

## *Escherichia coli* – od komenzala do multiplorezistentnog uropatogena

Arjana TAMBIĆ ANDRAŠEVIĆ<sup>1</sup>), prof. dr. sc., dr. med., specijalist kliničke mikrobiologije

Anja BUKOVAC<sup>2</sup>), mag. oecol. et prot. nat.

Marko JELIĆ<sup>1</sup>), dipl. ing. biologije

Silvija ŠOPREK<sup>1</sup>), dr. med., specijalist kliničke mikrobiologije

Marija GUŽVINEC<sup>1</sup>), dr. sc., dipl. ing. biologije

<sup>1</sup>)Klinika za infektivne bolesti "Dr. Fran Mihaljević", Zagreb

<sup>2</sup>)Geonatura d.o.o., Zagreb

### Ključne riječi

*E. coli*  
klonalno širenje  
rezistencija na antibiotike

### Key words

*E. coli*  
clonal spread  
antibiotic resistance

**Primljeno:** 2014–10–09

**Received:** 2014–10–09

**Prihvaćeno:** 2014–12–04

**Accepted:** 2014–12–04

### Uvod

*Escherichia coli* sastavni je dio crijevne mikrobiote čovjeka, no posjeduje brojne čimbenike virulencije zbog kojih neki pripadnici ove vrste mogu uzrokovati različite

Stručni rad

*Escherichia coli* sastavni je dio crijevne mikrobiote, no ujedno i najčešći uzročnik infekcija mokraćnog sustava. Brojni čimbenici virulencije mogu različito biti izraženi u različitim sojevima. Opisano je nekoliko uspješnih klonova ekstraintestinalne patogene *E. coli* (exPEC) koji su se raširili u mnogim krajevima svijeta. Ovi klonovi su zastupljeniji među uzročnicima cistitisa i pijelonefritisa negoli među izolatima iz stolice zdravih osoba, a češće nego sporadični klonovi pokazuju rezistenciju na jedan ili više antibiotika. Trimetoprim-sulfametoksazol je dugo vremena bio prvi lijek izbora u liječenju mnogih kategorija uroinfekcija. Zbog visoke rezistencije koja je bila očita već 1990-tih godina ovaj se antibiotik u mnogim dijelovima svijeta, pa i u Hrvatskoj više ne preporuča u empirijskoj terapiji infekcija mokraćnog sustava. Rezistencija na trimetoprim-sulfametoksazol je u Hrvatskoj iznad 20 % i nije se bitno mijenjala posljednjih deset godina. Nasuprot tome, rezistencija na kinolone i beta-laktamske antibiotike u desetgodišnjem razdoblju pokazuje trend porasta. Hrvatska je 2011. g. prešla s američkih na europske standarde pri čemu je došlo do manjih pomaka u stopama rezistencije zbog administrativnog mijenjanja graničnih koncentracija za neke antibiotike. *E. coli* može akvirirati raznolike mehanizme rezistencije na svaki od antibiotika, pri čemu su, zbog lakše izmjene gena, izuzetno važni geni za rezistenciju koji se nalaze na plazmidima.

### *Escherichia coli* – from commensal organism to multiply resistant uropathogen

Professional paper

*Escherichia coli* is an integral part of gut microbiota but at the same time it is the most frequent causative agent of urinary tract infections (UTI). Numerous virulence factors are variably expressed in different strains. Several successful clones of extraintestinal pathogenic *E. coli* (exPEC) have spread worldwide. These clones are more prevalent among causative agents of cystitis and pyelonephritis than among fecal isolates in healthy humans and they express resistance to one or more antibiotics more often than sporadic clones. Trimethoprim-sulfamethoxazole was the first line antibiotic for the treatment of several UTI categories for a long time. Due to high rates of resistance that became apparent in the 1990s this antibiotic is no more recommended in empirical therapy of UTI in many parts of the world, including Croatia. Resistance to trimethoprim-sulfamethoxazole is over 20 % in Croatia and this did not change over the last ten years. In contrast, resistance to quinolones and beta-lactams shows increasing trend over the past ten year period. In 2011 Croatia switched from American to European sensitivity testing standards which slightly influenced resistance rates. *E. coli* can acquire various resistance mechanisms to a variety of antibiotics. Plasmid mediated resistance mechanisms are especially important because of the ease of horizontal gene exchange.

infekcije u svojem domaćina. Dok enteropatogena *Escherichia coli* (EPEC) predstavlja još uvijek značajan zdravstveni problem u dječjoj populaciji u zemljama u razvoju [1], u razvijenim zemljama sve veći problem predstavlja ekstraintestinalna patogena *E. coli* (ExPEC) [2], prven-

stveno zbog porasta rezistencije na antibiotike u ove prirodno dobro osjetljive bakterijske vrste. *E. coli* je glavni uzročnik infekcija mokraćnog sustava koje se ubrajaju u najčešće bakterijske infekcije odrasle dobi [3] te je očito da porast rezistencije na antibiotike u ove bakterijske vrste ima veliki utjecaj na morbiditet i mortalitet. Od posebnog je značaja razvoj rezistencije na beta-laktamske antibiotike koji čine osnovu liječenja invazivnih infekcija te trimetoprim-sulfametoksazol i kinolone koji postižu bolju eradikaciju uzročnika iz urogenitalnog sustava od ostalih grupa antibiotika. Konzumacija antibiotika, pogotovo u tijeku dugotrajne primjene niskih doza, često dovodi do mutacija ili probira mutiranih pripadnika bakterijske mikrobiote. Kako je *E. coli* stalni pripadnik crijevne mikrobiote ljudi, ova je bakterijska vrsta izložena selekcijskom tlaku antibiotika prilikom svake konzumacije antibiotika, a zbog takve ubikvitarnosti izuzetno je teška i kontrola širenja jednom nastalih rezistentnih klonova. Razina potrošnje antibiotika u nekoj zajednici dobro korelira sa stopama rezistencije u toj zajednici [4, 5], no kod rezistencije ekstraintestinalne *E. coli* veliko značenje ima i uspješno širenje pojedinih klonalnih grupa unutar kojih se nalaze rezistentni pripadnici ove vrste [6].

### Klonalno širenje uropatogenih *E. coli*

Činjenica da samo jedna bakterijska vrsta, *E. coli*, uzrokuje 80 do 90 % nekomplikiranih uroinfekcija govori da su uropatogeni sojevi ove vrste oboružani brojnim čimbenicima virulencije koji omogućuju izazivanje infekcije i u domaćina koji nije oslabljen raznim komplicirajućim čimbenicima. Poznati čimbenici virulencije uropatogenih *E. coli* (UPEC) uključuju različite adhezine, toksine, siderofore, površinske polisaharide i proteine te stvaranje biofilma. *E. coli* je prirodno dobro osjetljiva na čitav niz antibiotika no u posljednje vrijeme javljaju se sojevi otporni na više grupa antibiotika što ovu bakterijsku vrstu čini još respektabilnijim patogenom.

Razvoj molekularnih tehnika tipizacije sojeva omogućio nam je bolje razumijevanje širenja multiplerezistentnih mikroorganizama. Visoke stope rezistencije na neki ili više antibiotika se mogu zasnivati na učestalom nastajanju *de novo* mutacija ili olakšanom horizontalnom prenosu gena za rezistenciju pri čemu će se tipizacijom uzročnika identificirati široki spektar raznolikih genotipova. Do visokih stopa rezistencije može, međutim, doći i zbog širenja pojedinih klonova s genetskim predispozicijama za povećani epidemijski potencijal. Iako se općenito smatra da infekcije mokraćnog sustava ne predstavljaju epidemijsku zaraznu bolest, opisani su poneki sojevi sposobni izazivati infekcije epidemijskih razmjera poput *E. coli* O15:K52:H1 soja koji je tijekom 1987. i 1988. g. izazvao epidemiju izvanbolničkih cistitisa, pijelonefritisa i sepsi u južnom Londonu [7].

Tijekom 1990-tih i početkom 2000-tih opisuje se naglo širenje *E. coli* klona koji se MLST (od engl. *Multilocus*

*Sequence Typing*) metodom opisuje kao ST131. Širenje ovog klona opisano je u raznim dijelovima svijeta i koincidiralo je sa širenjem rezistencije u *E. coli* [8, 9, 10]. Istraživanja su pokazala da se pripadnici ovog klona značajno rjeđe nalaze u stolici zdravih ljudi negoli u urinu žena sa cistitisom, a najveći udio čine među uzročnicima pijelonefritisa [8]. Istraživanje genoma *E. coli* EC958, dominantnog predstavnika ST131 klona, opisalo je 56 gena odgovornih za rezistenciju na humani serum, što vjerojatno doprinosi povećanoj virulenciji i uspješnom širenju ovih sojeva [11]. ST131 klon pripada filogenetskoj grupi B2 koja je povezana s mnogobrojnim čimbenicima ekstraintestinalne virulencije. Studija u Australiji je pokazala da je 30 % uzročnika pijelonefritisa pripadalo klonu ST131, a istom klonu je pripadalo i 88 % sojeva rezistentnih na fluorokinolone [8]. Pripadnici ST 131 klona imaju obično veći broj gena koji određuju virulenciju te istovremeno i mnogo gena koji uvjetuju rezistenciju na antibiotike, poglavito ko-trimoksazol, fluorokinolone i beta-laktame. Većina ST131 izolata u Velikoj Britaniji proizvodi CTX-M-15 beta-laktamazu proširenog spektra (engl. "*extended spectrum beta-lactamase*", ESBL), a različiti drugi geni za rezistenciju se opisuju u ST131 izolata u različitim geografskim područjima [9].

I u filogenetskoj grupi D se nalaze klonovi često povezani s rezistencijom na antibiotike od kojih su najčešći ST69 (klonalna grupa A, CGA) i ST 405. Klonalna grupa A je prepoznata kao uspješna grupa *E. coli* početkom 2000-tih, prvenstveno u Americi, ali se kao jedan od dominantnih sojeva nalazi u većem dijelu zapadnog svijeta [6, 12, 13].

Zahvaljujući radu Odbora za praćenje rezistencije bakterija na antibiotike pri Akademiji medicinskih znanosti Hrvatske, rezistencija najčešćih patogena, uključujući *E. coli*, se prati u Hrvatskoj još od 1997. g. Podatci o rezistenciji *E. coli* objavljeni su u nizu publikacija dostupnih na web stranici Interdisciplinarne sekcije za kontrolu rezistencije na antibiotike (ISKRA), a iako najnoviji podatci ne ukazuju na dramatične pomake u rezistenciji *E. coli* iz godine u godinu, evidentno je da rezistencija promatrana kroz dulje vremensko razdoblje pokazuje uzlazni trend za ključne antibiotike [14].

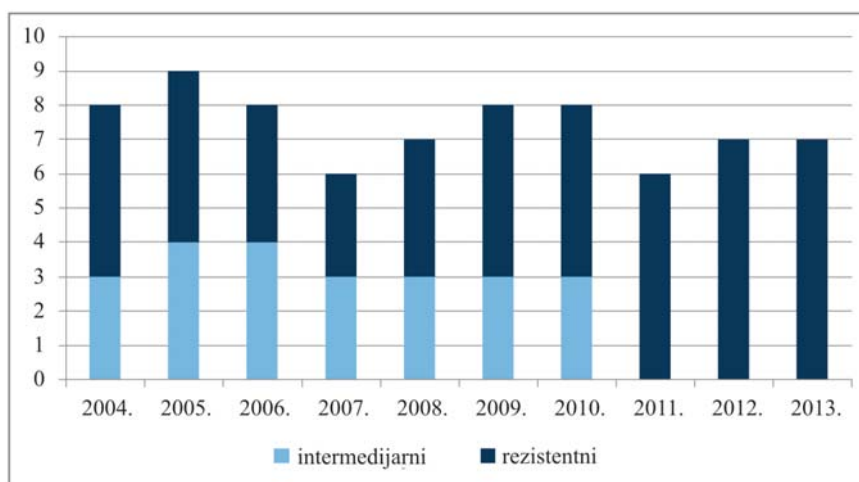
### Rezistencija *E. coli* na beta-laktamske antibiotike

U vrijeme kad se pojavio na tržištu, 1960-tih godina, ampicilin je nazvan penicilinom širokog spektra s obzirom da dotadašnji penicilini nisu djelovali na gram-negativne bakterije. Danas je, nažalost, otprilike 50 % *E. coli* u mnogim dijelovima svijeta steklo rezistenciju na ampicilin [5]. Kako je rezistencija na ampicilin u *E. coli* posredovana proizvodnjom beta-laktamaza širokog spektra, koje pripadaju klasi A i osjetljive su na inhibitore poput klavulanske kiseline, dodavanje klavulanata uvelike je zaštitilo ampicilin i povratilo mu djelotvornost. Konsenzus oko

djelotvornosti ampicilina, a time i ko-amoksiklava kod infekcija izvan mokraćnog sustava teško je postići te je Europski odbor za testiranje osjetljivosti na antibiotike (*European Committee on Antimicrobial Sensitivity Testing*, EUCAST) nekoliko puta mijenjao granične koncentracije i interpretaciju osjetljivosti enterobakterija na ovaj antibiotik. Hrvatska je s američkih standarda prešla na europske EUCAST standarde 2011. g. što je imalo određeni utjecaj na stope rezistencije za ko-amoksiklav, jer se većina nekada intermedijarnih sojeva prema novim standardima ubraja u rezistentne. Kako se, ipak, još uvijek radi o sve skupa niskim stopama neosjetljivosti (ispod 10 %) (slika 1) utjecaj promjene standarda na osjetljivost *E. coli* na ko-amoksiklav nije tako velik. U EUCAST standardima ne postoji kategorija intermedijarne osjetljivosti na ko-amoksiklav, ali od 2014. g. se primjenjuje odvojena interpretacija osjetljivosti za izolate koji uzrokuju nekomplikirane uroinfekcije. Za nekomplikirane uroinfekcije primjenjuju se blaže granične koncentracije što će vjerojatno dovesti do manjeg porasta osjetljivosti na ko-amoksiklav u indikaciji liječenja nekomplikiranih uroinfekcija. Kako ko-amoksiklav nije prvi lijek izbora za liječenje nekomplikiranih uroinfekcija prema ISKRA hrvatskim nacionalnim smjernicama [15] ova promjena standarda ne bi trebala imati većeg utjecaja na kliničku praksu.

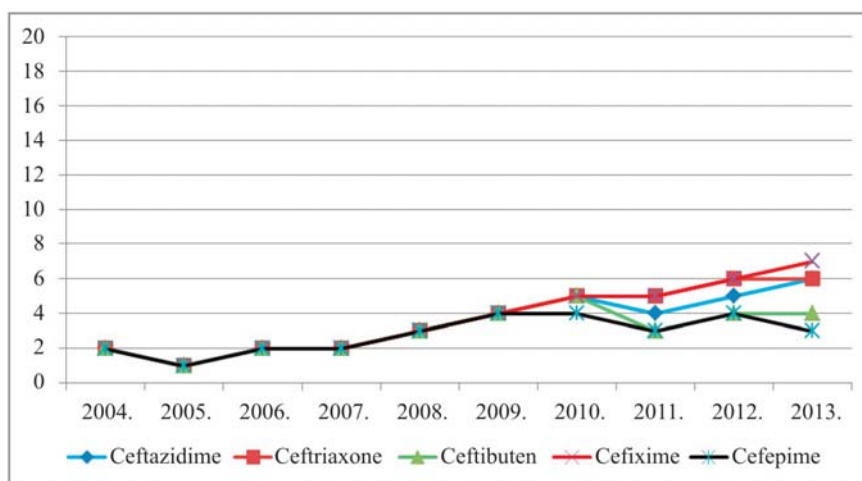
Granične koncentracije za cefalosporine 3. i 4. generacije postavljene su u američkim standardima početkom 1980-tih godina kad su ovi antibiotici dolazili na tržište. Kako su se enterobakterije, uključujući *E. coli*, od tih vremena značajno promijenile i razvile mehanizme rezistencije koje 1980-tih godina nisu postojali [16], ove granične vrijednosti su dugi niz godina bile insuficijentne što se moralo kompenzirati prepoznavanjem sojeva koji proizvode ESBL i korigiranjem *in vitro* nalaza. S obzirom da je EUCAST postavio bolje granične koncentracije za cefalosporine, korigiranje *in vitro* nalaza nije više potrebno [17]. S obzirom da su nove granične koncentracije za cefalosporine znatno oštrije, mnogi su očekivali da će ova

administrativna promjena dovesti do porasta stopa rezistencije na cefalosporine 3. i 4. generacije. Brojne ESBL se međusobno razlikuju po svojoj jačini, razini proizvodnje te afinitetu za pojedine cefalosporine. Prisutnost niske razine slabih beta-laktamaza ne mora značajno podići minimalne inhibitorne koncentracije (MIK) za sve cefalosporine i činjenica je da su se stope rezistencije na različite cefalosporine ponešto razdvojile nakon prestanka primjene univerzalnog pravila korigiranja *in vitro* nalaza kod ESBL sojeva (slika 2). Prisutnost ESBL mehanizma rezistencije sam po sebi, ako ne podiže MIK na neki cefalosporin iznad graničnih vrijednosti, ne utječe na klinički uspjeh terapije te prepoznavanje ESBL proizvodnje kod kliničkih izolata nije više presudno za izdavanje individualnih nalaza [18]. Prepoznavanje ESBL proizvodnje u kliničkih izolata je, međutim, vrlo bitno za kontrolu širenja ovih sojeva [18]. I slabe beta-laktamaze mogu dodatnim mutacijama postati uspješnije te se kod svih pacijenata koloniziranih ili inficiranih ESBL sojevima moraju primijeniti mjere kontaktne izolacije dok borave u bolničkoj sredini. Administrativna promjena graničnih koncentracija za cefalosporine nije imala velikog utjecaja na referiranje stopa rezistencije na cefalosporine u Hrvatskoj s obzirom da su svi hrvatski mikrobiološki laboratoriji dosljedno primjenjivali pravilo korigiranja nalaza kod ESBL sojeva i time kompenzirali loše postavljene granične koncentracije u prijašnjim standardima. Trend porasta rezistencije na cefalosporine koji se uočava u desetgodišnjem razdoblju je, prema tome, realan i vjerojatna posljedica velike potrošnje cefalosporina u izvanbolničkoj sredini [19]. Iako je najčešći mehanizam rezistencije *E. coli* na cefalosporine 3. i 4. generacije proizvodnja ESBL, sojevi *E. coli*, koji su preko plazmida primili gen odgovoran za hiperprodukciju AmpC  $\beta$ -laktamazama postaju sve češći (slika 3). Ovi sojevi su u Hrvatskoj prvi put opisani 2003. g. [20], dugi niz godina su se javljali kao vrlo rijetki izolati, no, nažalost, posljednjih godina postaju sve češći [21]. Plazmidski posredovane AmpC  $\beta$ -laktamaze se s različitim učesta-



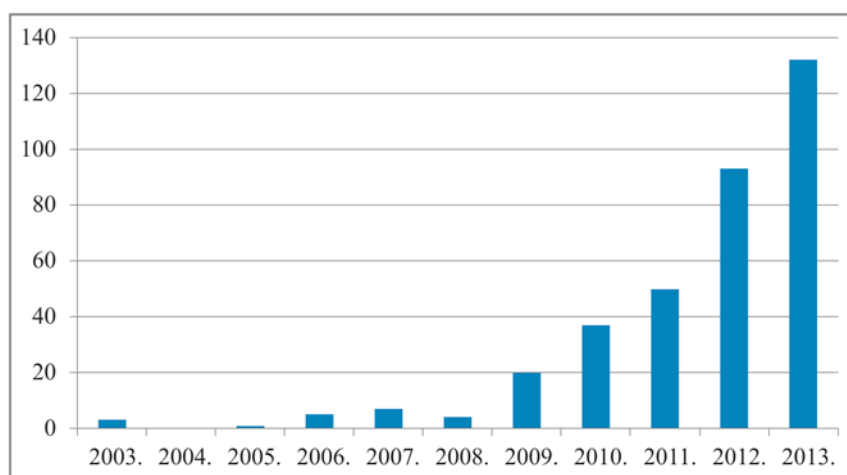
**Slika 1.** Rezistencija *E. coli* (%) na amoksicilin/klavulanska kiselina u Hrvatskoj 2004. – 2013.

**Figure 1.** *E. coli* resistance (%) to amoxicillin/clavulanic acid in Croatia 2004 – 2013



**Slika 2.** Rezistencija *E. coli* (%) na cefalosporine 3. i 4. generacije u Hrvatskoj 2004. – 2013.

**Figure 2.** *E. coli* resistance (%) to 3rd and 4th generation cephalosporins in Croatia 2004 – 2013



**Slika 3.** Broj izolata *E. coli* koje proizvode AmpC, Hrvatska 2003. – 2013.

**Figure 3.** Number of AmpC producing *E. coli* isolates, Croatia 2003 – 2013

lošću opisuju u sojevima *E. coli* u mnogim sredinama [22, 23].

Enterobakterije koje proizvode karbapenemaze su pod posebnim nadzorom Odbora za praćenje rezistencije na antibiotike još od 2001. g., a od 2010. g. i prema napatku Ministarstva zdravlja (MZ) svi hrvatski laboratoriji su pod obvezom slanja karbapenem rezistentnih izolata enterobakterija u Referentni centar MZ za praćenje rezistencije na antibiotike. Dok proizvodnja karbapenemaza postaje sve češća među rodovima klepsijela i enterobaktera i u Hrvatskoj [16] izolati *E. coli* koji proizvode karbapenemaze (uglavnom NDM i OXA-48) su još uvijek vrlo rijetki.

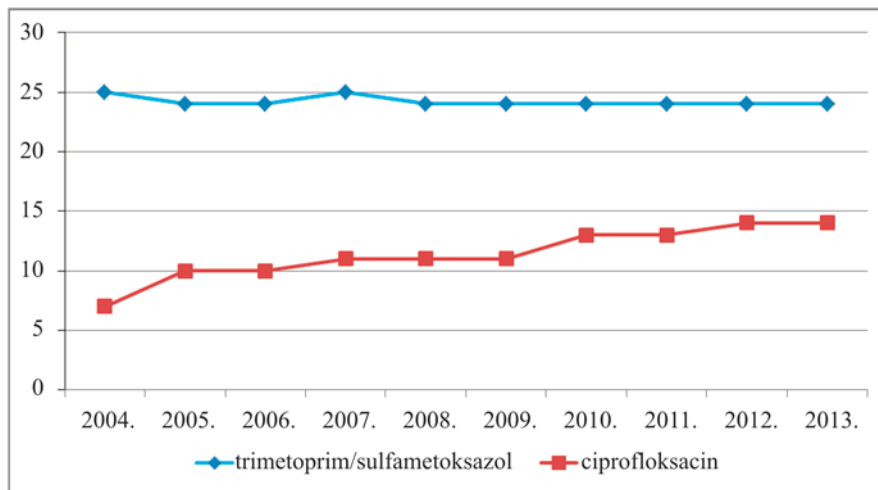
### Rezistencija *E. coli* na kinolone

S obzirom da postižu odlične koncentracije u urogenitalnom sustavu, kinoloni su dragocjeni antibiotici u lije-

čenju infekcija mokraćnog sustava. Zbog njihove visoke učinkovitost trebali bi se čuvati za uporabu kod kompliciranih infekcija mokraćnog sustava [15]. Zbog široke uporabe kinolona u izvanbolničkoj populaciji došlo je do očitog porasta rezistencije *E. coli* na kinolone u mnogim zemljama Europe [5].

Rezistencija na kinolone prvenstveno je uvjetovana mutacijama kromosomskih gena koji uvjetuju promjenu ciljnog mjesta, enzima DNA giraze i topoisomeraze IV. Klinički značajna rezistencija najčešće je izazvana kombinacijom mutacija. U novije vrijeme opisani su i plazmidski posredovani mehanizmi rezistencije preko qnr proteina i AAC(6')-Ib-cr enzima [24, 25]. Qnr proteini na neki način štite DNA girazu, a izmijenjeni AAC(6')-Ib-cr enzim je proširio svoj spektar supstrata i na kinolone. Niti jedan od plazmidski određenih mehanizama rezistencije na kinolone sami za sebe ne dovode do klinički značajnog povišenja MIK-ova za kinolone. Njihova prisutnost, međutim, smanjuje maksimalnu učinkovitost kinolona i pruža bak-





Slika 4. Rezistencija *E. coli* (%) na trimetoprim/sulfametoksazol i kinolone u Hrvatskoj 2004. – 2013.

Figure 4. *E. coli* resistance (%) to trimethoprim/sulfamethoxazole and quinolones in Croatia 2004 – 2013

terijama produženi vremenski okvir u kojem može doći do mutacija i razvoja učinkovitijih mehanizama rezistencije na kinolone. Osim toga, pojava plazmidnih determinanti rezistencije na kinolone zabrinjava jer pokazuje da su horizontalnim prijenosom gena stvoreni uvjeti za brzo širenje kinolonske rezistencije među enterobakterijama.

Brojni radovi navode da kinolon rezistentni sojevi *E. coli* posjeduju manje čimbenika virulencije negoli kinolon osjetljivi sojevi te da stjecanje gena za rezistenciju košta bakterijsku stanicu u vidu smanjenja dijela genoma koji omogućuje sposobnost preživljavanja [26, 27, 28]. Povezanost rezistencije na kinolone s uspješnim visoko virulentnim klonovima ukazuje da to nije uvijek slučaj te da kombinacija virulencije i otpornosti na antibiotike ovisi o mnogim epidemiološkim i demografskim podacima [29].

Rezistencija *E. coli* na kinolone pokazuje uzlazni trend u mnogim zemljama Europe [5] pa tako i u Hrvatskoj (slika 4). Iako pomaci u rezistenciji nisu dramatični iz godine u godinu, u desetgodišnjem razdoblju rezistencija *E. coli* na kinolone se udvostručila.

### Rezistencija *E. coli* na trimetoprim-sulfametoksazol

Sulfonamidi su prva klasa antibiotika otkrivena 1932. g. i primijenjena u kliničkoj praksi 1935. g. Trimetoprim je samostalno primijenjen 1962. g., a u kombinaciji sa sulfonamidima s kojima pokazuje sinergistični učinak 1968. g. Do razvoja rezistencije dolazi zbog smanjene propusnosti, efluksa ili promjene enzima na koje sulfonamidi i trimetoprim djeluju [30].

Trimetoprim-sulfametoksazol je zbog odlične eradikacije uzročnika iz urogenitalnog sustava dugo vremena bio prvi lijek izbora u empirijskoj i ciljanoj terapiji infekcija mokraćnog sustava. Nažalost, rezistencija *E. coli* na ovaj

antibiotik već dulje vremena prelazi 20 %, kako u Hrvatskoj (slika 4) tako i u mnogim zemljama svijeta [31]. Visoka rezistencija na trimetoprim-sulfametoksazol se opisuje i u zemljama koje nisu veliki potrošači antibiotika [32] te je vjerojatno da širenje uspješnih klonova koji se povezuju posebno s rezistencijom na trimetoprim-sulfametoksazol, poput CGA, igra veliku ulogu u globalnom širenju rezistencije *E. coli* na trimetoprim-sulfametoksazol [12, 13].

### Zaključak

Rezistencija na antibiotike posebno zabrinjava kad se razvija u bakterijskoj vrsti poput *E. coli* koja je s jedne strane ubikvitarna, a s druge strane sposobna izazivati česte, a ponekad i vrlo ozbiljne infekcije. Nove molekularne tehnike omogućuju bolje upoznavanje širokog spektra čimbenika virulencije, njihove genetske podloge, međusobnih interakcija i povezanosti s različitim mehanizmima rezistencije na antibiotike. Mnoge internacionalne i nacionalne smjernice o terapiji infektivnih bolesti napisane su sa svrhom da se pacijentu pruži najbolje moguće liječenje i pomogne liječniku odabrati antibiotik koji će, uz učinkovitost u liječenju individualnog pacijenta, najmanje poticati razvoj i selekciju bakterijskih sojeva otpornih na antibiotike. Potrošnja antibiotika, međutim, u mnogim sredinama premašuje realne potrebe te neopravdano potiče razvoj rezistencije. Jednom nastali otporni mutanti lako se šire u zajednici, pogotovo ako genetski materijal koji kodira rezistenciju uđe u soj s velikim epidemijskim i virulentnim potencijalom. Dok su mjere kontaktne izolacije u bolničkoj sredini dobro definirane, mjere kontrole širenja rezistentnih sojeva u izvanbolničkoj sredini su manje jasne. Bolje definiranje epidemiološki bitnih sojeva te praćenje njihovih rezervoara i načina prijenosa pomoći će nam u ograničavanju širenja rezistencije i očuvanju djelotvornosti antibiotika.

## Literatura

- [1] Ochoa TJ, Barletta F, Contreras C, Mercado E. New insights into the epidemiology of enteropathogenic *Escherichia coli* infection. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2008; 102: 852–6.
- [2] Russo TA, Johnson JR. Medical and economic impact of extraintestinal infections due to 317 *Escherichia coli*: an overlooked epidemic. *Microbes Infect* 2003; 5: 449–56.
- [3] Foxman B, Brown P. Epidemiology of urinary tract infections: transmission and risk factors, incidence, and costs. *Infect Dis Clin North Am* 2003; 17: 227–241.
- [4] European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance of antimicrobial consumption in Europe 2012. Stockholm: ECDC; 2014.
- [5] European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2013. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Stockholm: ECDC; 2014.
- [6] Johnson JR, Murray AC, Kuskowski MA, et al. Distribution and characteristics of *Escherichia coli* clonal group A. *Emerg Infect Dis* 2005; 11: 141–5.
- [7] Phillips I, Eykyn S, King A, et al. Epidemic multiresistant *Escherichia coli* infection in West Lambeth Health District. *Lancet* 1988; 1: 1038–1041.
- [8] Kudinha T, Johnson JR, Andrew SD, Kong F, Anderson P, Gilbert GL. *Escherichia coli* sequence type 131 as a prominent cause of antibiotic resistance among urinary escherichia coli isolates from reproductive-age women. *J Clin Microbiol* 2013; 5: 3270–6.
- [9] Woodford N, Turton JF, Livermore DM. Multiresistant Gram-negative bacteria: the role of high-risk clones in the dissemination of antibiotic resistance. *FEMS Microbiology Reviews* 2011; 35: 736–755.
- [10] Petty NK, Ben Zakour NL, Stanton-Cook M, et al. Global dissemination of a multidrug resistant *Escherichia coli* clone. *PNAS* 2014; 111: 5694–5699.
- [11] Phan MD, Peters KM, Sarkar S, et al. The serum resistome of a globally disseminated multidrug resistant uropathogenic *Escherichia coli* clone. *PLoS Genet* 2013; 9: e1003834.
- [12] Johnson JR, Menard ME, Lauderdale TL, et al. Global Distribution and Epidemiologic Associations of *Escherichia coli* Clonal Group A, 1998–2007. *Emerging Infectious Diseases* 2011; 17: 2001–9.
- [13] Manges AR, Johnson JR, Foxman B, O'Bryan TT, Fullerton KE, Riley LW. Widespread Distribution of Urinary Tract Infections Caused by a Multidrug-Resistant *Escherichia coli* Clonal Group. *N Engl J Med* 2001; 345: 1007–1013.
- [14] Tambić Andrašević A, Tambić T. Rezistencija bakterijskih izolata u 2013. 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, 2014: 9–108.
- [15] Škerk V, Tambić Andrašević A, Andrašević S, i sur. ISKRA smjernice antimikrobnog liječenja i profilakse infekcija mokraćnog sustava – hrvatske nacionalne smjernice. *Liječ Vjesn* 2009; 131: 105–18.
- [16] Tambić Andrašević A, Jelic M, Gužvinec M, Butić I, Bukovski S. Rezistentne enterobakterije u Hrvatskoj – uloga praćenja rezistencije na antibiotike na nacionalnoj razini. *Infektol glasnik* 2012; 32: 45–52.
- [17] Leclercq R, Canton R, Brown D. EUCAST expert rules in antimicrobial susceptibility testing. *Clin Microbiol Infect* 2013; 19: 141–160.
- [18] Giske ChG, Martinez-Martinez L, Cantón R, et al. EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance resistance mechanisms. [http://www.eucast.org/resistance\\_mechanisms/](http://www.eucast.org/resistance_mechanisms/)
- [19] Payerl Pal M, Tambić Andrašević A. Potrošnja antibiotika u Hrvatskoj. U: Tambić Andrašević A, Tambić T, ur. Osjetljivost i rezistencija bakterija na antibiotike u Republici Hrvatskoj u 2013. g. Zagreb: Akademija medicinskih znanosti Hrvatske, 2012: 145–69.
- [20] Giakkoupi P, Tambic-Andrasevic A, Vourli S, i sur. Transferable DHA-1 cephalosporinase in *Escherichia coli*. *Int J Antimicrob Agents* 2006; 27: 77–80.
- [21] Butić I, Tambić Andrašević A. Testiranje izolata posebnog značaja. U: Tambić Andrašević A, Tambić T, ur. Osjetljivost i rezistencija bakterija na antibiotike u Republici Hrvatskoj u 2013. g. Zagreb: Akademija medicinskih znanosti Hrvatske, 2012: 133–144.
- [22] Gude MJ, Seral C, Sáenz Y, Cebollada R, González-Domínguez M, Torres C, Castillo FJ. Molecular epidemiology, resistance profiles and clinical features in clinical plasmid-mediated AmpC-producing Enterobacteriaceae. *Int J Med Microbiol* 2013; 303: 553–7.
- [23] Subha A, Renuka Devi V, Ananthan S. AmpC b-lactamase producing multidrug resistant strains of *Klebsiella* spp. & *Escherichia coli* isolated from children under five in Chennai Indian J Med Res 2003; 117: 13–18.
- [24] Strahilevitz J, Jacoby GA, Hooper DC, Robicsek A. Plasmid-mediated quinolone resistance: a multifaced threat. *Clin Microbiol Rev* 2009; 22: 664–689.
- [25] Livermore DM. Current epidemiology and growing resistance of gram-negative pathogens. *Korean J Intern Med* 2012; 27: 128–142.
- [26] Drews SJ, Poutanen SM, Mazzulli T et al. Decreased prevalence of virulence factors among ciprofloxacin-resistant uropathogenic *Escherichia coli* isolates. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 4218–20.
- [27] Moreno E, Prats G, Sabaté M, Pérez T, Johnson JR, Andreu A. Quinolone, fluoroquinolone and trimethoprim/sulfamethoxazole resistance in relation to virulence determinants and phylogenetic background among uropathogenic *Escherichia coli*. *J Antimicrob Chemother* 2006; 57: 204–211.
- [28] Vila J, Simon K, Ruiz J et al. Are Quinolone-Resistant Uropathogenic *Escherichia coli* Less Virulent? *J Infect Dis* 2002; 186: 1039–1042.
- [29] Cooke NM, Smith SG, Kelleher M, Rogers TR. Major Differences Exist in Frequencies of Virulence Factors and Multidrug Resistance between Community and Nosocomial *Escherichia coli* Bloodstream Isolates. *J Clin Microbiol* 2010; 48: 1099–1104.
- [30] Eliopoulos GM, Huovinen. Resistance to Trimethoprim-Sulfamethoxazole. *Clin Infect Dis* 2001; 32: 1608–14.
- [31] Kahlmeter G. An international survey of the antimicrobial susceptibility of pathogens from uncomplicated urinary tract infections: the ECO-SENS Project *J Antimicrob Chemother* 2003; 51: 69–76.
- [32] Nys S, Terporten PH, Hoogkamp-Korstanje JAA, Stobberingh EE on behalf of the Susceptibility Surveillance Study Group. Trends in antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* isolates from urology services in The Netherlands (1998–2005). *J Antimicrob Chemother* 2008; 62: 126–132.