

Pojavnost proti meticilinu odpornih sevov *Staphylococcus aureus* (MRSA) z zmanjšano občutljivostjo za vankomicin v UKC Ljubljana med letoma 2005 in 2010

The incidence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) with reduced susceptibility to vancomycin in the University Medical Centre Ljubljana between the years 2005 and 2010

Nina Cerkvėnik,¹ Bojana Beović,² Manica Mueller–Premru³

¹ Zdravstveni dom Koper, Dellavallejeva ulica, 6000 Koper – Capodistria

² Klinika za infekcijske bolezni in vroćinska stanja, Univerzitetni kliniĉni center, Japljeva ulica 2, Ljubljana

³ Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Zaloška cesta 4, Ljubljana

Korespondenca/ Correspondence:

Nina Cerkvėnik, dr. med.
e: nina.cerkvenik@gmail.com

Ključne besede:

hVISA; VISA; MIK; Etest; Vitek 2

Key words:

hVISA; VISA; MIC; Etest; Vitek 2

Citirajte kot/Cite as:

Zdrav Vestn 2014;
83: 505–12

Prispelo: 30. maj 2013,
Sprejeto: 7. nov. 2013

Izveleĉek

Izhodišĉa: Danes je proti meticilinu odporni *Staphylococcus aureus* (MRSA) eden od najpomembnejših proti antibiotikom odpornih povzročiteljev bolnišniĉnih okuĉb v svetu. Zdravilo izbire za zdravljenje okuĉb z MRSA je vankomicin. Zaradi dolgoletne velike porabe vankomicina so se pojavili razliĉni fenotipi MRSA z zmanjšano občutljivostjo oziroma odpornostjo proti vankomicinu (hVISA, VISA, VRSA). Zanimalo nas je, v kakšni meri se ti fenotipi pojavljajo v UKC Ljubljana.

Material in metode: Testirali smo občutljivost 101 izolata MRSA iz krvi bolnikov UKC Ljubljana v obdobju med avgustom 2005 in septembrom 2010. Upoštevali smo prvi izolat pri bolniku. Izolati so bili shranjeni v zbirki izolatov Laboratorija za hemokulture na Inštitutu za mikrobiologijo in imunologijo. Pri ugotavljanju občutljivosti za vankomicin in teikoplanin smo določili minimalne inhibitorne koncentracije (MIK). Uporabili smo metodo difuzijskega gradienta (Etest). Ker s tem testom ne prepoznamo heterogeno zmanjšane občutljivosti za vankomicin (hVISA), smo uporabili še makrometodo Etest.

Rezultati: Z obiĉajnim Etestom je bilo 100 testiranih izolatov MRSA občutljivih za vankomicin, pri enem izolatu smo ugotovili zmanjšano občutljivost za vankomicin (VISA). Med izolati, ki so bili z obiĉajnim Etestom občutljivi za vankomicin, smo z makrometodo Etest našli štiri izolate, ki so bili proti vankomicinu heterorezistentni (hVISA). V opazovalnem obdobju smo pri izo-

latih MRSA ugotovili minimalno naraščanje vrednosti MIK za vankomicin.

Zaključki: V UKC Ljubljana so izolati hVISA in VISA iz krvi redki. Naraščanje vrednosti MIK za vankomicin pri MRSA bo treba tudi v prihodnje skrbno spremljati in hkrati zmanjšati porabo vankomicina.

Abstract

Background: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is one of the most important antibiotic-resistant bacteria causing nosocomial infections in the world. A first-line treatment for infections with MRSA continues to be vancomycin. Due to its increased consumption, three MRSA phenotypes with reduced susceptibility to vancomycin (hVISA, VISA, VRSA) have emerged. We wanted to know to what extent these phenotypes occur in the University Medical Centre Ljubljana.

Material and methods: We tested susceptibility to vancomycin of 101 MRSA isolates obtained from blood samples of patients admitted to the University Medical Centre Ljubljana between August 2005 and September 2010; the isolates were stored in the database of the Laboratory of blood cultures at the Institute of Microbiology and Immunology. We carried out Etests to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) and Etest macro-method to identify heterogeneous vancomycin-intermediate *S. aureus* strains (hVISA).

Results: 100 MRSA isolates were susceptible to vancomycin with Etest, and one was vancomycin-intermediate *S. aureus* (VISA). With Etest macro-method, four isolates were additionally characterized as hVISA. Average MIC values of vancomycin show a minimal growth over the years.

Conclusions: hVISA and VISA isolates from blood samples are still rare in the University Medical Centre Ljubljana. MIC values will have to be closely monitored in the future. At the same time, we will have to reduce the use of vancomycin.

Izhodišča

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) je eden od najpogostejših povzročiteljev bakterijskih okužb.^{1,2} Njegova različica, proti metilcinu odporen *S. aureus* (MRSA), je danes eden najpomembnejših proti antibiotikom odpornih povzročiteljev bolnišničnih okužb v svetu. Okužba z MRSA je povezana z daljšim časom hospitalizacije in višjo smrtnostjo.^{3,4} V letnem poročilu Evropske nadzorne mreže za odpornost proti antibiotikom (European Antimicrobial Resistance Surveillance Network – EARS-Net) iz leta 2011 so glede na državo podani naslednji deleži izolatov MRSA, izoliranih iz hemokultur in likvorja: Slovenija 7,1 %, Italija 38,2 %, Avstrija 7,4 %, Madžarska 26,2 % in Nemčija 16,1 %. Najmanjši odstotek – manj kot 5 % – imajo Skandinavske države.³

Danes so zdravila izbire za zdravljenje okužb z MRSA vankomicin, linezolid in daptomicin⁵, v preteklosti pa je bil zdravilo izbire predvsem vankomicin.^{1,6,7} Večja poraba vankomicina v 80. in 90. letih preteklega stoletja je, predvsem v ZDA, povzročila razvoj sevov z zmanjšano občutljivostjo za vankomicin.^{8,9,10} Prvo poročilo o zmanjšani občutljivosti pri kliničnem izolatu MRSA izvira iz Japonske iz leta 1997,¹¹ kasneje so sledila poročila tudi iz ZDA,^{12,13,14} Evrope^{15,16,17} in Azije.^{18,19}

Danes poznamo tri različne fenotipe zmanjšane občutljivosti oziroma odpornosti proti vankomicinu, ki so opisani pri MRSA.²⁰

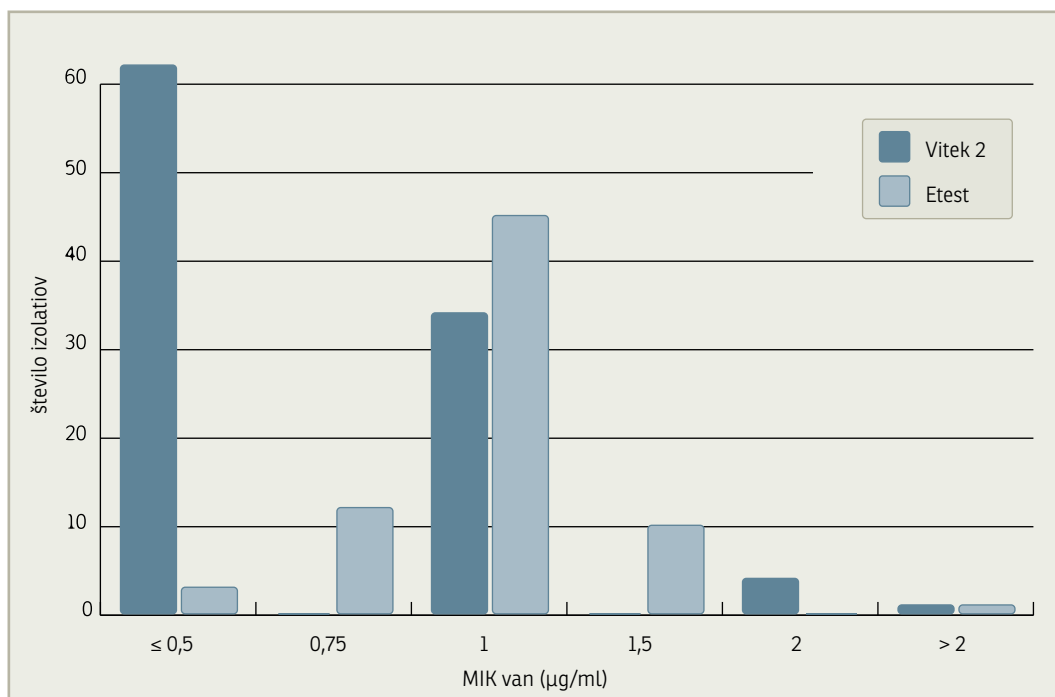
1. *S. aureus* s heterogeno zmanjšano občutljivostjo za vankomicin (hVISA). Gre za bakterije z minimalno inhibitorno koncentracijo (MIK) za vankomicin 1–2 µg/ml s subpopulacijo hčerinskih celic (1 organizem na 10⁵–10⁶ kolonije formirajočih enot), ki so sposobne rasti pri

koncentraciji vankomicina 4 µg/ml ali več. So predstopnja bakterije *S. aureus* z zmanjšano občutljivostjo za vankomicin (VISA).²⁰ hVISA je težko dokazati, saj je MIK za vankomicin znotraj območja občutljivosti standardov, določenih na Inštitutu za klinične in laboratorijske standarde (*angl.* Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI), in jih rutinske laboratorijske tehnike ne zaznajo.^{7,20} Zlati standard za zaznavo hVISA je populacijska analiza (*angl.* population analysis profile – PAP), ki pa je zamudna metoda. Zaradi tega razloga mnogi laboratoriji dokazujejo hVISA z drugimi metodami, kot je na primer makrometoda Etest.⁶

2. VISA so bakterije *S. aureus* z MIK za vankomicin 4–8 µg/ml.² Zmanjšana oziroma vmesna občutljivost za vankomicin je pri hVISA in VISA posledica debelejših celičnih stene, saj se glikopeptidne molekule ujamejo v njej in ne dosežejo tarčnih molekul. Vzrok je tudi povečana aktivnost sinteze celične stene, zmanjšana avtoliza, aktivnost stafilokoknega globalnega regulatorja Agr in občutljivost lizostafina ter sprememba teihoične kisline v celični steni. Okužba s hVISA ali VISA je posledica predhodne okužbe z MRSA, velikega bakterijskega bremena in predhodne izpostavljenosti vankomicinu.²⁰

3. Proti vankomicinu odporni *S. aureus* (VRSA) so organizmi z MIK za vankomicin 16 µg/ml ali več.² O okužbi z VRSA so prvič poročali iz ZDA leta 2002.²¹ Mehanizem odpornosti proti vankomicinu se pri VRSA razlikuje od VISA. Povzročajo jo gen *vanA*, ki ga je MRSA s konjugacijo prejel od proti vankomicinu odpornega enterokoka (VRE). Okužba z VRSA je posledica predhodne kolonizacije ali

Slika 1: Primerjava minimalne inhibitorne koncentracije za vankomicin (MIK van) v $\mu\text{g/ml}$ pri vseh testiranih izolatih MRSA z metodama Vitek 2 in Etest.



okužbe z VRE in čezmerne izpostavljenosti vankomicinu.^{2,20} Primeri z okužbo VRSA so redki. Do sedaj je objavljenih le 9 primerov okužbe z VRSA iz ZDA,^{22,23} 1 primer iz Indije,²⁴ 2 primera iz Irana,²⁵ 1 primer iz Brazilije²⁶ in 1 primer iz Evrope.²⁷ Okužbe s hVISA in VISA so pogostejše.²⁸⁻³⁰

Zaradi čezmerne uporabe vankomicina so v nekaterih bolnišnicah dokazali pojav plazenja MIK (*angl.* MIC creep).^{6,20} Gre za postopen in neopazen premik MIK proti višjim vrednostim, ki pa so še vedno znotraj območja občutljivosti glede na standarde CLSI.^{31,32}

Da bi ugotovili, ali se v UKC Ljubljana pri izolatih MRSA pojavlja hVISA in VISA ter ali se tudi pri nas pojavlja plaznje MIK, smo pri izolatih iz krvi od leta 2005 do 2010 ugotavljali občutljivost za vankomicin z določitvijo MIK z dvema metodama: Etest in Vitek 2. Dodatno smo hVISA iskali še z makrometodo Etest. Izolatov iz drugih kužnin nismo testirali.

Material in metode

Testirali smo občutljivost 101 izolata MRSA iz krvi bolnikov UKC Ljubljana v obdobju med avgustom leta 2005 in sep-

tembrom leta 2010 iz zbirke izolatov Laboratorija za hemokulture na Inštitutu za mikrobiologijo in imunologijo. Pri posameznem bolniku smo testirali le prvi izolat. Iz leta 2005 smo testirali 10, iz leta 2006 15, iz leta 2007 21, iz leta 2008 17, iz leta 2009 22 in iz leta 2010 16 izolatov. Iz let 2005 in 2010 nismo testirali vseh izolatov. Izolati so bili shranjeni na $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Spremljali smo tudi porabo vankomicina v UKC Ljubljana v letih 2005 do 2010; te podatke smo pridobili iz Informacijskega centra UKC Ljubljana.

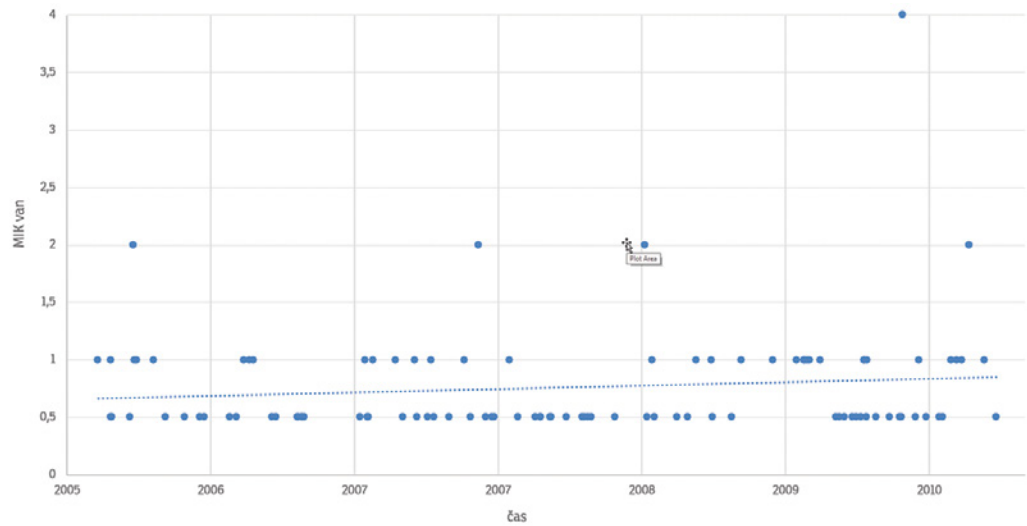
Prvi dan smo izolate zasejali na krvni agar in jih gojili čez noč pri temperaturi $35\text{ }^{\circ}\text{C}$, naslednji dan smo postopek ponovili. Tretji dan smo uporabili Etest metodo in Vitek 2 za določanje MIK ter makrometodo Etest za prepoznavo hVISA.

Določanje MIK za vankomicin pri izolatih MRSA

Do leta 2008 se je občutljivost po standardu CLSI lahko ugotavljala z antibiotičnim diskom, od leta 2009 pa CLSI predpisuje, da ta metoda ni dovolj zanesljiva za zaznavo zmanjšane občutljivosti in odpornosti, zato je treba določiti MIK.³³

MIK smo določali z dvema metodama: z metodo Etest in z metodo Vitek 2.

Slika 2: Vrednosti minimalnih inhibičnih koncentracij za vankomicin (MIK van) v $\mu\text{g/ml}$ po letih, določene z metodo Vitek 2.



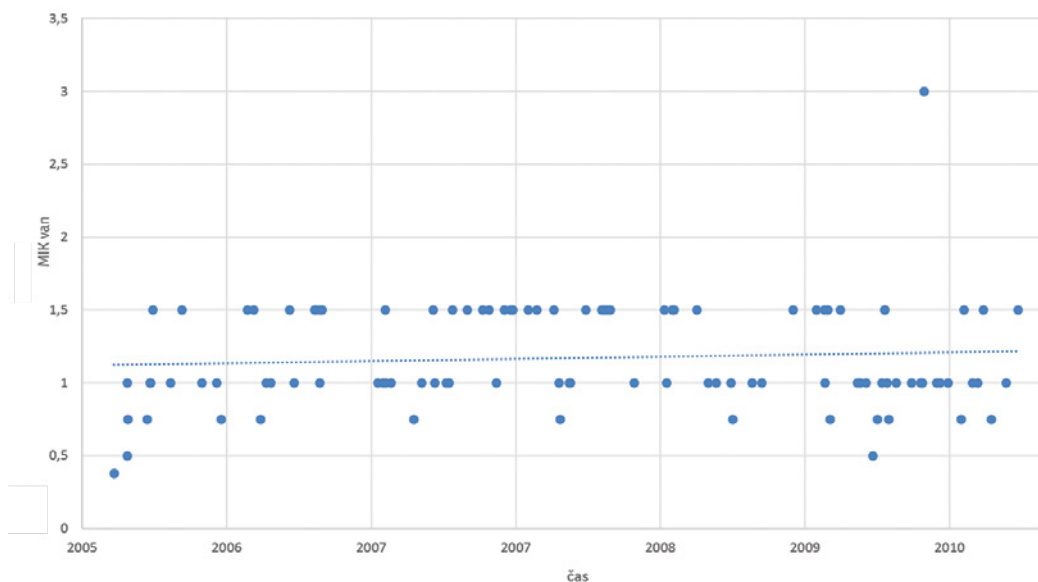
1. Etest (AB Biodisk, Solna, Švedska) je kvantitativna metoda za določanje občutljivosti bakterij za protimikrobna sredstva. Z njo določimo MIK, kar je najnižja koncentracija antibiotika, ki prepreči rast in razmnoževanje bakterij. Etesti so posebne, zelo tanke membrane, impregnirane z eksponentno rastočim gradientom koncentracij antibiotika.^{34,35} Uporabili smo 24-urno bakterijsko kulturo. S sterilnim brisom smo pobrali bakterijske kolonije z agarske plošče, jih suspendirali v fiziološki raztopini ter dobro pomešali. Končna gostota je morala biti 0,5 po McFarlandu. Z brisom smo s pomočjo inokulatorja prenesli suspenzijo na agar Mueller-Hinton. S pinceto smo na inokulirano agarsko ploščo položili Etest, ki vsebuje vankomicin v koncentraciji 0,016–256 $\mu\text{g/ml}$ ter inkubirali 24 ur pri 35 °C. Po inkubaciji je bila ob Etestu vidna inhibicijska cona v obliki elipse. MIK je bila vrednost na Etestu, kjer se je bakterijska rast stikala s trakom Etest. Dobljene rezultate smo interpretirali na osnovi standardov CLSI. Izolate MRSA, ki so imeli MIK za vankomicin $\leq 2 \mu\text{g/ml}$, smo interpretirali kot občutljive, izolate, ki so imeli MIK 4–8 $\mu\text{g/ml}$, kot VISA in izolate z MIK $\geq 16 \mu\text{g/ml}$ kot VRSA.³³
2. Vitek 2 (bioMerieux, Francija) je avtomatizirani sistem, namenjen kvantitativnemu določanju občutljivosti testiranih bakterij za antibiotike. Pri odpornih bakterijah nam poda tudi mehanizme od-

pornosti. Kartica AST vsebuje vdolbinice z znanimi koncentracijami antibiotikov, ti pa so pomešani z gojiščem v dehidrirani obliki. V dodatni kontrolni vdolbinici je gojišče brez antibiotika. Ustrezno razredčena raztopina z bakterijskim izolatom napolni vdolbinice na kartici AST in rehidrira njihovo vsebino. V 6–8 urah poda aparat vrednosti MIK za testirane antibiotike. Iz 24-urne bakterijske kulture smo napravili suspenzijo z gostoto 0,55–0,6 po McFarlandu. Epruveto z bakterijsko suspenzijo smo namestili v kaseto, za njo pa namestili prazno epruveto s kartico AST 580. Kaseto smo nato vnesli v aparat. Ta je iz prve epruvete pripravil suspenzijo z ustrezno gostoto, meril rast testiranega organizma brez in v prisotnosti antibiotika ter nato podal vrednost MIK za vsak antibiotik na kartici AST.^{35,36}

Dokazovanje izolatov hVISA z vankomicin-teikoplanin makrometodo Etest

Pri bolnikih, pri katerih zdravljenje z vankomicinom ni uspešno, MIK za vankomicin pa je v območju občutljivega, lahko z makrometodo Etest preverimo, ali gre za izolat hVISA. Iz 24-urne bakterijske kulture smo s fiziološko raztopino pripravili suspenzijo s končno gostoto 2 po McFarlandu. Z brisom smo s pomočjo inokulatorja prenesli suspenzijo na možgansko-srčni infuzijski agar (*angl.* brain heart infusion, BHI).

Slika 3: Vrednosti minimalnih inhibitornih koncentracij za vankomicin (MIK van) v $\mu\text{g/ml}$ po letih, določene z metodo Etest.



S pinceto smo na inokulirano agarso ploščo položili z vankomicinom impregnirano membrano Etesta in s teikoplaninom impregnirano membrano Etesta ter inkubirali 48 ur pri 35 °C. Sev je bil hVISA, če je rasel pri koncentraciji vankomicina in teikoplanina $\geq 8 \mu\text{g/ml}$ ali pri koncentraciji teikoplanina $\geq 12 \mu\text{g/ml}$.^{32,35}

Rezultati

Z obema metodama (Etest in Vitek 2) smo ugotovili, da je bilo 100 izolatov občutljivih za vankomicin, eden pa je bil VISA. Z makrometodo Etest so bili še štirje, od s prej omenjenima testoma občutljivih izolotov, okarakterizirani kot hVISA. Rezultati pri Etestu so podani v vrednostih MIK 0,5 $\mu\text{g/}$

ml, 0,75 $\mu\text{g/ml}$, 1 $\mu\text{g/ml}$, 1,5 $\mu\text{g/ml}$, 2 $\mu\text{g/ml}$ in več kot 2 $\mu\text{g/ml}$, pri Vitek 2 pa v vrednostih MIK 0,5 $\mu\text{g/ml}$, 1 $\mu\text{g/ml}$, 2 $\mu\text{g/ml}$ in več kot 2 $\mu\text{g/ml}$.

Z metodo Etest smo dobili višje vrednosti MIK (MIK₉₀ 1,5 $\mu\text{g/ml}$, povprečni MIK 1,172 $\mu\text{g/ml}$) kot z metodo Vitek 2 (MIK₉₀ 1 $\mu\text{g/ml}$, povprečni MIK 0,762 $\mu\text{g/ml}$). Z metodo Etest je bil MIK za vankomicin pri 3 % izolatov $\leq 0,5 \mu\text{g/ml}$, pri 11,9 % 0,75 $\mu\text{g/ml}$, pri 44,5 % 1 $\mu\text{g/ml}$, pri 39,6 % 1,5 $\mu\text{g/ml}$ in pri 1 % izolatov 3 $\mu\text{g/ml}$. Z metodo Vitek 2 pa je bil MIK za vankomicin pri 61,4 % izolatov $\leq 0,5 \mu\text{g/ml}$, pri 33,6 % 1 $\mu\text{g/ml}$, pri 4 % 2 $\mu\text{g/ml}$ in pri 1 % izolatov 4 $\mu\text{g/ml}$ (Slika 1, Tabela 1). Z metodo Etest smo dobili višje MIK kot z metodo Vitek 2, rezultati so bili v

Tabela 1: Prikaz vrednosti minimalnih inhibitornih koncentracij za vankomicin (MIK van) z metodama Etest in Vitek 2 po letih in prikaz izolatov hVISA, ugotovljenih z makrometodo Etest.

MIK van ($\mu\text{g/ml}$)	2005		2006		2007		2008		2009		2010	
	Vitek 2	Etest	Vitek 2	Etest	Vitek 2	Etest	Vitek 2	Etest	Vitek 2	Etest	Vitek 2	Etest
$\leq 0,5$	4	2	12	0	13	0	15	0	9	1	9	0
0,75	/	2	/	2	/	1	/	1	/	4	/	2
1	5	4	3	6	7	9	1	6	13	10	5	10
1,5	/	2	/	7	/	11	/	10	/	7	/	3
2	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0
>2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
hVISA		1						2				1

korelaciji, vendar le-ta ni statistično značilna ($p = 0,787$).

Vrednosti MIK za vankomicin so pri obeh metodah z leti minimalno rasle (Sliki 2, 3).

Poraba vankomicina je upadla z 1,75 definiranih dnevni doz na 100 bolnišnično oskrbnih dni (DDD/100 BOD) v letu 2006 na 1,5 DDD/100 BOD v letu 2010.

Razpravljanje

V našem okolju so sevi VISA in hVISA iz krvi redki, saj smo VISA dokazali samo pri enem bolniku, hVISA pa še pri štirih. Izolat VISA smo dokazali v letu 2010, ko smo že rutinsko dokazovali MIK za vankomicin, bil pa je izoliran pri bolniku, ki je imel z MRSA okuženo aortno opornico in je bil dolgo zdravljen z vankomicinom, naknadno pa z daptomicinom (osebna komunikacija). Z metodo Etest smo dobili višje MIK kot z metodo Vitek 2. Korelacija med metodama statistično ni bila značilna, kar je možno posledica majhnega vzorca. Pri metodi Etest lahko rezultati zaradi subjektivnosti pri odčitavanju zelo nihajo, je pa možno določiti tudi vmesne MIK, npr. MIK 0,5 µg/ml, 0,75 µg/ml, 1 µg/ml, 1,5 µg/ml, 2 µg/ml. Pri metodi Vitek 2 ne dobimo pravih MIK, ampak ocenjene, subjektivnosti pa v tem primeru ni, ker je odčitavanje avtomatizirano. Kljub temu smo izolat VISA dokazali z obema metodama, ostali pa so bili še v območju občutljivih. Najbolj zanesljiv rezultat dobimo z referenčno mikrodilucijsko metodo, ki pa je na razpolago samo v večjih referenčnih laboratorijih. V študiji Van Hal in sod. so z Etest metodo dobili za 1 razredčino višje MIK in z metodo Vitek 2 za 1 razredčino nižje MIK kot z referenčno metodo.³⁷

Vrednosti MIK so pri obeh metodah z leti minimalno rasle, vendar je rezultate težko vrednotiti, ker v letih 2005 in 2010 niso bili vključeni vsi izolati MRSA (Sliki 2, 3). Druge študije na področju plazenja MIK dajejo nasprotujoče si rezultate, saj so ga nekatere uspele dokazati, druge pa ne.^{6,31} Pojav večanja MIK za vankomicin povezujejo z izpostavitvijo MRSA subinhibitornim koncentracijam vankomicina, do katerih lahko pride zaradi slabega prodora antibiotika v

nekatera tkiva, prevelikega očistka pri ljudeh z normalno ledvično funkcijo in ob predpisovanju nezadostnih odmerkov zaradi otoksičnosti in nefrotoksičnosti ter s čezmerno in dolgotrajno rabo vankomicina.^{20,38} Le ta je v UKC Ljubljana v opazovanem obdobju upadla, tako da je do porasta MIK lahko prišlo zaradi izpostavitve MRSA subinhibitornim koncentracijam vankomicina. Musta in sod. trdijo, da se MIK za vankomicin in pogostost hVISA izolatov znotraj skupine MRSA povečuje, njihov klinični pomen pa še ni dokončno jasen.³² Podatkov o izidu zdravljenja bolnikov, katerih izolate smo testirali, žal nimamo. Kar nekaj raziskav dokazuje slabši odgovor na zdravljenje in večjo smrtnost pri bolnikih z MRSA bakteriemijo, pri katerih je bila vrednost MIK za vankomicin 1 µg/ml, 1,5 µg/ml oz. 2 µg/ml,^{7,39-42} druge raziskave pa trdijo, da odziv na zdravljenje ni odvisen od MIK temveč od ostalih dejavnikov.^{37,43,44} Gould poroča, da je bilo pri bolnikih z višjo vrednostjo MIK za vankomicin zdravljenje z vankomicinom pogosteje neuspešno kot pri ostalih. Bakteriemija je bila eradicirana pri 77 % in 71 % bolnikov z MIK 0,5 in 1 µg/ml in le pri 21 % bolnikov z MIK 2 µg/ml. Če odločitev o zdravljenju z vankomicinom temelji na vrednosti MIK, naj bi upoštevali rezultate Etesta.⁴¹ Walraven in sod. pa v nasprotju trdijo, da je za uspeh zdravljenja mesto okužbe pomembnejše od vrednosti MIK. Ugotovili so, da je neuspeh zdravljenja bolj pogost pri bolnikih z endokarditisom in pri bolnikih s pljučnico, tudi kadar imajo izolati nizko MIK za vankomicin in tudi če zdravimo z visokimi odmerki ter dosežemo serumske koncentracije večkratnika MIK. Prvi razlog za neuspeh so okužbe, pri katerih so zaradi farmakokinetike in farmakodinamike zadostne koncentracije vankomicina za baktericiden učinek na mestu okužbe nedosegljive, npr. pri pljučnici, povzročeni z MRSA. Drugi razlog so okužbe z visokim bakterijskim bremenom, kot so endokarditis in okužbe vsadkov, pri katerih je zdravljenje z vankomicinom prav tako pogosto neuspešno, bakterijsko breme se ne zmanjša, hkrati pa se selekcionirajo bakterijske celice z visoko MIK.⁴³

Tudi Van Hal in sod. trdijo, da evolucija izolatov z visokimi MIK zahteva veliko bak-

terijsko breme in da je okužba s hVISA prej posledica kot pa vzrok neuspešnosti zdravljenja z vankomicinom.⁴⁴

Zaključki

V našem okolju so sevi hVISA in VISA iz krvi redki. Zaenkrat ostajajo izolati MRSA večinoma občutljivi za vankomicin, kljub zmanjšanju porabe vankomicina pa je opazno rahlo povečevanje MIK. V literaturi prihaja do razhajanj o kliničnem pomenu višjih vrednosti MIK za vankomicin. Kar

nekaj raziskav dokazuje slabši odgovor na zdravljenje in večjo smrtnost pri bolnikih z bakteriemijo MRSA, katerih izolati so imeli višje vrednosti MIK, zato bo potrebno le te še naprej skrbno spremljati in hkrati poskusiti še zmanjšati porabo vankomicina.

Zahvala

Zahvaljujemo se farmacevtskemu podjetju Novartis Pharma Services INC. za donacijo materialov za izvedbo mikrobioloških preiskav.

Literatura

1. Seme K. Stafilokoki. In: Gubina M, Ihan A. Medicinska bakteriologija z imunologijo in mikologijo. Ljubljana: Medicinski razgledi; 2002. p. 139–45.
2. Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA, Mientzner TA. eds. Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical microbiology. 25th ed. New York, Toronto: McGraw Hill Medical; 2010.
3. EARS-Net–European Antimicrobial Resistance Surveillance Network. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2011. Surveillance reports, 16 Nov 2012. Dosegljivo na: <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/antimicrobial-resistance-surveillance-europe-2011.pdf>.
4. Cosgrove SE, Sakoulas G, Perencevich EN, Schwaber MJ, Karchmer AW, Carmeli Y. Comparison of mortality associated with methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia: a meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2003; 36: 53–9.
5. Čižman M, Beović B. Kako predpisujemo protimikrobna zdravila v bolnišnicah. 2., dopolnjena izd. . Ljubljana: Sekcija za protimikrobno zdravljenje Slovenskega zdravniškega društva; 2013.
6. Howden BP, Davies JK, Johnson PDR, Stinear TP, Grayson ML. Reduced vancomycin susceptibility in *Staphylococcus aureus*, including vancomycin-intermediate and heterogeneous vancomycin-intermediate strains: resistance mechanisms, laboratory detection, and clinical implications. *Clin Microbiol Rev* 2010; 23: 99–139.
7. Hsu DI, Hidayat LK, Quist R, Hindler J, Karlsson A, Yusof A, et al. Comparison of method-specific vancomycin minimum inhibitory concentration values and their predictability for treatment outcome of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infections. *Int J Antimicrob Agents* 2008; 32: 378–85.
8. Kirst HA, Thompson DG, Nicas TI. Historical yearly usage of vancomycin. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42: 1303–4.
9. Peleg AY, Monga D, Pillai S, Mylonakis E, Møllering Jr RC, Eliopoulos GM. Reduced susceptibility to vancomycin influences pathogenicity in *Staphylococcus aureus* infection. *J Infect Dis* 2009; 199: 532–6.
10. Appelbaum PC. Reduced glycopeptide susceptibility in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Int J Antimicrob Agents* 2007; 30: 398–408.
11. Hiramatsu K, Hanaki H, Ino T, Yabuta K, Oguri T, Tenover FC. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. *J Antimicrob Chemother* 1997; 40: 135–46.
12. CDC. *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin–United States, 1997. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1997; 46: 765–6.
13. Smith TL, Pearson ML, Wilcox KR, Cruz C, Lancaster MV, Robinson-Dunn B, et al. Emergence of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. *N Engl J Med* 1999; 340: 493–501.
14. CDC. *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin–Illinois, 1999. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2000; 48: 1165–7.
15. Ploy MC, Grelaud C, Martin C, De Lumley L, Denis F. First clinical isolate of vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* in a French hospital. *Lancet* 1998; 351: 1212.
16. Reverdy ME, Jarraud S, Bobin-Dubrex S, Burel E, Girardo P, Lina G, et al. Incidence of *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to glycopeptides in two French hospitals. *Clin Microbiol Infect* 2001; 7: 267–72.
17. Howe RA, Bowker KE, Walsh TR, Feest TG, MacGowan AP. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet* 1998; 351: 602.
18. Hiramatsu K, Aritaka N, Hanaki H, Kawasaki S, Hosoda Y, Hori S, et al. Dissemination in Japanese hospitals of strains of *Staphylococcus aureus* heterogeneously resistant to vancomycin. *Lancet* 1997; 350: 1670–3.
19. Wong SSY, Ho PL, Woo PCY, Yuen KY. Bacteremia caused by *Staphylococci* with inducible vancomycin heteroresistance. *Clin Infect Dis* 1998; 29: 760–7.
20. Nannini E, Murray BE, Arias CA. Resistance or decreased susceptibility to glycopeptides, daptomycin, and linezolid in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Curr Opin Pharmacol* 2010; 10: 516–21.
21. CDC. *Staphylococcus aureus* resistant to vancomycin–United States, 2002. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2002; 51: 565–7.

22. Sievert DM, Rudrik JT, Patel JB, Clifford McDonald L, Wilkins MJ, Hageman JC. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* in the United States, 2002–2006. *Clin Infect Dis* 2008; 46: 668–74.
23. Finks J, Wells E, Dyke TL, Husain N, Plizga L, Heddurshetti R, et al. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*, Michigan USA, 2007. *Emerg Infect Dis* 2009; 15: 943–5.
24. Saha B, Singh AK, Ghosh A, Bal M. Identification and characterization of a vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from Kolkata (South Asia). *J Med Microbiol* 2008; 57: 72–9.
25. Aligholi M, Emaneini M, Jabalameli F, Shahsavani S, Dabiri H, Sedaght H. Emergence of high-level vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* in the Imam Khomeini hospital in Tehran. *Med Princ Pract* 2008; 17: 432–4.
26. PAHO/WHO; Epidemiological alert: Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*. Dosegljivo 27. Junija 2013 na: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=docview&gid=22187&Itemid=&lang=en
27. Melo-Cristino J, Resina C, Manuel V, Lito L, Ramirez M. First case of infection with vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* in Europe. *Lancet* 2013; 382: 205.
28. Liu C, Chambers HF. *Staphylococcus aureus* with heterogeneous resistance to vancomycin: epidemiology, clinical significance, and critical assessment of diagnostic methods. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 3040–5.
29. Fridkin SK, Hageman J, McDougal LK, Mohammed J, Jarvis WR, Perl TM, et al. Epidemiological and microbiological characterization of infections caused by *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin, United States, 1997–2001. *Clin Infect Dis* 2003; 36: 429–39.
30. Ward PB, Johnson PD, Grabsch EA, Mayall BC, Grayson LM. Treatment failure due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) with reduced susceptibility to vancomycin. *Med J Aust* 2001; 175: 480–3.
31. Sader HS, Fey PD, Fish DN, Limaye AP, Pankey G, Rahal J, et al. Evaluation of vancomycin and daptomycin potency trends (MIC creep) against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates collected in nine U.S. medical centers from 2002 to 2006. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53: 4127–32.
32. Musta AC, Riederer K, Shemes S, Chase P, Jose J, Johnson LB, et al. Vancomycin MIC plus heteroresistance and outcome of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia: trends over 11 years. *J Clin Microbiol* 2009; 47: 1640–4.
33. Clinical and Laboratory Standards Institute CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 20 th informational supplement M100–S20. Villanova, PA, 2010.
34. Mueller Premru M, Seme K. Določanje občutljivosti bakterij na antibiotike – antibiogram. In: Gubina M, Mueller Premru M, eds. Priročnik za vaje iz mikrobiologije in imunologije za študente medicine. Ljubljana: Medicinska fakulteta, Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo; 2005. p. 99–106.
35. Fičur P. Občutljivost kliničnih izolatov *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* in *Enterococcus faecium* za lipopeptidni antibiotik daptomicin [diplomsko delo]. Ljubljana: Univerza v Ljubljani; 2009.
36. Winstanley T, Courvalin P. Expert Systems in Clinical Microbiology. *Clin Microbiol Rev* 2011; 24: 515–56.
37. Van Hal SJ, Barbogiannakos T, Jones M, Wehrhahn MC, Mercer J, Chen D, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* vancomycin susceptibility testing: methodology correlations, temporal trends and clonal patterns. *J Antimicrob Chemother* 2011; 66: 2284–7.
38. Sakoulas G, Moellering RCJ, Eliopoulos GM. Adaptation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the face of vancomycin therapy. *Clin Infect Dis* 2006; 42: S40–50.
39. Lodise TP, Graves J, Evans A, Graffunder E, Helmecke M, Lomaestro BM, et al. Relationship between vancomycin MIC and failure among patients with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia treated with vancomycin. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52: 3315–20.
40. Soriano A, Marco F, Martinez JA, Pisos E, Almela M, Dimova VP et al. Influence of vancomycin minimum inhibitory concentration on the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Clin Infect Dis* 2008; 46: 193–200.
41. Gould IM. Clinical relevance of increasing glycopeptide MICs against *Staphylococcus aureus*. *Internat J Antimicrob Agents* 2008; 31: S1–9.
42. Haque NZ, Cahuayme Zuniga L, Peyrani P, Reyes K, Lamerato L, Moore CL, et al. Relationship of vancomycin inhibitory concentration to mortality in patients with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* hospital acquired ventilator-associated, or health-care-associated pneumonia. *Chest* 2010; 138: 1356–62.
43. Walraven CJ, North MS, Marr-Lyon L, Deming P, Sakoulas G, Mercier RC. Site of infection rather than vancomycin MIC predicts vancomycin treatment failure in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteraemia. *J Antimicrob Chemother* 2011; 66: 2386–92.
44. Van Hal SJ, Paterson DL. Systematic review and meta-analysis of the significance of heterogeneous vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55: 405–10.