

# Istotne fenotypy oporności na antybiotyki występujące wśród drobnoustrojów alarmowych, izolowanych z zakażeń diagnozowanych w klinikach Instytutu Reumatologii w Warszawie

*Important phenotypes of drug resistance appearing between so called alarming bacterial species isolated from infections diagnosed in clinics of the Institute of Rheumatology in Warsaw*

Jacek Noworyta, Jolanta Gago, Jakub Ząbek

Zakład Mikrobiologii i Serologii Instytutu Reumatologii im. prof. dr hab. med. Eleonory Reicher w Warszawie, kierownik Zakładu dr hab. n. biol. Jakub Ząbek, dyrektor Instytutu prof. dr hab. med. Sławomir Maśliński

**Słowa kluczowe:** fenotypy, mechanizmy oporności, antybiotyki.

**Key words:** phenotypes, mechanisms of resistance, antibiotics.

## Streszczenie

Przedstawiono analizę występowania najważniejszych fenotypów oporności na antybiotyki wśród drobnoustrojów, izolowanych z zakażeń stwierdzonych w 5 klinikach Instytutu Reumatologii w latach 2004–2005. Ich pojawianie się lub dynamika występowania stanowią poważny problem kliniczny i terapeutyczny, i powinny być systematycznie badane.

W trakcie tej analizy wyłoniono się korzystne zjawiska, jakimi przykładowo były:

- stosunkowo mały odsetek występujących szczepów MRSA (ang. *methicillin-resistant S. aureus*, *S. aureus* oporny na metycylinę) (7,2%),
- marginalna obecność paciorkowców *Streptococcus spp.* opornych w mechanizmie MLS<sub>B</sub> (ang. *resistance to macrolide, lincosamide and streptogramin B*) na makrolidy, linkozamidy i streptograminy B oraz *Enterococcus spp.* opornych na wankomycynę (VRE – ang. *vancomycin resistant enterococci*) – w obu przypadkach po 1 izolacie,
- niewielki procent (4,1%) pałeczek jelitowych z rodziny *Enterobacteriaceae*, produkujących β-laktamazę o rozszerzonym spektrum substratowym – ESBL (ang. *extended-spectrum β-lactamase*).

Do niekorzystnych, a wręcz alarmujących tendencji należało:

- stosunkowo częste (18,5%) izolowanie wśród szczepów CNS (ang. *coagulase negative staphylococci*) fenotypów opornych w mecha-

## Summary

The authors performed an analysis concerning occurrence of the most important phenotypes of resistance to antibiotics among microbes isolated from focal infections recognized in 5 clinics of the Institute of Rheumatology (in the period from 2004 to 2005). Their occurrence or the dynamics of the occurrence determine serious clinical and therapeutic problems and should be systematically controlled.

During the period of this analysis generally positive phenomena were also observed, for example:

- the comparatively low percentage of MRSA strains (7.2%),
- the marginal presence of *Streptococci* (*Streptococcus spp.*) with the mechanism MLS<sub>B</sub> resistance on macrolides, lincosamides and streptogramin B and *Enterococcus spp.* Vancomycin resistant (VRE) – in both cases after 1 isolate,
- the low percentage (4.1%) of intestinal strains from the family *Enterobacteriaceae* generating β-lactamase with the extended substratum spectra (ESBL).

The disadvantageous and, what is more, alarming tendencies include:

- comparatively frequent (18.5%) isolation among CNS resistant strains phenotypes possessing MLS<sub>B</sub> mechanism resistance on macrolides, lincosamides and streptogramins B, MR-CNS (metiicilin resistant – 50%) and multiresistant strains (72.7%),

---

## Adres do korespondencji:

dr n. biol. Jacek Noworyta, Zakład Mikrobiologii i Serologii, Instytut Reumatologii im. prof. dr hab. med. Eleonory Reicher, ul. Spartańska 1, 02-637 Warszawa

Praca wpłynęła: 30.12.2006 r.

nizmie MLS<sub>B</sub> na makrolidy, linkozamidy i streptograminy B, MRCNS (ang. *methicillin resistant coagulase-negative staphylococci*) metacyclinoopornych (50%) oraz wieloopornych (72,7%),

- duży odsetek (37%) enterokoków opornych na duże stężenie aminoglikozydów – HLAR (ang. *high-level aminoglycoside resistance*),
- częste występowanie wielooporności i szczepów ESBL wśród pałeczek Gram-ujemnych niefermentujących, sięgające 80% oraz ich zwiększony odsetek (18,2%) oporności na karbapenemy (leki ostatniej szansy).

Ponadto autorzy dokonali szczegółowej analizy występowania oporności na poszczególne chemioterapeutyki wśród wybranych grup taksonomicznych drobnoustrojów, w celu ułatwienia klinicytom stosowania terapii, zwłaszcza empirycznej.

W dyskusji przedstawiono główne implikacje kliniczne, które mogą towarzyszyć stwierdzonemu fenotypowi oporności, nie zawsze adekwatnej do określonej lekowrażliwości *in vitro*. Zwrócono również uwagę na pewne mechanizmy, doprowadzające do powstawania niektórych fenotypów oporności.

## Wstęp

Groźne dla pacjenta i środowiska szpitalnego (z uwagi na możliwość epidemicznego rozprzestrzeniania się) bakteryjne szczepy alarmowe, czyli szczepy o fenotypach oporności na antybiotyki, świadczących niejednokrotnie o nowo powstających mechanizmach rozwoju oporności, stanowią poważny problem kliniczny i powinny być systematycznie badane. Ich obecność oraz dynamika występowania sugerują potrzebę poszukiwania przyczyn ich pojawiania się i metod zapobiegania wytwarzaniu, a także szerzeniu się tych szczepów, poprzez realizację różnorodnych procedur epidemiologicznych oraz związanych z polityką antybiotykową. Badania takie mogą mieć charakter dostosowany do danej placówki medycznej, z pominięciem mechanizmów oporności, które mogą być wykryte, a zwłaszcza potwierdzone przez krajowe ośrodki referencyjne, niemniej aktualnie zdecydowana większość laboratoriów mikrobiologicznych może określać patogeny alarmowe z ich istotnymi fenotypami oporności. Określając izolowane z zakażeń szczepy bakteryjne o odpowiednich fenotypach oporności, autorzy mają na myśli najważniejsze mechanizmy oporności bakterii oraz ich uwarunkowania genetyczne, tj. kodowanie chromosomalne lub plazmidowe o ekspresji indukcyjnej lub konstytutywnej [1].

Do takich mechanizmów, doprowadzających do powstawania oporności zalicza się ogólnie:

- enzymatyczną inaktywację leku (chemioterapeutyku),
- nieprzepuszczalność osłon komórkowych bakterii dla leku lub jego wypompowywanie,
- brak miejsca docelowego dla leku lub jego niskie powinowactwo – gatunkowo swoiste,
- zmianę miejsca docelowego dla leku (oporność receptorowa).

- high percentages (about 37%) of Enterococci resistant to high concentrations of aminoglycosides (HLAR),
- frequent occurrence of multiresistance and ESBL strains among Gram-negative (not fermenting) reaching 80% and elevated percentage (18.2%) of resistance to carbapenems (last resort antibiotics).

Additionally, the authors performed a detailed analysis of the occurrence of resistance to each chemotherapeutics among chosen taxa of microbes to facilitate usage for clinicians especially in empirical therapy.

In the discussion the authors introduce the most frequent clinical implications which can accompany the estimated phenotype of the resistance, not always adequate to determined *in vitro* antibiotics sensitivity. Attention is also given to certain mechanisms leading to the generation of some phenotypes of resistance.

Wieloletnia kontrola jakości badań mikrobiologicznych, dokonywana przez Centralny Ośrodek Badań Jakości w Diagnostyce Mikrobiologicznej zaowocowała systematycznym opracowywaniem i rekomendowaniem [1] doboru testów do oznaczania wrażliwości bakterii na chemioterapeutyki. Pozwoliło to, w coraz liczniejszych placówkach medycznych, na systematyczne badania, mające podstawowe znaczenie dla klinicystów w doborze terapii zakażeń i eradykacji patogenu alarmowego z organizmu chorego i środowiska szpitalnego.

Odnosnie do poszczególnych rodzajów (gatunków) drobnoustrojów zaleca się [1–7] zwrócenie uwagi na występowanie oporności na:

- w przypadku *Staphylococcus spp.* i *S. aureus* – metacyclinę (oksacylinę) – szczepy MRSA, MRCNS [1, 8, 9]; glikopeptydy (wankomycyna, teikoplanina) – szczepy hVISA (ang. *heteroresistant vancomycin-intermediate S. aureus*, *S. aureus* średnio wrażliwy na wankomycynę o heterogennej ekspresji oporności) [1, 10, 11], VISA (ang. *vancomycin-intermediate S. aureus*, *S. aureus* średnio wrażliwy na wankomycynę), makrolidy i linkozamidy (linkomycyna, klindamycyna) – szczepy MLS<sub>B</sub> [1, 15],
- w przypadku *Enterococcus spp.* – aminoglikozydy o wysokim stężeniu (HLAR), glikopeptydy – szczepy VRE (oporne na wankomycynę) [1, 12, 13],
- w przypadku *Streptococcus spp.* i *Streptococcus pneumoniae* – penicylinę, makrolidy i linkozamidy – MLS<sub>B</sub> [1],
- w przypadku *Neisseria meningitidis* – penicylinę [1], w przypadku *Haemophilus influenzae* – ampicylinę – BLNAR (ang. *β-lactamase negative ampicillin resistant*, β-laktamazooporne na ampicylinę) [1],
- w przypadku rodziny *Enterobacteriaceae* – kwas nalidksowy, oznaczanie wytwarzania β-laktamaz o roz-

szerzonym spektrum substratowym (szczyepy ESBL) [16–20],

- pałeczki niefermentujące – karbapenemy (oznaczanie wytwarzania metalo- $\beta$ -laktamaz – MBL) [1, 21–23]; oznaczanie chromosomalnej cefalosporynazy (Amp C –  $\beta$ -laktamaza), szczepy ESBL [24].

Poza wymienionymi, podstawowymi fenotypami oporności w monitorowaniu należy zwrócić uwagę na dynamikę zmian oporności na inne chemioterapeutyki, stosowane w leczeniu różnych zakażeń w zależności od szczepu i miejsca zakażenia, na które wpływać mogą właściwości farmakokinetyczne, farmakodynamiczne, co stanowi jedno z podstawowych kryteriów użyteczności chemioterapeutyku [25]. W tym aspekcie badanie powinno uwzględniać wykrywanie tzw. szczepów wieloopornych, tzn. opornych jednocześnie na co najmniej 3 grupy antybiotyków. Należy również pamiętać o występowaniu oporności naturalnej, zwłaszcza wśród pałeczek Gram-ujemnych z rodziny *Enterobacteriaceae* i niefermentujących (np. *P. aeruginosa* – na trimetoprim/sulfametoksazol i chloramfenikol). Niezwykle istotna jest interpretacja kliniczna, np. w przypadku szczepów wytwarzających ESBL, które mimo występu-

jącej niekiedy wrażliwości *in vitro* na wiele antybiotyków, należy traktować bezwzględnie jako szczepy klinicznie odporne lub potencjalnie odporne na wszystkie penicyliny (bez połączeń z inhibitorami), cefalosporyny (z wyjątkiem cefamycyn, np. cefoksytynę) i monobaktamy (aztreonam) [1].

## Materiał i metody

Materiał poddany analizie stanowiły drobnoustroje izolowane w trakcie rutynowych badań, wykonywanych w Instytucie Reumatologii w latach 2004–2005. Pochodził on od chorych hospitalizowanych w klinikach i zależał od specyfiki kliniki oraz liczebności i obciążenia łóżek szpitalnych. Dane dotyczące liczby i rodzaju materiału poddanego badaniom są przedstawione w tab. I. Wynika z nich, że zdecydowanie najczęściej przeprowadzono badania bakteriologiczne moczu.

Diagnostykę bakteriologiczną wykonywano wg rutynowo stosowanych procedur w pracowni bakteriologicznej, natomiast oporność na chemioterapeutyki oraz poszukiwanie ww. mechanizmów oporności oparte było na rekomendacjach Krajowego Ośrodka Referencyjnego

**Tabela I.** Liczba badań bakteriologicznych wykonanych dla 5 klinik IR w okresie styczeń 2004–grudzień 2005 r., z podziałem na dostarczony materiał

**Table I.** Amount of bacteriological tests done for 5 Clinics of IR in the period from Jan. 2004 to Dec. 2005, with specification of provided materials

| Rodzaj dostarczonego materiału     | KRWR | KR   | KChR | KChTŁ | KRO  | IR razem |
|------------------------------------|------|------|------|-------|------|----------|
| mocz                               | 242  | 133  | 142  | 779   | 1164 | 2460     |
| krew                               | 76   | 147  | 119  | 206   | 36   | 584      |
| rana/ropień                        | 5    | 42   | 12   | 54    | 48   | 161      |
| plwocina                           | 0    | 5    | 2    | 26    | 27   | 60       |
| wymaz z nosa                       | 27   | 16   | 5    | 17    | 37   | 102      |
| kał                                | 60   | 66   | 72   | 35    | 51   | 284      |
| płyn punkcyjny/staw                | 107  | 47   | 20   | 17    | 88   | 279      |
| materiał pooperacyjny              | 2    | 1    | 0    | 12    | 84   | 99       |
| razem                              | 519  | 457  | 372  | 1146  | 1535 | 4029     |
| liczba hospitalizowanych pacjentów | 1805 | 1294 | 682  | 1294  | 1472 | 6547     |
| liczba badań/pacjenta              | 0,28 | 0,35 | 0,55 | 0,88  | 1,04 | 0,62     |

KRWR – Klinika Reumatologii Wieku Rozwojowego

KR – Klinika Reumatologii

KChR – Klinika Chorób Reumatycznych

KChTŁ – Klinika Chorób Tkanki Łącznej

KRO – Klinika Reumortopedii

IR – Instytut Reumatologii

ds. Lekowrażliwości Drobnoustrojów (Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego), corocznie uzupełnianych [1]. Rekomendacje te oparte są na normie *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS).

## Wyniki

Jak wynika z tab. I, profil klinik/oddziałów oraz materiału poddanego badaniom bakteriologicznym odzwierciedla specyfikę placówki medycznej, jaką jest Instytut Reumatologii. Biorąc pod uwagę liczbę badań w minionym okresie (2004–2005), to zdecydowanie najczęściej badania bakteriologiczne zlecała Klinika Reumoortopedii (KRO) (główny oddział zabiegowy) oraz Klinika Chorób Tkanki Łącznej (KChTŁ) (oddział o potencjalnie i faktycznie najliczniejszej grupie pacjentów ciężko chorych). Najczęściej badanym materiałem zakaźnym w ww. klinikach był mocz (odpowiednio w 76 i 68%), choć z różnych powodów. O ile w przypadku KRO były to badania przeważnie wstępne, profilaktyczne przed zabiegami wszczęcia i/lub wymiany endoprotez stawu biodrowego bądź kolanowego, to badania posiewów moczu u chorych z KChTŁ dotyczyły głównie przypadków podejrzenia zakażenia dróg moczowych jako powikłań różnych chorób układowych, ewentualne wyjaśnienia gorączek o nieustalonej etiologii. W tym względzie najistotniejsze do wyjaśnienia takich gorączek są badania krwi.

Zwraca uwagę stosunkowo mała liczba zleczanych posiewów krwi (w skali IR=14,5%), najczęściej w Klinice Reumatologii (KR), Klinice Chorób Reumatycznych (KChR) – po 32%, najrzadziej w KRO – 2,3%. Takie proporcje badań bakteriologicznych w dużym stopniu sugerowały etiologię zakażeń, z przewagą np. *Escherichia coli*, izolowanych najczęściej z moczu, a tym samym wykrywanie spośród nich pewnych fenotypów (mechanizmów) oporności na antybiotyki, zdecydowanie różniących się od tychże fenotypów stwierdzanych u drobnoustrojów Gram-dodatnich, a izolowanych z innego niż mocz materiału zakaźnego.

Szczegółowe wyniki dotyczące występowania istotnych fenotypów oporności na antybiotyki wśród patogenów alarmowych izolowanych w 5 klinikach IR są przedstawione w tab. II.

Analizie poddano drobnoustroje zarówno Gram-dodatnie, jak i Gram-ujemne, które zakwalifikowano jako czynnik etiologiczny zakażeń, grupując je w sposób liczebnie umożliwiający wyciąganie spostrzeżeń i wniosków, nie zawsze „rozdrabniając” na poszczególne gatunki. Pozwala to na praktycznie kliniczną i epidemiologiczną pełniejszą ocenę zjawiska występowania fenotypów oporności wśród izolowanych drobnoustrojów i uzyskanie rodzaju mapy, świadczącej o potencjalnym zagrożeniu ich szerzenia się na terenie Instytutu Reumatologii.

Spośród izolowanych drobnoustrojów Gram-dodatnich najliczniej reprezentowany gronkowiec złocisty (*S. aureus*) nie wykazywał całkowitej ani obniżonej oporności na antybiotyki glikopeptydowe (tzw. szczepy VRSA i VISA).

Stosunkowo rzadko izolowano niezwykle groźne dla pacjenta i środowiska szpitalnego szczepy MRSA – w 7,2% i to jedynie u pacjentów z KChTŁ (6=13,3% szczepów spośród 45 izolowanych w tej Klinice) oraz z KRO (3=12% spośród 25). W skali Instytutu występowanie MRSA było raczej zjawiskiem marginalnym, ale niebezpiecznym klinicznie i epidemiologicznie dla obu ww. klinik z uwagi na wcześniej przedstawioną charakterystykę przebywających tam chorych.

W przypadku *S. aureus* stosunkowo często wykrywano szczepy o fenotypach opornych na makrolidy, linkozamidy i streptograminy B. Jak widać z tab. II, w skali całego Instytutu występowały one w 18,5% (na 124 izolowanych), z dominacją tzw. MLS<sub>B</sub> indukcyjnego (15,3%), najczęściej izolowanego w KChTŁ (17,8%) spośród 45 szczepów. Fenotypy te stwierdzono w pozostałych analizowanych klinikach, w tym rzadziej występujące fenotypy: MLS<sub>B</sub> konstytutywny i MS<sub>B</sub> (ang. *macrolides, streptogramins-B-efflux*; mechanizm wypompowywania makrolidów i streptogramin) Interpretację kliniczną tego zjawiska przedstawiono w dyskusji.

Spośród 44 szczepów gronkowców koagulazoujemnych – CNS, które zakwalifikowano jako czynnik etiologiczny stanu chorobowego, 50% w skali Instytutu wykazywało metycylinooporność. Analiza ich występowania (tab. II) w poszczególnych klinikach wykazała najczęstsze występowanie w KRO (13 szczepów na 16=81,2%) oraz w KChTŁ (4 na 11=36,4%). Również odsetki drobnoustrojów CNS opornych w mechanizmie MLSB zdecydowanie przewyższały odsetki wykazywane w przypadku *S. aureus*. W skali Instytutu stanowiły one 43,2%, natomiast podobnie najczęściej wykrywano je w ww. Klinikach: KChTŁ w 54,5%, a KRO w 37,5%. Dodatkowo wśród nich wykryto tzw. fenotyp L – fenotyp *Staphylococcus spp.* o oporności na linkomycynę i oporności/wrażliwości na klindamycynę oraz wrażliwości na erytromycynę (w KR i w KRO).

Spośród nielicznie reprezentowanych (n=13), zakwalifikowanych jako czynnik etiologiczny paciorkowców *Streptococcus spp.* zaledwie jeden szczep okazał się oporny w mechanizmie MLS<sub>B</sub> typu indukcyjnego. Wykryto go w KR.

Nieco częściej izolowane na terenie Instytutu drobnoustroje Gram-dodatnie z rodzaju *Enterococcus spp.* (n=27) zaledwie w 1 przypadku (KR) wykazywały fenotyp VRE, natomiast w 37% były one odporne na wysokie stężenia aminoglikozydów, stanowiąc tzw. fenotyp HLAR. Jak wynika z tab. II, najczęściej izolowano je w KRO. Występowa-

**Tabela II.** Istotne fenotypy oporności na antybiotyki wykryte wśród patogenów „alarmowych” izolowanych dla 5 klinik IR od stycznia 2004 do grudnia 2005 r.

**Table II.** Significant phenotypes of antibiotics-resistance discovered between so called “alarming” pathogens isolated in 5 Clinics of IR in the period from Jan. 2004 to Dec. 2005

| Drobnoustrój                            | IR<br>n (%) | Klinika IR  |             |             |              |             |
|---|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------|-------------|
|   |             | KRWR n (%)  | KR n (%)    | KChR n (%)  | KChTŁ n (%)  | KRO n (%)   |
| <i>S. aureus</i>                        | n=124       | n=14 (11,3) | n=22 (17,7) | n=18 (14,5) | n=45 (36,3)  | n=25 (20,2) |
| MRSA                                    | 9 (7,2)     |             |             |             | 6 (13,3)     | 3 (12)      |
| MLS <sub>B</sub> ind.                   | 19 (15,3)   | 3 (21,4)    | 3 (13,6)    | 1 (5,5)     | 8 (17,8)     | 4 (16)      |
| MLS <sub>B</sub> konst.                 | 2 (1,6)     |             |             |             | 1 (2,2)      | 1 (4)       |
| MS <sub>B</sub>                         | 2 (1,6)     |             |             |             |              | 2 (8)       |
| CNS                                     | n=44        | n=2 (4,5)   | n=12 (27,3) | n=3 (6,8)   | n=11 (25)    | n=16 (36,4) |
| MRCNS                                   | 22 (50)     | 2           | 1 (8,3)     | 2           | 4 (36,4)     | 13 (81,2)   |
| MLS <sub>B</sub> ind.                   | 6 (13,6)    | 1           |             | 1           | 2 (18,2)     | 2 (12,5)    |
| MLS <sub>B</sub> konst.                 | 8 (18,2)    | 1           | 2 (16,6)    | 1           | 3 (27,3)     | 1 (6,2)     |
| MS <sub>B</sub>                         | 3 (6,8)     |             |             |             | 1 (9,1)      | 2 (12,5)    |
| L                                       | 2 (4,5)     |             | 1 (8,3)     |             |              | 1 (6,2)     |
| <i>Enterococcus spp.</i>                | n=27        | n=0         | n=5 (18,5)  | n=1 (3,7)   | n=7 (25,9)   | n=14 (51,8) |
| HLAR                                    | 10 (37)     |             | 1 (10)      | 1 (10)      | 3 (30)       | 5 (50)      |
| VRE                                     | 1 (3,7)     |             |             | 1           |              |             |
| <i>Streptococcus spp.</i>               | n=13        | n=4         | n=3         | n=1         | n=3          | n=2         |
| MLS <sub>B</sub> ind.                   | 1 (7,7)     |             | 1           |             |              |             |
| <i>Enterobacteriaceae</i>               | n=419       | n=24 (5,7)  | n=30 (7,2)  | n=51 (12,2) | n=138 (32,9) | n=176 (42)  |
| ESBL                                    | 17 (4,1)    | 4 (16,6)    | 0           | 1 (2)       | 7 (5,1)      | 5 (2,8)     |
| Amp C                                   | 7 (1,7)     | 1 (4,2)     | 1 (3,3)     |             | 4 (2,9)      | 1 (0,6)     |
| pałeczki Gram-ujemne<br>niefermentujące | n=33        | n=0         | n=5 (15,1)  | n=2 (6,1)   | n=16 (48,5)  | n=10 (30,3) |
| Amp C                                   | 3 (9,1)     |             |             |             | 2 (12,5)     | 1 (10)      |
| karbapenemy – R*                        | 6 (18,2)    |             |             |             | 4 (25)       | 2 (20)      |

\*oporność na karbapenemy

nie tych „alarmowych” fenotypów w dość wysokim odsetku stanowi duże zagrożenie epidemiczne, z uwagi na słabą skuteczność aminoglikozydów często stosowanych w poważniejszych stanach zakażeń.

Spośród drobnoustrojów Gram-ujemnych, izolowanych od chorych IR, analizie dotyczącej występowania istotnych fenotypów oporności na antybiotyki poddano całą rodzinę pałeczek *Enterobacteriaceae* (tab. II), która głównie była reprezentowana przez gatunek *E. coli*, stwierdzany najczęściej w posiewach moczu (objawowe

i bezobjawowe zakażenia dróg moczowych). Szczepy te najczęściej izolowano w KRO oraz w KChTŁ. Korzystnym zjawiskiem było wykazanie małych odsetków szczepów wytwarzających enzym β-laktamazę o rozszerzonym spektrum substratowym, tzw. ESBL, których obecność determinuje kliniczną oporność szczepu na cefalosporyny. O ile w skali Instytutu odsetek ten wynosił 4,1%, o tyle w KRWR spośród 24 izolatów pałeczek *Enterobacteriaceae* – 4, tj. 16,6% stanowiły fenotypy ESBL.

**Tabela III.** Występowanie (%) szczepów wieloopornych na terenie IR i w poszczególnych klinikach od stycznia 2004 r. do grudnia 2005 r.**Table III.** Appearance (%) of multiresistant strains on the area of IR and in particular Clinics in the period from Jan. 2004 to Dec. 2005

| Szczepy                              | IR                 | KRWR | KR   | KChR | KChTŁ         | KRO        |
|--------------------------------------|--------------------|------|------|------|---------------|------------|
| <i>S. aureus</i>                     | n=124<br>19 (15,3) | 21,4 | 4,5  | 0    | 17,8          | 28         |
| CNS                                  | n=44<br>32 (72,7)  | 2/2* | 8,3  | 2/3* | 36,4          | 81,2       |
| <i>Enterococcus spp.</i>             | n=27<br>9 (33,3)   | 0    | 2/5* | 1/1* | 1/7*          | 35,7       |
| <i>Enterobacteriaceae</i>            | n=419<br>66 (15,8) | 16,6 | 20,0 | 19,6 | 13,8          | 15,3       |
| pałeczki Gram-ujemne niefermentujące | n=33<br>26 (78,8)  | 0    | 3/5* | 2/2* | 13/16* (81,3) | 8/10* (80) |

\* liczba szczepów wieloopornych/liczba szczepów badanych

Na stosunkowo niewielki odsetek występowania szczepów ESBL mogły wpływać (maskować) inne mechanizmy oporności na  $\beta$ -laktamy, niepodatne na działanie inhibitorów  $\beta$ -laktamaz. Do nich zaliczają się produkowane konstytutywnie (chromosomalnie)  $\beta$ -laktamazy typu Amp C [1]. W tabeli II pokazano, że wykrywane one były w pojedynczych szczepach i istotnie nie mogły wpłynąć na obniżenie odsetka szczepów ESBL.

Niepokojącym zjawiskiem było stwierdzenie wśród pałeczek Gram-ujemnych niefermentujących bardzo wysokiego odsetka szczepów ESBL. Zarówno w skali Instytutu, jak i w KChTŁ oraz KRO występowały one aż w ok. 80% (tab. II). Stwarzało to duże problemy terapeutyczne, z uwagi na brak kompleksowej wrażliwości *in vivo* na cefalosporyny. Pałeczki te pojedynczo wykazywały produkcję  $\beta$ -laktamazy typu Amp C. Z uwagi na często stosowane w zakażeniach wywołanych przez te drobnoustroje karbapenemy (meropenem, imipenem) – często na ratunek – zbadano ich wrażliwość na tę grupę antybiotyków. Jak widać w tab. II, w skali Instytutu wykryto 18,2% szczepów opornych, w tym jedynie w KChTŁ i KRO. Obecności enzymów rozkładających te antybiotyki (tzw. metalokarbapenemazy) nie badano, co planuje się na materiale w ramach nowego tematu statutowego.

W tab. III przedstawiono dane, dotyczące występowania szczepów wieloopornych, które mogą stwarzać zagrożenie epidemiczne i trudności w eradykowaniu ich ze środowiska szpitalnego. Występowanie ich w zależności od jednostki taksonomicznej drobnoustroju oraz kliniki kształtowało się w bardzo różnym odsetku/liczbie. Ogólnie najliczniej hodowano je od pacjentów z KRO oraz KChTŁ. Analizując ich obecność w skali

Instytutu, zwraca uwagę bardzo wysoki procent szczepów wieloopornych wśród gronkowców koagulazujemnych (72,7%) oraz Gram-ujemnych pałeczek niefermentujących. W obu przypadkach na taką sytuację wpływały z pewnością mechanizmy determinujące tę oporność, tj. metycylinooporność (CNS) i produkcja  $\beta$ -laktamaz ESBL (pałeczki niefermentujące).

Ostatnim etapem retrospektywnej analizy było przedstawienie lekooporności wśród najczęściej występujących i zakwalifikowanych jako potencjalny czynnik etiologiczny zakażenia – drobnoustrojów izolowanych w badanym okresie (2004–2005 r.), co mogłoby stanowić podstawę do dyskusji porównawczej z wynikami uzyskanymi w innych placówkach medycznych, ewentualnie z danymi krajowymi i zagranicznymi. Nadzrędnym celem była jednakże informacja dla klinicystów IR, pomocna w stosowaniu terapii empirycznej. Dane te – choć ogólne – są przedstawione w tab. IV, prezentującej antybiotyki rekomendowane przez KORLD (Krajowy Ośrodek Referencyjny ds. Lekowrażliwości Drobnoustrojów).

Oporność na antybiotyki (*in vitro* oraz kliniczna) wskazuje na:

- znaczny odsetek oporności na penicylinę (63,8%), tetracykliny i erytromycynę oraz klindamycynę wśród *S. aureus*,
- ogólnie częstszą oporność na antybiotyki wśród CNS niż *S. aureus*,
- słabą skuteczność antybiotyków wobec drobnoustrojów z rodzaju *Enterococcus spp.*,
- wysoki odsetek oporności pałeczek *Enterobacteriaceae* m.in. na tetracykliny, cefalosporyny różnych generacji,

**Tabela IV.** Występowanie oporności na chemioterapeutyki wśród najliczniej izolowanych patogenów bakteryjnych na terenie IR od stycznia 2004 do grudnia 2005 r.

**Table IV.** Appearance (%) of antibiotics-resistance between the most frequently isolated bacterial pathogens on the area of IR on the period from Jan. 2004 to Dec. 2005

| chemioterapeutyk     | Staphylococcus aureus |              | Koagulazujemne Staphylococcus (CNS) |              | Eiterococcus spp.             |              | Pateczki Enterobacteriaceae   |              | Escherichia coli              |              | Pateczki Gram-ujemne niefermentujące |              |
|----------------------|-----------------------|--------------|-------------------------------------|--------------|-------------------------------|--------------|-------------------------------|--------------|-------------------------------|--------------|--------------------------------------|--------------|
|                      | oporność (%)          | oporność (%) | chemioterapeutyk                    | oporność (%) | chemioterapeutyk              | oporność (%) | chemioterapeutyk              | oporność (%) | chemioterapeutyk              | oporność (%) | chemioterapeutyk                     | oporność (%) |
| penicylina           | 63,8                  | 76,5         | penicylina                          | 35,7         | ampicylina                    | 38,4         | ampicylina                    | 48,8         | mezlocylina                   | 5/6*         |                                      |              |
| erytromycyna         | 24,1                  | 55,5         | ampicylina                          | 15,4         | amoksycylina/<br>kwas klawul. | 34,3         | amoksycylina/<br>kwas klawul. | 13           | piperacylina                  | 100          |                                      |              |
| klindamycyna         | 20,1                  | 44,4         | amoksycylina/<br>kwas klawul.       | 1/3*         | cefalotyna                    | nb.          | cefalotyna                    | 29,1         | piperac./tazobaktam           | 35,5         |                                      |              |
| wankomycyna          | 0                     | 0            | gentamycyna 120 µg                  | 26,9         | cefazolina                    | 33,8         | cefazolina                    | 56,4         | ampicylina                    | 9/9*         |                                      |              |
| teikoplanina         | 0                     | 0            | streptomycyna 300 µg                | 34,6         | cefuroksym                    | 31,2         | cefuroksym                    | 5,3          | amoksycylina/<br>kwas klawul. | 73,7         |                                      |              |
| chloramfenikol       | 5,1                   | 8,6          | wankomycyna                         | 3,8          | cefotaksym                    | 25           | cefotaksym                    | nb.          | tikarcylicyna                 | 100          |                                      |              |
| ciprofloksacyna      | 9,9                   | 20           | teikoplanina                        | 0            | ceftriakson                   | 30,8         | ceftriakson                   | 0            | cefazolina                    | 9/9*         |                                      |              |
| norfloksacyna        | 0/4*                  | 2/4*         | erytromycyna                        | 81,8         | ceftazydym                    | 33,3         | ceftazydym                    | 0            | ceftazydym                    | 89,2         |                                      |              |
| rifampicyna          | 0                     | 3            | tetracyklina                        | 61,5         | cefepim                       | 24,4         | cefepim                       | 0,3          | cefotaksym                    | 91,4         |                                      |              |
| gentamycyna          | 2,9                   | 31,4         | doksycyklina                        | 5/8*         | piperac./tazobaktam           | nb.          | piperac./tazobaktam           | 4,4          | cefuroksym                    | 93,5         |                                      |              |
| tetracyklina         | 32                    | 50           | chloramfenikol                      | 3/9*         | gentamycyna                   | 12,5         | gentamycyna                   | 3,2          | ceftriakson                   | 88,2         |                                      |              |
| doksycyklina         | 32,7                  | 33,3         | ciprofloksacyna                     | 53,8         | amikacyna                     | 10,2         | amikacyna                     | 2            | cefepim                       | 89,2         |                                      |              |
| trimetoprim/sulfamet | 4,3                   | 50           | norfloksacyna                       | 1/3*         | netilmycyna                   | 10,6         | netilmycyna                   | 1,3          | gentamycyna                   | 12,8         |                                      |              |
| trimetoprim          | 0/4*                  | 3/4*         | aztreonam                           | 22,1         | aztreonam                     | 22,1         | aztreonam                     | 0,8          | tobramycyna                   | 17,2         |                                      |              |
| mupirocyna           | 1,3                   | 9,1          | imipenem                            | 1,1          | imipenem                      | 0            | amikacyna                     | 0            | amikacyna                     | 5,1          |                                      |              |
| kwas fusydowy        | 1                     | 19,4         | meropenem                           | 0            | meropenem                     | 0            | netilmycyna                   | 0            | netilmycyna                   | 8,3          |                                      |              |
| nitrofurantoina      | 0/4*                  | 0/3*         | ciprofloksacyna                     | 11,6         | ciprofloksacyna               | 11,6         | aztreonam                     | 10,2         | aztreonam                     | 85,7         |                                      |              |
|                      |                       |              | norfloksacyna                       | 14,1         | norfloksacyna                 | 14,1         | imipenem                      | 13           | imipenem                      | 43,6         |                                      |              |
|                      |                       |              | tetracyklina                        | 49,4         | tetracyklina                  | 49,4         | meropenem                     | 35,1         | meropenem                     | 39,5         |                                      |              |
|                      |                       |              | doksycyklina                        | 50           | doksycyklina                  | 50           | ciprofloksacyna               | 32           | ciprofloksacyna               | 21           |                                      |              |
|                      |                       |              | trimetoprim/sulfamet                | 21,9         | trimetoprim/sulfamet          | 21,9         | norfloksacyna                 | 19,7         | norfloksacyna                 | 2/8*         |                                      |              |
|                      |                       |              | fosfomycyna                         | nb.          | fosfomycyna                   | nb.          | tetracyklina                  | 0,8          | tetracyklina                  | 83,3         |                                      |              |
|                      |                       |              | nitrofurantoina                     | 43,1         | nitrofurantoina               | 43,1         | doksycyklina                  | 6,8          | doksycyklina                  | 2/3*         |                                      |              |
|                      |                       |              | trimetoprim/sulfamet                | 38,5         | trimetoprim/sulfamet          | 38,5         |                               |              |                               |              |                                      |              |

\*liczba szczepów opornych/liczba szczepów badanych

- częstą oporność na większość badanych antybiotyków wśród Gram-ujemnych pałeczek niefermentujących poza aminoglikozydami i fluorochinolonami (cipro- i norfloksacyna).

## Dyskusja

Praca miała na celu przedstawienie ogólnej sytuacji epidemiologicznej w placówce o specyficznych cechach, gdzie zakażenie *a priori* nie powinno stanowić istotnego problemu. Z założenia nie wdawano się więc w szczegóły, dotyczące występowania na terenie IR poszczególnych jednostek taksonomicznych drobnoustrojów (dane takie przedstawia się w co półrocznych raportach epidemiologicznych od 2002 r. poszczególnym klinikom). Ciekawsze było przeanalizowanie występujących istotnych fenotypów oporności na antybiotyki stosowane empirycznie lub celowanie w terapii zakażeń o różnej etiologii, począwszy od stanów wręcz bezobjawowych (np. zakażenia dróg moczowych), a kończąc na ciężkich przypadkach posocznicy czy bakteriemii. Systematyczny nadzór bakteriologiczny fenotypów oporności szczepów „alarmowych” ma – jak wspomniano – ogromne znaczenie praktyczne w terapii powikłań chorób reumatycznych, jakimi są nierzadko zakażenia (zwłaszcza w toczniu układowym i reumatoidalnym zapaleniu stawów). Może on również służyć do wdrożenia odpowiedniej polityki antybiotykowej, mającej na celu maksymalne skrócenie czasu przebywania pacjenta, a tym samym wprowadzenie oszczędności finansowych.

Krajowy Ośrodek Referencyjny ds. Lekowrażliwości Drobnoustrojów zwraca ogromną uwagę na wykrywanie specyficznych mechanizmów, warunkujących oporność na leki przeciwdrobnoustrojowe poprzez stale uaktualniane i corocznie rekomendowane metody wykrywające te mechanizmy oraz dobór testów oznaczania wrażliwości bakterii na chemioterapeutyki.

Niektóre z tych mechanizmów, mniej czy bardziej „popularne”, wykryto wśród drobnoustrojów izolowanych z zakażeń na terenie IR. Klinicyści powinni być świadomi obecności danego fenotypu oporności, przedstawianego na wyniku badań, uzyskanego z laboratorium mikrobiologicznego. Decyduje to często o postępowaniu leczniczym, odmiennym od sugestii z uzyskanej wrażliwości drobnoustroju *in vitro*. Interpretacja kliniczna oporności powinna zatem *a priori* być zasugerowana na wyniku.

Na terenie Instytutu Reumatologii analiza izolowanych drobnoustrojów wykazała niewielki odsetek (7,2%) szczepów MRSA. Ale nawet ten niewielki procent gronkowców MRSA może stanowić duże zagrożenie epidemiczne, z uwagi na łatwość rozprzestrzeniania się gronkowców złocistych w środowisku szpitalnym (nosiciel-

stwo, droga wertykalna: pacjent  $\leftrightarrow$  personel medyczny). Należy podkreślić niezwykle istotną cechę, którą determinuje metycylinooporność, tj. również bezwzględna oporność *in vivo* na wszystkie antybiotyki  $\beta$ -laktamowe, tj. penicyliny, penicyliny skojarzone z inhibitorami  $\beta$ -laktamaz, cefalosporyny i karbapenemy (meropenem, imipenem). Często szpitalne MRSA są wielooporne na tetracykliny, aminoglikozydy, makrolidy, linkozamidy, fluorochinolony, trimetoprim/sulfametoksazol [9]. Opcja terapeutyczna z zastosowaniem wankomycyny, linezolidu i chinupristyny/dalfopristyny może być też podważona, z uwagi na pojawiającą się oporność na te chemioterapeutyki [wg 1]. Ogromne trudności sprawia wykrywanie szczepów średnio wrażliwych na metycylinę (badaną w metodzie dyfuzyjno-krążkowej z oksacyliną lub cefoksytyną). Powinno się w takim przypadku oznaczać wartość MIC lub stwierdzić obecność białka PBP 2a lub genu *mec A*, które to determinują metycylinooporność. Kłopot mogą również sprawiać szczepy tzw. pre-MRSA, które mają gen *mec A*, lecz mogą być niewykrywalne krążkiem z oksacyliną, a jedynie z cefoksytyną [wg 1].

Wśród izolowanych na terenie IR szczepów *S. aureus* zwróciła uwagę obecność fenotypów oporności na makrolidy, linkozamidy (linkomycyna, klindamycyna) i streptograminy B. Wyróżniono wśród nich 3 z 4 fenotypów – najczęściej reprezentowany był MLS<sub>B</sub> indukcyjny (15,3%), tj. oporny na erytromycynę, a wrażliwy na linkomycynę/klindamycynę (spłaszczenie strefy zahamowania wzrostu). Pojedynczo występował fenotyp konstytutywny MLS<sub>B</sub>, tj. oporny na erytromycynę oraz linkomycynę/klindamycynę. Oba ww. fenotypy MLS<sub>B</sub> świadczyły o tym, że w takich przypadkach nie można stosować żadnych makrolidów, linkozamidów i streptogramin z grupy B. Jak podaje się [wg 1], fenotypy te są determinowane przez ten sam gen *erm*. Trzecim fenotypem, wykrytym wśród *S. aureus*, był tzw. MS<sub>B</sub> (kodowany przez gen *msr A*), wykazujący oporność na erytromycynę i wrażliwość na linkomycynę/klindamycynę (brak spłaszczenia strefy zahamowania wzrostu). W tym wypadku nie zaleca się stosowania makrolidów 14- i 15-węglowych oraz streptogramin z grupy B.

Nie było zaskakujące stwierdzenie wśród izolowanych i przyjętych za ewentualny czynnik etiologiczny danego zakażenia – gronkowców koagulazoujemnych (CNS) zdecydowanie wyższego niż u *S. aureus* odsetka fenotypów opornych na metycylinę oraz na makrolidy, linkozamidy i streptograminy w tzw. mechanizmie MLS<sub>B</sub> (tab. II). Jest to zjawisko naturalne, nie należy zatem lekceważyć tej szeroko rozpowszechnionej oporności wśród CNS, z powodu potencjalnego zagrożenia dla pacjentów i środowiska szpitalnego. Dotyczy to zwłaszcza zabiegów operacyjnych – ortopedycznych i ich ew. powikłań infekcyjnych, oraz ran/stóp cukrzycowych,



tak charakterystycznych m.in. w przebiegu reumatoidalnego zapalenia stawów oraz u pacjentów ze zdecydowanie obniżoną odpornością, leczonych np. w przebiegu tocznia układowego. Odzwierciedleniem takiej sytuacji były zdecydowanie częstsze występowanie takich fenotypów (MRCNS oraz MLS<sub>B</sub>) wśród gronkowców CNS izolowanych w Klinice Reumoortopedii i Klinice Chorób Tkanki Łącznej. Wśród tych drobnoustrojów, opornych w mechanizmie MLS<sub>B</sub>, dodatkowo wykryto fenotyp L (linkomycyna O, erytromycyna – W).

Należy zaznaczyć, że wśród nielicznych [13] – zakwalifikowanych jako czynnik etiologiczny – paciorkowców z rodzaju *Streptococcus spp.*, wykryto jedynie 1 fenotyp MLS<sub>B</sub>, o charakterze indukcyjnym.

Analiza występowania istotnych fenotypów oporności na antybiotyki wśród „alarmowych” drobnoustrojów z rodzaju *Enterococcus spp.* wykazała wysoki odsetek (37%) wśród nich szczepów opornych na wysokie stężenia aminoglikozydów (HLAR). Jest to niepokojące zjawisko, bowiem z klinicznego punktu widzenia ma to podstawowe znaczenie. Marginalnym zaś zjawiskiem było wykrycie wśród enterokoków jednego szczepu opornego na wankomycynę (VRE) i nie był to ani gatunek *E. gallinarum*, ani też *E. casseliflavus*, które to są naturalnie oporne na wankomycynę (tzw. fenotyp Van C, gdzie MIC mieści się w zakresie 2–32 µg/ml) [13].

Jak już wspomniano, korzystnym zjawiskiem był niewielki odsetek izolowania szczepów z rodziny *Enterobacteriaceae*, które produkowały β-laktamazy o rozszerzonym spektrum substratowym (ESBL). Wynosił on w skali całej placówki zaledwie 4,1%. Należy mocno podkreślić, że z definicji takie szczepy oporne są na wszystkie penicyliny (bez połączeń z inhibitorami), cefalosporyny (z wyjątkiem połączeń z inhibitorami i cefamycyn) i monobaktamy (m.in. aztreonam) [18].

Enzymy te są kodowane przez geny zlokalizowane na plazmidach i mogą być przenoszone między różnymi gatunkami pałeczek *Enterobacteriaceae*. Plazmidy, posiadające geny warunkujące ESBL, często zawierają również geny oporności na aminoglikozydy, tetracykliny, trimetoprim, sulfonamidy i chloramfenikol [wg 2]. Indukują więc wielooporność (oporność na co najmniej 3 grupy antybiotyków).

Grupa beta-laktamaz kodowanych chromosomalnie klasy C – tzw. Amp C, produkowane są głównie przez rodzaje *Enterobacter*, *Serratia* i gatunki *Morganella morganii* i *Citrobacter freundii*. Są one zwykle indukowane przez odpowiedni antybiotyk, ale czasami dochodzi do derepresji kodującego je genu i bez obecności antybiotyku następuje nadprodukcja Amp C. W wyniku tego powstaje oporność na cefalosporyny I–III generacji, wszystkie penicyliny (w tym z inhibitorami), aztreonam i inne (wielooporność). Enzym

Amp C nie hydrolizuje karbapenemów, które w jego obecności mogą być skuteczne leczniczo. Niestety, stwierdzono, że β-laktamaza Amp C może być kodowana również na plazmidzie i tą drogą przenoszona na inne gatunki drobnoustrojów [wg 2].

Wśród pałeczek *Enterobacteriaceae*, wyizolowanych w wymienionym okresie na terenie Instytutu Reumatologii, – na szczęście – występowanie szczepów posiadających ESBL i Amp C wyrażało się małymi procentami (tab. II).

Wśród pałeczek Gram-ujemnych niefermentujących zauważono ok. 20% oporność na karbapenemy (leki czasami ostatniej szansy). Zwłaszcza *P. aeruginosa* (pałeczka ropy błękitnej) często może wykazywać oporność na tę grupę antybiotyków, z uwagi na możliwość produkowania przez te drobnoustroje beta-laktamaz o aktywności karbapenemaz, zwanych też metalo-β-laktamazami (MBL), ze względu na udział jonów cynku Zn<sup>2+</sup> jako kofaktorów reakcji hydrolizy antybiotyków beta-laktamowych [21, 22]. Wykrywanie tych enzymów jest dość trudne. Niemniej istnieją metody, które zaleca KORLD i dzięki którym można wykryć część MBL, co ze względów poznawczych zamierza się czynić w pracowni bakteriologicznej IR w przypadku izolacji szczepów Gram-ujemnych niefermentujących, opornych na karbapenemy. Trzeba jednakże pamiętać m.in. o naturalnej oporności na karbapenemy pałeczki niefermentującej *Stenotrophomonas maltophilia* [1], coraz częściej izolowanej w środowisku szpitalnym.

Reasumując, monitorowanie dynamiki pojawiania się tzw. drobnoustrojów „alarmowych” o rzadkich fenotypach oporności na niektóre antybiotyki ma duże znaczenie w terapii empirycznej i celowanej. Klinikista-praktyk powinien uzyskać niezbędną wiedzę, dotyczącą mechanizmów oporności podstawowych grup drobnoustrojów, krążących w środowisku szpitalnym, i podchodzić z pełnym zrozumieniem do wyniku oznaczenia lekowrażliwości.

Systematyczny nadzór bakteriologiczny i jego wyniki powinny służyć jako zwrotna informacja dla lekarzy, co w ramach działalności wielu zespołów ds. zakażeń szpitalnych odbywa się (również w Instytucie Reumatologii – co pół roku), a niniejsza praca jest szerszą analizą danych z 2 lat. Jej rezultaty zwracają uwagę na możliwość pojawienia się, a nawet już występowania pewnych groźnych fenotypów oporności, które sprawiają trudności w eradykacji takich bakterii z organizmu zakażonego i terenu placówki medycznej (kliniki).

#### Piśmiennictwo

1. Hryniewicz W, Sulikowska A, Szczypa K i wsp. Rekomendacje doboru testów do oznaczania wrażliwości bakterii na antybiotyki i chemioterapeutyki. Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego, Warszawa 2006.

2. Gago J, Noworyta J, Ząbek J. Niezbędna wiedza na temat oporności drobnoustrojów na chemioterapeutyki. *Reumatologia* 2004; 42: 64-76.
3. Geiss HK, Mach D, Seifen H. Konsensus dotyczący identyfikacji specjalnych mechanizmów oporności i interpretacji wyników badania antybiotykowrażliwości bakterii Gram(+) i Gram(-) cz. I. *Zakażenia* 2005; 3: 105-112.
4. Geiss HK, Mach D, Seifen H. Konsensus dotyczący identyfikacji specjalnych mechanizmów oporności i interpretacji wyników badania antybiotykowrażliwości bakterii Gram(+) i Gram(-) cz. II. *Zakażenia* 2005; 4: 93-99.
5. Hryniewicz W. Kliniczne znaczenie oporności na antybiotyki – mit czy rzeczywistość. *Klinika Pediatria* 2003; 11: 304-307.
6. Romaniszyn D. Pałeczki Gram(-) w zakażeniach szpitalnych. *Zakażenia* 2005; 5: 28-30.
7. Młynarczyk G, Młynarczyk A, Łuczak M. Mechanizmy oporności na antybiotyki szczepów MRSA/metycylinooporne *Staphylococcus aureus*. *Zakażenia* 2004; 6: 26-31.
8. Noworyta J, Gago J, Ząbek J. Występowanie szczepów gronkowcowych na terenie Instytutu Reumatologicznego w Warszawie, ze szczególnym uwzględnieniem gronkowców metycylinoopornych (MRSA, MR-CNS). *Zakażenia* 1998; 3-4: 35-38.
9. Hryniewicz W. Epidemiology of MRSA. *Infection* 1999; 27 Suppl. 2: S13-16.
10. Krzyszton-Russjan J, Gniadkowski M, Polowniak-Pracka H, et al. The first *Staphylococcus aureus* isolated with reduced susceptibility to vancomycin in Poland. *J Antimicrobiol Chemotherapy* 2002; 50: 1065-1069.
11. Młynarczyk G, Młynarczyk A, Łuczak M. Oporność na antybiotyki glikopeptydowe u ziarenkowców Gram(+). *Zakażenia* 2005; 1: 27-32.
12. Ozorowski T, Konopka L, Zaleska M, Pałynyczko G. Enterokoki odporne na wankomycynę. *Zakażenia* 2003; 1: 34-38.
13. Cetinkaya Y, Falk P, Mayhall CG. Vancomycin – resistant enterococci. *Clin Microbiol Rev* 2000; 13: 686-707.
14. Fiebelkorn KR, Crawford SA, McElmeel ML, et al. Practical disc-diffusion method for detection of inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative *Staphylococci*. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 4740-4744.
15. Leclercq R. Mechanisms of resistance to macrolides and lincosamides: nature of the resistance elements and their clinical implications. *Clin Infect Dis* 2002; 34: 482-492.
16. Gniadkowski M.  $\beta$ -laktamazy o szerokim i rozszerzonym spektrum substratowym oraz  $\beta$ -laktamazy odporne na inhibitory. *Antybiotykoterapia* 1999; 6: 540-543.
17. Giamarelloun H. Multidrug resistance In Gram-negative bacteria that produce extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs). *Clin Microbiol Infect* 2005; 11 Suppl. 4: 1-16.
18. Gniadkowski M, Mrówka A, Baraniak A i wsp. Wykrywanie  $\beta$ -laktamaz o rozszerzonym spektrum substratowym (ESBL) w laboratoriach mikrobiologicznych: ocena testu Vitek ESBL. *Diagn Lab* 2001; 37: 197-206.
19. Jarlier V, Nicolas M, Fournier G, Philippon A. Extended broad-spectrum  $\beta$ -lactamases conferring transferable resistance to newer  $\beta$ -lactam agents in Enterobacteriaceae: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Rev Infect Dis* 1988; 10: 867-878.
20. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for  $\beta$ -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39: 1211-1233.
21. Nordmann P, Poirel L. Emerging carbapenemases in Gram-negative aerobes. *Clin Microbiol Infect* 2002; 8: 321-331.
22. Arakawa Y, Shibata N, Shibayama K, et al. Convenient test for screening metallo-beta-lactamase-producing gram-negative bacteria by using thiol compounds. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 40-43.
23. Laudy AE. Karbapenemazy – enzymy mogące hydrolizować szerokie spektrum  $\beta$ -laktamaz. *Zakażenia* 2003; 4: 32-38.
24. Laudy AE, Starościak BJ. Beta-laktamazy pałeczek z rodziny Pseudomonadaceae. *Post Mikrobiol* 2000; 39: 99-132.
25. Dzierżanowska D. *Antybiotykoterapia praktyczna.  $\alpha$ -medica Press, Bielsko Biała 2005.*