOLOGIJA .....	60.
4.2. SLIKOVNI PRIKAZ .....	65.
4.3. KLINIČKI ZNAČAJ .....	69.
5. ZAKLJUČCI .....	73.
6. REFERENCE .....	77.
7. SAŽETAK .....	99.
8. ABSTRACT.....	101.
9. ŽIVOTOPIS .....	103.

## POPIS OZNAKA I KRATICA

- AIDS – (acquired immune deficiency syndrome) sindrom stečene imunodeficijencije
- ANOVA – analiza varijance
- ATS – (American Thoracic Society) Američko torakalno društvo
- CT – (computer tomography) kompjutorizirana tomografija
- HIV - virus humane imunodeficijencije
- HRCT – (high resolution CT) kompjutorizirana tomografija visoke rezolucije
- HZJZ – Hrvatski zavod za javno zdravstvo
- IDSA – (Infectious Diseases Society of America) Društvo za zarazne bolesti Amerike
- KOPB – kronična opstruktivna plućna bolest
- kV - kilovolt
- M – *Mycobacterium*
- mA – miliamper
- mAs - miliampersekunda
- MAC – *Mycobacterium avium complex*
- MR – magnetska rezonancija
- NaCl – natrij klorid
- NALC–NaOH - N-acetyl-L-cysteine-natrij hidroksid
- NTM – netuberkulozne mikobakterije
- PET/CT – pozitronska emisijska tomografija/kompjutorizirana tomografija
- RGM – brzorastuće mikobakterije (rapidly growing mycobacteria)
- rRNA – ribosomalna ribonukleinska kiselina
- Rtg – rendgen
- SAD – Sjedinjene američke države
- SGM – spororastuće mikobakterije (slow growing mycobacteria)
- SPSS – statistički program
- Tbc – tuberkuloza
- 18F-FDG – 18F-fluorodeoksiglukoza
- $\chi^2$  – hikvadrat

## **1. UVOD, CILJEVI I SVRHA RADA**

---

## 1.1. UVOD

### 1.1.1. EPIDEMIOLOGIJA I TAKSONOMIJA NETUBERKULOZNIH MIKOBAKTERIJA

Rod *Mikobakterija* sadrži više od 120 vrsta od kojih većina ne uzrokuje bolesti u čovjeka i žive kao uobičajeni stanovnici prirodnih voda<sup>(1, 58)</sup>, a mogu se naći i u ostalim staništima u okolišu. Iz roda se izdvajaju kao dugo poznati patogeni *Mycobacterium tuberculosis* i *Mycobacterium leprae*, dok se ostali pripadnici roda sada uobičajeno nazivaju netuberkulozne mikobakterije (NTM). Iako je patogenost ove, najčeće saprofitne skupine bakterija, prepoznata još od rane 1908. godine<sup>(2)</sup>, tek od polovine 20 stoljeća raste interes za istraživanjem infekcija uzrokovanih NTM-ma<sup>(3)</sup>. Od tada, kada im je M. Pinner dao ime „atipične“ mikobakterije<sup>(4)</sup>, provedena su brojna epidemiološka, mikrobiološka, radiološka te interdisciplinarna istraživanja kako bi se utvrdio stvarni klinički značaj NTM.

Epidemiološke studije ukazuju na široku rasprostranjenost i slabu zaraznost NTM te potrebu postojanja predisponirajućih faktora, osobito imunodeficijencije, kako bi se razvila infekcija. Značajan je trend rasta učestalosti infekcija uzrokovanih NTM-ma dok incidencija tuberkuloze pada<sup>(5)</sup>. Značajnu promjenu u epidemiologiji i biološkom ponašanju NTM donosi pandemija AIDS-a. Učestalost pojedinih vrsta NTM koje se identificiraju kao patogen te mjesto infekcije koje uzrokuju se razlikuje kod imunokompromitiranog domaćina. U pacijenata zaraženih HIV-om infekcije uzrokovane NTM-ma javljaju se u 5-50% slučajeva i najčešće su uzrokovane *Mycobacterium avium complexom* (MAC-om)<sup>(5, 6, 7, 8, 9)</sup>. Učestalost pojedinih vrsta NTM koje uzrokuju infekcije u imunokompetentnih domaćina razlikuje se po regijama i državama. Primjerice, u SAD su najčešće infekcije uzrokovane s MAC koju slijedi *M. kansasii* s tim da je MAC češće izoliran u pacijenta sa sela, dok se u stanovnika gradova češće izolira *M. kansasii*<sup>(5, 10, 11, 12)</sup>. U sjevernom dijelu Australije također je najčešće izoliran MAC, ali ga slijedi *M. fortuitum*<sup>(13)</sup>. Na susjednom Novom Zelandu dobiveni su slični rezultati odnosno MAC se najčešće izolira, a slijede ga *M. chelonae/abscessus*<sup>(14)</sup>. Brzorastuće mikobakterije (RGM) nisu specifičnost Novog Zelanda. Naime, uz MAC jako su čest, a prema nekim istraživanjima, i najčešći

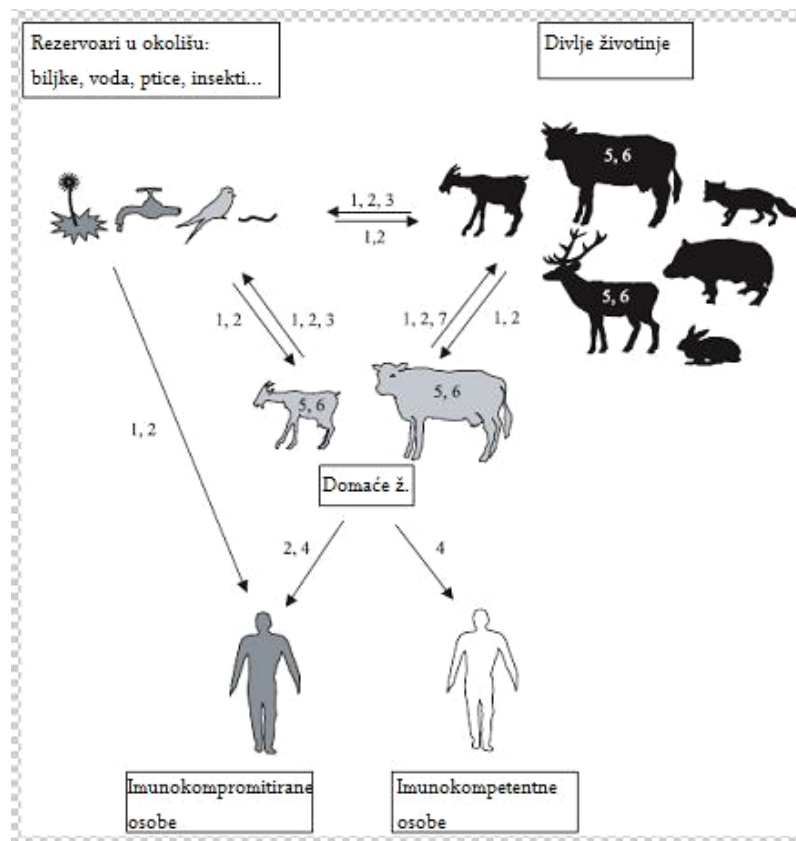


patogen u Brazilu<sup>(15, 16, 17)</sup>. U još nekim, klimatski uglavnom toplijim zemljama kao što su Grčka<sup>(18)</sup> i Tajland<sup>(19)</sup>, česte su RGM. Istraživanja provedena u Hong Kongu<sup>(20)</sup>, Zambiji<sup>(21)</sup>, Koreji<sup>(22, 23)</sup> i Japanu<sup>(24)</sup> na prvo mjesto po učestalosti izolacija stavljaju MAC. U Evropi postoje značajne razlike od Skandinavije do već spomenute Grčke. U Skandinaviji se, vrlo često, kao patogena vrsta NTM izolira *M. malmoense*<sup>(25, 26, 27, 28, 29)</sup>. U Engleskoj i Velsu<sup>(30)</sup>, djelovima Kanade<sup>(31, 32)</sup>, dijelovima Francuske, osobito Pariza<sup>(33)</sup> te Nizozemskoj<sup>(34)</sup> često se izolira *M. xenopi* kao vodeći patogen iz skupine NTM.

Zbog činjenice da prijenos NTM s čovjeka na čovjeka nikada nije dokazan, opće je prihvaćeno da je izvor zaraze s NTM za čovjeka okoliš<sup>(6, 35)</sup>. Većina vrsta patogenih NTM nađena je u okolišu te stoga spadaju u skupinu važnih oportunističkih patogena iz okoliša, kako za čovjeka, tako i za divlje i domaće životinje te ribe<sup>(5, 36, 37, 38)</sup>. Istraživanjima provedenim kroz zadnjih 30 godina NTM su pronađene u raznim prirodnim staništima kroz koja interferiraju s čovjekom. Netuberkulozne mikobakterije se u prirodi mogu naći u površinskim vodi, u cjevovodima pitke vode i zemlji<sup>(5, 36)</sup>. U velikom broju NTM se mogu naći u vodi i biofilmu koji prekriva cijevi u sustavu cjevovoda za pitku vodu<sup>(39, 40)</sup> i tim putem dopijevaju do cijevi u kućanstvima. Posebice treba naglasiti da se NTM dobro razvijaju i često u kućanstvima mogu naći u slušalicama tuševa<sup>(41, 42)</sup>. Zbog lipidima bogate vanjske membrane NTM su hidrofobne<sup>(43, 44)</sup>, a zbog čega lakše i čvršće prijanjaju na stijenu cijevovoda<sup>(45)</sup>. Bakterije iz ove skupine također su otporne na dezinfekcijska sredstva i antibiotike<sup>(46)</sup>. Netuberkulozne mikobakterije su oligotrofi<sup>(47)</sup> i sposobne su rasti na brojnim podlogama, pa čak i u izrazito nepovoljnim sredinama. Budući da su NTM otporne na dezinfekcijska sredstva, a s druge strane sposobne živjeti u nepovoljnim uvjetima, odnosno u toplom okruženju do 50°C, uz vrlo oskudne izvore hrane, one dobro uspijevaju upravo u cijevovodima kako hladne tako i tople vode. Dezinfekcija vode za piće kojom se unište drugi mikroorganizmi, a s kojima bi NTM inače dijelile taj okoliš, ide u korist NTM. Kao mogući put prijenosa NTM iz slušalice tuša navode se sitne kapljice aerosola. Na taj način prvenstveno nastaju plućne infekcije. Osim toga, voda iz cjevovoda, a koja je kontaminirana s NTM, može putem oštećenih desni dovesti do pojave limfadenitisa na vratu u male djece. I naposljetku, kontakt s kontaminiranom prašinom i tresetom za kućno bilje može doći do infekcije NTM-  
ma<sup>(48)</sup>.

Od ranije je poznato da se *M. tuberculosis*, osobito bovin tip, može prenijeti sa životinje na čovjeka. Budući da je znanje o NTM kao uzročnicima zoonoza vrlo oskudno, a tek su nešto bolje istražene podvrste MAC-a, a u korelaciji s *M. tuberculosis*, za pretpostaviti je da je i taj način zaraze moguć. Istraživanjima u tom smjeru do sada su izolirane mnoge vrste NTM, a osobito MAC, kod mnogih domaćih i divljih životinja<sup>(49, 50)</sup>. Iz tog skupa NTM izdvaja se *M. avium* subsp. *hominissuis* koja je oportunistički okolišni patogen za čovjeka i svinju te ponekad i druge sisavce<sup>(51)</sup>. Mogući putevi prijenosa MAC-a lijepo su prikazani na Slici 1. preuzetoj iz članka Biet F. i suradnika<sup>(38)</sup>.

Slika 1. Izvori i putevi infekcija izazvanih MAC-om. Ilustracija mogućih puteva prijenosa MAC-a između okoliša, divljih životinja, domaćih životinja i čovjeka. 1: Oralna infekcija; 2: Infekcija putem aerosola; 3: Pasivna infekcija; 4: Infekcija prerađenim proizvodima; 5: Vertikalni prijenos; 6: Horizontalni prijenos; 7: Infekcija predatora<sup>(38)</sup>.



Genetske varijacije između pojedinih vrsta NTM, kao i unutar pojedinih vrsta, determiniraju njihovu virulenciju i morfologiju, odnosno i izgled kolonija, razlike u zemljopisnim područjima u kojima su najbrojnije, klonalne varijacije u okolišu i u pacijentu. Brojna genetska istraživanja imaju za cilj otkriti gen koji je odgovoran za razliku u virulenciji između vrsta NTM te između pojedinih podvrsta jedne vrste NTM<sup>(52)</sup>. Mogućnost određivanja virulentnosti podvrste od posebnog bi značaja bila kod onih vrsta NTM koje se mogu naći u vodi za piće. Tako je van Ingen i suradnici<sup>(34)</sup> dokazao da je tip II *M. xenopi* virulentniji od ostale tri podvrste te vrste NTM. Prema brzini rasta i izgledu kolonija, Runyon<sup>(53)</sup> NTM svrstava u četiri kategorije, uz koje će u Tablici 1. biti nabrojene i najvažnije mikrobiološke karakteristike pojedinih važnijih vrsta NTM.

Tablica 1. Klasifikacija NTM prema Runyonu s prikazom karakteristika važnijih vrsta NTM.

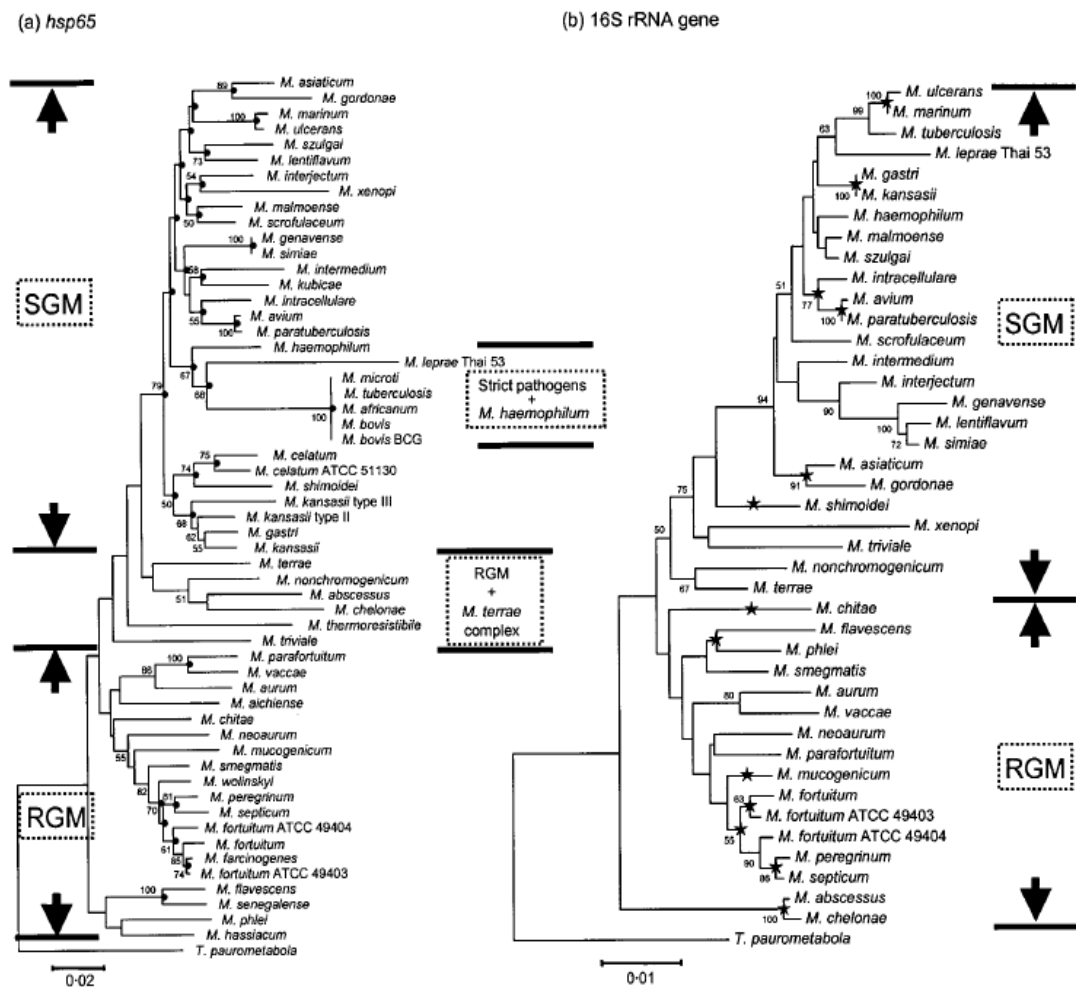
<b>GRUPA</b>	<b>KARAKTERISTIKE</b>	<b>VAŽNIJE VRSTE</b>
<b>I</b>	Spororastuće; pigmentacija nakon izlaganja svjetlu (fotokromatogene)	<i>M. kansasii</i> , <i>M. szulgai</i> , <i>M. simiae</i>
<b>II</b>	Spororastuće; pigmentacija bez izlaganja svjetlu (skotokromatogene)	<i>M. scrofulaceum</i> , <i>M. xenopi</i> , <i>M. gordonae</i>
<b>III</b>	Spororastuće; bez pigmentacija (nepigmentirane)	<i>M. avium</i> , <i>M. intracellulare</i> , <i>M. malmoense</i>
<b>IV</b>	Brzorastuće	<i>M. fortuitum</i> , <i>M. abscessus</i> , <i>M. chelonae</i>

Uvođenjem tekućih podloga, kao što je Mycobacteria Growth Indicator Tube; Becton-Dickinson, SAD, u mikrobiološku dijagnostiku NTM, dolazi do značajnog porasta u broju pozitivnih izolata, ali bez odgovarajućeg porasta u broju stvarno oboljelih, a što dovodi do zaključka da se radi o osjetljivijoj mikrobiološkoj dijagnostičkoj metodi<sup>(54)</sup>. Do tada su se koristile samo krute podloge, kao što su:

Löwenstein-Jensen i Midlebrook krute podloge. Od 1995. godine uzeti uzorci se kultiviraju i na krutim i na tekućim podlogama.

Poseban uzlet u identifikaciji novih vrsta dogodio se u novom tisućljeću, poglavito nakon uvođenja komercijalno dostupnih testova za utvrđivanje genoma NTM, a kao što je npr. GenoType CM assey (Hain Diagnostika, Njemačka). Od tada se uvodi i banka podataka za utvrđene genome pojedinih vrsta i podvrsta NTM koja je dostupna putem interneta. To je omogućilo sve brže i brže prepoznavanje i opis novih vrsta. Za identifikaciju pojedinih vrsta NTM najčešće se koristi 16s rRNA gen<sup>(55)</sup>. U uposljednje se vrijeme sve češće koriste i drugi geni kao npr. hsp65<sup>(56)</sup>. Tehnološki postupci identifikacije NTM su sve napredniji te postaju sve brži, a kako bi se omogućio čim raniji početak odgovarajuće terapije<sup>(57, 58)</sup>.

Slika 2. Usporedba filogenetskih stabala NTM baziranih na sekvencama a)hsp65 gena i b)16S rRNA gena. SGM-spororastuće, RGM-brzorastuće NTM.



Na Slici 2. prikazano je filogenetsko stablo NTM s obzirom na analizu hsp65 gena i 16S rRNA genskih skvenci. Usporedbom oba filogenetska stabla potvrđena je topografska sličnost s tek manjim razlikama. Slika je preuzeta iz članka Kim H i suradnika<sup>(56)</sup>.

Iz Slike 2. je razvidno da su brzorastuće NTM (RGM) filogenetski starije od njihovih rođaka, spororastućih NTM (SGM).

### 1.1.2. SLIKOVNI PRIKAZ U INFEKCIJAMA UZROKOVANIM NETUBERKULOZNIM MIKOBAKTERIJAMA

Infekcije uzrokovane NTM-ma čine vrlo široku skupinu bolesti, odnosno patoloških stanja. Ovisno o organskom sustavu koji je zahvaćen, razlikuje se i algoritam pretraga, odnosno prikladne metode slikovnog prikaza koje treba primjeniti i redosljed njihove upotrebe.

Tako će se npr. u djece kod koje se nađe cervikalni limfadenitis uzrokovan NTM-ma kao prva slikovna metoda prikaza upotrijebiti ultrazvuk<sup>(59)</sup>. Međutim, s obzirom na moguću rasprostranjenost i smještaj patološki uvećanih limfnih čvorova, često je nužna i šira dijagnostička obrada, odnosno upotreba kompjutorizirane tomografije (CT) i magnetske rezonancije (MR) glave i vrata. U istraživanju Robsona i suradnika<sup>(60)</sup> istaknuto je kako su metode slikovnog prikaza upotrebljene u pacijenata koji su bili uključeni u njihovu studiju bile i CT i MR. Obje metode su prikazale tipične patomorfološke karakteristike bolešću zahvaćenih limfnih čvorova te stvarnu proširenost bolesti. Najčešće su nađeni uvećani limfni čvorovi patoloških karakteristika na CT-u i MR-u u području angulusa mandibule i u parotidnim regijama. Kod pacijenta s neuobičajenim tijekom bolesti, limfadenopatija je nađena u retrofaringealnom prostoru, oponašajući izgled retrofaringelanog apscesa<sup>(60)</sup>. Prikaz patološki uvećanih limfnih čvorova, odnosno limfadenopatije, na vratu uzrokovane s *M. tuberculosis* i NTM se razlikuje. Limfadenopatiju na vratu kod infekcije uzrokovane s *M. tuberculosis* čine konglomerati limfnih čvorova koji su hipodenznog prikaza na CT-u<sup>(61)</sup>, dok će se s NTM-ma inficirani limfni čvorovi na vratu prvenstveno prikazati kao pojedinačno uvećani i patološki promijenjeni limfni čvorovi koji se rubno imbibiraju kontrastom<sup>(59)</sup>. Za razliku od navedenih promjena vidljivih kod infekcija uzrokovanih mikobakterijama, u pacijenata s limfadenopatijom na vratu, a koja se vidi u sklopu „bolesti mačjeg ogreba“, uz uvećane limfne čvorove, CT-om i MR-om se vidi i edem okolnog tkiva<sup>(62)</sup>.

U trbušnoj šupljini zabilježeni su mnogi oblici infekcija uzrokovanih s NTM; od glomerulonefritisa<sup>(63, 64)</sup>, osobito kod pacijenata s transplantiranim bubregom<sup>(65)</sup>, apscesa slezene do peritonitisa<sup>(66)</sup>. Za prikaz većine intraabdominalnih oblika bolesti uzrokovanih s NTM-ma najprikladnija metoda slikovnog prikaza je CT.

Netuberkulozne mikobakterije mogu uzrokovati upale tetivnih ovojnica, tenosinovitise<sup>(67)</sup>, a od metoda slikovnog prikaza u takvih pacijenata najprikladnije je upotrijebiti ultrazvuk i MR.

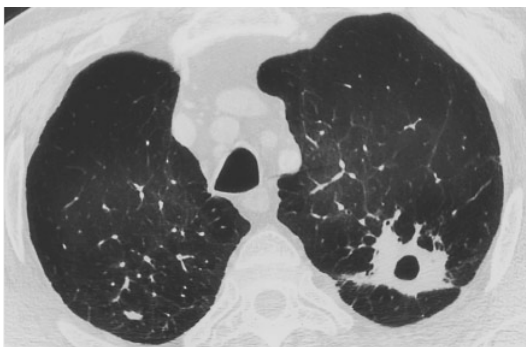
Infekcije uzrokovane NTM-ma mogu imati neočekivan tijek, osobito kod imunokompromitiranih pacijenata kod kojih se može naći opsežna limfadenopatija koja vrlo sporo progredira i može dovesti do krivog zaključka o mogućoj malignoj etiologiji bolesti. U takvim slučajevima može biti na tragu kliničkog promišljanja učinjena i pozitronska emisijska tomografija (PET/CT) na kojoj se patomorfološke promjene uzrokovane NTM-ma pojačano nakupljaju 18F-fluorodeoksiglukozu (18F-FDG)<sup>(68)</sup>. Naime, PET/CT je nuklearno medicinska metoda kombinirana sa metodom slikovnog prikaza koja se uobičajeno ne koristi u bolesnika s infekcijama uzrokovanim NTM-ma.

Plućne infekcije su najčešće infekcije uzrokovane NTM-ma te su i najviše istraživane. Za oslikavanje plućnog sustava primarno se, kao metoda slikovnog prikaza, koristi standardna sumacijska snimka torakalnih organa, odnosno radiogram toraksa. Slijedeća pretraga u algoritmu pretraga za oslikavanje torakalnih organa je CT<sup>(69)</sup>. Do sada su provedena brojna istraživanja koja su se bavila ovom tematikom. Pokazalo se da infekcije uzrokovane različitim vrstama NTM dijele većinu karakteristika i većinom nemaju karakteristične znakove na radiogramima ili tankim slojevima CT ili HRCT-a (CT visoke rezolucije) već se njihove karakteristike preklapaju<sup>(70,71,72,73)</sup>. Osim međusobno, NTM dijele mnoge patomorfološke značajke i s infekcijama uzrokovanim s *M. tuberculosis*<sup>(74, 75, 76)</sup>. Pokazalo se da je CT znatno osjetljivija metoda za detekciju suptilnih, a karakterističnih promjena za plućne infekcije uzrokovane s NTM-ma od radiograma<sup>(77, 78, 79)</sup>.

Do sada su najbolje istražene promjene u plućnim infekcijama uzrokovanih MAC-om. Većina autora razlikuje dvije vrste plućne bolesti: a) klasičnu koja se javlja kod starijih muškaraca, pušača, s predisponirajućim i pridruženim bolestima i stanjima i b) neklasičnu koja se javlja u sredovječnih zdravih žena<sup>(76, 80)</sup>. U skupini a), odnosno klasičnom obliku bolesti, vide se promjene u smislu infiltrata te šupljina, odnosno kaverni, najčešće tankozidnih, bez nivoa tekućine, s drenažnim bronhom te kasnijim ožiljavanjem i smanjivanjem volumena bolešću prožetog plućnog tkiva. Ovaj oblik plućne infekcije uzrokovane s NTM-ma najčešće zahvaća gornje reznjeve obostrano, osobito posteriorne segmente. Ove promjene su neodvojive od promjena koje se vide u postprimarnoj infekciji uzrokovanoj s *M. tuberculosis*<sup>(81)</sup>. U skupini b) vide se

bronhiektazije, zadebljane stijenke bronha, te centrilobularni nodusi manji od 1 cm i sitni nodusi koji se računaju u smislu „propupalog drveta“ (engl. „tree in bud“) te mukusnih impakcija u zahvaćenom području. Opisane promjene prvenstveno zahvaćaju srednji režanj desnog plućnog krila te lingularne segmente gornjeg reznja lijevog plućnog krila. U ovu podjelu radioloških znakova prema kojima se mogu razlučiti dva oblika bolesti uzrokovana MAC-om Chung i suradnici<sup>(82)</sup> uvode i treću, prijelaznu skupnu, odnosno c) neklasificirani oblik koji dijeli karakteristike oba ranije opisana oblika plućne infekcije uzrokovane s NTM-ma. U skupini c) radioloških karakteristika NTM infekcija uz infiltrat i konsolidaciju nalaze se i bronhiektazije i mali nodusi. Na Slici 3. prikazani su slikovni primjeri za sva tri oblika bolesti: a) klasičan, b) neklasičan i c) neklasificiran.

Slika 3. Slikovni primjeri radiološki detektabilnih oblika plućnih infekcija uzrokovanih NTM-ma, poglavito MAC-om: a) klasičan kavitaran<sup>(77)</sup>; b) neklasičan nodularno bronhiektatičan<sup>(77)</sup>; c) neklasificiran<sup>(75)</sup>

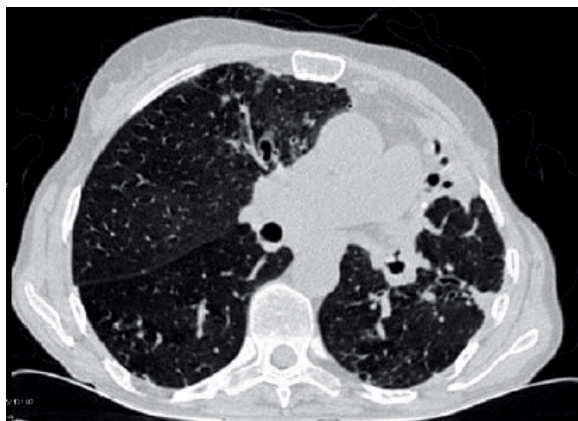


a) kaverna gornjeg reznja lijevo



b) bronhiektazije srednjeg reznja i lingule





c) konsolidacija gornjeg reznja lijevo i  
bronhiektazije srednjeg reznja desno

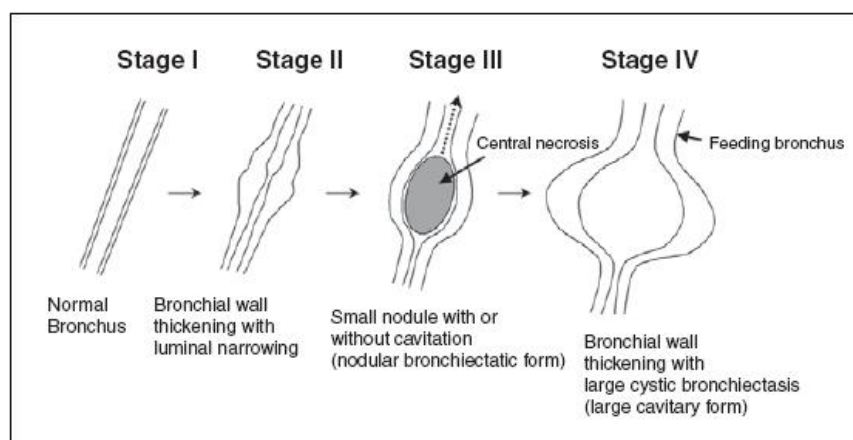
Interesantna je podjela plućnih infekcija uzrokovanih NTM-ma na osnovi radiomorfoloških značajki koja je prikazana u članku Erasmusa i suradnika<sup>(83)</sup>. Infekcije su podijeljene u: a) klasične infekcije; b) neklasične infekcije; c) nodusi kod asimptomatskih pacijenata; d) infekcije kod pacijenata s ahalazijom i e) infekcije u imunokompromitiranih pacijenata. O prve dvije kategorije već je gotovo sve napisano u gornjem tekstu. U skupnu c) spadaju pacijenti u kojih se slučajno pronađe jedan ili više nodusa, a koji su za razliku od malignih promjena ujednačene veličine. U pacijenata koji spadaju u skupinu d) s ahalazijom nalazi se aspiracijska pneumonija, odnosno konsolidacija, uzrokovana najčešće s *M. fortuitum*. Posebnu skupinu e), prema Erasmusu, čine pacijenti koji su imunokompromitirani, prvenstveno oni zaraženi HIV-om. Kod pacijenata s AIDS-om najčešće se nalazi izrazita hilarna i mediastinalna limfadenopatija te ekstrapulmonalno diseminirana bolest, a bez značajnijih patomorfoloških promjena u plućnom parenhimu. Posebnosti tijekom infekcija uzrokovanih NTM-ma u ovoj skupini pacijenta, a u smislu gore navedenih karakteristika, opisali su i drugi autori<sup>(5, 74, 84)</sup>.

Opisane promjene vidljive metodama slikovnog prikaza dobile su i svoj patohistološki korelat u radovima Kim i suradnika<sup>(85)</sup> i Jeong i suradnika<sup>(86)</sup>. U usporedbi s patohistološkim promjenama kod tuberkuloze, promjene nađene u infekcijama uzrokovanim NTM-ma najbližnje su aktivnom postprimarnom stadiju plućne infekcije uzrokovane s *M. tuberculosis*, a koji uključuje centrilobularne noduse i strukture koje se račvaju (uzorak „propupalog drveta“), lobularnu konsolidaciju,

kaverne i zadebljanje stijenke bronha<sup>(87)</sup>. U navedenim istraživanjima dokazana je dobra korelacija CT i patohistološkog nalaza. U svim uzorcima tkiva dobivenog transbronhalnom biopsijom istraživači su opazili zadebljanu stijenku bronhiola i peribronhalnu upalnu infiltraciju. Često su nađene proširene bronhiole s epiteloidnim granulomima, sa ili bez kazeoznih promjena. Sitni nodusi i granajući centrilobularni nodusi (uzorak „propupalog drveta“) koji se vide na tankim slojevima CT-a i HRCT-a odgovaraju granulomima NTM i kazeoznom materijalu unutar terminalnih i respiratornih bronhiola. Nodusi veći od 1 cm u promjeru i lobularna konsolidacija odgovaraju područjima središnje smještenih kazeoznih granuloma, nespecifične rubne upale i konfluirajućih limfocitnih infiltrata koji u cijelosti zamjenjuju normalne alveole. Zid kaverne sastoji se od kazeoznog materijala, epiteloidnih stanica s multinuklearnim gigantskim stanicama, granulacijskog tkiva i fibrozne kapsule. U nodularnobronhiektatičnom obliku bolesti posebno se ističu promjene malih dišnih puteva, a koje se na radiogramima mogu vidjeti kao hiperinflacija<sup>(89)</sup>. Opisane promjene prema CT-u i patohistološkim nalazima odgovaraju bronhiolitisu<sup>(88)</sup> koji može stvarati diferencijalno dijagnostičke probleme. Bronhiektazije su, a kako se pokazalo u istraživanjima koje su uključivala i radiografske i CT kontrole, ne samo predisponirajuća bolest, nego i posljedica infekcije uzrokovane NTM-ma, osobito MAC-om<sup>(99, 90)</sup>.

Zanimljiva je hipoteza o nastanku kavitarnih lezija kod infekcija uzrokovanih NTM-ma koju su predstavili Kim i suradnici<sup>(85)</sup>. Naime, budući da se na tankim slojevima CT-a kod kavitarnog oblika bolesti vidi i drenažni bronh zadebljane stijenke, pretpostavlja se da peribronhalni nodusi MAC infekcije progrediraju u upaljenu cističnu bronhiektaziju koja odgovara nodusu sa središnjom nekrozom i koji dalje progrediraju u velike cistične bronhiektazije debele stijenke. Autori su cijelu hipotezu izvrsno prikazali shematski na Slici 4. koja je preuzeta iz navedenog članka<sup>(85)</sup>.

Slika 4. Shematski prikaz hipoteze Kim i suradnika<sup>(85)</sup> o nastajanju kaverne u plućnim infekcijama uzrokovanim NTM-ma



S obzirom da sve NTM uzrokuju čitav niz intersticijski lezija, a kako je već gore navedeno, potrebno je osim tankih slojeva CT-a snimiti i slojeva HRCT-a<sup>(91)</sup>. Iako sve NTM dijele mnoge zajedniče radiološke znakove, odnosno patomorfološke promijene do kojih dovode, ipak i među njima se mogu naći male razlike. U sljedećem paragrafu ukratko će biti prikazani najučestaliji oblici pojavnosti za neke od najčešće izoliranih vrsta NTM, osim MAC čije su karakteristike u prethodnom tekstu u detalje obrađene.

*Mycobacterium kansasii* gotovo uvijek uzrokuje obostrane ili jednostrane infiltrate, odnosno konsolidacijske lezije, s raspadom u gornjim režnjevima uz kasnijim ožiljavanjem. S obzirom na izgled stijenki kaverni i konsolidaciju gornjih režnjeva nalaz je sličan klasičnoj infekciji uzrokovanoj s *M. tuberculosis*<sup>(92)</sup>.

*Mycobacterium xenopi* izaziva slične patomorfološke promjene kao *M. kansasii*. Infiltrati gornjih režnjeva su češće jednostrani uz česte kaverne<sup>(34)</sup>. Ponekad se nalaze nodusi i uzorak „propupalog drveta“, a bronhiektazije su prvenstveno, ako i postoje, predisponirajuća plućna bolest.

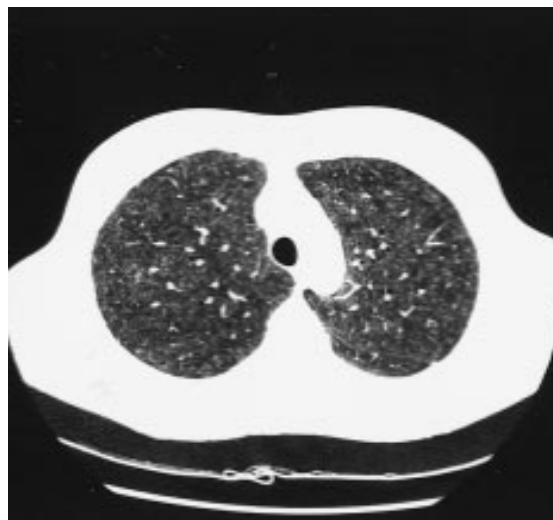
*Mycobacterium malmoense* i promjene koje uzrokuje su u publiciranim radovima uglavnom uspoređivane sa tuberkulozom. U jednom takvom istraživanju pokazalo se da uzrokuje, a za razliku od *M. tuberculosis*, infiltrate koji su često ograničeni na segment, ali uz opsežne kaverne, veće od 6 cm u promjeru, unutar kojih se mogu naći aerolikvidni nivoi<sup>(93)</sup>.

*Mycobacterium chelonae* pokazuje sličan radiološki uzorak onom koji se vidi u nodularnobronhiektatičnoj formi MAC infekcije, odnosno često se vide bronhiektazije i nodusi, ali bez lobarne predilekcije. Kaverne se javljaju rjeđe nego u MAC infekciji<sup>(94)</sup>.

*Mycobacterium abscessus* infekcije i njihove radiološke karakteristike su do sada uglavnom uspoređivane s MAC infekcijama. Tako je pokazano da su njihove CT karakteristike obostrani sitni nodusi, bronhiektazije i kaverne<sup>(95)</sup>. Ipak, spomenute kaverne tankog zida, gubitak volumena i konsolidacijske lezije češće se vide kod MAC infekcija<sup>(96)</sup>.

Kao poseban entitet izdvaja se promjena vidljiva na HRCT-u pluća, a koja je izgledom neodvojiva od slike subakutnog hipersenzitivnog pneumonitisa druge etiologije. Promjene najčešće nastaju nakon korištenja „whirpoola“, a kao posljedica reakcije na stanice MAC-a koje se nalaze na sitnim kapljicama areosola. HRCT-om se vide područja uzorka „zrnatog stakla“ (engl. „ground glass“) uz slabo definirane, rahle centrilobularne noduse i air-trapping u ekspiriju kao posljedica opstrukcije malih dišnih puteva što se vidi na Slici 5. Za razliku od hipersenzitivnog pneumonitisa druge etiologije kod ove bolesti na HRCT-u se može vidjeti uzorak „propupalog drveta“ u perifernoj zoni. Taj nalaz upućuje na peribronhalne upalne promjene, a što zahtjeva početak odgovarajuće terapije<sup>(97, 98)</sup>.

Slika 5. Rahle nodularne centrilobularne intersticijske promjene karaktera „zrnatog stakla“ kod hipersenzitivnog pneumonitisa<sup>(182)</sup>.



### 1.1.3. KLINIČKI ZNAČAJ INFEKCIJA UZROKOVANIH NETUBERKULOZNIM MIKOBAKTERIJAMA

Netuberkulozne mikobakterije uzrokuju širok spektar plućnih infekcija<sup>(100)</sup>, ali i infekcija organa i organskih sustava izvan pluća<sup>(101)</sup>. Katoch i suradnici<sup>(102)</sup> su 2004. godine nabrojili do tada poznate uzročnike infekcija kod ljudi iz skupine NTM. U kasnijem tekstu biti će nabrojene za čovjeka patogene vrste NTM, a koje su nabrojene u navedenom preglednom članku. Osim do tada poznatih patogenih vrsta NTM, ovdje će tom popisu biti nadodane i u kasnije publiciranoj literaturi evidentirane patogene mikobakterije iz skupine NTM. Kao patogene vrste NTM za čovjeka, do sada su u literaturi evidentirane slijedeće vrste NTM: *M. avium*, *M. intracellulare*<sup>(103, 104)</sup>, *M. kansasii*<sup>(105, 106, 107)</sup>, *M. paratuberculosis*<sup>(38, 108, 109)</sup>, *M. scrofulaceum*<sup>(110, 111)</sup>, *M. simiae*<sup>(112, 113, 160)</sup>, *M. habana*<sup>(102, 114)</sup>, *M. interjectum*<sup>(115, 116, 117)</sup>, *M. xenopi*<sup>(118, 119, 120)</sup>, *M. heckeshornense*<sup>(121)</sup>, *M. szulgai*<sup>(122, 123)</sup>, *M. fortuitum*<sup>(124, 125)</sup>, *M. immunogenum*<sup>(126)</sup>, *M. chelonae*<sup>(101, 127)</sup>, *M. abscessus*<sup>(148, 149)</sup>, *M. marinum*<sup>(128, 129)</sup>, *M. genavense*<sup>(130, 131)</sup>, *M. bohemicum*<sup>(16, 132, 133)</sup>, *M. haemophilum*<sup>(134, 135, 160)</sup>, *M. celatum*<sup>(136, 137)</sup>, *M. conspicuum*<sup>(138, 139)</sup>, *M. malmoense*<sup>(28, 29, 140)</sup>, *M. ulcerans*<sup>(141, 142)</sup>, *M. smegmatis*<sup>(143, 144)</sup>, *M. wolinskyi*<sup>(145, 146)</sup>, *M. goodii*<sup>(145, 147)</sup>, *M. thermoresistibile*<sup>(150)</sup>, *M. neoaurum*<sup>(151)</sup>, *M. vaccae*<sup>(102)</sup>, *M. palustrae*<sup>(152)</sup>, *M. elephantis*<sup>(153)</sup>, *M. septicum*<sup>(154, 155)</sup>, *M. nonchromogenicum*<sup>(16, 156)</sup>, *M. intermedium*<sup>(157)</sup>, *M. tusciae*<sup>(158)</sup>, *M. parmense*<sup>(159)</sup>, *M. kyorinense*<sup>(161)</sup>, *M. kumamotonense* i *M. arupense*<sup>(162)</sup>, *M. senuense*<sup>(163)</sup>, *M. seoulense*<sup>(164)</sup>, *M. marseillense*, *M. timonense* i *M. bouchedurhonense*<sup>(165)</sup>, *M. nebraskense*<sup>(166)</sup>, *M. flavescens*<sup>(167)</sup>, *M. cosmeticum*<sup>(168)</sup>, *M. canariasense*<sup>(169)</sup>, *M. parascrofulaceum*<sup>(170)</sup>, *M. triplex*<sup>(171)</sup>, *M. mantonii*<sup>(172)</sup>, *M. gordonae*<sup>(173, 174)</sup>, *M. bolletii*<sup>(175)</sup>, *M. massiliense*<sup>(176)</sup>, *M. arosiense*<sup>(177)</sup>, *M. shimoidi*<sup>(178)</sup>, *M. noviomagense*<sup>(187)</sup>, *M. peregrinum*<sup>(190)</sup>, *M. terrae*<sup>(191)</sup>, *M. triviale* i *M. asiaticum*<sup>(196)</sup> te *M. lentiflavum*<sup>(179)</sup>.

Navedene vrste NTM za koje je zabilježeno da mogu uzrokovati bolest kod čovjeka čine više od trećine svih do sada otkrivenih vrsta NTM. Za dijagnozu infekcije uzrokovane NTM-om jednako su važni klinički znakovi, odnosno simptomi bolesti, kao i radiološka i mikrobiološka potvrda bolesti<sup>(180)</sup>. Klinički znakovi, a s obzirom na organe i organske sustave koji mogu biti zahvaćeni infekcijama

uzrokovanim NTM-ma, biti će opširnije obrađeni u kasnijem tekstu. Radiološki kriteriji su jasnije definirani u prethodnom poglavlju, a rezultati mikrobioloških pretraga u svjetlu kliničke važnosti izolata mogu se podijeliti prema Mantenu<sup>(181)</sup> u tri kategorije: a) sigurna; b) vjerojatna i c) moguća infekcija. Opisana podjela zorno je prikazana u Tablici 2.

Tablica 2. Mantenova ljestvica kliničke važnosti mikrobiološkog nalaza NTM<sup>(181)</sup>.

	REZULTATI KULTIVACIJE	INTERPR ETACIJA
a)	opetovane pozitivne kulture s velikim brojem kolonija	sigurna infekcija
b)	mali broj izoliranih bakterija u nekoliko navrata ili jedna pozitivna kultura s velikim brojem kolonija	vjerojatna infekcija
c)	jedna pozitivna kultura s malim brojem kolonija	moguća infekcija

Netuberkulozne mikobakterije mogu izazvati širok spektar infekcija kod čovjeka. Ipak najčešće su, u preko 90% slučajeva, infekcije pluća. Za nastanak infekcije uzrokovane NTM-ma od izrazite su važnosti predisponirajući čimbenici, od lokalnih kao što su kronična opstruktivna plućna bolest (KOPB)<sup>(183)</sup> i bronhiektazije<sup>(184)</sup> pa sve do općih kao što su konstitucija<sup>(185)</sup> i imunodeficijencija, osobito AIDS<sup>(12-20, 186)</sup>. S obzirom na predisponirajuće faktore različit je i tijek infekcije. Do sad je uočeno da su kod imunokompromitiranih pojedinaca češće diseminirane infekcije, dok se kod imunokompetentnih češće nalaze infekcije pojedinih organa i organskih sustava. Kliničke karakteristike infekcija uzrokovanih NTM-ma uključuju od lokalnih znakova i simptoma pojedinih organa do visokog febriliteta, noćnog znojenja, anemije i gubitka težine koji nastaju kao nastavka općih simptoma kao što su slabost, nespecifične mijalgije i ponekad bolna limfadenopatija<sup>(102)</sup>.

Prema organima i organskim sustavima biti će u daljnjem tekstu nabrojani plućni, ali i najčešći izvanplućni oblici bolesti<sup>(101)</sup> uzrokovani NTM-ma:

a) *Plućne infekcije uzrokovane NTM-ma*; pojavni oblici plućnih infekcija uzrokovanih NTM-ma su kavitarni i nodularnobronhiektatični oblik bolesti te prijelazni oblici između njih, a detaljno su opisani u prethodnom poglavlju. Nešto drugačiji tijek i pojavnost plućne infekcije nalazi se kod pacijenata zaraženih HIV-om u smislu izraženije limfadenopatije, dok se patološke promjene plućnog parenhima rijetko viđaju. Kao uzročnici plućnih infekcija pojavljuju se gotovo sve za čovjeka patogene vrste NTM-a nabrojene u gornjem tekstu. Ipak najčešće izolirane vrste NTM kod plućnih infekcija u svim zemljopisnim regijama su MAC, *M. xenopi* i *M. kansasii*. Za nastanak i tijek plućne infekcije izuzetno su važne predisponirajuće i pridružene bolesti i stanja. Najčešće se kao podloga plućnoj infekciji uzrokovanj NTM-ma nalaze KOPB, bronhiektazije, kronični bronhitis, preboljela tuberkuloza, alkoholizam... Izrazito su česte plućne infekcije uzrokovane NTM-ma kod cistične fibroze<sup>(188)</sup>.

b) *Limfadenitis*; limfadenitis u djece vrlo često, a osobito u zemljama u kojima se više ne provodi redovito cijepljenje protiv tuberkuloze, uzrokuju NTM. Kao uzročnici najčešće se pojavljuju MAC i *M. scrofulaceum*<sup>(189)</sup>, a rjeđe se izoliraju i druge NTM kao što su *M. bohemicum*, *M. szulgai* i *M. interjectum*<sup>(115)</sup>. Limfadenopatija se najčešće nalazi jednostrano, iako se može naći i obostrano te retrofaringealno<sup>(59, 60, 61)</sup>.

c) *Infekcije kostiju, zglobova i burzi*; najčešći uzročnici navedenih infekcija iz skupine NTM su MAC i *M. fortuitum*<sup>(192)</sup>, ali kao uzročnici mogu se naći i *M. szulgai*<sup>(193)</sup>, *M. malmoense*<sup>(67, 194)</sup>, *M. marinum*<sup>(128, 195)</sup>.

d) *Kožne infekcije*; uobičajeno se javljaju nakon traumatskih ozljeda, operacija ili kozmetičkih tretmana kod kojih rane dolaze u dodir sa zemljom, vodom ili medicinskim aparatima koji su ponekad kontaminirani s mikobakterijama iz okoliša<sup>(101)</sup>. Najčešći uzročnici su MAC<sup>(197)</sup>, *M. kansasii*<sup>(101)</sup>, *M. marinum*<sup>(128)</sup> za koju se bilježi i porast incidencije u zemljama s toplijom klimom<sup>(5)</sup> te *M. ulcerans*<sup>(141)</sup>. Bilježe se i rijetki uzročnici kožnih infekcija kao npr. *M. interjectum*<sup>(116)</sup>.

e) *Crohnova bolest*; *M. avium* subsp. *paratuberculosis* uzrokuje Johnovu bolest kod stoke, a dovodi se u vezu i sa Crohnovom bolesti kod ljudi koja u dijelu slučajeva reagira na antimikobakterijsku terapiju<sup>(108, 109, 198)</sup>. *M. genavense* može u

HIV-om zaraženih pacijenata uzrokovati zadebljanje stijenke crijeva s limfadenopatijom i ulceracijama<sup>(198)</sup>.

f) *Keratitisa i druge infekcije oka*; Netuberkulozne mikobakterije uzrokuju razne upale oka od keratitisa do endoftalmitisa<sup>(199)</sup>. *M. chelonae* i *M. fortuitum*<sup>(200, 201)</sup> se navode kao najčešći uzročnici keratitisa.

g) *Infekcije urotakta i druge infekcije u abdomenu*; Najčešće infekcije uzrokovane NTM-ima u abdomenu su infekcije u području mokraćnog sustava. Za razliku od infekcija urotakta kod tuberkuloze, u infekcijama uzrokovanim NTM-ima rijede se nalaze trajne morfološke promjene, pacijenti se javljaju liječniku u ranijem dijelu tijeka bolesti uz značajniju leukocitozu. Kao najčešći uzročnici infekcija urotakta iz skupine NTM na Tajvanu identificirani su MAC, *M. abscessus* i *M. fortuitum*<sup>(202)</sup>. Infekcije urotakta mogu uzrokovati i *M. szulgai*<sup>(203)</sup> i *M. gordonae*<sup>(174)</sup>.

Od ostalih lokalizacija infekcija uzrokovanih NTM-ima u abdomenu, u literaturi su zabilježeni i slučajevi infekcija na crijevima, peritonitisa, perirealnog apscesa te apscesa slezene<sup>(66)</sup>. Oshiro i suradnici<sup>(204)</sup> opisuju slučaj apscesa slezene uzrokovanog s *M. avium* pseudotumoroznog izgleda. Budući da nabrojene infekcije u abdomenu nisu uobičajene često dovode do dijagnostički zabuna i dvojbi.

h) *Druge rijetke i diseminirane infekcije*; opisani su pojedinačni slučajevi infekcija drugih, u dosadašnjem tekstu nenabrojanih organa kao npr. infekcija parotidne žlijezde uzrokovane s *M. avium*<sup>(205)</sup>. Diseminirane infekcije, kao i navedena infekcija parotidne žlijezde uobičajeno se javljaju kod imunosuprimiranih te imunokompromitiranih pacijenata, a osobito u onih s HIV infekcijom.



### 1.1.3.1. SMJERNICE AMERIČKOG TORAKALNOG DRUŠTVA I DRUŠTVA ZA ZARAZNE BOLESTI AMERIKE ZA DIJAGNOSTIKU, TERAPIJU I PREVENCIJU BOLESTI UZROKOVANIH S NETUBERKULOZNIM MIKOBAKTERIJAMA

Američko torakalno društvo i Društvo za zarazne bolesti Amerike izdali su 1990.<sup>(206)</sup> godine prve smjernice za dijagnozu, terapiju i prevenciju bolesti uzrokovanih s NTM-ma. Revidirana izdanja navedenih smjernica izdana su 1997.<sup>(207)</sup> i 2007.<sup>(208)</sup> godine.

U smjernicama je jasno navedeno da je za dijagnozu infekcija uzrokovanih NTM-ma nužno zadovoljiti tri kriterija: a) klinički; b) radiološki i c) mikrobiološki te da su sva tri kriterija jednako važna!!!

Smjernice objavljene u ovom članku su jasno primjenjive samo za MAC, *M. kansasii* i *M. abscessus*. Budući da su druge vrste NTM znatno slabije istražene, vrijednost i primjenjivost ATS smjernica se stalno istražuje. Ipak u članku su navedene kliničke, radiološke i mikrobiološke značajke te terapijske smjernice za slijedeće vrste NTM: MAC, *M. kansasii*, *M. abscessus*, *M. chelonae*, *M. fortuitum*, *M. genavense*, *M. gordonae*, *M. haemophilum*, *M. immunogenum*, *M. malmoense*, *M. marinum*, *M. mucogenicum*, *M. nonchromogenicum*, *M. scrofulaceum*, *M. simiae*, *M. smegmatis*, *M. szulgai*, *M. terrae*, *M. ulcerans* i *M. xenopi*.

S obzirom da su u ranijem tekstu ove doktorske disertacije detaljno obrađeni svi aspekti u dijagnostici i terapiji NTM, ovdje se neće detaljnije prikazivati smjernice za svaku pojedinu vrstu NTM. U zadnjem izdanju smjernica nešto su blaži kriteriji za postavljanje dijagnoze kod mikrobiološki potvrđene infekcije, odnosno potreban je manji broj pozitivnih uzoraka. Upravo iz tog razloga povećao se broj pacijenata kod kojih je moguće ili potrebno provesti specifičnu antimikobakterijsku terapiju. Budući da je terapija dugotrajna, za neke vrste NTM i višegodišnja, a da klinički tijek, a i odgovor na terapiju nije do kraja istražen još uvijek postoje dvojbe o opravdanosti terapijskog postupka<sup>(209)</sup> te se preporuča individualiziran pristup svakom pacijentu.

Kriteriji nisu do kraja dorečeni kad je u pitanju krajnja odluka i uvođenje specifične antimikobakterijske terapije. Nije sasvim jasno preporučeno niti trajanje terapije kod relapsa bolesti za pojedine vrste NTM. Čak i kada su zadovoljena sva tri

uvjeta , odnosno kriterija, za postavljanje dijagnoze infekcije uzrokovane NTM-ma, ipak se kliničaru ostavlja izbor i procjena istinske nužnosti provođenja specifične antimikobakterijske terapije. Sažet prikaz naputaka za postavljanje dijagnoze plućne infekcije uzrokovane s NTM-ma objavljenih u revidiranom izdanju smjernica ATS/IDSA iz 2007. godine<sup>(208)</sup> prikazan je u Tablici 3.

Tablica 3. Sažetak ATS kriterija za postavljanje dijagnoze plućne infekcije uzrokovane s NTM-ma iz 2007. godine<sup>(208)</sup>

	<b>KLINIČKI</b>
1	simptomi respiratornog trakta
2	isključene drugi etiološki čimbenici
	<b>RADIOLOŠKI</b>
1	infiltrati, kavitacije i/ili nodusi vidljivi na radiogramu toraksa
2	infiltrati, kavitacije i/ili nodusi prikazani na tankim slojevima CT-a
3	HRCT-om vidljive multifokalne bronhiektazije i sitni nodusi
	<b>MIKROBIOLOŠKI</b>
1	pozitivne kulture iz barem dva odvojena uzorka sputuma (ako je prvi sputum nedijagnostički treba ponovno potražiti acidorezistentne bacile i kulturu)
2	pozitivan rezultat barem barem jedne kulture ispirka bronha
3	histopatološki nalaz granulomatozne upale ili acidorezistentnih bacila u uzorku transbronhalne ili druge biopsije pluća + pozitivna kultura
4	histopatološki nalaz granulomatozne upale ili acidorezistentnih bacila u uzorku transbronhalne ili druge biopsije pluća + pozitivna kultura jednog ili više sputuma ili ispirka bronha

## 1.2. HIPOTEZA, CILJEVI I SVRHA RADA

### 1.2.1. HIPOTEZA

Dok se stopa incidencije tuberkuloze u Hrvatskoj stalno smanjuje, kao i u ostalim Evropskim zemljama, raste broj infekcija uzrokovanih NTM-ma.

Zbog sve veće incidencije, ali i dugotrajnog liječenja, klinički značaj infekcija uzrokovanih NTM-ma sve je veći.

### 1.2.2. CILJEVI

- utvrditi broj izolata i stvarno oboljelih od infekcija uzrokovanih NTM-ma u razdoblju od 1980-2005. godine u Hrvatskoj, odnosno izračunati incidenciju te kretanje broja izolata i broja stvarno oboljelih kroz vrijeme

- utvrditi spol, dob pri oboljevanju i prebivalište oboljelih (selo-grad) te eventualni kontakt sa životinjama

- utvrditi i analizirati značaj komorbiditeta za nastanak i tijek infekcija uzrokovanih NTM-ma

- analizirati morfološke promjene nastale u infekcijama uzrokovanim NTM-ma, utvrđene metodama slikovnog prikaza

- utvrditi klinički značaj infekcija uzrokovanih NTM-ma

### 1.2.3. SVRHA RADA

Obradom podataka prikupljenih ovim retrospektivnim istraživanjem NTM u pacijenata kod kojih je utvrđena infekcija jednom od NTM, dobiveni rezultati dati će uvid u i unaprijediti znanje o:

- a) distribuciji NTM u Hrvatskoj
- b) predisponirajućim bolestima i stanjima
- c) kliničkim manifestacijama
- d) prikazu patomorfoloških promjena metodama slikovnog prikaza

Dobiveni rezultati upotpuniti će znanje o NTM-ma kako u našoj zemlji tako i u svijetu i biti će komparirani s rezultatima dobivenim u drugim zemljama kako bi se utvrdile naše specifičnosti.

Sva navedena saznanja pridonijeti će senzibiliziranju medicinske javnosti i boljem razumijevanju infekcija uzrokovanih NTM-ma u Hrvatskoj, njihovoj pojavnosti i dijagnosticiranju te time pridonijeti i unapređenju uspješnosti liječenja ove skupine bolesti.

## **2. MATERIJAL I METODE**

---

U Republici Hrvatskoj klinički materijali uzeti u pacijenata sa sumnjom na infekcije uzrokovane NTM-ma šalju se na laboratorijsku analizu u TBC laboratorije, a svi izolati NTM potvrđuju se i detaljnije mikrobiološki klasificiraju u laboratorij Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo (HZJZ), Odjel za dijagnostiku tuberkuloze, Odsjek za dijagnostiku netuberkuloznih mikobakterija te je retrospektivno moguće utvrditi ukupan broj infekcija uzrokovanih NTM-ma u određenom vremenu. Isto tako moguće je, prateći podatak o pozitivnom izolatu, prikupiti i ostale podatke vezane uz oboljele pacijente.

Retrospektivna studija, iz koje su podatci obrađeni u ovoj doktorkoj disertaciji, provedena je na gore navedenom odjelu HZJZ.

Istraživanjem su prikupljani slijedeći podatci: spol, dob u vrijeme oboljevanja i prebivalište pacijenta, kontakt sa životinjama, predisponirajući čimbenici (patološka stanja organizma, komorbiditet te preboljela tuberkuloza), simptomi, nalazi slikovnih metoda prikaza, terapija i ishod liječenja.

Stvarno oboljeli pacijenti s infekcijom dišnog sustava od zdravih nositelja, a kod kojih je izolirana neka od NTM, razlikovali su se primjenom kriterija za dijagnostiku i terapiju infekcija dišnog sustava uzrokovanih netuberkuloznim mikobakterijama koje su postavili Američko i Britansko torakalno društvo krajem prošlog stoljeća s revizijom iz 2007. godine<sup>(207, 208, 210)</sup>. Infekcije drugih organskih sustava uzrokovane NTM-ma u ovom istraživanju nisu zabilježene

Uvidom u arhivirane podatke Odsjeka za dijagnostiku netuberkuloznih mikobakterija HZJZ-a identificirane su osobe u kojih je izolirana i kultivirana jedna od NTM. Osim identifikacije osoba uključenih u istraživanje, iskoristili su se, a prema zadanim varijablama i već postojeći podatci iz arhive Odsjeka, a koji su sakupljeni dugotrajnim trudom i zalaganjem voditeljice Odsjeka prim. Vere Katalinić-Janković, dr.med. Nakon toga su se, kao poziv za suradnju, usmeno i pismeno (nacrt pisma za suradnju u prilogu) kontaktirale ustanove iz kojih je uzorak poslan u laboratorij Odsjeka za dijagnostiku NTM i/ili liječnici obiteljske medicine koji skrbe ili su skrbili o identificiranoj osobi kod koje je kultivirana jedna od NTM, odnosno od kojih je osoba upućena u laboratorij Odsjeka. Od navedenih institucija, odnosno liječnika obiteljske medicine, traženo je dopuštenje za uvid u medicinsku dokumentaciju u istraživanje uključenih osoba u slučajevima u kojima je to bilo moguće. Suradnjom dobiveni podatci dalje su se koristili u statističkoj obradi.

Istraživanjem su obrađeni dostupni podaci za vremenski period od 1980-2005 godine. U navedenom razdoblju identificirano je 106 ispitanika koji su ispunili postavljene kriterije za ulazak u istraživanje odnosno iz čijih je uzoraka kultivirana jedna od NTM.

U prikupljanju podataka korišten je slijedeći obrazac, odnosno upitnik:

#### UPITNIK ZA BOLESNIKE S MIKOBakteriozom

Ime i prezime: .....

Godina rođenja: .....

Adresa: .....

Zanimanje:

(uz ostalo da li bolesnik dolazi u kontakt s domaćim životinjama, pticama)

Obiteljska anamneza (obzirom na tbc):

PPD test:

Klinička dijagnoza:

RTG pluća:

Bakteriološki nalazi:

1. Da li je prije izoliran *M. tuberculosis*                      DA                      NE

ako je: a) kada .....

b) koliko puta .....

2. Tijekom pojave simptoma mikobakterioze pluća bakteriološki je pregledano ..... sputuma ili drugih uzoraka

- broj poz. mikroskopskih nalaza acidorezistentnih bacila .....
- broj neg. mikroskopskih nalaza .....
- broj poz. kultura atipičnih mikobakterija .....
- broj neg. kultura .....

Početak i tijek bolesti:

Terapija mikobakterioze:

Ocjena uspjeha liječenja:

Predisponirajuća stanja ili bolesti:

Kronična plućna bolest	DA	NE
Kronična opstruktivna plućna bolest	DA	NE
Bronhijektazije	DA	NE
Preboljela tuberkuloza	DA	NE
Ostale	DA	NE
Maligni tumori	DA	NE
Vrsta terapije		
kirurška	DA	NE
kemoterapija	DA	NE
radiološka	DA	NE
Imunodeficitarna stanja ili bolest	DA	NE
AIDS	DA	NE
Imunosupresivna terapija	DA	NE
Kongenitalna imunodeficijencija	DA	NE
Diabetes mellitus	DA	NE
Alkoholizam	DA	NE
Druge kronične bolesti	DA	NE

Koje:

Primjedbe:

Ustanova: .....

Datum:

Potpis liječnika

.....

.....



## MIKROBIOLOŠKE METODE

U rutinskoj dijagnostici mikobakterija koristile su se metode „zlatnog standarda“ koje uključuju bojanje acidorezistentnih bacila po Ziehl-Neelsen-u ili auraminom, kultivaciju na krutim i tekućim hranilištima i identifikaciju poraslih mikroorganizama do razine vrste. Svi uzorci, koji nisu uzeti iz primarno sterilnih mjesta su prije zasijavanja na hranjive podloge dekontaminirani i homogenizirani. Za to je korištena NALC - NaOH (N-acetyl-L-cysteine-NaOH) metoda. Metodama dekontaminacije je zajedničko to, da se uzorci nastoje kemijskim sredstvima što više „očistiti“ od bakterija kontaminanata (normalna ili prolazna flora), dok obradu prežive alkoholo-acidorezistentne mikobakterije. Primarno sterilni uzorci su centrifugirani i direktno zasijani na hranjive podloge. U protokolu kultivacije *M. tuberculosis* i netuberkuloznih mikobakterija (NTM) uključeno je najmanje jedno kruto hranilište (Löwenstein-Jensen, Stonebrink ili Middlebrook) te tekuće hranilište (MGIT - BD Diagnostics). Svi uzorci su inkubirani u termostatu na 37°C u aerobnim uvjetima. U razdoblju od 1975. do 1995. godine TBC laboratoriji u Hrvatskoj su koristili samo kruta Löwenstein-Jensen i Middlebrook hranilišta, a tekuće hranilište MGIT je uvedeno u dijagnostiku od 1995. godine. Zasniva se na aerobnom rastu mikobakterija i potrošnji kisika. Kao indikator rasta mjeri se pad parcijalnog tlaka kisika.

Porasli izolati su prvo razdvojeni u *M. tuberculosis complex* ili NTM na temelju makroskopskog izgleda kolonija, brzine rasta i biokemijskog testa nakupljanja niacina. Niacin negativni izolati su identificirani u Odjelu za dijagnostiku tuberkuloze HZZJ-a. U identifikaciji su korišteni biokemijski testovi, karakteristike izgleda kolonija i temperature rasta. Izolati sumnjivi na NTM su subkultivirani na temperaturama od 25, 31, 37 i 45°C. Rast je praćen jednom tjedno kroz 4 tjedna inkubacije. U identifikaciji do razine vrste slijedila se klasifikacija po Runyon-u na brzorastuće, fotokromogene, nefotokromogene i skotokromogene mikobakterije. Vrste porasle u prvom tjednu subkultivacije smatrane su brzorastućima. Biokemijska identifikacija je uključivala testove sekrecije i nakupljanja niacina, redukcije nitrata, redukcije telura, hidrolize Tween-a, prisutnost različitih amidaza, aktivnosti semikvantitativne katalaze ("45 mm stupac mjehurića") i termostabilne katalaze (68°C), arilsulfataze (nakon 3 i 21 dana), pirazinamidaze i beta-glukonidaze te rasta u prisutnosti 5% NaCl.

## METODA SLIKOVNOG PRIKAZA

Rendgen zrake (X-zrake) otkrio je 8. studenoga 1895. godine Wilhelm Conrad Roentgen. Rendgenske zrake u osnovi nastaju naglim zaustavljanjem (kočenjem) elektrona koji su ubrzani u jakom električnom polju na meti koja je načinjena od metala. Elektroni nastaju na katodi, u rendgenskoj cijevi se ubrzavaju prema anodi gdje predajom njihove kinetičke enrgije nastaju rendgenske zrake. Rendgenske zrake prolazi kroz tvar, pa i kroz živu tvar, gdje se događa njihova apsorpcija koja uz mnoge druge faktore ovisi o gustoći i sastavu te tvari. Na izlazu iz objekta (pacijent), rendgensko zračenje nosi plošnu sliku mozaika intenziteta koji odražava put kroz koji su prošle rendgenske zrake. Takva slika bilježi se na filmu ili zaslonu rendgen uređaja.

Dvije su vrste dijagnostičkih postupaka uz uporabu rendgen zračenja: radiografija ili snimanje i dijaskopija ili prosvjetljavanje. Svaki rendgen uređaj sastoji se od tri bitna dijela: upravljački uređaj, generator visokog napona i rendgenska cijev.

Snimke torakalnih organa rade se standardno „tvrdom“ tehnikom u dvije projekcije i to posteroanteriorno i lateralno, a iznimno kod teško pokretnih i nepokretnih pacijenata radi se samo jedna projekcija – anteroposteriorno.

Preporučeni tehnički uvjeti za postizanje dovoljno kvalitetne snimke torakalnih organa su: žarište rotirajuće anode manje od 1,2 mm, napon od 100-120 kV uz jakost struje od 100-200 mA u trajanju od 0,01-0,05 s. S obzirom na preporučene uvjete, minimalni tehnički zahtjevi za aparate u općim bolnicama su 120 kV na 100 mA u trajanju od 1 s (100mAs), a za specijalizirane ustanove 120 kV na 200 mA kroz 1 s (200 mAs). Minimalni tehnički uvjet za fiksnu rešetku je 34 olovne pregrade na centimetar sa omjerom rešetke od 8:1 i udaljenosti fokusa od 120 cm. Rešetke sa manjim brojem pregrada po centimetru moraju biti pokretne.

U ovom istraživanju korišteni su nalazi očitavanja snimki torakalnih organa iz različitih ustanova učinjenih od različitih radiologa. Standardizacija tehničkih postavki pri snimanju, kao niti standardizacija očitavanja, zbog retrospektivnog karaktera istraživanja nije bila moguća. Podrazumjeva se da su kontrolu kvalitete snimki, a u svrhu svakodnevnog rada, provodili involvirani radiolozi.

## STATISTIČKE METODE

Podatci su statistički analizirani ukupno za infekcije uzrokovane NTM-ma kao i posebno za svaku pojedinu vrstu koja je prouzročila bolest.

Broj izolata i stvarno oboljelih kao i ostali epidemiološki, radiološki te klinički podatci prikazani su tablicama ili grafikonima frekvencija. Za prikaz kretanja navedenih varijabli kroz vrijeme, istraživani period je podijeljen na razrede po 5 godina, te su očekivani stalni porast broja izolata, kao i broja oboljelih, testirani jednadžbom linearnog rasta. Na taj se način utvrdilo, postoje li statistički značajna odstupanja pojavnosti navedenih varijabli u pojedinim vremenskim intervalima (npr. ratno razdoblje). Osim vremenskih razdoblja, a u svrhu kvalitetnije analize grupirani su i drugi podatci kao npr. grupe uzročnika ili grupe ishoda.

Raspršeni podatci, kao što je dob pri oboljevanju ili trajanje bolesti u mjesecima, prikazani su kao prosjek +/- standardna devijacija (SD). Svi podatci, kod kojih je to potrebno, navedeni su kao apsolutni broj te udio (%).

S obzirom na to da se radi o malom uzorku, osobito kad se analiziraju obilježja unutar pojedine vrste NTM (npr. *Mycobacterium xenopi* - 24 oboljela u 25 godina<sup>(118)</sup>), za testiranje razlike odnosno odnosa među udjelima korišten je Studentov t test za male uzorke. S obzirom na veličinu uzorka te tip podataka, za testiranje pretpostavljenih razdioba vjerojatnosti korišteni su prikladni hikvadrat-testovi ( $\chi^2$ -testovi). Za testiranje razlika u dobi pojavljivanja i ostalih parametara između više grupa podataka (pojedine vrste NTM) korištena je analiza varijance (ANOVA)<sup>(211,212)</sup>. Učinjena je i klaster analiza.

Za obradu podataka korišten je statistički program SPSS.

## ZAŠTITA IDENTITETA ISPITANIKA

Nakon što je utvrđen identitet osoba s pozitivnim izolatima NTM svakom pacijentu se dodijelio broj pod kojim su traženi podaci biti zabilježeni te dalje obrađivani bez osobnih identifikatora kao što su ime, prezime, detaljna adresa, matični broj ili broj telefona, a koji bi eventualno otkrili identitet obrađivanih osoba. Iz podataka pripremljenih za analizu izbrisane su sve informacije koja bi cjelovite ili djelomične mogle otkriti identitet pacijenta. Isto tako, niti iz rezultata nije moguća identifikacija ovim istraživanjem obuhvaćenih osoba.

### **3. REZULTATI**

---

### 3.1. UVOD

Tijekom istraživanja identificirano je 106 osoba prosječne dobi  $59,4 \pm 14,6$  godina iz čijih se bioloških materijala izolirala i kultivirala jedna od NTM. Svi biološki materijali bili su vezani uz plućne infekcije, odnosno radilo se o sputumu te ispirku bronha. Uvidom u medicinsku dokumentaciju utvrđeno je da su ATS kriterije za postavljanje dijagnoze plućne infekcije uzrokovane NTM-om zadovoljila 63 pacijenta prosječne dobi  $61,4 \pm 13,0$  godina. Navedeni pacijenti imali su kliničku sliku infekcije dišnog sustava, radiološke promjene i mikrobiološku potvrdu, odnosno kultivirana je jedna od NTM.

Najveća incidencija oboljelih zabilježena je 1992. godine za broj pozitivnih izolata 0,24 i stvarno oboljelih 0,20 na 100.000 stanovnika, dok je prosječna incidencija za godine u posljednjem proučavanom petogodištu iznosila 0,12 za pozitivne izolate te 0,06 za stvarno oboljele na 100.000 stanovnika. Za zadnje istraživano petogodište, od 2001-2005. godine, prema vrstama zabilježene su sljedeće prosječne incidencije: za MAC 0,01 pozitivnih izolata, te 0,009 stvarno oboljelih, za *M. xenopi* 0,06 pozitivnih izolata te 0,03 stvarno oboljelih i za *M. kansasii* 0,03 pozitivnih izolata i 0,02 stvarno oboljelih na 100.000 stanovnika. Ostale vrste NTM su znatno rijede identificirane.

U razdoblju od 25 godina, od 1980 do 2005. godine, izolirano je i kultivirano sedam vrsta NTM i to MAC, *M. xenopi*, *M. kansasii*, *M. phlei*, *M. fortuitum*, *M. marinum*, *M. abscessus*. Bolest je prema ATS kriterijima uzrokovala svaka od navedenih vrsta NTM.

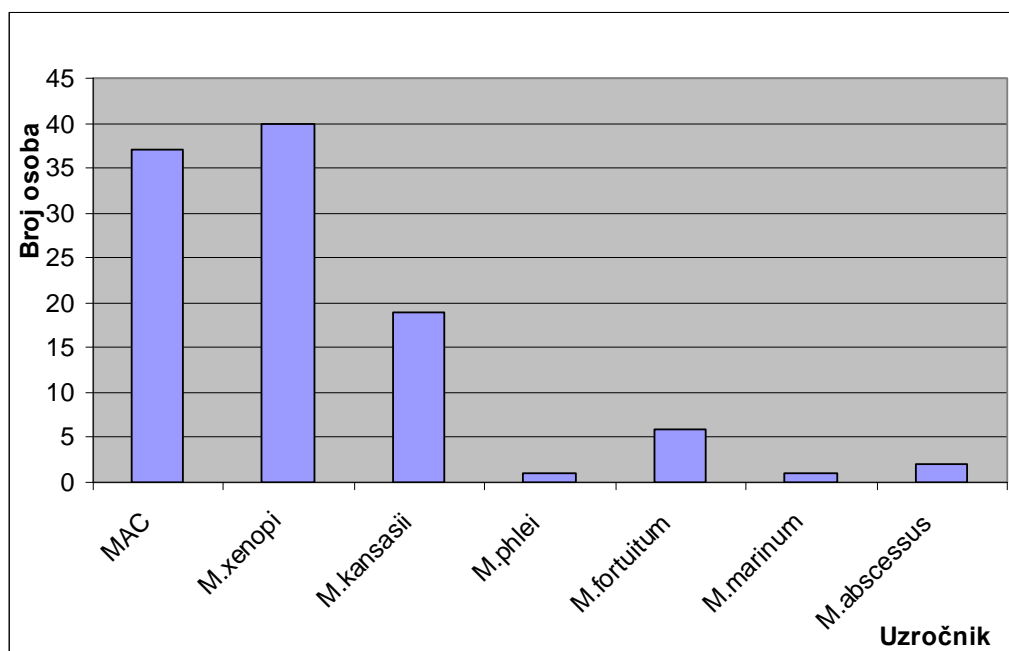
S obzirom na veličinu uzorka, vremensko razdoblje od 25 godina je, a zbog jasnoće prikaza, podijeljeno u pet grupa od po pet godina. Također su formirane i grupe uzročnika na način da prve dvije grupe uzročnika čini po jedna vrsta NTM, tj. MAC i *M. xenopi*, jer su najčešće izolirane, a treću skupinu, koja je brojem približna svakoj od prve dvije, čine sve preostale NTM, odnosno *M. kansasii*, *M. phlei*, *M. fortuitum*, *M. marinum* i *M. abscessus*.

Ovo poglavlje slijedi naslov rada te su i rezultati razvrstani u tri skupine i to epidemiologija, slikovni prikaz i klinički značaj.

### 3.2. EPIDEMIOLOGIJA

U vremenskom razdoblju od 1980. do 2005. godine MAC je izolirana iz uzoraka 39 osoba, *M. xenopi* 40 osoba, *M. kansasii* 19 osoba, *M. phlei* u jedne osobe, *M. fortuitum* je kultivirana iz uzoraka 6 osoba, *M. marinum* u jedne osobe i *M. abscessus* kod dvije osobe (slika 6). Iz navedenog je razvidno da je najčešće izolirana vrsta NTM u Hrvatskoj u navedenom razdoblju bila *M. xenopi* 38% (40/106) uzoraka, zatim MAC 37% (39/106) uzoraka te *M. kansasii* 18% (19/106) uzoraka, a znatno rijeđe ostale vrste NTM koje većinom spadaju u brzorastuće i koje čine 9,4% (10/106) svih izolata.

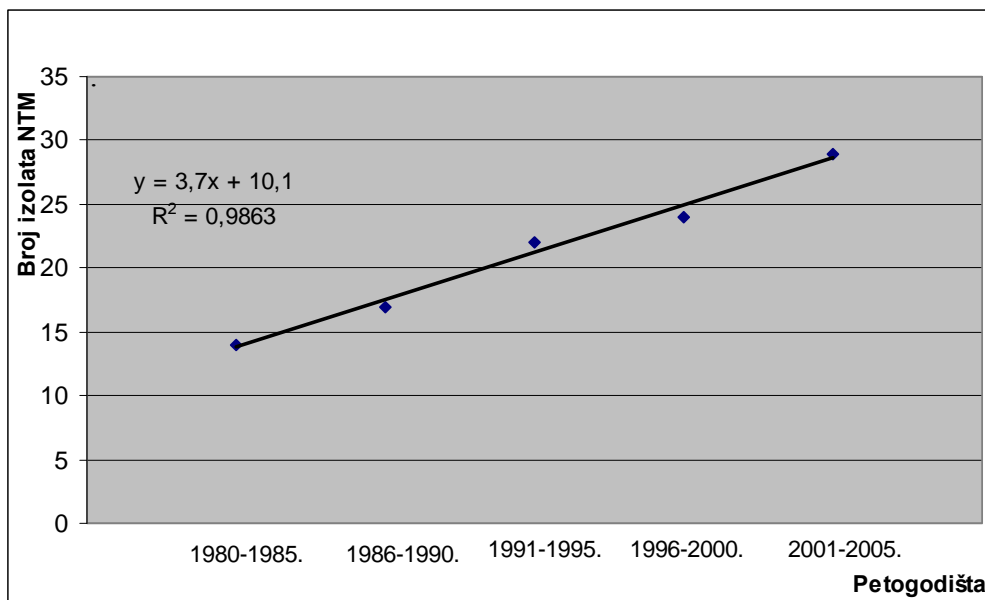
Slika 6. Broj kultiviranih NTM u razdoblju od 1980-2005. godine po vrstama



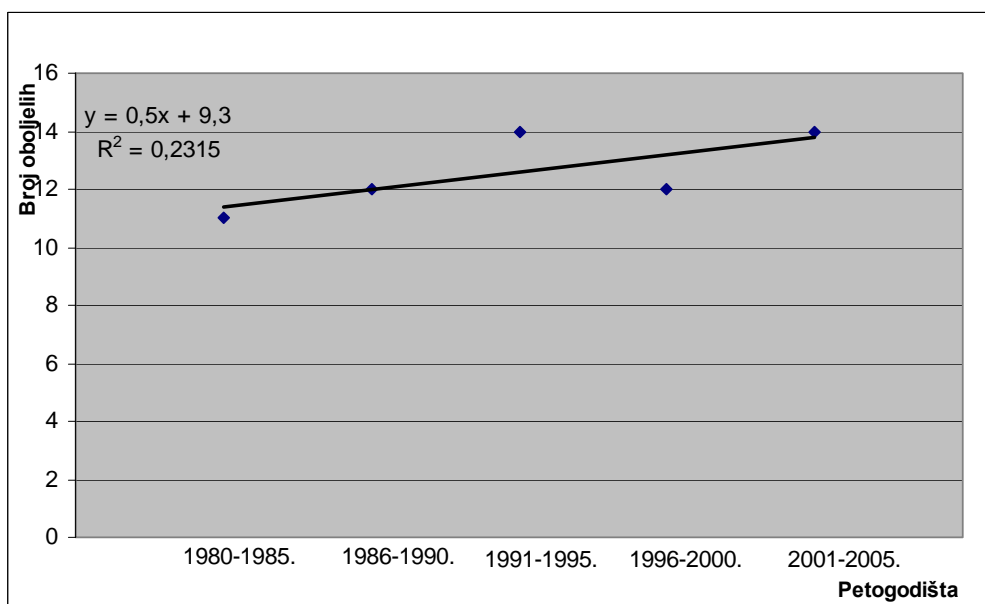
Ukupan broj pozitivnih izolata kroz vrijeme podjeljeno u pet razdoblja od po pet godina je rastao, što je prikazano jednadžbom linearnog rasta na Slici 7. Jednadžba  $y=3,7x + 10,1$  pokazuje prosječan porast broja novokultiviranih NTM od 3,7 pozitivnih uzoraka po petogodišnjem periodu, a trend objašnjava 99% odstupanja od prosječnog, odnosno očekivanog broja novokultiviranih NTM. Osim broja izolata u

proučavanom razdoblju rastao je i ukupan broj oboljelih što je također prikazano jednadžbom linearnog rasta na Slici 8.

Slika 7. Porast broja izolata NTM po petogodišnjim razdobljima.



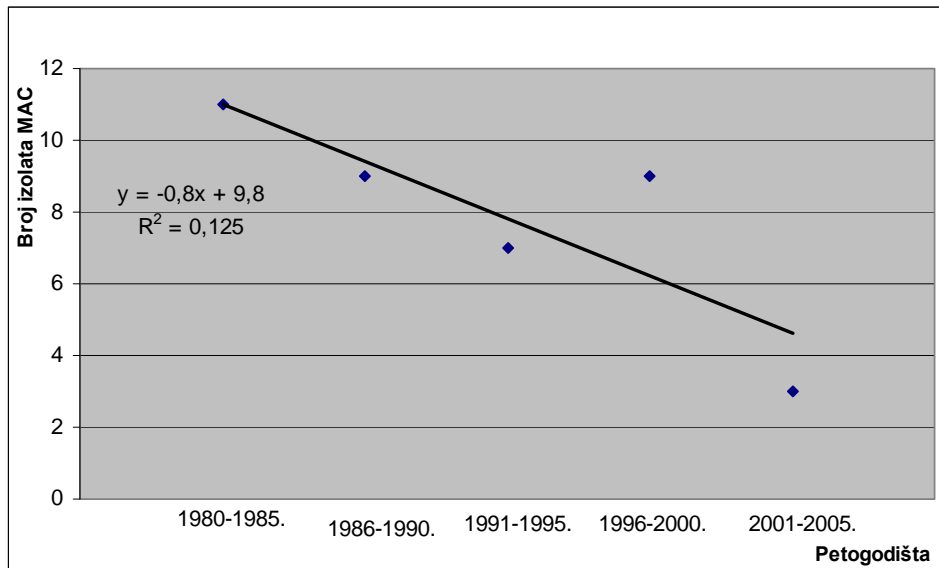
Slika 8. Porast broja oboljelih od infekcija uzrokovanih NTM-ma po petogodišnjim razdobljima



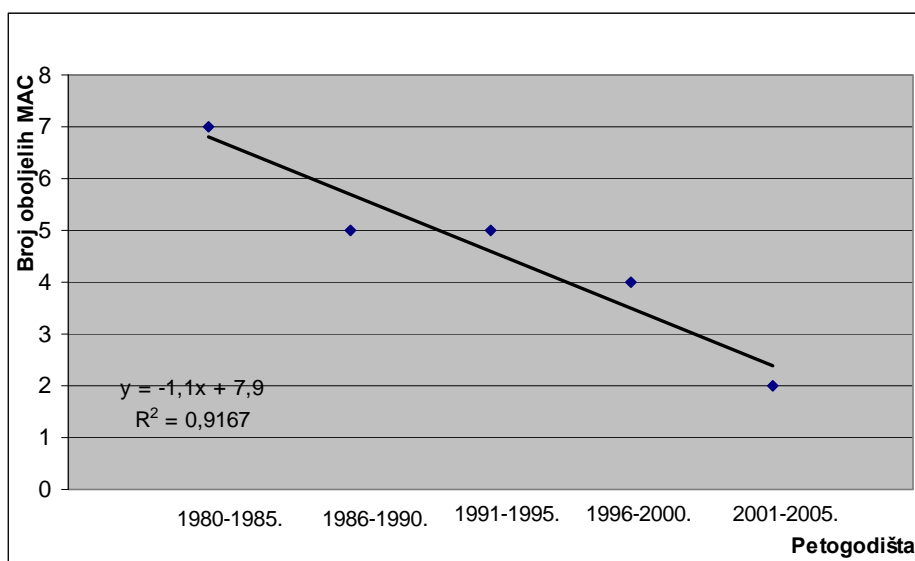


Analizom kretanja broja izolata i stvarno oboljelih kroz vrijeme prema skupinama, NTM slika je drugačija. U prvoj skupini uzročnika, MAC, vidi se pad broja izolata i stvarno oboljelih kroz vrijeme, dok se u druge dvije skupine, *M. xenopi* i *M. kansasii* s brzorastućim i rijetkim NTM, bilježi porast broja izolata, kao i broja stvarno oboljelih, u proučavanom razdoblju. Na Slici 9. prikazan je pad broja izolata MAC-a po petogodišnjim razdobljima, a na Slici 10. pad broja stvarno oboljelih od MAC-a u proučavanom vremenu.

Slika 9. Pad broja izolata MAC-a po petogodišnjim razdobljima.

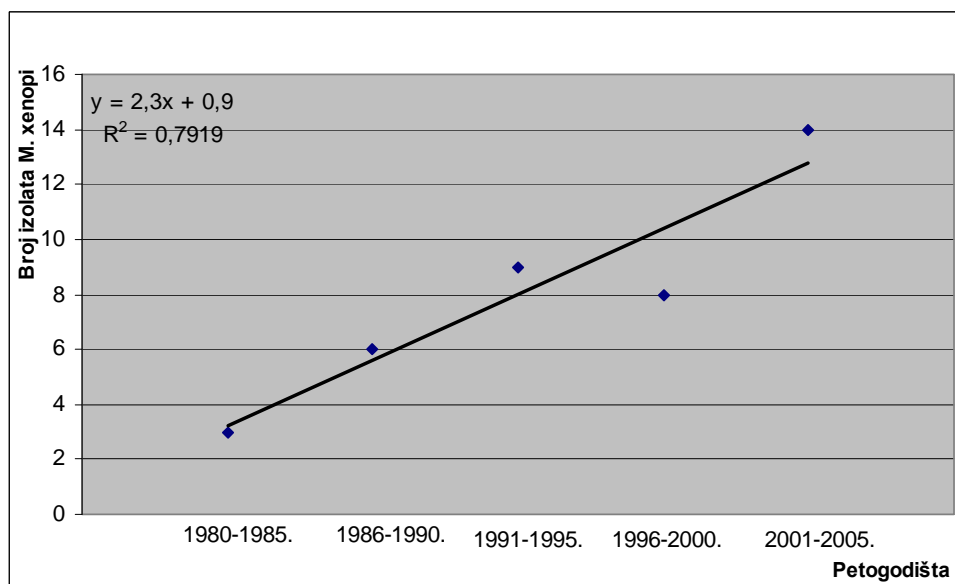


Slika 10. Pad broja oboljelih od infekcija uzrokovanih MAC-om po petogodišnjim razdobljima.

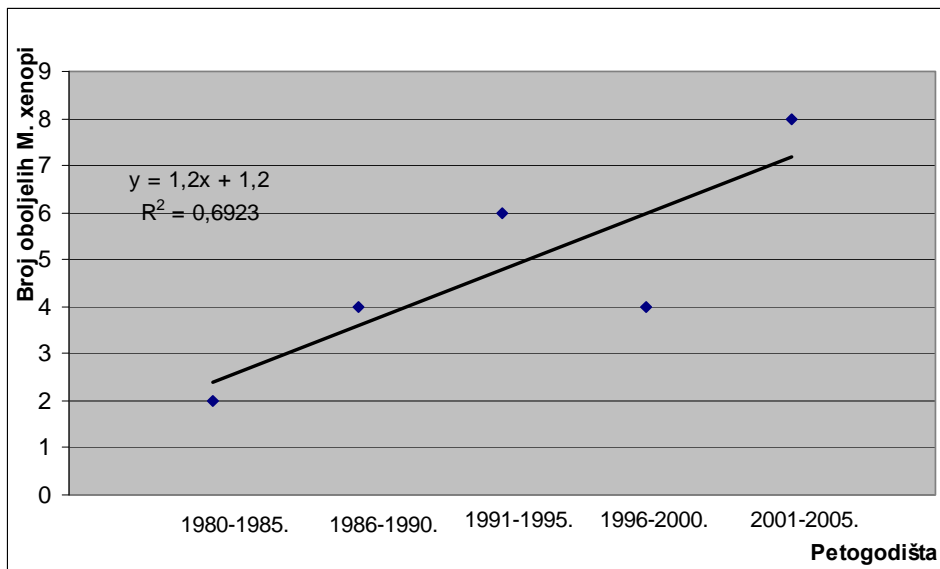


Trend linearnog rasta za prikaz kretanja broja izolata i broja stvarno oboljelih kroz vrijeme za *M. xenopi* prikazan je na Slici 11. (broj izolata) i na Slici 12. (broj stvarno oboljelih). Trend linearnog rasta nije posebno prikazan za treću skupinu uzročnika zbog njene heterogenosti.

Slika 11. Porast broja izolata *M. xenopi* po petogodišnjim razdobljima.

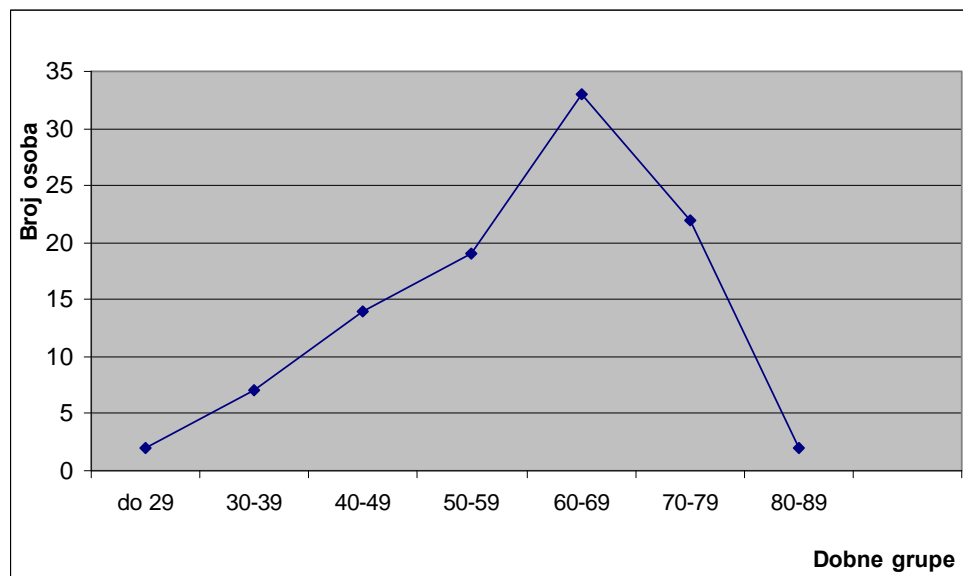


Slika 12. Porast broja oboljelih od infekcije uzrokovane s *M. xenopi* po petogodišnjim razdobljima.



Istraživanjem obuhvaćenih 106 osoba u kojih je izolirana jedna od NTM imali su u prosjeku u vrijeme izolata  $59,4$  godine  $\pm 14,6$  godina. Njihova dob varira od 1-89 godina s medijanom od 62 godina. Navedeni podatci pokazuju osrednju disperziju s koeficijentom disperzije 25%. Prosječna starost stvarno oboljelih osoba (63/106) od  $61,4 \pm 13,0$  godina s rasponom od 31-89 godina i medijanom od 58 godina ne pokazuje statistički značajnu razliku prema prosječnoj dobi ukupnog broja ispitanika ( $p < 0,05$ ). Distribucija dobi istraživanih osoba u vrijeme izolata prema desetogodišnjim skupinama prikazana je poligonom frekvencija na Slici 13.

Slika 13. Distribucija starosti istraživanih osoba u vrijeme izolata prema desetogodišnjim skupinama.



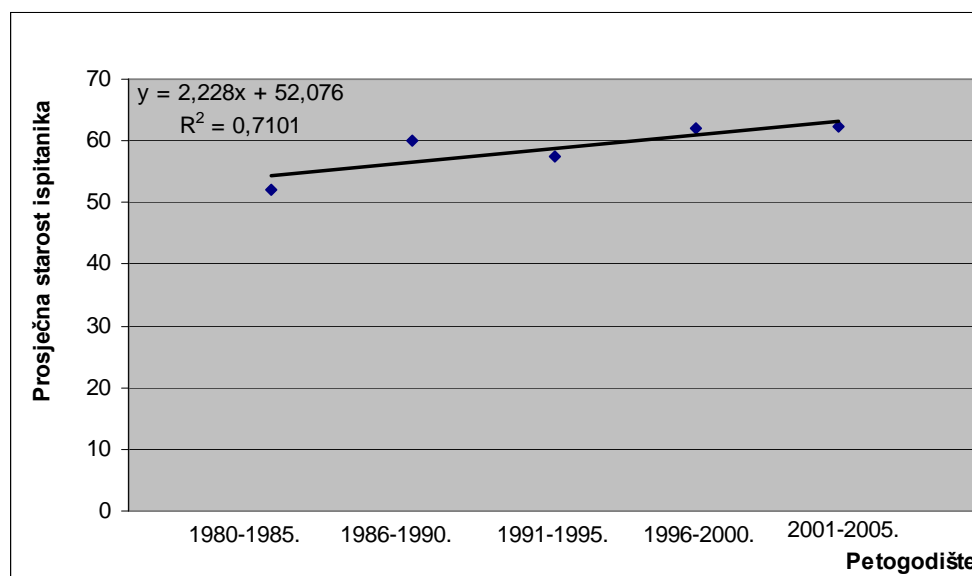
Postoji li razlika u prosječnoj dobi osoba u vrijeme izolata s obzirom na grupu uzročnika testirano je F-testom. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u prosječnoj dobi s obzirom na grupu uzročnika, iako su relativno najstariji bili ispitanici kod kojih je izolirana *M. xenopi*. Na osnovi ANOVA tablice prije navedeni podatci prikazani su u Tablici 4.

Tablica 4. Prosječna dob ispitanika s obzirom na grupu uzročnika.

Redni br.	Grupa pacij. prema uzroč.	Aritm. sredine	p
1.	MAC	58,42	0,18
2.	<i>M.xenopi</i>	62,63	
3.	<i>M.kansasii</i> i dr.	55,92	

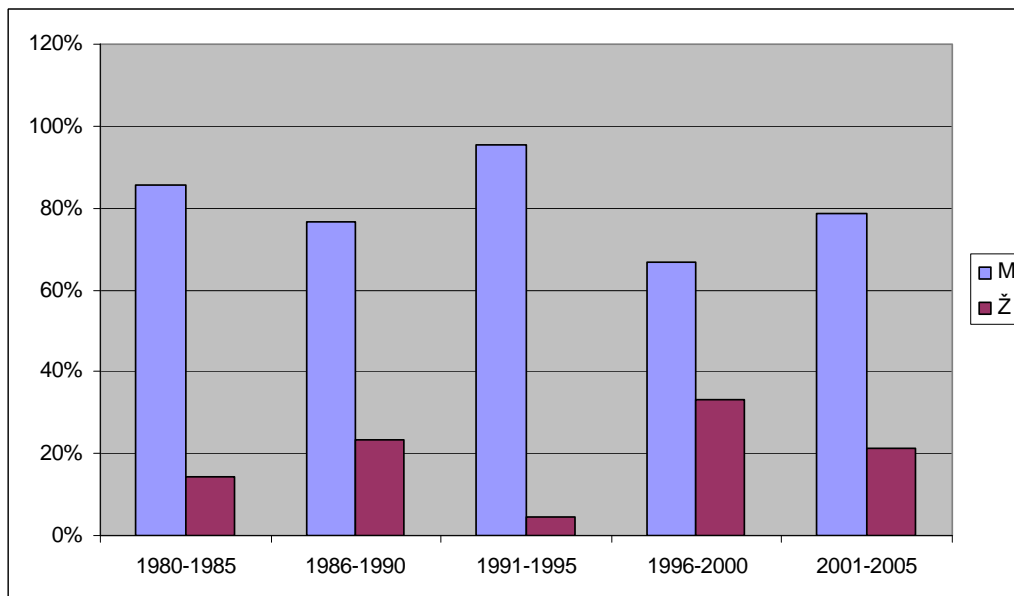
Jednadžbom linearnog rasta utvrđen je trend kretanja prosječne dobi ispitanika po petogodištima istraživanog vremenskog razdoblja. Utvrđeno je da prosječna dob osoba kod kojih se izoliraju NTM postupno polagano raste. Svake godine prosječna dob poraste za 0,45 godina odnosno u jednom petogodištu za 2,22 godine. Prosječna dob ispitanika je u prvom petogodištu (1980-1985) iznosila prosječno 52,15 godina, a u posljednjem petogodištu (2001-2005) 62,22 godine. Opisani trend je prikazan na Slici 14.

Slika 14. Trend kretanja prosječne dobi ispitanika po petogodištima.

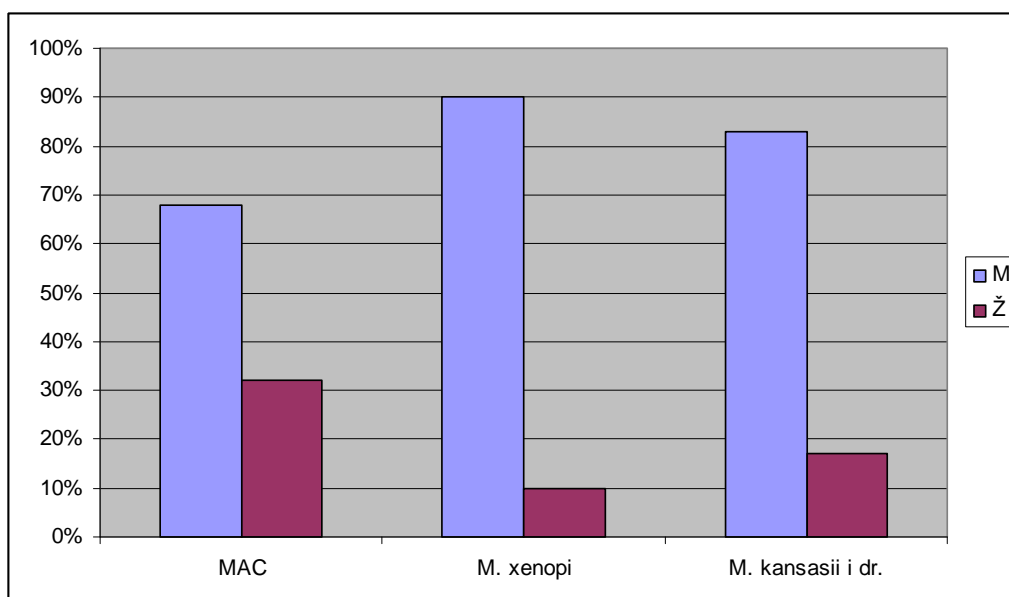


Od ukupnog broja ispitanika njih 80,2% (85/106) su bili muškarci, a 19,8% (21/106) žene. Postotak ispitanika muškog spola varirao je nepravilno po petogodištima od 66,7% (16/24) u razdoblju od 1996-2000 godine, pa do 95,5% (21/22) u razdoblju od 1991-1995. godine. Nije nađena pravilnost u kretanju razmjera udjela spolova među ispitanicima po petogodištima. Udio spolova po petogodištima prikazan je na Slici 15. S Obzirom na udio spolova ispitanika utvrđena je statistički značajna razlika ( $p < 0,05$ ) udjela muških i ženskih s obzirom na spol za različite skupine uzročnika. Iako su ispitanici u svim skupinama uzročnika većinom muškog spola ipak je kod ispitanica, u 57,1% (12/21) slučajeva, češće izoliran MAC (Slika 16 i Tablica 5).

Slika 15. Udio ispitanika s obzirom na spol po petogodišnjim razdobljima.



Slika 16. Udio ispitanika s obzirom na spol prema grupama uzročnika.

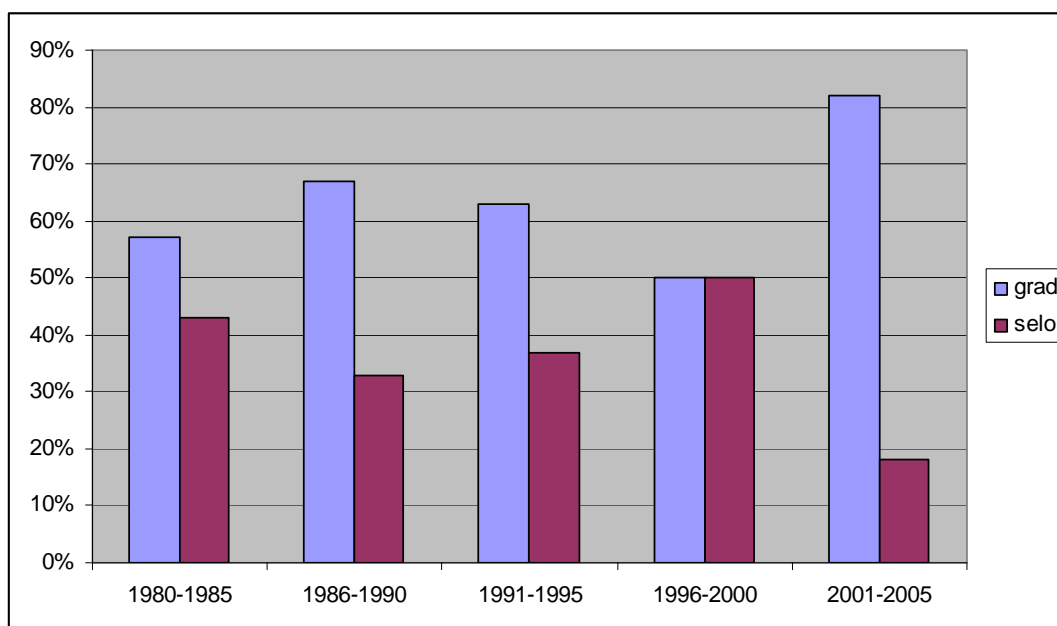


Tablica 5.  $\chi^2$ - test udjela ispitanika s obzirom na spol prema grupama uzročnika

Varijable	Format konting. tabele	$\chi^2$	Broj stupnjeva slobode	p
Grupe uzročnika Spol	3 x 2	6,25	2	<b>0,04</b>

S obzirom na prebivalište, ispitanici su podijeljeni u grupe gradsko i ruralno stanovništvo. Ispitanici su pretežno iz gradskih sredina, i to u prosjeku u 64,2% (68/106) slučajeva. Po petogodišnjim razdobljima udio gradskog i ruralnog stanovništva u strukturi ispitanika varira bez uočene pravilnosti (Slika 17).

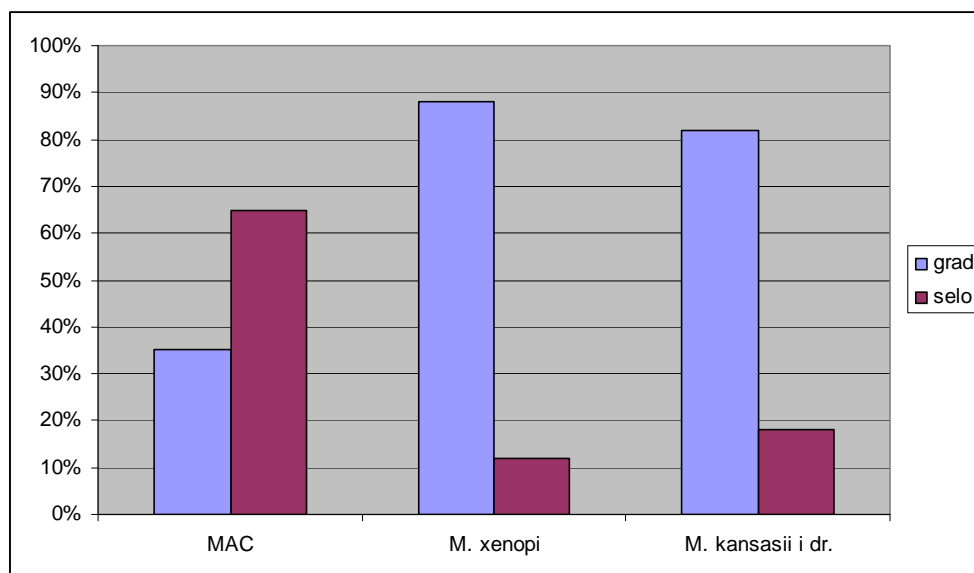
Slika 17. Udio ispitanika s obzirom na prebivalište (grad-selo) po petogodišnjim razdobljima.



Razmjer gradskog i ruralnog stanovništva među ispitanicima, a s obzirom na izoliranu NTM prikazan je na Slici 18. Razlika u udjelu stanovništva grad-selo testiran je  $\chi^2$ - testom koji je prikazan u Tablici 6.

Utvrđeno je da ispitanici kod kojih je izolirana MAC češće imaju prebivalište u seoskim sredinama 64,1% (25/39), odnosno spadaju u ruralno stanovništvo, dok ispitanici kod kojih je izolirana druga i treća grupa uzročnika, odnosno *M. xenopi* te *M. kansasii* i dr. češće imaju prebivalište u gradu 87,5 (35/40) i 81,5 (22/27), odnosno spadaju u gradsko stanovništvo. Navedena razlika je pokazala statističku značajnost na razini od 1% ( $p < 0,01$ ).

Slika 18. Udio ispitanika s obzirom na prebivalište (grad-selo) po grupama uzročnika.



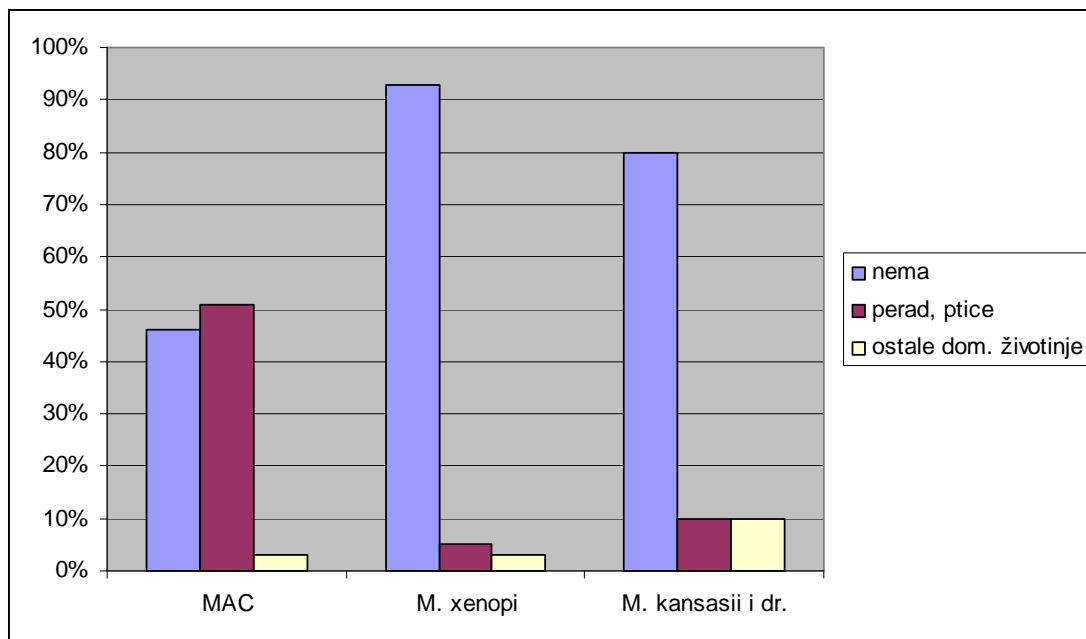
Tablica 6.  $\chi^2$ - test za udjel ispitanika s obzirom na prebivalište (grad-selo) po grupama uzročnika

Varijable	Format konting. tabele	$\chi^2$	Broj stupnjeva slobode	p
Grupe uzročnika Vrste naselja	3 x 2	21,49	2	<b>0,00</b>



Većina ispitanika 72,6% (77/106) nije imala kontakt s domaćim životinjama. Domaće životinje su s obzirom na dosadašnja saznanja podijeljene u dvije skupine i to: a) perad, ptice; b) ostale domaće životinje. Sa skupinom a) domaćih životinja, odnosno s peradi kontakt je imalo 22,6% (24/106) ispitanika, a sa skupinom b) domaćih životinja njih 4,7% (5/106). Kad se analizira kontakt ispitanika s domaćim životinjama po grupama izoliranih uzročnika uočava se odmak od gore navedenih činjenica u smislu da je u skupini ispitanika kod kojih je izoliran MAC češći kontakt sa skupinom peradi i ptica, a u usporedbi s ostalim skupinama uzročnika. Većina ispitanika kod kojih je izoliran MAC imali su kontakt sa skupinom peradi i ptica 51,3% (20/39). Zabilježena razlika u kontaktu s domaćim životinjama testirana je  $\chi^2$ -testom i utvrđena je statistička značajnost od 1% ( $p < 0,01$ ) (Tablica 7). Većina ispitanika kod kojih je izolirana jedna od ostale dvije skupine uzročnika nije imala kontakt s domaćim životinjama (Slika 19).

Slika 19. Udio ispitanika s obzirom na kontakt sa skupinama domaćih životinja po grupama uzročnika.



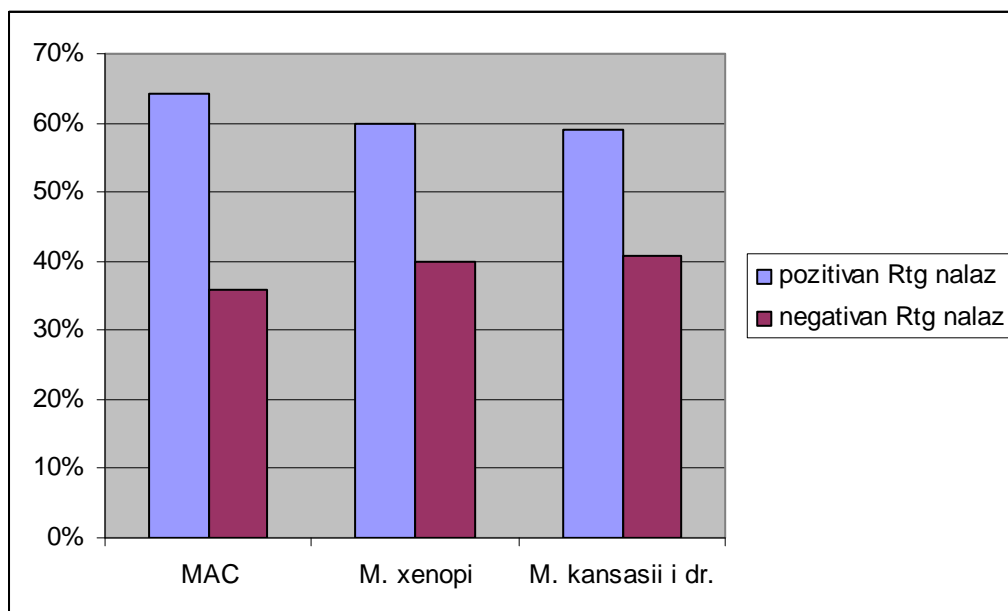
Tablica 7.  $\chi^2$ - test za udjel ispitanika s obzirom na kontakt sa skupinama domaćih životinja po grupama uzročnika.

<b>Varijable</b>	<b>Format konting. tabele</b>	<b><math>\chi^2</math></b>	<b>Broj stupnjeva slobode</b>	<b>p</b>
Grupe uzročnika Kontakt s domaćim životinjama	3 x 3	29,57	4	<b>0,00</b>

### 3.3. SLIKOVNI PRIKAZ

Istraživanjem je utvrđeno da 59,4% ispitanika zadovoljava kriterije ATS-a za plućnu infekciju uzrokovanu NTM-ma, odnosno kod 63 od ukupno 106 ispitanika su osim kliničke slike i pozitivnih mikrobioloških testova, nađene i patomorfološke promjene vidljive na rendgenskim snimkama pluća. U ispitanika kod kojih je izoliran MAC 64,1% (25/39) je i stvarno oboljelih, odnosno imaju i morfološke promjene vidljive na sumacijskim snimkama torakalnih organa. U ispitanika kod kojih je izoliran *M. xenopi* 60% (24/40) je pozitivnih radiološki nalaz, dok je za ispitanike s *M. kansasii* i dr. udio ispitanika s pozitivnim radiološkim nalazom 51,9% (14/27) (Slika 20). Navedene razlike nisu pokazale statističku značajnost ( $p>0,05$ ) (Tablica 8).

Slika 20. Udio ispitanika s obzirom na radiološki nalaz po grupama uzročnika.

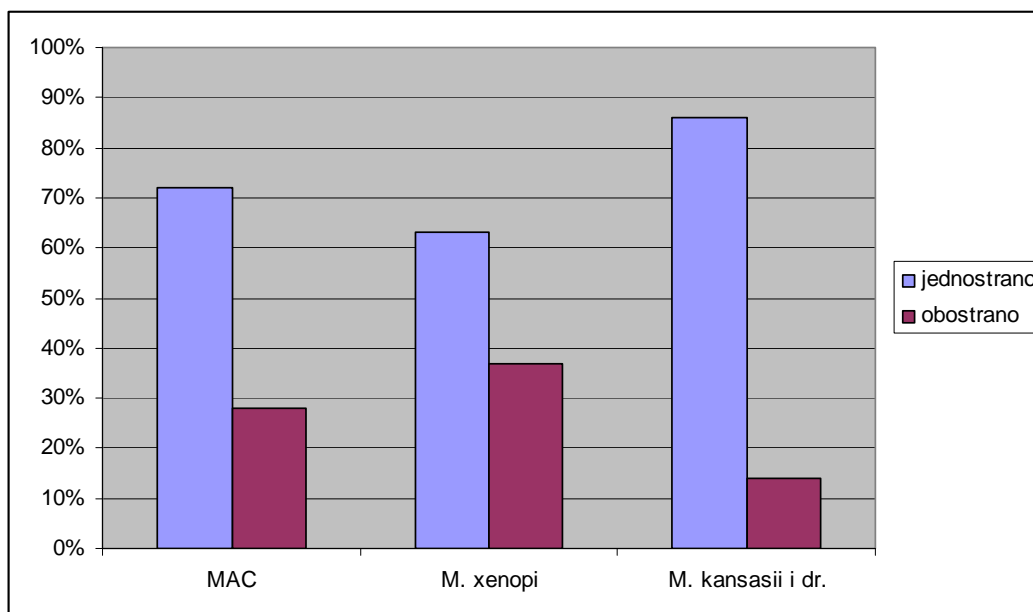


Tablica 8.  $\chi^2$ - test za udjel ispitanika s obzirom na radiološki nalaz po grupama uzročnika

Varijable	Format konting. tabele	$\chi^2$	Broj stupnjeva slobode	p
Grupe uzročnika Rtg nalaz	3 x 2	2,52	2	0,28

S obzirom na uzorak morfoloških promjena na redovito upotrebljavanoj metodi slikovnog prikaza, sumacijskoj snimci torakalnih organa, nađeni su infiltrati jednostrano i obostrano sa ili bez raspada – kaverni, te rijetko intersticijske lezije, bronhiektazije i pleuralni izljev. Jednostrani infiltrat je nađen u 72% (18/25) ispitanika oboljelih od MAC infekcije, 62,5% (15/24) ispitanika oboljelih od *M. xenopi* infekcije i 85,7% (12/14) ispitanika oboljelih od *M. kansasii* i dr. infekcije pluća (Slika 21). Nije nađena statistička značajna razlika među navedenim rezultatima ( $p > 0,05$ ) (Tablica 9).

Slika 21. Udio oboljelih s jednostranom/obostranom infiltracijom pluća po grupama uzročnika

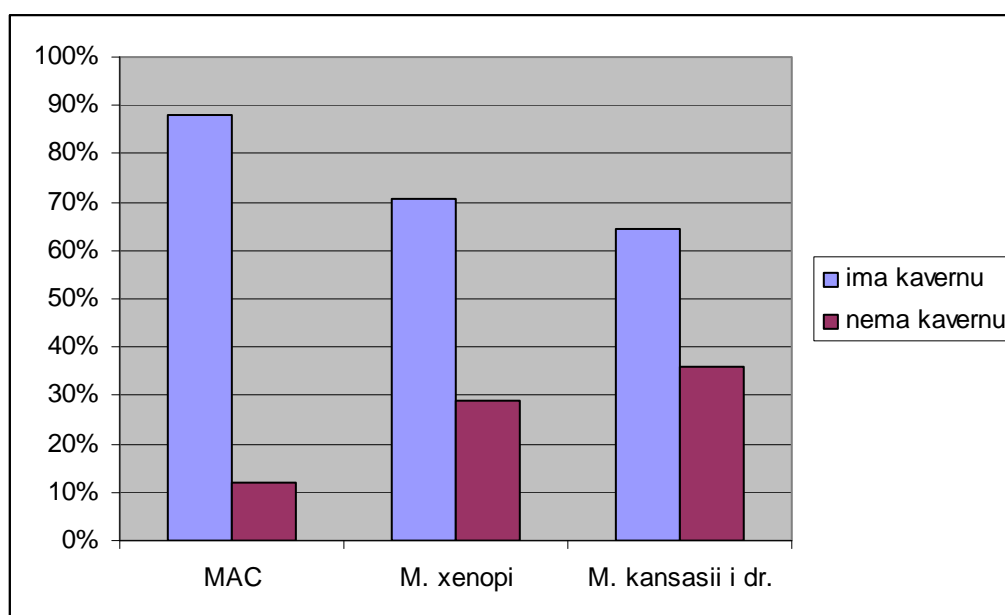


Tablica 9.  $\chi^2$ - test za udjel ispitanika s jednostranom/obostranom infiltracijom pluća po grupama uzročnika

Varijable	Format konting. tabele	$\chi^2$	Broj stupnjeva slobode	p
Grupe uzročnika Jednostrano	3 x 2	2,34	2	0,31

Kaverne, odnosno raspadne šupljine unutar plućnog tkiva, zabilježene su u 76,2% (48/63) od ukupnog broja oboljelih ispitanika; u ispitanika kod kojih je izoliran MAC kaverene su nađene u 88% (22/25) oboljelih, *M. xenopi* 70,8% (17/24) oboljelih te *M. kansasii* i dr. 64,3% (9/14) oboljelih (Slika 22). Nađena razlika nije statistički značajna ( $p > 0,05$ ) (Tablica 10). Pleuralni izljev je nađen u tri oboljela ispitanika i to dva slučaja kod kojih je izolirana *M. xenopi* i jedan ispitanik s izolatom *M. fortuitum*.

Slika 22. Udio oboljelih s kavernom po grupama uzročnika



Tablica 10.  $\chi^2$ - test za udjel ispitanika s kavernom s obziroma na grupe uzročnika

<b>Varijable</b>	<b>Format konting. tabele</b>	$\chi^2$	<b>Broj stupnjeva slobode</b>	<b>p</b>
Grupe uzročnika Kaverna	3 x 2	3,40	2	0,07

Postojanje komorbiditeta u smislu kronične opstruktivne plućne bolesti (KOPB), kao niti ranije preboljela tuberkuloza, nisu imali uticaja na morfološke promjene, odnosno nije nađena statistička značajnost u pojavnosti jednostranog/obostranog infiltrata, niti kaverni, s obzirom na navedene varijable. Nije bilo statističke značajnosti u radiološki evidentiranim morfološkim promjenama niti s obzirom na dob ili spol (Tablica 11).

Tablica 11.  $\chi^2$ - test za pojavnost jednostrano/obostrano infiltrata ili kaverni kod oboljelih ispitanika s KOPB-om ili preboljelom tuberkulozom.

<b>Varijable</b>	<b>Format konting. tabele</b>	$\chi^2$	<b>Broj stupnjeva slobode</b>	<b>p</b>
KOPB Kaverna	2 x 2	1,20	1	0,27
KOPB Jednostrano	2 x 2	1,01	1	0,32
Preboljela TBC Kaverna	2 x 2	0,22	1	0,64
Preboljela TBC Jednostrano	2 x 2	1,79	1	0,18
Spol Kaverna	2 x 2	3,47	1	0,06
Spol Jednostrano	2 x 2	0,36	1	0,55
Dobne skupine Kaverna	6 x 2	6,49	5	0,26
Dobne skupine Jednostrano	6 x 2	7,47	5	0,19

Statistički je potvrđena značajnost ( $p < 0,01$ ) radiološkim pretragama najčešće nađenog jednostrani infiltrat s kavernom, a koji je detektiran u 65,1% (41/63) oboljelih (Tablica 12 i Tablica 13).

Tablica 12. Tablica frekvencija za jednostrani/obostrani infiltrat i kavernu

	KAVERNA		Ukupno
	nema	ima	
OBOSTRANO	11	7	18
JEDNOSTRANO	4	<b>41</b>	45
Ukupno	15	48	63

Tablica 13.  $\chi^2$ - test za pojavnost jednostrano/obostrano infiltrata i kaverni

Varijable	Format konting. tabele	$\chi^2$	Broj stupnjeva slobode	p
Jednostrano Kaverna	2 x 2	19,33	1	<b>0,00</b>

### 3.4. KLINIČKI ZNAČAJ

Sve analizirane varijable testirane su s obzirom na dob ispitanika t-testovima. Statistički su značajno mlađi bili ispitanici kod kojih je zabilježeno poboljšanje nakon terapije ( $p < 0,05$ ) koja je bila u velikoj većini slučajeva ista kao i za tuberkulozu. Liječenje bolesti uzrokovanih mikobakterijama, prema današnjim spoznajama, treba biti drugačije no Tbc, ali se to prije nije znalo. Makrolidi su uključivani u terapiju tek s prijelazom tisućljeća. Statistički su bili značajno stariji pacijenti koji su ranije preboljeli tuberkulozu ( $p \leq 0,01$ ). Statistički su značajno bili stariji pacijenti koji kao komorbiditet, odnosno predisponirajuću bolest, imaju KOPB ( $p < 0,01$ ). Rezultati t-testova prikazani su u Tablici 14.

Tablica 14. Rezultati t-testova razlike po dobi prema istraživanim varijablama.

	<b>Varijabla</b>	<b>Grupa pacijenata</b>	<b>Aritm. sredine</b>	<b>p</b>
1.	Spol	muški	59,55	0,85
		ženski	58,86	
2.	Ishod	poboljšan	56,57	<b>0,04</b>
		stacion.ili smrt	64,03	
3.	Vrsta naselja	grad	58,06	0,75
		selo	59,24	
4.	RTG	negativan	59,08	0,42
		pozitivan	60,50	
5.	Tbc	ne	57,36	<b>0,01</b>
		da	65,79	
6.	KOPB	ne	56,80	<b>0,00</b>
		da	67,54	
7.	Domaće životinje	nema kontakt	58,56	0,37
		ima kontakt	61,45	
8.	Kaverna	nema	59,37	0,98
		ima	59,44	
9.	Jednostrano	ne	59,31	0,95
		da	59,51	
10.	Alkoholizam	ne	59,13	0,63
		da	61,23	



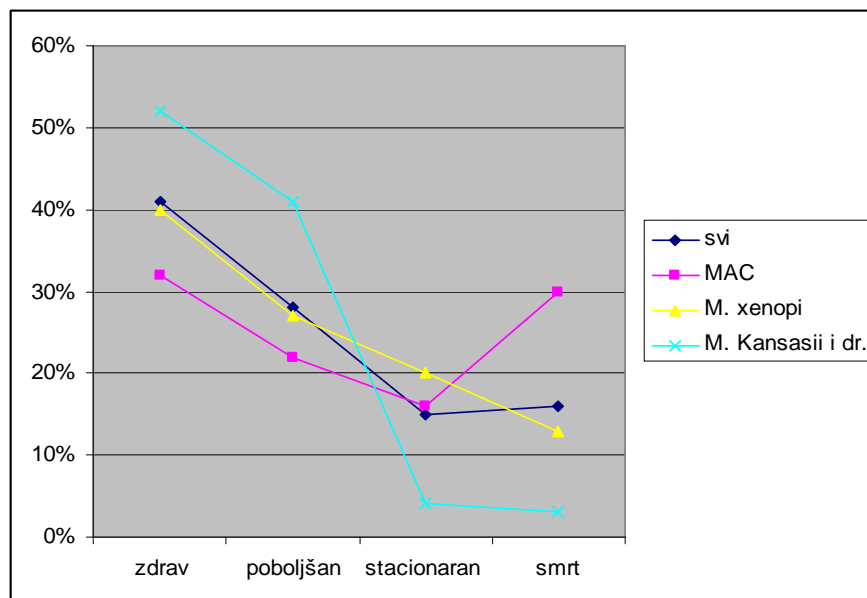
S obzirom na spol nije zabilježena statistički značajna razlika za ispitanike koji su preboljeli tuberkulozu i ispitanike s KOPB-om ( $p > 0,05$ ), međutim ispitanici oboljeli od alkoholizma su značajno češće muškarci ( $p \leq 0,05$ ). Statistički nije nađena značajna razlika u ishodu s obzirom na spol ( $p > 0,05$ ) (Tablica 15). U istoj tablici su prikazani i rezultati testiranja učestalosti pojave predisponirajućih i pridruženih bolesti s obzirom na grupe uzročnika.

Tablica 15.  $\chi^2$ - testovi za varijable Tbc, KOPB i alkohol s obzirom na spol i grupe uzročnika.

Varijable	Format konting. tabele	$\chi^2$	Broj stupnjeva slobode	p
Spol Tbc	2 x 2	0,02	1	0,89
Spol KOPB	2 x 2	1,04	1	0,31
Spol Alkoholizam	2 x 2	3,66	1	<b>0,05</b>
Spol Ishod	2 x 3	0,19	2	0,91
Grupe uzročnika Tbc	3 x 2	0,82	2	0,96
Grupe uzročnika KOPB	3 x 2	4,05	2	0,13
Grupe uzročnika Alkoholizam	3 x 2	0,15	2	0,93

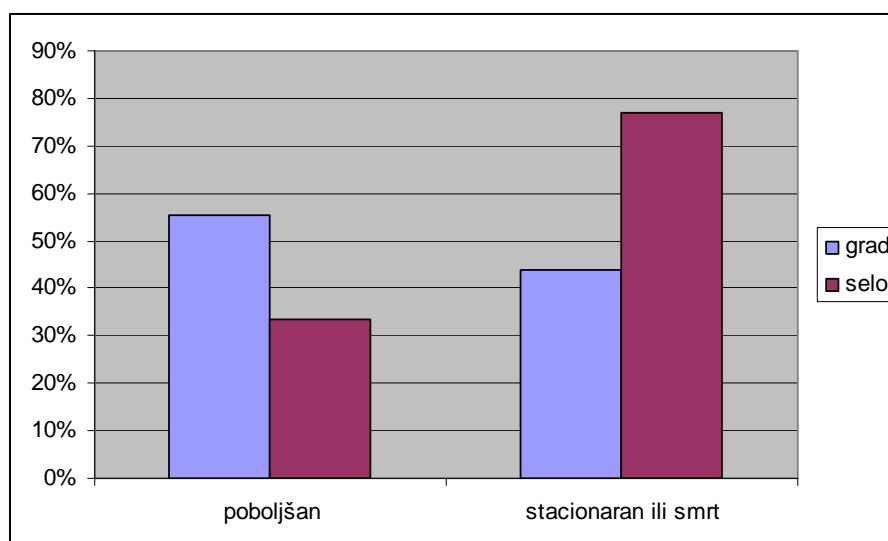
S obzirom na ishod kod ispitanika su zabilježene tri skupine rezultata i to poboljššan, stacionaran i smrt. Zbog malog uzorka te značajnosti statističke obrade formirane su dvije grupe rezultata za ishod i to: grupa 1) poboljššan i grupa 2) stacionaran, smrt. Struktura ispitanika s obzirom na ishod prikazana je na Slici 23. Zabilježena je statistički značajna razlika ( $p < 0,05$ ) za ishod i uzročnika bolesti prema grupama uzročnika (Tablica 16). Najbolji ishod zabilježen je za treću skupinu uzročnika – *M. kansasii* i dr.

Slika 23. Struktura ispitanika s obzirom na ishod skupno i po grupama uzročnika.



Testiranjem grupa ishoda s obzirom na prebivalište ispitanika te kontakt sa domaćim životinjama nije nađena statistička značajnost ( $p > 0,05$ ) (Tablica 16) iako je u ispitanika koji su oboljeli od infekcija uzrokovanih NTM-ma, a spadaju u gradsko stanovništvo, češće zabilježeno poboljšanje (Slika 24). Tako je poboljšanje kod gradskog stanovništva zabilježeno u 55,5% (20/36) oboljelih, a u oboljelih ispitanika sa sela u 33,3% (8/24) slučajeva.

Slika 24. Udio oboljelih ispitanika po grupama ishoda s obzirom na prebivalište.



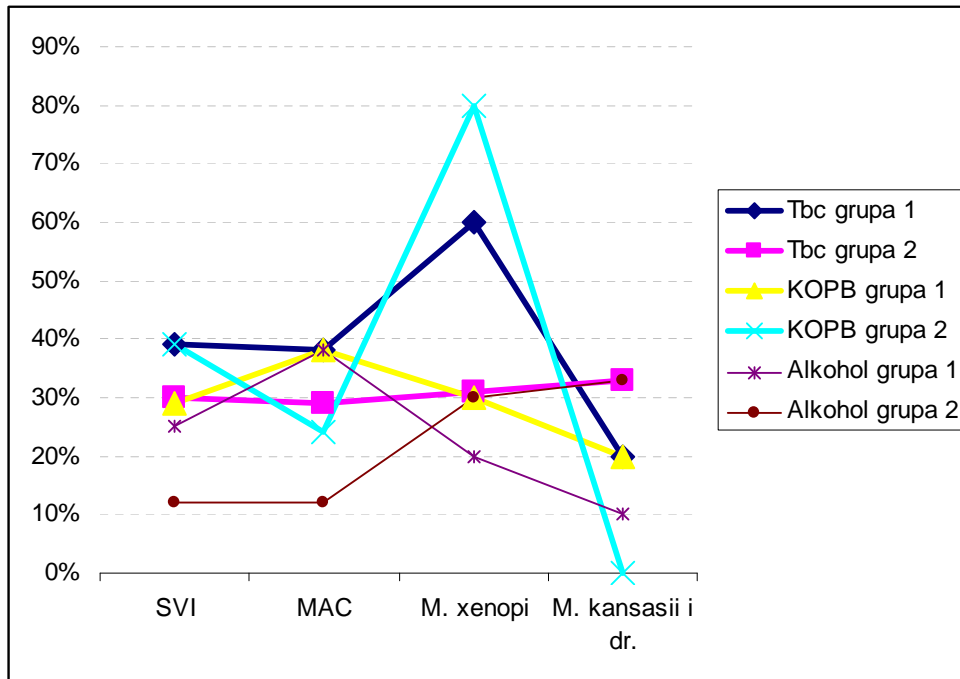
Tablica 16.  $\chi^2$ - test za ispitanike s obzirom na prebivalište i kontakt s  
domaćim životinjama po grupama ishoda te  
za ishod po grupama uzročnika

Varijable	Format konting tabele	$\chi^2$	Broj stupnjeva slobode	p
Grupe ishoda Prebivalište	2 x 2	2,57	1	0,11
Grupe ishoda Kontakt s životinjama	2 x 2	1,15	1	0,29
Ishod Grupe uzročnika	3 x 3	11,56	1	<b>0,02</b>

Na slici 25 prikazan je odnos predisponirajućih bolesti (tuberkuloza, KOPB i alkoholizam) prema grupama uzročnika, a s obzirom na grupe ishoda: 1) poboljšan; 2) stacionaran, smrt. Iz prikazanog dijagrama jasno se uočava kako u grupi 2 ishoda u skupini *M. xenopi*, dolazi do izražaja značajno veći udio ispitanika s KOPB-om. U grupi 1 ishoda za *M. xenopi* veći je udio ispitanika s preboljelom tuberkulozom. Navedene razlike testirane su Studentovim t-testovima.

Rezultati Studentovih t-testova za predisponirajuće bolesti po grupama ishoda za *M. xenopi* prikazani su tablično (Tablica 17). Utvrđeno je da se velik udio ispitanika s KOPB-om nalazi u grupi 2 ishoda (stacionarno, smrt) za *M. xenopi* i da je rezultat statistički značajan ( $p < 0,05$ ). Za ostale predisponirajuće bolesti nije utvrđena statistička značajnost njihove pojavnosti po grupama uzročnika i grupama ishoda, a što se vidi iz iz Slike 25, jer su odstupanja među grupama značajno manja.

Slika 25. Udio oboljelih ispitanika s po predisponirajućim bolestima prema grupama uzročnika i grupama ishoda.



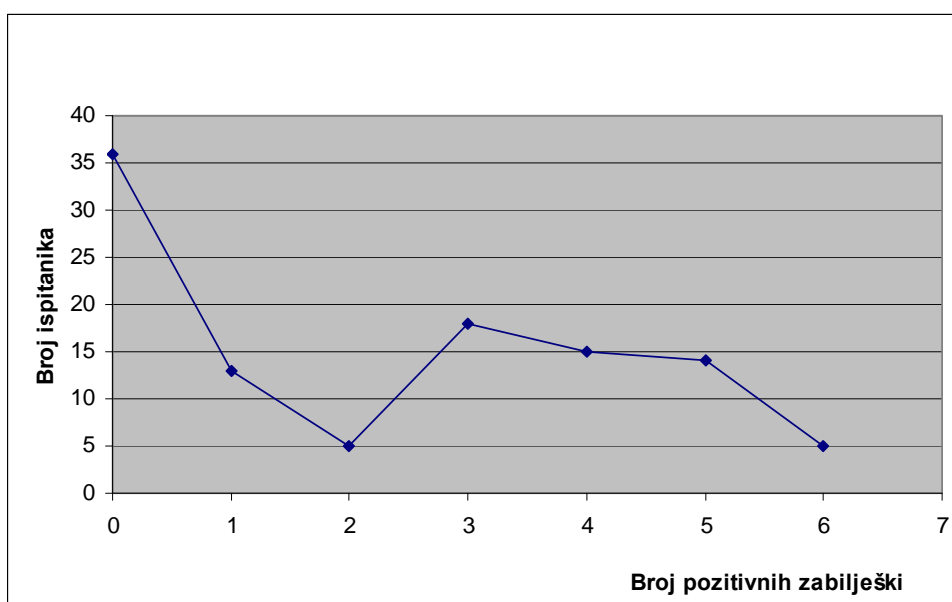
Tablica 17. Rezultati Studentovog t-testa za predisponirajuće bolesti po grupama ishoda za *M. xenopi*.

	ISHOD		p
	Grupa 1	Grupa 2	
Tbc	60%	40%	0,39
KOPB	30%	80%	<b>0,04</b>
Akoholizam	20%	30%	0,61

Analizirajući zabilježene varijable ( kontakt sa domaćim životinjama, radiološki nalaz, kaverna, jednostrani/obostrani infiltrat, Tbc, KOPB, alkoholizam) ispitanici su podijeljeni u sedam kategorija, od skupine bez pozitivnih zabilješki za bilo koju od varijabli, do skupine sa pozitivnim nalazima po svim varijablama. U prvu, skupinu 0,

svrstano je 36 ispitanika, a u zadnju, skupinu 6, pet ispitanika. Dobivena distribucija desnostrano je asimetrična, a grafički je prikazana linijskim grafikonom na Slici 26.

Slika 26. Grafikon frekvencija za broj pozitivnih zabilješki po varijablama:  
kontakt s domaćim životinjama, radiološki nalaz, kaverna,  
jednostrani infiltrat, Tbc, KOPB, i alkoholizam.



Najveći broj pozitivnih zabilješki po varijablama utvrđen je za MAC i to 2,84, zatim *M. xenopi* 2,05, a najmanji za treću skupinu uzročnika *M. kansasii* i dr. 1,86. Kako bi se novoformirana varijabla iskoristila za dodatne analize pomoću  $\chi^2$ -testova podaci su grupirani u dvije skupine i to: a) ispitanici s 0-2 pozitivnih zabilješki (N=54); b) ispitanici s 3-6 pozitivnih zabilješki (N=52). Prvu skupinu čine većinom zdravi ispitanici, a drugu stvarno oboljeli.  $\chi^2$ -testovima utvrđeno je da u skupinuu s više pozitivnih varijabli spadaju: s obzirom na spol muškarci, a s obzirom na prebivalište ispitanici sa sela ( $p>0,05$ ), dok s obzirom na dobne skupine, grupe uzročnika i grupe ishoda nije nađena statistički značajna povezanost ( $p>0,05$ ) (Tablica 18).

Tablica 18.  $\chi^2$ - testovi za spol, prebivalište, dobne skupine, grupe uzročnika i grupe ishoda s obzirom na grupe pozitivnih zabilješki

Varijable	Format konting. tabele	$\chi^2$	Broj stupnjeva slobode	p
Grupe zabilješki Spol	2 x 2	4,40	1	<b>0,04</b>
Grupe zabilješki Prebivalište	2 x 2	4,49	1	<b>0,03</b>
Grupe zabilješki Dobne skupine	2 x 3	0,64	2	0,95
Grupe zabilješki Grupe uzročnika	2 x 3	2,55	2	0,14
Grupe zabilješki Grupe ishoda	2 x 2	1,21	1	0,28

Za skup od 106 ispitanika detektiranih u razdoblju od 25 godina korištene su nezavisne i zavisne varijable u klaster analizi, kako bi se utvrdilo postoji li pravilo po kojem se jedinice tog skupa grupiraju u klustere. Algoritmom „k“ srednjih vrijednosti (*k Means Cluster*) kroz 16 iteracija dobivene su homogene skupine ispitanika. U klaster analizi korištene su tri varijable: 1) broj pozitivnih varijabli; 2) uzročnici-vrste NTM; 3) ishod liječenja.

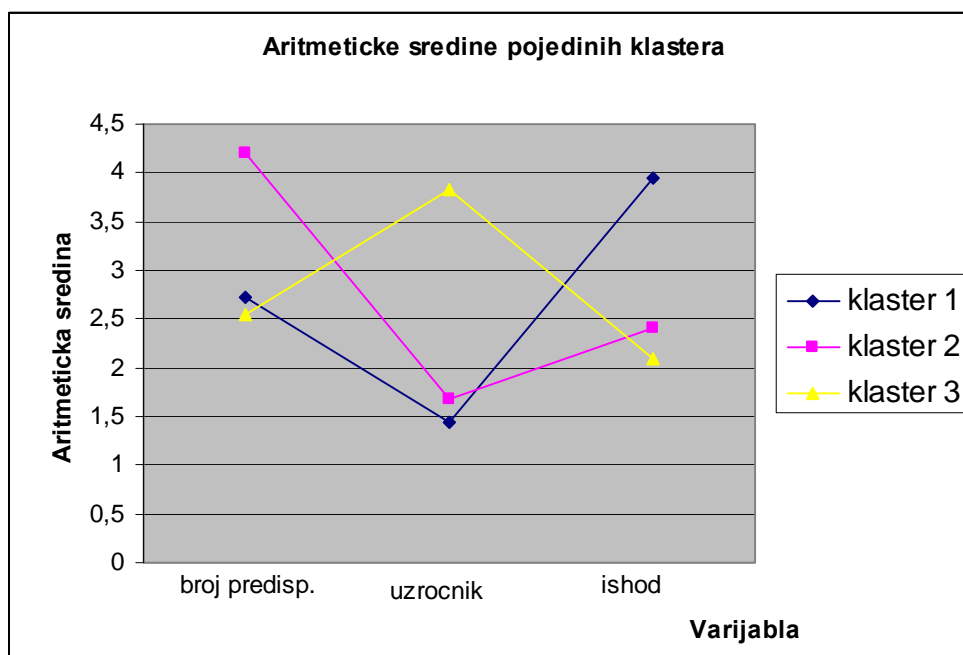
Prva varijabla je kvantitativna i ima vrijednost između 0 i 6, druga je kvalitativna i ima 7 vrsta NTM ( MAC 37 ispitanika, *M. xenopi* 40 ispitanika, *M. kansasii* 19 ispitanika, ostale 10 ispitanika). I treća varijabla je također kvalitativna (poboljšano je 30 ispitanika, stacionarno 16, a smrt je zabilježena u 17 ispitanika). U prvom klasteru je bilo 18 (29%) ispitanika, u drugom 34 (17%) ispitanika, a u trećem 11 (17%) ispitanika. Analiza varijance je pokazala da su razlike među klasterima statistički značajne ( $p < 0,01$ ). Validacija ovog klusterskog rješenja napravljena je  $\chi^2$ - testovima. Rezultati  $\chi^2$ - testova prikazani su u Tablici 19.

Tablica 19. Rezultati  $\chi^2$ - testova za klasterne

Varijable	Format konting. tabele	$\chi^2$	Broj stupnjeva slobode	p
Klasteri Grupe zabilješki	3 x 2	13,73	2	<b>0,00</b>
Klasteri Grupe uzročnika	3 x 3	44,77	4	<b>0,00</b>
Klasteri Grupe ishoda	3 x 2	26,33	2	<b>0,00</b>

Prema tome, rezultati ovog neparametrijskog testa pokazuju statistički značajnu povezanost ( $p < 0,01$ ) između svake od tri korištene varijable u klaster analizi sa pripadnošću pojedinom klasteru. Aritmetičke sredine pojedinih klastera prikazane su na Slici 27.

Slika 27. Graf aritmetičkih sredina pojedinih klastera.



Rezultati klaster analize sažeto su prikazani u Tablici 20.

Tablica 20. Rezultati klaster analize.

<b>Klaster</b>	<b>N</b>	<b>Pozitivne zabilješke</b>	<b>Uzročnik</b>	<b>Ishod</b>
1.	18	različit	pretežno MAC	pretežno smrtni
2.	34	pretežno 4 do 5	<i>M.xenopi</i> i MAC	pretežno poboljšan ili stacionaran
3.	11	pretežno 3	Pretežno <i>M. kansasii</i> i <i>M. fortuitum</i>	isključivo poboljšan

Dakle, najbrojniji je klaster 2 u kojem, usprkos većem broju pozitivnih zabilješki, *M.xenopi* i MAC dovode do poboljšanja stanja ili stacionarnog ishoda. U trećem klasteru su ispitanici kod kojih su najčešće, uz relativno mali broj pozitivnih zabilješki, izolirane *M. kansasii* ili *M. fortuitum* s isključivo dobrim ishodom. Najbolji ishod imaju ispitanici u 3. klasteru koji imaju najmanji broj predisponirajućih bolesti, nemaju kontakt s domaćim životinjama i imaju manju učestalost kaverni, a najlošiji oni u 1.klasteru.



**RASPRAVA**

## 4.1. EPIDEMIOLOGIJA

U Hrvatskoj je u razdoblju od 25 godina, odnosno od 1980-2005. godine zabilježeno 106 ispitanika s pozitivnim rezultatom kultivacije NTM, a od toga je 63 ispitanika prema ATS kriterijima bilo stvarno bolesno<sup>(206-208)</sup>. Zabilježene su samo plućne infekcije uzrokovane NTM-ma. Najveća incidencija oboljelih zabilježena je 1992. godine koja je za broj pozitivnih izolata iznosila 0,24 i za broj stvarno oboljelih iznosila 0,20 na 100.000 stanovnika, dok je prosječna incidencija za godine u posljednjem proučavanom petogodištu iznosila 0,12 za pozitivne izolate te 0,06 za stvarno oboljele na 100.000 stanovnika. U usporedbi s dosad objavljenim rezultatima raznih istraživanja učinjenih u nekim drugima zemljama, a koja su provedena na nacionalnom nivou, iz rezultata dobivenih ovim istraživanjem je razvidno da je učestalost infekcija uzrokovanih s NTM manja u apsolutnom i relativnom broju, iako incidencije, kako za cijelu skupinu, tako i za pojedine vrste NTM, izrazito variraju i to od 0,2 – 8,2 oboljelih do čak 17,5 pozitivnih izolata na 100.000 stanovnika<sup>(5-34)</sup>. Također je značajna razlika u organskim sustavima koji su zahvaćeni tim infekcijama<sup>(11)</sup>. Razlozi za postojanje gore navedenih razlika se pojavljuju najvjerojatnije zbog nekoliko činjenica na koje dijelom možemo, a dijelom ne možemo utjecati u budućnosti. Jedan od važnijih razloga je prestanak redovitog cijepljena domicilnog stanovništva protiv tuberkuloze u nekim zapadnim zemljama kao što je Velika Britanija<sup>(30)</sup>, SAD<sup>(5)</sup>, itd. Drugi važan razlog je neobaveznost prijavljivanja infekcija uzrokovanih s NTM i manjak središnjeg registra oboljelih, kako u svijetu<sup>(26)</sup>, tako i u našoj zemlji. Treći razlog leži u činjenici da liječnici kliničari često ne razmišljaju o NTM kao mogućem etiološkom čimbeniku tegoba koje njihov bolesnik ima te se zbog toga često ne uzima ili neprikladno uzima biološki materijal za mikrobiološku obradu. Naime, budući da su neka istraživanja pokazala značajan porast broja pozitivnih izolata u odnosu na broj stvarno bolesnih uvođenjem tekućih podloga<sup>(54)</sup>, izvjesno je da bi korištenje takvih podloga u svakodnevnoj praksi za nasađivanje bioloških uzoraka dovelo ne samo do porasta broja pozitivnih izolata iz dišnog sustava, nego i do porasta broja pozitivnih izolata NTM i iz uzoraka izvan pluća, npr. limfnih čvorova ili rana.

Važan razlog rjeđe pojavnosti NTM u našoj populaciji može biti i niska stopa incidencije HIV pozitivnih osoba<sup>(211)</sup>, odnosno oboljelih od AIDS-a, a koji su se u najvećem broju u svijetu provedenih istraživanja pokazali kao osobe najpodložnije infekcijama uzrokovanim NTM-ma upravo zbog njihove imunodeficijencije. U ovoj studiji nije zabilježen niti jedan pacijent koji uz infekciju uzrokovanu NTM-ma boluje i od AIDS-a. Također nije identificiran niti jedan ispitanik koji bi bio imunodeficijentan iz bilo kojeg drugog razloga, kao npr. lijekovima inducirane imunosupresije.

Za razliku od mnogih drugih zemalja svijeta, od SAD-a<sup>(5, 10, 11)</sup> do Hong Konga<sup>(20)</sup> i Novog Zelanda<sup>(14)</sup> gdje je najčešće izolirana vrsta MAC, u Hrvatskoj je ovim istraživanjem pronađena najčešća učestalost izolata *M. xenopi*. U našoj zemlji druga najčešće izolirana vrsta NTM je MAC, a treća *M. kansasii*, dok se druge vrste pojavljuju znatno rjeđe. Razdioba po učestalosti izoliranja pojedinih vrsta NTM, slična rezultatima ovog istraživanja, prikazana je u objavljenim rezultatima istraživanja provedenih u Kanadi<sup>(31,32)</sup>, djelovima Engleske i Velsu<sup>(30)</sup> te djelovima Francuske, a osobito u Parizu<sup>(33)</sup>. U Nizozemskoj je *M. xenopi* također vrlo često izolirana vrsta NTM<sup>(34)</sup>. Vrlo često se na sjevernoj polutci Zemlje izolira *M. kansasii*, pa je tako ona druga u SAD-u, a u Hrvatskoj treća najčešće izolirana vrsta NTM. Brzorastuće netuberkulozne mikobakterije (RGM) znatno češće su izolirane u toplijim zemljama poput Brazila<sup>(15,16)</sup>, dok su u Hrvatskoj izuzetno rijetke, izoliraju se u svega 9,4% (10/106) slučajeva. U našoj se zemlji od brzorastućih netuberkuloznih mikobakterija najčešće izolira *M. fortuitum*. Važan razlog rjetke pojavnosti RGM u Hrvatskoj, zasigurno, ponovno leži u ponavljanoj činjenici da u navedenom periodu nije zabilježena niti jedna izvanplućna infekcija uzrokovana NTM-ma, a koje često uzrokuju upravo RGM.

Sukladno trendu porasta izolata i stvarno oboljelih od infekcija uzrokovanih NTM-ma u svijetu, i u našoj se zemlji bilježi znatan porast broja izolata NTM kroz petogodišnja razdoblja od 1980-2005. godine za sve vrste skupno. Međutim, nakon pomne analize po pojedinim vrstama NTM, uočen je neobičan trend učestalosti izolacije MAC-a. Naime, zabilježen je stalan pad učestalosti izolacije MAC, kako kod zdravih ispitanika, tako i u stvarno oboljelih i to po svim petogodištima izučavanog vremenskog perioda. Dakle, osim pada u apsolutnom broju izolata MAC, uočen je i pad broja stvarno oboljelih. Navedeni trend za MAC je suprotan svjetskim trendovima. Nije jasan uzrok takvog trenda učestalosti izolacije

MAC-a. Ostale vrste NTM ipak pokazuju značajna porast učestalosti kroz navedeni period. S obzirom na ukupnu učestalost svih vrsta NTM, interesantan je podatak da je najveća incidencija po pojedinačnim godinama za navedeni period bila 1992. Kako je razvidno iz Slike 7 i Slike 8, linearnom jednadžbom rasta, nije dokazano značajnije odstupanje od trenda za razdoblje od 1991-1995. godine. Ipak, možda se uzrok navedenoj činjenici da je 1992. godine zabilježena najveća incidencija NTM u Hrvatskoj za proučavani period nalazi u ratnim strahotama, a koje su u to vrijeme bile hrvatska stvarnost. Moguće je da su povećan stres, neimaština i raseljenost, a koji su utjecali na opću razinu zdravlja pojedinca i društva u cjelini, utjecali i na pojavu većeg broja infekcija uzrokovanih NTM-ma. Niti jedna vrsta NTM nije zasebno značajnije utjecala na veliku incidenciju NTM te godine, već se kod svih vrsta NTM pojedinačno vidi porast učestalosti pozitivnih izolata, ali i stvarno oboljelih ispitanika.

Prosječna dob svih ispitanika od  $59,4 \pm 14,6$  godine, odnosno  $61,4 \pm 13,0$  godina za oboljele ispitanike, slična je kao prosječna dob ispitanika uključenih u do sada provedena istraživanja u drugim zemljama <sup>(5-35)</sup>. Nije zabilježena značajnija razlika u dobi ispitanika s obzirom na pojedinu vrstu NTM, iako su u prosjeku ipak nešto stariji bili ispitanici kod kojih je izolirana *M. xenopi*. U usporedbi s prosječnom dobi ispitanika u Nizozemskoj<sup>(34)</sup> kod kojih je izolirana *M. xenopi*, naši su ispitanici u prosjeku dvije godine stariji. Ispitanici kod kojih je izolirana MAC u istraživanju provedenom u New Yorku<sup>(11)</sup> su u prosjeku čak 10 godina stariji nego ispitanici u našoj zemlji. Zanimljivo je opažanje da postoji stalan linearan trend porasta prosječne dobi ispitanika po petogodištima od 52,15 godina koliko je iznosio od 1980-1985 godine, pa sve do 62,22 godina u razdoblju od 2001-2005 godine. S obzirom da već nekoliko desetljeća postoji opći trend starenja stanovništva u našoj zemlji, ovaj rezultat vjerojatno slijedi opći trend. Navedeni zaključak podupire i činjenica da su ispitanici u istraživanjima provedenim u zemljama s mlađim stanovništvom u prosječnoj dobi ipak znatno mlađi. Tako je npr. u istraživanjima provedenim u Brazilu<sup>(16,17)</sup> prosječna starost ispitanika oko 48 godina. Osim toga, istraživanjem provedenim u SAD-u<sup>(10)</sup> pokazalo se da su ispitanici s plućnim infekcijama stariji od onih s izvanplućnim infekcijama. Budući da su u Hrvatskoj zabilježene samo plućne infekcije, i to bi mogao biti razlog nešto starije prosječne dobi u trenutku izolacije NTM.

S obzirom na spol, u ovom istraživanju, većinom su zabilježeni ispitanici muškog spola. Iako su po svim grupama uzročnika većina ispitanika muškog spola, ipak se među ispitanicima ženskog spola ističe češća izolacija MAC-a. Ovakav nalaz

pokazuje da su žene podložnije infekcijama uzrokovanim MAC-om nego infekcijama uzrokovanim drugim vrstama NTM, a što je na tragu rezultata zabilježenog u istraživanju provedenom u New Yorku<sup>(11)</sup> gdje je u skupini oboljelih od infekcije uzrokovane MAC-om čak 60%, dakle većina, žena. Navedeno istraživanje, kao i ono provedeno na Novom Zelandu<sup>(14)</sup> i Koreji<sup>(22)</sup>, pokazalo je rezultate s velikim udjelom ženskog spola među ispitanicima i ukupno za sve infekcije uzrokovane NTM-ima. Međutim, istraživanja provedena u SAD-u<sup>(10)</sup>, Australiji<sup>(13)</sup>, Brazilu<sup>(16,17)</sup>, Grčkoj<sup>(18)</sup>, Danskoj<sup>(26)</sup>, Škotskoj<sup>(27)</sup> pokazuju sličan omjer među spolovima, odnosno njihovi ispitanici su većinom bili muškog spola.

Ukupno gledajući, ispitanici u ovom istraživanju, većinom dolaze iz gradskih sredina. Analiziranjem rezultata uočena je značajna razlika među ispitanicima s obzirom na prebivalište, a s obzirom na uzročnika. Tako se pokazalo da ispitanici kod kojih je češće izolirana MAC češće dolaze sa sela. U istraživanju provedenom na nacionalnoj razini u SAD-u<sup>(10)</sup> pokazan je sličan rezultat, tj. većina od ukupnog broja ispitanika bila je iz gradova, dok je samo za ispitanike kod kojih je izoliran MAC zabilježen značajno veći udjel seoskog stanovništva. Osim toga, u istraživanju provedenom u Francuskoj<sup>(33)</sup> najčešće izolirana vrsta u gradovima, a osobito Parizu, bila je *M. xenopi*, a koja je u našoj zemlji najčešće izolirana vrsta NTM. Budući da je većina ispitanika u dosad objavljenim istraživanjima s pozitivnim izolatom *M. xenopi* dolazi iz gradova, a uz činjenicu da je najčešće izolirana vrsta NTM u našoj zemlji bila upravo *M. xenopi*, to je zasigurno značajan čimbenik u dobivenom rezultatu udjela ispitanika s obzirom na prebivalište, a prema pojedinim vrstama NTM. S obzirom na navedeno, a uz činjenicu da su ispitanici s izolatom MAC-a većinom bili sa sela, jasno je da su ispitanici kod kojih su izolirane druge vrste NTM većinom bili iz gradova. U tom svjetlu, rezultati ovog istraživanja pokazuju sličnu rasprostranjenost NTM kao i druga u svijetu provedena, a u gornjem tekstu navedena, istraživanja.

S obzirom na to da većina ispitanika spada u urbano stanovništvo, putovi prijenosa i izvori zaraze za većinu vrsta NTM, najvjerojatnije nisu povezani sa životinjama. Kako je prikazano u Uvodu, na Slici 1, ilustraciji preuzetoj iz istraživanja Biet i sur.<sup>(38)</sup>, domaće životinje mogu imati značajnu ulogu u putevima prijenosa infekcija uzrokovanih MAC-om između rezervoara u prirodi i čovjeka. Uistinu, ovo istraživanje je pokazalo da su u kontaktu sa domaćim životinjama statistički značajno češće bili ispitanici kod kojih je izolirana MAC za razliku od ostalih ispitanika kod

kojih je rijetko zabilježen kontakt s domaćim životinjama. Od svih domaćih životinja ispitanici su najčešće imali kontakt sa peradi, odnosno pticama.

Dakle, sažimajući sve epidemiološke rezultate, može se zaključiti da se ispitanici kod kojih je izolirana MAC značajno razlikuju od ostalih ispitanika i da se u toj skupini mogu češće naći žene sa sela koje imaju kontakt s peradi nego među ispitanicima kod kojih su izolirane druge vrste NTM te da su u prosjeku nešto mlađi od ispitanika kod kojih je izolirana *M. xenopi* i koji češće dolaze iz gradskih sredina, nešto su stariji i velikom većinom muškog spola. Treća skupina ispitanika je izrazito heterogena i stoga teže usporediva s ostalima. Dok se za sve vrste NTM ukupan broj izolata i stvarno oboljelih povećava, za MAC se smanjuje.

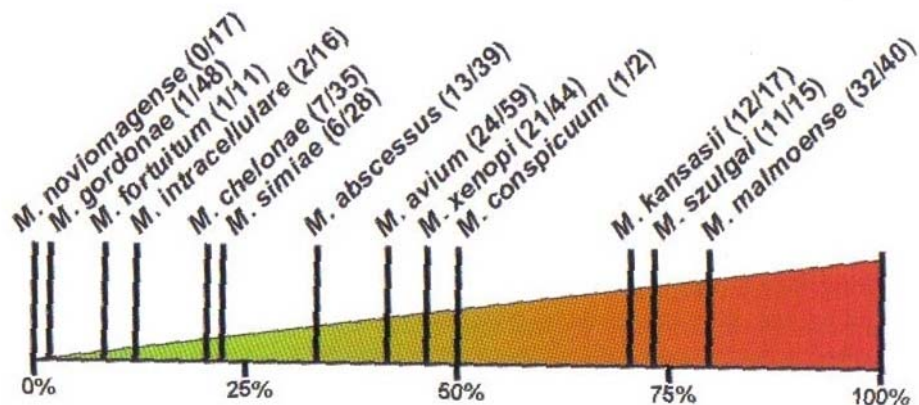
## 4.2. SLIKOVNI PRIKAZ

S obzirom na smjernice i kriterije Američkog torakalnog društva za postavljanje dijagnoze plućne infekcije uzrokovane NTM-om<sup>(207, 208)</sup>, jasno je da svaki oboljeli, osim kliničkih simptoma i mikrobiološkog dokaza uzročnika, mora imati i patomorfološke promjene prikazane nekom od metoda slikovnog prikaza. Budući da su brojna istraživanja pokazala da su kompjutorizirana tomografija (CT) i kompjutorizirana tomografija visoke rezolucije (HRCT) znatno osjetljivije metode za pronalaženje malih nodusa te intersticijskih promjena plućnog parenhima od klasičnih sumacijskih snimki torakalnih organa, odnosno radiograma toraksa<sup>(77, 78, 79)</sup>, tada su zasigurno za primjenu prikaza patomorfoloških promjena u bolestima pluća, pa i infekcijama uzrokovanim NTM-om, prikladnije metode slikovnog prikaza. Ipak sumacijska snimka torakalnih organa je neizbježna, osnovna i zadnja te najčešće primjenjivana metoda slikovnog prikaza za prikaz većine promjena vidljivih tom metodom, kako za detekciju, u kombinaciji s CT-om i HRCT-om, tako i za kasnije praćenje tijeka bolesti. S obzirom da veliki dio uzročnika infekcija iz grupe NTM dovodi do intersticijskih promjena u plućnom parenhimu te stvara sitne centrilobularne noduse, često izgleda „propupalog drveta“ te blaže bronhiektazije<sup>(70, 71, 72, 73)</sup>, svakako je nužno, kod osoba s pozitivnim izolatom NTM, upotrijebiti i CT i HRCT kao slikovne metode izbora koje su za detekciju navedenih patomorfoloških promjena znatno osjetljivije i specifičnije od sumacijskih snimki torakalnih organa. Ovo istraživanje obuhvatilo je razdoblje od prije ere CT-a i vrijeme teže dostupnosti CT-a zbog malog broja instaliranih uređaja, pa velika većina naših ispitanika ima samo nalaze sumacijskih snimki torakalnih organa. Primjena CT-a kao metode slikovnog prikaza vjerojatno bi dovela do većeg udjela stvarno oboljelih prema onima kod kojih je tek izolirana jedna od NTM, a bolest nije zabilježena, odnosno nije dokazano postojanje patomorfoloških promjena.

Dakle, kriterije ATS-a<sup>(207, 208)</sup>, a koji su u ovom istraživanju primjenjeni na sve izolirane vrste NTM, ispunilo je 63 od 106 ispitanika, odnosno 59,4%. To je broj ispitanika kod kojih je zabilježena neka od patomorfoloških promjena vidljivih na sumacijskim radiogramima torakalnih organa. Prema vrstama NTM omjer ispitanika s pozitivnim izolatom i stvarno oboljelih s pozitivnim radiološkim nalazom varira od

64,1% (25/39) za MAC, 60% (24/40) za *M. xenopi* do 51,9% (14/27) za treću skupinu - *M. kansasii* i dr. Ako bi udio stvarno oboljelih prema skupinama uzročnika shvatili kao razine njihove patogenosti, tada bi se moglo reći da je MAC najpatogeniji, odnosno najčešće uzrokuje bolest, dok su u skupini *M. kansasii* i dr. znatno slabiji patogeni. Taj se rezultat unekoliko razlikuje od rezultata van Ingena<sup>(210)</sup> koji su zorno prikazani u preuzetoj ilustraciji, odnosno na Slici 28. Naime, na Slici 28, vidi se da je prema istraživanju van Ingena<sup>(210)</sup>, najveći udio stvarno oboljelih u skupini ispitanika s pozitivnim izolatima po pojedinim vrstama NTM za plućne infekcije najveći za *M. kansasii*, zatim za *M. xenopi*, a tek potom za MAC. U navedenom istraživanju pokazalo se da je udio stvarno oboljelih od plućnih infekcija uzrokovanih NTM za sve vrste osim *M. kansasii* manji od 50%. U Hrvatskoj je taj postotak izdvojeno za *M. kansasii* 52%, što znači da je za ostale vrste NTM koje su grupirane u treću skupinu uzročnika i za koje je skupni rezultat 51,9%, pojedinačno po vrstama još i manji.

Slika 28. Udio stvarno oboljelih od plućnih infekcija po vrstama NTM<sup>(213)</sup>.



S obzirom na vrste patomorfoloških promjena detektibilnih sumacijskim snimkama torakalnih organa najčešće je, kod stvarno oboljelih od plućnih infekcija uzrokovanih NTM-ma, zabilježen jednostrani infiltrat i to za sve tri grupe uzročnika.



Jednostrani infiltrat je najčešće opisan za treću skupinu uzročnika. To znači da je većina ispitanika oboljelih od plućne infekcije uzrokovane MAC-om imala, kako ga mnogi autori nazivaju, klasičan oblik bolesti<sup>(76,80)</sup>, dok su oni koji spadaju u drugu skupinu vrlo rijetko otkriveni, iako je značajniji broj žena uočen upravo u skupini ispitanika kod kojih je izoliran MAC. U našem istraživanju se pokazalo da su i stavno oboljele žene imale klasičan oblik bolesti. Razlog ovoj činjenici leži prvenstveno u insuficijentnoj radiološkoj dijagnostici, odnosno slabijoj osjetljivosti sumacijskih snimki torakalnih organa od CT-a<sup>(77)</sup> u otkrivanju intersticijskih lezija koje su karakteristične za drugu skupinu oboljelih od MAC-a, odnosno žene s nodularno bronhiektatičnim oblikom bolesti. Navedeno je istraživanje pokazalo i važnost hiperinflacije kao karakteristike radiološkog nalaza vidljivog na sumacijskoj snimci torakalnih organa, a koja se u znatno manjoj mjeri može prepoznati na CT-u. Navedene metode slikovnog prikaza su komplementarne i međusobno se nadopunjuju, te ih je svakako nužno upotrijebiti obje pri dijagnostičnoj obradi pojedinca kod kojeg je izolirana neka od NTM. U navedenom istraživanju je pokazano da čak 77% ispitanika spada u drugu skupinu s nodularno bronhiektatičnim oblikom bolesti. Istraživanje Chung i sur.<sup>(82)</sup> pokazalo je podjednaku učestalost pojavljivanja jednostranog i obostranog infiltrata kod ispitanika s plućnim infekcijama uzrokovanih MAC-om, a što se razlikuje od rezultata našeg istraživanja u kojem su većinom detektirani jednostrani infiltrati. U ispitanika kod kojih je izolirana *M. xenopi*, također je u ovom istraživanju pronađena češća učestalost jednostranih infiltrata, a što je znatno češće nego u dosada provedenim istraživanjima<sup>(119)</sup>, osobito u usporedbi s rezultatima istraživanja provedenih u Sjevernoj Americi i Kanadi<sup>(10)</sup> gdje je, baš obrnuto, zabilježena većina obostranih infiltrata. Za *M. kansasii* također su karakteristične infiltrativne promjene gornjih režnjeva<sup>(69)</sup>, kako jednostrano, tako i obostrano

I ovim istraživanjima je kao i do sada provedenim istraživanjima potvrđena velika učestalost raspadnih šupljina, odnosno kaverni u infiltratima i nodusima. U Hrvatskoj je najčešća učestalost kaverni nađena u ispitanika s plućnom infekcijom uzrokovanom MAC-om, a najmanja u trećoj skupini uzročnika (*M. kansasii* i dr). Ipak, mora se napomenuti, da je treća skupina izrazito heterogena te da je izdvojeni rezultat samo za ispitanike s plućnom infekcijom uzrokovanom s *M. kansasii* nešto drugačiji, odnosno u 70% slučajeva je nađena kaverna, a što je slična učestalost kao i u infekcijama uzrokovanim s *M. xenopi*. Takav rezultat je sukladan već objavljenim

podatcima o patomorfološkoj sličnosti plućnih infekcija uzrokovanih s *M. xenopi* i *M. kansasii*<sup>(69)</sup>. Pleuralni izljev zabilježen je u infekcijama uzrokovanim s *M. xenopi* i to nešto češće nego je zabilježeno u dosad provedenim istraživanjima<sup>(73, 83)</sup>. Dakle, osim u infekcijama uzrokovanim s *M. xenopi*, u infekcijama uzrokovanim MAC-om i drugim NTM-ima nije zabilježen pleuralni izljev, iako brojna objavljena istraživanja bilježe pleuralnu reakciju, osobito u infekcijama uzrokovanim MAC-om<sup>(70-90)</sup>.

Kao i u brojnim do sada provedenim istraživanjima, a koja su posebno naglasila pojavu infiltrata s kavernom kao najčešće patomorfološke promjene vidljive u plućnim infekcijama uzrokovanim NTM-ima i to osobito kod starijih muškaraca, ovo istraživanje je pokazalo sličan rezultat, iako nije pronađena statistički značajna povezanost pojave infiltrata ili kaverni s obzirom na dob ili predisponirajuće i pridružene bolesti ispitanika. Iako nije statistički značajno, ipak je uočena nešto češća učestalost kaverni u skupini žena nego u skupini ispitanika muškog spola.

Dakle, najčešće zabilježene patomorfološke promjene vidljive na sumacijskim snimkama torakalnih organa, a koje su učinjene na različitim mjestima i opisane od raznih radiologa, u ovom istraživanju, bile su jednostrani infiltrat s raspadom, odnosno kavernom i to za sve tri najčešće izolirane vrste NTM; MAC, *M. xenopi* i *M. kansasii*. Za infekcije uzrokovane MAC-om izrazito rijetko su nađene suptilne promjene bilo u smislu lobularnih bronhiektazije, sitnih centrilobularnih nodusa ili nešto većih nodusa. Razlog tome može biti u nekorisćenju CT-a, koji danas nezaobilazna dijagnostička metoda slikovnog prikaza u pacijenata s pozitivnim izolatom NTM. Budući da su infekcije uzrokovane NTM-ima bolesti s kojom se kliničari, ali i specijalisti radiolozi rijetko susreću, osobito u centrima opće medicine, te nedovoljne uže specijalističke osposobljenosti liječnika kliničara i specijalista radiologa, u takvim centrima u kojima se obrađuje najveći broj potencijalno oboljelih, zasigurno postoji prostor za napredak u dijagnostici i liječenju infekcija uzrokovanih NTM-ima.

### 4.3. KLINIČKI ZNAČAJ

Za analizu kliničkog značaja infekcija uzrokovanih NTM-ma od presudne je važnosti primjenjeni kriterij za postavljanje dijagnoze infekcije, odnosno za odvajanje kontaminiranih i koloniziranih od stvarno oboljelih ispitanika. U ovom istraživanju primjenjivani su kriteriji ATS-a detaljno objašnjeni u poglavlju Uvod. Također treba imati na umu da je ovo istraživanje provedeno retrospektivno te da postoje objektivna ograničenja u utvrđivanju pojedinih značajki tijeka i ishoda bolesti te nemogućnost naknadnih nadopuna postojećih podataka ili intervencija u dijagnostički ili terapijski postupak.

Brojna do sada provedena istraživanja diljem svijeta pokazala su da za nastanak infekcija, a osobito plućnih, uzrokovanih NTM-ma, često postoji predispozicija u smislu predisponirajućih i pridruženih bolesti i stanja. I ovo istraživanje je utvrdilo da se kod ispitanika često mogu naći predisponirajući čimbenici kao što su: preboljela tuberkuloza, KOPB, alkoholizam, bronhiektazije, maligni tumori, itd. U istraživanju nije identificiran niti jedan ispitanik s imunodeficijencijom bilo koje etiologije. Mogući razlog sve manjeg broja izolata MAC-a leži upravo u toj činjenici. Budući da je incidencija AIDS-a u našoj populaciji bila niska kroz čitav proučavani vremenski period nije niti bilo za očekivati veliki udjel tih pacijenata među ispitanicima obuhvaćenih ovim istraživanjem. Iako je danas, kao i u većem dijelu istraživanog vremenskog razdoblja, česta terapijska primjena lijekova koji dovode do imunodeficijencije, ipak nije pronađen niti jedan ispitanik obolio od infekcije uzrokovane NTM uz imunosupresivnu terapiju. Bronhiektazije su zabilježene vrlo rijetko, ali ipak većinom kod oboljelih od MAC plućne infekcije. Primjenom osjetljivijih metoda slikovnog prikaza, učestalost bronhiektazija bi zasigurno bila veća. Dosadašnja istraživanja su pokazala da bronhiektazije, osobito kod MAC plućnih infekcija, nisu samo predisponirajuća bolest, već mogu biti i njihova posljedica<sup>(85, 99)</sup>. Hipoteza o nastanku cističnih promjena u plućnim infekcijama uzrokovanim NTM-ma prikazan je u Uvodu na Slici 4. S obzirom na veličinu uzorka za detaljniju obradu su izdvojene kao najčešće predisponirajuće i pridružene bolesti preboljela tuberkuloza, KOPB i alkoholizam. Navedene bolesti su jednako učestale u ispitanika bez obzira na mikroorganizam koji je uzrokovao plućnu infekciju ili spol

ispitanika, iako je poznato da je KOPB ipak češći kod muškaraca. Jedina značajna razlika u pojavi predisponirajućih i pridruženih bolesti prema spolu je alkoholizam koji je znatno češće zabilježen kod ispitanika muškog spola koji su i u općoj populaciji češće oboljeli. Budući da brojna epidemiološka istraživanja pokazuju, da oko 15% muškaraca iznad 20 godina starosti boluje od ovisnosti o alkoholu, a da je u našem uzorku udio oboljelih od alkoholizma oko 19% (12/63), može se zaključiti da je alkoholizam uistinu predisponirajuća bolest za pojavu plućnih infekcija uzrokovanih NTM-ma. Oboje, i preboljela tuberkuloza i KOPB su zabilježeni čak kod 35% (22/63) stvarno oboljelih ispitanika svaka, što je sasvim očito, znatno češće nego u općoj populaciji. Nije zabilježeno da je ito jedan ispitanik imao istovremeno s plućnom infekcijom uzrokovanom nekom od različitih vrsta NTM i aktivnu tuberkulozu. Uvijek je tuberkuloza bila u anamnezi, odnosno bila je zabilježena kao preboljela bolest. Također, u tijeku istraživnog perioda vremena, niti u jednom slučaju nije zabilježeno da je postojala infekcija s dvije ili više vrsta NTM istovremeno, a niti susljedno.

Interesantno je da s obzirom na spol nije nađena razlika u dobi pojavljivanja bolesti u stvarno oboljelih ispitanika. U toliko se rezultat ovog istraživanja razlikuje od dosad provedenih istraživanja koja su kao najčešće oboljele ispitanike redom izdvajale starije muškarce s predisponirajućim bolestima<sup>(5, 9-13)</sup>.

U svrhu analize kliničkog značaja infekcija uzrokovanih NTM-ma, kao najvažnija istraživana varijabla, izdvojio se „ishod“. Ishod bolesti podjeljen je u tri kategorije: poboljššan, stacionaran i smrt. S obzirom na veličinu uzorka, a zbog relevantnosti statističke obrade, bilo je nužno grupirati rezultate za varijablu „ishod“. Tako su nastale grupa „poboljššan“ i grupa „stacionaran ili smrt“. Ispitanici oboljeli od plućnih infekcija uzrokovanih NTM-ma s većim izgledima za poboljšanje su značajno mlađi. Oni koji obole u starijoj životnoj dobi imaju i goru prognozu budući da su stariji ispitanici u ovom istraživanju pokazali znatno lošiji rezultat s obzirom na varijablu „ishod“. Ako se na isti način analiziraju rezultati obrade podataka za predisponirajuće i pridružene bolesti, tada je razvidno da su ispitanici koji u anamnezi imaju preboljelu tuberkulozu te oni koji boluju i od KOPB-a također i značajno stariji. Osim što su ispitanici s predisponirajućim i pridruženim bolestima značajno stariji, oni imaju i lošiji ishod, osobito oni od plućnih infekcija oboljeli ispitanici kod kojih je izolirana *M. xenopi*. To znači da osobe starije životne dobi, u prosjeku oko 66 godina starosti, koje imaju predisponirajuće i pridružene bolesti i obole od plućne infekcije uzrokovane NTM-ma, a osobito s *M. xenopi*, imaju goru prognozu. Pri tome treba imati na umu da

terapija često nije bila adekvatna, barem prema današnjim spoznajama, te da terapijski protokoli u velikog broja ispitanika nisu uključivali makrolide. S obzirom na grupe uzročnika uočeno je da znatno bolju prognozu imaju osobe oboljele od treće, doduše, izrazito heterogene skupine uzročnika. Međutim, klaster analiza, u koju su uključene pojedinačne vrste NTM, potvrđuje gore navedenu tvrdnju. Analizom rezultata klaster analize uočeno je da je ishod najbolji, odnosno isključivo poboljšan, u oboljelih ispitanika kod kojih je izolirana *M. kansasii* i *M. fortuitum*, a koje su u ostalim primjenjenim statističkim testovima obje bile svrstane u istu, treću skupinu uzročnika. Najlošiji ishod uočen je kod ispitanika oboljelih od MAC plućne infekcije. Ovi rezultati su u skladu s dosad provedenim istraživanjima gdje se također bilježe najlošiji rezultati liječenja upravo u MAC plućnih infekcija<sup>(213-215)</sup>. Evans i sur.<sup>(92)</sup> nisu našli razliku u ishodu između ispitanika oboljelih od infekcija uzrokovanih s *M. kansasii* i *M. tuberculosis* uz istu antimikobakterijsku terapiju, odnosno obje su pokazale dobru reakciju na liječenje. Naime, u navedenom istraživanju je korišten klasični terapijski protokol za liječenje tuberkuloze. Budući da su ispitanici u Hrvatskoj liječeni uglavnom po terapijskim protokolima za tuberkulozu, vjerojatno je upravo zato, i u našem istraživanju, pronađen dobar odgovor na terapiju u oboljelih od plućne infekcije uzrokovane s *M. kansasii*. Za liječenje drugih NTM, kao npr. MAC ipak su važni antibiotici iz skupine makrolida. Zbog toga i ishod kod MAC plućnih infekcija, uz klasičan terapijski protokol za liječenje tuberkuloze, nije zadovoljavajući.

Oboljeli ispitanici koji su češće pokazali poboljšan ishod spadaju u skupinu gradskog stanovništva. Ispitanici koji imaju prebivalište na selu češće su imali nepovoljan tijek bolesti, odnosno lošiji ishod. Navedene razlike nisu statistički značajne, ali ipak vrijedno je razmisliti o uzrocima ovog rezultata. Jedan od važnijih uzroka zašto ruralno stanovništvo ima nešto češće loš ishod, moguće je potražiti u činjenici da češće od gradskog stanovništva oboljevaju od plućnih infekcija uzrokovanih MAC-om, a za koje su u svijetu provedene studije, pokazale teži tijek bolesti s lošijim ishodom. Nadalje, moguće je da se ruralno stanovništvo slabije drži liječničkih uputa za uzimanje propisane terapije, odnosno imaju lošiji compliance, a s posebnim naglaskom na činjenicu da se znatno češće radi o starijim muškarcima s predisponirajućim i pridruženim bolestima. Ovdje se još jednom napominje da su oboljeli od MAC infekcija češće sa sela i u SAD-u<sup>(10)</sup>, npr. Iako su brojna istraživanja pokazala različitu osjetljivost NTM na lijekove in vitro i in vivo, ipak postoji mogućnost postizanja nedovoljno visokih koncentracija antimikobakterijskih lijekova u

krvi pacijenata zbog lošije suradljivosti oboljelih osoba. S druge strane, kako je već pokazano, većina ispitanika sa sela ima kontakt s peradima i pticama, i to baš u skupini u kojoj je najčešće izolirana MAC. Postavlja se pitanje, postoji li ponavljana infekcija, a što bi onda moglo dovesti do lošijeg odgovora na primjenjene terapijske protokole? Odgovori na sva ova pitanja čekaju rezultate nekih budućih istraživanja epidemiologije i kliničkih oblika pojavnosti infekcija uzrokovanih NTM-ima, pojedinim vrstama NTM, te terapijskih mogućnosti i farmakokinetike antimikobakterijskih lijekova.

Još jednom vrijedi ponoviti važnost interdisciplinarnog pristupa pacijentu s mogućom pulmonalnom infekcijom uzrokovanom NTM-ima, odnosno stav ATS-a da je dijagnozu infekcije uzrokovane NTM-ima moguće uspostaviti samo ako se zadovolje sva tri kriterija: klinički, mikrobiološki i radiološki. Sva tri kriterija su jednako važna.

Važnost ovog istraživanja, a u smislu kliničkog značaja pojedine vrste NTM u uzrokovanju i kasnijem tijeku bolesti i ishodu liječenja, jest da uputi liječnika kliničara na razliku u značajnosti pozitivnog mikrobiološkog rezultata kultivacije pojedine vrste NTM kod simptomatskog pacijenta te mogućnosti predviđanja tijeka bolesti.

Rezultati ovog istraživanja upozoravaju na nedovoljnu svjesnost različitih kliničkih struka na postojanje NTM kao etiološkog čimbenika u nizu stanja i bolesti. Također ukazuje na morfološku i kliničku sličnost tuberkuloze i plućnih infekcija uzrokovanih NTM te potrebu na inzistiranju kultivacije uzročnika navedenih promjena. Navedene zaključke moguće je donijeti na temelju male incidencije infekcija uzrokovanih NTM-ima te činjenice da su sve zabilježene infekcije isključivo vezane za pluća, odnosno dišni sustav, dok se infekcija drugih organskih sustava nije našlo. Ovo istraživanje je, kao i brojna druga istraživanja provedena u svijetu, ukazalo na potrebu uspostavljanja bolje registracije oboljelih, moguće na nacionalnoj razini, a u svrhu bolje kontrole rastućeg broja infekcija uzrokovanih NTM-ima.

## ZAKLJUČCI

---

U Hrvatskoj se od 1980-2005. godine bilježi stalan porast broja izolata kao i stvarno oboljelih, kako ukupno za sve vrste NTM, tako i pojedinačno po vrstama NTM, osim za *Mycobacterium avium complex* (MAC) kod kojega se vidi stalan pad broja izolata, kao i broja stvarno oboljelih. U razdoblju od 25 godina, od 1980 do 2005. godine, izolirano je i kultivirano sedam vrsta NTM i to MAC, *M. xenopi*, *M. kansasii*, *M. phlei*, *M. fortuitum*, *M. marinum*, *M. abscessus*. Bolest je prema kriterijima Američkog torakalnog društva uzrokovala svaka od navedenih vrsta NTM. Bakterije su izolirane u 106 ispitanika od čega su 63 zadovoljila ATS kriterije, odnosno stvarno su oboljeli od plućne infekcije uzrokovane NTM-ma.

Srednja godišnja incidencija u zadnjem petogodištu, odnosno od 2001-2005. godine iznosila je oko 0,12 za broj pozitivnih izolata, odnosno 0,06 stvarno oboljelih na 100.000 stanovnika.

U najvećem broju slučajeva 38% (40/106) izolirana je *M. xenopi* sa prosječnom godišnjom incidencijom za zadnje petogodište od 0,06 za pozitivne izolate te 0,03 za stvarno oboljele na 100.000 stanovnika.

Prosječna dob ispitanika u vrijeme izolacije NTM bila je  $59,4 \pm 14,6$  godina, a stvarno oboljelih  $61,4 \pm 13,0$  godina. Bilježi se stalan porast prosječne dobi ispitanika po petogodištima, odnosno NTM se izoliraju u sve starijoj dobi. Nema značajnije razlike u prosječnoj dobi u vrijeme prvog izolata NTM s obzirom na pojedine vrste, iako su ispitanici kod kojih je izolirana *M. xenopi* u prosjeku najstariji.

Ispitanika muškog spola je znatno više, kako ukupno za cijeli uzorak 80,2% (85/106), tako i pojedinačno za pojedine vrste NTM. Među ispitanicima ženskog spola nađena je značajno češća učestalost izolacije MAC-a 57,1% (12/21).

Najveći broj ispitanika u ukupnom uzorku, 64,2% (68/106), dolazi iz gradskih sredina. Najveći udjel gradskog stanovništva, 87,5% (35/40), nađen je među ispitanicima kod kojih je izolirana *M. xenopi*, a najmanji kod ispitanika kod kojih je izoliran MAC, kod kojih je utvrđen udjel ruralnog stanovništva od 64,1% (25/39).

Većina ispitanika u ukupnom uzorku 72,6% (77/106) nije imala kontakt s domaćim životinjama, osim u skupini ispitanika kod kojih je izoliran MAC u kojoj je čak 51,3% (20/39) ispitanika imalo kontakt sa skupinom peradi i ptica.

Dakle, ovdje treba naglasiti da epidemiološki MAC pokazuje različitu rasprostranjenost i biološko ponašanje od drugih NTM. Za razliku od drugih vrsta NTM, broj izolata i stvarno oboljelih se stalno smanjuje, a često oboljevaju žene sa



sela, iako ne češće nego muškarci, koje imaju kontakt s domaćim životinjama iz skupine peradi i ptica.

Nađene su samo plućne infekcije uzrokovane NTM-ma, dok infekcije drugih orga i organskih sustava nisu zabilježene. Ispitanici ukupno i po pojedinim vrstama često imaju predisponirajuće i pridružene bolesti i stanja od kojih se kao najčešća izdvajaju KOPB, tuberkuloza i alkoholizam. KOPB i tuberkuloza su pronađeni kod 35% (22/63) oboljelih svaka, a alkoholizam u njih 19% (12/63). Ispitanici s predisponirajućim bolestima općenito imaju nešto lošiji ishod. Značajno je lošiji ishod utvrđen za oboljele od plućne infekcije uzrokovane s *M. xenopi* kod kojih su zabilježene predisponirajuće i pridružene bolesti, a osobito KOPB.

Primjenjenim metodama slikovnog prikaza od patomorfoloških promjena u infekcijama pluća uzrokovanim NTM-ma najčešće se vidio jednostrani infiltrat s raspadnom šupljinom, odnosno kavernom i to u 65,1% (41/63) oboljelih. Pleuralni izljev je nađen vrlo rijetko i to samo u dva ispitanika kod kojih je izolirana *M. xenopi*. Drugih značajnijih razlika u pojavi patomorfoloških lezija, a s obzirom na uzročnike nije nađeno. Intersticijske promjene su zabilježene izrazito rijetko.

Ukupno je 47,6% (30/63) oboljelih postiglo poboljšanje u tijeku bolesti. Najbolji ishod zabilježen je za oboljele od plućnih infekcija uzrokovanih s *M. kansasii* i *M. fortuitum*, a kod kojih je zabilježen najmanji broj predisponirajućih i pridruženih bolesti, dok je najgori ishod zabilježen za skupinu oboljelih od plućnih infekcija uzrokovanih MAC-om kod kojih je zabilježen veći broj predisponirajućih i pridruženih bolesti. Teži tijek bolesti s lošijim ishodom zabilježen je u ispitanika starije dobi uz KOPB i preboljelu tuberkulozu. Povoljan ishod, odnosno poboljšanje, pronađen je kod većine oboljelih, osim za oboljele od infekcija uzrokovanih MAC-om koji su u više slučajeva pokazali lošiji ishod, odnosno stacionarnu bolest ili smrt. Netuberkulozne mikobakterije se sve češće izoliraju i potvrđuju kao etiološki čimbenik infekcija raznih organa i organskih sustava u čovjeka. Jasne terapijske smjernice postoje samo za manji broj patogenih vrsta NTM. Općenito su vrlo otporne na terapiju i poboljšanje se nalazi u manje od polovine oboljelih. Zbog svega navedenog, jasno je da su NTM ozbiljan patogen za čovjeka te da njihov klinički značaj raste, osobito stoga što su predisponirajuće i pridružene bolesti i stanja od imunodeficijencije i imunosupresije do KOPB-a sve češće.

Još jednom je važno izdvojiti činjenicu da u Hrvatskoj nije zabilježene niti jedna infekcija uzrokovana NTM-ma izvan pluća. To je činjenica koja zabrinjava i

upozorava. S jedne strane vjerojatno postoji neadekvatna priprema bioloških uzroka za mikrobiološku analizu, odnosno nedostatna upotreba adekvatnih podloga, a s druge strane postoji nedovoljna svijesnost liječnika o mogućnosti da su baš NTM etiološki čimbenik mnogih nerazjašnjenih i dugotrajnih bolesti organa i organskih sustava izvan pluća.

Stoga su nužna daljnja istraživanja i nastojanja, a kako bi se podigla svijest liječnika o patogenosti NTM za čovjeka te o mogućnostima prevencije s obzirom na izvore zaraze i puteve prijenosa, kao i o mogućnosti poboljšanja terapijskih protokola u primjeni specifične antimikobakterijske terapije.

## **REFERENCE**

---

1. Tortoli E. The new mycobacteria: an update. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2006; 48(2):159-78.
2. Duval CW. Studies in atypical forms of tubercle bacilli isolated directly from the human tissues in cases of primary cervical adenitis: with special reference to the Theobald Smith glycerine bouillon reaction. *J Exp Med.* 1909; 11(3):403-429.
3. Katalinić-Janković V, Grle SP, Obrovac M, Cvetnić E, Alfirević T. Infekcije izazvane netuberkuloznim mikobakterijama. *Lijec Vjesn.* 2007; 129(5):146-51.
4. Pinner M. IV. Atypical Acid Fast Organisms: II. Some Observations on Filtration Experiments. *J Bacteriol.* 1933; 25(6):576-9.
5. Falkinham JO 3rd. Epidemiology of infection by nontuberculous mycobacteria. *Clin Microbiol Rev.* 1996; 9(2):177-215.
6. Wolinsky E. Nontuberculous mycobacteria and associated diseases. *Am Rev Respir Dis.* 1979; 119(1):107-59.
7. Conde MB, Figueira CM, Moraes R, Fonseca LS, Deriemer K, Kritski AL. Predictive value of the acid fast smear for detection of *Mycobacterium tuberculosis* in respiratory specimens in a reference center of HIV/AIDS in Rio de Janeiro, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1999; 94(6):787-90.
8. Alvarez-Uria G, Falcó V, Martín-Casabona N, Crespo M, Villar Del Saz S, Curran A, Ocaña I, Ribera E, Pahissa A. Non-tuberculous mycobacteria in the sputum of HIV-infected patients: infection or colonization? *Int J STD AIDS.* 2009; 20(3):193-5.
9. El-Solh AA, Nopper J, Abdul-Khoudoud MR, Sherif SM, Aquilina AT, Grant BJ. Clinical and radiographic manifestations of uncommon pulmonary nontuberculous mycobacterial disease in AIDS patients. *Chest* 1998; 114(1):138-45.
10. O'Brien RJ, Geiter LJ, Snider DE Jr. The epidemiology of nontuberculous mycobacterial diseases in the United States. Results from a national survey. *Am Rev Respir Dis.* 1987; 135(5):1007-14.
11. Bodle EE, Cunningham JA, Della-Latta P, Schluger NW, Saiman L. Epidemiology of nontuberculous mycobacteria in patients without HIV infection, New York City. *Emerg Infect Dis.* 2008; 14(3):390-6.
12. Khan K, Wang J, Marras TK. Nontuberculous mycobacterial sensitization in

- the United States: national trends over three decades. *Am J Respir Crit Care Med.* 2007; 176(3):306-13.
13. O'Brien DP, Currie BJ, Krause VL. Nontuberculous mycobacterial disease in northern Australia: a case series and review of the literature. *Clin Infect Dis.* 2000; 31(4):958-67.
  14. Freeman J, Morris A, Blackmore T, Hammer D, Munroe S, McKnight L. Incidence of nontuberculous mycobacterial disease in New Zealand, 2004. *N Z Med J.* 2007; 120(1256):U2580.
  15. Pedro Hda S, Pereira MI, Goloni Mdo R, Ueki SY, Chimara E. Nontuberculous mycobacteria isolated in São José do Rio Preto, Brazil between 1996 and 2005. *J Bras Pneumol.* 2008; 34(11):950-5.
  16. Zamarioli LA, Coelho AG, Pereira CM, Nascimento AC, Ueki SY, Chimara E. Descriptive study of the frequency of nontuberculous mycobacteria in the Baixada Santista region of the state of São Paulo, Brazil. *J Bras Pneumol.* 2008; 34(8):590-4.
  17. Matos ED, Santana MA, de Santana MC, Mamede P, de Lira Bezerra B, Panão ED, Filho CS, Lemos AC. Nontuberculosis mycobacteria at a multiresistant tuberculosis reference center in Bahia: clinical epidemiological aspects. *Braz J Infect Dis.* 2004; 8(4):296-304.
  18. Gerogianni I, Papala M, Kostikas K, Petinaki E, Gourgoulis KI. Epidemiology and clinical significance of mycobacterial respiratory infections in Central Greece. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2008; 12(7):807-12.
  19. Chetchotisakd P, Kiertiburanakul S, Mootsikapun P, Assanasen S, Chaiwarith R, Anunnatsiri S. Disseminated nontuberculous mycobacterial infection in patients who are not infected with HIV in Thailand. *Clin Infect Dis.* 2007; 45(4):421-7.
  20. Hosker HS, Lam CW, Ng TK, Ma HK, Chan SL. The prevalence and clinical significance of pulmonary infection due to non-tuberculous mycobacteria in Hong Kong. *Respir Med.* 1995; 89(1):3-8.
  21. Buijtel PC, van-der-Sande MA, de-Graaff CS, Parkinson S, Verbrugh HA, Petit PL, van-Soolingen D. Nontuberculous mycobacteria, Zambia. *Emerg Infect Dis.* 2009; 15(2):242-9.
  22. Koh WJ, Kwon OJ, Jeon K, Kim TS, Lee KS, Park YK, Bai GH. Clinical significance of nontuberculous mycobacteria isolated from respiratory

- specimens in Korea. *Chest*. 2006; 129(2):341-8.
23. Koh WJ, Kwon OJ, Lee KS. Nontuberculous mycobacterial pulmonary diseases in immunocompetent patients. *Korean J Radiol*. 2002; 3(3):145-57.
  24. Tsukamura M, Kita N, Shimoide H, Arakawa H, Kuze A. Studies on the epidemiology of nontuberculous mycobacteriosis in Japan. *Am Rev Respir Dis*. 1988; 137(6):1280-4.
  25. Petrini B. Non-tuberculous mycobacterial infections. *Scand J Infect Dis*. 2006; 38(4):246-55.
  26. Thomsen VO, Andersen AB, Miørner H. Incidence and clinical significance of non-tuberculous mycobacteria isolated from clinical specimens during a 2-y nationwide survey. *Scand J Infect Dis*. 2002; 34(9):648-53.
  27. Böllert FG, Watt B, Greening AP, Crompton GK. Non-tuberculous pulmonary infections in Scotland: a cluster in Lothian? *Thorax*. 1995; 50(2):188-90.
  28. Hoefsloot W, van Ingen J, de Lange WC, Dekhuijzen PN, Boeree MJ, van Soolingen D. Clinical relevance of *Mycobacterium mageritense* isolation in The Netherlands. *Eur Respir J*. 2009; 34(4):926-31.
  29. Hoefsloot W, Boeree MJ, van Ingen J, Bendien S, Magis C, de Lange W, Dekhuijzen PN, van Soolingen D. The rising incidence and clinical relevance of *Mycobacterium mageritense*: a review of the literature. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2008; 12(9):987-93.
  30. Henry MT, Inamdar L, O'Riordain D, Schweiger M, Watson JP. Nontuberculous mycobacteria in non-HIV patients: epidemiology, treatment and response. *Eur Respir J*. 2004; 23(5):741-6.
  31. Marras TK, Chedore P, Ying AM, Jamieson F. Isolation prevalence of pulmonary non-tuberculous mycobacteria in Ontario, 1997-2003. *Thorax*. 2007; 62(8):661-6.
  32. Hernández-Garduño E, Rodrigues M, Elwood RK. The incidence of pulmonary non-tuberculous mycobacteria in British Columbia, Canada. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2009; 13(9):1086-93.
  33. Dailoux M, Abalain ML, Laurain C, Lebrun L, Loos-Ayav C, Lozniewski A, Maugein J; French Mycobacteria Study Group. Respiratory infections associated with nontuberculous mycobacteria in non-HIV patients. *Eur*

- Respir J. 2006; 28(6):1211-5.
34. van Ingen J, Boeree MJ, de Lange WC, Hoefsloot W, Bendien SA, Magis-Escorra C, Dekhuijzen R, van Soolingen D. Emerg Infect Dis. 2008; 14(3):385-9.
  35. Marras TK, Daley CL. Epidemiology of human pulmonary infection with nontuberculous mycobacteria. Clin Chest Med. 2002; 23(3):553-67.
  36. Falkinham JO 3rd. Nontuberculous mycobacteria in the environment. Clin Chest Med. 2002; 23(3):529-51.
  37. Wayne LG, Sramek HA. Agents of newly recognized or infrequently encountered mycobacterial diseases. Clin Microbiol Rev. 1992; 5(1):1-25.
  38. Biet F, Boschirolu ML, Thorel MF, Guilloteau LA. Zoonotic aspects of Mycobacterium bovis and Mycobacterium avium-intracellulare complex (MAC). Vet Res. 2005; 36(3):411-36.
  39. Covert TC, Rodgers MR, Reyes AL, Stelma GN Jr. Occurrence of nontuberculous mycobacteria in environmental samples. Appl Environ Microbiol. 1999; 65(6):2492-6.
  40. Falkinham JO 3rd, Norton CD, LeChevallier MW. Factors influencing numbers of Mycobacterium avium, Mycobacterium intracellulare, and other Mycobacteria in drinking water distribution systems. Appl Environ Microbiol. 2001; 67(3):1225-31.
  41. Feazel LM, Baumgartner LK, Peterson KL, Frank DN, Harris JK, Pace NR. Opportunistic pathogens enriched in showerhead biofilms. Proc Natl Acad Sci U S A. 2009; 106(38):16393-9.
  42. Falkinham JO 3rd, Iseman MD, de Haas P, van Soolingen D. Mycobacterium avium in a shower linked to pulmonary disease. J Water Health. 2008; 6(2):209-13.
  43. Brennan PJ, Nikaido H. The envelope of mycobacteria. Annu Rev Biochem. 1995; 64:29-63.
  44. Daffé M, Draper P. The envelope layers of mycobacteria with reference to their pathogenicity. Adv Microb Physiol. 1998; 39:131-203.
  45. Bendinger B, Rijnaarts HH, Altendorf K, Zehnder AJ. Physicochemical Cell Surface and Adhesive Properties of Coryneform Bacteria Related to the Presence and Chain Length of Mycolic Acids. Appl Environ Microbiol. 1993; 59(11):3973-3977.

46. Jarlier V, Nikaido H. Mycobacterial cell wall: structure and role in natural resistance to antibiotics. *FEMS Microbiol Lett.* 1994; 123(1-2):11-8.
47. Norton CD, LeChevallier MW, Falkinham JO 3rd. Survival of *Mycobacterium avium* in a model distribution system. *Water Res.* 2004; 38(6):1457-66.
48. Falkinham JO 3rd. Surrounded by mycobacteria: nontuberculous mycobacteria in the human environment. *J Appl Microbiol.* 2009; 107(2):356-67.
49. Thorel MF, Huchzermeyer H, Weiss R, Fontaine JJ. *Mycobacterium avium* infections in animals. Literature review. *Vet Res.* 1997; 28(5):439-47.
50. Thorel MF, Huchzermeyer HF, Michel AL. *Mycobacterium avium* and *Mycobacterium intracellulare* infection in mammals. *Rev Sci Tech.* 2001; 20(1):204-18.
51. Johansen TB, Agdestein A, Olsen I, Nilsen SF, Holstad G, Djønne B. Biofilm formation by *Mycobacterium avium* isolates originating from humans, swine and birds. *BMC Microbiol.* 2009; 9:159.
52. McGarvey J, Bermudez LE. Pathogenesis of nontuberculous mycobacteria infections. *Clin Chest Med.* 2002; 23(3):569-83.
53. Runyon EH. Anonymous mycobacteria in pulmonary disease. *Med Clin North Am.* 1959; 43(1):273-90.
54. Donnabella V, Salazar-Schicchi J, Bonk S, Hanna B, Rom WN. Increasing incidence of *Mycobacterium xenopi* at Bellevue hospital: An emerging pathogen or a product of improved laboratory methods? *Chest.* 2000; 118(5):1365-70.
55. Turenne CY, Tschetter L, Wolfe J, Kabani A. Necessity of quality-controlled 16S rRNA gene sequence databases: identifying nontuberculous *Mycobacterium* species. *J Clin Microbiol.* 2001; 39(10):3637-48.
56. Kim H, Kim SH, Shim TS, Kim MN, Bai GH, Park YG, Lee SH, Chae GT, Cha CY, Kook YH, Kim BJ. Differentiation of *Mycobacterium* species by analysis of the heat-shock protein 65 gene (hsp65). *Int J Syst Evol Microbiol.* 2005; 55(Pt 4):1649-56.
57. Richardson ET, Samson D, Banaei N. Rapid Identification of *Mycobacterium tuberculosis* and nontuberculous mycobacteria by multiplex, real-time PCR. *J Clin Microbiol.* 2009; 47(5):1497-502.



58. Tortoli E. Impact of genotypic studies on mycobacterial taxonomy: the new Mycobacteria of the 1990s. *Clin Microbiol Rev.* 2003; 16(2):319-54.
59. Vazquez E, Enriquez G, Castellote A, Lucaya J, Creixell S, Aso C, Regas J. US, CT, and MR imaging of neck lesions in children. *Radiographics.* 1995; 15(1):105-22.
60. Robson CD, Hazra R, Barnes PD, Robertson RL, Jones D, Husson RN. Nontuberculous mycobacterial infection of the head and neck in immunocompetent children: CT and MR findings. *AJNR Am J Neuroradiol.* 1999; 20(10):1829-35.
61. Reede DL, Bergeron RT. Cervical tuberculous adenitis: CT manifestations. *Radiology.* 1985; 154(3):701-4.
62. Dong PR, Seeger LL, Yao L, Panosian CB, Johnson BL Jr, Eckardt JJ. Uncomplicated cat-scratch disease: findings at CT, MR imaging, and radiography. *Radiology.* 1995; 195(3):837-9.
63. Chen SJ, Wen YK, Chen ML. Rapidly progressive glomerulonephritis associated with nontuberculous mycobacteria. *J Chin Med Assoc.* 2007; 70(9):396-9.
64. Wen YK, Chen ML. Crescentic glomerulonephritis associated with miliary tuberculosis. *Clin Nephrol.* 2009; 71(3):310-3.
65. Patel R, Roberts GD, Keating MR, Paya CV. Infections due to nontuberculous mycobacteria in kidney, heart, and liver transplant recipients. *Clin Infect Dis.* 1994; 19(2):263-73.
66. Ding LW, Lai CC, Lee LN, Hsueh PR. Abdominal nontuberculous mycobacterial infection in a university hospital in Taiwan from 1997 to 2003. *J Formos Med Assoc.* 2006; 105(5):370-6.
67. Gabl M, Pechlaner S, Hausdorfer H, Kreczy A, Went P. Flexor tenosynovitis in the hand caused by *Mycobacterium malmoense*: a case report. *J Hand Surg Am.* 1997; 22(2):338-40.
68. Lin KH, Wang JH, Peng NJ. Disseminated nontuberculous mycobacterial infection mimic metastases on PET/CT scan. *Clin Nucl Med.* 2008; 33(4):276-7.
69. Hansell DM. Nonotuberculous (Atypical) Mycobacterial Infections. In *Imaging of the Chest.* ed Müller NL, Seaunders, Elsevier, Philadelphia PA, USA, 2008; Vol I: 342-55.

70. Kim JS, Tanaka N, Newell JD, Degroote MA, Fulton K, Huitt G, Lynch DA. Nontuberculous mycobacterial infection: CT scan findings, genotype, and treatment responsiveness. *Chest*. 2005; 128(6):3863-9.
71. Emoto T, Matsumoto T, Tanaka N, Miura G, Kawamura T, Matsunaga N. HRCT findings of pulmonary complications in non-AIDS immunocompromised patients: are they useful in differential diagnosis? *Radiat Med*. 2003; 21(1):7-15.
72. Polverosi R, Guarise A, Balestro E, Carloni A, Dalpiaz G, Feragalli B. High-resolution CT of nontuberculous mycobacteria pulmonary infection in immunocompetent, non-HIV-positive patients. *Radiol Med*. 2010; 115(2):191-204.
73. Hollings NP, Wells AU, Wilson R, Hansell DM. Comparative appearances of non-tuberculous mycobacteria species: a CT study. *Eur Radiol*. 2002; 12(9):2211-7.
74. Laissy JP, Cadi M, Cinqualbre A, Boudiaf ZE, Lariven S, Casalino E, Wolff M, Schouman-Claeys E. Mycobacterium tuberculosis versus nontuberculous mycobacterial infection of the lung in AIDS patients: CT and HRCT patterns. *J Comput Assist Tomogr*. 1997; 21(2):312-7.
75. Ellis SM. The spectrum of tuberculosis and non-tuberculous mycobacterial infection. *Eur Radiol*. 2004; 14 Suppl 3:E34-42.
76. Goo JM, Im JG. CT of tuberculosis and nontuberculous mycobacterial infections. *Radiol Clin North Am*. 2002; 40(1):73-87, viii.
77. Wittram C, Weisbrod GL. Mycobacterium avium complex lung disease in immunocompetent patients: radiography-CT correlation. *Br J Radiol*. 2002; 75(892):340-4.
78. D'Arienzo P, Giampalma E, Lavecchia MA, Capecchi V, Battista G, Canini R, Gavelli G. Role of HRCT in the identification of atypical pulmonary mycobacteriosis. *Radiol Med*. 2002; 103(3):158-70.
79. Mathieson JR, Mayo JR, Staples CA, Müller NL. Chronic diffuse infiltrative lung disease: comparison of diagnostic accuracy of CT and chest radiography. *Radiology*. 1989; 171(1):111-6.
80. Martins AB, Matos ED, Lemos AC. Infection with the Mycobacterium avium complex in patients without predisposing conditions: a case report and literature review. *Braz J Infect Dis*. 2005; 9(2):173-9.

81. Im JG, Itoh H, Lee KS, Han MC. CT-pathology correlation of pulmonary tuberculosis. *Crit Rev Diagn Imaging*. 1995; 36(3):227-85.
82. Chung MJ, Lee KS, Koh WJ, Lee JH, Kim TS, Kwon OJ, Kim S. Thin-section CT findings of nontuberculous mycobacterial pulmonary diseases: comparison between *Mycobacterium avium-intracellulare* complex and *Mycobacterium abscessus* infection. *J Korean Med Sci*. 2005; 20(5):777-83.
83. Erasmus JJ, McAdams HP, Farrell MA, Patz EF Jr. Pulmonary nontuberculous mycobacterial infection: radiologic manifestations. *Radiographics*. 1999 Nov; 19(6):1487-505.
84. dos Santos RP, Scheid KL, Willers DM, Goldani LZ. Comparative radiological features of disseminated disease due to *Mycobacterium tuberculosis* vs non-tuberculosis mycobacteria among AIDS patients in Brazil. *BMC Infect Dis*. 2008; 8:24.
85. Kim TS, Koh WJ, Han J, Chung MJ, Lee JH, Lee KS, Kwon OJ. Hypothesis on the evolution of cavitary lesions in nontuberculous mycobacterial pulmonary infection: thin-section CT and histopathologic correlation. *AJR Am J Roentgenol*. 2005; 184(4):1247-52.
86. Jeong YJ, Lee KS, Koh WJ, Han J, Kim TS, Kwon OJ. Nontuberculous mycobacterial pulmonary infection in immunocompetent patients: comparison of thin-section CT and histopathologic findings. *Radiology*. 2004; 231(3):880-6.
87. Lee JY, Lee KS, Jung KJ, Han J, Kwon OJ, Kim J, Kim TS. Pulmonary tuberculosis: CT and pathologic correlation. *J Comput Assist Tomogr*. 2000; 24(5):691-8.
88. Park HY, Suh GY, Chung MP, Kim H, Kwon OJ, Chung MJ, Kim TS, Lee KS, Koh WJ. Comparison of clinical and radiographic characteristics between nodular bronchiectatic form of nontuberculous mycobacterial lung disease and diffuse panbronchiolitis. *J Korean Med Sci*. 2009; 24(3):427-32.
89. Levin DL. Radiology of pulmonary *Mycobacterium avium-intracellulare* complex. *Clin Chest Med*. 2002; 23(3):603-12.
90. Moore EH. Atypical mycobacterial infection in the lung: CT appearance. *Radiology*. 1993; 187(3):777-82.
91. Ferrara I, Cappabianca S, Brunese L, Valente T, Muto E, Muto R, Rotondo

- A. HRCT in detection of pulmonary infections from nontuberculous mycobacteria: personal experience. *Radiol Med.* 2009; 114(3):376-89.
92. Evans SA, Colville A, Evans AJ, Crisp AJ, Johnston ID. Pulmonary *Mycobacterium kansasii* infection: comparison of the clinical features, treatment and outcome with pulmonary tuberculosis. *Thorax.* 1996; 51(12):1248-52.
93. Evans AJ, Crisp AJ, Colville A, Evans SA, Johnston ID. Pulmonary infections caused by *Mycobacterium malmoense* and *Mycobacterium tuberculosis*: comparison of radiographic features. *AJR Am J Roentgenol.* 1993; 161(4):733-7.
94. Hazelton TR, Newell JD Jr, Cook JL, Huitt GA, Lynch DA. CT findings in 14 Patients with *Mycobacterium chelonae* pulmonary infection. *AJR Am J Roentgenol.* 2000; 175(2):413-6.
95. Han D, Lee KS, Koh WJ, Yi CA, Kim TS, Kwon OJ. Radiographic and CT findings of nontuberculous mycobacterial pulmonary infection caused by *Mycobacterium abscessus*. *AJR Am J Roentgenol.* 2003; 181(2):513-7.
96. van Ingen J, Verhagen AF, Dekhuijzen PN, van Soolingen D, Magis-Escorra C, Boeree MJ, de Lange WC. Surgical treatment of nontuberculous mycobacterial lung disease: strike in time. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2010; 14(1):99-105.
97. Rickman OB, Ryu JH, Fidler ME, Kalra S. Hypersensitivity pneumonitis associated with *Mycobacterium avium* complex and hot tub use. *Mayo Clin Proc.* 2002; 77(11):1233-7.
98. Pham RV, Vydareny KH, Gal AA. High-resolution computed tomography appearance of pulmonary *Mycobacterium avium* complex infection after exposure to hot tub: case of hot-tub lung. *J Thorac Imaging.* 2003; 18(1):48-52.
99. Koh WJ, Lee KS, Kwon OJ, Jeong YJ, Kwak SH, Kim TS. Bilateral bronchiectasis and bronchiolitis at thin-section CT: diagnostic implications in nontuberculous mycobacterial pulmonary infection. *Radiology.* 2005; 235(1):282-8.
100. Field SK, Cowie RL. Lung disease due to the more common nontuberculous mycobacteria. *Chest.* 2006; 129(6):1653-72.
101. Piersimoni C, Scarparo C. Extrapulmonary infections associated with

- nontuberculous mycobacteria in immunocompetent persons. *Emerg Infect Dis.* 2009; 15(9):1351-8;
102. Katoch VM. Infections due to non-tuberculous mycobacteria (NTM). *Indian J Med Res.* 2004; 120(4):290-304.
  103. Hampson SJ, Portaels F, Thompson J, Green EP, Moss MT, Hermon-Taylor J, McFadden JJ. DNA probes demonstrate a single highly conserved strain of *Mycobacterium avium* infecting AIDS patients. *Lancet.* 1989; 1(8629):65-8.
  104. Lam PK, Griffith DE, Aksamit TR, Ruoss SJ, Garay SM, Daley CL, Catanzaro A. Factors related to response to intermittent treatment of *Mycobacterium avium* complex lung disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006; 173(11):1283-9.
  105. Echevarría MP, Martín G, Pérez J, Urkijo JC. Pulmonary infection by *Mycobacterium kansasii*. Presentation of 27 cases (1988-1992) *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 1994; 12(6):280-4.
  106. Tortoli E, Simonetti MT, Lacchini C, Penati V, Urbano P. Tentative evidence of AIDS-associated biotype of *Mycobacterium kansasii*. *J Clin Microbiol.* 1994; 32(7):1779-82.
  107. Cattamanchi A, Nahid P, Marras TK, Gotway MB, Lee TJ, Gonzalez LC, Morris A, Webb WR, Osmond DH, Daley CL. Detailed analysis of the radiographic presentation of *Mycobacterium kansasii* lung disease in patients with HIV infection. *Chest.* 2008; 133(4):875-80.
  108. Sechi LA, Mura M, Tanda F, Lissia A, Solinas A, Fadda G, Zanetti S. Identification of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in biopsy specimens from patients with Crohn's disease identified by in situ hybridization. *J Clin Microbiol.* 2001; 39(12):4514-7.
  109. Uzoigwe JC, Khaita ML, Gibbs PS. Epidemiological evidence for *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* as a cause of Crohn's disease. *Epidemiol Infect.* 2007; 135(7):1057-68.
  110. Sanders JW, Walsh AD, Snider RL, Sahn EE. Disseminated *Mycobacterium scrofulaceum* infection: a potentially treatable complication of AIDS. *Clin Infect Dis.* 1995; 20(3):549.
  111. Jang HS, Jo JH, Oh CK, Kim MB, Lee JB, Chang CL, Kwon YW, Kwon KS. Successful treatment of localized cutaneous infection caused by

- Mycobacterium scrofulaceum* with clarithromycin. *Pediatr Dermatol.* 2005; 22(5):476-9.
112. van Ingen J, Boeree MJ, Dekhuijzen PN, van Soolingen D. Clinical relevance of *Mycobacterium simiae* in pulmonary samples. *Eur Respir J.* 2008; 31(1):106-9.
113. Shitrit D, Peled N, Bishara J, Priess R, Pitlik S, Samra Z, Kramer MR. Clinical and radiological features of *Mycobacterium kansasii* infection and *Mycobacterium simiae* infection. *Respir Med.* 2008; 102(11):1598-603.
114. Singh NB, Srivastava K, Gupta HP, Srivastava A, Mathur IS. Draining lymph node enlargement produced by immunogenic strains of cultivable mycobacteria. *Indian J Lepr.* 1986; 58(1):38-42.
115. Tuerlinckx D, Fauville-Dufaux M, Bodart E, Bogaerts P, Dupont B, Glupczynski Y. Submandibular lymphadenitis caused by *Mycobacterium interjectum*: contribution of new diagnostic tools. *Eur J Pediatr.* 2010; 4 (169): 505-8.
116. Fukuoka M, Matsumura Y, Kore-eda S, Inuma Y, Miyachi Y. Cutaneous infection due to *Mycobacterium interjectum* in an immunosuppressed patient with microscopic polyangiitis. *Br J Dermatol.* 2008; 159(6):1382-4.
117. Martínez Lacasa J, Cuchi E, Font R. *Mycobacterium interjectum* as a cause of lung disease mimicking tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2009; 13(8):1048.
118. Marusić A, Katalinić-Janković V, Popović-Grle S, Janković M, Mazuranić I, Puljić I, Sertić Milić H. *Mycobacterium xenopi* pulmonary disease – epidemiology and clinical features in non-immunocompromised patients. *J Infect.* 2009; 58(2):108-12.
119. Jenkins PA, Campbell IA; Research Committee of The British Thoracic Society. Pulmonary disease caused by *Mycobacterium xenopi* in HIV-negative patients: five year follow-up of patients receiving standardised treatment. *Respir Med.* 2003; 97(4):439-44.
120. Manfredi R, Nanetti A, Morelli S, Ferri M, Valentini R, Calza L, Chiodo F. A decade surveillance study of *Mycobacterium xenopi* disease and antimicrobial susceptibility levels in a reference teaching hospital of northern Italy: HIV-associated versus non-HIV-associated infection. *HIV Clin Trials.* 2004; 5(4):206-15.

121. Roth A, Reischl U, Schönfeld N, Naumann L, Emler S, Fischer M, Mauch H, Loddenkemper R, Kroppenstedt RM. *Mycobacterium heckeshornense* sp. nov., A new pathogenic slowly growing *Mycobacterium* sp. Causing cavitary lung disease in an immunocompetent patient. *J Clin Microbiol.* 2000; 38(11):4102-7.
122. van Ingen J, Boeree MJ, de Lange WC, de Haas PE, Dekhuijzen PN, van Soolingen D. Clinical relevance of *Mycobacterium szulgai* in The Netherlands. *Clin Infect Dis.* 2008; 46(8):1200-5.
123. Sánchez-Alarcos JM, De Miguel-Díez J, Bonilla I, Sicilia JJ, Alvarez-Sala JL. Pulmonary infection due to *Mycobacterium szulgai*. *Respiration.* 2003; 70(5):533-6.
124. Han XY, Dé I, Jacobson KL. Rapidly growing mycobacteria: clinical and microbiologic studies of 115 cases. *Am J Clin Pathol.* 2007; 128(4):612-21.
125. Difonzo EM, Campanile GL, Vanzi L, Lotti L. Mesotherapy and cutaneous *Mycobacterium fortuitum* infection. *Int J Dermatol.* 2009; 48(6):645-7.
126. Wilson RW, Steingrube VA, Böttger EC, Springer B, Brown-Elliott BA, Vincent V, Jost KC Jr, Zhang Y, Garcia MJ, Chiu SH, Onyi GO, Rossmore H, Nash DR, Wallace RJ Jr. *Mycobacterium immunogenum* sp. nov., a novel species related to *Mycobacterium abscessus* and associated with clinical disease, pseudo-outbreaks and contaminated metalworking fluids: an international cooperative study on mycobacterial taxonomy. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2001; 51(Pt 5):1751-64.
127. Polverosi R, Guarise A, Balestro E, Carloni A, Dalpiaz G, Feragalli B. High-resolution CT of nontuberculous mycobacteria pulmonary infection in immunocompetent, non-HIV-positive patients. *Radiol Med.* 2010; 115(2):191-204.
128. Aslam F, Ng B. "You never asked doc., I do fish". *Clin Rheumatol.* 2010; 29(6):691-3.
129. Harris DM, Keating MR. *Mycobacterium marinum*: current recommended pharmacologic therapy. *J Hand Surg Am.* 2009; 34(9):1734-5.
130. Thomsen VO, Dragsted UB, Bauer J, Fuursted K, Lundgren J. Disseminated infection with *Mycobacterium genavense*: a challenge to physicians and mycobacteriologists. *J Clin Microbiol.* 1999; 37(12):3901-5.

131. Lorenzen J, Meyer-Olson D, Haubitz M, Witte T, Bange F, Schmidt R, Stoll M. Infection with *Mycobacterium genavense* in a patient with systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol*. 2009; 28 Suppl 1:S39-41.
132. Torkko P, Suomalainen S, Iivanainen E, Suutari M, Paulin L, Rudbäck E, Tortoli E, Vincent V, Mattila R, Katila ML. Characterization of *Mycobacterium bohemicum* isolated from human, veterinary, and environmental sources. *J Clin Microbiol*. 2001; 39(1):207-11.
133. Palca A, Aebi C, Weimann R, Bodmer T. *Mycobacterium bohemicum* cervical lymphadenitis. *Pediatr Infect Dis J*. 2002; 21(10):982-4.
134. Bruijnesteijn van Coppenraet LE, Kuijper EJ, Lindeboom JA, Prins JM, Claas EC. *Mycobacterium haemophilum* and lymphadenitis in children. *Emerg Infect Dis*. 2005; 11(1):62-8.
135. Bruijnesteijn van Coppenraet LE, Savelkoul PH, Buffing N, van der Bijl MW, Woudenberg J, Lindeboom JA, Kiehn TE, Haverkort F, Samra Z, Kuijper EJ. Amplified fragment length polymorphism analysis of human clinical isolates of *Mycobacterium haemophilum* from different continents. *Clin Microbiol Infect*. 2009; 15(10):924-30.
136. Ryoo SW, Shin S, Shim MS, Park YS, Lew WJ, Park SN, Park YK, Kang S. Spread of nontuberculous mycobacteria from 1993 to 2006 in Koreans. *J Clin Lab Anal*. 2008; 22(6):415-20.
137. Tan CK, Lai CC, Chou CH, Hsueh PR. *Mycobacterium celatum* pulmonary infection mimicking pulmonary tuberculosis in a patient with ankylosing spondylitis. *Int J Infect Dis*. 2009; 13(6):e459-62.
138. Springer B, Tortoli E, Richter I, Grünewald R, Rüscher-Gerdes S, Uschmann K, Suter F, Collins MD, Kroppenstedt RM, Böttger EC. *Mycobacterium conspicuum* sp. nov., a new species isolated from patients with disseminated infections. *J Clin Microbiol*. 1995; 33(11):2805-11.
139. van Ingen J, Boeree MJ, Stals FS, Pitz CC, Rooijmans-Rietjens JJ, van der Zanden AG, Dekhuijzen PN, van Soolingen D. Clinical *Mycobacterium conspicuum* isolation from two immunocompetent patients in The Netherlands. *J Clin Microbiol*. 2007; 45(12):4075-6.
140. Abgueguen P, Rabier V, Mahaza C, Warot A, Chennebault JM, Pichard E. *Mycobacterium malmoense*: an underestimated nontuberculous mycobacterium. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2010; 66(1):98-100.



141. Portaels F, Silva MT, Meyers WM. Buruli ulcer. *Clin Dermatol.* 2009; 27(3):291-305.
142. Nienhuis WA, Stienstra Y, Thompson WA, Awuah PC, Abass KM, Tuah W, Awua-Boateng NY, Ampadu EO, Siegmund V, Schouten JP, Adjei O, Bretzel G, van der Werf TS. Antimicrobial treatment for early, limited *Mycobacterium ulcerans* infection: a randomised controlled trial. *Lancet.* 2010; 375(9715):664-72.
143. Ergan B, Coplu L, Alp A, Artvinli M. *Mycobacterium smegmatis* pneumonia. *Respirology.* 2004; 9(2):283-5.
144. Best CA, Best TJ. *Mycobacterium smegmatis* Infection of the Hand. *Hand (N Y).* 2009; 4(2):165-6.
145. Brown BA, Springer B, Steingrube VA, Wilson RW, Pfyffer GE, Garcia MJ, Menendez MC, Rodriguez-Salgado B, Jost KC Jr, Chiu SH, Onyi GO, Böttger EC, Wallace RJ Jr. *Mycobacterium wolinskyi* sp. nov. and *Mycobacterium goodii* sp. nov., two new rapidly growing species related to *Mycobacterium smegmatis* and associated with human wound infections: a cooperative study from the International Working Group on Mycobacterial Taxonomy. *Int J Syst Bacteriol.* 1999; 49 Pt 4:1493-511.
146. Pulcini C, Vandenbussche E, Podglajen I, Sougakoff W, Truffot-Pernot C, Buu-Hoi A, Varon E, Mainardi JL. Hip prosthesis infection due to *Mycobacterium wolinskyi*. *J Clin Microbiol.* 2006; 44(9):3463-4.
147. van Helden PD, Gey van Pittius NC, Warren RM, Michel A, Hlokwé T, Morar D, Godfroid J, du Plessis EC, Bengis R. Pulmonary infection due to *Mycobacterium goodii* in a spotted hyena (*Crocuta crocuta*) from South Africa. *J Wildl Dis.* 2008; 44(1):151-4.
148. van Ingen J, de Zwaan R, Dekhuijzen RP, Boeree MJ, van Soolingen D. Clinical relevance of *Mycobacterium chelonae-abscessus* group isolation in 95 patients. *J Infect.* 2009; 59(5):324-31.
149. Lai CC, Tan CK, Chou CH, Hsu HL, Liao CH, Huang YT, Yang PC, Luh KT, Hsueh PR. Increasing incidence of nontuberculous mycobacteria, Taiwan, 2000-2008. *Emerg Infect Dis.* 2010; 16(2):294-6.
150. Neonakis IK, Gitti Z, Kontos F, Baritaki S, Petinaki E, Baritaki M, Zerva L, Spandidos DA. *Mycobacterium thermoresistibile*: case report of a rarely isolated mycobacterium from Europe and review of literature. *Indian J Med*

- Microbiol. 2009; 27(3):264-7.
151. Woo PC, Tsoi HW, Leung KW, Lum PN, Leung AS, Ma CH, Kam KM, Yuen KY. Identification of *Mycobacterium neoaurum* isolated from a neutropenic patient with catheter-related bacteremia by 16S rRNA sequencing. *J Clin Microbiol.* 2000; 38(9):3515-7.
  152. Torkko P, Suomalainen S, Iivanainen E, Tortoli E, Suutari M, Seppänen J, Paulin L, Katila ML. *Mycobacterium palustre* sp. nov., a potentially pathogenic, slowly growing mycobacterium isolated from clinical and veterinary specimens and from Finnish stream waters. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2002; 52(Pt 5):1519-25.
  153. Tortoli E, Rindi L, Bartoloni A, Garzelli C, Mantella A, Mazzarelli G, Piccoli P, Scarparo C. *Mycobacterium elephantis*: not an exceptional finding in clinical specimens. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2003; 22(7):427-30.
  154. Adékambi T, Drancourt M. Isolation of *Mycobacterium septicum* from the sputum of a patient suffering from hemoptoic pneumonia. *Res Microbiol.* 2006; 157(5):466-70.
  155. Hawkins C, Qi C, Warren J, Stosor V. Catheter-related bloodstream infections caused by rapidly growing nontuberculous mycobacteria: a case series including rare species. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2008; 61(2):187-91.
  156. Lai CC, Chen HW, Liu WL, Ding LW, Lin CL, Lu GD, Hsueh PR. Fatal meningitis caused by *Mycobacterium nonchromogenicum* in a patient with nasopharyngeal carcinoma. *Clin Infect Dis.* 2008; 46(2):325-6.
  157. Meier A, Kirschner P, Schröder KH, Wolters J, Kroppenstedt RM, Böttger EC. *Mycobacterium intermedium* sp. nov. *Int J Syst Bacteriol.* 1993; 43(2):204-9.
  158. Tortoli E, Kroppenstedt RM, Bartoloni A, Caroli G, Jan I, Pawlowski J, Emler S. *Mycobacterium tusciae* sp. nov. *Int J Syst Bacteriol.* 1999; 49 Pt 4:1839-44.
  159. Fanti F, Tortoli E, Hall L, Roberts GD, Kroppenstedt RM, Dodi I, Conti S, Polonelli L, Chezzi C. *Mycobacterium parmense* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2004; 54(Pt 4):1123-7.
  160. Phowthongkum P, Puengchitprapai A, Udomsantisook N, Tumwasorn S, Suankratay C. Spindle cell pseudotumor of the brain associated with

- Mycobacterium haemophilum* and *Mycobacterium simiae* mixed infection in a patient with AIDS: the first case report. *Int J Infect Dis.* 2008; 12(4):421-4.
161. Okazaki M, Ohkusu K, Hata H, Ohnishi H, Sugahara K, Kawamura C, Fujiwara N, Matsumoto S, Nishiuchi Y, Toyoda K, Saito H, Yonetani S, Fukugawa Y, Yamamoto M, Wada H, Sejimo A, Ebina A, Goto H, Ezaki T, Watanabe T. *Mycobacterium kyorinense* sp. nov., a novel, slow-growing species, related to *Mycobacterium celatum*, isolated from human clinical specimens. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2009; 59(Pt 6):1336-41.
162. Masaki T, Ohkusu K, Hata H, Fujiwara N, Iihara H, Yamada-Noda M, Nhung PH, Hayashi M, Asano Y, Kawamura Y, Ezaki T. *Mycobacterium kumamotonense* Sp. Nov. recovered from clinical specimen and the first isolation report of *Mycobacterium arupense* in Japan: Novel slowly growing, nonchromogenic clinical isolates related to *Mycobacterium terrae* complex. *Microbiol Immunol.* 2006; 50(11):889-97.
163. Mun HS, Park JH, Kim H, Yu HK, Park YG, Cha CY, Kook YH, Kim BJ. *Mycobacterium senuense* sp. nov., a slowly growing, non-chromogenic species closely related to the *Mycobacterium terrae* complex. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2008; 58(Pt 3):641-6.
164. Mun HS, Kim HJ, Oh EJ, Kim H, Bai GH, Yu HK, Park YG, Cha CY, Kook YH, Kim BJ. *Mycobacterium seoulense* sp. nov., a slowly growing scotochromogenic species. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2007; 57(Pt 3):594-9.
165. Ben Salah I, Cayrou C, Raoult D, Drancourt M. *Mycobacterium marseillense* sp. nov., *Mycobacterium timonense* sp. nov. and *Mycobacterium bouchedurhonense* sp. nov., members of the *Mycobacterium avium* complex. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2009; 59(Pt 11):2803-8.
166. Iwen PC, Tarantolo SR, Mohamed AM, Hinrichs SH. First report of *Mycobacterium nebraskense* as a cause of human infection. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2006 Dec;56(4):451-3.
167. Tortoli E, Rindi L, Bartoloni A, Garzelli C, Manfrin V, Mantella A, Piccoli P, Scarparo C. Isolation of a novel sequevar of *Mycobacterium flavescens* from the synovial fluid of an AIDS patient. *Clin Microbiol Infect.* 2004; 10(11):1017-9.

168. Cooksey RC, de Waard JH, Yakrus MA, Rivera I, Chopite M, Toney SR, Morlock GP, Butler WR. *Mycobacterium cosmeticum* sp. nov., a novel rapidly growing species isolated from a cosmetic infection and from a nail salon. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2004; 54(Pt 6):2385-91.
169. Jiménez MS, Campos-Herrero MI, García D, Luquin M, Herrera L, García MJ. *Mycobacterium canariasense* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2004; 54(Pt 5):1729-34.
170. Turenne CY, Cook VJ, Burdz TV, Pauls RJ, Thibert L, Wolfe JN, Kabani A. *Mycobacterium parascrofulaceum* sp. nov., novel slowly growing, scotochromogenic clinical isolates related to *Mycobacterium simiae*. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2004; 54(Pt 5):1543-51.
171. Zeller V, Nardi AL, Truffot-Pernot C, Sougakoff W, Stankoff B, Katlama C, Bricaire F. Disseminated infection with a mycobacterium related to *Mycobacterium triplex* with central nervous system involvement associated with AIDS. *J Clin Microbiol.* 2003; 41(6):2785-7.
172. van Ingen J, Lindeboom JA, Hartwig NG, de Zwaan R, Tortoli E, Dekhuijzen PN, Boeree MJ, van Soolingen D. *Mycobacterium mantanii* sp. nov., a pathogenic, slowly growing, scotochromogenic species. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2009; 59(Pt 11):2782-7.
173. den Broeder AA, Vervoort G, van Assen S, Verduyn Lunel F, de Lange WC, de Sévaux RG. Disseminated *Mycobacterium gordonae* infection in a renal transplant recipient. *Transpl Infect Dis.* 2003; 5(3):151-5.
174. Pinho L, Santos J, Oliveira G, Pestana M. *Mycobacterium gordonae* urinary infection in a renal transplant recipient. *Transpl Infect Dis.* 2009; 11(3):253-6.
175. Adékambi T, Drancourt M. *Mycobacterium bolletii* respiratory infections. *Emerg Infect Dis.* 2009; 15(2):302-5.
176. Tortoli E, Gabini R, Galanti I, Mariottini A. Lethal *Mycobacterium massiliense* sepsis, Italy. *Emerg Infect Dis.* 2008; 14(6):984-5.
177. Tortoli E, Adriani B, Baruzzo S, Degl'Innocenti R, Galanti I, Lauria S, Mariottini A, Pascarella M. Pulmonary disease due to *Mycobacterium arosiense*, an easily misidentified pathogenic novel mycobacterium. *J Clin Microbiol.* 2009; 47(6):1947-9.
178. Tortoli E, Simonetti MT. Isolation of *Mycobacterium shimoidei* from a

- patient with cavitary pulmonary disease. *J Clin Microbiol.* 1991; 29(8):1754-6.
179. Molteni C, Gazzola L, Cesari M, Lombardi A, Salerno F, Tortoli E, Codecasa L, Penati V, Franzetti F, Gori A. *Mycobacterium lentiflavum* infection in immunocompetent patient. *Emerg Infect Dis.* 2005; 11(1):119-22.
180. Glassroth J. Pulmonary disease due to nontuberculous mycobacteria. *Chest.* 2008; 133(1):243-51.
181. Manten A. Bacteriological and chemotherapeutic aspects of atypical mycobacteria. *Maandschr Kindergeneesk.* 1965; 33(9):309-19.
182. Marras TK, Wallace RJ Jr, Koth LL, Stulbarg MS, Cowl CT, Daley CL. Hypersensitivity pneumonitis reaction to *Mycobacterium avium* in household water. *Chest.* 2005; 127(2):664-71.
183. Billinger ME, Olivier KN, Viboud C, de Oca RM, Steiner C, Holland SM, Prevots DR. Nontuberculous mycobacteria-associated lung disease in hospitalized persons, United States, 1998-2005. *Emerg Infect Dis.* 2009; 15(10):1562-9.
184. Wickremasinghe M, Ozerovitch LJ, Davies G, Wodehouse T, Chadwick MV, Abdallah S, Shah P, Wilson R. Non-tuberculous mycobacteria in patients with bronchiectasis. *Thorax.* 2005; 60(12):1045-51.
185. Kim RD, Greenberg DE, Ehrmantraut ME, Guide SV, Ding L, Shea Y, Brown MR, Chernick M, Steagall WK, Glasgow CG, Lin J, Jolley C, Sorbara L, Raffeld M, Hill S, Avila N, Sachdev V, Barnhart LA, Anderson VL, Claypool R, Hilligoss DM, Garofalo M, Fitzgerald A, Anaya-O'Brien S, Darnell D, DeCastro R, Menning HM, Ricklefs SM, Porcella SF, Olivier KN, Moss J, Holland SM. Pulmonary nontuberculous mycobacterial disease: prospective study of a distinct preexisting syndrome. *Am J Respir Crit Care Med.* 2008; 178(10):1066-74.
186. Martín-Casabona N, Bahrmand AR, Bennedsen J, Thomsen VO, Curcio M, Fauville-Dufaux M, Feldman K, Havelkova M, Katila ML, Köksalan K, Pereira MF, Rodrigues F, Pfyffer GE, Portaels F, Urgell JR, Rüscher-Gerdes S, Tortoli E, Vincent V, Watt B; Spanish Group for Non-Tuberculosis Mycobacteria. Non-tuberculous mycobacteria: patterns of isolation. A multi-country retrospective survey. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2004; 8(10):1186-93.

187. van Ingen J, Boeree MJ, de Lange WC, de Haas PE, van der Zanden AG, Mijs W, Rigouts L, Dekhuijzen PN, van Soolingen D. *Mycobacterium noviomagense* sp. nov.; clinical relevance evaluated in 17 patients. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2009; 59(Pt 4):845-9.
188. Radhakrishnan DK, Yau Y, Corey M, Richardson S, Chedore P, Jamieson F, Dell SD. Non-tuberculous mycobacteria in children with cystic fibrosis: isolation, prevalence, and predictors. *Pediatr Pulmonol.* 2009; 44(11):1100-6.
189. Tremblay V, Ayad T, Lapointe A, Giguère C, Quintal MC, Arcand P, Abela A. Nontuberculous mycobacterial cervicofacial adenitis in children: epidemiologic study. *J Otolaryngol Head Neck Surg.* 2008; 37(5):616-22.
190. Nagao M, Sonobe M, Bando T, Saito T, Shirano M, Matsushima A, Fujihara N, Takakura S, Inuma Y, Ichiyama S. Surgical site infection due to *Mycobacterium peregrinum*: a case report and literature review. *Int J Infect Dis.* 2009; 13(2):209-11.
191. Carbonara S, Tortoli E, Costa D, Monno L, Fiorentino G, Grimaldi A, Boscia D, Rollo MA, Pastore G, Angarano G. Disseminated *Mycobacterium terrae* infection in a patient with advanced human immunodeficiency virus disease. *Clin Infect Dis.* 2000; 30(5):831-5.
192. Cornelius L, Reddix R, Burchett C, Bond G, Fader R. Cluster of *Mycobacterium fortuitum* prosthetic joint infections. *J Surg Orthop Adv.* 2007; 16(4):196-8.
193. Tappe D, Langmann P, Zilly M, Klinker H, Schmausser B, Frosch M. Osteomyelitis and skin ulcers caused by *Mycobacterium szulgai* in an AIDS patient. *Scand J Infect Dis.* 2004; 36(11-12):883-5.
194. Syed AA, O'Flanagan J. *Mycobacterium malmoeense* infection. An unusual cause of wrist swelling. *J Hand Surg Br.* 1998; 23(6):811-2.
195. Contios S, Roguedas AM, Genestet M, Volant A, Le Nen D. *Mycobacterium marinum* tenosynovitis of the abductors. *Presse Med.* 2005; 34(8):587-8.
196. Ford JG, Huang AJ, Pflugfelder SC, Alfonso EC, Forster RK, Miller D. Nontuberculous mycobacterial keratitis in south Florida. *Ophthalmology.* 1998; 105(9):1652-8.
197. Boyd AS, Robbins J. Cutaneous *Mycobacterium avium* intracellulare

- infection in an HIV+ patient mimicking histoid leprosy. *Am J Dermatopathol*. 2005; 27(1):39-41.
198. Primm TP, Lucero CA, Falkinham JO 3rd. Health impacts of environmental mycobacteria. *Clin Microbiol Rev*. 2004; 17(1):98-106.
199. Modi D, Pyatetsky D, Edward DP, Ulanski LJ, Pursell KJ, Tessler HH, Goldstein DA. *Mycobacterium haemophilum*: a rare cause of endophthalmitis. *Retina*. 2007; 27(8):1148-51.
200. Hu FR, Luh KT. Topical ciprofloxacin for treating nontuberculous mycobacterial keratitis. *Ophthalmology*. 1998; 105(2):269-72.
201. Abshire R, Cockrum P, Crider J, Schlech B. Topical antibacterial therapy for mycobacterial keratitis: potential for surgical prophylaxis and treatment. *Clin Ther*. 2004; 26(2):191-6.
202. Huang CT, Chen CY, Chen HY, Chou CH, Ruan SY, Lai CC, Hsueh PR. Genitourinary infections caused by nontuberculous mycobacteria at a university hospital in Taiwan, 1996-2008. *Clin Microbiol Infect*. 2010 Feb 2.
203. Lin JN, Lai CH, Chen YH, Huang CK, Lin HF, Eng HL, Lin HH. Urinary *Mycobacterium szulgai* infection in an immunocompetent patient. *South Med J*. 2009; 102(9):979-81.
204. Oshiro H, Nomura M, Yamanaka S, Watanabe S, Inayama Y. Splenic inflammatory pseudotumor (inflammatory myofibroblastic tumor). *J Clin Exp Hematop*. 2007; 47(2):83-8.
205. Gittinger FS, Raible A, Kempf VA. Non-tuberculous mycobacterial infection of the parotid gland in an immunosuppressed adult. *J Med Microbiol*. 2008; 57(Pt 4):536-9.
206. American Thoracic Society. Diagnosis and treatment of disease caused by nontuberculous mycobacteria. *Am Rev Respir Dis*. 1990; 142(4):940-53.
207. American Thoracic Society. Diagnosis and treatment of disease caused by nontuberculous mycobacteria. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156:S1e25.
208. Griffith DE, Aksamit T, Brown-Elliott BA, Catanzaro A, Daley C, Gordin F. et al. ATS Mycobacterial Diseases Subcommittee, American Thoracic Society, Infectious Disease Society of America. An official ATS/IDSA statement: diagnosis, treatment, and prevention of nontuberculous mycobacterial diseases. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;

- 175(4):367e416.
209. van Ingen J, Boeree MJ, de Lange WC, Dekhuijzen PN, van Soolingen D. Impact of new American Thoracic Society diagnostic criteria on management of nontuberculous mycobacterial infection. *Am J Respir Crit Care Med.* 2007; 176(4):418.
  210. British Thoracic Society. Management of opportunist mycobacterial infections: Joint Tuberculosis Committee Guidelines 1999. *Thorax* 2000; 55:210–218
  211. Croatian Health Service Yearbook 2006. Croatian National Institute of Public Health, Zagreb, Croatia 2007; 207-209
  212. Ivanković D. i sur. Osnove statističke analize za medicinare. Zagreb: Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 1989.
  213. van Ingen J. Nontuberculous mycobacteria; from gene sequence to clinical relevance. Enschede: Ipskamp Drukkers B.V., 2009.
  214. Research Committee of the British Thoracic Society. Clarithromycin vs ciprofloxacin as adjuncts to rifampicin and ethambutol in treating opportunist mycobacterial lung diseases and an assessment of *Mycobacterium vaccae* immunotherapy. *Thorax* 2008; 63:627-34.
  215. Lam PK, Griffith DE, Aksamit TR, Ruoss SJ, Garay SM, Daley CL, Catanzaro A. Factors related to response to intermittent treatment of *Mycobacterium avium* complex lung disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006; 173(11):1283-9.



## SAŽETAK

---

Do sada je poznato preko 140 vrsta netuberkuloznih mikobakterija (NTM). U Hrvatskoj do sada NTM nisu istraživane.

Provedeno je retrospektivno istraživanje koje je obuhvatilo vremensko razdoblje od 25 godina kroz koje je, uvidom u arhiviranu medicinsku dokumentaciju u raznim medicinskim ustanovama u Hrvatskoj, istražena epidemiologija, radiomorfološke karakteristike i klinički značaj infekcija uzrokovanih NTM-ma.

Pronađeno je 106 ispitanika s pozitivnim mikrobiološkim rezultatom kultivacije NTM. Prema kriterijima Američkog torakalnog društva (ATS), stvarno oboljelih je bilo 63. Ispitanici su najčešće muškarci prosječne dobi 59 godina. Zabilježene su samo plućne infekcije. Bilježi se stalan porast broja izolata i broja oboljelih po periodima od pet godina, a ispitanici su sve stariji u vrijeme prvog izolata. Najčešće je izolirana *Mycobacterium xenopi*, zatim MAC te *M. kansasii*. Morfološki su na plućima najčešće radiološki opisani jednostrani infiltrati s kavernom. Ispitanici su često imali predisponirajuće i pridružene bolesti; najčešće preboljelu tuberkulozu, kroničnu opstruktivnu plućnu bolest (KOPB) i alkoholizam. Samo 47,6% (30/63) ispitanika je postiglo poboljšanje nakon terapije antimikobakterijskim lijekovima primjenjenim po protokolima za tuberkulozu. Najbolji ishod je bio za oboljele od plućne infekcije uzrokovane s *M. kansasii* i *M. fortuitum*, a najlošiji za oboljele od MAC infekcija. Komorbiditet utječe na prognozu plućnih infekcija, osobito uzrokovanih s *M. xenopi*.

Klinički značaj infekcija uzrokovanih NTM-ma sve je veći. Potreba za većom razinom svjesnosti liječnika o NTM-ma kao etiološkim čimbenicima infekcija i drugih organskih sustava, osim dišnog, je nužna.

## **ABSTRACT**

---

There are over 140 known species of nontuberculous mycobacteria (NTM). In Croatia NTM were not investigated yet.

A retrospective study was done to analyze epidemiology, radiomorphologic characteristics and clinical relevance of NTM infections in Croatia over 25 year period using data from archived medical records.

There were 106 persons with positive NTM cultures. According to ATS criteria 63 persons did have pulmonary NTM infection. No other but pulmonary infections were noted. Patients were about 59 years old in average. There was constant increase in number of isolates and true infected persons over investigated period. There was constant increase in patient age at the time of the first isolate. The most frequent isolate was *M. xenopi*, followed with MAC and *M. kansasii*.

The most often pathomorphologic lung pattern was one-sided infiltrate with cavern. Predisposing and comorbid diseases were often noted; Tuberculosis history (TB), chronic obstructive lung disease (COPD) and alcoholism were the most often. Less than 50% of patients (47,6%, 30/63) were improved after antimycobacterial therapy that followed TB therapy protocols. The best outcome was in patients with *M. kansasii* i *M. fortuitum*, and the worst in patients with MAC pulmonary infection. Comorbid diseases influence outcome, especially in patients with *M. xenopi* pulmonary infections.

Clinical importance of NTM infections is growing. Clinicians should be encouraged to be always more aware of NTM as possible etiology of diverse infections in humans.

**ŽIVOTOPIS**

---

Rođen sam u Splitu 06.09.1972. godine. Moja obitelj su supruga Sanda, kćer Ida i sin Marko.

Osnovnu školu i srednju medicinsku školu završio sam u Šibeniku.

Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu upisao sam 1992. godine na kojem sam diplomirao 1998. godine.

Na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, biološki odsjek stekao sam stupanj magistra znanosti 2006. godine s magistarskim radom pod nazivom „Istraživanje različitosti tkiva mozga u djece kompjutoriziranom tomografijom i magnetskom rezonancijom“.

Od 2002-2007. godine bio sam zaposlen u Klinici za dječje bolesti Zagreb i u tom vremenu proveo specijalistički staž i obvezan stručni poslijediplomski studij iz radiologije. Specijalistički ispit iz radiologije položio sam u lipnju 2007. godine.

Od 2007. godine zaposlen sam u KBC Zagreb, Klinički zavod za torakalnu radiologiju Jordanovac. Mjesec dana 2008. godine proveo sam kao promatrač u Memorial Sloan-Kettering Cancer Center u New Yorku u SAD-u.

2004, 2005. i 2006. godine bio sam tajnik, predavač i priređivač zbornika predavanja za poslijediplomski tečaj I kategorije Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod nazivom Ultrazvučna dijagnostika u dječjoj dobi.

Pohađao sam poslijediplomske tečajeve I kategorije Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod nazivom Solidni maligni tumori dječje dobi i Pedijatrijska radiologija. Završio sam i tečaj Muskuloskeltalnog ultrazvuka. Sudjelovao sam kao predavač na više domaćih i međunarodnih stručnih skupova. Suradnik sam više međunarodnih znanstvenih projekata. Sudjelovao sam u prijevodu knjige „Pomoć u radiološkoj diferencijalnoj dijagnostici“, Sveta Nedelja, Kratis doo, 2005. Autor sam nekoliko stručnih članaka:

1. Marušić A, Katalinić-Janković V, Popović-Grle S, Lanković M, Mažuranić I, Puljić I, Sertić-Milić H. Mycobacterium xenopi pulmonary disease - epidemiology and clinical features in non-immunocompromised patients. J Infect. 2009; 58(2):108-112
2. Cigit I, Marušić A, Vrtar Z, Roić G, Borić I, Posarić V, Župančić B, Miletić D. Epidermoidna cista slezene – prikaz pacijenata. Paediat Croat 2005; 49(2): 69-71
3. Roić G, Posarić V, Marušić A, Borić I, Vlahović T, Vrliček K. Unexpected diagnosis for preauricular swelling – two case reports. Radiol Oncol 2003; 37(3): 155-159

Član sam Hrvatskog društva radiologa, član i tajnik Sekcije za torakalnu radiologiju Hrvatskog liječničkog zbora i Evropskog radiološkog društva.