

# **Eksperckie zasady interpretacji wyników oznaczania lekowrażliwości drobnoustrojów – zalecenia EUCAST**

## **Wersja 2.0**

**Polskie tłumaczenie pod red. prof. dr hab. n. med. Walerii Hryniewicz**

Roland Leclercq<sup>1,2</sup>, Rafael Cantón<sup>2,3,4</sup>, Derek F.J. Brown<sup>4</sup>, Christian G. Giske<sup>2,4,5</sup>, Peter Heisig<sup>2,6</sup>, Alasdair P. MacGowan<sup>4,7</sup>, Johan W. Mouton<sup>4,8</sup>, Patrice Nordmann<sup>2,9</sup>, Arne C. Rodloff<sup>4,10</sup>, Gian Maria Rossolini<sup>2,11</sup>, Claude-James Soussy<sup>4,12</sup>, Martin Steinbakk<sup>4,13</sup>, Trevor G. Winstanley<sup>2,14</sup>, Gunnar Kahlmeter<sup>4,15</sup>

*1) Laboratoire de Microbiologie, CHU Côte de Nacre, Caen, France; 2) EUCAST Subcommittee on Expert Rules; 3) Servicio de Microbiología and CIBER en Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), Hospital Universitario Ramón y Cajal, Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria (IRYCIS), Madrid, Spain; 4) EUCAST Steering Committee; 5) Clinical Microbiology, MTC-Karolinska Institutet, Karolinska University Hospital, Solna, Sweden; 6) Department of Pharmacy Biology & Microbiology, University of Hamburg, Germany; 7) Department of Medical Microbiology, Southmead Hospital, Bristol, UK; 8) Department of Medical Microbiology, Radboud University Nijmegen Medical Centre, The Netherlands; 9) Service de Bactériologie-Virologie, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France; 10) Inst für Medizinische Mikrobiologie der Universität Leipzig, Germany; 11) Dip. di Biotecnologie, Sezione di Microbiologia, Siena, Italy; 12) Hôpital Henri Mondor, Service de Bactériologie, Creteil, France; 13) Department of Bacteriology and Immunology. Division of Infectious Disease Control. Norwegian Institute of Public Health. Oslo, Norway; 14) Department of Microbiology, Royal Hallamshire Hospital, Sheffield, UK; 15) Clinical microbiology, Central hospital, Växjö, Sweden*

Dokument opublikowany w *Clinical Microbiology and Infection* 2013; 19: 141-160; opublikowany online 25.11.2011.

## **Streszczenie**

„Eksperskie zasady interpretacji wyników oznaczania lekowrażliwości drobnoustrojów – zalecenia EUCAST” zostały opracowane dla mikrobiologów klinicznych i opisują działania, które należy podjąć w przypadku otrzymania określonych wyników oznaczania lekowrażliwości. Zawierają one wskazówki dotyczące raportowania, takie jak wnioskowanie o wrażliwości na inne antybiotyki na podstawie wyniku oznaczania wrażliwości na określony lek, pomijanie wyników, które mogą być niewłaściwe dla danego drobnoustroju oraz zmiany wyniku oznaczania lekowrażliwości z kategorii „wrażliwy” na kategorię „średniowrażliwy” i z kategorii „średniowrażliwy” na kategorię „oporny” w związku z wykryciem mechanizmu oporności. Są oparte o aktualne dowody kliniczne i/lub mikrobiologiczne. Eksperskie zasady interpretacji EUCAST zawierają również informacje o fenotypach oporności naturalnej (oporności własnej) i nietypowych fenotypach oporności, które nie były dotychczas stwierdzane lub są bardzo rzadkie. Stosowanie eksperckich zasad interpretacji EUCAST jest ściśle związane z wartościami granicznych minimalnych stężeń hamujących MIC, użytych do ich zdefiniowania. Wyznaczenie odpowiednich klinicznych wartości granicznych, powiązanych z leczeniem pacjentów, a nie z wykryciem mechanizmów oporności może w przyszłości prowadzić do zmiany niektórych z zasad interpretacji wyników oznaczeń lekowrażliwości drobnoustrojów.

## **Wstęp**

Oznaczanie lekowrażliwości drobnoustrojów jest codziennym zadaniem w klinicznych laboratoriach mikrobiologicznych na całym świecie. Fachowa wiedza na temat interpretacji wyników oznaczania lekowrażliwości niezbędna jest w związku z narastającym rozpowszechnieniem i złożonością mechanizmów oporności oraz wpływu oporności na terapię. W oznaczaniu lekowrażliwości drobnoustrojów zasady interpretacji wyników opisują działania, które należy podjąć w przypadku otrzymania określonego wyniku badania lekowrażliwości. Zasady eksperckie są oparte o aktualne wartości graniczne i wiedzę na temat mechanizmów oporności. Sformułowane przez ekspertów zasady interpretacji mogą pomóc mikrobiologom w prawidłowej interpretacji wyników oznaczania lekowrażliwości [1], ale wraz ze zmianami wartości granicznych i w wyniku odkrycia nowych mechanizmów oporności mogą się stać bezużyteczne lub wymagać zmiany. Stosowanie zasad interpretacji może się również przyczynić do zapewnienia jakości badań poprzez zwrócenie uwagi na wyniki nieprawidłowe lub nieprawdopodobne [2-5]. „Eksperskie zasady interpretacji

wyników oznaczania lekowrażliwości drobnoustrojów – zalecenia EUCAST”, opublikowane po raz pierwszy w 2008 roku (<http://www.eucast.org>) są podzielone na następujące zagadnienia: oporność naturalna (oporność własna), nietypowe fenotypy oporności oraz zasady interpretacji wyników oznaczania lekowrażliwości. W tym dokumencie zawarto drugą wersję zasad interpretacji, która została uaktualniona w odniesieniu do obecnie stosowanych wartości granicznych EUCAST.

## **Oporność naturalna**

Oporność naturalna (oporność własna), w przeciwieństwie do oporności nabytej i/lub mutacyjnej jest charakterystyczna dla wszystkich lub niemal wszystkich izolatów danego gatunku bakterii. Oporność naturalna na lek oznacza, że aktywność przeciwbakteryjna leku jest klinicznie niewystarczająca lub oporność na lek jest wrodzona, co powoduje, że lek jest klinicznie bezużyteczny. Oznaczanie wrażliwości na taki lek jest niepotrzebne, aczkolwiek może być wykonane, jeśli lek wchodzi w skład stosowanego rutynowo panelu antybiotyków. Wynik „wrażliwy” otrzymany w oznaczeniu lekowrażliwości u gatunków z naturalną opornością należy traktować z ostrożnością, gdyż oznacza on najprawdopodobniej błąd identyfikacji lub błąd oznaczenia lekowrażliwości. Nawet w przypadku potwierdzenia wrażliwości najlepiej byłoby nie stosować takiego leku, lub jeśli nie ma innego wyboru stosować go z dużą ostrożnością. W niektórych przypadkach oporność naturalna na dany lek może być wyrażana na niskim poziomie, z wartościami MIC zbliżonymi do wartości granicznej dla kategorii „wrażliwy”, tym niemniej lek jest uznawany za klinicznie nieaktywny. Zdarzają się również przypadki, gdy lek wydaje się w pełni aktywny *in vitro* (wartości MIC pozostają w zakresie wartości charakteryzujących szczepy dzikie), ale jest nieaktywny *in vivo*. Takie informacje nie są na ogół zamieszczane w tabelach, ponieważ zagadnienie to odnosi się raczej do rekomendacji terapeutycznych. Przykładami oporności naturalnej są: oporność na glikopeptydy lub linezolid u *Enterobacteriaceae*, oporność na nitrofurantoinę i na kolistynę u *Proteus mirabilis*, oporność na kolistynę u *Serratia marcescens*, oporność na karbapenemy u *Stenotrophomonas maltophilia*, oporność na aztreonam u bakterii Gram-dodatnich oraz oporność na kwas fusydowy u enterokoków (Tabele 1-4).

**Tabela 1: Oporność naturalna rodziny Enterobacteriaceae.**

Enterobacteriaceae wykazują także oporność naturalną na penicylinę benzylową, glikopeptydy, kwas fusydowy, makrolidy (z pewnymi wyjątkami<sup>a</sup>), linkozamidy, streptograminy, rifampicynę, daptomycynę oraz linezolid.

Zasada nr	Organizmy	Ampicylina	Amoksycylina kw.klawulanowy	Tikarcylina	Piperacylina	Cefazolina	Cefoksytyna	Cefamandol	Cefuroksym	Aminoglikozydy	Tetracykliny/Tigecyklina	Polimyksyna B/Kolistyna	Nitrofurantoina
1.1	<i>Citrobacter koseri</i>	R	-	R	R	-	-	-	-	-	-	-	-
1.2	<i>Citrobacter freundii</i>	R	R	-	-	R	R	-	-	-	-	-	-
1.3	<i>Enterobacter cloacae</i>	R	R	-	-	R	R	-	-	-	-	-	-
1.4	<i>Enterobacter aerogenes</i>	R	R	-	-	R	R	-	-	-	-	-	-
1.5	<i>Escherichia hermannii</i>	R	-	R	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1.6	<i>Hafnia alvei</i>	R	R	-	-	R	-	-	-	-	-	-	-
1.7	<i>Klebsiella spp.</i>	R	-	R	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1.8	<i>Morganella morganii</i>	R	R	-	-	R	-	-	R	-	R	R	R
1.9	<i>Proteus mirabilis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	R	R	R
1.10	<i>Proteus vulgaris</i>	R	-	-	-	R	-	R	R	-	R	R	R
1.11	<i>Proteus penneri</i>	R	-	-	-	R	-	R	R	-	R	R	R
1.12	<i>Providencia rettgeri</i>	R	R	-	-	R	-	-	-	-	R	R	R
1.13	<i>Providencia stuartii</i>	R	R	-	-	R	-	-	-	Uwaga <sup>b</sup>	R	R	R
1.14	<i>Serratia marcescens</i>	R	R	-	-	R	-	R	R	Uwaga <sup>c</sup>	-	R	R
1.15	<i>Yersinia enterocolitica</i>	R	R	R	-	R	R	R	-	-	-	-	-
1.16	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	R	-

R = oporny

<sup>a</sup>Azytromycyna wykazuje skuteczność *in vivo* w leczeniu duru brzuszego, a erytromycyna może być stosowana do leczenia biegunki podróżnych.

<sup>b</sup>*Providencia stuartii* produkuje chromosomalny enzym AAC(2')-Ia i należy ją uważać za oporną na wszystkie dostępne klinicznie aminoglikozydy, z wyjątkiem amikacyny, arbekacyny i streptomycyny. Niektóre izolaty wykazują słabą ekspresję enzymu i w oznaczeniach *in vitro* wydają się wrażliwe na netylmycynę, jednak powinny być raportowane jak odporne, ponieważ mutacja może prowadzić do nadprodukcji tego enzymu.

<sup>c</sup>Wszystkie *Serratia marcescens* produkują chromosomalny enzym AAC(6')-Ic, który ogranicza aktywność wszystkich dostępnych klinicznie aminoglikozydów, z wyjątkiem streptomycyny, gentamicyny i arbekacyny.

**Tabela 2: Oporność naturalna bakterii Gram-ujemnych niefermentujących.**

Bakterie Gram-ujemne niefermentujące wykazują także oporność naturalną na penicylinę benzylową, cefoksytynę, cefamandol, cefuroksym, glikopeptydy, kwas fusydowy, makrolidy, linkozamidy, streptograminy, rifampicynę, daptomycynę oraz linezolid.

Zasada nr	Organizmy	Ampicylina	Amoksycylina kw.klawulanowy	Tikarcylina	Tikarcylina kw.klawulanowy	Piperacylina	Piperacylina tazobaktam	Cefazolina	Cefotaksym	Ceftriakson	Ceftazydym	Ertapenem	Imipenem	Meropenem	Ciprofloksacyna	Chloramfenikol	Aminoglikozydy	Trimetoprim	Trimetoprim/Sulfametoksazol	Fosfomycyna	Tetracykliny/Tigecyklina	Polimyksyna B/Kolistyna
2.1	<i>Acinetobacter baumannii</i> <i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	R <sup>a</sup>	R <sup>a</sup>	-	-	-	-	R	R	R	-	R	-	-	-	-	-	R	-	R	-	-
2.2	<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	R	-	-	-	-	-	R	R	R	-	R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2.3	<i>Burkholderia cepacia complex</i> <sup>2</sup>	R	R	R	R	-	-	R	-	-	-	R	R	-	R	R	R <sup>c</sup>	R	-	R	-	R
2.4	<i>Elizabethkingia meningoseptica</i>	R	-	R	R	-	-	R	R	R	R	R	R	R	-	-	-	-	-	-	-	R
2.5	<i>Ochrobactrum anthropi</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2.6	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	R	R	-	-	-	-	R	R	R	-	R	-	-	-	R	Uwaga <sup>d</sup>	R <sup>e</sup>	R <sup>e</sup>	-	R	-
2.7	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	R	R	R	-	R	R	R	R	R	R <sup>f</sup>	R	R	R	-	-	R <sup>c</sup>	R <sup>g</sup>	-	R	-	-

R = oporny

<sup>a</sup>*Acinetobacter baumannii* może wykazywać wrażliwość na połączenia ampicylina – sulbaktam, ze względu na aktywność sulbaktamu wobec tego gatunku.

<sup>b</sup>*Burkholderia cepacia complex* obejmuje różne gatunki bakterii. Niektóre szczepy mogą wykazywać wrażliwość na niektóre antybiotyki β laktamowe *in vitro* lecz klinicznie wykazują oporność, co jest ujęte w tabeli.

<sup>c</sup>*Burkholderia cepacia* oraz *Stenotrophomonas maltophilia* wykazują oporność naturalną na wszystkie aminoglikozydy. Oporność naturalną przypisuje się niskiej przepuszczalności osłon komórkowych oraz czynnemu usuwaniu leku z komórki. Dodatkowo większość *Stenotrophomonas maltophilia* wytwarza enzym AAC(6')-Ic.

<sup>d</sup>*Pseudomonas aeruginosa* wykazuje naturalną oporność na kanamycynę i neomycynę, związaną z niską aktywnością enzymu APH(3')-IIb.

<sup>e</sup>*Pseudomonas aeruginosa* zazwyczaj wykazuje oporność naturalną na trimetoprim oraz umiarkowaną wrażliwość na sulfonamidy. Należy uznawać go także za oporny na trimetoprim/sulfametoksazol, chociaż może wykazywać wrażliwość *in vitro*.

<sup>f</sup>*Stenotrophomonas maltophilia* należy uznawać za oporny na ceftazydym, chociaż może wykazywać niskie wartości graniczne MIC.

<sup>g</sup>*Stenotrophomonas maltophilia* zazwyczaj wykazuje wrażliwość na trimetoprim/sulfametoksazol, ale oporność na sam trimetoprim.

**Tabela 3: Oporność naturalna bakterii Gram-ujemnych innych niż rodziny Enterobacteriaceae oraz Gram-ujemne niefermentujących.** Wszystkie inne bakterie Gram-ujemne niż wyżej wymienione wykazują także naturalną oporność na glikopeptydy, linkozamidy, daptomycynę oraz linezolid.

Zasada nr	Organizmy	Makrolidy	Kwas fusydowy	Streptograminy	Trimetoprim	Kwas nalidyksowy
3.1	<i>Haemophilus influenzae</i>	I	R	-	-	-
3.2	<i>Moraxella catarrhalis</i>	-	-	-	R	-
3.3	<i>Neisseria spp.</i>	-	-	-	R	-
3.4	<i>Campylobacter fetus</i>	-	R	R	R	R
3.5	<i>Campylobacter jejuni</i> , <i>Campylobacter coli</i>	-	R	R	R	-

R = oporny; I = średniowrażliwy

### Wyjątkowe fenotypy oporności

Wyjątkowe fenotypy oporności to fenotypy oporności na antybiotyki, które nie były dotychczas stwierdzane lub są bardzo rzadkie. Wyjątkowe fenotypy oporności należy weryfikować, ponieważ ich stwierdzenie może oznaczać błąd identyfikacji lub błąd oznaczania lekowrażliwości. Jeśli wyjątkowy fenotyp oporności został potwierdzony w laboratorium wykonującym oznaczenie lekowrażliwości, izolat należy poddać dodatkowym badaniom potwierdzającym oraz wysłać do laboratorium referencyjnego lub innego laboratorium, posiadającego doświadczenie w oznaczeniach lekowrażliwości i wykrywaniu mechanizmów oporności, w celu wykonania niezależnego potwierdzenia. Lista wyjątkowych fenotypów może się zmieniać wraz z narastaniem oporności i z upływem czasu. Mogą również występować lokalne, regionalne lub krajowe różnice w częstości występowania wyjątkowych fenotypów oporności i fenotypy bardzo rzadkie w jednym szpitalu, na jednym obszarze lub w jednym kraju, mogą być powszechne w innym. Przykładami wyjątkowych fenotypów oporności są: oporność *Streptococcus pyogenes* na penicylinę, oporność *Staphylococcus aureus* na wankomycynę, wrażliwość *Enterococcus faecium* na ampicylinę, oporność *Enterobacteriaceae* na karbapenemy (rzadko występująca, ale narastająca) oraz oporność bakterii beztlenowych na metronidazol (Tabele 5-7).

**Tabela 4: Oporność naturalna bakterii Gram-dodatnich.** Bakterie Gram-dodatnie są także naturalnie odporne na aztreonam, temocylinę, polimiksynę B/ kolistynę i kwas nalidyksowy.

Zasada nr	Organizmy	Kwas fusydowy	Ceftazydym	Cefalosporyny (oprócz ceftazydymu)	Aminoglikozydy	Erytromycyna	Klindamycyna	Chinupristyna/ Dalpofristyna	Wankomycyna	Teikoplanina	Fosfomycyna	Nowobiocyna	Sulfonamidy
4.1	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	R	R	-	-	-	-	-	-	-	R	R	-
4.2	<i>Staphylococcus cohnii</i> , <i>Staphylococcus xylosus</i>	-	R	-	-	-	-	-	-	-	-	R	-
4.3	<i>Staphylococcus capitis</i>	-	R	-	-	-	-	-	-	-	R	-	-
4.4	Inne gronkowce koagulazo-ujemne oraz <i>Staphylococcus aureus</i>	-	R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4.5	<i>Streptococcus</i> spp.	R	-	-	R <sup>a</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-
4.6	<i>Enterococcus faecalis</i>	R	R	R	R <sup>a</sup>	R	R	R	-	-	-	-	R
4.7	<i>Enterococcus gallinarum</i> , <i>Enterococcus casseliflavus</i>	R	R	R	R <sup>a</sup>	R	R	R	R	-	-	-	R
4.8	<i>Enterococcus faecium</i>	R	R	R	R <sup>a,b</sup>	R	-	-	-	-	-	-	R
4.9	<i>Corynebacterium</i> spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	R	-	-
4.10	<i>Listeria monocytogenes</i>	-	R	R	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4.11	<i>Leuconostoc</i> spp., <i>Pediococcus</i> spp.	-	-	-	-	-	-	-	R	R	-	-	-
4.12	<i>Lactobacillus</i> spp. (niektóre gatunki)	-	-	-	-	-	-	-	R	R	-	-	-
4.13	<i>Clostridium ramosum</i> , <i>Clostridium innocuum</i>	-	-	-	-	-	-	-	R	-	-	-	-

R = odporny

<sup>a</sup>Oporność niskiego stopnia na aminoglikozydy (LLR). Połączenia aminoglikozydów z inhibitorami syntezy ściany komórkowej (penicylinami i glikopeptydami) wykazują działanie synergistyczne i bakterioobójcze wobec izolatów wrażliwych na inhibitory syntezy ściany komórkowej i nie wykazujących oporności wysokiego stopnia na aminoglikozydy.

<sup>b</sup>Dodatkowo oprócz oporności niskiego stopnia na aminoglikozydy (LLR), *Enterococcus faecium* wytwarza chromosomalny enzym AAC(6'), który jest odpowiedzialny za utratę synergizmu pomiędzy aminoglikozydami (z wyjątkiem gentamycyny, amikacyny, arbekacyny i streptomycyny) a penicylinami lub glikopeptydami.

**Tabela 5: Wyjątkowe fenotypy bakterii Gram – ujemnych**

Zasada nr	Organizmy	Wyjątkowe fenotypy
5.1	Wszystkie Enterobacteriaceae (z wyjątkiem <i>Proteae</i> )	Oporne na meropenem i/lub imipenem <sup>a</sup>
5.2	<i>Serratia mercerscens</i> , <i>Proteae</i>	Wrażliwe na kolistynę
5.3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> i <i>Acinetobacter</i> spp.	Oporne na kolistynę
5.4	<i>Haemophilus influenzae</i>	Oporne na którąkolwiek z cefalosporyn trzeciej generacji, karbapenemy, fluorochinolony
5.5	<i>Moraxella catarrhalis</i>	Oporne na ciprofloksacynę i którąkolwiek z cefalosporyn trzeciej generacji
5.6	<i>Neisseria meningitidis</i>	Oporne na którąkolwiek z cefalosporyn trzeciej generacji i fluorochinolony
5.7	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Oporne na cefalosporyny trzeciej generacji i spektinomycynę.

<sup>a</sup>Z wyjątkiem krajów, gdzie nie jest rzadkie występowanie bakterii z rodziny Enterobacteriaceae, producentów karbapenemaz.

**Tabela 6: Wyjątkowe fenotypy bakterii Gram – dodatnich**

Zasada nr	Organizmy	Wyjątkowe fenotypy
6.1	<i>Staphylococcus aureus</i>	Oporne na wankomycynę, teikoplaninę, linezolid, chinuprystynę/dalfoprystynę, daptomycynę, tigecyklinę
6.2	Gronkowce koagulazo-ujemne	Oporne na wankomycynę, linezolid <sup>a</sup> , chinuprystynę/dalfoprystynę <sup>a</sup> , daptomycynę, tigecyklinę
6.3	<i>Corynebacterium</i> , grupa JK	Oporne na wankomycynę, teikoplaninę, linezolid, chinuprystynę/dalfoprystynę, daptomycynę, tigecyklinę
6.4	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Oporne na imipenem, meropenem, wankomycynę, teikoplaninę, linezolid, chinuprystynę/ dalfoprystynę, daptomycynę, tigecyklinę, rifampicynę.
6.5	Paciorkowce β-hemolizujące grupy A, B, C i G	Oporne na penicylinę, cefalosporyny, wankomycynę, teikoplaninę, linezolid, chinuprystynę/dalfoprystynę, daptomycynę, tigecyklinę
6.6	<i>Enterococcus</i> spp.	Oporne na linezolid, daptomycynę, tigecyklinę. Oporne na teikoplaninę ale nie na wankomycynę.
6.7	<i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Enterococcus gallinarum</i> , <i>Enterococcus casseliflavus</i> , <i>Enterococcus avium</i>	Wrażliwe na chinuprystynę/dalfoprystynę. Należy rozważyć, czy nie doszło do błędnej identyfikacji. W przypadku jednocześnie potwierdzonej oporności na ampicylinę, prawie na pewno jest to szczep <i>E. faecium</i> .
6.8	<i>Enterococcus faecium</i>	Oporne na chinuprystynę/ dalfoprystynę. Należy rozważyć błędną identyfikację, zwłaszcza jeśli drobnoustroje wykazują jednocześnie wrażliwość na ampicylinę.

<sup>a</sup>Z wyjątkiem krajów gdzie nie jest rzadkie występowanie gronkowców koagulazo-ujemnych, opornych na linezolid lub chinuprystynę/dalfoprystynę.



**Tabela 7: Wyjątkowe fenotypy bakterii beztlenowych**

Zasada nr	Organizmy	Wyjątkowe fenotypy
7.1	<i>Bacteroides</i> spp.	Oporne na metronidazol, karbapenemy
7.2	<i>Clostridium difficile</i>	Oporne na metronidazol, wankomycynę

### **Odczyt interpretacyjny i eksperckie zasady interpretacji wyników oznaczania lekowrażliwości**

Odczyt interpretacyjny jest kolejnym rodzajem eksperckich zasad interpretacji i polega na wnioskowaniu o obecności mechanizmów oporności na podstawie wyników oznaczania wrażliwości oraz stwierdzeniu wrażliwości klinicznej w oparciu o występowanie mechanizmów oporności [1-4]. Zastosowanie tych zasad jest ograniczone przez zakres badanych antybiotyków i poszczególne laboratoria będą musiały dokonać wyboru leków do testowania z uwzględnieniem własnych, lokalnych wymagań. Zastosowanie jakiegokolwiek z zasad interpretacji jest również ściśle powiązane z wartościami granicznymi MIC, użytymi w procesie ich formułowania. Ekspertyczne zasady interpretacji EUCAST mogą być bardzo proste, np.: „JEŚLI *S. aureus* jest oporny na oksacylinę lub cefoksytynę TO należy go raportować jako oporny na wszystkie antybiotyki beta-laktamowe, lub też bardziej złożone np.: „JEŚLI pałeczka z rodziny Enterobacteriaceae jest średniowrażliwa na tobramycynę, oporna na gentamycynę i wrażliwa na amikacynę TO należy ją raportować jako oporną na tobramycynę.” Dowody na poparcie zasad interpretacji nie zawsze są w pełni jednoznaczne i możliwe są różnice poglądów na temat najbardziej właściwego postępowania klinicznego. Z tego względu zasady interpretacji powinny być definiowane w oparciu o aktualnie publikowane dowody, jakość tych dowodów powinna być poddawana ocenie, a każdy wyjątek od zasady powinien być odnotowany. W tabelach EUCAST (Tabele 8-13) dowody na poparcie zasad interpretacji zostały ocenione następująco:

- A.** Istnieją mocne dowody kliniczne, że raportowanie wyniku oznaczenia „wrażliwy” prowadzi do niepowodzenia terapeutycznego
- B.** Dowody są słabe i oparte głównie na doniesieniach kazuistycznych lub modelach eksperymentalnych. Uważa się, iż sklasyfikowanie szczepu jako „wrażliwy” może prowadzić do niepowodzeń klinicznych

- C. Brak dowodów klinicznych, jednakże dane mikrobiologiczne wskazują, że stosowanie leku w praktyce klinicznej nie jest zalecane.

W oparciu o eksperckie zasady EUCAST w laboratoriach należy opracować zasady raportowania wyników oznaczania lekowrażliwości, takie jak wnioskowanie o wrażliwości na inne antybiotyki na podstawie wyniku oznaczania wrażliwości na określony lek, pomijania wyników, które mogą być niewłaściwe dla danego drobnoustroju oraz zmiany wyniku oznaczania lekowrażliwości z kategorii „wrażliwy” na kategorię „średniowrażliwy” i z kategorii „średniowrażliwy” na kategorię „oporny” w związku z wykryciem mechanizmu oporności. Zasady NIGDY nie zalecają zmiany wyniku z kategorii „średniowrażliwy” lub „oporny” na kategorię „wrażliwy” lub z kategorii „oporny” na kategorię „średniowrażliwy”, ponieważ nawet jeśli oporność nigdy dotąd nie była stwierdzana, to nie można wykluczyć wystąpienia nowego, nie opisanego dotychczas mechanizmu oporności i w związku z tym prawdopodobne jest niepowodzenie terapeutyczne. Możliwe jest dodanie komentarzy wyjaśniających interpretację wyników lub ostrzeżeń o mechanizmie oporności o szczególnym znaczeniu epidemiologicznym. Możliwe jest również dodanie porad, jakie inne testy są właściwe lub o potrzebie potwierdzenia izolatu w laboratorium referencyjnym w celu sprawdzenia lekowrażliwości lub identyfikacji.

Zastosowanie eksperckich zasad interpretacji wyników oznaczania lekowrażliwości drobnoustrojów wg zaleceń EUCAST może nałożyć na laboratoria kliniczne obowiązek stosowania pewnych określonych metod badania drobnoustrojów. Wiele zasad eksperckich wymaga wykonania pełnej identyfikacji drobnoustroju, nawet jeśli ta identyfikacja nie jest istotna w postępowaniu klinicznym. Może wystąpić konieczność przebadania rozszerzonej listy odpowiednich terapeutyków, w przypadku gdy zasady eksperckie nakazują zbadanie leków, które nie są stosowane w praktyce klinicznej. Również z klinicznego punktu widzenia istnieje potrzeba dostępu do zbioru zasad eksperckich, bowiem w sytuacji istnienia wielu różnych zaleceń, ułatwia to ich zapamiętanie i stałe stosowanie.

Mamy niewiele publikacji dotyczących zasad eksperckich i służą one raczej jako źródło wiedzy niż do stosowania w codziennej praktyce [1,4]. Obszerny zakres informacji eksperckich oznacza, że tylko wtedy będą one stosowane stale i w szerokim zakresie jeśli zostaną opublikowane w formie zbioru, który może być włączony do systemu komputerowego stosowanego w laboratorium. Zasady eksperckie mogą zostać włączone do laboratoryjnego systemu informatycznego (Laboratory Information System-LIS), ale jest to ograniczone ze względu na możliwości techniczne istniejącego systemu, a także zainteresowania i potrzeby ze strony poszczególnych laboratoriów. Z drugiej strony

eksperskie zbiory zasad są często włączane do automatycznych systemów oznaczania lekowrażliwości i automatycznego odczytania stref zahamowania wzrostu drobnoustrojów.

Celem opracowania zaleceń eksperckich przez EUCAST jest dostarczenie pisemnej wersji aktualnych zasad eksperckich. Zalecenia są zbiorem o szerokim zakresie, mogą być wprowadzone w formie dokumentu na piśmie albo wkomponowane w istniejący w laboratorium system automatyczny identyfikacji i oznaczania lekowrażliwości drobnoustrojów [6,7]. Zalecenia zostały przygotowane przez zespół ekspertów zaproszonych do pracy w podkomitecie, uzgodnione po konsultacjach z narodowymi, europejskimi komitetami określającymi wartości graniczne, przedstawicielami narodowymi EUCAST, przedstawicielami przemysłu farmaceutycznego i producentów systemów automatycznych, znanymi i szanowanymi ekspertami oraz w wyniku zebrania opinii zainteresowanej tą tematyką społeczności, poprzez stronę internetową EUCAST. Zasady nie mogą być sprzeczne z wartościami granicznymi MIC ustalonymi przez EUCAST, jednak warto podkreślić, że niektóre antybiotyki nie zostały uwzględnione w dokumencie EUCAST opisującym stężenia graniczne, a wiele zasad interpretacji wyników oznaczania lekowrażliwości zmieniało się przez lata, opierając się na różnorodnych sposobach określania wartości granicznych. W wyniku dotychczasowych doświadczeń można sądzić, że opracowane zasady będą musiały ulegać zmianom wraz z ich stosowaniem w praktyce laboratoryjnej i na skutek zmian wartości granicznych, bądź na skutek powstawania nowych mechanizmów oporności. Tak więc ta druga wersja zaleceń będzie z pewnością wymagała ponownego uaktualnienia w przyszłości.

### **Komentarze wyjaśniające do eksperckich zasad interpretacji wyników oznaczania lekowrażliwości drobnoustrojów – zaleceń EUCAST**

Podkomitet ds. eksperckich zasad EUCAST powstał w 2007 r. w celu pomocy mikrobiologom klinicznym w interpretacji wyników oznaczania lekowrażliwości, wychodzącej poza standardową interpretację obserwowaną *in vitro* i umożliwiającej ustalenie klinicznych kategorii lekowrażliwości drobnoustrojów. W tym celu opracowano różne zasady, obejmujące oporność naturalną (oporność własną) i wyjątkowe fenotypy oporności, a także odczyt interpretacyjny. Ten ostatni jest zamieszczony w tabelach (Tabele 8-13 zaleceń EUCAST), które grupują różne drobnoustroje i/lub różne grupy antybiotyków i chemioterapeutyków. Tabele zostały opracowane z zastosowaniem wartości granicznych

minimalnego stężenia hamującego (MIC) ustalonych przez EUCAST i definiują kategorie kliniczne lekowrażliwości (wrażliwy, średniowrażliwy lub oporny), które to kategorie są opisane w głównym przesłaniu eksperckich zasad. Powyższe kategorie należy zastosować po identyfikacji drobnoustroju do poziomu gatunkowego. Jakkolwiek rozpoznanie mechanizmu oporności jest zasadniczą częścią odczytu interpretacyjnego zasad eksperckich, to jednak najważniejszym przesłaniem zaleceń jest pomoc w praktyce stosowania antybiotyków i chemioterapeutyków w warunkach klinicznych.

### **Zasady interpretacji dla antybiotyków $\beta$ -laktamowych**

Antybiotyki  $\beta$ -laktamowe to najszerszej stosowane leki przeciwbakteryjne. Wchodzą one w reakcje z białkami PBP, które są enzymami biorącymi udział w końcowym etapie biosyntezy bakteryjnej ściany komórkowej (syntezy peptydoglikanów) i wywołują efekt bakteriobójczy w wyniku zachwiania proporcji enzymów lizujących, obecnych w ścianie komórkowej. Oporność na te antybiotyki jest głównie wynikiem produkcji przez bakterie  $\beta$ -laktamaz, dużej rodziny enzymów hydrolitycznych, które niszczą i inaktywują strukturę pierścienia  $\beta$ -laktamowego leku. Enzymy te w różnorodny sposób oddziałują na poszczególne części pierścienia  $\beta$ -laktamowego, wywołując w ten sposób powstanie różniących się fenotypów i/lub poziomów oporności, szczególnie u pałeczek Gram-ujemnych [8,9]. Dodatkowo zmiany w samych białkach PBP, które są docelowym miejscem działania antybiotyku, mogą również zmniejszyć jego aktywność wobec drobnoustroju. Ten ostatni mechanizm jest szczególnie często obecny u ziarenkowców Gram-dodatnich. Udział zmian w białkach PBP w powstawanie mechanizmu oporności na  $\beta$ -laktamy u bakterii Gram – ujemnych ma mniejsze znaczenie [10]. Modyfikacja poryn i zwiększona ekspresja pomp efflux u organizmów Gram-ujemnych może również zmienić aktywność antybiotyku  $\beta$ -laktamowego, ale poziom oporności wywołany tylko przez te mechanizmy jest niższy, niż oporność wywołana działaniem większości  $\beta$ -laktamaz [11,12]. Ekspertyczne zasady wg zaleceń EUCAST dotyczące antybiotyków  $\beta$ -laktamowych i ziarenkowców Gram-dodatnich dotyczą gronkowców, paciorkowców, włącznie z paciorkowcami  $\beta$ -hemolizującymi, paciorkowców z grupy viridans, *Streptococcus pneumoniae* i enterokoków (Tabela 8).

### **Gronkowce**

Produkcja enzymu penicylinazy u gronkowców jest bardzo powszechna (>90% izolatów *S. aureus* w wielu krajach) i prowadzi do powstania oporności na wszystkie

penicyliny z wyjątkiem penicylin izoksazolilowych (zasada 8.2). Gronkowce mogą być także odporne na penicyliny izoksazolilowe wskutek produkcji zmienionych białek PBP (białko PBP2a kodowane przez gen *mecA*) co powoduje oporność krzyżową na wszystkie  $\beta$ -laktamy. Wyjątek stanowią nieliczne antybiotyki  $\beta$ -laktamowe o niskim powinowactwie do białek PBP2a (zasada 8.1) [13]. Oporność wywołana przez *mecA* jest powszechnie nazywana opornością na metycylinę (lub oksacylinę) na skutek stosowania w przeszłości tych antybiotyków w badaniach *in vitro*. Wykrywanie oporności na metycylinę jest obowiązkowe dla wszystkich izolatów klinicznych *S. aureus* [14]. Wszystkie gronkowce odporne na metycylinę, oksacylinę i/lub cefoksytynę, oraz z wykrytym genem *mecA* lub białkiem PBP2a, powinny być traktowane jako odporne na wszystkie dostępne  $\beta$ -laktamy [15], z wyjątkiem tych antybiotyków, które są przeznaczone do leczenia zakażeń wywołanych przez gronkowce metycylino-oporne. Jakkolwiek rzadko występująca u gronkowców nadprodukcja penicylinazy może skutkować opornością graniczną na oksacylinę (ale nie na cefoksytynę) *in vitro*, w związku z nietrwałością oksacyliny, to nie ma żadnych dowodów, że nadprodukcja penicylinazy ma znaczenie kliniczne [16].

### **Paciorkowce**

Paciorkowce  $\beta$ -hemolizujące są z zasady wrażliwe na penicylinę. Nie zanotowano doniesień o paciorkowcach z obniżoną wrażliwością na  $\beta$ -laktamy, za wyjątkiem paciorkowców z grupy B (MIC penicyliny benzylowej do 1 mg/L) [17]. Izolaty wrażliwe na penicylinę należy uznać za wrażliwe na aminopenicyliny, cefalosporyny i karbapenemy [18]. Jeśli wyhodowany szczep jest odporny na penicylinę należy powtórzyć identyfikację i oznaczenie lekowrażliwości (zasada 8.3).

Inaczej wygląda to u *Streptococcus pneumoniae*, gdzie oporność na antybiotyki  $\beta$ -laktamowe jest zjawiskiem powszechnym, a powstaje ona na skutek produkcji białek mozaikowych PBP, które warunkują różne fenotypy oporności [19]. Tradycyjnie, jako test przesiewowy w celu określenia wrażliwości na penicylinę benzylową, używany jest krążek z oksacyliną. Dodatkowo, w praktyce klinicznej, należy oznaczyć MIC cefalosporyn i karbapenemów, jeśli izolat jest odporny na penicylinę benzylową lub jeśli test przesiewowy z krążkiem z oksacyliną jest interpretowany jako „oporny” (zasada 8.4).

W przypadku paciorkowców z grupy viridans produkcja białek PBP o strukturze mozaikowej także powoduje powstawanie różnych fenotypów oporności na  $\beta$ -laktamy, natomiast test przesiewowy z krążkiem z oksacyliną opracowany dla *S. pneumoniae* wykazuje nieodpowiednią czułość w przewidywaniu wrażliwości na penicylinę. Co więcej o

wrażliwości na cefalosporyny i karbapenemy nie można wnioskować na podstawie wyniku oznaczania wrażliwości na penicylinę benzylową (zasada 8.5) [20].

### **Enterokoki**

Wszystkie enterokoki uważa się za naturalnie odporne na cefalosporyny (tabela 4), natomiast szczególnie u *E. faecium* obserwuje się zwiększenie oporności na ampicylinę, związaną ze zmianami w białkach PBP5 [21]. Zmiany te powodują obniżenie powinowactwa do  $\beta$ -laktamów, włączając w nie wszystkie penicyliny i karbapenemy (zasada 8.6). Izolaty *Enterococcus* spp. produkujące penicylinazy są wykrywane rzadko, ale ostatnio były opisywane w Europie [22] (Sati i wsp. 51st ICACC, 2011, Abstract C1 -1795).

### **Pałeczki z rodziny *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Acinetobacter* spp.**

Odczyt interpretacyjny antybiogramu dla pałeczek Gram-ujemnych dotyczy najczęściej wrażliwości na antybiotyki  $\beta$ -laktamowe i produkcji przez te drobnoustroje  $\beta$ -laktamaz [8]. Znalazło to odzwierciedlenie w pierwszej wersji zasad eksperckich wg zaleceń EUCAST, w której szczegółowo opisywano izolaty produkujące  $\beta$ -laktamazy o szerokim spektrum działania (ESBL) i karbapenemazy. Wartości graniczne dla cefalosporyn i karbapenemów stosowane w czasie opublikowania pierwszej wersji zasad eksperckich EUCAST zostały później uznane za niewłaściwe, co w konsekwencji spowodowało, że poprzednie zasady eksperckie dotyczące drobnoustrojów produkujących ESBL i karbapenemazy musiały zostać zmienione w wersji 2.0.

Przez wiele lat w klinicznych laboratoriach mikrobiologicznych, w celu wykrycia obecności enzymów ESBL, stosowano testy oparte głównie na efekcie synergizmu obserwowanego pomiędzy cefalosporynami i inhibitorami  $\beta$ -laktamaz, takimi jak kwas klawulanowy, głównie u izolatów *Escherichia coli* i *Klebsiella pneumoniae* z obniżoną wrażliwością na oksymino-cefalosporyny [23-25]. W następstwie wykrycia ESBL w danym izolacie kategorii „wrażliwy” i „średniowrażliwy” były zmieniane na „oporny”, co opierało się na założeniu, że wartości graniczne były nieodpowiednie (nieadekwatne). Jednakże, niektórzy autorzy twierdzili, że ustanowienie wartości granicznych MIC na odpowiednim poziomie (obniżenie wartości), pozwoli wykryć obecność „ważnych klinicznie” mechanizmów oporności, w tym ESBL [26]. Badania na modelach zwierzęcych, analizy modeli farmakokinetycznych (PK) i farmakodynamicznych (PD), symulacje Monte Carlo i nowe, niższe wartości graniczne zaproponowane przez EUCAST potwierdziły to stanowisko. W odróżnieniu od wartości granicznych CLSI, przy zastosowaniu wartości granicznych

zaproponowanych przez EUCAST jest możliwe uniknięcie zakwalifikowania większości szczepów, producentów ESBL jako wrażliwe na oksymino-cefalosporyny (głównie ceftazydym i cefepim) i aztreonam [27,28]. Co więcej obniżenie wartości granicznych do poziomu umożliwiającego wykrycie ważnej klinicznie oporności, bez używania dodatkowych testów potwierdzających spowoduje, że dla dużej liczby izolatów wydanie wyniku lekowrażliwości nie będzie opóźnione, a jest to ważne w sytuacji gdy zwiększa się liczba szczepów, producentów ESBL.

W tradycyjnej praktyce, w większości laboratoriów klinicznych zakłada się, że wszystkie organizmy o potwierdzonej produkcji ESBL są odporne na wszystkie penicyliny, cefalosporyny i aztreonam. Taka praktyka wymusza na klinicyście nadmierne stosowanie w leczeniu infekcji wywoływanych przez te drobnoustroje innych grup antybiotyków, takich jak karbapenemy i fluorochinolony. To w efekcie może spowodować wyselekcjonowanie drobnoustrojów z innymi mechanizmami oporności, w tym producentów karbapenemaz. Pomimo to, że efekt kliniczny używania cefalosporyn III i IV generacji w leczeniu zakażeń wywołanych przez drobnoustroje produkujące ESBL, przy niskich wartościach granicznych MIC, musi być jeszcze w pełni potwierdzony, nowe (obniżone) wartości graniczne EUCAST pozwalają na użycie w leczeniu cefotaksymu, ceftriaksonu i ceftazydymu. Możliwość użycia tych leków została potwierdzona przez szereg badań i obserwacji klinicznych, przez wyniki badań modeli farmakokinetycznych-farmakodynamicznych (PK/PD), symulacje Monte Carlo i w badaniach modeli zwierzęcych [29-34]. Badania te pokazują, że wyniki otrzymane w sposób eksperymentalny i w badaniach klinicznych są lepiej skorelowane z wartościami MIC, niż z obecnością enzymów ESBL. Według nowych zaleceń EUCAST dotyczących wartości granicznych MIC antybiotyków dla bakterii z rodziny Enterobacteriaceae, wyniki lekowrażliwości dla cefalosporyn III i IV generacji powinny być raportowane zgodnie z uzyskanymi wartościami, a stosowanie poprzednich zaleceń eksperckich, zalecających modyfikację kategorii „wrażliwy” dla szczepów produkujących ESBL nie jest dłużej konieczne. To nowe zalecenie dotyczące także drobnoustrojów produkujących przenoszone na plazmidach enzymy AmpC, jest umieszczone w tabelach wartości granicznych EUCAST. Jednakże wykrywanie i określanie fenotypu oporności ESBL jest zalecane lub wymagane dla celów epidemiologicznych. Aby zachować spójność zaleceń i stosując podobny tok myślenia, zasady dotyczące takich drobnoustrojów jak *Klebsiella oxytoca* i *Citrobacter koseri* (poprzednia zasada ekspercka 9.3) [35] oraz te dotyczące izolatów producentów karbapenemaz (poprzednia zasada ekspercka 9.7) zostają usunięte z wersji 2.0 zaleceń eksperckich.

Karbapenemazy z klas enzymatycznych A, B i D mogą w różny sposób wpływać na leki z grupy karbapenemów [36-38]. Co więcej połączone mechanizmy oporności (np. kombinacja derepresji AmpC lub ESBL i zmniejszonej przepuszczalności) mogą wpłynąć na wrażliwość na karbapenemy, dotyczy to w szczególności ertapenemu [39]. Aktualne dane, tak jak w przypadku produkcji ESBL, dostarczają dowodów na to, aby raportować wrażliwość na karbapenemy zgodnie z uzyskanymi wartościami [40,41]. Jednakże, w przyszłości należy dołożyć starań aby liczba dowodów potwierdzająca tę praktykę wzrosła, w szczególności gdy dotyczy to karbapenemaz o niskiej ekspresji, takich jak enzymy VIM [42]. Trzeba zwrócić szczególną uwagę na obniżoną wrażliwość na karbapenemy, która może być efektem działania karbapenemaz, i to nie tylko enzymów z klasy B (głównie VIM lub IMP), czy z klasy A (KPC), ale także OXA-48 z klasy D, które są coraz częściej identyfikowane u *Enterobacteriaceae* [43].

Nowa zasada ekspercka nr 9.1 podkreśla niepewny efekt terapeutyczny leczenia penicyliną w kombinacji z inhibitorem  $\beta$ -laktamaz w zakażeniach innych niż układu moczowego wywoływanych przez pałeczki z rodziny *Enterobacteriaceae* średniowrażliwe lub odporne na wszystkie cefalosporyny III i IV generacji [44,45]. Ta uwaga dotyczy także nowej zasady eksperckiej nr 9.2, z oceną dowodową oznaczoną symbolem A dla *Enterobacter* spp. i symbolem B dla *Citrobacter freundii*, *Serratia* spp., *Morganella morganii*. Zasada ekspercka nr 9.2 zaleca odradzanie stosowania cefotaksymu, ceftriaksonu lub ceftazydymu w monoterapii lub podawania wyników badań wrażliwości na te antybiotyki, gdyż może to pociągać za sobą ryzyko selekcjonowania szczepów opornych u producentów AmpC [46]. W niektórych publikacjach twierdzi się, że można uniknąć tego problemu stosując w leczeniu terapię skojarzoną, z zastosowaniem fluorochinolonów zamiast aminoglikozydów [47].

### **Inne drobnoustroje Gram-ujemne**

Inne drobnoustroje Gram-ujemne, takie jak *Haemophilus influenzae* i *Neisseria gonorrhoeae* zawarto w zaleceniach ekspertów EUCAST w tabeli 10. U *H. influenzae* oporność na ampicylinę, przy oznaczaniu lekowrażliwości uważana za reprezentatywną także dla amoksycyliny, jest związana głównie z produkcją  $\beta$ -laktamaz. Izolaty produkujące  $\beta$ -laktamazy, najczęściej TEM-1, powinny zostać uznane za odporne na ampicylinę i amoksycylinę (zasada 10.1) [48]. W sytuacji, gdy nie stwierdzono produkcji  $\beta$ -laktamazy, oporność na ampicylinę może być skutkiem mutacji w genie *ftsI*, wpływającej na białka PBP i prowadzącej do obniżonego powinowactwa PBP do  $\beta$ -laktamów [49]. Takie izolaty, nazwane  $\beta$ -laktamazo-ujemne, odporne na ampicylinę (BLNAR), uznaje się za odporne na leki będące



kombinacją aminopenicilin z inhibitorami  $\beta$ -laktamaz (amoksycylina z kwasem klawulanowym, ampicylina z sulbaktamem i piperacylina z tazobaktamem) a także za odporne na cefalosporyny I i II generacji (zasada 10.2) [50,51]. Pomimo, że piperacylina i piperacylina z tazobaktamem wydają się być mniej podatne na mechanizm oporności wywołany przez zmiany w białkach PBP, to brakuje dowodów na kliniczną efektywność ich stosowania.

Coraz częściej wykrywa się szczepy *H. influenzae* posiadające zmienione białka PBP oraz produkujące  $\beta$ -laktamazy. Takie izolaty charakteryzuje stwierdzana fenotypowo oporności na amoksycylinę z kwasem klawulonowym oraz na ampicylinę z sulbaktamem ( $\beta$ -laktamazo-dodatnie, odporne na amoksycylinę z kwasem klawulanowym, BLPACR) i powinny być one uznane za odporne na piperacylinę z tazobaktamem oraz na cefalosporyny I i II generacji (zasada 10.3) [52]. U bakterii z gatunku *H. influenzae* nie znaleziono dotychczas szczepów produkujących enzymy ESBL, ale w pracach eksperymentalnych wklonowano geny *bla*<sub>ESBL</sub> do komórek tego gatunku, co wywołało zmiany w białkach PBP3 i w efekcie oporność na cefalosporyny III generacji [53]. Co więcej wariant TEM ESBL został znaleziony w szczepach gatunku *Haemophilus parainfluenzae* [54].

Dla bakterii *Neisseria gonorrhoeae* izolaty  $\beta$ -laktamazo-dodatnie powinny być uznawane za odporne na penicyliny benzytowe, ampicylinę i amoksycylinę. Mutacje chromosomalne wywierające wpływ na powinowactwo do białek PBP, powodujące obniżoną przepuszczalność błony komórkowej czy zmianę mechanizmu aktywnego wypompowywania antybiotyku z komórki bakteryjnej wywołują także oporność na leki z inhibitorami  $\beta$ -laktamaz; oporność ta może być wykryta przy zastosowaniu wartości granicznych MIC zalecanych przez EUCAST (zasada 10.4) [55-57].

Zasady eksperckie dla bakterii *Moraxella catarrhalis* usunięto w wersji 2.0 zaleceń, a odpowiednie komentarze włączono do tablic z wartościami granicznymi.

### **Zasady interpretacji dotyczące makrolidów, linkozamidów i streptogramin**

Makrolidy, linkozamidy i streptograminy różnią się strukturą chemiczną, ale wszystkie posiadają ten sam mechanizm działania na drobnoustroje, co powoduje, że na ich aktywność mogą mieć wpływ takie same mechanizmy oporności bakterii. Zasady eksperckie EUCAST dla tych antybiotyków dotyczą gronkowców, paciorkowców, *Peptostreptococcus* spp. i *Bacteroides* spp. (tabela 11, zasady 11.1-11.5). Inne bakterie, takie jak *H. influenzae*, w tej wersji zasad eksperckich są ujęte tylko w tabelach omawiających oporność naturalną na makrolidy, linkozamidy i streptograminy.

Erytromycynę uznaje się za przedstawiciela makrolitów 14-węglowych (klarytromycyna) i 15-węglowych (azytromycyna), ale nie ketolidów (telitromycyna). Oporność na te antybiotyki jest wywołana produkcją metylazy rybosomalnej, kodowanej przez geny *erm*, nadającej fenotyp oporności MLS<sub>B</sub> (konstytutywny lub indukowany) albo mechanizmem aktywnego wypompowywania leku z komórki przez pompy błonowe (fenotyp M, powodujący oporność na erytromycynę ale nie na klindamycynę i/lub streptograminy) [58]. W obu opisanych wyżej mechanizmach oporności zachodzi zjawisko oporności krzyżowej pomiędzy erytromycyną i innymi 14- i 15-węglowymi makrolidami (zasada 11.1). Oporność na erytromycynę może występować jako oporność krzyżowa na erytromycynę, klindamycynę i linkozamidy. W przypadku gronkowców i paciorkowców, izolaty odporne na erytromycynę ale wrażliwe na klindamycynę powinny być testowane w kierunku wykrycia oporności indukowanej typu MLS<sub>B</sub> [58].

W wykrywaniu fenotypu oporności MLS<sub>B</sub> zalecana jest metoda dyfuzyjno-krażkowa, tzw. metoda dwóch krążków, z krążkiem z erytromycyną umieszczonym w pobliżu krążka z klindamycyną. Spłaszczenie strefy zahamowania wzrostu wokół krążka z klindamycyną lub linkozamidem, od strony krążka z erytromycyną (w kształcie litery D) wskazuje na istnienie fenotypu oporności indukowanej typu MLS<sub>B</sub>, uwarunkowanej obecnością genu *erm*. Ujemny wynik testu, brak spłaszczenia, jest powiązany z obecnością mechanizmu aktywnego wypompowywania antybiotyku z komórki (obecność genu *mef*). Z klinicznego punktu widzenia, użycie klindamycyny czy linkomycyny w zakażeniach wywołanych przez izolaty posiadające fenotyp oporności indukowanej typu MLS<sub>B</sub> nie jest zalecane. Takie szczepy powinny być raportowane jako odporne albo wynik powinien zawierać ostrzeżenie o możliwości niepowodzenia klinicznego przy zastosowaniu w terapii klindamycyny lub linkomycyny (zasada 11.2) [59]. W przypadku gronkowców, przy podawaniu wyniku lekowrażliwości dla szczepów, które są równocześnie odporne na erytromycynę i klindamycynę lub linkomycynę, należy zamieścić uwagę o zmniejszonej aktywności bakteriobójczej chinupristyny-dalfopristyny (zasada 11.5) [60,61].

W przypadku paciorkowców, istnieje mniej dowodów klinicznych wytwarzania łącznej oporności na makrolidy, linkosamidy i streptograminy. Jednak podobnie jak u gronkowców, szczepy, które są odporne na erytromycynę a wrażliwe na klindamycynę powinny być testowane na obecność fenotypu oporności indukowanej typu MLS<sub>B</sub>. Jeśli test dwóch krążków daje wynik pozytywny należy go raportować zgodnie z wynikiem jako wrażliwy na klindamycynę, jednocześnie dodając ostrzeżenie, że wraz z przedłużonym stosowaniem antybiotyku można wygenerować oporność na ten lek (zasada 11.3) [58]. U

szczepów z rodzajów *Peptostreptococcus* spp. i *Bacteroides* spp. posiadających fenotyp oporności indukowanej typu  $MLS_B$  wykrycie oporności na klindamycynę jest trudne w warunkach *in vitro*, dlatego należy uznać ten antybiotyk za nieaktywny klinicznie (zasada 11.4) [62,63].

### Zasady interpretacji dla aminoglikozydów

Aminoglikozydy działają bakteriobójczo na większość drobnoustrojów Gram-dodatnich i Gram-ujemnych. Przyłączają się do cząsteczki 16S rRNA w podjednostce 30S rybosomu bakteryjnego i w ten sposób hamują syntezę białek bakteryjnych. Opisano kilka mechanizmów zaburzających aktywność aminoglikozydów: a) zmniejszona przepuszczalność i/lub nagromadzenie cząsteczki antybiotyku wywołane mutacją, wpływającą na dyfuzję lub aktywny transport z komórki bakteryjnej; zmiany kanałów porynowych w lipopolisacharydach i/lub błonach przepuszczalnych (tylko u bakterii Gram-ujemnych); nadekspresja mechanizmu aktywnego wypompowywania antybiotyku z komórki; b) zmiana miejsca docelowego działania antybiotyku na skutek mutacji białek rybosomalnych (S3, S4, S5, S6, S12, S17 i L6) oraz w wyniku działania nowych rodzajów metylaz na 16S RNA; c) produkcja enzymów zmieniających strukturę aminoglikozydów, takich jak acetylotransferazy, fosfotransferazy, nukleotydylotransferazy (inna nazwa adenylylotransferazy) [64-68].

Fenotypowe rozpoznanie mechanizmów oporności na aminoglikozydy jest trudniejsze niż rozpoznanie mechanizmów oporności na leki  $\beta$ -laktamowe. Zmniejszona przepuszczalność i/lub mechanizm oporności wpływający na aktywne wypompowywanie leku z komórki, warunkujące oporność na niskim poziomie, dotyczą prawie wszystkich aminoglikozydów. Oporność spowodowana zmianami aktywnego wypompowywania leku, za wyjątkiem mechanizmów oporności opisywanych u *P.aeruginosa*, jest trudna do wywnioskowania z obserwowanego fenotypu lekowrażliwości [68]; ale oporność krzyżowa na inne grupy antybiotyków, takie jak fluorochinolony lub tetracykliny może wskazywać na jej obecność. Mutacje rybosomalne są bardzo rzadkie, nie nadają „oporności grupowej”, na całą grupę leków, i nie zawsze powodują oporność wysokiego stopnia. Natomiast metylacja 16S RNA wywołuje oporność wysokiego stopnia, głównie dotyczącą leków z podstawnikami w pozycjach 4 i 6, (takich jak kanamycyna, gentamycyna, tobramycyna, amikacyna i netylmicina), ale nie tych o podstawnikach w pozycjach 4 i 5 (takich jak neomycyna czy paramomycyna) oraz streptomycyna i/lub spektinomycyna [69].

Produkcja enzymów modyfikujących aminoglikozydy to najszerzej rozpowszechniony mechanizm oporności drobnoustrojów na te leki, a odpowiedzialne za to są różne enzymy. Zmiany leku spowodowane produkcją enzymów przez drobnoustrój nie zawsze powodują pojawienie się widocznego fenotypu oporności, łatwiej można to obserwować testując leki aminoglikozydowe nieużywane klinicznie u ludzi [69-72]. Problemem, który także utrudnia odczyt wyniku oznaczania wrażliwości na te leki jest to, że modyfikacja enzymatyczna różnych aminoglikozydów, może być efektem produkcji przez bakterię tylko pojedynczego enzymu, a inne niespokrewnione z nim enzymy, mogą wywoływać podobny fenotyp oporności. Także pojedynczy izolat bakteryjny, może produkować różnorodne enzymy, co czyni identyfikację mechanizmu oporności trudną, a czasem wręcz niemożliwą.

Pomimo oczywistych trudności, przy odczycie antybiogramów dla aminoglikozydów może być zastosowanych wiele zasad eksperckich EUCAST (tabela 12). U organizmów Gram-dodatnich, te zasady ułatwiają wykrycie braku synergizmu pomiędzy konkretnym aminoglikozydem, a  $\beta$ -laktamem lub glikopeptydem (zasady 12.1-12.6). W przypadku eneterokoków oceny dowodowe dla zasad eksperckich są oparte na danych klinicznych i określone symbolami A i B [73,74]. Jednakże w przypadku gronkowców, oceny dowodowe dla większości zasad eksperckich są określone symbolem C, co wynika z pokazania *in vitro* braku synergizmu aminoglikozydów ze związkami aktywnymi wobec ściany komórkowej nawet u izolatów wykazujących wrażliwość na aminoglikozydy [75,76].

Dla organizmów Gram-ujemnych, rekomendacje EUCAST dotyczące aminoglikozydów zalecają zmianę kategorii lekowrażliwości z „wrażliwy” lub „średniowrażliwy” na oporny (zasady 12.7-12.10). W tym przypadku oceny dowodowe zostały określone symbolem C i są oparte głównie na danych biochemicznych pokazujących skutek działania enzymów. W większości przypadków wzrost wartości MIC lub zmniejszenie strefy zahamowania wzrostu jest bardzo małe. Zmiana wyniku badania lekowrażliwości na kategorię „oporny” skutkuje zaprzestaniem użycia klinicznego tych leków [77-80].

U pewnych szczególnych bakterii Gram-ujemnych, takich jak *Providencia stuartii* (ale nie *Providencia rettgerii*) i *Serratia mercenscens*, enzymy modyfikujące aminoglikozydy są kodowane chromosomalnie i wykazują słabą ekspresję. Jednakże, ponieważ zmiany mutacyjne nadają oporność fenotypową, drobnoustroje te powinny być zakwalifikowane jako posiadające oporność własną na aminoglikozydy (tabela 1, zasady 1.12 i 1.14) [81-83]. *E. faecium* w sposób naturalny produkuje chromosomalny enzym zmieniający aminoglikozydy, który także odpowiada za utratę synergizmu pomiędzy niektórymi

aminoglikozydami, a działającymi na ścianę komórkową  $\beta$ -laktamami lub glikopeptydami (tabela 4, zasada 4.8) [84].

### Zasady interpretacji dla chinolonów

Antybiotyki z grupy chinolonów mają działanie bakteriobójcze w odpowiednim zakresie stężeń, a kiedy te stężenia zostają przekroczone działanie bójcze maleje [85]. Chinolony wchodzi w interakcje z II bakteryjną topoisomerasą, czyli gyrazą, kodowaną przez geny *gyrA* i *gyrB* oraz z topoisomerasą IV, kodowaną przez geny *parC* i *parE* (u gronkowców *griA* i *griB*), będącymi odpowiednio miejscem docelowym ich działania u bakterii Gram-ujemnych i Gram-dodatnich. Mutacje w genach *gyrA* i *parC* topoisomeras oraz zmniejszenie dostępu do miejsca docelowego, włącznie z modyfikacją poryn i systemem aktywnego wypompowywania leku z komórki, są przykładem klasycznych, kodowanych chromosomalnie mechanizmów oporności na chinolony. Mutacje topoisomeras mogą wywołać oporność wysokiego stopnia, głównie na skutek stopniowej selekcji kolejnych mutacji w tej samej lub różnych topoisomerasach [86].

W ciągu ostatnich dwóch dekad u pałeczek Gram-ujemnych pojawiły się mechanizmy oporności na chinolony, kodowane na plazmidzie, które to mechanizmy obserwuje się obecnie coraz częściej w różnych miejscach na świecie [87]. Wszystkie z nich wykazują niską ekspresję i nie zawsze dotyczą wszystkich antybiotyków z tej grupy. Pierwsze opisane mechanizmy oporności na chinolony, kodowane na plazmidzie to zmiana miejsca docelowego działania antybiotyku, wywołana produkcją białek Qnr [88]. Jak dotąd zostało opisanych kilka grup tych białek, głównie u Enterobacteriaceae. Dodatkowo, w tej grupie drobnoustrojów wykryto zmieniony enzym, będący wariantem enzymu modyfikującego aminoglikozydy, który działa również na niektóre fluorochinolony. Enzym ten, AAC(6')-Ib-cr, warunkuje wystąpienie oporności na chinolony z podstawnikiem w pozycji 7 pierścienia piperazylinowego, ciprofloksacynę i norfloksacynę, ale nie na lewofloksacynę [89]. W ostatnim czasie opisano dwa mechanizmy oporności oparte na aktywnym transporcie antybiotyku z komórki, kodowane na plazmidach, dotyczące białek transportowych z rodziny MFS i białek pomp błonowych QepA oraz OqxAB. W tym przypadku oporność występuje na niskim poziomie i wykrycie fenotypu tej oporności jest skrajnie trudne [90, 91].

Generalnie, starsze chinolony charakteryzują się niższą aktywnością przeciwbakteryjną niż te należące do nowszej generacji. To dotyczy zwłaszcza bakterii Gram-ujemnych, a w szczególności bakterii z rodziny Enterobacteriaceae. Trzeba jednak

odnotować, że w przypadku oporności wywołanej mutacją topoizomeraz, zmniejszona wrażliwość na jeden lek z grupy fluorochinolonów, wiąże się z obniżoną wrażliwością na inne fluorochinolony (tzw. oporność grupowa, na całą grupę leków) U tego typu izolatów współistniejąca obecność różnych mutacji podnosi poziom oporności na fluorchinolony. Natomiast produkcja białek Qnr, aktywne wypompowywanie antybiotyku, modyfikacje enzymatyczne, mogą nie skutkować opornością na wszystkie fluorochinolony. Takie mechanizmy oporności o niskim poziomie ekspresji mogą być trudne do wykrycia, ale są wskaźnikiem możliwości wyselekcjonowania drobnoustrojów wykazujących mechanizmy oporności o wysokim poziomie ekspresji.

Kiedy odczytujemy wynik oznaczania wrażliwości na chinolony, oporność *in vitro* na najbardziej aktywne fluorochinolony jest wskaźnikiem oporności na wszystkie fluorochinolony, zarówno dla bakterii Gram-ujemnych jak i Gram-dodatnich [92-94]. Wyjątkiem od tej zasady u drobnoustrojów Gram-ujemnych jest możliwość produkcji enzymu AAC(6')-Ib-cr, którego obecność wpływa na ciprofloksacyne, ale nie lewofloksacyne. Zalecenia EUCAST dotyczące fluorochinolonów (zasady 13.2, 13.4, 13.5, 13.6 i 13.8) w całości odzwierciedlają takie stanowisko, opierając się na różnego rodzaju ocenie dowodowej (stopień B lub C). W przypadku niektórych bakterii (np. Enterobacteriaceae i *H. influenzae*) można użyć kwasu nalidyksowego, jako wskaźnika mechanizmu oporności na fluorochinolony [95-97]. Trzeba jednak pamiętać, że u bakterii z rodziny Enterobacteriaceae kwas nalidyksowy, nie wykryje oporności typu *qnr*- albo innej kodowanej na plazmidzie, która to oporność jest coraz szerzej obserwowana na całym świecie. Z tego powodu, w wersji 2.0 zasad eksperckich, dla rodzaju *Salmonella* spp. zaleca się zmianę wyniku oznaczania wrażliwości na fluorochinolony w oparciu o wartości MIC ciprofloksacyny, jako że istnieją dowody kliniczne iż ciprofloksacyna wykazuje słabe działanie kliniczne w infekcjach wywołanych przez *Salmonella* spp., charakteryzujących się opornością niskiego stopnia na chinolony (MIC>0.064 mg/L) (zasada 13.6). Posiadane dane odnoszą się głównie do *S. Typhi*, ale istnieją także badania pokazujące słabą odpowiedź na leczenie chinolonami w zakażeniach wywołanych przez pałeczki z rodzaju *Salmonella* należące do innych serotypów [95, 97, 98]. Zasady nr 13.6 nie można stosować w przypadku innych drobnoustrojów z rodziny Enterobacteriaceae, ponieważ nie ma potwierdzających ją dowodów klinicznych i takie uogólnienie byłoby niewłaściwe. Jednakże laboratoria kliniczne mogą ostrzegać klinicystów o możliwości powstania oporności wysokiego stopnia na fluorochinolony u Enterobacteriaceae, w trakcie leczenia tymi antybiotykami zakażeń wywołanych przez szczepy z obserwowaną opornością niskiego stopnia na te leki.

W przypadku gronkowców i paciorkowców z grupy viridans, oporność na mniej aktywne (a nie bardziej aktywne) fluorochinolony, wskazuje na możliwą obecność mutacji pierwszego stopnia. W takiej sytuacji do wyniku badania lekowrażliwości powinno się dołączyć uwagę, ostrzegającą klinicystów o możliwości wyselekcjonowania mechanizmu oporności wysokiego stopnia, spowodowaną różnymi mutacjami (zasada 13.1 i 13.3).

Wnioskowanie na temat różnych, specyficznych mechanizmów oporności na fluorochinolony u bakterii charakteryzujących się wielolekoopornością może być trudne, ze względu na nakładające się na siebie różne mechanizmy (oporności niskiego i/lub wysokiego stopnia). Co więcej, w przypadku obecności nowych mechanizmów oporności kodowanych plazmidowo, istnieje niewiele możliwości odczytu interpretacyjnego. W niektórych przypadkach można zaobserwować niewielkie obniżenie wrażliwości na wszystkie chinolony, ale w innych zauważa się większe obniżenie lekowrażliwości, niż to zaobserwowane przy użyciu kwasu nalidyksowego jako detektora oporności [89-91].

### **Przyszłość zasad eksperckich i uwagi końcowe**

Zasady eksperckie powstały, aby pomóc mikrobiologom klinicznym w interpretacji wyniku badania lekowrażliwości drobnoustrojów. Głównym celem tych zasad jest zmiana interpretacji wyniku po zastosowaniu kryterium wartości granicznych. W większości przypadków polega to na zmianie z kategorii „wrażliwy” lub „średniowrażliwy” na kategorię „oporny”, w wyniku stwierdzenia obecności takiego mechanizmu oporności, który ma następstwa kliniczne. Zmiany kategorii są poparte dowodami klinicznymi i/lub wiedzą mikrobiologiczną. Zmiany kategorii lekowrażliwości mogą także wskazywać, zgodnie z definicją wartości granicznych, że dotychczas używane wartości graniczne nie są optymalne i wymagają objaśnienia zawartego w zaleceniach eksperckich.

Bieżąca procedura EUCAST pozwala na korektę wartości granicznych. Poprawione wartości graniczne mogą być bardziej precyzyjne w powiązaniu wartości MIC z oczekiwanymi wynikami klinicznymi. Ustalenie odpowiednich wartości granicznych może spowodować, że niektóre poprzednio ustanowione zasady eksperckie są niepotrzebne a także, że inne zasady trzeba zmienić i zdefiniować na nowo. Tak jest na przykład w przypadku poprzedniej zasady eksperckiej dotyczącej ESBL, która po wprowadzeniu nowych, zmienionych wartości granicznych dla cefalosporyn jest już bezprzedmiotowa.

Podsumowując, należy podkreślić, że wartości graniczne, wg definicji EUCAST, nie są w stanie wykryć wszystkich mechanizmów oporności, które mogą posiadać bakterie.

Raczej, wartości te zostały stworzone po to, aby przewidzieć wynik leczenia przeciwbakteryjnego pacjentów z zakażeniami, a oparte są one na kryteriach mikrobiologicznych, analizie modeli farmakokinetyczno-farmakodynamicznych PK/PD i kryteriach klinicznych. Jest także ważne odnotowanie, iż zasady eksperckie EUCAST powinny być użyte w powiązaniu z wartościami granicznymi MIC ustanowionymi przez EUCAST, a ich stosowanie w połączeniu z innymi systemami wartości granicznych MIC nie powinno mieć miejsca.



**Tabela 8: Zasady interpretacji lekowrażliwości dla antybiotyków  $\beta$ -laktamowych oraz ziarenkowców Gram – dodatnich**

Zasada nr	Drobnoustrój	Badany antybiotyk	Antybiotyk, na który ma wpływ odpowiednia zasada	Zasada	Wyjątki, podstawa naukowa i komentarz	Ocena zasady	Publikacje
8.1	<i>Staphylococcus</i> spp.	Oksacylina, cefoksytyna (przy użyciu metody dyfuzyjno-krażkowej) lub wykrycie genu <i>mecA</i> , lub białek PBP2a	Wszystkie antybiotyki $\beta$ -laktamowe	<b>W przypadku</b> potwierdzonej oporności na penicyliny izoksazolilowe (wykrytej z zastosowaniem oksacyliny lub cefoksytyny, lub też przez wykrycie genu <i>mecA</i> lub PBP2a) szczep <b>należy</b> raportować jako oporny na wszystkie antybiotyki $\beta$ -laktamowe, z wyjątkiem terapeutyków o niskim powinowactwie do białek PBP2a, które są przeznaczone do leczenia infekcji wywołanych przez gronkowce metycylino-oporne.	Wytwarzanie PBP2a (kodowanego przez gen <i>mecA</i> ) prowadzi do oporności krzyżowej na $\beta$ -laktamy z wyjątkiem ceftobiproilu i ceftaroliny.	A	[13, 15]
8.2	<i>Staphylococcus</i> spp.	Penicylina benzyłowa (i wykrywanie $\beta$ -laktamaz)	Peniciliny inne niż penicyliny izoksazolilowe oraz połączenia z inhibitorami $\beta$ -laktamaz	<b>W przypadku</b> stwierdzenia oporności na penicylinę benzyłową lub <b>jeśli</b> wykryto produkcję penicylinazy, izolat <b>należy</b> raportować jako oporny na wszystkie penicyliny, niezależnie od wartości MIC, z wyjątkiem penicylin izoksazolilowych, oraz połączeń z inhibitorami $\beta$ -laktamaz.	Oznaczanie wytwarzania $\beta$ -laktamaz nie jest zalecane, gdyż w większości krajów występowanie szczepów produkujących $\beta$ -laktamazy wynosi ponad 90%, a wykonanie testu sprawia trudności techniczne. W takim przypadku za właściwe uznaje się klasyfikowanie wszystkich izolatów jako opornych na penicylinę benzyłową, ampicylinę i amoksyycynę.	C	[99]
8.3	Paciorkowce $\beta$ -hemolizujące (grupa A, B, C, G)	Penicylina benzyłowa	Aminopenicyliny, cefalosporyny i karbapenemy	<b>W przypadku</b> stwierdzenia wrażliwości na penicylinę benzyłową izolat <b>należy</b> raportować jako wrażliwy na aminopenicyliny, cefalosporyny i karbapenemy.	Niektóre, rzadko występujące izolaty paciorkowców grupy B, mogą wykazywać obniżoną wrażliwość na penicylinę. Dotychczas nie stwierdzono izolatów opornych na $\beta$ -laktamy, z wyjątkiem paciorkowców grupy B (wartości MIC penicyliny benzyłowej do 1 mg/L). W przypadku wykrycia obniżonej wrażliwości na penicylinę należy sprawdzić identyfikację i oznaczenie lekowrażliwości.	C	[16, 17, 100]

Eksperckie zasady interpretacji wyników oznaczania lekowrażliwości drobnoustrojów – zalecenia EUCAST wersja 2.0.

Zasada nr	Drobnoustrój	Badany antybiotyk	Antybiotyk, na który ma wpływ odpowiednia zasada	Zasada	Wyjątki, podstawa naukowa i komentarz	Ocena zasady	Publikacje
8.4	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Oksacylina (metoda dyfuzyjno-krażkowa)	Penicylina benzylowa, aminopenicyliny, cefalosporyny, karbapenemy	<b>W przypadku</b> stwierdzenia oporności w teście przesiewowym z użyciem krążka z oksacyliną, <b>należy</b> oznaczyć MIC dla penicyliny benzylowej i wszystkich odpowiednich antybiotyków $\beta$ -laktamowych.	Wytwarzanie białek PBP o mozaikowej strukturze prowadzi do występowania różnych fenotypów oporności na leki $\beta$ -laktamowe. Klasyfikować i raportować zgodnie z wynikami uzyskanymi dla poszczególnych leków.	B	[19, 20]
8.5	<i>Streptococcus</i> spp. grupa <i>viridans</i>	Penicylina benzylowa	Aminopenicyliny i cefotaksym lub ceftriakson	<b>W przypadku</b> potwierdzonej oporności na penicylinę benzylową, <b>należy</b> oznaczyć wartość MIC dla ampicyliny (lub amoksycyliny) oraz cefotaksymu (lub ceftriaksonu) i raportować zgodnie z wynikami uzyskanymi dla poszczególnych leków, ponieważ nie można wnioskować o wyniku na podstawie wyniku oznaczania lekowrażliwości dla penicyliny benzylowej.	Powstawanie białek PBP o mozaikowej strukturze prowadzi do występowania różnych fenotypów oporności na leki $\beta$ -laktamowe.	C	[101, 102]
8.6	<i>Enterococcus</i> spp.	Ampicylina	Ureidopenicyliny i karbapenemy	<b>W przypadku</b> potwierdzonej oporności na ampicylinę, <b>należy</b> izolat sklasyfikować jako oporny na ureidopenicyliny oraz karbapenemy.	Zmiany struktury białka PBP5 prowadzą do zmniejszenia powinowactwa do $\beta$ -laktamów. W kilku krajach izolowano pojedyncze szczepy wytwarzające $\beta$ -laktamazy.	C	[103, 104]

**Tabela 9: Zasady interpretacji lekowrażliwości dla antybiotyków  $\beta$ -laktamowych oraz Enterobacteriaceae, Pseudomonas spp. oraz Acinetobacter spp.**

Zasada nr	Drobnoustrój	Badany antybiotyk	Antybiotyk, na który ma wpływ odpowiednia zasada	Zasada	Wyjątki, podstawa naukowa i komentarz	Ocena zasady	Publikacje
9.1	Enterobacteriaceae	Cefotaksym, ceftriakson, ceftazydym, cefepim, amoksycylina z kwasem klawulanowym, ampicylina z sulbaktamem, piperacylina z tazobaktamem	Amoksycylina z kwasem klawulanowym, ampicylina z sulbaktamem i piperacylina z tazobaktamem	W przypadku oporności lub średniej wrażliwości na którąkolwiek oksymino – cefalosporynę III generacji (cefotaksym, ceftriakson, ceftazydym) lub IV generacji (cefepim) i wrażliwości na amoksycylinę z kwasem klawulanowym, ampicylinę z sulbaktamem i piperacylinę z tazobaktamem, w raporcie z badania <b>należy</b> wpisać wyniki zgodnie z uzyskanymi dla poszczególnych leków, wraz z ostrzeżeniem o możliwości niepowodzenia terapeutycznego dla infekcji innych niż zakażenia układu moczowego.	Bakterie wytwarzające ESBL często uważa się za drobnoustroje wrażliwe na połączenia penicylin z inhibitorami $\beta$ -laktamaz. Jednakże użycie tych leków w leczeniu infekcji wywołanych przez producentów ESBL budzi kontrowersje (za wyjątkiem zakażeń dróg moczowych oraz zakażeń układu krwionośnego, będących pochodną zakażeń dróg moczowych) i powinno się podchodzić z ostrożnością do stosowania ich w terapii. Nie zostały przedstawione żadne dowody na skuteczność stosowania połączenia tikarcyliny z kwasem klawulanowym.	B	[44, 45]
9.2	<i>Enterobacter</i> spp., <i>Citrobacter freundii</i> , <i>Serratia</i> spp. <i>Morganella morganii</i>	Cefotaksym, ceftriakson, ceftazydym	Cefotaksym, ceftriakson i ceftazydym	W przypadku stwierdzenia wrażliwości <i>in vitro</i> na cefotaksym, ceftriakson lub ceftazydym raport z badania <b>powinien być opatrzony</b> komentarzem, mówiącym iż nie należy używać tych leków w monoterapii, ze względu na ryzyko selekcji szczepów opornych, lub wynik dla tych antybiotyków należy pominąć w raporcie.	W trakcie terapii może nastąpić selekcja zmutowanych szczepów opornych z derepresją AmpC. Stosowanie cefalosporyn III generacji w połączeniu z aminoglikozydami może również prowadzić do niepowodzenia terapeutycznego, na skutek selekcji opornych mutantów. Zaobserwowano jednakże pozytywny efekt w przypadku terapii skojarzonej z fluorochinolonami. Ryzyko selekcji szczepów opornych nie występuje lub jest znacznie zmniejszone w przypadku stosowania cefepimu i cefpiromu.	A ( <i>Enterobacter</i> )  B (pozostałe drobnoustroje)	[46, 47]
9.3	Enterobacteriaceae (przede wszystkim <i>Klebsiella</i> spp. oraz <i>E.coli</i> )	Tikarcylina, piperacylina	Piperacylina	Szczepy oporne na tikarcylinę i wrażliwe na piperacylinę, <b>należy</b> raportować jako oporne na piperacylinę.	$\beta$ -laktamazy hydrolizujące tikarcylinę oddziałują również na piperacylinę, jednak oporność może być słabiej wyrażana w przypadku niskiego poziomu ekspresji $\beta$ -laktamaz. Zasada ta nie dotyczy połączeń tych penicylin z inhibitorami.	C	[24, 105]

**Tabela 10: Zasady interpretacji lekowrażliwości dla antybiotyków  $\beta$ -laktamowych oraz innych bakterii Gram-ujemnych**

Zasada nr	Drobnoustrój	Badany antybiotyk	Antybiotyk, na który ma wpływ odpowiednia zasada	Zasada	Wyjątki, podstawa naukowa i komentarz	Ocena zasady	Publikacje
10.1	<i>Haemophilus influenzae</i>	Ampicylina lub amoksycylina (i wykrywanie $\beta$ -laktamaz)	Ampicylina, amoksycylina i piperacylina	W przypadku stwierdzenia produkcji $\beta$ -laktamaz <b>należy</b> raportować jako odporne na ampicylinę, amoksycylinę i piperacylinę.	Ampicylina jest przedstawicielem klasy dla amoksycyliny. Oporność na ampicylinę związana z produkcją $\beta$ -laktamaz może być błędnie zidentyfikowana z zastosowaniem metody dyfuzyjno-krążkowej. Wytwarzanie $\beta$ -laktamaz należy oceniać używając testu chromogennego.	A	[106, 107]
10.2	<i>Haemophilus influenzae</i>	Ampicylina lub amoksycylina (i wykrywanie $\beta$ -laktamaz)	Ampicylina, amoksycylina, amoksycylina z kwasem klawulanowym, ampicylina z sulbaktamem, cefaklor, cefuroksym, cefuroksym aksetyl, piperacylina, piperacylina z tazobaktamem	Izolaty odporne na ampicylinę, nie wytwarzające $\beta$ -laktamazy (BLNAR), <b>należy</b> raportować jako odporne na ampicylinę, amoksycylinę, amoksycylinę z kwasem klawulanowym, ampicylinę z sulbaktamem, piperacylinę, piperacylinę z tazobaktamem, cefaklor, cefuroksym i cefuroksym aksetyl	Izolaty BLNAR wykazują zmniejszone powinowactwo białek PBP do antybiotyków $\beta$ -laktamowych. Działanie piperacyliny i piperacyliny z tazobaktamem wydaje się mniej uzależnione od mechanizmu oporności spowodowanego zmianami w białkach PBP, nie ma jednak dowodów na skuteczność kliniczną tych leków.	C	[48, 49, 108]
10.3	<i>Haemophilus influenzae</i>	Amoksycylina z kwasem klawulanowym (i wykrywanie $\beta$ -laktamaz)	Ampicylina z sulbaktamem, cefaklor, cefuroksym, cefuroksym aksetyl, piperacylina i piperacylina z tazobaktamem	Izolaty odporne na amoksycylinę z kwasem klawulanowym oraz produkujące $\beta$ -laktamazy (BLPACR) <b>należy</b> raportować jako odporne na ampicylinę, amoksycylinę, amoksycylinę z kwasem klawulanowym, ampicylinę z sulbaktamem, cefaklor, piperacylinę, piperacylinę z tazobaktamem, cefuroksym i cefuroksym aksetyl	Izolaty BLPACR wytwarzają $\beta$ -laktamazy i wykazują zmniejszone powinowactwo białek PBP do antybiotyków $\beta$ -laktamowych. Działanie piperacyliny i piperacyliny z tazobaktamem wydaje się mniej uzależniona od mechanizmu oporności spowodowanego zmianami w białkach PBP, nie ma jednak dowodów na skuteczność kliniczną tych leków.	C	[48, 108]

Eksperckie zasady interpretacji wyników oznaczania lekowrażliwości drobnoustrojów – zalecenia EUCAST wersja 2.0.

Zasada nr	Drobnoustrój	Badany antybiotyk	Antybiotyk, na który ma wpływ odpowiednia zasada	Zasada	Wyjątki, podstawa naukowa i komentarz	Ocena zasady	Publikacje
10.4	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Penicylina benzylowa, ampicylina lub amoksycylina (i wykrywanie $\beta$ -laktamaz)	Penicylina benzylowa, ampicylina i amoksycylina	W przypadku stwierdzenia produkcji $\beta$ -laktamaz <b>należy</b> raportować jako odporne na penicylinę benzylową, ampicylinę i amoksycylinę.	Oporność na penicylinę może być związana z wytwarzaniem $\beta$ -laktamaz kodowanych na plazmidzie (TEM1). Mutacje chromosomalne zmieniające powinowactwo do białek PBP, zmniejszona przepuszczalność osłon komórkowych lub zjawisko pompy błonowej mogą powodować oporność również na połączenia penicylin z inhibitorami $\beta$ -laktamaz. Wrażliwość na penicyliny izolatów niewytwarzających $\beta$ -laktamaz odzwierciedlają wartości graniczne.	A	[55-57]

**Tabela 11: Zasady interpretacji lekowrażliwości dla makrolidów, linkozamidów i streptogramin**

Zasada nr	Drobnoustrój	Badany antybiotyk	Antybiotyk, na który ma wpływ odpowiednia zasada	Zasada	Wyjątki, podstawa naukowa i komentarz	Ocena zasady	Publikacje
11.1	Wszystkie	Erytromycyna	Azytromycyna, klarytromycyna, roksytromycyna	W przypadku izolatu wrażliwego, średniowrażliwego lub opornego na erytromycynę <b>należy</b> raportować te same kategorie lekowrażliwości dla azytromycyny, klarytromycyny i roksytromycyny.	Erytromycyna jest przedstawicielem klasy makrolidów 14- i 15-węglowych. Oporność na erytromycynę wynika na ogół z wytwarzania metylazy rybosomalnej kodowanej przez geny <i>erm</i> , warunkującej fenotyp oporności typu MLS <sub>B</sub> (makrolidy, linkozamidy i streptograminy B) lub z aktywnego wypompowywania leku z komórki przez pompy błonowe. W obu przypadkach występuje oporność krzyżowa pomiędzy erytromycyną, a innymi makrolidami 14- i 15-węglowymi.	C	[58]
11.2	<i>Staphylococcus</i> spp.	Erytromycyna, klindamycyna,	Klindamycyna	W przypadku oporności na erytromycynę a wrażliwości na klindamycynę <b>należy</b> wykonać test dwóch krążków wykrywający oporność indukowaną typu MLS <sub>B</sub> . W przypadku wyniku ujemnego, izolat należy raportować jako wrażliwy na klindamycynę. W przypadku wyniku dodatniego, raportować albo jako oporny na klindamycynę, albo jako wrażliwy z dopiskiem: „W przypadku stosowania leczenia klindamycyną występuje niebezpieczeństwo niepowodzenia terapeutycznego na skutek selekcji szczepów o oporności indukowanej na te leki”. Zaleca się unikanie stosowania klindamycyny w przypadku ciężkich zakażeń.	Szczepy gronkowca oporne na makrolidy, a wrażliwe na klindamycynę wytwarzają metylazę rybosomalną Erm, determinującą fenotyp oporności MLS <sub>B</sub> , lub oporność wynika z aktywnego wypompowywania leku z komórki przez pompy błonowe. W przypadku oporności indukowanej typu MLS <sub>B</sub> , terapia klindamycyną może doprowadzić do selekcji mutantów z konstytutywnym mechanizmem oporności. W przypadku izolatów opornych na makrolidy, posiadających mechanizm oporności związany z pompą błonową, ryzyko selekcji szczepów opornych na klindamycynę wynikające z jej stosowania w terapii nie jest większe niż w przypadku izolatów wrażliwych na erytromycynę. Istnieją doniesienia zarówno o niepowodzeniach jak i sukcesach terapeutycznych po zastosowaniu klindamycyny w leczeniu zakażeń wywołanych przez gronkowce o mechanizmie oporności indukowanej typu MLS <sub>B</sub> . Fenotyp indukowanej oporności MLS <sub>B</sub> w oznaczaniu metodą dyfuzyjno-krążkową (metoda dwóch krążków) jest widoczny jako spłaszczenie strefy zahamowania wzrostu wokół krążka z klindamycyną od strony krążka z erytromycyną.	B	[58, 59]

Eksperckie zasady interpretacji wyników oznaczania lekowrażliwości drobnoustrojów – zalecenia EUCAST wersja 2.0.

Zasada nr	Drobnoustrój	Badany antybiotyk	Antybiotyk, na który ma wpływ odpowiednia zasada	Zasada	Wyjątki, podstawa naukowa i komentarz	Ocena zasady	Publikacje
11.3	<i>Streptococcus</i> spp.	Erytromycyna, klindamycyna	Klindamycyna	W przypadku oporności na erytromycynę a wrażliwości na klindamycynę, <b>należy</b> wykonać test dwóch krążków wykrywający oporność indukowaną typu MLS <sub>B</sub> . W przypadku wyniku dodatniego, izolat należy raportować jako wrażliwy na klindamycynę z dopiskiem: „W przypadku stosowania leczenia klindamycyną występuje niebezpieczeństwo niepowodzenia terapeutycznego na skutek rozwoju oporności w trakcie terapii.”	Szczepki paciorkowca mogą wykazywać oporność na makrolidy związaną z wytwarzaniem metylazy rybosomalnej kodowanej przez geny <i>erm</i> , determinującej fenotyp oporności MLS <sub>B</sub> , lub związaną z aktywnym wypompowywaniem leku przez pompy błonowe kodowane przez geny klasy <i>mef</i> (A). W przypadku oporności indukowanej typu MLS <sub>B</sub> , klindamycyna może wykazywać lub nie wykazywać aktywności, zależnie od typu i poziomu ekspresji genu <i>erm</i> . W przypadku izolatów opornych na makrolidy, posiadających mechanizm oporności związany z pompą błonową, ryzyko selekcji szczepów opornych na klindamycynę wynikające z jej stosowania w terapii nie jest większe niż w przypadku izolatów wrażliwych na erytromycynę. Fenotyp indukowanej oporności MLS <sub>B</sub> w oznaczaniu metodą dyfuzyjno-krążkową (metoda dwóch krążków) jest widoczny jako spłaszczenie strefy zahamowania wzrostu wokół krążka z klindamycyną od strony krążka z erytromycyną. Pomimo że nie ma dowodów klinicznych na niepowodzenie terapeutyczne w trakcie leczenia klindamycyną, to powinno się unikać jej stosowania w leczeniu ciężkich zakażeń.	C	[58]
11.4	<i>Peptostreptococcus</i> spp., <i>Bacteroides</i> spp.	Erytromycyna, klindamycyna	Klindamycyna	W oznaczaniu lekowrażliwości, w przypadku otrzymania wartości MIC erytromycyny >8 mg/L dla <i>Peptostreptococcus</i> spp. lub MIC erytromycyny >32 mg/L dla <i>Bacteroides</i> spp. oraz jednocześnie wrażliwości na klindamycynę, szczepki takie <b>należy</b> je raportować jako odporne na klindamycynę.	Oporność <i>Peptostreptococcus</i> spp. oraz <i>Bacteroides</i> spp. na makrolidy wynika na ogół z wytwarzania metylazy rybosomalnej Erm, determinującej fenotyp oporności MLS <sub>B</sub> . W przypadku oporności indukowanej typu MLS <sub>B</sub> , oporność na klindamycynę jest słabo wyrażana <i>in vitro</i> i ten antybiotyk nie powinien być uznany za aktywny wobec w/w drobnoustrojów.	C	[62,63]

Ekspertyzalne zasady interpretacji wyników oznaczania lekowrażliwości drobnoustrojów – zalecenia EUCAST wersja 2.0.

Zasada nr	Drobnoustrój	Badany antybiotyk	Antybiotyk, na który ma wpływ odpowiednia zasada	Zasada	Wyjątki, podstawa naukowa i komentarz	Ocena zasady	Publikacje
11.5	<i>Staphylococcus</i> spp.	Klindamycyna	Chinupristyna - dalfopristyna	W przypadku potwierdzonej oporności na klindamycynę, konieczne należy zamieścić uwagę o obniżonej aktywności bakteriobójczej chinupristyny-dalfopristyny (brak efektu bójczego)	Oporność na klindamycynę (związana z opornością na erytromycynę) jest markerem konstytutywnej oporności o fenotypie MLS <sub>B</sub> (makrolidy, linkozamidy, streptograminy B). Oporność krzyżowa na streptograminy B prowadzi do zmniejszonej aktywności bakteriobójczej połączenia chinupristyny i dalfopristyny. Modele eksperymentalne gronkowcowego zapalenia wsierdza pokazały sprzeczne wyniki dotyczące skuteczności terapii chinupristyną-dalfopristyną zwierząt zakażonych izolatami o konstytutywnej oporności typu MLS <sub>B</sub> .	C	[60, 61, 109]



**Tabela 12: Zasady interpretacji lekowrażliwości dla aminoglikozydów**

Zasada nr	Drobnoustrój	Badany antybiotyk	Antybiotyk, na który ma wpływ odpowiednia zasada	Zasada	Wyjątki, podstawa naukowa i komentarz	Ocena zasady	Publikacje
12.1	<i>Staphylococcus</i> spp.	Kanamycyna	Amikacyna	W przypadku wartości MIC kanamycyny >8 mg/L, izolaty <b>należy</b> raportować jako odporne na amikacynę.	Oporność na kanamycynę wynika na ogół z wytwarzania APH(3')-I-3, ANT(4') (4'')-I lub dwufunkcyjnego enzymu APH(2')-AAC(6), które warunkują utratę synergizmu między kanamycyną i amikacyną a antybiotykami β-laktamowymi lub glikopeptydami, niezależnie od wartości MIC.	C	[76, 110]
12.2	<i>Staphylococcus</i> spp.	Tobramycyna	Kanamycyna, amikacyna	Szczepy odporne na tobramycynę <b>należy</b> raportować jako odporne na kanamycynę i amikacynę.	Oporność na tobramycynę wynika na ogół z wytwarzania ANT(4') (4'')-I lub dwufunkcyjnego enzymu APH(2')-AAC(6), które warunkują utratę synergizmu między kanamycyną, tobramycyną i amikacyną, a antybiotykami β-laktamowymi lub glikopeptydami, niezależnie od wartości MIC.	C	[110]
12.3	<i>Staphylococcus</i> spp.	Gentamycyna	Wszystkie aminoglikozydy	Szczepy odporne na gentamycynę <b>należy</b> raportować jako odporne na wszystkie aminoglikozydy.	Oporność na gentamycynę wynika na ogół z wytwarzania dwufunkcyjnego enzymu APH(2')-AAC(6), który warunkuje utratę synergizmu między wszystkimi aminoglikozydami (z wyjątkiem streptomycyny i arbekacyny), a antybiotykami β-laktamowymi lub glikopeptydami, niezależnie od wartości MIC.	B	[76, 111]
12.4	<i>Enterococcus</i> spp. <i>Streptococcus</i> spp.	Streptomycyna	Streptomycyna	W przypadku oporności wysokiego stopnia na streptomycynę (MIC>512 mg/L) izolaty <b>należy</b> raportować jako odporne na wysokie stężenia streptomycyny	Oporność wysokiego stopnia na streptomycynę jest związana z wytwarzaniem ANT(6) lub innych enzymów, względnie mutacją w genie kodującym podjednostkę 30S rybosomu. Oporność wysokiego stopnia na streptomycynę u enterokoków znosi synergizm między streptomycyną a antybiotykami β-laktamowymi.	A ( <i>Enterococcus</i> )  B ( <i>Streptococcus</i> )	[73]

Ekspertyczne zasady interpretacji wyników oznaczania lekowrażliwości drobnoustrojów – zalecenia EUCAST wersja 2.0.

Zasada nr	Drobnoustrój	Badany antybiotyk	Antybiotyk, na który ma wpływ odpowiednia zasada	Zasada	Wyjątki, podstawa naukowa i komentarz	Ocena zasady	Publikacje
12.5	<i>Enterococcus</i> spp. <i>Streptococcus</i> spp	Kanamycyna	Amikacyna	W przypadku oporności wysokiego stopnia na kanamycynę (MIC>512 mg/L) izolaty <b>należy</b> raportować jako odporne na wysokie stężenia amikacyny.	Oporność wysokiego stopnia na kanamycynę wynika na ogół z wytwarzania APH(3')-I-3, lub dwufunkcyjnego enzymu APH(2')-AAC(6), które warunkują utratę synergizmu między kanamycyną i amikacyną a antybiotykami β-laktamowymi lub glikopeptydami niezależnie od wartości MIC.	B ( <i>Enterococcus</i> )  C ( <i>Streptococcus</i> )	[74, 76]
12.6	<i>Enterococcus</i> spp. <i>Streptococcus</i> spp	Gentamycyna	Wszystkie aminoglikozydy za wyjątkiem streptomycyny	W przypadku oporności wysokiego stopnia na gentamycynę (MIC>128 mg/L) izolaty <b>należy</b> raportować jako odporne na wysokie stężenia wszystkich aminoglikozydów (z wyjątkiem streptomycyny).	Oporność wysokiego stopnia na gentamycynę wynika na ogół z wytwarzania dwufunkcyjnego enzymu APH(2')-AAC(6), który warunkuje utratę synergizmu między wszystkimi aminoglikozydami (z wyjątkiem streptomycyny i arbekacyny) a antybiotykami β-laktamowymi lub glikopeptydami niezależnie od wartości MIC	A ( <i>Enterococcus</i> )  C ( <i>Streptococcus</i> )	[73, 112]
12.7	Wszystkie Enterobacteriaceae, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Acinetobacter baumannii</i>	Tobramycyna, gentamycyna, amikacyna	Amikacyna	W przypadku średniej wrażliwości lub oporności na tobramycynę i jednocześnie wrażliwości na gentamycynę i amikacynę, izolaty Enterobacteriaceae <b>należy</b> sklasyfikować jako średniowrażliwe na amikacynę, zaś izolaty <i>Pseudomonas</i> spp. <i>Acinetobacter</i> spp. jako odporne na amikacynę.	Wytwarzanie nabytego enzymu AAC(6')-I może nie skutkować widocznym w badaniach fenotypowych mechanizmem oporności pomimo modyfikacji amikacyny.	C	[77-80, 113]
12.8	Wszystkie Enterobacteriaceae	Gentamycyna i inne aminoglikozydy	Gentamycyna	W przypadku średniej wrażliwości na gentamycynę i jednocześnie wrażliwości na inne aminoglikozydy, izolaty <b>należy</b> raportować jako odporne na gentamycynę.	Produkcja enzymu AAC(3)-I może odbywać się na niskim poziomie, a izolaty mogą wykazywać obniżoną wrażliwość na gentamycynę.	C	[69, 114]

Eksperckie zasady interpretacji wyników oznaczania lekowrażliwości drobnoustrojów – zalecenia EUCAST wersja 2.0.

Zasada nr	Drobnoustrój	Badany antybiotyk	Antybiotyk, na który ma wpływ odpowiednia zasada	Zasada	Wyjątki, podstawa naukowa i komentarz	Ocena zasady	Publikacje
12.9	Wszystkie Enterobacteriaceae	Tobramycyna, gentamycyna, amikacyna	Tobramycyna	W przypadku średniej wrażliwości na tobramycynę, oporności na gentamycynę i wrażliwości na amikacynę, izolaty <b>należy</b> raportować jako odporne na tobramycynę.	Produkcja enzymu ANT(2'') może zachodzić na niskim poziomie, a izolaty mogą wykazywać obniżoną wrażliwość na tobramycynę.	C	[69, 115]
12.10	Wszystkie Enterobacteriaceae	Netylmycyna, gentamycyna	Netilmycyna	W przypadku średniej wrażliwości na netylmycynę oraz średniej wrażliwości lub oporności na gentamycynę i tobramycynę, izolaty <b>należy</b> raportować jako odporne na netylmycynę.	Produkcja enzymów AAC(3'')-II lub AAC(3'')-IV może zachodzić na niskim poziomie, a izolaty mogą wykazywać zmniejszoną wrażliwość na netylmycynę.	C	[69, 78]

**Tabela 13: Zasady interpretacji lekowrażliwości dla chinolonów**

Zasada nr	Drobnoustrój	Badany antybiotyk	Antybiotyk, na który ma wpływ odpowiednia zasada	Zasada	Wyjątki, podstawa naukowa i komentarz	Ocena zasady	Publikacje
13.1	<i>Staphylococcus spp.</i>	Ofloksacyna, Ciprofloksacyna, lewofloksacyna, moksifloksacyna	Wszystkie fluorochinolony	W przypadku oporności na ofloksacynę lub ciprofloksacynę i braku oporności na lewofloksacynę i moksifloksacynę, na wyniku <b>należy</b> umieścić uwagę o możliwości rozwoju oporności podczas leczenia chinolonami.	Nabycie co najmniej jednej mutacji w genie <i>grlA</i> , kodującym miejsce docelowe	C	[86, 92]
13.2	<i>Staphylococcus spp.</i>	Lewofloksacyna, moksifloksacyna	Wszystkie fluorochinolony	W przypadku oporności na lewofloksacynę lub moksifloksacynę, izolaty <b>należy</b> raportować jako odporne na wszystkie fluorochinolony.	Nabycie mutacji jednocześnie w genach <i>grlA</i> i <i>gyrA</i> prowadzi do całkowitej lub częściowej oporności krzyżowej na wszystkie fluorochinolony.	C	[92, 116, 117]
13.3	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Ofloksacyna, ciprofloksacyna, lewofloksacyna, moksifloksacyna	Wszystkie fluorochinolony	W przypadku oporności na ofloksacynę lub ciprofloksacynę, i braku oporności na lewofloksacynę i moksifloksacynę, na wyniku <b>należy</b> umieścić uwagę: „Nabycie mutacji punktowej może prowadzić do rozwoju oporności podczas leczenia innymi chinolonami.”	Nabycie co najmniej jednej mutacji w genie kodującym miejsce docelowe np. genie <i>parC</i> ( <i>parE</i> ). Mutacje punktowe są lepiej wykrywane z użyciem krążka z norfloksacyną.	C	[94, 118-120]
13.4	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Lewofloksacyna, moksifloksacyna	Wszystkie fluorochinolony	W przypadku oporności na lewofloksacynę lub moksifloksacynę, izolaty <b>należy</b> raportować jako odporne na wszystkie fluorochinolony.	Nabycie mutacji jednocześnie np. w genach <i>parC</i> i <i>gyrA</i> prowadzi do całkowitej lub częściowej oporności krzyżowej na wszystkie fluorochinolony.	B	[121]
13.5	Enterobacteriaceae	Ciprofloksacyna	Wszystkie fluorochinolony	W przypadku oporności na ciprofloksacynę, izolaty <b>należy</b> raportować jako odporne na wszystkie fluorochinolony.	Nabycie co najmniej dwóch mutacji punktowych w genach kodujących miejsce docelowe: <i>gyrA</i> lub <i>gyrA</i> plus <i>parC</i> . Wyjątek stanowi produkcja enzymu AAC(6)-Ib-cr, który może wpływać na wyniki oznaczania lekowrażliwości w przypadku ciprofloksacyny ale nie lewofloksacyny.	B	[93]

Ekspertyczne zasady interpretacji wyników oznaczania lekowrażliwości drobnoustrojów – zalecenia EUCAST wersja 2.0.

Zasada nr	Drobnoustrój	Badany antybiotyk	Antybiotyk, na który ma wpływ odpowiednia zasada	Zasada	Wyjątki, podstawa naukowa i komentarz	Ocena zasady	Publikacje
13.6	<i>Salmonella spp.</i>	Ciprofloksacyna	Wszystkie fluorochinolony	W przypadku wyniku badania lekowrażliwości na ciprofloksacynę, jeśli szczepy wykazują wartość MIC>0,06mg/L, izolaty <b>należy</b> raportować jako odporne na wszystkie fluorochinolony	Istnieją dowody niepowodzeń klinicznych w leczeniu zakażeń wywołanych przez szczepy odporne na fluorochinolony, ze względu na nabycie przynajmniej jednej mutacji w genie kodującym miejsce docelowe <i>gyrA</i> .	A ( <i>Salmonella typhi</i> )  B (inne <i>Salmonella spp.</i> )	[95, 97, 98]
13.7	<i>Haemophilus influenzae</i>	Kwas nalidyksowy	Wszystkie fluorochinolony	W przypadku oporności na kwas nalidyksowy, stwierdzonej w teście przesiewowym wykonanym metodą dyfuzyjno-krażkową <b>należy</b> wykonać oznaczenie MIC dla fluorochinolonu, który będzie stosowany w terapii (ofloksacyna, ciprofloksacyna, lewofloksacyna lub moksifloksacyna).	Obniżona wrażliwość na fluorochinolony u <i>H. influenzae</i> spowodowana mutacjami topoisomeras w genach kodujących miejsce docelowe może być skutecznie wykryta z użyciem krażka z kwasem nalidyksowym. Oporność wysokiego stopnia na fluorochinolony u tego drobnoustroju jest opisywana sporadycznie. Dopóki nie ma dowodów na znaczenie kliniczne takich izolatów <b>należy</b> je raportować jako odporne.	C	[96, 122]
13.8	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Ciprofloksacyna, ofloksacyna	Wszystkie fluorochinolony	W przypadku oporności na ciprofloksacynę lub ofloksacynę, izolaty <b>należy</b> raportować jako odporne na wszystkie fluorochinolony.	Nabycie co najmniej dwóch mutacji punktowych w genach kodujących miejsce docelowe: <i>gyrA</i> lub <i>gyrA</i> plus <i>parC</i> .	C	[123]

## Piśmiennictwo

1. Winstanley T, Courvalin P. Expert systems in clinical microbiology. *Clin Microbiol Rev* 2011; 24: 515–556
2. Courvalin P. Interpretive reading of antimicrobial susceptibility tests. *ASM News* 1992; 58: 368–375
3. Courvalin P. Interpretive reading of in vitro antibiotic susceptibility tests (the antibiogramme). *Clin Microbiol Infect* 1996; 2 (suppl 1): S26–S34.
4. Livermore DM, Winstanley TG, Shannon KP. Interpretative reading: recognizing the unusual and inferring resistance mechanisms from resistance phenotypes. *J Antimicrob Chemother* 2001; 48 (suppl 1): 87–102.
5. Macgowan AP, BSAC Working Parties on Resistance Surveillance. Clinical implications of antimicrobial resistance for therapy. *J Antimicrob Chemother* 2008; 62 (suppl 2): ii105–ii114.
6. Vedel G, Peyret M, Gayral JP, Millot P. Evaluation of an expert system linked to a rapid antibiotic susceptibility testing system for the detection of  $\beta$ -lactam resistance phenotypes. *Res Microbiol* 1996; 147:297–309
7. Livermore DL, Struelens, M, Amorim J et al. Multicentre evaluation of the VITEK 2 advanced expert system for interpretive reading of antimicrobial resistance tests. *J Antimicrob Chemother* 2002; 49: 289–300.
8. Livermore DM.  $\beta$ -Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev* 1995; 8: 557–584.
9. Bush K, Jacoby GA. Updated functional classification of beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54: 969–976.
10. Zapun A, Contreras-Martel C, Vernet T. Penicillin-binding proteins and  $\beta$ -lactam resistance. *FEMS Microbiol Rev* 2008; 32: 361–385.
11. Pagès JM, James CE, Winterhalter M. The porin and the permeating antibiotic: a selective diffusion barrier in Gram-negative bacteria. *Nat Rev Microbiol* 2008; 6: 893–903.
12. Poole K. Efflux pumps as antimicrobial resistance mechanisms. *Ann Med* 2007; 39: 162–176.
13. Page MG. Anti-MRSA  $\beta$ -lactams in development. *Curr Opin Pharmacol* 2006; 5: 480–485.
14. Brown DF. Detection of methicillin/oxacillin resistance in staphylococci. *J Antimicrob Chemother* 2001; 48 (suppl 1): 65–70.
15. Chambers HF, Sachdeva M, Kennedy S. Binding affinity for penicillin-binding protein 2a correlates with in vivo activity of  $\beta$ -lactam antibiotics against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Infect Dis* 1990; 162: 705–710.
16. Montanari MP, Massidda O, Mingoia M, Varaldo PE. Borderline susceptibility to methicillin in *Staphylococcus aureus*: a new mechanism of resistance? *Microb Drug Resist* 1996; 2: 257–260.
17. Kimura K, Suzuki S, Wachino J et al. First molecular characterization of group B streptococci with reduced penicillin susceptibility. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52: 2890–2897.
18. Casey JR, Pichichero ME. Meta-analysis of cephalosporins versus penicillin for treatment of group A streptococcal tonsillopharyngitis in adults. *Clin Infect Dis* 2004; 11: 1526–1534.
19. File TM Jr. Clinical implications and treatment of multiresistant *Streptococcus pneumoniae* pneumonia. *Clin Microbiol Infect* 2006; 12 (Suppl 3): 31–41.
20. Nagai K, Davies TA, Jacobs MR, Appelbaum PC. Effects of amino acid alterations in penicillin-binding proteins (PBPs) 1a, 2b, and 2x on PBP cefprozil, and cefaclor in 18 clinical isolates of penicillin-susceptible, -intermediate, and -resistant pneumococci. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 5: 1273–1280.
21. Fontana R, Ligozzi M, Pittaluga F, Satta G. Intrinsic penicillin resistance in enterococci. *Microb Drug Resist* 1996; 2: 209–213.
22. Leclercq R. Enterococci acquire new kinds of resistance. *Clin Infect Dis* 1997; 24 (suppl 1): S80–S84.

23. Jarlier V, Nicolas MH, 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.
24. Livermore DM, Brown DF. Detection of  $\beta$ -lactamase-mediated resistance. *J Antimicrob Chemother* 2001; 48 (suppl 1): 59–64.
25. Drieux L, Brossier F, Sougakoff W, Jarlier V. Phenotypic detection of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase production in Enterobacteriaceae: review and bench guide. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14 (suppl 1): 90–103.
26. Kahlmeter G. Breakpoints for intravenously used cephalosporins in Enterobacteriaceae—EUCAST and CLSI breakpoints. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14 (suppl 1): 169–174.
27. MacGowan A. Breakpoints for extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae: pharmacokinetic/pharmacodynamic considerations. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14 (suppl 1): 166–168.
28. Hawser SP, Badal RE, Bouchillon SK, Hoban DJ, Hsueh PR. Comparison of CLSI 2009, CLSI 2010 and EUCAST cephalosporin clinical breakpoints in recent clinical isolates of *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella oxytoca* from the SMART Global Surveillance Study. *Int J Antimicrob Agents* 2010; 36: 293–294.
29. Bin C, Hui W, Renyuan Z et al. Outcome of cephalosporin treatment of bacteremia due to CTX-M-type extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2006; 56: 351–357.
30. Endimiani A, Paterson DL. Optimizing therapy for infections caused by enterobacteriaceae producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamases. *Semin Respir Crit Care Med* 2007; 28: 646–655.
31. Maglio D, Ong C, Banevicius MA, Geng Q, Nightingale CH, Nicolau DP. Determination of the in vivo pharmacodynamic profile of cefepime against extended-spectrum- $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* at various inocula. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 1941–1947.
32. Wong-Beringer A, Hindler J, Loeloff M et al. Molecular correlation for the treatment outcomes in bloodstream infections caused by *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* with reduced susceptibility to ceftazidime. *Clin Infect Dis* 2002; 34: 135–146.
33. Paterson DL, Ko WC, Von Gottberg A 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: 2206–2212.
34. Bhavnani SM, Ambrose PG, Craig WA, Dudley MN, Jones RN, SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. Outcomes evaluation of patients with ESBL- and non-ESBL-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* species as defined by CLSI reference methods: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2006; 54: 231–236.
35. Potz NA, Colman M, Warner M, Reynolds R, Livermore DM. False-positive extended-spectrum  $\beta$ -lactamase tests for *Klebsiella oxytoca* strains hyperproducing K1  $\beta$ -lactamase. *J Antimicrob Chemother* 2004; 53: 545–547.
36. Walsh TR, Toleman MA, Poirel L, Nordmann P. Metallo- $\beta$ -lactamases: the quiet before the storm? *Clin Microbiol Rev* 2005; 18: 306–325.
37. Poirel L, Pitout JD, Nordmann P. Carbapenemases: molecular diversity and clinical consequences. *Future Microbiol* 2007; 2: 501–512.
38. Poirel L, Héritier C, Tolùn V, Nordmann P. Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 15–22.
39. Woodford N, Dallow J, Hill RLR et al. Mechanisms of ertapenem resistance among *Klebsiella* and *Enterobacter* submitted in the United Kingdom to a reference laboratory. *Int J Antimicrob Agents* 2007; 29: 456–459.
40. Daikos GL, Petrikos P, Psychogiou M et al. Prospective observational study of the impact of VIM-1 metallo- $\beta$ -lactamase on the outcome of patients with *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53: 1868–1873.

41. Daikos GL, Markogiannakis A. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: (when) might we still consider treating with carbapenems? *Clin Microbiol Infect* 2011; 17: 1135–1141.
42. Tato M, Morosini M, García L, Albertí S, Coque MT, Canton R. Carbapenem heteroresistance in VIM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates belonging to the same clone: consequences for routine susceptibility testing. *J Clin Microbiol* 2010; 48: 4089–4093.
43. Livermore DM. Has the era of untreatable infections arrived? *J Antimicrob Chemother* 2009; 64 (suppl 1): i29–i36.
44. Gavin PJ, Suseno MT, Thomson RB Jr et al. Clinical correlation of the CLSI susceptibility breakpoint for piperacillin–tazobactam against extended-spectrum- $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* species. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50: 2244–2247.
45. Rodríguez-Baño J, Navarro MD, Romero L et al. Bacteremia due to extended spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* in the CTX-M era: a new clinical challenge. *Clin Infect Dis*, 2006; 43: 1407–1414.
46. Chow JW, Fine MJ, Shlaes DM et al. *Enterobacter* bacteremia: clinical features and emergence of antibiotic resistance during therapy. *Ann Intern Med* 1991; 115: 585–590.
47. Schwaber MJ, Graham CS, Sands BE, Gold HS, Carmeli Y. Treatment with a broad-spectrum cephalosporin versus piperacillin–tazobactam and the risk for isolation of broad-spectrum cephalosporin-resistant *Enterobacter* species. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 1882–1886.
48. Tristram S, Jacobs MR, Appelbaum PC. Antimicrobial resistance in *Haemophilus influenzae*. *Clin Microbiol Rev* 2007; 20: 368–389.
49. Ubukata K, Shibasaki Y, Yamamoto K et al. Association of amino acid substitutions in penicillin-binding protein 3 with  $\beta$ -lactam resistance in  $\beta$ -lactamase-negative ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45: 1693–1699.
50. Morikawa Y, Kitazato M, Mitsuyama J, Mizunaga S, Minami S, Watanabe Y. In vitro activities of piperacillin against  $\beta$ -lactamase-negative ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 1229–1234.
51. Kubota T, Higa F, Kusano N et al. Genetic analyses of  $\beta$ -lactamase negative ampicillin-resistant strains of *Haemophilus influenzae* isolated in Okinawa, Japan. *Jpn J Infect Dis* 2006; 59: 36–41.
52. Matic V, Bozdogan B, Jacobs MR, Ubukata K, Appelbaum PC. Contribution of  $\beta$ -lactamase and PBP amino acid substitutions to amoxicillin/clavulanate resistance in  $\beta$ -lactamase-positive, amoxicillin/clavulanate-resistant *Haemophilus influenzae*. *J Antimicrob Chemother* 2003; 52: 1018–1021.
53. Bozdogan B, Tristram S, Appelbaum PC. Combination of altered PBPs and expression of cloned extended-spectrum  $\beta$ -lactamases confers cefotaxime resistance in *Haemophilus influenzae*. *J Antimicrob Chemother* 2006; 57: 747–749.
54. Tristram SG, Pitout MJ, Forward K, Campbell S, Nichols S, Davidson RJ. Characterization of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing isolates of *Haemophilus parainfluenzae*. *J Antimicrob Chemother* 2008; 61: 509–514.
55. Dillon JA, Yeung KH.  $\beta$ -Lactamase plasmids and chromosomally mediated antibiotic resistance in pathogenic *Neisseria* species. *Clin Microbiol Rev* 1989; 2: S125–S133.
56. Ropp PA, Hu M, Olesky M, Nicholas RA. Mutations in *ponA*, the gene encoding penicillin-binding protein 1, and a novel locus, *penC*, are required for high-level chromosomally mediated penicillin resistance in *Neisseria gonorrhoeae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 769–777.
57. Olesky M, Zhao S, Rosenberg RL, Nicholas RA. Porin-mediated antibiotic resistance in *Neisseria gonorrhoeae*: ion, solute, and antibiotic permeation through PIB proteins with *penB* mutations. *J Bacteriol* 2006; 188: 2300–2308.
58. 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.
59. Lewis JS, Jorgensen JH. Inducible clindamycin resistance in Staphylococci: should clinicians and microbiologists be concerned? *Clin Infect Dis* 2005; 40: 280–285.



60. Entenza JM, Drugeon H, Glauser MP, Moreillon P. Treatment of experimental endocarditis due to erythromycin-susceptible or –resistant methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with RP 59500. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39: 1419–1424.
61. Batard E, Jacqueline C, Boutoille D et al. Combination of quinupristin–dalbapristin and gentamicin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: experimental rabbit endocarditis study. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 2174–2178.
62. Reig M, Fernández MC, Ballesta JP, Baquero F. Inducible expression of ribosomal clindamycin resistance in *Bacteroides vulgatus*. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; 36: 639–642.
63. Reig M, Moreno A, Baquero F. Resistance of *Peptostreptococcus spp.* to macrolides and lincosamides: inducible and constitutive phenotypes. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; 36: 662–664.
64. Kotra LP, Haddad J, Mobashery S. Aminoglycosides: perspectives on mechanisms of action and resistance and strategies to counter resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 3249–3256.
65. Jana S, Deb JK. Molecular understanding of aminoglycoside action and resistance. *Appl Microbiol Biotechnol* 2006; 70: 140–150.
66. Vakulenko SB, Mobashery S. Versatility of aminoglycosides and prospects or their future. *Clin Microbiol Rev* 2003; 16: 430–450.
67. Doi Y, Arakawa Y. 16S ribosomal RNA methylation: emerging resistance mechanism against aminoglycosides. *Clin Infect Dis* 2007; 45: 88–94.
68. Bonomo RA, Szabo D. Mechanisms of multidrug resistance in *Acinetobacter* species and *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Infect Dis* 2006; 43 (suppl 2): S49–S56.
69. Shaw KJ, Rather PN, Hare RS, Miller GH. Molecular genetics of aminoglycoside resistance genes and familial relationships of the aminoglycoside- modifying enzymes. *Microbiol Rev* 1993; 57: 138–163.
70. Davies J, Wright GD. Bacterial resistance to aminoglycoside antibiotics. *Trends Microbiol* 1997; 5: 234–240.
71. Wright GD. Aminoglycoside-modifying enzymes. *Curr Opin Microbiol* 1999; 2: 499–503.
72. Azucena E, Mobashery S. Aminoglycoside-modifying enzymes: mechanisms of catalytic processes and inhibition. *Drug Resist Updat* 2001; 4: 106–117.
73. Chow JW. Aminoglycoside resistance in enterococci. *Clin Infect Dis* 2000; 31: 586–589.
74. Thauvin C et al. Antagonistic effect of penicillin–amikacin combinations against enterococci. *Antimicrob Agents Chemother* 1985; 28: 78–83.
75. Martel A, Moreau N, Capmau ML, Soussy CJ, Duval J. 2"-O-phosphorylation of gentamicin components by a *Staphylococcus aureus* strain carrying a plasmid. *Antimicrob Agents Chemother* 1977; 12: 26–30.
76. Courvalin P, Davies J. Plasmid-mediated aminoglycoside phosphotransferase of broad substrate range that phosphorylates amikacin. *Antimicrob Agents Chemother* 1977; 11: 619–624.
77. Benveniste R, Davies J. Enzymatic acetylation of aminoglycoside antibiotics by *Escherichia coli* carrying an R factor. *Biochemistry* 1971; 10: 1787–1796.
78. Le Goffic F, Martel A, Witchitz J. 3-N enzymatic acetylation of gentamicin, tobramycin, and kanamycin by *Escherichia coli* carrying an R factor. *Antimicrob Agents Chemother* 1974; 6: 680–684.
79. Martin P, Jullien E, Courvalin P. Nucleotide sequence of *Acinetobacter baumannii* aphA-6 gene: evolutionary and functional implications of sequence homologies with nucleotide-binding proteins, kinases and other aminoglycoside-modifying enzymes. *Mol Microbiol* 1988; 2: 615–625.
80. Shaw KJ, Hare RS, Sabatelli FJ et al. Correlation between aminoglycoside resistance profiles and DNA hybridization of clinical isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; 35: 2253–2261.
81. Knothe H, Kettner M, Krcmery V. R-plasmids in Providencia and *Proteus rettgeri* strains from Frankfurt University Hospital. In: Mituhashi S, Roswal L, Krcmery V, eds. *Plasmids. Medical and theoretical aspects*. Berlin: Springer-Verlag, 1977; 435–439.

82. Widermann B, Klopfer-Kaul I, Tetzloff G. Untersuchungen über das Aminoglykosid-Antibiotika inaktivierende Enzym AAC(6<sup>v</sup>). *Infection* 1979; 7: S192–S196.
83. Macinga DR, Rather PN. The chromosomal 2'-N-acetyltransferase of *Providencia stuartii*: physiological functions and genetic regulation. *Front Biosci* 1999; 4: D132–D140.
84. Chen HY, Williams JD. Transferable resistance and aminoglycoside-modifying enzymes in enterococci. *J Med Microbiol* 1985; 20: 187–196.
85. Smith JT. The mode of action of 4-quinolones and possible mechanisms of resistance. *J Antimicrob Chemother* 1986; 18 (suppl D): 21–29.
86. Jacoby GA. Mechanisms of resistance to quinolones. *Clin Infect Dis* 2005; 41 (suppl 2): S120–S126.
87. Robicsek A, Jacoby GA, Hooper DC. The worldwide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance. *Lancet Infect Dis* 2006; 6: 629–640.
88. Martínez-Martínez L, Pascual A, Jacoby GA. Quinolone resistance from a transferable plasmid. *Lancet* 1998; 351: 797–799.
89. Robicsek A, Strahilevitz J, Jacoby GA et al. Fluoroquinolone-modifying enzyme: a new adaptation of a common aminoglycoside acetyltransferase. *Nat Med* 2006; 12: 83–88.
90. Martínez-Martínez L, Eliecer Cano M, Manuel Rodríguez-Martínez J, Calvo J, Pascual A. Plasmid-mediated quinolone resistance. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2008; 6: 685–711.
91. Rodríguez-Martínez JM, Cano ME, Velasco C, Martínez-Martínez L, Pascual A. Plasmid-mediated quinolone resistance: an update. *J Infect Chemother* 2011; 17: 149–182.
92. Jones ME, Visser MR, Klootwijk M, Heisig P, Verhoef J, Schmitz FJ. Comparative activities of clinafloxacin, grepafloxacin, levofloxacin, moxifloxacin, ofloxacin, sparfloxacin, and trovafloxacin and nonquinolones linezolid, quinupristin–dalfopristin, gentamicin, and vancomycin against clinical isolates of ciprofloxacin-resistant and -susceptible *Staphylococcus aureus* strains. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 421–423.
93. Komp Lindgren P, Karlsson A, Hughes D. Mutation rate and evolution of fluoroquinolone resistance in *Escherichia coli* isolates from patients with urinary tract infections. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 3222–3232.
94. Montanari MP, Tili E, Cochetti I, Mingoia M, Manzin A, Varaldo PE. Molecular characterization of clinical *Streptococcus pneumoniae* isolates with reduced susceptibility to fluoroquinolones emerging in Italy. *Microb Drug Resist* 2004; 10: 209–217.
95. Helms M, Vastrup P, Gerner-Smidt P, Molbak K. Excess mortality associated with antimicrobial drug-resistant *Salmonella typhimurium*. *Emerg Infect Dis* 2002; 8: 490–495.
96. Rodríguez-Martínez JM, López L, García I, Pascual A. Characterization of a clinical isolate of *Haemophilus influenzae* with a high level of fluoroquinolone resistance. *Antimicrob Chemother* 2006; 57: 577–578.
97. Kadiravan T, Wig N, Kapil A, Kabra SK, Renuka K, Misra A. Clinical outcomes in typhoid fever: adverse impact of infection with nalidixic acid-resistant *Salmonella typhi*. *BMC Infect Dis* 2005; 5: 37.
98. Slinger R, Desjardins M, McCarthy AE, Ramotar K, Jessamine P, Guibord C, Toye B. Suboptimal clinical response to ciprofloxacin in patients with enteric fever due to *Salmonella spp.* With reduced fluoroquinolone susceptibility: a case series. *BMC Infect Dis*, 2004; 4:36.
99. Nathwani D, Wood MJ. Penicillins. A current review of their clinical pharmacology and therapeutic use. *Drugs*, 1993; 6: 866–894.
100. Karlowsky JA, Jones ME, Mayfield DC, Thornsberry C, Sahm DF. Ceftriaxone activity against Gram-positive and Gram-negative pathogens isolated in US clinical microbiology laboratories from 1996 to 2000: results from The Surveillance Network (TSN) Database-USA. *Int J Antimicrob Agents*, 2002; 5: 413–426.
101. Kuriyama T, Karasawa T, Nakagawa K, Nakamura S, Yamamoto E. Antimicrobial susceptibility of major pathogens of orofacial odontogenic infections to 11  $\beta$ -lactam antibiotics. *Oral Microbiol Immunol*, 2002; 5: 285–289.
102. Jones ME, Draghi DC, Karlowsky JA, Sahm DF, Bradley JS. Prevalence of antimicrobial resistance in bacteria isolated from central nervous system specimens as reported by US hospital laboratories from 2000 to 2002. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 2004; 3: 3.

103. Weinstein MP, Mirrett S, Kannagara S et al. Multicenter evaluation of use of penicillin and ampicillin as surrogates for in vitro testing of susceptibility of enterococci to imipenem. *J Clin Microbiol*, 2004; 8: 3747–3751.
104. Ono S, Muratani T, Matsumoto T. Mechanisms of resistance to imipenem and ampicillin in *Enterococcus faecalis*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2005; 7: 2954–2958.
105. Jarlier V, Soussy CJ, Chanal M et al. In vitro effect of piperacillin on aerobic bacteria. Variations according to the phenotypes of resistance to  $\beta$ -lactam antibiotics. *Press Med* 1986; 15: 2272–2278.
106. Thomas WJ, McReynolds JW, Mock CR, Bailey DW. Ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* meningitis. *Lancet*, 1974; 7852: 313.
107. Medeiros AA, O'Brien TF. Ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* type B possessing a TEM-type  $\beta$ -lactamase but little permeability barrier to ampicillin. *Lancet*, 1975; 7909: 716–719.
108. Kim IS, Ki CS, Kim S et al. Diversity of ampicillin resistance genes and antimicrobial susceptibility patterns in *Haemophilus influenzae* strains isolated in Korea. *Antimicrob Agents Chemother*, 2007; 51: 453–460.
109. Fantin B, Leclercq R, Garry L, Carbon C. Influence of inducible cross-resistance to macrolides, lincosamides, and streptogramin B-type antibiotics in *Enterococcus faecium* on activity of quinupristin–dalfopristin in vitro and in rabbits with experimental endocarditis. *Antimicrob Agents Chemother*, 1997; 41: 931–935.
110. Le Goffic F, Baca B, Soussy CJ, Dublanchet A, Duval J. ANT(4)I: a new aminoglycoside nucleotidyltransferase found in *Staphylococcus aureus*. *Ann Microbiol (Paris)*, 1976; 127: 391–399.
111. Asseray N, Caillon J, Roux N et al. Different aminoglycoside-resistant phenotypes in a rabbit *Staphylococcus aureus* endocarditis infection model. *Antimicrob Agents Chemother*, 2002; 46: 1591–1593.
112. Mederski-Samoraj BD, Murray BE. High-level resistance to gentamicin in clinical isolates of enterococci. *J Infect Dis*, 1983; 147: 751–757.
113. Galimand M, Lambert T, Gerbaud G, Courvalin P. Characterization of the aac(6)-Ib gene encoding an aminoglycoside 6'-N-acetyltransferase in *Pseudomonas aeruginosa* BM2656. *Antimicrob Agents Chemother*, 1993; 7: 1456–1462.
114. Witchitz JL. Plasmid-mediated gentamicin resistance not associated with kanamycin resistance in Enterobacteriaceae. *J Antibiot*, 1972; 25: 622–624.
115. Benveniste R, Davies J. R-factor mediated gentamicin resistance: a new enzyme which modifies aminoglycoside antibiotics. *FEBS Lett*, 1971; 14: 293–296.
116. Stein GE, Schooley S, Tyrrell KL, Citron DM, Goldstein EJ. Bactericidal activities of methoxyfluoroquinolones gatifloxacin and moxifloxacin against aerobic and anaerobic respiratory pathogens in serum. *Antimicrob Agents Chemother*, 2003; 47: 1308–1312.
117. Santos Sanches I, Mato R, de Lencastre H, Tomasz A, CEM/NET Collaborators and the International Collaborators. Patterns of multidrug resistance among methicillin-resistant hospital isolates of coagulase-positive and coagulase-negative staphylococci collected in the international multicenter study RESIST in 1997 and 1998. *Microb Drug Resist* 2000; 6: 199–211.
118. Perez-Trallero E, Marimon JM, Gonzalez A, Ercibengoa M, Larruskain J. In vivo development of high-level fluoroquinolone resistance in *Streptococcus pneumoniae* in chronic obstructive pulmonary disease. *Clin Infect Dis*, 2005; 41: 560–564.
119. Urban C, Rahman N, Zhao X et al. Fluoroquinolone-resistant *Streptococcus pneumoniae* associated with levofloxacin therapy. *J Infect Dis*, 2001; 184: 794–798.
120. Varon E, Houssaye S, Grondin S, Gutmann L, Groupe des Observatoires de la Resistance du Pneumocoque. Nonmolecular test for detection of low-level resistance to fluoroquinolones in *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2006; 50: 572–579.
121. Davidson R, Cavalcanti R, Brunton JL et al. Resistance to levofloxacin and failure of treatment of pneumococcal pneumonia. *N Engl J Med*, 2002; 346: 747–750.
122. Pérez-Vázquez M, Román F, Aracil B, Cantón R, Campos J. Laboratory detection of *Haemophilus influenzae* with decreased susceptibility to nalidixic acid, ciprofloxacin,

- levofloxacin, and moxifloxacin due to GyrA and ParC mutations. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 1185–1191.
123. Knapp JS, Fox KK, Trees DL, Whittington WL. Fluoroquinolone resistance in *Neisseria gonorrhoeae*. *Emerg Infect Dis*, 1997; 3: 33–39.