

Interpretace výsledku vyšetření citlivosti k beta-laktamům u enterobakterií produkujících beta-laktamázy hydrolyzující cefalosporiny III. a IV. generace a karbapenemy

Hrabák J.,¹ Žemličková H.,² Bergerová T., Urbášková P.²

¹Ústav mikrobiologie, Lékařská fakulta UK a Fakultní nemocnice v Plzni

²Národní referenční laboratoř pro antibiotika, Státní zdravotní ústav v Praze

SOUHRN

O interpretaci citlivosti k beta-laktamovým antibiotikům u gramnegativních tyček produkujících beta-laktamázy se v současnosti diskutuje v CLSI i v EUCAST, renomovaných institucích doporučujících klinické break-pointy. Článek shrnuje současné poznatky o break-pointech u enterobakterií a navrhuje postup pro klinicko-mikrobiologické laboratoře České republiky.

Klíčová slova: ESBL – AmpC – karbapenemázy – KPC – MBL – interpretace – break-point.

SUMMARY

Hrabák J., Žemličková H., Bergerová T., Urbášková P.: Interpretation of the Susceptibility Test Results in Enterobacteria Producing 3rd and 4th-Generation Cephalosporin- or Carbapenem-Hydrolyzing β -Lactamases

The interpretation of the susceptibility of Gram-negative rods to β -lactams is currently under discussion in CLSI and EUCAST – two authorities on determination of clinical breakpoints. This article summarizes the current knowledge about clinical breakpoints in enterobacteria and proposes guidance for clinical microbiology laboratories in the Czech Republic.

Keywords: ESBL – AmpC – carbapenemases – KPC – MBL – interpretation – breakpoint.

1 Mechanismy rezistence k beta-laktamům u enterobakterií

Syntéza peptidoglykanu, kterou beta-laktamy inhibují, probíhá u enterobakterií v periplazmovém prostoru. Beta-laktamy tak musí proniknout vnější membránou buněčné stěny ke svým cílovým místům (PBP – proteinům vázícím penicilin). Transport je zprostředkován pomocí pasivních přenašečů – porinů [15].

Nejčastějším mechanismem rezistence k beta-laktamům je produkce enzymů hydrolyzujících amidovou vazbu beta-laktamového kruhu – beta-laktamázy [10, 11, 15]. U gramnegativních bakterií je významná také koncentrace antibiotika v periplazmovém prostoru. Ta může být regulována samotnou buňkou v oblasti vstupu beta-laktamu – snížením exprese porinů, případně nahrazením jiným typem porinu, který neumožní postup antibiotika [15]. Dalším regulačním mechanismem je aktivní vypuzení molekuly

antibiotika z buňky efluxem [21]. Oba mechanismy snížení koncentrace antibiotika v periplazmovém prostoru jsou u enterobakterií zdokumentovány [15, 17, 21]. Pokud není k dispozici dostatečná koncentrace antibiotika, nedochází k fatální inhibici syntézy peptidoglykanu a buňka má schopnost přežít ve vyšší koncentraci antibiotika. Tento efekt je často umocněn produkcí beta-laktamázy. Vzájemnou interakcí beta-laktamázy, beta-laktamů a PBP dochází ke kvantitativnímu nárůstu rezistence. Kinetické parametry přítomných beta-laktamázy nemusí odpovídat efektivnímu štěpení beta-laktamu – v řadě případů se jedná o pouhou kompetici mezi beta-laktamázy a PBP. Tento jev je častý zejména u rezistence *Klebsiella pneumoniae* ke karbapenemům [15, 17]. Z uvedených příkladů vyplývá značná složitost mechanismů rezistence k beta-laktamům u enterobakterií, a proto je velmi nesnadné předvídat chování kmene za různých podmínek (různá velikost inokula, různá koncentrace antibiotika atp.).

1. 1 Konstitutivně exprimované beta-laktamázy

Řada klinicky významných beta-laktamáz je exprimována konstitutivně, tzn. produkce enzymu je konstantní. Mezi klinicky nejvýznamnější beta-laktamázy u enterobakterií patří [10, 11, 15, 23]:

- Širokospektré beta-laktamázy (ESBL) – enzymy spadající do skupiny 2be podle Bush et al. [3] (skupina A podle Amblera [1]), schopné hydrolyzovat beta-laktamy všech generací kromě cefamycinů (cefexitin) a karbapenemů, inhibovatelné serinovými inhibitory (kyselinou klavulanovou). Jako příklad enzymů této skupiny lze jmenovat TEM, SHV a CTX-M širokospektré beta-laktamázy.

- Beta-laktamázy AmpC – tyto enzymy skupiny 1, respektive C, jsou obvykle produkovány inducibilně (viz odstavec 1. 2). Hydrolyzují peniciliny a cefalosporiny I.–III. generace nejsou inhibovány serinovými inhibitory beta-laktamáz. Cefalosporiny IV. generace (cefepim) obvykle zůstávají stabilní vůči jejich účinku. Některé enzymy této skupiny (např. inherentní beta-laktamáza typu AmpC nalézaná u většiny kmenů *Escherichia coli*) jsou exprimovány konstitutivně [11].

- Karbapenemázy skupiny 2f (skupiny A podle Amblera [1]) – enzymy hydrolyzující všechny beta-laktamy (včetně karbapenemů), inhibovatelné serinovými inhibitory (kyselinou klavulanovou). Mezi typické příklady patří enzymy KPC – *Klebsiella pneumoniae carbapenemase* [15].

- Karbapenemázy skupiny D – významné především u acinetobakterií a pseudomonád. U enterobakterií je významná karbapenemáza OXA-48 [15].

- Metallo-beta-laktamázy – jedná se o enzymy, u nichž donorem molekuly vody v aktivním místě enzymu jsou obvykle 1–2 zinkové kationty. Dosud popsané enzymy hydrolyzují většinu beta-laktamů kromě monobaktamů (aztreonamu) a nejsou inhibovány klinicky dostupnými inhibitory beta-laktamáz [5].

1. 2 Inducibilně exprimované beta-laktamázy

Expres beta-laktamáz je v některých případech řízena regulační dráhou závislou na syntéze a recyklaci peptidoglykanu [11]. Inducibilita je vlastností genetického uspořádání okolí genu beta-laktamázy. V případě přítomnosti induktoru (např. cefoxitin, imipenem, kyselina klavulanová) dochází ke zvýšení exprese genu beta-laktamázy a k fenotypovému zvýšení rezistence bakteriálního kmene. Inducibilně jsou produkovány především beta-laktamázy AmpC a některé další enzymy, např. beta-laktamázy skupiny A a B podle Amblera u *Stenotrophomonas maltophilia* [15].

O fenoménu inducibility se diskutuje v souvislosti s interpretací výsledků a vzniku tzv. dereprimovaných mutant, tzn. kmenů, u nichž dochází ke konstitutivní produkci vysoké hladiny beta-laktamázy [27]. Lze však konstatovat, že problém inducibility není ještě zcela objasněn. V literatuře uváděné „dereprimované“ kmeny nejsou obvykle dostatečně charakterizovány a může se jednat o další mechanismy (např. změny v permeabilitě buněčné stěny), jak bylo ukázáno např. u kmenů *K. pneumoniae* produkujících AmpC typu DHA-1 s vysokým stupněm rezistence [6].

2 Podklady pro zavedení interpretačních kritérií

Definice klinického break-pointu (hraniční koncentrace) předpokládá odhad klinického efektu léčby daným antibiotikem u daného infekčního agens [8]. Data pro odhad této účinnosti lze získat [19]:

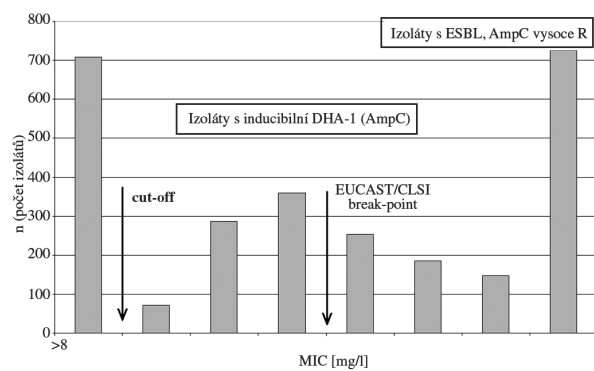
- na základě mikrobiologických analýz, bez znalosti klinické odpovědi léčby. Tato doporučení jsou obvykle hodnocena písmenem C. Podklady pro tyto analýzy jsou dostupné obvykle z in vitro experimentů, např. vyšetření efektu inokula, stanovením křivek letálního účinku atp., případně extrapolací již dříve popsané situace u podobného případu (např. hodnocení producentů karbapenemů v rezistentní kategorii jako analogie interpretace cefalosporinů u producentů ESBL);

- existuje-li pouze omezené množství popsaných případů úspěchu/neúspěchu léčby (omezeno na jednotlivé kazuistiky), popř. je efekt antibiotické terapie zdokumentován na modelu (většinou zvířecím, popř. jen matematickým). Evidence pro tuto kategorizaci je hodnocena písmenem B;

- pokud dostatečný počet klinických studií prokazuje efekt, případně neúčinnost antibiotika, jedná se o nejlepší způsob pro tvorbu interpretačních kritérií, hodnocený písmenem A.

Situace u enterobakterií je historicky komplikována analýzou klinické odpovědi léčby infekcí způsobených producenty ESBL cefalosporiny III. a IV. generace. V případě produkce karbapenemů lze očekávat shodný efekt jako v případě ESBL a cefalosporinů vyšších generací. Provedení kontrolovaných klinických studií není etické, a proto je nelze realizovat.

Dalším významným rozhodovacím kritériem je zjištění distribuce MIC, případně průměrů inhibičních zón (IZ) u dostatečného počtu kmenů (obr. 1) [7, 8]. Získané křivky, srovnané s distribucí u divoké populace, umožňují detekci změn v bakteriální populaci, tzn. vznik rezistence. Distribuci divoké populace lze nalézt na stránkách <http://www.eucast.org>.



Obr. 1. Distribuce MIC [mg/l] cefotaximu u izolátů *Klebsiella pneumoniae* (n = 2 741) ve FN Plzeň za období červenec 2009 až červenec 2010 s vyznačením epidemiologického cut-off, break-pointu pro citlivost k cefotaximu podle EUCAST i CLSI, včetně ukázky některých mechanismů rezistence

Fig. 1. Cefotaxim MIC [mg/l] distribution in *Klebsiella pneumoniae* isolates (n = 2 741) in the University Hospital Plzeň from July 2009 to July 2010, epidemiological cut-off values and breakpoints for cefotaxim according to EUCAST and CLSI indicated, some resistance mechanisms presented for illustration

3 Interpretační kritéria u enterobakterií – historický vývoj

V souvislosti s negativními zkušenostmi s léčbou cefalosporiny u infekcí způsobených producenty ESBL bylo navrženo interpretovat tyto kmeny jako rezistentní k cefalosporinům všech generací [10, 23]. Riziko selhání léčby cefalosporiny dokumentuje řada prací publikovaných v renomovaných časopisech [9, 18, 24, 25].

Ke zmírnění pravidel došlo vydáním expertních kritérií pro testování citlivosti k antibiotikům skupinou EUCAST v roce 2008 [19]. Tato kritéria doporučovala interpretovat kmen produkující ESBL jako intermediární (I) k cefalosporinům, pokud MIC (průměr IZ) byla v citlivé kategorii, a jako rezistentní (R), byla-li MIC, respektive IZ, v intermediární kategorii.

Nové vydání doporučení EUCAST, respektive CLSI, navrhuje neuvádět produkci ESBL, tedy neinterpretovat výsledky vyšetření k cefalosporinům podle produkce tohoto enzymu, nýbrž podle hodnot MIC a přítomnosti těchto enzymů testovat pouze pro epidemiologické účely [4, 7]. Zmíněný stav souvisí se šířením rezistence ke karbapenemům, které jsou nyní léky volby u infekcí způsobených producenty ESBL, a se snahou o maximální zachování účinnosti těchto antibiotik a rovněž i s možnostmi klinicko-mikrobiologických laboratoří, které v současnosti musí vyšetření citlivosti rozšiřovat o celou řadu doplňkových testů.

Obdobně jako u producentů ESBL, i v případě karbapenemů a producentů karbapenemáz byla zvolena cesta snižování klinického break-pointu (hraniční koncentrace) [4, 7] namísto rutinního průkazu přítomnosti těchto enzymů.

4 Klinický efekt cefalosporinů při léčbě infekcí způsobených producenty klinicky významných beta-laktamáz

Vývoj interpretačních kritérií uvedený v odstavci 3 nemění nic na skutečnosti, že cefalosporiny nejsou vhodné pro léčbu infekcí způsobených producenty ESBL. Selhání léčby těmito antibiotiky je velmi dobře zdokumentováno v souhrnném článku publikovaném Ramphalem a Ambrosem [25]. Jako konkrétní případy lze uvést práci Patersona et al. [24]. Autoři zjistili, že u bakteriemií, jejichž příčinou byl producent ESBL s MIC cefalosporinů 1 mg/l, došlo k selhání léčby (smrti pacienta) v 27 % případů. Při hodnotách MIC 2 mg/l selhala léčba u 33 % pacientů. Jestliže byl cefalosporin podán u infekcí kmenem s MIC 8 mg/l, došlo k úmrtí 100 % pacientů. Na efekt léčby cefalosporiny neměla vliv ani případná kombinace s aminoglykosidy. Podobné výsledky jsou prezentovány v dalších studiích [9, 18].

Rovněž u producentů získané AmpC jsou popsány závažné případy selhání léčby cefalosporiny vyšších generací [22]. Problematika producentů AmpC je komplikována ještě skutečností, že u těchto kmenů může dojít k relativně snadné in vivo selekci rezistence ke karbapenemům způsobené změnami v permeabilitě buněčné stěny [15, 17]. Na základě dostupných dat je tento jev dosud nepredikovatelný.

U producentů KPC bylo také popsáno selhání léčby karbapenemem, přestože MIC původců k těmto látkám byla relativně nízká (0,25, respektive 2 mg/l) [28]. V citované práci bylo popsáno selhání léčby karbapenemem (případně v kombinaci s tigeckylinem) v 60 % případů infekcí kmeny s MIC 2 mg/l.

5 Epidemiologická situace a možnosti diagnostiky klinicky významných beta-laktamáz v České republice

Detailní molekulárně-epidemiologická studie byla v České republice (ČR) provedena u producentů ESBL i získané AmpC [6, 12]. Bylo zjištěno, že se u nás nachází mezinárodně rozšířené klony producentů beta-laktamáz (ST131 u *Escherichia coli*, CC11 u *Klebsiella pneumoniae*). Rovněž beta-laktamázy, jejichž geny jsou neseny na plazmi-

dech určitých replikonových typů, jsou typické pro tyto kmeny (u *E. coli* ESBL typu CTX-M-15, jejíž gen je nesen na plazmidu typu inkompatibilitě FII). U kmenů *Klebsiella pneumoniae* byla zjištěna beta-laktamáza AmpC typu DHA-1. Její genová kazeta je součástí komplexního integronu třídy 1 [6]. Rozšíření tohoto typu beta-laktamázy je ve srovnání s okolními státy raritní.

Rovněž metalo-beta-laktamázy byly zaznamenány na území ČR [14]. Velmi významný je záchyt karbapenemázy KPC-2 u kmene *Klebsiella pneumoniae* na severní Moravě (Hrabák, J., Žemličková, H., článek připraven ke zveřejnění). Jedná se o kmen náležející k mezinárodnímu klonu ST258 (spadá do klonálního komplexu CC11) s vysokým epidemickým potenciálem.

Vyšetřování produkce klinicky významných beta-laktamáz provádí řada klinicko-mikrobiologických laboratoří podle doporučených metodik [13, 16]. Problematika detekce ESBL a získané AmpC se provádí zcela rutinně a nepřináší komplikace ve většině různých variant kombinací beta-laktamáz. Rozšíření enzymu DHA-1 a vznik kmenů rezistentních ke karbapenemům [17] však znemožňuje efektivní detekci karbapenemáz KPC dostupnými metodami v podmínkách rutinní mikrobiologické laboratoře [20].

Rutinní diagnostika ESBL a AmpC v českých laboratořích umožňuje získat kvalitní údaje, které jsou nezbytné pro epidemiologické účely.

6 Doporučení pro interpretaci vyšetření citlivosti k beta-laktamům u producentů klinicky významných beta-laktamáz

Pro snížení počtu pochybení se nadále nedoporučuje rutinně uvádět do výsledku kategorii intermediární citlivosti [26]. Na základě skutečností uvedených v předchozích odstavcích lze navrhnout:

1. U kmenů, u nichž je indikováno rozšíření vyšetření citlivosti k antibiotikům, vyšetřovat citlivost k ceftazidimu a cefotaximu jako indikátorů produkce ESBL, respektive získané AmpC, a případně alespoň k jednomu z karbapenemů. Jako indikátor rezistence ke karbapenemům je nejvhodnější ertapenem, který by však **neměl být uváděn** do výsledku. Hodnoty MIC nebo průměry IZ se interpretují podle break-pointů uvedených v tabulce 1.

2. V indikovaných případech u kmenů se sníženou citlivostí k cefalosporinům (viz metodika [13, 16]) provádět průkaz širokospektré beta-laktamázy (ESBL) a u kmenů enterobakterií, u nichž nejsou přítomny inherentní beta-laktamázy AmpC (např. *Klebsiella pneumoniae*) provádět průkaz

tohoto typu beta-laktamázy podle doporučené metodiky [13, 16].

3. Při **průkazu ESBL a získané AmpC kmen rutinně neuvádět jako citlivý** k cefalosporinům všech generací a penicilinům (včetně kombinací s inhibitory). Stále platí doporučení uvedené v publikaci [23], kdy karbapenemy jsou léky volby u většiny závažných infekcí způsobených producenty ESBL. Následující výjimky lze aplikovat pouze v případě, že je kmen v citlivé kategorii podle break-pointů uvedených v tabulce 1:

a) Podání cefalosporinů, respektive penicilinů s inhibitory lze zvažovat pouze v určitých klinických situacích, za nutné konzultace s ošetřujícím lékařem a jeho výslovným upozorněním na možnost selhání léčby těmito antibiotiky. V každém případě je nutné monitorování účinnosti léčby dostupnými nástroji (biochemické markery, mikrobiologické sledování);

b) U lehkých močových infekcí lze zvažovat podání kombinace beta-laktam s inhibitory beta-laktamáz (např. amoxicilin/kyselina klavulanová) [23] – důležité v souvislosti se šířením producentů ESBL v komunitě.

4. Kmeny se zvýšenou MIC, případně sníženým průměrem IZ k některému z karbapenemů, považovat za suspektní producenty karbapenemáz a provést ověření podle doporučené metodiky [13], případně zaslat k ověření referenční metodou (NRL pro antibiotika nebo LF UK a FN v Plzni). K ověření musí být kmen zaslán vždy, pokud se jedná o vysoce suspektního producenta některé z karbapenemáz. Výsledek se interpretuje následujícím způsobem:

a) Při ověření produkci karbapenemázy neuvádět do výsledku kmeny jako citlivé ke karbapenemům ani v případě, že MIC (průměr IZ) je v citlivé kategorii (viz tab. 1). Na produkci karbapenemáz musí být upozorněn ošetřující lékař a ústavní epidemiolog, neboť se jedná o epidemiologicky závažnou situaci srovnatelnou s výskytem MRSA [2, 5].

b) Je-li prokázán jiný mechanismus rezistence (např. změny buněčné stěny, eflux se současnou produkcí AmpC a/nebo ESBL), lze se řídit podle break-pointů uvedených v tabulce 1. Je však vhodné upozornit na tuto skutečnost ošetřujícího lékaře, neboť pro interpretaci takových výsledků neexistují relevantní klinická data.

c) Kmeny inhibované > 1 mg/l (IZ < 23 mm) imipenemu, respektive meropenemu jsou podle interpretačních kritérií CLSI [4] necitlivé, podle EUCAST [7] jsou stále v citlivé kategorii. Vzhledem k možné produkci neidentifikovaných karbapenemáz nelze u infekcí způsobených takovými kmeny vyloučit selhání léčby karbapenemy.

5. Při kolonizaci pacienta kmenem produkujícím některou z klinicky významných beta-laktamáz

Tabulka 1. Interpretační kritéria pro citlivost enterobakterií EUCAST [7] k některým cefalosporinům a karbapenemům**Table 1.** EUCAST interpretation criteria for enterobacterial susceptibility [7] to some cephalosporins and carbapenems

Antibiotikum	Hraniční hodnota MIC pro citlivé kmeny [mg/l]	Obsah disku [µg]	Hraniční hodnota inhibiční zóny pro citlivé kmeny [mm]
Cefepim	≤ 1	30	≥ 21
Cefotaxim	≤ 1	5	≥ 21
Ceftazidim	≤ 1	10	≥ 21
Ceftriaxon	≤ 1	30	≥ 23
Doripenem	≤ 1	10	≥ 24
Ertapenem	≤ 0,5	10	≥ 25
Imipenem	≤ 2	10	≥ 21
Meropenem	≤ 2	10	≥ 22

(ESBL, získaná AmpC, karbapenemáza) nejsou antibiotika indikována.

7 Závěr

Interpretační kritéria pro citlivost producentů beta-laktamáz k beta-laktamům se neustále vyvíjejí. Na jedné straně proti sobě stojí riziko selhání léčby, na druhé rychlá selekce rezistence k lékům volby u producentů beta-laktamáz – karbapenemům, následně kolistinu. Je proto nezbytně nutné vážit obě rizika v konkrétních klinických situacích a ošetřujícímu lékaři poskytnout relevantní argumenty o dané skutečnosti.

Literatura

- Ambler, R. P. The structure of β -lactamases. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. Biol.*, 1980, 289, p. 321–331.
- Bergerová, T., Hedlová, D., Jindrák, V., Urbášková, P. et al. Doporučený postup pro kontrolu výskytu kmenů *Staphylococcus aureus* rezistentních k oxacilinu (MRSA) a s jinou nebezpečnou antibiotickou rezistencí ve zdravotnických zařízeních. *Prakt. Lék.*, 2006, 86, s. 500–506. Dostupný na [www: http://www.cls.cz/dokumenty/dp_mrsa.doc](http://www.cls.cz/dokumenty/dp_mrsa.doc)
- Bush, K., Jacoby, G. A., Medeiros, A. A. A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1995, 39, p. 1211–1233.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twentieth informational supplement*. CLSI Document M100-S-20, PA, USA, 2010.
- Cornaglia, G., Akova, M., Amicosante, G., Cantón, R. et al. Metallo- β -lactamases as emerging resistance determinants in Gram-negative pathogens: open issues. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 2007, 29, p. 380–388.
- Empel, J., Hrabák, J., Kozińska, A., Bergerová, T. et al. DHA-1-producing *Klebsiella pneumoniae* in a teaching hospital in the Czech Republic. *Microb. Drug Res.*, 2010, 16, p. 291–295.
- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 1.1 April 2010. Dostupné na [www: http://www.eucast.org](http://www.eucast.org)
- European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) Determination of antimicrobial susceptibility test breakpoints. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2000, 6, p. 570–572.
- Ho, P. L., Chan, W. M., Tsang, K. W., Wong, S. S. et al. Bacteremia caused by *Escherichia coli* producing extended-spectrum beta-lactamase: a case-control study of risk factors and outcomes. *Scand. J. Infect. Dis.*, 2002, 34, p. 567–573.
- Hrabák, J. Klinicky významné β -laktamázy gramnegativních bakterií: širokospektré β -laktamázy (ESBL). *Epidemil. Mikrobiol. Imunol.*, 2007, 56, s. 103–111.
- Hrabák, J. Klinicky významné β -laktamázy gramnegativních bakterií: AmpC. *Epidemil. Mikrobiol. Imunol.*, 2007, 56, p. 155–165.
- Hrabák, J., Empel, J., Bergerová, T., Fajfrlík, K. et al. International clones of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* with extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) in a Czech hospital. *J. Clin. Microb.*, 2009, 47, p. 3353–3357.
- Hrabák, J., Bergerová, T., Žemličková, H., Urbášková, P. Detekce širokospektrých β -laktamáz (ESBL), β -laktamáz AmpC, metalo- β -laktamáz (MBL) a karbapenemáz KPC u gramnegativních tyčků. *Zprávy CEM*, 2009, 18, s. 100–106.
- Hrabák, J., Fridrichová, M., Štolbová, M., Bergerová, T. et al. First identification of metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* in the Czech Republic. *Euro Surveill*, 2009, 14, p. 19102.
- Hrabák, J., Chudáčková, E. Rezistence enterobakterií ke karbapenemům. *Epidemil. Mikrobiol. Imunol.*, 2008, 57, p. 125–136.
- Hrabák, J., Vaniš, V., Bergerová, T., Urbášková, P. Průkaz β -laktamáz širokého spektra (ESBL) a typu AmpC u enterobakterií. *Zprávy CEM*, 2007, 16, s. 31–36.
- Chudáčková, E., Bergerová, T., Fajfrlík, K., Červená, D. et al. Carbapenem-non-susceptible strains of *Klebsiella pneumoniae* producing SHV-5 and/or DHA-1 β -lactamases in a Czech hospital. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2010, v tisku.
- Kim, Y. K., Pai, H., Lee, H. J., Park, S. E. et al. Bloodstream infections by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in children: epidemiology and clinical outcome. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2002, 46, p. 1481–1491.
- Leclercq, R., Cantón, R., Giske, C. et al. Expert rules in antimicrobial susceptibility testing. EUCAST, 2008. Dostupné na [www: http://www.escmid.org/fileadmin/src/media/PDFs/4ESCMID_Library/3Publications/EUCAST](http://www.escmid.org/fileadmin/src/media/PDFs/4ESCMID_Library/3Publications/EUCAST)

- _Documents/Other_Documents/EUCAST_Expert_rules_final_April_20080407.pdf.
20. **Miriagou, V., Cornaglia, G., Edelstein, M., Galani, I. et al.** Acquired carbapenemases in Gram-negative bacterial pathogens: detection and surveillance issues. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2010, 16, 112–122.
 21. **Pages, J. M., Lavigne, J. P., Leflon-Guibout, V., Marcon, E. et al.** Efflux pump, the masked side of beta-lactam resistance in *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates. *PLoS One*, 2009, p. e4817.
 22. **Pai, H., Kang, Ch.-I., Byeon, J.-H., Lee, K.-D. et al.** Epidemiology and clinical features of bloodstream infections caused by AmpC-type- β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2004, 48, p. 3720–3728.
 23. **Paterson, D. L., Bonomo, R. A.** Extended-spectrum β -lactamases: a clinical update. *Clin. Microb. Rev.*, 2005, 18, p. 657–686.
 24. **Paterson, D. L., Ko, W. C., Von Gottberg, A., Casellas, J. M. et al.** Outcome of cephalosporin treatment for serious infections due to apparently susceptible organisms producing extended-spectrum beta-lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory. *J. Clin. Microbiol.*, 2001, 39, p. 2206–2212.
 25. **Ramphal, R., Ambrose, P. G.** Extended-spectrum β -lactamases and clinical outcomes: current data. *Clin. Infect. Dis.*, 2006, 42, Suppl. 4, p. 1640–172.
 26. **Urbášková, P.** *Rezistence bakterií k antibiotikům. Vybrané metody.* Praha: Trios, 1998.
 27. **Urbášková, P., Hrabák, J., Žemličková, H.** Přirozené a získané β -laktamázy AmpC: interpretace indukce, hyperprodukce a dereprese. *Zprávy epidemiologie a mikrobiologie*, 18, 2009, p. 209–211.
 28. **Weisenberg, S. A., Morgan, D. J., Espinal-Witter, R., Larone, D. H.** Clinical outcomes of patients with *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae* after treatment with imipenem or meropenem. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, 2009, 64, p. 233–235. Do redakce došlo dne 00. 00. 2010.

Práce byla podpořena granty NS9717-4/2008 a MŠMT 2E08003.

Adresa pro korespondenci:

Ing. Jaroslav Hrabák, Ph.D.

Ústav mikrobiologie

Lékařská fakulta UK a Fakultní nemocnice v Plzni

Alej Svobody 80

323 00 Plzeň

e-mail: Jaroslav.Hrabak@lfp.cuni.cz