

Резистентность микроорганизмов к антимикробным препаратам.

Покудина Инна Олеговна, Шкурат Михаил Алексеевич, Батталов Дмитрий Валентинович

Аннотация:

Появление феномена устойчивости к лечебным препаратам у патогенных микроорганизмов, оказывает крайне негативный эффект на здоровье человечества, т.к. приводит к резкому снижению эффективности этиотропной терапии инфекционных болезней. Интенсивный селективный прессинг антибиотиков, ведет к быстрой эволюции и распространению новых механизмов резистентности в медицинских учреждениях и, прежде всего, в отделениях реанимации и интенсивной терапии. В статье проанализированы данные литературы о механизмах возникновения и передачи устойчивости патогенных микроорганизмов к антибактериальным препаратам и приобретенной резистентности, связанной с продукцией бета-лактамаз широкого спектра.

Ключевые слова:

Антибактериальные препараты, антибиотикоустойчивость, β -лактамазы.

Resistance of microorganisms to antimicrobial drugs.

Pokudina Inna Olegovna, Shkurat Mihail Alekseevich, Battalov Dmitriij Valentinovich

Abstract:

The emergence of the phenomenon of resistance to therapeutic drugs in the pathogenic microorganisms, has a very negative effect on the health of humanity, because it leads to a sharp decrease in the efficiency of etiotropic therapy of infectious diseases. Intense selective pressure of antibiotics leads to the rapid evolution and spread of new resistance mechanisms in health care settings and, above all, in the Intensive care unit. The article analyzes the literature data about the mechanisms of emergence and transmission of the resistance of pathogens to antimicrobial agents and acquired resistance associated with the production of beta-lactamases extended spectrum.

Keywords: Antibacterial drugs, antibiotic-resistant, β -lactamase.

Введение

Появление феномена устойчивости возбудителей инфекционных болезней к лечебным препаратам, приводящих к резкому снижению эффективности этиотропной терапии, является серьезной угрозой благополучию и здоровью человечества. В настоящее время распространение антибиотикорезистентности приняло глобальный характер. Актуальность и серьезность этой проблемы в полной мере осознана международным медицинским сообществом. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) разработала и опубликовала в 2001 году «Глобальную стратегию ВОЗ по сдерживанию устойчивости к противомикробным препаратам», в которой рекомендовано рассматривать указанную проблему в качестве одного из приоритетов национальных систем здравоохранения [World Health Organization, 2001]. Предотвращение формирования и распространения антимикробной резистентности признано ВОЗ, странами Европейского Союза и Северной Америки в качестве глобальной проблемы, а также в качестве национального приоритета [Мудрак Д.А., 2010].

Благодаря пластичности генетического аппарата и способности обмениваться генами бактерии могут приспособиться фактически к любому лекарственному препарату, будь он веществом биологического происхождения или же синтезирован с нуля в лаборатории. Микробам даже не нужно контактировать с антибиотиками: нужный ген может попасть к ним по цепочке от других клеток [<http://www.nkj.ru/news/25639/>].

В настоящее время β -лактамы являются наиболее часто применяемыми препаратами для лечения бактериальных инфекций и основой современной химиотерапии, так как занимают ведущее или важное место в лечении большинства инфекционных болезней, однако их эффективность в последние годы резко снизилась вследствие возникновения и распространения среди возбудителей нозокомиальных инфекций устойчивости к ним, наиболее частым механизмом развития которой является продукция бета-лактамаз [Bush K, Jacoby GA., 2010]

Резистентность бактерий к антимикробным препаратам.

Медицина впервые столкнулась с проблемой устойчивости, или резистентности, болезнетворных бактерий к антимикробным препаратам еще в 40-х годах прошлого века, почти одновременно с открытием антибиотиков. Уже через год после начала применения пенициллина у золотистого стафилококка обнаружился фермент пенициллиназа, разрушающий этот антибиотик. В 1970-е годы впервые были выявлены микроорганизмы, устойчивые к целым группам

лекарственных средств. Наверно, самый известный пример здесь – метициллин-резистентный стафилококк, или *MRSA*, устойчивый к широкому спектру лекарств. Его часто используют как модельный исследовательский объект, чтобы понять механизмы, задействованные при развитии лекарственной устойчивости, а также для испытания новых веществ, которые могли бы такую устойчивость преодолеть. [Chambers HF, Deleo FR, 2009]

В конце 1990-х годов появились штаммы давно известных микроорганизмов, приобретших устойчивость ко всем известным антибиотикам. В результате сегодня врачи сталкиваются с инфекциями, вызванными, например, штаммами энтерококков или синегнойной палочкой, которые не поддаются лечению имеющимися в арсенале медицины препаратами [Страчунский Л.С., Козлов С.Н., 2002].

Основным отличием АБП (антибактериальных препаратов) от других веществ, оказывающих токсическое действие на бактериальную клетку является их высокая избирательность. Как правило, АБП ингибируют метаболические процессы, уникальные для прокариотической клетки и отсутствующие у эукариотических клеток. Именно с этим связан тот факт, что в концентрациях, подавляющих жизнедеятельность бактерий, АБП обычно не оказывают существенного влияния на организм человека и животных. Отдельные таксономические группы бактерий существенно различаются по уровню чувствительности, количественным выражением которого является величина МПК (минимальная подавляющая концентрация) АБП [Сидоренко С.В., Тишков В.И., 2004].

Резистентность микробов к АБП может быть либо природной, либо приобретенной. Гены антибиотикорезистентности, являясь транспозонами, легко перемещаются (из плазмиды в плазмиду или в хромосому), что обеспечивает их быстрое распространение внутри популяций, видов и даже между различными видами бактерий.

Под *природной* устойчивостью понимают сохранение бактериями жизнеспособности в присутствии АБП в концентрациях, реально достижимых в организме человека. Природная резистентность является постоянным видовым признаком бактерий, закодирована в хромосомных генах и легко прогнозируема на основании данных видовой идентификации. Истинная природная устойчивость характеризуется отсутствием у микроорганизмов мишени для проявления действия АБП. Так, например, устойчивость микоплазм к β -лактамам антибиотикам связана с отсутствием у этих бактерий пептидогликана.

Понятием *приобретенной* устойчивости характеризуют свойство отдельных штаммов бактерий сохранять жизнеспособность при концентрациях АБП, подавляющих основную часть микробной популяции. Возможны ситуации, когда большая часть микробной популяции проявляет приобретенную устойчивость. Появление у бактерий приобретенной резистентности не обязательно сопровождается снижением клинической эффективности антибиотика.

Формирование резистентности во всех случаях обусловлено или приобретением

новой генетической информации, переносимой транспозонами или плазмидами или изменением уровня экспрессии собственных генов [Сидоренко С.В., Тишков В.И., 2004]. Основным механизмом приобретенной резистентности является продукция микроорганизмами плазмидных бета-лактамаз широкого и расширенного спектра, при этом наблюдают интенсивное межвидовое распространение детерминант резистентности [Bradford PA, et. al., 1997].

Феномен устойчивости специфичен, поэтому данные по отдельным странам, лечебным учреждениям и даже отделениям одной больницы могут различаться. Появление и распространение приобретенной резистентности составляет основную клиническую проблему, поскольку ее наличие у конкретной бактерии – возбудителя инфекционной болезни, невозможно прогнозировать [Березин А.Г., Ромашов О.М., 2003].

Механизмы защиты бактерий от антимикробных лекарственных средств.

Бактериями используются различные механизмы защиты от антимикробных лекарственных средств, причем некоторые бактерии обладают несколькими механизмами защиты одновременно. Интенсивный селективный прессинг антибиотиков, обуславливает быструю эволюцию и распространение новых механизмов резистентности в медицинских учреждениях и, прежде всего, в отделениях реанимации и интенсивной терапии [Мудрак Д.А., 2010].

Возникновению и распространению резистентности микроорганизмов к антимикробным препаратам способствуют: во-первых, появление в генах микробов случайных мутаций, которые могут, например, изменять спектр активности бактериальных ферментов, расщепляющих антибиотики. Во-вторых, это обмен генетическим материалом между клетками, то есть перенос генов от устойчивых к менее устойчивым или чувствительным микроорганизмам. В-третьих, селекция новых резистентных штаммов под действием избирательного давления антибиотиков, связанного с бесконтрольностью их применения в разных сферах [Abbanat D, Morrow B, Bush K., 2008].

Сегодня биохимические механизмы АБР подразделяют на несколько групп:
- *Модификация мишени действия АБП* путем изменчивости в результате спонтанных мутаций в кодирующих структуру мишеней генах или иных генетических событий, в результате которых, например, у некоторых пенициллин связывающих белков уменьшается средство к β -лактамам;

- *Инактивация АБП бактериальными ферментами*, такими как β -лактамазы или ферменты, модифицирующие аминогликозиды. Механизмы инактивации (ферментативного разрушения или модификации) существовали у бактерий, продуцирующих антибиотики, задолго до начала использования этих веществ в качестве медицинских препаратов. В последующем детерминанты

резистентности распространились среди возбудителей инфекционных болезней у человека.

- *Активное выведение АБП из микробной клетки (эффлюкс)*, широко распространённый механизм устойчивости грамположительных и грамотрицательных бактерий к различным антибиотикам, таким как β -лактамы, фторхинолоны, макролиды, линкозамиды, тетрациклины, реализуемый различными системами эффлюкса;

- *Нарушение проницаемости оболочки микробной клетки*, этот механизм распространён, в основном, среди грамотрицательных бактерий, обладающих внешней мембраной и является наименее специфичным в отношении АБП разных групп;

- *Защита мишени действия антибиотиков*, которая обусловлена синтезом белков, препятствующих взаимодействию АБП с мишенями действия: различными ферментами, рибосомами, нуклеотидными последовательностями [Saidijam M., Benedetti G., Ren Q, 2006].

Антимикробная резистентность, обусловленная бета-лактамазами

По количеству применяемых в клинике препаратов β -лактамные антибиотики наиболее многочисленная группа среди всех антибактериальных средств. Семейство бета-лактамных антибиотиков включает четыре основные группы антимикробных препаратов: пенициллины, цефалоспорины, монобактамы и карбапенемы. Бета-лактамные антибиотики действуют на клетку бактерии двумя основными путями. Во-первых, они встраиваются в стенку бактериальной клетки и подавляют активность фермента транспептидазы, участвующего в завершающем этапе построения стенки бактерии. Во-вторых, они связываются с пенициллинсвязывающими белками (ПСБ), которые в норме подавляют гидролазы бактериальной клетки и таким образом высвобождают эти гидролазы, что приводит к лизису бактериальной стенки [Massova I, Mobashery S.1998, Bush K. Macielag MJ, 2010].

Эффективность бета-лактамных антибиотиков может снижаться вследствие возникновения к ним устойчивости, наиболее частым механизмом развития которой является продукция бактериями β -лактамаз. Эти ферменты инактивируют АБП в результате гидролиза одной из связей β -лактамного кольца, а также изменяют тип строения ПСБ [Bradford PA, 2001]. Бета-лактамазы расширенного спектра — БЛРС (extended spectrum beta-lactamases — ESBL) - это ферменты, которые продуцируются некоторыми видами бактерий и способны гидролизовать все пенициллины и цефалоспорины расширенного спектра [Paterson DL, Vonomo RA, 2005, Mariani-Kurkdjian P, Doit C, Bingen E. 2012]. У грамотрицательных бактерий (*E. coli*, *K. pneumoniae* и *Acinetobacter spp*) β -лактамазы расширенного спектра кодируют гены *blaSHV*, *blaTEM*, *blaCTX* и *blaAMPС*. Варианты *blaSHV*, *blaTEM*, устойчивые к широкому спектру

антибиотиков, образовались в результате мутаций генов TEM-1 и SHV-1 [Knothe, H. et. al, 2005]. Во всем мире отмечается, что изоляты E.coli, продуцирующие наиболее часто встречающиеся ферменты типа CTX-M (особенно CTX-M-15), являются важной причиной инфекций мочевыводящих путей и инфекций крови [Pitout JD, 2012]. Глобально, ESBLs считаются проблематичными, особенно у госпитальных пациентов. У пациентов, контаминированных штаммами-продуцентами ESBL особенно высок риск неэффективности лечения [Bush K, 2010].

β -лактамазы представляют обширную группу генетически и функционально различных ферментов. Природная способность к продукции β -лактамаз характерна для многих видов микроорганизмов. Однако наибольшую значимость в последнее время приобретает широкое распространение плазмидно кодируемых β -лактамаз, являющихся факторами вторичной (приобретенной) резистентности у изначально чувствительных микроорганизмов. Бета-лактамазы, вероятно, впервые появились у микроорганизмов одновременно со способностью к продукции БЛА как факторы нейтрализующие действие синтезируемых антибиотических веществ. В результате межвидового генного переноса бета-лактамазы получили широкое распространение среди различных микроорганизмов, в том числе и патогенных. У грамотрицательных микроорганизмов бета-лактамазы локализуются в периплазматическом пространстве, у грамположительных они свободно диффундируют в окружающую среду [Huang XZ et. al., 2012].

К настоящему времени описано более 890 β -лактамаз, многие из вновь выявленных ферментов обладают широким спектром гидролитической активности против большинства классов β -лактамов [http://www.lahey.org/Studies/]. Их различают по следующим практически важным свойствам :

1. субстратному профилю, т.е. способности к преимущественному гидролизу тех или иных β -лактамов);
2. чувствительности к применяющимся в медицинской практике ингибиторам: клавулановой кислоте, сульбактаму, тазобактаму, обладающими минимальной антибактериальной активностью, но способные необратимо связываться с бета-лактамазами и, таким образом, ингибировать их активность;
3. по типу экспрессии (конститутивный или индуцибельный). При *конститутивном* типе микроорганизмы синтезируют бета-лактамазы с постоянной скоростью, при индуцибельном количество синтезируемого фермента резко возрастает после контакта с антибиотиком (индукции). Эта характеристика, наряду с субстратным профилем фермента, определяет возможность формирования резистентности;
4. источнику и локализации кодирующих генов. Эта характеристика определяет

эпидемиологию резистентности. При плазмидной локализации генов происходит быстрое внутри- и межвидовое распространение резистентности, при хромосомной наблюдаются распространение резистентного клона.

Видоспецифические β-лактамазы кодируются хромосомно. [Bush K, Macielag MJ, 2010].

Гены ферментов часто входят в состав конъюгативных плазмид и мобильных генетических элементов (транспозонов, бактериофагов и интегროнов), при появлении генетически обусловленных механизмов резистентности возможны концентрация и передача внехромосомной ДНК с помощью плазмид и мобильных генетических элементов, что приводит к распространению генов, кодирующих резистентность к антибиотикам среди бактерий. Плазмиды могут передаваться в бактериальной популяции от клетки-донора к клетке-реципиенту при конъюгации [Villa et al., 2000]. Благодаря транспозонам происходит широкое распространение генов резистентности на различных плазмидах даже среди неродственных бактерий. Интегроны имеют детерминанты резистентности, обнаруженные на кассетных генах, которые включают один ген и один рекомбинантный сайт [Миронов А.Ю. Харсеева Г.Г., Клюкина Т.В., 2011]. Примечательно, что генетические мутации, приводящие к замене всего нескольких аминокислот в белковой последовательности, изменяют структуру фермента таким образом, что спектр разрушаемых им антибиотиков значительно расширяется [Богун Л.В., 2007].

Существуют различные схемы классификации бета-лактамаз, наиболее известная была разработана Bush, Jacoby and Medeiros [Bush et al., 1995]. В настоящее время используется структурная и функциональная системы классификации β-лактамаз на основе их молекулярной структуры и ранее разработанных схем [Ghafourian S, Sadeghifard N et.al., 2014]. (табл.1)

Таблица 1 Классификация β-лактамаз [Ghafourian S, Sadeghifard N et.al., 2014].

Класс по Амблеру	Группа по Бушу	Характеристики бета-лактамаз	Количество ферментов
C	1	Цефалоспорины (AmpC) грамотрицательных бактерий, не ингибируются clavulanовой кислотой	51
A	2a	Пенициллины грамположительных бактерий	23
A	2b	Пенициллины широкого спектра, в том числе TEM-1, TEM-2, SHV-1, преимущественно грамотрицательных бактерий	16

A	2be	β -лактамазы расширенного спектра грамотрицательных бактерий- TEM-3 — TEM-26, SHV-2 — SHV-6	200
A	2br	Ингибиторустойчивые β -лактамазы широкого спектра-TEM-30 — TEM-36	24
A	2c	Карбенициллингидролизующие β -лактамазы, чувствительные к ингибитору — клавулановой кислоте- PSE-1, PSE-3, PSE-4	19
A	2d	Плазмидные β -лактамазы расширенного спектра грамотрицательных бактерий - OXA-1 — OXA-11	31
A	2e	Цефалоспорины грамотрицательных бактерий, ингибируемые клавулановой кислотой	20
A	2f	Неметалло- β -лактамазы, гидролизующие карбапенемы, ингибируемые клавулановой кислотой	4
B	3	Металло- β -лактамазы грамотрицательных бактерий, гидролизуют карбапенемы и другие бета-лактамы, кроме монолактамов, не ингибируются клавулановой кислотой VIM-1 — VIM-11, IMP-1 — IMP-18	24
D	4	Различные ферменты, не входящие в другие группы	9

Все известные в настоящее время бета-лактамазы делят на 4 молекулярных класса, в пределах которых ферменты характеризуются общностью свойств и определенной аминокислотной гомологией [Ambler R. P. et al., 1991].

Большинство клинически значимых бета-лактамаз принадлежат к классам А и С. В частности, класс А включает хромосомные β -лактамазы *Klebsiella spp.*, *Citrobacter diversus*, *Proteus vulgaris* и большинство

Bacteroides spp., а также практически все плазмидные бета-лактамазы. Класс С содержит хромосомные цефалоспорины *AmpC*, класс В — ферменты OXA, которые широко распространены в плазмидах *Enterobacteriaceae*. Ферменты класса В относятся к металлоэнзимам, поскольку в качестве кофермента в них присутствует атом цинка. β -лактамазы классов: А, С и D относятся к ферментам «серинового» типа (по аминокислоте, находящейся в активном центре фермента). [Livermore D.M. , 1998].

Для клинической практики имеют значение β -лактамазы нескольких групп: β -лактамазы расширенного спектра грамотрицательных бактерий ,

Шкурат М.А., Покудина И.О., Батталов Д.В., Резистентность микроорганизмов к антимикробным препаратам // «Живые и биокосные системы». — 2014. — № 10; URL: <http://jbks.ru/archive/issue-10/article-10>.

цефалоспорины (AmpC) грамотрицательных бактерий, металло- β -лактамазы (МБЛ) грамотрицательных бактерий [Lukas PJ, Vonono RA, Logan LK., 2015].

В соответствии с современными представлениями считается, что бета-лактамазы и ПСБ, являющиеся мишенями действия бета-лактаманых антибиотиков, имеют общего предшественника. В процессе эволюции ферменты, осуществляющие синтез пептидогликана и разрушающие бета-лактаманые антибиотики, выделились в самостоятельные группы [Massova I., Mobashery S , 1998].

Хромосомные бета-лактамазы присутствовали в бактериях изначально, еще до создания АМП: они принимают участие в метаболизме микробной клетки, а также защищают бактерии от бета-лактамаз, вырабатываемых в природных условиях грибами. Однако в настоящее время основным фактором отбора штаммов — продуцентов бета-лактамаз является использование бета-лактаманых АМП, которые способствуют искусственному отбору бактерий [Davies J, Davies D., 2010].

В ответ на изменения в стратегии и тактике применения антибиотиков в различных регионах мира происходят изменения в распространении отдельных групп и классов бета-лактамаз – смена лидирующих групп [Babini GS, Livermore DM, 2000]. К наиболее важным тенденциям следует отнести увеличение частоты выделения бета-лактамаз класса С (группы 1 и 1e по K.Bush, 2009) и появление карбапенемаз, прежде всего, относящихся к классу В (группы 3 и 3a по K.Bush, 2009) – металло-бета-лактамаз. Карбапенем-устойчивые Enterobacteriaceae резистентны почти ко всем антибиотикам и в 40% случаев приводят к смерти пациента [Tawfik A. F., 2011].

Частота распространения микроорганизмов-продуцентов БЛРС значительно варьирует в отдельных географических регионах. Первые сообщения о появлении штаммов-продуцентов ESBL были зарегистрированы в Европе, в частности в Германии [Knothe, H., et al., 1983] и Англии [Du Bois et al., 1995]. Согласно данным за 2011 год, количество изолятов *E. coli*, устойчивых к цефалоспорином третьего поколения варьировало от 3% в Швеции до 36 % на Кипре, что четко показывает градиент резистентности с большим процентом в Южной Европе и меньшим в странах Северной Европы [Ghafourian S, Sadeghifard N., 2014].

С 2009 года Национальная референсная лаборатория Германии отслеживает молекулярную эпидемиологию карбапенемаз грамотрицательных нозокомиальных патогенов. В 2011 среди 1454 бактериальных изолятов устойчивость к карбапенемам была обнаружена у 34,4% штаммов

Enterobacteriaceae, 19,9% штаммов *Pseudomonas aeruginosa* и в 96,3% изолятов *Acinetobacter baumannii*. В США за 2009-2010 годы в 13% случаев инфекций кровотока и катетер-ассоциированных инфекций мочевыводящих путей, вызванных *Klebsiella*, возбудитель был устойчив к карбапенемам [Kallen A, Guh A. ,2012]. Для *E.coli* этот показатель составил около 2% [Sanchez, G. V., Master R. N. et. al. 2010]. Наиболее частыми карбапенемазами среди Enterobacteriaceae являются OXA-48, KPC и VIM-1, у *Pseudomonas aeruginosa* - VIM-2 [Kaase M., 2012].

Разработка новых β -лактамных антибиотиков и их внедрение в практику для лечения инфекционных заболеваний, вызванных штаммами, резистентными к известным антибиотикам приводит к тому, промежуток между использованием нового препарата и появлением к нему устойчивости все более сокращается [Ghafourian S, Sadeghifard N et.al., 2014].

Своевременное выявление изменений в распространении бактериальной резистентности к антибиотикам, имеет важное практическое и теоретическое значение, так как позволяет корректировать рекомендации по антибактериальной терапии нозокомиальных инфекций, разрабатывать экспрессные молекулярные методы детекции антибактериальной резистентности, дает важную информацию для создания новых препаратов, преодолевающих резистентность.

Список литературы:

1. Березин А.Г., Ромашов О.М., Яковлев С.В., Сидоренко С.В. Антибиотики и химиотерапия . // М., 2003.- 48 (7)
2. Богун Л.В. Резистентность микроорганизмов, обусловленная бета-лактамазами, и способы ее преодоления. //Новости медицины и фармации. 2007, 19(227)
3. Миронов А.Ю. Харсеева Г.Г., Клюкина Т.В. Основы клинической микробиологии и иммунологии // Учебное пособие под ред. проф. А. Ю. Миронова. – ГОУ ВПО РостГМУ: Ростов-на-Дону, 2011
4. Мудрак Д.А. Молекулярно-генетические особенности устойчивости к бета-лактамным антибиотикам грамотрицательных микроорганизмов - возбудителей нозокомиальных инфекций. //Автореф. дисс. канд. биол. наук. М., 2010
5. Сидоренко С.В., Тишков В.И. Молекулярные основы резистентности к антибиотикам.// Успехи биологической химии. 2004; 44: 263-306.
6. Страчунский Л.С., Козлов С.Н. Современная антимикробная химиотерапия. //Руководство для врачей. – М.: Боргес, 2002. – 432 с.
7. <http://www.nkj.ru/news/25639/>
8. <http://www.lahey.org/Studies/>

9. Abbanat D, Morrow B, Bush K. New agents in development for the treatment of bacterial infections. *Curr Opin Pharmacol.* 2008;8:582–592 PMID:18761107
10. Ambler RP, Coulson AF, Frère JM, Ghuysen JM, Joris B, Forsman M, Levesque RC, Tiraby G, Waley SG. A standard numbering scheme for the class A beta-lactamases. *Biochem J.* 1991 May 15;276 (Pt 1):269-70. PMID:2039479
11. Babini GS, Livermore DM. Antimicrobial resistance amongst *Klebsiella* spp. collected from intensive care units in Southern and Western Europe in 1997-1998. *J Antimicrob Chemother.* 2000 Feb;45(2) PMID:10660500
12. Bonnet R. Growing group of extended-spectrum betalactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004, 48, 1-14. PMID:14693512
13. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother.* 1995 Jun;39(6):1211-33. PMID:7574506
14. Bush K, Jacoby GA. Updated functional classification of beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010 Mar;54(3):969-76 PMID:19995920
15. Bush K, Macielag MJ. New β -lactam antibiotics and β -lactamase inhibitors. *Expert Opin Ther Pat.* 2010 Oct;20(10):1277-93. PMID:20839927
17. Bush K. Bench-to-bedside review: The role of beta-lactamases in antibiotic-resistant Gram-negative infections. *Crit Care.* 2010;14(3):224. PMID:20594363
18. Bradford PA, Urban C, Mariano N, Projan SJ, Rahal JJ, Bush K. Imipenem resistance in *Klebsiella pneumoniae* is associated with the combination of ACT-1, a plasmid-mediated AmpC beta-lactamase, and the loss of an outer membrane protein. *Antimicrob Agents Chemother* 1997;41:563-69.
19. Bradford PA. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev.* 2001 Oct;14(4):933-51, PMID:11585791
20. Chambers HF, Deleo FR. Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. *Nat Rev Microbiol.* 2009;7:629–641
21. Davies J, Davies D. Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2010 Sep;74(3):417-33. PMID:20805405
22. Du Bois SK¹, Marriott MS, Amyes SG. TEM- and SHV-derived extended-spectrum beta-lactamases: relationship between selection, structure and function. *J Antimicrob Chemother.* 1995 Jan;35(1):7-22. PMID:7768784
23. Huang XZ, Frye JG, Chahine MA, Glenn LM, Ake JA, Su W, Nikolich MP, Lesho EP. Characteristics of plasmids in multi-drug-resistant *Enterobacteriaceae* isolated during prospective surveillance of a newly opened hospital in Iraq. 2012;7(7):PMID:22808141
24. Ghafourian S, Sadeghifard N, Soheili S, Sekawi Z. Extended Spectrum Beta-lactamases: Definition, Classification and Epidemiology. *Curr Issues Mol Biol.* 2014 May 12;17:11-22. PMID:24821872
25. Knothe, H., Shah, P., Krcmery, V., Antal, M., Mitsuhashi, S. Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical

- isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. *Infection*, 1983;11, 315–317.
26. Kallen A, Guh A. United States Centers for Disease Control and Prevention issue updated guidance for tackling carbapenem-resistant enterobacteriaceae. *Euro Surveill*. 2012 Jun 28;17(26). PMID:22790535
 27. Kaase M, Szabados F, Pfennigwerth N, Anders A, Geis G, Pranada AB, Rößler S, Lang U, Gatermann SG. Description of the metallo- β -lactamase GIM-1 in *Acinetobacter pittii*. *J Antimicrob Chemother*. 2014 Jan;69(1):81-4. doi: 10.1093/jac/dkt325. Epub 2013 Aug 16. PMID:2395637
 28. Livermore D.M. β -Lactamase-mediated resistance and opportunity for its control. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 1998. 41: 25-41.
 29. Lukac PJ, Bonomo RA, Logan LK. Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae in Children: Old Foe, Emerging Threat. *Clin Infect Dis*. 2015 Jan 16. [Epub ahead of print]
 30. Mariani-Kurkdjian P¹, Doit C, Bingen E Extended-spectrum beta-lactamase producing-enterobacteriaceae. *Arch Pediatr*. 2012 Nov;19 Suppl 3:S93-6. PMID:23178141
 31. Massova I, Mobashery S. Kinship and diversification of bacterial penicillin-binding proteins and beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*. 1998 Jan;42(1):1-17. PMID:9449253
 32. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev*. 2005 Oct;18(4):657-86. PMID:16223952
 34. Pitout JD. Enterobacteriaceae that produce extended-spectrum β -lactamases and AmpC β -lactamases in the community: the tip of the iceberg? *Curr Pharm Des*. 2012, Aug 29.
 35. Sanchez, G. V., Master, R. N., Karlowsky, J. A., Bordon, J. M. In vitro antimicrobial resistance of urinary *Escherichia coli* isolates among U.S. outpatients from 2000 to 2010. *Antimicrob Agents Chemother*, 2010, 56 (4), 2181-3. PMID:22252813
 36. Szabó D, Bonomo RA, Silveira F, Pasculle AW, Baxter C, Linden PK, Hujer AM, Hujer KM, Deeley K, Paterson DL. SHV-type extended-spectrum beta-lactamase production is associated with Reduced cefepime susceptibility in *Enterobacter cloacae*. *J Clin Microbiol*. 2005 Oct;43(10):5058-64. PMID:16207962
 37. Saidijam M., Benedetti G., Ren Q. Microbial drug efflux proteins of the major facilitator superfamily. *Curr Drug Targets*. 2006; 7: 793—811
 38. Tawfik, A. F., Alswailem, A. M., Shibl, A. M., and Al-Agamy, M. H. Prevalence and genetic characteristics of TEM, SHV, and CTX-M in clinical *Klebsiella pneumoniae* isolates from Saudi Arabia. *Microb Drug Resist*, 2011, 17 (3), 383-8. PMID:21612509

39. 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 beta-lactamase gene and a class 1 integron. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000 Oct;44(10):2911-4. PMID:10991889
40. World Health Organization. WHO Global Strategy for Containment of Antimicrobial Resistance. Geneva, 2001. WHO/CDS/CSR/DRS/2001.2.