



AKTUALNOŚCI NARODOWEGO PROGRAMU OCHRONY ANTYBIOTYKÓW

Numer 1 i 2/2011

Mechanizmy oporności bakterii na antybiotyki β -laktamowe

Opracowanie: dr Anna Baraniak, Zakład Mikrobiologii Molekularnej, Narodowy Instytut Leków

Gwałtowny wzrost oporności bakterii na antybiotyki stosowane w leczeniu, w tym na antybiotyki β -laktamowe, które w wielu przypadkach stanowią tzw. leki z wyboru lub leki ostatniej szansy, stanowi jeden z najpoważniejszych problemów współczesnej medycyny. Oporność bakterii na β -laktamy jest warunkowana różnorodnymi mechanizmami, które klasyfikuje się w obrębie czterech zasadniczych strategii:

1. wytwarzanie białek PBP o niskim powinowactwie do β -laktamów,
2. zmniejszanie przepuszczalności osłon komórkowych bakterii,
3. wypompowywanie leków z komórki bakteryjnej,
4. wytwarzanie β -laktamaz – enzymów hydrolizujących cząsteczki β -laktamów.

Pierwsza grupa mechanizmów, obecna zarówno u bakterii Gram-dodatnich jak i Gram-ujemnych, związana jest z białkami PBP, czyli enzymami odpowiedzialnymi za niektóre etapy syntezy peptydoglikanu (ściany komórkowej bakterii). Antybiotyki β -laktamowe trwale wiążą się z tymi białkami i blokują ich aktywność enzymatyczną, co prowadzi do zaburzeń struktury peptydoglikanu, a następnie lizy komórki bakteryjnej. Mechanizmy oporności zależne od białek PBP są dwojakiego rodzaju. Pierwszy polega na modyfikacji naturalnych PBP tak, aby nie miały one powinowactwa do β -laktamów, ale jednocześnie pełniły funkcje katalityczne w procesie wytwarzania ściany komórkowej. Modyfikacje te następują wskutek gromadzenia mutacji w genach *pbp* lub nabywania ich zmutowanych fragmentów od innych organizmów i zastępowania nimi homologicznych odinków genów własnych. Drugi rodzaj związany jest z pozyski-

waniem obcego, kompletnego genu kodującego białko PBP, nieoddziałujące z cząsteczkami β -laktamów (12).

Dwie kolejne strategie, typowe dla bakterii Gram-ujemnych, polegają na ograniczeniu możliwości penetracji komórki bakteryjnej przez antybiotyk β -laktamowy. Pierwsza z nich związana jest z likwidacją lub zmniejszeniem liczby tzw. kanałów porynowych w błonie zewnętrznej tych bakterii, przez co cząsteczki β -laktamów mają mniejsze możliwości przedostania się do przestrzeni periplazmatycznej komórki. Druga strategia polega na aktywnym wypompowywaniu leku z komórki bakteryjnej, która może ulegać intensyfikacji wskutek podwyższenia ekspresji tzw. systemów pompowo-porynowych, odpowiedzialnych za ten proces (12, 14).

Ostatnim z omawianych typów mechanizmów oporności, występującym u bakterii Gram-dodatnich, ale znacznie powszechniejszym u bakterii Gram-ujemnych, jest wytwarzanie β -laktamaz, czyli specyficznych enzymów katalizujących hydroлизę pierścienia β -laktamowego w cząsteczce leku (12). Zasadniczy zróżnicowanie β -laktamaz, obejmujący wszystkie znane dzisiaj ich klasy i rodziny powstał dawno przed wprowadzeniem do leczenia antybiotyków. Najprawdopodobniej stanowiły one broń przed naturalnymi antybiotykami wytwarzanymi przez inne gatunki bakterii oraz grzyby, współwystępujące w danym środowisku. Istnieje też pogląd, że niektóre z nich mogły i mogą nadal pełnić pewne funkcje w metabolizmie ściany komórkowej bakterii (11, 14). Niezwykle krótki z ewolucyjnego punktu widzenia okres po wprowadzeniu antybiotyków do terapii i innych dziedzin aktywności człowieka zaowocował dalszym, bardzo przyspieszonym różnicowaniem się β -laktamaz (omówione niżej).



β-laktamazy gatunkowo-specyficzne i nabyte

β-laktamazy pojawiły się na wczesnych etapach ewolucji bakterii. Wspólnymi przodkami dzisiejszych β-laktamaz oraz białek PBP były pierwotne PBP. W 1998 r. Massova i Mobashery zaproponowali hipotezę, w myśl której wszystkie klasy β-laktamaz (A-D) wyewoluowały niezależnie od siebie z innych prekursorów PBP, wraz z odpowiednimi klasami współczesnych białek PBP (13). Zdecydowana większość pałeczek Gram-ujemnych posiada własne, typowe dla danego gatunku β-laktamazy, których geny zlokalizowane są w chromosomalnym DNA.

Wiele gatunków bakterii Gram-ujemnych, m.in. *Acinetobacter* spp., *Pseudomonas* spp. oraz pałeczki z rodziny *Enterobacteriaceae*, takie jak *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp., *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens*, *Morganella morganii*, *Providencia stuartii* i *Providencia rettgeri*, posiada gatunkowo-specyficzne β-laktamazy należące do klasy C, zwane cefalosporynazami AmpC. Pomimo pewnych różnic gatunkowych, enzymy te charakteryzują się bardzo szerokim zakresem preferencji substratowych, obejmującym przede wszystkim cefalosporyny, ale też penicyliny i monobaktamy (2, 11, 12, 14). Ekspresja tych β-laktamaz najczęściej ma charakter indukowalny, ale u *E. coli* i *Acinetobacter* spp. zachodzi konstytutywnie na bardzo niskim poziomie i nie nadaje szczepom oporności na antybiotyki β-laktamowe (11, 12). Różne zjawiska genetyczne (mutacje w genach regulatorowych, mutacje i insercje elementów ruchomych w obrębie promotorów) prowadzą do ekspresji konstytutywnej enzymów AmpC na zdecydowanie podwyższonym poziomie.

Niektóre pałeczki Gram-ujemne: *Klebsiella* spp., *Citrobacter koseri*, *Proteus vulgaris*, *Proteus penneri*, *Kluyvera* spp., *Chryseobacterium meningosepticum*, *Stenotrophomonas maltophilia* i inne wytwarzają charakterystyczne enzymy należące do klasy A. Profile substratowe tych β-laktamaz są bardzo zróżnicowane, począwszy od ogólnych preferencji względem penicylin lub cefalosporyn, a skończywszy na ich zakresie (2, 11, 12). Niektóre z gatunkowo-specyficznych β-laktamaz klasy A hydrolizują głównie różnego rodzaju penicyliny i są to tzw. β-laktamazy o szerokim spektrum substratowym (np. enzymy typu SHV-1, LEN lub OKP *Klebsiella pneumoniae*), a inne posiadają bardzo rozległy zakres działania tzw. β-laktamaz o rozszerzonym spektrum substratowym, ESBL (omówione niżej) lub do nich zbliżony (np. β-laktamazy K-OXY *Klebsiella oxytoca* lub KLU *Kluyvera* spp.) (11, 12). U szeregu wymienionych gatunków naturalny poziom wytwarzania tych enzymów jest bardzo niski i nie nadają one drobnoustrojom oporności na β-laktamy. Podobnie jednak jak w przypadku naturalnych cefalosporynaz AmpC, możliwe są modyfikacje genetyczne, prowadzące do istotnego podwyższe-

nia ich ekspresji. U niektórych gatunków naturalne β-laktamazy klasy A wytwarzane są w sposób indukowalny (11).

Inną grupę enzymów kodowanych chromosomalnie stanowią metalo-β-laktamazy klasy B, czyli MBL. Występują one np. u *S. maltophilia*, *Bacillus cereus*, *Aeromonas hydrophila*, *C. meningosepticum*, *Legionella gormanii*, *Caulobacter crescentus*, *Janthinobacterium lividum*, czy *Flavobacterium johnsoniae*, i wykazują one aktywność wobec penicylin, cefalosporyn i karbapenemów, przez co ich spektrum substratowe należy także określić jako bardzo szerokie (2, 12).

Jak zaznaczono wcześniej, wraz z wprowadzeniem do leczenia antybiotykoterapii nastąpił nowy, trwający obecnie okres bardzo intensywnej ewolucji β-laktamaz (14). Obejmuje ona zjawiska mobilizacji genów gatunkowo-specyficznych β-laktamaz, ich horyzontalnego rozprzestrzeniania się oraz szybkiej akumulacji zmian strukturalnych (7). W mobilizacji i horyzontalnym rozprzestrzenianiu się genów β-laktamaz (jak również innych genów oporności) kluczową rolę odgrywają różnorodne ruchome elementy genetyczne. Różne rodzaje sekwencji insercyjnych (ang. insertion sequence, IS), transpozonów, a także inne struktury warunkujące możliwość rekombinacji DNA, powodują przeniesienie genów β-laktamaz z chromosomów bakteryjnych na cząsteczki zdolne do horyzontalnego transferu, którymi niemal bez wyjątku są plazmidy (18). Cząsteczki te rozprzestrzeniają się bardzo często dzięki własnym systemom koniugacyjnym lub są mobilizowane do transferu przez inne, współwystępujące w komórce plazmidy. Olbrzymi wzrost puli genów β-laktamaz, będący wynikiem mobilizacji i rozprzestrzeniania horyzontalnego, bardzo zwiększa materiał wyjściowy do ewolucji poprzez zjawiska mutacji i rekombinacji homologicznej. Dzięki wymienionym procesom, u wielu gatunków bakterii pojawiły się nowe „nabyte” β-laktamazy, których jedyną funkcją jest obrona drobnoustrojów przed działaniem klinicznie używanych antybiotyków (11, 14). Ogólny obraz ewolucji β-laktamaz stymulowanej masowym stosowaniem antybiotyków β-laktamowych przedstawia rycina 1. Ukazuje on swoisty „wyścig” między drobnoustrojami chorobotwórczymi a przemysłem farmaceutycznym, opracowującym coraz to nowsze „generacje” β-laktamów, a także adaptację bakterii do środowisk, w których kumuluje się presja selekcyjna „starszych” i „nowszych” leków.

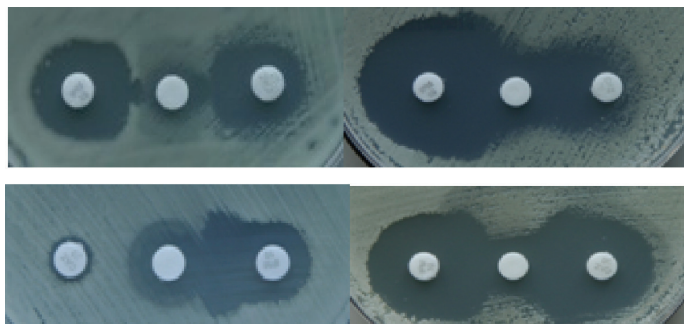
Niemal natychmiast po wprowadzeniu w latach 1940. do leczenia penicyliny (benzylpenicyliny), zaobserwowano pojawienie się i gwałtowny wzrost występowania szczepów *Staphylococcus aureus* wytwarzających β-laktamazy (8). W później-

szych latach udział takich szczepów w populacjach gronkowca złocistego sukcesywnie rósł, obecnie osiągając ponad 90% (15). Pierwsze cefalosporyny (tzw. cefalosporyny I generacji lub cefalosporyny o wąskim zakresie działania), penicyliny izoksazolilowe oraz penicyliny o szerokim zakresie działania (aminopenicyliny), stosowane od początku lat 1960. głównie w celu zwalczania szczepów *S. aureus* wytwarzających β -laktamazy (cefalosporyny, penicyliny izoksazolilowe) i/lub pałeczek Gram-ujemnych (aminopenicyliny, cefalosporyny) przyczyniły się do pojawienia się nowych mechanizmów oporności. Spowodowały one m.in. selekcję szczepów bakterii Gram-ujemnych, najpierw *E. coli*, a później innych *Enterobacteriaceae*, wytwarzających nabyte β -laktamazy o szerokim spektrum substratowym, takie jak TEM-1, TEM-2 i SHV-1, które obecnie są najczęściej występującymi, kodowanymi plazmidowo β -laktamazami. Szacuje się, że enzym TEM-1 wytwarzany jest obecnie przez ok. 50% klinicznych szczepów *E. coli* na świecie (11).

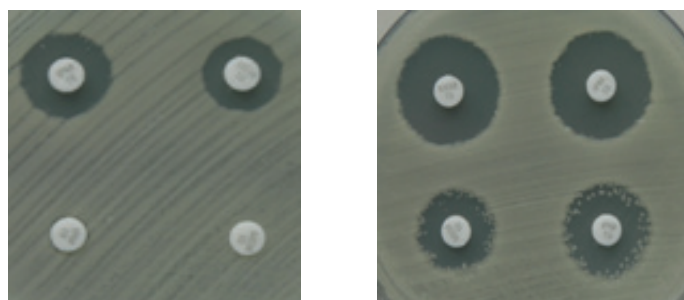
W ostatnich latach obserwuje się stały wzrost liczby zakażeń, w tym także epidemii, wywoływanych przez szczepy pałeczek Gram-ujemnych odporne na większość antybiotyków β -laktamowych, włącznie z tzw. oksyimino- β -laktamami. Zjawisko to związane jest z bardzo intensywnym wykorzystywaniem od początku lat 1980. tych leków w terapii wielu rodzajów zakażeń.

Oksyimino- β -laktamy (cefuroksym, cefalosporyny III i IV generacji oraz jedyny stosowany klinicznie monobaktam – aztreonam), ze względu na szeroki zakres aktywności przeciwbakteryjnej, bardzo dobrą charakterystykę farmakologiczną i niepodatność na działanie β -laktamaz o szerokim spektrum substratowym, uważano wówczas za „cudowne” antybiotyki, które rozwiążą problem zakażeń bakteryjnych. Masowe użycie tych leków doprowadziło jednak w szybkim czasie do selekcji nowych nabytych mechanizmów oporności, które obejmują swym zakresem działania zdecydowaną większość β -laktamów jednocześnie. Oporność ta związana jest głównie z wytwarzaniem β -laktamaz o bardzo rozległych spektrach substratowych i obejmuje takie zjawiska, jak trwałe odblokowanie lub podwyższenie poziomu ekspresji gatunkowo-specyficznych cefalosporynaz AmpC oraz produkcję nabytych AmpC i β -laktamaz o rozszerzonym spektrum substratowym, czyli ESBL. Odpowiedzią zaś bakterii na wprowadzenie do leczenia kolejnej grupy β -laktamów, tzw. karbapenemów, było m.in. pojawienie się szczepów wytwarzających nabyte β -laktamazy zdolne do hydrolizy także tych leków, do niedawna i często nadal traktowanych jako leki ostatniej szansy w przypadkach zakażeń wywołanych przez pałeczki Gram-ujemne. Wśród nich wymienić należy MBL oraz niektóre enzymy klasy A (np. KPC) i D (β -laktamazy CHDL).

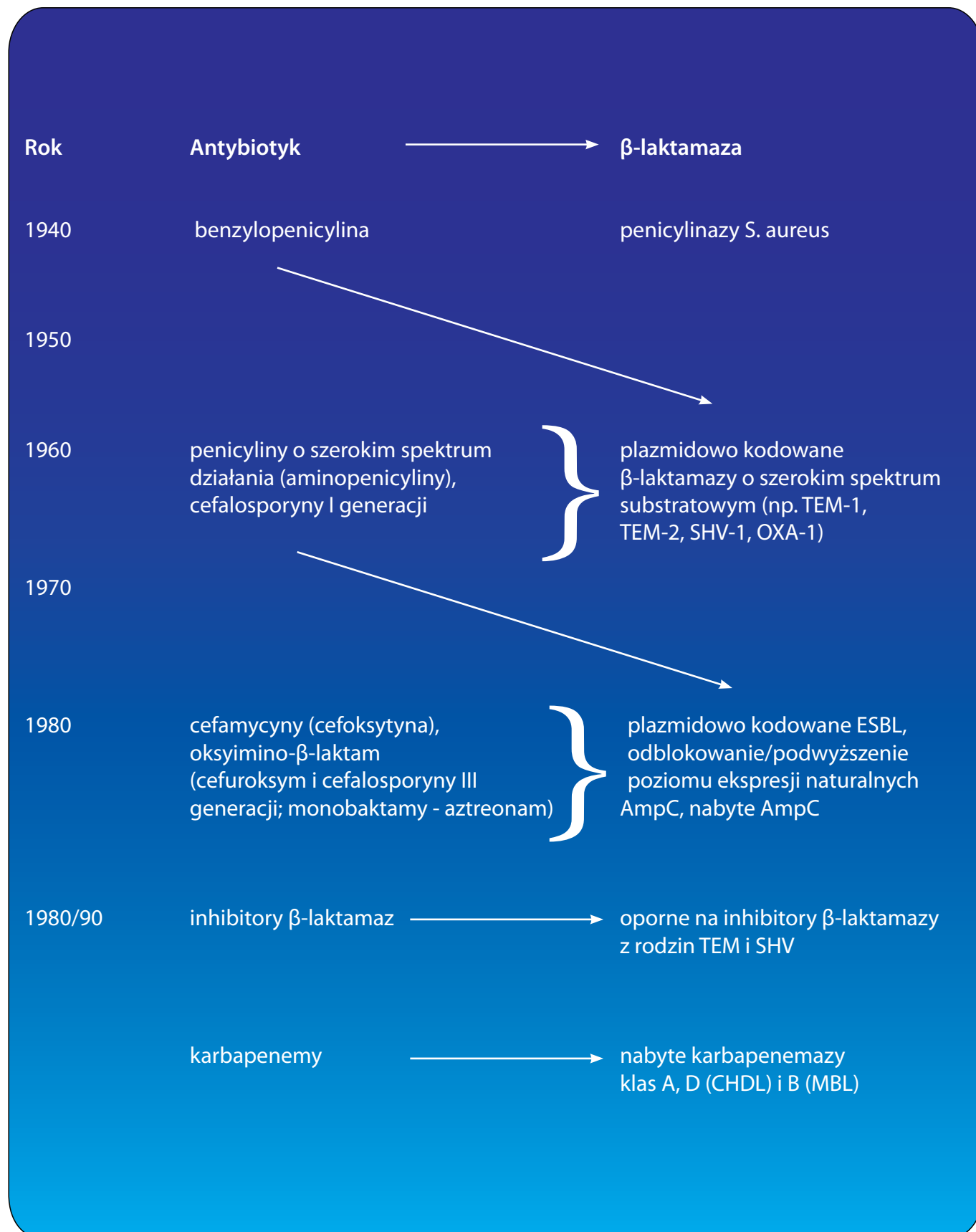
Przykłady obrazów testu wykrywającego MBL uzyskiwanych dla szczepów *Enterobacteriaceae* **MBL+**:



Przykłady obrazów testu wykrywającego KPC uzyskiwanych dla szczepów *Enterobacteriaceae* **KPC+**:



Rycina 1. Ogólny schemat ewolucji β -laktamaz i wprowadzania kolejnych rodzajów i generacji antybiotyków β -laktamowych na podstawie Jacoby i Bush (8).



β-laktamazy o rozszerzonym spektrum substratowym, ESBL

ESBL to enzymy zdolne do hydrolizy wszystkich penicylin, cefalosporyn (oprócz cefamycyn) i monobaktamów. Hydrolizują oksyimino-β-laktamy z szybkością nie mniejszą niż 10% szybkości hydrolizy benzylopenicyliny. Aktywność większości tych β-laktamaz hamowana jest przez kwas klawulanowy, sulbaktam i tazobaktam (2, 64). W systemie funkcjonalnym b-laktamaz, ESBL zostały zaklasyfikowane do dwóch podgrup grupy 2: podgrupy 2be („b-laktamazy o rozszerzonym spektrum substratowym hamowane przez kwas klawulanowy”) oraz podgrupy 2de („b-laktamazy o rozszerzonym spektrum substratowym hydrolizujące kloksacylinę”). Według podziału strukturalnego b-laktamaz należą one do klas A (podgrupa 2be) i D (podgrupa 2de). Są to enzymy o masie cząsteczkowej około 30 kDa, w ich miejscu aktywnym znajduje się reszta serynowa (2).

Enzymy ESBL występują głównie jako nabyte, kodowane plazmidowo b-laktamazy. Geny kodujące ESBL zlokalizowane są często na plazmidach koniugacyjnych, w tym także o szerokim zakresie gospodarza, przez co ulegają szybkiemu rozprzestrzenianiu, również pomiędzy szczepami należącymi do różnych gatunków. Ponadto, występują one w obrębie specyficznych elementów genetycznych (transpozonów, modułów transpozycyjnych, kaset integronowych), co zapewnia im przenoszenie pomiędzy różnymi cząsteczkami DNA, a często też wysoki poziom ekspresji. Jak zaznaczono wyżej, także niektóre gatunkowo-specyficzne β-laktamazy klasy A posiadają cechy ESBL.

Nabyte ESBL, zidentyfikowane po raz pierwszy w 1983 r. (9, 10), są obecnie źródłem poważnych problemów klinicznych i epidemiologicznych na całym świecie. Wytwarzane są przede wszystkim przez szpitalne szczepy pałeczek różnych gatunków z rodziny *Enterobacteriaceae*, choć w ostatnim okresie obserwuje się je także coraz częściej w szczepach wywołujących zakażenia pozaszpitalne, głównie u *E. coli*, ale także u patogenów typowych dla tego typu zakażeń - *Salmonella* i *Shigella* (3, 16). Identyfikowane są również u niektórych pałeczek niefermentujących, zwłaszcza *P. aeruginosa* i *Acinetobacter baumannii* (11).

Duża i stale rosnąca częstość występowania ESBL wśród ważnych klinicznie drobnoustrojów, która w skali pojedynczego oddziału lub szpitala, a nawet regionu lub kraju może osiągać 40 - 60% izolatów klinicznych *K. pneumoniae* (6, 16), konsekwentnie zawęża możliwości terapeutyczne antybiotyków b-laktamowych. Problemy kliniczne dodatkowo powiększa fakt, że wiele izolatów ESBL⁺ zachowuje w badaniach *in vitro* wrażliwość na szereg antybiotyków należących do spektrum substratowego ESBL (zwłaszcza oksyimino-β-laktamów) ze względu na specyficzne cechy enzymu lub niższy poziom jego ekspresji (11, 19). Zastosowanie takich leków w terapii kończy się jednak często niepowodzeniem terapeutycznym. Pierwsze takie przypadki odnotowywano już w latach 1980. (1), przeprowadzona zaś pod koniec lat 1990. metaanaliza wykazała, że ryzyko niepowodzenia wynosi ok. 50% w przypadku zastosowania ce-

falosporyny III generacji (np. ceftazydymu, cefotaksymu, ceftriaksonu) w leczeniu poważnego zakażenia szczepem ESBL⁺, na którą ten szczep wykazuje wrażliwość *in vitro* (17). Ryzyko to zależy od wartości MIC (minimalnego stężenia hamującego) danej cefalosporyny i wzrasta jeszcze bardziej w przypadku szczepów, dla których MIC znajduje się bezpośrednio poniżej wartości granicznej dla szczepów wrażliwych i średniowrażliwych (16, 17). Zjawisko to tłumaczy się możliwością występowania tzw. efektu inokulum, czyli wzrostu wartości MIC leku wraz ze wzrostem inokulum bakteryjnego (badania lekowrażliwości *in vitro* prowadzi się przy stosunkowo niskim inokulum). Ponadto, może dojść do selekcji mutantów o podwyższonej aktywności enzymatycznej ESBL lub zwiększonym poziomie ekspresji β-laktamazy. Jest to jeden z najważniejszych powodów, obok potrzeb epidemiologicznych, decydujących o konieczności precyzyjnej identyfikacji fenotypu ESBL⁺ we wszystkich izolatach *Enterobacteriaceae* w ramach rutynowej diagnostyki laboratoryjnej. Wykrywanie ESBL prowadzi się różnymi metodami, wszystkie one jednak sprowadzają się do stwierdzenia znaczącego obniżenia wrażliwości badanego szczepu na przynajmniej jeden z markerowych oksyimino-β-laktamów (ceftazydym, cefotaksym, ceftriakson, cefpodoksym, cefepim, aztreonam) i wykazania wpływu inhibitora β-laktamaz (kwasu klawulanowego) na ten efekt (4, 5). Diagnostykę ESBL utrudnia różnorodność fenotypów oporności szczepów ESBL⁺ na β-laktamy, której jedynie wycinkiem jest wspomniana wyżej wrażliwość *in vitro* części szczepów na wybrane substraty ESBL. Fenotypy oporności szczepów wytwarzających ESBL zależą od wielu czynników, m.in. szczegółowych preferencji substratowych konkretnych wariantów ESBL, ich podatności na działanie inhibitorów, poziomu aktywności enzymatycznej i ekspresji oraz obecności innych mechanizmów oporności (inne b-laktamazy, obniżenie przepuszczalności błony zewnętrznej, wypompowywanie leku). Niektóre z tych mechanizmów, np. wysoka ekspresja cefalosporynazy AmpC lub poważne obniżenie przepuszczalności błony zewnętrznej, ze względu na niepodatność na działanie inhibitorów β-laktamaz, mogą maskować obecność ESBL (5). Innym poważnym problemem w zwalczaniu szczepów o fenotypie ESBL⁺ jest też fakt, że są one często odporne również na antybiotyki z innych grup terapeutycznych, przez co łatwiej jeszcze mogą ulegać pozytywnej selekcji i utrzymywać się we florze szpitalnej oraz wywoływać epidemie klonalne. Związane jest to z tym, że geny kodujące ESBL zlokalizowane są na plazmidach, na których z reguły znajdują się też geny warunkujące oporność np. na aminoglikozydy, ko-trimoksazol, tetracykliny lub chloramfenikol (8).



Przykład obrazu testu wykrywającego ESBL uzyskiwanego dla szczepu *Enterobacteriaceae* ESBL⁺:

Piśmiennictwo

1. Brun-Buisson, C., P. Legrand, A. Philippon, F. Montravers, M. Ansquer, and J. Duval. 1987. Transferable enzymatic resistance to third-generation cephalosporins during nosocomial outbreak of multiresistant *Klebsiella pneumoniae*. *Lancet* 2:302-6.
2. Bush, K., G. A. Jacoby, and A. A. Medeiros. 1995. A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother* 39:1211-33.
3. Canton, R., A. Novais, A. Valverde, E. Machado, L. Peixe, F. Baquero, and T. M. Coque. 2008. Prevalence and spread of extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in Europe. *Clin Microbiol Infect* 14 Suppl 1:144-53.
4. Clinical, and, Laboratory, Standards, and Institute. 2008. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Eighteenth Informational Supplement, vol. 28.
5. Drieux, L., F. Brossier, W. Sougakoff, and V. Jarlier. 2008. Phenotypic detection of extended-spectrum β -lactamase production in *Enterobacteriaceae*: review and bench guide. *Clin Microbiol Infect* 14 Suppl 1:90-103.
6. Empel, J., A. Baraniak, E. Literacka, A. Mrowka, J. Fiett, E. Sadowy, W. Hryniewicz, and M. Gniadkowski. 2008. Molecular survey of β -lactamases conferring resistance to newer β -lactams in *Enterobacteriaceae* isolates from Polish hospitals. *Antimicrob Agents Chemother* 52:2449-54.
7. Gniadkowski, M. 2008. Evolution of extended-spectrum β -lactamases by mutation. *Clin Microbiol Infect* 14 Suppl 1:11-32.
8. Jacoby, G. A., and K. Bush. 2005. β -Lactam Resistance in the 21st Century. *Frontiers in Antimicrobials Resistance* pod redakcją D. GWhite, .M. N.
9. Kliebe, C., B. A. Nies, J. F. Meyer, R. M. Tolxdorff-Neutzling, and B. Wiedemann. 1985. Evolution of plasmid-coded resistance to broad-spectrum cephalosporins. *Antimicrob Agents Chemother* 28:302-7.
10. Knothe, H., P. Shah, V. Krcmery, M. Antal, and S. Mitsuhashi. 1983. Transferable resistance to cefotaxime, ceftazidime, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. *Infection* 11:315-7.
11. Livermore, D. M. 1995. β -Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev* 8:557-84.
12. Livermore, D. M., and J. D. Williams. 1996. β -Lactams: Mode of Action and Mechanism of Bacterial Resistance. *Antibiotics in Laboratory Medicine* pod redakcją V. Lorian 4:502-578.
13. Massova, I., and S. Mobashery. 1998. Kinship and diversification of bacterial penicillin-binding proteins and β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 42:1-17.
14. Medeiros, A. A. 1997. Evolution and dissemination of β -lactamases accelerated by generations of β -lactam antibiotics. *Clin Infect Dis* 24 Suppl 1:S19-45.
15. Nathwani, D., and M. J. Wood. 1993. Penicillins. A current review of their clinical pharmacology and therapeutic use. *Drugs* 45:866-94.
16. Paterson, D. L., and R. A. Bonomo. 2005. Extended-spectrum β -lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev* 18:657-86.
17. Paterson, D. L., W. C. Ko, A. Von Gottberg, J. M. Casellas, L. Mulazimoglu, K. P. Klugman, R. A. Bonomo, L. B. Rice, J. G. McCormack, and V. L. Yu. 2001. Outcome of cephalosporin treatment for serious infections due to apparently susceptible organisms producing extended-spectrum β -lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory. *J Clin Microbiol* 39:2206-12.
18. Poirel, L., T. Naas, and P. Nordmann. 2008. Genetic support of extended-spectrum β -lactamases. *Clin Microbiol Infect* 14 Suppl 1:75-81.
19. Sanders, C. C., K. S. Thomson, and P. A. Bradford. 1993. Problems with detection of β -lactam resistance among nonfastidious gram-negative bacilli. *Infect Dis Clin North Am* 7:411-24.



Ministerstwo Zdrowia

Biuletyn sfinansowany ze środków będących w dyspozycji Ministra Zdrowia w ramach programu zdrowotnego pn.: Narodowy Program Ochrony Antybiotyków na lata 2011-2015.



www.antybiotyki.edu.pl

