

OTPORNOST IZOLATA VRSTE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* NA ANTIBIOTIKE U HRVATSKOJ U GODINI 2004.

ANTIMICROBIAL RESISTANCE OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ISOLATES FROM CROATIA IN YEAR 2004

Ana Budimir¹, Zrinka Bošnjak¹, Smilja Kalenić¹, Tera Tambić², Arjana Tambić Andrašević³,
te članovi Odbora za praćenje otpornosti bakterija na antibiotike u Republici Hrvatskoj²

SAŽETAK

Uvod: Izolati vrste *Staphylococcus aureus* (SA), poglavito SA otpornih na meticilin (MRSA), imaju veliku važnost u bolničkoj sredini, a zadnjih nekoliko godina i u izvanbolničkome okruženju. Za razliku od višestruko otpornih bolničkih MRSA, većina izvanbolničkih MRSA u pravilu je otporna jedino na beta-laktamske antibiotike, a mnogi imaju i gen za produkciju Panton-Valentine leukocidina i virulentniji su.

Svrha rada: U sklopu praćenja otpornosti bakterija na antibiotike koje provodi Akademija medicinskih znanosti Hrvatske, obavljeno je ispitivanje antimikrobne osjetljivosti sojeva vrste *S. aureus*. Uz ispitivanje osjetljivosti, provedena je također analiza podrijetla izolata i vrste uzoraka iz kojih je SA izoliran.

Metode: Od početka mjeseca listopada do konca mjeseca prosinca 2004., sakupljani su uzastopni izolati vrste *S. aureus* iz 27 laboratorija u 20 gradova u Hrvatskoj. Tijekom prikupljanja sojeva, bilo je potrebno popuniti obrazac koji je sadržavao osnovne podatke, podatke vezane uz boravak bolesnika u bolnici, osnovnu i

trenutačnu dijagnozu, te ostale podatke. Prikupljeno je 1815 sojeva koji su testirani na 18 antibiotika disk-difuzijskim postupkom prema napucima CLSI-a, te interpretacijskim standardima BSAC-a za mupirocin i fucidinsku kiselinu. U prikupljanju izolata za to istraživanje, centri sudionici obradili su uzorke uzete od hospitaliziranih bolesnika, ali i od bolesnika koji su se liječili ambulantno, ili su posjećivali liječnika opće prakse.

Rezultati i zaključak: Zbirka izolata vrste *S. aureus* obuhvaćala je dominantan broj izolata obrađenih u Hrvatskoj u posljednjim trima mjesecima godine 2004., te je dala važan uvid u profil otpornosti i vrstu uzoraka koji se rutinski zaprimaju i obrađuju. Najzastupljeniji bili su izolati iz brisa nosa/nazofarinksa, odnosno 48%, iz brisa rane bilo je 27% izolata, iz krvi i likvora bilo je 4% izolata, a izolata koji potječu iz iskašlja i donjih dišnih putova bilo je 9%. Postotak MRSA izolata varirao je od 0% do 47,6%.

Cljučne riječi: *Staphylococcus aureus*, otpornost, antibiotici, MRSA, izvanbolnički izolati

¹ Klinički zavod za kliničku i molekularnu mikrobiologiju, Klinički bolnički centar Zagreb

² Akademija medicinskih znanosti Hrvatske (AMZH), Kolegij za javno zdravstvo

³ Klinika za infektivne bolesti «Dr. Fran Mihaljević», Referentni centar za praćenje rezistencije bakterija na antibiotike Ministarstva zdravstva i socijalne skrbi RH

Primljeno: 1. 2. 2007.

Prihvaćeno: 25. 3. 2007.

Adresa za dopisivanje: Ana Budimir, dr. med., Klinički zavod za kliničku i molekularnu mikrobiologiju, Klinički bolnički centar Zagreb, Šalata 2, 10000 Zagreb, tel.: 01 49 20 026, e-mail: abudimir@kbc-zagreb.hr

ABSTRACT

Introduction: *Staphylococcus aureus* (SA) isolates and, especially, methicillin-resistant SA present significant pathogens in hospital surrounding and in recent years in community settings. Community-acquired MRSA, different than hospital-acquired isolates, are often sensitive to non-beta-lactam antibiotics. They are also known as carriers of gen coding the Panton Valentin leucocidin which contributes their virulence.

Study goal: As a part of annual resistance surveillance coordinated by Croatian academy of medical sciences, study on resistance of *Staphylococcus aureus* isolates to antimicrobial drugs was performed together with analysis of origin of strains and number of strains isolated from different body sites.

Methods: During last three months of 2004 (October till December), successive *Staphylococcus aureus* isolates were collected from 27 laboratories in 20 Croatian cities. Strains were sent to Department of clinical and molecular microbiology in CHC Zagreb with accompanying form containing patient data, diagnosis, hospital stay and other epidemiological data. During that period, 1815 isolates were collected and sensitivity testing to 18 antimicrobial drugs was performed according to CLSI guidelines and interpretation standards, and interpretation of BSAC for mupirocin and fucidic acid.

Results and conclusion: Collection of *S. aureus* isolates presents majority of Croatian isolates in study period, therefore susceptibility results are representative of Croatia. 48% of SA is isolated from nasal/nasopharyngeal swabs, wound swab percentage is 27%, sputum and lower respiratory tract specimen is represented with 9% of isolates, percentage of blood and CSF isolates is 4%. MRSA prevalence varies from 0% to 47.6%.

Key words: *Staphylococcus aureus*, resistance, antibiotics, community-acquired MRSA

UVOD

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) jedan je od najzastupljenijih i najprilagodljivijih ljudskih patogena. Ima sposobnost usvajanja gena, otporan je na sve dosad primjenjivane antibiotike, a postojećem rasponu gena virulencije pridružuju se novi geni.

Staphylococcus aureus otporan na meticilin, vodeći je problem u kontroli infekcija i u provođenju higijensko-epidemioloških mjera u bolnicama, a sve se češće spominje njegova prisutnost i u izvanbolničkome okruženju.

Svrha je ovoga istraživanja – uz uvid u profil otpornosti izolata vrste *S. aureus* – analiza podrijetla izolata, bilo da je riječ o bolničkim izolatima, ili o izolatima prikupljenim od ambulantnih bolesnika.

U sklopu praćenja otpornosti bakterija na antibiotike Akademije medicinskih znanosti Hrvatske, provedeno je ispitivanje antimikrobne osjetljivosti sojeva vrste *S. aureus*. Od početka mjeseca listopada do konca mjeseca prosinca 2004., sakupljani su uzastopni izolati vrste *S. aureus* iz 27 laboratorija u

20 gradova u Hrvatskoj. Laboratoriji obuhvaćaju izolate koji su izolirani u bolničkoj sredini, a velik je i broj izvanbolničkih izolata.

Tijekom prikupljanja sojeva, bilo je potrebno popuniti obrazac koji je sadržavao osnovne podatke, podatke vezane uz boravak bolesnika u bolnici, osnovnu i trenutačnu dijagnozu, te ostale podatke.

Prikupljeno je 1815 sojeva koji su dalje obrađivani u Kliničkome zavodu za kliničku i molekularnu mikrobiologiju Kliničkoga bolničkoga centra Zagreb.

U tablici 1. prikazan je popis laboratorija sudionika istraživanja, s pripadajućim brojem izolata koji potječu od bolničkih i izvanbolničkih bolesnika. Najveći broj izolata (243 soja) poslan je iz ZZJZ-a Osječko-baranjske županije, a slijedi KBC Zagreb s 220 izolata vrste *S. aureus*.

Iz tablice se može vidjeti da određeni bolnički laboratoriji obrađuju uglavnom bolničke uzorke, primjerice: KB Split, KBC Zagreb, Klinika za infektivne bolesti F. Mihaljević, Zagreb, OB Sv. Duh, Zagreb, Klinika za plućne bolesti Jordanovac, Zagreb, KBC Rijeka i Medicinski fakultet Rijeka.

Izolati javnozdravstvenih laboratorija potječu najčešće od izvanbolničke populacije: ZZJZ Karlovačke županije, Karlovac, DZ Našice, OB Nova Gradiška, OB Ogulin, ZZJZ Istarske županije, Pula, ZZJZ Split, ZZJZ Vukovarsko-srijemske županije, Vinkovci, ZZJZ Sveti Rok, Virovitica, HZZJZ Zagreb, ali pojedini laboratoriji u visokome postotku obrađuju bolničke izolate: ZZJZ Osječko-baranjske županije, Osijek, ZZJZ Brodsko-posavske županije, Slavonski Brod, ZZJZ Međimurske županije, Čakovec, ZZJZ Dubrovačko-neretvanske županije, Dubrovnik, ZZJZ Sisačko-moslavačke županije, Sisak, ZZJZ Zadarske županije, Zadar, ZZJZ Bjelovarsko-bilogorske županije, Bjelovar, ZZJZ Kopriivničko-križevačke županije, Koprivnica, OB Ogulin.

U tablici 2. prikazana je zastupljenost vrsta uzoraka iz kojih su izolirani sojevi vrste *S. aureus*.

Na slici 1. prikazani su postoci vrsta uzoraka. Može se vidjeti da su s 48% najzastupljeniji uzorci brisa nosa i nazofarinksa, i to su tipični kolonizacijski uzorci. Prema visini postotka uzoraka slijede izolati iz brisa rane s 27%, izolati iz iskašljaja zastupljeni su s 9%, te uzorci iz donjih dišnih putova također s 9%. U zajedničku skupinu svrstani su izolati iz krvi i iz likvora zastupljeni s 4%, kao nedvojbeno klinički važni izolati.

METODE

Identifikacija sojeva

Izolati su identificirani kao *Staphylococcus aureus* na osnovi morfoloških obilježja i enzima katalaze, DNA-ze, te vezane koagulaze¹.

Testiranje osjetljivosti sojeva na antibiotike

Nakon konačne identifikacije, osjetljivost bakterija na antimikrobne lijekove testirana je disk-difuzijskim postupkom na sljedeće antibiotike: penicilin (10 IJ), oksacilin (1 µg), cefoksitin (30 µg), klindamicin (2 µg), azitromicin (15 µg), eritromicin (15 µg), gentamicin (10 µg), amikacin (30 µg), ciprofloksacin (5 µg), tetracilin (30 µg), nitrofurantoin (300 µg), na fucidinsku kiselinu (10 µg), mupirocin (20 µg), rifampicin (5 µg), vankomicin (30 µg), linezolid (30 µg), sulfametoksazol-trimetoprim (1,25/23,75 µg) i trimetoprim (5 µg), (BBL, Becton Dickinson, Le Pont de Claix, Francuska). Disk-difuzijski postupak proveden je prema standardima CLSI-a (engl. Clinical and laboratory standards institute). Interpretacija je obavljena prema CLSI standardima², izuzev fucidinske kiseline

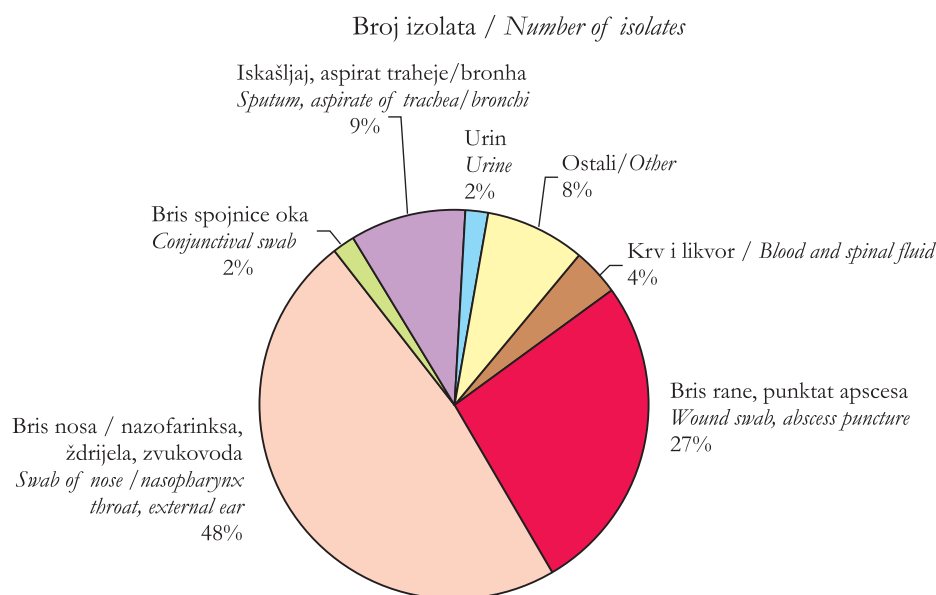
i mupirocina – za interpretaciju njihovih rezultata korištene su smjernice Britanske udruge za antimikrobnu terapiju³ i Odbora za antimikrobno testiranje Francuske mikrobiološke udruge⁴.

Najmanja inhibitorna koncentracija za oksacilin, određena je mikrodilucijom u bujonu, prema postupku koga preporučuje CLSI². Kontrolni soj korišten u disk-difuzijskome postupku i mikrodiluciji u bujonu, bio je *S. aureus* ATCC 29213.

Određivanje prisutnosti *mecA* gena

U rutinskome radu laboratorija, za probir i potvrdu MRSA izolata koriste se različiti postupci, oksacilinska ploča (agar u komu se nalazi oksacilin u koncentraciji 6mg/L), lateks aglutinacija s protutijelima za PBP 2a, a kao "zlatni standard" koristi se otkrivanje *mecA* gena.

Postupak amplifikacije *mecA* gena opisali su autori Deurenberg i suradnici⁵. U otkrivanju *mecA* gena najčešće se koriste dvije vrste početnica, a u našoj su analizi korištene početnice koje su u literaturi ocijenjene kao homolognije *mecA* genu⁶. Očekivana veličina fragmenta amplifikacijskoga produkta jest 527 pb.



Slika 1. Postotak različitih vrsta izolata vrste *S. aureus*

Picture 1 Percentage of strains isolated from different body sites

Tablica 1. Izolati vrste *S. aureus* dobiveni od hospitaliziranih i nehospitaliziranih bolesnikaTable 1 Number of *S. aureus* strains isolated from hospitalized and non-hospitalized patients

Centar / Center	Broj izolata <i>S. aureus</i> izoliranih od hospitaliziranih bolesnika <i>Number of S. aureus strains isolated from hospitalized patients</i>	Broj izolata <i>S. aureus</i> izoliranih od ambulantnih bolesnika <i>Number of S. aureus strains isolated from outpatients</i>
ZZJZ Bjelovarsko-bilogorske županije, Bjelovar	5	5
ZZJZ Međimurske županije, Čakovec	28	41
ZZJZ Dubrovačko-neretvanske županije, Dubrovnik	37	68
ZZJZ Karlovačke županije, Karlovac	1	139
ZZJZ Koprivničko-križevačke županije, Koprivnica	8	7
DZ Našice	5	50
OB Nova Gradiška	5	37
OB Ogulin	13	49
ZZJZ Osječko-baranjske županije, Osijek	111	132
ZZJZ Istarske županije, Pula	5	23
KBC Rijeka, Medicinski fakultet, Rijeka	34	15
ZZJZ Sisačko-moslavačke županije, Sisak	15	11
ZZJZ Brodsko-posavske županije, Slavonski Brod	28	20
ZZJZ županije Splitsko-dalmatinske, Split	0	64
KB Split	86	13
ZZJZ Šibensko-kninske županije, Šibenik	6	0
ZZJZ Varaždinske županije, Varaždin	51	60
ZZJZ Vukovarsko-srijemske županije, Vinkovci	6	18
ZZJZ Sveti Rok, Virovitica	9	36
OB Vukovar	16	6
ZZJZ Zadarske županije, Zadar	27	87
KBC Zagreb	197	23
Klinika za infektivne bolesti F. Mihaljević, Zagreb	49	13
HZZJZ Zagreb	0	20
ZZJZ Zagreb, KB Merkur, Zagreb	17	6
OB Sv. Duh, Zagreb	42	0
Klinika za dječje bolesti Klaićeva, Zagreb	6	5
Klinika za plućne bolesti Jordanovac, Zagreb	37	23
Ukupno / Total	844	971

Rezultati testiranja osjetljivosti na antibiotike

Testirani su svi sojevi prikupljeni u navedenome razdoblju. Izolati koji nisu zadovoljili kriterije identifikacije, te izolati koji su bili kontaminirani, isključeni su iz analize. Ukupno 1815 sojeva testirano je na 18 antibiotika. U skupinu testiranih antibiotika uvršteni su antibiotici koji su terapijski bitni za stafilokoke, te antibiotici čija djelotvornost može biti marker za virulentni klon, poput fucidinske kiseline.

Među izolatima iz zbirke nije zabilježena otpornost na vankomicin, a 6 izolata vrste *S. aureus* pokazalo je otpornost na linezolid. Također, nije zabilježena otpornost na nitrofurantoin. Izolata otpornih na fucidinsku kiselinu bilo je 7, a 42 izolata bila su otporna na mupirocin. Među izolatima iz centra u Zadru, 8,8% bilo je otporno na fucidinsku kiselinu.

U tablici 3. prikazana je ukupna otpornost na antibiotike u Hrvatskoj. Otpornost na pencilin iznosi 85,06%, a izolati otporni na meticilin obuhvaćaju 14,1%.

Tablica 2. Vrsta uzoraka u zbirci *S. aureus* izolataTable 2 Sample types in *S. aureus* collection

Uzorak / Sample	Krv i likvor Blood and spinal fluid	Bris rane, punktat apscesa Wound swab, abscess puncture	Bris nosa / nazofarinksa, ždrijela, zvukovoda Swab of nose / nasopharynx throat, external ear	Bris spojnice oka Conjunctival swab	Iskašljaj, aspirat traheje, bronha Sputum, aspirate of trachea, bronchi	Urin Urine	Istalo Other
Broj izolata Number of isolates	70	483	868	37	170	36	151
Postotak izolata podrijetlom iz različitih uzoraka Percent of isolates from different samples	4	27	48	2	9	2	8

Tablica 3. Zbirna tablica *S. aureus* izolata na testirane antibiotikeTable 3 Summary of *S. aureus* resistance to tested antibiotics

Antibiotik Antibiotic	Broj otpornih izolata (intermedijarni) Number of resistant isolates (intermediate)	Postotak otpornih izolata Percent of resistant isolates
P	1544	85,06
OX	256	14,1
FOX	256	14,1
E	358 (4)	19,7
CLI	300 (15)	16,5
AZM	358 (3)	19,7
RIF	27 (1)	1,49
VAN	0	0
CIP	224 (1)	12,3
LZD	4	0,22
GEN	243 (1)	13,4
AM	22 (3)	1,2
TE	219 (7)	12,1
TMP	47 (1)	2,6
SXT	9	0,5
MUP	42	2,3
FA	7	0,38
NIT	0	0

P-penicilin, **OX**-oksacilin, **FOX**-cefoksitin, **E**-eritromicin, **CLI**-klindamicin, **AZM**-azitromicin, **RIF**-rifampicin, **VAN**-vankomicin, **CIP**-ciprofloksacin, **LZD**-linezolid, **GEN**-gentamicin, **AM**-amikacin, **TE**-tetraciklin, **TMP**-trimetoprim, **SXT**-sulfametoksazol, **MUP**-mupirocin, **FA**-fucidinska kiselina, **NIT**-nitrofurantoin (broj u zagradi označava intermedijarno otporni izolat)

Tijekom razdoblja istraživanja, u pojedinim centrima nije zabilježena otpornost na meticilin, primjerice u ZZJZ-u Međimurske županije, te u KBC-u Rijeka. U bolničkim laboratorijima velikih centara (KBC Split, KBC Zagreb), otpornost na meticilin iznosila je 35,3%, odnosno 24,5%.

Rezultati otkrivanja *mecA* gena

Kao polazni rezultat u opisanoj analizi MRSA izolata, korištena je osjetljivost na oksacilin i cefoksitin prema disk-difuzijskome postupku.

U svim izolatima u kojima je disk-difuzijskim postupkom ustanovljena smanjena osjetljivost, odnosno otpornost na oksacilin ili cefoksitin, određena je prisutnost *mecA* gena.

Izolati u kojima je fenotipski ustanovljena otpornost na *S. aureus* (256 izolata), testirani su na prisutnost *mecA* gena. Od 256 ispitanih izolata, 254 izolata bila su pozitivna na *mecA* gen. Kao kontrolni *mecA* pozitivni sojevi, korišteni su MRSA izolati COL i WIS.

COL jest MRSA soj izoliran prvi put godine 1965. u Velikoj Britaniji. Poznat je kao predstavnik arhaičnoga klona čija su obilježja SCC*mec* tip I, *ccrAB* 1, sekvencijski tip (ST) 4.

WIS jest MRSA izolat podrijetlom iz Australije, čija su obilježja SCC*mec* tip V, ima *ccrC*.

Dva su se izolata pokazala *mecA* negativnima. Za izolate koji su disk-difuzijskim postupkom pokazali otpornost, a *mecA* su negativni, određena je minimalna inhibitorna koncentracija (MIK) oksacilina mikrodilucijskim postupkom prema CLSI standardima.

Tijekom testiranja minimalne inhibitorne koncentracije postupkom mikrodilucije, kao kontrolni izolati korišteni su *S. aureus* ATCC 29213 i *S. aureus* ATCC 25923.

MIK za oba izolata iznosio je 8 mg/L, stoga su ti izolati uvršteni u skupinu granično otpornih izolata na oksacilin (engl. Borderline-oxacillin-resistant strains, BORSA).

U tablici 4. prikazan je broj MRSA i MSSA izolata iz svakoga laboratorija. Postotak MRSA najviši je u Općoj bolnici Sveti Duh, iz koga potječu 20 MRSA izolata i 22 MSSA izolata.

Iz centara u Čakovcu, Rijeci i Ogulinu, u ispituvanu razdoblju nije bilo MRSA izolata.

Raspon postotka MRSA izolata kreće se od 0% do 47,6%.

Iz javnozdravstvenih ustanova dolazi zamjetan postotak kolonizacijskih izolata, među kojima se nalazi manji broj MRSA izolata. MRSA izolati

češće su nađeni u izolatima povezanim s bolnicama, iz laboratorija koji obrađuju bolničke uzorke.

Izvanbolnički MRSA

Veliki broj izvanbolničkih (engl. community-acquired, community-associated, CA) MRSA izolata kolonizira kožu i nosni vestibulum, i tek u određenim uvjetima izaziva infekcije. Iznimka su virulentni sojevi koji se češće vežu uz infekciju negoli uz kolonizaciju.

Na osnovi epidemioloških podataka, u našem smo istraživanju dobivene MRSA izolate svrstali u izolate dobivene od hospitaliziranih bolesnika, te u izolate dobivene od ambulantnih bolesnika kojima pripadaju također sojevi izolirani iz nadzornih kultura uzetih tijekom sistematskih pregleda zdravstvenih i prehrambenih djelatnika.

U tablici 5. navedeni su centri iz kojih su poslani MRSA izolati, te podjela u dvije glavne skupine: bolnički i izvanbolnički izolati. S obzirom na dostupne epidemiološke podatke, izvanbolnički izolati podijeljeni su na izolate koji se povezuju s bolničkim liječenjem i koji pripadaju skupini bolničkih (engl. health care-associated, HA) MRSA, te na izolate koji se ne mogu povezati s rizičnim čimbenicima tipičnim za HA-MRSA. Trećoj skupini pripadaju izolati za koje nema dovoljno podataka da bi bili svrstani u navedene dvije skupine.

Rizični čimbenici koji izolate povezuju s bolničkim MRSA-om, obuhvaćaju:

- boravak u bolnici tijekom protekle godine dana
- uzimanje antibiotika u tom razdoblju
- bliski kontakt s osobom s navedenim rizičnim čimbenicima, ili sa zaposlenicima u bolničkomu sustavu
- kroničnu bolest
- česte odlaske u bolnicu na ambulantno liječenje ili zahvate
- smještaj u ustanovu tijekom protekle godine dana

Navedeni podaci koriste se za razjašnjavanje podrijetla MRSA izolata. Prema definicijama, prisutnost navedenih rizičnih čimbenika, uz genetsku analizu, smješta MRSA izolate u bolničku ili izvanbolničku skupinu.

Ukupni broj ambulantnih izolata iznosi 28. Od toga se broja za 10 izolata mogu naći čimbenici koji ih povezuju uz bolničku sredinu. Za šest MRSA izolata nema povezanosti s bolnicom, tako da su epidemiološki smatrani CA-MRSA.

Za narednih 11 izolata nema podataka na osnovi kojih bi bili svrstani u skupinu bolničkih ili

Tablica 4. Raspodjela MRSA i MSSA izolata prema laboratorijima iz kojih potječu

Table 4 Distribution of MRSA and MSSA isolates per laboratory

Centar / Center	Broj izolata Number of isolates	MRSA	MSSA	% MRSA
ZZJZ Bjelovarsko-bilogorske županije, Bjelovar	10	3	7	30
ZZJZ Međimurske županije, Čakovec	69	0	69	0
ZZJZ Dubrovačko-neretvanske županije, Dubrovnik	104	25	79	24,8
ZZJZ Karlovačke županije, Karlovac	140	4	136	2,8
ZZJZ Koprivničko-križevačke županije, Koprivnica	15	1	14	6,7
DZ Našice	55	0	55	0
OB Nova Gradiška	42	2	40	4,8
OB Ogulin	62	0	62	0
ZZJZ Osječko-baranjske županije, Osijek	243	17	226	7
ZZJZ Istarske županije, Pula	28	6	22	21,4
KBC Rijeka, Medicinski fakultet Rijeka	49	0	49	0
ZZJZ Sisačko-moslavačke županije, Sisak	26	10	16	38,5
ZZJZ Brodsko-posavske županije, Slavonski Brod	48	7	41	14,6
ZZJZ Split	64	1	63	1,6
KBC Split	100	35	65	35,3
ZZJZ Šibensko-kninske županije, Šibenik	6	0	6	16,7
ZZJZ Varaždinske županije, Varaždin	111	16	95	14,4
ZZJZ Vukovarsko-srijemske županije, Vinkovci	24	1	23	4,2
ZZJZ Sveti Rok, Virovitica	45	4	41	8,9
OB Vukovar	22	1	21	4,5
ZZJZ Zadarske županije, Zadar	114	11	103	9,6
KBC Zagreb	220	54	166	25,4
Klinika za infektivne bolesti F. Mihaljević, Zagreb	62	11	51	17,7
HZZJZ Zagreb	20	1	19	5
ZZJZ Zagreb, KB Merkur Zagreb	23	9	14	39,1
OB Sv. Duh, Zagreb	42	20	22	47,6
Klinika za dječje bolesti Klaićeva, Zagreb	11	1	10	9
Klinika za plućne bolesti Jordanovac, Zagreb	60	14	46	25
Ukupno / Total	1815	254	1561	-

“tipičnih” izvanbolničkih izolata. Dodatnim molekularnim analizama (neobjavljeni rezultati), tih 11 izolata pokazuje obilježja tipična za bolnički MRSA.

U skupini izvanbolničkih izoliranih sojeva za koje nema epidemioloških podataka o povezanosti s HA-MRSA-om, nalazi se 11 izolata.

RASPRAVA

Staphylococcus aureus jest mikroorganizam koji je razvio mehanizme otpornosti na sve antibiotike dostupne u liječenju infekcija izazvanih stafilokokima. Od antibiotika na koje je *S. aureus* razvio otpornost, najbitnije je navesti antibiotike koji su neizostavni dio terapijske sheme liječenja infekcija izazvanih stafilokokima, te mehanizme otpornosti koji su obilježili takozvanu antibiotsku eru.

Penicilin kao lijek izbora u liječenju stafilokoknih infekcija, gotovo je u potpunosti napušten. Prema pojedinim istraživanjima⁷, preostali broj izolata osjetljivih na djelovanje penicilina, iznosi 20%. U Hrvatskoj, tijekom tromjesečna razdoblja u godini 2004., postotak izolata otpornih na penicilin iznosio je 85,6%.

Otpornost na meticilin u Hrvatskoj, povećana je među ukupnim izolatima od 1,4% u godini 1999., prema Izvješću Akademije medicinskih znanosti Hrvatske iz godine 1999., na 14,1% u godini 2004., prema podacima koje smo dobili testiranjem izolata disk-difuzijskim postupkom. Riječ je o deseterostruku povećanju postotka broja izolata tijekom petogodišnjega razdoblja. Valja naglasiti da je u godini 1999.⁸ broj izolata kojih je ispitivana osjetljivost na antibiotike bio veći (6793 izolata) negoli u našem istraživanju (1815 izolata). Prevalencija MRSA u svijetu varira, čak se u Europi prevalencija među ekstremnim primjerima zemalja razlikuje do 100 puta⁹.

Postotak MRSA najveći je u centru SD, iz koga potječe 20 MRSA izolata i 22 MSSA izolata.

U centrima u ČK, KBC RI i MF, te OG, u ispitivanome razdoblju nema MRSA izolata.

Raspon postotka MRSA izolata kreće se od 0% do 47,6%.

Iz javnozdravstvenih ustanova dolazi veliki postotak kolonizacijskih izolata, među kojima se nalazi manji broj MRSA izolata.

MRSA izolati češće su nađeni u izolatima povezanim s bolnicama, odnosno u izolatima iz

laboratorija koji obrađuju bolničke uzorke. U bolničkim laboratorijima velikih centara (KBC Split, KB Zagreb), metilinska otpornost iznosi 35,3% odnosno 24,5%.

Među izolatima iz zbirke nije zabilježena otpornost na vankomicin, niti smanjena osjetljivost u obliku zone inhibicije manje od 14 mm u disk-difuzijskome postupku prema CLSI standardima². U Hrvatskoj, tijekom godine 1998. i 1999. u ciljano provedenome istraživanju o izolatima sa smanjenom osjetljivošću na vankomicin, takvi sojevi nisu zabilježeni¹⁰.

Među ispitanim sojevima, 6 izolata vrste *S. aureus* pokazalo je otpornost na linezolid, što iznosi 0,3%, i podudarno je s podacima u literaturi u kojima je navedena otpornost od 0,24%¹¹. Otpornost na rifampicin iznosi 1,49%, i podudarna je sa svjetskim podacima¹¹.

U navedenoj skupini izolata, nije zabilježena otpornost na nitrofurantoin.

U ispitivanoj skupini sojeva, otpornost na makrolide iznosi 19,7%, a donekle je niža za klindamicin, te iznosi 16,5%. Interpretacija D-zone klindamicina prema makrolidima u godini 2004., ovisila je o visini zone. Naime, izolat nije automatski proglašen otpornim, ako je pokazivao zonu osjetljivosti u obliku D-zone. Podaci u literaturi pokazuju veliku razliku među rezultatima (7% – 94%)¹², odnosno 33% – 56%¹³.

Otpornost na gentamicin izrazito je visoka. Gotovo svi MRSA izolati (240 izolata), otporni su na gentamicin, a otporni su također pojedini MSSA izolati (ukupno 13,4%).

Drugi ispitani aminoglikozid amikacin ima mali postotak otpornih izolata (22), a tri su izolata intermedijarno osjetljiva. Postotak otpornih izolata iznosi 1,2%.

Otpornost na ciprofloksacin među ispitivanim izolatima iznosi 12,3%. Poznato je da je visoki postotak bolničkih MRSA (90%) otporan na kinolone¹⁴, a sličan je i postotak (91%) MRSA izolata u Hrvatskoj u godini 2004. Otpornost na ciprofloksacin svih izolata vrste *S. aureus* u godini 1999. iznosila je 1%, a u godini 2004. iznosila je 18%.

U ispitivanoj skupini izolata, jedino je 7 izolata otporno na fucidinsku kiselinu, a 42 izolata otporna su na mupirocin. Otpornost na mupirocin iznosi 2,3%, stoga je vjerojatno potrebno planirati novi pristup topičkoj primjeni antibiotika za dekolonizaciju MRSA kliconoša¹⁵.

Tablica 5. MRSA izolati od hospitaliziranih bolesnika i izvanbolnički izolati

Table 5 MRSA in hospitalized and community-acquired isolates

Centar / Center	MRSA izolirani u bolnici <i>MRSA isolated in hospitals</i>	MRSA izolirani izvan bolnice <i>MRSA isolated outside hospitals</i>		
		Broj izolata povezanih s bolničkim izolatima <i>Number of isolates connected with hospital strains (HA)</i>	Broj "tipičnih" izolata <i>Number of "typical" community acquired isolates (CA)</i>	Nepoznata povezanost <i>Connection unknown</i>
ZZJZ Bjelovarsko-bilogorske županije, Bjelovar	2	0	1	0
ZZJZ Međimurske županije, Čakovec	0	0	0	0
ZZJZ Dubrovačko-neretvanske županije, Dubrovnik	21	1	2	0
ZZJZ Karlovačke županije, Karlovac	1	2	1	1
ZZJZ Koprivničko-križevačke županije, Koprivnica	1	0	0	0
DZ Našice	0	0	0	0
OB Nova Gradiška	2	0	0	0
OB Ogulin	0	0	0	0
ZZJZ Osječko-baranjske županije, Osijek	13	1	0	1
ZZJZ Istarske županije, Pula	6	0	0	3
KBC Rijeka, Medicinski fakultet Rijeka	0	0	0	0
ZZJZ Sisačko-moslavačke županije, Sisak	9	0	0	1
ZZJZ Brodsko-posavske županije, Slavonski Brod	6	1	0	0
ZZJZ Split	0	0	1	0
KBC Split	35	0	0	0
ZZJZ Šibensko-kninske županije, Šibenik	0	0	0	0
ZZJZ Varaždinske županije, Varaždin	11	1	1	1
ZZJZ Vukovarsko-srijemske županije, Vinkovci	1	0	0	0
ZZJZ Sveti Rok, Virovitica	4	1	0	1
OB Vukovar	1	0	0	0
ZZJZ Zadarske županije, Zadar	9	0	1	1
KBC Zagreb	51	1	0	2
Klinika za infektivne bolesti F. Mihaljević, Zagreb	11	0	0	0
HZZJZ Zagreb	0	0	0	0
ZZJZ Zagreb, KB Merkur Zagreb	8	1	0	0
OB Sv. Duh, Zagreb	20	0	0	0
Klinika za dječje bolesti Klaićeva, Zagreb	1	0	0	0
Klinika za plućne bolesti Jordanovac, Zagreb	13	1	0	0
Ukupno / Total	226	10	7	11

ZAHVALA

U prikupljanju izolata i podataka, velik je doprinos cijenenih članova Odbora i kolega kojima dugujemo zahvalnost za uspjeh istraživanja:

- prim. dr. sc. Nastja Kučišec-Tepeš, OB Sv. Duh, Zagreb
- Marina Payerl-Pal, dr. med., ZZJZ Međimurske županije, Čakovec
- Sanja Krešić, dr. med., ZZJZ Bjelovarsko-bilogorske županije, Bjelovar
- Marina Vodnica-Martucci, dr. med., ZZJZ Dubrovačko-neretvanske županije, Dubrovnik
- Jelica Magdić, dr. med., Danica Milanović-Martinović, dr. med., ZZJZ Karlovačke županije, Karlovac
- Vlatka Janeš-Poje, dr. med., ZZJZ Koprivničko-križevačke županije, Koprivnica
- Ljiljana Hodak, dr. med., OŽB Našice, OB Nova Gradiška
- dipl. ing. Nada Juričić, OB Ogulin
- Dubravka Vuković, dr. med., ZZJZ Osječko-baranjske županije, Osijek
- Mirna Vranić-Ladavac, dr. med., ZZJZ Istarske županije, Pula
- Damir Ambrožić, dr. med., KBC Rijeka, Rijeka
- Sonja Heitmanek, dr. med., ZZJZ Sisačko-moslavačke županije, Sisak
- Mirna Petanović, dr. med., Maja Tomić Paradžik, dr. med., ZZJZ Brodsko-posavske županije, Slavonski Brod
- Vinko Zoranić, dr. med., ZZJZ županije Splitsko-dalmatinske, Split
- Sanda Sardelić, dr. med., KB Split, Split
- Edita Sušić, dr. med., ZZJZ Šibensko-kninske županije, Šibenik
- Nevenka Tkalec Makovec, dr. med., Iva Koščak, dr. med., ZZJZ Varaždinske županije, Varaždin
- Snježana Nađ, dr. med., ZZJZ Vukovarsko-srijemske županije Vukovar, Vinkovci
- Emira Buljan, dr. med., Saša Baranjec, dr. med., ZZJZ Sveti Rok, Virovitica
- Vlasta Gilić, dr. med., ZZJZ Zadarske županije, Zadar
- Jasminka Vraneša Tunuković, dr. med., HZZJZ Zagreb
- Neda Jarža Davila, dr. med., ZZJZ Zagreb, KB Merkur
- doc. dr. sc. Amarela Lukić Grlić, Klinika za dječje bolesti, Zagreb
- Sonja Marinković, dr. med., Klinika za plućne bolesti Jordanovac, Zagreb

LITERATURA

1. Isenberg HD, ed. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. second edition ed. Vol. 1, 2005.
2. Clinical and laboratory standards institute, Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Sixteenth Informational Supplement. CLSI document M-100. izd. Vol. 26, No 3. 2006, Wayne, Pennsylvania, USA. 182.
3. Andrews JM. BSAC standardized disc susceptibility testing method. *J Antimicrob Chemother* 2001;48:43-57.
4. Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie <http://www.sfm.asso.fr/nouv/general/php> 2004.
5. Deurenberg RH, Vink C, Oudhuis GJ, i sur. Different Clonal Complexes of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Are disseminated in the Euregio Meuse-Rhine Region. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49:4263-71.
6. Felten A, Grandry B, Lagrange PH, Casin I. Evaluation of Three Techniques for Detection of Low-Level Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): a Disk Diffusion Method with Cefoxitin and Moxlactam, the Vitek 2 System, and the MRSA-Screen Latex Agglutination Test. *J Clin Microbiol* 2002;40:2766-71.
7. Lowy FD. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Invest* 2003;111:1265-73.
8. Akademija medicinskih znanosti Hrvatske, Kolegij za javno zdravstvo. Osjetljivost i rezistencija bakterija na antibiotike u Republici Hrvatskoj, u 1999. g. http://www.amzh.hr/cro/rezistencija_bakterija_1999_index.htm.
9. Tiemersma EW, Bronzwaer SL, Lyytikainen O, i sur. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe, 1999-2002. *Emerg Infect Dis* 2004;10:1627-34.
10. Plečko V, Budimir A, Kučišec-Tepeš N, Tomić-Paradžik M, Žele-Starčević L, Kalenic S. Ima li u Hrvatskoj sojeva *Staphylococcus aureus* heterorezistentnih na vankomicin? *Acta Med Croatica* 2004;58:263-8.
11. Draghi D, Sheehan D, Hogan P, Sahm D. In Vitro Activity of Linezolid against Key Gram-Positive Organisms Isolated in the United States: Results of the LEADER 2004 Surveillance Program. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;49:5024-32.
12. Sattler CA, Mason EO, Kaplan SI. Prospective comparison of risk factors and demographic and clinical characteristics of community-acquired, methicillin-resistant versus methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* infections in children. *Pediatr Infect Dis J* 2002;21:910-6.
13. Patel M, Waites KB, Moser SA, Cloud JL, Hoesley CJ. Prevalence of Inducible Clindamycin resistance among Community-and Hospital-Associated *Staphylococcus aureus* isolates. *J Clin Microbiol* 2006;44:2481-4.
14. Nimmo GR, Bell J, Mitchell D, i sur. Antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* in Australian teaching hospitals, 1989. – 1999. *Microb Drug Resist* 2003.
15. Ruef C. MRSA Decolonization – Is It Feasible? *Infection* 2006;34:117.