

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ENOTA MEDODDELČNEGA ŠTUDIJA MIKROBIOLOGIJE

Savina GOLIČNIK

**PRIMERJAVA MINIMALNIH INHIBITORNIH
KONCENTRACIJ ANTIBIOTIKOV PRI
BAKTERIJAH, IZOLIRANIH IZ KUŽNIN
BOLNIKOV IZ INTENZIVNIH ENOT IN Z
ODDELKOV**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

Ljubljana, 2016

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ENOTA MEDODDELČNEGA ŠTUDIJA MIKROBIOLOGIJE

Savina GOLIČNIK

**PRIMERJAVA MINIMALNIH INHIBITORNIH KONCENTRACIJ
ANTIBIOTIKOV PRI BAKTERIJAH, IZOLIRANIH IZ KUŽNIN
BOLNIKOV IZ INTENZIVNIH ENOT IN Z ODDELKOV**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**COMPARISON OF MINIMAL INHIBITORY CONCENTRATIONS
OF ANTIBIOTICS IN BACTERIA ISOLATED FROM PATIENTS IN
INTENSIVE CARE UNITS AND GENERAL WARDS**

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2016

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija mikrobiologije. Opravljeno je bilo na Inštitutu za mikrobiologijo in imunologijo Medicinske fakultete v Ljubljani, v Laboratoriju za hemokulture in druge urgentne mikrobiološke preiskave.

Po sklepu študijske komisije dodiplomskega študija mikrobiologije z dne 1.7.2005 ter na osnovi Pravilnika o dodiplomskem delu je bila za mentorico diplomskega dela imenovana prof. dr. Manica Müller Premru in za recenzentko prof. dr. Katja Seme.

Mentorica: prof. dr. Manica Müller Premru, dr. med.

Recenzentka: prof. dr. Katja Seme, dr. med.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednica: prof. dr. Darja ŽGUR BERTOK
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo

Članica: prof. dr. Manica MÜLLER PREMRU
Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo

Članica: prof. dr. Katja SEME
Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo

Datum zagovora:

Podpisana izjavljam, da je diplomsko delo rezultat lastnega raziskovalnega dela. Izjavljam, da je elektronski izvod identičen tiskanemu. Na univerzo neodplačno, neizključno, prostorsko in časovno neomejeno prenašam pravici shranitve avtorskega dela v elektronski obliki in reproduciranja ter pravico omogočanja javnega dostopa do avtorskega dela na svetovnem spletu preko Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete.

Savina Goličnik

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Dn
DK	UDK 582.23:615.015.8(043)=163.6
KG	bolnišnične okužbe/bakterije/odpornost bakterij/antibiotiki/minimalne inhibitorne koncentracije/določanje občutljivosti za antibiotike/VITEK 2
AV	GOLIČNIK, Savina
SA	MÜLLER PREMRU, Manica (mentorica) / SEME, Katja (recenzentka)
KZ	SI – 1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA	Univerza v Ljubljani. Biotehniška fakulteta, Enota medoddelčnega študija mikrobiologije
LI	2016
IN	PRIMERJAVA MINIMALNIH INHIBITORNIH KONCENTRACIJ ANTIBIOTIKOV PRI BAKTERIJAH, IZOLIRANIH IZ KUŽNIN BOLNIKOV IZ INTENZIVNIH ENOT IN Z ODDELKOV
TD	Diplomsko delo (univerzitetni študij)
OP	XI, 58 str., 18 pregl., 12 sl., 72 vir.
IJ	sl
JI	sl/en
AI	V diplomskem delu smo primerjali minimalne inhibitorne koncentracije (MIK) za bakterije, izolirane iz kužnin bolnikov z navadnih in intenzivnih oddelkov. Skupno smo testirali 219 izolatov klinično najpogostejših bakterij: <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> in <i>Enterococcus faecalis</i> . Za <i>E. coli</i> in <i>S. aureus</i> smo občutljivost določili še v letu 2014, kar nam je omogočilo primerjavo MIK med leti 2006 in 2014. Bakterije smo izolirali iz različnih kužnin, kot so: kri, likvor, punktat idr.. Izolate smo gojili na krvnem agarju, nato pa z avtomatiziranim sistemom VITEK 2 izvedli identifikacijo in določitev občutljivosti za različne antibiotike. Za vsako bakterijsko vrsto smo primerjali število odpornih izolatov, razpon MIK, razlike v vrednostih MIK ₅₀ in MIK ₉₀ za navadne in intenzivne oddelke, ponekod pa smo primerjali tudi pojav večkratne odpornosti. Rezultati so bili v skladu z našimi pričakovanji. Prevalenca odpornosti je bila pri večini bakterij višja na intenzivnih oddelkih, poleg tega so bile višje tudi razlike v MIK ₅₀ in MIK ₉₀ ter večkratna odpornost. <i>E. coli</i> z intenzivnih enot je bila leta 2006 bolj odporna proti ciprofloxacinu, gentamicinu in amikacinu, v letu 2014 pa je predvsem zaskrbljujoč pojav odpornost proti cefotaksimu (ESBL). Pri <i>S. aureus</i> je bilo leta 2006 več proti meticilinu odpornih izolatov (MRSA) na intenzivnih oddelkih kot na navadnih, v letu 2014 pa ne. Pri <i>K. pneumoniae</i> in <i>P. aeruginosa</i> so bili izolati z intenzivnih oddelkov bolj odporni proti večini testiranih antibiotikov, pri <i>P. aeruginosa</i> so imeli tudi večji razpon MIK in višje vrednosti MIK ₉₀ . Pri <i>E. faecalis</i> ni bilo razlik. Potrdili smo hipotezo, da je poraba večine antibiotikov višja na intenzivnih oddelkih in da imajo bakterije, izolirane z intenzivnih oddelkov, za nekatere antibiotike višje MIK kot tiste z navadnih oddelkov.

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN	Dn
DC	UDC 582.23:615.015.8(043)=163.6
CX	nosocomial infections/bacteria/bacterial resistance/antibiotics/susceptibility testing/minimal inhibitory concentrations/VITEK 2
AU	GOLIČNIK, Savina
AA	MÜLLER PREMRU, Manica (supervisor) / SEME, Katja (reviewer)
PP	SI – 1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
PB	University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Interdepartmental Programme in Microbiology
PY	2016
TI	COMPARISON OF MINIMAL INHIBITORY CONCENTRATIONS OF ANTIBIOTICS IN BACTERIA ISOLATED FROM PATIENTS IN INTENSIVE CARE UNITS AND GENERAL WARDS
DT	Graduation thesis (University studies)
NO	XI, 58 p., 18 tab., 12 fig., 72 ref.
LA	sl
AL	sl/en
AB	<p>In the graduation thesis we compared minimal inhibitory concentrations (MIC) of bacteria isolated from general wards and intensive care units. A total of 219 isolates of clinically important bacteria such as <i>Escherichia coli</i>, <i>Staphylococcus aureus</i>, <i>Klebsiella pneumoniae</i>, <i>Pseudomonas aeruginosa</i>, and <i>Enterococcus faecalis</i> were included in the study. For <i>E. coli</i> and <i>S. aureus</i> we repeated the susceptibility testing in 2014 which gave us the opportunity to compare the resistance between 2006 and 2014. Isolates were cultured on blood agar and incubated for 18-24 hours. Identification and susceptibility testing via automated system VITEK 2 followed. For every bacterial species mentioned above, we compared the resistance of isolates from general wards and intensive care units, determined and compared MIC ranges, MIC₅₀ and MIC₉₀ values and in some cases we even compared the prevalence of multiple resistant isolates. We found that isolates of most species from intensive care units had higher prevalence of resistance compared to general wards for the majority of tested antibiotics. In <i>E. coli</i> resistance to ciprofloxacin, gentamicin, amikacin was higher in intensive care units (2006) and resistance to cefotaxime (ESBL) appeared in 2014. Isolates of <i>S. aureus</i> from intensive care units compared to general wards were more resistant to oxacillin (MRSA) in 2006, fortunately resistance decreased in 2014. In <i>K. pneumoniae</i> and <i>P. aeruginosa</i> isolates from intensive care units were more resistant and <i>P. aeruginosa</i> isolates from intensive care units had also wider MIC ranges and higher MIC₉₀ values for the majority of tested antibiotics. There were no differences in <i>E. faecalis</i>. Overall, we managed to confirm our hypothesis that consumption of the majority of antibiotics is higher in intensive care units and that some bacterial isolates from intensive care units have higher MICs compared to the isolates from general wards.</p>

KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA (KDI)	III
KEY WORDS DOCUMENTATION (KWD).....	IV
KAZALO VSEBINE.....	V
KAZALO PREGLEDNIC.....	VII
KAZALO SLIK.....	IX
KAZALO PRILOG.....	X
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI.....	XI
1 UVOD	1
1.1 NAMEN DELA	2
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 KLINIČNO POMEMBNE BAKTERIJE	3
2.2 ANTIBIOTIKI.....	5
2.2.1 Zaviralci sinteze celične stene.....	7
2.2.2 Zaviralci sinteze proteinov.....	8
2.2.3 Zaviralci sinteze jedrnih kislin	10
2.2.4 Zaviralci delovanja celične membrane	12
2.2.5 Skupine antibiotikov, ki jih testiramo	12
2.3 ODPORNOST BAKTERIJ PROTI ANTIBIOTIKOM	12
2.3.1 Mehanizmi odpornosti bakterij proti antibiotikom	14
2.3.2 Odpornost proti različnim skupinam antibiotikov	15
2.3.3 Vzroki za pojav odpornosti bakterij proti antibiotikom	19
2.4 PORABA ANTIBIOTIKOV V ZDRAVSTVU	19
2.5 Z ZDRAVSTVOM POVEZANE OKUŽBE.....	20
2.6 DOLOČANJE OBČUTLJIVOSTI ZA ANTIBIOTIKE	21
2.6.1 Metode za določanje občutljivosti	22
3 MATERIAL IN METODE DELA	27
3.1 BAKTERIJSKI IZOLATI	27
3.1.1 Gojitev in inkubacija	28

3.2 DOLOČANJE OBČUTLJIVOSTI BAKTERIJ ZA ANTIBIOTIKE	29
3.2.1 Avtomatizirana metoda VITEK 2.....	29
3.2.2 Kontrolni sevi.....	32
4 REZULTATI.....	33
4.1 IDENTIFIKACIJA BAKTERIJ	33
4.2 DOLOČANJE OBČUTLJIVOSTI BAKTERIJ ZA ANTIBIOTIKE	34
4.2.1 Občutljivost izolatov <i>E. coli</i>	34
4.2.2 Občutljivost izolatov <i>S. aureus</i>	37
4.2.3 Občutljivost izolatov <i>K. pneumoniae</i>	40
4.2.4 Občutljivost izolatov <i>P. aeruginosa</i>	42
4.2.5 Občutljivost izolatov <i>E. faecalis</i>	44
5 RAZPRAVA.....	46
5.1 SKLEPI.....	50
6 POVZETEK.....	51
7 VIRI	53

ZAHVALA

PRILOGE

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1:	Razdelitev antibiotikov glede na mehanizem delovanja, kemično zgradbo in učinek	6
Preglednica 2:	Pregled vrste in števila izolatov	27
Preglednica 3:	Navadni in intenzivni oddelki	27
Preglednica 4:	Povprečna poraba antibiotikov na navadnih in intenzivnih oddelkih v sklopu 2006 in 2014 (DDD/100BOD)	28
Preglednica 5:	Sestava krvnega agarja	28
Preglednica 6:	Antibiotiki in njihove koncentracije ($\mu\text{g}/\text{ml}$) v ploščicah za določanje občutljivosti z VITEK 2	31
Preglednica 7:	Seznam antibiotikov, ki smo jih upoštevali v nalogi in interpretaciji po smernicah EUCAST za posamezne bakterijske vrste ali skupine	32
Preglednica 8:	Število izolatov za posamezne bakterijske vrste	33
Preglednica 9:	Delež odpornih izolatov <i>E. coli</i> z navadnih in intenzivnih oddelkov	34
Preglednica 10:	Razpon MIK, MIK_{50} in MIK_{90} izolatov <i>E. coli</i> z navadnih in intenzivnih oddelkov za nekatere testirane antibiotike	35
Preglednica 11:	Delež odpornih izolatov <i>S. aureus</i> z navadnih in intenzivnih oddelkov	37
Preglednica 12:	Razpon MIK, MIK_{50} in MIK_{90} izolatov <i>S. aureus</i> z navadnih in intenzivnih oddelkov za nekatere testirane antibiotike	38
Preglednica 13:	Delež odpornih izolatov <i>K. pneumoniae</i> z navadnih in intenzivnih oddelkov	40
Preglednica 14:	Razpon MIK, MIK_{50} in MIK_{90} izolatov <i>K. pneumoniae</i> z navadnih in intenzivnih oddelkov za nekatere testirane antibiotike	41

Preglednica 15:	Delež odpornih izolatov <i>P. aeruginosa</i> z navadnih in intenzivnih oddelkov	42
Preglednica 16:	Razpon MIK, MIK ₅₀ in MIK ₉₀ izolatov <i>P. aeruginosa</i> z navadnih in intenzivnih oddelkov za nekatere testirane antibiotike	43
Preglednica 17:	Delež odpornih izolatov <i>E. faecalis</i> z navadnih in intenzivnih oddelkov	44
Preglednica 18:	Razpon MIK, MIK ₅₀ in MIK ₉₀ izolatov <i>E. faecalis</i> z navadnih in intenzivnih oddelkov za nekatere testirane antibiotike	45

KAZALO SLIK

Slika 1:	Mesta delovanja posameznih antibiotikov	6
Slika 2:	Mehanizmi bakterijske odpornosti	14
Slika 3:	Avtomatiziran sistem VITEK 2	26
Slika 4:	Delež občutljivih, zmerno občutljivih in odpornih izolatov <i>E. coli</i> , izoliranih z navadnih in intenzivnih oddelkov v letu 2006 in 2014	35
Slika 5:	Delež izolatov <i>E. coli</i> , odpornih proti trem ali več antibiotikom hkrati ($R \geq 3$)	36
Slika 6:	Delež občutljivih, zmerno občutljivih in odpornih izolatov <i>S. aureus</i> , izoliranih iz navadnih in intenzivnih oddelkov v letu	38
Slika 7:	Delež izolatov <i>S. aureus</i> , odpornih proti trem ali več antibiotikom hkrati ($R \geq 3$)	39
Slika 8:	Delež občutljivih, zmerno občutljivih in odpornih izolatov <i>K. pneumoniae</i> z navadnih in intenzivnih oddelkov	40
Slika 9:	Delež izolatov <i>K. pneumoniae</i> , odpornih proti trem ali več antibiotikom hkrati ($R \geq 3$)	41
Slika 10:	Delež občutljivih, zmerno občutljivih in odpornih izolatov <i>P. aeruginosa</i> , izoliranih iz navadnih in intenzivnih oddelkov	42
Slika 11:	Delež izolatov <i>P. aeruginosa</i> , odpornih proti trem ali več antibiotikom hkrati ($R \geq 3$)	43
Slika 12:	Delež občutljivih, zmerno občutljivih in odpornih izolatov bakterij <i>E. faecalis</i> , izoliranih iz navadnih in intenzivnih oddelkov	44

KAZALO PRILOG

Priloga A: Prikaz vrednosti MIK za antibiotike izolatov *E. coli* (2006) iz različnih kužnin in oddelkov

Priloga B: Prikaz vrednosti MIK za antibiotike izolatov *E. coli* (2014) iz različnih kužnin in oddelkov

Priloga C: Prikaz vrednosti MIK za antibiotike izolatov *S. aureus* (2006) iz različnih kužnin in oddelkov

Priloga D: Prikaz vrednosti MIK za antibiotike izolatov *S. aureus* (2014) iz različnih kužnin in oddelkov

Priloga E: Prikaz vrednosti MIK za antibiotike izolatov *K. pneumoniae* iz različnih kužnin in oddelkov

Priloga F: Prikaz vrednosti MIK za antibiotike izolatov *P. aeruginosa* iz različnih kužnin in oddelkov

Priloga G: Prikaz vrednosti MIK za antibiotike izolatov *E. faecalis* iz različnih kužnin in oddelkov

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

AES	sistem za interpretacijo rezultatov občutljivosti za antibiotike pri avtomatiziranem sistemu VITEK 2 (angl. Advanced Expert System)
Antibiotik	snov, ki ubija mikrobe ali zavira njihovo rast
CFU	število bakterij, ki tvorijo kolonije (angl. Colony-Forming Units)
CLSI	Ameriški standard za določanje občutljivosti bakterij za antibiotike (angl. Clinical and Laboratory Standards Institute)
ESBL	betalaktamaze razširjenega spektra (angl. Extended-Spectrum Beta-Lactamases)
EUCAST	Evropske smernice za določanje občutljivosti bakterij za antibiotike (angl. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing)
I	zmerno občutljiv za antibiotik (angl. intermediate)
McF	standard, ki služi kot referenca za prilagoditev gostote bakterijskih suspenzij (angl. McFarland)
MIK	minimalna inhibitorna koncentracija, ki zavira razmnoževanje testiranega mikroorganizma (angl. Minimal Inhibitory Concentration – MIC)
MIK ₅₀	minimalna inhibitorna koncentracija, ki inhibira rast 50 % testiranih izolatov
MIK ₉₀	minimalna inhibitorna koncentracija, ki inhibira rast 90 % testiranih izolatov
MRSA	proti meticilinu odporen <i>Staphylococcus aureus</i> (angl. Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>)
R	odporen proti antibiotiku (angl. resistant)
S	občutljiv za antibiotik (angl. susceptible)
UKCLJ	Univerzitetni klinični center Ljubljana
VRE	proti vankomicinu odporni enterokoki (angl. Vancomycin-Resistant Enterococci)

1 UVOD

Odkritje antibiotikov predstavlja enega največjih mejnikov v medicini. Bolezni, ki so nekoč veljale za smrtonosne, so skorajda čez noč postale ozdravljive. V desetletjih od odkritja prvega antibiotika, penicilina, so znanstveniki odkrili že na stotine antibiotikov, mnoge med njimi so tudi umetno sintetizirali ali preoblikovali, ter s tem izrazito izboljšali njihove protimikrobne in farmakološke lastnosti. Pa vendar so na prav vsak nov antibiotik bakterije odgovorile s pojavom odpornih sevov.

Bakterije so lahko proti antibiotikom zaradi normalnih genetskih, strukturnih ali fizioloških značilnosti naravno odporne, odpornost pa lahko tudi pridobijo z mutacijo kromosomskega ali plazmidnega dela ali s prevzemom nove genetske informacije z genetskim prenosom. Selekcijo odpornih sevov povzroča množična in nekriticna poraba antibiotikov, predvsem tistih s širokim spektrom delovanja. Zato je povsem razumljivo, da so največja žarišča nastanka in širjenja odpornosti prav bolnišnice, še posebej intenzivne enote, kjer je poraba antibiotikov praviloma višja kot na navadnih oddelkih.

Pri zdravljenju bakterijskih okužb je tako bistvenega pomena pravilna in hitra diagnostika ter določanje občutljivosti za antibiotike. Za pravilno izbiro protimikrobne terapije moramo seveda poznati morebitne mehanizme odpornosti. Poznamo več metod za določanje občutljivosti mikroorganizmov za antibiotike, v zadnjih letih pa se v rutinski laboratorijski diagnostiki uporablja tudi avtomatizirani sistem VITEK 2, ki omogoča določanje minimalnih inhibitornih koncentracij (MIK) antibiotikov, ki zavrejo rast nekega mikroorganizma. Na podlagi smernic kot so Evropske smernice za določanje občutljivosti bakterij za antibiotike (EUCAST), lahko nato tovrstne kvantitativne rezultate interpretiramo kot občutljiv (S), zmerno občutljiv ali intermediaren (I) ali odporen (R), kar klinikom precej olajša izbiro ustrezne protimikrobne terapije.

1.1 NAMEN DELA

Namen diplomskega dela je bil primerjati minimalne inhibitorne koncentracije (MIK) antibiotikov pri bakterijah izoliranih iz kužnin bolnikov iz intenzivnih enot in z navadnih oddelkov. V ta namen smo primerjali rezultate 219 izolatov najpogostejših povzročiteljev bakterijskih okužb: *E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* in *E. faecalis*. Občutljivost bakterij smo določali z avtomatiziranim sistemom VITEK 2. Glede na trend porabe antibiotikov in porast bakterijske odpornosti smo pričakovali razlike v MIK.

Primerjali smo MIK izolatov med navadnimi in intenzivnimi oddelki, pri izolatih *E. coli* in *S. aureus* pa smo naredili še primerjavo MIK med leti 2006 in 2014.

2 PREGLED OBJAV

2.1 KLINIČNO POMEMBNE BAKTERIJE

Escherichia coli

Spada v družino *Enterobacteriace* in je tipična predstavnica enterobakterij. Je po Gramu negativen, fakultativno aeroben bacil, ki ima katalazo, a nima oksidaze. Veliko število teh bakterij lahko najdemo kot predstavnike mikrobiote prebavil, tako pri ljudeh kakor tudi pri živalih (Andlovic, 2002a). *E. coli* je torej komenzal, ki povzroča predvsem oportunistične okužbe pri bolnikih z oslabljenim imunskim odzivom. Poseduje širok spekter specifičnih virulentnih dejavnikov (eksotoksini, adhezini), ki ji omogočajo povzročitev številnih bolezni kot so: sepsa, meningitis, gastroenteritis (Murray in sod., 2002). Velja za najpogostejši po Gramu negativen bacil, izoliran iz vzorcev bolnikov s sepso. Odgovoren je za kar 80 % okužb sečil domačega okolja, velik del bolnišničnih okužb ter je pomemben povzročitelj gastroenteritisa v državah v razvoju (Murray in sod., 2002).

Klebsiella pneumoniae

K. pneumoniae spada med enterobakterije in je temu primerno po Gramu negativen aeroben oziroma fakultativno anaeroben bacil. Bakterije rodu *Klebsiella* so obdane s kapsulo, kar daje njihovim kolonijam značilen sluzast izgled (Murray in sod., 2002). Najdemo jo v mikrobioti prebavil, vendar le v majhnem številu. Predstavlja veliko težavo pri bolnikih na intenzivnih oddelkih, katerim antibiotična terapija poruši ravnovesje normalne mikrobiote, kar bakterijam iz rodu *Klebsiella* omogoča naselitev v prebavilih in zgornjih dihalih. Pri alkoholikih in bolnikih z osnovno pljučno boleznijo povzroči zelo trdrovatne pljučnice (Murray in sod., 2002; Andlovic, 2002c). Poleg pljučnic lahko povzroča tudi okužbe ran, mehkih tkiv in sečil (Murray in sod., 2002). S prevzemom plazmidov zelo hitro razvije odpornost proti antibiotikom (Andlovic, 2002c).

Staphylococcus aureus

S. aureus je po Gramu pozitiven, katalaza in koagulaza pozitiven, fakultativno anaeroben, nesporogen kok, ki se ureja v grozdu podobne skupke. Povzroča gnojne okužbe kože, kirurških ran in opeklin, ki so lahko lokalizirane ali posledica hematogenega širjenja bakterije. Vir bakterije so navadno bolniki in pa zdravi klicenosci. Pri 20-30 % populacije najdemo *S. aureus* kot del mikrobiote kože in sluznic (Seme, 2002a). Obolenja povzroča bodisi preko sinteze toksinov, bodisi kot rezultat neposredne invazije in uničenja tkiva (Murray in sod., 2002)

Enterococcus faecalis

Enterokoki so po Gramu pozitivni koki, tipično urejeni v pare ali kratke verige (Murray in sod., 2002). So katalaza in oksidaza negativni fakultativni anaerobi, ki jih najdemo kot del mikrobiote v črevesju in nožnici. Imajo omejen potencial za povzročitev bolezni, kljub temu pa lahko povzročijo zelo resne okužbe, kadar ob invazivnih posegih prodrejo v primarno sterilna območja (Seme, 2002c). Zaradi prirojene (oksacilin, cefalosporini) ali pogosto tudi pridobljene odpornosti (aminoglikozidi, vankomicin) proti številnim antibiotikom predstavljajo veliko težavo pri bolnišničnih okužbah, predvsem pri bolnikih z dolgotrajno hospitalizacijo, ki so podvrženi terapiji z antibiotiki s širokim spektrom delovanja (Murray in sod., 2002).

Pseudomonas aeruginosa

P. aeruginosa je majhen po Gramu negativen, nefermentativen, striktno aeroben bacil (Murray in sod., 2002). V naravi ga je moč najti na rastlinah in v zemlji ter vodi (Müller Premru, 2002). Zanj so značilni številni virulentni dejavniki kot so: polisaharidna kapsula, pilusi, eksotoksina A in B ter številni encimi. Povzroča okužbe pljuč, kože, opeklin, ran, sečil, oči in ušes. Prehodno lahko kolonizira dihala in prebavila hospitaliziranih bolnikov, predvsem tistih, ki prejemajo antibiotike s širokim spektrom delovanja, so priključeni na dihalne aparate ali pa so hospitalizirani dlje časa (Murray in sod., 2002). Zaradi svoje prilagodljivosti in odpornosti proti antibiotikom ter razkužilom *P. aeruginosa* predstavlja velik izziv v bolnišničnem okolju. Prirojeno ima odpornost proti

različnim antibiotikom, podvržena pa je tudi mnogim mutacijam. Veliko težavo predstavljajo predvsem mutacije porinskih proteinov, ki so zadolženi za vnos molekul skozi zunanjou membrano. Sprememba le-teh lahko onemogoči dostop antibiotikov v celico in posledično botruje pojavu odpornosti (Murray in sod., 2002).

2.2 ANTIBIOTIKI

Antibiotiki so kemijsko zelo raznolika skupina kemijskih spojin, ki ovirajo razmnoževanje mikroorganizmov in so bodisi produkt živih celic, npr. gliv ali bakterij bodisi so sintetizirani umetno (kemoterapevtiki). Predstavljajo enega največjih mejnikov v medicini, saj je njihova uporaba močno zmanjšalo smrtnost. Do njihovega odkritja je prišlo leta 1928 in to čisto po naključju. Od takrat so znanstveniki odkrili že na stotine antibiotikov, mnoge med njimi so tudi umetno sintetizirali ali preoblikovali in s tem izrazito izboljšali njihove antimikrobne in farmakološke lastnosti. Uspešnost antibiotikov je odvisna predvsem od njihove selektivnosti, spektra delovanja, razpolovne dobe, zmožnosti prodiranja v medceličnino in likvor, vezave z beljakovinami v plazmi, načina jemanja in nenazadnje od prisotnosti oz. odsotnosti neželenih učinkov (Kotnik, 2002).

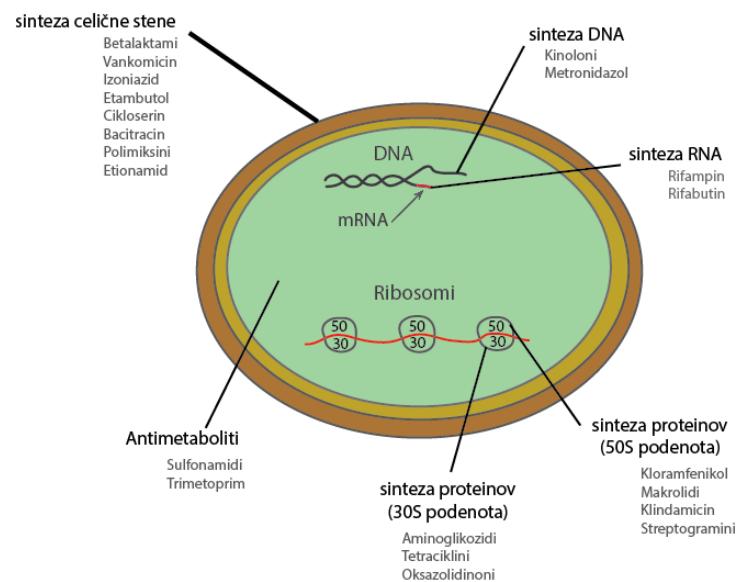
Do danes je bilo odkritih že ogromno antibiotikov, a le 1 % jih ima praktično veljavo tudi v medicini. Ločimo antibiotike širokega in ozkega spektra delovanja. Prvi delujejo tako na po Gramu negativne kakor tudi na po Gramu pozitivne bakterije, medtem ko so antibiotiki ozkega spektra delovanja škodljivi samo za določene skupine organizmov in so prav zaradi tega zelo pomembni pri nadzoru mikroorganizmov, ki so nedovzetni za učinke preostalih antibiotikov (Madigan in sod., 2000). Protimikrobna sredstva delujejo selektivno na vitalne funkcije mikrobov, pri čemer ne interferirajo s funkcijami gostitelja.

Delimo jih na podlagi mehanizma delovanja, kemične zgradbe in učinka. Učinek je lahko bodisi baktericiden ali bakteriostatičen. Baktericidni antibiotiki poškodujejo mikroorganizem do te mere, da se ni več zmožen uspešno razmnoževati, medtem ko bakteriostatični antibiotiki razmnoževanje zgolj zavrejo (Kotnik, 2002).

Glede na mehanizem delovanja oziroma na mesto delovanja lahko protimikrobnna sredstva razdelimo v štiri skupine: zaviralce sinteze celične stene, zaviralce sinteze znotrajceličnih beljakovin, zaviralce sinteze jedrnih kislin in na tiste, ki ovirajo dejavnosti, povezane s citoplazemsko membrano (Kotnik, 2002). Bolj nazorna porazdelitev skupin z najbolj pomembnimi predstavniki je razvidna iz preglednice 1, na sliki 1 pa so prikazana najbolj pogosta mesta delovanja antibiotikov.

Preglednica 1: Razdelitev antibiotikov glede na mehanizem delovanja, kemično zgradbo in učinek

Mehanizem delovanja	Skupina antibiotikov	Predstavniki
Zaviralci sinteze celične stene		
Betalaktami	penicilini, cefalosporini, karbapenemi, monobaktami	
Glikopeptidi	vankomicin, teikoplanin	
Polipeptidi	bacitracin	
Zaviralci sinteze proteinov		
Vežejo na 50S ribosomalno podenoto	Kloramfenikoli	kloramfenikol
	Makrolidi	eritromicin
	Linkozamidi	klindamicin
Vežejo na 30s ribosomalno podenoto	Aminoglikozidi	streptomycin, kanamicin, gentamicin neomicin
	Tetraciklini	tetraciklin
	Oksazolidinoni	linezolid
Zaviralci sinteze nukleinskih kislin		
Zavirajo sintezo DNA	Fluorokinoloni	ciprofloksacin
Zavirajo sintezo RNA	Rifampin	
	Sulfonamidi	
	Analogi folne kisline	
Vpliv na strukturo celične membrane		
Polimiksin	kolistin	
Daptomicin		



Slika 1: Mesta delovanja posameznih antibiotikov (Murray in sod., 2002)

2.2.1 Zaviralci sinteze celične stene

Najbolj razširjen mehanizem delovanja antibiotikov je zaviranje sinteze bakterijske celične stene. V tej skupini antibiotikov so najbolj pomembni betalaktami, glikopeptidi in polipeptidni antibiotiki.

Betalaktami

Betalaktami so zgodovinsko in medicinsko najbolj pomembna skupina antibiotikov. Sem prištevamo peniciline, cefalosporine, cefamicine, karbapeneme, monobaktame in zaviralce betalaktamaz, vse medicinsko zelo pomembne protimikrobne agense. Ime so dobili po značilni strukturi, katere osrednja komponenta je betalaktamski obroč. Učinkoviti so predvsem proti po Gramu pozitivnim bakterijam, ki imajo izrazit peptidoglikanski sloj. Betalaktami delujejo baktericidno. Celično smrt povzročijo tako, da se vežejo na PBP (ang. Penicillin Binding Protein) ter inaktivirajo transpeptidaze, s čimer preprečijo obnovo in rast celične stene (Kotnik, 2002).

Glikopeptidi

Najbolj znana predstavnika te skupine antibiotikov sta vankomicin in teikoplanin, ki sta zelo učinkovita proti po Gramu pozitivnim bakterijam. Vankomicin je v medicini uporaben predvsem v boju proti meticilinu odpornim stafilocokom in drugim po Gramu pozitivnim bakterijam, ki so odporne proti betalaktamom. Protimikrobnna aktivnost glikopeptidov izhaja iz transglikozilacije sestavin celične stene. Omenjena antibiotika se namreč vežeta na D-alanin-D-alanin konce pentapeptidnih stranskih verig peptidoglikana ali prekurzorjev in s tem preprečujeta mreženje peptidoglikanskih verig. Glikopeptidi so učinkoviti samo proti po Gramu pozitivnim bakterijam. Bakterije, ki imajo D-alanin-D-laktat konce so naravno odporne proti vankomicinu, odpornost pa lahko pridobijo tudi s plazmidi, ki nosijo gene za spremembe pentapeptidnih koncov (Murray in sod., 2002).

Polipeptidi

Bacitracin, najbolj razširjen polipeptidni antibiotik, zavira sintezo celične stene s tem, ko moti defosforilacijo in reciklažo lipidnega prenašalca, zadolženega za prenos peptidoglikanskega prekurzorja skozi citoplazemskega membrano do celične stene. Glede na to, da deluje na peptidoglikanski sloj, je učinkovit zgolj proti po Gramu pozitivnim bakterijam. Zaradi toksičnosti ga uporabljamo le za lokalno zdravljenje (Murray in sod., 2002).

2.2.2 Zavralci sinteze proteinov

Aminoglikozidi

Aminoglikozidi vsebujejo amino sladkorje z glikozidno vezjo, vezane na aminociklitolni obroč, od koder tudi izhaja njihovo ime. Klinično najbolj pomembni aminoglikozidi so: streptomycin, kanamicin, gentamicin in neomicin. Učinkoviti so proti po Gramu negativnim in nekaterim po Gramu pozitivnim bakterijam (stafilokokom). Dandanes se te antibiotike uporablja manj, saj so jih zamenjali semisintetični penicilini in kinoloni. V večini primerov služijo kot rezerva, če vsem ostalim antibiotikom spodleti v boju z določenim mikroorganizmom. Po vstopu v bakterijsko celico se aminoglikozidi irreverzibilno vežejo na 30S ribosomalno podenoto, s čimer se sproži sinteza napačnih proteinov zaradi napak pri prebiranju ali pa prekinitev sinteze proteina in predčasna sprostitev ribosoma z mRNA. Prehod antibiotika skozi citoplazemskega membrano je aeroben in energijsko zahteven proces, zato so vsi anaerobi naravno odporni proti tej skupini antibiotikov. Odpornost proti aminoglikozidom se razvije na tri načine: mutacija ribosomskega tarčnega mesta, zmanjšan vnos antibiotika v celico, encimatska sprememba antibiotika (Madigan in sod., 2000).

Tetraciklini

Sodijo med prve antibiotike s širokim spektrom delovanja, saj s tem, ko se vežejo na 30S ribosomsko podenoto in preprečijo vezavo aminoacil t-RNA na akceptorsko (A) mesto, zavirajo rast večine po Gramu negativnih in pozitivnih bakterij. Učinkoviti so tudi proti atipičnim bakterijam, kot so klamidije, rikecije in mikoplazme. Odpornost je navadno posledica bodisi zmanjšanega vnosa antibiotika v celico, bodisi aktivnega izčrpavanja tega agensa, seveda pa lahko odpornosti botrujeta tudi sprememba ribosomskega tarčnega mesta ali encimska razgradnja antibiotika (Murray in sod., 2002). Najbolj znana predstavnika te skupine antibiotikov sta tetraciklin in doksicilin.

Oksazolidinoni

Oksazolidinoni so antibiotiki ozkega spektra delovanja. Z vezavo na 30S ribosomsko podenoto preprečijo nastanek iniciacijskega kompleksa in s tem sintezo celotnega proteina. Najbolj znan predstavnik je linezolid, ki je zelo učinkovit proti stafilokokom, streptokokom in enterokokom. Zaradi prav posebnega mehanizma delovanja je zelo malo možnosti za navzkrižno delovanje, zato je antibiotik izbora pri zdravljenju okužb, ki jih povzročajo večkratno odporni enterokoki (Murray in sod., 2002).

Kloramfenikol

Ima podoben širok spekter delovanja kot je značilen za tetracikline, vendar ga ne uporabljam več. Vzrok tiči v tem, da poleg tega, da zavira sintezo bakterijskih proteinov, zavira tudi sintezo celic človeškega kostnega mozga, kar lahko vodi do aplastične anemije. Bakteriostatično delovanje je posledica reverzibilne vezave antibiotika na peptidil transferazo 50S ribosomske podenote, kar prepreči elongacijo proteina. Mehanizmi odpornosti proti kloramfenikolu se prenašajo na plazmidih, lahko pa pride tudi do kromosomske mutacije porinov zunanje membrane, kar privede do zmanjšanega oziroma preprečenega vnosa antibiotika v bakterijsko celico (Murray in sod., 2002).

Makrolidi

Osnovno strukturo te skupine antibiotikov predstavlja makrociklični laktonski obroč. Najbolj znan predstavnik je eritromicin, ki ga pridobivamo iz bakterije *Streptomyces erythreus* in ga uporabljam predvsem za zdravljenje bolnikov, ki so alergični na penicilin ali kateri drug betalaktamski antibiotik (Madigan in sod., 2000). Makrolidi delujejo bakteriostatično, v večjih koncentracijah pa so lahko tudi baktericidni. Reverzibilno se vežejo na 50S ribosomsko podenoto in preprečijo elongacijo proteina (Murray in sod., 2002). Eritromicin deluje proti po Gramu pozitivnim kokom in atipičnim bakterijam. Z modifikacijo makrolidne strukture sta luč sveta ugledala še dva makrolidna antibiotika, azitromicin in klaritromicin. Prvi je izredno učinkovit v boju proti povzročiteljem, ki so zajeti v nevtrofilcih in makrofagih (Kotnik, 2002).

Linkozamidi

Klindamicin, najbolj znan predstavnik linkozamidov, tako kot makrolidi in kloramfenikol z vezavno na 50S ribosomsko podenoto zavira elongacijo novonastajajočega proteina. Učinkovito uničuje predvsem stafilocoke in po Gramu negativne anaerobne bacile (Murray in sod., 2002).

2.2.3 Zaviralci sinteze jedrnih kislin

Kinoloni

Nalidiksično kislino, prvo predstavnico kinolonov, so dandanes zamenjali novi in bolj učinkoviti kinoloni kot so: ciprofloksacin, levofloksacin in gatifloksacin. Fluorokinoloni, kot krajše rečemo novejšim predstavnikom, nastanejo z modifikacijo obročev kinolonskega nukleusa. Z zamenjavo enega atoma fluora na šesti poziciji kinolonskega obroča drastično izboljšamo njihovo učinkovitost proti po Gramu negativnim in pozitivnim bakterijam. Njihovo delovanje je baktericidno, saj zavirajo delovanje nekaterih topoizomerarnih

encimov (giraze, topoizomeraze IV), ki skrbijo za topologijo dvojne vijačnice DNK (Murray in sod., 2002).

Rifampin

Rifampin, semisintetičen derivat rifampicina B, ki ga proizvaja *Streptomyces mediterranei*, se veže na RNK polimerazo in zavira sintezo m-RNK. Bakterije lahko dokaj hitro razvijejo odpornost proti rifampinu, zato ga vedno predpišemo v kombinaciji z drugimi antituberkulotiki (izoniazid, pirazinamid, etambutol idr.) (Kotnik, 2002).

Sulfonamidi

So antimetaboliti, ki tekmujejo s p-aminobenzojevo kislino za vezisko na encimu pteroatsintetazi, s čimer zavirajo sintezo folne kisline in pirimidinov, ki so osnovni gradniki jedrnih kislin. Sesalci niso sposobni sami proizvajati folne kisline, zato sulfonamidi ne vplivajo na njihov celični metabolizem. Sulfonamidi škodujejo širokemu naboru po Gramu negativnih in pozitivnih organizmov. Samih sulfonamidov skorajda ne uporabljamo več, saj so bakterije že razvile odpornost proti njim. Uporabljamo jih le še v kombinaciji s trimetoprimom kot trimetoprim/sulfametoksazol (Kotnik, 2002).

Trimetoprim

Trimetoprim je antifolat, analog dihidrofolne kisline, ključne komponente pri sintezi aminokislin in nukleotidov. Zavira metabolizem folne kisline s tem, ko zavira delovanje dihidrofolat reduktaze, ki je ključna komponenta pri sintezi timidina, nekaterih purinov, metionina in glicina. Pogosto ga predpišemo v kombinaciji s sulfametoksazolom. Gre za sinergistično reakcijo, ki metabolizem folne kisline prekine na dveh različnih stopnjah in je potem takem takšno zdravljenje veliko bolj učinkovito (Murray in sod., 2002).

2.2.4 Zaviralci delovanja celične membrane

Polimiksini

Delujejo baktericidno s tem, ko na podoben način kot kationski detergenti razgrajujejo fosfolipidni dvosloj. Najbolj znan predstavnik je kolistin, ki ga uporabljam predvsem za peroralno razkuževanje črevesja pred operacijo, drugače pa so polimiksini zelo uporabni pri zdravljenju okužb s po Gramu negativnimi bakterijami (Kotnik, 2002).

2.2.5 Skupine antibiotikov, ki jih testiramo

Odvisno od bakterijske vrste v kliničnih mikrobioloških laboratorijih testiramo občutljivost bakterij za naslednje antibiotike:

- Betalaktamski antibiotiki (benzilpenicilin, ampicilin, oksacilin, cefuroksim, cefotaksim, ceftazidim, piperacilin, imipenem, meropenem idr.)
- Betalaktamski antibiotiki z inhibitorji laktamaz (piperacilin/tazobaktam, amoksicilin/klavulanska kisina)
- Aminoglikozidi (gentamicin, amikacin idr.)
- Kinoloni (ciprofloksacin, norfloksacin)
- Kloramfenikol
- Glikopeptidni antibiotiki (vankomicin, teikoplanin)
- Monobaktami (aztreonam)
- Trimetoprim/sulfametoksazol
- Makrolidi in linkozamidi (klindamicin, eritromicin idr.)

2.3 ODPORNOST BAKTERIJ PROTI ANTIBIOTIKOM

Z vedno večjo porabo antibiotikov raste tudi razširjenost in kompleksnost mehanizmov odpornosti proti le tem. Bakterije so do sedaj na prav vsak nov antibiotik odgovorile s pojavom odpornih sevov, katerih selekcijo omogoča predvsem množična in mnogokrat

nekritična poraba antibiotikov (Kotnik, 2002). Z uporabo antibiotikov izvajamo selektivni pritisk in nehote pripomoremo k pojavu neobčutljivih sevov. Mikroorganizmi so na Zemlji že več kot 3,8 milijard let in k tako dolgemu obstanku je zagotovo zelo pripomogla njihova metabolna in genetska raznolikost, ki jim omogoča zoperstaviti se selektivnemu pritisku okolja (Byarugaba in sod., 2010). Naša obramba proti patogenom tako slabi, mikrobi pa so vedno bolj odporni na našo protimikrobno artilerijo.

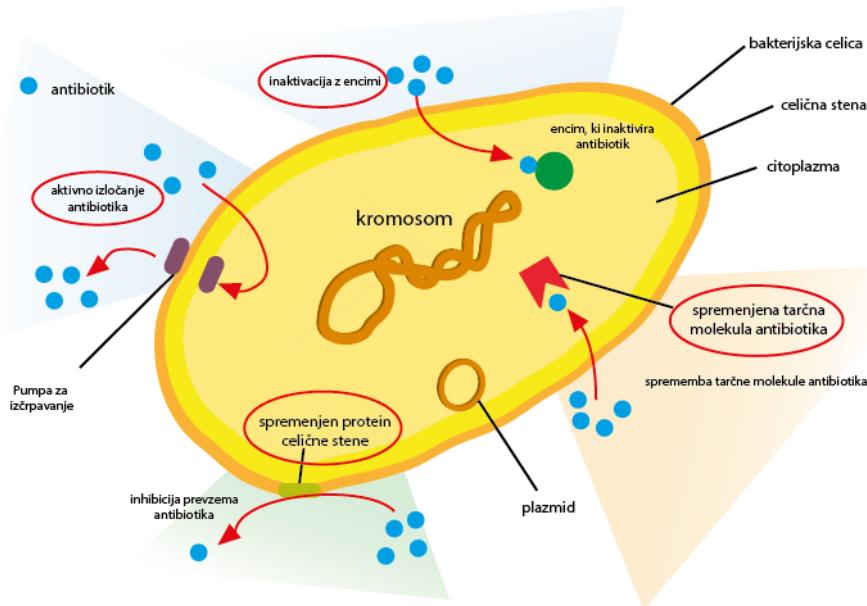
Vsi antibiotiki niso škodljivi za vse bakterije. Odpornost bakterij proti antibiotikom je lahko bodisi naravna bodisi pridobljena. O naravni odpornosti govorimo, ko je proti nekemu antibiotiku odporen celoten bakterijski rod ali vrsta. Pogojujejo jo normalne genetske, strukturne in fiziološke značilnosti bakterije. Bakterijske vrste so naravno odporne proti določenemu antibiotiku, če ne posedujejo tarčnih mest, na katera antibiotik deluje ali pa imajo naravno nizko prepustnost membrane, ki onemogoča vstop protimikrobnih sredstev v samo celico. Tako so na primer enterobakterije odporne proti makrolidom in glikopeptidom, saj njihova sestava celične stene prvim preprečuje vstop v celico in drugim učinkovanje, bakterije rodu *Mycoplasma* proti penicilinom, ker ne posedujejo celične stene ter vse bakterije, ki pridobivajo folno kislino iz okolja in je ne sintetizirajo same proti sulfonamidom (Seme, 2002b).

Bakterije so sposobne odpornost tudi razviti oziroma pridobiti. Pridobljeno odpornost, sposobnost, da se uprejo oziroma izognejo učinkom agensa, na katerega so drugače občutljivi, imajo le posamezni sevi določene bakterijske vrste ali rodu. Navadno je posledica mutacije kromosomskega ali plazmidnega dela, najbolj pogosto pa do nje pride zaradi pridobitve nove genetske informacije z genskim prenosom iz druge bakterijske celice s konjugacijo ali transformacijo (Seme in Poljak, 2002). Bakterije lahko pridobijo odpornost na različne načine in sicer lahko pridobijo gene za določen encim, ki inaktivira antibiotik, lahko pridobijo zapis za alternativni encim, ki prevzame nalogu encima, katerega je antibiotik inaktiviral, pride lahko do mutacije gena za tarčno mesto, s čimer se prepreči vezava antibiotika ter do hiperprodukცije tarčnih mest, odpornost je lahko posledica zmanjšane prepustnosti za antibiotik ali aktivnega črpanja protimikrobnih sredstev iz celice preden le-ta lahko dosežejo tarčna mesta (Byarugaba in sod., 2010).

2.3.1 Mehanizmi odpornosti bakterij proti antibiotikom

Pri bakterijah načeloma poznamo pet mehanizmov odpornosti (slika 2) proti antibiotikom (Seme, 2002b):

- Sprememba tarčnega mesta oz. prijemališča na katerega se veže antibiotik
- Neprepustnost oz. zmanjšana prepustnost celične membrane za določen antibiotik
- Encimska razgradnja antibiotika
- Sprememba presnovne poti, na katero deluje antibiotik
- Aktivno izčrpavanje antibiotika iz bakterijske celice z aktivnim transportom



Slika 2: Mehanizmi bakterijske odpornosti (Enciklopedija Britannica, 2009)

Velika večina genov za odpornost se izmenja predvsem med gensko izmenjavo z mikrobi, ki proizvajajo antibiotike. Ti mikroorganizmi so razvili mehanizme zaščite in so zmožni antibiotik uničiti ali nevtralizirati. Odpornost je lahko zapisana na bakterijskem kromosому, pogosto pa se zapis za gene odpornosti nahaja na plazmidu, R faktorju. V primeru, ko gre za kromosomalni izvor odpornosti, gre navadno za gene, ki nosijo zapis za spremembo tarčnega mesta za antibiotik. Na plazmidu pa so navadno zapisana navodila za sintezo novih encimov, ki inaktivirajo zdravilo ali geni, ki nosijo zapis za porine, ki skrbijo za zmanjšano prepustnost membrane ali za aktivno izčrpavanje antibiotika. Plazmidi lahko

nosijo tudi zapise za večkratno odpornost. V primerih, ko se geni za odpornost prenašajo vezano, lahko pride do odpornosti proti več skupinam antibiotikov (Seme in Poljak, 2002). Med večkratno odpornimi bakterijami so najbolj pomembne *S. aureus*, ki so odporne proti meticilinu (MRSA) in drugim betalaktamskim antibiotikom, ter pogosto posedujejo tudi genski zapis za odpornost proti makrolidom, linkozamidom, aminoglikozidom in kinolonom. Seveda ne smemo zanemariti tudi proti vankomicinu odpornih enterokokov VRE (angl. vancomycin-resistant enterococci), ki so poleg vankomicina pogosto odporni tudi proti teikoplaninu, ter po Gramu negativnih bakteriji z betalaktamazami razširjenega spektra (ESBL) in karbapenemazami. Povzročajo okužbe z visoko stopnjo smrtnosti, kar je posledica večkratnih mutacij, ki botrujejo visoki stopnji odpornosti teh organizmov proti antibiotikom, ki so navadno zdravilo izbora (Davies J. in Davies D., 2010).

Največja žarišča nastanka odpornosti proti antibiotikom so bolnišnice (Kotnik, 2009). Temu botruje napačna in nekritična uporaba antibiotikov v medicini. Predvsem gre tukaj za napačne odmerke, antibiotike in trajanje antibiotičnega zdravljenja. Premajhni odmerki in predčasno prenehanje z zdravljenjem lahko privedejo do tega, da so bakterije izpostavljene le subletalnim dozam, ki jih ne pokončajo, ampak le povzročijo selekcijo tistih, ki so proti antibiotiku odporne (Burges, 1999).

2.3.2 Odpornost proti različnim skupinam antibiotikov

Odpornost proti betalaktamskim antibiotikom

Bakterije razvijejo odpornost proti betalaktamom na tri najbolj pogoste načine: hidroliza antibiotika z betalaktamazami, sprememba obstoječih PBP in sinteza novih PBP. Odpornost je najpogosteje posledica delovanja betalaktamaz, encimov, ki razgradijo betalaktamski obroč betalaktamskih antibiotikov. Poznamo več kot 200 betalaktamaz, kodirajo jih tako kromosomski kakor tudi plazmidni geni. Pri po Gramu pozitivnih bakterijah gre navadno za betalakatamaze, ki delujejo le proti penicilinu, zapis za njih pa se nahaja na plazmidu. Za po Gramu negativne bakterije pa je značilno, da imajo kromosomski gen z zapisom za inducibilno betalaktamazo, ki je praviloma učinkovitejša

proti cefalosporinom. Poleg omenjenega kromosomskega gena najdemo pri po Gramu negativnih bakterijah tudi številne plazmidne gene za betalaktamaze. Najbolj pogoste so iz skupine TEM in SHV, katere pogosto najdemo pri *E. coli* in *K. pneumoniae* in hidrolizirajo peniciline ter ozkospikalne cefalosporine, vendar so neučinkovite proti cefalosporinom tretje generacije, karbapenemom in monobaktamom. V kolikor pride do mutacije genov za te vrste betalaktamaz, pride do pojava betalaktamaz z razširjenim spektrom delovanja (angl. Extended-spectrum beta-lactamases – ESBL), ki so sposobne poleg penicilinov in cefalosporinov prve generacije hidrolizirati tudi cefalosporine tretje in četrte generacije (Seme in Poljak, 2001).

Odpornost proti penicilinu lahko izhaja tudi iz spremembe PBP. Bakterije imajo navadno v celični steni 4-6 različnih PBP. Bakterije so razvile dve različici odpornosti proti betalaktamskim antibiotikom preko PBP. Prva temelji na vzpostaviti alternativne poti za sintezo peptidoglikana z geni, ki kodirajo nastanek novih PBP. Idealen primer tovrstne odpornosti je proti meticilinu odporen *S. aureus* (MRSA), ki izraža gen *mecA*, pri čemer nastane poseben PBP z zmanjšano afiniteto za peniciline, tako da se sinteza peptidoglikana lahko kljub prisotnosti betalaktamov nadaljuje. V drugem primeru pa gre za odpornost, ki je posledica spremembe obstoječih PBP, s čimer pride do zmanjšane afinitete do penicilina (Müller Premru, 2001). Pri po Gramu negativnih bakterijah lahko kot posledica različnih mutacij pride tudi do sprememb beljakovin, ki sestavljajo kanale v celični steni (porinov), s čimer se zmanjša prehod betalaktamskih antibiotikov skozi steno in prepreči dostop le-teh do tarčnega mesta delovanja (Seme, 2002b).

Odpornost proti aminoglikozidom

Zaradi motenega prodiranja antibiotika v celico so nekatere po Gramu pozitivne bakterije naravno odporne proti aminoglikozidom (Müller Premru, 2001). Pri po Gramu negativnih bakterijah lahko nastane pridobljena odpornost, ki je največkrat posledica delovanja različnih encimov, ki spremenijo aminoglikozide tako, da niso več sposobni vezave na ribosome in preprečiti sinteze beljakovin. Zapisi za te encime (acetiltransferaze, adeniltransferaze, fosfotransferaze) se nahajajo na gibljivih genskih elementih kot so

plazmidi, transpozoni in integroni (Seme in sod., 1998). Redko je odpornost posledica kromosomskih mutacij, ki povzročijo modifikacijo ribosomske tarče.

Odpornost proti glikopeptidom

Najbolj znana predstavnika glikopeptidov sta antibiotika vankomicin in teikoplanin. Po Gramu negativne bakterije so naravno odporne proti vankomicinu, saj so molekule prevelike za prehod skozi zunanjou membrano (Murray in sod., 2002). Poznamo več tipov pridobljene odpornosti med katerimi sta nabolj pomembna VanA in VanB. Enterokoki s fenotipom VanA so visoko odporni proti vankomicinu in teikoplaninu, medtem ko so VanB odporni le proti vankomicinu. Geni za visoko odpornost proti vankomicinu se lahko z enterokokov prenašajo tudi na druge bakterijske vrste, medtem ko lahko proti meticilinu odporni stafilokoki povsem neodvisno postopno razvijajo odpornost proti glikopeptidom (Seme, 2002b). Vankomicin je zdravilo izbora pri okužbah s proti meticilinu odpornim *S. aureus* in ostalimi po Gramu pozitivnimi bakterijami, odpornimi proti betalaktamom. Njegova protimikrobnna aktivnost izhaja iz transglikozilacije sestavin celične stene. Veže se na D-alanin-D-alanin konce pentapeptidnih stranskih verig peptidoglikana ali prekurzorjev, s čimer prepreči mreženje peptidoglikanskih verig. Bakterije, ki imajo D-alanin-D-laktat konce, so naravno odporne proti vankomicinu, odpornost pa lahko pridobijo tudi s plazmidi, ki nosijo gene za spremembe pentapeptidnih koncov (Murray, 2002).

Odpornost proti makrolidom

Odpornost proti makrolidom je navadno posledica spremembe prijemališča teh antibiotikov. Geni *erm* kodirajo encime, ki metilirajo adeninske ostanke v 23S podenoti rRNK. Sledi konformacijska sprememba ribosoma, ki povzroči zmanjšano afiniteto do makrolidov, linkozamidov in streptograminov. Dva druga mehanizma odpornosti proti makrolidom sta tudi uničenje laktionskega obroča s pomočjo eritromicin esteraze in aktiven izmet antibiotika iz celice. Enterobakterije so zaradi slabe prepustnosti zunanje membrane naravno odporne proti makrolidom (Seme, 2002b).

Odpornost proti tetraciklinom

Odpornost proti tetraciklinu se lahko, tako pri po Gramu pozitivnih kakor tudi po Gramu negativnih bakterijah, razvije kot posledica aktivnega izčrpavanja antibiotika iz celice s posebnimi beljakovinami Tet. Poznan je tudi mehanizem, ki temelji na genih, ki kodirajo beljakovine za zaščito ribosoma pred delovanjem tetraciklinov in pa sistem, ki je opredeljen kot fenotip MAR (angl. Multiple Antibiotic Resistance) in je posledica zmanjšane prepustnosti in aktivnega črpanja antibiotikov. Pri po Gramu negativnih bakterijah lahko pride tudi do kromosomske mutacije, ki spremeni prepustnost celične stene (Seme in Poljak, 2002)

Odpornost proti kloramfenikolu

Pridobljena odpornost je navadno posledica tvorbe encimov (kloramfenikol transferaz), ki inaktivirajo antibiotik. Zapisi se nahajajo na plazmidih ali transpozoni. Kromosomske mutacije genov za porine lahko pri po Gramu negativnih bakterijah privedejo do zmanjšane prepustnosti membrane (Seme in Poljak, 2002).

Odpornost proti kinolonom

Odpornost je navadno posledica mutacij genov, ki nosijo zapis za encime pomembne pri podvojevanju DNK (giraza, topoizomeraza). Kinoloni zavirajo delovanje teh dveh encimov in kakršne koli spremembe podenot encimov privedejo do odpornosti. Pri po Gramu negativnih bakterijah je lahko odpornost proti kinolonom tudi značilnost fenotipa odpornosti MAR, ki je opisan že pri odpornosti proti tetraciklinu (Seme in Poljak, 2001).

Odpornost proti sulfonamidom in trimetoprimu

Pridobljena bakterijska odpornost je, tako pri po Gramu negativnih kakor tudi po Gramu pozitivnih bakterijah, posledica kromosomskih mutacij, ki povzročijo zmanjšano afiniteto

encima dihidropteorat sintetaze za sulfonamide. S tem se prepreči delovanje sulfonamidov, ki zavirajo delovanje omenjenega encima in s tem preprečujejo sintezo folne kisline in posledično tudi sintezo bakterijske DNK (Müller Premru, 2001).

2.3.3 Vzroki za pojav odpornosti bakterij proti antibiotikom

Antibiotiki so od leta 1950, ko so preplavili svet, revolucionirali medicino in rešili nešteta življenja. Po drugi strani pa so žal omogočili tudi zelo hiter pojav odpornih sevov. Odporne bakterije so bile prisotne že pred množično uporabo antibiotikov, vendar je uporaba le teh povzročila velik evolucijski pritisk, ki je botroval razvoju in širjenju odpornosti med mikroorganizmi. Do danes so skoraj vsi patogeni mikroorganizmi razvili/pridobili odpornost proti kateremu od kemoterapevtikov. Seveda antibiotiki niso stalnica samo v zdravstvu, močno so prisotni tudi v vsakdanjem življenju ter veterini in živinoreji (Davies J. in Davies D., 2010).

Najpomembnejši vzroki za naraščanje števila odpornih bakterij so velika in mnogokrat nekritična uporaba antibiotikov, uporaba antibiotikov širokega spektra, nepravilni odmerki, pomanjkljiva bolnišnična higiena in odsotnost ukrepov za omejevanje porabe antibiotikov (Müller Premru, 2002). Nesmotrna raba antibiotikov je tako glavni vzrok nastanka odpornih bakterij, slaba higiena in slab nadzor nad bolnišničnimi okužbami pa za njihovo širjenje (Čižman, 2012).

2.4 PORABA ANTIBIOTIKOV V ZDRAVSTVU

Dandanes so antibiotiki stalnica v zdravstvu in zdravljenju na domu. Nekatere študije ocenjujejo, da antibiotike vsak dan prejema 1-3,9 % prebivalcev in da je na takšni ali drugačni protimikrobnii terapiji od 14-67 % bolnikov v bolnišnicah (Čižman, 2012). 10-20 % antibiotikov je predpisanih v okviru zdravljenja v bolnišnicah, kar 80-90 % pa v ambulantah. Od tega je nekje 20-50 % predpisanih antibiotikov nepotrebnih (Čižman, 2013).

Poraba in struktura porabe antibiotikov sta v direktni povezavi z odpornostjo bakterij in nizka odpornost je pokazatelj kakovostnega, kritičnega, pravilnega predpisovanja teh zdravil, medtem ko visoka odpornost nakazuje ravno nasprotno. Porabo protimikrobnih zdravil izražamo v definiranih dnevnih dozah na 100 bolnišničnooskrbnih dni (DDD/100 BOD) ali v DDD na tisoč prebivalcev na dan (DDD/1000 prebivalcev na dan).

2.5 Z ZDRAVSTVOM POVEZANE OKUŽBE

Bolnišnične okužbe predstavljajo veliko težavo pri pojavu odpornih patogenov. Gre za okužbe, ki praviloma nastopijo 48 ali več ur po sprejetju v zdravstveno ustanovo in so povezane z diagnostiko ter zdravljenjem in rehabilitacijo v neki zdravstveni ustanovi ali ustanovi, ki izvaja zdravstveno dejavnost (Zakon o nalezljivih boleznih, 2006). Na nastanek bolnišničnih okužb lahko vpliva več dejavnikov kot so: bolnikovi dejavniki, diagnostični dejavniki, terapevtski in negovalni postopki, dejavniki mikroorganizmov. Prizadenejo 1 od 10 bolnikov. Najvišja prevalenca t.i. bolnišničnih okužb je na intenzivnih enotah. Bolnišnice, še posebej intenzivne enote, so tako zelo pomemben člen pri razvoju in širjenju proti antibiotikom odpornih bakterij. Temu botrujejo visoka poraba antibiotikov, gostota populacije in pogosti stiki med bolnišničnim osebjem in bolniki, kar lahko privede do navzkrižnih okužb (Struelens, 1998).

Glede na izvor poznamo endogene in eksogene bolnišnične okužbe. Pri endogenih okužbah je povzročitelj del naravne mikrobiote bolnika, pri eksogenih pa do okužbe pride preko kontaminiranih predmetov ali rok zdravstvenega osebja. Najpogostejši povzročitelji bolnišničnih okužb so po Gramu pozitivne bakterije, med katerimi so najbolj problematični *S. aureus* (MRSA) in proti vankomicinu odporni enterokoki, ter večkratno odporni po Gramu negativni bacili (Inwergbu, 2005; Flaherty in Weinstein, 1996).

Odpornost patogenov proti antibiotikom močno poviša obolenost in smrtnost zaradi infekcijskih bolezni. S tem so povezani tudi ogromni dodatni stroški, ki so potrebni za podaljšano zdravljenje in alternativno ter navadno tudi dražjo profilakso (Struelens, 1998).

Vzroki za povečan pojav odpornih sevov (Struelens, 1998):

- Selekcija odpornih bakterijskih sevov s pomočjo mutacij in prenosom rezistenčnih genov kot rezultat prekomerne in nepravilne uporabe antibiotikov
- Prenos odpornih bakterij znotraj bolnišničnega okolja z navzkrižno kolonizacijo pacientov preko rok zdravstvenih delavcev in med bolnišnicami preko transferja koloniziranih pacientov

K povišanju incidence bolnišničnih okužb, ki jih povzročajo odporni patogeni, najbolj pripomore selekcija mutiranih sevov znotraj bolnikove lastne mikrobne flore, do česar pride med antibiotičnim zdravljenjem ali je rezultat prenosa genetske determinante za odpornost (plazmid, transpozon). K temu velikokrat pripomore tudi uporaba antibiotikov širokega spektra, ki je včasih vsekakor potrebna, predvsem kadar laboratorijskih izvidov ni moč dobiti pravočasno. Le po opravljeni ustrezni diagnostiki, se lahko uvede ustrezno zdravljenje z antibiotiki ozkega spektra (Goossens in sod., 2005) zato sta mikrobiološka diagnoza in standardizirano testiranje občutljivosti bistvenega pomena za pravilno izbiro protimikrobnega zdravljenja.

2.6 DOLOČANJE OBČUTLJIVOSTI ZA ANTIBIOTIKE

Pravilno določanje občutljivosti mikroorganizmov za antibiotike je odločilnega pomena za pravilno zdravljenje pacientov, ter nadzor pojava odpornosti. V okviru določanja občutljivosti organizmov za antibiotike določamo različne parametre. "Zlati standard" tovrstnih meritev predstavlja minimalna inhibitorna koncentracija (MIK). Gre za najnižjo koncentracijo nekega antibiotika, ki zavre rast bakterij (Jorgensen in Ferraro, 2009).

Organizacije kot so EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) in CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) na podlagi farmakokinetičnih/farmakodinamičnih ter kliničnih študij objavljajo interpretacije mejnih vrednosti MIK, ki omogočajo interpretacijo rezultatov testov občutljivosti na kvalitativen način z oznakami S, I in R (S-občutljiv, I-zmerno občutljiv, R-odporen). V primeru, da je MIK enak ali nižji od mejne vrednosti za neko bakterijo velja, da je občutljiva za

antibiotik. Zmerno občutljive in odporne bakterije imajo MIK višjo od mejne vrednosti (Jorgensen in Ferraro, 2009).

V kliničnem smislu velja, da pri okužbah z občutljivimi bakterijami pričakujemo uspešnost zdravljenja, pri zmerno občutljivih je učinek zdravljenja negotov, pri odpornih pa je verjetnost neuspešnega zdravljenja zelo velika (Štrumbelj in sod., 2015):

- S (angl. susceptible) – občutljiv: Organizem bi se moral odzvati na priporočeno zdravljenje in verjetnost uspešnega zdravljenja je zelo velika.
- I (angl: intermediate) – zmerno občutljiv: MIK se približuje ali presega priporočen odmerek antibiotika za določeno mesto okužbe in vrsto organizma, zato je učinek zdravljenja negotov.
- R (angl: resistant) – odporen: Z običajnim odmerkom antibiotika pacientov patogen ne bo inhibiran, zato je verjetnost neuspešnega zdravljenja zelo velika.

2.6.1 Metode za določanje občutljivosti

Ena izmed najbolj pomembnih nalog vsakega kliničnega laboratorija je izvajanje testov za določanje občutljivosti bakterijskih izolatov za antibiotike. Namen tovrstnih testiranj je odkriti morebitne mehanizme odpornosti bakterij in s tem pomagati pri izboru ustrezne antibiotične terapije. V ta namen se uporablajo različne metode, kot so: disk difuzija, metoda difuzijskega gradiента, mikrodilucijska metoda, avtomatizirani sistemi (VITEK 2). Vse metode imajo seveda določene prednosti in slabosti ter dajo verodostojne rezultate le pri določenem naboru mikroorganizmov. Nekatere metode podajo kvantitativne rezultate (MIK), spet druge zgolj kvalitativne ocene: občutljiv, zmerno občutljiv, odporen (Jorgensen in Ferraro, 2009).

Disk difuzija

Ta metoda za določanje občutljivosti bakterij za antibiotike je ena izmed najbolj enostavnih, praktičnih in standardiziranih. Pri tej metodi pripravimo suspenzijo preiskovanih bakterij gostote $1-2 \times 10^8$ CFU (angl. colony-forming units) kar je 0,5 McF

(McFarland) in jo z brisom nanesemo na ustrezeno agarsko ploščo. Na ploščo nato lahko položimo komercialno pripravljene papirnate diske s točno določenimi koncentracijami različnih antibiotikov. Število diskov je odvisno od velikosti plošče. Plošče nato inkubiramo pri pogojih, ki so odvisni od vrste ali skupine bakterij in šele nato odčitamo rezultate. Merimo premere con inhibicije rasti okoli diskov, ki so odvisni od občutljivosti izolata na antibiotik in od hitrosti difuzije skozi agarski medij. Cone inhibicije interpretiramo na podlagi izbranih smernic. Rezultati so kvalitativne narave in nam ne podajo nobenih informacij o minimalnih inhibitornih koncentracijah. Prednost metode leži v tem, da je zelo preprosta in cenovno ugodna. Prav tako omogoča veliko fleksibilnost pri izbiri antibiotikov, ki jih želimo testirati (Jorgensen in Ferraro, 2009).

Dilucijska metoda

Dilucijska metoda za določanje občutljivosti za antibiotike je ena prvih metod za določanje občutljivosti nasploh. Vključuje pripravo različnih razredčin antibiotikov v tekočem ali v agarskem mediju. Epruvete z gojiščem in različnimi koncentracijami antibiotikov nato inokuliramo s standardizirano suspenzijo bakterij 0,5 McF. Po inkubaciji odčitamo rezultate, ki so kvantitativne narave in nam podajo informacijo o minimalni inhibitorni koncentraciji. Slabosti metode so predvsem: zamudna priprava, možnost napak pri pripravi raztopin antibiotikov, bakterijske suspenzije in potratnost glede reagentov ter prostora za izvedbo le te (Jorgensen in Ferraro, 2009).

Metoda difuzijskega gradiента v agarju za določanje minimalne inhibitorne koncentracije

E-test oziroma Epsilometer test omogoča direktno kvantifikacijo občutljivosti mikroorganizmov za določene antibiotike (Nachnani in sod., 1992). Test temelji na testnih trakovih z eksponentno naraščajočimi gradienti koncentracij antibiotika. Suspenzijo bakterij predhodno nanesemo na celotno površino agarja. Nato previdno in v aseptičnih pogojih s pinceto na agar položimo E-test trak za določen antibiotik. Po 48 urah inkubacije

opazimo cono inhibicije v obliki elipse, ki se stika s trakom na mestu, ki predstavlja MIK (Jorgensen in Ferraro, 2009).

Avtomatiziran sistem VITEK 2

VITEK 2 (bioMérieux, Francija) je avtomatiziran sistem za identifikacijo več kot 300 različnih bakterijskih vrst in določanje občutljivosti za več kot 78 različnih antibiotikov. Poznamo tri razlike sistema, ki se razlikujejo po kapaciteti in stopnji avtomatiziranosti (Pincus, 2006). Sistem upošteva smernice EUCAST (EUCAST, 2011) ter nam poleg identifikacije mikroorganizmov omogoča določitev minimalne inhibitorne koncentracije antibiotikov in interpretacije (S, I, R). Za odporne bakterije nam poda tudi mehanizme odpornosti (bioMérieux, 2016a).

Za izvedbo meritev iz 24-urne bakterijske kulture pripravimo suspenzijo v 0,45 % raztopini NaCl, katere gostoto prilagodimo na 0,5 McF (Pincus, 2006). Epruveto s suspenzijo nato namestimo na nosilec, kaseto. S pomočjo računalniške enote SCS (angl. Smart Carrier Station) vnesemo identifikacijsko številko vzorca in jo elektronsko povežemo s črtno kodo, ki se nahaja na ploščicah. Vse vnesene informacije se nato prenesejo v sistem preko čipa vgrajenega v kaseti. Inokulacija kartic, pipetiranje in priprava raztopin za merjenje občutljivosti nato potekajo avtomatizirano. S tem, ko so vsi nadaljnji postopki avtomatizirani, standardizirani in kontrolirani, se močno zmanjša možnost napak in morebitnih kontaminacij (Ling in sod., 2001).

Sistem za identifikacijo bakterij temelji na fluorescenci, občutljivost za antibiotike pa se določa z dilucijsko metodo. Testne ploščice so sestavljene iz 64 vdolbinic, ki v primeru identifikacije vsebujejo različne substrate, pri določanju občutljivosti pa različne koncentracije relevantnih antibiotikov (Pincus, 2006).

Aparat med inkubacijo izvaja meritve v rednih časovnih intervalih (15 min). S ksenonskimi žarnicami meri fluoresenco biokemičnih produktov metabolnih aktivnosti, kot so: acidifikacija, alkalinizacija, hidroliza encimov in rast v prisotnosti inhibitornih

substanc. Optično zaznava tudi motnost v vdolbinicah z različnimi koncentracijami antibiotikov in nam poda podatke o tem, katera je najmanjša koncentracija antibiotika (MIK), ki še zavre rast testiranega mikroorganizma (Livermore in sod., 2002).

Sistem ima kar nekaj prednosti, med katerimi je hitrost posredovanja rezultatov seveda na prvem mestu. Sistem namreč omogoča, da rezultate identifikacije dobimo v manj kot sedmih urah, podatke o občutljivosti za antibiotike pa prejmemo najkasneje v 12 urah. S klasičnimi metodami moramo na rezultate čakati vsaj 18 ur. Hitreje, ko dobimo rezultate nekih testiranj, hitreje lahko ustrezzo ukrepamo. Na podlagi rezultatov lahko zdravniki predpišejo ustrezzo antibiotično zdravljenje. Prednost sistema VITEK 2 je tudi ta, da nam poleg kvantitativnih rezultatov (MIK) o občutljivosti bakterij pri odpornih bakterijah poda tudi mehanizme odpornosti (Barry in sod., 2003). Vgrajen ima namreč AES (Advanced Expert System), sistem za interpretacijo rezultatov, ki je na podlagi podatkov o več kot 2.000 fenotipih in 20.000 minimalnih inhibitornih koncentracijah, sposoben prepozнатi vzorce občutljivosti in ne zgolj občutljivost za posamezne antibiotike (Thomas in Rector, 2007). AES poda poročilo z izmerjenimi MIK in interpretiranimi MIK glede na mehanizem odpornosti bakterij.

VITEK 2 ploščice so za enkratno uporabo. Na tržišču je kar nekaj različic. Ploščice za identifikacijo po Gramu negativnih bakterij (GN) in Gramu pozitivnih bakterij (GP) vsebujejo po 46 različnih kemičnih substratov.

Ploščice za identifikacijo so naslednje (bioMérieux, 2016b):

- GN – ploščice za identifikacijo po Gramu negativnih bakterij
- GP – ploščice za identifikacijo po Gramu pozitivnih bakterij
- YST – ploščice za identifikacijo kvasovk
- NH – ploščice za identifikacijo bakterij iz rodu *Neisseria* in *Haemophilus*
- ANC – ploščice za identifikacijo anaerobnih in korineformnih bakterij

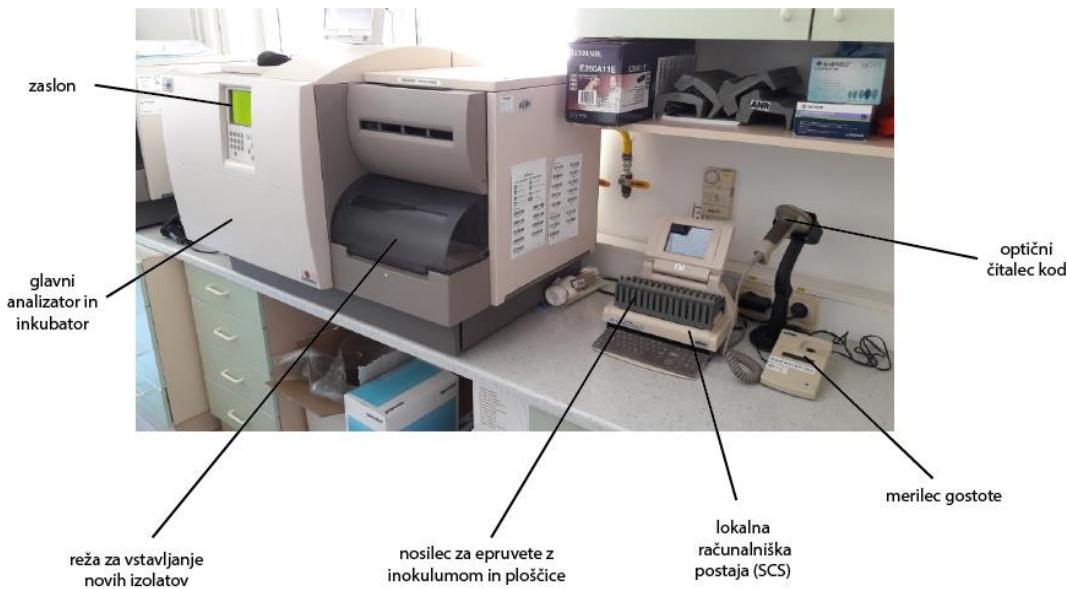
Na tržišču so ploščice, ki omogočajo določanje občutljivosti za različne organizme: enterobakterije, nefermentativne bacile, stafilokoke, enterokoke, streptokoke (vključno s *S. pneumoniae*, *S. viridans* in beta-hemolitične streptokoke) ter kvasovke.

Sistem VITEK 2 je sestavljen iz naslednjih komponent (slika 3):

Lokalna računalniška postaja SCS: služi za namestitev epruvete z inokulumom na nosilec za epruvete, vnos podatkov o bolniku in elektronsko povezavo le teh s karticami za identifikacijo in določanje občutljivosti.

Glavni inkubator in analizator: sem vstavimo nosilec z epruvetami, ki vsebujejo inokulum ter ploščice. Nosilec preko vgrajenega čipa prenese vse vnesene informacije in omogoča sledljivost.

Računalnik, kjer se nam po inkubaciji izpišejo rezultati.



Slika 3: Avtomatiziran sistem VITEK 2

3 MATERIAL IN METODE DELA

3.1 BAKTERIJSKI IZOLATI

V sklopu diplomske naloge smo testirali 219 kliničnih bakterijskih izolatov (preglednica 2), izoliranih iz kužnin bolnikov iz različnih oddelkov Univerzitetnega kliničnega centra Ljubljana (UKCLJ). Za posamezno bakterijsko vrsto smo upoštevali le prvi izolat pri bolniku. Določali smo občutljivost bakterij za različne antibiotike. Osredotočili smo se na 5 bakterijskih vrst, ki imajo poglavito vlogo pri bolnišničnih okužbah: *E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* in *E. faecalis*. Zbiranje izolatov je potekalo v dveh sklopih in sicer od 1.12.2005 do 31.12.2007 (sklop I) ter od 1.12.2013 do 1.6.2014 (sklop II). Klinične vzorce bolnikov z intenzivnih in navadnih oddelkov smo kultivirali s standardnimi mikrobiološkimi metodami. Izolirane bakterije smo nato s pomočjo avtomatiziranega sistema VITEK 2 še enkrat identificirali, istočasno pa smo ugotavljali tudi njihovo občutljivost za različne antibiotike.

Preglednica 2: Pregled vrste in števila izolatov

Bakterija/leto	Sklop I	Sklop II
<i>Escherichia coli</i>	34	31
<i>Staphylococcus aureus</i>	36	20
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	30	/
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	29	/
<i>Enterococcus faecalis</i>	39	/

Legenda: (/) Za to bakterijsko vrsto v sklopu II (2014) nismo določali občutljivosti

Porazdelitev intenzivnih in navadnih oddelkov je razvidna iz preglednice 3. Skupno smo testirali 135 izolatov z navadnih in 84 izolatov z intenzivnih oddelkov.

Preglednica 3: Navadni in intenzivni oddelki

NAVADNI ODDLEKI	INTENZIVNI ODDLEKI
Kirurška klinika (KO za abdominalno kirurgijo)	Oddelek za intenzivno terapijo (CIT)
Interna Klinika	Klinični oddelek za intenzivno interno medicino (CIIM)
Infekcijska klinika (ostali oddelki)	Infekcijska klinika (Intenzivna terapija)

Podatke o porabi antibiotikov nam je posredoval Univerzitetni klinični Center Ljubljana. Povprečna poraba antibiotikov na navadnih in intenzivnih oddelkih je navedena v preglednici 4.

Preglednica 4: Povprečna poraba antibiotikov na navadnih in intenzivnih oddelkih v sklopu 2006 in 2014 (DDD/100BOD)

	Predstavniki	Navadni odd. 2006	Intenzivni odd. 2006	Navadni odd. 2014	Intenzivni odd. 2014
Tetraciklini	tetraciklin	0,15	/	0,51	0,8
Širokospetralni penicilini	ampicilin	2,01	3,73	1,34	3,51
Penicilini, občutljivi na betalaktamaze	benzilpenicilin	1,18	1,66	1,52	4,67
Proti laktamazam beta odporni penicilini	oksalilin	1,52	21,09	2,1	11,07
Kombinacije penicilinov z zaviralci betalaktamaz	amoksicilin/klavulanska kislina, piperacilin/tazobaktam	12,36	29,53	18,55	43,54
Cefalosporini	cefotaksim, ceftazidim...	5,89	50,7	3,89	55,75
Karbapenemski antibiotiki	imipenem, meropenem	1,43	10,91	7,48	16,19
Kombinacija sulfonamidov in trimetoprima	trimetoprim/sulfametoksazol	1,52	2,23	1,89	6,68
Makrolidni antibiotiki	eritromicin	3,73	5,57	2,84	14,9
Piranozidni antibiotiki (linkozamidi)	klindamicin	2,91	10,21	0,96	2,65
Aminoglikozidni antibiotiki	amikacin, gentamicin	7,28	11,3	5,97	11,98
Fluorokinoloni	ciprofloxacin...	16,52	10,6	11,95	17,4
Glikopeptidi	teikoplanin, vankomicin	1,74	9,33	2,31	10,91

Legenda: (/) Ni podatka o porabi. Razporeditev oddelkov je enaka kot v preglednici 3, le da Infekcijske klinike pri izračunu povprečne porabe antibiotikov nismo upoštevali, saj nam ni uspelo pridobiti ločene porabe antibiotikov za Infekcijsko kliniko (ostali oddelki) in Infekcijsko kliniko (intenzivna terapija).

Zanimalo nas je, če se odpornost bakterij med navadnimi in intenzivnimi oddelki kaj razlikuje, če upoštevamo, da je na intenzivnih oddelkih poraba antibiotikov višja kot na navadnih oddelkih.

3.1.1 Gojitev in inkubacija

Vse izolate smo gojili na krvnem agarju in jih inkubirali aerobno pri 35 °C. Krvni agar je s krvjo obogateno osnovno gojišče, ki se v diagnostičnih laboratorijih uporablja za kultivacijo patogenih bakterij. Obogateno gojišče pripravimo tako, da hranilnemu agarju pri temperaturi 45–50 °C dodamo 5 % defibrinirane krvi (preglednica 5). Najpogosteje uporabljamo ovčjo kri, lahko tudi govejo ali konjsko.

Preglednica 5: Sestava krvnega agarja (BBL™ Blood agar base; BBL, Becton Dickinson & co., ZDA)

Sestavine	Količina (g/l)	Sestavine	Količina (g/l)
Osnova	40,0	NaCl	5,0
Goveje srčno tkivo	2,0	Agar	15,0
Kazein	13,0	Sterilna goveja kri – 5 %	
Kvasni ekstrakt	5,0		

3.2 DOLOČANJE OBČUTLJIVOSTI BAKTERIJ ZA ANTIBIOTIKE

3.2.1 Avtomatizirana metoda VITEK 2

VITEK 2 je avtomatiziran sistem za identifikacijo bakterij in določanje občutljivosti le teh za različne antibiotike.

Priprava in določanje občutljivosti bakterij z uporabo VITEK 2 sistema

Za izvedbo testov s pomočjo sistema VITEK 2 v epruveti pripravimo suspenzijo bakterij, katero nato sistem uporabi tako za identifikacijo bakterij, kakor tudi za določanje občutljivosti.

Priprava inokuluma za identifikacijo in določanje občutljivosti

- Inokulum smo pripravili tako, da smo epruveto (bioMérieux) napolnili s fiziološko raztopino (3 ml). S sterilnim brisom smo nato z agarske plošče pobrali kolonije 24-urne bakterijske kulture in jih suspendirali v fiziološki raztopini.
- Vse skupaj smo dobro premešali in gostoto prilagodili na od 0,5 do 0,63 po McF, za kar smo uporabili poseben merilec (ATB 1550, bioMérieux). Epruveto smo vstavili v odprtino, rotirali za 360° in šele nato izmerili gostoto inokuluma.
- Pripravljeni suspenziji smo postavili na nosilec SCS ter vnesli podatke o izolatu.
- Odčitali smo kartico za identifikacijo in jo vstavili v epruveto.
- Na nosilec smo pristavili prazno epruveto, v katero smo vstavili kartico za določanje občutljivosti. Postopek smo ponovili za vsak izolat posebej.

Vstavljanje nosilca v VITEK 2

- Po vnosu vseh pomembnih podatkov glede izolatov in kodiranju ustreznih kartic s pomočjo SCS enote smo nosilec s ploščicami in suspenzijami bakterij vstavili v režo za vstavljanje novih izolatov.

- Počakali smo približno 60 sekund, da je aparat opravil branje ploščic. Po opravljenem branju nam je zvočni signal sporočil, da se je postopek pričel.
- Vse nadaljnje operacije opravi sistem VITEK 2 avtomatsko.
- Sledila je avtomatska inokulacija kartic s suspenzijami bakterij, nato je aparat prazne epruvete vrnil na mesto vstavljanja. Dvignili smo pokrov in nosilec z epruvetami odstranili.
- Po končani identifikaciji in določanju občutljivosti je aparat ploščice odvrzel v košaro za odpad in izpisal izvide testiranj. V kolikor je bakterija kazala znake odpornosti se je vklopil sistem AES in nas povprašal, če želimo upoštevati mehanizem odpornosti in spremembo rezultatov.

Ploščice z biokemičnimi substrati za identifikacijo bakterij s sistemom VITEK 2

Ploščice z biokemičnimi substrati so različne. Ploščice za identifikacijo po Gramu negativnih bakterij in po Gramu pozitivnih bakterij vsebujejo 46 različnih kemičnih substratov.

Ploščice z antibiotiki za testiranje občutljivosti bakterij za antibiotike s sistemom VITEK 2

Ploščice z antibiotiki vsebujejo različne antibiotike v različnih koncentracijah. Ker vsebujejo le nekaj koncentracij, dobimo v nekaterih primerih točne, v drugih pa le približne MIK (Jorgensen in Turnidge, 2007). Koncentracije, ki so vključene, so izbrane tako da zajamejo vse mejne koncentracije za posamezen antibiotik in bakterijsko vrsto, kar omogoča interpretacijo občutljivosti oz. odpornosti izolata. V preglednici 6 so prikazani antibiotiki in njihove koncentracije v ploščicah za določanje občutljivosti s sistemom VITEK 2. Koncentracije so zapisane v oklepajih in izražene v $\mu\text{g}/\text{ml}$.

Preglednica 6: Antibiotiki in njihove koncentracije ($\mu\text{g}/\text{ml}$) v ploščicah za določanje občutljivosti z VITEK 2

AST-N020	AST- P536	AST – N022	AST – P534	AST – N204	AST – P633
E. coli /K.	S. aureus	P. aeruginosa	E. faecalis	E. coli (2014)	S. aureus (2014)
Amikacin (8, 16, 64)	Benzilpenicilin (0.125, 0.25, 1)	Amikacin (8, 16, 64)	Ampicilin (0.5, 4, 8, 32)	Amikacin (8, 16, 64)	Benzilpenicilin (0.125, 0.25, 1)
AMC* (4/2, 16/8, 32/16)	Ciprofloksacin (1, 2, 4)	Aztreonam (2, 8, 32)	Ampicilin/Sulbaktam (4/2, 8/4, 16/8, 64/32)	AMC* (4/2, 16/8, 32/16)	Kloramfenikol (2, 8, 16)
Ampicilin (4, 8, 32)	Klindamicin (0.5, 1, 2)	Cefepim (2, 8, 16, 32)	Benzilpenicilin (0.125, 0.25, 1, 2, 8,	Ampicilin (4, 8, 32)	Ciprofloksacin (1, 2, 4)
Cefalotin (2, 8, 32)	Eritromicin (0.25, 0.5, 2)	Cefpirom (2, 8, 64)	Cefuroksim (1, 4, 16)	Cefepim (2, 8, 16, 32)	Klindamicin (0.06, 0.25, 1)
Cefepim (2, 8, 16, 32)	Fosfomicin (8, 32)	Ceftazidim (1, 2, 8, 32)	Ciprofloksacin (1, 2, 4)	Cefotaksim (1, 4, 16, 32)	Eritromicin (1, 2, 4, 8)
Cefotaksim (1, 4, 16, 32)	Fucidinska kislina (0.5, 1, 4)	Ciprofloksacin (0.5, 2, 4)	Klindamicin (0.5, 1, 2)	Ceftazidim (1, 2, 8, 32)	Fosfomicin (8, 32)
Cefpodoksim (0.5, 2, 4)	Gentamicin (8, 16, 64)	Kolistin (4, 16, 32)	Eritromicin (0.25, 0.5, 2)	Ciprofloksacin (0.5, 2, 4)	Fucidinska kislina (0.5, 1, 4)
Ceftazidim (1, 2, 8, 32)	Levofloksacin (0.25, 2, 8)	Gentamicin (4, 16, 32)	Gentamicin (500)	Ertapenem (0.5, 1, 6)	Gentamicin (8, 16, 64)
Cefuroksim (2, 8, 32)	Linezolid (0.5, 1, 2)	Imipenem (2, 4, 16)	Imipenem (2, 4, 8)	Fosfomicin (8, 16, 32)	Tobramicin (16, 32, 64)
Ciprofloksacin (0.5, 2, 4)	Moksifloksacin (0.25, 2, 8)	Isepamicin (4, 8, 32)	Kanamycin (200)	Gentamicin (4, 16, 32)	Kanamicin (32, 64, 128)
Gentamicin (4, 16, 32)	Nitrofurantoin (16, 32, 64)	Meropenem (0.5, 4, 16)	Levofloksacin (0.25, 2, 8)	Imipenem (1, 2, 6, 12)	Linezolid (0.5, 1, 2)
Meropenem (0.5, 4, 16)	Norfloksacin (0.5, 1, 4)	Netilmicin (4, 16, 32)	Linezolid (0.5, 1, 2)	Meropenem (0.5, 2, 6, 12)	Mupirocin (2, 4)
Nitrofurantoin (16, 32, 64)	Oksacilin (0.5, 1, 2)	Pefloksacin (0.5, 2, 8)	Moksifloksacin (0.25, 2, 8)	Nitrofurantoin (16, 32, 64)	Oksacilin (0.5, 1, 2)
Norfloksacin (1, 8, 32)	Rifampicin (0.25, 0.5, 2)	Piperacilin (4, 16, 64)	Nitrofurantoin (16, 32, 64)	Norfloksacin (1, 8, 32)	Rifampicin (0.015, 0.03, 0.125, 0.5)
Ofloksacin (0.5, 1, 4)	Kvinupristin/Dalfopristin (0.25, 0.5, 2)	TZP* (4/4, 16/4, 128/4)	Norfloksacin (0.5, 1, 4)	TZP* (2/4, 8/4, 24/4, 32/4, 32/8, 48/8)	Teikoplanin (1, 4, 8, 16)
Piperacilin (4, 16, 64)	Teikoplanin (1, 4, 8, 16)	Tikarcilin (16, 32, 64)	Streptomycin (1000)	SXT* (1/19, 4/76/16/304)	Tetraciklin 0.5, 1, 2)
TZP* (4/4, 16/4, 128/4)	Tetraciklin (0.5, 1, 2)	Tikarcilin/Klavulanska kislina (8/2, 32/2, 64/2)	Kvinupristin/Dalfopris tin (0.25, 0.5, 2)	ESBL FEP 1, CTX 0.5, CAZ 0.5, FEP/CA 1/10, CTX/CA 0.5/4, CAZ/CA 0.5/4	Inducibilna odpornost proti klindamicinu (CM 0.5, CM/E 0.25/0.5)
Tobramicin (8, 16, 64)	Tobramicin (16, 32, 64)	Tobramicin (8, 16, 64)	Teikoplanin (1, 4, 8, 16)		SXT* (2/38, 8/152, 16/304)
SXT* (0.5/9.5, 2/38, 16/304)	SXT* (8/152, 16/304, 2/608)	SXT* (0.5/9.5, 2/38, 16/304)	SXT* (8/152, 16/304, 32/608)		Vankomicin (1, 2, 4, 8, 16)
	Vankomicin (2, 4, 6)		Tetraciklin (0.5, 1, 2)		
			Vankomicin (2, 4, 6)		

Legenda: AMC* – amoksicilin/klavulanska kislina, SXT* – trimetoprim/sulfametoksazol, TZP* – piperacillin/tazobaktam

Za določanje občutljivosti bakterij za antibiotike z avtomatiziranim sistemom VITEK 2 smo v okviru naše diplomske naloge uporabili naslednje ploščice: AST – N020 (*E. coli/K. pneumoniae*), AST – P536 (*S. aureus*), AST – N022 (*P. aeruginosa*), AST – P534 (*E. faecalis*), AST – N204 (*E. coli* 2014) in AST – P633 (*S. aureus* 2014). Seznam antibiotikov, ki smo jih upoštevali in njihove interpretacije po smernicah EUCAST pa so navedene v preglednici 7.

Preglednica 7: Seznam antibiotikov, ki smo jih upoštevali v nalogi in interpretacije po smernicah EUCAST za posamezne bakterijske vrste ali skupine

Antibiotik	Oznaka	MIK ($\mu\text{g/ml}$)							
		enterobakterije		<i>S. aureus</i>		<i>P. aeruginosa</i>		<i>E. faecalis</i>	
		S ≤	R >	S ≤	R >	S ≤	R >	S ≤	R >
Ampicilin	AM	8	8					4	8
Trimetoprim/sulfametoksazol	SXT	2	4	2	4				
Gentamicin	GN	2	4					128	128
Ciprofloxacin	CIP	0,5	1	1	1	0,5	1		
Amoksicilin/klavulanska k.	AMC	8	8						
Ceftazidim	CAZ	1	4			8	8		
Amikacin	AN	8	16			8	16		
Piperacilin/tazobaktam	TZP	8	16			16	16		
Klindamicin	CC			0,25	0,5				
Eritromicin	E			1	2				
Benzilpenicilin	P			0,12	0,12				
Teikoplanin	TEC			2	2			2	2
Tetraciklin	TET			1	2				
Oksacilin*	OX			4	4				
Cefotaksim	CTX	1	2						
Imipenem	IPM					4	8	4	8
Meropenem	MEM					2	8		
Vankomicin	VAN			2	2			4	4

*Dandanes se namesto občutljivosti za oksacilin določa občutljivost za cefoksitin, na izvidu pa se to prevede v občutljivost za oksacilin.

**Rezultati, ki so večji od S in manjši kot R, pomenijo zmerno občutljivost (I).

3.2.2 Kontrolni sevi

Za kontrolo kvalitete določanja občutljivosti smo uporabili naslednje standardne seve: *E. coli* ATTC 35218, *S. aureus* ATTC 29213, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *E. faecalis* ATCC 29212. Standardne seve smo hranili v posebni raztopini pri -80 °C. Pred testiranjem smo jih dvakrat precepili na krvni agar in jih inkubirali 18-24 ur pri temperaturi 35 °C. Nato smo naredili običajen antibiogram s sistemom VITEK 2 ter dobljene MIK primerjali z EUCAST (EUCAST, 2011).

4 REZULTATI

Delo je potekalo v Laboratoriju za hemokulture na Inštitutu za mikrobiologijo in imunologijo Medicinske fakultete, Univerze v Ljubljani. V nalogu smo vključili 219 izolatov iz različnih kužnin bolnikov, ki so bili v tem času na zdravljenju v UKCLJ (preglednica 8). V prvem sklopu (2006) smo v nalogu vključili 34 izolatov *E. coli*, 36 izolatov *S. aureus*, 30 izolatov *K. pneumoniae*, 29 izolatov *P. aeruginosa* in 39 izolatov *E. faecalis*. V drugem sklopu (2014) pa smo vključili še 31 izolatov *E. coli* in 20 izolatov *S. aureus*. Primerjali smo MIK izolatov posameznih bakterijskih vrst z navadnih (135) in intenzivnih oddelkov (84). Pri izolatih *E. coli* in *S. aureus* smo naredili še primerjavo MIK med leti 2006 in 2014. Bakterijske izolate smo osamili iz različnih kužnin in sicer: likvorja, abscesov, katetrov, punktatov, drenov, tkiva, krvi idr.

Preglednica 8: Število izolatov za posamezne bakterijske vrste

	<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>		<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. faecalis</i>
	2006	2014	2006	2014	2006	2006	2006
Število vseh izolatov	34	31	36	20	30	29	39
Navadni oddelki	20	20	20	15	20	20	20
Intenzivni oddelki	14	11	16	5	10	9	19

Minimalne inhibitorne koncentracije izolatov smo določali z avtomatiziranim sistemom VITEK 2, za interpretacijo rezultatov pa smo uporabili Evropske smernice za določanje občutljivosti bakterij za antibiotike EUCAST (EUCAST, 2011).

4.1 IDENTIFIKACIJA BAKTERIJ

Pri vseh izolatih smo izvedli identifikacijo in test občutljivosti s pomočjo VITEK 2 avtomatiziranega diagnostičnega sistema. Identifikacijo smo izvedli zgolj zato, da smo potrdili rezultate, ki smo jih prejeli preko rutinske laboratorijske diagnostike.

4.2 DOLOČANJE OBČUTLJIVOSTI BAKTERIJ ZA ANTIBIOTIKE

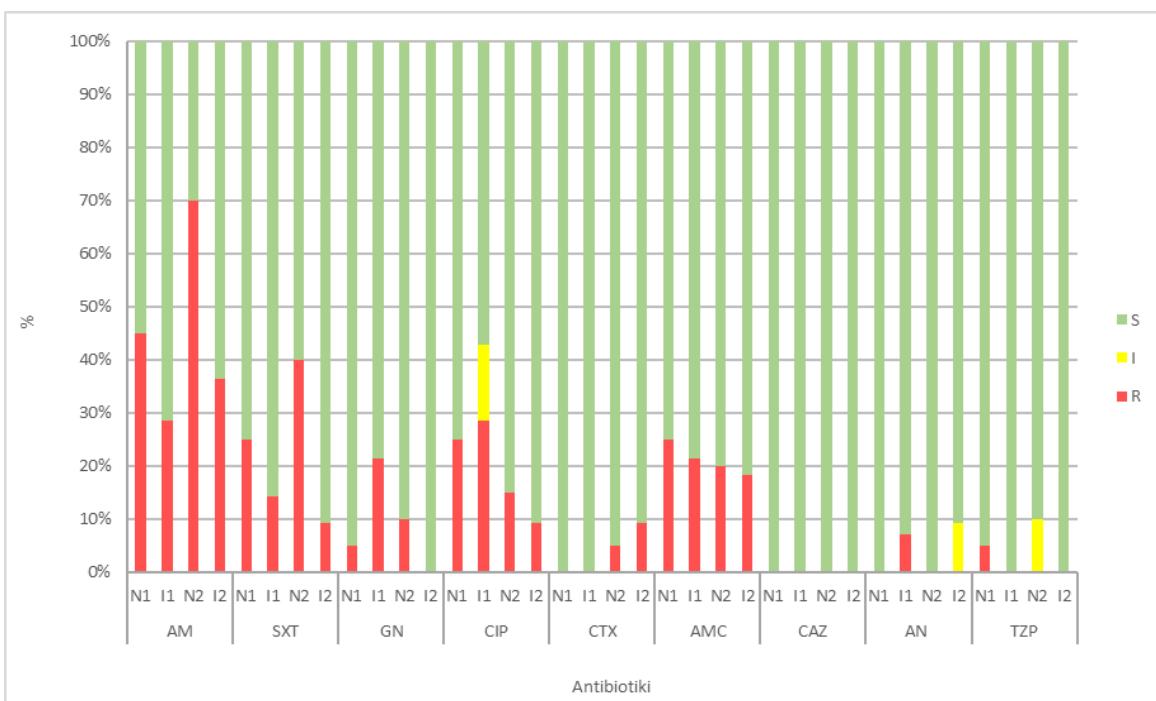
4.2.1 Občutljivost izolatov *E. coli*

Določili smo občutljivost za antibiotike 65 izolatov bakterije *E. coli*. V prvem sklopu (2006) smo testirali 20 izolatov z navadnih in 14 z intenzivnih oddelkov, v drugem sklopu (2014) pa 20 z navadnih in 11 z intenzivnih oddelkov. Osnovni podatki za leto 2006 in 2014 se nahajajo v prilogi (priloga A in B), zbrani podatki pa so v preglednici 9.

Preglednica 9: Delež odpornih izolatov *E. coli* z navadnih in intenzivnih oddelkov

Antibiotik	Navadni oddelki		Intenzivni oddelki		Skupaj	
	2006 (N=20)	2014 (N=20)	2006 (N=14)	2014 (N=11)	2006 (N=34)	2014 (N=31)
Ampicilin (AM)	45,0	70,0	28,6	36,4	38,2	58,1
Trimetoprim/sulfametoksazol (SXT)	25,0	40,0	14,3	9,1	20,6	29,0
Gentamicin (GN)	5,0	10,0	21,4	0	11,8	6,5
Ciprofloksacin (CIP)	25,0	15,0	28,6	9,1	26,5	12,9
Cefotaksim (CTX)	0	5,0	0	9,1	0	6,5
Amoksicilin/klavulanska k. (AMC)	25,0	20,0	21,4	18,2	23,5	19,4
Ceftazidim (CAZ)	0	0	0	0	0	0
Amikacin (AN)	0	0	7,1	0	2,9	0
Piperacilini/tazobaktam (TZP)	5,0	0	0	0	2,9	0

V letu 2006 so razlike med odpornostjo bakterij *E. coli*, izoliranih pri bolnikih, hospitaliziranih na navadnih in intenzivnih oddelkih, najbolj očitne pri ampicilinu, gentamicinu in amikacinu (slika 4). Iz rezultatov je razvidno, da so proti ampicilinu, trimetoprim/sulfametoksazolu, amoksicilin/klavulanski kislini in piperacilin/tazobaktamu najbolj odporni izolati z navadnih oddelkov, na intenzivnih oddelkih pa so izolati *E. coli*, bolj kot na navadnih oddelkih, odporni proti gentamicinu, ciprofloksacinu in amikacinu. V letu 2014 so bili izolati z intenzivnih oddelkov v primerjavi s tistimi z navadnih bolj odporni le proti cefotaksimu. Te odpornosti proti cefotaksimu, ki se je pojavila predvsem na intenzivnih oddelkih, v letu 2006 še ni bilo zaznati.



Slika 4: Delež občutljivih, zmerno občutljivih in odpornih izolatov *E. coli*, izoliranih z navadnih in intenzivnih oddelkov v letu 2006 in 2014 (R-odporen, I-zmerno občutljiv, S-občutljiv, N1-navadni oddelki 2006, N2 – navadni oddelki 2014, I1 –intenzivni oddelki 2006, I2 – intenzivni oddelki 2014)

Preglednica 10: Razpon MIK, MIK_{50} in MIK_{90} izolatov *E. coli* z navadnih in intenzivnih oddelkov za nekatere testirane antibiotike

AB	Sklop I (2006)						Sklop II (2014)					
	Razpon MIK ($\mu\text{g}/\text{ml}$)		MIK_{50} ($\mu\text{g}/\text{ml}$)		MIK_{90} ($\mu\text{g}/\text{ml}$)		Razpon MIK ($\mu\text{g}/\text{ml}$)		MIK_{50} ($\mu\text{g}/\text{ml}$)		MIK_{90} ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	
	N	I	N	I	N	I	N	I	N	I	N	I
CIP	$\leq 0,25 - \geq 4$	$\leq 0,25 - \geq 4$	$\leq 0,25$	$\leq 0,25$	≥ 4	≥ 4	$\leq 0,25 - \geq 4$	$\leq 0,25 - \geq 4$	$\leq 0,25$	$\leq 0,25$	≥ 4	$\leq 0,25$
GN	$\leq 1 - \geq 16$	$\leq 1 - \geq 16$	≤ 1	≤ 1	2	≥ 16	$\leq 1 - \geq 16$	≤ 1	≤ 1	≤ 1	≤ 1	≤ 1
AMC	$\leq 2 - \geq 32$	$\leq 2 - \geq 32$	4	≤ 2	16	16	$\leq 2 - \geq 16$	$\leq 2 - \geq 32$	4	≤ 2	16	16
CTX	≤ 1	≤ 1	≤ 1	≤ 1	≤ 1	≤ 1	$\leq 1 - \geq 64$	$\leq 1 - \geq 4$	≤ 1	≤ 1	≤ 1	≤ 1

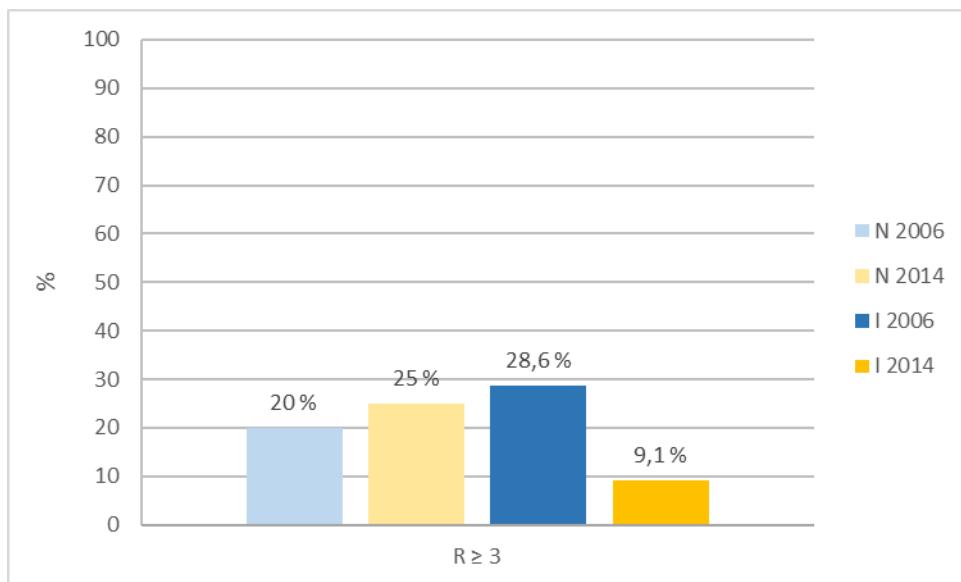
Legenda: AB – antibiotik, CIP – ciprofloksacin, GN – gentamicin, AMC – amoksicilin/klavulanska kislina, CTX – cefotaksim

Za nekatere ključne antibiotike smo primerjali tudi vrednosti MIK_{50} (MIK, ki zavre rast 50 % testiranih izolatov) in MIK_{90} (MIK, ki zavre rast 90 % testiranih izolatov), ki so navedene v preglednici 10. V letu 2006 so bile vrednosti MIK_{50} izolatov z intenzivnih in navadnih oddelkov enake pri ciprofloksacinu, gentamicinu in cefotaksimu. Pri amoksicilin/klavulanski kislini je bil MIK_{50} z navadnih oddelkov ($4 \mu\text{g}/\text{ml}$) malenkost višji kot MIK_{50} z intenzivnih oddelkov ($\leq 2 \mu\text{g}/\text{ml}$). Vrednosti MIK_{90} med navadnimi in intenzivnimi oddelki so se v letu 2006 razlikovale zgolj pri gentamicinu. Na navadnih oddelkih je rast 90 % izolatov zavrla že MIK v višini $2 \mu\text{g}/\text{ml}$, na intenzivnih oddelkih pa

je bila za podoben učinek potrebna koncentracija gentamicina v višini $\geq 16 \mu\text{g}/\text{ml}$. Leta 2014 so bile vrednosti MIK_{50} , podobno kot leta 2006, za intenzivne in navadne oddelke enake pri ciprofloksacinu, gentamicinu in cefotaksimu, medtem ko so bile vrednosti MIK_{50} za amoksicilin/klavulansko kislino zopet višje na navadnih oddelkih. Izolati z obeh tipov oddelkov so imeli podobne MIK_{90} . Do razlik je prišlo le pri ciprofloksacinu, pri katerem so imeli izolati z intenzivnih nižji MIK_{90} kot izolati z navadnih oddelkov.

Vrednosti MIK_{50} se za posamezne antibiotike med leti 2006 in 2014 niso razlikovale, medtem ko so bile vrednosti MIK_{90} za gentamicin izolatov z navadnih in intenzivnih oddelkov leta 2014 nižje, pri izolatih z intenzivnih oddelkov pa smo zaznali nižji MIK_{90} za ciprofloksacin kot leta 2006.

Pri nekaterih izolatih se je pokazala odpornost proti več antibiotikom hkrati (slika 5). Predvsem proti kinolonom in aminoglikozidom. Večkratno odpornost proti trem ali več antibiotikom smo v letu 2006 zasledili pri 8 (4 z navadnih, 4 z intenzivnih), v letu 2014 pa pri 6 izolatih (5 z navadnih in 1 z intenzivnih oddelkov).



Slika 5: Delež izolatov *E. coli*, odpornih proti trem ali več antibiotikom hkrati ($R \geq 3$)
(R – odporen, N 2006 – navadni oddelki 2006, N 2014 – navadni oddelki 2014, I 2006 – intenzivni oddelki 2006, I 2014 – intenzivni oddelki 2014)

4.2.2 Občutljivost izolatov *S. aureus*

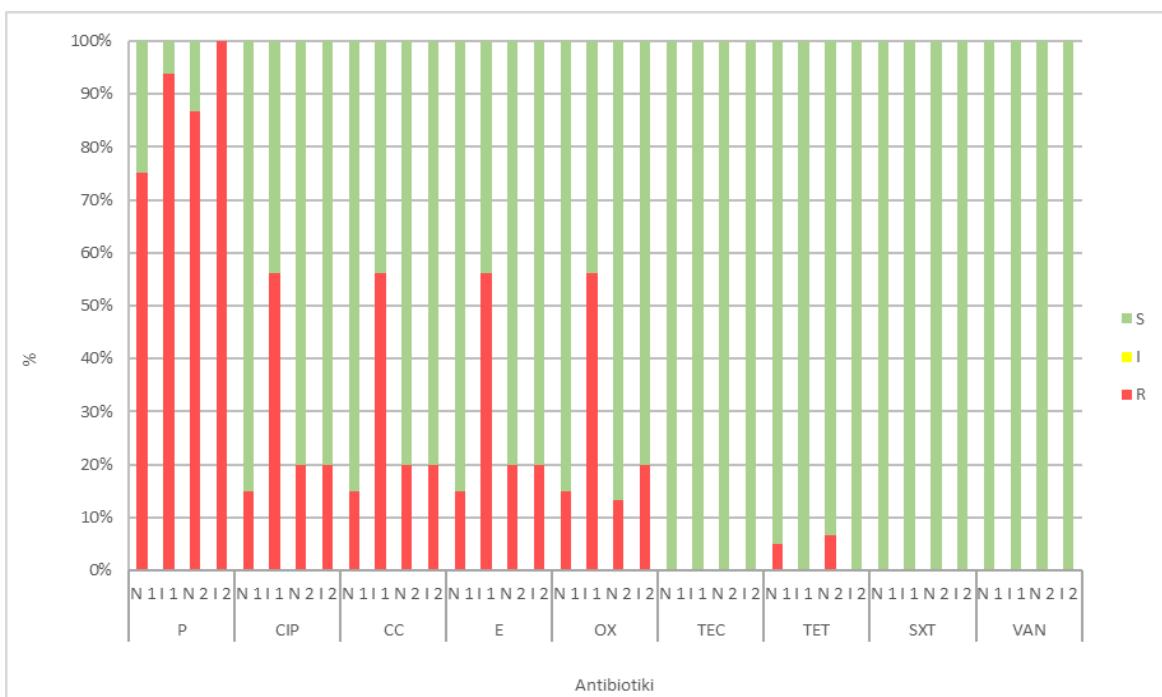
Določili smo občutljivost za antibiotike 56 izolatov *S. aureus*. V letu 2006 smo testirali 36 izolatov (20 z navadnih oddelkov in 16 z intenzivnih), v letu 2014 pa smo občutljivost za antibiotike določili 20 izolatom (15 z navadnih in 5 z intenzivnih oddelkov). Osnovne preglednice z rezultati testov občutljivosti se nahajajo v prilogi B in C, zbrani podatki pa v preglednici 11.

Preglednica 11: Delež odpornih izolatov *S. aureus* z navadnih in intenzivnih oddelkov

Antibiotik	Navadni oddelki		Intenzivni oddelki		Skupaj	
	2006 (N=20)	2014 (N=15)	2006 (N=16)	2014 (N=5)	2006 (N=36)	2014 (N=20)
Benzilpenicilin (P)	75,0	86,7	93,7	100,0	83,3	90,0
Ciprofloksacin (CIP)	15,0	20,0	56,3	20,0	33,3	20,0
Klindamicin (CC)	15,0	20,0	56,3	20,0	33,3	20,0
Eritromicin (E)	15,0	20,0	56,3	20,0	33,3	20,0
Oksacilin (OX)	15,0	13,3	56,3	20,0	33,3	15,0
Teikoplanin (TEC)	0	0	0	0	0	0
Tetraciklin (TET)	5,0	6,7	0	0	2,8	5,0
Trimetoprim/sulfametoksazol (SXT)	0	0	0	0	0	0
Vankomicin (VAN)	0	0	0	0	0	0

Razlike v odpornosti med izolati z navadnih in tistih z intenzivnih oddelkov so bile v letu 2006 veliko bolj izrazite kot leta 2014. Leta 2006 so izolati *S.aureus* z intenzivnih oddelkov izkazali visoko stopnjo odpornosti proti oksacilinu (56,3 % vseh izolatov je bilo MRSA), ciprofloksacinu, klindamicinu in eritromicinu, vsi izolati pa so bili povsem občutljivi za teikoplanin, trimetoprim/sulfametoksazol in vankomicin (slika 6).

Pri izolatih z intenzivnih oddelkov opažamo, da je bila prevalenca odpornosti izolatov proti oksacilinu leta 2014 v povprečju za 36 % nižja kot 8 let poprej. V letu 2014 je bila prevalenca odpornih izolatov z navadnih in intenzivnih oddelkov približno enaka, razen pri oksacilinu kjer je bila še vedno nekoliko višja na intenzivnih oddelkih. Vsi izolati pa so bili občutljivi za teikoplanin, trimetoprim/sulfametoksazol in vankomicin.



Slika 6: Delež občutljivih, zmerno občutljivih in odpornih izolatov *S. aureus*, izoliranih iz navadnih in intenzivnih oddelkov v letu 2006 in 2014 (R-odporen, I-zmerno občutljiv, S-občutljiv, N1-navadni oddelki 2006, N2-navadni oddelki 2014, I1-intenzivni oddelki 2006, I2-intenzivni oddelki 2014)

Preglednica 12: Razpon MIK, MIK₅₀ in MIK₉₀ izolatov *S. aureus* z navadnih in intenzivnih oddelkov za nekatere testirane antibiotike

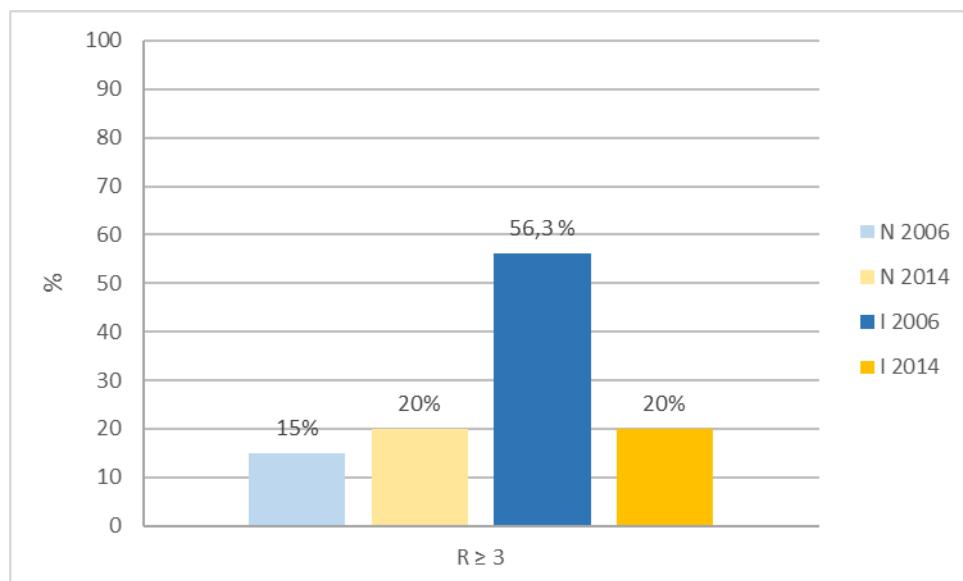
Antibiotik	Sklop I (2006)					Sklop II (2014)						
	Razpon MIK (µg/ml)		MIK ₅₀ (µg/ml)		MIK ₉₀ (µg/ml)	Razpon MIK (µg/ml)		MIK ₅₀ (µg/ml)		MIK ₉₀ (µg/ml)		
	N	I	N	I	N	I	N	I	N	I		
OX	≤ 0,25 - ≥ 4	≤ 0,25 - ≥ 4	0,5	≥ 4	≥ 4	≥ 4	≤ 0,25 - ≥ 4	≤ 0,25 - ≥ 4	≤ 0,25	0,5	≥ 4	≥ 4
VAN	≤ 1	≤ 1	≤ 1	≤ 1	≤ 1	≤ 1	≤ 0,5 - 1	≤ 0,5 - 1	1	1	1	1

Legenda: N – navadni oddelki, I – intenzivni oddelki, OX – oksacilin, VAN - vankomicin

Razpon vrednosti MIK za oksacilin in vankomicin je bil leta 2006 in 2014 pri izolatih z navadnih in intenzivnih oddelkov enak (preglednica 12). Tako v letu 2006 kakor tudi v letu 2014 so imeli izolati z intenzivnih oddelkov višji MIK₅₀ za oksacilin, medtem ko so imeli izolati z navadnih in intenzivnih oddelkov enak MIK₉₀ ($\geq 4\mu\text{g}/\text{ml}$). Vrednosti MIK₅₀ in MIK₉₀ za vankomicin sta se leta 2006 in 2014 gibali okoli $1\mu\text{g}/\text{ml}$.

V letu 2006 je bilo večkratno odpornih 15 % izolatov z navadnih in 56,3 % izolatov z intenzivnih oddelkov (slika 7). Pri 12 izolatih (3 z navadnih, 9 z intenzivnih oddelkov) smo opazili odpornost proti več antibiotikom hkrati. Najbolj pogosta je bila hkratna odpornost

proti oksacilinu (MRSA), benzilpenicilinu, ciprofloksacinu, eritromicinu in klindamicinu. Leta 2014 smo odpornost proti trem ali več antibiotikom opazili pri 4 izolatih (3 z navadnih, 1 z intenzivnih oddelkov). Podobno kot leta 2006 je največkrat šlo za hkratno odpornost proti oksacilinu (MRSA), benzilpenicilinu, ciprofloksacinu, klindamicinu, eritromicinu.



Slika 7: Delež izolatov *S. aureus*, odpornih proti trem ali več antibiotikom hkrati ($R \geq 3$)
(R – odporen, N 2006 – navadni oddelki 2006, N 2014 – navadni oddelki 2014, I 2006 – intenzivni oddelki
2006, I 2014 – intenzivni oddelki 2014)

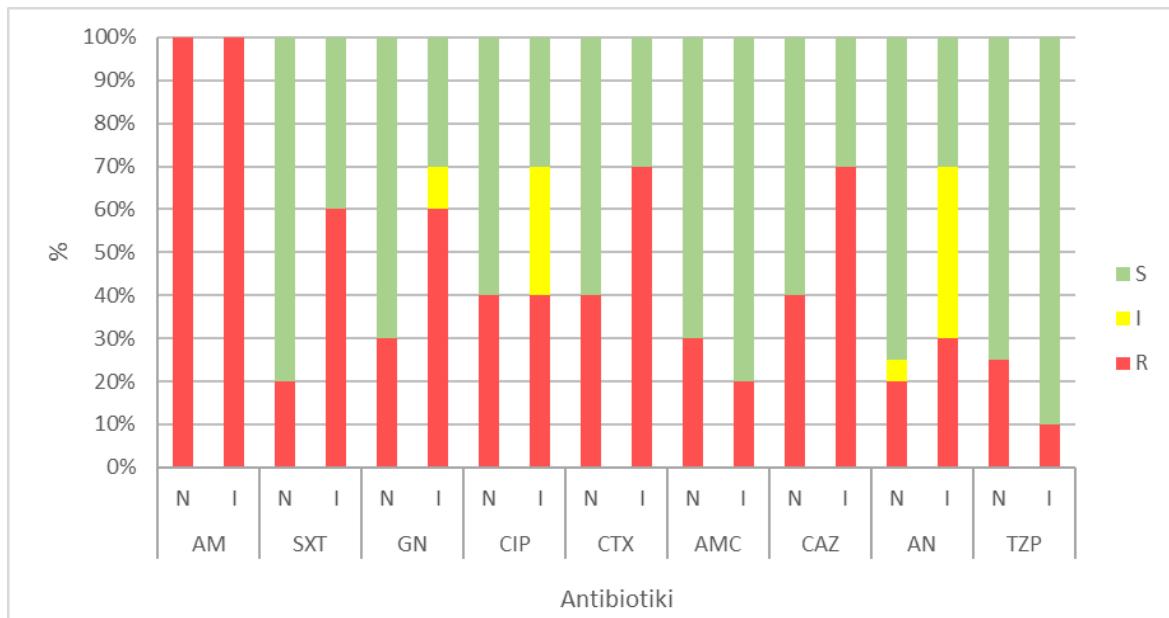
4.2.3 Občutljivost izolatov *K. pneumoniae*

Bakterije vrste *K. pneumoniae* so ene izmed najbolj pogostih povzročiteljic bolnišničnih okužb, zato smo izolate le-teh vključili v našo raziskavo. Določili smo občutljivost za antibiotike 20 izolatov z navadnih in 10 z intenzivnih oddelkov, skupaj torej 30. Osnovni podatki testov občutljivosti se nahajajo v prilogi E, v preglednici 13 pa so navedeni skupni rezultati.

Preglednica 13: Delež odpornih izolatov *K. pneumoniae* z navadnih in intenzivnih oddelkov

Antibiotik	Navadni odd. (N=20)	Intenzivni odd. (N=10)	Skupaj (N=30)
Ampicilin (AM)	100,0	100,0	100,0
Trimetoprim/sulfametoksazol (SXT)	20,0	60,0	33,3
Gentamicin (GM)	30,0	60,0	40,0
Ciprofloksacin (CIP)	40,0	40,0	40,0
Cefotaksim (CTX)	40,0	70,0	50,0
Amoksicilin/klavulanska k. (AMC)	30,0	20,0	26,7
Ceftazidim (CAZ)	40,0	70,0	50,0
Amikacin (AN)	20,0	30,0	23,3
Piperacilin/tazobaktam (TZP)	25,0	10,0	20,0

Legenda: Poudarjeni so višji deleži odpornih izolatov za določen antibiotik.



Slika 8: Delež občutljivih, zmerno občutljivih in odpornih izolatov *K. pneumoniae*, izoliranih z navadnih in intenzivnih oddelkov (N-navadni oddelki, I-intenzivni oddelki, R-odporen, I-zmerno občutljiv, S-občutljiv)

V primerjavi z izolati z navadnih oddelkov so bili izolati z intenzivnih oddelkov bolj odporni proti naslednjim antibiotikom: trimetoprim/sulfametoksazol (60 %), gentamicin (60 %), cefotaksim (70 %), ceftazidim (70 %), amikacin (30 %). Odpornost proti piperacilin/tazobaktamu in amoksicilin/klavulanski kislini pa je bila višja pri izolatih z navadnih oddelkov. Na intenzivnih oddelkih smo zasledili kar nekaj izolatov, ki so bili za nekatere antibiotike zmerno občutljivi (ciprofloksacin, gentamicin); na navadnih oddelkih smo takšne izolate zasledili le pri amikacinu (slika 8).

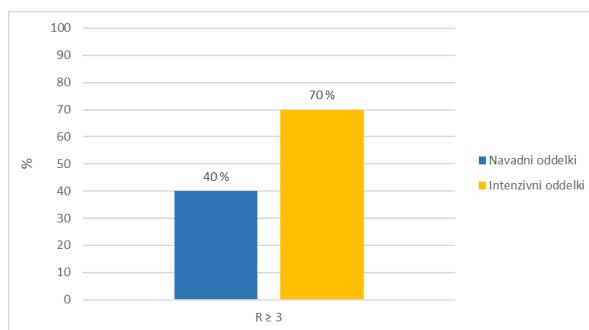
Za izbrane antibiotike smo določili tudi vrednosti MIK_{50} in MIK_{90} (preglednica 14). Pri vseh štirih antibiotikih so bile vrednosti MIK_{50} višje pri izolatih z intenzivnih oddelkov. Vrednosti MIK_{90} za gentamicin, ciprofloksacin in cefotaksim so bile pri izolatih z navadnih in intenzivnih oddelkov enake. Pri amoksicilin/klavulanski kislini so imeli izolati z navadnih oddelkov višji MIK_{90} ($16 \mu\text{g/ml}$) kot izolati z intenzivnih ($8 \mu\text{g/ml}$).

Preglednica 14: Razpon MIK, MIK_{50} in MIK_{90} izolatov *K. pneumoniae* z navadnih in intenzivnih oddelkov za nekatere testirane antibiotike

Antibiotik	Razpon MIK ($\mu\text{g/ml}$)		MIK_{50} ($\mu\text{g/ml}$)		MIK_{90} ($\mu\text{g/ml}$)	
	N	I	N	I	N	I
Gentamicin	$\leq 1 - \geq 16$	$\leq 1 - \geq 16$	≤ 1	≥ 16	≥ 16	≥ 16
Ciprofloksacin	$\leq 0,25 - \geq 4$	$\leq 0,25 - \geq 4$	$\leq 0,25$	1	≥ 4	≥ 4
Cefotaksim	$\leq 1 - \geq 64$	$\leq 1 - \geq 64$	≤ 1	4	≥ 64	≥ 64
Amoksicilin/klavulanska kislina	$\leq 2 - \geq 32$	$\leq 2 - \geq 16$	≤ 2	8	16	8

Legenda: N – navadni oddelki, I – intenzivni oddelki

Pri 15 izolatih smo opazili odpornost proti trem ali več antibiotikom hkrati. Večkratno odpornih je bilo 40 % izolatov z navadnih in kar 70 % izolatov z intenzivnih oddelkov (slika 9), med slednjimi so bili vsi odporni kar proti 5 ali več antibiotikom hkrati, vključno s cefalosporini 3. generacije (ESBL).



Slika 9: Delež izolatov *K. pneumoniae*, odpornih proti trem ali več antibiotikom hkrati ($R \geq 3$)

4.2.4 Občutljivost izolatov *P. aeruginosa*

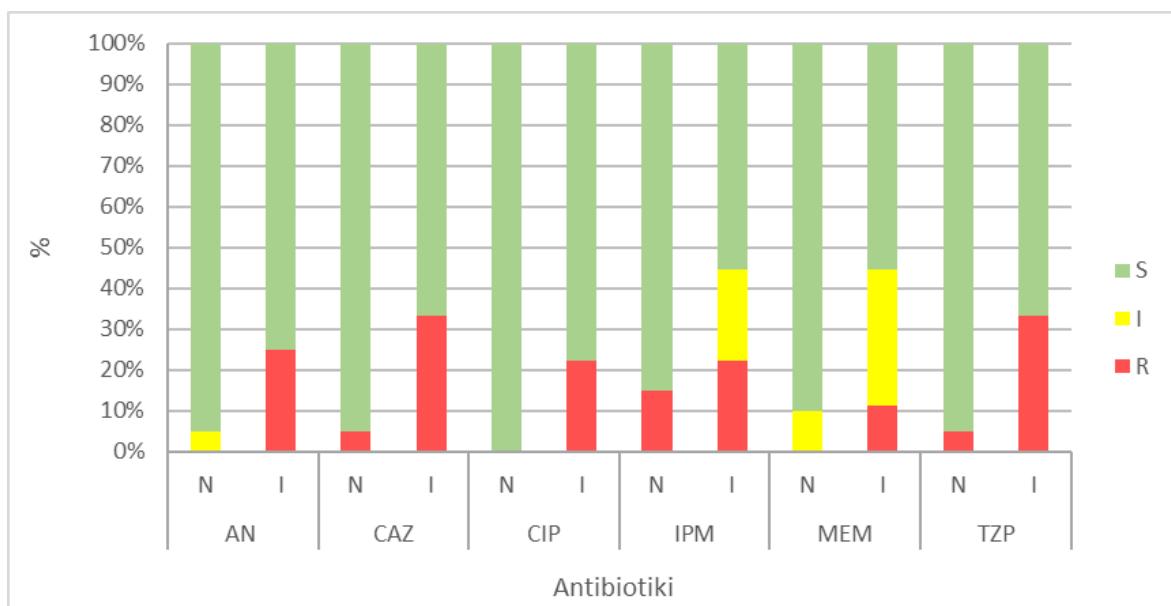
Določili smo občutljivost 29 izolatov *P. aeruginosa*, 20 iz kužnin bolnikov z navadnih oddelkov in 9 iz kužnin bolnikov z intenzivnih oddelkov (priloga F).

Preglednica 15: Delež odpornih izolatov *P. aeruginosa* z navadnih in intenzivnih oddelkov

Antibiotik	Navadni odd. (N=20)	Intenzivni odd. (N=9)	Skupaj (N=29)
Amikacin (AN)	0	25,0	7,1
Ceftazidim (CAZ)	5,0	33,3	13,8
Ciprofloksacin (CIP)	0	22,2	6,9
Imipenem (IPM)	15,0	22,2	17,2
Meropenem (MEM)	0	11,1	3,4
Piperacilin/tazobaktam (TZP)	5,0	33,3	13,8

Legenda: Poudarjeni so višji deleži odpornih izolatov za določen antibiotik.

Iz preglednice 15 je razvidno, da so bili izolati na navadnih oddelkih odporni proti ceftazidimu (5 %), imipenemu (15 %) in piperacilin/tazobaktamu (5 %). Prav noben izolat ni bil odporen proti amikacinu, ciprofloksacinu in meropenemu, so pa nekateri izolati za slednjega izražali zmerno občutljivost. Izolati z intenzivnih oddelkov so bili odporni proti: amikacinu (25 %), ceftazidimu (33,3 %), ciprofloksacinu (22,2 %), imipenemu (22,2 %), meropenemu (11,1 %) in piperacilin/tazobaktamu (33,3 %). Izolati z intenzivnih oddelkov so bili bolj odporni proti vsem testiranim antibiotikom (slika 10).



Slika 10: Delež občutljivih, zmerno občutljivih in odpornih izolatov *P. aeruginosa*, izoliranih iz navadnih in intenzivnih oddelkov (N-navadni oddelki, I-intenzivni oddelki, R-odporen, I-zmerno občutljiv, S-občutljiv)

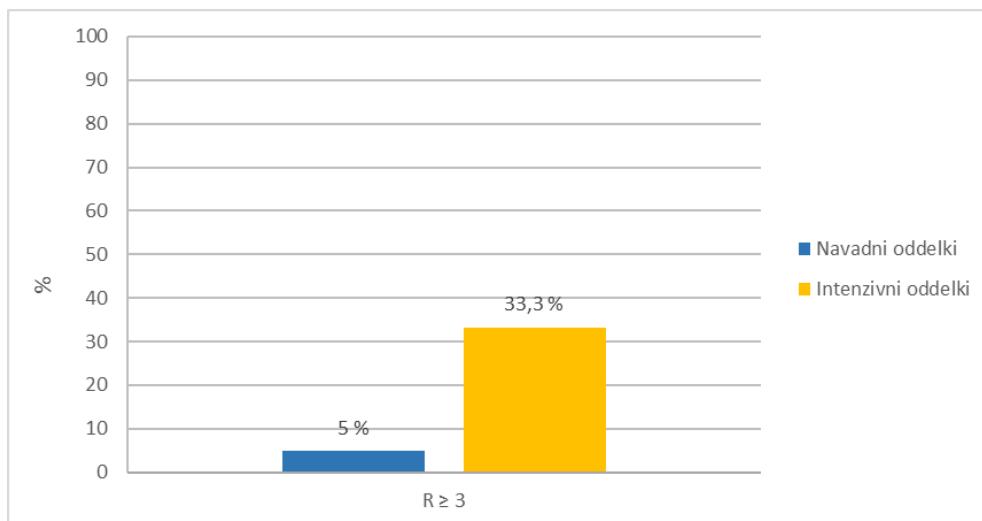
Preglednica 16: Razpon MIK, MIK_{50} in MIK_{90} izolatov *P. aeruginosa* z navadnih in intenzivnih oddelkov za nekatere testirane antibiotike

Antibiotiki	Razpon MIK ($\mu\text{g}/\text{ml}$)		MIK_{50} ($\mu\text{g}/\text{ml}$)		MIK_{90} ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	
	N	I	N	I	N	I
Amikacin (AN)	$\leq 2 - 16$	$\leq 2 - \geq 64$	≤ 2	≤ 2	8	32
Ceftazidim (CAZ)	2 - 16	$2 - \geq 64$	4	4	4	16
Ciprofloksacin (CIP)	$\leq 0,25$	$\leq 0,25 - \geq 4$	$\leq 0,25$	$\leq 0,25$	$\leq 0,25$	≥ 4
Imipenem (IPM)	$\leq 1 - \geq 16$	$\leq 1 - \geq 16$	≤ 1	4	≥ 16	≥ 16
Meropenem (MEM)	$\leq 0,25 - 8$	$\leq 0,25 - \geq 16$	0,5	1	4	8
Piperacilin/tazobaktam (TZP)	$\leq 4 - 64$	$\leq 4 - \geq 128$	≤ 4	8	8	64

Legenda: N – navadni oddelki, I – intenzivni oddelki

Razlike v razponu MIK so med izolati z navadnih in intenzivnih oddelkih zelo očitne (preglednica 16). Pri amikacinu, ceftazidimu in ciprofloksacinu so bile vrednosti MIK_{50} izolatov z navadnih in intenzivnih oddelkov enake. Pri imipenemu, meropenemu in piperacilin/tazobaktamu pa so imeli izolati z intenzivnih oddelkov višje MIK_{50} vrednosti kot izolati z navadnih oddelkov. Z izjemo imipenema so bile vrednosti MIK_{90} višje pri izolatih z intenzivnih oddelkov.

Istočasno odpornost proti trem ali več antibiotikom smo zaznali pri 4 izolatih, od tega je bil 1 izolat z navadnih oddelkov in 3 z intenzivnih (slika 11). Pri izolatih, odpornih proti trem ali več antibiotikom, se je v kombinaciji največkrat pojavila odpornost proti ceftazidimu.



Slika 11: Delež izolatov *P. aeruginosa*, odpornih proti trem ali več antibiotikom hkrati ($R \geq 3$)

4.2.5 Občutljivost izolatov *E. faecalis*

V okviru diplomske naloge smo 39 izolatom (20 z navadnih in 19 z intenzivnih oddelkov) *E. faecalis* določili občutljivost za pet različnih antibiotikov. Rezultati testov občutljivosti z avtomatiziranim sistemom VITEK 2 so prikazani v prilogi G. Primerjava MIK med izolati, izoliranimi na navadnih oddelkih in intenzivnih oddelkih pa je vidna v preglednici 17.

Preglednica 17: Delež odpornih izolatov *E. faecalis* z navadnih in intenzivnih oddelkov

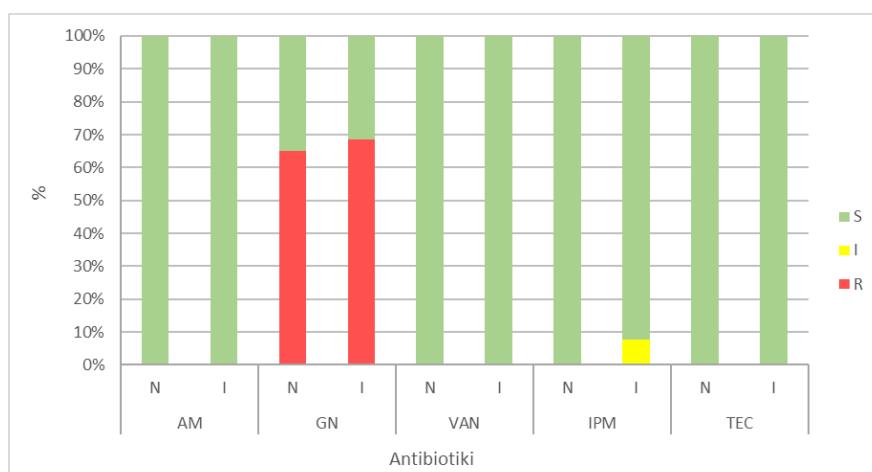
Antibiotik	Navadni odd. (N=20)	Intenzivni odd. (N=19)	Skupaj (N=39)
Ampicilin (AM)	0	0	0
Gentamicin (GN)	65,0	68,4	66,7
Vankomicin (VAN)	0	0	0
Imipenem (IPM)*	0	0	0
Teikoplanin (TEC)**	0	0	0

Legenda: Poudarjeni so višji deleži odpornih izolatov za določen antibiotik.

*za IPM smo upoštevali le 16 izolatov z navadnih in 13 izolatov z intenzivnih oddelkov. Pri ostalih izolatih nismo dobili podatka od MIK za IPM.

**Pri TEC je bilo število izolatov na navadnih oddelkih 19, saj za en izolat nismo dobili podatka o MIK.

Vsi izolati bakterije *E. faecalis*, vključeni v našo nalogu, so bili občutljivi za ampicilin, vankomicin, imipenem in teikoplanin. Izolati so bili odporni le proti gentamicinu in delež odpornih izolatov je bil malenkost višji na intenzivnih oddelkih. Za vse ostale antibiotike so bili tako izolati z navadnih kakor tudi z intenzivnih oddelkov občutljivi (slika 12).



Slika 12: Delež občutljivih, zmerno občutljivih in odpornih izolatov bakterij *E. faecalis*, izoliranih iz navadnih in intenzivnih oddelkov (N-navadni oddelki, I-intenzivni oddelki, R-odporen, I-zmerno občutljiv, S-občutljiv)

Preglednica 18: Razpon MIK, MIK_{50} in MIK_{90} izolatov *E. faecalis* z navadnih in intenzivnih oddelkov za nekatere testirane antibiotike

Antibiotik	Razpon MIK ($\mu\text{g}/\text{ml}$)		MIK_{50} ($\mu\text{g}/\text{ml}$)		MIK_{90} ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	
	N	I	N	I	N	I
Vankomicin (VAN)	$\leq 1 - 2$	$\leq 1 - 2$	2	2	≤ 2	2
Imipenem (IPM)	$\leq 1 - 4$	$\leq 1 - 8$	≤ 1	2	2	2
Teikoplanin (TEC)	$\leq 0,5$	$\leq 0,5$	$\leq 0,5$	$\leq 0,5$	$\leq 0,5$	$\leq 0,5$

Legenda: N – navadni oddelki, I – intenzivni oddelki

Iz preglednice 14 je razvidno, da je bil razpon vrednosti MIK za vse tri antibiotike tako pri izolatih z intenzivnih kakor tudi z navadnih oddelkov približno enak. Vrednosti MIK_{50} in MIK_{90} so bile prav tako zelo podobne. Pri vankomicinu je $2 \mu\text{g}/\text{ml}$ tista minimalna inhibitorna koncentracija, ki je zavrla rast 50 % in tudi 90 % vseh izolatov na navadnih in intenzivnih oddelkih. Na navadnih oddelkih je bila za prenehanje rasti 50 % izolatov zadostna koncentracija imipenema v višini $\leq 1 \mu\text{g}/\text{ml}$, na intenzivnih oddelkih pa je za enak učinek bila potrebna koncentracija v višini $2 \mu\text{g}/\text{ml}$. MIK_{90} za imipenem izolatov z navadnih in intenzivnih oddelkov je bila $2 \mu\text{g}/\text{ml}$. MIK vseh izolatov za teikoplanin je znašala $\leq 0,5 \mu\text{g}/\text{ml}$.

5 RAZPRAVA

V diplomski nalogi smo primerjali MIK antibiotikov in občutljivost za antibiotike pri bakterijah, izoliranih z navadnih in intenzivnih oddelkov. Občutljivost smo določali s pomočjo avtomatiziranega sistema VITEK 2. Primerjavo odpornosti smo naredili za 219 izolatov petih klinično najbolj pomembnih bakterijskih vrst: *E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* in *E. faecalis*. Rezultati bi bili še bolj reprezentativni, če bi v nalogu vključili več izolatov za posamezno bakterijsko vrsto.

Pri *E. coli* so bili izolati z navadnih oddelkov v letu 2006 bolj odporni proti ampicilinu, trimetoprim/sulfametoksazolu in amoksicilin/klavulanski kislini kot izolati z intenzivnih oddelkov. Pri slednjem je bil razpon MIK pri izolatih z intenzivnih in navadnih oddelkov enak (≤ 2 - ≥ 32), medtem ko je bila vrednost MIK_{50} višja pri izolatih z navadnih oddelkov, pri MIK_{90} pa razlik ni bilo. Izolati z intenzivnih oddelkov so bili bolj odporni proti ciprofloksacinu, gentamicinu in amikacinu. Pri gentamicinu so imeli izolati z intenzivnih oddelkov tudi občutno višjo vrednost MIK_{90} . Leta 2014 so bili izolati z intenzivnih oddelkov bolj odporni le proti cefotaksimu. Pojav odpornosti proti cefotaksimu je precej zaskrbljujoč, saj je v letu 2006 še ni bilo zaznati niti na navadnih niti na intenzivnih oddelkih, leta 2014 pa je bila na navadnih oddelkih 5 %, na intenzivnih pa 9,1 %. Porasle so tudi vrednosti MIK, saj smo leta 2014 zaznali večji razpon MIK kot leta 2006. Večkratno odpornih izolatov je bilo leta 2006 več na intenzivnih oddelkih, leta 2014 pa temu ni bilo tako. Večinoma gre za izolate *E. coli*, ki izločajo ESBL.

Prevalenca odpornosti *S. aureus* proti meticilinu (MRSA) je bila v letu 2006 višja na intenzivnih oddelkih. Tudi za večino preostalih testiranih antibiotikov je bila prevalenca odpornih izolatov *S. aureus* v letu 2006 višja na intenzivnih oddelkih. Proti meticilinu odpornih je bilo 33,3 % vseh izolatov: 15 % vseh izolatov z navadnih in kar 56,3 % izolatov z intenzivnih oddelkov. MRSA navadno poleg odpornosti proti meticilinu nosijo še mehanizme z zapisom odpornosti proti večini preostalih antibiotikov, zato je povsem pričakovano prevalenca odpornosti proti večini testiranih antibiotikov (ciprofloksacinu, klindamicinu, eritromicinu) v letu 2006 višja pri izolatih z intenzivnih oddelkov. Vsi izolati

pa so bili občutljivi za vankomicin in teikoplanin. V letu 2014 je bilo stanje malce drugačno. Delež odpornih izolatov z navadnih in intenzivnih oddelkov je bil pri večini antibiotikov skoraj enak, le delež proti oksacilinu odpornih izolatov je bil višji na intenzivnih oddelkih. Pri izolatih z navadnih oddelkov med leti 2006 in 2014 ni bilo večjih razlik, pri izolatih z intenzivnih oddelkov pa je prišlo do velikega upada odpornosti in tudi MRSA, kar je verjetno posledica izvajanja ukrepov za preprečevanje prenosa teh bakterij med bolniki. O upadu odpornosti proti oksacilinu pričajo tudi občutno nižje vrednosti MIK₅₀ pri izolatih z navadnih in še posebej z intenzivnih oddelkov. Vrednosti MIK₅₀ in MIK₉₀ za vankomicin pa so bile leta 2006 in 2014 približno enake. Večkratne odpornosti je bilo v letu 2006 več na intenzivnih oddelkih kot na navadnih, v letu 2014 pa ne. Žal smo za bolj natančno določitev razlik v odpornosti med navadnimi in intenzivnimi oddelki ter razliko v odpornosti med leti 2006 in 2014 imeli na voljo občutno premalo izolatov.

Proti večini testiranih antibiotikov so bili bolj odporni izolati *K. pneumoniae* z intenzivnih oddelkov (višje so bile tudi vrednosti MIK₅₀), le proti piperacilin/tazobaktamu in amoksicilin/klavulanski kislini so bili bolj odporni izolati z navadnih oddelkov. Pričakovali bi, da bo tudi proti tem antibiotikom odpornost na intenzivnih oddelkih višja kot na navadnih, vendar je prav mogoče, da smo zajeli ravno takšne izolate, ki so bili občutljivi, poleg tega pa smo imeli z intenzivnih oddelkov 10 izolatov manj, zaradi česar morda rezultati niso tako reprezentativni. Kar 40 % izolatov z navadnih in 70 % izolatov z intenzivnih oddelkov je bilo večkratno odpornih, med slednjimi so bili vsi odporni proti 5 ali več antibiotikom hkrati, vključno s cefalosporini 3. generacije (ESBL).

Razlike v MIK smo zaznali tudi pri *P. aeruginosa*. Prevalenca odpornosti za prav vse testirane antibiotike je bila višja pri izolatih z intenzivnih oddelkov. Izolati z intenzivnih oddelkov so imeli tudi večji razpon MIK in višje vrednosti MIK₅₀ in MIK₉₀ za večino testiranih antibiotikov. Tudi večkratno odpornih izolatov je bilo več na intenzivnih oddelkih (33,3 %). Predvidevamo, da bi se delež večkratno odpornih izolatov v primeru, da bi nam uspelo pridobiti vseh 20 izolatov z intenzivnih oddelkov, še povišal. *P. aeruginosa* je znan po tem, da lahko zelo hitro razvije odpornost proti različnim skupinam antibiotikov, še posebej zaskrbljujoče pa je dejstvo, da do razvoja odpornosti lahko pride že med samim zdravljenjem okužbe (Lister in sod., 2009).

Pri *E. faecalis* smo se osredotočili na 5 antibiotikov. Izolati so bili iz nabora antibiotikov odporni le proti gentamicinu, delež odpornih izolatov pa je bil malenkost višji pri izolatih z intenzivnih oddelkov. Pri imipenemu smo pri izolatih z intenzivnih oddelkov zaznali večji razpon vrednosti MIK kot pri tistih z navadnih oddelkov, medtem ko je MIK za teikoplanin vseh izolatov znašala $\leq 0,5 \mu\text{g}/\text{ml}$. Razpon MIK ter vrednosti MIK₅₀ in MIK₉₀ za vankomicin so bile pri izolatih z navadnih in intenzivnih oddelkov zelo podobne, kar pomeni, da večja poraba vankomicina na intenzivnih oddelkih ni imela večjega vpliva na vrednosti MIK. Proti vankomicinu odpornih enterokokov (angl. Vancomycin-Resistant Enterococci - VRE) nismo zasledili.

Potrdili smo hipotezo, da je poraba večine antibiotikov višja na intenzivnih oddelkih in da imajo bakterije z intenzivnih oddelkov za nekatere antibiotike višje MIK kot bakterije, izolirane z navadnih oddelkov. Višja prevalenca odpornih izolatov na intenzivnih oddelkih je posledica velike porabe antibiotikov, še posebej antibiotikov širokega spektra, ki omogočajo selekcijo ter širjenje odpornih sevov. Poraba antibiotikov, z izjemo kinolonov, katerih poraba je bila v letu 2006 višja na navadnih oddelkih, je bila tako v letu 2006 kakor tudi v letu 2014 višja na intenzivnih oddelkih. Na intenzivnih oddelkih se je predpisalo 2x več penicilinov, 10x več cefalosporinov, 2-6x več karbapenemov, 2-5x več makrolidov, 2x več aminoglikozidov in 5x več glikopeptidov kot na navadnih oddelkih. Kljub velikim razlikam v porabi glikopeptidov med navadnimi in intenzivnimi oddelki se to v naši nalogi ni odrazilo v pojavi odpornosti *S. aureus* in *E. faecalis* proti glikopeptidom. Vrednosti MIK za te antibiotike se namreč med izolati z navadnih in intenzivnih oddelkov niso kaj dosti razlikovale. Poraba penicilinov z zaviralci betalaktamaz se je na navadnih in intenzivnih oddelkih razlikovala, vendar večjih razlik v prevalenci odpornosti med izolati s teh oddelkov ni bilo zaznati. V letu 2006 je bila poraba kinolonov višja na navadnih oddelkih, med tem ko je bila prevalenca proti kinolonom odpornih izolatov pri večini bakterijskih vrst še vedno višja na intenzivnih oddelkih. Velika poraba cefalosporinov na intenzivnih oddelkih je verjetno vzrok za pojav *E.coli* in *K. pneumoniae* z betalaktamazami razširjenega spektra (ESBL). Bolnike, ki imajo okužbo s temi bakterijami, lahko namreč zdravimo le še s karbapenemi, ker pa so ti sevi sposobni zelo hitro pridobiti tudi gene za karbapenemaze, je potrebno preprečiti širjenje teh sevov. Do pojava odpornosti, še posebej v bolnišničnem okolju, kjer je zaradi visoke porabe antibiotikov ogromen selektivni pritisk,

lahko pride na dva načina. V prvem primeru gre za vnos in širjenje odpornih klonov, v drugem pa za postopen razvoj odpornosti, pri katerem lahko mutacije kromosomskega ali plazmidnega dela, ter morebiten prevzem nove genetske informacije s konjugacijo ali transformacijo povzročijo povišanje MIK za nek antibiotik (Struelens, 1998; Seme in Poljak, 2001; Martinez in Baquero, 2000). V večini primerov je težko ugotoviti ali je prišlo do razvoja odpornosti v okviru populacije klonov znotraj bolnišnice ali za vnos novih in bolj odpornih klonov. Če bi želeli spremljati pojav postopnega zviševanja MIK, bi morali v raziskavo vključiti občutno večje število izolatov, ter meritve ponavljati več let zapored. Glede na rezultate vseeno sklepamo, da je v večini primerov šlo za vnos odpornih klonov iz drugih, morda tudi tujih bolnišnic, zato so izolacijski in drugi ukrepi za preprečevanje prenosa in širjenja odpornih bakterij še kako pomembni.

5.1 SKLEPI

- Poraba večine antibiotikov je bila višja na intenzivnih oddelkih in bakterije, izolirane z intenzivnih oddelkov so imele za nekatere antibiotike višje vrednosti MIK kot bakterije, izolirane z navadnih oddelkov.
- Poraba antibiotikov je bila, z izjemo kinolonov leta 2006, v obeh sklopih (2006 in 2014) višja na intenzivnih oddelkih.
- V letu 2006 so bili izolati *E. coli* z intenzivnih oddelkov, v primerjavi z izolati z navadnih oddelkov, bolj odporni proti ciprofloksacinu, gentamicinu in amikacinu. V letu 2014 smo opazili tudi pojav proti cefotaksimu odpornih izolatov.
- Pri *S. aureus* je bilo v letu 2006 več MRSA na intenzivnih oddelkih kot na navadnih. V letu 2014 smo povsod zasledili manj MRSA kot v letu 2006.
- Odpornost izolatov *P. aeruginosa* z intenzivnih oddelkov je bila proti vsem testiranim antibiotikom večja kot pri izolatih z navadnih oddelkov.
- Izolati *K. pneumoniae* z intenzivnih oddelkov so bili v primerjavi z izolati z navadnih oddelkov bolj odporni proti večini testiranih antibiotikov. Nekaj več kot dve tretjini izolatov z navadnih oddelkov je bilo odpornih proti cefalosporinom 3. generacije.

6 POVZETEK

Odkritje antibiotikov je močno pripomoglo k napredku medicine in drastično zmanjšalo umrljivost zaradi okužb. Žal pa so se kaj hitro pričeli pojavljati primeri odpornosti in čudežno zdravilo dandanes počasi izgublja bitko z genetsko pestrimi in izredno prilagodljivimi mikroorganizmi. Znanstveniki se na vse pretege trudijo odkrivati nove antibiotike ali pa spremnijati lastnosti obstoječih v želji, da bi ostali korak pred patogeni. Do danes so mikroorganizmi na prav vsak antibiotik odgovorili s pojavom odpornosti, ki je lahko naravna ali pridobljena. K selekciji odpornih sevov močno pripomore predvsem velika in mnogokrat nekritična poraba antibiotikov v bolnišnicah, domačem okolju in vedno bolj tudi v veterini in živinoreji. V medicini predstavlajo veliko težavo predvsem bolnišnične okužbe ter proti meticilinu odporni *S. aureus*, proti vankomicinu odporni enterokoki, enterobakterije z betalaktamazami razširjenega spektra (ESBL) in *P. aeruginosa*.

V diplomskem delu smo predstavili rezultate primerjave občutljivosti za antibiotike med bakterijami, izoliranimi z navadnih in intenzivnih oddelkov UKCLJ. Skupno smo testirali 219 izolatov klinično pomembnih bakterij. 84 izolatov je bilo iz kužnin bolnikov z intenzivnih in 135 z navadnih oddelkov. Občutljivost smo določali s pomočjo avtomatiziranega sistema VITEK 2, ki omogoča kvantitativno določanje občutljivosti in nam poda mehanizme odpornosti.

Domnevali smo, da se bodo MIK antibiotikov pri izolatih z navadnih in intenzivnih oddelkov razlikovale in da bodo izolati z intenzivnih oddelkov izkazovali višjo stopnjo odpornosti. To domnevo smo tudi potrdili. Razpon MIK, MIK₅₀, MIK₉₀, prevalenca odpornosti in pojav večkratne odpornosti so se med navadnimi in intenzivnimi oddelki precej razlikovali pri večini bakterijskih vrst in pri veliki večini antibiotikov. *E. coli* iz intenzivnih enot je bila leta 2006 tako bolj odporna proti ciprofloksacinu, gentamicinu in amikacinu, leta 2014 pa proti cefotaksimu. V letu 2014 se je pojavila odpornost proti cefotaksimu (ESBL), ki je v letu 2006 ni bilo. Pri *S. aureus* je bilo leta 2006 več MRSA, tako na intenzivnih oddelkih kot na navadnih oddelkih, kot v letu 2014, kar priča o

uspešnih ukrepih za preprečevanje širjenja odpornih sevov. Pri *K. pneumoniae* in *P. aeruginosa* so bili izolati z intenzivnih oddelkov bolj odporni proti večini antibiotikov, pri *P. aeruginosa* so imeli tudi večji razpon MIK in višje vrednosti MIK₉₀ za skoraj vse testirane antibiotike. Pri *E. faecalis* razlik nismo zasledili. Torej, v večini primerov je bila odpornost izolatov z intenzivnih oddelkov višja kot odpornost izolatov z navadnih oddelkov. To vsekakor ni nič presenetljivega, saj je na intenzivnih oddelkih poraba večine skupin antibiotikov precej višja kot na navadnih oddelkih, s čimer se močno poveča možnosti za selekcijo in širjenje odpornih sevov.

V zadnjih letih je bilo sicer storjenega že veliko v želji, da bi zajezili pojav odpornosti pri bakterijah. Hitrejša mikrobiološka diagnostika omogoča klinikom hitrejšo izbiro ustreznega zdravljenja, uvedba različnih higienskih ukrepov in ukrepov za omejevanje porabe antibiotikov že kaže prve spodbudne rezultate. Kljub temu opažamo, da je poraba antibiotikov, predvsem cefalosporinov, še vedno previsoka in bi jo bilo potrebno zmanjšati, prav tako bi bilo potrebno še poosrtiti ukrepe bolnišnične higiene.

7 VIRI

- Albrich W.C., Angstwurm M., Bader L., Gärtner R. 1999. Drug resistance in intensive care units. *Infection*, 27, Suppl. 2: S19-S23
- Andlović A. 2002a. Enterobakterije. V: Medicinska bakteriologija z imunologijo in mikologijo. Gubina M., Ihan A. (ur.). Ljubljana, Medicinski razgledi: 179 – 184
- Andlović A. 2002b. *Escherichia coli*. V: Medicinska bakteriologija z imunologijo in mikologijo. Gubina M., Ihan A. (ed.). Ljubljana, Medicinski razgledi: 185 – 188
- Andlović A. 2002c. Enterobakterije, ki povzročajo oportunistične okužbe. V: Medicinska bakteriologija z imunologijo in mikologijo. Gubina M., Ihan A. (ur.). Ljubljana, Medicinski razgledi: 201 – 204
- Barker K.F. 1999. Antibiotic resistance: a current perspective. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 48: 109-124
- Barry J., Brown A., Ensor V., Lakhani U., Petts D., Warren C., Winstanley T. 2003. Comparative evaluation of the Vitek 2 Advanced Expert System (AES) in five UK hospitals. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 51: 1191-1202
- Beović B. 2000. Aminoglikozidi. Medicinski razgledi, 39: 49-54
- bioMérieux. 2016a. VITEK 2: healthcare. Marcy-l'Étoile, bioMérieux: 10 str.
www.biomerieux-usa.com/clinical/vitek-2-healthcare (avgust 2016)
- bioMérieux. 2016b. VITEK 2: ID cards. Marcy-l'Étoile, bioMérieux: 2 str.
www.biomerieux-diagnostics.com/vitek-2-identification-cards (avgust 2016)
- Burges D.S. 1999. Pharmacodynamic principles of antimicrobial therapy in the prevention of resistance. *American College of Chest Physicians*, 115, 3, Suppl. 1: S19-S23
- Byarugaba D.K. 2009. Mechanisms of antimicrobial resistance. V: Antimicrobial resistance in developing countries. De Sosa J., Byarugaba D.K., Amabile-Cuevas C.F., Hsueh P.R., Kariuki S., Okeke I.N. (eds.). New York, Springer: 15-25
- Cornejo-Juarez P., Vilar-Compte D., Perez-Jimenez C., Namendys-Silva S.A., Sandoval-Hernandez S., Volkow-Fernandez P. 2015. The impact of hospital-acquired infections with multidrug-resistant bacteria in an oncology intensive care unit. *International Journal of Infectious Diseases*, 31: 31-34
- Černelč S. 2002. Bolnišnična poraba protimikrobnih zdravil za sistemsko zdravljenje v Sloveniji. Medicinski razgledi, 41: 43-52

- Čižman M. 2012. Poraba antibiotikov v slovenskih bolnišnicah v letu 2011. ISIS, 11: 64-66
- Čižman M. 2006. ESAC raziskovalna skupina. Kaj vemo o rabi antibiotikov v slovenskih bolnišnicah. Medicinski razgledi, 45: 11-15
- Čižman M., Kariž S., Kobal N., Ovnič-Hanuš A., Šibanc B., Salemović D., Balkovec C., Bogovič M., Najdenov B., Jenko S., Reberšek-Gorišek J. 2002. Kaj vemo o porabi antibiotikov v bolnišnicah. Medicinski razgledi, 41: 35-42
- Čižman M., Kolbl J. 1998. Vpliv antibiotikov na odpornost bakterij. Ljubljana, Medicinski razgledi, 37, Suppl. 1: 9-16
- Čižman M., Oražem A., Hergouth V.K. 2000. Poraba antibiotikov in odpornost bakterij v splošni populaciji. Medicinski razgledi, 39: 12-21
- Čižman M., Pečar Čad S., Mavšar-Najdenov B. 2004. Uporaba protimikrobnih zdravil v Sloveniji in Evropi. Kje smo in kaj naj storimo? Medicinski razgledi, 43, Suppl. 2: 3-10
- Čižman M. 2013. Ambulantno predpisovanje antibiotikov v Sloveniji. ISIS, 10: 66-68
- Davies J. 1994. Inactivation of antibiotics and the dissemination of resistance genes. Science, 264: 375-382
- Davies J., Davies D. 2010. Origins and evolution of antibiotic resistance. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 74: 417-433
- EUCAST. 2016. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Växjö, The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Version 6.0: 92 str. <http://www.eucast.org> (maj 2016)
- Flaherty J.P, Weinstein R.A. 1996. Nosocomial infection caused by antibiotic-resistant organisms in the intensive-care unit. Infection Control & Hospital Epidemiology, 17, 4: 236-248
- Gómez-Lus R. 1998. Evolution of bacterial resistance to antibiotics during the last three decades. International Microbiology, 1: 279-284
- Goossens H., Ferech M., Stichele R.V., Elseviers M. 2005. Outpatient antibiotic use in Europe and association with resistance: a cross-national database study. Lancet, 365: 579-587
- Inweregbu K., Dave J., Pittard A. 2005. Nosocomial infections. Continuing education in anaesthesia. Critical Care & Pain, 5, 1: doi:10.1093/bjaceaccp/mki006: 3 str.
- Johnson A.P. 2003. Antibiotic resistance in the intensive care unit setting. Expert Review of Anti-Infective Therapy, 1, 2: 253-260

- Jones M. E., Draghi D.C., Thornsberry C., Karlowsky J.A., Sahm D.F., Wenzel R.P. 2004. Emerging resistance among bacterial pathogens in the intensive care unit – a European and North American Surveillance study (2000-2002). *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 29, 3: doi: 10.1186/1476-0711-3-14: 11 str.
- Jorgensen J.H., Ferraro M.J. 2009. Antimicrobial susceptibility testing: a review of general principles and contemporary practises. *Clinical Infectious Diseases*, 49, 11: 1749-1755
- Jorgensen J.H., Turnidge J.D. 2007. Susceptibility test methods: dilution and disk diffusion methods. V: *Manual of clinical microbiology*. Murray PR., Baron E.J., Jorgensen J.H., Pfaller M.A, Yolken R.H. (eds.). Washington, ASM Press: 1152-1172
- Kahlmeter G., Brown D.F.J., Goldstein F.W., MacGowan A.P., Mouton J.W., Österlund A., Rodloff A., Steinbakk M., Urbaskova P., Vatopoulos A. 2003. European harmonization of MIC breakpoints for antimicrobial susceptibility testing of bacteria. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 52: 145-148
- Kiehlbauch J.A., Hannett G.E., Salfinger M., Archinal W., Monserrat C., Carlyn C. 2000. Use of the National Committee for Clinical Laboratory Standards guidelines for disk diffusion susceptibility testing in New York State Laboratories. *Journal of Clinical Microbiology*, 38, 9: 3341-3348
- Kotnik V. 2001. Kje in kako delujejo antibiotiki v mikrobeni celici. V: *Mikrobi in antibiotiki 2001. Mikrobiološki simpozij z mednarodno udeležbo 2001*, Ljubljana, 22.-23. junij 2001. Müller-Premru M., Gubina M. (ur.). Ljubljana, Sekcija za klinično mikrobiologijo in hospitalne infekcije: 17-25
- Kotnik V. 2002. Antibiotiki in kemoterapevtiki. V: *Medicinska bakteriologija z imunologijo in mikologijo*. Gubina M., Ihan A. (ur.). Ljubljana, Medicinski razgledi: 427 – 438
- Lambert P.A. 2002. Mechanisms of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of the Royal Society Medicine*, 95, Suppl. 41: 22-26
- Ling T.K.W., Tam P.C., Cheng A.F.B. 2001. Evaluation of VITEK 2 rapid identification and susceptibility testing system against Gram-negative clinical isolates. *Journal of Clinical Microbiology*, 38, 8: 2964-2966
- Lister P.D., Wolter D.J., Hanson N.D. 2009. Antibacterial-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms. *Clinical Microbiology Reviews*, 22, 4: 552-610
- Livermore D.M., Struelens M., Amorim J., Baquero F., Bille J., Canton R., Henning S., Gatermann S., Marchese A., Mittermayer H., Nonhoff C., Oakton K.J., Praplan F., Ramos H., Schito G.C., Van Elderle J., Verhaegen J., Verhoef J., Visser M.R.. 2002. Multicentre evaluation of the Vitek 2 advanced expert system for interpretive reading of antimicrobial resistance tests. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 49, 2: 289-300

- Madigan M.T., Martinko J.M., Parker J. 2000. Brock biology of microorganisms. 9th ed. Upper Saddle River, Prentice-Hall: 991 str.
- Malacarne P., Rossi C., Bertolini G. 2004. Antibiotic usage in intensive care units: a pharmaco-epidemiological multicentre study. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 54: 221-224
- Martinez J.L., Baquero F. 2000. Mutation frequencies and antibiotic resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 44, 7: doi: 10.1128/AAC.44.7.1771-1777: 7 str.
- McGowan J.E., JR. 1987. Is antimicrobial resistance in hospital microorganisms related to antibiotic use? *Bulletin of New York Academy of Medicine*, 63, 3: 253-268
- Mouton J.W. 1999. Combination therapy as a tool to prevent emergence of bacterial resistance. *Infection*, 27 Suppl. 2: 24-28
- Müller-Premru M. 2001. Mehanizmi odpornosti pri po Gramu pozitivnih bakterijah. V: Mikrobi in antibiotiki 2001. Mikrobiološki simpozij z mednarodno udeležbo 2001, Ljubljana, 22.-23. junij 2001. Müller-Premru M., Gubina M. (ur.). Ljubljana, Sekcija za klinično mikrobiologijo in hospitalne infekcije: 27-37
- Müller-Premru M., Seme K., Križan-Hergouth V., Andlovic A., Kolman J., Gubina M. 2002. Trendi odpornosti bakterij proti antibiotikom v Kliničnem centru v Ljubljani. Medicinski razgledi, 41: 25-34
- Müller-Premru M., Seme K., Križan-Hergouth V., Andlovic A., Kolman J., Gubina M. 2004. Trendi občutljivosti bakterij v Kliničnem centru. Ali je vzrok za visoko odpornost nekaterih bakterij širjenje odpornih klonov? Medicinski razgledi, 43: 41-51
- Murray P.R., Rosenthal K.S., Kobayashi G.S., Pfaller M.A. 2002. Medical microbiology. 4th ed. St. Louis, Mosby: 826 str.
- Muzlovič I., Jereb M. 2002. Bolnišnične okužbe v slovenskih intenzivnih enotah. V: Bolnišnične okužbe v enoti intenzivnega zdravljenja. 11. mednarodni simpozij intenzivne medicine, Bled, 25. maj 2002. Muzlovič I. (ur.). Ljubljana, Slovensko združenje za intenzivno medicino: 11-18
- Nachnani S., Scuteri A., Newman M.G., Avanessian A.B., Lomeli S.L. 1992. E-test: a new technique for antimicrobial susceptibility testing for periodontal microorganisms. *Journal of Periodontology*, 63, 7: 576-583
- Nikaido H. 2009. Multidrug resistance in bacteria. *Annual Review of Biochemistry*, 78: 119-146

- Pincus D.H. 2006. Microbial identification using the bioMérieux using the VITEK 2 System. V: Encyclopedia of rapid microbiological methods. Vol. 2. Miller J.M. (ed.). Hazelwood, bioMérieux: 1-32
- Rhomberg P.R., Fritsche T.R., Sader H.S., Jones R.N. 2006. Antimicrobial susceptibility pattern comparisons among intensive care unit and general ward Gram-negative isolates from Meropenem yearly susceptibility test information collection program (USA). Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, 56, 1: 57-62
- Rice L.B. 2006. Antimicrobial resistance in gram-positive bacteria. American Journal of Medicine, 119, 6, Suppl. 1: 11-19
- Rubinstein E. 1999. Antimicrobial resistance – pharmacological solutions. Infection, 27, Suppl. 2: S32-S34
- Russell A.D. 2002. Antibiotic and biocide resistance in bacteria: introduction. Journal of Applied Microbiology, 92, Suppl.: S1-S3
- Savas L., Duran N., Savas N., Önlen Y., Ocak S. 2004. The prevalence and resistance patterns of *Pseudomonas aeruginosa* in intensive care units in a university hospital. Turkish Journal of Medical Sciences, 35: 317-322
- Seme K. 2002a. Stafilocoki. V: Medicinska bakteriologija z imunologijo in mikologijo. Gubina M., Ihan A. (ed.). Ljubljana, Medicinski razgledi: 139 – 145
- Seme K. 2002b. Mehanizmi bakterijske odpornosti proti antibiotikom. V: Medicinska bakteriologija z imunologijo in mikologijo. Gubina M., Ihan A. (ur.). Ljubljana, Medicinski razgledi: 439 – 446
- Seme K. 2002c. Streptokoki. V: Medicinska bakteriologija z imunologijo in mikologijo. Gubina M., Ihan A. (ur.). Ljubljana, Medicinski razgledi: 147-153
- Seme K., Gubina M., Poljak M. 1998. Mehanizmi bakterijske odpornosti proti antibiotikom. Medicinski razgledi, 37, Suppl. 1: 1-8
- Seme K., Poljak M. 2001. Mehanizmi odpornosti pri po Gramu negativnih bakterijah. V: Mikrobi in antibiotiki 2001. Muller Premru M., Gubina M. (ur.). Ljubljana, Sekcija za klinično mikrobiologijo in hospitalne infekcije: 39-47
- Stewart P.S., Costerton J.W. 2001. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. Lancet, 358, 9276: 135-138
- Struelens M.J. 1998. The epidemiology of antimicrobial resistance in hospital acquired infections: problems and possible solutions. British Medical Journal, 317, 7159: 652-654

Štrumbelj I., Pirš M. 2013. Dokument SKUOPZ 002: Smernice za mikrobiologe - ugotavljanje ESBL in AmpC mehanizmov odporosti pri enterobakterijah. 1. izd. Ljubljana, Slovenska komisija za ugotavljanje občutljivosti za protimikrobna zdravila (SKUOPZ): 16 str.

www.imi.si/strokovna-zdruzenja/skuopz (maj 2016)

Štrumbelj I., Ribič H., Pirš M. 2015. Kratka pojasnila – uporaba evropskih smernic za antibiogram – EUCAST 2015. Ljubljana, Slovenska komisija za ugotavljanje občutljivosti za protimikrobna zdravila – SKUOPZ: 15 str.
www.imi.si/strokovna-zdruzenja/skuopz/ (maj 2016)

Tenover F.C. 2006. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. American Journal of Medicine, 119, 6, Suppl. 1: S3-S10

Thomas J.G., Rector N.T. 2007. Susceptibility-testing protocols for antibiograms and preventive surveillance: a continuum of data collection, analysis, and presentation. V: Antimicrobial susceptibility testing protocols. Schwalbe R., Steele-Moore L., Goodwing A.C. (eds.). Boca Ranton, CRC Press: 106-138

Turnidge J., Paterson D.L. 2007. Setting and revising antibacterial susceptibility breakpoints. Clinical Microbiology Reviews, 20, 3: 391- 408

Vižintin T., Čižman M. 1998. Poraba in trendi protimikrobnega zdravljenja v kliničnem centru v Ljubljani 1995-1997. Zdravstveni vestnik, 67: 721-725

Williams J.D., Sefton A.M. 1999. The prevention of antibiotic resistance during treatment. Infection, 27, Suppl. 2.: 29-31

Zakon o nalezljivih boleznih. 2006. Uradni list Republike Slovenije, 16, 33: 3488-34

ZAHVALA

V prvi vrsti se želim zahvaliti mentorici prof. dr. Manici Müller Premru, da mi je omogočila izdelavo tega diplomskega dela. Hvala za vse napotke, popravke in priložnosti, ki jih ni bilo malo.

Hvala recenzentki prof. dr. Katji Seme za prijaznost, hiter pregled besedila in napotke pri pisanju.

Za strokovno pomoč se zahvaljujem tudi ga. Branki, Darki, Ljubici, Vesni in Andreji iz Laboratorija za hemokulture in druge urgentne mikrobiološke preiskave.

Srčna hvala staršem za njihovo ljubezen, podporo in nenazadnje potrpežljivost pri čakanju tega diplomskega dela.

Hvala vsem, ki ste in še vedno verjamete vame. Vaša podpora in ljubezen mi dajeta moč, da grem svojo pot.

Sedaj pa brez slabe vesti novim dogodivščinam naproti :)

PRILOGE

Priloga A: Prikaz vrednosti MIK za antibiotike izolatov *E. coli* (2006) iz različnih kužnin in oddelkov

Št. vzorca	MIK ($\mu\text{g/ml}$)																	
	AM	R/S	SXT	R/S	GN	R/S	CIP	R/S	CTX	R/S	AMC	R/S	CAZ	R/S	AN	R/S	TZP	R/S
NAVADNI ODDELKI																		
EC01 (439)	≥ 32	R	≤ 20	S	≤ 1	S	≤ 0.25	S	≤ 1	S	4	S	≤ 1	S	4	S	≤ 4	S
EC02 (271)	≥ 32	R	≥ 320	R	≥ 16	R	≤ 0.25	S	≤ 1	S	16	R	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
EC03 (1313)	8	S	≤ 20	S	≤ 1	S	≥ 4	R	≤ 1	S	4	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
EC04 (1049)	4	S	≤ 20	S	≤ 1	S	≤ 0.25	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
EC05 (822)	≥ 32	R	≥ 320	R	≤ 1	S	≥ 4	R	≤ 1	S	4	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
EC06 (1766)	≥ 32	R	≤ 20	S	≤ 1	S	≤ 0.25	S	≤ 1	S	16	R	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
EC07 (1977)	≥ 32	R	≤ 20	S	≤ 1	S	≤ 0.25	S	≤ 1	S	4	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
EC08 (844)	≤ 2	S	≤ 20	S	≤ 1	S	≤ 0.25	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
EC09 (2103)	≤ 2	S	≤ 20	S	≤ 1	S	≤ 0.25	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
EC10 (1176)	≤ 2	S	≤ 20	S	≤ 1	S	≤ 0.25	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
EC11 (4371)	≥ 32	R	≤ 20	S	≤ 1	S	≥ 4	R	≤ 1	S	8	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
EC12 (4436)	8	S	≤ 20	S	≤ 1	S	≤ 0.25	S	≤ 1	S	4	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
EC13 (320)	≥ 32	R	≤ 20	S	2	S	≤ 0.25	S	≤ 1	S	16	R	≤ 1	S	4	S	8	S
EC14 (4657)	4	S	≥ 320	R	2	S	≥ 4	R	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 1	S	4	S	≤ 4	S
EC15 (4635)	≥ 32	R	≥ 320	R	≤ 1	S	≥ 4	R	≤ 1	S	≥ 32	R	≤ 1	S	≤ 2	S	≥ 128	R
EC16 (7368)	≥ 32	R	≥ 320	R	≤ 1	S	0.5	S	≤ 1	S	16	R	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
EC17 (2025)	≤ 2	S	≤ 20	S	≤ 1	S	≤ 0.25	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 1	S	4	S	≤ 4	S
EC18 (7738)	≤ 2	S	≤ 20	S	≤ 1	S	≤ 0.25	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
EC19 (4927)	≤ 2	S	≤ 20	S	≤ 1	S	≤ 0.25	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
EC20 (4752)	≤ 2	S	≤ 20	S	≤ 1	S	≤ 0.25	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 1	S	4	S	≤ 4	S
INTENZIVNI ODDELKI																		
ECI2 (843)	4	S	≤ 20	S	8	R	≥ 4	R	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 1	S	≥ 64	R	≤ 4	S
ECI3 (1065)	≥ 32	R	≥ 320	R	≥ 16	R	≥ 4	R	≤ 1	S	16	R	≤ 1	S	≤ 2	S	8	S
ECI5 (6722)	4	S	≤ 20	S	2	S	≤ 0.25	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 1	S	4	S	≤ 4	S
ECI6 (18343)	8	S	≤ 20	S	≤ 1	S	≤ 0.25	S	≤ 1	S	4	S	≤ 1	S	4	S	≤ 4	S
ECI8 (7529)	≥ 32	R	≤ 20	S	≤ 1	S	1	I	≤ 1	S	4	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
ECI9 (392)	≤ 2	S	≤ 20	S	≤ 1	S	≤ 0.25	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
ECI10 (1089)	4	S	≤ 20	S	≤ 1	S	≤ 0.25	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 1	S	4	S	≤ 4	S
ECI12 (2059)	≤ 2	S	≤ 20	S	≤ 1	S	≤ 0.25	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 1	S	4	S	≤ 4	S
ECI13 (1083)	8	S	≥ 320	R	≥ 16	R	≥ 4	R	≤ 1	S	4	S	≤ 1	S	4	S	≤ 4	S
ECI14 (1206)	≥ 32	R	≤ 20	S	≤ 1	S	1	I	≤ 1	S	≥ 32	R	≤ 1	S	4	S	≤ 4	S
ECI16 (3614)	≤ 2	S	≤ 20	S	≤ 1	S	≤ 0.25	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 1	S	4	S	≤ 4	S
ECI17 (1459-1)	≤ 2	S	≤ 20	S	≤ 1	S	≤ 0.25	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 1	S	4	S	≤ 4	S
ECI18 (1426)	≤ 2	S	≤ 20	S	≤ 1	S	≤ 0.25	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 1	S	4	S	≤ 4	S
ECI19 (1379)	≥ 32	R	≤ 20	S	≤ 1	S	≥ 4	R	≤ 1	S	16	R	≤ 1	S	4	S	≤ 4	S

Legenda: AM – ampicillin, SXT – trimetoprim/sulfametoksazol, GN – gentamicin, CIP – ciprofloxacin, CTX – ceftaksim, AMC amoksicilin/klavulanksa kislina, CAZ – ceftazidim, AN – amikacin, TZP – piperacillin/tazobaktam, S-občutljiv, R-odporen, I-zmerno občutljiv. Zaradi boljše preglednosti so občutljivi izolati zapisani s črno, zmerno občutljivi z rumeno in odporni z rdečo barv.

Priloga B: Prikaz vrednosti MIK za antibiotike izolatov *E. coli* (2014) iz različnih kužnin in oddelkov.

Št. vzorca	MIK ($\mu\text{g/ml}$)																	
	AM	R/S*	SXT	R/S*	GN	R/S*	CIP	R/S*	CTX	R/S*	AMC	R/S*	CAZ	R/S*	AN	R/S*	TZP	R/S*
NAVADNI ODDELKI																		
E14N1(26290)	≥ 32	R	≥ 320	R	≤ 1	S	$\leq 0,25$	S	≤ 1	S	8	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
E14N2 (26179)	≥ 32	R	≥ 320	R	≤ 1	S	$\leq 0,25$	S	≤ 1	S	16	R	≤ 1	S	≤ 2	S	16	I
E14N3 (26289)	≤ 2	S	≤ 20	S	≤ 1	S	$\leq 0,25$	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
E14N4 (26519)	≥ 32	R	≥ 320	R	≤ 1	S	$\leq 0,25$	S	≤ 1	S	4	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
E14N5 (26616)	≥ 32	R	≤ 20	S	≥ 16	R	$\leq 0,25$	S	≤ 1	S	16	R	≤ 1	S	≤ 2	S	16	I
E14N6 (26668)	≤ 2	S	≤ 20	S	≤ 1	S	$\leq 0,25$	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
E14N7 (7438)	≤ 2	S	≤ 20	S	≤ 1	S	$\leq 0,25$	S	≤ 1	S	4	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
E14N8 (7439)	≤ 2	S	≤ 20	S	≤ 1	S	$\leq 0,25$	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
E14N9 (7448)	≥ 32	R	≥ 320	R	≤ 1	S	$\leq 0,25$	S	≤ 1	S	8	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
E14N10 (139)	≥ 32	R	≥ 320	R	≤ 1	S	≥ 4	R	≤ 1	S	8	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
E14N11 (64)	≥ 32	R	≤ 20	S	≤ 1	S	$\leq 0,25$	S	≤ 1	S	8	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
E14N12 (317)	≥ 32	R	≤ 20	S	≤ 1	S	$\leq 0,25$	S	≤ 1	S	8	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
E14N13 (180)	≥ 32	R	≤ 20	S	≤ 1	S	$\leq 0,25$	S	≤ 1	S	16	R	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
E14N14 (736)	≥ 32	R	≤ 20	S	≤ 1	S	$\leq 0,25$	S	≤ 1	S	4	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
E14N15 (729)	≥ 32	R	≥ 320	R	≤ 1	S	≥ 4	R	≥ 64	R	16	R	≤ 1	S	16	S	8	S
E14N16 (206)	≤ 2	S	≤ 20	S	≤ 1	S	$\leq 0,25$	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 1	S	4	S	≤ 4	S
E14N17 (951)	4	S	≤ 20	S	≤ 1	S	$\leq 0,25$	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
E14N18 (1147)	≥ 32	R	≤ 20	S	≤ 1	S	$\leq 0,25$	S	≤ 1	S	4	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
E14N19 (863)	≥ 32	R	≥ 320	R	≤ 1	S	$\leq 0,25$	S	≤ 1	S	4	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
E14N20 (100352)	≥ 32	R	≥ 320	R	≥ 16	R	≥ 4	R	≤ 1	S	8	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
INTENZIVNI ODDELKI																		
E14I1 (506786)	≤ 2	S	≤ 20	S	≤ 1	S	$\leq 0,25$	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
E14I2 (27090)	≥ 32	R	≥ 320	R	≤ 1	S	$\leq 0,25$	S	≤ 1	S	8	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
E14I3 (27245)	≥ 32	R	≤ 20	S	≤ 1	S	$\leq 0,25$	S	≤ 1	S	8	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
E14I4 (2787)	≤ 2	S	≤ 20	S	≤ 1	S	$\leq 0,25$	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
E14I5 (451)	≤ 2	S	≤ 20	S	≤ 1	S	$\leq 0,25$	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
E14I6 (626)	4	S	≤ 20	S	≤ 1	S	$\leq 0,25$	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
E14I7 (3914)	≥ 32	R	≤ 20	S	≤ 1	S	≥ 4	R	4	R	≥ 32	R	≤ 1	S	16	I	8	S
E14I9 (5736)	≥ 32	R	≤ 20	S	≤ 1	S	$\leq 0,25$	S	≤ 1	S	16	R	≤ 1	S	≤ 2	S	8	S
E14I10 (2513)	8	S	≤ 20	S	≤ 1	S	$\leq 0,25$	S	≤ 1	S	4	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
E14I11 (9450)	≤ 2	S	≤ 20	S	≤ 1	S	$\leq 0,25$	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
E14I12 (3040)	≤ 2	S	≤ 20	S	≤ 1	S	$\leq 0,25$	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S

Legenda: AM – ampicillin, SXT – trimetoprim/sulfametoksazol, GN – gentamicin, CIP – ciprofloxacin, CTX – cefotaksim, AMC amoksicilin/klavulanksa kislina, CAZ – ceftazidim, AN – amikacin, TZP – piperacillin/tazobaktam, S-občutljiv, R-odoren, I-zmerno občutljiv. Zaradi boljše preglednosti so občutljivi izolati zapisani s črno, zmerno občutljivi z rumeno in odporni z rdečo barvo.

Priloga C: Prikaz vrednosti MIK za antibiotike izolatov *S. aureus* (2006) iz različnih kužnin in oddelkov.

št. vzorca	MIK ($\mu\text{g/ml}$)																	
	P	R/S*	CIP	R/S*	CC	R/S*	E	R/S*	OX	R/S*	TEC	R/S*	TET	R/S*	SXT	R/S*	VAN	R/S*
NAVADNI ODDELKI																		
SO1 (14974)	≥ 0.5	R	≤ 0.5	S	≤ 0.25	S	≤ 0.25	S	0.5	S	≤ 0.5	S	≤ 1	S	≤ 10	S	≤ 1	S
SO2 (367)	≥ 0.5	R	1	S	≤ 0.25	S	≤ 0.25	S	≤ 0.25	S	≤ 0.5	S	≤ 1	S	≤ 10	S	≤ 1	S
SO3 (2585)	≥ 0.5	R	≤ 0.5	S	≤ 0.25	S	≤ 0.25	S	≤ 0.25	S	≤ 0.5	S	≥ 16	R	≤ 10	S	≤ 1	S
SO4 (1440)	0.12	S	≤ 0.5	S	≤ 0.25	S	≤ 0.25	S	0.5	S	≤ 0.5	S	≤ 1	S	≤ 10	S	≤ 1	S
SO5 (2008)	0.12	S	≤ 0.5	S	≤ 0.25	S	≤ 0.25	S	≤ 0.25	S	≤ 0.5	S	≤ 1	S	≤ 10	S	≤ 1	S
SO6 (5795)	≥ 0.5	R	≥ 8	R	≥ 8	R	≥ 8	R	≥ 4	R	≤ 0.5	S	≤ 1	S	≤ 10	S	≤ 1	S
SO7 (4849)	≥ 0.5	R	≤ 0.5	S	≤ 0.25	S	≤ 0.25	S	0.5	S	≤ 0.5	S	≤ 1	S	≤ 10	S	≤ 1	S
SO8 (6111)	≥ 0.5	R	≤ 0.5	S	≤ 0.25	S	≤ 0.25	S	≤ 0.5	S	≤ 0.5	S	≤ 1	S	≤ 10	S	≤ 1	S
SO9 (7248)	≥ 0.5	R	≤ 0.5	S	≤ 0.25	S	≤ 0.25	S	0.5	S	≤ 0.5	S	≤ 1	S	≤ 10	S	≤ 1	S
SO10 (7037)	0.06	S	≤ 0.5	S	≤ 0.25	S	≤ 0.25	S	≤ 0.25	S	≤ 0.5	S	≤ 1	S	≤ 10	S	≤ 1	S
SO11 (7120)	≥ 0.5	R	≤ 0.5	S	≤ 0.25	S	≤ 0.25	S	≤ 0.25	S	≤ 0.5	S	≤ 1	S	≤ 10	S	≤ 1	S
SO12 (7638)	≥ 0.5	R	≥ 8	R	≥ 8	R	≥ 8	R	≥ 4	R	≤ 0.5	S	≤ 1	S	≤ 10	S	≤ 1	S
SO13 (3145)	≥ 0.5	R	≤ 0.5	S	≤ 0.25	S	≤ 0.25	S	0.5	S	≤ 0.5	S	≤ 1	S	≤ 10	S	≤ 1	S
SO14 (8091)	≥ 0.5	R	≤ 0.5	S	≤ 0.25	S	≤ 0.25	S	0.5	S	≤ 0.5	S	≤ 1	S	≤ 10	S	≤ 1	S
SO15 (8078)	0.12	S	≤ 0.5	S	≤ 0.25	S	≤ 0.25	S	≤ 0.25	S	≤ 0.5	S	≤ 1	S	≤ 10	S	≤ 1	S
SO16 (330)	≥ 0.5	R	≤ 0.5	S	≤ 0.25	S	≤ 0.25	S	0.5	S	≤ 0.5	S	≤ 1	S	≤ 10	S	≤ 1	S
SO17 (12412)	≥ 0.5	R	≤ 0.5	S	≤ 0.25	S	≤ 0.25	S	0.5	S	≤ 0.5	S	≤ 1	S	≤ 10	S	≤ 1	S
SO18 (12720)	0.06	S	≤ 0.5	S	≤ 0.25	S	≤ 0.25	S	≤ 0.25	S	≤ 0.5	S	≤ 1	S	≤ 10	S	≤ 1	S
SO19 (13636)	≥ 0.5	R	≥ 8	R	≥ 8	R	≥ 8	R	≥ 4	R	≤ 0.5	S	≤ 1	S	≤ 10	S	≤ 1	S
SO20 (1302)	≥ 0.5	R	≤ 0.5	S	≤ 0.25	S	≤ 0.25	S	0.5	S	≤ 0.5	S	≤ 1	S	≤ 10	S	≤ 1	S
INTENZIVNI ODDELKI																		
SI2 (2990)	≥ 0.5	R	≥ 8	R	≥ 8	R	≥ 8	R	≥ 4	R	1	S	≤ 1	S	≤ 10	S	≤ 1	S
SI5 (464)	≥ 0.5	R	≥ 8	R	≥ 8	R	≥ 8	R	≥ 4	R	≤ 0.5	S	≤ 1	S	≤ 10	S	≤ 1	S
SI6 (6013)	≥ 0.5	R	≤ 0.5	S	≤ 0.25	S	≤ 0.25	S	0.5	S	≤ 0.5	S	≤ 1	S	≤ 10	S	≤ 1	S
SI7 (727)	≥ 0.5	R	≥ 8	R	≥ 8	R	≥ 8	R	≥ 4	R	≤ 0.5	S	≤ 1	S	≤ 10	S	≤ 1	S
SI8 (1781)	≥ 0.5	R	≤ 0.5	S	≤ 0.25	S	≤ 0.25	S	0.5	S	≤ 0.5	S	≤ 1	S	≤ 10	S	≤ 1	S
SI9 (7444)	≥ 0.5	R	≥ 8	R	≥ 8	R	≥ 8	R	≥ 4	R	≤ 0.5	S	≤ 1	S	≤ 10	S	≤ 1	S
SI10 (5200)	≥ 0.5	R	≤ 0.5	S	≤ 0.25	S	≤ 0.25	S	0.5	S	≤ 0.5	S	≤ 1	S	≤ 10	S	≤ 1	S
SI11 (5240)	≥ 0.5	R	≥ 8	R	≥ 8	R	≥ 8	R	≥ 4	R	≤ 0.5	S	≤ 1	S	≤ 10	S	≤ 1	S
SI12 (15550)	0.12	S	≤ 0.5	S	≤ 0.25	S	≤ 0.25	S	≤ 0.25	S	≤ 0.5	S	≤ 1	S	≤ 10	S	≤ 1	S
SI13 (1634)	≥ 0.5	R	≥ 8	R	≥ 8	R	≥ 8	R	≥ 4	R	≤ 0.5	S	≤ 1	S	≤ 10	S	≤ 1	S
SI15 (4323)	≥ 0.5	R	≤ 0.5	S	≤ 0.25	S	≤ 0.25	S	0.5	S	≤ 0.5	S	≤ 1	S	≤ 10	S	≤ 1	S
SI16 (1818)	≥ 0.5	R	≤ 0.5	S	≤ 0.25	S	≤ 0.25	S	≤ 0.25	S	≤ 0.5	S	≤ 1	S	≤ 10	S	≤ 1	S
SI17 (6271)	≥ 0.5	R	≥ 8	R	≥ 8	R	≥ 8	R	≥ 4	R	≤ 0.5	S	≤ 1	S	≤ 10	S	≤ 1	S
SI18 (6012)	≥ 0.5	R	≥ 8	R	≥ 8	R	≥ 8	R	≥ 4	R	≤ 0.5	S	≤ 1	S	≤ 10	S	≤ 1	S
SI19 (1757)	≥ 0.5	R	≥ 8	R	≥ 8	R	≥ 8	R	≥ 4	R	2	S	≤ 1	S	≤ 10	S	≤ 1	S
SI20 (6952)	≥ 0.5	R	≤ 0.5	S	≤ 0.25	S	≤ 0.25	S	0.5	S	≤ 0.5	S	≤ 1	S	≤ 10	S	≤ 1	S

Legenda: P – penicillin, CIP – ciprofloxacin, CC – klindamicin, E – eritromicin, OX – oksacilin, TEC – teikoplanin, TET – tetraciklin, STX – trimetoprim/sulfametoksazol, VAN – vankomicin, S-občutljiv, R-odporen, I-izmerno občutljiv. Zaradi boljše preglednosti so občutljivi izolati zapisani s črno, zmerino občutljivi z rumeno in odporni z rdečo barvo.

Priloga D: Prikaz vrednosti MIK za antibiotike izolatov *S. aureus* (2014) iz različnih kužnin in oddelkov.

Št. vzorca	MIK ($\mu\text{g/ml}$)																	
	P	R/S*	CIP	R/S*	CC	R/S*	E	R/S*	OX	R/S*	TEC	R/S*	TET	R/S*	STX	R/S*	VAN	R/S*
NAVADNI ODDELKI																		
S14N1 (311)	$\geq 0,5$	R	1	S	0,25	S	1	s	0,5	S	$\leq 0,5$	S	≤ 1	S	≤ 10	S	1	S
S14N2 (1967)	$\geq 0,5$	R	$\leq 0,5$	S	0,25	S	1	s	$\leq 0,25$	S	$\leq 0,5$	S	≤ 1	S	≤ 10	S	1	S
S14N3 (721)	$\geq 0,5$	R	≥ 8	R	≥ 4	R	≥ 8	R	$\leq 0,25$	S	$\leq 0,5$	S	≤ 1	S	≤ 10	S	1	S
S14N4 (2631)	0,25	R	$\leq 0,5$	S	0,25	S	0,5	S	$\leq 0,25$	S	$\leq 0,5$	S	≥ 16	R	≤ 10	S	1	S
S14N5 (2749)	0,06	S	$\leq 0,5$	S	0,25	S	0,5	S	0,5	S	$\leq 0,5$	S	≤ 1	S	≤ 10	S	$\leq 0,5$	S
S14N6 (821)	$\geq 0,5$	R	$\leq 0,5$	S	0,25	S	1	s	$\leq 0,25$	S	$\leq 0,5$	S	≤ 1	S	≤ 10	S	1	S
S14N7 (4041)	$\leq 0,03$	S	$\leq 0,5$	S	0,25	S	0,5	S	$\leq 0,25$	S	$\leq 0,5$	S	≤ 1	S	≤ 10	S	1	S
S14N8 (4587)	$\geq 0,5$	R	$\leq 0,5$	S	0,25	S	1	s	$\leq 0,25$	S	$\leq 0,5$	S	≤ 1	S	≤ 10	S	$\leq 0,5$	S
S14N9 (5293)	0,25	R	$\leq 0,5$	S	0,25	S	0,5	S	$\leq 0,25$	S	$\leq 0,5$	S	≤ 1	S	≤ 10	S	$\leq 0,5$	S
S14N10 (5310)	$\geq 0,5$	R	≥ 8	R	≥ 4	R	≥ 8	R	≥ 4	R	$\leq 0,5$	S	≤ 1	S	≤ 10	S	$\leq 0,5$	S
S14N11 (1655)	$\geq 0,5$	R	≥ 8	R	≥ 4	R	≥ 8	R	≥ 4	R	$\leq 0,5$	S	≤ 1	S	≤ 10	S	1	S
S14N12 (6029)	$\geq 0,5$	R	$\leq 0,5$	S	0,25	S	0,5	S	$\leq 0,25$	S	$\leq 0,5$	S	≤ 1	S	≤ 10	S	1	S
S14N13 (6237)	$\geq 0,5$	R	$\leq 0,5$	S	0,25	S	0,5	S	$\leq 0,25$	S	$\leq 0,5$	S	≤ 1	S	≤ 10	S	1	S
S14N14 (1980)	0,25	R	$\leq 0,5$	S	0,25	S	1	s	$\leq 0,25$	S	$\leq 0,5$	S	≤ 1	S	≤ 10	S	$\leq 0,5$	S
S14N15 (1940)	$\geq 0,5$	R	$\leq 0,5$	S	0,25	S	1	s	$\leq 0,25$	S	$\leq 0,5$	S	≤ 1	S	≤ 10	S	1	S
INTENZIVNI ODDELKI																		
S14I1 (27003)	$\geq 0,5$	R	$\leq 0,5$	S	0,25	S	1	s	0,5	S	$\leq 0,5$	S	≤ 1	S	≤ 10	S	1	S
S14I2 (2548)	$\geq 0,5$	R	$\leq 0,5$	S	$\leq 0,12$	S	$\leq 0,25$	S	2	S	$\leq 0,5$	S	≤ 1	S	≤ 10	S	$\leq 0,5$	S
S14I3 (1394)	$\geq 0,5$	R	$\leq 0,5$	S	0,25	S	0,5	S	$\leq 0,25$	S	$\leq 0,5$	S	≤ 1	S	≤ 10	S	1	S
S14I4 (05466)	$\geq 0,5$	R	≥ 8	R	≥ 4	R	≥ 8	R	≥ 4	R	$\leq 0,5$	S	≤ 1	S	≤ 10	S	$\leq 0,5$	S
S14I7 (1918)	$\geq 0,5$	R	$\leq 0,5$	S	0,25	S	1	s	0,5	S	$\leq 0,5$	S	≤ 1	S	≤ 10	S	1	S

Legenda: P – penicillin, CIP – ciprofloxacin, CC – klindamicin, E – eritromicin, OX – oksacilin, TEC – teikoplanin, TET – tetraciklin, STX – trimetoprim/sulfametoksazol, VAN – vankomicin, S–občutljiv, R–odporen, I–zmerno občutljiv. Zaradi boljše preglednosti so občutljivi izolati zapisani s črno, zmerno občutljivi z rumeno in odporni z rdečo barvo.

Priloga E: Prikaz vrednosti MIK za antibiotike izolatov *K. pneumoniae* iz različnih kužnin in oddelkov.

Št. vzorca	MIK ($\mu\text{g/ml}$)																	
	AM	R/S*	SXT	R/S*	GN	R/S*	CIP	R/S*	CTX	R/S*	AMC	R/S*	CAZ	R/S*	AN	R/S*	TZP	R/S*
NAVADNI ODDELKI																		
KO1 (15630)	16	R	≤ 20	S	≤ 1	S	≤ 0.25	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
KO2 (35)	16	R	≤ 20	S	≤ 1	S	≤ 0.25	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
KO3 (271)	≥ 32	R	≤ 20	S	≤ 1	S	≤ 0.25	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
KO4 (624)	16	R	≤ 20	S	≤ 1	S	≤ 0.25	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
KO5 (725)	≥ 32	R	≤ 20	S	≤ 1	S	≤ 0.25	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
KO6 (1250)	≥ 32	R	≤ 20	S	≥ 16	R	≥ 4	R	8	R	≥ 32	R	≥ 64	R	≥ 64	R	≥ 128	R
KO7 (2041)	≥ 32	R	≤ 20	S	≤ 1	S	≥ 4	R	≥ 64	R	16	R	≥ 64	R	≤ 2	S	≥ 128	R
KO8 (966)	16	R	≥ 320	R	≤ 1	S	≤ 0.25	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
KO9 (751)	≥ 32	R	≤ 20	S	≥ 16	R	≥ 4	R	≥ 64	R	4	S	≥ 64	R	≥ 64	R	≤ 4	S
KI2 (1664)	≥ 32	R	≤ 20	S	≥ 16	R	≥ 4	R	≥ 64	R	16	R	≥ 64	R	≥ 64	R	64	R
KI1 (15711)	≥ 32	R	≥ 320	R	8	R	≥ 4	R	4	R	16	R	≥ 64	R	16	I	8	S
KO12 (1862)	≥ 32	R	≤ 20	S	≥ 16	R	≥ 4	R	≥ 64	R	8	S	≥ 64	R	≥ 64	R	≤ 4	S
KO13 (2008)	≥ 32	R	≤ 20	S	≤ 1	S	≤ 0.25	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
KO14 (2742)	≥ 32	R	≤ 20	S	≤ 1	S	≤ 0.25	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
KI3 (7164)	≥ 32	R	≤ 20	S	≤ 1	S	≤ 0.25	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
KO16 (15246)	≥ 32	R	≤ 20	S	≤ 1	S	≤ 0.25	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
KO17 (15350)	≥ 32	R	≥ 320	R	≤ 1	S	≥ 4	R	≥ 64	R	16	R	≥ 64	R	8	S	64	R
KI8 (15358)	≥ 32	R	≤ 20	S	≤ 1	S	≤ 0.25	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
KO19 (6474)	16	R	≤ 20	S	≤ 1	S	0.5	S	≤ 1	S	8	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
KO20 (15809)	≥ 32	R	≥ 320	R	≥ 16	R	≥ 4	R	≥ 64	R	16	R	16	R	8	S	64	R
INTENZIVNI ODDELKI																		
KI4 (3390)	≥ 32	R	≥ 320	R	≥ 16	R	1	I	4	R	8	S	≥ 64	R	16	I	≤ 4	S
KI5 (12743)	≥ 32	R	≥ 320	R	≥ 16	R	≥ 4	R	≥ 64	R	8	S	≥ 64	R	≥ 64	R	≤ 4	S
KI6 (1999)	≥ 32	R	≤ 20	S	≤ 1	S	≤ 0.25	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
KI7 (6283)	16	R	≤ 20	S	≤ 1	S	≤ 0.25	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
KI9 (16056)	≥ 32	R	≥ 320	R	≥ 16	R	≥ 4	R	≥ 64	R	16	R	16	R	16	I	8	S
KI10 (6993)	≥ 32	R	≥ 320	R	≥ 16	R	≥ 4	R	≥ 64	R	16	R	≥ 64	R	≥ 64	R	≥ 128	R
KI11 (7308)	≥ 32	R	≤ 20	S	4	I	1	I	4	R	8	S	≥ 64	R	≥ 64	R	≤ 4	S
KI12 (391)	≥ 32	R	≤ 20	S	≤ 1	S	≤ 0.25	S	≤ 1	S	4	S	≤ 1	S	≤ 2	S	≤ 4	S
KI13 (2851)	≥ 32	R	≥ 320	R	≥ 16	R	1	I	16	R	8	S	≥ 64	R	16	I	8	S
KI15 (1666)	≥ 32	R	≥ 320	R	≥ 16	R	≥ 4	R	8	R	8	S	≥ 64	R	16	I	8	S

Legenda: AM – ampicilin, SXT – trimetoprim/sulfametoksazol, GN – gentamicin, CIP – ciprofloxacin, CTX – cefotaksim, AMC – amoksicilin/klavulanska kislina, CAZ – ceftazidim, AN – amikacin, TZP – piperacillin/tazobaktam, S-občutljiv, R-odporen, I-zmerno občutljiv. Zaradi boljše preglednosti so občutljivi izolati zapisani s črno, zmerno občutljivi z rumeno in odporni z rdečo barvo.

Priloga F: Prikaz vrednosti MIK za antibiotike izolatov *P. aeruginosa* iz različnih kužnin in oddelkov.

Št. vzorca	MIK ($\mu\text{g/ml}$)											
	AN	R/S*	CAZ	R/S*	CIP	R/S*	IPM	R/S*	MEM	R/S*	TZP	R/S*
NAVADNI ODDELKI												
PO1 (14881-1)	≤ 2	S	2	S	≤ 0.25	S	2	S	0.5	S	≤ 4	S
PO2 (7254)	4	S	4	S	≤ 0.25	S	≥ 16	R	4	I	8	S
PO3 (1557)	≤ 2	S	4	S	≤ 0.25	S	≤ 1	S	≤ 0.25	S	8	S
PO4 (13680)	≤ 2	S	4	S	≤ 0.25	S	≤ 1	S	≤ 0.25	S	≤ 4	S
PO5 (5163)	8	S	4	S	≤ 0.25	S	≤ 1	S	≤ 0.25	S	8	S
PO6 (2821)	≤ 2	S	16	R	≤ 0.25	S	≥ 16	R	8	I	64	R
PO7 (5693)	≤ 2	S	4	S	≤ 0.25	S	≥ 16	R	4	S	8	S
PO8 (6287)	≤ 2	S	4	S	≤ 0.25	S	2	S	0.5	S	≤ 4	S
PO9 (6287)	≤ 2	S	4	S	≤ 0.25	S	≤ 1	S	≤ 0.25	S	≤ 4	S
PO11 (15810)	8	S	4	S	≤ 0.25	S	≤ 1	S	1	S	16	S
PO12 (16817)	≤ 2	S	4	S	≤ 0.25	S	≤ 1	S	≤ 0.25	S	8	S
PO13 (16238)	≤ 2	S	2	S	≤ 0.25	S	2	S	0.5	S	≤ 4	S
PO14 (17314)	16	I	4	S	≤ 0.25	S	≤ 1	S	0.5	S	8	S
PO15 (7450)	8	S	4	S	≤ 0.25	S	2	S	0.5	S	≤ 4	S
PO16 (18160)	4	S	4	S	≤ 0.25	S	≤ 1	S	≤ 0.25	S	≤ 4	S
PO17 (7513)	8	S	4	S	≤ 0.25	S	≤ 1	S	≤ 0.25	S	≤ 4	S
PO19 (3418)	≤ 2	S	4	S	≤ 0.25	S	≤ 1	S	≤ 0.25	S	8	S
PI2 (563)	≤ 2	S	2	S	≤ 0.25	S	2	S	0.5	S	≤ 4	S
PI11 (513)	≤ 2	S	4	S	≤ 0.25	S	2	S	0.5	S	≤ 4	S
PO20 (1336-1)	4	S	4	S	≤ 0.25	S	2	S	0.5	S	≤ 4	S
INTENZIVNI ODDELKI												
PI3 (1712)	≥ 64	R	2	S	≤ 0.25	S	≤ 1	S	≤ 0.25	S	≤ 4	S
PI6 (978)	≤ 2	S	16	R	≥ 4	R	8	I	≥ 16	R	64	R
PI8 (6512)	≤ 2	S	≤ 1	S	≤ 0.25	S	4	S	≤ 0.25	S	64	R
PI9 (6711)	/	/	4	S	≤ 0.25	S	≥ 16	R	8	I	8	S
PI10 (392)	≤ 2	S	8	S	≤ 0.25	S	8	I	4	I	8	S
PI12 (489)	≤ 2	S	4	S	≤ 0.25	S	2	S	≤ 0.25	S	≤ 4	S
PI13 (1666)	32	R	16	R	≥ 4	R	≤ 1	S	1	S	16	S
PI14 (1787)	4	S	≥ 64	R	≤ 0.25	S	≥ 16	R	8	I	≥ 128	R
PI15 (4556)	≤ 2	S	4	S	≤ 0.25	S	≤ 1	S	≤ 0.25	S	≤ 4	S

Legenda: AN – amikacin, CAZ – ceftazidim, CIP – ciprofloksacin, IPM – imipenem, MEM – meropenem, TZP – piperacilin/tazobaktam, S-občutljiv, R-odoren, I-zmerno občutljiv, oznaka (/) pomeni, da ni podatka o MIK. Zaradi boljše preglednosti so občutljivi izolati zapisani s črno, zmerno občutljivi z rumeno in odporni z rdečo barvo.

Priloga G: Prikaz vrednosti MIK za antibiotike izolatov *E. faecalis* iz različnih kužnin in oddelkov.

Št. vzorca	MIK ($\mu\text{g/ml}$)										
	AM	R/S*	TEC	R/S*	GN	R/S*	VAN	R/S*	IPM	R/S*	
NAVADNI ODDELKI											
EO1 (2832)	≤ 2	S	$\leq 0,5$	S	syn-S	S	≤ 1	S	≤ 1	S	
EO2 (7216)	≤ 2	S	$\leq 0,5$	S	syn-R	R	2	S	≤ 1	S	
EO3 (5163)	≤ 2	S	$\leq 0,5$	S	syn-S	S	≤ 1	S	≤ 1	S	
EO4 (13716)	≤ 2	S	$\leq 0,5$	S	syn-R	R	≤ 1	S	4	S	
EO6 (1952)	≤ 2	S	$\leq 0,5$	S	syn-R	R	2	S	≤ 1	S	
EO7 (5785)	≤ 2	S	$\leq 0,5$	S	syn-R	R	2	S	2	S	
EO8 (5767)	≤ 2	S	$\leq 0,5$	S	syn-R	R	2	S	≤ 1	S	
EO9 (2958)	≤ 2	S	$\leq 0,5$	S	syn-R	R	2	S	2	S	
EO10 (2794)	≤ 2	S	$\leq 0,5$	S	syn-R	R	2	S	≤ 1	S	
EO11 (2884)	≤ 2	S	$\leq 0,5$	S	syn-R	R	2	S	2	S	
EO12 (5869)	≤ 2	S	$\leq 0,5$	S	syn-S	S	≤ 1	S	≤ 1	S	
EO13 (7379)	≤ 2	S	$\leq 0,5$	S	syn-R	R	2	S	/	/	
EO14 (88)	≤ 2	S	$\leq 0,5$	S	syn-R	R	2	S	/	/	
EO15 (830)	≤ 2	S	$\leq 0,5$	S	syn-R	R	2	S	/	/	
EO16 (1462)	≤ 2	S	$\leq 0,5$	S	syn-R	R	2	S	/	/	
EO17 (3469)	≤ 2	S	$\leq 0,5$	S	syn-S	S	≤ 1	S	≤ 1	S	
EO18 (3272)	≤ 2	S	/	/	syn-S	S	/	/	≤ 1	S	
EO19 (5768)	≤ 2	S	$\leq 0,5$	S	syn-R	R	2	S	2	S	
EO19 (489)	≤ 2	S	$\leq 0,5$	S	syn-S	S	≤ 1	S	≤ 1	S	
EO20 (5732)	≤ 2	S	$\leq 0,5$	S	syn-S	S	≤ 1	S	≤ 1	S	
INTENZIVNI ODDELKI											
EI1 (48)	≤ 2	S	$\leq 0,5$	S	syn-R	R	2	S	/	/	
EI2 (1372)	≤ 2	S	$\leq 0,5$	S	syn-S	S	≤ 1	S	/	/	
EI3 (155)	≤ 2	S	$\leq 0,5$	S	syn-R	R	2	S	/	/	
EI4 (145)	≤ 2	S	$\leq 0,5$	S	syn-S	S	≤ 1	S	/	/	
EI5 (269)	≤ 2	S	$\leq 0,5$	S	syn-R	R	2	S	/	/	
EI6 (1634)	≤ 2	S	$\leq 0,5$	S	syn-R	R	2	S	/	/	
EI7 (3096)	≤ 2	S	$\leq 0,5$	S	syn-R	R	2	S	2	S	
EI8 (3359)	≤ 2	S	$\leq 0,5$	S	syn-R	R	2	S	2	S	
EI9 (8000)	≤ 2	S	$\leq 0,5$	S	syn-S	S	≤ 1	S	≤ 1	S	
EI10 (3474)	≤ 2	S	$\leq 0,5$	S	syn-S	S	≤ 1	S	≤ 1	S	
EI11 (2133)	≤ 2	S	$\leq 0,5$	S	syn-R	R	2	S	2	S	
EI12 (6062)	≤ 2	S	$\leq 0,5$	S	syn-S	S	≤ 1	S	≤ 1	S	
EI13 (5862)	≤ 2	S	$\leq 0,5$	S	syn-R	R	2	S	2	S	
EI14 (7529)	≤ 2	S	$\leq 0,5$	S	syn-R	R	2	S	2	S	
EI15 (17288)	≤ 2	S	$\leq 0,5$	S	syn-R	R	≤ 1	S	2	S	
EI16 (87)	≤ 2	S	$\leq 0,5$	S	syn-R	R	2	S	2	S	
EI17 (7326)	≤ 2	S	$\leq 0,5$	S	syn-S	S	≤ 1	S	≤ 1	S	
EI18 (7388)	≤ 2	S	$\leq 0,5$	S	syn-R	R	2	S	2	S	
EI20 (607)	4	S	$\leq 0,5$	S	syn-R	R	≤ 1	S	8	I	

Legenda: AM - ampicilin, GN - gentamicin, VAN - vankomicin, IPM - imipenem, TEC - teikoplanin, S-občutljiv, R-odporen, I-zmerno občutljiv; Oznaka (/) pomeni, da ni podatka o MIK. Zaradi boljše preglednosti so občutljivi izolati zapisani s črno, zmerno občutljivi z rumeno in odporni z rdečo barvo.