

Multirezistentni izolati iz primarno sterilnih materijala bolesnika liječenih u Klinici za pedijatriju i Klinici za kirurgiju Kliničkog bolničkog centra Osijek u razdoblju 2008. – 2012. godine

Ivan ORDULJ¹⁾, dr. med.
 Dubravka VUKOVIĆ²⁾, dr. med., specijalist
 mikrobiolog
 Domagoj DRENJANČEVIĆ^{3,4)}, doc. dr. sc.,
 dr. med., specijalist mikrobiolog
 Suzana BUKOVSKI^{5,3)}, doc. dr. sc., prim.,
 dr. med., specijalist mikrobiolog

- ¹⁾Zavod za hitnu medicinu Splitsko-dalmatinske županije, Split
²⁾Zavod za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije, Osijek
³⁾Medicinski fakultet Osijek, Sveučilište Josip Juraj Strossmayer u Osijeku, Osijek
⁴⁾Klinički bolnički centar Osijek, Osijek
⁵⁾Klinika za infektivne bolesti "Dr. Fran Mihaljević", Zagreb

Ključne riječi

pedijatrija
 kirurgija
 multirezistentni bakterijski izolati

Key words

pediatric ward
 surgical ward
 multiresistant bacterial isolates

Primljeno: 2014-04-18

Received: 2014-04-18

Prihvaćeno: 2014-06-26

Accepted: 2014-06-26

Stručni rad

Ovim istraživanjem ispitana je učestalost pojavnosti rezistentnih Gram pozitivnih i Gram negativnih bakterija izoliranih iz primarno sterilnih kliničkih uzoraka bolesnika liječenih na odjelima s različitom bolesničkom populacijom, u Klinici za pedijatriju i Klinici za kirurgiju KBC-a Osijek u razdoblju od 2008. godine do 2012. godine.

U promatranom razdoblju u Klinici za pedijatriju i Klinici za kirurgiju KBC-a Osijek rezistentne bakterije izolirane su iz 62 klinička uzorka. U Klinici za pedijatriju bilo je 32 izolata (51,61 %) rezistentnih bakterija, a u Klinici za kirurgiju 30 izolata. Najviše je bilo izolata *Klebsiella pneumoniae* ESBL 41,93 % (26/62 izolata), zatim *Pseudomonas aeruginosa* 27,41 % izolata (17/62), meticilin rezistentni *Staphylococcus aureus* – MRSA 20,96 % izolata (13/62) i *Acinetobacter baumannii* 9,67 % izolata (6/62). U Klinici za pedijatriju zabilježena je veća učestalost Gram negativnih rezistentnih izolata za razliku od Klinike za kirurgiju gdje je najčešće izoliran MRSA (12/30). Najčešće izolirana rezistentna bakterija u Klinici za pedijatriju bila je *K. pneumoniae* ESBL 71,87 % (23/32), a zabilježen je samo jedan izolat MRSA. *A. baumannii* izoliran je samo iz kliničkih uzoraka bolesnika liječenih u Klinici za kirurgiju, a i *P. aeruginosa* je bio nešto češće izoliran na kirurškim odjelima nego u Klinici za pedijatriju (10 odnosno 7 izolata). Utvrdili smo da je u razdoblju od 2008. do 2012. godine došlo do pada pojavnosti multirezistentnih izolata u Klinici za pedijatriju i Klinici za kirurgiju KBC Osijek i da je najviše rezistentnih izolata zabilježeno u prve dvije godine promatranog razdoblja. Iako izolati *P. aeruginosa* nisu bili rezistentni na cefalosporine 3. i 4. generacije, zabrinjava visok postotak rezistencije izolata na karbapeneme (58,81 % na imipenem i 35,29 % na meropenem).

Multiresistant isolates from sterile material of patients treated in the Pediatrics and Surgery Departments of the University Hospital Osijek in the period 2008–2012

Professional paper

The study analyzed the incidence of resistant Gram-positive and Gram-negative bacteria isolated from sterile clinical specimens of patients treated at wards with different hospital population, the Department of Pediatrics and Department of Surgery of the University Hospital Osijek in the period from 2008 to 2012.

During the study period resistant bacteria were isolated from 62 clinical samples collected from Pediatrics and Surgery Departments of the University Hospital Osijek. There were 32 isolates (51.61 %) of resistant bacteria collected in the Pediatrics Department, and a total of 30 isolates in the Surgery Department. The majority of isolates were isolates of *Klebsiella pneumoniae* ESBL 41.93 % (26/62), followed by *Pseudomonas aeruginosa* 27.41 % (17 / 62), *Staphylococcus aureus* – MRSA 20.96 % (13/62) and *Acinetobacter baumannii* 9.67 % (6/62). A significantly higher incidence of Gram-negative resistant isolates was recorded in the Pediatrics Department as opposed to Surgery Department where the most frequent isolate was MRSA (12/30). The most commonly isolated resistant bacteria in the Pediatrics Department were *K. pneumoniae* ESBL 71.87 % (23/32), and only one isolate of MRSA was recorded. *A. baumannii* was isolated only from clinical specimens of patients treated in the Surgery Department, and *P. aeruginosa* was also more frequently isolated in the Surgery Department than Pediatrics Department (10 and 7 isolates, respectively). Our study established that in the period from 2008 to 2012 there was a decline in the

incidence of multiresistant isolates in the Pediatrics and Surgery Departments of the University Hospital Osijek and that the largest number of resistant isolates was recorded in the first two years of the study period. Although *P. aeruginosa* isolates were

not resistant to the 3rd and 4th generation of cephalosporins, special attention should be given to a high percentage of carbapenem resistance (58.81 % to imipenem and 35.29 % to meropenem).

Uvod

Antimikrobna terapija potpuno je promijenila ishod liječenja infekcija spasivši tako milijune života u desetljećima koja su uslijedila [1]. Od otkrića antibiotika 1930-ih pa sve do 1980-ih godina, antibiotici su bili uspješni u liječenju većine bakterijskih infekcija. Od 1980-ih godina sve više raste pojavnost mikroorganizama koji su otporni na antibiotike, posljednjih desetljeća i na dvije ili više grupa antibiotika. Otpornost (rezistencija) bakterija na antimikrobne lijekove vrlo često je rezultat neracionalne upotrebe antimikrobnih lijekova, tijekom koje mikroorganizmi mutiraju ili stječu gene za rezistenciju [2]. Rezultat toga je da bakterije ne mogu biti spriječene u rastu ni biti ubijene antimikrobnim lijekom u koncentraciji koja se može postići u organizmu bolesnika bez značajne toksičnosti za bolesnika.

Pojava multirezistentnih izolata kao uzročnika invazivnih bolesti posebice zabrinjava jer konačni ishod liječenja bolesnika čija je bolest uzorkovana multi rezistentnim (*multidrug resistance* – MDR) bakterijama može biti vrlo neizvjestan i sve češće nepovoljan. Multipla rezistencija na antimikrobne lijekove još uvijek nema opće prihvaćenu samo jednu definiciju. Doslovno MDR označava otpornost mikroorganizma na više od jednog antibiotika. Jedna od najčešće prihvaćenih definicija koja se upotrebljava za Gram pozitivne i Gram negativne bakterije jest da je MDR otpornost bakterijskog izolata na tri i/ili više grupa antibiotika. Druga definicija kaže da su MDR bakterije otporne na jedan ključni antibiotik, ali obzirom da takve bakterije pokazuju križnu rezistenciju na više grupa antibiotika opisuju se kao MDR.

Bakterije koje su označene kao ekstremno otporne na antibiotike (*extreme drug resistance* – XDR) epidemiološki su važne ne samo zbog svoje otpornosti na većinu dostupnih antibiotika, već i zbog velikog potencijala da postanu otporne na sve trenutno poznate i proizvedene antibiotike što predstavlja ozbiljnu prijetnju liječenju bolesnika. U medicinskoj literaturi XDR se koristi kao akronim za nekoliko različitih pojmova kao što su '*extreme drug resistance*' (ekstremna otpornost na antibiotike) i '*extensive drug resistance*' (proširena otpornost na antibiotike). Jedna vrsta kriterija se temelji na broju antibiotika, grupa ili podgrupa antibiotika na koje je bakterija otporna, dok je za drugu važno je li bakterija otporna na jedan ili više "ključnih" antibiotika.

Još jedna kratica koja se upotrebljava za označavanje rezistentnih mikroorganizama – PDR (*pandrug – resistant*

bacteria) označava da su bakterije otporne na sve antibiotike u primjeni.

Grupa međunarodnih stručnjaka okupila se na zajedničku inicijativu Europskog centra za prevenciju i kontrolu bolesti (ECDC) i američkog Centra za kontrolu i prevenciju bolesti (CDC) kako bi se formulirala standardizirana međunarodna terminologija kojom bi se definirala otpornost bakterija *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* spp., *Enterobacteriaceae* (osim *Salmonella* i *Shigella*), *Pseudomonas aeruginosa* i *Acinetobacter* spp. na antibiotike. Za svaku bakteriju određene su epidemiološki značajne kategorije. Popis antibiotskih kategorija predloženih za testiranje bakterijske osjetljivosti sastavljen je uz pomoć dokumenata i ispitivanja od strane Instituta za kliničke i laboratorijske standarde (CLSI), Europskog odbora za testiranje osjetljivosti na antibiotike (EUCAST) i Američke uprave za hranu i lijekove (FDA).

Temeljem toga MDR se definira kao bakterijska neosjetljivost na barem jedan antibiotik u 3 ili više antibiotskih grupa.

XDR se definira kao bakterijska neosjetljivost na barem jedan antibiotik u svim antibiotskim grupama, međutim u jednoj ili dvije grupe ne mora biti rezistencije (dakle, bakterijski izolat je osjetljiv na samo jednu ili dvije antibiotske grupe).

PDR se definira kao bakterijska neosjetljivost na sve antibiotike u svim antibiotskim grupama [3].

Razvoj rezistencije na antibiotike

Povijesno otkriće penicilina, koje je osobito revolucionarno prihvaćeno u liječenju streptokoknih i stafilokoknih infekcija, vrlo brzo se susrelo s pojavom rezistentnih sojeva *Staphylococcus aureus*. Novu nadu u borbi protiv stafilokoknih infekcija dalo je uvođenje metilicilina i ostalih semisintetskih penicilina otpornih na djelovanje penicilinaza (oksacilin, kloksacilin, dikloksacilin, nafcilin, flukloksacilin) šezdesetih godina 20. stoljeća. Međutim, uvođenjem semisintetskih penicilina uočeni su i na njih rezistentni sojevi te su već od tada sojevi *S. aureus* rezistentni na metilicilin dobili opće poznati naziv – kraticu MRSA. Tijekom sljedećih desetljeća MRSA razvija i rezistenciju na antibiotike iz ostalih grupa i osvaja naziv prve MDR bakterije. Do 30 % zdravih osoba može biti prolazno ili trajno kolonizirano sa *S. aureus* u vestibulumu nosa i na drugim mjestima koja su vlažna ili obrasla dlakama [4].

Danas je svega 5–10 % izolata stafilokoka osjetljivo na penicilin. Taj tip rezistencije posredovan je proizvodnjom enzima beta-laktamaza, koje razaraju penicilin, ampicilin, amoksisilin, karbenicilin, azlocilin, mezlocilin, piperacilin i tikarcilin, ali ne i druge betalaktamske antibiotike. Proizvodnja tih enzima kodirana je plazmidnim genima, što objašnjava brzo širenje tog tipa rezistencije [5]. MRSA tipično stvara beta-laktamazu, ali njegova je rezistencija primarno uzrokovana promijenjenim ciljnim mjestima za beta-laktamske antibiotike. Mehanizam djelovanja beta-laktamskih antibiotika zbiva se na tri načina. Prvi je vezanje penicilina za specifične proteine bakterija koji su zapravo receptori za penicilin (penicilin-binding proteins, PBP). Drugi je inhibicija sinteze stanične stijenke sprečavanjem transpeptidacije peptidoglikana. Treći je aktivacija autolitičkih enzima u staničnoj stijenci, što rezultira nastankom lezija zbog kojih bakterija ugiba [6].

Osobito uspješne u razvijanju rezistencije na antibiotike su bakterije iz roda *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus* spp, *Enterobacter* spp i druge). Razlog tome je proizvodnja beta-laktamskih enzima. Beta-laktamaze su velika skupina enzima koje stvaraju mnoge Gram pozitivne i Gram negativne bakterije. Djelotvornost beta-laktamaze u razvoju bakterijske otpornosti na penicilin u enterobakterija i to *E. coli* prvi su otkrili i opisali još 1940. godine Abraham i Chain [6]. Beta-laktamaze se najčešće klasificiraju prema dvjema shemama – prema Amblerovoj molekularnoj klasifikaciji i prema Bush-Jacoby-Medeiros funkcionalnom klasifikacijskom sistemu. Sistem klasifikacije prema Ambleru dijeli beta-laktamaze u 4 glavne klase – A, B, C i D. Ova se klasifikacija ne temelji na fenotipskim karakteristikama već na sličnosti aminokiselina (homologiji proteina). Beta-laktamaze klase A, C i D su serinske beta-laktamaze, a B klasa su metalo-beta-laktamaze [7].

Enterobacteriaceae koje proizvode beta-laktamaze proširenog spektra (*extended spectrum beta lactamase* – ESBL) u pravilu su rezistentne na sve cefalosporine i peniciline širokog spektra, uključujući monobaktam aztreonam, ali ne na cefamicin i karbapeneme i inhibirane su inhibitorima beta-laktamaza kao što je klavulanska kiselina. Rezistencija na trimetoprim-sulfametoksazol i aminoglikozide često se prenosi preko istog plazmida [9]. Tijekom vremena sve se češće izoliraju i sojevi enterobakterija koji produciraju AmpC beta-laktamaze koji također inhibiraju 3. generaciju cefalosporina, ali ih ne inhibira klavulanska kiselina i osjetljivi su na 4. generaciju cefalosporina, npr. cefepim koji je klinički koristan u liječenju infekcija uzrokovanih ovakvim sojevima. Iz klase A karbapenemaza najpoznatija je KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase) i ima veliki potencijal prijenosa. NDM karbapenemaza (NewDelhi carbapenemase) je iz klase B, dok je iz klase D metalo-beta-laktamaza najčešća, posebice u takozvanom "mediteranskom bazenu", OXA-48 karbapenemaza [8].

Rast upotrebe antibiotika širokog spektra u bolnicama tijekom kasnih 1970-ih godina odgovoran je i za pojavu rezistentnih nefermentativnih bakterija iz roda *Acinetobacter* kao značajnog bolničkog patogena. Najviše klinički značajnih izolata pripada vrsti *Acinetobacter baumannii*. Infekcije uzrokovane *A. baumannii* najčešće se javljaju u bolesnika koji se dugo hospitaliziraju u jedinicama intenzivnog liječenja, posebice kod pacijenata na mehaničkoj ventilaciji te kod operativnih rana i osobito opekotina. Mjesta izvora bolničkih infekcija uzrokovanih *A. baumannii* tijekom izbijanja epidemija mogu biti bolnička oprema, kreveti, računalne tipkovnice i mobiteli, ali i pacijenti, a za prijenos je najčešće odgovorno zdravstveno osoblje koje neguje pacijenta. *A. baumannii* ima vrlo značajnu osobinu koja mu omogućava dugotrajno preživljavanje u bolničkoj okolini, a to je otpornost na sušenje i dezinficijense. Posljednjih desetak godina sve je veći broj izolata *A. baumannii* koji su multirezistentni i to nažalost sve češće uključuje i rezistenciju na karbapeneme. Primjerice 2007. godine 24 % izolata *A. baumannii* u Ujedinjenom Kraljevstvu bilo je rezistentno na karbapeneme u odnosu na manje od 0,5 % izolata iz 1990. godine [9].

Još jedna Gram negativna nefermentativna bakterija, *Pseudomonas aeruginosa* koje obitava u okolišu u bolničkoj sredini je postala multiplo rezistentna na antibiotike. Prevalencija kolonizacije crijeva, kože i sluznica zdravih ljudi ili bolesnika neposredno po primitku u bolnicu je niska, a vrijeme provedeno na liječenju u bolnici značajno povećava stope kliconoštva. Kolonizacija *P. aeruginosa* najčešća je u vlažnim područjima ljudskog organizma kao što je perineum, aksila i uho. Premda kolonizacija često prethodi infekciji, izvor infekcije i točan način prenošenja mogu ostati nerazjašnjeni. Mogući izvori na koje se sumnja u endemijskim infekcijama jesu nekuhano povrće, bolnički umivaonici, pa čak i cvijeće u bolničkim sobama. Manje bolničke epidemije češće su izazvane sojevima iz specifičnih izvora kao što su endoskopi, oprema za umjetnu respiraciju, srčani stimulator, aparati za sukciju u operacijskim dvoranama, antiseptici ili konatminirane infuzijske otopine [10].

Posljednjih nekoliko godina enterobakterija *K. pneumoniae* dobiva sve češće epitet najvažnije otporne bakterije obzirom da razvija otpornost na sve beta-laktamske antibiotike. Osobito zabrinjava pojavnost sojeva *K. pneumoniae* koji su rezistentni na karbapeneme (KPC, NDM, OXA-48 karbapenemaze).

Rizični čimbenici za kolonizaciju ili infekciju koji su opaženi tijekom mnogih epidemija bakterijama koje proizvode beta laktamaze uključuju prisutnost intravenskih katetera, hitne intraabdominalne operacije, cijevi za gastrostomu ili jejunostomu, prethodnu gastrointestinalnu kolonizaciju, dužinu boravka u bolnici ili jedinici intenzivnog liječenja – JIL, prethodnu terapiju antibioticima, težinu osnovne bolesti, prisutnost urinarnog katetera i mehaničku ventilaciju. Zato se uvijek naglašava da uz

opće mjere prevencije infekcija u bolnicama, treba izbjegavati pretjeranu uporabu antibiotika širokog spektra. Nezaobilazna je mjera pridržavanje postupaka higijene ruku u skladu s nacionalnim smjernicama i važećim postupnicima [9].

Cilj našeg rada je bio utvrditi učestalost invazivnih infekcija uzorkovanih rezistentnim bakterijama u dva odjela Kliničkog bolničkog centra Osijek s različitim bolesničkom populacijom tijekom razdoblja od pet godina. Zanimalo nas je koji rezistentni uzročnici su najčešće izolirani iz primarno sterilnih uzoraka bolesnika na ova dva odjela i prevalira li neki od rezistentnih uzročnika na dječjem odnosno kirurškim odjelima. Također smo željeli vidjeti dinamiku pojavnosti rezistentnih izolata u razdoblju od pet godina kako bi utvrdili može li se i na promatranim odjelima uočiti, u svijetu i Hrvatskoj, sveprisutni porast učestalosti infekcija uzrokovanih multirezistentnim bakterijama.

Materijal i metode

Ispitanici

U retrospektivnoj studiji obrađeni su podatci o bolesnicima koji su liječeni u Kliničkom bolničkom centru Osijek (KBC Osijek) u Klinici za pedijatriju i Klinici za kirurgiju u razdoblju od 2008. godine do 2012. godine, a kojima je tijekom boravka u bolnici iz primarno sterilnih uzoraka izolirana jedna od multirezistentnih bakterija.

Klinički bolnički centar Osijek ima 1160 bolesničkih kreveta. Klinika za pedijatriju ima 96 kreveta, a Klinika za kirurgiju se sastoji od 8 odjela (Abdominalna kirurgije, Traumatologija, Vaskularna kirurgija, Torakalna kirurgija, Plastična i rekonstrukcijska kirurgija, Dječja kirurgija, Kardijalna kirurgija i Urgentna kirurgije i operacijski blok) i ima 175 kreveta.

Metode

Za potrebe istraživanja korišteni su podatci o primarno sterilnim uzorcima i izoliranim bakterijama dobiveni iz arhivske građe i elektronske baze podataka Službe za mikrobiologiju Zavoda za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije.

Uzgoj i izolacija bakterija provedena je prema standardnim postupcima Odjela za mikrobiologiju i parazitologiju. Ispitana je osjetljivost svakog izoliranog uzročnika na odgovarajuće antibiotike primjenom disk difuzijskog postupka.

Disk difuzijski test izvodi se iz čiste bakterijske kulture na čvrstoj hranjivoj podlozi definiranog sastava i visine sloja agara u Petrijevoj zdjelici, a u skladu s preporukama M2-A9 *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, SAD), a od 2011. godine u skladu s preporukama *The*

European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) [11].

Statistička obrada

Podatci o pozitivnim uzorcima i rezultati mikrobioloških pretraga prikazani su grafički i obrađeni deskriptivnom statistikom. Za statističku obradu i grafički prikaz rezultata uporabljen je Microsoft Office Excel 2007 program.

Rezultati

U ispitivanom petogodišnjem razdoblju, od 1. siječnja 2008. do 31. prosinca 2012. godine, iz 62 primarno sterilna uzorka, dobivenih obradom hospitaliziranih bolesnika liječenih u Klinici za pedijatriju i Klinici za kirurgiju KBC Osijek, izolirane su rezistentne bakterije.

Najčašći primarno sterilni uzorak iz kojeg je izolirana rezistentna bakterija bio je uzorak krvi 57/62 (91,94 %), jedan je bio uzorak likvora 1/62 (1,61 %), dok su 4/62 uzorka (6,45 %) bili ostali primarno sterilni uzorci (označeni kao abdominalna tekućina, sadržaj tekućine iz abdomena i abdominalni ispirak).

Najmanje rezistentnih izolata je bilo 2012. godine 6,45 % (4/62), a najviše 2009. godine 37,09 % (23/62) (slika 1).

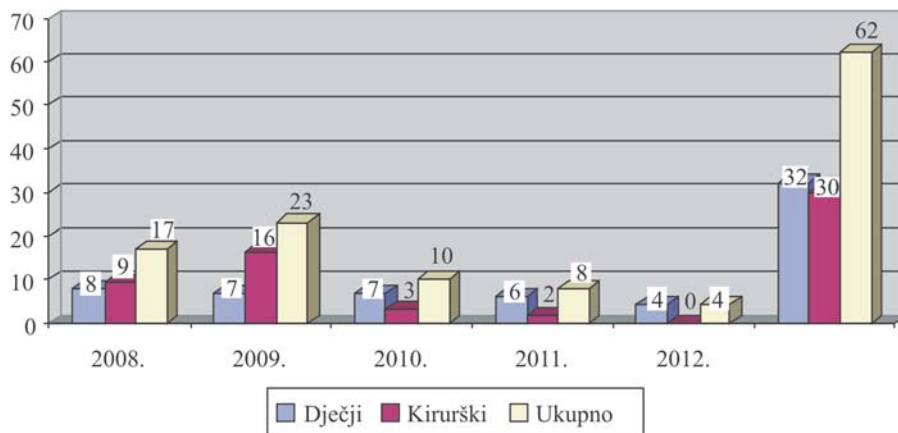
U Klinici za pedijatriju bilo je 32 (51,61 %) izolata rezistentnih bakterija, a na Klinici za kirurgiju 30 izolata.

Iz 49 klinička uzorka rezistentni izolati su bile Gram negativne bakterije (*K. pneumoniae* ESBL, *A. baumannii* i *P. aeruginosa*), a iz 13 uzoraka izolat je bila jedna vrsta Gram pozitivnih bakterija, *S. aureus* otporan na meticilin (MRSA) (slika 2).

Na Klinici za kirurgiju su rezistentne bakterije izolirane češće u prve dvije godine promatranja 2008. i 2009. godini – 83,33 % svih izolata. U te dvije godine je i izolirano najviše Gram negativnih izolata 46,66 % (odnosno 6/30 i 8/30 izolata), dok 2012. godine iz primarno sterilnih materijala nije bila izolirana niti jedna rezistentna bakterija. MRSA je najčešće izolirana 2009. godine – 8/12 izolata (66,66 %) te 2008. godine (3/13 izolata). Niti jedan izolat MRSA nije zabilježen u Klinici za kirurgiju tijekom 2011 i 2012. godine.

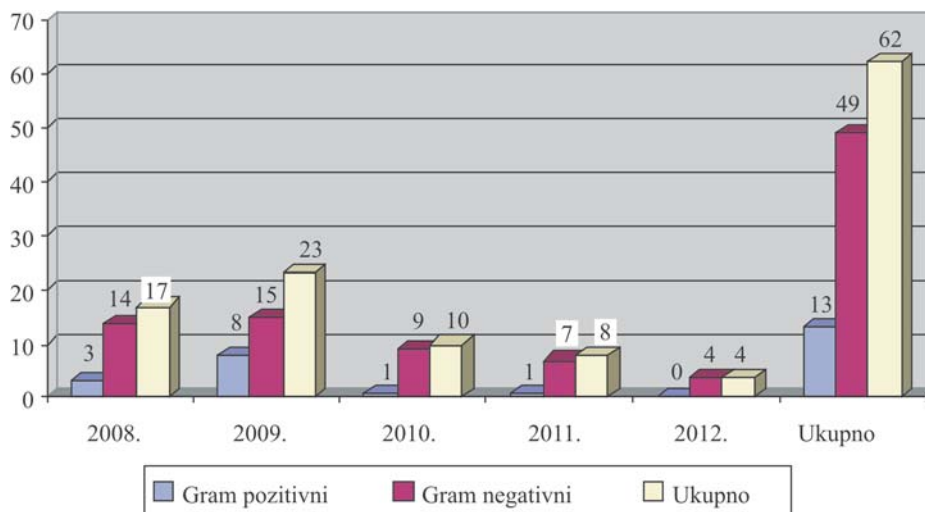
U Klinici za pedijatriju 96,87 % izolata (31/32) su bile Gram negativne bakterije, a najviše ih je zabilježeno 2008. godine (8/31), te 2009. i 2010. po 7/31. Također svi rezistentni izolati iz 2012. godine (4/4) su bile Gram negativne bakterije i zabilježene su samo u Klinici za pedijatriju. U istom razdoblju je na tom odjelu izoliran samo jedan Gram pozitivni izolat, MRSA 2011. godine (slika 3).

U praćenom razdoblju najčešće izolirana rezistentna bakterija je bila *K. pneumoniae* ESBL 41,93 % izolata



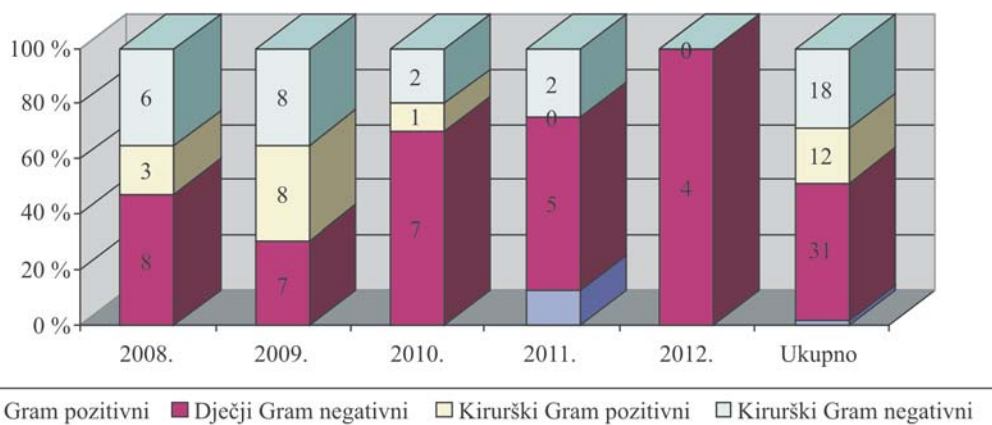
Slika 1. Ukupan broj rezistentnih izolata u Klinici za pedijatriju i Klinici za kirurgiju KBC Osijek u razdoblju 2008. – 2012.

Figure 1. Total number of resistant isolates in the Pediatrics and Surgery Departments of the University Hospital Osijek in the period 2008–2012



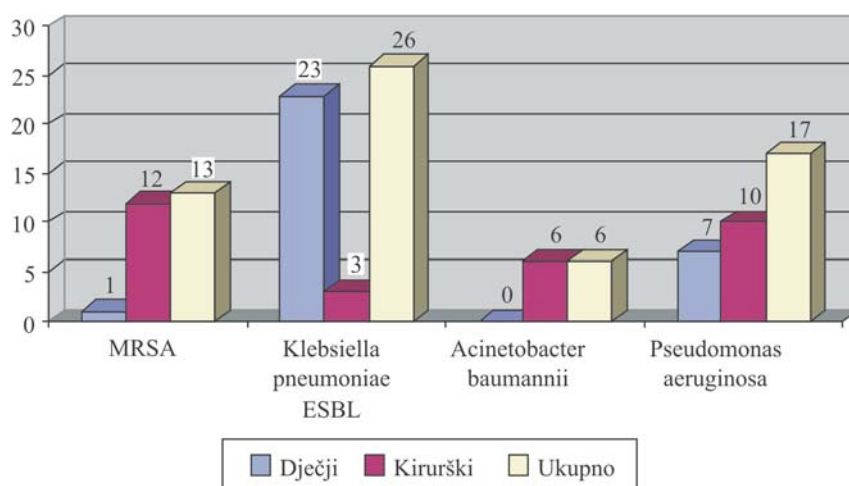
Slika 2. Broj rezistentnih izolata Gram pozitivnih i Gram negativnih bakterija iz primarno sterilnih materijala u Klinici za pedijatriju i Klinici za kirurgiju KBC Osijek u razdoblju 2008. – 2012.

Figure 2. Number of Gram-positive and Gram-negative resistant isolates from sterile materials in the Pediatrics and Surgery Departments of the University Hospital Osijek in the period 2008–2012



Slika 3. Udio izolata Gram pozitivnih i Gram negativnih bakterija iz primarno sterilnih materijala u Klinici za pedijatriju i Klinici za kirurgiju KBC Osijek u razdoblju 2008. – 2012.

Figure 3. Proportion of Gram-positive and Gram-negative resistant isolates from sterile materials in the Pediatrics and Surgery Departments of the University Hospital Osijek in the period 2008–2012



Slika 4. Vrste rezistentnih izolata iz primarno sterilnih materijala bolesnika liječenih u Klinici za pedijatriju i Klinici za kirurgiju KBC Osijek u razdoblju 2008. – 2012.

Figure 4. Species of resistant isolates from sterile material of patients treated in the Pediatrics and Surgery Departments of the University Hospital Osijek in the period 2008–2012

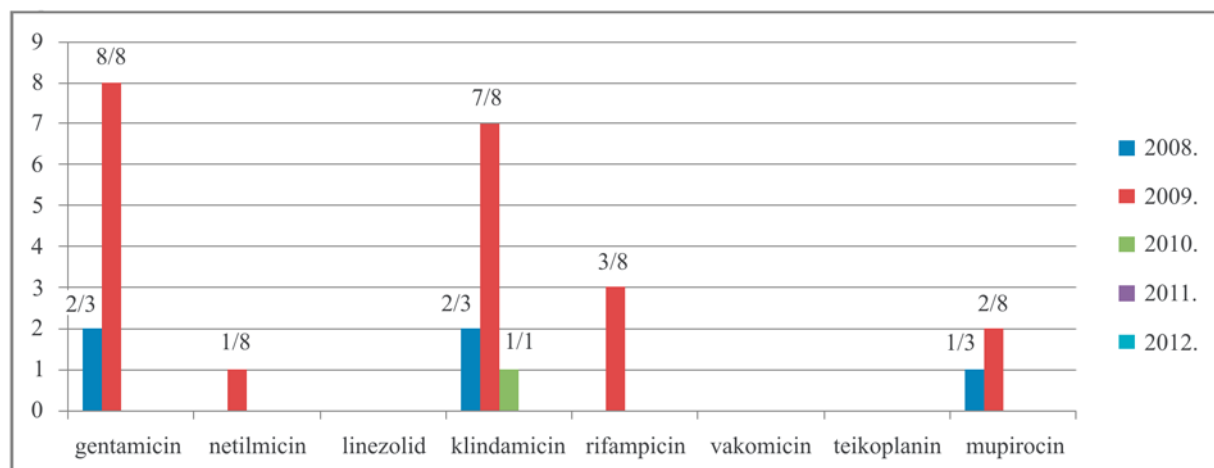
(26/62), zatim *P. aeruginosa* 27,41 % (17/62), *S. aureus* MRSA 20,96 % (13/62) i *A. baumannii* 9,67 % (6/62).

U Klinici za pedijatriju najčešći rezistentni izolat je bila *K. pneumoniae* ESBL 71,87 % (23/32), a zatim *P. aeruginosa* 21,87 % (7/32), dok je MRSA bio samo jedan izolat. Nije zabilježen niti jedan izolat *A. baumannii*. U Klinici za kirurgiju je najčešći izolat bila MRSA 40 % izolata (12/30), zatim *P. aeruginosa* 33,33 % (10/30), *A. baumannii* 20 % (6/30) i *K. pneumoniae* ESBL 10 % (3/30) (slika 4).

Antibiotski profil izolata *Staphylococcus aureus*

MRSA je u Klinici za kirurgiju izoliran samo u prve tri godine promatranja, 2008. do 2010. godine.

Na antibiotike iz skupine aminoglikozida (gentamicin i/ili netilmicin) bili su otporni izolati MRSA izolirani samo 2008. godine i 2009. godine. Na gentamicin je 66,66 % (2/3) izolata MRSA 2008. godine bilo rezistentno, a 2009. godine svi izolati MRSA su bili rezistentni. Dok je na netilmicin samo 1/8 izolata bio rezistentan (2009. godine). Na ciprofloksacin su 2/3 (66,66 %) izolata MRSA bila rezistentna 2008. godine, a 87,5 % (7/8) izolata je bilo rezistentno na ciprofloksacin 2009. godine. Rezistencija MRSA izolata na klindamicin kretala se od 2/3 (66,66 %) izolata (2008. godine), odnosno 7/8 (87,5 %) izolata (2009. godine) do 100 % (1/1) izolata (2010. godine). Na rifampicin rezistencija MRSA izolata je zabilježena samo 2009. godine u 3/8 izolata (37,5 %). Na antibiotik iz skupine monoksikarbonskih kiselina mupirocin, 33,33 % (1/3) izolata MRSA bilo je rezistentno (2008. godine), a 25 % (2/8) izolata 2009. godine. Na azitromicin su bili



Slika 5. Rezistencija na antibiotike izolata MRSA u Klinici za kirurgiju KBC Osijek u razdoblju 2008. – 2012.

Figure 5. Antibiotic resistance of MRSA isolates at the Department of Surgery of the University Hospital Osijek in the period 2008–2012

rezistentni svi izolati iz 2008. i 2009. godine (3/3 odnosno 8/8 izolata). Na trimetoprim-sulfametoksazol bilo je rezistentno 66,66 % (2/3) izolata MRSA 2008. godine, a 62,5 % (5/8) 2009. godine.

U Klinici za pedijatriju zabilježen je samo 1 izolat MRSA 2011. godine. Izolat je bio rezistentan na ciprofloksacin, eritromicin, trimetoprim-sulfametoksazol, klindamicin i mupirocin, a osjetljiv aminoglikozide (gentamicin i netilmicin), vankomicin, rifampicin i linezolid (slika 5).

Antibiotski profil izolata *Klebsiella pneumoniae* ESBL

Tijekom promatranog razdoblja svi izolati *K. pneumoniae* ESBL iz primarno sterilnih materijala bolesnika liječenih u Klinici za pedijatriju i Klinici za kirurgiju bili su

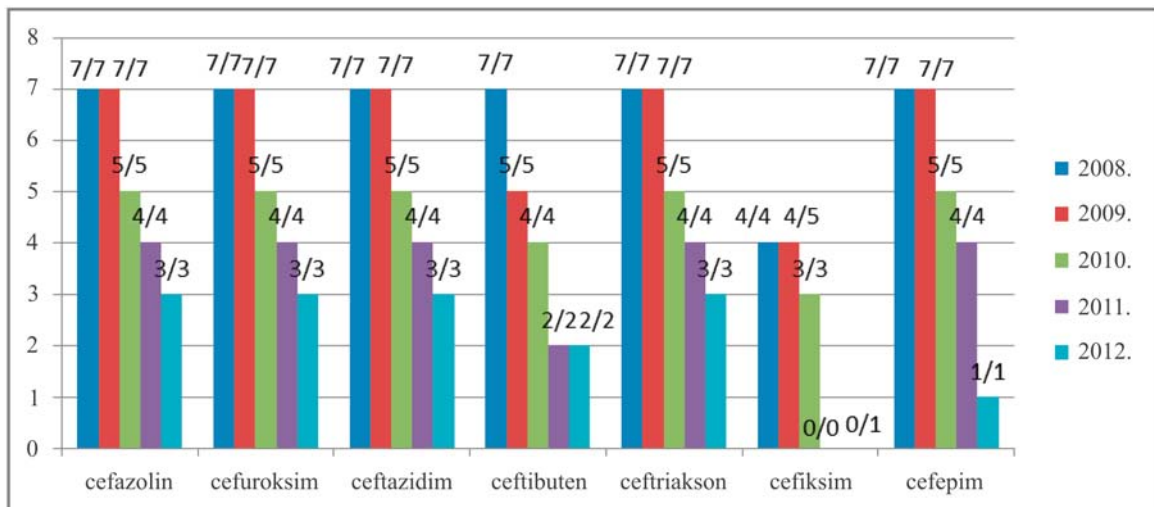
otporni na antibiotike iz skupine beta-laktama cefalospore (cefazolin, cefuroksim, ceftazidim, ceftibuten, ceftriakson i cefepim) (slika 6).

Od aminoglikozida najveći broj izolata *K. pneumoniae* ESBL na oba odjela bilo je otporno na gentamicin, 25/26 (96,1 %) (slika 7).

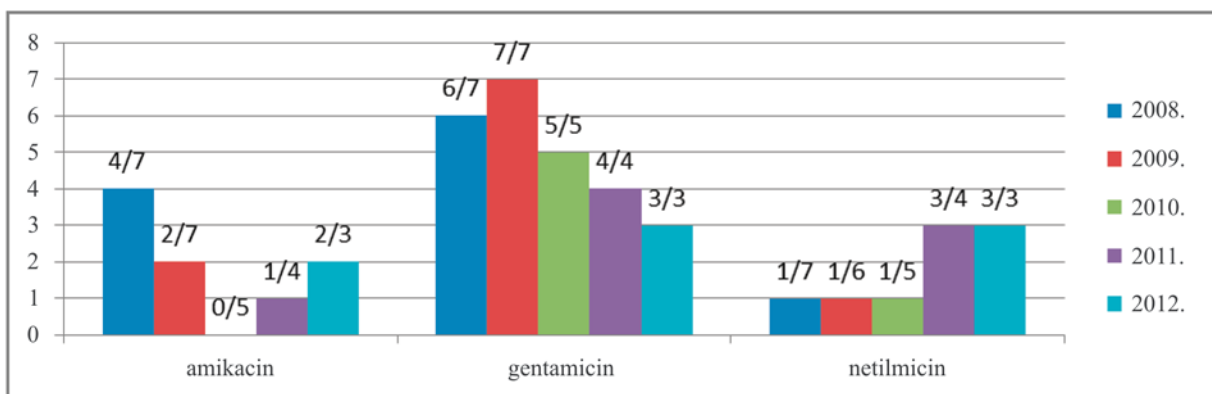
Na ciprofloksacin 2008. godine bilo je rezistentno 28,57 % (2/7) izolata *K. pneumoniae* ESBL, te 20 % (1/5) 2010. godine i 25 % (1/4) 2011. godine.

Antibiotski profil izolata *Pseudomonas aeruginosa*

Samo 20 % izolata *P. aeruginosa* u Klinici za pedijatriju i Klinici za kirurgiju bilo je rezistentno na antibiotike iz



Slika 6. Rezistencija izolata *K. pneumoniae* ESBL u Klinici za pedijatriju i Klinici za kirurgiju KBC Osijek u razdoblju 2008. – 2012.
Figure 6. Antibiotic resistance of *K. pneumoniae* ESBL in the Pediatrics and Surgery Departments of the University Hospital Osijek in the period 2008–2012



Slika 7. Rezistencija *K. pneumoniae* ESBL na aminoglikozide u Klinici za pedijatriju i Klinici za kirurgiju KBC Osijek u razdoblju 2008. – 2012.
Figure 7. Aminoglycoside resistance of *K. pneumoniae* ESBL in the Pediatrics and Surgery Departments of the University Hospital Osijek in the period 2008–2012

skupine beta-laktama, cefalosporin 3. generacije cefoperazon i 4. generacije cefepim.

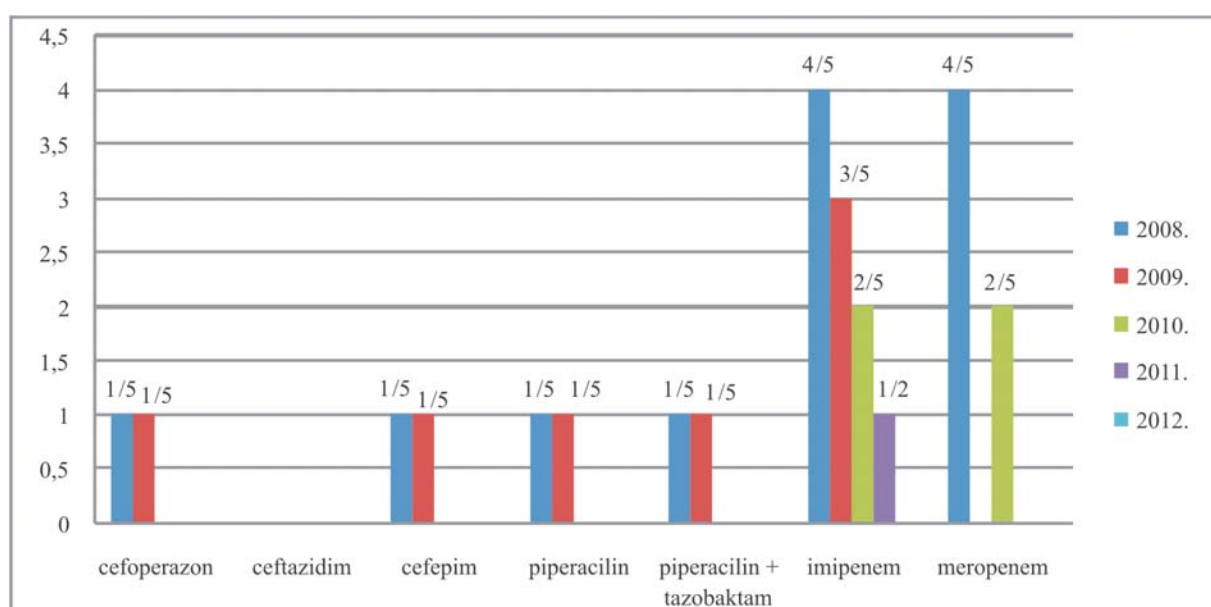
Po jedan izolat *P. aeruginosa* bio je otporan na piperacilin i piperacilin s tazobaktamom 2008. i 2009. godini, dok su izolati iz 2010. do 2012. godine svi bili osjetljivi. Rezistencija na karbapeneme, imipenem i meropenem, zabilježena je u 80 % (4/5) izolata *P. aeruginosa* 2008. godine. U 2009. godini na imipenem je bilo rezistentno 60 % (3/5) izolata, ali su na meropenem bili svi izolati osjetljivi. Rezistencija na oba karbapenema 2010. godine iznosila je 40 % (2/5 izolata). U 2011. godini 50 % (1/2) izolata bilo je rezistentno na imipenem, a na meropenem su svi izolati bili osjetljivi (slika 8). Na aminoglikozide su zabilježeni rezistentni izolati 2008., 2009. i 2010. godine i to 8 na gentamicin, 5 na netilmicin i 2 na amikacin. Na ciprofloksacin po jedan rezistentan izolati je zabilježen od 2008. do 2011.

godine. Svi izolati *P. aeruginosa* su u promatranom petogodišnjem razdoblju bili osjetljivi na kolistin.

Antibiotski profil izolata *Acinetobacter baumannii*

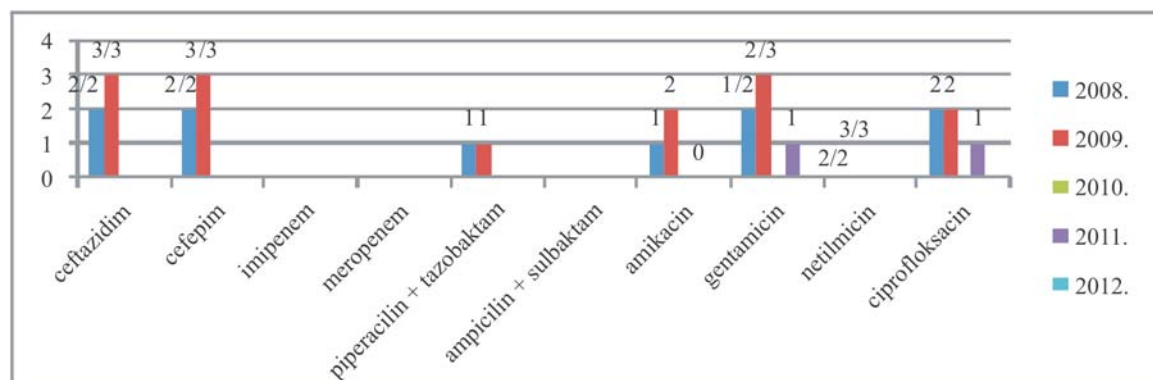
Svi izolati *A. baumannii* (5/5) izolirani 2008. i 2009. godine bili su rezistentni na ceftazidim i cefepim. Na piperacilin s tazobaktamom 40 % izolata (2/5) je bilo rezistentno (2008., 2009. godine).

Svi izolati *A. baumannii* su bili rezistentni na gentamicin (6/6), a 3/5 je bilo rezistentno na amikacin. Na kinolone je bilo otporno 5/6 izolata *A. baumannii*. Na imipenem, meropenem i ampicilin-sulbaktam su svi izolati *A. baumannii* bili osjetljivi (slika 9).



Slika 8. Rezistencija izolata na antibiotike *P. aeruginosa* u Klinici za pedijatriju i Klinici za kirurgiju KBC Osijek u razdoblju 2008. – 2012.

Figure 8. Antibiotic resistance of *P. aeruginosa* in the Pediatrics and Surgery Departments of the University Hospital Osijek in the period 2008–2012



Slika 9. Rezistencija na antibiotike *A. baumannii* u Klinici za kirurgiju KBC Osijek u razdoblju 2008. – 2012.

Figure 9. Antibiotic resistance of *A. baumannii* in the Surgery Department of the University Hospital Osijek in the period 2008–2012

Rasprava

Infekcije uzrokovane bakterijama koje su otporne na antibiotike postale su globalni problem u 21. stoljeću. Ne samo da takve infekcije imaju nepovoljniji ishod i zahtijevaju dulje i kompleksnije liječenje, već i financijski iscrpljuju zdravstveni sustav. U posljednje vrijeme novi mehanizmi rezistencije doveli su do razvoja istovremene otpornosti bakterija na antibiotike koji pripadaju različitim grupama antibiotika (multi rezistentne bakterije – MDR).

U KBC Osijek na dva odjela s različitim bolesničkom populacijom, u Klinici za pedijatriju i Klinici za kirurgiju, zabilježena su 62 izolata iz primarno sterilnih materijala bolesnika rezistentna na antibiotike u promatranom petogodišnjem razdoblju, od 2008. do 2012. godine. Najviše rezistentnih izolata je bilo 2009. godine 37,09 % (23/62), a zatim se u godinama 2010. do 2012. bilježi pad broja rezistentnih izolata (16,12 % – 10/62, 12,9 % – 8/62, 6,45 % – 4/62). Značajan je udio izoliranih Gram negativnih rezistentnih bakterija – 79,03 % (49/62) posebice u Klinici za pedijatriju 96,87 % (31/32). Samo petina rezistentnih izolata je bio MRSA, 20,97 % (13/62). I u Klinici za kirurgiju je izolirano više Gram negativnih rezistentnih bakterija (*K. pneumoniae* ESBL, *A. baumannii* i *P. aeruginosa*) – 60 % (18/30) nego 40 % MRSA, 40 %.

Broj rezistentnih izolata i Gram pozitivnih bakterija (samo *S. aureus* – MRSA) i Gram negativnih bakterija iz primarno sterilnih materijala tijekom pet godina postupno se smanjivao. Najviše MRSA izolata je zabilježeno 2009. godine 61,5 % (8/13), dok je 2010. i 2011. godine zabilježen po jedan izolat, a 2012. godine nije izoliran niti jedan MRSA ni na jednom odjelu. Najveći broj Gram negativnih izolata zabilježen je 2008. godine 28,57 % (14/49) i 2009. godine 30,61 % (15/40), a zatim je postupno padao te je 2010. godine bilo 18,4 % (9/49) Gram negativnih izolata, 2011. godine 14,3 % (7/49) i 2012. godine 8,1 % (4/49) izolata. Iako je 2009. godine broj Gram negativnih izolata neznatno porastao, sveukupno je u promatranom razdoblju došlo do pada broja rezistentnih izolata izoliranih i Klinici za pedijatriju i Klinici za kirurgiju.

U Kini je u West China Second University Hospital, Sichuan University, Chengdu između 2008. i 2011. godine ispitana učestalost prisutnosti Gram pozitivnih i Gram negativnih izolata kao uzročnika sepse u bolesnika liječenih na Dječjem odjelu. Autori su također zabilježili prevalenciju Gram negativnih rezistentnih izolata kao uzročnika sepse, ali s tendencijom porasta [12].

MRSA je izolirana češće u Klinici za kirurgiju KBC Osijek nego u Klinici za pedijatriju gdje je zabilježen samo 1 izolat (1/13 – 7,69 %) iz primarno sterilnih materijala.

Tijekom 2008. godine i 2009. godine 90,91 % (10/11) izolata bilo je otporno na aminoglikozid gentamicin, a na netilmicin, antibiotik iz iste skupine, bilo je otporno 12,5 % (1/8) izolata. Na ciprofloksacin tijekom 2008. i

2009. godine bilo je otporno 81,82 % (9/11) izolata. U 2008. i 2009. godini na makrolid azitromicin bili su otporni svi izolati (11/11), a 2008., 2009., i 2010. godine zabilježeno je 83,33 % (10/12) izolata koji su bili otporni na klindamicin. Na trimetoprim-sulfametoksazol bilo je otporno 63,64 % (7/11) izolata, a na mupirocin 27,28 % (3/11) izolata. U 2008. godini na rifampicin je bilo otporno 37,5 % (3/8) izolata MRSA.

Ispitivanje o učestalosti MRSA provedeno je na pedijatrijskoj populaciji do sedamnaest godina u tercijskim pedijatrijskim bolnicama 2006. godine u Australiji u gradovima Sydney, Melbourne, Brisbane, Perth i Adelaide te je uspoređeno s dvije studije provedene 2004. i 2005. godine kod odraslih pacijenata u Australiji. U dvije studije koje uključuju odrasle pacijente, MRSA izolati činili su 10,3 – 22,2 % izolata nehospitaliziranih pacijenata i 22,5 – 43,4 % izolata hospitaliziranih pacijenata, dok je udio MRSA izolata u pedijatrijskoj populaciji iznosio 6,3 – 13 %, što odgovara našim rezultatima [13, 14, 15].

Neočekivano smo u našem ispitivanju pokazali da je zabilježeno značajno manje izolata *K. pneumoniae* ESBL u Klinici za kirurgiju 3/26 izolata (11,53 %) nego u Klinici za pedijatriju 23/26 izolata (88,47 %).

Za sve izolate *K. pneumoniae* ESBL izdan je nalaz da su rezistentni na beta-laktamske antibiotike cefalosporine i to sve četiri generacije. Temeljem interpretacije prema CLSI-u niti jedan izolat *K. pneumoniae* ESBL nije bio otporan na karbapeneme (ertapenem, imipenem i meropenem). Zabilježena je visoka rezistencija na aminoglikozide, posebno na gentamicin (96,15 % izolata), na trimetoprim-sulfametoksazol bilo je rezistentno čak 63,64 % (7/11) izolata, dok je na fluorokinolon ciprofloksacin bilo rezistentno samo 15,38 % (4/26) izolata.

U Kliničkom bolničkom centru Split od 1. siječnja 2001. do 31. prosinca 2002. godine ispitivali su osjetljivost izolata *K. pneumoniae* ESBL dobivenih iz sterilnih i nestabilnih materijala. Također je bio veći broj izolata na Dječjem odjelu (64,2 %), dok je u odrasloj populaciji samo 27,1 % izolata *K. pneumoniae* bilo ESBL. Međutim, izolati *K. pneumoniae* koji su otporni na ciprofloksacin nađeni su uglavnom na odjelima na kojima se liječe odrasli pacijenti. Otpornost *K. pneumoniae* ESBL na amikacin iznosila je 58,2 % izolata što je više nego u naših izolata, a na gentamicin 78,14 % izolata, odnosno znatno niže nego u naših izolata. Na ciprofloksacin je rezistencija bila niža nego u naših izolata i iznosila je 10,6 %, dok je na trimetoprim-sulfametoksazol otpornost bila čak dvostruko manja nego u naših izolata, 32,1 %. Nisu imali izolate otporne na karbapeneme [16].

U Kliničkom bolničkom centru Zagreb u periodu od 2002. do 2007. godine za izolirane Gram pozitivne (43 izolata) i Gram negativne (110 izolata) bakterije iz uzoraka bolesnika liječenih u Odjelu za intenzivno liječenje djece ispitivana je osjetljivost na meropenem određivanjem

minimalne inhibitorne koncentracije antibiotika. Kao ni nisu zabilježili rezistenciju *E. coli*, *K. pneumoniae* ni *Proteus mirabilis* na imipenem i meropenem. Zabrinula ih je rezistencija u 50 % izolata *K. pneumoniae* na ceftazidim i gentamicin iako je bila manja nego kod naših izolata. Rezistencija *P. aeruginosa* na meropenem zabilježena u 12 % izolata, a 18 % na imipenem što je značajno niže nego u naših izolata osobito 2008. i 2009. godine kada smo imali 80 % odnosno 75 % rezistentnih izolata na karbapeneme. Na gentamicin su zabilježili 47 % rezistentnih izolata, a 35 % na piperacilin s tazobaktamom i ciprofloksacin [17].

Posljednjih godina *A. baumannii* zbog sposobnosti brzog razvoja otpornosti na antibiotike predstavlja značajan problem u bolničkoj patologiji. Svi izolati (5/5) *A. baumannii* izolirani tijekom 2008. i 2009. godine u Klinici za kirurgiju KBC Osijek bili su otporni na beta-laktamske antibiotike, cefalosporine 3. generacije – ceftazidim i 4. generacije – cefepim, te na aminoglikozid gentamicin, dok je otpornost na amikacin bila nešto niža te iznosi 60 % (3/5), a na netilmicin su svi izolati bili osjetljivi. Na ciprofloksacin bilo je otporno 5/6 (83,33 %) izolata. Posebno je važno istaknuti da su svi izolati *A. baumannii* bili osjetljivi na karbapeneme, imipenem i meropenem, te na ampicilin-sulbaktam.

Slično ispitivanje u Kolkati (Indija) je provedeno od siječnja 2010. godine do prosinca 2011. godine na ukupno 4180 uzoraka bolesnika različitih dobnih skupina liječenih na različitim odjelima. Na ceftazidim je bilo rezistentno manje izolata nego u našem ispitivanju (74,1 %), kao i na na piperacilin-tazobaktam (18,2 %) te na amikacin (14,29 %) i na gentamicin (70,13 %). Međutim, zabilježili su manju rezistenciju od nas na imipenem (5,2 %) i na meropenem (9,75 %) te na netilmicin (16,24 %) [18].

Drugo slično ispitivanje provedeno je u 54 laboratorija diljem Ujedinjenog Kraljevstva tijekom 2000. godine. Od ukupno 443 izolata koji pripadaju kompleksu *A. baumannii* na ceftazidim je bilo otporno nešto manje izolata nego u našem radu, 89 %, a na piperacilin-tazobaktam zabilježen je podjednak broj rezistentnih izolata (39 %). Rezistencija na karbapeneme ovih izolata je bila niska te je iznosila, 2 % na imipenem odnosno 0,5 % na meropenem. Također je zabilježena manja rezistencija na aminoglikozide, odnosno na amikacin je bilo otporno 21 %, a na gentamicin 43 % kao i na ciprofloksacin 46 % izolata *A. baumannii* [17].

Iako u posljednje vrijeme *P. aeruginosa* izaziva zabrinutost diljem svijeta zbog svoje sposobnosti razvoja otpornosti na brojne antibiotike, rezultati našeg rada pokazuju da je u razdoblju 2008.–2012. godine većina izolata *P. aeruginosa* iz primarno sterilnih materijala bolesnika liječenih u Klinici za pedijatriju i Klinici za kirurgiju KBC Osijek bila osjetljiva na ključne grupe antibiotika. U 2008., kao i u 2009. godini, samo je 20 % (1/5) izolata *P. aeruginosa* bilo rezistentno na cefoperazon, cefepim, piperacilin i piperacilin-tazobaktam, dok je tijekom sljedeće

3 godine svih 7 izolata *P. aeruginosa* bilo osjetljivo na spomenuta četiri antibiotika. Tako je u petogodišnjem razdoblju samo 8,33 % (1/12) izolata bilo otporno na cefoperazon, cefepim, piperacilin i piperacilin-tazobaktam. Svih 16 ispitanih izolata *P. aeruginosa* bilo je osjetljivo na ceftazidim. Međutim, 58,81 % (10/17) ispitanih izolata *P. aeruginosa* bilo je otporno na imipenem, a 35,29 % (6/17) na meropenem. Od ukupno 17 izolata *P. aeruginosa* 11,76 % (2) je bilo otporno na amikacin, 47,06 % (8) na gentamicin, te 29,41 % (5) na netilmicin. Na ciprofloksacin je bilo otporno 25 % (4/16) ispitanih izolata *P. aeruginosa*, a svu su bili osjetljivi na polimiksin kolistin.

U istraživanju koje je provedeno u Francuskoj 2004. godine bilo je uključeno petnaest mikrobioloških laboratorija sveučilišnih bolnica raspoređenih diljem države. Osjetljivost na antibiotike testirana je na 450 izolata *P. aeruginosa*. Na piperacilin bilo je osjetljivo 78 % izolata, na piperacilin-tazobaktam 80 %, na ceftazidim 78 %, na cefepim 64 %, na imipenem 83 %, na amikacin 86 % i na ciprofloksacin 68 % izolata *P. aeruginosa*. U usporedbi s našim rezultatima autori su zabilježili nižu osjetljivost na sve antibiotike, osim u slučaju imipenema na koji su zabilježili veću osjetljivost [19].

Zaključak

U KBC Osijek u promatranom petogodišnjem razdoblju od 2008. godine do 2012. godine u Klinici za pedijatriju i Klinici za kirurgiju iz primarno sterilnih materijala bolesnika češće su izolirane rezistentne Gram negativne bakterije (*K. pneumoniae* ESBL, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*) nego Gram pozitivne (MRSA). Međutim tijekom promatranog perioda zabilježen je pad pojavnosti i Gram negativnih i Gram pozitivnih izolata u obje klinike. Značajno više izolata *K. pneumoniae* ESBL bilo je u Klinici za pedijatriju, dok je u Klinici za kirurgiju zabilježeno više izolata MRSA. *A. baumannii* je izoliran samo u primarno sterilnim uzorcima bolesnika liječenih u Klinici za kirurgiju.

Izolati meticilin rezistentnog *S. aureus* bili su multirezistentni. Otpornost je zabilježena i na antibiotike iz 3 i više grupa (uključujući aminoglikozide, fluorokinolone, makrolide), te na klindamicin i trimetoprim-sulfametoksazol.

Izolati *K. pneumoniae* ESBL su prema CLSI napatku izdavani kao rezistentni na sve 4 generacije cefalosporina. Stoga se nije moglo točno utvrditi je li u svih izolata stvarno utvrđena rezistencija ili se radilo o načinu interpretacije. Vrlo je važno da u tom razdoblju nije bilo izolata rezistentnih na karbapeneme. Većina izolata bila je otporna i na gentamicin, dok je na ciprofloksacin bio rezistentan samo mali postotak izolata.

Svi izolati *P. aeruginosa* bili su osjetljivi na cefalosporin 3. generacije, ceftazidim, ali je istovremeno zabi-

lježen jedan izolat kao otporan na cefalosporin 4. generacije, cefepim. Na gentamicin je bilo otporno manje od pola izolata, a na ciprofloksacin bila je otporna četvrtina svih izolata *P. aeruginosa*. Međutim, značajno je da je zabilježena znatna rezistencija na karbapeneme.

Izolati *A. baumannii* su bili rezistentni na cefalosporine 3. i 4. generacije te na antibiotike iz grupe aminoglikozida, najčešće na gentamicin. Većina izolata bila je otporna i na ciprofloksacin, ali su bili osjetljivi na karbapeneme i ampicilin-sulbaktam.

Zbog porasta multirezistentnih bakterija posljednjih godina u svijetu, ali i u Hrvatskoj nužno je i dalje u KBC Osijek redovito pratiti dinamiku pojavnosti rezistentnih izolata kako Gram pozitivnih tako posebice Gram negativnih bakterija. Također je važno kontinuirano i ponavljano educirati svo zdravstveno osoblje uključeno u liječenje i njegu bolesnika, osobito bolesnika s MDR izolatima, o načinu širenja, mjerama i postupcima kontrole i sprječavanja prijenosa MDR bakterija.

Literatura

- [1] Paphitou NI. Antimicrobial resistance: action to combat the rising microbial challenges. *Int J Antimicrob Agents* 2013; 42(suppl): S25–8.
- [2] World Health Organization. Antimicrobial Resistance. Dostupno na URL: www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/en
- [3] Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB i sur. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect* 2012; 18: 268–81.
- [4] Damani NN. Priručnik o postupcima kontrole infekcija, prijevod. Kalenić S, Horvatić J, ur. 2. izd. Zagreb: Merkur A. B. D., 2004.
- [5] Vrhovac B i sur. *Interna medicina*. 4. promijenjeno i dopunjeno izd. Zagreb: Naklada Ljevak, 2008.
- [6] Begovac J, Božinović D, Lisić M, Schönwald S. *Infektologija*. Zagreb: Profil, 2008.
- [7] Bush K, Jacoby GA. MINIREVIEW – Updated Functional Classification of Beta-Lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54: 969–76.
- [8] Rice LB, Willey SH, Papanicolaou G i sur. Outbreak of ceftazidime resistance caused by extended-spectrum β -lactamases at a Massachusetts chronic-care facility. *Antimicrob Agents Chemother* 1990; 34: 2193–9.
- [9] Towner KJ. *Acinetobacter*: an old friend, but a new enemy. *J Hosp Infect* 2009; 73: 355–63.
- [10] Kalenić S, Mlinarić-Misoni E. *Medicinska bakteriologija i mikologija*. 2. izd. Zagreb: Merkur A.B.D., 2005.
- [11] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; Approved standard – Ninth edition. CLSI document M2-A9. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2006.
- [12] Kuang LH, Jiang YM, Hu ZQ, Mu LY, Su M, Zhou W. Species and drug resistance of pathogens in blood cultures from the pediatric hematology ward. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi* 2013; 15: 259–63.
- [13] Wolf J, Daley AJ, Tilse MH i sur. Antibiotic susceptibility patterns of *Staphylococcus aureus* isolates from Australian children. *J Pediatr Child Health* 2010; 46: 404–11.
- [14] Nimmo GR, Coombs GW, Pearson JC i sur. Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the Australian community: an evolving epidemic. *Med J Aust* 2006; 184: 285–8.
- [15] Nimmo GR, Pearson JC, Collignon PJ. Prevalence of MRSA among *Staphylococcus aureus* isolated from hospital inpatients, 2005: report from the Australian Group for Antimicrobial Resistance. *Commun Dis Intell Q Rep* 2007; 31: 288–96.
- [16] Tonkic M, Goic-Barisic I, Punda-Polic V. Prevalence and antimicrobial resistance of extended-spectrum beta-lactamases-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains isolated in a university hospital in Split, Croatia. *Int Microbiol* 2005; 8: 119–24.
- [17] Bedenić B, Prahin E, Vranić-Ladavac M i sur. Antibiotic susceptibility of isolates from paediatric intensive care unit in Zagreb. *Med Glas* 2014; 11: 72–9.
- [18] Rit K, Saha R. Multidrug-resistant acinetobacter infection and their susceptibility patterns in a tertiary care hospital. *Niger Med J* 2012; 53: 126–8.
- [19] Henwood CJ, Gatward T, Warner M i sur. Antibiotic resistance among clinical isolates of *Acinetobacter* in the UK, and in vitro evaluation of tigecycline (GAR-936). Dostupno na URL: <http://jac.oxfordjournals.org/content/49/3/479.long>
- [20] Cavallo JD, Hocquet D, Plesiat P, Fabre R, Roussel-Delvallez M; GERPA (Groupe d'Etude de la Résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques). Susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* to antimicrobials: a 2004 French multicentre hospital study. *J Antimicrob Chemother* 2007; 59: 1021–4.