



EXTENDED SPECTRUM BETA-LACTAMASE (ESBL) PRODUCING *ENTEROBACTERALES*: CLASSIFICATION AND RESISTANCE GENETIC BACKGROUND

BETA LAKTAMAZE PROŠIRENOG SPEKTRA DELOVANJA KOD REDA *ENTEROBACTERALES*: KLASIFIKACIJA I GENETSKA OSNOVA REZISTENCIJE

Marija Milić¹, Vera Mijač²

¹ Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija

² Institut za mikrobiologiju i imunologiju, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija

Correspondence: veramijac@yahoo.com

Abstract

Beta-lactam antibiotics are one of the most important ones in clinical practice and most commonly prescribed drugs. There are few possible mechanisms of beta-lactam resistance. Beta-lactamase opens the β -lactam ring, deactivating the molecule's antibacterial properties, and among them, Extended-spectrum beta-lactamases (ESBL) are the most important. Antibiotic resistance gene can both be located on chromosome, or on plasmids. Beta-lactamases share the ability to hydrolyse penicillin, cephalosporin and monobactam, but not carbapenems and cephamycin, and yet, they are inhibited by clavulanic acid and/or tazobactam. Far most important in clinical practice are CTX-M enzymes, followed by TEM and SHV. Other less widespread ones are VEB, PER, GES, TLE, IBC, BES, BEL and others. Over the last years the presence of antibiotic resistant bacteria has been shown outside the clinical environment, including water, soil and food producing animals. If this problem persists in all over the world, carbapenems might be the first line antibiotics. Considering the present situation, antimicrobial resistance could be one of the greatest challenges in modern medicine, and it is important to ensure that antibiotics are prescribed only when needed.

Keywords:

β -lactamases,
Enterobacterales,
antimicrobial resistance



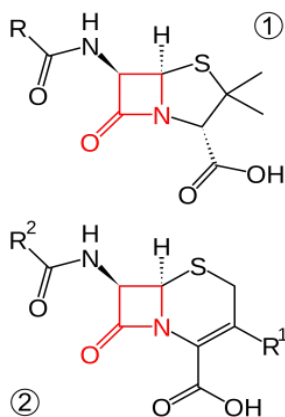
Sažetak

Beta laktamski antibiotici su jedni od najznačajnijih i najčešće korišćenih lekova u kliničkoj praksi. Rezistencija na β -laktame može da nastane na više načina. Beta laktamaze su enzimi koji hidrolizom razlažu β -laktamski prsten i time inaktiviraju antibiotik. Do sada su otkrivene i opisane brojne vrste β -laktamaza, a njihov broj se uvećava otkrićem novih vrsta. Geni koji kodiraju sintezu β -laktamaza mogu biti na bakterijskom hromozomu ili na plazmidima. U okviru β -laktamaza, poseban značaj imaju laktamaze proširenog spektra delovanja (engl. *extended-spectrum β -lactamases*, ESBL). Ova grupa enzima je veoma heterogena. Termin ESBL se najčešće odnosi na β -laktamaze koje razlažu peniciline, cefalosporine i monobaktame, ali ne i cefamicine i karbapeneme i bivaju inhibirane inhibitorima beta laktamaza, klavulanskom kiselinom i/ili tazobaktamom. Među ESBL enzimima daleko najveći klinički značaj imaju CTX-M, a zatim TEM i SHV tipovi, koji su široko rasprostranjeni u celom svetu. Ostali, manje učestali, ali klinički značajni tipovi ESBL enzima uključuju VEB, PER, GES, TLE, IBC, BES, BEL i druge tipove. Poslednjih godina rezistentne bakterije se nalaze i van kliničkih okruženja, uključujući vodu, zemljište i životinje koje se koriste za ljudsku ishranu. Ukoliko se ovaj problem, koji je postao prisutan u svim sredinama, ignoriše, karbapenemi mogu da postanu prva linija prilikom empirijskog lečenja infekcija. Neophodna je edukacija koja naglašava potrebu za što manjim korišćenjem antibiotika jer se rezistentni sojevi šire velikom brzinom.

Ključne reči:

β -laktamaze,
Enterobacterales,
antimikrobna rezistencija

Beta laktamski antibiotici predstavljaju veliku grupu antibiotika koja obuhvata peniciline, cefalosporine, karbapeneme i monobaktame. Mehanizam delovanja β -laktama je inhibicija sinteze ćelijskog zida bakterija. U osnovi njihove građe je β -laktamski prsten (slika 1), koji je ključan za antibakterijsko delovanje. Beta laktami se vežu za penicilin vezujuće proteine (PBP), tj. enzime transpeptidaze u ćelijskom zidu (1), čija je funkcija povezivanje slojeva peptidoglikana. To dovodi do prekida sinteze peptidoglikana, što izaziva smrt bakterijskih ćelija, pa je efekat antibiotika baktericidan.



Slika 1. Beta laktamski prsten (1. penicilinski antibiotik; 2. cefalosporinski antibiotik)

Beta laktamski antibiotici su jedni od najznačajnijih i najčešće korišćenih lekova u kliničkoj praksi. Njihov spektar delovanja je veoma širok i uključuje većinu medicinski značajnih bakterijskih vrsta. Inhibitori β -laktamaza, kao npr. klavulanska kiselina, proširuju spektar delovanja β -laktama na bakterije koje proizvode neke vrste β -laktamaza. Rezistencija na β -laktame je veoma rasprostranjena, a njena učestalost u svetu se konstantno povećava i pretda ugrozi upotrebu ovih lekova (1).

Rezistencija na β -laktame može da nastane na više načina. Ona je najčešće posledica promene ciljnog mesta delovanja antibiotika, enzimske razgradnje, nepropustljivosti ćelijskog zida, ili ređe zbog izlaska antibiotika efluks pumpama (2). Promena penicilin vezujućih proteina je čest mehanizam rezistencije pogotovo kod Gram-pozitivnih koka (3). Enzimska razgradnja β -laktama usled produkcije β -laktamaza je takođe veoma rasprostranjen mehanizam rezistencije. Kod Gram-negativnih bakterija to je najčešći mehanizam rezistencije na ovu grupu antibiotika. Specifičnost građe porina koji su neophodni za ulazak β -beta laktama je čest razlog urođene rezistencije na neke β -laktame kod bakterije *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) i drugih Gram-negativnih nefermentujućih bacila. Uz to, modifikacije porina mogu dovesti do stečene rezistencije kod nefermentativnih bakterija, ali i kod enterobakterija (3).

Beta laktamaze

Beta laktamaze su enzimi koji hidrolizom razlažu β -laktamski prsten i time inaktiviraju antibiotik. Do sada su otkrivene i opisane brojne vrste β -laktamaza, a njihov broj se uvećava otkrićem novih vrsta (4). Dve najčešće korišćene klasifikacije β -laktamaza su: Amblerova podela na osnovu građe tj. proteinske strukture (5) i Bušova (*Bush*) funkcionalna klasifikacija (4,6). Prema Amblerovoj dopunjenoj klasifikaciji, β -laktamaze se dele na 4 klase, A, B, C i D (5,7,8). Klasa A i B su prvobitno opisane, a C i D su naknadno otkrivene i po mehanizmu delovanja su slične klasi A. Klase A, C i D obuhvataju tzv. serin- β -beta laktamaze koje u aktivnom delu enzima imaju aminokiselinu serin. Klasa B β -laktamaza uključuje tzv. metaloenzime, za čije delovanje su neophodni joni metala, najčešće cinka.

Funkcionalna klasifikacija β -laktamaza je zasnovana na spektru delovanja enzima na odgovarajuće β -laktame

i osetljivosti prema inhibitorima β -laktamaza. Ova podela uzima u obzir i molekulsku građu enzima. Funkcionalna klasifikacija je kompleksna, ali je njen praktični značaj veliki jer je zasnovana na ključnim kliničkim aspektima, tj. spektru delovanja enzima. Prvobitna funkcionalna podela, predložena od strane autora Buša, Džekobija (*Jakoby*) i Medeirosa 1995. godine (6), bila je zasnovana na delovanju enzima na supstrat i osetljivosti prema inhibitorima β -laktamaza. Na osnovu ove podele izdvajaju se četiri grupe β -laktamaza. Prva (grupa 1) obuhvata cefalosporinaze koje nisu suprimirane inhibitorima β -laktamaza. Druga (grupa 2) je najveća i heterogena, a obuhvata enzime koji pripadaju klasama A i D β -laktamaza, a koje su suprimirane inhibitorima β -laktamaza. U okviru ove grupe se nalaze β -laktamaze proširenog spektra delovanja (engl. *extended-spectrum β -lactamases*, ESBL). Treća (grupa 3) uključuje metaloenzime iz klase B β -laktamaza koji deluju na peniciline, cefalosporine i karbapeneme i koji nisu inhibirani inhibitorima β -laktamaza, a inhibiraju ih etilen-diamin-tetra sirćetna kiselina (EDTA) i *p*-hloromerkuribenzoat (pCMB). U četvrtoj grupi su nedovoljno ispitani enzimi kao penicilaze bakterije *Burkholderia cepacia* (*B. cepacia*) (6). S vremenom je došlo do otkrića brojnih enzima te se, prema dopunjenoj klasifikaciji (4), danas opisuju tri osnovne grupe β -laktamaza u okviru kojih postoji najmanje 17 različitih funkcionalnih podgrupa.

Geni koji kodiraju sintezu β -laktamaza mogu se nalaziti na bakterijskom hromozomu ili na plazmidima. Hromozomska lokacija β -laktamaza je česta kod *P. aeruginosa* i dovodi do konstitutivne rezistencije na određene β -laktame. Plazmidaska lokalizacija ili prisustvo na drugim mobilnim genetskim elementima najznačajnija je za širenje β -laktamaza danas, kako u bolničkim okruženjima, tako i u vanbolničkoj sredini. Uz to, na plazmidima su obično prisutni i geni za rezistenciju na druge, nesrodne klase antibiotika, te je uobičajena pojava udružene rezistencije na veći broj različitih antibiotika: β -laktame, tetracikline, fluorokinolone, aminoglikozide, sulfametoksazol-trimetoprim i druge antibiotike. Među gram-negativnim bakterijama, naročito enterobakterijama, geni rezistencije su najčešće lokalizovani na plazmidima. Treba napomenuti da je ključni faktor koji doprinosi širenju i održavanju rezistencije preterana i neodgovarajuća upotreba antibiotika, koja je važna kako za selekciju rezistentnih mutanata, tako i za njihovo širenje (2).

Beta laktamaze proširenog spektra delovanja

U okviru beta laktamaza, poseban značaj imaju ESBL. Ova grupa enzima je veoma heterogena i u literaturi ne postoji potpuni konsenzus ni oko definicije pojma, ni oko njihove klasifikacije (9). Ipak, termin ESBL se najčešće odnosi na β -laktamaze koje razlažu peniciline, cefalosporine (uključujući III i IV generaciju) i monobaktame, a koje na cefamicine i karbapeneme ne deluju i osetljive su na inhibitore β -laktamaza, klavulansku kiselinu i/ili tazobaktam (9). Ove enzime mogu proizvoditi različite bakterijske vrste, ali najveći praktični značaj ima njihovo prisustvo kod enterobakterija (9). Sojevi bakterija *Escherichia coli* (*E. coli*), *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*), *Proteus spp.*, *Serratia spp.* i dr.

česti su produktori ESBL, pogotovo izolati koji potiču iz bolničkih sredina. Geni koji kodiraju ESBL su najčešće lokalizovani na konjugativnim plazmidima, što doprinosi brzini njihovog širenja među srodnim i nesrodnim vrstama bakterija (10).

Soj koji proizvodi ESBL je prvi put izolovan 1983. godine (10). Naziv ESBL je uveden 1988. godine (11). Prvobitno otkriveni ESBL enzimi su obuhvatali brojne varijante TEM i SHV tipova enzima. Nastali su od TEM1, TEM2 i SHV1 tipova enzima, koji predstavljaju plazmidski prenosive β -laktamaze, do tada široko rasprostranjene među gram-negativnim bakterijama, a čiji spektar dejstva nije obuhvatao oksiiimino cefalosporine. Samo poreklo TEM enzima nije poznato, a za SHV se smatra da potiče od hromozomski kodirane β -laktamaze *K. pneumoniae* (12,13). Supstitucijom aminokiselina u TEM1, TEM2 i SHV1 enzimima nastale su mnogobrojne varijante ovih enzima sa proširenim spektrom delovanja, koji odgovara definiciji ESBL enzima (14). Derivati TEM i SHV enzima su se velikom brzinom raširili u svetu. Ovi tipovi ESBL enzima pripadaju klasi A β -laktamaza i svrstane su u grupu 2 serin β -laktamaza i podgrupu 2be prema funkcionalnoj klasifikaciji autora Buša, Džekobija i Medeirosa (6). Pored navedenog, derivate TEM i SHV enzima karakteriše sposobnost razgradnje oksiiimino cefalosporina odgovarajućom brzinom (najmanje 10% brzine razgradnje benzil penicilina) (6). Ubrzo posle epidemijskog širenja TEM i SHV varijanti enzima, pojavila se CTX-M grupa enzima (15). Nju karakteriše veća aktivnost prema cefotaksimu, po čemu je izveden naziv enzima. Smatra se da potiče iz bakterije *Kluyvera spp.*, ubikvitarne vrste bakterija iz zemljišta. Enzimi CTX-M grupe su se brzo raširili i postali dominantni u većini regija u svetu, zamenivši TEM i SHV tipove (15).

Postoje brojni nesrodni tipovi β -laktamaza koji fenotipski odgovaraju inicijalno opisanim ESBL enzimima. Njihovim otkrićem je podela postala kompleksnija, tako da i u stručnim krugovima ne postoji potpuni konsenzus oko toga šta ESBL grupa danas obuhvata. Neki od primera enzima sa karakteristikama ESBL u okviru klase A β -laktamaza su VEB, GES, PER, TLE i dr. Određene β -laktamaze, koje pripadaju klasama C i D, imaju takođe osobine ESBL enzima: varijante OXA enzima klase D, koje deluju na oksiiimino cefalosporine a slabije su inhibirani klavulanskom kiselinom; plazmidski prenosive AmpC cefalosporinaze klase C koje deluju na cefalosporine i nisu inhibirane klavulanskom kiselinom; GES enzimi, klase D, koji odgovaraju opisu ESBL enzima, ali sa hidrolitičkim delovanjem i na karbapeneme i dr (18). Prema dopunjenoj klasifikaciji β -laktamaza (4), ESBL enzimi uključuju pored 2be podgrupe i određene enzime iz 2be, 2de, 2e i 2br grupa. Ovi parametri pokazuju da je ESBL grupa enzima veoma heterogena i stoga njihova klasifikacija nije jedinstvena. U literaturi različiti autori često različito definišu ESBL grupu (13,15). Većina autora se slaže da ESBL obuhvataju veliki broj raznorodnih vrsta β -laktamaza koji dele zajedničke

osobine: rezistenciju na oksimino cefalosporine, osetljivost na karbapeneme i inhibitore β -laktamaza. Ove osobine su osnova za identifikaciju ESBL produkujućih sojeva u svakodnevnom radu u mikrobiološkim laboratorijama (16). Ipak, ovakva karakterizacija neki put dovodi do greške, jer sojevi sa dodatnim mehanizmima rezistencije imaju rezistotipove koji ne odgovaraju prethodno navedenom opisu (16).

Među ESBL enzimima daleko najveći klinički značaj imaju CTX-M, a zatim TEM i SHV tipovi, koji su široko rasprostranjeni u celom svetu. Ostali, manje učestali, ali klinički značajni tipovi ESBL enzima uključuju VEB, PER, GES, TLE, IBC, BES, BEL i druge tipove (15).

TEM ESBL

TEM enzimi su derivati TEM1 i TEM2 β -laktamaza koje su opisane šezdesetih godina prošlog veka. TEM1 je plazmidski prenosiva β -laktamaza kod bakterije *E. coli*, izolovana kod pacijenta Temoneira u Grčkoj, odakle potiče naziv enzima (17). Ove β -laktamaze razlažu ampicilin, ali nemaju proširen spektar delovanja. Supstitucijama aminokiselina nastali su derivati TEM enzima sa proširenim spektrom delovanja ka oksimino cefalosporinima, tj. ESBL varijante enzima. Do danas je opisano preko 200 različitih varijanti TEM enzima, od kojih većina pripada 2be grupi β -laktamaza i poseduje ESBL spektar delovanja (*Lahley.org*). Do ekspanzije CTX-M enzima krajem devedesetih TEM su bili najčešći ESBL enzimi u svetu i to, pre svega, kod *E. coli* i *K. pneumoniae*.

SHV ESBL

Grupa SHV enzima je najverovatnije nastala od hromozomski kodirane penicilaze *K. pneumoniae* (19). Prvi SHV gen (bla SHV-1) otkriven je 1972. godine kod izolata *E. coli* (12). Do danas je opisano više od 180 različitih alelnih varijanti SHV enzima, od kojih većina pripada 2be grupi, odnosno ESBL enzimima (18). Geni koji kodiraju SHV enzime najčešće se nalaze na plazmidima koji nose i gene rezistencije na druge antimikrobne agense, tako da je udružena rezistencija kod SHV produkta tipična pojava. Prisustvo SHV gena je najčešće kod kliničkih izolata *K. pneumoniae* i *E. coli*, ali se može naći i kod drugih enterobakterija (18). Neki SHV tipovi su jedino dokazani kod sojeva *K. pneumoniae*: SHV-6, SHV-13, SHV-16, SHV-18, SHV-23, SHV-45, SHV-64, SHV-66, SHV-86, SHV-90, SHV-91, SHV-98, SHV-99, SHV-100, SHV-104, HV-105 i SHV-134. Interesantno je da su sojevi koji nose navedene gene široko rasprostranjeni u svetu (19). Neke varijante SHV gena su lokalizovane na plazmidima koji nose gene za karbapenemaze kod enterobakterija: SHV-12 i KPC-2 ili NDM (20-23).

CTX-M ESBL

Od sredine osamdesetih godina prošlog veka zapažena je pojava rezistencije na cefotaksim kod različitih enterobakterija u Evropi, ali i u drugim delovima sveta. Pomenuti sojevi nisu nosili gene ni za TEM ni za SHV β -laktamaze. Prvi CTX-M enzim je opisan 1989. kod izolata *E. coli* i u

Nemačkoj i kod bakterije *Salmonella typhimurium* u Južnoj Americi (24,25), a nadalje su usledila otkrića niza CTX-M varijanti enzima. Smatra se da geni koji kodiraju CTX-M enzime potiču od hromozomski kodiranih β -laktamaza bakterija roda *Kluyvera* (26,27). Inkorporiranje pomenutih gena verovatno se desilo nezavisno u više navrata i poreklom od različitih vrsta *Kluyvera spp.*, a zatim je putem konjugativnih plazmida usledilo širenje među sojevima *E. coli* i *K. pneumoniae*, *Salmonella spp.* i drugim enterobakterijama (28,29). Konjugativni plazmidi sa CTX-M genima tipično nose i gene rezistencije na druge klase antibiotike, pa je udružena rezistencija na niz agensa tipična pojava. Kod CTX-M grupe enzima karakteristična je rezistencija na cefotaksim i ceftriakson, dok je osetljivost ka ceftazidimu često očuvana. S vremenom su nastale varijante enzima koje razlažu i ceftazidim. Do danas je opisano preko 120 različitih vrsta CTX-M enzima. Za razliku od TEM i SHV enzima, CTX-M grupa je heterogenija. Smatra se da je razlog ove heterogenosti inkorporacija različitih CTX-M gena iz *Kluyvera* vrsta u plazmidsku DNK (29). Prvobitna ekspanzija CTX-M β -laktamaza je opisana devedesetih godina među serotipovima *Salmonella spp.* u Argentini, a zatim i među drugim enterobakterijama, pa je vrlo brzo više od 75% ESBL produkujućih enterobakterija u Argentini nosilo gen za CTX-M 2 tip enzima (27). Usledilo je pandemijsko širenje u celom svetu i danas u većini delova sveta CTX-M grupa enzima dominira u odnosu na TEM i SHV grupu i predstavlja najrasprostranjeniju ESBL grupu. CTX-M 15 je verovatno najčešća varijanta enzima koja je globalno distribuirana (25).

Značaj gena za TEM, SHV i CTX-M

Osetljivost β -laktama je uglavnom determinisana β -laktamazama stečenim putem plazmida. Nakon pojave prve β -laktamaze nastale na ovaj način, TEM-1 (17), započet je nezaustavljivi ciklus. Zbog razvoja rezistentnih bakterija uvode se novi, prirodni ili sintetički lekovi, koji zamenjuju stare na koje se rezistencija razvila, a time su bakterije izložene stalnom pritisku za razvijanje novih mehanizama rezistencije (30). Prisustvo TEM-1 je odgovorno za više od 90% rezistencije na ampicilin kod *E. coli* (31). On vrši hidrolizu penicilina i cefalosporina prve generacije. Prvi derivat TEM-1, TEM-2, razlikuje se samo u jednoj aminokiselini (32). Razlika između β -laktamaza je supstitucija aminokiselina, čime nastaju enzimi različitih fenotipova (33). Iako su TEM-1 i TEM-2 širokog spektra delovanja, zamenom još jedne aminokiseline nastao je TEM-3 i, s vremenom, zamenom još aminokiseline, dobilo se više od 100 enzima, svi proširenog spektra (33). Plazmidi koji su odgovorni za produkciju ESBL mogu takođe da sadrže druge gene čiji produkti pokazuju rezistenciju na aminoglikozide i kotrimoksazol (34).

Prvi gen za SHV-1 enzim je izolovan 1970. godine kod *E. coli* (12). Potvrđeno je da je deo plazmida p453 (35). Pretpostavlja se da je predak tog SHV-1 penicilina, koja se nalazila na hromozomima detektovanim kod

K. pneumoniae, izolovane od neonatusa (36), mada se ne zna tačno kako je taj gen sa hromozoma došao do plazmida. Do danas se broj SHV alelskih varijanti stalno povećava, što dovodi do sve većeg broja rezistentnih (37). Na osnovu svojih molekularnih karakteristika i funkcionalnih osobina, SHV β -laktamaze se mogu podeliti u tri subgrupe. Pretpostavlja se da su oni evoluirali iz multiplih varijanti u toku antibiotske ere (19). Među SHV ESBL, supstitucija aminokiselina se uglavnom odigrava na određenim pozicijama *Leu35*, *Gly238*, *Glu240*.

Prvi gen za CTX-M-1 je opisan u Nemačkoj, Francuskoj i Južnoj Americi pre tridesetak godina i s vremenom je postao globalno diseminovan. Do sada je opisano preko 160 enzima (38). Naziv su dobili po većoj aktivnosti prema cefotaksimu. Potiču od retko patogenih ubikvitarnih organizama koji žive u zemljištu, *Kluyvera spp.* Oni predstavljaju primer prenošenja gena β -laktamaze putem plazmida. Tačkastim mutacijama i zamenama samo jedne aminokiseline nastaju nove CTX-M β -laktamaze, još rezistentnije na primenu ovih lekova. Tako je pokazano da koreni ove grupe β -laktamaza vode od bakterija koje postoje u prirodi i koje nisu patogene, a koje su s vremenom, posledičnim mutacijama i pod uticajem široke primene antibiotika, dovele do globalnog zdravstvenog problema.

Druge beta laktamaze

OXA β -laktamaze su nazvane tako jer vrše hidrolizu oksacilina. Takođe se prenose putem plazmida. Postoje i druge ESBL, manje rasprostranjene, koji su uglavnom pronađene kod *P. aeruginosa*, kao što su PER, VEB, GES, uglavnom vezane za neko određeno geografsko područje (39). Ostali retki ESBL enzimi pronađeni kod enterobakterija su BES, SFO i TLA.

Zaključak

Poslednjih godina rezistentne bakterije se nalaze i van kliničkih okruženja, uključujući vodu, zemljište i životinje koje se koriste za ljudsku ishranu. Pronađene su u reci Temzi u Londonu, u vodovodnim cevima (40), kod divljih životinja, u mesu iz supermarketa. Osnovni uzrok takve pojave predstavljaju kolonizacija i prisustvo rezistentnih bakterija u crevima. Pokazano je da je do sada kolonizovano preko 10% ljudi, a u ruralnim delovima Tajlanda i do 70% (41). Rizik za kolonizaciju nosi i kontakt sa životinjama koje žive na farmi i animalnim produktima, putovanja u inostranstvo, skorašnje urinarne infekcije i skorašnje lečenje antibioticima. Kod dece je glavni rizik hospitalizacija na odeljenjima intenzivne nege pedijatrije i neonatologije. Poseban rizik nose prevremeno rođena deca male gestacione starosti i telesne mase, koja zahtevaju produženu upotrebu mehaničke ventilacije, dug boravak u bolnici, kao i upotrebu antibiotske terapije (42-45).

Lekovi izbora za lečenje infekcija ESBL bakterija su karbapenemi. Ukoliko se problem rezistencije, koji je postao prisutan u svim sredinama, bude ignorisao, karbapenemi će postati prva linija u empirijskom lečenju infekcija.

Neophodna je edukacija koja naglašava potrebu za što manjim korišćenjem antibiotika jer se rezistencija širi velikom brzinom.

Literatura

1. Spratt BG, Cromie KD. Penicillin-Binding Proteins of Gram-Negative Bacteria. *Clinical Infectious Diseases* 1988;10(4):699-711. doi: 10.1093/clinids/10.4.699
2. Wilke MS, Lovering AL, Strynadka NC. β -Lactam antibiotic resistance: a current structural perspective. *Current Opinion in Microbiology* 2005;8(5):525-533. doi: 10.1016/j.mib.2005.08.016
3. Tomasz A. Antibiotic Resistance in *Streptococcus pneumoniae*. *Clinical Infectious Diseases* 1997;24(Supplement_1):85-88. doi: 10.1093/clinids/24.Supplement_1.S85
4. Bush K, Jacoby GA. Updated Functional Classification of Lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2010;54(3):969-976. doi: 10.1128/aac.01009-09
5. Ambler RP. The Structure of β -lactamases. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 1980;289(1036):321-331. doi: 10.1098/rstb.1980.0049
6. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1995;39(6):1211-1233. doi: 10.1128/aac.39.6.1211
7. Jaurin B, Grundstrom T. *ampC* cephalosporinase of *Escherichia coli* K-12 has a different evolutionary origin from that of beta-lactamases of the penicillinase type. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1981;78(8):4897-4901. doi: 10.1073/pnas.78.8.4897
8. Huovinen S, Huovinen P, Jacoby GA. Detection of plasmid-mediated beta-lactamases with DNA probes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1988;32(2):175-179. doi: 10.1128/aac.32.2.175
9. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-Spectrum β -Lactamases: a Clinical Update. *Clinical Microbiology Reviews* 2005;18(4):657-686. doi: 10.1128/cmr.18.4.657-686.2005
10. EUCAST, 2017, Resistance mechanisms dostupno na: http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Resistance_mechanisms/EUCAST_detection_of_resistance_mechanisms_170711.pdf
11. Jarlier V, Nicolas M-, Fournier G, Philippon A. Extended Broad-Spectrum β -Lactamases Conferring Transferable Resistance to Newer β -Lactam Agents in Enterobacteriaceae: Hospital Prevalence and Susceptibility Patterns. *Clinical Infectious Diseases* 1988;10(4):867-878. doi: 10.1093/clinids/10.4.867
12. Pitton JS. Mechanisms of bacterial resistance to antibiotics. *Ergeb Physiol.* 1972; 65:15-93.
13. Livermore DM. Defining an extended-spectrum β -lactamase. *Clinical Microbiology and Infection* 2008;14:3-10. doi: 10.1111/j.1469-0691.2007.01857.x

14. Ghafourian S, Sadeghifard N, Soheili S, Sekawi Z. Extended Spectrum Beta-lactamases: Definition, Classification and Epidemiology. *Curr Issues Mol Biol*. 2015;17:11-21.
15. Giske CG, Sundsfjord AS, Kahlmeter G, Woodford N, Nordmann P, Paterson DL, Walsh TR. Redefining extended-spectrum β -lactamases: balancing science and clinical need-authors' response. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2009;64(1):213-215. doi: 10.1093/jac/dkp143
16. EUCAST 2018 dostupno na: https://www.researchgate.net/publication/236600303_Consequences_of_revised_CLSI_and_EUCAST_guidelines_for_antibiotic_susceptibility_patterns_of_ESBL-_and_AmpC-_lactamase-producing_clinical_Enterobacteriaceae_isolates
17. Datta N, Kontomichalou P. Penicillinase Synthesis Controlled By Infectious R Factors In Enterobacteriaceae. *Nature* 1965;208(5007):239-241. doi: 10.1038/208239a0
18. Lahey, β -Lactamase Classification and Amino Acid Sequences for TEM, SHV and OXA Extended-Spectrum and Inhibitor Resistant Enzymes dostupno na: <https://www.lahey.org/Studies/>
19. Liakopoulos A, Mevius D, Ceccarelli D. A Review of SHV Extended-Spectrum β -Lactamases: Neglected Yet Ubiquitous. *Frontiers in Microbiology* 2016;7 doi: 10.3389/fmicb.2016.01374
20. Kassis-Chikhani N, Frangeul L, Drieux L, Sengelin C, Jarlier V, Brisse S, Decré D. Complete Nucleotide Sequence of the First KPC-2- and SHV-12-Encoding IncX Plasmid, pKpS90, from *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2012;57(1):618-620. doi: 10.1128/aac.01712-12
21. Sonnevend A, Al BA, Ghazawi A, Hashmey R, Girgis S, Hamadeh MB, Pal T. Emergence and spread of NDM-1 producer Enterobacteriaceae with contribution of IncX3 plasmids in the United Arab Emirates. *Journal of Medical Microbiology* 2013;62(Pt_7):1044-1050. doi: 10.1099/jmm.0.059014-0
22. Partridge SR, Ginn AN, Wiklendt AM, Ellem J, Wong JSJ, Ingram P, Iredell JR. Emergence of blaKPC carbapenemase genes in Australia. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2015;45(2):130-136. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2014.10.006
23. Aung MS, San N, Maw WW, San T, Urushibara N, Kawaguchiya M, Kobayashi N. Prevalence of Extended-Spectrum Beta-Lactamase and Carbapenemase Genes in Clinical Isolates of *Escherichia coli* in Myanmar: Dominance of bla NDM-5 and Emergence. *Microbial Drug Resistance* 2018;24(9):1333-1344. doi: 10.1089/mdr.2017.0387
24. Bauernfeind A, Schweighart S, Grimm H. Eine neue plasmidische Cefotaximase in einem *Escherichia coli* Stamm. *Escherichia coli*. *Infection* 1990;18(5):294-298. doi: 10.1007/bf01647010
25. Bauernfeind A, Holley M, Jungwirth R, Mangold P, Röhnisch T, Schweighart S, Goldberg M. Neue plasmidische Cefotaximase von Patienten mit *Salmonella typhimurium*-Infektion. *Infection* 1992;20(3):158-163. doi: 10.1007/bf01704610
26. Rossolini GM, D'Andrea MM, Mugnaioli C. The spread of CTX-M-type extended-spectrum β -lactamases. *Clinical Microbiology and Infection* 2008;14:33-41. doi: 10.1111/j.1469-0691.2007.01867.x
27. Bonnet R. Growing Group of Extended-Spectrum β -Lactamases: the CTX-M Enzymes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2004;48(1):1-14. doi: 10.1128/aac.48.1.1-14.2004
28. Schaufler K, Semmler T, Pickard DJ, de Toro M, de la Cruz F, Wieler LH, Guenther S. Carriage of Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Plasmids Does Not Reduce Fitness but Enhances Virulence in Some Strains of Pandemic *E. coli* Lineages. *Frontiers in Microbiology* 2016;7 doi: 10.3389/fmicb.2016.00336
29. Cantón R, Novais A, Valverde A, Machado E, Peixe L, Baquero F, Coque TM. Prevalence and spread of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in Europe. *Clinical Microbiology and Infection* 2008;14:144-153. doi: 10.1111/j.1469-0691.2007.01850.x
30. Medeiros AA. Evolution and Dissemination of β -Lactamases Accelerated by Generations of β -Lactam Antibiotics. *Clinical Infectious Diseases* 1997;24(Supplement_1) doi: 10.1093/clinids/24.Supplement_1.S19
31. Livermore DM. beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clinical Microbiology Reviews* 1995;8(4):557-584. doi: 10.1128/cmr.8.4.557
32. Bois SKD, Marriott MS, Amyes SGB. TEM- and SHV-derived extended-spectrum β -lactamases: relationship between selection, structure and function. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 1995;35(1):7-22. doi: 10.1093/jac/35.1.7
33. Ghafourian S1, Sadeghifard N, Soheili S, Sekawi Z. Extended Spectrum Beta-lactamases: Definition, Classification and Epidemiology. *Curr Issues Mol Biol*. 2015; 17:11-21.
34. Villa L, Pezzella C, Tosini F, Visca P, Petrucca A, Carattoli A. Multiple-Antibiotic Resistance Mediated by Structurally Related IncL/M Plasmids Carrying an Extended-Spectrum β -Lactamase Gene and a Class 1 Integron. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2000;44(10):2911-2914. doi: 10.1128/aac.44.10.2911-2914.2000
35. Barthélémy M, Péduzzi J, Ben YH, Labia R. Single amino acid substitution between SHV-1 β -lactamase and cefotaxime-hydrolyzing SHV-2 enzyme. *FEBS Letters* 2001;231(1):217-220. doi: 10.1016/0014-5793(88)80734-8
36. Haeggman S, Löfdahl S, Burman LG. An allelic variant of the chromosomal gene for class A beta-lactamase K2, specific for *Klebsiella pneumoniae*, is the ancestor of SHV-1. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*

- 1997;41(12):2705-2709. doi: 10.1128/aac.41.12.2705
37. Poirel L, Decousser J, Nordmann P. Insertion Sequence ISEcp1B Is Involved in Expression and Mobilization of a blaCTX-M β -Lactamase Gene. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2003;47(9):2938-2945. doi: 10.1128/aac.47.9.2938-2945.2003
38. Jacoby GA, Munoz-Price LS. The New β -Lactamases. *New England Journal of Medicine* 2005;352(4):380-391. doi: 10.1056/nejmra041359
39. Rodriguez MM, Power P, Radice M, Vay C, Famiglietti A, Galleni M, Gutkind G. Chromosome-Encoded CTX-M-3 from *Kluyvera ascorbata*: a Possible Origin of Plasmid-Borne CTX-M-1-Derived Cefotaximases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2004;48(12):4895-4897. doi: 10.1128/aac.48.12.4895-4897.2004
40. Alonso A, Rojo F, Martinez JL. Environmental and clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* show pathogenic and biodegradative properties irrespective of their origin. *Environmental Microbiology* 1999;1(5):421-430. doi: 10.1046/j.1462-2920.1999.00052.x
41. Woerther P, Burdet C, Chachaty E, Andremont A. Trends in Human Fecal Carriage of Extended-Spectrum β -Lactamases in the Community: Toward the Globalization of CTX-M. *Clinical Microbiology Reviews* 2013;26(4):744-758. doi: 10.1128/cmr.00023-13
42. Crivaro V, Bagattini M, Salza MF, Raimondi F, Rossano F, Triassi M, Zarrilli R. Risk factors for extended-spectrum β -lactamase-producing *Serratia marcescens* and *Klebsiella pneumoniae* acquisition in a neonatal intensive care unit. *Journal of Hospital Infection* 2007;67(2):135-141. doi: 10.1016/j.jhin.2007.07.026
43. Rettedal S, Löhr IH, Natås O, Sundsfjord A, Øymar K. Risk factors for acquisition of CTX-M-15 extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* during an outbreak in a neonatal intensive care unit in Norway. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* 2013;45(1):54-58. doi: 10.3109/00365548.2012.713116
44. Shakil S, Akram M, Ali SM, Khan AU. Acquisition of extended-spectrum β -lactamase producing *Escherichia coli* strains in male and female infants admitted to a neonatal intensive care unit: molecular epidemiology and analysis of risk factors. *Journal of Medical Microbiology* 2010;59(8):948-954. doi: 10.1099/jmm.0.020214-0
45. Vijayakanthi N, Bahl D, Kaur N, Maria A, Dubey NK. Frequency and characteristics of infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing organisms in neonates: a prospective cohort study. *BioMed research international*. 2013;2013.
46. Denkel LA, Schwab F, Kola A, Leistner R, Garten L, von Weizsäcker K, Geffers C, Gastmeier P, Piening B. The mother as most important risk factor for colonization of very low birth weight (VLBW) infants with extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* (ESBL-E). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2014 Apr 11;69(8):2230-7.