



BETA-LAKTAMAZE PROŠIRENOG SPEKTRA DJELOVANJA KAO UZROK ŠIRENJA OTPORNOSTI BAKTERIJA NA ANTIBIOTIKE

Ibrahimagić Amir

Sažetak

Beta-laktamaze proširenog spektra djelovanja (engl. extended spectrum beta-lactamases, ESBL) su enzimi otkriveni u kasnim 1970-tim i ranim 1980-tim godinama među gram-negativnim bakterijama. Beta laktamski antibiotici se uobičajeno koriste za liječenje bakterijskih infekcija. U ovu grupu antibiotika spadaju penicilini, cefalosporini, karbapenemi i monobaktami. Beta laktamaze proširenog spektra djelovanja su enzimi koji hidroliziraju beta-laktamski prsten antibiotika, pri čemu poništavaju dejstvo antibiotika u terapiji. ESBL se najčešće nalaze kod *E. coli* i *K. pneumoniae*, ali se također mogu pojaviti i kod ostalih gram-negativnih bakterija, uključujući vrste *Enterobacter*, *Salmonella*, *Proteus*, *Citrobacter*, *Providentia*, *Morganela morganii*, *Serratia marcescens*, *Shigela dysenteriae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Burcholderia cepacia* i *Capnocytophaga ochrocea*. Porast učestalosti ESBL-producirajućih sojeva i njihovo značenje za odabir prave antimikrobne terapije, ukazao je na potrebu razvoja adekvatnih laboratorijskih testova za detekciju ESBL i njihovu identifikaciju. Metode za detekciju ESBL mogu biti fenotipske (metode kliničke mikrobiologije) ili molekularne.

Autor za korespondenciju:

Doc. dr. sc. Amir Ibrahimagić,
dipl. ing. MLD

**Institut za zdravlje i sigurnost
hrane Zenica**

Služba za hemijsku dijagnostiku

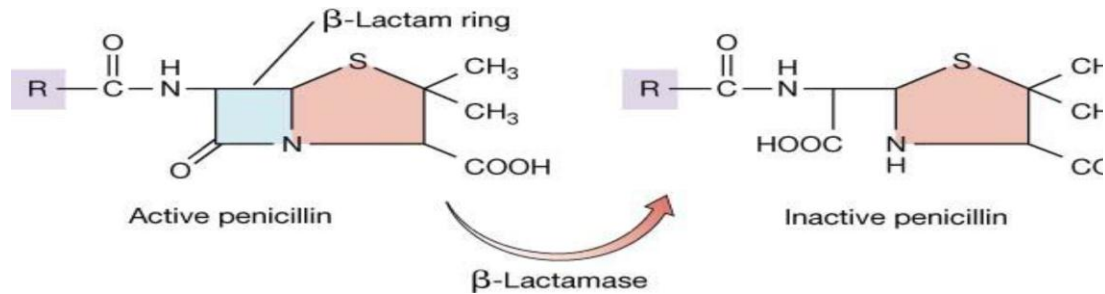
E-mail:

ibrahimagic.amir@gmail.com

Tel: +38761/614-147

1.Uvod

Beta-laktamaze proširenog spektra su enzimi koji se jako brzo razvijaju sa sposobnošću hidrolize i prouzrokovanja rezistencije na oksiminocefalosporine (cefotaksim, ceftazidim, ceftriakson, cefuroksim i cefepim), na monobaktame (aztreonam), ali ne i na cefamicine (cefoksitin i cefotetan) ili na karbapeneme (imipenem, meropenem i eritapenem) kod Gram negativnih bakterija, osobito kod *E. coli* i *Klebsiella pneumoniae* (1, 2, 3). Ovi enzimi se vežu na ciljno mjesto djelovanja penicilina (engl., protein binding protein, PBP), sa kojima čine homolognu sekvencu i dovode do njegovog inaktiviranja (4) (Slika 1). Većina beta-laktamaza djeluje tako da se najprije serinsko aktivno mjesto enzima nekovalentno veže s antibiotikom stvarajući nekovalentni Michelisov kompleks (5).



Slika 1. Prikaz razgradnje beta-laktamskog prstena pomoću enzima beta-laktamaze (Izvor: Samaha-Kfoury JN, Araj GF. Recent development in beta-lactamases and extended spectrum beta-lactamases. BMJ 2003; 327:1209-13.) (4).

Djelovanje beta-laktamaza ovisi o njihovom afinitetu za određeni supstrat, brzini hidrolize supstrata, količini enzima i propusnosti vanjske membrane gram-negativnih bakterija (6). Do sada je poznato više od 500 beta-laktamaza koje se razlikuju po jedinstvenom slijedu aminokiselina i fenotipskim obilježjima (7).

S obzirom na porijeklo, beta-laktamaze mogu biti kromozomske ili plazmidne. Kromozomske beta-laktamaze mogu biti konstitutivne ili inducibilne (5).

Konstitutivne kromozomske beta-laktamaze se neprestano stvaraju, bez obzira na prisustvo beta-laktamskog antibiotika (6).

Inducibilne kromozomske beta-laktamaze se stvaraju samo u slučaju kada je bakterija izložena djelovanju beta-laktamskog antibiotika (5). Neke bakterije imaju konstitutivne beta-laktamaze i stalno luče male količine enzima, ali kada su izložene djelovanju beta-laktamskog antibiotika, povećavaju višestruku količinu izlučenog enzima (8).

Plazmidne beta-laktamaze su kodirane prenosivim genetskim elementima - plazmidima i transposomima (9). Ustanovljeno je da su plazmidi i transposomi posredovali u širenju TEM-1 beta-laktamaza *E. coli* na druge vrste bakterija (10). Plazmidne beta-laktamaze nisu specifične za vrstu kao kromozomske, već se mogu širiti među različitim vrstama i rodovima bakterija (4). Među gram-negativnim bakterijama šire se konjugacijom, a među gram-pozitivnim bakterijama pomoću bakterijskih virusa - bakteriofaga (11).

Brojni rodovi gram-negativnih bakterija posjeduju kromozomski kodirane beta-laktamaze (5). Nastajanje ovih beta-laktamaza se povezuje sa selektivnim pritiskom beta-laktamskih antibiotika koje luče neki mikroorganizmi prisutni u okolišu (4). Paralelno sa uvođenjem novih antibiotika u liječenje infekcija, kao posljedica selektivnog pritiska i prevelike uporabe, nastajale su nove vrste beta-laktamaza koje su uzrokovale otpornost (rezistenciju) bakterija na antibiotike (5).



2. TIPOVI BETA-LAKTAMAZA PROŠIRENOG SPEKTRA

Najvećim dijelom ESBL su derivati TEM-1 i TEM-2 (plazmidno kodirane beta-laktamaze *E. coli*) ili SHV-1 (kromozomski kodirani enzimi *K. pneumoniae*) (4, 12). Međutim, posljednjih godina su CTX-M beta-laktamaze postale najraširenija varijanta ESBL (13) i u stalnom su porastu u većini zemalja. Klasifikacija po Richmond i Sykesu je bazirana na vrsti podloge i lokaciji kodiranih gena beta-laktamaza (14). Hidroliza beta-laktamskog prstena postoji kod svih beta-laktamaza i to nije svojstvo koje je tipično za ESBL, njih karakterizira sposobnost hidrolize cefalosporina treće i četvrte generacije. Tačkaste mutacije razlikuju pojedine varijante ESBL. Sve varijante imaju mutaciju na poziciji 238 i ona je odgovorna za hidrolizu novijih cefalosporina.

2.1. TEM beta-laktamaze

TEM-1 je najčešća beta-laktamaza gram-negativnih bakterija (5). Gotovo 90% otpornosti na ampicilin kod *E. coli* je uzrokovano produkcijom TEM-1 (5). TEM-1 je također odgovorna za otpornost na penicilin i ampicilin sojeva *H. influenzae* i *N. gonorrhoeae*. TEM-1 hidrolizira peniciline i starije cefalosporine, poput cefalotina i cefaloridina. Prva mutanta nastala od TEM-1 nakon jedne jedine tačkaste mutacije aminokiselina je TEM-2 (5). Ta mutacija je dovela do pomicanja izoelektrične tačke (pI) od 5.4 na 5.6, ali nije uzrokovala promjenu supstratnog širom svijeta (16).

profila pa se TEM-1 i TEM-2 smatraju biohemijskim blizancima (15). Od pojave prve TEM- ESBL, TEM-3, do danas je otkriveno više od 130 TEM enzima od kojih su neki otporni na inhibitore β -laktamaza (5). TEM beta-laktamaze su primarno otkrivene u Francuskoj, no danas su zastupljene širom svijeta (16). TEM beta-laktamaze otporne na inhibitore (engl, inhibitor-resistant TEM, IRT) nisu ESBL (5), mada su one često spominjane kao ESBL budući su također derivati klase TEM ili SHV enzimskog tipa (4). Nastale su ranih 1990-ih kao odgovor bakterija na uvođenje inhibitora beta-laktamaza u kliničku praksu (4, 5). Ove su beta-laktamaze otporne na djelovanje klavulanske kiseline, te na kombinacije koje uključuju ove inhibitore, a inhibira ih tazobaktam kao i kombinacija piperacilina sa tazobaktamom (17). Beta-laktamaze otporne na ove inhibitore relativno slabo djeluju na cefalosporine treće generacije (15). Međutim, otkrivene su i takve mutante enzima (npr. TEM-68) koje predstavljaju kombinaciju ESBL i IRT fenotipova, te pokazuju otpornost na inhibitorno djelovanje klavulanata, a također i na cefalosporine proširenog spektra (18). Postoji barem 19 različitih inhibitor otpornih TEM beta-laktamaza (4).



2.2. SHV-1 beta-laktamaza

SHV-1 beta-laktamaza je urođena kromosomski kodirana beta-laktamaza širokog spektra tipična za *K. pneumoniae* dok je u ostalih enterobakterija kodirana plazmidno. SHV-1 beta-laktamaza je odgovorna za intrinzičnu rezistenciju *K. pneumoniae* na ampicilin. SHV-1 beta-laktamaza je prisutna u svih sojeva *K. pneumoniae*, jer je u njih ona kodirana kromozomski (19). Po svojoj strukturi SHV-1 je u 68% slijeda aminokiselina identična TEM-1 (19). SHV beta-laktamaze nisu raznolike kao TEM, ima ih manje (5). Do sada je pronađena samo jedna varijanta koja je otporna na djelovanje inhibitora (inhibitor otporni fenotip). To je enzim SHV-10 koji je derivat SHV-5 enzima (5). Enzim hidrolizira penicilin, ali je značajno reducirana njegova sposobnost inaktivacije cefalosporina (20). Iako većinu ESBL luče sojevi *K. pneumoniae*, ova vrsta enzima dokazana je i u sojeva *E. coli*, *Citrobacter diversus* i *P. aeruginosa* (21).

2.3. CTX-M beta-laktamaze

CTX-M skupina beta-laktamaza je relativno novija skupina ESBL koja hidrolizira cefalotin ili cefaloridin bolje od benzilpenicilina, te dobro hidrolizira cefotaksim i ceftriakson, a slabo ceftazidim (5). Tazobaktam ih deseterostruko jače inhibira od klavulanske kiseline (22). CTX-M enzimi su potekli od kromozomskih AmpC beta-laktamaza bakterijske vrste *Klyvera ascorbata* i *K. georgiana* horizontalnim prijenosom gena. CTX-M skupina beta-laktamaza pokazuju relativno malu srodnost s TEM i SHV enzimima.

Prva CTX-M beta-laktamaza (CTX-M-1) otkrivena je 1989. godine u Njemačkoj, ubrzo i u Argentini (23), a do danas ova skupina broji više od 30 enzima (6). Najčešće ih luče sojevi *E. coli*, *K. pneumoniae* i *Salmonella Enterica* serovar *Typhimurium*, ali su opisane i u drugih vrsta enterobakterija. Njihovo širenje je najprije bilo izraženo u Južnoj Americi, da bi se do danas proširile na niz zemalja kao što su Španjolska (CTX-M-9, CTX-M-10, CTX-M-14), Poljska (CTX-M-3, CTX-M-15), Francuska (CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-3, CTX-M-9, CTX-M-14, CTX-M-20, CTX-M-21), Japan, Tajvan, Engleska i brojne druge (5). Njihova prevalencija među bakterijama u većem dijelu svijeta se dramatično povećala 1995. godine (23). U Njemačkoj početkom 1989. Bauernfeind i sur. su izvjestili o *E. coli* otpornoj na cefotaksim koja je producirala non-TEM i non-SHV ESBL, označene kao CTX-M-1, a koja je imala hidrolitičku aktivnost prema cefotaksimu. U Poljskoj, Gniadkowski et al. su 1996. otkrili varijantu CTX-M-1, i označili je sa CTX-M-3, kod različitih vrsta porodice Enterobacteriaceae. Epidemiološki izvještaji pokazuju da su neki enzimi mnogo učestaliji, pogotovo u klasi CTX-M beta-laktamaza u različitim državama. *E. coli* koja producira CTX-M-15 beta-laktamazu predstavlja veliki problem u svijetu, još od 2003. godine, i ona je važan patogen koji uzrokuje vanbolničke i bolničke infekcije (3). CTX-M enzimi (često CTX-M-14 i 27) su opisani u Aziji osobito u kasnim 1990-tim i ranim 2000-tim.



Izvještaji iz Indije pokazuju da *E. coli* koja producira CTX-M-15 je veoma zastupljena među vanbolničkim i bolničkim uzorcima a prvi puta je opisana u Indiji. CTX-M-15 je najrasprostranjenija CTX-M beta-laktamaza diljem svijeta i zastupljena širom Europe, Azije, Afrike, Sjeverne Amerike, Južne Amerike i Australije (3). Grupa 9 (CTX-M-9 i CTX-M-14) je zastupljena najviše u Španiji i grupa 1 enzima (osobito CTX-M-3 i CTX-M-15) u cijelom svijetu (24).

2.4. OXA beta-laktamaze

Skupina OXA (engl., oxacilin-hydrolysing) je još jedna rastuća skupina ESBL koja je rasprostranjena među sojevima *P. aeruginosa* izoliranim u nekim područjima Turske i Francuske, među sojevima *Acinetobacter* spp., ali i u enterobakterijama. Kako istovjetnost slijeda aminokiselina unutar OXA skupine iznosi samo 20-30% homologne sekvence među nekim članovima ove porodice, ona predstavlja više fenotipsku nego genotipsku grupu (15). Porodica OXA beta-laktamaza su fenotipski originalno kreirane u odnosu na genotipsku grupu kod nekoliko beta-laktamaza koje imaju specifičan profil hidrolize (4). OXA beta-laktamaze izazivaju otpornost na ampicilin i cefalotin, jako dobro hidroliziraju oksacilin i kloksacilin, a slabo su (osim OXA-18) inhibirane klavulanskom kiselinom. Zamjena aminokiselina kod OXA enzima može prouzrokovati ili dati ESBL fenotipove (25).

2.5. Ostale ESBL

U novije vrijeme pojavili su se enzimi koji imaju karakteristike ESBL, ali nisu srodni ni jednoj do tada poznatoj grupi ESBL enzima, npr. PER, BES-1, CME-1, VEB-1, SFO-1 (15). Prvi takav enzim je PER-1 beta-laktamaza koja je prvi put otkrivena u Turskoj kod izolata *P. aeruginosa* (26). Kasnije je otkrivena i u sojeva *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* i *A. baumannii*. PER-2 je beta-laktamaza koja ima 86% homologije u slijedu aminokiselina s PER-1, izolirana je u Argentini također iz sojeva *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium*. VEB-1 enzim izoliran je iz *E. coli* u Vijetnamu, a kasnije i iz *P. aeruginosa* u Tajlandu. CME-1 izolirana iz *Chryseobacterium meningosepticum*, a TLA-1 u Meksiku iz soja *E. coli* (27). Sve ove beta-laktamaze (PER-1, PER-2, VEB-1, CME-1, TLA-1) pokazuju samo 40-50% homologije u građi, uzrokujući otpornost na oksimino-cefalosporine, osobito na ceftazidim, te na aztreonam (4).

2.6. AmpC beta-laktamaze

Bakterije koje posjeduju AmpC beta-laktamaze otporne su na peniciline i cefalosporine, uključujući cefamicine te inhibitore beta-laktamaza (28). Rezistencija na cefamicine i inhibitore beta-laktamaza razlikuje ih od ESBL. Geni većine AmpC beta-laktamaza nalaze se na kromosomima i obično se nalaze u *P. aeruginosa*, *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *C. freundii*, *S. marscensens* i *M. morgani*. Plazmidne ampC beta-laktamaze su nastale prijenosom kromosomskog ampC gena navedenih vrsta na plazmid.



Ekspresija (konstitutivnih) AmpC beta-laktamaza niskog je stupnja bez utjecaja antibiotika.

Prve opisane plazmidne AmpC beta-laktamaze su CMY-1 (1989.) i MIR-1 (1990.), a do danas je opisano 20 različitih tipova (MIR, CMY, BIL, FOX, LAT, itd.) od kojih je najzastupljenija CMY-2. Bakterije koje posjeduju ESBL i AmpC beta-laktamaze predstavljaju veliki izazov za mikrobiologa i kliničara. U kombinaciji sa gubitkom porina, mikroorganizmi koji posjeduju AmpC beta-laktamaze otporne su i na karbapeneme (28).

2.7. Karbapenemaze

Karbapenemi su stabilni prema beta-laktamazama, jer ih ne hidroliziraju, osim karbapenemaza (25).

Nalazimo ih u izolatima enterobakterija i ne-fermentativnih bakterija kao što je *Pseudomonas aeruginosa* i *Acinetobacter baumannii*. Dijele se u klase A (GES, KPC, SME, IMI, NMC), B (IMP, VIM, SPM, GIM, SIM, NDM, DIM, AIM) i D (OXA-23, OXA-24, OXA-48, OXA-58, OXA-143).

2.7.1. Klasa A karbapenemaza

GES enzim iz grupe A karbapenemaza prvi put je izolovan u Francuskoj 1998. godine iz izolata *K. pneumoniae* (29).

Među enzimima klase A, značajno mjesto zauzima plazmidom-kodirana *Klebsiella pneumoniae* karbapenemaza (KPC). Postoje tri vrste, koje se razlikuju po zamjeni jedne ili dvije aminokiseline.

KPC-1 je pronađena u Južnoj Karolini, KPC-2 u Baltimoru i KPC-3 u New York-u. KPC klase A je najučestalija karbapenemaza, pronađena je u Južnoj Karolini, SAD-u, 1996 i poslije se proširila širom svijeta. Izvještaji pokazuju da su enterobakterije koje produciraju KPC postale jako učestale u državama SAD-a (30).

SME enzim iz grupe A karbapenemaza, prvi put je izolovan u Londonu 1982. godine iz izolata *Serratia marcescens* (31).

IMI enzim se javlja sporadično i prvi put je izolovan 1984. godine u SAD-u iz izolata *E. cloacae*, a NMC enzim u Francuskoj 1990. godine (32).

2.7.2. Klasa B karbapenemaza

IMP enzim prvi put je opisan 1990. godine u Japanu i izolovan je iz *P. aeruginosa*, a IMP-2 otkriven je u Italiji kod izolata *A. baumannii* (33).

Druga najveća porodica karbapenemaza jeste Verona integron kodirana metalo-beta-laktamaza (VIM porodica). Prvi gen izolovan je u Italiji 1996. i sada broji oko 10 članova, otkrivenih širom svijeta, u Europi, Sjevernoj Americi i dalekom Istoku, kao i u SAD-u. VIM-1 je opisana u *P. aeruginosa* u Italiji, 1996. godine (25). SPM-1 (Sao Paulo metalo-beta-laktamaza) je izolovana u Brazilu iz izolata *P. aeruginosa* (25).

GIM-1 (German imipenemaza) je prvi put opisana u Njemačkoj 2002. godine (29).

SIM-1 (Seoul imipenemaza) je otkrivena u Seoulu iz izolata *P. aeruginosa* i *A. baumannii* (29).

NDM-1 (New Delhi metalo-beta-laktamaza) je prvi put opisana 2009. godine u Indiji kod izolata *K. pneumoniae* (29).



2.7.3. Klasa D karbapemenaza (oksacilinaze)

Prva oksacilinaza je opisana u Škotskoj 1985. godine iz izolata *A. baumannii*. Poznato je preko 239 enzima, svrstanih u 9 podgrupa (OXA-23, OXA-24, OXA-48, OXA-50, OXA-51, OXA-55, OXA-58, OXA-60 i OXA-62) (33).

3. GEOGRAFSKA RASPROSTRANJENOST ESBL

Prevalencija enterobakterija koje proizvode beta-laktamaze proširenog spektra uvelike se razlikuje se s obzirom na zemljovidno područje.

Mikroorganizmi koji produciraju ESBL prvi put su otkriveni u Europi. Iako su prva izvješća bila iz Njemačke i Engleske, većina izvješća u prvom desetljeću nakon otkrića ESBL bila su iz Francuske (34). Prvi je val infekcija zabilježen u Francuskoj 1986. godine (34). Do ranih 1990-tih, u Francuskoj je 25-35% bolničkih infekcija bilo uzrokovano sa ESBL-producirajućim izolatima *K. pneumoniae*.

Praćenje prevalencije ESBL još iz 90-tih godina prošlog stoljeća pokazalo je postojanje velike zemljopisne razlike među europskim državama, a razlike su također značajne i unutar pojedinih zemalja. Sve objavljene studije potvrdile su da je u većini sjevernih europskih država učestalost ESBL izolata niža u usporedbi sa južnim i istočnim. Postotak ESBL izolata kreće se oko 28% u Bugarskoj, 16% na Cipru, 12% u Portugalu (35).

Program MYSTIC (engl., Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection) pokazao je značajan porast ESBL-producirajućih izolata *E. coli* u razdoblju od 1997. (2,1%) do 2006. godine (8,2%), te porast učestalosti izolacije ESBL među izolatima *K. pneumoniae* (od 9% do 9,8%), a nešto manje među izolatima *Proteus mirabilis* (1,4% u 2006. godini). Prema podacima MYSTIC programa u Europi je učestalost ESBL izolata u 2000. godini bila najviša u Rusiji (oko 50%) i Poljskoj (oko 40%) (36). Podaci iz TEST studije (engl., Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial) koji su uključili podatke iz 22 europske zemlje za razdoblje od 2000.-2007. godine, govore o udjelu ESBL kod izolata *K. pneumoniae* od 15.5%, te kod izolata *E. coli* od 9.8%, s najvećom učestalošću izolacije ESBL sojeva u Grčkoj, a najmanjom u Danskoj (37). U studijama praćenja učestalosti izolacije ESBL-producirajućih bakterijskih izolata, jedinice intenzivnog liječenja pokazale su se mjestima povećane prevalencije. U jednoj studiji (1997-1998) koja je evaluirala 433 izolata iz 24 jedinice intenzivne skrbi u zapadnoj i južnoj Europi, 25% izolata *K. pneumoniae* produciralo je ESBL (38). Slična studija prethodno je provedena 1994. godine od istih autora, a na temelju rezultata iz obje studije autori su zaključili da je ukupni udio ESBL-producirajućih izolata *Klebsiella* spp. ostao isti, ali je udio jedinica intenzivnog liječenja u kojima su izolirani ESBL-producirajući izolati *Klebsiella* spp. porastao sa 74% na >90% (38, 39).



Još je jedna velika europska studija, koja je uključila više od 100 jedinica intenzivne skrbi, pokazala različitosti u prevalenciji ESBL-producirajućih izolata *Klebsiella* spp.; od 3% u Švedskoj do 34% u Portugalu (40). U studiji koja je evaluirala izolate iz jedinica intenzivne skrbi i drugih bolničkih odjela u 25 bolnica u Europi zabilježeno je 21% izolata *K. pneumoniae* sa smanjenom osjetljivošću na ceftazidim (što je indikativno za ESBL produkciju) (41). Studija u Turskoj utvrdila je da 58% od 193 izolata *Klebsiella* spp. iz jedinica intenzivne skrbi, iz osam bolnica uključenih u istraživanje, su bili ESBL producenti (42). U globalnoj studiji utemeljenoj na evaluaciji osjetljivosti bolničkih izolata na tigecklin (TEST), udio ESBL-producirajućih izolata bio je najveći među izolatima *K. pneumoniae* prikupljenim u Latinskoj Americi, potom Aziji/Pacifiku, Europi te Americi (44.0%, 22.4%, 13.3% i 7.5%) (43). Prema rezultatima studije SMART (engl., Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends), udio ESBL-producirajućih izolata *E. coli* u Aziji/Pacifiku bio je između 34.9% i 42.2%, a u Indiji i Kini 79% odnosno 54% (44). Dok je u SMART studiji dokumentiran peterostruki porast učestalosti ESBL-producirajućih izolata *E. coli* u Europi u razdoblju od 1997. do 2004. godine, u SAD je zamijećen pad s 5,1% na 1,4% (45), a samo su 4,4% izolata *Klebsiella* spp. u SAD-u 2004. godine bili ESBL producenti. Podaci o učestalosti ESBL-producirajućih izolata u jedinicama intenzivne skrbi u SAD upućuju na puno veću učestalost ESBL-

producirajućih izolata *K. pneumoniae*, koja je u 2003. godini iznosila 20,3% (25), što označava porast od 47% u razdoblju od 5 godina (46). Nadalje, procjenjuje se da 8,5%-11% izolata *K. pneumoniae* otpornih na ceftazidim u SAD-u proizvode i AmpC beta-laktamaze (47, 48).

U istraživanju provedenom na Novom Zelandu utvrđeno je da su tijekom 2000. godine samo 0,1% izolata *E. coli* iz mokraćnog sustava bili ESBL producenti (49). Međutim, od 2001. godine prati se porast učestalosti ESBL-producirajućih izolata iz godine u godinu, te su identificirani bolnički ESBL-producirajući izolati *E. coli* i *K. pneumoniae* (50). U jednoj velikoj bolnici u Aucklandu, Novi Zeland, 0,8% izolata *E. coli* i 2,6% izolata *K. pneumoniae* između 2001. i 2004. bili su ESBL producenti, što znači sedmerostruki porast u razdoblju od 2001. do 2004. godine (51). U istraživanju u koje je bilo uključeno 86% novozelandskih bolnica i dijagnostičkih laboratorija u domovima zdravlja tijekom razdoblja od 4 tjedna u 2006. godini, utvrđeno je da je učestalost ESBL-producirajućih izolata *E. coli* među izolatima iz mokraćnog sistema porasla sa 0,1% na 0,7%, uz još dramatičniji porast učestalosti izolacije ESBL-producirajućih izolata *Klebsiella* spp. od 4,2% (52). Autori navode da su ESBL enzimi CTX-M, osobito CTX-M-15, bili dominantni među ESBL-producirajućim izolatima *E. coli* i *K. pneumoniae* na Novom Zelandu (52).



3.1. Prevalencija ESBL infekcija

Među enterobakterijama, ESBL su najčešće prisutne kod *Klebsiella* spp. i *Escherichia coli*, ali u posljednje vrijeme su otkrivene i kod ostalih rodova enterobakterija, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, i *Serratia* (12). Tako je najveća učestalost ESBL u uzorcima bolničkih pacijenata ranije bila najvjerojatnije posljedica istraživanja fokusiranih isključivo na uzorke bolničkih pacijenata, te je njihovo prisustvo u uzorcima vanbolničkih pacijenata bilo potcijenjeno (53). ESBL su otkrivene u gram-negativnih štapićastih bakterija sa različitom prevalencijom, međutim, najveći broj ovih enzima otkriven je u porodici Enterobacteriaceae. Prevalencija ESBL-infekcija je najveća kod izolata *K. pneumoniae* u bolničkoj sredini, npr. u Jordanu prevalencija *K. pneumoniae* dostiže i do 80% (54), u Izraelu se kreće u rasponu od 32% do 70%, u Indiji (57%), u Turskoj (50%) (54), u Egiptu (38%) (55), u Libanonu (20%) (56). Također, zabilježen je i porast incidencije ESBL kod bolničkih izolata *Salmonella* spp. u mnogim državama Južne Amerike, Afrike, Europe i Azije. Među gram-negativnim bakterijama koje ne pripadaju enterobakterijama uzročnici koji proizvode ESBL su mnogo rjeđi, među njima najvažniji su izolati *Pseudomonas aeruginosa*. Ovi mikroorganizmi su domaćini OXA tipa beta-laktamaza, međutim, oni proizvode i TEM, SHV i PER ESBL koje su otkrivene u nekim državama svijeta.

PER beta-laktamaze su također bile otkrivene kod *Acinetobacter* spp. i *Alcalaligenes faecalis*. Konačno, TEM - 17 je otkrivena kod *Capnocytophaga ochrichea* i SHV-12 kod *Burkholderia cepacia*. Beta-laktamaze kod ovih mikroorganizama opisane su prvi put 1977. godine sa učestalošću oko 80% (57). *B. catarrhalis* producira tri tipa beta-laktamaza, BRO-1, BRO-2 i BRO-3, ali se ipak razlikuju od onih otkrivenih kod drugih bakterija (57). ESBL organizmi su obično otkriveni u bolnicama, međutim, brojni izvještaji iz SAD-a i Francuske su dokumentovali mogućnost njihovog nastanka i u uvjetima kućne njege.

4. LABORATORIJSKA DETEKCIJA ESBL

Porast učestalosti ESBL-producirajućih sojeva i njihovo značenje za odabir prave antimikrobne terapije, ukazao je na potrebu razvoja adekvatnih laboratorijskih testova za detekciju ESBL i njihovu identifikaciju. Metode za detekciju ESBL mogu biti fenotipske (metode kliničke mikrobiologije) ili molekularne. Fenotipske metode se temelje na sinergističkom djelovanju cefalosporina treće generacije i klavulanske kiseline (6). Klavulanska kiselina inhibira ESBL-producirajuće izolate i tako ponovno uspostavlja osjetljivost na cefalosporine. Danas se preporučuje upotreba cefpodoksima, kao indikatorskog cefalosporina u ovim testovima, jer ga podjednako hidroliziraju i TEM i SHV, kao i CTX-M beta-laktamaze (6).

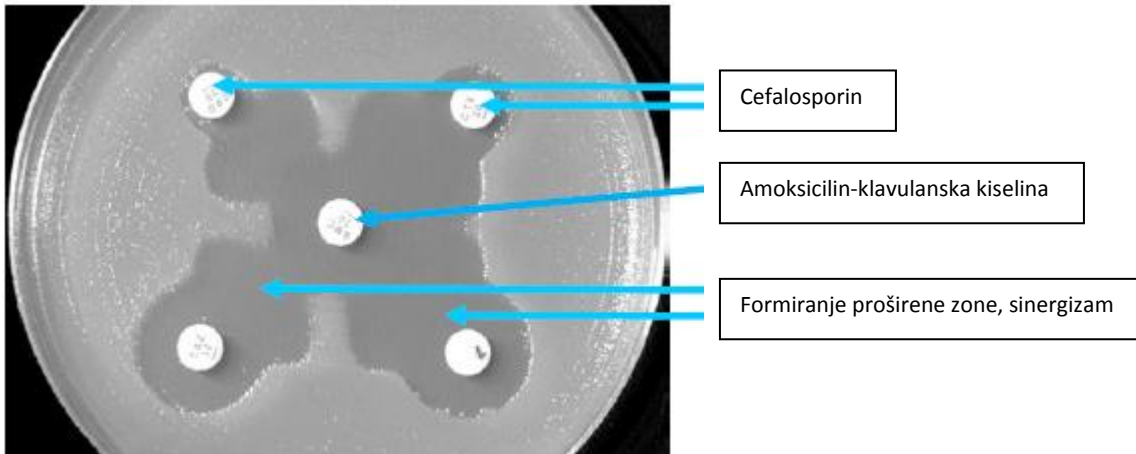


4.1. Metoda dvostrukog diska (DDST)

Ovaj test se najčešće koristi u laboratoriju za dokaz ESBL (Slika 2.). Na sredinu ploče Mueller-Hinton agara sa nanesenim sojem se stavlja disk amoksicilina sa klavulanskom kiselinom (30/10 µg), a oko njega na udaljenosti od 2 do 3 cm stavljaju se diskovi cefalosporina treće generacije i aztreonama. Širenje inhibicijske zone oko diskova cefalosporina prema disku koji sadržava klavulansku kiselinu znači pozitivan rezultat testa (58).

4.2. Disk-difuzijski test sa inhibitorom za detekciju ESBL i AmpC beta-laktamaza

Ovaj test je modifikacija DDS testa u kojoj se klavulanska (za detekciju ESBL) ili fenilboronična (za detekciju AmpC) dodaje na diskove u koncentraciji od 4 mg/L. Diskovi cefalosporina se postavljaju na površinu agara. Test se smatra pozitivnim ako je došlo do proširenja zone inhibicije oko diska cefalosporina od najmanje 10 mm na agaru sa klavulanskom kiselinom ili fenilboroničnom (6).



Slika 2. Dvostruki disk-sinergistički test. Cefepim, ceftazidim, cefotaksim i cefpodoksim antibiotici se stavljaju oko diska amoksiklava u razmaku od 2,5 cm. Formiranje proširene zone trbušića, tj. sinergizma između diska amoksiklava i diska cefalosporina upućuje na produkciju ESBL (Izvor: Sturenburg E, Sobottka I, Feucht HH, Mack D, Laufs R. Comparison of BDPPhoenix and VITEK2 automated antimicrobial susceptibility test systems for extended-spectrum beta-lactamase detection in *Escherichia coli* and *Klebsiella* species clinical isolates. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2003; 45(1), 29-34 (59).

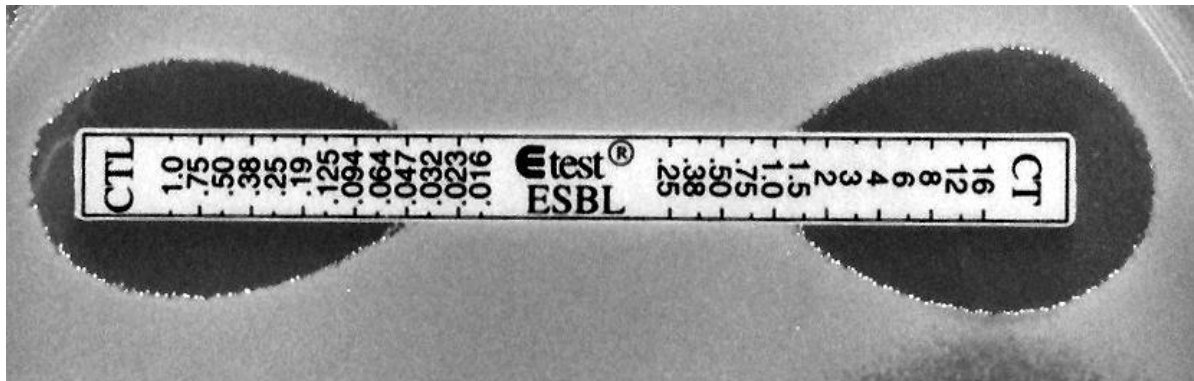


4.3. Trodimenzionalni test

Ovaj test je specifičniji od DDS testa, ali je kompliciraniji za izvođenje (6). Na ploči Mueller-Hinton agara se nakon nanošenja soja napravi urez u koji se stavlja suspenzija soja. Diskovi antibiotika se postave na udaljenost od 3 cm od ureza. Test se smatra pozitivnim ako zona inhibicije nije pravilna (6).

4.4. Epsilon (E) test

U ESBL E-testu koriste se komercijalne trake na koje je nanešen antibiotik, tako da je sa jedne strane, npr. ceftazidim, a sa druge ceftazidim u kombinaciji sa klavulanatom (Slika 3). Test je pozitivan ako je MIK ceftazidima sa klavulanatom za najmanje 3 razrjeđenja manji od MIK-a ceftazidima samog (6).



Slika 3. Interpretacija E-testa: ESBL pozitivan test: $MIK\ CT/CTL = 1.5/0.047 = 32$ (AB BIODISK, Dalvägen 10; 169 56 Solna, Sweden).

4.5. Metode detekcije AmpC beta-laktamaza

Ne postoje CLSI smjernice za detekciju AmpC beta-laktamaza. Detekcija AmpC beta-laktamaza još je teže nego detekcija ESBL (60). Bakterije koje produciraju AmpC beta-laktamazu ne moraju nužno biti otporne na cefalosporine proširenog spektra koristeći koncentracije antibiotika prema CLSI. Za sada nije potvrđen niti jedan test probiranja niti potvrde produkcije AmpC beta-laktamaza.

U odsutnosti ovih testova, mogu se koristiti surogatni markeri koji bi ukazivali na produkciju pAmpC temeljeno na njihovoj otpornosti na cefamicine i kombinacije beta-laktamskih antibiotika i inhibitora beta-laktamaza. Otpornost na cefoksitin uz otpornost na cefalosporine proširenog spektra i očuvanu osjetljivost na cefepim, upućuje na prisutnost AmpC beta-laktamaza (60).



Nadalje, otpornost na cefalosporine proširenog spektra, kao npr. ceftazidim, i kombinaciju sa inhibitorom beta-laktamaza, također upućuje na prisutnost AmpC betalaktamaza. Iako su ovi testovi osjetljivi za detekciju prisutnosti AmpC beta-laktamaza, niti jedan nije specifičan, a rezultati su ovisni o vrsti bakterije ili testirane beta-laktamaze (60). Neki mikroorganizmi imaju povišen MIK za cefoksitin ili kombinacije betalaktamskog antibiotika i inhibitora beta-laktamaze. Neovisno o izboru metode probiranja, još uvijek nedostaju validni testovi (60).

4.6. Modificirani Hodge test za detekciju karbapenemaza

Modificirani Hodgeov test upotrebljava se za detekciju karbapenemaza. Soj *E. coli* ATCC 25922 gustoće 0,5 McFarlanda zasije se na ploču običnog Mueller-Hintonina agara (Slika 4.). Soj za testiranje na produkciju karbapenemaza povuče se u obliku crte od sredine prema periferiji ploče. Ploče se inkubiraju 15 minuta na sobnoj temperaturi, nakon čega se disk imipenema (10 mcg) stavlja u sredinu ploče koja se inkubira preko noći. Deformacije inhibicijske zone imipenema oko inokuliranog soja u obliku lista djeteline smatraju se pozitivnim rezultatom, što upućuje na produkciju karbapenemaza (61).



Slika 4. Modificirani Hodge test (Izvor: https://www.researchgate.net/figure/Quantification-of-Modified-Hodge-Test-MHT-The-enhanced-growth-ratio-of-ETP-and-MEM_fig1_262022162)

4.7. Metoda kombiniranih diskova za detekciju KPC-a i metalo-β-laktamaza

Testirani soj zasijava se na MH agar na koji su stavljeni diskovi imipenema (10 mcg) i meropenema (10 mcg), bez dodatka inhibitora kao kontrole i s dodatkom 20 mcL fenilboronične kiseline (PBA) za detekciju produkcije KPC-a, EDTA za detekciju metalo-β-laktamaza ili kombinirano EDTA i PBA za detekciju kombinirane produkcije KPC-a i metalo-β-laktamaza. Povećanje inhibicijske zone oko diska koji sadržava PBA u odnosu prema kontrolnom disku za najmanje 5 mm upućuje na produkciju KPC-a β-laktamaze, povećanje oko diska s EDTA-om za 5 ili više mm na produkciju MBL-a, a povećanje oko diska s oba inhibitora na kombiniranu produkciju KPC-a i MBL-a (61).



4.8. Molekularni testovi za detekciju ESBL

Kako fenotipski testovi samo identificiraju ESBL-producirajuće izolate, sa pojavom novih ESBL razvijale su se i tehnike detekcije i identifikacije ESBL gena uz pomoć molekularnih metoda, kao što su: oligotipizacija (engl., oligotyping) (62), lančana reakcija polimeraze (engl., Polymerase Chain Reaction, PCR), analiza polimorfizma dužine restrikcijskih fragmenata nakon lančane reakcije polimeraze (engl., Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis of Polymerase Chain Reaction, PCR-RFLP), te analiza konformacijskog polimorfizma jednonančane DNA nakon lančane reakcije polimeraze (engl., Polymerase Chain Reaction Single-Strand Conformation Polymorphism, PCR-SSCP) (62).

4.8.1. Oligotipizacija

Ovo je prva molekularna metoda koja je korištena za detekciju gena koji kodira beta-laktamaze (*bla* gen). Oligonukleotidne DNA probe (označene radioizotopom ili biotinom), specifične za TEM i SHV enzime, koriste se za detekciju točkastih mutacija pod strogim hibridizacijskim uvjetima (62).

4.8.2. Lančana reakcija polimeraze (PCR)

Lančana reakcija polimeraze (PCR) je najjednostavnija i najčešće korištena metoda za detekciju i identifikaciju beta-laktamaza u kojoj se koriste oligonukleotidni začetnici („primeri“) specifični za gene određenih beta-laktamaza (62).

4.8.3. Analiza polimorfizma duljine restrikcijskih fragmenata nakon lančane reakcije polimeraze (PCR-RFLP)

Ova metoda je modifikacija u kojoj je na PCR dodana, tzv. analiza polimorfizma duljine restrikcijskih fragmenata (RFLP). Amplificirani PCR produkti se podvrgavaju digestiji sa nekoliko restrikcijskih endonukleaza, te se tako dobiveni fragmenti odvajaju elektroforezom. Veličine fragmenata dobivene cijepanjem sa svakim od restrikcijskih enzima ukazuje na točkaste mutacije unutar *bla*_{TEM} ili *bla*_{SHV} gena (62).

4.8.4. Analiza konformacijskog polimorfizma jednonančane DNA nakon lančane reakcije polimeraze (PCR-SSCP)

Ova metoda se koristi za karakterizaciju SHV beta-laktamaza. Kratica SSCP dolazi od naziva single-strand conformational polymorphism (konformacijski polimorfizam jednonančane DNA). Ovim postupkom se mogu detektirati pojedine mutacije na specifičnim lokacijama unutar *bla*_{SHV} gena. Korištenjem oligonukleotidnih početnica dobije se 475-bp amplimer koji se cijepa restrikcijskim enzimom *Pst*1. Dobiveni dijelovi se denaturiraju i odjeljuju u 20% poliakrilamidnom gelu. Na taj način se mogu identificirati geni za SHV-1, -2, -3, -4, -5 i SHV-7 beta-laktamaze (62).



5. ZAKLJUČAK

Predmet mnogih dosadašnjih istraživanja je bio određivanje faktora rizika za nastanak infekcija čiji su uzročnici bakterije koje proizvode ESBL, te su oni identificirani i dobro definirani u bolničkoj sredini, kod pacijenata na hospitalizaciji. Ustanovljena je značajna povezanost između uzimanja antibiotika i pojave infekcije uzrokovane sa ESBL-producirajućim izolatima (63). Time je potvrđena sumnja da usljed selektivnog pritiska koji se javlja kod prekomjerne upotrebe cefalosporina treće generacije dolazi do pojave visoke razine otpornosti kod pripadnika porodice Enterobacteriaceae. Prethodno liječenje ciprofloksacinom ili trimetoprim-sulfametoksazolom je također faktor rizika za kolonizaciju mikroorganizmima koji produciraju ESBL kod pacijenata koji su na kućnoj njezi (64), kao što su pokazali Wiener i sur. da je prethodna upotreba ovih lijekova neovisan pokazatelj nastanka otpornosti *E. coli* na ceftazidim kod bolesnika na kućnoj njezi. Saznanje o izlaganju nekom antibakterijskom lijeku može pomoći liječnicima da predvide eventualnu pojavu otpornosti. Prevalencija otpornosti na antibiotike varira ovisno od geografskog područja mahom zbog različitosti u propisivanju i upotrebi antibiotika pri liječenju infekcija (65). Osim ovoga, drugi najčešći faktori koji se dovode u vezu sa nastankom ESBL infekcija kod bolničkih pacijenata su prisutnost intravenoznih i mokraćnih katetera, renalna insuficijencija, kod pacijenata na mehaničkoj ventilaciji, prethodni boravak u bolnici.

Najčešće su uz nastanak ESBL infekcija povezani i starost iznad 65 godina, kao i muški spol.

Nasuprot brojnim istraživanjima o faktorima rizika kod hospitaliziranih bolesnika, istraživanja ovih faktora kod infekcija nastalih u vanbolničkoj sredini nisu česta (65), ali je i kod ovih infekcija upotreba antibiotika, cefalosporina širokog spektra, kao i fluorokinolona, također povezana sa pojavom ovih infekcija (63).

Infekcije uzrokovane ESBL pozitivnim mikroorganizmima češće se javljaju kod imunokompromitiranih pacijenata, stvarajući poteškoću u liječenju infekcija uzrokovanih ovim mikroorganizmima u jedinicama intenzivne njege u bolnicama. Isto tako, kod pacijenata na kućnoj njezi, koji su stariji, slabiji i koriste više lijekova istovremeno, naročito u višočlanim kućanstvima, postoji rizik pojave otpornosti na antibiotike. Ispitivanjem valjanosti nadzora kontrole infekcija u Ontariu pokazalo se da primjena ne-standardnih metoda u kontroli infekcija dovodi do pojave ESBL-producirajućih izolata kod *E. coli* i *Klebsiella* spp. u bolesnika sa produženom njegovom. Odgovarajuća praktična primjena kontrole infekcija predstavlja ključni faktor kod prevencije širenja ESBL-producirajućih izolata. Glavne mjere u kontroli infekcije bile bi često i obavezno pranje ruku bolničkog osoblja, jačanje mjera predostrožnosti, i izolacija pacijenata koloniziranih ili inficiranih sa ESBL-producirajućim izolatima.



Ostale mjere uključuju smanjenje širenja ovih mikroorganizama kliničkim i bakteriološkim nadzorom (mikrobiološka obrada sumnjivog i infektivnog materijala) kod pacijenata primljenih u jedinice intenzivne njege i ograničena (kontrolirana) primjena antibiotika, osobito kod empirijske upotrebe antibiotika širokog spektra, kao što su treća i četvrta generacija cefalosporina i imipenema. Tako je npr. ustanovljeno da prethodna upotreba cefalosporina treće generacije kod pacijenata sa gastrostomom koji su na kućnoj njezi predstavlja faktor rizika za nastanak infekcija sa enterobakterijama otpornim na ove antibiotike.

Infekcije uzrokovane ESBL-producirajućim izolatima najčešće napadaju imunokompromitirane osobe, stvarajući poteškoću u eradikaciji ovih mikroorganizama u jedinicama intenzivne njege (12).

Ustanovljeno je da su pacijenti koji su inficirani ESBL-producirajućim izolatima koji su otporni na cefalosporine treće generacije, imali duži boravak u bolnici, veću stopu smrtnosti, i veće troškove liječenja.

Nadalje, evidencija o prisustvu ESBL-producirajućih izolata kod stoke, peradi, pasa i mačaka ukazuje na to, da hrana pripravljena za životinje i kućne ljubimce može biti, također, pogodan način prijenosa ovih bakterija.

Tablica 1. Preporuke za liječenje teških infekcija uzokovanih ESBL-producirajućim bakterijama

Tip infekcije	Terapija prvog izbora	Alternativna terapija
Bakterijemija	Karbapenem (imipenem ili meropenem)	Ciprofloksacin
Infekcije respiratornog trakta	Karbapenem (imipenem ili meropenem)	Ciprofloksacin
Intraabdominalne infekcije	Karbapenem (imipenem ili meropenem)	Ciprofloksacin ili cefamicin
Infekcije mokraćnog trakta	Ciprofloksacin	Amoksicilin/klavulanat
Meningitis	Meropenem	Dodatak polimiksina B

Izvor: Humaniuk C, Arlet G, Gautier V, Grimont P, Labia R, Philippon A. Beta-lactamases of *Klyvera ascorbata*, probable progenitors of some plasmid-ancoded CTX-M types. Antimicrob Agents Chemother 2002;46:3045-49 (66).



6. LITERATURA

1. Rupp ME and Paul D. Extended Spectrum β -Lactamase (ESBL). Producing Enterobacteriaceae. *Drugs* 2003; 63(4):353-56.
2. Lal P, Kapil A, Das BK and Sood S. Occurrence of TEM and SHV gene in extended spectrum beta lactamases (ESBLs) producing *Klebsiella spp.* isolated from a tertiary care hospital. *Indian J Med* 2007; 125:173-8.
3. Peirano G, Pitout JDD. Molecular epidemiology of *Escherichia coli* producing CTX-M β -Lactamases : worldwide emergence of clone ST131 O25:H4. *Int J Antimicrob Agents* 2010; 35:316-21.
4. Samaha-Kfoury JN, Araj GF. Recent development in beta-lactamases and extended spectrum beta-lactamases. *BMJ* 2003; 327:1209-13.
5. Sabate M, Navarro F, Miro E, Canpony S, Mirelis B, Barbe J, Prats G. Novel complex sul-type integron in *Escherichia coli* carrying bla (CTX-M-9). *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46:2656-61.
6. Bedenić B. β -lactamase u laboratoriju i njihova uloga u rezistenciji. *Liječ Vjes* 2004; 126:314-24.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, Twentieth Informational Supplement, CLSI Document M100-S20. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2010.
8. Sykes BR, Matthew M. The β -lactamases of gram-negative bacteria and their role in resistance to β -lactam antibiotics. *J Antimicrob Chemother* 1976; 2:115-57.
9. Medeiros AA. B-lactamases *Brit Med Bull* 1984; 40:18-27.
10. Bradford PA. Extended-Spectrum β -lactamases in the 21st Century: Characterization, Epidemiology, and Detection of This Important Resistance Threat. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14(4):933-51.
11. Wu PJ, Shannon K, Phillips I. Effect of hyperproduction of TEM-1 β -lactamase on in vitro susceptibility of *Escherichia coli* to β -lactam antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38:494-8.
12. Spanu T, Luzzaro F, Perilli M, Amicosante G, Toniolo A, Fadda G, and The Italian ESBL Study Group. Occurrence of Extended-Spectrum β -Lactamases in Members of the Family Enterobacteriaceae in Italy: Implications for Resistance to β -Lactam and Other Antimicrobial Drugs. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46(1):196-202.
13. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev* 2005; 18:657-86.
14. Richmond MH, Sykes RB. The β -lactamases of gram-negative bacteria and their possible physiological role. *Adv Microb Physiol* 1973; 9:31-88.



15. Sturenberg E, Mack D. Extended spectrum β -lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory, therapy, and infection control. *J Infect* 2003; 47:273-95.
16. Chaibi EB, Sirot D, Paul G and Labia R. Inhibitor-resistant TEM- β -lactamases: phenotypic, genetic and biochemical characteristics. *J Antimicrob Chemother* 1999; 43: 447-58.
17. Henquell C, Chanal C, Sirot D, Labia R, Sirot J. Molecular characterization of nine different types of mutants among 107 inhibitor-resistant TEM β -lactamases from clinical isolates of *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39:427-30.
18. Fiett J, Palucha A, Miaczynska B, Stankiewicz M, Przondo-Mordarska H, Hryniewicz W, Gniadkowski M. A novel complex mutant beta-lactamase, TEM-68, identified in a *Klebsiella pneumoniae* isolate from an outbreak of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiellae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44:1499-505.
19. Goussard S, Courvalin P. Updated sequence information for TEM beta-lactamases genes. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43:367-70.
20. Prinarhis EE, Miriagou V, Tzelepi E, Gozouli M, Tzouvelekis LS. Emergence of an inhibitor-resistant β -lactamase (SHV-10) derived from an SHV-5 variant. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41:838-40.
21. Naas T, Philippon L, Poirel L, Ronco E, Nordman P. An SHV-derived extended-spectrum β -lactamase in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43:1281-4.
22. Bush K, Macalintal C, Rasmussen BA, Lee VJ, Yang Y. Kinetic interactions of tazobactam with beta-lactamases from all major structural classes. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37:851-8.
23. Bonnet R. Growing of extended-Spectrum β -Lactamases: the CTX-M Enzymes. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48(1):1-14.
24. Livermore DM, Hawkey PM. CTX-M: changing the face of ESBLs in the UK. 2005, Defining an extended-spectrum beta-lactamase. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14(5):21-4.
25. Wikipedia, 2010, Beta-lactamase. Accessed on December 10, 2010.
26. Nordman P, Ronco E, Naas T, Duport C, Michel-Briand Y, Labia R. Characterization of a novel extended-spectrum β -lactamase from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 3:962-9.
27. Silva J, Aguilar C, Ayala G, Estrada MA, Garza-Ramos U, Lara-Lemus R, Ledezma L. TLA-1: a new plasmid mediated extended-spectrum β -lactamase from *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44:997-1003.
28. Yang K, Guglielmo BJ. Diagnosis and Treatment of Extended-Spectrum and AmpC beta-Lactamase-producing Organisms. *Ann Pharmacoth* 2007; 41:1427-35.



29. Poirel L, Thomas IL, Naas T et al. Biochemical sequence analyses of GES-1, a novel class A extended-spectrum β -lactamase, and the class 1 integron in 52 from *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44:622-32.
30. Rhee YJ, Park YK, Lee MY, Peck KR, Soo KK. KPC-Producing Extreme Drug-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Isolated from a patient with Diabetes Mellitus and Chronic Renal Failure on Haemodialysis in South Korea. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54(5):2278-9.
31. Yang YJ, Wu PJ, Livermore DM. Biochemical characterization of a β -lactamase that hydrolyzes penems and carbapenems from two *Serratia marcescens* isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 1990; 34:755-8.
32. Aubron C, Poirel L, Ash RJ, et al. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae, U. S. Rivers. *Emerg Infect Dis* 2005; 11:260-4.
33. Santillana E, Beceiro A, Bon G, Romero A. Crystal structure of the carbapenemase OXA-24 reveals insights into the mechanism of carbapenem hydrolysis. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 2007; 104(13):5354-9.
34. Brun-Buisson C, Legrand P, Philippen A, Montravers F, Ansquer M, Duval J. Transferable enzymatic resistance to third-generation cephalosporins during nosocomial outbreak of multiresistant *Klebsiella pneumoniae*. *Lancet* 1987; 2(8554):302-6.
35. European Antimicrobial Resistance Surveillance System. EARSS Annual Report 2005. Bilthoven: National Institute of Public Health and the Environment, 2006.
36. Goossens H, Grabein B. Prevalence and antimicrobial susceptibility data for extended spectrum beta lactamase and Amp-C producing enterobacteriaceae from the MYSTIC program in Europe and United States (1997-2004). *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005; 5:257-64.
37. Hackel M, Badal R, Bouchillon S, et al. Extended-spectrum beta-lactamase production in Europe. In: Abstracts of the 18th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), Barcelona, Spain, 2008.
38. Babini GS, Livermore DM. Antimicrobial resistens amongst *Klebsiella* spp. collected from intensive care units in Southern and Western Europe in 1997- 1998. *J Antimicrob Chemother* 2000; 45:183-9.
39. Livermore DM, Yuan M. Antibiotic resistance and production of extendedspectrum beta-lactamases amongst *Klebsiella* spp from intensive care units in Europe. *J Antimicrob Chemother* 1996; 38:409-24.
40. Hanberger HJ, Garcia-Rodriguez A, Gobernado M, Goossens H, Nilsson IE, Struelens MJ. Antibiotic susceptibility among aerobic gram-negative bacilli in intensive care units in 6 European countries. French and Portuguese ICU Study Group. *JAMA* 1999; 281:67-71.



41. Fluit AC, Jones ME, Schmitz FJ, Acar J, Gupta R, Verhoef J. Antimicrobial susceptibility and frequency of occurrence of clinical blood isolates in Europe from the SENTRY antimicrobial surveillance program 1997 and 1998. *Clin Infect Dis* 2000; 30:454-60.
42. Gunsere F, Mamikoglu I, Ozturk S, Yucesoy M, Biberoglu K, Yulug N i sur. A surveillance study of antimicrobial resistance of gram-negative bacteria isolated from intensive care units in eight hospitals in Turkey. *J Antimicrob Chemother* 1999; 43:373-8.
43. Reinert RR, Low DE, Rossi F, Zhang X, Wattal C, Dowzicky MJ. Antimicrobial susceptibility among organisms from the Asia/Pacific Rim, Europe and Latin and North America collected as part of TEST and the in vitro activity of tigecycline. *J Antimicrob Chemother* 2007; 60:1018-29.
44. Hawser SP, Bouchillon SK, Hoban DJ i sur. Emergence of high levels of extended-spectrum-beta-lactamase-producing Gram-negative bacilli in the Asia-Pacific region: data from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART) program, 2007. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53:3280-4.
45. Goosens H, Grabein B. Prevalence and antimicrobial susceptibility data for extended spectrum beta lactamase and AmpC-producing enterobacteriaceae from the MYSTIC program in Europe and the United States (1997-2004). *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005; 53:257-64.
46. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System report, data summary from January 1992 through June 2004; issued October 2004. *Am J Infect Control* 2004; 32:470-85.
47. Alvarez M, Tran JH, Chow N, Jacoby GA. Epidemiology of conjugative plasmidmediated AmpC beta lactamases in the United States. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48:533-7.
48. Moland ES, Black JA, Ourada J, Reisbig MD, Hanson ND, Thomson KS. Occurrence of newer beta lactamases in *Klebsiella pneumoniae* isolates from 24 US hospitals. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46:3837-42.
49. Brett M. Extended spectrum b lactamases among urinary *E. coli* and *Klebsiella* spp. in New Zealand in 2000., N. Zealand: Institute of Environmental Science & Research, 2000.
50. Institute of Environmental Science and Research. ESBLs in enterobacteriaceae confirmed in 2005.g., New Zealand: ESR. www.surv.esr.cri.nz/PDF_surveillance/Antimicrobial/ESBL/ESBL_2005.pdf. (11 August 2009).
51. Briggs S, Ussher J, Taylor S. Extended spectrum beta lactamase producing enterobacteriaceae at Middlemore Hospital. *N Z Med J* 2005; 118:1563.
52. Heffernan H, Woodhouse RE, Pope CE, Blackmore TK. Prevalence and types of extended spectrum b lactamases among urinary *E. coli* and



- Klebsiella* spp. in New Zealand. Int J Antimicrob Agents 2009; 34:544-9.
53. Uzunovic-Kamberovic S, Saric D, Sestic S. Community – acquired urinary tract infections by extended – spectrum beta – lactamase – producing *Enterobacteriaceae* in Zenica – Doboj Canton, Bosnia and Herzegovina. Med Glas 2006; 3:46-52.
54. Shehabi AA, Mahafzah A, Baadran I, Qadar FA, Dajani N. High incidence of *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates to extended-spectrum β -lactam drugs in intensive care units. Diagn Microbiol Infect Dis 2000; 36:53-6.
55. Bouchillon SK, Johnson BM, Hoban DJ, Johnson JL, Dowzicky MJ, Wu DH, Visalli MA, Bradford PA. Determining incidence of extended-spectrum β -lactamase producing *Enterobacteriaceae*, vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in 38 centres from 17 countries: the PEARLS study 2001-2002. Int J Antimicrob Agents 2004; 24:119-24.
56. Daoud Z, Hakime N. Prevalence and susceptibility patterns of extended-spectrum beta lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in a general university hospital in Beirut, Lebanon. Rev Esp Quimioterap 2003; 16:233-8.
57. Bedenić B, Žagar Ž. Increased Beta-Lactamase Activity in *Branhamella Catarrhalis* after Exposure to Amoxicilin and Clavulanic Acid. J Chemother 1994; 6(6):383-7.
58. Thomson KS, Sanders CC. Detection of extended-spectrum β -lactamases in the members of the family *Enterobacteriaceae*-comparison of the double-disc and 3-dimensional tests. Antimicrob Agents Chemother 1992; 36:1877-82.
59. Jarlier V, Nicolas MH, Fournier G, Philippon A. Extended broad-spectrum β -lactamases conferring transferable resistance to newer β -lactam agents in *Enterobacteriaceae*: hospital prevalence and susceptibility patterns. Rev Infect Dis 1988; 10:867-78.
60. Erdeljić V. Utjecaj primjene antimikrobne terapije na selekciju mikroorganizama koji produciraju beta-laktamaze proširenog spectra (AmpC i ESBL) i ishod liječenja bolesnika. Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu, 2012.
61. Franolić-Kukina I, Sardelić S, Belder N, Varda-Brkić D, Firis N, Čačić M i dr. Evolucija rezistencije na beta-laktamske antibiotike u *Enterobacter* spp. u Hrvatskoj. Liječ. Vjes 2016, 138; 240-249.
62. Zali FH, Gascoyne-Binzi DM, Heritage J, Hawkey PM. Detection of mutations conferring extended-spectrum activity on SHV-lactamases using polymerase chain reaction single strand conformational polymorphism (PCR-SSCP). J Antimicrob Chemother 1996; 37:797-802.
63. Lee DS, Lee CB and Seung-Ju LSJ. Prevalence and risk factors for extended spectrum beta-lactamase-producing uropathogens in patients with urinary tract infection. Korean J Urol 2010; 51:492–7.



64. Rodrigez-Bano J, Navaro MD, Romero L, Martinez-Martinez L, Munian MA, Perea EJ, Perez-Cano R and Pascual A. Epidemiology and Clinical Features of Infections Caused by Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Escherichia coli* in Nonhospitalized Patients. J Clin Microbiol 2004; 42(3):1089-94.
65. Bedenić B, Vraneš J, Bošnjak Z, Marijan T, Mlinarić-Džepina A, Kukovec T, Knežević J, Anušić M, Bader N, Barl P, Leskovar V, Kalenić S. Emergence of CTX-M group 1 extended-spectrum β -lactamase – producing *Klebsiella pneumoniae* strains in the community. Med Glas Ljek komore Zenicko doboj kantona 2010; 7:32-9.
66. Humaniuk C, Arlet G, Gautier V, Grimont P, Labia R, Philippon A. Beta-lactamases of *Klyvera ascorbata*, probable progenitors of some plasmid-ancoded CTX-M types. Antimicrob Agents Chemother 2002; 46:3045-9.



EXTENDED SPECTRUM BETA-LACTAMASES AS A CAUSES OF THE SPREAD OF BACTERIAL RESISTANCE TO ANTIBIOTICS

Ibrahimagić A.

ABSTRACT

Extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) are enzymes that have been discovered in the late 1970s and early 1980s among gram-negative bacteria. Beta lactam antibiotics are commonly used to treat bacterial infections. This group of antibiotics includes penicillins, cephalosporins, carbapenems and monobactams. Extended-spectrum beta-lactamases are enzymes that hydrolyze the beta-lactam ring of antibiotics, thereby reversing the action of antibiotics in therapy. ESBLs is most commonly found in *E. coli* and *K. pneumoniae*, but can also occur in other gram-negative bacteria, including *Enterobacter*, *Salmonella*, *Proteus*, *Citrobacter*, *Providentia*, *Morganella morganii*, *Serratia marcescens*, *Shigella dysenteriae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia* and *Campylobacter jejuni*. The increase in the frequency of ESBL-producing strains and their importance for the selection of the right antimicrobial therapy, indicated that we need to develop and used adequate laboratory tests for the detection of ESBL and their identification. Methods for detecting ESBL can be phenotypic (clinical microbiology methods) or molecular.

Corresponding author:

Amir Ibrahimagić, PhD
Institute for Health and Food Safety
Zenica, BiH
Department for chemical diagnostics
E-mail: ibrahimagic.amir@gmail.com
Tel: +38761/614-147