

Osjetljivost enterobakterija na antibiotike

Saša ANDRAŠEVIĆ¹⁾, mr. sc., dr. med.,
specijalist infektolog
Mirna VRANIĆ-LADAVAC²⁾, mr. sc.,
dr. med., specijalist mikrobiolog
Arjana TAMBIĆ ANDRAŠEVIĆ¹⁾,
prof. dr. sc., dr. med., specijalist mikrobiolog

¹⁾Klinika za infektivne bolesti
"Dr. Fran Mihaljević", Zagreb

²⁾Zavod za javno zdravstvo Istarske županije,
Pula

Ključne riječi

enterobakterije
beta-laktami
kinoloni
ko-trimoksazol
rezistencija

Key words

enterobacteriaceae
beta-lactams
quinolones
co-trimoxazole
resistance

Primljeno: 2009–09–07

Received: 2009–09–07

Prihvaćeno: 2009–11–03

Accepted: 2009–11–03

Uvod

Enterobakterije su važni uzročnici mnogih infektivnih bolesti. Ubrajaju se u najčešće uzročnike infekcija mokraćnog sustava (IMS), infekcija probavnog sustava, a u novije vrijeme postaju sve značajniji uzročnici infekcija povezanih sa zdravstvenom skrbi. Pojedine vrste bakterija posjeduju intrinzičnu otpornost na određene grupe antibiotika, što je urođena karakteristika vrste i s njom treba računati pri odabiru empirijske terapije za infekcije gdje se takve bakterijske vrste očekuju kao mogući patogeni.

Pregledni članak

Enterobakterije su važni uzročnici infekcija mokraćnog sustava (IMS), infekcija probavnog sustava te infekcija povezanih sa zdravstvenom skrbi. Pri odabiru empirijske antimikrobne terapije treba voditi računa o intrinzičnoj otpornosti nekih bakterijskih vrsta na određene grupe antibiotika, ali još veći problem predstavljaju brojni, stalno mijenjajući, mehanizmi stečene otpornosti na antibiotike. Beta-laktamski antibiotici su najčešće upotrebljavani antibiotici u kliničkoj praksi, a trimetoprim-sulfametoksazol (ko-trimoksazol) i kinoloni su dragocjeni u liječenju IMS i infekcija probavnog sustava, jer uspješno eradiciraju patogene iz ovih sustava. Na sve nabrojene grupe antibiotika javljaju se, međutim, mnogi mehanizmi otpornosti, koji često djeluju udruženo u istom bakterijskom soju. U Hrvatskoj otpornost *E. coli* iznosi 3 % na III. generaciju cefalosporina, 24 % na ko-trimoksazol te 11 % na ciprofloksacin. *K. pneumoniae* je češće uzročnik infekcija povezanih sa zdravstvenom skrbi i pokazuje viši stupanj otpornosti na antibiotike; 29 % na III. generaciju cefalosporina te 36 % na ko-trimoksazol i ciprofloksacin. U Hrvatskoj otpornost enterobakterija na karbapeneme je još uvijek sporadična.

Antibiotic sensitivity of enterobacteriaceae

Review article

Enterobacteriaceae are important pathogens in urinary tract infections (UTI), gastrointestinal and healthcare associated infections. When deciding on empirical antibiotic therapy intrinsic resistance mechanisms present in certain bacterial species should be considered but even more worrisome problem is the presence of numerous, always changing, mechanisms of acquired resistance. Beta-lactam antibiotics are the most frequently used antibiotics in clinical practice and trimethoprim-sulfamethoxazole (co-trimoxazole) and the quinolones are precious drugs in the treatment of UTI and gastrointestinal infections due to their ability to eradicate pathogens from these sites. Numerous resistance mechanisms have emerged to all these groups of antibiotics and often different mechanisms are present in the same strain. In Croatia, *E. coli* isolates resistance rates are 3 % for the 3rd generation cephalosporins, 24 % for co-trimoxazole and 11 % for ciprofloxacin. *K. pneumoniae* more often causes healthcare associated infections and has higher rates of resistance; 29 % for 3rd generation cephalosporins and 36 % for co-trimoxazole and ciprofloxacin. In Croatia carbapenem resistance in enterobacteriaceae is still sporadic.

Puno veći klinički problem predstavlja stečena otpornost na antibiotike, koja se javlja u bakterija koje bi prirodno trebale biti osjetljive na taj antibiotik. Različiti stečeni mehanizmi otpornosti na antibiotike se često simultano javljaju u istom bakterijskom soju i pojačavaju učinak pojedinačnih mehanizama, često su nepredvidivi, jer stalno evoluiraju novi mehanizmi i direktna su posljedica velike uporabe antibiotika. Nestašica novih antibiotika koji bi nadvladavali mehanizme otpornosti na postojeće antibiotike je posebno izražena upravo kod gram-negativnih bakterija [1]. Pored toga zabrinjava činjenica da se multi-

plerezistentne enterobakterije šire ne samo u bolničkim sredinama, već predstavljaju bitan problem i u izvanbolničkoj populaciji [2].

Zbog svoje relativno niske toksičnosti i visoke djelotvornosti beta-laktamski antibiotici su najčešće upotrebljavani antibiotici u kliničkoj praksi te najviše zabrinjava stjecanje otpornosti enterobakterija na ovu grupu antibiotika. Nadalje, pri liječenju IMS i infekcija probavnog sustava visoko mjesto zauzimaju ko-trimoksazol i kinoloni s obzirom da ovi antibiotici učinkovitije eradiciraju mikroorganizme iz mokraćnog sustava i rjeđe za posljedicu imaju dugotrajno kliconoštvo crijevnih patogeni negoli ostale grupe antibiotika. Velika uporaba ko-trimoksazola dovela je, međutim, do široko rasprostranjene otpornosti na ovaj antibiotik u većine enterobakterija, među njima i u *E. coli* koja je najčešći uzročnik IMS. U mnogim europskim zemljama u porastu je otpornost *E. coli* na kinolone, što predstavlja daljnji veliki problem u liječenju IMS.

Mehanizmi otpornosti na antibiotike u enterobakterija

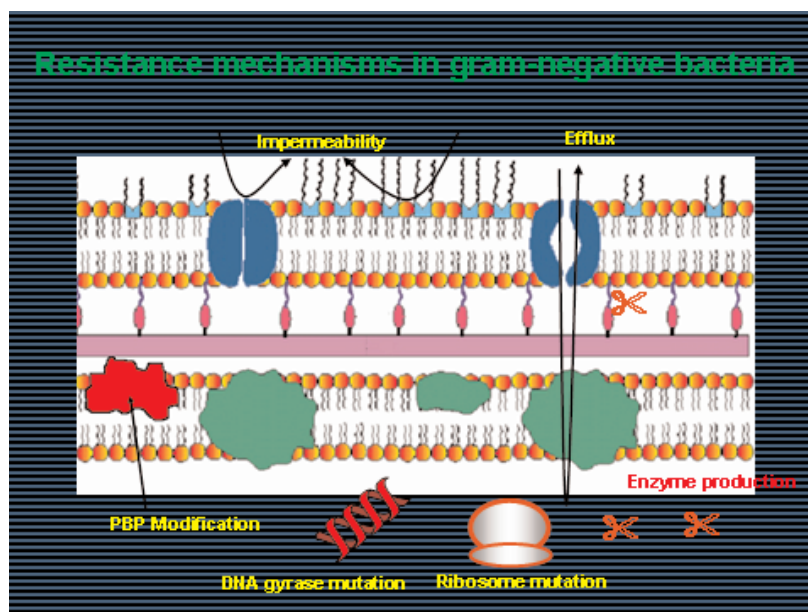
Enterobakterije mogu razviti otpornost na antibiotike promjenom ciljnog mjesta, proizvodnjom enzima koji razaraju antibiotik, mehanizmom pumpe koja izbacuje antibiotik iz stanice ili smanjenom propusnošću stanične stijenke za prolaz antibiotika (slika 1). Primjeri promjene ciljnog mjesta su promjene penicilin vežućih proteina (eng. "penicillin binding proteins", PBP) kod beta-laktamskih antibiotika ili promjene DNA giraze kod kinolona [3].

Mehanizam izbacivanja antibiotika iz stanice posredstvom pumpe bitan je način stjecanja otpornosti na tetracikline [4] i novije opisan mehanizam otpornosti na kinolone [5]. Do smanjene propusnosti stanične stijenke dolazi zbog gubitka porinskih proteina [6] i ovako posredovana otpornost je obično nižeg stupnja, jer se obično radi o smanjenom, a ne potpuno prekinutom unosu antibiotika u stanicu [3]. Proizvodnja enzima koji razaraju antibiotik najbitniji je mehanizam otpornosti na beta-laktamske antibiotike i aminoglikozide [3].

Otpornost na beta-laktamske antibiotike

Najčešći mehanizam otpornosti enterobakterija na beta-laktamske antibiotike je proizvodnja enzima beta-laktamaza. Do danas je otkriveno mnoštvo različitih enzima koji razaraju beta-laktame i već se od 1960-ih godina javljaju pokušaji klasifikacije ovih enzima. Trenutno se upotrebljavaju funkcionalna klasifikacija beta-laktamaza po Bushu i suradnicima [7] te molekularna klasifikacija beta-laktamaza po Ambleru [8].

Prvi beta-laktamski antibiotik s djelotvornošću na gram-negativne bakterije je bio ampicilin, nazvan zbog toga širokospektralnim penicilinom. Neke vrste enterobakterija pokazuju urođenu otpornost na ampicilin zbog prirodne proizvodnje malih količina beta-laktamaza koje su dovoljne za razaranje labilnih supstrata kao što su ampicilin i cefalosporini I. generacije, no ne i cefalosporine II. i III. generacije te karbapeneme. U *Klebsiella* spp., *Proteus vulgaris*, *Citrobacter diversus* urođena rezistencija na ampicilin je posredovana beta-laktamazama Amblerove



Slika 1. Mehanizmi otpornosti enterobakterija na antibiotike
Figure 1. Antibiotic resistance mechanisms in enterobacteriaceae

klase A ili grupe 2 prema Bushovoj klasifikaciji, što podrazumijeva da su podložne inhibiciji klavulanskom kiselinom [9]. U *Enterobacter* spp., *Citrobacter freundii*, *Serratia* spp., *Morganella morganii*, *Providencia stuartii*, *Proteus rettgeri* otpornost na ampicilin i cefalosporine prve generacije je posredovana inducibilnim AmpC beta-laktamazama koje pripadaju Amblerovoj klasi C ili Bushovoj grupi 1. Ampicilin i cefalosporini I. generacije su jaki induktori i labilni supstrati AmpC beta-laktamaza, što je osnova njihove neučinkovitosti u bakterijskih vrsta koje prirodno posjeduju inducibilne AmpC beta-laktamaze. Ove beta-laktamaze karakterizira neosjetljivost na klavulansku kiselinu te kombinacije ampicilina ili amoksicilina s inhibitorima beta-laktamaza koje nisu učinkovite protiv ovih bakterijskih vrsta [9].

Escherichia coli, *Proteus mirabilis*, salmonela i šigela su prirodno osjetljive na ampicilin, no ubrzo nakon uvođenja ampicilina u kliničku praksu početkom 1960-ih godina opisan je 1965. g. u soju *E. coli* mehanizam otpornosti na ampicilin posredstvom proizvodnje stečene beta-laktamaze nazvane TEM-1 [10]. TEM-1 se nalazi na plazmidu i brzo se proširila među gram-negativnim bakterijama [10, 11]. Poslije su opisane TEM-2, SHV-1, OXA-1 i druge beta-laktamaze širokog spektra, no TEM-1 je i danas najrasprostranjenija. Gotovo sve beta-laktamaze širokog spektra pripadaju molekularnoj klasi A i osjetljive su na inhibiciju klavulanskom kiselinom (izuzetak je OXA-1, koja pripada molekularnoj klasi D). U Hrvatskoj je otpornost na ampicilin 2008. godine iznosila u *E. coli* 49 %, u *P. mirabilis* 41 %, u salmonela 9 % te u šigela 61 % [13]. Kod niske produkcije ovih enzima piperacilin i cefalosporini I. generacije izgledaju djelotvorni *in vitro* no upitna je njihova djelotvornost *in vivo* [9].

Prisutnost urođenih beta-laktamaza u nekim bakterijskim vrstama i pojava stečenih beta-laktamaza u prirodno osjetljivih vrsta potakla je istraživanja usmjerena na spojeve otporne na aktivnost bakterijskih beta-laktamaza. Ova stabilnost se lakše postigla sa cefalosporinskim negoli penicilinskim spojevima [9] te su tako nastali moćni cefalosporini II., III. i IV. generacije. Ubrzo nakon uvođenja cefalosporina III. generacije pojavili su se izolati otporni na te antibiotike za što su najviše odgovorna dva evolucijska događaja, razvoj derepresiranih mutanata bakterija koje prirodno proizvode inducibilne AmpC cefalosporinaze te razvoj beta-laktamaza proširenog spektra (engl. *extended spectrum beta-laktamaze*, ESBL).

Prvi izolati enterobakterija kod kojih je uočena otpornost na cefalosporine III. generacije pripadali su rodovima enterobaktera, citrobaktera i seracija, a mehanizam otpornosti je bila stabilna hiperprodukcija AmpC beta-laktamaza [12, 14]. Novi cefalosporini nisu jaki induktori prirodnih AmpC beta-laktamaza, pa uspješno djeluju na bakterije, pripadnike rodova enterobaktera, citrobaktera i seracija dok one proizvode male fiziološke

količine ovih enzima. No, u prirodnoj populaciji bakterija ovih rodova postoje spontane derepresirane mutante koje hiperproduciraju velike količine AmpC beta-laktamaza i bez prisutnosti induktora. Cefalosporini III. generacije su labilni supstrati za AmpC beta-laktamaze ako se one produciraju u velikim količinama. Tijekom liječenja bakterijemije cefalosporinima III. generacije rizik od selekcioniranja derepresiranih mutanti iznosi otprilike 20 % [15]. Usljed široke uporabe cefalosporina udio derepresiranih mutanti otpornih na III. generaciju cefalosporina porastao je iznad 25 % u mnogim zemljama Europe i Amerike [11, 12, 16]. U Hrvatskoj je u 2008. g. udio derepresiranih izolata otpornih na III. generaciju cefalosporina u grupi enterobaktera, citrobaktera i seracija iznosio 18 % [13].

U početku je izgledalo da će problem AmpC beta-laktamaza biti ograničen na bakterijske vrste u kojima su one kromosomski kodirane i u kojima je moguće inducirati njihovu hiperprodukciju. U daljnjoj evolucijskoj prilagodbi bakterija geni s kromosoma derepresiranih mutanti, prenešeni su na plazmide i kao takvi počeli su se prenositi i u bakterijske vrste u kojima se nije mogla inducirati hiperprodukcija AmpC cefalosporinaza poput *Klebsiella* spp. i *E. coli* [9]. U Hrvatskoj su prvi izolati *E. coli* koji su posjedovali plazmidske AmpC opisani 2006. g. [17] i do danas se još uvijek javljaju sporadično [13].

Paralelno s evolucijom AmpC beta-laktamaza počeo se širiti i drugi bitan mehanizam otpornosti na cefalosporine III. generacije, proizvodnja beta-laktamaza proširenog spektra (ESBL), prvi put opisana 1983. g. [18]. Većina ESBL nastala je mutacijom gena koji kodiraju beta-laktamaze širokog spektra TEM-1, TEM-2 i SHV-1. Do danas se opisuje više od 140 TEM i više od 60 SHV tipova ESBL, a postoje i ESBL koje ne potječu od TEM i SHV beta-laktamaza [19]. Iako sve ESBL uzrokuju određeni stupanj otpornosti na sve širokospektralne cefalosporine većina njih pokazuje veći afinitet za ceftazidim negoli za ceftriakson i cefotaksim. Nasuprot tome 1990-ih počinje se širiti novi tip ESBL koje pokazuju veći afinitet za cefotaksim te su nazvane cefotaksimaze M (CTX-M) [20]. CTX-M nisu nastale mutacijom beta-laktamaza širokog spektra, već su kodirane plazmidskim genima koji potječu od kromosomskih gena klinički slabo značajne bakterijske vrste *Kluyvera* spp. [21]. ESBL se prenose plazmidima te se lako šire i izazivaju epidemije ne samo u bolničkoj već i u izvanbolničkoj sredini [22]. ESBL razaraju sve beta-laktamaze osim karbapenema [23, 24], a poput većine beta-laktamaza širokog spektra i većina ESBL su osjetljive na inhibitore beta-laktamaza (klavulansku kiselinu, sulbaktam i tazobaktam) ukoliko količina proizvedenog enzima nije prevelika za kapacitet inhibitora [25]. Iako za sada rijetke, opisane su TEM beta-laktamaze otporne na klavulansku kiselinu, što predstavlja daljnju prijetnju djelotvornosti beta-laktama [26]. U Hrvatskoj je udio izolata *E. coli* koji proizvode ESBL u 2008.g. iznosio 3 %, dok je udio ESBL *K. pneumoniae* iznosio 29 %.

Karbapenemi su stabilni na djelovanje ESBL i AmpC beta-laktamaza, što ih čini zadnjom linijom obrane od enterobakterija. Enzimi koji razaraju karbapeneme tzv. karbapenemaze su se prvo javili u *P. aeruginosa*, no počinju predstavljati sve veći problem i u enterobakterija. Karbapenemaze opisane u enterobakterija pripadaju molekularnoj klasi B (metalobeta-laktamaze), D (okscilinaze) ili A. Metalobeta-laktamaze, imipenemaze (IMP) i Verona imipenamse (VIM) su nađene u izolata enterobakterija odgovornih za nekoliko bolničkih epidemija [27], OXA-48 beta-laktamaza je opisana u izolata iz Turske, Libanona i Belgije [27, 28, 29], a među najčešće karbapenemaze klase A se ubraja *Klebsiella pneumoniae* karbapenemaza (KPC) [30], koja ujedno predstavlja i epidemiološki najznačajniju prijetnju djelotvornosti karbapenema. Osim posredstvom karbapenemaza rezistencija na karbapeneme može biti uzrokovana i smanjenom propusnošću vanjske membrane uslijed gubitka ili promjene porina te pojačanim efluksom karbapenema iz stanice ili kombinacijom ovih mehanizama. U Hrvatskoj se sporadično viđaju izolati enterobakterija otporni na karbapeneme, no prisutnost KPC enzima u Hrvatskoj još nije opisana.

Rezistencija na trimetoprim-sulfametoksazol

Trimetoprim-sulfametoksazol (ko-trimoksazol) je, zbog odlične eradikacije uzročnika iz urogenitalnog područja, često bio prvi lijek izbora u liječenju IMS. Široka uporaba ovog antibiotika dovela je do visoke otpornosti *E. coli* na ovaj antibiotik u mnogim zemljama Europe i SAD-u [31, 32, 33]. Više od 50 % ko-trimoksazol rezistentnih *E. coli* u SAD-u pripada klonalnoj grupi A (engl. *clonal group A*, CGA), a isti klon je prisutan i u Europi [34]. Ovaj klon pokazuje virulentni profil karakterističan za sojeve koji uzrokuju ekstraintestinalne infekcije i posjeduje konzervirani multiplorezistentni fenotip kodiran konjugabilnim plazmidom [35]. Iako se konzumiranje ko-trimoksazola u prethodna tri mjeseca općenito smatra čimbenikom rizika za akviriranje ko-trimoksazol rezistentnog soja, postoje studije koje tu povezanost nisu uspjele dokazati [36, 37]. U Hrvatskoj je 2008. g. otpornost *E. coli* na ko-trimoksazol iznosila 24 % s rasponom stopa otpornosti ovisno o laboratoriju od 17 % do 35 % [13]. Istovremeno otpornost na ko-trimoksazol je iznosila 35 % u *P. mirabilis*, 36 % u *K. pneumoniae*, 20 % u grupi enterobakter, seracija, citrobakter, 1 % u salmonela te 78 % u šigela [13].

Rezistencija na kinolone

Kinoloni su širokospektralni antibiotici, često u uporabi u medicini i veterini. Prvi kinolon, nalidiksična kiselina nastao je 1962. g., kao rezultat purifikacije klorikina [38].

Uporaba prvih kinolona (nalidiksične i pipemidinske kiseline) je bila ograničena na liječenje infekcija mokraćnog sustava, no fluorirani kinoloni, razvijeni tijekom 1980-ih pokazuju visoku djelotvornost na gram-negativne bakterije i upotrebljavaju se za sisteme infekcije, pa i one izvan mokraćnog sustava.

Do rezistencije na fluorokinolone dolazi uslijed mutacija gena koji kodiraju ciljno mjesto kinolona tj. podjedinice enzima giraze (*gyrA*, *gyrB*) i DNA topoisomerase IV (*parC*) odgovornih za sintezu DNA [39, 40]. Uz to razvoju rezistencije doprinosi smanjena propusnost stijenke bakterije, te aktivno izbacivanje antibiotika iz stanice, a u novije vrijeme opisan je i mehanizam zaštite giraze i DNA topoisomerase IV kodiran *qnr* genima koji se nalaze na plazmidu [41, 42, 43]. Ovaj novi mehanizam otpornosti na kinolone opisan je u Sjevernoj i Južnoj Americi, Europi i Aziji, zasada u niskoj prevalenciji [43, 44, 45], no zbog smještaja gena na plazmidima postoji opasnost brzog širenja ovog mehanizma rezistencije te udružene rezistencije i na druge grupe antibiotika.

Obzirom na visoke stope otpornosti bakterija na ko-trimoksazol potrošnja kinolona raste, a nažalost paralelno s potrošnjom raste i otpornost na kinolone u većini europskih zemalja [46], pa tako i Hrvatskoj [13, 46]. Otpornost na ciprofloksacin je u Hrvatskoj 2008. g. iznosila 11 % u *E. coli*, 11 % u *P. mirabilis*, 36 % u *K. pneumoniae*, 9 % u grupi enterobakter, seracija, citrobakter, 1 % u salmonela te 0 % u šigela [13]. Smatra se da veliku ulogu u razvoju otpornosti na kinolone ima široka uporaba ovih antibiotika ne samo u humanoj medicini, već i u veterini [47].

Zaključak

Obzirom na kratko vrijeme potrebno za izmjenu generacije, bakterije su u velikoj evolucijskoj prednosti nad čovjekom. Prednost koju je čovjek stekao uvođenjem antibiotika u kliničku praksu 1940-ih godina polako nestaje zbog prilagodbe bakterija okolišu punom antibiotika. Stručnjaci su relativno rano, već na početku antibiotske ere, bili svjesni da će razvoj rezistencije ugroziti djelotvornost ovih dragocjenih lijekova. Optimizam 1960-ih godina da će ovaj problem biti nadvladan izumom novih antibiotika zamijenila je zabrinutost 1990-ih godina zbog činjenice da potpuno novih antibiotika, koji bi djelovali na potpuno nov način na bakterije nema na horizontu. To se pogotovo odnosi na gram-negativne bakterije [1]. Procjena Europske Unije (EU) je da u zemljama EU multiplorezistentne bakterije godišnje uzrokuju smrt u oko 25 000 bolesnika te da uzrokuju 1,5 milijarde eura dodatnih troškova u zdravstvu [1]. Zbog toga su se u suzbijanje širenja otpornosti bakterija na antibiotike uključila mnoga nacionalna i internacionalna stručna društva te vladine organizacije propagirajući edukaciju o racionalnoj uporabi antibiotika i među zdravstvenim djelatnicima i među

bolesnicima. Na savjesti je liječnika da se dobro upoznaju s problemom i pri odabiru antibiotika razmišljaju o dobrobiti pojedinog bolesnika, ali imaju na umu i štetne posljedice koje preširoka uporaba antibiotika ima za zajednicu i buduće naraštaje. Racionalnom uporabom antibiotika možemo kupiti vrijeme za razvoj novih antibiotika te alternativnih pristupa liječenju infektivnih bolesti.

Literatura

- [1] ECDC and EMEA Technical Report. The bacterial challenge: time to react. EMEA/576176/2009. Stockholm, September 2009. www.ecdc.europa.eu
- [2] Livermore DM. Has the era of untreatable infections arrived? *J Antimicrob Chemother* 2009; 64: i29–i36.
- [3] French GL, Phillips I. Resistance. U: O'Grady F, Lambert HP, Finch RG, Greenwood D, ur. Antibiotic and chemotherapy. 7. izd. New York: Churchill Livingstone, 1997: 23–43.
- [4] Levy SB. Active efflux mechanisms for antimicrobial resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; 36: 695–703.
- [5] Robicsek A, Jacoby GA, Hooper DC. The worldwide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance. *Lancet Infect Dis* 2006; 6:629–40.
- [6] Nikaido H. Outer membrane barrier as a mechanism of antimicrobial resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 1989;33:1831–6.
- [7] Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39:1211–33.
- [8] Ambler RP. The structure of beta-lactamases. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1980; 289: 321–31.
- [9] Livermore DM. Beta-lactamase-mediated resistance and opportunities for its control. *J Antimicrob Chemother* 1998; 41: 25–41.
- [10] Spratt BG. Resistance to antibiotics mediated by target alterations. *Science* 1994; 264:388–393.
- [11] Livermore DM. Beta-lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Reviews* 1995; 8:557–84.
- [12] Sanders CC, Sanders WE. Beta-lactam resistance in gram-negative bacteria: global trends and clinical impact. *Clin Infect Dis* 1992; 15: 824–39.
- [13] Tambić Andrašević A, Tambić T. Rezistencija bakterijskih izolata u 2008. godini. U: Tambić Andrašević A, Tambić T, ur. Osjetljivost i rezistencija bakterija na antibiotike u Republici Hrvatskoj u 2008. g. Zagreb: Akademija medicinskih znanosti Hrvatske, 2009: 9–98.
- [14] Livermore DM. Clinical significance of beta-lactamase induction and stable derepression in gram-negative rods. *Eur J Clin Microbiol* 1987; 6: 439–45.
- [15] Chow JW, Fine MJ, Shlaes DM. Enterobacter bacteremia: clinical features and emergence of antibiotic resistance during therapy. *Ann Int Med* 1991;115: 585–90.
- [16] Burwen DR, Banerjee SN, Gaynes RP and the National nosocomial infections surveillance system. Ceftazidime resistance among selected nosocomial Gram-negative bacteria in the United States. *J Infect Dis* 1994; 170: 1622–5.
- [17] Giakkoupi P, Tambic-Andrasevic A, Vourli S, i sur. Transferable DHA-1 cephalosporinase in *Escherichia coli*. *Int J Antimicrob Agents* 2006; 27: 77–80.
- [18] Knothe H, Shah P, Kremery V, i sur. Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. *Infection* 1983; 11: 315–7.
- [19] Emery CL, Weymouth LA. Detection and clinical significance of extended-spectrum β -lactamases in a tertiary-care medical center. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 2061–7.
- [20] Bonnet R. Growing group of extended-spectrum β -lactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 48: 1–14.
- [21] Poirel L, Kampfer P, Nordmann P. Chromosome-encoded Ambler class A β -lactamase of *Kluyvera georgiana*, a probable progenitor of a subgroup of CTX-M extended-spectrum β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 4038–40.
- [22] Livermore DM, Canton R, Gniadkowski M, i sur. CTX-M: changing the face of ESBLs in Europe. *J Antimicrob Chemother* 2007; 59: 165–174.
- [23] Philippon A, Labia R, Jacoby G. Extended spectrum beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1989; 33: 1131–6.
- [24] Jacoby G, Medeiros AA. More extended spectrum beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; 35: 1697–704.
- [25] Livermore DM, Winstanley TG, Shannon KP. Interpretative reading: recognizing the unusual and inferring resistance mechanisms from resistance phenotypes. *J Antimicrob Chemother* 2001; 48: 87–102.
- [26] Bradford PA. Extended-spectrum β -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev* 2001; 48: 933–51.
- [27] Poirel L, Pitout JD, Nordman P. Carbapenemases: molecular diversity and clinical consequences. *Future Microbiol* 2007; 2: 501–12.
- [28] Matar GM, Cuzon G, Araj GF, i sur. Oxacillinase-mediated resistance to carbapenems in *Klebsiella pneumoniae* from Lebanon. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14: 887–8.
- [29] Cuzon G, Naas T, Bogaerts P, i sur. Plasmid-encoded carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase OXA-48 in an imipenem-susceptible *Klebsiella pneumoniae* strain from Belgium. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52: 3463–4.
- [30] Nordmann P, Cuzon G, Naas T. The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. *Lancet Infect Dis* 2009; 9: 228–236.
- [31] Kahlmeter G. The ECO.SENS Project: a prospective, multinational, multicentre epidemiological survey of the prevalence and antimicrobial susceptibility of urinary tract pathogens-interim report. *J Antimicrob Chemother* 2000; 46(S1): 15–22, 63–5.
- [32] Geerlings SE, van den Broek PJ, van Haarst P, i sur. Optimization of the antibiotic policy in the Netherlands: SWAB guidelines for antimicrobial therapy for complicated urinary tract infections (UTIs), 2006. <http://www.swab.nl>
- [33] Gupta K, Scholes D, Stamm WE. Increasing prevalence of antimicrobial resistance among uropathogens causing acute uncomplicated cystitis in women. *JAMA* 1999; 281: 736–8.
- [34] Johnson JR, Murray AC, Kuskowski MA, i sur. Distribution and characteristics of *Escherichia coli* clonal group A. *Emerg Infect Dis* 2005; 11: 141–5.
- [35] Johnson JR, Manges AR, O Bryan TT, Riley LR. A disseminated multidrug-resistant clonal group of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* as a cause of pyelonephritis. *Lancet* 2002; 359: 2249–51.

- [36] Colgan R, Johnson JR, Kuskowski M, i sur. Risk factors for trimethoprim-sulfamethoxazole resistance in patients with acute uncomplicated cystitis. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52: 846–51.
- [37] Burman WJ, Breese PE, Murray BE, i sur. Conventional and molecular epidemiology of trimethoprim-sulfamethoxazole resistance among urinary *Escherichia coli* isolates. *Am J Med* 2003; 115: 358–64.
- [38] Lescher GY, Froelich EJ, Gruett MD, i sur. 1,8-Naphthyridine derivatives: a new class of chemotherapy agents. *J Med Pharmaceut Chem* 1962; 5: 1063–8.
- [39] Gellert M, Mizuuchi K, O'Dea MH, i sur. Nalidixic acid resistance: a second genetic character involved in DNA gyrase activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 1977; 74: 4772–6.
- [40] Khodursky AB, Zechiedrich EL, Cozzarelli NR. Topoisomerase IV is a target of quinolones in *Escherichia coli*. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 1995; 92, 11801–5.
- [41] Ruiz J. Mechanisms of resistance to quinolones: target alterations, decreased accumulation and DNA gyrase protection. *J Antimicrob Chemother* 2003; 51: 1109–1117.
- [42] Jacoby GA. Mechanisms of resistance to quinolones. *Clin Infect Dis* 2005; 15: S120–6.
- [43] Robicsek A, Jacoby GA, Hooper DC. The worldwide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance. *Lancet Infect Dis* 2006; 6: 629–40.
- [44] Jacoby GA, Chow N, Waites KB. Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 559–62.
- [45] Castanheira M, Pereira AS, Nicoletti AG, i sur. First Report of Plasmid-Mediated *qnrA1* in a Ciprofloxacin-Resistant *Escherichia coli* Strain in Latin America. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51: 1527–1529.
- [46] EARSS Annual Report 2007. Bilthoven: National Institute of Public Health and the Environment, 2008.
- [47] Nelson JM, Chiller TM, Powers JH, i sur. Fluoroquinolone-resistant *Campylobacter* species and the withdrawal of fluoroquinolones from use in poultry: a public health success story. *Clin Infect Dis* 2007; 44: 977–80.