

# EVOLUȚIA SENSIBILITĂȚII LA ANTIBIOTICE A TULPINILOR DE *E.COLI*, *KLEBSIELLA SP.*, *ENTEROBACTER SP.* ȘI *PS. AERUGINOSA*

Adriana Slavcovici<sup>1</sup>, Mihaela Lupse<sup>1</sup>, Mirela Flonta<sup>2</sup>, Virginia Zanc<sup>1</sup>, Dumitru Carstina<sup>1</sup>, Adrian Dicea<sup>2</sup>, Dragoș Vesbianu<sup>3</sup>

<sup>1</sup>UMF „Iuliu Hatieganu” Cluj-Napoca, Clinica de Boli Infecțioase

<sup>2</sup>Spitalul Clinic de Boli Infecțioase Cluj-Napoca

<sup>3</sup>Medic rezident Rochester General Hospital New York, USA

## REZUMAT

**Obiective:** Aprecierea în dinamica a sensibilității la antibiotice a tulpinilor de *E.Coli*, *Enterobacter sp.*, *Klebsiella sp.*, *Ps.aeruginosa*.  
**Material și metodă:** S-a determinat sensibilitatea la antibiotice prin metoda difuzimetrică și/sau cu sistemul API(bioMerieux) la 1275 tulpini de *E.Coli*, *Klebsiella sp.*, *Enterobacter sp.*, *Ps.aeruginosa* în perioada 1998-2002 și 2003-2004.

**Rezultate:** La tulpinile de *E.Coli* s-a constatat o sensibilitate constantă la antibiotice în cele 2 perioade. La *Klebsiella sp.* s-a înregistrat o reducere semnificativă a sensibilității la ceftriaxon, ceftazidim, gentamicină în perioada 2003-2004 ( $p<0,05$ ) și o creștere a tulpinilor multirezistente și producătoare de ESBL. Majoritatea tulpinilor de *Enterobacter sp.* au fost sensibile la colistin, imipenem, amikacina. La *Ps.aeruginosa* s-a constatat o scădere importantă a tulpinilor sensibile la ceftazidim (37% respectiv 26,6%), ciprofloxacina (46,2% respectiv 32%), amikacina (74,3% respectiv 52%) și o creștere semnificativă a tulpinilor multirezistente de la 23,75% la 41,3%.

**Concluzii:** 1. Frecvența scăzută a sensibilității tulpinilor studiate la cefalosporine gen.III, gentamicina și ciprofloxacina. 2. Creșterea în dinamica a tulpinilor multirezistente sau producătoare de ESBL. 3. Se impune un program de supraveghere a sensibilității/resistenței la nivel regional și național.

**Cuvinte cheie:** sensibilitate la antibiotice, *E.Coli*, *Enterobacter sp.*, *Klebsiella sp.*, *Ps. aeruginosa*

## ABSTRACT

**Objectives:** The aim of the study is to determine the antimicrobial susceptibility of *E.Coli*, *Enterobacter sp.*, *Klebsiella sp.*, *Ps .aeruginosa*.

**Methods:** Antibiotics susceptibility testing was performed by disk diffusion method and/or with API system according to NCCLS guidelines for *E.Coli*, *Klebsiella sp.*, *Enterobacter sp.*, *Ps .aeruginosa*.

**Results:** Our results demonstrated the same antibiotics susceptibility of *E.Coli* in the periods studied. The study showed a significant decreasing in susceptibility of *Klebsiella sp.* for ceftriaxone, ceftazidime, gentamicin between 2003-2004 ( $p<0,05$ ) and increasing of multi-drug-resistant strains. The majority of *Enterobacter sp.* strains were susceptible for colistin, imipenem and amikacin. In *Ps.aeruginosa* it was an important decreasing of the susceptibility for ceftazidime (37% vs.26,6%) ciprofloxacin (46,2% vs.32%) , amikacin (74,3% vs.52%) and a significant increasing of multi-drug-resistant strains from 23,7% to 41%.

**Conclusions:** 1. The decreasing frequency of the strains susceptibility to cephalosporin gen.III, gentamicin, ciprofloxacin. 2. The increasing of the multi-drug-resistant and ESBL strains. 3. It is necessary surveillance programme of the antibiotics susceptibility and resistance at regional and national level.

**Key words:** antibiotics susceptibility, *E.Coli*, *Enterobacter sp.*, *Klebsiella sp.*, *Ps. aeruginosa*

## INTRODUCERE

O cauză importantă a eșecului terapeutic în infecțiile cu bacilli Gram-negativ (BGN) o constituie rezistența bacteriană la antibiotice. Presiunea de selecție a antibioticelor, prin efecte directe și indirecte, a determinat o creștere a frecvenței infecțiilor comunitare sau nosocomiale cu tulpini rezistente și multirezistente (1,2). Antibiotico-terapia excesivă reduce biodiversitatea bacteriană favorizând colonizarea gazdei umane cu germeni oportuniști rezistenți la diverse antimicrobiene. La

ora actuală bolile infecțioase reprezintă o problemă majoră pentru sănătate datorită fenotipurilor de rezistență la care nu se mai pot aplica protocoalele terapeutice clasice (3).

## OBIECTIVE

Scopul studiului este aprecierea în dinamica a sensibilității la antibiotice a tulpinilor de *E.Coli*, *Ps.aeruginosa*, *Enterobacter sp.*, *Klebsiella sp.* și compararea datelor obținute în perioada 1998-2002 și 2003-2004. Rezultatele sunt utile în

alegerea antibioticoterapiei de prima intenție dar și în corelarea rezistenței cu factorii favorizanți de apariție sau răspândire.

## MATERIAL ȘI METODĂ

Au fost incluse în studiu tulpinile comunitare și nosocomiale de *E.Coli*, *Klebsiella* sp., *Ps.aeruginosa*, *Enterobacter* sp., izolate și identificate în laboratorul Clinicii de Boli Infecțioase Cluj-Napoca în perioada 1998-2002 și 2003-2004. Bacteriile au fost izolate din: hemoculturi, din catetere venoase centrale, LCR, sputa/aspirat traheal, lichid pleural, urina, din secrețiile purulente, lichid pericardic, ascita. Hemoculturile s-au realizat în sistem automat BacT/Alert. Au fost incluse doar cazurile la care cel puțin 2 hemoculturi au fost pozitive. În situația cateterelor venoase, a aspiratului traheal și a uroculturii s-a utilizat metoda semicantitativă. Identificarea tulpinilor s-a realizat pe baza caracterelor de cultură, biochimice și/sau cu sistemul API(bioMerieux). Sensibilitatea și rezistența la diferite antibiotice s-a efectuat difuzimetric și/sau cu sistemul API (bioMerieux). Interpretarea testelor de sensibilitate in vitro a delimitat 3 categorii cu semnificație clinică: sensibil (S), rezistent (R), intermediar (I).

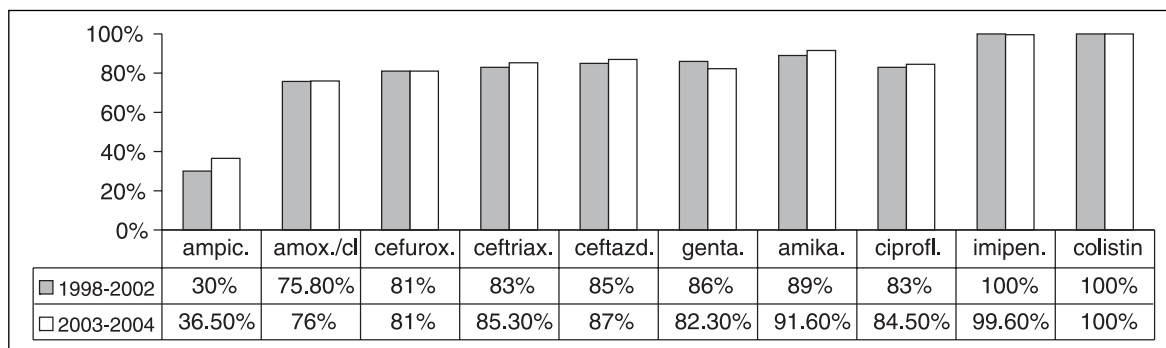
Antibiograma s-a realizat în conformitate cu cerințele NCCLS reactualizat în fiecare an. Detectarea betalactamazelor ESBL la *E.Coli* și *Klebsiella* sp. s-a efectuat prin metoda screening difuzimetrică utilizând discuri cu ac.clavulanic, tazobactam, ceftriaxon, ceftazidim, cefoxitin, aztreonam, conform protocoalelor existente. Deși nu este standardizată, prin aceeași metodă s-a determinat prezența ESBL la *Enterobacter* sp., *Ps.aeruginosa*. Analiza statistică a datelor obținute a fost realizată cu programul EPIINFO6.

## REZULTATE

Studiul a cuprins 1275 de tulpini de *E.Coli*, *Ps.aeruginosa*, *Enterobacter* sp., *Klebsiella* sp., respectiv 799 în perioada 1998-2002 și 476 în perioada 2003-2004. În intervalul 1998-2002 s-au înregistrat 409 tulpini de *E.Coli*, 110 tulpini de *Klebsiella* sp., 120 tulpini de *Enterobacter* sp. și 160 tulpini de *Ps.aeruginosa*. În intervalul 2003-2004 s-au înregistrat 238 tulpini de *E.Coli*, 102 tulpini de *Klebsiella* sp., 61 tulpini de *Enterobacter* sp. și 75 tulpini de *Ps.aeruginosa*. Datele privind sensibilitatea speciilor bacteriene la antibiotice precum și prezența betalactamazelor sunt redate în tabelele 1, 2, 3, 4 și figurile 1, 2, 3, 4.

**Tabelul 1.**  
Sensibilitatea in vitro a 647 tulpini de *E.Coli*

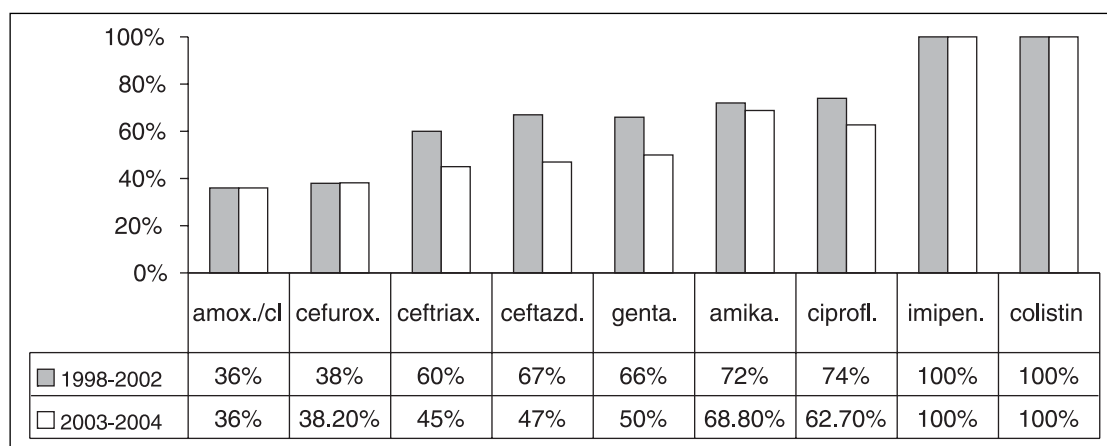
Caracteristici Antibiotic	Sensibilitatea în perioada 1998-2004 647 tulpini		Sensibilitatea în perioada 1998-2002 409 tulpini		Sensibilitatea în perioada 2003-2004 238 tulpini	
	Nr. tulpini S	%	Nr. tulpini S	%	Nr. tulpini S	%
Ampicilina	210	32,5%	123	30%	87	36,5%
Amoxicilina/clav.	491	75,8%	310	75,8%	181	76%
Cefuroxim	524	81%	331	81%	193	81%
Ceftriaxon	542	83,7%	339	83%	203	85,3%
Ceftazidim	555	85,8%	348	85%	207	87%
Gentamicina	548	84,7%	352	86%	196	82,3%
Amikacina	582	90%	364	89%	218	91,6%
Ciprofloxacina	540	83,5%	339	83%	201	84,5%
Imipenem	646	99,8%	409	100%	237	99,6%
Colistin	647	100%	409	100%	238	100%
ESBL	51	7,8%	31	7,6%	20	8,4%
Tulpini multi-rezistente	48	7,4%	31	7,5%	17	7,1%



**Figura 1.**  
Sensibilitatea in vitro a 647 tulpini de *E.Coli*

**Tabelul 2.**Sensibilitatea in vitro a 212 tulpini de *Klebsiella sp.*

Antibiotic	Sensibilitatea în perioada 1998-2004 212 tulpini		Sensibilitatea în perioada 1998-2002 110 tulpini		Sensibilitatea în perioada 2003-2004 102 tulpini	
	Nr. tulpini S	%	Nr tulpini S	%	Nr. tulpini S	%
Amoxicilina/clav.	77	36,3%	40	36%	37	36%
Cefuroxim	81	38,2%	42	38%	39	38,2%
Ceftriaxon	112	52,8%	66	60%	46	45% p = 0,02
Ceftazidim	121	57%	73	67%	48	47% p = 0,004
Gentamicina	123	58%	72	66%	51	50% p = 0,002
Amikacina	149	70,3%	79	72%	70	68,8%
Ciprofloxacina	145	68,4%	81	74%	64	62,7%
Imipenem	212	100%	110	100%	102	100%
Colistin	212	100%	110	100%	102	100%
<b>ESBL</b>	<b>56</b>	<b>26,4%</b>	<b>23</b>	<b>21%</b>	<b>33</b>	<b>32,3%</b>
<b>Tulpini multi-rezistente</b>	<b>49</b>	<b>23,1%</b>	<b>24</b>	<b>21,8%</b>	<b>25</b>	<b>24,5%</b>

**Figura 2.**Sensibilitatea in vitro a 212 tulpini de *Klebsiella sp.***Tabelul 3.**Sensibilitatea in vitro a 181 tulpini de *Enterobacter sp.*

Antibiotic	Sensibilitatea în perioada 1998-2004 181 tulpini		Sensibilitatea în perioada 1998-2002 120 tulpini		Sensibilitatea în perioada 2003-2004 61 tulpini	
	Nr. tulpini S	%	Nr. tulpini S	%	Nr. tulpini S	%
Ceftriaxon	86	47,5%	60	50%	26	42,6%
Ceftazidim	106	58,5%	72	60%	34	55,7%
Gentamicina	107	59,1%	79	66%	28	46%
Amikacina	137	75,7%	88	73%	49	80%
Ciprofloxacina	146	80,6%	100	83%	46	76%
Imipenem	181	100%	120	100%	61	100%
Colistin	164	90,6%	120	100%	61	100%
<b>Posibil ESBL</b> (p = 0,0006)	<b>29</b>	<b>16%</b>	<b>11</b>	<b>9,1%</b>	<b>18</b>	<b>29,5%</b> (p = 0,006)
<b>Tulpini multi-rezistente</b>	<b>26</b>	<b>14,3%</b>	<b>16</b>	<b>13,3%</b>	<b>10</b>	<b>16,4%</b>

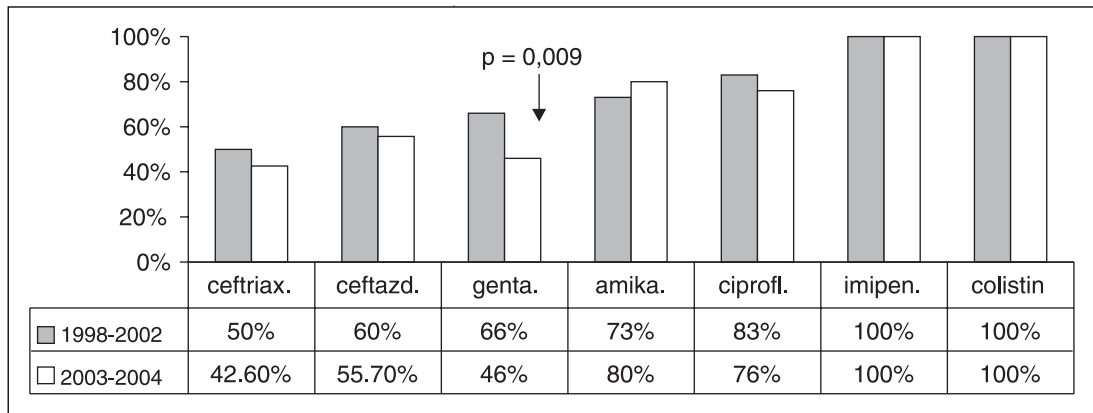


Figura 3.

Sensibilitatea in vitro a 181 tulpini de Enterobacter sp

Tabelul 4.

Sensibilitatea in vitro a 235 tulpini de Ps.aeruginosa

Caracteristici	Sensibilitatea în perioada 1998-2004 235 tulpini		Sensibilitatea în perioada 1998-2002 160 tulpini		Sensibilitatea in perioada 2003-2004 75 tulpini	
	Nr. tulpini S	%	Nr. tulpini S	%	Nr. tulpini S	%
Ceftriaxon	13	5,5%	10	6,3%	3	4%
Ceftazidim	79	33,6%	59	37%	20	26,6%
Gentamicina	75	32%	55	34,4%	20	26,6%
Amikacina	158	67,2%	119	74,3%	39	52%
Ciprofloxacina	98	41,7%	74	46,2%	24	32%
Imipenem	195	83%	133	83%	62	82,6%
Colistin	226	96,2%	152	95%	74	98,6%
<b>Posibil ESBL</b>	<b>33</b>	<b>14%</b>	<b>21</b>	<b>13,1%</b>	<b>12</b>	<b>16%</b>
<b>Tulpini multi-rezistente</b>	<b>69</b>	<b>29,3%</b>	<b>38</b>	<b>23,7%</b>	<b>31</b>	<b>41,3%</b>

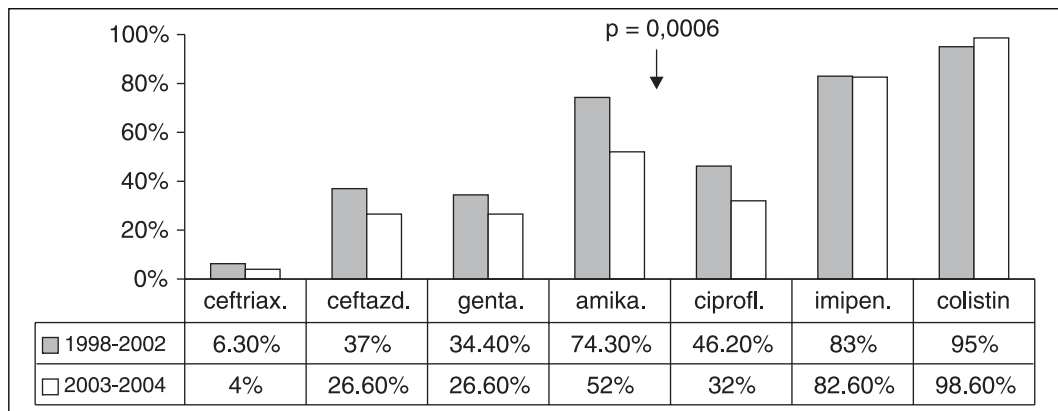


Figura 4.

Sensibilitatea in vitro a 235 tulpini de Ps.aeruginosa

## DISCUȚII

Selectarea și răspândirea tulpinilor rezistente la antibiotice rămâne o problemă clinică importantă. Bacilii Gram-negativ prezintă numeroase mecanisme de rezistență, plasmidice sau cromozomiale, constitutive sau inductibile: prezența betalactamazelor sau a enzimelor de modificare a moleculei de antibiotic, impermeabilitatea membranei ex-

terne, sistemele de eflux, modificări ale moleculelor țintă (2,3,4,5,6,7). Varietatea mecanismelor biochimice, determinismul genetic al rezistenței și presiunea de selecție a antibioticelor au determinat o prevalență crescută a tulpinilor de BGN rezistente la antibiotice. Raportarea periodică a sensibilității diferitelor bacterii la antibiotice constituie un obiectiv major în instituirea unei terapii de prima intenție adecvată, în realizarea ghidurilor

terapeutice în conformitate cu fenotipul de rezistență într-un areal geografic și în realizarea unei strategii de prevenire a rezistenței. În studiul prezent acuratețea datelor obținute se bazează pe numărul mare de tulpini de bacili Gram-negativi testate precum și realizarea antibiogrammei în conformitate cu cerințele NCLLS. La tulpinile de *E.Coli* izolate s-a constatat o frecvență scăzută a sensibilității la ampicilină și amoxicilina/clavulanat, spre deosebire de rezultatele înregistrate de majoritatea statelor participante la programul EARSS (8). Aceste rezultate sunt probabil consecința utilizării îndelungate și excesive a acestor antibiotice cu selectarea în timp a tulpinilor rezistente (atât comunitar cât și nosocomial). Deși tulpinile de *E.Coli* s-au izolat cel mai frecvent în infecțiile cu BGN, nu s-au constatat diferențe semnificative comparând sensibilitatea în cele două perioade ( $p > 0,05$ ), respectiv se remarcă o sensibilitate constantă în timp. De asemenea prezența betalactamazelor ESBL a fost constant scăzută în cele două perioade (7,6% respectiv 8,4%). La tulpinile de *Klebsiella* sp., și *Enterobacter* s-a constatat o frecvență redusă a sensibilității la betalactamine cu excepția carbapenemelor. În cazul speciilor de *Klebsiella* s-a înregistrat o reducere semnificativă a sensibilității la ceftriaxon, ceftazidim și gentamicina comparând cele două intervale de timp studiate ( $p = 0,029$ ,  $p = 0,004$  respectiv  $p = 0,02$ ). Acest fapt subliniază o utilizare excesivă a acestor antibiotice și selectarea tulpinilor cu rezistență prin mecanism enzimatic sau prin realizarea pompelor de eflux. Unii autori au constatat prezența genelor ce confera rezistența enzimatică la betalactamine și aminoglicozide la nivelul aceleiași plasmide. De asemenea în cele 2 perioade studiate, la tulpinile de *Klebsiella* sp. s-a înregistrat o prevalență crescută a betalactamazelor ESBL (21% respectiv 32,3%) și a tulpinilor multirezistente (21,8% respectiv 24,5%), posibil datorită ponderii importante a infecțiilor nosocomiale și a selectării tulpinilor cu diverse mecanisme de rezistență. Majoritatea tulpinilor de *Enterobacter* sp. au fost sensibile la colistin, imipenem, amikacina și ciprofloxacina, înregistrându-se o scădere semnificativă a sensibilității la gentamicină ( $p = 0,009$ ) în perioada 2003-2004. Deși ne semnificativ statistic, s-a constatat scăderea tulpinilor sensibile la ciprofloxacina (de la 83% la 76%). Rezistența față de cefalosporine a fost parțial determinată de prezența betalactamazelor ESBL (9,1% respectiv 29,5%). Compararea frecvenței betalactamazelor ESBL în cele 2 perioade relevă diferențe semnificative statistic ( $p = 0,0004$ ). Aceste rezultate referitoare

la ESBL nu sunt certe prin lipsa unui protocol de identificare difuzimetrică double-disk. Asocierea betalactamazelor cu alte mecanisme de rezistență enzimatică sau prin eflux au determinat prezența tulpinilor multirezistente (13,3% respectiv 16,4%). *Ps.aeruginosa*, bacterie ubiquitară, ridică probleme majore de tratament antibiotic mai ales în infecțiile nosocomiale, constatându-se o frecvență alarmant de scăzută a sensibilității la ceftazidim (37% respectiv 26,6%), ciprofloxacina (46,2% respectiv 32%) și amikacina (74,3% respectiv 52%). Sensibilitatea scăzută la ciprofloxacina este consecință utilizării excesive a fluoroquinolonelor în infecții urinare, digestive și respiratorii. La *Ps. aeruginosa* apare mai rapid rezistența de nivel crescut la ciprofloxacina, spre deosebire de enterobacteriacee, fiind suficientă o singură mutație cromozomială. Deși nu este stabilit un protocol de detectare difuzimetrică a betalactamazelor ESBL la tulpinile de *Ps.aeruginosa*, utilizând testul screening double-disk am suspiciat prezența ESBL în 13,1% respectiv 16% din cazuri. O altă cauză posibilă a rezistenței la cefalosporine este prezența pompelor de eflux sau alterarea porinelor, cu atât mai mult cu cât am constatat o pondere importantă a tulpinilor multirezistent de *Ps. aeruginosa*. Comparând datele celor două intervale de timp se remarcă scăderea semnificativă a sensibilității la amikacina de la 74,3% la 52% ( $p = 0,0006$ ) și creșterea semnificativă a tulpinilor multirezistente de la 23,75% la 41,3% ( $p = 0,005$ ). Ca și în cazul celorlalte bacterii Gram-negativ, multirezistența la antibiotice apare prin asocierea diferitelor mecanisme de rezistență, răspândirea ei fiind facilitată de transferul plasmidic sau prin transposoni a genelor de rezistență și presiunea de selecție a antibioticelor mai ales în serviciile de terapie intensivă (9,10,11). S-a constatat o frecvență alarmant de scăzută a sensibilității tulpinilor de *Klebsiella* sp., *Enterobacter* sp. și *Ps.aeruginosa* la diferite antibiotice comparativ cu alte studii multicentrice (12,13,14). În general la tulpinile testate s-a înregistrat o pondere importantă a cazurilor cu sensibilitate la imipenem și colistin cu o sensibilitate ușor crescută a colistinului față de imipenem. Indicațiile terapeutice ale colistinului sunt destul de restrictive datorită efectelor nefrotoxice și cunoașterea doar parțială a farmacodinamiei sau farmacocineticii in vivo (intra- și extracelular). Utilizarea excesivă a antibioticelor a facilitat atât câștigarea cât și răspândirea rezistenței în flora bacteriană endo- sau exogenă. Rezistența la antibiotice reprezintă un mecanism adaptativ de supraviețuire a bacteriei în condiții de stress. În era modernă a

medicinii bolile infecțioase sunt o problemă importantă de sănătate prin diversitatea fenotipurilor de rezistență netratabile prin clasicile protocoale terapeutice. De asemenea se constată la ora actuală o creștere a infecțiilor cronice cu oportuniști rezistenți la multiple antibiotice. Factori deosebit de importanți în reducerea rezistenței dar în general neglijați în practica medicală sunt: igiena microclimatului și a mâinilor, protejarea florei normale endogene, utilizarea rațională a antibioticelor cu spectru larg sau ultralarg și doar la indicația infectologului, profilaxia infecțiilor prin vaccinare la bolnavii imunocompromisi. De asemenea strategiile de prevenire a rezistenței includ utilizarea în viitor a unor antibiotice bactericide față de tulpinile rezistente prin betalactamaze dar capabile să selecteze tulpinile sensibile, noi familii de antibiotice cu alte mecanisme de acțiune respectiv alte molecule țintă, utilizarea unor substanțe cu rol inhibitor asupra pompelor de eflux sau față de betalactamazele de clasa C (15).

## CONCLUZII

1. În general s-a înregistrat o frecvență alarmant de scăzută a sensibilității la cefalosporinele generației III, ciprofloxacina și gentamicina la enterobacteriacee și *Ps. aeruginosa*
2. Comparând cele 2 perioade studiate s-a constatat reducerea semnificativă a sensibilității la aminoglicozide și ciprofloxacina
3. Se remarcă frecvența crescută a tulpinilor producătoare de ESBL și a tulpinilor multirezistente
4. Se impune un program complex de supraveghere a sensibilității/rezistenței la antibiotice la nivel regional și național precum și corelarea cu consumul cantitativ de antibiotice (DDD)

## BIBLIOGRAFIE

1. **Marc Lipsitch, Matthew H Samore** – Antimicrobial Use and Antimicrobial Resistance: A Population Perspective. *Emerg Infect Dis* 2002 May;8(5):540.
2. **David M Livermore** – Betalactamase-mediated resistance and opportunities for its control; *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* – 1998, 41, suppl.D:25-41
3. **Ronald N Jones, Fernando Baquero, Gaetano Privitera et al** – Inducibile  $\beta$ -lactamase-mediated resistance to third-generation cephalosporins. *Clinical Microbiology and Infection* – 1997, vol.3, suppl.1:S7-S18
4. **Paulette Charlier, Jacques Coyette, et al** – Resistance bacterienne aux betalactamines; *Medicine/sciences* –1998, 14:544-555
5. **S.G.B. Amyes, R.S.Miles** – Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: the role of inhibitors in therapy. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* – 1998, 42:415-417
6. **Jousha Fierer, Donald Guiney** – Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases. *JAMA* –1999, vol.281, no.6:563-564
7. **C.J.Soussy et al.** – Comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie. Communiqué1999. *Méd. Mal. Infect.* – 2000, 30:11-42
8. **European Antimicrobial Resistance Surveillance System.** Internet: <http://www.ears.rivm.nl/>
9. **Ziha-Zarifi, I., C. Llanes, T. Köhler, J.-C. Pechère and P. Plésiat** – Emergence of multidrug resistance in clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa* due to overexpression of the MexA-MexB-OprM active efflux system. *Antimicrob. Agents Chemother.* -1999, 43: 287-291
10. **Kohler T, Curty LK, Barja F, van Delden C, Pechere JC.** – Swarming of *pseudomonas aeruginosa* is dependent on cell-to-cell signaling and requires flagella and pili. *J Bacteriol.* 2000 Nov;182(21):5990-6.
11. **Pechère JC and T. Köhler.** – Patterns and mode of beta-lactam resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin. Microbiol.Infect.*-1999 5 :S15-S18
12. **J. Van Eldere** – Multicentre surveillance of *Pseudomonas aeruginosa* susceptibility patterns in nosocomial infections. *J. Antimicrob. Chemother.*, Feb 2003; 51: 347 – 352
13. **Keith Poole** – Aminoglycoside Resistance in *Pseudomonas aeruginosa* *Antimicrob. Agents Chemother.* 2005 49: 479-487.
14. **José L. Martínez and Fernando Baquero** – Interactions among Strategies Associated with Bacterial Infection: Pathogenicity, Epidemicity, and Antibiotic Resistance, *Clin. Microbiol. Rev.* 2002 15: 647-679.
15. **Marin H. Kollef, MD; Scott T. Micek, PharmD; R Phillip Dellinger, MD** – FCCM Strategies to Prevent Antimicrobial Resistance in the Intensive Care Unit. *Critical Care Medicine* 2005, vol.33, no.8