

CARBAPENEMASE OF INTESTINAL RODS – THE BEGINNING OF POST-ANTIBIOTIC ERA?

Sylwia Joanna Chmielewska*, Katarzyna Leszczyńska

Department of Medical Microbiology and Nanobiomedical Engineering, Medical University of Białystok, Białystok

Received in July 2018, accepted in May 2019

Abstract: In recent years in Poland as well as globally at an alarming rate, the number of bacteria producing mechanisms of antibiotic resistance has been increased. The major source of concern is the emergence and dissemination of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* (CRE). Carbapenems are considered as last resort drugs for the treatment of multidrug-resistant (MDR) bacterial infections. At the present time the greatest menaces to public health are strains producing KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemases), NDM (New Delhi Metallo- β -lactamase) and OXA-48 (Oxacillinase-48). Carbapenemase-producing *Enterobacterales* have been resistant to most and sometimes even to all drugs that would be considered for treatment. Therefore, the accurate therapeutic options for the treatment of infections due to CRE strains are limited to the following antibiotics: colistin, tigecycline, fosfomycin, and aminoglycosides. Moreover, combination therapy containing two or more antibiotics has been recommended for the treatment of severe infections caused by carbapenemase-producing *Enterobacterales*. Due to the rapid spread of carbapenem-resistant strains and the lack of new antibiotic drug development, there is an urgent need to broaden our knowledge regarding antibiotic resistance.

1. Introduction. 2. Carbapenemases. 2.1. Metallo- β -lactamases. 2.2. Class A Carbapenemases. 2.3. Class D Carbapenemases (OXA). 3. Review of antibiotic treatment options of infections due to carbapenem-resistant strains. 3.1. Colistin. 3.2. Fosfomycin. 3.3. Tigecycline. 3.4. Aminoglycosides. 3.5. Carbapenems. 3.6. Mechanism of NDM – likely antibiotic/ chemotherapeutics could be used in the therapy. 3.7. Mechanism of KPC – likely antibiotic/ chemotherapeutics could be used in the therapy. 3.8. Mechanism of OXA-48 – likely antibiotic/ chemotherapeutics could be used in the therapy. 4. Summary

KARBAPENEMAZY PAŁECZEK JELITOWYCH – POCZĄTEK ERY POST-ANTYBIOTYKOWEJ?

Streszczenie: W ostatnich latach w Polsce jak również na całym świecie w zaskakującym tempie rośnie liczba bakterii wytwarzających mechanizmy oporności na antybiotyki. Głównym problemem jest pojawienie się i rozprzestrzenianie bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* opornych na karbapenemy (CRE), czyli antybiotyki uznawane za leki ostatniej szansy w leczeniu zakażeń wywołanych przez bakterie wielolekooporne (MDR). W chwili obecnej największe zagrożenie dla zdrowia publicznego stanowią szczepy *Enterobacterales* wytwarzające mechanizm KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemases), NDM (New Delhi Metallo- β -lactamase) czy OXA-48 (Oxacillinase-48), charakteryzujące się opornością na większość, a czasem nawet na wszystkie możliwe do zastosowania w terapii leki. W związku z powyższym jedynymi skutecznymi opcjami terapeutycznymi w leczeniu zakażeń wywołanych przez szczepy CRE pozostają: kolistyna, tygecyklina, fosfomycyna czy aminoglikozydy. Ponadto, terapia skojarzona obejmująca dwie lub więcej grup antybiotyków zalecana jest w terapii ciężkich infekcji spowodowanych przez szczepy *Enterobacterales* produkujące karbapenemazy. W związku z gwałtownym rozprzestrzenianiem się szczepów opornych na karbapenemy jak również z brakiem nowych opcji terapeutycznych tak cenna jest wiedza na temat mechanizmów nabywania oporności na antybiotyki.

1. Wstęp. 2. Karbapenemazy. 2.1. Metallo- β -laktamazy. 2.2. Karbapenemazy klasy A. 2.3. Karbapenemazy klasy D (OXA). 3. Przegląd antybiotyków stosowanych w leczeniu zakażeń wywołanych przez szczepy odporne na karbapenemy. 3.1. Kolistyna. 3.2. Fosfomycyna. 3.3. Tygecyklina. 3.4. Aminoglikozydy. 3.5. Karbapenemy. 3.6. Mechanizm NDM – możliwe do zastosowania w terapii antybiotyki/chemioterapeutyki. 3.7. Mechanizm KPC – możliwe do zastosowania w terapii antybiotyki/chemioterapeutyki. 3.8. Mechanizm OXA-48 – możliwe do zastosowania w terapii antybiotyki/chemioterapeutyki. 4. Podsumowanie

Key words: Carbapenemases, KPC, NDM, OXA-48, multidrug resistance

Słowa kluczowe: Karbapenemazy, KPC, NDM, OXA-48, wielolekooporność

1. Introduction

In recent years, the phenomenon of spreading antibiotic-resistant strains has been reported in Poland as well as around the world [19]. In 2013, The Centres for Disease Control and Prevention (CDC) published a report describing the microorganisms that constitute

the greatest public health threat in the United States, among which in the first place is occupied by carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* strains (CRE – Carbapenem – Resistant (CR) *Enterobacteriaceae*) [3, 45].

It is estimated that annually in the United States, at least 2 million patients are diagnosed with infectious diseases caused by bacteria resistant to one or more

* Corresponding author: Sylwia Joanna Chmielewska PhD, Department of Medical Microbiology and Nanobiomedical Engineering, Medical University of Białystok, Mickiewiczza 2C, 15-222 Białystok, Poland; phone: + 48 695 348 868; e-mail: sylwia.chmielewska@umb.edu.pl

groups of antibiotics. Moreover, nearly 23,000 of these patients die and the immediate cause of death is the developing infection due to ineffective antimicrobial therapy [3]. Data from the CDC report indicates that in the USA more than 14,000 patients are diagnosed with the so-called Healthcare Associated Infections (HAI) caused by *Enterobacteriales* strains. It should be emphasized that for the vast majority of people, i.e. in more than 9,300 people, the etiological factor is microorganisms resistant to carbapenems, of which as many as 7,900 cases are infections caused by *Klebsiella pneumoniae* CR strains, and nearly 1,400 are caused by the rods of *Escherichia coli* CR. What is more, it should be underlined that nearly 600 of these patients die each year [3].

On the other hand, data from Europe indicates that about 25,000 patients die per year due to infections caused by the Multidrug-Resistance bacteria (MDR) [96]. The analysis of ECDC (European Centre for Disease Control) reports points to the conclusion that the frequency of the incidence of carbapenem-resistant *K. pneumoniae* strains in Poland in 2013 reached 0.8%, as in most EU countries. Only in three countries (Iceland, Montenegro and North Macedonia) no cases of carbapenemase-producing bacteria were reported. In Italy, in turn, the dissemination of these microorganisms was at the level of 34.3%; while in Greece it reached 59.4%. In Poland in 2014, the percentage of isolation of *K. pneumoniae* strains resistant to carbapenems increased slightly to the level of 1.3%. It should also be noted that the highest percentage of CR strains was recorded in Greece (62.3%); followed by Italy (32.9%) and Romania (31.5%). Only 0.5% of *K. pneumoniae* strains insensitive to this group of antibiotics were observed in Poland in 2015, while in Greece, Italy and Romania this percentage was: 61.9%; 33.5% and 24.7%, respectively [24, 82]. In turn, data from 2016 indicates that the prevalence of carbapenemase-producing *K. pneumoniae* bacteria in our country was 2.1%. As in previous years, 66.9%; 33.9%; 31.4% of the cases of isolating *K. pneumoniae* CR strains were reported in Greece, Italy and Romania, respectively. In addition, in Norway, Estonia, Lithuania, Croatia and the Czech Republic in 2016, there were no individual cases of the incidence of carbapenemase-producing *K. pneumoniae* [82]. The latest report from 2017 shows that the dissemination of carbapenem-resistant *K. pneumoniae* bacteria in our country has increased sharply to an alarming level of as much as 6.4%. In turn, the highest percentage of isolating these microorganisms was observed in Greece (64.7%) and Italy (29.7%). It is also worth noting that no strains resistant to carbapenems have been reported in Norway, Slovenia, Estonia or Croatia [82].

Taking into account the above data, there is a justified need for continuous updating and monitoring drug

resistance of CRE strains [94]. It should also be emphasized that the microbes which produce the following mechanisms, i.e. MBL, KPC or OXA-48 are spreading around the world with great ease and speed. The list of countries in which carbapenemase-producing strains have been identified is constantly growing and over the past few years it has come to also include Poland [45].

2. Carbapenemases

Carbapenems were introduced to healthcare in the early 1980s. It should be noted that at present they constitute the latest generation of β -lactam antibiotics with the widest spectrum of action. Moreover, carbapenems are often recognized as the so-called “last resort” medications of in the treatment of severe infections caused by MDR [43]. Rapid dissemination of strains with mechanisms of resistance to carbapenems among both hospital as well as ambulatory patients has caused great concern in recent years. Moreover, the drastically decreasing number of new antibiotics raises serious concerns about the effective treatment of patients in the future [45].

It should be highlighted that bacteria of the order *Enterobacteriales*, producing carbapenemase are currently the biggest threat and a great challenge for medicine and microbiology [57].

2.1. Metallo- β -lactamases

One of the most clinically and epidemiologically important mechanism of resistance to carbapenems is β -class metallo-beta-lactamases (MBL) produced mainly by nonfermentative rods e.g. *Pseudomonas aeruginosa* and less frequently by bacteria of the *Enterobacteriaceae* family, e.g. *K. pneumoniae* or *E. coli*. Furthermore, MBL-producing strains are classified as resistant to penicillins (including β -lactamase inhibitors), cephalosporins and carbapenems with the exception of aztreonam, although the use of monobactams in therapy should be based on the result of microbiological quantification. Importantly, metallo- β -lactamases require zinc ions as cofactors for the hydrolysis reaction of β -lactam antibiotics [27, 53, 57, 73]. Three subclasses are currently distinguished on the basis of differences in the amino acid sequence and the structure of the active centre. The B1 and B3 subclasses have two bivalent zinc ions in the active centre, while the B2 subclass only has one zinc ion [48]. Genes responsible for the production of metallo- β -lactamases are found on the chromosome, plasmids or integrons. In environmental bacteria, e.g. *Stenotrophomonas maltophilia*, *Bacillus cereus*, *Caulobacter crescentus* or *Aeromonas hydrophila*, many species-specific MBL chromosomally encoded enzymes have been discovered [53, 57]. At present, the

following types of MBL with clinical significance are distinguished, i.e. IMP, VIM, NDM, SPM, IND, GIM, SIM, KHM, AIM or DIM [12, 16, 53, 73].

The first case of bacteria with the acquired MBL mechanism, i.e. IMP-1 was detected in *P. aeruginosa* in 1991 in Japan. Subsequently, in 1997 the VIM-1 type was identified in Italy, and SPM-1 in Brazil. It should be stressed that since then, and especially since the second half of the 1990s, the number of MBL (+) strains causing epidemic outbreaks (Greece, Italy, Canada, Korea, Kenya) has been growing steadily [16, 29, 53, 80, 85, 89]. In addition, over the period of 2002–2006 in Tunisia, 35 cases of *P. aeruginosa* strains producing MBL mechanisms of VIM-2 type were recorded. Importantly, the gene cassette *bla*_{VIM-2} was located within the integron of class I [29].

In turn, *Papa Ezdra R. et al.* characterized the bacterium *P. aeruginosa* VIM-2 (+) isolated in Uruguay (2011–2013). Based on the MLST method, most of the tested bacteria were classified to the following sequential type, i.e. ST155 and, to a lesser extent, ST1565 or ST1195. It should be mentioned that *P. aeruginosa* ST155 bacterium producing VIM-2 was also detected in Spain [65].

The mechanism of MBL was identified for the first time in Poland among *P. aeruginosa* bacilli in 1998–2000 [53]. In turn, during the period of 1998–2006, a total of 20 strains of the genus *Pseudomonas* spp. (*P. aeruginosa* n=18, *Pseudomonas putida* n=2) producing MB-type carbapenemases were isolated at the Centrum Zdrowia Dziecka in Warszawa [Children's Health Institute in Warsaw]. Using the PCR method among the majority of bacteria the *bla*_{VIM-4} genes were found while in two isolates *bla*_{VIM-2}. In addition, the genes encoding MBL were located on the chromosome, and in all analysed bacteria, class 1 integrons were detected [66]. In north-eastern Poland (September 2012 – December 2013), 45 strains of *P. aeruginosa* MBL (+) were detected in a succession from patients hospitalized at the University Clinical Hospital in Białystok. Eventually, resistance genes i.e. *bla*_{VIM-2}, were identified in three isolates, whereas *bla*_{VIM-4} was identified in only one strain. Importantly, in the bacterium *P. aeruginosa*, the *bla*_{VIM} genes were located in the class 1 integron. The analysis of genetic relatedness using the PFGE method allowed for classifying the tested VIM (+) strains into four unrelated pulsotypes (AD). In turn, the MLST technique enabled the isolation of the following sequential types, i.e. ST111, ST27, ST17 and interestingly ST2342. It is worth mentioning that in the isolate of Ps21 (ST2342) VIM-2 (+) a unique sequence of gene cassettes was found, previously not described in *P. aeruginosa* [52]. In turn, the first strain of *K. pneumoniae* producing the VIM-4 type was identified in 2008 in Bydgoszcz in a 61-year-old patient undergoing a surgical operation [53, 79].

In summary, eight strains of MBL (+) were isolated in Poland from 2006 to 2008, and in 2009, 2010 and 2011 respectively: 22, 23, 31 of 39 hospitals located in 24 cities. The dominant producers of the MBL mechanism were: *E. cloacae* – 50.0%, *S. marcescens* – 17.9%, *K. oxytoca* – 16.7% or *K. pneumoniae* – 11.9%. The vast majority of isolates produced the VIM type MBL mechanism (93.8%), whereas in the three *S. marcescens* strains, the IMP type was identified [12].

Another mechanism, i.e. KHM-1 was first reported in *Citrobacter freundii* in Japan (1997) while GIM-1 in *P. aeruginosa* in Germany (2002). Recently, the percentage of the isolation of GIM-1 strains has also been increasing, this mechanism has been identified, among others, in the following bacteria, i.e. *Serratia marcescens*, *E. cloacae*, *P. putida*, *Acinetobacter pittii*, and, what is more dangerous, in *E. coli*, *Klebsiella oxytoca* or *C. freundii*. All cases of GIM-1 (+) strains were registered in Germany, mostly in Düsseldorf or in locations lying 40 km away from that city [38, 40, 60]. Other variants of metallo- β -lactamases, i.e. SPM-1, SIM-1, DIM-1, TMB-1 and AIM-1 are produced by nonfermentative rods, i.e. *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp. and until now these mechanisms have not been detected in the bacilli of the order *Enterobacteriales* [48, 60].

In 2008, the first case of bacterium from the family *Enterobacteriaceae* was recorded with a new type of MBL resistance – NDM-1 enzyme (New Delhi Metallo- β -lactamase), encoded by the gene *bla*_{NDM-1}, hydrolysing all β -lactam antibiotics except aztreonam [10, 57, 68]. It is also worth emphasizing that currently as many as 16 variants of NDM are distinguished, with the presence of NDM-1 in microorganisms being established in the overwhelming majority of cases [45]. NDM-1 is a monomer with a molecular weight of 28 kDa which, compared to the VIM-1/VIM-2 type, exhibits only 32.4% similarity. In addition, NDM-1 binds cephalosporins more tightly than VIM-2, and in particular cefuroxime, cefotaxime and cephalothin, as well as penicillin and, which is interesting, does not bind to carbapenems as strongly as IMP-1 or VIM-2, but still hydrolyses them in a similar amount [48, 91]. Moreover, in the bacilli of *K. pneumoniae* *bla*_{NDM} genes are located mainly on the following plasmids, i.e. IncA/C, IncF, IncR, IncH, IncN, IncL/M or IncX [45].

It should be noted that among the NDM (+) strains, the presence of other determinants of antibiotic resistance has been established a number of times, among others resistance to aminoglycosides (16 S RNA methylase), quinolones (Qnr), macrolides (esterases), rifampicin, chloramphenicol or sulfamethoxazole [60]. For example, carbapenemase production in *K. pneumoniae* strains is presented in Tab. I.

The new NDM-1 enzyme was first detected in *K. pneumoniae* isolated from the urine of a 59-year-old

Table I
The global dissemination of *K. pneumoniae* strains producing carbapenemases

NDM-1 – <i>K. pneumoniae</i>	
Endemic spread of bacteria	India, Pakistan, Bangladesh, Poland
List of countries where the CR-NDM-1 strains have been isolated	Canada, USA, Mexico, Guatemala, Colombia, Brazil; Spain, France, Great Britain, Italy, Switzerland, Greece, Ireland, Germany, the Netherlands, the Czech Republic, Hungary, Romania, Croatia, Norway, Sweden and Finland; Morocco, Tunisia, Algeria, Libya, Saudi Arabia, Egypt, Kenya, South Africa, Madagascar, Mauritius; Oman, China, South Korea, Japan, Taiwan, Singapore, Russia, Turkey, Yemen, Sri Lanka, Nepal, Thailand; Vietnam, Malaysia, Israel, Iraq, Iran; Australia, New Zealand.
KPC – <i>K. pneumoniae</i>	
Endemic spread of bacteria	USA, Colombia, Argentina, Brazil, Italy, Greece, Poland , Israel, China, Taiwan
List of countries in which the CR-KPC strains have been isolated	Canada, Mexico, Cuba, Uruguay, Puerto Rico; Spain, France, Belgium, the Netherlands, Germany, Ireland, Sweden, Finland, Hungary, Portugal, Austria, the Czech Republic, Denmark, Norway and Croatia; Algeria, Egypt, South Africa; Russia, India, South Korea, Turkey, Pakistan, Japan, Iran, United Arab Emirates; Australia.
OXA-48 – <i>K. pneumoniae</i>	
Endemic spread of bacteria	Turkey, Morocco, Tunisia, Libya, Egypt, India
List of countries where the CR-OXA-48 strains have been isolated	Canada, USA, Argentina; Spain, France, Germany, Switzerland, Belgium, the Netherlands, Great Britain, Italy, Ireland, Poland , Finland, Hungary, Romania, Bulgaria; Algeria, Senegal, South Africa, Saudi Arabia; Russia, Oman, Japan, Sri Lanka, Thailand, Singapore, Kuwait, Lebanon, South Korea, Israel, Iran, United Arab Emirates; Australia, New Zealand.
Coexistence of resistance mechanisms in <i>K. pneumoniae</i> strains	
The name of the country	Mechanisms of resistance detected in <i>K. pneumoniae</i>
Brazil	NDM-1/KPC-2
Malaysia	NDM-1/OXA-232
South Korea	NDM-5/OXA-181 and NDM-1/OXA-232
China	NDM-1/IMP-4
India	NDM-1/OXA-232
Turkey	NDM-1/OXA-48
Pakistan	NDM-1/KPC-2
Switzerland	NDM-1/OXA-48
United Arab Emirates	NDM-1/OXA-48
Australia	NDM-1/OXA-48
Morocco	NDM-1/OXA-48
Singapore	NDM-1/OXA-181 and NDM-5/OXA-181
USA	NDM-1/OXA-232
France	NDM-1/OXA-232

Based on [9, 45].

male (Sweden), hospitalized in India in January 2008 [10, 57, 68]. In addition, the patient was found to be an *E. coli* NDM-1 (+) carrier, with the bacterium present in faeces [10]. After the first report there were further reports testifying to the spread of NDM-1 (+) strains within various species of *Enterobacteriales* in countries such as India, Pakistan and Bangladesh, at the same time indicating the above-mentioned countries as the primary source from which NDM strains –1 (+) reached European countries, USA, Australia or African countries [44, 57, 59]. Most likely, the first bacterium to acquire the *bla*_{NDM-1} gene was *Acinetobacter baumannii* [57, 68]. In Poland, the first strain of New Delhi Metallo- β -lactamase appeared in August 2011 in *E. coli* isolated

from a 53-year-old man of Polish citizenship transported from Congo to an Intensive care Unit (ICU) in Warsaw. The isolated *E. coli* 5428/11 strain produced simultaneously NDM-1, CTX-M-15, TEM-1 and OXA-1 and was characterised by susceptibility to only to tigecycline and colistin. Despite 12 days of colistin treatment, the patient died as a result of multiple organ failure. What is significant, transmission of *E. coli* MBL (+) to other patients at the ICU ward did not take place at the hospital [21]. In Poland, successive strains of NDM (+) (*K. pneumoniae* ST11) were isolated from 4 patients hospitalized in 2012 (November-December) in Poznań. What is more, the above-mentioned patients did not travel in 2012 [4, 33]. Since 2013, the number of NDM (+) strains isolated in

Poland has increased at an alarming rate. In 2013–103 cases were recorded, while in 2014–247. It is worth noting that from 2012 to 2014, two main outbreaks were observed in Poland with the epicentre in Poznań (n = 176) and Warsaw (n = 191), where in most cases the pandemic clone of *K. pneumoniae* ST11 was the alarm factor [4]. Then, in 2015, 470 NDM (+) strains were recorded successively, and in 2016 as many as 1771. In summary, in total over the period of 2011–2016, 2,596 cases of isolating bacteria with the NDM-1 resistance mechanism were established. Moreover, 93.3% of these patients were hospitalized, 4.35% were outpatients and only 2.3% were people staying at care and curative institutions, nursing homes or hospices. In addition, carriers were found in 57.3% of cases, and in 42.7% of patients additionally signs of infection occurred. Taking into account the age of patients, up to 65% of patients were people >65 years of age [94]. In 2016, the highest percentage of the isolation of NDM (+) strains in the country was recorded in Masovian (n = 1394) and Podlaskie (n = 260) provinces [94].

It should be pointed out that in the first quarter of 2017, the number of 785 patients in Poland in whom *Enterobacteriales* occurrence was found, mainly *K. pneumoniae* strains producing New Delhi type carbapenemase, raised great concern. In the provinces: Masovian n = 545 cases, followed by Podlaskie n = 186, Warmian-Masurian n = 18, and Świętokrzyskie n = 10 cases were recorded. In addition, the number of centres in which NDM bacteria were identified in and around Warsaw was n = 74, while in Podlaskie Province n = 17. It should be noted that in the first quarter of 2017, compared to the first quarter of 2016, throughout the country an alarming increase was recorded in isolating bacteria of the order *Enterobacteriales*, mainly NDM-producing *K. pneumoniae* from 310 to 785 (150%). It is worth emphasizing that the number of provinces in which NDM (+) bacteria were found to rose from 8 to 13. The most significant changes were recorded in Masovian Province, where the incidence of NDM-producing strains increased from 273 to 545 cases, while in Podlaskie Province from 26 to 186. In addition, it should be concluded that the epidemic spread of NDM-producing *K. pneumoniae* occurs in these provinces. The number of patients with infections in the first quarter of 2017 in Masovian Province amounted to 384 (n = 193 – the first quarter of 2016), while in Podlaskie 121 (n = 13 – the first quarter of 2016). What is more, there was also a sharp increase in the cases of isolating NDM-producing *Enterobacteriales* in the following provinces: Warmian-Masurian and Świętokrzyskie [95]. In turn, in the second quarter of 2017, there was a disturbing increase in the frequency of isolating NDM (+) bacteria in the following provinces: Pomeranian, Lower Silesian, West Pomeranian and Wielkopolskie.

While in Małopolskie Province it took place in the third quarter of 2017.

In summary, in the first three quarters of 2017, a record number of NDM (+) isolates in Poland, i.e. n = 2512, was confirmed by KORLD (National Reference Centre for Microbial Susceptibility to Medications). In total, in the first quarter n = 991 strains producing the NDM mechanism were recorded, and in the second and third quarters n = 1016 and n = 505 cases, respectively. The highest incidence of the rods of *Enterobacteriales* NDM (+) was recorded in Warsaw, i.e. I quarter n = 365, II quarter n = 422, III quarter n = 137. In turn, in Masovian Province (excluding Warsaw), in the first quarter the number of NDM carbapenemase-producing bacteria was n = 353, in the second quarter n = 304 and in the third quarter n = 137. Whereas in Podlaskie Province, n = 207 NDM (+) bacteria were identified in the first quarter, and in the second and third quarters, n = 168 and n = 196 strains respectively [97].

The report by KORLD points to the conclusion whereby in Poland in 2017 the majority of the bacilli of *Enterobacteriales* NDM (+) were *K. pneumoniae* bacteria (n = 2291, 91.2%). The remaining species of Gram-negative bacteria were isolated with a much smaller percentage share, i.e. *E. coli* (n = 18, 0.7%), *E. cloacae* (n = 3, 0.1%) or *C. freundii* (n = 1, 0.03%) [97].

The incidence of strains producing the NDM mechanism in Poland over the period of 2011–2017 is shown in Fig. 1.

Undoubtedly, a huge increase in the isolation of strains producing the New Delhi-type metallo- β -lactamase in Poland, and more frequent occurrence of epidemic centres in various regions of the country, or finally new clones of bacteria (e.g. *K. pneumoniae* – ST147, *E. coli* – ST410, ST448, ST405, ST131) producing the above mechanism of resistance, caused it to become one of the most significant current problems in the field of drug resistance in our country [94]. The main producers of NDM (+) are bacteria from the *Enterobacteriaceae* family, i.e. *K. pneumoniae* and *E. coli* [8, 48]. Nevertheless, carbapenemases were also detected in the following bacteria: *K. oxytoca*, *E. cloacae*, *C. freundii*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella* spp., *Providencia* spp. and with a slightly smaller percentage share in *Acinetobacter* spp. or *P. aeruginosa* [18].

European reports show that in 2013, only two countries recorded single hospital outbreaks caused by microorganisms producing the NDM mechanism. In turn, in 2015, five countries reported the occurrence of single nosocomial epidemic centres caused by these strains, while regional and transregional dissemination was reported in seven countries [2]. What is more, the data published by the Chief Sanitary Inspectorate indicate that in 2016 there were 35 outbreaks found to be caused by the NDM-producing *K. pneumo-*

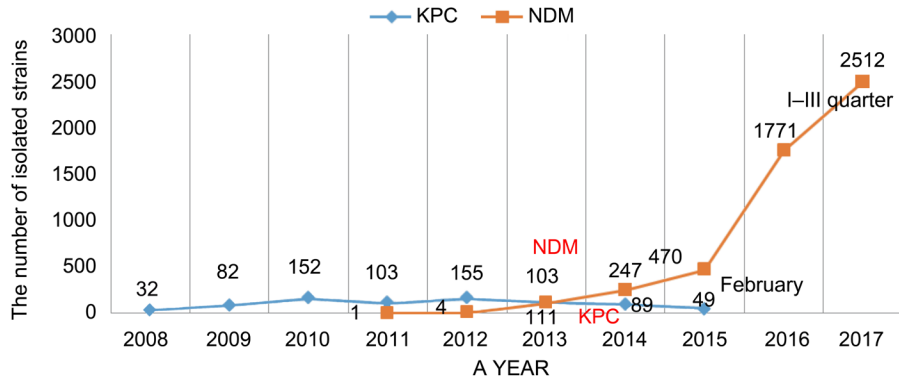


Fig. 1. The number of strains of *Enterobacteriales* producing the NDM, KPC mechanism in Poland during the period 2008–2017 [25, 78, 79].

niae bacterium. In addition, compared to 2015, there was a significant increase in the number of epidemic centres caused by these microorganisms from 1.9% to 6.6% [25]. In turn, in 2017, 63 epidemic centres caused by NDM-producing *K. pneumoniae* were reported (a total of 557 people were infected). In addition, taking into account the percentage of individual etiological factors of the epidemic centres of *K. pneumoniae* MBL (+) constituted 4.97% of isolates, including strains producing NDM-type carbapenemases of 2.57% [26]. Cases of the occurrence of *K. pneumoniae* NDM (+) strains in the world are presented in Tab. I. In turn *E. coli* NMD (+) strains have been isolated, e.g. in the following countries, i.e. India, Canada, Cameroon and Europe (Great Britain, Belgium, Sweden, France, Austria, Norway, Germany, Poland) [21, 48].

An intriguing case of isolating carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* family strains was reported in the case of two Polish tourists with gunshot wounds after terrorist attacks at the Bardo Museum in Tunis in March 2015. The above-mentioned patients were transported to Warsaw after hospitalization in Tunisia. From the first of these patients, *K. pneumoniae* resistant to carbapenems was isolated. The microbiological analysis of the studied strain demonstrated a positive result in the Carba NP and MBL phenotypic test with EDTA as well as resistance to temocillin, which suggested that OXA-48 was produced. Nevertheless, the PCR analysis only confirmed the presence of the bla_{NDM} gene within the Tn125 transposon. In addition, the MLST technique classified the strain under study as ST147. Moreover, in the hospitalized patient, other carbapenemase-producing strains were not isolated at the time of admission and hospitalisation [36]. In the case of the second patient, as a result of a gunshot, there was a serious damage to the subcutaneous tissue within the femoral trochanter. At the time of admitting the patient to the hospital, a carbapenem-resistant strain of *K. pneumoniae* was found in the rectal swab. It should be noted that the Carba NP test result was positive, furthermore

resistance to temocillin was demonstrated, whereas the MBL phenotype tests were negative. The PCR method and sequencing confirmed the presence of the gene bla_{OXA-48} located within the transposon Tn1999.2. Nevertheless, 10 days after admitting the patient to the hospital, NDM-1 (+) strains were cultured from the wound swab, i.e. *K. pneumoniae* and *E. coli*. Further MLST analysis demonstrated that these *E. coli* strains belonged to ST410, while *K. pneumoniae* to ST147. It should be emphasized that *K. pneumoniae* isolates originating from the two Polish tourists produced the NDM-1 mechanism and also belonged to the same sequential type, i.e. ST147, indicating that the colonization of the patients during the hospitalization in Tunisia was most likely in both cases [36]. The susceptibility tests of the above-mentioned strains showed multi-drug resistance, and the only effective antibiotic was colistin. In addition, *K. pneumoniae* isolates were found to be susceptible to chloramphenicol. In the case of amikacin, considering the MIC values, the strains under study were classified as susceptible or intermediate [36].

An equally unusual case of simultaneous isolation of several carbapenemase-producing strains from a patient was recorded in China. A 46-year-old man was admitted to hospital in June 2012 because of headaches, nausea, vomiting and eventually suspicion of meningitis. It should be added here that in the following days, the patient was transported to Shanghai, where during a two-month stay in hospital, a total of 34 strains of Gram-negative bacteria were isolated. Interestingly, the ones identified were, among others, KPC-2 producing *K. pneumoniae* species, followed by *E. coli* NDM-1 (+), IMP producing *Enterobacter aerogenes* and *A. baumannii* OXA-23 (+) [17].

Another noteworthy case was reported in 2015. A 74-year-old woman of Danish nationality was admitted to a hospital in India, where she was hospitalized with myocardial infarction and hypercholesterolemia. Then 10 days later the patient was transferred to a hospital in Denmark. Importantly, using the MALDI-TOF,

PCR and MLST techniques among the isolates tested the following were identified: *K. pneumoniae* ST147 bacterium producing NDM-7 and OXA-181, *E. coli* ST1284 NDM-5 (+) and *A. baumannii* ST2 strains producing OXA-23 [30].

2.2. Class A Carbapenemases

Class A carbapenemases represented by 62 β -lactamases were divided into 6 subtypes i.e. IMI/NMC-A enzymes, SME enzymes, GES enzymes, KPC enzymes, SFC-1 and SHV-38. The KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemases) enzymes currently play the greatest role in all of the class A carbapenemases. Strains carrying the *bla*_{KPC} gene are characterized by possession of resistance to β -lactam antibiotics, as well as additionally other mechanisms, which ultimately leads to therapeutic failures [38]. The main producer of KPC-type carbapenemases is *K. pneumoniae*, although these enzymes were also found in other bacterial species belonging to the order *Enterobacteriales*, e.g. *K. oxytoca*, *E. coli*, *Enterobacter* spp., *C. freundii*, *S. marcescens*, *Salmonella enterica*, and even in non-fermenting bacilli such as *P. aeruginosa* or *P. putida* [27, 57, 72, 78]. As in the case of bacteria that produce other mechanisms, a diversified level of resistance is observed here as well. However, the KPC enzymes of which 22 are currently known have the widest substrate spectrum among the described β -lactamases [57, 58, 78]. The global occurrence of *K. pneumoniae* strain KPC (+) is shown in Tab. I.

Literature analysis indicates that *K. pneumoniae* strains producing the KPC mechanism are the most common etiologic factor of vascular bed (52%) infections, followed by respiratory tract (30%) or urinary tract (10%) infections [83]. In turn, data obtained by Campos A.C. *et al.* demonstrated that *K. pneumoniae* KPC (+) strains are mainly isolated from rectal swabs (32%), followed by circulatory and urinary systems (24%), lower respiratory tracts (21%) or postoperative wounds (10%) [11]. The KPC mechanism was first identified in *K. pneumoniae* in 1996 in North Carolina (USA). The KPC (+) strains were rarely isolated in the United States until 2005, when several outbreaks were discovered in hospitals in New York and New Jersey. Since then, we have witnessed a rapid spread of these bacteria in the population, as evidenced by the isolation of >1,200 KPC-producing strains from blood samples at a hospital in New York in 2012 [61].

It is worth mentioning that in Israel, as early as in 2006, an increasing number of epidemic outbreaks in hospitals, caused mainly by *K. pneumoniae* KPC strains were found. The average number of new cases was as follows: 2005 – 6 cases (1.9 cases per 100,000 patients); first half of 2006 – 39.5 cases (11.8 cases per 100,000 patients); second half of 2006 – 89 cases (27 cases per

100,000 patients); first quarter of 2007 – 143 cases (41.9 cases per 100,000 patients). Importantly, the number of new clinical isolations of CRE increased sharply in the second half of 2006 and in the first quarter of 2007, the peak value was recorded in March, i.e. 55.5 cases per 100,000 patients. In connection with the above, the Ministry of Health (MH) issued a regulation in March 2007 aimed at limiting the scale of this phenomenon. A specially appointed infection control team assumed supervision over 27 Medical Care Hospitals. It is worth noting that by 31 March 2007, a total of 1,275 patients from the aforementioned 27 hospitals (175 cases per 1,000,000 population) had been found to carry carbapenemase-producing strains. Prior to MH intervention, the monthly frequency of CRE isolation was 55.5 per 100,000 patients, respectively. Thanks to the implementation of the Ministry of Health guidelines, a sharp increase in the number of outbreaks was halted, and by May 2008 the monthly number of new cases had decreased, eventually reaching the level of 11.7 per 100,000 patients ($p < 0.001$). The above effect was achieved primarily by following the recommendations of the MH, i.e. by isolating patients infected or colonized with CRE strains, and the separation of individual personnel and medical equipment, which prevented the further transmission of the bacteria. Of particular importance was the fact that infection control teams also played an enormous role, conducting a series of visits to supervise the use of the above-mentioned procedures or compliance with mandatory laboratory tests [77].

In Europe, the first KPC (+) strains appeared in Greece (Crete) in 2007, where an epidemic outbreak occurred, involving a total of 22 patients [50]. In turn, over the period from January 2007 to December 2008, another epidemic outbreak was found in a hospital in Greece (Athens) involving a total of 50 patients colonized or infected with *K. pneumoniae* KPC-2. Finally, the mortality rate among the patients of the ICU was 58.8% ($n = 34$), while in patients hospitalised in other wards it was 37.5% ($n = 16$) [81]. Moreover, the literature data shows that in 2007–2008 an epidemic outbreak caused by bacteria producing KPC-2 was observed in two more hospitals (Crete, Thessaloniki). The analysis carried out from February to December 2008 showed that in 18 hospitals in Greece (Athens $n = 14$, Crete $n = 3$, Thessaloniki $n = 1$) the occurrence of CRE bacteria was determined in 173 patients, i.e. *K. pneumoniae* KPC-2 (+) [23].

Analysing the data obtained through the MOSAR project (Mastering Hospital Antimicrobial Resistance in Europe) it was found that over the years 2008–2011 in patients hospitalized in Intensive Care or Rehabilitation Wards in 18 hospitals in Europe, the strains of *K. pneumoniae* KPC (+) constituted the largest group among the carbapenemase-producing bacteria.

Analysing the data in detail, it was shown that in Greece the ST258 clone (KPC-2) prevailed, while in Italy ST512 (KPC-3) was dominant. In turn, in Israel, a huge variation of *K. pneumoniae* bacterium was found, i.e. ST512, ST36, ST258, ST383, ST833, ST17 or ST34 [5].

In addition, the data obtained by Agodi A. *et al.* showed the isolation of 24 strains of *K. pneumoniae* from 16 patients hospitalized in an ICU in Italy (Catanina) in 2009. It should be noted that all the strains under study produced KPC-3 carbapenemase and were classified as ST258. At the ICU ward, thanks to the implemented preventive measures and strict monitoring of the compliance of the medical staff with the recommended procedures, the occurrence of CRE strains was curbed even despite the constant admission of new patients. The above fact clearly emphasizes that optimized measures are effective in reducing the spread of antibiotic-resistant bacteria [1].

In our country (Warsaw) in 2008, the first strains of *K. pneumoniae* KPC (+) were isolated from a 56-year-old patient (who had not been travelling recently before that time), admitted to the Cardiology Ward from another Warsaw hospital with pneumonia of undetermined aetiology. The isolated bacteria belonged to the ST258 clone, producing both KPC and SHV-12 [6, 12]. Then in Poland 33 strains with the KPC mechanism (*K. pneumoniae* n=30, *K. oxytoca* n=3) from 32 patients in five hospitals in Warsaw had been isolated by the end of 2008. From that moment on, a rapid spread of the bacterium throughout the country took place. Moreover, 86 KPC (+) strains were identified in 82 patients in 2009 (*K. pneumoniae* n=84, *E. coli* n=2, in the case of *E. coli*, the bacteria were isolated from patients simultaneously colonized by *K. pneumoniae*). Molecular analysis showed that 97.4% of *K. pneumoniae* strains (2008–2009) belonged to the ST258 clone and the bacteria were classified as ST11 or ST23 only sporadically. In turn, two strains of *E. coli* belonged to ST93 and ST224 and most likely acquired *bla*_{KPC} genes from *K. pneumoniae*. As many as 153 bacteria (mostly *K. pneumoniae*, with single *E. coli*) producing the KPC mechanism were identified in 2010, of which the majority of isolates came from Mazovia (n=126 bacteria from 32 centres). The KPC (+) strains also appeared at the time in Świętokrzyskie Province (April 2010 – February 2011) in both medical centres and nursing homes. Thanks to the implementation of the national guidelines on infection control in 2011, the total number of isolations of KPC (+) strains decreased, ultimately amounting to 104. In March 2011, a new threat was observed in Podlaskie Province, where 29 strains from 10 hospitals had been isolated by the end of the year, mainly in Białystok [12, 96]. In summary, KPC strains were isolated from 371 patients over the years 2008–2011, from at least 58 hospitals in 34 locations, in addition, three

regional outbreaks from the epicentre in Warsaw and Białystok were observed. In our country, the most cases of strains with the KPC mechanism appeared in centres in Warsaw and other cities of Masovian Province. However, it should be noted that the recorded cases also concerned the patients of clinics, dialysis centres or people staying in nursing homes. The reports from 2012 show that outbreaks of *K. pneumoniae* KPC (+) infections were recorded in four regions of the country; for comparison 5 outbreaks were recorded in 2013 [33]. In summary, KPC (+) strains were isolated in a total of 608 patients over the years 2010–2014. The vast majority of the above-mentioned patients were hospitalized in Masovian Province, with a slightly smaller percentage in Lublin, Silesian, Podlaskie and Świętokrzyskie Provinces. Moreover, in 21 cases patients came from other regions of Poland, among others Olsztyn, Łódź or Kraków. In addition, the status of KPC (+) strain carrier was observed in 209 patients, while in 399 patients there occurred symptoms of infection, i.e. urinary tract (51.6%), respiratory system (21.6%), skin and soft tissue (15.0%), blood and vascular bed (10.1%) and the so-called intra-abdominal infections (1.7%) [7]. Genetic analysis has shown that over the period of 2008–2009 epidemic outbreaks in Warsaw and its vicinity were caused by the strain *K. pneumoniae* ST258 producing the KPC-2 mechanism. Importantly, in other regions of Poland, infections were caused by *K. pneumoniae* ST258 or ST512, KPC-3 (+). Moreover, in hospitals in Warszawa, the KPC-2 mechanism was also identified in *C. freundii* ST17 and *E. cloacae* ST254 [7].

It is worth mentioning that in 2010 a case of isolating 4 strains of *K. pneumoniae* producing simultaneously KPC carbapenemase and 16S rRNA ArmA methylase was described. It was the first report of the occurrence of these strains in Poland as well as in Europe. The isolated bacteria carried *bla*_{KPC-2} and *armA* genes on 50-kb and 90-kb plasmids. The researchers suggest that the simultaneous production of KPC-2 and 16S rRNA ArmA methylase is a new strategy enabling *K. pneumoniae* to survive in hospital conditions even despite the application of aminoglycosides and carbapenems in treatment [92]. It should be noticed that in February 2014, the *E. coli* ST479 strain producing the KPC-3 mechanism was identified for the first time in Poland. The tested isolate was characterized by resistance to trimethoprim/sulfamethoxazole, ciprofloxacin, with susceptibility to colistin and tigecycline. In the case of aminoglycosides (gentamicin), *E. coli* was classified as intermediate [62]. The occurrence of the strains of the order *Enterobacteriales* producing KPC in Poland is shown in Fig. 1.

Currently in our country, the microorganisms producing KPC-type carbapenemases raise great concerns, mainly because there are no antibiotics with proven

effectiveness in the treatment of infections caused by these strains, in addition, apart from that mechanism these bacteria often produce other β -lactamases, like among others ESBL and are MDR. As a rule, apart from β -lactam antibiotics, KPC (+) bacteria are insensitive to most aminoglycosides, fluoroquinolones, tetracyclines or cotrimoxazole. Moreover, the genes encoding the KPC carbapenemases are located mainly on plasmids, thanks to which they easily transfer from one bacterium to another belonging to the same or different species [31, 34]. The best known KPC (+) clone is *K. pneumoniae* ST258 possessing the so-called increased epidemic potential. The strain first appeared in the USA, then in Israel, Greece, and currently it has been identified in most countries of the world, including Poland, where it is the dominant clone [31, 56]. Infections caused by KPC (+) are burdened with high mortality, in the case of *K. pneumoniae* it is even 50% [31, 34].

2.3. Class D Carbapenemases (OXA)

Class D carbapenemases, referred to as oxacillinases (OXA), based on the amino acid sequence, have been divided into 12 subgroups, i.e. OXA-23, OXA-24/40, OXA-48, OXA-51, OXA-58, OXA-134a, OXA-143, OXA-211, OXA-213, OXA-214, OXA-229 and OXA-235. However, only a few of them have been identified in *K. pneumoniae*, i.e. OXA-23, OXA-48, OXA-51 and OXA-58. It should be noted that OXA-48 is the most widespread D-class carbapenemase. In 92.5% of strains isolated in Europe, as well as in North Africa, the gene *bla*_{OXA-48} is located on IncL/M, but there have also been reports of the presence of this gene within IncA/C, IncH or Tn1999. What is more, currently 10 variants of this gene are distinguished [45].

The main producer of OXA-48 is the species *K. pneumoniae*, nevertheless the majority of the bacteria of the order *Enterobacterales* have been found to produce this type of carbapenemase. It is important to know that the molecular and epidemiological analysis carried out in Germany, demonstrated a horizontal transfer of the gene *bla*_{OXA-48} between *K. pneumoniae* and *E. coli*. In addition, apart from *E. coli*, the OXA-48 enzymes have also been identified in the following bacteria, i.e. *K. oxytoca*, *Enterobacter* spp., *Providencia rettgeri*, *C. freundii* or *S. marcescens* [45]. The OXA-48 mechanism was first detected in a strain of *K. pneumoniae* in 2003 in Turkey. Since that year, the endemic occurrence of the rods producing OXA-48 has been found, among others, in countries such as Turkey, Morocco, Libya, Egypt, Tunisia or India [45]. It should be noted that in some European countries the percentage of OXA-48 producing strains is equally high. For example, the data from Spain (2013) and France

(2011–2012) indicates a 74.7% and 78% incidence of this mechanism in carbapenemase-producing strains [45, 64, 74]. In addition, the results obtained in Spain (2013) from 83 hospitals point out that *K. pneumoniae* produced the OXA-48 mechanism in as much as 63%. Furthermore, in 2013–2015 at Hospital Universitario de Canarias, 267 carriers of class D carbapenemase-producing bacteria were reported. In 100 patients (116 episodes), OXA-48 (+) strains were isolated from the following clinical materials, i.e. in 43.42% of samples from urinary tract infections, subsequently from the operated site (17.17%) or blood (17.0%) [47]. It should be emphasized that in EU countries such as Spain, France, the United Kingdom or Germany, hospital outbreaks caused by OXA-48 (+) bacteria have been registered [7]. The list of countries in which the strains of OXA-48 (+) *K. pneumoniae* have been isolated are presented in Tab. I.

In conclusion, the European ECDC report shows that in 2013, only one European country, i.e. Malta, reported an endemic situation of strains producing OXA-48, while in 2015 two countries (Malta, Turkey) registered an endemic situation, and four countries reported transregional spreading (Spain, France, Belgium, Romania) [2].

In recent years, the first occurrences of the rods of *Enterobacterales* producing OXA-48 have been observed in Poland. In 2012, in Białystok, an *E. cloacae* strain ST89 producing carbapenemase OXA-48 was first identified in a 76-year-old patient after cardiac surgery, i.e. coronary artery bypass and mitral valve and tricuspid valve repair. After the surgery, the patient was transferred to the ICU, where after 38 days he died due to heart decompensation, clotting disorders, multiple organ failure and finally circulatory arrest. It should be highlighted that the first *E. cloacae* strains resistant to carbapenems were isolated from the patient on the 24th day after the surgery from such materials like blood or bronchial secretions. Moreover, the bacterium *E. cloacae* also exhibited resistance to other antibiotics, i.e. tigecycline and colistin. Microbiological analysis including the Carba NP Test confirmed that the tested isolates produced carbapenemase, the OXA-48 mechanism was determined using the PCR method, and the MLST analysis demonstrated that *E. cloacae* MDR strains belonged to ST89 [49].

In turn, on the basis of the data obtained by Izdebski R. et al., between 2013 and January 2017, the isolation of 54 class D carbapenemase-producing strains was established in 52 patients from various Polish cities (Biała Podlaska, Bochnia, Bydgoszcz, Ełk, Grodzisk Mazowiecki, Kielce, Kraków, Poznań, Siemianowice Śląskie, Słupsk, Sosnowiec, Szczecin, Warsaw). In addition, it was reported that 14 patients had been previously abroad, while in two cases the family members

had travelled. What is more, 34 patients eventually developed an infection, while in 18 only colonization was demonstrated. The isolated strains were extremely genetically diverse and represented the following species, i.e. *K. pneumoniae* (n=37), where ST395 was dominant, ST11, ST15 and ST101; *E. coli* (n=14) ST38, ST410, ST648; *E. cloacae* (n=1) ST78; *C. freundii* (n=1) ST124 and *E. aerogenes* (n=1). The bacteria mentioned above produced OXA-48 (n=49), OXA-181 (n=4) and OXA-232 (n=1). The *bla*_{OXA-48} genes were located mainly within Tn1999.1 (n=29) and Tn1999.2 (n=15). It should also be added that in 43 isolates, *bla*_{OXA-48/181} genes were located within plasmids, whereas in 11 strains of *E. coli* ST38 and ST648 and one *K. pneumoniae* ST336 *bla*_{OXA-48} on the chromosome [35].

It should be underlined that the *bla*_{OXA-48} gene is most often identified in the *K. pneumoniae* ST11 clone, isolated in many countries around the world, including Spain, Greece, Taiwan, Libya, Turkey or Argentina. In addition, in 2013 in Spain, an outbreak occurred, including 44 patients caused by *K. pneumoniae* ST11 OXA-48 (+). It should be added that in the following clones, i.e. ST14, ST15, ST101, ST147 and ST405 the *bla*_{OXA-48} gene has also been detected in such countries like the USA, Spain, the Czech Republic, Germany, Finland, France, India, Libya and Japan [45].

Substitution or deletion of single amino acids has led to the formation of a group of OXA-48 derivatives, which includes OXA-181, OXA-204, OXA-232, OXA-163, OXA-244 or OXA-245. For example, OXA-181 is widespread in many countries of the world, i.e. the United Kingdom, Romania, Canada, Singapore, South Korea, Japan, Australia and New Zealand. However, most of the infections have been reported in India. In turn, the OXA-204 and OXA-163 mechanisms were identified, among others, in Tunisia, France and Argentina, while OXA-244 and OXA-245 have been identified in Spain. Moreover, *K. pneumoniae* strains producing OXA-232 have been reported in the USA, Singapore, India or South Korea [45].

It needs be noted that currently other class D carbapenemases have also been detected, i.e. OXA-23, OXA-24/40, OXA-51, OXA-58, OXA-134a, OXA-143, OXA-211, OXA-213, OXA-214, OXA-229 and OXA-235 mainly in *Acinetobacter* bacteria and in particular *A. baumannii*, while they have not been detected in the species *K. pneumoniae* [45].

3. Review of antibiotic treatment options of infections due to carbapenem-resistant strains

Gram-negative bacteria producing KPC, MBL or OXA-48 type carbapenemases are classified as MDR and the only effective, so-called last resort antibiotics

in treating infections caused by these microorganisms are: polymyxin B, colistin (polymyxin E), fosfomycin, tigecycline and sometimes selected aminoglycosides [27, 45].

The current susceptibility of CR strains to colistin, tigecycline, aminoglycosides or fosfomycin is presented in Tab. II.

In turn, the effectiveness of combination therapy v.s. monotherapy expressed as a percentage of mortality in the treatment of infections caused by CR strains is presented in Tab. III.

Interestingly, in 2015 in Spain, an XDR (Extensively Drug Resistance) strain of *K. pneumoniae* was isolated from a 36-year-old female patient with sepsis and immunosuppression. It is worth mentioning that the patient was diagnosed with Myeloid sarcoma, after which chemotherapy and allogeneic stem cell transplantation were applied. The *K. pneumoniae* strain carrying the following genes of resistance to antibiotics i.e. *bla*_{KPC-3}, *bla*_{TEM-1}, *bla*_{SHV-11} and *aac(6')-Ib-cr*, was characterised as susceptible to only colistin and gentamycin, nevertheless due to the high risk of nephrotoxicity the therapy with these antibiotics was discontinued. In addition, the lack of alternative schemes necessitated the use of carbapenems. The studies conducted have shown a synergistic effect of ertapenem with meropenem. Most importantly, a therapy with this group of β -lactam antibiotics resulted in a therapeutic success [67].

It is worth mentioning that in April 2014 in the United Arab Emirates, a PDR (Pandrug-Resistance) MS6671 strain of *K. pneumoniae* was isolated from the urine of an 87-year-old man, characterized by resistance to all antibiotics/chemotherapeutics tested, i.e. β -lactam antibiotics, aminoglycosides (MIC > 256 mg/L), ciprofloxacin (MIC > 32 mg/L), colistin (MIC – 128 mg/L), tetracyclines (MIC – 32 mg/L), tigecycline (MIC – 4 mg/L), trimethoprim/sulfamethoxazole (MIC – 8 mg/L), fosfomycin (MIC – 64 mg/L) and chloramphenicol (MIC – 128 mg/L). Resistance to carbapenems was related to the presence of genes, i.e. *bla*_{OXA-181}, *ompK36*, and resistance to colistin was due to the inactivation of *mgrB*. Moreover, the inefficiency of tigecycline was caused by the mutation in *ramR*, which resulted in the increased expression of *acrAB*, while resistance to fosfomycin was caused by the presence of the *fosA* gene [93].

3.1. Colistin

Colistin was discovered over 60 years ago. At first, however, it was not widely used due to its side effects, i.e. nephro- and neurotoxicity. Nevertheless, the increasing resistance to carbapenems has caused it to be currently recommended in the treatment of severe infections caused by CRE strains [45, 71]. The mecha-

Table II
The current susceptibility of carbapenem-resistant *Enterobacterales*

The ordinal number/ The period of the investigation	The mechanism of resistance		The number of tested strains (n)	The percentage of strains % (n) classified as resistant or intermediate				Source
				Colistin	Tigecycline	Aminoglycosides	Fosfomycin	
1. 2013–2014	<i>K. pneumoniae</i> – KPC		51	7.4% (n = 4)	nd	Amikacin – Gentamicin – 74.5% (n = 38)	90.2% (n = 46)	15
	<i>E. coli</i> – VIM-1		6	0%	nd	0%	0%	
2. 2013–2014	<i>K. pneumoniae</i> KPC (n = 178), VIM (n = 3), NDM (n = 1)		187	43% (n = 76)	6% (n = 11)	Gentamicin – 29 (n = 16)	nd	54
3. 2010–2013	CRE <i>K. pneumoniae</i> (n = 242) <i>E. cloacae</i> (n = 22)		280	26.1% (n = 73)	11.8% (n = 33)	Amikacin – 78.6% (n = 220) Gentamicin – 38.3% (n = 107)	nd	76
4. 2015	CRE – <i>E. coli</i>		224	0%	2.2% (n = 5)	Amikacin – 37.5% (n = 84) Gentamicin – 46% (n = 103)	nd	42
	CRE – <i>K. pneumoniae</i>		150	2% (n = 3)	4.7% (n = 7)	Amikacin – 44.7% (n = 67) Gentamicin – 58.3% (n = 88)	nd	
5. 2008–2013	<i>Enterobacterales</i> – NDM <i>Klebsiella</i> spp. (n = 180), <i>E. coli</i> (n = 80)		306	10% (n = 31)	40% (n = 122)	Amikacin – 78% (n = 239) Gentamicin – 90% (n = 275)	nd	37
6. 2012–2014	<i>Enterobacterales</i> – NDM Mainly <i>K. pneumoniae</i>		72	13.9% (n = 10)	38.9% (n = 28)	Amikacin – 62.5% (n = 45)	nd	41
	<i>Enterobacterales</i> – VIM Mainly <i>K. pneumoniae</i>		64	29.7% (n = 19)	39.1% (n = 25)	Amikacin – 40.6% (n = 26)	nd	
7. 2010–2012	<i>K. pneumoniae</i> VIM-1 (n = 79); KPC-2 (n = 22); OXA-48 (n = 4); IMP-22 (n = 1)		106	26.4% (n = 28)	47.2% (n = 50)	Amikacin – 25.5% (n = 27) Gentamicin – 52.9% (n = 56)	28.3% (n = 30)	75
8. 2012–2014	<i>E. coli</i> OXA-48 (n = 87); VIM-1 (n = 27); KPC-2 (n = 4); NDM (n = 2); IMP-22 (n = 1)		121	0%	0%	Amikacin – 2.5% (n = 3) Gentamicin – 25.6% (n = 31)	7.4% (n = 9)	63
9. 2015	<i>K. pneumoniae</i> – KPC-2		24	8% (n = 2)	0%	Amikacin – 100% (n = 24)	nd	39
	<i>K. pneumoniae</i> – OXA-232		45	11% (n = 5)	22% (n = 10)	Amikacin – 84% (n = 38)	nd	
10. 2006–2011	<i>K. pneumoniae</i>		103	13.16% (n = 5)	0.97% (n = 1)	Amikacin – 16.51% (n = 17) Gentamicin – 22.30% (n = 23)	nd	51
	CRE – KPC, MBL	<i>E. cloacae</i>	85	0%	0%	Amikacin – 69.42% (n = 58) Gentamicin – 84.0% (n = 71)	nd	

Explanation of abbreviations: nd - no data

Table III
The effectiveness of combination therapy vs. monotherapy in the treatment of infections caused by carbapenemase-producing *K. pneumoniae*

The ordinal number/ The microorganism/ The mechanism of resistance	The type of infection / The period of provided trials / The type of provided tests	Mortality% (n) – the number of patients who did not survive /the number of patients who received the therapy		Source
		Combination therapy	Monotherapy	
1. <i>K. pneumoniae</i> KPC-3, SHV-11 and TEM-1	Sepsis/2012–2013/Retrospective	TGC+GN: 23.8% (n = 5/21)	TGC: 37.5% (n = 3/8) GN: 12.5% (n = 1/8)	28
2. <i>K. pneumoniae</i> KPC-3, VIM, CTX-M-15	UTI, Bloodstream infection, Respiratory tract infection, Skin and soft tissue infection, Intra-abdominal infection/ 2010–2011/Prospective	CL+TGC: 25% (n = 4/16) CL+GN: 40% (n = 2/5) CL+FOS: 0% (n = 0/5) TGC+FOS: 33% (n = 2/6)	GN: 6.3% (n = 1/16) CL: 40% (n = 4/10)	13
3. <i>K. pneumoniae</i> KPC-3, KPC-2	Bloodstream infection/2010–2011/ Retrospective	TGC+CL: 30% (n = 7/23) TGC+GN: 50% (n = 6/12) TGC+CL+MEM: 13% (n = 2/16) TGC+GN+MEM: 17% (n = 1/6)	TGC: 53% (n = 10/19) CL: 50% (n = 11/22) GN: 80% (n = 4/5)	86
4. <i>K. pneumoniae</i> CR	Sepsis/2012–2014/Retrospective	FOS+MEM: 6% (n = 1/16) TGC+MEM: 25% (n = 1/4) GN+MEM: 0% (n = 0/2) OS+MEM+TGC/MIN/AN: 12.5% (n = 1/8)	MEM: 43% (n = 3/7) IPM: 0% (n = 0/1) TGC: 0% (n = 0/1) AMG: 20% (n = 1/5)	46
5. <i>K. pneumoniae</i> KPC KPC-3, KPC-2	Bloodstream infection, UTI Respiratory tract infection, Intra-abdominal infection/2010–2013/Retrospective	CL-R 42.6% (n = 23/54) TGC-R 33.5% (n = 51/152) GN-R 39.8% (n = 47/118) MEM MIC ≤ 8 mg/L 32.5% (n = 79/243) MEM MIC ≥ 16 mg/L 34.9% (n = 146/418)	50% (n = 39/78) 31.9% (n = 29/91) 36.2% (n = 25/69) 27.9% (n = 43/154) 32.0% (n = 64/200)	87

Explanation of abbreviations: UTI – urinary tract infection, TGC – tigecycline, GN – gentamicin, CL – colistin, FOS – fosfomicin, MEM – meropenem, MI – minocycline, AN – amikacin, IPM – imipenem, AMG – aminoglycosides, R – resistance, MIC – Minimal Inhibitory Concentration

nism of action of colistin consists in its being attached to the negatively charged phosphate groups of lipid A, which is a component of lipopolysaccharide (LPS), and this results in the loss of cell membrane integrity and ultimately leads to cell death. Colistin resistance is mainly caused by the modification of the LPS molecule through the attachment of L-Ara4-N and PETN, which results in decreasing the negative charge of the outer membrane and in the inhibition of colistin binding. These changes are mainly caused by mutations within the genes of regulatory system components, i.e. *mgrB*, *phoP/phoQ*, *pmrA*, *pmrB*, *pmrC* or *crrABC* [45, 71]. In particular, the inactivation of the *mgrB* gene, encoding the negative feedback of the PhoQ/PhoP regulatory system, is the most common cause of resistance to colistin among *K. pneumoniae* strains. Additionally, recent studies have shown that the conversion of a single amino acid in the PmrB protein leads to the overexpression of *pmrCAB* and *pmrHFIJKLM* operons which are involved in LPS modifications, eventually leading to polymyxin resistance. Moreover, recently a new plasmid has been identified, the so-called Plasmid Mediated Colistin Resistance carrying gene – *mcr-1*, which encodes phosphoethanolamine transferase, catalysing

the binding of phosphoethanolamine to lipid A, which turned out to be one of the causes of resistance to colistin in *K. pneumoniae* and *E. coli* [45]. In July 2016 in Belgium a new *mcr-2*, gene was discovered, exhibiting 76.7% nucleotide similarity to *mcr-1*. The newly discovered *mcr-2* gene was located on the IncX4 plasmid of the *E. coli* ST10 and ST167 strains, in which *mcr-1* was not simultaneously detected [70]. The literature data indicates that 28- and 30-day mortality of patients with CRE infection (n = 221) was statistically significantly lower in the case of applying the combined polymyxin therapy, compared to the monotherapy (OR – Odds ratio = 0.36; 95% CI – Confidence interval = 0.19–0.68, $p < 0.01$) [55].

In Italy, which is the location of the endemic occurrence of *K. pneumoniae* producing KPC (+), a dramatic increase in resistance to colistin was established, from 12% (2011) to 65% (2012) in recent years. In addition, the data from 21 hospital laboratories shows that over the period of 2013–2014, the percentage share of colistin-resistant strains constituted as much as 43% [45, 88]. Moreover, other multicentre studies which have been conducted in this country have demonstrated that resistance to colistin in *K. pneumoniae* KPC (+), being

the etiological factor of blood infections, has increased more than 3 times, and the so-called 30-day mortality among those patients has risen to 51% [22].

Additionally, the data from the Netherlands indicates that the bacteria *K. pneumoniae* ST258 KPC (+) which were isolated from the epidemic outbreak in 2013, were characterized by 100% resistance to colistin [45, 90].

3.2. Fosfomycin

Due to the increasing resistance of bacteria to antibiotics, fosfomycin which is mainly administered orally in the treatment of uncomplicated urinary system infections, has now gained immense importance and is recommended in the treatment of infections caused by CRE in the form of i.v. [20].

Fosfomycin is an antibiotic with a broad spectrum discovered in 1969, whose mechanism of action consists in inhibiting the first stage of cell wall synthesis by inactivating the transferase of UDP-N-acetylglucosamin-3-enolpyruval, also known as MurA [45]. Fosfomycin resistance is related to the gene *fosA* encoding glutathione transferase, which modifies this antibiotic. The gene *fosA3* was first described in Japan, in a strain of *E. coli* producing CTX-M. It should be emphasized that at present there are new subtypes of the mentioned gene, i.e. *fosA2*, *fosA3*, *fosA4* or *fosA5* [20, 45]. In turn, in Gram-positive bacteria, e.g. *Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp. or *Bacillus subtilis*, the enzyme FosB with 48% similarity in the amino acid sequence to FosA, catalysing the reaction between cysteine and fosfomycin has been described [20].

In China, the incidence of the gene *fosA3* in the bacilli of KPC (+) *K. pneumoniae* resistant to fosfomycin was 55.6%, respectively. It should be highlighted that especially in this country a high percentage of resistance to this antibiotic is reported. The studies conducted in one of the hospitals demonstrated that only 43.4% of *K. pneumoniae* strains producing the KPC-type carbapenemase were susceptible to fosfomycin. Moreover, a similar percentage of susceptibility to this antibiotic, i.e. 39.2% has been recorded in 12 other hospitals in this country [45]. In turn, the data from Europe (Italy) indicates as much as 90.2% resistance to fosfomycin among the strains of *K. pneumoniae* producing carbapenemases [15].

In the treatment of infections caused by the bacterium *K. pneumoniae* resistant to carbapenems, a synergistic effect of fosfomycin with carbapenems (70%), colistin (36%) or tigecycline (30%) has been reported. However, in the treatment of infections, where the etiological factor is OXA-48 producing strains, the literature data indicates antagonism between fosfomycin and colistin [20].

3.3. Tigecycline

Tigecycline is an antibiotic classified as a glycylycine, whose mechanism of action consists in inhibiting protein synthesis by affecting the interaction of aminoacyl-tRNA with the ribosome A locus [45, 76].

Overproduction of efflux pumps, i.e. AcrAB, as well as the overexpression of RamA, which are positive regulators of the AcrAB efflux system, is one of the main causes of decreased susceptibility of the bacterium *K. pneumoniae* to tigecycline. It should be added here, that the recent studies conducted in China indicate that OqxAB efflux pumps also play an important role in increasing the resistance to this antibiotic [45].

When analysing susceptibility to tigecycline, it should be noted that in Greece, over the period of 2004–2010, as many as 11.3% (n=34/301) of KPC carbapenemase-producing strains were resistant to tigecycline. In turn, the data from years of 2013–2014 from the hospital laboratories in Italy showed that carbapenemase-producing *K. pneumoniae* strains were characterized by 6.0% resistance to tigecycline [45]. Even higher effectiveness was recorded in 2015 in India, where only 2.2% of *E. coli* strains and 4.7% of *K. pneumoniae* bacteria were resistant to this antibiotic [42]. In addition, there was a statistically significant lower 30-day mortality rate among the patients infected with CR strains in the case of administering a combined tigecycline therapy compared to the monotherapy (OR=1.83, 95% CI=1.07–3.12, p=0.03) [56].

3.4. Aminoglycosides

Due to the fact that carbapenem-resistant strains sometimes exhibit susceptibility to aminoglycosides, it is a group of antibiotics recommended in monotherapy or combined therapy for the treatment of infections caused by the bacteria producing KPC, NDM or OXA-48. Recently, it has also been demonstrated that the gentamicin therapy or a combined tigecycline therapy, reduces the mortality rate (20.7% vs. 61.9%) among patients with sepsis caused by *K. pneumoniae* ST512 clone which produces the following resistance mechanisms, i.e. KPC-3, SHV-11 and TEM-1 [28, 45]. The resistance to aminoglycosides may be associated with the gene *rmtB*, being a 16s rRNA methylase, located on the following plasmids, i.e. IncF, IncA/C, IncK or IncN. The data obtained over the years 2012–2014 in China demonstrated that 95% (n=72/74) of the bacteria *K. pneumoniae* ST11, resistant to carbapenems, produced the mechanism KPC-2, and 2 strains produced NDM-1. Moreover, 34% (n=25/74) of *K. pneumoniae* isolates were found to possess *rmtB*, which determined resistance to aminoglycosides. Recently a new *rmtF*

gene has been identified i.e. 16S rRNA methyltransferase, present in the strains of *Enterobacterales* isolated among others in India or the United Kingdom. Moreover, as many as 20 out of 34 described aminoglycoside-resistant microorganisms, simultaneously produced the NDM-1 mechanism. In turn, the *rmtF* gene was detected in 6 producers of NDM-1 isolated in the United Kingdom [70].

3.5. Carbapenems

Carbapenems, in accordance with recommendations, may be a therapeutic option in the treatment of infections caused by CR bacteria, provided that the investigated strain is sensitive to an antibiotic from this group. In addition, it is recommended that the therapy with carbapenem combined with another antibiotic which the strain is also susceptible to should be applied. Nevertheless, researchers have proved that with the carbapenem MIC values > 8 mg/l, a combined therapy has a high risk of failure, with mortality above 35% [43]. The studies conducted by *De Pascale G. et al.* on a group of patients of the ICU who were treated because of infections with *K. pneumoniae* CR strains according to the scheme, i.e. standard non-carbapenem treatment (ST-Standard Treatment) vs. application of carbapenems (DC-Double Carbapenem), mainly ertapenem, demonstrated that the occurrence of septic shock as well as higher levels of procalcitonin were statistically significantly more frequent in patients receiving the DC therapy. In turn, the 28-day mortality rate was statistically higher among patients treated with ST compared to DC (47.9% vs. 29.2%). Additionally, in colistin-resistant CR strains statistically significantly higher eradication was observed when using the DC therapy [14]. It should also be noted that the studies by *Poirel L. et al.* demonstrated the synergistic effect of imipenem in conjunction with ertapenem/doripenem or doripenem with meropenem/ertapenem in the treatment of infections caused by KPC strains. In contrast, when analysing OXA-48 bacteria, a synergistic effect was observed between imipenem-ertapenem and imipenem-doripenem. What is important, in the case of NDM-1 strains and simultaneous NDM-1 and OXA-48 producers, there was no synergistic effect between carbapenems [69].

3.6. Mechanism of NDM – likely antibiotic/chemotherapeutics could be used in the therapy

In the case of *K. pneumoniae* strains producing NDM-type carbapenemases, the synergistic effect of the combined therapy of colistin and fosfomycin was observed *in vitro*. Moreover, the combination of polymyxin B and chloramphenicol was also characterized by a higher effectiveness in the treatment of infections

caused by these microorganisms, and prevented the development of resistance to the polymyxin group [45]. In turn, other scientists have noted a synergistic effect between aztreonam-meropenem-colistin, successively meropenem-colistin or fosfomycin-meropenem-colistin in the treatment of infections with NDM-1 strains [84]. In addition, recent studies indicate that the combined therapy with aztreonam and avibactam (a new inhibitor of β -lactamases) is effective in the treatment of infections, where the etiological factor is the strains producing metallo- β -lactamases [45].

The literature data indicates that high doses, as well as prolonged intravenous administering of ertapenem or doripenem, decreased the bacterial density in the case of infections caused by *K. pneumoniae* NDM-1 (+). It is worth mentioning that similar effects were also observed when using standard ertapenem doses, i.e. 1 g, every 24 h or doripenem, i.e. 500 mg every 8 hours. Importantly, the above conclusions were drawn only in the case of carbapenem-resistant strains producing the NDM-1 mechanism [45].

3.7. Mechanism of KPC – likely antibiotic/chemotherapeutics could be used in the therapy

Recently, special attention has been paid to the high percentage of hospitalized patients colonized by *K. pneumoniae* strains producing KPC-type carbapenemases. This results in multiple hospital outbreaks, which increases the risk of mortality among patients, especially those hospitalised at the ICU. Mortality rates referring to infections with KPC (+) strains range from 22% to even 72%, respectively. Moreover, due to the multidrug resistance of microorganisms which produce the KPC mechanism, it is extremely difficult to treat patients effectively. In order to achieve the maximum bactericidal effect and minimize the spread of resistance, combined therapy is frequently recommended [87]. The literature data indicates that the combination of carbapenem with tigecycline, colistin or meropenem proved effective in the treatment of infections caused by the strains of *K. pneumoniae* KPC (+) [45, 87]. Multicentre studies conducted in Italy demonstrated that the combined therapy involving at least two antibiotics exhibiting *in vitro* activity against the bacterium *K. pneumoniae* KPC (+) was associated with lower mortality, especially among patients with bacteraemia, pneumonia, or septic shock. The percentage of mortality based on the so-called 14-day rate among patients with bacteraemia caused by the strains of *K. pneumoniae* KPC (+) when using a combined therapy was 32.0%, and in the case of monotherapy it was as high as 51.3%. The similar data was obtained among patients with pneumonia, where the combined therapy was associated with a 25.0% mortality rate, whereas

the use of a monotherapy resulted in as much as 49.1% mortality [87]. Nevertheless, it should be highlighted that the data from other centres do not confirm the higher effectiveness of combined therapy over monotherapy. In connection with the above facts, continuing further research on the effectiveness of antibiotic therapy in the case of infections caused by the strains of *K. pneumoniae* producing the KPC mechanism is recommended [45].

3.8. Mechanism of OXA-48 – likely antibiotic/chemotherapeutics could be used in the therapy

When discussing the OXA-48-type carbapenemase-producing strains of *K. pneumoniae*, it should be noted that the carbapenem monotherapy is not recommended for the treatment of infections caused by these microorganisms. The literature data indicates that a combined therapy with sulbactam, meropenem and colistin is more effective in the treatment of infections, where the etiological factor is NDM-1 (+) microorganisms, in contrast to the bacteria producing OXA-48. In addition, the combination of fosfomycin with imipenem, meropenem and tigecycline demonstrated a synergistic effect in the case of the strains of *K. pneumoniae* OXA-48 [45].

It should be emphasized that the value of the so-called 30-day survival rate among patients with blood infections caused by the strains of *Enterobacterales* OXA-48 (+) is as high as 50.0%. Similar results were reported in Spain, where despite the high susceptibility of *K. pneumoniae* OXA-48-producing strains to antibiotics, i.e. amikacin (97.2%), colistin (90.1%), tigecycline (73%) or fosfomycin (66.2%), mortality among these patients was 43.5%, respectively [45].

4. Summary

The systematically growing number of antibiotic resistant strains is currently the biggest challenge for modern medicine. The overuse of antibiotics creates selective pressure for microorganisms, which accelerates the emergence and spread of strains with resistance mechanisms in the hospital environment, and more dangerously, among outpatients. That is why knowledge about the antibacterial spectrum of antibiotics, the mechanisms of acquiring antibiotic resistance among bacteria, and constant deepening of knowledge about the epidemiological occurrence of these mechanisms in Poland is so important. It should also be emphasized that only rational antibiotic therapy adapted to the profile of the resistance of a given strain creates a real chance for the effective use of antibiotics among future generations.

Acknowledgements

The article was translated by EURO-ALPHABET from Polish into English under agreement 659/P-DUN / 2018 and funded by the Ministry of Science and Higher Education.

References

1. Agodi A., Voulgari E., Barchitta M., Politi L., Koumaki V., Spanakis N., Giaquinta L., Valenti G., Romeo M.A., Tsakris A.: Containment of an Outbreak of KPC-3-Producing *Klebsiella pneumoniae* in Italy. *J. Clin. Microbiol.* **49**, 3986–3989 (2011)
2. Aktualna sytuacja rozprzestrzeniania się w Europie szczepów pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae* wytwarzających karbapenemazy, ECDC, Narodowy Program Ochrony Antybiotyków, 2015, <http://www.antybiotyki.edu.pl/pdf/TdECDCntrpz.pdf>
3. Antibiotic resistance threats in the United States, 2013. CDC Centers for Disease Control and Prevention, <https://www.cdc.gov/drugresistance/about.html>
4. Baraniak A., Gniadkowski M. et al.: NDM-producing *Enterobacteriaceae* in Poland, 2012–14: inter-regional outbreak of *Klebsiella pneumoniae* ST11 and sporadic cases. *J. Antimicrob. Chemother.* **71**, 85–91 (2016)
5. Baraniak A., Gniadkowski M.; MOSAR WP2, WP3, and WP5 Study Groups et al.: KPC-Like Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae* Colonizing Patients in Europe and Israel. *Antimicrob. Agents Chemother.* **60**, 1912–1917 (2015)
6. Baraniak A., Izdebski R., Herda M., Fiett J., Hryniewicz W., Gniadkowski M., Kern-Zdanowicz I., Filczak K., Łopaciuk U.: Emergence of *Klebsiella pneumoniae* ST258 with KPC-2 in Poland. *Antimicrob. Agents Chemother.* **53**, 4565–4567 (2009)
7. Baraniak A., Izdebski R., Żabicka D., Bojarska K., Górska S., Literacka E., Fiett J., Hryniewicz W., Gniadkowski M., KPC-PL2 Study Group.: Multiregional dissemination of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* ST258/ST512 genotypes in Poland, 2010–14. *J. Antimicrob. Chemother.* **72**, 1610–1616 (2017)
8. Berrazeg M., Diene S., Medjahed L., Parola P., Drissi M., Raoult D., Rolain J.: New Delhi Metallo-beta-lactamase around the world: an eReview using Google Maps. *Euro. Surveill.* **19**, 20809 (2014)
9. Both A., Hentschke M.: First report of *Escherichia coli* co-producing NDM-1 and OXA-232. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **86**, 437–438 (2016)
10. Bushnell G., Mitrani-Gold F., Mundy L.M.: Emergence of New Delhi metallo-β-lactamase type 1-producing *Enterobacteriaceae* and non-*Enterobacteriaceae*: global case detection and bacterial surveillance. *Int. J. Infect. Dis.* **17**, e325–333 (2013)
11. Campos A.C., Albiero J., Ecker A.B., Kuroda C.M., Meirelles L.E., Polato A., Tognim M.C., Wingeter M.A., Teixeira J.J.: Outbreak of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae*: A systematic review. *Am. J. Infect. Control.* **44**, 1374–1380 (2016)
12. Cantón R., Akóva M., Carmeli Y., Giske C.G., Glupczynski Y., Gniadkowski M., Livermore D.M., Miriagou V., Naas T., Rossolini G.M., Samuelsen Ø., Seifert H., Woodford N., Nordmann P.; European Network on Carbapenemases.: Rapid evolution and spread of carbapenemases among *Enterobacteriaceae* in Europe. *Clin. Microbiol. Infect.* **18**, 413–431 (2012)
13. Capone A., Petrosillo N., SEERBIO-GRAB network et al.: High rate of colistin resistance among patients with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection accounts for an excess of mortality. *Clin. Microbiol. Infect.* **19**, E23–30 (2013)
14. De Pascale G., Antonelli M. et al.: Double carbapenem as a rescue strategy for the treatment of severe carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* infections: a two-center, matched case-control study. *Crit. Care.* **21**, 173 (2017)

15. Del Franco M., Paone L., Novati R., Giacomazzi C.G., Bagattini M., Galotto C., Montanera P.G., Triassi M., Zarrilli R.: Molecular epidemiology of carbapenem resistant *Enterobacteriaceae* in Valle d'Aosta region, Italy, shows the emergence of KPC-2 producing *Klebsiella pneumoniae* clonal complex 101 (ST101 and ST1789). *BMC Microbiol.* **15**, 260 (2015)
16. Deshpande L.M., Jones R.N., Fritsche T.R., Sader H.S.: Occurrence and characterization of carbapenemase producing *Enterobacteriaceae*: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2000–2004). *Microb. Drug. Resist.* **12**, 223–230 (2006)
17. Ding B., Hu F., Yang Y., Guo Q., Huang J., Wang M.: Four Carbapenem-Resistant Gram-Negative Species Carrying Distinct Carbapenemases in a Single Patient. *J. Clin. Microbiol.* **53**, 1031–1033 (2015)
18. Dortet L., Poirel L., Nordmann P.: Worldwide dissemination of the NDM-type carbapenemases in Gram-negative bacteria. *Biomed. Res. Int.* 249856 (2014)
19. Dulny G., Marchel H., Wróblewska M.: Występowanie szczepów pałeczek *Enterobacteriaceae* wytwarzających karbapenemazy w Szpitalu Uniwersyteckim. *Forum Zakażeń*, **7**, 127–133 (2016)
20. Falagas M.E., Vouloumanou E.K., Samonis G., Vardakas K.Z.: Fosfomicyn. *Clin. Microbiol. Rev.* **29**, 321–347 (2016)
21. Fiett J., Baraniak A., Izdebski R., Sitkiewicz I., Żabicka D., Meler A., Filczak K., Hryniewicz W., Gniadkowski M.: The first NDM metallo-beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* isolate in Poland: evolution of IncFII-type plasmids carrying the bla(NDM-1) gene. *Antimicrob. Agents Chemother.* **58**, 1203–1207 (2014)
22. Giacobbe D.R., Tumbarello M.; ISGRI-SITA (Italian Study Group on Resistant Infections of the Società Italiana Terapia Antinfettiva) et al.: Risk factors for bloodstream infections due to colistin-resistant KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*: results from a multicenter case-control-control study. *Clin. Microbiol. Infect.* **21**, 1106.e1–8 (2015)
23. Giakoupi P., Maltezos H., Polemis M., Pappa O., Saroglou G., Vatopoulos A. Greek System for the Surveillance of Antimicrobial Resistance.: KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* infections in Greek hospitals are mainly due to a hyperepidemic clone. *Euro. Surveill.* **14**, (2009)
24. Glasner C., Grundmann H., The European Survey on Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae* (EuSCAPE) working group et al.: Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in Europe: a survey among national experts from 39 countries, February 2013. *Euro. Surveill.* **18**, 20525 (2013)
25. Główny Inspektorat Sanitarny: Stan sanitarny kraju w roku 2016, <https://stansanitarny.gis.gov.pl/index.php/rozdzial/epidemiologia>
26. Główny Inspektorat Sanitarny: Stan sanitarny kraju w roku 2017, https://gis.gov.pl/wp-content/uploads/2018/09/CA%C5%81O-%C5%9A%C4%86__STAN_SANITARNY_KRAJU__2017.pdf
27. Gniadkowski M., Żabicka D., Hryniewicz W.: Rekomendacje doboru testów do oznaczenia wrażliwości bakterii na antybiotyki i chemioterapeutyki 2009. Oznaczanie wrażliwości pałeczek Gram-ujemnych, http://www.korld.edu.pl/pdf/02-Rek2009-Paleczki_z_rodziny_Enterobacteriaceae.pdf (2009)
28. Gonzalez-Padilla M., Rodríguez-Baño J. et al.: Gentamicin therapy for sepsis due to carbapenem-resistant and colistin-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *J. Antimicrob. Chemother.* **70**, 905–913 (2015)
29. Hammami S., Gautier V., Ghozzi R., Da Costa A., Ben-Redjeb S., Arlet G.: Diversity in VIM-2 encoding class 1 integrons and occasional bla_{SHV2} carriage in isolates of a persistent, multi-drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* clone from Tunis. *Clin. Microbiol. Infect.* **16**, 189–193 (2010)
30. Hammerum A.M., Littauer P., Hansen F.: Detection of *Klebsiella pneumoniae* co-producing NDM-7 and OXA-181, *Escherichia coli* producing NDM-5 and *Acinetobacter baumannii* producing OXA-23 in a single patient. *Int. J. Antimicrob. Agents.* **46**, 597–598 (2015)
31. Hryniewicz W., Gniadkowski M.: Wytyczne postępowania w przypadku wykrycia szczepów pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae* wytwarzających karbapenemazy typu KPC (ang. *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase), <http://www.antybiotyki.edu.pl/pdf/KPCwytyczne20-09.pdf> (2009)
32. Hryniewicz W.: *Enterobacteriaceae* jako drobnoustroje alarmowe https://wsseopole.pis.gov.pl/plikjednostki/wsseopole/userfiles/W_%20Hryniewicz%20Opole19_06_17.pdf
33. Hryniewicz W.: Ostrzeżenie Rozprzestrzenianie się oporności na karbapenemy u pałeczek jelitowych w Polsce, http://www.korld.edu.pl/pdf/Warning_NDM_2013.pdf (2013)
34. Hryniewicz W.: Zalecenia dotyczące postępowania w przypadku zachorowań sporadycznych i ognisk epidemicznych wywołanych przez Gram-ujemne pałeczki z rodziny *Enterobacteriaceae*, <http://www.antybiotyki.edu.pl/pdf/kpc-20120713.pdf> (2012)
35. Izdebski R., Baraniak A., Żabicka D., Machulska M., Urbanowicz P., Fiett J., Literacka E., Bojarska K., Kozinska A., Zieniuk B., Hryniewicz W., Gniadkowski M.; OXA-48-PL Study Group.: *Enterobacteriaceae* producing OXA-48-like carbapenemases in Poland, 2013–January 2017. *J. Antimicrob. Chemother.* **73**, 620–625 (2018)
36. Izdebski R., Bojarska K., Baraniak A., Literacka E., Herda M., Żabicka D., Guzek A., Półgrabia M., Hryniewicz W., Gniadkowski M.: NDM-1- or OXA-48-producing *Enterobacteriaceae* colonising Polish tourists following a terrorist attack in Tunis, March 2015. *Euro. Surveill.* **20**, 21150 (2015)
37. Jain A., Hopkins K.L., Turton J., Doumith M., Hill R., Loy R., Meunier D., Pike R., Livermore D.M., Woodford N.: NDM carbapenemases in the United Kingdom: an analysis of the first 250 cases. *J. Antimicrob. Chemother.* **69**, 1777–1784 (2014)
38. Jeon J.H., Lee J.H., Lee J.J., Park K.S., Karim A.M., Lee C.R., Jeong B.C., Lee S.H.: Structural basis for carbapenem-hydrolyzing mechanisms of carbapenemases conferring antibiotic resistance. *Int. J. Mol. Sci.* **16**, 9654–9692 (2015)
39. Jeong S.H., Kim H.S., Kim J.S., Shin D.H., Kim H.S., Park M.J., Shin S., Hong J.S., Lee S.S., Song W.: Prevalence and molecular characteristics of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* from five hospitals in Korea. *Ann. Lab. Med.* **36**, 529–535 (2016)
40. Kaase M., Szabados F., Pfennigwerth N., Anders A., Geis G., Pranada A.B., Rößler S., Lang U., Gatermann S.G.: Description of the metallo-β-lactamase GIM-1 in *Acinetobacter pittii*. *J. Antimicrob. Chemother.* **69**, 81–84 (2014)
41. Kazmierczak K.M., Rabine S., Hackel M., McLaughlin R.E., Biedenbach D.J., Bouchillon S.K., Sahm D.F., Bradford P.A.: Multiyear, multinational survey of the incidence and global distribution of metallo-β-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents. Chemother.* **60**, 1067–1078 (2015)
42. Khare V., Gupta P., Haider F., Begum R.: Study on MICs of tige-cycline in clinical isolates of carbapenem resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) at a Tertiary Care Centre in North India. *J. Clin. Diagn. Res.* **11**, DC18–DC21 (2017)
43. Kowalska-Krochmal B.: Karbapenemazo-dodatnie *Enterobacteriaceae*-które z antybiotyków są jeszcze wobec nich skuteczne? *Forum Zakażeń*, **7**, 429–435 (2016)
44. Kumarasamy K.K., Woodford N. et al.: Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. *Lancet. Infect. Dis.* **10**, 597–602 (2010)

45. Lee C.R., Lee J.H., Park K.S., Kim Y.B., Jeong B.C., Lee S.H.: Global dissemination of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: epidemiology, genetic context, treatment options, and detection methods. *Front. Microbiol.* **7**, 895 (2016)
46. Liao Y., Hu G.H., Xu Y.F., Che J.P., Luo M., Zhang H.M., Peng B., Yao X.D., Zheng J.H., Liu M.: Retrospective analysis of fosfomycin combinational therapy for sepsis caused by carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Exp. Ther. Med.* **13**, 1003–1010 (2017)
47. Madueño A., González García J., Fernández-Romero S., Oteo J., Lecuona M.: Dissemination and clinical implications of multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates producing OXA-48 in a Spanish hospital. *J. Hosp. Infect.* **96**, 116–122 (2017)
48. Majewski P., Sacha P., Wiecek P., Ojdana D., Michalska A., Tryniszewska E.: New Delhi Metallo- β -Lactamases – the dawn of a post-antibiotic era? *Prog. Health. Sci.* **2**, 153–160 (2012)
49. Majewski P., Tryniszewska E.A. et al.: Emergence of OXA-48 carbapenemase-producing *Enterobacter cloacae* ST89 infection in Poland. *Int. J. Infect. Dis.* **25**, 107–109 (2014)
50. Maltezou H.C., Giakkoupi P., Maragos A., Bolikas M., Raftopoulos V., Papahatzaki H., Vrouhos G., Liakou V., Vatopoulos A.C.: Outbreak of infections due to KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* in a hospital in Crete (Greece). *J. Infect.* **58**, 213–219 (2009)
51. Michalska A.D., Sacha P.T., Ojdana D., Majewski P., Wiecek P., Tryniszewska E.: Carbapenem-resistant strains from the family *Enterobacteriaceae* in the period 2006–2011 from clinical specimens of patients treated at the university hospital in north-eastern Poland. *Med. Dosw. Mikrobiol.* **65**, 27–38 (2013)
52. Michalska-Falkowska A., Sacha P.T., Grześ H., Hauschild T., Wiecek P., Ojdana D., Tryniszewska E.A.: Emergence of *Pseudomonas aeruginosa* with class 1 integron carrying bla_{VIM-2} and bla_{VIM-4} in the University Clinical Hospital of Białystok (northeastern Poland). *Postępy Hig. Med. Dosw.* **71**, 589–594 (2017)
53. Milner A., Bieńko D., Kamola R., Kraśnicka A., Marchel H., Saran O., Dulny G., Swoboda-Kopeć E.: Analiza częstości występowania i ocena lekowrażliwości szczepów *Klebsiella pneumoniae* NDM-1 na oddziale chirurgii CSK WUM w okresie 1.01.2012–30.09.2014 roku. *Postępy Nauk Med.* **28**, 261–268 (2015)
54. Monaco M., Giani T., Raffone M., Arena F., Garcia-Fernandez A., Pollini S.; Network EuSCAPE-Italy, Grundmann H., Pantosti A., Rossolini G.M.: Colistin resistance superimposed to endemic carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: a rapidly evolving problem in Italy, November 2013 to April 2014. *Euro. Surveill.* **19**, 20939 (2014)
55. Ni W., Cai X., Wei C., Di X., Cui J., Wang R., Liu Y.: Efficacy of polymyxins in the treatment of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* infections: a systematic review and meta-analysis. *Braz. J. Infect. Dis.* **19**, 170–180 (2015)
56. Ni W., Han Y., Liu J., Wei C., Zhao J., Cui J., Wang R., Liu Y.: Tigecycline treatment for carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* infections. *Medicine (Baltimore)*, **95**, e3126 (2016)
57. Nikonorow E., Baraniak A., Gniadkowski M.: Oporność bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* na antybiotyki β -laktamowe wynikająca z wytwarzania β -laktamaz. *Post. Mikrobiol.* **52**, 261–271 (2013)
58. Nordmann P., Cuzon G., Naas T.: The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. *Lancet. Infect. Dis.* **9**, 228–236 (2009)
59. Nordmann P., Poirel L., Toleman M.A., Walsh T.R.: Does broad spectrum β -lactam resistance due to NDM-1 herald the end of the antibiotic era for treatment of infections caused by Gram-negative-bacteria? *J. Antimicrob. Chemother.* **66**, 689–692 (2011)
60. Nordmann P., Poirel L.: The difficult-to-control spread of carbapenemase producers among *Enterobacteriaceae* worldwide. *Clin. Microbiol. Infect.* **20**, 821–830 (2014)
61. Nordmann P.: Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*: overview of a major public health challenge. *Med. Mal. Infect.* **44**, 51–56 (2014)
62. Ojdana D., Sacha P., Olszańska D., Majewski P., Wiecek P., Jaworowska J., Sieńko A., Jurczak A., Tryniszewska E.: First report of *Klebsiella pneumoniae*-carbapenemase-3-producing *Escherichia coli* ST479 in Poland. *Biomed. Res. Int.* **2015**, 256028 (2015)
63. Ortega A., Sáez D., Bautista V., Fernández-Romero S., Lara N., Aracil B., Pérez-Vázquez M., Campos J., Oteo J.; Spanish Collaborating Group for the Antibiotic Resistance Surveillance Programme.: Carbapenemase-producing *Escherichia coli* is becoming more prevalent in Spain mainly because of the polyclonal dissemination of OXA-48. *J. Antimicrob. Chemother.* **71**, 2131–2138 (2016)
64. Palacios-Baena Z.R., Rodríguez-Baño J.: GEIH-GEMARA (SEIMC) and REIPI Group for CPE. et al.: Comprehensive clinical and epidemiological assessment of colonisation and infection due to carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in Spain. *J. Infect.* **72**, 152–160 (2016)
65. Papa Ezdra R., Bado I., Cordeiro N., Gutierrez C., Hitateguy P., Seija V., Vignoli R.: VIM-2-Producing *Pseudomonas* spp. in Uruguay: Sequence Types, Pulsotypes, and Class 1 Integrons Including New Variable Regions Featuring bla_{VIM-2} and bla_{GES-7}. *Antimicrob. Agents. Chemother.* **60**, 5620–5622 (2016)
66. Patzer J.A., Walsh T.R., Weeks J., Dzierzanowska D., Toleman M.A.: Emergence and persistence of integron structures harbouring VIM genes in the Children's Memorial Health Institute, Warsaw, Poland, 1998–2006. *J. Antimicrob. Chemother.* **63**, 269–273 (2009)
67. Piedra-Carrasco N., González-López J.J. i wsp.: Effectiveness of a double-carbapenem regimen in a KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* infection in an immunocompromised patient. *Microb. Drug. Resist.* (2017) doi: 10.1089/mdr.2017.0129
68. Poirel L., Dortet L., Bernabeu S., Nordmann P.: Genetic feature of bla_{NDM-1}-positive *Enterobacteriaceae*. *Antimicrob. Agents. Chemother.* **55**, 5403–5407 (2011)
69. Poirel L., Kieffer N., Nordmann P.: *In vitro* evaluation of dual carbapenem combinations against carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *J. Antimicrob. Chemother.* **71**, 156–161 (2016)
70. Potter R.F., D'Souza A.W., Dantas G.: The rapid spread of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*. *Drug. Resist. Updat.* **29**, 30–46 (2016)
71. Pragasam A.K., Shankar C., Veeraraghavan B., Biswas I., Nabarro L.E.B., Inbanathan F.Y., George B., Verghese S.: Molecular mechanisms of colistin resistance in *Klebsiella pneumoniae* causing bacteremia from India—a first report. *Front. Microbiol.* **7**, 2135 (2016)
72. Queenan A.M., Bush K.: Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. *Clin. Microbiol. Rev.* **20**, 440–458 (2007)
73. Rajput V.B., Naik J.P.: Detection of Metallo-Beta-Lactamase production in Gram-negative clinical isolates. *Int. J. of Pharm. Life Sci.* **6**, 4272–4279 (2015)
74. Robert J., Pantel A., Mérens A., Lavigne J.P., Nicolas-Chanoine M.H.; ONERBA's Carbapenem Resistance Study Group.: Incidence rates of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* clinical isolates in France: a prospective nationwide study in 2011–12. *J. Antimicrob. Chemother.* **69**, 2706–2712 (2014)
75. Rodríguez-Avial I., Pena I., Picazo J.J., Rodríguez-Avial C., Culebras E.: *In vitro* activity of the next-generation aminoglycoside plazomicin alone and in combination with colistin, meropenem, fosfomycin or tigecycline against carbapenemase-

- producing *Enterobacteriaceae* strains. *Int. J. Antimicrob. Agents*. **46**, 616–621 (2015)
76. Sader H.S., Castanheira M., Flamm R.K., Mendes R.E., Farrell D.J., Jones R.N.: Tigecycline activity tested against carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* from 18 European nations: results from the SENTRY surveillance program (2010–2013). *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **83**, 183–186 (2015)
 77. Schwaber M.J., Lev B., Israeli A., Solter E., Smollan G., Rubinovitch B., Shalit I., Carmeli Y.: Israel Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae* Working Group: Containment of a Country-wide Outbreak of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* in Israeli Hospitals via a Nationally Implemented Intervention. *Clin. Infect. Dis.* **52**, 848–855 (2011)
 78. Seecoomar G.D., Marmol B.C., Kwon D.H.: Promoter deletions of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC)-encoding genes (blaKPC-2) and efflux pump (AcrAB) on β -lactam susceptibility in KPC-producing *Enterobacteriaceae*. *FEMS. Microbiol. Lett.* **348**, 120–126 (2013)
 79. Sekowska A., Gospodarek E., Kruszyńska E., Hryniewicz W., Gniadkowski M., Duljasz W., Kusza K., Wawrzyniak K.: First isolation of metallo- β -lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* strain in Poland. *Anestezjol. Intens. Ter.* **42**, 27–30 (2010)
 80. Shibata N., Doi Y., Yamane K., Yagi T., Kurokawa H., Shibayama K., Kato H., Kai K., Arakawa Y.: PCR typing of genetic determinants for metallo- β -lactamases and integrases carried by Gram-negative bacteria isolated in Japan, with focus on the class 3 integron. *J. Clin. Microbiol.* **41**, 5407–5413 (2003)
 81. Souli M., Giamarellou H. et al.: An outbreak of infection due to beta-Lactamase *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase 2-producing *K. pneumoniae* in a Greek University Hospital: molecular characterization, epidemiology, and outcomes. *Clin. Infect. Dis.* **50**, 364–373 (2010)
 82. Surveillance Atlas of Infectious Diseases, <http://atlas.ecdc.europa.eu/public/index.aspx>
 83. Swathi C.H., Chikala R., Ratnakar K.S., Sritharan V.: A structural, epidemiological & genetic overview of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases (KPC). *Indian J. Med. Res.* **144**, 21–31 (2016)
 84. Tängdén T., Hickman R.A., Forsberg P., Lagerbäck P., Giske C.G., Cars O.: Evaluation of double- and triple-antibiotic combinations for VIM and NDM-producing *Klebsiella pneumoniae* by *in vitro* time-kill experiment. *Antimicrob. Agents Chemother.* **58**, 1757–1762 (2014)
 85. Toleman M.A., Simm A.M., Murphy T.A., Gales A.C., Biedenbach D.J., Jones R.N., Walsh T.R.: Molecular characterization of SPM-1, a novel metallo- β -lactamase isolated in Latin America: report from the SENTRY antimicrobial surveillance programme. *J. Antimicrob. Chemother.* **50**, 673–679 (2002)
 86. Tumbarello M., Bassetti M. et al.: Predictors of mortality in bloodstream infections caused by *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae*: importance of combination therapy. *Clin. Infect. Dis.* **55**, 943–950 (2012)
 87. Tumbarello M., Viale P.; ISGRI-SITA (Italian Study Group on Resistant Infections of the Società Italiana Terapia Antinfettiva): Infections caused by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*: differences in therapy and mortality in a multicentre study. *J. Antimicrob. Chemother.* **70**, 2133–2143 (2015)
 88. Van Duin D., Doi Y.: Outbreak of colistin-resistant, carbapenemase producing *Klebsiella pneumoniae*: are we at the end of the road? *J. Clin. Microbiol.* **53**, 3116–3117 (2015)
 89. Vatopoulos A.: High rates of metallo- β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Greece – a review of the current evidence. *Euro. Surveill.* **13**, (2008)
 90. Weterings V., Zhou K., Rossen J.W., van Stenis D., Thewessen E., Kluytmans J., Veenemans J.: An outbreak of colistin-resistant *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in the Netherlands (July to December 2013), with inter-institutional spread. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **34**, 1647–1655 (2015)
 91. Yong D., Toleman M.A., Giske C.G., Cho H.S., Sundman K., Lee K., Walsh T.R.: Characterization of a new Metallo- β -Lactamase gene, bla(NDM-1), and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. *Antimicrob. Agents Chemother.* **53**, 5046–5054 (2009)
 92. Zacharczuk K., Piekarska K., Szych J., Zawidzka E., Sulikowska A., Wardak S., Jagielski M., Gierczynski R.: Emergence of *Klebsiella pneumoniae* coproducing KPC-2 and 16SrRNA methylase ArmA in Poland. *Antimicrob. Agents Chemother.* **55**, 443–446 (2011)
 93. Zowawi H.M., Paterson D.L. et al.: Stepwise evolution of pandrug-resistance in *Klebsiella pneumoniae*. *Sci. Rep.* **5**, 15082 (2015)
 94. Żabicka D., Gniadkowski M. et al.: Pałeczki jelitowe *Enterobacteriaceae* wytwarzające karbapenemazy w Polsce, sytuacja w 2016 roku, <http://www.korld.edu.pl/pdf/CPERaport2016.pdf>
 95. Żabicka D., Gniadkowski M., Ozorowski T., Hryniewicz W.: Raport Krajowego Ośrodka Referencyjnego ds. Lekowrażliwości Drobnoustrojów Występowanie *Enterobacteriaceae* (*Klebsiella pneumoniae*) wytwarzających karbapenemazy typu New Delhi na terenie Polski w I kwartale 2017 roku. KORDL, 15.06.2017, <http://www.nil.gov.pl/najnowszy-raport-nt-wystepowania-clubsiella-pneumoniae-new-dehli/>
 96. Żabicka D., Literacka E., Bojarska K.: MDR, XDR, PDR – jednolite międzynarodowe definicje nabytej oporności drobnoustrojów na antybiotyki. Aktualności Narodowego Programu Ochrony Antybiotyków, 2012, http://antybiotyki.edu.pl/wp-content/uploads/Biuletyn/biuletyn-npoa-2012_3.pdf
 97. Żabicka D., Literacka E., Gniadkowski M., Hryniewicz W.: Raport Krajowego Ośrodka Referencyjnego ds. Lekowrażliwości Drobnoustrojów Występowanie *Enterobacteriaceae* (głównie *Klebsiella pneumoniae*) wytwarzających karbapenemazę New Delhi (NDM) na terenie Polski w okresie I–III kwartał 2017 roku. KORDL, http://www.korld.edu.pl/pdf/Raport_NDM_18-12-2017_strona.pdf

KARBAPENEMAZY PAŁECZEK JELITOWYCH – POCZĄTEK ERY POST-ANTYBIOTYKOWEJ?

Sylwia Joanna Chmielewska*, Katarzyna Leszczyńska

Zakład Mikrobiologii Lekarskiej i Inżynierii Nanobiomedycznej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku,
Białystok, ul. Mickiewicza 2C, 15-222 Białystok

Wpłynęło w lipcu 2018 r., zaakceptowano w maju 2019 r.

Streszczenie: W ostatnich latach w Polsce jak również na całym świecie w zastraszającym tempie rośnie liczba bakterii wytwarzających mechanizmy oporności na antybiotyki. Głównym problemem jest pojawienie się i rozprzestrzenienie bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* opornych na karbapenemy (CRE), czyli antybiotyki uznawane za leki ostatniej szansy w leczeniu zakażeń wywołanych przez bakterie wielolekooporne (MDR). W chwili obecnej największe zagrożenie dla zdrowia publicznego stanowią szczepy *Enterobacteriales* wytwarzające mechanizm KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemases), NDM (New Delhi Metallo- β -lactamase) czy OXA-48 (Oxacillinase-48), charakteryzujące się opornością na większość, a czasem nawet na wszystkie możliwe do zastosowania w terapii leki. W związku z powyższym jedynymi skutecznymi opcjami terapeutycznymi w leczeniu zakażeń wywołanych przez szczepy CRE pozostają: kolistyna, tygecyklina, fosfomycyna czy aminoglikozydy. Ponadto, terapia skojarzona obejmująca dwie lub więcej grup antybiotyków zalecana jest w terapii ciężkich infekcji spowodowanych przez szczepy *Enterobacteriales* produkujące karbapenemazy. W związku z gwałtownym rozprzestrzenianiem się szczepów opornych na karbapenemy jak również z brakiem nowych opcji terapeutycznych tak cenna jest wiedza na temat mechanizmów nabywania oporności na antybiotyki.

1. Wstęp. 2. Karbapenemazy. 2.1. Metallo- β -laktamazy. 2.2. Karbapenemazy klasy A. 2.3. Karbapenemazy klasy D (OXA). 3. Przegląd antybiotyków stosowanych w leczeniu zakażeń wywołanych przez szczepy odporne na karbapenemy. 3.1. Kolistyna. 3.2. Fosfomycyna. 3.3. Tygecyklina. 3.4. Aminoglikozydy. 3.5. Karbapenemy. 3.6. Mechanizm NDM – możliwe do zastosowania w terapii antybiotyki/chemioterapeutyki. 3.7. Mechanizm KPC – możliwe do zastosowania w terapii antybiotyki/chemioterapeutyki. 3.8. Mechanizm OXA-48 – możliwe do zastosowania w terapii antybiotyki/chemioterapeutyki. 4. Podsumowanie

CARBAPENEMASE OF INTESTINAL RODS – THE BEGINNING OF POST-ANTIBIOTIC ERA?

Abstract: In recent years in Poland as well as globally at an alarming rate, the number of bacteria producing mechanisms of antibiotic resistance has been increased. The major source of concern is the emergence and dissemination of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* (CRE). Carbapenems are considered as last resort drugs for the treatment of multidrug-resistant (MDR) bacterial infections. At the present time the greatest menaces to public health are strains producing KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemases), NDM (New Delhi Metallo- β -lactamase) and OXA-48 (Oxacillinase-48). Carbapenemase-producing *Enterobacteriales* have been resistant to most and sometimes even to all drugs that would be considered for treatment. Therefore, the accurate therapeutic options for the treatment of infections due to CRE strains are limited to the following antibiotics: colistin, tigecycline, fosfomycin, and aminoglycosides. Moreover, combination therapy containing two or more antibiotics has been recommended for the treatment of severe infections caused by carbapenemase-producing *Enterobacteriales*. Due to the rapid spread of carbapenem-resistant strains and the lack of new antibiotic drug development, there is an urgent need to broaden our knowledge regarding antibiotic resistance.

1. Introduction. 2. Carbapenemases. 2.1. Metallo- β -lactamases. 2.2. Class A Carbapenemases. 2.3. Class D Carbapenemases (OXA). 3. Review of antibiotic treatment options of infections due to carbapenem-resistant strains. 3.1. Colistin. 3.2. Fosfomycin. 3.3. Tigecycline. 3.4. Aminoglycosides. 3.5. Carbapenems. 3.6. Mechanism of NDM – likely antibiotic/chemotherapeutics could be used in the therapy. 3.7. Mechanism of KPC – likely antibiotic/chemotherapeutics could be used in the therapy. 3.8. Mechanism of OXA-48 – likely antibiotic/chemotherapeutics could be used in the therapy. 4. Summary

Słowa kluczowe: Karbapenemazy, KPC, NDM, OXA-48, wielolekooporność

Key words: Carbapenemases, KPC, NDM, OXA-48, multidrug resistance

1. Wstęp

W ostatnich latach w Polsce jak również na całym świecie odnotowuje się niepokojące zjawisko rozprzestrzenienia szczepów opornych na antybiotyki [19]. W roku 2013 The Centers for Disease Control and Prevention

(CDC) opublikowało raport, w którym zostały opisane mikroorganizmy, stanowiące największe zagrożenie dla zdrowia publicznego w Stanach Zjednoczonych, a wśród nich na pierwszym miejscu uplasowały się szczepy *Enterobacteriaceae* odporne na karbapenemy (CRE – Carbapenem – Resistant (CR) *Enterobacteriaceae*) [3, 45].

* Autor korespondencyjny: dr n. med. Sylwia Joanna Chmielewska, Zakład Mikrobiologii Lekarskiej i Inżynierii Nanobiomedycznej, Wydział Lekarski z Oddziałem Stomatologii i Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, ul. Mickiewicza 2C, 15-222 Białystok; tel. 695 348 868; e-mail: sylwia.chmielewska@umb.edu.pl

Szacuje się, iż rocznie w Stanach Zjednoczonych, u co najmniej 2 milionów pacjentów diagnozuje się choroby infekcyjne wywołane bakteriami opornymi na jedną lub więcej grup antybiotyków. Co więcej, blisko 23 000 z tych pacjentów umiera, a bezpośrednią przyczyną zgonu jest rozwijające się zakażenie, wskutek nieskutecznej terapii przeciwdrobnoustrojowej [3]. Dane pochodzące z raportu CDC wskazują, iż rocznie w USA u ponad 14 tysięcy pacjentów diagnozuje się tzw. infekcje związane z opieką zdrowotną (HAI – Healthcare Associated Infection) wywołane przez szczepy *Enterobacteriales*. Należy podkreślić, iż w przeważającej większości tj. u ponad 9 300 osób czynnikiem etiologicznym są drobnoustroje odporne na karbapenemy, z czego aż 7 900 przypadków stanowią zakażenia wywołane przez szczepy *Klebsiella pneumoniae* CR, a blisko 1 400 spowodowanych jest przez pałeczki *Escherichia coli* CR. Co więcej, należy podkreślić, iż blisko 600 z tych pacjentów umiera każdego roku [3].

Z kolei dane pochodzące z Europy wskazują, iż z powodu zakażeń wywołanych przez szczepy bakterii wielolekoopornych MDR (Multidrug-Resistance), umiera rocznie około 25 000 pacjentów [96]. Z analizy europejskich raportów ECDC (European Centre for Disease Control) wynika, iż częstotliwość występowania szczepów *K. pneumoniae* opornych na karbapenemy w Polsce w 2013 r. osiągnęła poziom 0,8%, podobnie jak w większości krajów Unii Europejskiej. Tylko, w trzech krajach (Islandia, Czarnogóra oraz Macedonia Północna) nie odnotowano żadnych przypadków bakterii produkujących karbapenemazy. Natomiast, we Włoszech rozpowszechnienie tych drobnoustrojów kształtowało się na poziomie 34,3%; zaś w Grecji 59,4%. W roku 2014 w Polsce odsetek izolacji szczepów *K. pneumoniae* opornych na karbapenemy nieznacznie wzrósł do poziomu 1,3%. Należy również podkreślić, iż największy odsetek występowania szczepów CR odnotowano w Grecji (62,3%); kolejno we Włoszech (32,9%) i Rumunii (31,5%). W roku 2015 w Polsce zaobserwowano zaledwie 0,5% szczepów *K. pneumoniae* opornych na tę grupę antybiotyków, przy czym w Grecji, Włoszech czy Rumunii odsetek ten wyniósł odpowiednio: 61,9%; 33,5% i 24,7% [24, 82]. Z kolei dane pochodzące z 2016 r. wskazują, iż częstotliwość występowania bakterii *K. pneumoniae* produkujących karbapenemazy w naszym kraju wyniosła 2,1%. Podobnie jak w ubiegłych latach w Grecji, Włoszech czy Rumunii raportowano odpowiednio: 66,9%; 33,9%; 31,4% przypadków izolacji szczepów *K. pneumoniae* CR. Ponadto na terenie Norwegii, Estonii, Litwy, Chorwacji czy Republiki Czech w roku 2016 nie odnotowano nawet pojedynczych przypadków występowania *K. pneumoniae* wytwarzających karbapenemazy [82]. Z najnowszego raportu z 2017 roku wynika, iż rozpowszechnienie bakterii *K. pneumoniae* opornych na karbapenemy

w naszym kraju gwałtownie wzrosło do niepokojącego poziomu aż 6,4%. Z kolei najwyższy odsetek izolacji tych drobnoustrojów zaobserwowano w Grecji (64,7%) i Włoszech (29,7%). Warty podkreślenia jest również fakt, iż w Norwegii, Słowenii, Estonii czy Chorwacji nie odnotowano szczepów opornych na karbapenemy [82].

Biorąc pod uwagę powyższe dane istnieje uzasadniona konieczność stałego uaktualniania i monitorowania lekooporności szczepów CRE [94]. Należy również podkreślić, iż drobnoustroje wytwarzające następujące mechanizmy tj. MBL, KPC czy OXA-48 z ogromną łatwością jak i prędkością rozprzestrzeniają się po całym świecie. Lista krajów, w których zidentyfikowano szczepy produkujące karbapenemazy stale się wydłuża i w ciągu ostatnich kilku lat objęła także Polskę [45].

2. Karbapenemazy

Karbapenemy zostały wprowadzone do lecznictwa na początku lat 80. XX w. Należy zaznaczyć, iż w chwili obecnej stanowią najnowszą generację antybiotyków β -laktamowych, o najszerszym spektrum działania. Co więcej, karbapenemy niejednokrotnie uznaje się za leki tzw. „ostatniej szansy” w leczeniu ciężkich zakażeń wywołanych przez szczepy wielolekooporne [43]. W ostatnich latach ogromne zaniepokojenie wzbudziło zaś lawinowe rozprzestrzenianie się szczepów z mechanizmami oporności na karbapenemy zarówno wśród pacjentów szpitalnych jak i ambulatoryjnych. Ponadto, drastycznie spadająca liczba nowych antybiotyków, nasuwa poważne obawy na temat skutecznego wyleczenia pacjentów w przyszłości [45].

Należy podkreślić, iż bakterie rzędu *Enterobacteriales* produkujące karbapenemazy są obecnie największym zagrożeniem oraz wielkim wyzwaniem dla medycyny i mikrobiologii [57].

2.1. Metallo- β -laktamazy

Jednym z najistotniejszych klinicznie i epidemiologicznie mechanizmów oporności na karbapenemy są metallo- β -laktamazy klasy B (MBL) produkowane głównie przez pałeczki niefermentujące glukozy np. *Pseudomonas aeruginosa* oraz rzadziej przez bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae* np. *K. pneumoniae* czy *E. coli*. Co więcej, szczepy wytwarzające mechanizm MBL klasyfikuje się, jako odporne na penicyliny (łącznie z inhibitorami β -laktamaz), cefalosporyny i karbapenemy z wyjątkiem aztreonamu, aczkolwiek zastosowanie monobaktamów w terapii powinno opierać się o wynik oznaczenia mikrobiologicznego. Co istotne, metallo- β -laktamazy wymagają jonów cynku jako kofaktorów reakcji hydrolizy antybiotyków β -laktamowych [27, 53, 57, 73]. Na podstawie różnic w sekwencji ami-

nokwasowej i struktury centrum aktywnego wyróżnia się obecnie trzy podklasy. Podklasa B1 i B3 posiada dwa dwuwartościowe jony cynku w centrum aktywnym, podczas gdy podklasa B2 tylko jeden jon cynku [48]. Geny odpowiedzialne za produkcję metalo- β -laktamaz znajdują się na chromosomie, plazmidach lub integronach. U bakterii środowiskowych np. *Stenotrophomonas maltophilia*, *Bacillus cereus*, *Caulobacter crescentus* czy *Aeromonas hydrophila* odkryto wiele gatunkowo specyficznych enzymów MBL kodowanych chromosomalnie [53, 57]. W chwili obecnej wyróżnia się następujące typy MBL o znaczeniu klinicznym tj. IMP, VIM, NDM, SPM, IND, GIM, SIM, KHM, AIM bądź DIM [12, 16, 53, 73].

Pierwszy przypadek bakterii z nabytym mechanizmem MBL tj. IMP-1 zostały wykryte u *P. aeruginosa* w 1991 r. w Japonii. Kolejno w 1997 r. we Włoszech zidentyfikowano typ VIM-1 oraz SPM-1 w Brazylii. Należy podkreślić, iż od tego czasu, a zwłaszcza od drugiej połowy lat 90., stale rośnie liczba szczepów MBL(+) wywołujących ogniska epidemiczne (Grecja, Włochy, Kanada, Korea, Kenia) [16, 29, 53, 80, 85, 89]. Ponadto w latach 2002–2006 w Tunezji, odnotowano 35 przypadków szczepów *P. aeruginosa* wytwarzających mechanizm MBL typu VIM-2. Co istotne, kasetę genową bla_{VIM-2} zlokalizowana była w obrębie integronu klasy I [29].

Z kolei Papa Ezdra R. i wsp. scharakteryzowali bakterie *P. aeruginosa* VIM-2(+) izolowane w Urugwaju (2011–2013). Na podstawie metody MLST sklasyfikowano większość badanych bakterii do następującego typu sekwencyjnego tj. ST155 oraz w mniejszym stopniu do ST1565 czy ST1195. Należy wspomnieć, iż bakterie *P. aeruginosa* ST155 produkujące VIM-2 wykryto również w Hiszpanii [65].

W Polsce mechanizm MBL zidentyfikowano po raz pierwszy u pałeczek *P. aeruginosa* w latach 1998–2000 [53]. Z kolei w okresie 1998–2006 w Centrum Zdrowia Dziecka w Warszawie wyizolowano łącznie 20 szczepów z rodzaju *Pseudomonas* spp. (*P. aeruginosa* n=18; *P. putida* n=2) produkujących karbapenemazy typu MBL. Za pomocą metody PCR w przeważającej większości stwierdzono obecność genów bla_{VIM-4} , zaś u dwóch izolatów bla_{VIM-2} . Ponadto geny kodujące MBL zlokalizowane były na chromosomie, a u wszystkich analizowanych bakterii wykryto integrony klasy I [66]. Kolejno w północno-wschodniej Polsce (wrzesień 2012 r. – grudzień 2013 r.) wykryto 45 szczepów *P. aeruginosa* MBL(+) od pacjentów hospitalizowanych w Uniwersyteckim Szpitalu Klinicznym w Białymstoku. Ostatecznie geny oporności tj. bla_{VIM-2} zostały zidentyfikowane u trzech izolatów, podczas gdy bla_{VIM-4} zaledwie u jednego szczepu. Co istotne, u bakterii *P. aeruginosa* geny bla_{VIM} zlokalizowane były w integronie klasy I. Analiza pokrewieństwa genetycz-

nego z wykorzystaniem metody PFGE, pozwoliła na sklasyfikowanie badanych szczepów VIM(+) do czterech niespokrewnionych pulsotypów (A-D). Z kolei technika MLST umożliwiła wyodrębnienie następujących typów sekwencyjnych tj. ST111, ST27, ST17 oraz co ciekawe ST2342. Warto wspomnieć, iż u izolatu Ps21 (ST2342) VIM-2(+) stwierdzono unikatową sekwencję kasety genowej, wcześniej nieopisywaną u *P. aeruginosa* [52]. Z kolei pierwszy szczep *K. pneumoniae* produkujący typ VIM-4 zidentyfikowano w 2008 r. w Bydgoszczy u 61-letniego pacjenta poddanego operacji chirurgicznej [53, 79].

Podsumowując, w Polsce w latach 2006–2008 wyizolowano osiem szczepów MBL(+), a w 2009, 2010 i 2011 odpowiednio: 22, 23, 31 z 39 szpitali zlokalizowanych w 24 miastach. Dominującymi producentami mechanizmu MBL były: *E. cloacae* – 50,0%, *S. marcescens* – 17,9%, *K. oxytoca* – 16,7% czy *K. pneumoniae* – 11,9%. W przeważającej większości izolaty produkowały mechanizm MBL typu VIM (93,8%), zaś u trzech szczepów *S. marcescens* zidentyfikowano typ IMP [12].

Kolejny mechanizm tj. KHM-1 odnotowano po raz pierwszy u *Citrobacter freundii* w Japonii (1997 r.) zaś GIM-1 u *P. aeruginosa* w Niemczech (2002 r.). W ostatnim czasie wzrasta również odsetek izolacji szczepów GIM-1, mechanizm ten zidentyfikowano m.in. u następujących bakterii tj. *Serratia marcescens*, *E. cloacae*, *Pseudomonas putida*, *Acinetobacter pittii*, oraz co groźniejsze u *E. coli*, *Klebsiella oxytoca* czy *C. freundii*. Wszystkie przypadki występowania szczepów GIM-1(+) zarejestrowano w Niemczech w większości w Düsseldorf lub w miejscowościach oddalonych od tego miasta o 40 km [38, 40, 60]. Inne warianty metalo- β -laktamaz tj. SPM-1, SIM-1, DIM-1, TMB-1 i AIM-1 wytwarzane są przez pałeczki niefermentujące glukozy tj. *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp. i do chwili obecnej mechanizmy te nie zostały wykryte u pałeczek rzędu *Enterobacterales* [48, 60].

W 2008 r. odnotowano pierwszy przypadek bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* z nowym typem oporności MBL – enzymem NDM-1 (New Delhi Metallo- β -lactamase), kodowanym przez gen bla_{NDM-1} , hydrolizującym wszystkie antybiotyki β -laktamowe za wyjątkiem aztreonamu [10, 57, 68]. Warty podkreślenia jest również fakt, iż w chwili obecnej wyróżnia się aż 16 wariantów NDM, przy czym w przeważającej większości wśród drobnoustrojów stwierdza się obecność NDM-1 [45]. NDM-1 to monomer, o masie cząsteczkowej 28 kDa, który w porównaniu z typem VIM-1/VIM-2 wykazuje zaledwie 32,4% podobieństwo. Ponadto NDM-1 mocniej wiąże cefalosporyny niż VIM-2, a w szczególności cefuroksym, cefotaksym i cefalotynę, a także penicyliny oraz co interesujące nie łączy się z karbapenemami tak silnie jak IMP-1 lub VIM-2, a mimo to hydrolizuje je w podobnej ilości [48, 91]. Co więcej, u pałeczek

K. pneumoniae geny bla_{NDM} zlokalizowane są głównie na następujących plazmidach tj. IncA/C, IncF, IncR, IncH, IncN, IncL/M czy IncX [45].

Należy zaznaczyć, że wśród szczepów NDM (+) niejednokrotnie stwierdza się obecność innych determinant oporności na antybiotyki m.in. na aminoglikozydy (16S RNA metylaz), chinolony (Qnr), makrolidy (estery), ryfampicynę, chloramfenikol czy sulfametoksazol [60]. Dla przykładu produkcję karbapenemaz u szczepów *K. pneumoniae* przedstawiono w Tab. I.

Nowy enzym NDM-1 został po raz pierwszy wykryty u bakterii *K. pneumoniae* wyizolowanej z moczu od 59-letniego mężczyzny (Szwecja), hospitalizowanego w Indiach w styczniu 2008 r. [10, 57, 68]. Ponadto u chorego odnotowano nosicielstwo *E. coli* NDM-1 (+) obecnej w kale [10]. Po pierwszym doniesieniu pojawiły się kolejne raporty świadczące o rozprzestrzenianiu szczepów NDM-1 (+) w obrębie różnych gatunków bakterii z rzędu *Enterobacterales* w takich krajach jak: Indie, Pakistan, Bangladesz, wskazując jednocześnie wyżej wymienione państwa, jako pierwotne źródło, z którego szczepy NDM-1 (+) dotarły do państw europejskich, USA, Australii czy krajów afrykańskich [44, 57, 59]. Najprawdopodobniej pierwszą bakterią, która nabyła gen bla_{NDM-1} była pałeczka *Acinetobacter baumannii* [57, 68]. W Polsce pierwszy szczep New Delhi Metallo- β -lactamase pojawił się w sierpniu 2011 r. u *E. coli* wyhodowanej od 53-letniego mężczyzny obywatelstwa polskiego przetransportowanego z Konga na oddział OIOM w Warszawie. Wyizolowany szczep *E. coli* 5428/11 produkował jednocześnie NDM-1, CTX-M-15, TEM-1 oraz OXA-1 i charakteryzował się wrażliwością jedynie na tygocyklinę i kolistynę. Pomimo 12 dniowego leczenia kolistyną, pacjent zmarł w wyniku niewydolności wielonarządowej. Co istotne, w szpitalu nie nastąpiła transmisja *E. coli* MBL (+) na innych chorych z oddziału OIOM [21]. W Polsce kolejne szczepy NDM (+) (*K. pneumoniae* ST11) wyizolowano od 4 pacjentów hospitalizowanych w 2012 r. (listopad-grudzień) w Poznaniu. Co więcej, wyżej wymienieni pacjenci nie podróżowali w 2012 r. [4, 33]. Od roku 2013 w zaskakującym tempie wzrosła liczba szczepów NDM (+) izolowanych w Polsce. W 2013 r. odnotowano 103 przypadki, zaś w 2014 r. – 247. Należy również podkreślić, iż w latach 2012–2014 zaobserwowano dwa główne ogniska epidemiczne w Polsce z epicentrum w Poznaniu (n = 176) i Warszawie (n = 191), przy czym w większości przypadków czynnikiem alarmowym był pandemiczny klon *K. pneumoniae* ST11 [4]. Następnie w roku 2015 odnotowano kolejno 470 szczepów NDM (+), zaś w 2016 r. aż 1771. Podsumowując, łącznie w latach 2011–2016 stwierdzono 2596 przypadków izolacji bakterii z mechanizmem oporności NDM-1. Co więcej, 93,3% tych pacjentów stanowiły osoby hospitali-

zowane, 4,35% to pacjenci ambulatoryjni i zaledwie 2,3% to osoby przebywające w ZOLach, domach opieki czy hospicjach. Ponadto, w 57,3% przypadków stwierdzono nosicielstwo, zaś u 42,7% pacjentów dodatkowo pojawiły się objawy zakażenia. Biorąc pod uwagę wiek pacjentów, aż 65% chorych stanowiły osoby > 65 r.ż. [94]. W 2016 r. w skali kraju największy odsetek izolacji szczepów NDM (+) odnotowano w województwie mazowieckim (n = 1394) i podlaskim (n = 260) [94].

Należy podkreślić, iż w I kwartale 2017 r. w Polsce ogromne zaniepokojenie wzbudziła liczba 785 pacjentów, u których stwierdzono występowanie pałeczek *Enterobacterales*, głównie szczepów *K. pneumoniae* wytwarzających karbapenemazę typu New Delhi. W województwie mazowieckim zarejestrowano odpowiednio n = 545 przypadków, kolejno w województwie podlaskim n = 186, w warmińsko-mazurskim n = 18, zaś w świętokrzyskim n = 10. Ponadto, liczba ośrodków, w których zidentyfikowano bakterie NDM w Warszawie i okolicach wyniosła n = 74, zaś w województwie podlaskim n = 17. Należy zaznaczyć, iż w I kwartale 2017 r., w porównaniu z I kwartałem 2016 r. na terenie całego kraju odnotowano alarmujący wzrost z 310 do 785 (150%) przypadków izolacji bakterii rzędu *Enterobacterales*, głównie *K. pneumoniae* produkujących NDM. Warty podkreślenia, jest również fakt zwiększenia liczby województw, w których stwierdzono bakterie NDM (+) z 8 aż do 13. Najistotniejsze zmiany odnotowano na terenie województwa mazowieckiego, gdzie częstotliwość występowania szczepów produkujących NDM wzrosła z 273 do 545 przypadków, natomiast w województwie podlaskim z 26 do 186. Ponadto, należy uznać, iż na terenie tych województw ma miejsce epidemiczne rozprzestrzenianie bakterii *K. pneumoniae* produkujących NDM. Liczba pacjentów z zakażeniami w I kwartale 2017 r. w województwie mazowieckim wyniosła odpowiednio 384 (n = 193 – I kwartał 2016 r.), podczas gdy w podlaskim 121 (n = 13 – I kwartał 2016 r.). Co więcej, odnotowano również gwałtowny wzrost przypadków izolacji pałeczek *Enterobacterales* wytwarzających NDM w obrębie następujących województw: warmińsko-mazurskiego czy świętokrzyskiego [95]. Z kolei w II kwartale 2017 r. nastąpiło niepokojące nasilenie częstotliwości izolacji bakterii NDM (+) w województwach: pomorskim, dolnośląskim, zachodniopomorskim oraz wielkopolskim. Natomiast w III kwartale w województwie małopolskim [97].

Podsumowując, w pierwszych trzech kwartałach 2017 roku potwierdzono w KORLD rekordową liczbę izolatów NDM (+) w Polsce tj. n = 2512. Ogółem w I kwartale odnotowano n = 991 szczepów produkujących mechanizm NDM, zaś w II i III kwartale odpowiednio n = 1016 i n = 505 przypadków. Przy czym najwyższą częstość występowania pałeczek *Ente-*

Tabela I
Globalne występowanie szczepów *K. pneumoniae* produkujących karbapenemazy

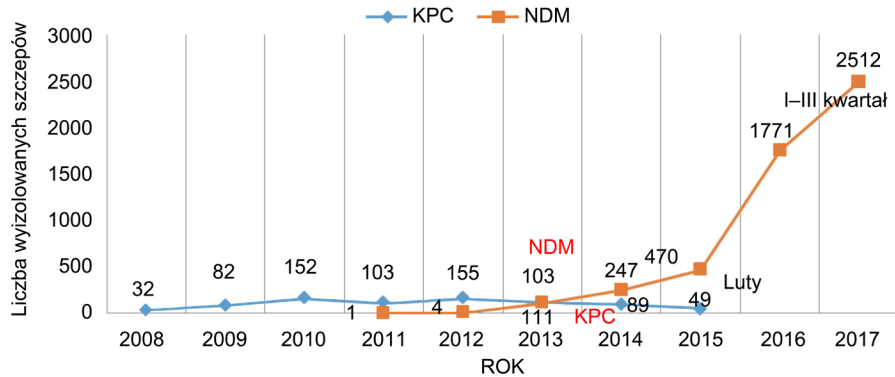
NDM-1 – <i>K. pneumoniae</i>	
Endemiczne występowanie	Indie, Pakistan, Bangladesz
Lista krajów w których wyizolowano szczepy CR – NDM-1	Kanada, USA, Meksyk, Gwatemala, Kolumbia, Brazylia; Hiszpania, Francja, Wielka Brytania, Włochy, Szwajcaria, Grecja, Irlandia, Niemcy, Niderlandy, Republika Czeska, Polska , Węgry, Rumunia, Chorwacja, Norwegia, Szwecja, Finlandia; Maroko, Tunezja, Algieria, Libia, Arabia Saudyjska, Egipt, Kenia, Republika Południowej Afryki, Madagaskar, Mauritius; Oman, Chiny, Korea Południowa, Japonia, Tajwan, Singapur, Rosja, Turcja, Jemen, Sri Lanka, Nepal, Tajlandia; Wietnam, Malezja, Izrael, Irak, Iran; Australia, Nowa Zelandia.
KPC – <i>K. pneumoniae</i>	
Endemiczne występowanie	USA, Kolumbia, Argentyna, Brazylia, Włochy, Grecja, Polska , Izrael, Chiny, Tajwan
Lista krajów w których wyizolowano szczepy CR – KPC	Kanada, Meksyk, Kuba, Urugwaj, Portoryko; Hiszpania, Francja, Belgia, Holandia, Niemcy, Irlandia, Szwecja, Finlandia, Węgry, Portugalia, Austria, Republika Czeska, Dania, Norwegia, Chorwacja; Algieria, Egipt, Republika Południowej Afryki, Rosja, Indie, Korea Południowa, Turcja, Pakistan, Japonia, Iran, Zjednoczone Emiraty Arabskie; Australia.
OXA-48 – <i>K. pneumoniae</i>	
Endemiczne występowanie	Turcja, Maroko, Tunezja, Libia, Egipt, Indie
Lista krajów w których wyizolowano szczepy CR – OXA-48	Kanada, USA, Argentyna; Hiszpania, Francja, Niemcy, Szwajcaria, Belgia, Holandia, Wielka Brytania, Włochy, Irlandia, Polska , Finlandia, Węgry, Rumunia, Bułgaria; Algieria, Senegal, Republika Południowej Afryki, Arabia Saudyjska; Rosja, Oman, Japonia, Sri Lanka, Tajlandia, Singapur, Kuwejt, Liban, Korea Południowa, Izrael, Iran, Zjednoczone Emiraty Arabskie; Australia, Nowa Zelandia.
Współwystępowanie mechanizmów oporności u szczepów <i>K. pneumoniae</i>	
Nazwa kraju	Mechanizmy oporności wykryte u bakterii <i>K. pneumoniae</i>
Brazylia	NDM-1/KPC-2
Malezja	NDM-1/OXA-232
Korea Południowa	NDM-5/OXA-181 oraz NDM-1/OXA-232
Chiny	NDM-1/IMP-4
Indie	NDM-1/OXA-232
Turcja	NDM-1/OXA-48
Pakistan	NDM-1/KPC-2
Szwajcaria	NDM-1/OXA-48
Zjednoczone Emiraty Arabskie	NDM-1/OXA-48
Australia	NDM-1/OXA-48
Maroko	NDM-1/OXA-48
Singapur	NDM-1/OXA-181 oraz NDM-5/OXA-181
USA	NDM-1/OXA-232
Francja	NDM-1/OXA-232

Na podstawie: [7, 37].

robacterales NDM (+) zarejestrowano w Warszawie tj. I kwartał n = 365, II kwartał n = 422, III kwartał n = 137. Z kolei w województwie Mazowieckim (bez Warszawy) w I kwartale liczba bakterii wytwarzających karbapenemazy typu NDM wyniosła odpowiednio n = 353, w II kwartale n = 304 oraz w III kwartale n = 137. Natomiast w województwie podlaskim zidentyfiko-

wano w I kwartale n = 207 bakterii NDM (+), zaś w II i III kwartale kolejno n = 168 i n = 196 szczepów [97].

Z raportu KORDL wynika, iż w Polsce w 2017 r. przeważającą większość pałeczek *Enterobacteriales* NDM (+), stanowiły bakterie *K. pneumoniae* (n = 2291; 91,2%). W zdecydowanie mniejszym odsetku izolowano pozostałe gatunki bakterii Gram-ujemnych



Ryc. 1. Liczba szczepów z rodziny *Enterobacteriales* wykazujących fenotyp NDM, KPC. Dane zebrane w Polsce w latach 2008–2017 [25, 78, 79].

tj. *E. coli* (n = 18; 0,7%), *E. cloacae* (n = 3; 0,1%) czy *C. freundii* (n = 1; 0,03%) [97].

Częstość występowania szczepów produkujących mechanizm NDM w Polsce w latach 2011–2017 przedstawiono na Ryc. 1.

Niewątpliwie, lawinowy wzrost izolacji szczepów wytwarzających metalo- β -laktamazy typu New Delhi w Polsce, oraz coraz częstsze pojawianie się ognisk epidemicznych w różnych regionach kraju, czy wreszcie nowe klony bakterii (np. *K. pneumoniae* – ST147, *E. coli* – ST410, ST448, ST405, ST131) wytwarzające powyższy mechanizm oporności, sprawiły, iż obecnie jest to jeden z największych problemów w dziedzinie lekooporności w naszym kraju [94]. Głównymi producentami NDM (+) są bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae* tj. *K. pneumoniae* i *E. coli* [8, 48]. Niemniej jednak karbapenemazy te wykryto również u następujących bakterii: *K. oxytoca*, *E. cloacae*, *C. freundii*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella* spp., *Providencia* spp. oraz w nieco mniejszym odsetku u *Acinetobacter* spp. czy *P. aeruginosa* [18].

Z europejskich raportów wynika, iż w roku 2013, tylko dwa kraje odnotowały pojedyncze szpitalne ogniska epidemiczne wywołane przez drobnoustroje produkujące mechanizm NDM. Z kolei w 2015 roku, już pięć krajów zgłosiło wystąpienie pojedynczych szpitalnych ognisk epidemicznych wywołanych przez te szczepy, zaś w siedmiu krajach stwierdzono rozprzestrzenienie regionalne i międzyregionalne [2]. Co więcej, dane opublikowane przez Główny Inspektorat Sanitarny wskazują, iż w 2016 r. stwierdzono 35 ognisk epidemicznych wywołanych przez bakterie *K. pneumoniae* wytwarzające NDM. Ponadto w porównaniu z rokiem 2015 nastąpił znaczący wzrost liczby ognisk epidemicznych wywołanych przez te drobnoustroje z 1,9% do 6,6% [25]. Z kolei w 2017 r. zgłoszono 63 ogniska epidemiczne spowodowane przez pałeczki *K. pneumoniae* produkujące NDM (zakażeniu łącznie uległo 557 osób). Ponadto, biorąc pod uwagę procentowy udział poszczególnych czynników etiologicznych ognisk epidemicznych pałeczki *K. pneumoniae* MBL (+) stanowiły 4,97%

izolatów, w tym szczepy wytwarzające karbapenemazy typu NDM 2,57% [26]. Przypadki występowania szczepów *K. pneumoniae* NDM (+) na świecie przedstawiono w Tab. I. Z kolei szczepy *E. coli* NMD (+) wyizolowano m.in. w następujących krajach tj. Indiach, Kanadzie, Kamerunie i Europie (Wielka Brytania, Belgia, Szwecja, Francja, Austria, Norwegia, Niemcy, Polska) [21, 48].

Frapujący przypadek izolacji szczepów z rodziny *Enterobacteriaceae* produkujących karbapenemazy odnotowano u dwóch polskich turystów z ranami postrzałowymi po atakach terrorystycznych w Muzeum Bardo w Tunisie w marcu 2015 roku. Wyżej wymienieni pacjenci zostali przetransportowani do Warszawy po hospitalizacji w Tunezji. U pierwszego z nich wyizolowano bakterie *K. pneumoniae* odporne na karbapenemy. Analiza mikrobiologiczna badanego szczepu wykazała pozytywny wynik testu Carba NP oraz MBL testu fenotypowego z EDTA, jak również oporność na temocylinę, co sugerowało wytwarzanie OXA-48. Niemniej jednak, analiza PCR potwierdziła jedynie obecność genu *bla*_{NDM} w obrębie transpozonu Tn125. Ponadto technika MLST sklasyfikowała badany szczep, jako ST147. Co więcej, u hospitalizowanego pacjenta w momencie przyjęcia jak i pobytu w szpitalu nie wyizolowano innych szczepów produkujących karbapenemazy [36]. W przypadku drugiego pacjenta w wyniku postrzału doszło do poważnego uszkodzenia tkanki podskórnej w obrębie krętarza kości udowej. W momencie przyjęcia pacjenta do szpitala w wymazie z odbytu stwierdzono obecność szczepu *K. pneumoniae* opornego na karbapenemy. Należy zaznaczyć, iż wynik test Carba NP był dodatni, ponadto wykazano oporność na temocylinę, z kolei testy fenotypowe MBL i KPC były ujemne. Metoda PCR oraz sekwencjonowanie potwierdziły obecność genu *bla*_{OXA-48} zlokalizowanego w obrębie transpozonu Tn1999.2. Niemniej jednak 10 dni po przyjęciu pacjenta do szpitala z wymazu z rany wyhodowano szczepy NDM-1 (+) tj. *K. pneumoniae* oraz *E. coli*. Dalsza analiza MLST wykazała, iż wspomniane szczepy *E. coli* należały do ST410, podczas gdy bakterie *K. pneumoniae*

do ST147. Należy podkreślić, iż izolaty *K. pneumoniae* pochodzące od dwóch polskich turystów wytwarzały mechanizm NDM-1 jak również, należały do tego samego typu sekwencyjnego tj. ST147, co wskazuje, iż najprawdopodobniej w obu przypadkach doszło do kolonizacji pacjentów podczas hospitalizacji w Tunezji [36]. Analiza lekowrażliwości wyżej wymienionych szczepów wykazała wielolekooporność, a jedynym skutecznym antybiotykiem była kolistyna. Ponadto, izolaty *K. pneumoniae* okazały się wrażliwe na chloramfenikol. Z kolei w przypadku amikacyny, biorąc pod uwagę wartości MIC badane szczepy zostały zakwalifikowane, jako wrażliwe lub średniowrażliwe [36].

Równie niezwykły przypadek jednoczesnej izolacji od pacjenta kilku szczepów wytwarzających karbapenemazy zarejestrowano w Chinach. 46-letni mężczyzna w czerwcu 2012 r. został przyjęty do szpitala z powodu bólów głowy, nudności, wymiotów i ostatecznie z podejrzeniem zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych. Należy dodać, iż w kolejnych dniach pacjent został przetransportowany do Szanghaju, gdzie podczas 2-miesięcznego pobytu w szpitalu zostały wyizolowane łącznie 34 szczepy bakterii Gram-ujemnych. Co interesujące, zidentyfikowano m.in. gatunek *K. pneumoniae* produkujący KPC-2, następnie *E. coli* NDM-1 (+), *Enterobacter aerogenes* wytwarzający IMP oraz *A. baumannii* OXA-23 (+) [17].

Kolejny godny uwagi przypadek odnotowano w 2015 r. 74-letnia kobieta narodowości duńskiej została przyjęta do szpitala w Indiach, gdzie w trakcie hospitalizacji stwierdzono zawał serca i hipercholesterolemię. Następnie 10 dni później pacjentkę przetransportowano do szpitala w Danii. Co istotne, za pomocą technik MALDI-TOF, PCR i MLST wśród badanych izolatów zidentyfikowano: bakterię *K. pneumoniae* ST147 produkującą NDM-7 i OXA-181, kolejno *E. coli* ST1284 NDM-5 (+) oraz szczepy *A. baumannii* ST2 wytwarzające OXA-23 [30].

2.2 Karbapenemazy klasy A

Karbapenemazy klasy A reprezentowane przez 62 β-laktamazy, zostały podzielone na 6 podtypów tj. IMI/NMC-A enzymy, SME enzymy, GES enzymy, KPC enzymy, SFC-1 i SHV-38. Enzymy KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemases) odgrywają obecnie największą rolę wśród wszystkich karbapenemaz klasy A. Szczepy niosące gen *bla*_{KPC} charakteryzują się opornością na antybiotyki β-laktamowe, jak również posiadają dodatkowo inne mechanizmy, co ostatecznie prowadzi do niepowodzeń terapeutycznych [38]. Głównym producentem karbapenemaz typu KPC jest *K. pneumoniae*, aczkolwiek enzymy te stwierdzono również u innych gatunków bakterii należących do rzędu *Enterobacterales* np. *K. oxytoca*, *E. coli*, *Enterobacter* spp., *C. freundii*,

S. marcescens, *Salmonella enterica*, a nawet u pałeczek niefermentujących glukozy takich jak *P. aeruginosa* czy *P. putida* [27, 57, 72, 78]. Podobnie jak wśród bakterii produkujących inne mechanizmy, tak i tutaj obserwuje się zróżnicowany poziom oporności. Jednakże enzymy KPC, których znanych jest obecnie 22, wykazują najszersze spektrum substratowe spośród opisanych β-laktamaz [57, 58, 78]. Globalne występowanie szczepów *K. pneumoniae* KPC (+) przedstawiono w Tab. I.

Analiza literaturowa wskazuje, iż szczepy *K. pneumoniae* produkujące mechanizm KPC są najczęstszym czynnikiem etiologicznym zakażeń łożyska naczyniowego (52%), kolejno dróg oddechowych (30%) czy układu moczowego (10%) [83]. Z kolei dane uzyskane przez Campos A.C. i wsp. wykazały, iż szczepy *K. pneumoniae* KPC (+) głównie izoluje się z wymazu z odbytu (32%), następnie układu krwionośnego i moczowego (24%), dolnych dróg oddechowych (21%) czy ran pooperacyjnych (10%) [11]. Mechanizm KPC został po raz pierwszy zidentyfikowany u *K. pneumoniae* w 1996 r. w Północnej Karolinie (USA). Szczepy KPC (+) z rzadkością izolowano w Stanach Zjednoczonych do roku 2005, w którym to odkryto kilka ognisk w szpitalach w New York i New Jersey. Od tego czasu doszło do gwałtownego rozprzestrzeniania się tych bakterii w populacji, o czym świadczy izolacja aż > 1 200 szczepów produkujących KPC z próbek krwi w szpitalu w New Yorku w 2012 r. [61].

Warto nadmienić, iż w Izraelu już w roku 2006 stwierdzono zwiększającą się liczbę ognisk epidemicznych w szpitalach, wywołanych głównie przez szczepy *K. pneumoniae* KPC. Średnia liczba nowych przypadków kształtowała się następująco: 2005 r. – 6 przypadków (1,9 przypadków na 100 000 pacjentów); pierwsza połowa 2006 r. – 39,5 przypadków (11,8 przypadków na 100 000 pacjentów); druga połowa 2006 r. – 89 przypadków (27 przypadków na 100 000 pacjentów); pierwszy kwartał 2007 r. – 143 przypadków (41,9 przypadków na 100 000 pacjentów). Co istotne, liczba nowych klinicznych izolacji CRE gwałtownie wzrosła w drugiej połowie 2006 r. zaś w pierwszym kwartale 2007 r., odnotowano szczyt w miesiącu marcu tj. 55,5 przypadków na 100 000 pacjentów. W związku z powyższym Ministerstwo Zdrowia (MZ) w marcu 2007 r. wydało rozporządzenie mające na celu ograniczenie skali tego zjawiska. Specjalnie powołany zespół kontroli zakażeń objął nadzorem 27 Szpitali Opieki Medycznej. Warto podkreślić, iż do dnia 31 marca 2007 r. łącznie u 1275 pacjentów z wspomnianych 27 szpitali (175 przypadków na 1 000 000 ludności) stwierdzano występowanie szczepów wytwarzających karbapenemazy. Przed interwencją MZ miesięczna częstość izolacji bakterii CRE wyniosła odpowiednio 55,5 na 100 000 pacjentów. Dzięki realizacji wytycznych Ministerstwa Zdrowia gwałtowny wzrost liczby ognisk epidemicznych został

zahamowany, a do maja 2008 r. liczba nowych miesięcznych przypadków zmniejszyła się osiągając ostatecznie poziom 11,7 na 100 000 pacjentów ($p < 0,001$). Powyższy efekt został osiągnięty przede wszystkim dzięki przestrzeganiu zaleceń Ministerstwa Zdrowia tj. izolacji pacjentów zakażonych lub skolonizowanych szczepami CRE, oraz wydzieleniu osobnego personelu i sprzętu medycznego, co zapobiegało dalszej transmisji bakterii. Co niezwykle istotne, ogromną rolę odegrały również zespoły kontroli zakażeń, przeprowadzające szereg wizyt nadzorujących stosowanie wyżej wymienionych procedur czy też przestrzeganie obowiązkowych badań laboratoryjnych [77].

W Europie pierwsze szczepy KPC (+) pojawiły w Grecji (Kreta) w 2007 r. gdzie wybuchło ognisko epidemiczne, dotyczące łącznie 22 pacjentów [50]. Z kolei w okresie od stycznia 2007 r. do grudnia 2008 r. stwierdzono kolejne ognisko epidemiczne w szpitalu w Grecji (Ateny) obejmujące łącznie 50 pacjentów skolonizowanych bądź zakażonych bakterią *K. pneumoniae* KPC-2. Ostatecznie śmiertelność wśród pacjentów Oddziału Intensywnej Terapii OIT wyniosła 58,8% ($n = 34$), podczas gdy u pacjentów przebywających na innych oddziałach odpowiednio 37,5% ($n = 16$) [81]. Co więcej, dane literaturowe wskazują, iż w latach 2007–2008 w dwóch kolejnych szpitalach (Kreta, Saloniki) zaobserwowano ognisko epidemiczne wywołane przez bakterie produkujące KPC-2. Analiza przeprowadzona od lutego do grudnia 2008 wykazała, iż w 18 szpitalach w Grecji (Ateny $n = 14$; Kreta $n = 3$; Saloniki $n = 1$) u 173 pacjentów stwierdzono występowanie bakterii CRE tj. *K. pneumoniae* KPC-2 (+) [23].

Analizując kolejno dane uzyskane w projekcie MOSAR (Mastering Hospital Antimicrobial Resistance in Europe) stwierdzono, iż w latach 2008–2011 u pacjentów hospitalizowanych na Oddziałach Intensywnej Terapii lub Rehabilitacji w 18 szpitalach w Europie szczepy *K. pneumoniae* KPC (+) stanowiły największą grupę wśród bakterii produkujących karbapenemazy. Analizując szczegółowo dane wykazano, iż w Grecji dominował klon ST258 (KPC-2), zaś we Włoszech ST512 (KPC-3). Z kolei w Izraelu stwierdzono ogromne zróżnicowanie bakterii *K. pneumoniae* tj. ST512, ST36, ST258, ST383, ST833, ST17 czy ST34 [5].

Ponadto dane uzyskane przez Agodi A. i wsp. wykazały izolację 24 szczepów *K. pneumoniae* od 16 pacjentów hospitalizowanych na Oddziale Intensywnej Terapii w 2009 r. we Włoszech (Katania). Należy podkreślić, iż wszystkie badane szczepy wytwarzały karbapenemazę KPC-3 oraz zostały sklasyfikowane jako ST258. Na oddziale OIT dzięki wdrożonym środkom zapobiegającym oraz ścisłemu monitorowaniu przestrzegania przez personel medyczny zalecanych procedur zażegnano występowanie szczepów CRE nawet pomimo stałego przyjmowania nowych pacjentów. Powyższy fakt

wyraźnie podkreśla, iż zoptymalizowane działania okazują się skuteczne w ograniczeniu rozprzestrzeniania się bakterii opornych na antybiotyki [1].

W naszym kraju (Warszawa) w 2008 r. wyizolowano pierwsze szczepy *K. pneumoniae* KPC (+) od 56-letniego pacjenta (niepodróżującego w ostatnim czasie), przyjętego na Oddział Kardiologiczny z innego Warszawskiego szpitala z zapaleniem płuc o nieustalonej etiologii. Wyizolowane bakterie należały do klonu ST258, produkując jednocześnie KPC i SHV-12 [6, 12]. Kolejno do końca 2008 r. w Polsce wyizolowano 33 szczepy z mechanizmem KPC (*K. pneumoniae* $n = 30$, *K. oxytoca* $n = 3$) od 32 pacjentów w pięciu szpitalach w Warszawie. Od tego momentu nastąpiło szybkie rozprzestrzenianie bakterii w całym kraju. W 2009 r. u 82 pacjentów zidentyfikowano 86 szczepów KPC (+) (*K. pneumoniae* $n = 84$, *E. coli* $n = 2$; w przypadku *E. coli* bakterie wyizolowano od pacjentów jednocześnie skolonizowanych przez *K. pneumoniae*). Analiza molekularna wykazała, że 97,4% szczepów *K. pneumoniae* (2008–2009) należało do klonu ST258 i tylko w sporadycznych przypadkach bakterie sklasyfikowano jako ST11 lub ST23. Z kolei dwa szczepy *E. coli* należały do ST93 i ST224 i najprawdopodobniej nabyły geny bla_{KPC} od *K. pneumoniae*. W 2010 r. zidentyfikowano aż 153 bakterii (w większości *K. pneumoniae*, raz *E. coli*) produkujących mechanizm KPC, z czego większość izolatów pochodziła z Mazowsza ($n = 126$ bakterii z 32 ośrodków). Szczepy KPC (+) pojawiły się również w tym czasie w województwie świętokrzyskim (kwiecień 2010 r. – luty 2011 r.) zarówno w ośrodkach leczniczych jak i domach opieki społecznej. Dzięki realizacji krajowych wytycznych dotyczących kontroli zakażeń w 2011 r. doszło do zmniejszenia całkowitej liczby izolacji szczepów KPC (+), która ostatecznie wyniosła 104. W marcu 2011 r. zaobserwowano nowe zagrożenie w województwie podlaskim, gdzie do końca roku wyizolowano 29 szczepów z 10 szpitali, głównie w Białymstoku [12, 96]. Podsumowując w latach 2008–2011 szczepy KPC wyizolowano od 371 pacjentów, z co najmniej 58 szpitali w 34 lokalizacjach, ponadto zaobserwowano 3 regionalne ogniska epidemiczne z epicentrum w Warszawie i Białymstoku. W naszym kraju najwięcej przypadków szczepów z mechanizmem KPC pojawiło się w ośrodkach w Warszawie oraz innych miastach województwa mazowieckiego. Należy jednak zaznaczyć, że zarejestrowane przypadki dotyczyły również pacjentów przychodni, stacji dializ czy osób przebywających w domach opieki społecznej. Z raportów z 2012 r. wynika, iż w czterech regionach kraju odnotowano ogniska epidemiczne zakażeń *K. pneumoniae* KPC (+), dla porównania w 2013 r. zarejestrowano 5 ognisk [33]. Podsumowując w latach 2010–2014 łącznie od 608 pacjentów wyizolowano szczepy KPC (+). W przeważającej większości wyżej wymie-

nieni pacjenci byli hospitalizowani w województwie mazowieckim, w nieco mniejszym odsetku w województwie lubelskim, śląskim, podlaskim czy świętokrzyskim. Co więcej, w 21 przypadkach chorzy pochodzili z innych regionów Polski m.in. Olsztyna, Łodzi czy Krakowa. Ponadto, nosicielstwo szczepów KPC (+) odnotowano u 209 pacjentów, z kolei u 399 pojawiły się objawy zakażenia tj. układu moczowego (51,6%), układu oddechowego (21,6%), skóry i tkanek miękkich (15,0%), krwi i łożyska naczyniowego (10,1%) oraz tzw. wewnątrzbrzusznych infekcji (1,7%) [7]. Analiza genetyczna wykazała, iż w latach 2008–2009 ogniska epidemiczne w Warszawie i okolicach zostały spowodowane przez szczep *K. pneumoniae* ST258 wytwarzający mechanizm KPC-2. Co istotne, w innych regionach Polski zakażenia wywołane zostały przez *K. pneumoniae* ST258 lub ST512, KPC-3 (+). Ponadto, w szpitalach w Warszawie mechanizm KPC-2 zidentyfikowano również u *C. freundii* ST17 i *E. cloacae* ST254 [7].

Warto nadmienić, iż w 2010 r. opisano przypadek izolacji 4 szczepów *K. pneumoniae* produkujących jednocześnie karbapenemazę KPC i 16S rRNA metylazę ArmA. Był to pierwszy raport występowania tych szczepów w Polsce, jak również w Europie. Wyizolowane bakterie niosły geny *bla*_{KPC-2} i *armA* na 50-kb i 90-kb plazmidach. Naukowcy sugerują, że jednoczesna produkcja KPC-2 i 16S rRNA metylazy ArmA to nowa strategia umożliwiająca *K. pneumoniae* przetrwanie w warunkach szpitalnych nawet pomimo zastosowania w terapii aminoglikozydów i karbapenemów [92]. Należy zaznaczyć, iż w lutym 2014 r. zidentyfikowano po raz pierwszy w Polsce szczep *E. coli* ST479 wytwarzający mechanizm KPC-3. Badany izolat charakteryzował się opornością na trimetoprim/sulfametoksazol, ciprofloksacynę, z zachowaniem wrażliwości na kolistynę i tygecyklinę. Z kolei w przypadku aminoglikozydów (gentamycyna) odnotowano średniowrażliwość [62]. Występowanie szczepów rzędu *Enterobacterales* produkujących KPC w Polsce przedstawiono na Ryc. 1.

W chwili obecnej w naszym kraju drobnoustroje wytwarzające karbapenemazy typu KPC wzbudzają ogromny niepokój, przede wszystkim, dlatego, że brak jest antybiotyków o udowodnionej skuteczności w terapii zakażeń wywołanych przez te szczepy, dodatkowo bakterie oprócz tego mechanizmu często produkują inne β-laktamazy m.in. ESBL oraz są wielolekooporne. Z reguły poza antybiotykami β-laktamowymi bakterie KPC (+) są niewrażliwe na większość aminoglikozydów, fluorochinolonów, tetracykliny czy kotrimoksazol. Co więcej, geny kodujące karbapenemazy KPC zlokalizowane są na głównie plazmidach, dzięki czemu z łatwością przenoszą się z jednej bakterii na kolejną należącą do tego samego lub różnych gatunków [31, 34]. Najlepiej poznanym klonem KPC (+) jest *K. pneumoniae* ST258 posiadająca tzw. podwyższony potencjał

epidemiczny. Szczep ten pojawił się najpierw w USA, a następnie w Izraelu, Grecji, a w chwili obecnej został zidentyfikowany w większości krajów świata, w tym również w Polsce, gdzie jest to klon dominujący [31, 56]. Zakażenia wywołane przez bakterie KPC (+) obciążone są dużą śmiertelnością, w przypadku *K. pneumoniae* wynosi ona nawet 50% [31, 34].

2.3 Karbapenemazy klasy D (OXA)

Karbapenemazy klasy D określane, jako oksacyliny (OXA) na podstawie sekwencji aminokwasowej zostały podzielone na 12 podgrup tj. OXA-23, OXA-24/40, OXA-48, OXA-51, OXA-58, OXA-134a, OXA-143, OXA-211, OXA-213, OXA-214, OXA-229 i OXA-235. Przy czym u bakterii *K. pneumoniae* zidentyfikowano zaledwie kilka z nich tj. OXA-23, OXA-48, OXA-51 i OXA-58. Należy zaznaczyć, że OXA-48 to najbardziej rozpowszechniona karbapenemaza klasy D. U 92,5% szczepów izolowanych w Europie, jak również w Północnej Afryce gen *bla*_{OXA-48} zlokalizowany jest na IncL/M, niemniej jednak odnotowano również przypadki obecności tego genu w obrębie IncA/C, IncH czy Tn1999. Co więcej, w chwili obecnej wyróżnia się aż 10 wariantów tego genu [45].

Głównym producentem OXA-48 jest gatunek *K. pneumoniae*, niemniej jednak u większości bakterii rzędu *Enterobacterales* stwierdzono wytwarzane tego typu karbapenemazy. Należy nadmienić, iż w analizie molekularna oraz epidemiologiczna przeprowadzona w Niemczech, wykazała horyzontalny transfer genu *bla*_{OXA-48} pomiędzy *K. pneumoniae* a *E. coli*. Ponadto oprócz pałeczek okrężnicy enzymy OXA-48 zidentyfikowano m.in. u następujących bakterii tj. *K. oxytoca*, *Enterobacter* spp., *Providencia rettgeri*, *C. freundii* czy *S. marcescens* [45]. Mechanizm OXA-48 został po raz pierwszy wykryty u szczepu *K. pneumoniae* w 2003 r. w Turcji. Od tego roku endemiczne występowanie pałeczek produkujących OXA-48 stwierdzono m.in. w takich krajach jak: Turcja, Maroko, Libia, Egipt, Tunezja czy Indie [45]. Należy zaznaczyć, iż w niektórych krajach Europy odsetek występowania szczepów wytwarzających OXA-48 jest równie wysoki. Dla przykładu dane pochodzące z Hiszpanii (2013 r.) i Francji (2011–2012 r.) wskazują na 74,7% i 78% częstość występowania tego mechanizmu u szczepów produkujących karbapenemazy [45, 64, 74]. Ponadto, wyniki uzyskane w Hiszpanii (2013 r.) z 83 szpitali wskazują, iż *K. pneumoniae*, aż w 63% wytwarzała mechanizm OXA-48. Co więcej, w okresie 2013–2015 w Hospital Universitario de Canarias odnotowano 267 przypadków nosicielstwa bakterii produkujących karbapenemazy klasy D. Z kolei u 100 pacjentów (116 epizodów) wyizolowano szczepy OXA-48 (+) z następujących materiałów klinicznych, tj. w 43,42% przypadków z próbek pochodzących

z zakażeń układu moczowego, kolejno z miejsca operowanego (17,17%) czy krwi (17,0%) [47]. Należy podkreślić, iż m.in. w takich krajach UE jak: Hiszpania, Francja, Wielka Brytania czy Niemcy zarejestrowano ogniska szpitalne wywołane przez bakterie OXA-48 (+) [7]. Listę krajów, w których wyizolowano szczepy *K. pneumoniae* OXA-48 (+) przedstawiono w Tabeli I.

Podsumowując, z europejskiego raportu ECDC wynika, iż w 2013 roku, tylko w jednym kraju europejskim tj. na Malcie raportowano endemiczną sytuację występowania szczepów produkujących OXA-48, podczas gdy w 2015 roku już dwa kraje (Malta, Turcja) zarejestrowały wystąpienie sytuacji endemicznej, a cztery kraje zgłosiły międzyregionalne rozprzestrzenienie (Hiszpania, Francja, Belgia, Rumunia) [2].

W ostatnich latach w Polsce odnotowano pierwsze przypadki pojawiania się pałeczek *Enterobacteriales* wytwarzających karbapenemazę OXA-48. W 2012 r. w Białymstoku zidentyfikowano po raz pierwszy szczep *E. cloacae* ST89 produkujący karbapenemazę OXA-48 u 76 letniego pacjenta, po przebytej operacji kardiologicznej tj. pomostowaniu tętnicy wieńcowej oraz plastyki zastawki mitralnej i trójdzielnej. Po zabiegu operacyjnym pacjent został przeniesiony na Oddział Intensywnej Terapii, gdzie w 38 dobie zmarł na skutek dekompensacji serca, zaburzeń krzepnięcia, niewydolności wielonarządowej i ostatecznie zatrzymania krążenia. Należy podkreślić, iż pierwsze szczepy *E. cloacae* odporne na karbapenemy wyizolowano od pacjenta w 24 dobie po operacji z materiałów takich jak: krew czy wydzielina oskrzelowa. Co więcej, bakterie *E. cloacae* wykazywały oporność także na inne antybiotyki tj. tygocyklinę i kolistynę. Analiza mikrobiologiczna obejmująca Test Carba NP potwierdziła, iż badane izolaty wytwarzały karbapenemazę, kolejno za pomocą metody PCR stwierdzono produkcję mechanizmu OXA-48, zaś analiza MLST wykazała, że szczepy MDR *E. cloacae* należały do ST89 [49].

Z kolei na podstawie danych uzyskanych przez Izdebski R. i wsp. w latach 2013 – styczeń 2017 stwierdzono izolację 54 szczepów produkujących karbapenemazy klasy D od 52 pacjentów z różnych miast Polski (Biała Podlaska, Bochnia, Bydgoszcz, Ełk, Grodzisk Mazowiecki, Kielce, Kraków, Poznań, Siemianowice Śląskie, Słupsk, Sosnowiec, Szczecin, Warszawa). Dodatkowo u 14 pacjentów odnotowano informację o wcześniejszym pobycie za granicami kraju, przy czym w dwóch przypadkach u członków ich rodzin. Co więcej, u 34 pacjentów ostatecznie rozwinęło się zakażenie, podczas gdy u 18 wykazano jedynie kolonizację. Wyizolowane szczepy były niezwykle zróżnicowane genetycznie i reprezentowały następujące gatunki tj. *K. pneumoniae* (n=37), gdzie dominował ST395, kolejno ST11, ST15 i ST101; *E. coli* (n=14) ST38, ST410, ST648; *E. cloacae* (n=1) ST78; *C. freundii* (n=1) ST124

i *E. aerogenes* (n=1). Wyżej wymienione bakterie produkowały OXA-48 (n=49), OXA-181 (n=4) i OXA-232 (n=1). Geny *bla*_{OXA-48} zlokalizowane były głównie w obrębie Tn1999.1 (n=29) oraz Tn1999.2 (n=15). Należy również dodać, iż u 43 izolatów geny *bla*_{OXA-48/181} umiejscowione były w obrębie plazmidów, podczas gdy u 11 szczepów *E. coli* ST38 i ST648 i jednego *K. pneumoniae* ST336 *bla*_{OXA-48} na chromosomie [35].

Należy podkreślić, iż gen *bla*_{OXA-48} najczęściej identyfikuje się u klonu *K. pneumoniae* ST11, izolowanego w wielu krajach świata w tym m.in. Hiszpanii, Grecji, Tajwanie, Libii, Turcji czy Argentynie. Ponadto, w Hiszpanii w 2013 r. wybuchło ognisko epidemiczne obejmujące 44 pacjentów wywołane przez *K. pneumoniae* ST11 OXA-48 (+). Należy dodać, iż u następujących klonów tj. ST14, ST15, ST101, ST147 i ST405 również wykryto gen *bla*_{OXA-48} m.in. w takich krajach jak: USA, Hiszpania, Czechy, Niemcy, Finlandia, Francja, Indie, Libia czy Japonia [45].

Substytucja bądź też delecja pojedynczych aminokwasów doprowadziła do utworzenia grupy pochodnych OXA-48, do których zalicza się m.in. OXA-181, OXA-204, OXA-232, OXA-163, OXA-244 bądź OXA-245. Dla przykładu, OXA-181 rozpowszechniony jest w wielu krajach świata tj. Wielkiej Brytanii, Rumunii, Kanadzie, Singapurze, Południowej Korei, Japonii, Australii czy Nowej Zelandii. Niemniej jednak, większość zakażeń odnotowano w Indiach. Z kolei mechanizmy OXA-204 i OXA-163 zidentyfikowano m.in. w Tunezji, Francji i Argentynie, podczas gdy OXA-244 i OXA-245 w Hiszpanii. Co więcej, szczepy *K. pneumoniae* produkujące OXA-232 odnotowano w USA, Singapurze, Indiach czy Południowej Korei [45].

Należy zaznaczyć, iż w chwili obecnej wykryto także inne karbapenemazy klasy D tj. OXA-23, OXA-24/40, OXA-51, OXA-58, OXA-134a, OXA-143, OXA-211, OXA-213, OXA-214, OXA-229 i OXA-235 głównie u bakterii z rodzaju *Acinetobacter* a zwłaszcza *A. baumannii*, podczas gdy nie wykryto ich u gatunku *K. pneumoniae* [45].

3. Przegląd antybiotyków stosowanych w leczeniu zakażeń wywołanych przez szczepy odporne na karbapenemy

Bakterie Gram-ujemne produkujące karbapenemazy typu KPC, MBL bądź OXA-48, są wielolekooporne (MDR) a jedynymi skutecznymi antybiotykami tzw. ostatniej szansy w leczeniu zakażeń wywołanych przez te drobnoustroje są: polimyksyna B, kolistyna (polimyksyna E), fosfomycyna, tygocyklina i niekiedy wybrane aminoglikozydy [27, 45].

Aktualną lekowrażliwość szczepów CR na kolistynę, tygocyklinę, aminoglikozydy bądź fosfomycynę przedstawiono w Tabeli II.

Tabela II
Aktualna lekowrażliwość szczepów *Enterobacterales* opornych na karbapenemy

Liczba porządkowa/ Okres prowadzonych badań	Mechanizm oporności		Liczba przebadanych szczepów (n)	Odsetek szczepów opornych lub średniowrażliwych				Źródło
				Kolistyna	Tygecyklina	Aminoglikozydy	Fosfomycyna	
1. 2013–2014	<i>K. pneumoniae</i> – KPC		51	7,4% (n=4)	bd	Amikacyna, gentamycyna – 74,5% (n=38)	90,2% (n=46)	13
	<i>E. coli</i> – VIM-1		6	0%	bd	0%	0%	
2. 2013–2014	<i>K. pneumoniae</i> KPC (n=178), VIM (n=3) NDM (n=1)		187	43% (n=76)	6% (n=11)	Gentamycyna – 29 (n=16)	bd	45
3. 2010–2013	CRE <i>K. pneumoniae</i> (n=242) <i>E. cloacae</i> (n=22)		280	26,1% (n=73)	11,8% (n=33)	Amikacyna – 78,6% (n=220) Gentamycyna – 38,3% (n=107)	bd	65
4. 2015	CRE – <i>E. coli</i>		224	0%	2,2% (n=5)	Amikacyna – 37,5% (n=84) Gentamycyna – 46% (n=103)	bd	34
	CRE – <i>K. pneumoniae</i>		150	2% (n=3)	4,7% (n=7)	Amikacyna – 44,7% (n=67) Gentamycyna – 58,3% (n=88)	bd	
5. 2008–2013	Enterobacterales – NDM <i>Klebsiella</i> spp. (n=180), <i>E. coli</i> (n=80)		306	10% (n=31)	40% (n=122)	Amikacyna – 78% (n=239) Gentamycyna – 90% (n=275)	bd	29
6. 2012–2014	Enterobacterales – NDM Głównie <i>K. pneumoniae</i>		72	13,9% (n=10)	38,9% (n=28)	Amikacyna – 62,5% (n=45)	bd	33
	Enterobacterales – VIM Głównie <i>K. pneumoniae</i>		64	29,7% (n=19)	39,1% (n=25)	Amikacyna – 40,6% (n=26)	bd	
7. 2010–2012	<i>K. pneumoniae</i> VIM-1 (n=79); KPC-2 (n=22); OXA-48 (n=4); IMP-22 (n=1)		106	26,4% (n=28)	47,2% (n=50)	Amikacyna – 25,5% (n=27) Gentamycyna – 52,9% (n=56)	28,3% (n=30)	64
8. 2012–2014	<i>E. coli</i> OXA-48 (n=87); VIM-1 (n=27); KPC-2 (n=4); NDM (n=2); IMP-22 (n=1)		121	0%	0%	Amikacyna – 2,5% (n=3) Gentamycyna – 25,6% (n=31)	7,4% (n=9)	54
9. 2015	<i>K. pneumoniae</i> – KPC-2		24	8% (n=2)	0%	Amikacyna – 100% (n=24)	bd	31
	<i>K. pneumoniae</i> – OXA-232		45	11% (n=5)	22% (n=10)	Amikacyna – 84% (n=38)	bd	
10. 2006–2011	<i>K. pneumoniae</i>		103	13,16% (n=5)	0,97% (n=1)	Amikacyna – 16,51% (n=17) Gentamycyna – 22,3% (n=23)	bd	43
	CRE-KPC MBL	<i>E. cloacae</i>	85	0%	0%	Amikacyna – 69,42% (n=58) Gentamycyna – 84,0% (n=71)	bd	

Objaśnienie skrótów: bd – brak danych.

Z kolei skuteczność terapii skojarzonej vs. monoterapii wyrażonej jako odsetek śmiertelności w leczeniu zakażeń wywołanych przez szczepy CR przedstawiono w Tab. III.

Co interesujące, w 2015 r. w Hiszpanii, wyizolowano szczep XDR (Extensively Drug Resistance) *K. pneumoniae* od 36-letniej pacjentki z sepsą i immunosupresją. Warto wspomnieć, iż u pacjentki zdiagnozowano Myeloid sarcoma, a następnie zastosowano chemioterapię oraz allogeniczny przeszczep komórek macierzystych. Badany szczep *K. pneumoniae* niosący następujące geny oporności na antybiotyki tj. bla_{KPC-3} , bla_{TEM-1} , bla_{SHV-11} i $aac(6')-Ib-cr$, charakteryzował się wrażliwością jedynie na kolistynę i gentamycynę, niemniej jednak ze względu na wysokie ryzyko nefrotoksyczności odstąpiono od terapii tymi antybiotykami. Ponadto, brak alternatywnych schematów wymusił konieczność zastosowania karbapenemów. Przeprowadzone badania wykazały bowiem, efekt synergistyczny ertapenemu z meropenemem. Co najważniejsze, terapia z użyciem tej grupy antybiotyków β -laktamowych zakończyła się sukcesem terapeutycznym [67].

Na uwagę zasługuje również fakt, iż w kwietniu 2014 r. w Zjednoczonych Emiratach Arabskich z moczu 87 letniego mężczyzny wyizolowano szczep

„pundrug” PDR (Pandrug-Resistance) *K. pneumoniae* MS6671, charakteryzujący się opornością na wszystkie testowane antybiotyki/chemioterapeutyki tj. antybiotyki β -laktamowe, aminoglikozydy (MIC > 256 mg/L), ciprofloksacynę (MIC > 32 mg/L), kolistynę (MIC – 128 mg/L), tetracykliny (MIC – 32 mg/L), tygecyklinę (MIC – 4 mg/L), trimetoprim/sulfametoksazol (MIC – 8 mg/L), fosfomycynę (MIC – 64 mg/L) i chloramfenikol (MIC – 128 mg/L). Oporność na karbapenemy powiązana była z obecnością genów tj. $bla_{OXA-181}$, $ompK36$, kolejno oporność na kolistynę spowodowana była inaktywacją $mgrB$. Ponadto nieskuteczność tygecykliny wywołana została mutacją w $ramR$, co skutkowało zwiększeniem ekspresji $acrAB$, zaś oporność na fosfomycynę spowodowana była obecnością genu $fosA$ [93].

3.1. Kolistyna

Kolistyna została odkryta ponad 60 lat temu. Początkowo jednak, ze względu na skutki uboczne tj. nefro- i neurotoksyczność, nie była powszechnie stosowana. Niemniej jednak, narastająca oporność na karbapenemy sprawiła, iż chwili obecnej rekomendowana jest w leczeniu ciężkich zakażeń wywołanych przez szczepy CRE [45, 71]. Mechanizm działania kolistyny

Tabela III

Skuteczność terapii skojarzonej vs. monoterapii w leczeniu zakażeń wywołanych przez szczepy *K. pneumoniae* produkujące karbapenemazy

Liczba porządkowa/ Drobnoustrój/ Mechanizm oporności	Rodzaj zakażenia/ Okres prowadzonych badań/ Rodzaj prowadzonych badań	Śmiertelność % (n) – liczba pacjentów, którzy nie przeżyli/liczba pacjentów, którzy otrzymali daną terapię		Źródło
		Terapia skojarzona	Monoterapia	
1. <i>K. pneumoniae</i> KPC-3, SHV-11 i TEM-1	Zakażenia krwi-sepsa/2012–2013/ Retrospektywne	TG+GN: 23,8% (n = 5/21)	TG: 37,5% (n = 3/8) GN: 12,5% (n = 1/8)	23
2. <i>K. pneumoniae</i> KPC-3, VIM, CTX-M-15	ZUM, zakażenia krwi, układu oddechowego, skóry i tkanek miękkich, zakażenia w obrębie jamy brzusznej/2010–2011/ Prospektywne	CL+TGC: 25% (n = 4/16) CL+GN: 40% (n = 2/5) CL+FOS: 0% (n = 0/5) TGC+FOS: 33% (n = 2/6)	GN: 6,3% (n = 1/16) CL: 40% (n = 4/10)	11
3. <i>K. pneumoniae</i> KPC-3, KPC-2	Zakażenia krwi/2010–2011/ Retrospektywne	TGC+CL: 30% (n = 7/23) TGC+GN: 50% (n = 6/12) TGC+CL+MEM: 13% (n = 2/16) TGC+GN+MEM: 17% (n = 1/6)	TGC: 53% (n = 10/19) CL: 50% (n = 11/22) GN: 80% (n = 4/5)	72
4. <i>K. pneumoniae</i> CR	Zakażenia krwi-sepsa/2012–2014/ Retrospektywne	FOS+MEM: 6% (n = 1/16) TGC+MEM: 25% (n = 1/4) GN+MEM: 0% (n = 0/2) FOS+MEM+TGC/MIN/AN: 12,5% (n = 1/8)	MEM: 43% (n = 3/7) IPM: 0% (n = 0/1) TGC: 0% (n = 0/1) AMG: 20% (n = 1/5)	38
5. <i>K. pneumoniae</i> KPC, KPC-3, KPC-2	Zakażenia krwi, ZUM, zakażenia układu oddechowego, zakażenia w obrębie jamy brzusznej 2010–2013/Retrospektywne	CL-R 42,6% (n = 23/54) TGC-R 33,5% (n = 51/152) GN-R 39,8% (n = 47/118) MEM MIC ≤ 8 mg/L 32,5% (n = 79/243) MEM MIC ≤ 8 mg 34,9% (n = 146/418)	50% (n = 39/78) 31,9% (n = 29/91) 36,2% (n = 25/69) 27,9% (n = 43/154) 32,0% (n = 64/200)/	73

Objaśnienia skrótów: ZUM – zakażenia układu moczowego, TGC – tygecyklina, GN – gentamycyna, CL – kolistyna, FOS – fosfomycyna, MEM – meropenem, MI – minocyklina, AN – amikacyna, IPM – imipenem, AMG – aminoglikozydy, R – oporność, MIC – Minimal Inhibitory Concentration, minimalne stężenie hamujące wzrost drobnoustrojów.

polega na przyłączaniu się do ujemnie naładowanych grup fosforanowych lipidu A, będącego składową lipopolisacharydu (LPS), co skutkuje utratą integralności błony komórkowej i ostatecznie prowadzi do śmierci komórki. Oporność na kolistynę spowodowana jest głównie modyfikacją cząsteczki LPS poprzez przyłączenie L-Ara4-N i PEtN, co skutkuje zmniejszeniem ładunku ujemnego błony zewnętrznej i ograniczeniem wiązania się kolistyny. Zmiany te wywołane są głównie mutacjami w obrębie genów komponentów systemów regulacyjnych tj. *mgrB*, *phoP/phoQ*, *pmrA*, *pmrB*, *pmrC* bądź *crrABC* [45, 71]. W szczególności inaktywacja genu *mgrB*, kodującego negatywne sprzężenie zwrotne systemu regulacyjnego PhoQ/PhoP, to najczęstsza przyczyna oporności na kolistynę wśród szczepów *K. pneumoniae*. Ponadto, najnowsze badania wykazały, iż zamiana pojedynczego aminokwasu w białku PmrB prowadzi do nadekspresji operonów *pmrCAB* i *pmrHFIJKLM*, które biorą udział w modyfikacjach LPS, co ostatecznie prowadzi do oporności na polimiksynę. Co więcej, w ostatnim czasie zidentyfikowano nowy plazmid tzw. Plasmid Mediated Colistin Resistance niosący gen *mcr-1*, który koduje transferazę fosfoetanolaminy, katalizującą przyłączanie fosfoetanolaminy do lipidu A, co okazało się być jedną z przyczyn oporności na kolistynę u bakterii *K. pneumoniae* jak i *E. coli* [45]. W lipcu 2016 r. w Belgii odkryto nowy gen *mcr-2*, wykazujący 76,7% nukleotydowe podobieństwo z *mcr-1*. Nowo poznany gen *mcr-2* zlokalizowany był na plazmidzie IncX4 szczepów *E. coli* ST10 i ST167, u których jednocześnie nie stwierdzano obecności *mcr-1* [70]. Dane literaturowe wskazują, iż 28- i 30-dniowa śmiertelność pacjentów z zakażeniem szczepami CRE (n=221) była istotnie statystycznie niższa w przypadku zastosowania terapii skojarzonej polimiksyn w porównaniu z monoterapią (OR – Odds ratio = 0,36; 95% CI – Confidence interval = 0,19–0,68; $p < 0,01$) [55].

We Włoszech, czyli miejscu endemicznego występowania *K. pneumoniae* produkujących KPC(+) stwierdzono gwałtowny wzrost oporności na kolistynę w ostatnich latach z 12% (2011 r.) do 65% (2012 r.). Ponadto, dane pochodzące z 21 szpitalnych laboratoriów wskazują, iż w okresie 2013–2014 odsetek szczepów opornych na kolistynę stanowił aż 43% [45, 88]. Co więcej, inne wielośrodkowe badania przeprowadzone w tym kraju wykazały, iż oporność na kolistynę u bakterii *K. pneumoniae* KPC (+) będących czynnikiem etiologicznym zakażeń krwi wzrosła ponad 3-krotnie, a tzw. 30-dniowa śmiertelność u tych pacjentów wyniosła aż 51% [22].

Ponadto, dane pochodzące z Holandii wskazują, iż bakterie *K. pneumoniae* ST258 KPC (+) izolowane z ogniska epidemicznego w 2013 r. charakteryzowały się aż 100% opornością na kolistynę [45, 90].

3.2. Fosfomycyna

Ze względu na narastającą oporność bakterii na antybiotyki, fosfomycyna stosowana głównie doustnie w leczeniu niepowikłanych zakażeń układu moczowego, w chwili obecnej zyskała ogromnie na znaczeniu i rekomendowana jest w terapii zakażeń wywołanych przez szczepy CRE w formie i.v. [20].

Fosfomycyna to antybiotyk odkryty w 1969 r. o szerokim spektrum, którego mechanizm działania polega na hamowaniu pierwszego etapu syntezy ściany komórkowej, poprzez inaktywację transferazy UDP-N-acetyloglukozamino-3-enolopirogronianu, zwanej również, jako MurA [45]. Oporność na fosfomycynę powiązana jest z genem *fosA* kodującym transferazę glutationu, modyfikującą ten antybiotyk. Gen *fosA3* został po raz pierwszy opisany u szczepu *E. coli* produkującego CTX-M w Japonii. Należy podkreślić, iż w chwili obecnej wyróżnia się nowe podtypy wspomnianego genu tj. *fosA2*, *fosA3*, *fosA4* czy *fosA5* [20, 45]. Z kolei u bakterii Gram-dodatnich np. *Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp. czy *Bacillus subtilis* opisano enzym FosB o 48% podobieństwie w sekwencji aminokwasowej z FosA, katalizującym reakcję pomiędzy cysteiną a fosfomycyną [20].

W Chinach, częstość występowaniu genu *fosA3* u pałeczek *K. pneumoniae* KPC (+) opornych na fosfomycynę wyniosła odpowiednio 55,6%. Należy podkreślić, iż to właśnie w tym kraju raportuje się wysoki odsetek oporności na ten antybiotyk. Badania przeprowadzone w jednym ze szpitali wykazały, iż zaledwie 43,4% szczepów *K. pneumoniae* produkujących karbapenemazę typu KPC było wrażliwych na fosfomycynę. Co więcej, zbliżony odsetek wrażliwości na ten antybiotyk tj. 39,2% odnotowano w 12 innych szpitalach w tym kraju [45]. Z kolei dane pochodzące z Europy (Włochy) wskazują aż 90,2% oporność na fosfomycynę wśród szczepów *K. pneumoniae* produkujących karbapenemazy [15].

W leczeniu zakażeń wywołanych przez bakterie *K. pneumoniae* odporne na karbapenemy odnotowano efekt synergistyczny fosfomycyny z karbapenemami (70%), kolistyną (36%) bądź tygocykliną (30%). Natomiast w terapii zakażeń, gdzie czynnikiem etiologicznym są szczepy produkujące OXA-48, dane literaturowe wskazują na antagonizm pomiędzy fosfomycyną a kolistyną [20].

3.3. Tygocyklina

Tygocyklina to antybiotyk sklasyfikowany do glicylcyklin, którego mechanizm działania polega na hamowaniu syntezy białek poprzez wpływ na interakcję aminoacylo-tRNA z miejscem A rybosomu [45, 76].

Nadprodukcja pomp efflux tj. AcrAB, jak również nadekspresja RamA, czyli pozytywnych regulatorów

AcrAB systemu efflux, jest jedną z głównych przyczyn zmniejszonej wrażliwości bakterii *K. pneumoniae* na tygecyklinę. Należy dodać, iż ostatecznie badania przeprowadzone w Chinach wskazują, iż pompy efflux OqxAB, również odgrywają istotną rolę w narastaniu oporności na ten antybiotyk [45].

Analizując lekowrażliwość na tygecyklinę należy zaznaczyć, iż w Grecji, w latach 2004–2010, aż 11,3% ($n=34/301$) szczepów produkujących karbapenemazę typu KPC było opornych na tygecyklinę. Z kolei, dane pochodzące z lat 2013–2014 ze szpitalnych laboratoriów we Włoszech wykazały, iż szczepy *K. pneumoniae* wytwarzające karbapenemazy charakteryzowały się 6,0% opornością na tygecyklinę [45]. Jeszcze wyższą skuteczność odnotowano w 2015 r. w Indiach, gdzie zaledwie 2,2% szczepów *E. coli* oraz 4,7% bakterii *K. pneumoniae* było opornych na ten antybiotyk [42]. Ponadto, stwierdzono istotnie statystycznie niższy wskaźnik 30-dniowej śmiertelności u pacjentów zakażonych szczepami CR w przypadku zastosowania terapii skojarzonej tygecykliny w porównaniu z monoterapią (OR = 1,83; 95% CI = 1,07–3,12; $p=0,03$) [56].

3.4. Aminoglikozydy

Ze względu na fakt, iż szczepy odporne na karbapenemy niekiedy wykazują wrażliwość na aminoglikozydy, jest to grupa antybiotyków zalecana w mono- bądź też terapii skojarzonej do leczenia zakażeń wywołanych przez bakterie produkujące KPC, NDM lub OXA-48. W ostatnim czasie wykazano również, iż terapia gentamycyną bądź też w skojarzeniu z tygecykliną zmniejsza odsetek śmiertelności (20,7% vs. 61,9%) u pacjentów z sepsą wywołaną przez klon *K. pneumoniae* ST512 wytwarzający następujące mechanizmy oporności tj. KPC-3, SHV-11 i TEM-1 [28, 45]. Oporność na aminoglikozydy może być powiązana z genem *rmtB*, będącym 16s rRNA metylazą, zlokalizowanym na następujących plazmidach tj. IncF, IncA/C, IncK bądź IncN. Dane otrzymane w latach 2012–2014 w Chinach wykazały, iż 95% bakterii ($n=72/74$) *K. pneumoniae* ST11 opornych na karbapenemy wytwarzało mechanizm KPC-2, zaś 2 szczepy NDM-1. Co więcej, u 34% ($n=25/74$) izolatów *K. pneumoniae* stwierdzono obecność *rmtB*, co warunkowało oporność na aminoglikozydy. W ostatnim czasie zidentyfikowano nowy gen *rmtF* tj. 16S rRNA metylotransferazę, obecną u szczepów *Enterobacterales* wyizolowanych m.in. w Indiach czy Wielkiej Brytanii. Co więcej, aż 20 na 34 opisanych drobnoustrojów opornych na aminoglikozydy, jednocześnie wytwarzało mechanizm NDM-1. Z kolei, gen *rmtF* wykryto u 6 producentów NDM-1 wyizolowanych w Wielkiej Brytanii [70].

3.5. Karbapenemy

Karbapenemy zgodnie z zaleceniami mogą stanowić opcję terapeutyczną w leczeniu zakażeń wywołanych przez bakterie CR pod warunkiem, iż badany szczep wykazuje wrażliwość na antybiotyk z tej grupy. Ponadto zaleca się, stosowanie terapii skojarzonej karbapenemu z innym antybiotykiem, na który dany szczep jest także wrażliwy. Niemniej jednak, naukowcy wykazali, iż przy wartościach MIC karbapenemu > 8 mg/l terapia skojarzona obarczona jest wysokim ryzykiem niepowodzeń, ze śmiertelnością ponad 35% [43]. Badania przeprowadzone przez De Pascale G. i wsp. na grupie pacjentów Oddziału Intensywnej Terapii leczonych z powodu zakażeń szczepami *K. pneumoniae* CR wg. schematu tj. standardowe leczenie nieobejmujące karbapenemów (ST-Standard Treatment) vs. z zastosowaniem karbapenemów (DC-Double Carbapenem) głównie ertapenemu wykazały, iż wystąpienie wstrząsu septycznego, jak również wyższe poziomy prokalcytoniny były istotnie statystycznie częstsze u pacjentów otrzymujących terapię DC. Z kolei, wartość 28-dniowej śmiertelności była statystycznie wyższa u pacjentów leczonych ST w porównaniu do DC (47,9% vs 29,2%). Ponadto, w przypadku szczepów CR opornych na kolistynę odnotowano istotnie statystycznie wyższą eradykację stosując terapię DC [14]. Należy również zaznaczyć, iż badania Poirel L. i wsp. wykazały efekt synergistyczny imipenemu z ertapenem/doripenem bądź doripenemu z meropenem/ertapenem w terapii zakażeń wywołanych przez szczepy KPC. Z kolei analizując bakterie OXA-48 zauważono efekt synergistyczny pomiędzy imipenem-ertapenem oraz imipenem-doripenem. Co istotnie, w przypadku szczepów NDM-1 oraz jednoczesnych producentów NDM-1 i OXA-48 nie odnotowano efektu synergistycznego pomiędzy karbapenemami [69].

3.6. Mechanizm NDM – możliwe do zastosowania w terapii antybiotyki/chemioterapeutyki

W przypadku szczepów *K. pneumoniae* wytwarzających karbapenemazy typu NDM odnotowano *in vitro* synergistyczny efekt terapii skojarzonej kolistyny z fosfomycyną. Co więcej, kombinacja polimiksyny B i chloramfenikolu, również charakteryzowała się wyższą skutecznością w leczeniu zakażeń wywołanych przez te drobnoustroje oraz zapobiegała narastaniu oporności na grupę polimiksyn [45]. Z kolei inni naukowcy odnotowali efekt synergistyczny pomiędzy aztreonamem-meropenem-kolistyną, kolejno meropenem-kolistyną bądź fosfomycyną-meropenem-kolistyną w terapii zakażeń szczepami NDM-1 [84]. Ponadto, najnowsze badania wskazują, iż terapia skojarzona aztreonamu i avibactamu (nowy inhibitor β -laktamaz) jest efektywna

w leczeniu zakażeń, gdzie czynnikiem etiologicznym są szczepy produkujące metalo- β -laktamazy [45].

Dane literaturowe wskazują, iż duże dawki jak również długotrwałe dożylnie podawanie ertapenemu lub doripenemu zmniejszyło gęstość bakteryjną w przypadku zakażeń wywołanych przez *K. pneumoniae* NDM-1(+). Warto nadmienić, iż podobne efekty zauważono stosując również standardowe dawki ertapenemu tj. 1 g, co 24 h lub doripenemu tj. 500 mg, co 8 h. Co istotne, powyższe wnioski odnotowano tylko w przypadku szczepów opornych na karbapenemy wytwarzających mechanizm NDM-1 [45].

3.7. Mechanizm KPC – możliwe do zastosowania w terapii antybiotyki/chemioterapeutyki

W ostatnim czasie zwraca się szczególną uwagę na wysoki odsetek hospitalizowanych pacjentów skolonizowanych przez szczepy *K. pneumoniae* produkujące karbapenemazy typu KPC. Skutkuje to wielokrotnie szpitalnymi ogniskami, co zwiększa ryzyko śmierci pacjentów, a zwłaszcza chorych przebywających na Oddziale Intensywnej Terapii. Wskaźniki śmiertelności odnoszące się do zakażeń szczepami KPC (+) wynoszą odpowiednio od 22% do nawet 72%. Ponadto, ze względu na wielolekooporność drobnoustrojów produkujących mechanizm KPC, skuteczne wyleczenie pacjentów jest niezwykle trudne. W celu osiągnięcia maksymalnego efektu bakteriobójczego oraz zminimalizowania rozpowszechniania się oporności wielokrotnie rekomenduje się terapię skojarzoną [87]. Dane literaturowe wskazują, iż w leczeniu zakażeń wywołanych przez szczepy *K. pneumoniae* KPC (+) efektywna okazała się kombinacja karbapenemu z tygocykliną, kolistyną bądź meropenem [45, 87]. Wielośrodkowe badania przeprowadzone we Włoszech wykazały, iż terapia skojarzona obejmująca, co najmniej dwa antybiotyki wykazujące aktywność *in vitro* przeciwko bakteriom *K. pneumoniae* KPC (+) wiązała się z niższą śmiertelnością, zwłaszcza u pacjentów z bakteriami, zapaleniem płuc lub wstrząsem septycznym. Odsetek śmiertelności na podstawie tzw. 14-dniowego wskaźnika u pacjentów z bakteriami wywołaną szczepami *K. pneumoniae* KPC (+) w przypadku zastosowania terapii skojarzonej wyniósł odpowiednio 32,0%, zaś w monoterapii aż 51,3%. Podobne dane uzyskano u pacjentów z zapaleniem płuc, gdzie leczenie skojarzone wiązało się z 25,0% odsetkiem śmiertelności, podczas gdy zastosowanie monoterapii skutkowało aż 49,1% śmiertelnością [87]. Niemniej jednak należy zaznaczyć, iż dane pochodzące z innych ośrodków, nie potwierdzają wyższej skuteczności terapii skojarzonej nad monoterapią. W związku z powyższym wskazana jest kontynuacja dalszych badań na temat efektywności antybiotykoterapii w przypadku zakażeń

wywołanych przez szczepy *K. pneumoniae* produkujące mechanizm KPC [45].

3.8. Mechanizm OXA-48 – możliwe do zastosowania w terapii antybiotyki/chemioterapeutyki

Omawiając kolejno, szczepy *K. pneumoniae* produkujące karbapenemazy typu OXA-48, należy zwrócić uwagę, iż monoterapia karbapenemami nie jest zalecana w leczeniu zakażeń wywołanych przez te drobnoustroje. Dane literaturowe wskazują, iż zastosowanie terapii skojarzonej z sulbaktamem, meropenem i kolistyną jest skuteczniejsze w leczeniu zakażeń, gdzie czynnikiem etiologicznym są drobnoustroje NDM-1 (+) w przeciwieństwie do bakterii wytwarzających OXA-48. Ponadto, kombinacja fosfomycyny z imipenem, meropenem i tygocykliną wykazywała synergistyczny efekt w przypadku szczepów *K. pneumoniae* OXA-48 [45].

Należy podkreślić, iż wartość tzw. 30-dniowej przeżywalności u pacjentów z zakażeniem krwi wywołanym przez szczepy *Enterobacterales* OXA-48 (+) wynosi aż 50,0%. Podobne wyniki odnotowano w Hiszpanii, gdzie pomimo wysokiej wrażliwości szczepów *K. pneumoniae* wytwarzających OXA-48 na antybiotyki tj. amikacynę (97,2%), kolistynę (90,1%), tygocyklinę (73%) lub fosfomycynę (66,2%) śmiertelność u tych pacjentów wyniosła odpowiednio 43,5% [45].

4. Podsumowanie

Systematycznie rosnąca liczba szczepów opornych na antybiotyki stanowi w chwili obecnej największe wyzwanie współczesnej medycyny. Nadużywanie antybiotyków stwarza presję selekcyjną dla drobnoustrojów, co przyspiesza pojawianie się i rozprzestrzenianie szczepów z mechanizmami oporności w środowisku szpitalnym oraz co groźniejsze wśród pacjentów ambulatoryjnych. Dlatego też tak ważna jest wiedza na temat spektrum przeciwbakteryjnego antybiotyków, mechanizmów nabywania oporności na antybiotyki wśród bakterii oraz stałe pogłębianie wiedzy na temat epidemiologicznego występowania tych mechanizmów w Polsce. Należy również podkreślić, iż jedynie racjonalna antybiotykoterapia dostosowana do profilu oporność danego szczepu stwarza realne szanse na skuteczne zastosowanie antybiotyków u przyszłych pokoleń.

Piśmiennictwo

1. Agodi A., Voulgari E., Barchitta M., Politi L., Koumaki V., Spanakis N., Giaquinta L., Valenti G., Romeo M.A., Tsakris A.: Containment of an Outbreak of KPC-3 – Producing *Klebsiella pneumoniae* in Italy. *J. Clin. Microbiol.* **49**, 3986–3989 (2011)

2. Aktualna sytuacja rozprzestrzeniania się w Europie szczepów pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae* wytwarzających karbapenemazy, ECDC, Narodowy Program Ochrony Antybiotyków, 2015, <http://www.antybiotyki.edu.pl/pdf/TdECDCntrpz.pdf> (25.04.2019)
3. Antibiotic resistance threats in the United States, 2013. CDC Centers for Disease Control and Prevention, <https://www.cdc.gov/drugresistance/about.html> (25.04.2019)
4. Baraniak A., Gniadkowski M. i wsp.: NDM – producing *Enterobacteriaceae* in Poland, 2012–14: inter-regional outbreak of *Klebsiella pneumoniae* ST11 and sporadic cases. *J. Antimicrob. Chemother.* **71**, 85–91 (2016)
5. Baraniak A., Gniadkowski M.; MOSAR WP2, WP3, and WP5 Study Groups i wsp.: KPC-Like Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae* Colonizing Patients in Europe and Israel. *Antimicrob. Agents Chemother.* **60**, 1912–1917 (2015)
6. Baraniak A., Izdebski R., Herda M., Fiett J., Hryniewicz W., Gniadkowski M., Kern-Zdanowicz I., Filczak K., Łopaciuk U.: Emergence of *Klebsiella pneumoniae* ST258 with KPC-2 in Poland. *Antimicrob. Agents Chemother.* **53**, 4565–4567 (2009)
7. Baraniak A., Izdebski R., Żabicka D., Bojarska K., Górka S., Literacka E., Fiett J., Hryniewicz W., Gniadkowski M., KPC-PL2 Study Group.: Multiregional dissemination of KPC – producing *Klebsiella pneumoniae* ST258/ST512 genotypes in Poland, 2010–14. *J. Antimicrob. Chemother.* **72**, 1610–1616 (2017)
8. Berrazeg M., Diene S., Medjahed L., Parola P., Drissi M., Raoult D., Rolain J.: New Delhi Metallo-beta-lactamase around the world: an eReview using Google Maps. *Euro. Surveill.* **19**, 20809 (2014)
9. Both A., Hentschke M.: First report of *Escherichia coli* co-producing NDM-1 and OXA-232. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **86**, 437–438 (2016)
10. Bushnell G., Mitrani-Gold F., Mundy L.M.: Emergence of New Delhi metallo-β-lactamase type 1-producing *Enterobacteriaceae* and non-*Enterobacteriaceae*: global case detection and bacterial surveillance. *Int. J. Infect. Dis.* **17**, e325–333 (2013)
11. Campos A.C., Albiero J., Ecker A.B., Kuroda C.M., Meirelles L.E., Polato A., Tognim M.C., Wingeter M.A., Teixeira J.J.: Outbreak of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae*: A systematic review. *Am. J. Infect. Control.* **44**, 1374–1380 (2016)
12. Cantón R., Akóva M., Carmeli Y., Giske C.G., Glupczynski Y., Gniadkowski M., Livermore D.M., Miriagou V., Naas T., Rossolini G.M., Samuelsen Ø., Seifert H., Woodford N., Nordmann P.; European Network on Carbapenemases.: Rapid evolution and spread of carbapenemases among *Enterobacteriaceae* in Europe. *Clin. Microbiol. Infect.* **18**, 413–431 (2012)
13. Capone A., Petrosillo N., SEERBIO-GRAB network i wsp.: High rate of colistin resistance among patients with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection accounts for an excess of mortality. *Clin. Microbiol. Infect.* **19**, E23–30 (2013)
14. De Pascale G., Antonelli M. i wsp.: Double carbapenem as a rescue strategy for the treatment of severe carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* infections: a two-center, matched case-control study. *Crit. Care.* **21**, 173 (2017)
15. Del Franco M., Paone L., Novati R., Giacomazzi C.G., Bagatini M., Galotto C., Montanera P.G., Triassi M., Zarrilli R.: Molecular epidemiology of carbapenem resistant *Enterobacteriaceae* in Valle d'Aosta region, Italy, shows the emergence of KPC-2 producing *Klebsiella pneumoniae* clonal complex 101 (ST101 and ST1789). *BMC Microbiol.* **15**, 260 (2015)
16. Deshpande L.M., Jones R.N., Fritsche T.R., Sader H.S.: Occurrence and characterization of carbapenemase producing *Enterobacteriaceae*: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2000–2004). *Microb. Drug. Resist.* **12**, 223–230 (2006)
17. Ding B., Hu F., Yang Y., Guo Q., Huang J., Wang M.: Four Carbapenem-Resistant Gram-Negative Species Carrying Distinct Carbapenemases in a Single Patient. *J. Clin. Microbiol.* **53**, 1031–1033 (2015)
18. Dortet L., Poirel L., Nordmann P.: Worldwide dissemination of the NDM-type carbapenemases in Gram-negative bacteria. *Biomed. Res. Int.* 249856 (2014)
19. Dulny G., Marchel H., Wróblewska M.: Występowanie szczepów pałeczek *Enterobacteriaceae* wytwarzających karbapenemazy w Szpitalu Uniwersyteckim. *Forum Zakażeń*, **7**, 127–133 (2016)
20. Falagas M.E., Vouloumanou E.K., Samonis G., Vardakas K.Z.: Fosfomicyn. *Clin. Microbiol. Rev.* **29**, 321–347 (2016)
21. Fiett J., Baraniak A., Izdebski R., Sitkiewicz I., Żabicka D., Meler A., Filczak K., Hryniewicz W., Gniadkowski M.: The first NDM metallo-beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* isolate in Poland: evolution of IncFII-type plasmids carrying the bla(NDM-1) gene. *Antimicrob. Agents Chemother.* **58**, 1203–1207 (2014)
22. Giacobbè D.R., Tumbarello M.; ISGRI-SITA (Italian Study Group on Resistant Infections of the Società Italiana Terapia Antinfettiva) i wsp.: Risk factors for bloodstream infections due to colistin-resistant KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*: results from a multicenter case-control-control study. *Clin. Microbiol. Infect.* **21**, 1106.e1–8 (2015)
23. Giakoupi P., Maltezou H., Polemis M., Pappa O., Saroglou G., Vatopoulos A. Greek System for the Surveillance of Antimicrobial Resistance.: KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* infections in Greek hospitals are mainly due to a hyperepidemic clone. *Euro. Surveill.* **14**, (2009)
24. Glasner C., Grundmann H., The European Survey on Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae* (EuSCAPE) working group i wsp.: Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in Europe: a survey among national experts from 39 countries, February 2013. *Euro. Surveill.* **18**, 20525 (2013)
25. Główny Inspektorat Sanitarny: Stan sanitarny kraju w roku 2016, <https://stansanitarny.gis.gov.pl/index.php/rozdzial/epidemiologia> (25.04.2019)
26. Główny Inspektorat Sanitarny: Stan sanitarny kraju w roku 2017, https://gis.gov.pl/wp-content/uploads/2018/09/CA%C5%81O-%C5%9A%C4%86__STAN_SANITARNY_KRAJU__2017.pdf (25.04.2019)
27. Gniadkowski M., Żabicka D., Hryniewicz W.: Rekomendacje doboru testów do oznaczania wrażliwości bakterii na antybiotyki i chemioterapeutyki 2009. Oznaczenie wrażliwości pałeczek Gram-ujemnych, http://www.korld.edu.pl/pdf/02-Rek2009-Paleczki_z_rodziny_Enterobacteriaceae.pdf (25.04.2019)
28. Gonzalez-Padilla M., Rodríguez-Baño J. i wsp.: Gentamicin therapy for sepsis due to carbapenem-resistant and colistin-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *J. Antimicrob. Chemother.* **70**, 905–913 (2015)
29. Hammami S., Gautier V., Ghazzi R., Da Costa A., Ben-Redjeb S., Arlet G.: Diversity in VIM-2 encoding class 1 integrons and occasional bla_{SHV2} carriage in isolates of a persistent, multi-drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* clone from Tunisia. *Clin. Microbiol. Infect.* **16**, 189–193 (2010)
30. Hammerum A.M., Littauer P., Hansen F.: Detection of *Klebsiella pneumoniae* co-producing NDM-7 and OXA-181, *Escherichia coli* producing NDM-5 and *Acinetobacter baumannii* producing OXA-23 in a single patient. *Int. J. Antimicrob. Agents.* **46**, 597–598 (2015)
31. Hryniewicz W., Gniadkowski M.: Wytyczne postępowania w przypadku wykrycia szczepów pałeczek z rodziny *Entero-*

- bacteriaceae* wytwarzających karbapenemazy typu KPC (ang. *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase), <http://www.antybiotyki.edu.pl/pdf/KPCwytyczne20-09.pdf> (2009) (25.04.2019)
32. Hryniewicz W.: *Enterobacteriaceae* jako drobnoustroje alarmowe https://wsseopole.pis.gov.pl/plikjednostki/wsseopole/userfiles/W_%20Hryniewicz%20Opole19_06_17.pdf (25.04.2019)
 33. Hryniewicz W.: Ostrzeżenie Rozprzestrzenianie się oporności na karbapenemy u pałeczek jelitowych w Polsce, http://www.korld.edu.pl/pdf/Warning_NDM_2013.pdf (2013) (25.04.2019)
 34. Hryniewicz W.: Zalecenia dotyczące postępowania w przypadku zachorowań sporadycznych i ognisk epidemicznych wywołanych przez Gram-ujemne pałeczki z rodziny *Enterobacteriaceae*, <http://www.antybiotyki.edu.pl/pdf/kpc-20120713.pdf> (2012) (25.04.2019)
 35. Izdebski R., Baraniak A., Żabicka D., Machulska M., Urbanowicz P., Fiett J., Literacka E., Bojarska K., Kozinska A., Ziemiuk B., Hryniewicz W., Gniadkowski M., OXA-48-PL Study Group.: *Enterobacteriaceae* producing OXA-48-like carbapenemases in Poland, 2013–January 2017. *J. Antimicrob. Chemother.* **73**, 620–625 (2018)
 36. Izdebski R., Bojarska K., Baraniak A., Literacka E., Herda M., Żabicka D., Guzek A., Półgrabia M., Hryniewicz W., Gniadkowski M.: NDM-1- or OXA-48-producing *Enterobacteriaceae* colonising Polish tourists following a terrorist attack in Tunis, March 2015. *Euro. Surveill.* **20**, 21150 (2015)
 37. Jain A., Hopkins K.L., Turton J., Doumith M., Hill R., Loy R., Meunier D., Pike R., Livermore D.M., Woodford N.: NDM carbapenemases in the United Kingdom: an analysis of the first 250 cases. *J. Antimicrob. Chemother.* **69**, 1777–1784 (2014)
 38. Jeon J.H., Lee J.H., Lee J.J., Park K.S., Karim A.M., Lee C.R., Jeong B.C., Lee S.H.: Structural basis for carbapenem-hydrolyzing mechanisms of carbapenemases conferring antibiotic resistance. *Int. J. Mol. Sci.* **16**, 9654–9692 (2015)
 39. Jeong S.H., Kim H.S., Kim J.S., Shin D.H., Kim H.S., Park M.J., Shin S., Hong J.S., Lee S.S., Song W.: Prevalence and molecular characteristics of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* from five hospitals in Korea. *Ann. Lab. Med.* **36**, 529–535 (2016)
 40. Kaase M., Szabados F., Pfennigwerth N., Anders A., Geis G., Prana A.B., Rößler S., Lang U., Gatermann S.G.: Description of the metallo- β -lactamase GIM-1 in *Acinetobacter pittii*. *J. Antimicrob. Chemother.* **69**, 81–84 (2014)
 41. Kazmierczak K.M., Rabine S., Hackel M., McLaughlin R.E., Biedenbach D.J., Bouchillon S.K., Sahn D.F., Bradford P.A.: Multiyear, multinational survey of the incidence and global distribution of metallo- β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents. Chemother.* **60**, 1067–1078 (2015)
 42. Khare V., Gupta P., Haider F., Begum R.: Study on MICs of tigecycline in clinical isolates of carbapenem resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) at a Tertiary Care Centre in North India. *J. Clin. Diagn. Res.* **11**, DC18-DC21 (2017)
 43. Kowalska-Krochmal B.: Karbapenemazo-dodatnie *Enterobacteriaceae*-które z antybiotyków są jeszcze wobec nich skuteczne? *Forum Zakazeń*, **7**, 429–435 (2016)
 44. Kumarasamy K.K., Woodford N. i wsp.: Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. *Lancet Infect. Dis.* **10**, 597–602 (2010)
 45. Lee C.R., Lee J.H., Park K.S., Kim Y.B., Jeong B.C., Lee S.H.: Global dissemination of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: epidemiology, genetic context, treatment options, and detection methods. *Front. Microbiol.* **7**, 895 (2016)
 46. Liao Y., Hu G.H., Xu Y.F., Che J.P., Luo M., Zhang H.M., Peng B., Yao X.D., Zheng J.H., Liu M.: Retrospective analysis of fosfomicin combinational therapy for sepsis caused by carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Exp. Ther. Med.* **13**, 1003–1010 (2017)
 47. Madueño A., González García J., Fernández-Romero S., Oteo J., Lecuona M.: Dissemination and clinical implications of multi-drug-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates producing OXA-48 in a Spanish hospital. *J. Hosp. Infect.* **96**, 116–122 (2017)
 48. Majewski P., Sacha P., Wiecek P., Ojdana D., Michalska A., Tryniszewska E.: New Delhi Metallo- β -Lactamases – the dawn of a post-antibiotic era? *Prog. Health. Sci.* **2**, 153–160 (2012)
 49. Majewski P., Tryniszewska E.A. i wsp.: Emergence of OXA-48 carbapenemase-producing *Enterobacter cloacae* ST89 infection in Poland. *Int. J. Infect. Dis.* **25**, 107–109 (2014)
 50. Maltezou H.C., Giakkoupi P., Maragos A., Bolikas M., Raftopoulos V., Papahatzaki H., Vrouhos G., Liakou V., Vatopoulos A.C.: Outbreak of infections due to KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* in a hospital in Crete (Greece). *J. Infect.* **58**, 213–219 (2009)
 51. Michalska A.D., Sacha P.T., Ojdana D., Majewski P., Wiecek P., Tryniszewska E.: Carbapenem-resistant strains from the family *Enterobacteriaceae* in the period 2006–2011 from clinical specimens of patients treated at the university hospital in northeastern Poland. *Med. Dosw. Mikrobiol.* **65**, 27–38 (2013)
 52. Michalska-Falkowska A., Sacha P.T., Grześ H., Hauschild T., Wiecek P., Ojdana D., Tryniszewska E.A.: Emergence of *Pseudomonas aeruginosa* with class 1 integron carrying blaVIM-2 and blaVIM-4 in the University Clinical Hospital of Białystok (northeastern Poland). *Postępy Hig. Med. Dosw.* **71**, 589–594 (2017)
 53. Milner A., Bienko D., Kamola R., Kraśnicka A., Marchel H., Saran O., Dulny G., Swoboda-Kopeć E.: Analiza częstości występowania i ocena lekowrażliwości szczepów *Klebsiella pneumoniae* NDM-1 na oddziale chirurgii CSK WUM w okresie 1.01.2012–30.09.2014 roku. *Postępy Nauk Med.* **28**, 261–268 (2015)
 54. Monaco M., Giani T., Raffone M., Arena F., Garcia-Fernandez A., Pollini S.; Network EuSCAPE-Italy, Grundmann H., Pantosti A., Rossolini G.M.: Colistin resistance superimposed to endemic carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: a rapidly evolving problem in Italy, November 2013 to April 2014. *Euro. Surveill.* **19**, 20939 (2014)
 55. Ni W., Cai X., Wei C., Di X., Cui J., Wang R., Liu Y.: Efficacy of polymyxins in the treatment of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* infections: a systematic review and meta-analysis. *Braz. J. Infect. Dis.* **19**, 170–180 (2015)
 56. Ni W., Han Y., Liu J., Wei C., Zhao J., Cui J., Wang R., Liu Y.: Tigecycline treatment for carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* infections. *Medicine (Baltimore)*, **95**, e3126 (2016)
 57. Nikonorow E., Baraniak A., Gniadkowski M.: Oporność bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* na antybiotyki β -laktamowe wynikająca z wytwarzania β -laktamaz. *Post. Mikrobiol.* **52**, 261–271 (2013)
 58. Nordmann P., Cuzon G., Naas T.: The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. *Lancet. Infect. Dis.* **9**, 228–236 (2009)
 59. Nordmann P., Poirel L., Toleman M.A., Walsh T.R.: Does broad spectrum β -lactam resistance due to NDM-1 herald the end of the antibiotic era for treatment of infections caused by Gram-negative-bacteria? *J. Antimicrob. Chemother.* **66**, 689–692 (2011)
 60. Nordmann P., Poirel L.: The difficult-to-control spread of carbapenemase producers among *Enterobacteriaceae* worldwide. *Clin. Microbiol. Infect.* **20**, 821–830 (2014)
 61. Nordmann P.: Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*: overview of a major public health challenge. *Med. Mal. Infect.* **44**, 51–56 (2014)

62. Ojdana D., Sacha P., Olszańska D., Majewski P., Wiczorek P., Jaworowska J., Sienko A., Jurczak A., Tryniszewska E.: First report of *Klebsiella pneumoniae*-carbapenemase-3-producing *Escherichia coli* ST479 in Poland. *Biomed. Res. Int.* **2015**, 256028 (2015)
63. Ortega A., Sáez D., Bautista V., Fernández-Romero S., Lara N., Aracil B., Pérez-Vázquez M., Campos J., Oteo J.; Spanish Collaborating Group for the Antibiotic Resistance Surveillance Programme: Carbapenemase-producing *Escherichia coli* is becoming more prevalent in Spain mainly because of the polyclonal dissemination of OXA-48. *J. Antimicrob. Chemother.* **71**, 2131–2138 (2016)
64. Palacios-Baena Z.R., Rodríguez-Baño J.: GEIH-GEMARA (SEIMC) and REIPI Group for CPE. i wsp.: Comprehensive clinical and epidemiological assessment of colonisation and infection due to carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in Spain. *J. Infect.* **72**, 152–160 (2016)
65. Papa Ezdra R., Bado I., Cordeiro N., Gutierrez C., Hitateguy P., Seija V., Vignoli R.: VIM-2-Producing *Pseudomonas* spp. in Uruguay: Sequence Types, Pulsotypes, and Class 1 Integrons Including New Variable Regions Featuring *bla*_{VIM-2} and *bla*_{GES-7}. *Antimicrob. Agents. Chemother.* **60**, 5620–5622 (2016)
66. Patzer J.A., Walsh T.R., Weeks J., Dzierzanowska D., Toleman M.A.: Emergence and persistence of integron structures harbouring VIM genes in the Children's Memorial Health Institute, Warsaw, Poland, 1998–2006. *J. Antimicrob. Chemother.* **63**, 269–273 (2009)
67. Piedra-Carrasco N., González-López J.J. i wsp.: Effectiveness of a double-carbapenem regimen in a KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* infection in an immunocompromised patient. *Microb. Drug. Resist.* (2017) doi: 10.1089/mdr.2017.0129
68. Poirel L., Dortet L., Bernabeu S., Nordmann P.: Genetic feature of blaNDM-1-positive *Enterobacteriaceae*. *Antimicrob. Agents. Chemother.* **55**, 5403–5407 (2011)
69. Poirel L., Kieffer N., Nordmann P.: *In vitro* evaluation of dual carbapenem combinations against carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *J. Antimicrob. Chemother.* **71**, 156–161 (2016)
70. Potter R.F., D'Souza A.W., Dantas G.: The rapid spread of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*. *Drug. Resist. Updat.* **29**, 30–46 (2016)
71. Pragasam A.K., Shankar C., Veeraraghavan B., Biswas I., Nabarro L.E.B., Inbanathan F.Y., George B., Verghese S.: Molecular mechanisms of colistin resistance in *Klebsiella pneumoniae* causing bacteremia from India—a first report. *Front. Microbiol.* **7**, 2135 (2016)
72. Queenan A.M., Bush K.: Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. *Clin. Microbiol. Rev.* **20**, 440–458 (2007)
73. Rajput V.B., Naik J.P.: Detection of Metallo-Beta-Lactamase production in Gram-negative clinical isolates. *Int. J. of Pharm. Life Sci.* **6**, 4272–4279 (2015)
74. Robert J., Pantel A., Mérens A., Lavigne J.P., Nicolas-Chanoine M.H.; ONERBA's Carbapenem Resistance Study Group.: Incidence rates of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* clinical isolates in France: a prospective nationwide study in 2011–12. *J. Antimicrob. Chemother.* **69**, 2706–2712 (2014)
75. Rodríguez-Avil I., Pena I., Picazo J.J., Rodríguez-Avil C., Culebras E.: *In vitro* activity of the next-generation aminoglycoside plazomicin alone and in combination with colistin, meropenem, fosfomicin or tigecycline against carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* strains. *Int. J. Antimicrob. Agents.* **46**, 616–621 (2015)
76. Sader H.S., Castanheira M., Flamm R.K., Mendes R.E., Farrell D.J., Jones R.N.: Tigecycline activity tested against carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* from 18 European nations: results from the SENTRY surveillance program (2010–2013). *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **83**, 183–186 (2015)
77. Schwaber M.J., Lev B., Israeli A., Solter E., Smollan G., Rubinovitch B., Shalit I., Carmeli Y.: Israel Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae* Working Group: Containment of a Country-wide Outbreak of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* in Israeli Hospitals via a Nationally Implemented Intervention. *Clin. Infect. Dis.* **52**, 848–855 (2011)
78. Seecoomar G.D., Marmol B.C., Kwon D.H.: Promoter deletions of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC)-encoding genes (*bla*KPC-2) and efflux pump (*AcrAB*) on β -lactam susceptibility in KPC-producing *Enterobacteriaceae*. *FEMS. Microbiol. Lett.* **348**, 120–126 (2013)
79. Sekowska A., Gospodarek E., Kruszyńska E., Hryniewicz W., Gniadkowski M., Duljasz W., Kusza K., Wawrzyniak K.: First isolation of metallo-beta-lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* strain in Poland. *Anestezjol. Intens. Ter.* **42**, 27–30 (2010)
80. Shibata N., Doi Y., Yamane K., Yagi T., Kurokawa H., Shibayama K., Kato H., Kai K., Arakawa Y.: PCR typing of genetic determinants for metallo-beta-lactamases and integrases carried by Gram-negative bacteria isolated in Japan, with focus on the class 3 integron. *J. Clin. Microbiol.* **41**, 5407–5413 (2003)
81. Souli M., Giamarellou H. i wsp.: An outbreak of infection due to beta-Lactamase *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase 2-producing *K. pneumoniae* in a Greek University Hospital: molecular characterization, epidemiology, and outcomes. *Clin. Infect. Dis.* **50**, 364–373 (2010)
82. Surveillance Atlas of Infectious Diseases, <http://atlas.eccdc.europa.eu/public/index.aspx> (25.04.2019)
83. Swathi C.H., Chikala R., Ratnakar K.S., Sritharan V.: A structural, epidemiological & genetic overview of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases (KPC). *Indian J. Med. Res.* **144**, 21–31 (2016)
84. Tängdén T., Hickman R.A., Forsberg P., Lagerbäck P., Giske C.G., Cars O.: Evaluation of double- and triple-antibiotic combinations for VIM and NDM-producing *Klebsiella pneumoniae* by *in vitro* time-kill experiment. *Antimicrob. Agents Chemother.* **58**, 1757–1762 (2014)
85. Toleman M.A., Simm A.M., Murphy T.A., Gales A.C., Biedenbach D.J., Jones R.N., Walsh T.R.: Molecular characterization of SPM-1, a novel metallo-beta-lactamase isolated in Latin America: report from the SENTRY antimicrobial surveillance programme. *J. Antimicrob. Chemother.* **50**, 673–679 (2002)
86. Tumbarello M., Bassetti M. i wsp.: Predictors of mortality in bloodstream infections caused by *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae*: importance of combination therapy. *Clin. Infect. Dis.* **55**, 943–950 (2012)
87. Tumbarello M., Viale P.; ISGRI-SITA (Italian Study Group on Resistant Infections of the Società Italiana Terapia Antinfettiva): Infections caused by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*: differences in therapy and mortality in a multicentre study. *J. Antimicrob. Chemother.* **70**, 2133–2143 (2015)
88. Van Duin D., Doi Y.: Outbreak of colistin-resistant, carbapenemase producing *Klebsiella pneumoniae*: are we at the end of the road? *J. Clin. Microbiol.* **53**, 3116–3117 (2015)
89. Vatopoulos A.: High rates of metallo-beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Greece – a review of the current evidence. *Euro. Surveill.* **13**, (2008)
90. Weterings V., Zhou K., Rossen J.W., van Stenis D., Thewissen E., Kluytmans J., Veenemans J.: An outbreak of colistin-resistant *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in the Netherlands (July to December 2013), with inter-institutional spread. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **34**, 1647–1655 (2015)
91. Yong D., Toleman M.A., Giske C.G., Cho H.S., Sundman K., Lee K., Walsh T.R.: Characterization of a new Metallo-Beta-

- Lactamase gene, *bla*(NDM-1), and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. *Antimicrob. Agents. Chemother.* **53**, 5046–5054 (2009)
92. Zacharczuk K., Piekarska K., Szych J., Zawidzka E., Sulikowska A., Wardak S., Jagielski M., Gierczynski R.: Emergence of *Klebsiella pneumoniae* coproducing KPC-2 and 16SrRNA methylase ArmA in Poland. *Antimicrob. Agents. Chemother.* **55**, 443–446 (2011)
93. Zowawi H.M., Paterson D.L. i wsp.: Stepwise evolution of pan-drug-resistance in *Klebsiella pneumoniae*. *Sci. Rep.* **5**, 15082 (2015)
94. Żabicka D., Gniadkowski M. i wsp.: Pałeczki jelitowe *Enterobacteriaceae* wytwarzające karbapenemazy w Polsce, sytuacja w 2016 roku, <http://www.korld.edu.pl/pdf/CPERaport2016.pdf> (25.04.2019)
95. Żabicka D., Gniadkowski M., Ozorowski T., Hryniewicz W.: Raport Krajowego Ośrodka Referencyjnego ds. Lekowrażliwości Drobnoustrojów Występowanie *Enterobacteriaceae* (*Klebsiella pneumoniae*) wytwarzających karbapenemazy typu New Delhi na terenie Polski w I kwartale 2017 roku. KORDL, 15.06.2017, <http://www.nil.gov.pl/najnowszy-raport-nt-wystepowania-clebsiella-pneumoniae-new-dehli/> (25.04.2019)
96. Żabicka D., Literacka E., Bojarska K.: MDR, XDR, PDR – jednolite międzynarodowe definicje nabytej oporności drobnoustrojów na antybiotyki. Aktualności Narodowego Programu Ochrony Antybiotyków, 2012, http://antybiotyki.edu.pl/wp-content/uploads/Biuletyn/biuletyn-npoa-2012_3.pdf (25.04.2019)
97. Żabicka D., Literacka E., Gniadkowski M., Hryniewicz W.: Raport Krajowego Ośrodka Referencyjnego ds. Lekowrażliwości Drobnoustrojów Występowanie *Enterobacteriaceae* (głównie *Klebsiella pneumoniae*) wytwarzających karbapenemazę New Delhi (NDM) na terenie Polski w okresie I–III kwartał 2017 roku. KORDL, http://www.korld.edu.pl/pdf/Raport_NDM_18-12-2017_strona.pdf (25.04.2019)