

Iztok Štrumbelj, Mateja Pirš

Dokument SKUOPZ 001. Smernice za mikrobiologe - ugotavljanje odpornosti proti karbapenemom in ugotavljanje karbapenemaz pri enterobakterijah

**Slovenska komisija za ugotavljanje občutljivosti za protimikrobna zdravila
(SKUOPZ)**

**Druga izdaja, julij 2018 (elektronski vir). Dokument je dostopen na spletni strani:
www.imi.si/strokovna-zdruzenja/skuopz/skuopz**

UVODNO POJASNILO

Ugotavljanje odpornosti proti karbapenemom in ugotavljanje karbapenemaz pri enterobakterijah v Sloveniji je do te 2. izdaje potekalo na osnovi prve verzije tega dokumenta iz novembra 2013 in kasnejših sklepov SKUOPZ (kjer so bile sprejete spremembe, ki so razveljavljale določene dele 1. izdaje tega dokumenta).

Namen te druge verzije besedila je združiti veljavne dele prve izdaje s kasnejšimi sklepi SKUOPZ, tako da so smernice znova zbrane v enem dokumentu.

V dodatku so še nekatere teme, ki se ne nanašajo le na karbapeneme in enterobakterije, je pa o njih SKUOPZ sklepal in so povezane s temo.

Osnova postopkov je referenca 1, izdaja iz leta 2017, kjer so objavljene smernice EUCAST za ugotavljanje mehanizmov odpornosti.

Vrsta tiska pojasnjuje vire posameznih delov besedila te verzije:

- Še veljavni deli 1. izdaje tega dokumenta so v tej, 2. verziji, zapisani v poševnem tisku.
- Novejši sklepi SKUOPZ so zapisani s krepkim tiskom. Naveden je datum delovnega srečanja SKUOPZ in številka sklepa.
- Komentariji, novo vezno besedilo, pojasnila, deli iz EUCAST dokumentov, so zapisani z običajnim tiskom.
- Posodobljenemu besedilu za enterobakterije sledi dodatek, kjer so navedene sorodne teme, – o postopku za potrditvene teste za ugotavljanje karbapenemaz pri CRPs-*Pseudomonas aeruginosa* in CRAb-*Acinetobacter baumannii* in nova dognanja o določanju odpornosti proti kolistinu (velja za vse po Gramu negativne bakterije).

Tudi besedilo v dodatku je v osnovi navedba sklepov SKUOPZ z dodanim kratkim pojasnjevalnim besedilom.

Področje smernic SKUOPZ (splošen pristop SKUOPZ)

Področje smernic SKUOPZ-a je praktična uporaba standardnih metod antibiograma (znotraj EUCAST) v Sloveniji in različne metode za ugotavljanje mehanizmov odpornosti ter metode za osamitev odpornih bakterij iz vzorcev (gojišča, postopki).

Smernice so širši, razlagalni in vsebinsko širši dokumenti; skrajšan povzetek smernic za neposredno delo in dopolnilna podrobna navodila za posamezne postopke so v dodatnih dokumentih.

Standardni metodi antibiograma sta le dve:

- *standardna dilucija**
- *standardna disk-difuzija.*

** v velik večini primerov mikrodilucijska metoda (izjema je npr. fosfomicin, kjer se uporablja dilucija v agarju).*

*Vse ostale metode so komercialne in se SKUOPZ z njimi praviloma ne ukvarja, razen izjemoma**:*

- *če smernice napotijo na ugotavljanje minimalnih inhibitornih koncentracij (MIK) pri določenem antibiotiku*
- *če je komercialno metodo koristno omeniti v postopkih za ugotavljanje mehanizmov odpornosti.*

Za vse komercialne metode velja, da se v laboratoriju lahko uporabljajo, če so za namen uporabe validirane v strokovni literaturi ali v laboratorijih samih.

SKUOPZ spodbuja sodelovanje in delitev dela med laboratoriji, kadar so interne validacije potrebne in se, če validacijski laboratoriji to dovolijo, čim prej zaupno seznanja z rezultati še pred morebitnimi objavami teh validacij.

Laboratoriji se, da bi prihranili čas pri zbiranju podatkov, med seboj lahko seznanjajo z različnimi komercialnimi reagenti (imena, kataloške številke...) in dobavitelji, vendar podatki niso priporočilo laboratorija oz. osebe, ki podatke priskrbi, ampak zgolj informacija, ki jo ostali laboratoriji uporabijo po lastni presoji.

*** Analogen je npr. pristop EUCAST-a in EUCAST-ove delovne skupine za mehanizme odpornosti:*

- *EUCAST ne omenja komercialnih avtomatskih metod ali npr. gradient–difuzijske metode (kjer je antibiotik nanesen na testni listič v naraščajoči koncentraciji).*
- *Delovna skupina EUCAST-a za mehanizme odpornosti izjemoma omenja nestandardne metode, npr. pri stafilokokih, da je primerna metoda za določitev MIK gradient-difuzija. Proizvajalce omenja zelo redko, ko želi navesti validirane metode iz literature ali edinega proizvajalca.*

VSEBINA

1. KRATICE
2. KRATKA POJASNILA
3. UGOTAVLJANJE OBČUTLJIVOSTI ZA KARBAPENEME ZA KLINIČNE NAMENE - DOLOČITEV S, I, R KATEGORIJE V IZVIDU BOLNIKA
4. DOLOČITEV MINIMALNIH INHIBITORNIH KONCENTRACIJ KARBAPENEMSKIH ANTIBIOTIKOV S KOMERCIALNIMI TESTI
5. UGOTAVLJANJE KARBAPENEMAZ – SPLOŠNA NAČELA
6. UGOTAVLJANJE KARBAPENEMAZ – PRESEJALNI TESTI
7. UGOTAVLJANJE KARBAPENEMAZ – POTRDITVENI TESTI
8. KRATICE CRE IN CRE-CPE ZA DOLOČITEV ZNAČILNOSTI IZOLATA IN ZA EPIDEMIOLOŠKE NAMENE
9. DODATEK – KOLISTIN IN SORODNE TEME
10. REFERENCE

CELOTNA VSEBINA TEGA DOKUMENTA SE NANAŠA LE NA PODROČJE OBČUTLJIVOSTI / ODPORNOSTI ENTEROBAKTERIJ ZA KARBAPENEMSKIE ANTIBIOTIKE – IZJEMA JE VSEBINA V DODATKU (TOČKA 9).

Doripenema v nadaljevanju ne omenjamo, ker je o njem v mikrobiološkem smislu malo podatkov - ni npr. naveden v referenci 1 v delu o iskanju karbapenemaz; zato v besedilu v nadaljevanju govorimo le o treh karbapenemih.

Če se laboratorij z naročniki tako dogovori, je doripenem možno testirati.

V tem primeru zanj smiselno uporabljamo vsebino, ki se nanaša na ostale tri karbapeneme.

1. KRATICE

SDD	-	standardna disk-difuzija
GD	-	gradient-difuzija
SMD	-	standardna mikrodilucija
AM	-	avtomatske metode za antibiogram – različne ploščice in kartice z antibiotiki v različnih koncentracijah, rezultati interpretirani z algoritmi aparata v S, I in R kategorijo.
CLSI		Clinical and Laboratory Standards Institute
EUCAST		European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
ESDReM		EUCAST Subcommittee for Detection of Resistance Mechanisms
MIK	-	minimalna inhibitorna koncentracija antibiotika
ETP	-	ertapenem
IPM	-	imipenem
MEM	-	meropenem
CRE	-	»Proti karbapenemom odporne Enterobacteriaceae« Izvor kratice: »Carbapenem Resistant Enterobacteriaceae (angl)«.
CRE-CPE	-	»Proti karbapenemom odporne Enterobacteriaceae, ki tvorijo karbapenemaze« - Izvor kratice CPE: Carbapenemase Producing Enterobacteriaceae (angl).
CDC	-	Centers for Disease Control and Prevention (ZDA)
HPA	-	Health Protection Agency (Velika Britanija)
CRAb	-	»Proti karbapenemom odporni Acinetobacter baumannii« Izvor kratice: »Carbapenem Resistant A. baumannii«(angl).
CRPs	-	»Proti karbapenemom odporni Pseudomonas aeruginosa« Izvor kratice: »Carbapenem Resistant P. aeruginosa«(angl).

2. KRATKA POJASNILA

Karbapenem: antibiotik iz skupine karbapenemskih antibiotikov.

Klinični pomen: pomen za uporabo določenega karbapenema za zdravljenje določenega bolnika.

Epidemiološki pomen: pomen za druge osebe – za ukrepe bolnišnične higiene ali za širše okolje.

»Proti karbapenemom odporen« v različnih besedilih pomeni marsikaj - pomeni tisto, kar je v nekem besedilu mišljeno (običajno je opredeljeno, včasih ni in bralec razbira pomen iz konteksta).

Pozor, angleške kratice, npr. CRE, se v literaturi uporabljajo v zelo različne namene in z različnim pomenom; niti približno ni uporaba CRE tako ustaljena kot je npr. pri kratici ESBL.

3. UGOTAVLJANJE OBČUTLJIVOSTI ZA KARBAPENEME ZA KLINIČNE NAMENE - DOLOČITEV S, I, R KATEGORIJE V IZVIDU BOLNIKA

Za antibiogram za klinične namen (za določitev kategorije S, I, R v izvidu) uporabljamo standardno metodo za izvedbo antibiograma (SDD) in od aprila 2014 interpretacijo po EUCAST¹.

¹ Delovno srečanje SKUOPZ, dne 28. 1. 2014, sklep št. 5.

Za uporabo komercialnih metod za določitev S, I, R kategorije v izvidu glej nadaljevanje besedila.

Interpretacija v S, I, R kategorijo ni odvisna od prisotnosti ali odsotnosti karbapenemaz, ampak le od con, določenih s SDD (za karbapeneme SMD v praksi ne uporabljamo)!

4. DOLOČITEV MINIMALNIH INHIBITORNIH KONCENTRACIJ KARBAPENEMSKIH ANTIBIOTIKOV S KOMERCIALNIMI TESTI

S katero metodo določeno vrednost MIK izpišemo v izvid?

- S, I, R kategorijo določimo in izpišemo na osnovi rezultata SDD, ki je pri karbapenemih pri enterobakterijah boljša metoda kot komercialna GD (referenci 4 in 5).
- če gre za CRE ali CRE-CPE v izvid lahko izpišemo vrednost MIK na osnovi GD – dobljenih MIK ne interpretiramo v S, I, R kategorijo
- vrednosti MIK, ki jo dajejo AM, ne izpišemo v izvid* – za to uporabimo GD.

** v referenci 5 avtorji navajajo velike razlike MIK-ov istih izolatov, ki so jih testirali z različnimi AM in GD. Rezultati MIK, pridobljeni z AM so odvisni od vrste aparata, trenutnega algoritma aparata in uporabljenih »ploščic/kartice«.

Zakaj klinični zdravnik poleg R rezultata ob odpornosti potrebuje MIK (določen z GD)?

Ker kljub rezultatu R študije kažejo, da je kombinirana uporaba karbapenema z drugim antibiotikom do določene MIK koristna, kljub temu, da je rezultat antibiograma R; z MIK klinik lažje izbere najmanj prizadet karbapenem, če ga bo uporabil v dvotirnem zdravljenju.

Večina priporočil za zdravljenje na osnovi MIK izhaja iz rezultatov GD ali SMD.

Povzetek kliničnega testiranja v praksi in določanje MIK (povzetek 3. in 4. točke):

1. Standardna metoda za testiranje enterobakterij na občutljivost za karbapeneme je SDD – na osnovi teh rezultatov izdamo končni rezultat S, I, R za določen karbapenem.
2. MIK, če je potreben, določimo z GD in to vrednost izpišemo v izvid. V izvid ne vpisujemo MIK, ki so rezultat AM.
3. Rezultata MIK, dobljene z GD, ne uporabimo za določitev S, I, R kategorije, ampak le za določitev vrednosti MIK.
4. Mehanizem odpornosti (karbapenemaza prisotna ali ne) ne vpliva na kategorijo odpornosti (S, I, R).

5. METODE ZA UGOTAVLJANJE KARBAPENEMAZ – SPLOŠNA NAČELA

1. Presejalni testi so cone inhibicije ali MIK-i.

2. Potrditveni testi so:

- a) fenotipski
- b) molekularni.

Interpretacijo fenotipskih postopkov glej v ustreznem poglavju tega dokumenta, izvedbo v drugih virih.

- *Izolate, ki so pozitivni v fenotipskem postopku, pošljemo na molekularno analizo.*
- *Izolate, kjer rezultat fenotipskega postopka za ugotavljanje karbapenemaz ni nedvoumno pozitiven ali negativen, pošljemo na molekularno analizo.*
- *Pri izolatih, kjer je postopek nedvoumno negativen (glej poglavje o fenotipskih testih), zaključimo s testiranjem.*

2b) Molekularne teste izvajajo specializirani laboratoriji, trenutno IMI MF LJ in NLZOH, Oddelek za medicinsko mikrobiologijo Maribor.

- *Pozitiven test specializiranega laboratorija velja kot nedvoumna potrditev prisotnosti karbapenemaz v izolatu.*
- *Negativni rezultat molekularnega testa ni nujno dokončen:*

a) odvisno je od tega, gene katerih karbapenemaz molekularni test zaznava;

b) poleg tega je vedno možno, da se pojavi nova različica že znanega gena, ki je molekularni test ne zazna, ali nov karbapenemazni gen.

Če fenotipski testi kljub negativnim molekularnim rezultatom kažejo na tvorbo karbapenemaz, se z ustreznim referenčnim laboratorijem skušamo dogovoriti za nadaljnji študij izolata.

6. UGOTAVLJANJE KARBAPENEMAZ – PRESEJALNI TESTI

Osnova postopka je referenca 1:

EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance.

Nahaja se na spletni strani EUCAST. V nadaljevanju bomo ta dokument navajali kot ESDReM.

Navedbe v nadaljevanju **so posodobljene, nanašajo se na 2. izdajo dokumenta ESDReM**, julij 2017².

Razpredelnica 1. Presejalne vrednosti con in MIK po ESDReM smernicah iz leta 2017².

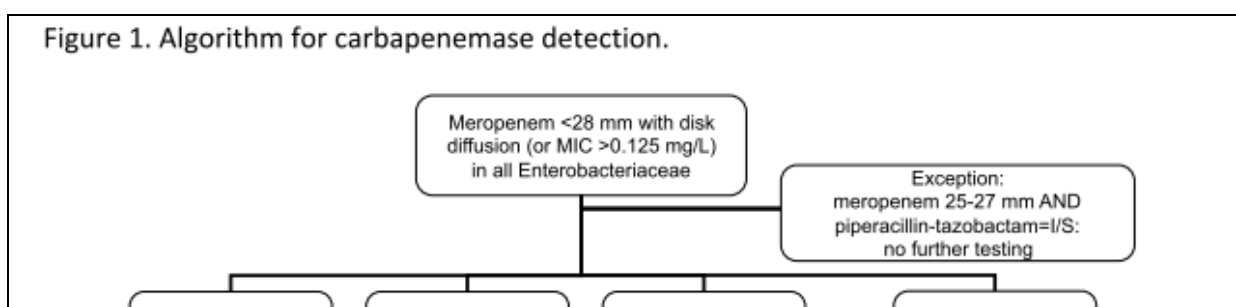
Antibiotik	Mejna vrednost za pozitiven presejalni test – cona v mm	Mejna vrednost za pozitiven presejalni test – MIK SMD v mg/L
Meropenem *	< 28*	> 0,125
Ertapenem**	< 25	> 0,125

* Mejna vrednost z najboljšim odnosom med specifičnostjo in občutljivostjo. Če je cona meropenema od 25 do 27 mm, so testi na karbapenemaze potrebni le, če je izolat odporen proti piperacilin/tazobaktamu in/ali temocilinu. Testi na karbapenemaze so vedno potrebni, če je cona meropenema manjša od 25 mm.

** Ertapenem ima odlično občutljivost, a slabo specifičnost. Lahko je alternativni presejalni antibiotik namesto meropenema, a tudi izolati z AmpC in ESBL odpornostjo so lahko odporni.

Ertapenem: po Pasteranu (referenca 9) ima kar nekaj sevov s karbapenemazami cono ertapenema več kot 25 mm, torej tudi občutljivost ni optimalna.

²Kot presejalni test za fenotipsko detekcijo karbapenemaz pri enterobakterijah bomo uporabili začetek algoritma 1, stran 6/43 omenjenega dokumenta - za vse primoizolate in reizolate. Izsek iz dokumenta, ki ga bomo uporabljali:



² Delovno srečanje SKUOPZ, dne 12. 9. 2017, sklep št. 1; »omenjeni dokument« v sklepu 1 je dokument ESDReM, izdaja iz leta 2017.

7. POTRĐITVENI TESTI ZA KARBAPENEMAZE

Če je presejalni test pozitiven, naredimo fenotipske potrditvene teste.

Enterobakterije³:

- za potrditveno testiranje bomo pri prvem izolatu pri bolniku ob pozitivnem presejalnem testu uporabili vsaj 2 fenotipska potrditvena testa z različnim načinom delovanja.
- za potrditveno testiranje enake bakterije, ki je ponovni izolat pri bolniku, zadošča vsaj en pozitiven test.
- za prvi izolat velja, da je »z zanesljivimi fenotipski test za karbapenemaze ugotovljeno, da izolat izloča karbapenemaze«, če sta pozitivna vsaj 2 fenotipska testa.

³ Delovno srečanje SKUOPZ, dne 12. 9. 2017, sklep št. 2 (razdeljen je na sklepe 2a, 2 b, 2c).

Interpretacija rezultatov potrditvenih testov je navedena tudi med splošnimi načeli, na strani 7.

Če laboratorij ne izvaja potrditvenih testov, pošlje izolat s pozitivnim presejalnim testom v laboratorij, ki izvaja potrditveni postopek, najbolje v laboratorij, ki izvaja tudi molekularne teste; morda bodo molekularni testi potrebni po končanju fenotipskih testov.

- ceftazidim/avibaktam je smiselno testirati in poročati pri enterobakterijah, ki izločajo karbapenemaze.

⁴ Delovno srečanje SKUOPZ, dne 03. 04. 2018, sklep št. 3.

8. KRATICE CRE IN CRE-CPE ZA DOLOČITEV ZNAČILNOSTI IZOLATA IN ZA EPIDEMIOLOŠKE NAMENE

Kratice so v Sloveniji od decembra 2015 opredeljen v referenci 2, v dokumentu:

»Enterobakterije, *Acinetobacter baumannii* in *Pseudomonas aeruginosa* - označevanje večkratno odpornih izolatov in okrajšave preiskav nadzornih kužnin.«

Tam so napisane tudi opombe, ki se izpišejo ob izolatu, namenjene so preprečevanju širjenja teh sevov.

Katera »značilnost« ima prednost pri označevanju izolatov:

1. Če je izolat CRE-CPE, dobi »značilnost« CRE-CPE ne glede na ostale mehanizme odpornosti;
2. Če izolat ni CRE-CPE, a ustreza opredelitvi CRE, dobi »značilnost« CRE ne glede na ostale mehanizme odpornosti; ostale mehanizme odpornosti lahko izpišemo v opombi.
3. Če izolat ni ne CRE-CPE ne CRE, a ustreza opredelitvi za ESBL, dobi »značilnost« ESBL.
4. Če izolat ni nič od navedenega, a je odporen proti cefalosporinom tretje generacije in ustreza opredelitvi za AmpC, lahko damo »značilnost« AmpC ali pa prisotnost AmpC izpišemo v opombi. AmpC tema je posebna in kontroverzna.

Koga obveščati o CRE in CRE-CPE izolatih?

Oboje je kritična informacija in zato je potrebno naročniku nemudoma sporočiti rezultat (vsekakor istega dne).

Obveščanje na nacionalnem nivoju o pojavu CRE ali CRE-CPE izolatov: kot bo določeno na nacionalnem nivoju.

9. DODATEK - KOLISTIN IN SORODNE TEME

Tu gre za sorodne teme, ki jih dokument o karbapenemazah pri enterobakterijah v prvi verziji ni zajemal, so pa zajete v sklepih SKUOPZ. Kasneje bodo verjetno zajete v drugih dokumentih, tu jih navajamo, dokler priprava drugih dokumentov ne bo končana.

ODPORNOST PROTI KARBAPENEMOM PRI BAKTERIJAH *Pseudomonas aeruginosa* in *Acinetobacter baumannii*

Postopek ugotavljanja karbapenemaz pri teh bakterijah uporabimo pri izolatih, ki izpolnjujejo kriterije za CRAB-A. *baumannii* in kriterije za CRPs-P. *aeruginosa*, ki so navedeni v referenci 2. Ne uporabljamo posebnih presejalnih con ali MIK, kot je to pri enterobakterijah.

*Acinetobacter baumannii*⁵

- **presejalni test za testiranje na prisotnost karbapenemaz je rezultat antibiograma »CRAB« (po opredelitvi CRAB).**

POTRDITVENI TESTI

- **Če želimo pri prvem izolatu CRAB pri pacientu potrditi / ovreči izločanje karbapenemaz, so potrebni molekularni testi, fenotipski testi ne zadoščajo.**
- **Pri ponovnih izolatih pri istem pacientu za potrditev karbapenemaz pri CRAB zadošča en pozitiven fenotipski test na karbapenemaze (CIM, mCIM, Beta Carba).**

⁵ Delovno srečanje SKUOPZ, dne 03. 04. 2018, sklepa št. 10 in 11.

Pseudomonas aeruginosa

- **presejalni test za testiranje na prisotnost karbapenemaz je rezultat antibiograma »CRPs« (po opredelitvi CRPs).**⁶

⁶ Delovno srečanje SKUOPZ, dne 03. 04. 2018, sklep št. 8.

POTRDITVENI TESTI⁷

- **za potrditveno testiranje bomo pri prvem izolatu pri bolniku ob pozitivnem presejalnem testu uporabili vsaj 2 fenotipska potrditvena testa z različnim načinom delovanja.**
- **za potrditveno testiranje enake bakterije, ki je ponovni izolat pri bolniku, pa zadošča vsaj en pozitiven test**
- **za prvi izolat velja, da je »z zanesljivimi fenotipski test za karbapenemaze ugotovljeno, da izolat izloča karbapenemaze«, če sta pozitivna vsaj 2 fenotipska testa.**

⁷ Delovno srečanje, dne 12. 9. 2017, sklep št. 2a (isti sklep kot za enterobakterije)

- **Pri *P. aeruginosa* – CRPs (brez CP) je ob dodatnem testiranju občutljivosti izolata za kolistin smiselno sočasno testirati in poročati tudi ceftolozan/tazobactam.**⁸

⁸ Delovno srečanje SKUOPZ, dne 03. 04. 2018, sklep št. 2.

ODPORNOST PROTI KOLISTINU (velja za enterobakterije, rod *Pseudomonas* in rod *Acinetobacter*)

Testiranje kolistina

Testiranje občutljivosti za kolistin z Etesti ali z drugimi metodami razen z mikrodilucijo po opozorilu na spletni strani EUCAST ni preskušeno ali je dokazano neustrezno.

- **Občutljivost za kolistin bomo vsi laboratoriji testirali s standardno mikrodilucijo⁹.**

⁹ Delovno srečanje SKUOPZ, dne 5. 10. 2016, sklep 1.

Značilnost izolata COLR pri protikolistinu odpornih izolatih

Pojasnilo: odpornost proti kolistinu je za bolnika nepomembna, če gre za izolat, ki ni večkratno odporen, izjemno pomembna pa je, če gre za ekstremno odporen izolat, kjer je kolistin potreben za zdravljenje (sam ali v kombinaciji z drugim zdravilom).

Epidemiološko so posebej pomembni izolati, pri katerih je pridobljena odpornost kodirana v plazmidih (gen *mcr-1* ali drugi sorodni geni).

Nekatere pogoste bakterijske vrste so proti kolistinu naravno odporne, tu ne gre za pridobljeno odpornost. To so npr.: večina vrst iz rodu rodov *Proteus* in *Providencia*, *Morganella morganii*, *Serratia marcescens*, *Yersinia pseudotuberculosis*.

Smiselno je izolat s **pridobljeno odpornostjo** v laboratorijski informacijski sistem dodati »značilnost«, kratico COLR.

Kratika ni mednarodno uveljavljena, **zato v izvidu značilnosti COLR ne izpišemo**, izpišemo opombo: »Izolirani sev je odporen proti kolistinu. Posvetujte se z infektologom ali kliničnim mikrobiologom«.

Pri naravni odpornosti »značilnosti« in opombe ne izpišemo, ker to ni smiselno.

- **Izolate, ki so odporni proti kolistinu, označimo z »značilnostjo« COLR na način, kot je opisano zgoraj.¹⁰**

¹⁰ Delovno srečanje SKUOPZ, dne 5. 10. 2016, sklep 2.

10. REFERENCE

1. EUCAST subcommittee for detection of resistance mechanisms. EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance. Version 2.0 1 July 2017. http://www.eucast.org/resistance_mechanisms/ Pristop: 1. 7. 2018
2. Štrumbelj I, Pirš M, Lejko – Zupanc T. Enterobakterije, *Acinetobacter baumannii* in *Pseudomonas aeruginosa* - označevanje večkratno odpornih izolatov in okrajšave preiskav nadzornih kužnin [internet]. Slovenska komisija za ugotavljanje občutljivosti za protimikrobna zdravila (SKUOPZ). Prva izdaja, december 2015. <http://www.imi.si/strokovna-zdruzenja/skuopz/skuopz> Pristop: 1. 7. 2018
3. Miriagou V, Cornaglia G, Edelstein M, Galani I, Giske CG, Gniadkowski M, Malamou-Lada E, Martinez-Martinez L, Navarro F, Nordmann P, Peixe L, Pournaras S, Rossolini GM, Tsakris A, Vatopoulos A, Cantón R. Acquired carbapenemases in Gram-negative bacterial pathogens: detection and surveillance issues. *Clin Microbiol Infect.* 2010; 16(2): 112-22.
4. Endimiani A, Perez F, Bajaksouzian S, Windau AR, Good CE, Choudhary Y, Hujer AM, Bethel CR, Bonomo RA, Jacobs MR. Evaluation of updated interpretative criteria for categorizing *Klebsiella pneumoniae* with reduced carbapenem susceptibility. *J Clin Microbiol.* 2010; 48(12): 4417-25.
5. Bulik CC et al. Comparison of MEM MICs and susceptibilities for carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates by various testing methods. *J Clin Microbiol.* 2010; 48(7): 2402-6.
6. Health Protection Agency and the Advisory Committee on Antimicrobial Resistance and Healthcare Associated Infections (ARHAI) (kontakt: D. Livermoore). Advice on Carbapenemase Producers: Recognition, infection control and treatment. [internet] Publicirano: 31.01.2011. Pristop: 26. 9. 2013
7. HPA - Health Protection Agency. (2013). Laboratory Detection and Reporting of Bacteria with Carbapenem-Hydrolysing β -lactamases (Carbapenemases). UK Standards for Microbiology Investigations. P 8 issue 1. [internet] <http://www.hpa.org.uk/SMI/pdf>. Pristop: 26. 9. 2013
8. Willems E, Verhaegen J, Magerman K, Nys S, Cartuyvels R. Towards a phenotypic screening strategy for emerging β -lactamases in Gram-negative bacilli. *Int J Antimicrob Agents.* 2013; 41(2): 99-109.
9. Pasteran F, Mendez T, Guerriero L, Rapoport M, Corso A. Sensitive screening tests for suspected class A carbapenemase production in species of Enterobacteriaceae. *J Clin Microbiol.* 2009; 47(6): 1631-9.
10. Vading M, Samuelsen Ø, Haldorsen B, Sundsfjord AS, Giske CG. Comparison of disk diffusion, Etest and VITEK2 for detection of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* with the EUCAST and CLSI breakpoint systems. *Clin Microbiol Infect.* 2011; 17(5):668-74.
11. CDC. Guidance for Control of Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. CDC 2012. [internet] <http://www.cdc.gov/hai/pdfs/cre/CRE-guidance-508.pdf> Pristop: 26. 9. 2013
12. Landman D. et al. Accuracy of Carbapenem Nonsusceptibility for Identification of KPC-Possessing Enterobacteriaceae by Use of the Revised CLSI Breakpoints. *J Clin Microbiol.* 2011 November; 49(11): 3931–3933.
13. Nordmann P, Poirel L, Dortet L. Rapid detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Emerg Infect Dis.* 2012; 18(9): 1503-7.