Urmărirea tulpinilor de *Staphylococcus aureus* meticilino-rezistente implicate în infecţii intraspitaliceşti în Spitalul Clinic Judeţean de Urgenţă Mureş

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* involved in hospital-acquired infections in Mures County University Hospital

Székely Edit[1*], Lőrinczi Lilla[1], Bilca Doina[2], Sabău Monica[3]

[1]*UMF Tg. Mureş, Disciplina de Microbiologie*
[2] *Spitalul Clinic Judeţean de Urgenţă Mureş, Laboratorul de Microbiologie*
[3] *UMF Tg. Mureş, Disciplina de Epidemiologie*

Rezumat

Am urmărit frecvenţa izolării şi caracteristicile tulpinilor MRSA implicate în infecţii intraspitaliceşti în perioada ianuarie 2004 – decembrie 2005. Din 730 de tulpini de S. aureus s-au identificat 292 (39,86%) MRSA. Prevalenţa tulpinilor MRSA a variat în funcţie de profilul secţiilor şi a produselor patologice. S-a observat tendinţa crescătoare a frecvenţei izolării MRSA la terapie intensivă. Majoritatea tulpinilor au fost multirezistente, nu s-au identificat tulpini rezistente la glicopeptide, linezolid. MRSA este endemic în spitalul nostru şi se impune intensificarea eforturilor de control al infecţiilor pentru a stopa răspândirea acestui germen.

Cuvinte cheie: *MRSA, infecţii intraspitaliceşti, rezistenţa la antibiotice*

Abstract

Our study aimed to present the frequency of occurrence and characteristics of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) strains causing nosocomial infections in a Romanian university hospital, from January 2004 to December 2005. A total of 730 S. aureus strains were identified, methicillin-resistance was detected in 292 (39,86%) strains. The prevalence of MRSA differed according to clinical profile, specimens. There was an increasing tendency of isolation from patients treated in the intensive care unit. Most of the strains were multiresistant. There was no glycopeptid, nor linezolid resistant MRSA. According to our results, MRSA was endemic in our hospital and there is an urgent need to enhance infection control efforts.

Keywords: *MRSA, hospital-aquired infections, antibiotic resistance*

[*]**Adresa pentru corespondenţă:** Székely Edit, Al. Cornişa 5/14, 540143, Tg. Mureş, Jud. Mureş, România
Nr. mobil: 0740501508; E-mail: szekely.edit@rdslink.ro

Introducere

Staphylococcus aureus este un germen cu potenţial nosocomial crescut, răspândit în întreaga lume. Conform datelor comunicate de NNIS (National Nosocomial Infection Surveillance) este cea mai frecventă cauză a pneumoniilor de ventilaţie, a infecţiilor de plagă chirurgicală şi a bacteriemiilor legate de cateter[11]. În Europa prevalenţa infecţiilor intraspitaliceşti cauzate de tulpini MRSA prezintă mari variaţii în funcţie de zonele geografice[1,15,16,18,120]. Procentul tulpinilor meticilino-rezistente din totalitatea tulpinilor *S. aureus* izolate prezintă de asemenea mari variaţii. Conform raportului EARSS (European Antibiotic Resistance Surveillance System) din 2005, procentajul tulpinilor MRSA izolate din hemoculturi a variat între 0% (Izlanda) şi 73,6% (România)[6]. Cele mai mici valori au caracterizat ţările Scandinave, Olanda, ţări cu tradiţie în implementarea unor măsuri stricte de control al infecţiilor nosocomiale, iar cele mai mari valori au fost raportate din ţările din sudul Europei. Datele EARSS plasează România pe primul loc, însă s-au analizat un număr redus de tulpini (n=76), provenite din 16 laboratoare[3,6]. Datele pot fi influenţate de o serie de factori, cum ar fi rata scăzută a hemoculturilor, recoltarea după începerea tratamentului antimicrobian, ceea ce poate să ducă la supraaprecierea rezistenţei.

Controlul infecţiilor intraspitaliceşti cauzate de MRSA presupune aplicarea unui protocol special. În vederea implementării acestuia este importantă evaluarea situaţiei epidemiologice locale, cunoaşterea, caracterizarea tulpinilor circulante.

Din aceste considerente ne-am propus: (1) evaluarea frecvenţei izolării tulpinilor de MRSA din diferite produse patologice prelucrate în Laboratorul de Microbiologie al Spitalului Judeţean de Urgenţă Mureş (SCJUM) în cursul anilor 2004-2005, (2) stabilirea raportului dintre tulpinile MRSA şi *S. aureus* meticilino-sensibile (MSSA) şi a tendinţei frecvenţei izolării tulpinilor MRSA la diferite secţii clinice, (3) urmărirea rezistenţei tulpinilor MRSA faţă de antibiotice non-β-lactamice.

Material şi metode

Studiul s-a efectuat în perioada ianuarie 2004 - decembrie 2005 analizând datele din registrele Laboratorului de Microbiologie al SCJUM. S-au inclus în studiu tulpinile izolate din hemoculturi, puroi din infecţii de plagă chirurgicală, abcese, lichid cefalo-rahidian, lichid pleural, lichid ascitic, lichid articular, produse obţinute din tractul respirator inferior (spută, aspirat traheal, aspirat bronşic). S-au exclus izolatele obţinute de la pacienţi din ambulator, din produse superficiale cu floră mixtă cu peste 3 germeni, din produse destinate depistării colonizării (secreţii faringiene şi nazale, aspirat gastric). S-a analizat un singur izolat pe pacient.

Identificarea speciei *S. aureus* s-a efectuat prin metode bacteriologice convenţionale. Meticilino-rezistenţa s-a testat difuzimetric conform recomandărilor CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute)[2]. Confirmarea meticilino-rezistenţei s-a efectuat prin detectarea proteinei modificate ce leagă peniciline (PBP2a) utilizând un test de latexaglutinare (Mast Diagnostics) şi / sau prin determinarea concentraţiei minime inhibitorii (CMI) a oxacilinei prin metoda standardizată a microdiluţiilor conform recomandărilor CLSI sau E-teste (AB Biodisk, Solna).

S-a determinat difuzimetric sensibilitatea/ rezistenţa tulpinilor MRSA faţă de următoarele antibiotice: vancomicină (30 μg), eritromicină (15 μg), clindamicină (2 μg), gentamicină (10 μg), ciprofloxacină (5 μg), linezolid (30 μg), tetraciclină (30 μg), cloramfenicol (30 μg) şi trimetoprim - sulfametoxazol (1,25/23,75μg). Fenotipurile de rezistenţă MLS_B (macrolide, lincosamide, streptogramine

Tabelul I. Tulpini MRSA izolate din diferite produse patologice în cursul anilor 2004, 2005.

Produs patologic	An	MRSA nr. (%)	Total *S. aureus* nr.	Valoarea statistică a creşterii/scăderii frecvenţei izolării
Puroi	2004	107 (37,28)	287	NS
	2005	87 (31,4)	277	p=0,20
Căi respiratorii	2004	12 (30,76)	39	Creştere semnificativă
	2005	41 (80,39)	57	p<0,001
Hemoculturi	2004	12 (66,6)	18	NS
	2005	14 (73,7)	19	p=0,64
Altele	2004	11(68,75)	16	NS
	2005	8 (47,05)	17	p=0,20
Total	2004	142 (39,44)	360	NS
	2005	150 (40,54)	370	p=0,99
	2004-2005	292 (40)	730	

B) s-au determinat cu ajutorul testului D.

Pentru controlul de calitate s-au utilizat tulpinile: *S. aureus* ATCC 25923 (controlul antibiogramei difuzimetrice), *S. aureus* ATCC 29213 (controlul determinării concentraţiei minime inhibitorii), *S. aureus* cu heterorezistenţă la meticilină ATCC 43300 (control pozitiv la detectarea PBP2a prin latexaglutinare).

Analiza statistică a datelor s-a efectuat cu ajutorul programului EpiInfo 2000.

Rezultate

Pe baza criteriilor stabilite, din 1095 de tulpini de *Staphylococcus aureus* izolate de la

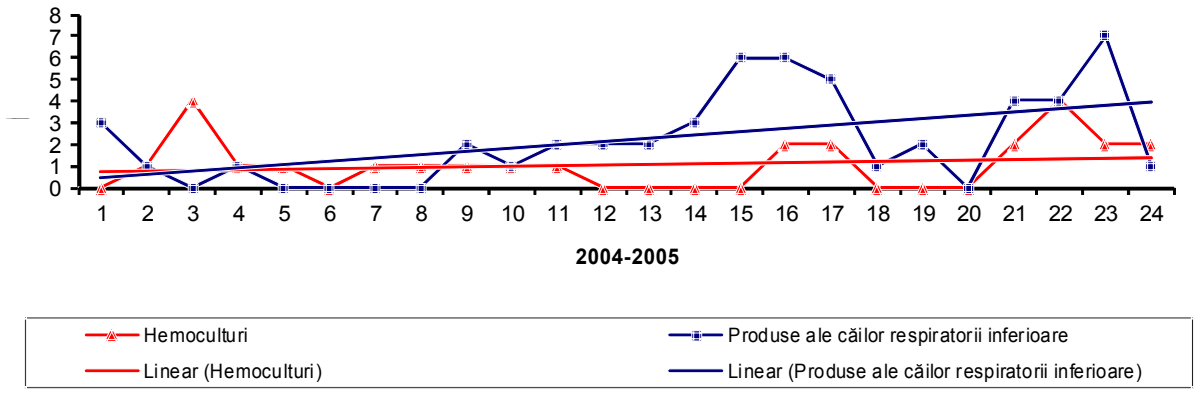

Figura 1. Distribuţia lunară şi tendinţa frecvenţei izolării tulpinilor MRSA din hemoculturi şi produse ale căilor respiratorii inferioare în perioada studiată

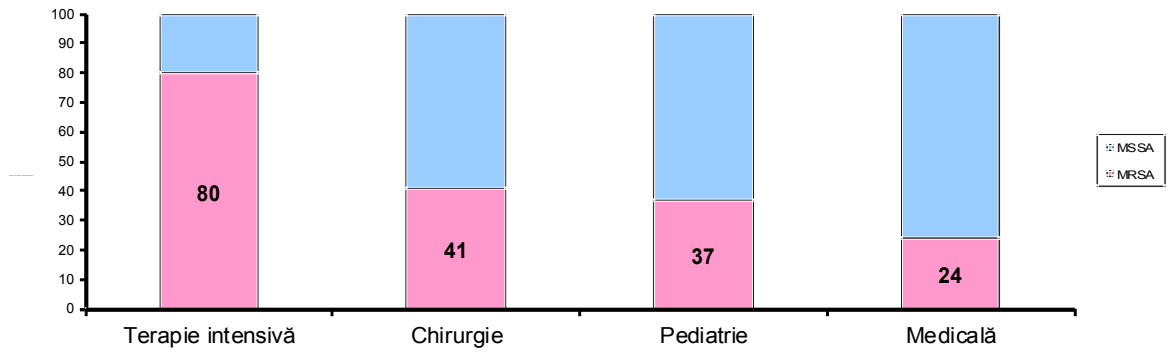

Figura nr. 2. Procentul tulpinilor MRSA din totalitatea izolatelor de Staphylococcus aureus în funcţie de profilul secţiilor

pacienţi internaţi în perioada studiată, au fost incluse în studiu 730 de tulpini. Dintre acestea, procentul tulpinilor MRSA a fost de 39,86% (n=292) , adică 39,1% (n=142) în anul 2004 şi 40,5% (n=150) în anul 2005, creşterea fiind nesemnificativă statistic (p=0,70).

Procentul MRSA a variat în funcţie de produsul patologic din care s-au izolat tulpinile (*Tabelul 1*). Distribuţia în timp a tulpinilor MRSA izolate din hemoculturi şi produse ale căilor respiratorii inferioare este redată în *Figura 1*.

Procentul tulpinilor MRSA din totalitatea tulpinilor de *S. aureus* a fost diferit la secţii cu diferite profiluri (*Figura 2*).

Deşi în perioada studiată nu se observă creşterea semnificativă a numărului izolatelor MRSA, distribuţia şi tendinţa frecvenţei izolării MRSA a evoluat diferit în cursul celor doi ani la secţii cu profiluri diferite. În *Figura 3* este redată situaţia la secţiile cu risc crescut pentru infecţii cu MRSA, terapia intensivă şi secţiile chirurgicale.

Rezistenţa la meticilină s-a confirmat

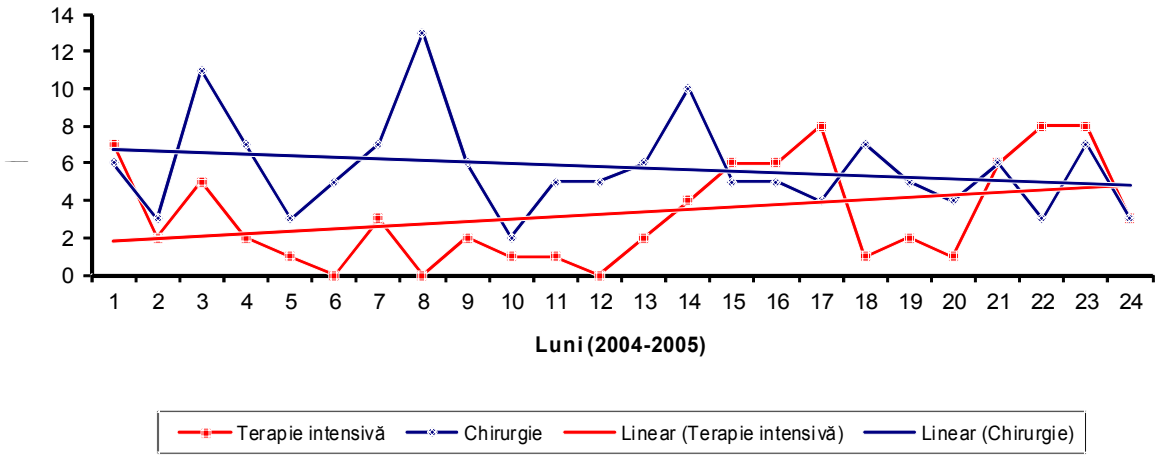

Figura 3. Distribuţia şi tendinţa frecvenţei izolării tulpinilor MRSA în perioada studiată la secţii chirurgicale şi terapie intensivă

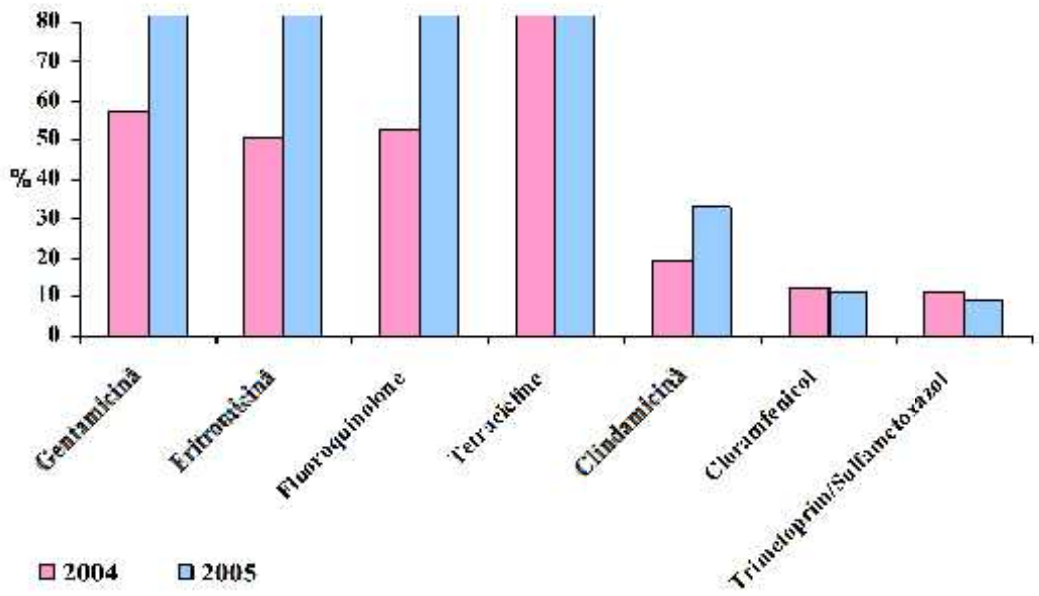

Figura 4. Rezistenţa la antibiotice non-beta-lactamice a tulpinilor MRSA izolate în cursul anilor 2004-2005

prin detectarea proteinei modificate ce leagă penicilina PBP2a (n=42) sau prin determinarea concentraţiei minime inhibitorii a oxacilinei (n=116). La majoritatea tulpinilor (90%) rezistenţa la oxacilină a fost de nivel înalt (CMI ≥ 128 μg/ml).

Pe parcursul anilor 2004-2005 nu s-au izolat tulpini MRSA rezistente la vancomicină sau linezolid. Rezistenţa la antibiotice non-β-lactamice este redată în *Figura nr. 4*.

Din tulpinile MRSA izolate pe parcursul anului 2004 50,7% au fost multirezistente, procentul crescând până la 87% în anul 2005 ($p<0,001$).

Determinarea antibiotipurilor MRSA a fost posibilă la 139 de tulpini izolate în cursul anului 2005. S-au descris 26 de fenotipuri pe baza rezistenţei la aminoglicozide (A), macrolide (M), lincozamide (L), tetracicline (T), fluoroqinolone (F), cloramfenicol (C) şi trimetoprim-sulfametoxazol (S). Cel mai frecvent antibiotip a fost AMTF (n=53), urmat de AMLTF (n=26) şi ATF (n=18).

La terapie intensivă au fost întâlnite doar 4 fenotipuri de rezistenţă din cele 26: fenotipurile AMLTF (n=17), AMTF (n=28), AMLTFS (n=1) şi ATF (n=7). La secţiile chirurgicale au fost prezente 19 fenotipuri, la cele medicale 12 fenotipuri, la cele pediatrice 5 fenotipuri.

Dintre cele 139 de tulpini MRSA 3 au fost sensibile la toate antibioticele non-β-lactamice testate şi 5 au prezentat rezistenţă numai faţă de o clasă de antibiotic non-β-lactamic.

Fenotipul de rezistenţă MLS_B s-a determinat la 131 de tulpini MRSA. Dintre acestea 105 au prezentat una dintre fenotipurile MLS_B: MS (n=59), MLS_B inductibil (n=42) şi MLS_B constitutiv (n=4).

Discuţii

Infecţiile nosocomiale cauzate de MRSA încarcă bugetul spitalului prin creşterea costurilor tratamentului, prin prelungirea spitalizării[13,19]. MRSA se răspândeşte cu uşurinţă de la persoanele colonizate/infectate la pacienţi, cel mai frecvent prin intermediul mâinilor personalului sanitar. În prima etapă are loc colonizarea pacienţilor, ceea ce de multe ori este favorizată de utilizarea antibioticelor cu spectru larg inactive asupra MRSA (cefalosporine, carbapeneme, eventual fluoroquinolone). Comparativ cu infecţiile cauzate de tulpini MSSA, infecţiile nosocomiale datorate MRSA sunt asociate cu mortalitate crescută[4]. MRSA nu are virulenţă crescută faţă de MSSA, însă datorită rezistenţei sale faţă de antibiotice, frecvent terapia iniţiată empiric este ineficientă, având un impact negativ asupra evoluţiei infecţiei[21].

Pentru aprecierea corectă a fenomenului de rezistenţă, a raportului MRSA/MSSA, este important, să se studieze tulpinile izolate din produse patologice relevante[5]. Din această cauză am exclus din studiu tulpinile izolate (1) din leziuni superficiale care sunt frecvent colonizate cu MRSA, fără ca acest germen să joace rol în infecţie, (2) din secreţii faringiene sau nazale, MRSA în aceste regiuni fiind colonizant şi nu reflectă infecţie şi (3) din produse cu floră bacteriană mixtă cu peste 3 germeni, ceea ce reflectă de obicei o calitate precară a produsului patologic, iar rolul MRSA este neclar. În cazul produselor provenite din căile respiratorii inferioare este dificil de făcut diferenţa între germen colonizant şi infectant. În acest studiu am inclus izolatele MRSA provenite din aspirate traheale, bronşice sau spută, la care acesta a fost singurul germen izolat sau a fost cel predominant, determinările cantitative nefiind aplicate în laboratorul nostru.

Am studiat 730 de tulpini de *S. aureus*, procentul tulpinilor MRSA fiind de 40%. Studiul SENTRY, care a urmărit epidemiologia MRSA în 25 de spitale universitare din Europa, a raportat un procent de 25%, cu variaţii între 2% (Utrecht, Olanda) şi 58% (Roma, Italia)[7].

Dacă analizăm procentul MRSA în funcţie de produsul patologic din care s-a izolat, se observă, că ponderea cea mai mare a MRSA se întâlneşte în cazul produselor obţinute din căile respiratorii inferioare în cursul anului 2005 (80,39%), arătând o creştere semnificativă statistic faţă de anul 2004 (30,67%). În studiul SENTRY procentul cel mai ridicat al MRSA s-a întâlnit de asemenea în cazul produselor obţinute din căile respiratorii inferioare (34,4%)[7].

În studiu am observat o creştere, deşi nesemnificativă statistic, a ponderii MRSA în hemoculturi (de la 66,66% în 2004 la 73,7% în 2005). Aceste date corelează cu cele raportate de laboratorul de referinţă din România către EARSS[6]. Există totuşi semne de întrebare privind relevanţa acestor date şi necesită studii ulterioare pentru clarificarea cauzelor. Pe de o parte rata scăzută a recoltării hemoculturilor în SCJUM poate duce la supraevaluarea rezistenţei. Pe de altă parte, majoritatea hemoculturilor pozitive cu *S. aureus* au provenit de la pacienţi aflaţi sub tratament antimicrobian, ceea ce poate avea ca şi consecinţă depistarea predominantă a tulpinilor rezistente cu supraevaluarea fenomenului de rezistenţă.

Analizând distribuţia în timp a izolatelor invazive de MRSA obţinute din hemoculturi se observă o tendinţă crescătoare. Interpretarea acestor date este de asemenea îngreunată de necunoaşterea condiţiilor de recoltare şi a relevanţei clinice a izolatelor MRSA.

Se constată o uşoară scădere a ponderii MRSA izolate din puroi, de la 37,28% în anul 2004 la 31,4% în anul 2005, însă fără a fi semnificativă statistic (p=0,20). Rezultatele pot fi influenţate de asemenea de condiţiile recoltării puroiului în infecţiile de plagă chirurgicală. În 2003, într-un studiu efectuat la Timişoara s-a raportat un procent de 70,3% al tulpinilor MSSA izolate din infecţiile de plagă chirurgicală[17].

Raportul MRSA/MSSA în perioada

studiată prezintă variaţii şi în funcţie de profilul secţiilor din care provin izolatele. La secţia cu cel mai ridicat risc pentru infecţii cu MRSA, la terapia intensivă, tulpinile de *S. aureus* izolate au fost meticilino-rezistente în proporţie de 80%. În spitalele universitare din Europa participante la studiul SENTRY se observă de asemenea cea mai crescută rată a MRSA în unităţile de terapie intensivă, însă numai în procent de 38%[7]. În schimb, studiul EPIC, care a evaluat ponderea MRSA în 1417 unităţi de terapie intensivă din 17 ţări vest-europene, a raportat un procent de 60%[18].

Pe durata studiului nu s-a observat creşterea semnificativă a ratei MRSA. Însă defalcat pe secţii se observă o tendinţă de creştere a frecvenţei izolării tulpinilor MRSA la terapia intensivă şi uşoară tendinţă de scădere la secţiile chirurgicale.

În perioada studiului nu s-a izolat nici o tulpină MRSA rezistentă faţă de linezolid sau glicopeptide. Nu se ştie dacă printre izolatele MRSA au fost tulpini cu susceptibilitate redusă la glicopeptide sau tulpini heterorezistente deoarece metoda difuzimetrică nu este corespunzătoare pentru depistarea acestor fenotipuri (doar în lunile octombrie-noiembrie 2005 s-a utilizat mediu Mueller-Hinton suplimentat cu 6 μg/ml vancomicină).

Tulpini heterorezistente au fost raportate pentru prima oară în Japonia, 1996. De atunci în mai multe ţări s-a semnalat prezenţa tulpinilor cu susceptibilitate scăzută la vancomicină (VISA): Japonia, Franţa, Statele Unite (până în 2002 8 tulpini confirmate), Germania, tulpini izolate din infecţii MRSA preexistente. Tulpini heterorezistente s-au întâlnit în Spania, Scoţia, Hong-Kong, Germania, Grecia [8,14]. Deşi aceste fenotipuri sunt rare, este nevoie de introducerea unor metode adecvate pentru detectarea acestora (geloză infuzie cord-creier suplimentat cu 6μg/ml vancomicină).

În 2002 s-au raportat primele două tulpini de *S. aureus* vancomicino-rezistente (VRSA) confirmate, în Statele Unite[9,10], acest fenotip fiind extrem de rar.

În studiul nostru meticilino-rezistenţa a fost frecvent însoţită de rezistenţa faţă de tetracicline, gentamicină, macrolide, fluoroquinolone. Este de remarcat creşterea semnificativă a procentului tulpinilor MRSA rezistente la gentamicină (de la 57,25% în 2004 la 86% în 2005, $p<0,001$), la macrolide (de la 50,41% în 2004 la 83% în 2005, $p<0,001$), la fluoroquinolone (de la 52,5% în 2004 la 84% în 2005, $p<0,001$), la clindamicină (de la 19,5% în 2004 la 33% în 2005, $p<0,05$).

S-a studiat prezenţa fenotipurilor de rezistenţă faţă de grupul MLS_B (macrolide, lincosamide, streptogramine B). S-a detectat fenotip MS la 59 (45%) din 131 de tulpini MRSA testate, acesta fiind cel mai frecvent fenotip MLS_B. Fenotipul MLS_B constitutiv s-a detectat la 4 tulpini (3%). Conform datelor din literatură fenotipul constitutiv se asociază în principal cu meticilino-rezistenţa şi este cea mai frecventă formă de rezistenţă MLS_B la tulpinile MRSA. În studiul nostru acesta a fost cel mai rar întâlnit fenotip. Fenotipul MLS_B inductibil s-a înregistrat la 42 de tulpini (32%). Conform datelor din literatură acest fenotip caracterizează în special tulpinile meticilino-sensibile[12].

Deşi datele privind rezistenţa la antibiotice non-beta-lactamice raportate de diverşi autori sunt variate, este subliniată de către toţi caracterul multirezistent al tulpinilor MRSA izolate din mediu spitalicesc. Din studiul nostru de asemenea reiese acest fapt şi notăm creşterea procentului de tulpini multirezistente de la 50,7% în 2004 la 87% în 2005 ($p<0,001$).

În cursul anului 2005 s-au identificat 26 de fenotipuri de rezistenţă cu distribuţie şi frecvenţă diferită la secţiile SCJUM. Dintre acestea 3 fenotipuri (AMTF, AMLTF şi ATF) au fost cel mai frecvent izolate, restul fenotipurilor fiind întâlnite sporadic. Din cele 26 de fenotipuri de MRSA doar 4 se regăsesc la terapie intensivă. Unul a fost izolat de la un singur pacient, restul fenotipurilor (AMTF, AMLTF şi ATF) au constituit tulpinile endemice la această sec-

ţie. Aceste fenotipuri au fost întâlnite la toate secţiile spitalului. Deoarece la terapie intensivă ajung pacienţi antetrataţi la alte secţii iar de la terapie intensivă se transferă pacienţi la diverse secţii, aceste tulpini MRSA pot fi permanent vehiculate dintr-o secţie în alta.

Determinarea antibiotipului tulpinilor MRSA este orientativă în stabilirea înrudirii tulpinilor şi urmărirea circulaţiei lor, însă nu are putere discriminatorie suficient de bună pentru a putea fi utilizată în investigaţii epidemiologice.

Există numeroase exemple în Europa, unde prin implementarea unor programe stricte de control al infecţiilor s-a redus incidenţa infeţiilor nosocomiale datorate MRSA. Studiile ce evaluează costurile aferente acestora au arătat reducerea cheltuielilor spitalelor[15,19,20]. Într-un spital din Germania prin introducerea unui program screening al pacienţilor nou-internaţi s-au prevenit 48% dintre infecţiile nosocomiale predictibile, ducând la o economie de 110 236,56 EUR pe an [20].

Din studiul nostru a reieşit că tulpinile MRSA sunt endemice în SCJUM şi se impune implementarea unor măsuri specifice pentru controlul răspândirii acestor germeni. În spitalele cu endemicitate mare controlul MRSA este dificil. Se impun măsuri de stopare a transmiterii (izolarea pacienţilor colonizaţi/infectaţi, creşterea complianţei personalului privind igiena mâinii, depistarea purtătorilor nazali în cadrul personalului şi al pacienţilor nou-internaţi prezentând factori de risc pentru colonizare cu MRSA) şi optimizarea consumului de antibiotice cu scopul de a reduce presiunea selectivă exercitată de antibiotice.

Bibliografie

1. Assadian O, Daxboeck F, Aspoeck C, et al: National Surveillance of methicillin-sensitive and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Austrian hospitals: 1994-1998. J Hosp Infect, 2003, 55:175-179.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; fifteenth informational supplement, 2005, 25, M2 table 2C:44-51.
3. Codita I, Balotescu C, Israil A et al: Romania and EARSS. A four years perspective. Microbiologia Balkanica, IV-th Balkan Conference on Microbiology, Bucharest 23-26 November 2005.
4. Contterno LO, Wey SB, Castelo A: Risk factors for mortality in *Staphylococcus aureus* bacteremia. Infect Control Hosp Epidemiol, 1998, 158:182-189.
5. Cornaglia G, Hryniewitz W, Jarlier V et al: European recommendations for antimicrobial resistance surveillance. Clin Microbiol Infect 2004, 10:349-383.
6. EARSS management team: EARSS Annual report 2004, Bilthoven, The Netherlands, 2005, Chapter 5:50-53
7. Fluit AC, Wielders CLC, Verhoef J et al: Epidemiology and susceptibility of 3051 *Staphylococcus aureus* isolates from 25 university hospitals participating in the European SENTRY study. J Clin Microbiol, 2001, 39:3727-32.
8. Hiramatsu K, Hanaki H et al.: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with decreased vancomycine susceptibility. J. Antimicrob. Chemother. 1997, 40:135-136.
9. Kacica M: Brief report: vancomycine resistant *Staphylococcus aureus,* MMWR, 2004, 53:322-323.
10. Miller D, Urdaneta V et al.: Public Health Dispatch: Vancomycine resistant *Staphylococcus aureus.* MMWR 2002:51:902
11. National Nosocomial Infection Surveillance System Report, Am J Inf Control 2001, 29:404-421
12. Schreckenberger P.C., Ilendo E., Ristow K.L.: Incidence of constitutive and inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus aureus* and coagulase negative Staphylococcus in a community and tertiary care hospital. J Clin Microbiol, 2004, 42(6):2777-2779.
13. Shorr AF, Kollef MH, Chastre J: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* prolongs intensive care unit stay in ventilator-associated pneumonia, despite initially appropriate antibiotic therapy. Crit Care Med, 2006, 34:700-706 (abstract)

14. Smith TL, Pearson ML et al.: Emergence of vancomycine resistance in *Staphylococcus aureus*. NEJM, 1999, 340:493-501.
15. Stefani S, Varaldo PE: Epidemiology of methicillin-resistant staphylococci in Europe. Clin Microbiol Infect, 2003, 9:1179-1186
16. Thouverez M, Muller A, Hocquet D et al: Relationship between molecular epidemiology and antibiotic susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in a French teaching hospital. J Med Microbiol 2003, 52:801-806.
17. Vaduva BD, Moldovan R., Dumitrascu V.et al: Studiu privind incidenţa şi sensibilitatea la antibiotice a germenilor izolaţi din infecţii postoperatorii de plagă chirurgicală. Bacteriol. Virusol. Parazitol. Epidemiol. 2003, 48:123-129.
18. Vincent JL, Bihari DJ, Suter PM et al: The prevalence of nosocomial infection in intensive care units in Europe. Results of the European Prevalence of Infection in Intensive Care (EPIC) Study. EPIC International Advisory Committee. JAMA, 1995, 274:639-644.
19. Wernitz MH, Keck S, Swidsinski S et al: Cost analysis of a hospital-wide selective screening programme for MRSA carriers in the context of diagnostic related groups (DRG) payment. Clin Microbiol Infect, 2005, 11:466-471
20. Wernitz MH, Swidsinski S, Weist K et al.: Effectiveness of a hospital-wide selective screening programme for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) carrieres at hospital admission to prevent hospital-acquired MRSA infections. Clin Microbiol Infect, 2005, 11:457-465.
21. Zaragoza R, Artero A, Camarena JJ et al: The influence of inadequate empirical antimicrobial treatment on patients with bloodstream infections in an intensive care unit.. Clin Microb Infect, 2003, 9:412-418.