

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Kristijan Lipovac

**Klinička važnost izolacije netuberkuloznih
mikobakterija iz plućnih uzoraka**

Diplomski rad



Zagreb, 2022.

Ovaj diplomski rad izrađen je u Klinici za plućne bolesti kliničkog bolničkog centra Zagreb pod vodstvom doc.dr.sc. Mateje Janković Makek i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2021./2022.

Popis kratica

AFB – acidorezistentni bacili (eng. *acid fast bacillus*)

ATS – Američko torakalno društvo (eng. *American Thoracic Society*)

BMI – indeks tjelesne mase (eng. *body mass indeks*)

CT – kompjuterska tomografija (eng. *computed tomography*)

ERS – Europsko respiratorno društvo (eng. *European Respiratory Society*)

ESCMID – Europsko društvo za kliničku mikrobiologiju i infektologiju (eng. *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*)

IDSA – Američko društvo za zarazne bolesti (eng. *Infectious Diseases Society of America*)

KOPB – kronična opstruktivna plućna bolest

MAC – *Mycobacterium avium* kompleks (eng. *Mycobacterium avium complex*)

MR – magnetska rezonanca

NaCl – natrijev klorid

NTM – netuberkulozne mikobakterije

NTM-PB – plućna bolest uzrokovana netuberkuloznim mikobakterijama (eng. *nontuberculous mycobacterial pulmonary disease, NTM-PD*)

PET – pozitronska emisijska tomografija (eng. *positron emission tomography*)

Sadržaj

1. Uvod	1
1.1. Mikrobiološke karakteristike netuberkuloznih mikobakterija	1
1.2. Epidemiologija netuberkuloznih mikobakterija	2
1.2.1. Izvori i putevi prijenosa.....	2
1.2.2. Rizični faktori za razvoj bolesti uzrokovane netuberkuloznim mikobakterijama	2
1.2.3. Učestalost izolacije i bolesti uzrokovane netuberkuloznim mikobakterijama	3
1.3. Klinička slika bolesti uzrokovanih netuberkuloznim mikobakterijama	4
1.4. Dijagnostika plućne bolesti uzrokovane netuberkuloznim mikobakterijama	5
1.4.1. Dijagnostički kriteriji za plućnu bolest uzrokovanu netuberkuloznim mikobakterijama.....	5
1.5. Liječenje bolesti uzrokovanih netuberkuloznim mikobakterijama	6
2. Važnost izolacije netuberkuloznih mikobakterija	8
2.1. Klinička važnost NTM u svijetu	8
2.2. Klinička značajnost vrsta NTM u Republici Hrvatskoj	10
3. Zaključak	14
4. Zahvale	15
5. Literatura	16
6. Životopis	19

Sažetak

Naslov rada: Klinička važnost izolacije netuberkuloznih mikobakterija iz plućnih uzoraka

Autor: Kristijan Lipovac

Netuberkulozne mikobakterije (NTM) sveprisutni su mikroorganizmi koje nalazimo primarno u tlu i vodi. One su oportunistički patogeni, a najvažniji oblik bolesti koje uzrokuju je plućni oblik (NTM-PB). Stoga se ove mikobakterije primarno promatraju kroz respiratorne izolate, bili to sputumi, lavati ili biopsati plućnog tkiva. Ovaj rad se upravo zato bavi proučavanjem kliničke važnosti netuberkuloznih mikobakterija izoliranih iz respiratornih uzoraka.

Globalno se prati porast izolacije i incidencije te shodno tome, prevalencije plućne bolesti uzrokovane netuberkuloznim mikobakterijama. Jedan od mogućih razloga je i starenje populacije, porast pridruženih komorbiditeta i pad imuniteta, trend koji pratimo u svim zemljama, najviše onim razvijenim.

Prema novim smjernica ATS/ERS/ESCMID/IDSA društava, vrste NTM na koje globalno treba obratiti pozornost su *Mycobacterium avium complex* (MAC), *Mycobacterium kansasii*, *M. xenopi* od spororastućih te *M. abscessus* od brzorastućih. Lokalna istraživanja pokazuju rezultate koji su različiti ovisno o dijelu svijeta u kojemu su rađena, a spoznalo se i da frekvencija izolacije NTM te prevalencija NTM-PB ovisi i o zemljopisnom položaju.

U Republici Hrvatskoj rađeno je nekoliko istraživanja na temu netuberkuloznih mikobakterija. Neke od spoznaja proizašlih iz tih istraživanja su porast frekvencije izolacije NTM iz respiratornih izolata, klinički najznačajnije vrste (*M. xenopi*, *M. kansasii*, *M. abscessus* i MAC) te različita zemljopisna (priobalni u odnosu na kontinentalni dio) rasprostranjenost NTM i opterećenost NTM-PB. Zaključno tome, poznavanje kliničke važnosti NTM vrste je važno pri postavljanju definitivne dijagnoze NTM-PB i adekvatnom liječenju bolesti.

Ključne riječi: netuberkulozne mikobakterije, plućna bolest uzrokovana netuberkuloznim mikobakterijama, klinička važnost, klinička značajnost

Summary

Title: Clinical importance of nontuberculous mycobacteria isolates from the respiratory specimens

Author: Kristijan Lipovac

Nontuberculous mycobacteria (NTM) are ubiquitous, opportunistic microorganisms found primarily in soil and water. The most common form of disease they cause is the pulmonary form (nontuberculous mycobacterial pulmonary disease, NTM-PD), and most important specimens for evaluation are respiratory specimens (sputum, lavages, or lung tissue biopsies). Thus, this paper examines the clinical importance of nontuberculous mycobacteria isolated from respiratory samples. Globally, there is an increase in isolation and incidence of NTM and, consequently, the prevalence of NTM-PD. One of the possible reasons is the aging of the population with increasing number of comorbidities and a decline in immunity, a trend that is present in all countries, especially developed ones.

From the latest guidelines of ATS/ERS/ESCMID/IDSA societies, the species that globally present a threat are *Mycobacterium avium complex* (MAC), *M. kansasii*, *M. xenopi* from slow-growing and *M. abscessus* from rapid-growing NTMs. Also, many local researches show results that are different depending on the part of the world in which they were conducted. Furthermore, it was found that the frequency of NTM isolation and NTM-PD depends on the geographical location. In Croatia, several studies have been conducted in this area. From them, we know that the isolation frequency of NTM and NTM-PD is rising, and that most clinically significant species are *M. xenopi*, *M. kansasii*, *M. abscessus* and MAC. Also, it was shown that the burden of NTM isolation and NTM-PD differs in the continental part of the country, compared to the coastal part. Finally, awareness and knowledge of clinical importance is important when making a definitive diagnosis of NTM-PD and deciding on optimal treatment regimen.

Keywords: non-tuberculous mycobacteria, lung disease caused by non-tuberculous mycobacteria, clinical significance

1. Uvod

Netuberkulozne mikobakterije su mikobakterije koje ne uzrokuju tuberkulozu ili lepru. Prema svojim obilježjima one su klasični predstavnici roda *Mycobacterium*. Trenutno je poznato preko 150 vrsta, a nove se i dalje izoliraju. Nalazimo ih u prirodi, primjerice u tlu, prašini, drenažnim vodama, vodi za piće i aerosolima (1).

Godišnja prevalencija izolacije NTM iz respiratornih uzoraka u Sjevernoj Americi i Australiji raste od 2000. i iznosi od 3.2 do 9.8/100000. U europskim zemljama (Ujedinjenom Kraljevstvu, Irskoj, Danskoj, Grčkoj i Nizozemskoj) prevalencija izolacije iznosi između 1.9 i 6.3/100000 (2).

U Hrvatskoj, od 2006. do 2010., frekvencija godišnjih izolacija bila je 5.3/100000, a godišnja incidencija vjerojatne bolesti 0.23/100000 (3).

NTM su oportunistički patogeni koji predominantno uzrokuju oboljenje u osobe s već prisutnom predispozicijom. Infekcija može ostati lokalizirana, ali isto tako zahvatiti brojne organske sustave poput pluća, kože i muskuloskeletnog sustava.

Dijagnostika se temelji na kliničkoj slici, radiološkim i mikrobiološkim pretragama.

Slično kao i kod tuberkuloze, liječenje ovakvih infekcija je dugotrajno te se koriste brojni antibiotici.

1.1. Mikrobiološke karakteristike netuberkuloznih mikobakterija

Mycobacterium je rod zavnutih štapićastih bakterije koje su aerobne, nepokretne i asporogene. Širine su 0.2-0.6 μm i duljine 1-10 μm , a vrijeme replikacije je od 18 do 24 sata. Fakultativno su intracelularne bakterije te ne posjeduju toksine, fimbrije ili kapsulu. Poznato je da su potpuno acidorezistentne jer zadržavaju karbolfuksin nakon odbojavanja kiselim alkoholom. Staničnu ovojniciu čini citoplazmatska membrana, stanična stijenka i pseudokapsula koja sadržava proteine i polisaharide (4).

NTM sa svojom lipidima bogatom vanjskom membranom postiže nepropusnost za hidrofilne nutrijente i otpornost na dezinfekcijska sredstva, teške metale i antibiotike. Hidrofobnost zbog lipidne mebrane omogućuje NTM lako prianjanje i rast na različitim površinama kao i stvaranju aerosola te biofilma. Biofilm dodatno povećava otpornost na dezinfekcijska sredstva

i antibiotike. Dio NTM-a je otporno i na niski pH, niske razine kisika i visoke temperature. To sve može objasniti činjenicu da se često izoliraju iz vodenih sistema (prirodnih i umjetnih), kućanstava, aerosola, zemlje i prašine. S obzirom na prije navedeno te unatoč sporom rastu, ne treba čuditi da NTM uspijevaju opstati i širiti se (5).

1.2. Epidemiologija netuberkuloznih mikobakterija

1.2.1. Izvori i putevi prijenosa

U prirodi NTM možemo naći u tlu, rijekama, jezerima i potocima. Pretpostavlja se da NTM nađene u vodama potiču iz tla. Također, preferiraju kiseli pH koji im pojačava rast te ih u takvim staništima češće nalazimo. Njihov opstanak u tekućim vodama je posljedica stvaranja biofilma na stijenama i biljkama dok ih u oceanima nalazimo manje zbog većeg udjela NaCl. Međutim, za ljude je najbitnija činjenica da ih nalazimo i u pitkoj vodi i vodi za druge uporabe, odnosno vodovodima. Unatoč tretiranju vode klorom, što vodu koju upotrebljujemo za piće čini gotovo sterilnom, NTM preživljavaju u vodi zbog svoje otpornosti na kloriranje (6). Slično kao i u tekućim vodama, njihova hidrofobnost im omogućuje prijanjanje na cijevi (1).

Inhalacija aerosola je, uz aspiraciju i infekciju otvorene rane (bila ona kirurška ili kao posljedica ozljede), vjerojatno najvažniji put prijenosa NTM. Aerosol može nastati na brojnim mjestima, uključujući tuševе, pipe za vodu, saune, ali i na većim javnim mjestima poput fontana i teretana. Također ne treba zaboraviti na vodopade na koje možemo naići svuda u prirodi (1).

1.2.2. Rizični faktori za razvoj bolesti uzrokovane netuberkuloznim mikobakterijama

U većem broju radova ističe se porast izolacije netuberkuloznih mikobakterija, što možemo pripisati različitim faktorima, poput razvoja laboratorijskih tehnika, povećanoj svijesti i činjenici da je populacija u prosjeku sve starija, što samo po sebi predstavlja povećanje čimbenika rizika (5).

Prepoznati rizični čimbenici za infekciju čine plućne bolesti i imunokompromitirana stanja. Od plućnih bolesti to su KOPB, cistična fibroza, bronhiektazije i pneumokonioze. U imunokompromitiranih osoba (npr. oni koje boluju od AIDS-a, primatelji transplantiranog

organa, bolesnici na biološkoj terapiji s TNF α inhibitorima) češće dolazi do razvoja diseminiranog oblika bolesti (7-10).

Prema istraživanju Glodića i suradnika (11) o rizičnim čimbenicima u Hrvatskoj, zaključeno je da su naši bolesnici slični onima u drugim studijama ovog tipa. Faktori rizika koji su bili više prisutni kod bolesnika s plućnom bolesti uzrokovanom netuberkuloznim mikobakterijama su: ženski spol, bronhiektazije, nizak BMI, dugotrajna upotreba sistemskih kortikosteroida, liječenje visokim dozama inhalacijskog kortikosteroida te prezentacija s hemoptizom i malaksalošću.

1.2.3. Učestalost izolacije i bolesti uzrokovane netuberkuloznim mikobakterijama

S obzirom da se učestalost ovih bakterija i same bolesti uzrokovane njima ne prati svugdje u svijetu, već se koriste podaci dobiveni istraživanjima koja su temeljena na ispitivanju u mikrobiološkim laboratorijima, dolazimo do činjenice da je epidemiologiju NTM infekcija teško opisati.

Za napomenuti je da postoje i dodatne poteškoće pri opisivanju bolesti, poput točnog uspostavljanja dijagnoze NTM-PB (bolesnici koji se promatraju u sklopu istraživanja često imaju različite simptome i pri obradi se koristila, odnosno nije koristila radiološka dijagnostika), sveprisutnost NTM u okolišu (što može umanjiti značajnost samog izolata), te definiranje bolesti koja je utemeljeno na vrlo malo dokaza (2, 11).

Uzevši u obzir navedene izazove u opisivanju učestalosti NTM-a, autori se najčešće koriste mjerama poput godišnje prevalencije bolesti uzrokovane netuberkuloznim mikobakterijama, kako bi što bolje izrazili veličinu 'problema'. Uz opis udjela bolesnika oboljelih u određenoj regiji, često se koriste i prevalencija i incidencija izolacije NTM, koja nam govori o broju osoba s novom izolacijom NTM iz respiratornog trakta tijekom određenog vremenskog perioda (12). S obzirom na ove poteškoće i prethodne navedene podatke o NTM, vjerojatno ne čudi da je i učestalost izolacije NTM i NTM uzrokovane bolesti različita s obzirom na regiju svijeta. U radu Prevots i Marras (2), koji su obradili epidemiološke podatke s različitih regija/kontinenata, nađeno je kako su podaci iz populacijskih studija najviše dostupni za Europu, Sjevernu Ameriku i Australiju te Novi Zeland.

Zaključili su kako, prema istraživanjima u Sjevernoj Americi, godišnja izolacija NTM iznosi 6-22/100000 dok godišnja prevalencija bolesti iznosi 5-10/100000. Nadalje, bolesnici su češće bili stariji ljudi (prosječne dobi 68.2 godine) ženskog spola. Također je zanimljiv podatak kako

su u kategoriji ljudi starijih od 65 godina, skoro dva puta češće obolijevale osobe azijskog porijekla od osoba bijele rase (2).

U Središnjoj i Južnoj Americi podaci su ograničeni te se aproksimira da je prevalencija plućne bolesti uzrokovane NTM (NTM-PB) manje od 1/100000, a najčešći među izoliranima je bio *Mycobacterium avium* kompleks MAC (13).

Zbog različitih metoda istraživanja i populacije, podaci iz Europe se razlikuju (11). Frekvencija izolacije u Ujedinjenom Kraljevstvu iznosila je 2.9, u Grčkoj 7.0, a u Nizozemskoj 6.3 na 100000, dok je prevalencija NTM-PB 1.7, 0.7 i 1.4 na 100000. MAC je bio češće izoliran u sjevernoj Europi nego u južnoj, a *Mycobacterium xenopi* češće u južnoj nego sjevernoj (12, 14-16).

U Hrvatskoj se od 2000. do 2012. prati porast izolacije, između 150 i 450 izolata godišnje, odnosno frekvencija godišnjih izolacija od 3.3 do 10.1/100000, dok je stvarnih bolesnika značajno manje, oko 15 do 20 godišnje te je incidencija NTM-PB 0.22/100000. Najčešći izolat bila je *M. gordonae* (5, 17).

Za Aziju nema značajnih podataka, međutim, u Japanu je procijenjena prevalencija NTM-PB između 33 i 65/100000, a MAC je najznačajniji uzročnik (18).

Istraživanja u Africi, iako nemaju konkretne brojke, sugeriraju da dio bolesnika sa suspektom tuberkulozom zapravo ima NTM-PB (12). Nadalje, neka istraživanja su pokazala da bolesnici koji potencijalno imaju rezistentnu tuberkulozu (18 % u istraživanjima) možda ipak imaju NTM-PB (12, 19-20).

Podaci dobiveni u Australiji i Novom Zelandu sugeriraju porast prevalencije bolesti, s ranijih 2/100000 na trenutnih 3/100000. Ovdje se također pokazalo kako je MAC najčešći izolat (2, 12, 21).

Zaključno, NTM su sveprisutni mikroorganizmi koji ne uzrokuju nužno bolest, a sama bolest nije podložna prijavljivanju. Stoga su potrebna daljnja istraživanja o odnosu okolišnih čimbenika, ekspozicije i razvoja NTM plućne bolesti te njenoj epidemiologiji (2, 12).

1.3. Klinička slika bolesti uzrokovanih netuberkuloznim mikobakterijama

Netuberkulozne mikobakterije mogu uzrokovati infekciju raznih organa i organskih sustava, primjerice, mogu zahvatiti kožu, meka tkiva, skelet, limfne čvorove te se mogu javiti i u diseminiranom obliku (22). Međutim, daleko najčešći je plućni oblik bolesti koji se javlja u tri oblika: kavitarnom oblik nalik tuberkulozi, retikulonodularnom obliku često udruženom s bronhiektazijama i hipersenzitivnom pneumonitisu. Najčešći simptomi su produktivni kašalj,

gubitak na tjelesnoj masi, povišena tjelesna temperatura, nedostatak zraka, krv u sputumu i malaksalost. Simptomi su nespecifični i često se teško razlikuju od simptoma uzrokovanih već postojećom plućnom bolesti. (5, 12)

1.4. Dijagnostika plućne bolesti uzrokovane netuberkuloznim mikobakterijama

Dijagnoza NTM-PB je složena, primarno iz razloga što NTM možemo naći svugdje u prirodi, ali i u izvorima vode. Iz tog razloga se treba osloniti na više faktora: anamnestičke podatke, odnosno kliničku prezentaciju bolesti, radiološke nalaze i mikrobiološka ispitivanja (12).

Anamneza obuhvaća ne samo prethodno navedene simptome i znakove preko kojih bi mogli posumnjati na ovu bolest, već i daje podatke o pridruženim bolestima.

Radiološke metode koje se koriste su radiološka snimka srca i pluća, kompjuterska tomografija (CT), a kao metode koje bi mogle biti korisne ubuduće navode se pozitronska emisijska tomografija (PET), odnosno PET-CT te magnetska rezonanca (MR) (12). CT je preferirana metoda jer ima bolju rezoluciju i osjetljivost od rentgena srca i pluća, a neki od nalaza koji mogu sugerirati postojanje NTM-PB su: noduli s bronhiektazijama, kaviteti i bronhiektazije. Osobito bronhiektazije koje uključuju desni srednji režanj i/ili lingulu ukazuju više na NTM-PB nego na tuberkulozu (12, 23, 24).

Uz kliničku sliku i radiološki nalaz, potvrda dijagnoze počiva na mikrobiološkim metodama. Ipak, svaki rezultat mikrobioloških pretraga treba protumačiti u individualnom kontekstu pojedinog bolesnika jer po istraživanjima samo 25-60 % ljudi s pozitivnom kulturom ispunjava kriterije za NTM-PB (12). Razlog tome mogu biti i prethodno navedene karakteristike NTM, odnosno njihovo prisustvo u tlu i vodovodnoj vodi. Kultivirati se mogu različiti respiratorni uzorci, najčešće iskašljaj i aspirati ili lavati uzeti tijekom bronhoskopije, ili uzorci biopsije tkiva pluća (25).

1.4.1. Dijagnostički kriteriji za plućnu bolest uzrokovanu netuberkuloznim mikobakterijama

Nove smjernice ATS/ERS/ESCMID/IDSA (Američko torakalno društvo/ Europsko respiratorno društvo/ Europsko društvo za kliničku mikrobiologiju i infektologiju/ Američko društvo za zarazne bolesti) društava, kao i one iz 2007. godine (26), preporučuju korištenje kombinacije kliničkih, radioloških i mikrobioloških kriterija za dijagnozu NTM-PB. Značaj

NTM izolata iz sputuma koji ispunjavaju radiološke i kliničke kriterije treba interpretirati s obzirom na broj pozitivnih kultura i izoliranih vrsta (25).

U tablici 1 navedeni su kriteriji za dijagnozu.

Tablica 1. Klinički, radiološki i mikrobiološki kriteriji za dijagnozu plućne bolesti uzrokovane netuberkuloznim mikobakterijama Američkog torakalnog društva i Američkog društva za zarazne bolesti

Kriterij	Opis
Klinički	Plućni ili sistemski simptomi
Radiološki	Nodularni ili kavitarni opaciteti na rendgenu pluća ili
	Kompjuterska tomografija visoke rezolucije na kojoj se vide bronhiektazija s višestrukim malim nodulima
Uz isključenje drugih dijagnoza	
Mikrobiološki	Pozitivne kulture iz barem dva odvojena iskašljaja ili
	Pozitivne kulture iz barem jednog bronhalnog ispiranja ili lavaže ili
	Transbronhalna ili biopsija pluća s mikobakterijskim histološkim karakteristikama (granulomatozna upala ili AFB) i pozitivna kultura na NTM ili biopsija s mikobakterijskim histološkim karakteristikama (granulomatozna upala ili AFB) i jedan ili više sputuma ili bronhalnih lavaža s pozitivnom kulturom na NTM

1.5. Liječenje bolesti uzrokovanih netuberkuloznim mikobakterijama

S obzirom da se najčešće radi o sporo progresivnim bolestima koje zahvaćaju stariju populaciju opterećenu komorbiditetima, a samo liječenje traje dulje od 12 mjeseci i uključuje više lijekova, dijagnoza NTM-PB ne mora nužno značiti i početak terapije. U svakog bolesnika potrebno je prije početka liječenja uzeti u obzir rizike i dobrobiti terapije, dob bolesnika, komorbiditete i tip bolesti (27,28).

U smjernicama iz 2020. godine preporuča se početak terapije kod bolesnika koji ispunjavaju kriterije za NTM-PB, ali je također napomenuto da u odluku o početku terapije treba uključiti i bolesnika te uzeti u obzir kliničku sliku, vrstu NTM i prioritete bolesnika (25).

Odabir antibiotika ovisi primarno o vrsti NTM. Iako do sada ima opisanih preko 190 vrsta, nekih desetak je u značajnijoj mjeri povezano s plućnom bolesti te se u smjernicama i radovima kao najčešći uzročnici spominju MAC, *Mycobacterium kansasii*, *M. xenopi* od spororastućih te *M. abscessus* od brzorastućih NTM-a (3, 5, 12, 25).

Za terapiju plućnih bolesti uzrokovanih navedenim mikroorganizmima preporuča se korištenje više antibiotika istovremeno u različitim kombinacijama (tablica 2).

Tablica 2. Preporučeni antibiotici za liječenje plućne bolesti uzrokovane *Mycobacterium avium* complex, *M. kansasii*, *M. xenopi* i *M. abscessus* prema ATS/ERS/ESCMID/IDSA smjernicama

Mikroorganizam	Antibiotici (u kombinaciji 3 ili više)
<i>M. avium</i> complex	
Nodularno-bronhiektatički oblik	Azitromicin, rifampicin, etambutol
Kavitarni oblik	Azitromicin, rifampicin, etambutol, amikacin IV
Refraktorni oblik	Azitromicin, rifampicin, etambutol, amikacin IV ili inhalacijski amikacin
<i>M. kansasii</i>	Azitromicin, rifampicin, etambutol Isoniazid, rifampicin, etambutol
<i>M. xenopi</i>	Azitromicin, rifampicin, etambutol, amikacin
<i>M. abscessus</i>	Amikacin, cefoksitin, klaritromicin

Ovisno o režimu doziranja, koriste se veće, odnosno manje doze antibiotika. Slično kao kod tuberkuloze, liječenje je dugotrajno i u načelu traje preko godinu dana (12 mjeseci od postizanja negativizacije kulture) (22). Kao alternativa ovim antibioticima, u slučaju refraktorne bolesti ili rezistencije, spominju se klofazimin, linezolid, moksifloksacin te tigeciklin (12, 25).

Kao opcija u liječenju NTM-PB spominje se i kirurška resekcija, ali je ona rezervirana za bolesnike koji su neuspješno liječeni antibioticima, koji imaju kavitarni oblik bolesti i izolate otporne na antibiotike ili kod njih postoje komplikacije poput hemoptize, ili teške bronhiektazije (25).

U liječenju izvanplućnih oblika bolesti preporuča se korištenje antibiotika i kirurško liječenje ovisno o sjelu infekcije (5, 22).

2. Važnost izolacije netuberkuloznih mikobakterija

S obzirom da se radi o okolišnim bakterijama koje su oportunistički patogeni, postoji još puno nepoznanica o netuberkuloznim mikobakterijama, njihovoj važnosti i učestalosti izolacije te samoj incidenciji pa čak i prevalenciji NTM-PB. Klinička važnost izolata ovisi o više čimbenika, a jedan od njih je vrsta NTM. Važnost same vrste procjenjuje se prema postotku ljudi u kojih uzrokuje NTM-PB u odnosu na samo kolonizaciju.

Osim toga, kako je to često slučaj u medicini, pri procjeni kliničke važnosti u obzir treba uzeti i same komorbiditete bolesnika, npr. postoji li neka prethodna plućna bolest koja predstavlja rizični čimbenik za razvoj NTM-PB. Isto tako, budući da je već prije navedeno da su NTM oportunistički patogeni, za pretpostaviti je da će kod ljudi koji iz nekog razloga imaju imunodeficijenciju, makar to bila samo starija životna dob, prije i lakše doći do razvoja NTM-PB.

2.1. Klinička važnost NTM u svijetu

Schiff i suradnici (29) su u Ujedinjenom Kraljevstvu proveli retrospektivnu studiju u kojoj su analizirali podatke iz plućnih uzoraka tijekom sedam godina. Obrađeno je 836 uzoraka od 369 bolesnika, a 25 % (112) bolesnika je zadovoljavalo dijagnostičke kriterije za NTM-PB. Od statistički značajnih simptoma u grupi bolesnika koji zadovoljavaju kriterije izdvojili su gubitak na tjelesnoj masi, vrućicu, noćno znojenje, hemoptizu i produktivni kašalj, a za nadodati je da je bila i češća uporaba inhalacijskih i oralnih steroida iako bez statističke značajnosti. Najčešće izolirane NTM vrste bile su *M. intracellulare* i *M. avium*, a 36 % i 28 % izolata bili su klinički značajni. Najznačajniji izolat bila je vrsta *M. abscessus*, koja je u 56 % slučajeva ispunjavala dijagnostički kriterij.

Slično istraživanje, samo u Nizozemskoj, proveli su van Ingen i suradnici (16), a rezultati njihovog ispitivanja bili su slični rezultatima Schiff i suradnika. Od 232 bolesnika s NTM izolatima, 25 % njih ispunjavalo je dijagnostičke kriterije za plućnu bolest, a najčešći izolat bio je MAC u 40 % ispitanika (16). Unutar MAC, *M. avium* bila je češća i klinički značajnija (41 % bolesnika s izolatom je ispunjavalo kriterije) u odnosu na *M. intracellulare* koja je kriterije zadovoljavala u tek 13%. Unatoč činjenici da je MAC najčešći izolat, druge vrste bile su klinički značajnije. Za napomenuti je svakako *M. kansasii*, u 71 % bolesnika s izolatom potvrđena je bolest te *M. xenopi*, gdje je 3 od 5 bolesnika ispunjavalo kriterije. Zaključili su da posebnu pozornost treba obratiti pri izolaciji ovih vrsta: *M. malmoense*, *M. xenopi*, *M. szulgai*, *M. kansasii*, *M. celatum* i *M. genavensei*.

U Rijadu, Saudijskoj Arabiji, Al-Harbi i suradnici (30) također su pratili značajnost, odnosno važnost i frekvenciju respiratornih izolata. Uzeli su 380 uzoraka od 142 bolesnika, a na kraju su ustanovili dijagnozu plućne bolesti prema ATS kriterijima u 40 (28 %) bolesnika. Najčešće izolirana vrsta bio je MAC, 35 %, a slijedi ga *M. fortuitum* u 24 % slučajeva. *M. tuberculosis* nađen je kao ko-izolat u 9 bolesnika. Među bolesnicima kojima je dijagnosticirana NTM-PB, MAC i *M. abscessus* su bili najčešći izolati, u 19 (48 %), odnosno u 10 (25 %) bolesnika. Napominju kako *M. abscessus* i *M. fortuitum*, brzorastuće NTM, imaju sve veći utjecaj kao potencijalni uzrok plućne bolesti u Saudijskoj Arabiji, što je viđeno i u istraživanju Varghese i suradnika (31).

Epidemiologiji i kliničku važnost NTM izolata, obrađivali su i Braun i suradnici (32) u Haifi, Izraelu, gdje su u tercijarnom centru imali 215 slučajeva s respiratornim izolatima. *M. xenopi* (84, 39 %) je bila najčešća vrsta, a pratila ju je *M. simiae* u 52 bolesnika (24 %). 170 (79 %) slučajeva su okarakterizirali kao moguće, a 24 (11 %) kao vjerojatne NTM-PB dok su tek 21 (9 %) smatrali potvrđenim dijagnozama. Kod potvrđenih dijagnoza, najčešći uzročnik bila je *M. kansasii* (7 slučajeva) te MAC (6 slučajeva). Po dva slučaja bila su uzrokovana vrstama *M. xenopi*, *M. abscessus* i *M. fortuitum*, a po jedan slučaj sa *M. simiae* i *M. chelonae*. Iz priloženih podataka, za zaključiti je da su od klinički značajnih izolata, najčešći bili *M. kansasii* i *M. avium*.

U još jednom tercijarnom centru, centru za tuberkulozu u Peking, Kini, Duan i suradnici (33), prikupili su 232 izolata NTM-a, te došli do toga da je najučestalija vrsta bila *M. intracellulare* u 40 % slučajeva, potom *M. abscessus* u 28 %, dok su značajno manji postotak činile *M. kansasii* u 10 %, *M. fortuitum* u 9 %, *M. avium* i *M. gordonae* u 4 % i *M. szulgai* u 1 %. Budući da nije postojala cjelovita dokumentacija za sve bolesnike, broj analiziranih izolata je smanjen na 185 u 109 bolesnika. Za razliku od ranije navedenih studija, u ovoj su pokazali da je definitivna bolest ustanovljena u 72 (66 %) bolesnika, a zbrojeno definitivna ili vjerojatna bolest čak u 99 (>90 %) bolesnika. Kod 84 % bolesnika s izolatom *M. intracellulare* i 86 % s izolatom *M. abscessus* potvrđena je dijagnoza NTM-PB te su ove dvije bakterije označene kao klinički najznačajnije. Znanstvenici su iz ovog istraživanja kao klinički značajne odredili još i *M. kansasii*, *M. avium* i *M. szulgai*. Napomenuli su i da nijedna osoba s izolatom *M. gordonae* nije imala nikakve znakove bolesti.

Osim u Kini, i u Koreji su se bavili ovim pitanjem. Istraživanje Koh i suradnika (34) prikupilo je 1548 respiratornih izolata od 794 bolesnika koji su bili pozitivni na NTM. MAC s 32 % bio je najučestaliji izolat, nakon njega *M. abscessus* i *M. fortuitum* s 29 % i 17 %. Bolesnike su

grupirali u tri grupe: definitivna bolest, vjerojatna bolest i malo vjerojatna bolest. 17 % dobilo je dijagnozu bolesti a 8 posto vjerojatne, odnosno 195 bolesnika, stoga su zaključili da četvrtina bolesnika s NTM izolatom ima klinički značajnu infekciju. Od klinički značajnih vrsti, najveće uloge imale su MAC (94 bolesnika) i *M. abscessus* (56 bolesnika) koje su bile odgovorne za čak 81 % NTM-PB. Ostale vrste s manjim udjelom bile su: *M. fortuitum complex*, *M. kansasii*, *M. chelonae*, *M. szulgai* i *M. celatum*.

Kad pogledamo većinu radova koji su se bavili ovom temom, dolazimo do činjenice da frekvencija izolacije određenih vrsta, kao i njihova značajnost, uvelike ovise o zemljopisnoj regiji. No, vrste na koje bi svakako trebalo obratit pozornost uključuju: *M. abscessus*, *M. kansasii*, *M. szulgai*, *M. xenopi* te MAC (*M. avium* i *M. intracellulare*).

2.2. Klinička značajnost vrsta NTM u Republici Hrvatskoj

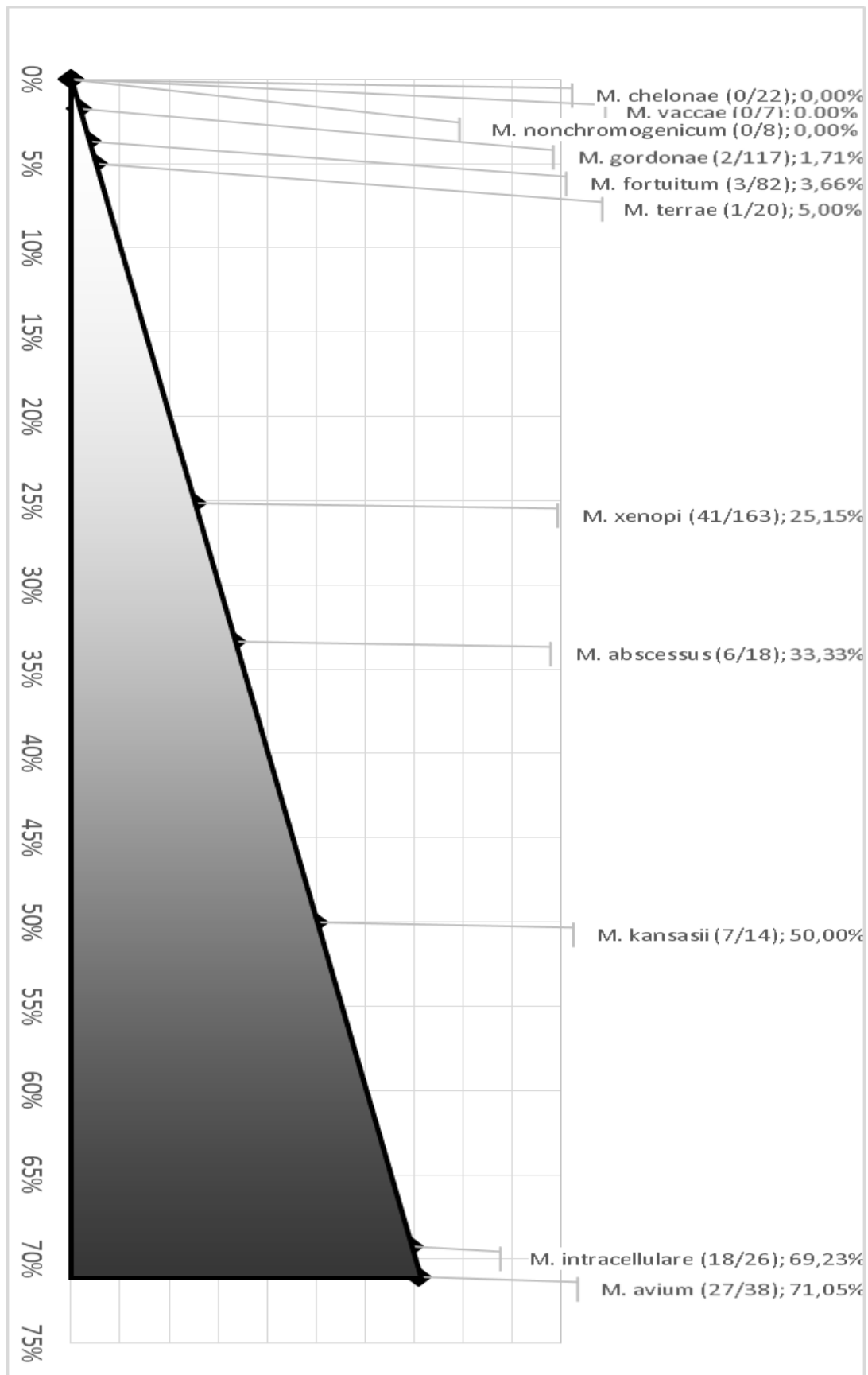
Kao i u svijetu, i u Hrvatskoj važnost NTM vrsta dolazi do izražaja te postoji više radova na ovu temu u posljednjih desetak godina.

Jedan od njih je i retrospektivno kohortno istraživanje o zemljopisnoj raspodjeli i značajnosti NTM unutar Hrvatske Janković i suradnika (3). U periodu od 2006. do 2010. godine, izolirano je ukupno 1710 plućnih izolata NTM u 1187 bolesnika. Najčešće izolirana vrsta bila je *M. gordonae* u 43 % bolesnika, slijedile su je *M. xenopi* u 16 %, *M. fortuitum* u 12 % i *M. terrae* u 8 % bolesnika. Od drugih poznatijih vrsta izolirane su još i *M. avium*, *M. abscessus*, *M. intracellulare* i *M. kansasii*. Uzevši u obzir sve vrste, pa i one nepatogene poput *M. gordonae*, od 1187 bolesnika, 102 (9 %) ih je ispunjavalo kriterij za moguću NTM-PB, a 65 (6 %) za vjerojatnu NTM-PB. Klinički značajne vrste, u smislu postotka bolesnika koji ispunjavaju kriterije za moguću/vjerojatnu bolest, bile su: *M. intracellulare* (9/23, 61 %), *M. avium* (24/42, 57 %), *M. kansasii* (5/10, 50 %) i *M. lentiflavum* (2/5, 40%), a od brzorastućih NTM *M. abscessus* (8/30, 27 %). Ako uzmemo u obzir samo vjerojatne NTM-PB, onda su klinički najznačajnije *M. kansasii* (4/10; 40%), *M. intracellulare* (8/23; 34.8%), *M. avium* (14/42; 33.3%) i *M. xenopi* (21/184; 11.4%). Iako je *M. gordonae* bila najčešće izolirana vrsta, odgovorna je bila tek za 2 slučaja vjerojatne NTM-PB.

Istraživanje Janković i suradnika (35) o upotrebi mikrobioloških kriterija u NTM-PB kao alata za dijagnozu i praćenje epidemiološke slike u našoj zemlji, pokazalo je dobru korelaciju između mikrobioloških i cjelovitih ATS/IDSA kriterija. Ovo istraživanje je također bilo retrospektivno kohortno, a uzeti su plućni uzorci iz razdoblja 2006. do 2013 godine.

Frekvencija izoliranih vrsta NTM prema spolu, zemljopisnoj regiji i mikrobiološkim kriterijima vidljiva je u tablici 3. *M. xenopi* je bila glavni uzročnik NTM-PB, međutim, samo 25 % bolesnika je zadovoljavalo strože kriterije (više od dvije pozitivne kulture iskašljaja ili pozitivan BAL/četkica + još jedan pozitivan iskašljaj). Klinički najznačajnija bila je MAC, a vrste *M. gordonae*, *M. terrae*, *M. chelonae* i *M. fortuitum* nisu bile klinički značajne (slika 1). Osim pokazatelja kliničkog značaja najčešće sretanih NTM vrsta u Hrvatskoj, ova su istraživanja potvrdila i porast frekvencije izolacije NTM kao i zemljopisne različitosti unutar zemlje. Naime, raspodjela NTM vrsta i incidencija NTM-PB značajno se razlikuje između priobalja i kontinentalne Hrvatske.

Slika 1. Klinička značajnost netuberkuloznih mikobakterija (izoliranih iz respiratornih uzoraka) prema postotku bolesnika koji su zadovoljili dijagnostičke kriterije (34) za NTM plućnu bolest (35)



Tablica 3. Frekvencija izolacije (prema zemljopisnoj regiji, spolu i zadovoljenju mikrobiološkog kriterija) NTM u Hrvatskoj (35)

NTM	Total	Gender		Region			Meeting the microbiologic criteria			
		M	F	Inland	Coast	Unkn -own	At least ATS	Only ATS	Strict	Not satisfied
<i>M. gordonae</i>	760	443 (58.3)	317 (41.7)	618 (81.3)	140 (18.4)	2 (0.3)	91 (12)	78 (10.3)	13 (1.7)	669 (88)
<i>M. xenopi</i>	288	190 (66)	98 (34)	153 (53.1)	133 (46.2)	2 (0.7)	104 (36.1)	71 (24.6)	33 (11.5)	184 (63.9)
<i>M. fortuitum</i>	229	141 (61.6)	88 (38.4)	186 (81.2)	43 (18.8)	0 (0)	35 (15.3)	29 (12.7)	6 (2.6)	194 (84.7)
<i>M. terrae</i>	132	71 (53.8)	61 (46.2)	118 (89.4)	14 (10.6)	0 (0)	10 (7.6)	8 (6.1)	2 (1.5)	122 (92.4)
MAC	101	50 (49,5)	51 (50,5)	63 (62,4)	38 (37,6)	0 (0)	65 (64,4)	34 (33,7)	31 (30,7)	36 (35,6)
Avium	57	28 (49,1)	29 (50,9)	31 (54,4)	26 (45,6)	0 (0)	39 (68,4)	23 (40,4)	16 (28,1)	18 (31,6)
intracellul- are	41	22 (53,7)	19 (46,3)	29 (70,7)	12 (29,3)	0 (0)	26 (63,4)	11 (26,8)	15 (36,6)	15 (36,6)
MAC	3	0 (0)	3 (100)	3 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (100)
<i>M. chelonae</i>	85	49 (57.7)	36 (42.3)	74 (87.1)	11 (12.9)	0 (0)	20 (23.5)	16 (18.8)	4 (4.7)	65 (76.5)
<i>M. abscessu s</i>	47	26 (55.3)	21 (44.7)	41 (87.2)	6 (12.8)	0 (0)	15 (31.9)	5 (10.6)	10 (21.3)	32 (68.1)
Other	199	106 (53.3)	93 (46.7)	153 (76.9)	44 (22.1)	2 (1)	30 (15.1)	18 (9.1)	12 (6)	169 (84.9)
Total	1841	1076 (58.4)	765 (41.6)	1406 (76.4)	429 (23.3)	6 (0.3)	370 (20.1)	259 (14.1)	111 (6)	1471 (79.9)

MAC* - *Mycobacterium avium complex*

ATS/IDSA mikrobiološki kriterij – pozitivne kulture barem dva iskašljaja ili jednog bronhoalveolarnog lavata (BAL) ili četkice

Strogi mikrobiološki kriteriji – više od dvije pozitivne kulture iskašljaja ili pozitivan BAL/četkica + još jedan pozitivan iskašljaj

3. Zaključak

Netuberkulozne mikobakterije postaju klinički sve značajnije, što je vidljivo iz epidemioloških podataka koji prate porast godišnje prevalencije izolacije, frekvencije izolacije te prevalencije i incidencije bolesti, ali i iz pojedinih istraživanja koja se bave kliničkim značajem NTM u pojedinim zemljama i zemljopisnim regijama.

Iako su one trenutno relativno marginalizirane u odnosu na *M. tuberculosis* i druge uzročnike plućnih bolesti, poznavanje kliničke važnosti izolacije pojedinih vrsta NTM iz plućnih uzoraka bitno je za svakodnevnu praksu i nove radove. S obzirom da su NTM oportunistički patogeni, a populacija je globalno sve starija, s više kroničnih bolesti i slabijim imunitetom, za očekivati je daljnji rast udjela ovih bakterija u svakodnevnoj kliničkoj praksi.

No, potrebna su daljnja nastojanja i istraživanja kako bi se bolje razumjela priroda netuberkuloznih mikobakterija, pratila njihova epidemiologija i osiguralo kvalitetno i cjelovito liječenje bolesnika zahvaćenih NTM-PB.

4. Zahvale

Zahvaljujem svojoj mentorici, doc. dr. sc. Mateji Janković Makek, na motivaciji, odabiru zanimljive teme, svojoj pomoći, vremenu, strpljenju i ispravicima koje mi je pružila. Bilo mi je zadovoljstvo surađivati tijekom izrade ovoga rada.

Svojoj obitelji, a posebno mojim roditeljima, zahvaljujem na ukazanoj ljubavi te emocionalnoj, logističkoj, financijskoj i drugoj pomoći tijekom ovog studija, ali ne samo studija, već i čitavog života.

Svim svojim prijateljima, kolegama i suradnicima, zahvaljujem na druženju i uspomenama te vam želim puno sreće u daljnjem obrazovanju i radu.

Svojoj Ivi, zahvaljujem na bodrenju, trpljenju i ljubavi koju mi je pružila tijekom studija i pisanja ovoga rada, unatoč mojoj ponekad teškoj naravi.

5. Literatura

1. Falkinham JO 3rd. Environmental sources of nontuberculous mycobacteria. *Clin Chest Med.* 2015 Mar;36(1):35-41. doi: 10.1016/j.ccm.2014.10.003. Epub 2014 Nov 6. PMID: 25676517.
2. Prevots DR, Marras TK. Epidemiology of human pulmonary infection with nontuberculous mycobacteria: a review. *Clin Chest Med.* 2015;36(1):13-34. doi:10.1016/j.ccm.2014.10.002
3. Janković M, Samaržija M, Sabol I, et al. Geographical distribution and clinical relevance of non-tuberculous mycobacteria in Croatia. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2013;17(6):836-841. doi:10.5588/ijtld.12.0843
4. Kalenić S. et al. Medicinska mikrobiologija. Zagreb: Medicinska naklada; 2013.
5. Janković Makek, M. Epidemiologija i klinička važnost plućnih infekcija uzrokovanih netuberkuloznim mikobakterijama [disertacija]. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet; 2014.
6. Thomson RM, Carter R, Tolson C, Coulter C, Huygens F, Hargreaves M. Factors associated with the isolation of nontuberculous mycobacteria (NTM) from a large municipal water system in Brisbane, Australia. *BMC Microbiol* 2013;13:89.
7. Iseman M, Chan E. Underlying host risk factors for nontuberculous mycobacterial lung disease. *Semin Respir Crit CareMed.* 2013;34:110–23.
8. Doucette K, Fishman JA. Nontuberculous mycobacterial infection in hematopoietic stemcell and solid organ transplant recipients. *ClinInfectDis.* 2004;38:1428–39.
9. Van Ingen J, Boeree M, Janssen M, et al. Pulmonary Mycobacterium szulgai infection and treatment in a patient receiving anti tumor necrosis factor therapy. *NatClin Pract Rheumatol.* 2007;3:414–9.
10. Marras TK, Daley CL. A systematic review of the clinical significance of pulmonary Mycobacterium kansasii isolates in HIV infection. *JAcquir ImmuneDeficSyndr.* 2004;36:883-9
11. Glodić G, Samaržija M, Sabol I, et al. Risk factors for nontuberculous mycobacterial pulmonary disease (NTM-PD) in Croatia. *Wien Klin Wochenschr.* 2021 Nov;133(21-22):1195-1200. doi: 10.1007/s00508-021-01923-x. Epub 2021 Aug 17.
12. Stout JE, Koh WJ, Yew WW. Update on pulmonary disease due to non-tuberculous mycobacteria. *Int J Infect Dis.* 2016;45:123-134. doi:10.1016/j.ijid.2016.03.006
13. Pedro Hda S, Pereira MI, Goloni Mdo R, Ueki SY, Chimara E. Nontuberculous mycobacteria isolated in Sao Jose do Rio Preto, Brazil between 1996 and 2005. *J Bras Pneumol* 2008;34:950–5.

14. 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;23:741–6.
15. Gerogianni I, Papala M, Kostikas K, Petinaki E, Gourgoulianis KI. Epidemiology and clinical significance of mycobacterial respiratory infections in Central Greece. *Int J Tuberc Lung Dis* 2008;12:807–12.
16. van Ingen J, Bendien SA, de Lange WC, Hoefsloot W, Dekhuijzen PN, Boeree MJ, et al. Clinical relevance of non-tuberculous mycobacteria isolated in the Nijmegen-Arnhem region, the Netherlands. *Thorax* 2009;64:502–6.
17. Žmak Lj, Janković M, Obrovac M, Katalinić-Janković V. Non-tuberculous mycobacteria. *Infektološki glasnik* [Internet]. 2013;33(2):95-101
18. Morimoto K, Iwai K, Uchimura K, et al. A Steady Increase in Nontuberculous Mycobacteriosis Mortality and Estimated Prevalence in Japan. *Annals of the American Thoracic Society*. 2014; 11:1–8.
19. Newman MJ, Addo KK, Aboagye S, Bonsu FA, Caulley P, Hesse IF, et al. Culture and sensitivity of mycobacterial isolates from cases of pulmonary tuberculosis classified as treatment failures in a teaching hospital. *West Afr J Med* 2007;26:131–3.
20. Maiga M, Siddiqui S, Diallo S, Diarra B, Traore B, Shea YR, et al. Failure to recognize nontuberculous mycobacteria leads to misdiagnosis of chronic pulmonary tuberculosis. *PLoS One* 2012;7:e36902.
21. Thomson RM. Changing epidemiology of pulmonary nontuberculous mycobacteria infections. *Emerg Infect Dis* 2010;16:1576–83.
22. Begovac J. et al. *Klinička infektologija*. Zagreb: Medicinska naklada; 2019.
23. Lynch DA, Simone PM, Fox MA, Bucher BL, Heinig MJ. CT features of pulmonary *Mycobacterium avium* complex infection. *J Comput Assist Tomogr* 1995;19:353–60.
24. Marras TK, Wagnetz U, Jamieson FB, Patsios DA. Chest computed tomography predicts microbiological burden and symptoms in pulmonary *Mycobacterium xenopi*. *Respirology* 2013;18:92–101.
25. Daley CL, Iaccarino JM, Lange C, et al. Treatment of nontuberculous mycobacterial pulmonary disease: an official ATS/ERS/ESCMID/IDSA clinical practice guideline. *Eur Respir J* 2020; 56:2000535 [<https://doi.org/10.1183/13993003.00535-2020>].
26. Griffith DE, Aksamit T, Brown-Elliott BA, et al. An official ATS/IDSA statement: diagnosis, treatment, and prevention of nontuberculous mycobacterial diseases. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 175: 367–416.
27. Thomson RM, Yew WW. When and how to treat pulmonary non-tuberculous mycobacterial diseases. *Respirology* 2009;14:12–26.

28. Griffith DE, Aksamit T, Brown-Elliott BA, Catanzaro A, Daley C, Gordin F, et al. An official ATS/IDSA statement: diagnosis, treatment, and prevention of nontuberculous mycobacterial diseases. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 175:367–416.
29. Schiff HF, Jones S, Achaiah A, Pereira A, Stait G, Green B. Clinical relevance of non-tuberculous mycobacteria isolated from respiratory specimens: seven year experience in a UK hospital. *Sci Rep.* 2019 Feb 11;9(1):1730. doi: 10.1038/s41598-018-37350-8. PMID: 30741969; PMCID: PMC6370870.
30. Al-Harbi A, Al-Jahdali H, Al-Johani S, Baharoon S, Bin Salih S, Khan M. Frequency and clinical significance of respiratory isolates of non-tuberculous mycobacteria in Riyadh, Saudi Arabia. *Clin Respir J.* 2016 Mar;10(2):198-203. doi: 10.1111/crj.12202. Epub 2014 Sep 4. PMID: 25130951.
31. Varghese B, Memish Z, Abuljadayel N, Al-Hakeem R, Alrabiah F, Al-Hajoj SA. Emergence of clinically relevant non-tuberculous mycobacterial infections in Saudi Arabia. *PLoS Negl Trop Dis.* 2013;7(5): e2234.
32. Braun E, Sprecher H, Davidson S, Kassis I. Epidemiology and clinical significance of non-tuberculous mycobacteria isolated from pulmonary specimens. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2013 Jan;17(1):96-9. doi: 10.5588/ijtld.12.0237. Epub 2012 Nov 9. PMID: 23146427.
33. Duan H, Han X, Wang Q, Wang J, Wang J, Chu N, Huang H. Clinical Significance of Nontuberculous Mycobacteria Isolated From Respiratory Specimens in a Chinese Tuberculosis Tertiary Care Center. *Sci Rep.* 2016 Nov 3;6:36299. doi: 10.1038/srep36299. PMID: 27808247; PMCID: PMC5093757.
34. 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 Feb;129(2):341-348. doi: 10.1378/chest.129.2.341. PMID: 16478850.
35. Jankovic M, Sabol I, Zmak L, Jankovic VK, Jakopovic M, Obrovac M, Ticac B, Bulat LK, Grle SP, Marekovic I, Samarzija M, van Ingen J. Microbiological criteria in non-tuberculous mycobacteria pulmonary disease: a tool for diagnosis and epidemiology. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2016 Jul;20(7):934-40. doi: 10.5588/ijtld.15.0633. PMID: 27287647.

6. Životopis

Kristijan Lipovac rođen je 23. srpnja 1997. godine u Zagrebu. Osnovnu i srednju školu završio je u Zagrebu te je upisao Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu 2016. godine. Tijekom studija sudjelovao je u logističkoj potpori više inačica Croatian student summita (CROSS), a 2022. godine bio je član organizacijskog odbora CROSS-a 17. U akademskoj godini 2021/2022 bio je predstavnik 6. godine studija, član Studentskog zbora i Fakultetskog vijeća Medicinskog fakulteta, te je sudjelovao na kongresu Društva nastavnika opće/obiteljske medicine DNOOM XIII pod mentorstvom doc.dr.sc. Valerije Bralić Lang. Tečno razumije i koristi engleski jezik u govoru i pismu, te ima osnovno poznavanje njemačkog jezika.