

Beta-Laktamazlar*

Zeynep GÜLAY*, A. İrem TAŞKIRAN**, Osman KAPLAN**, M. Özlem SAYLAK**

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı*
Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dönem 2 Öğrencisi**

ÖZET

Beta-laktam antibiyotikler gerek toplum gerekse hastane kökenli infeksiyonların tedavisinde kullanılan antibakteriyel ajanların başında gelmektedir. Ancak bu yaygın kullanıma paralel olarak bakterilerin de yeni direnç mekanizmaları geliştirdiği gözlenmektedir. Özellikle Gram negatif bakteri türlerinde önde gelen beta-laktam direnç mekanizması beta-laktamaz üretimidir. Günümüze kadar bildirilmiş 340 beta-laktamazdan en önemli ve güncel olanları plazmid-kökenli sefalosporinazlar, genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar ve metallo-beta-laktamazlardır. Bu beta-laktamazların Klinik Mikrobiyoloji laboratuvarlarında saptanmaları ile ilgili çeşitli güçlükler bulunmaktadır. Oysa ki bazı enzimlerin varlığının belirlenmesi antibiyotik duyarlılık test sonuçlarının değiştirilmesini gerektirmektedir. Beta-laktamazların saptanması ve bu konudaki bilgilerin güncel tutulması klinik mikrobiyologların görevi olmasına rağmen, beta-laktam antibiyotikleri sık kullanan klinisyenlerin de dirençli bakterilerin çoğalmasına yol açmayacak en uygun tedaviyi belirleyebilmeleri için; betalaktamazlar, neden oldukları direnç fenotipleri ve en sık rastlandıkları türler konusunda fikir sahibi olmaları gereklidir. Bu nedenle, bu derlemede önemli beta-laktamaz gruplarının tanıtılması amaçlanmıştır.

Anahtar sözcükler: Beta-laktamaz, AmpC-tipi beta-laktamaz, genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz, metallo-beta-laktamaz, OXA-tipi beta-laktamaz

SUMMARY

Beta-lactam antibiotics are widely used for the treatment of both community and hospital-acquired infections. As a consequence of this, new bacterial resistance mechanisms have evolved. The major beta-lactam resistance mechanism especially in Gram-negative bacteria is the production of beta-lactamases. Of the 340 beta-lactamases that have been identified, the most important groups include plasmid-mediated cephalosporinases, extended-spectrum beta-lactamases and metallo-beta-lactamases. Identification of discrete beta-lactamases poses several difficulties for the Clinical Microbiology laboratory. On the other hand, the results of antibiotic susceptibility results should be changed when certain enzymes are detected. Although it is the responsibility of the microbiologist to follow the fast growing literature about the novel beta-lactamases and to identify important enzyme groups with the aid of special tests, the physicians should also have an idea about beta-lactamases, the resistance phenotypes they cause and the bacterial species that produce them, in order to choose the best therapy that avoids the selection of resistant bacteria. Herein important beta-lactamase groups are reviewed.

Key words: Beta-lactamase, AmpC-type beta-lactamase, extended spectrum beta-lactamase, metallo-beta-lactamase, OXA-type beta-lactamase;

Zeynep GÜLAY

Dokuz Eylül Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Mikrobiyoloji ve Klinik
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Tel: 232 2595959 / 4503
e-mail: gulayz@hotmail.com

* Özel Çalışma Modülü raporlarının katkısıyla Z.G tarafından hazırlanmıştır.

Beta-laktam ajanlar, kimyasal yapılarında ortak bir beta-laktam halkası taşıyan ve hücre duvar sentezini inhibe ederek antibakteriyel etki gösteren geniş bir antibiyotik grubudur (1). Beta-laktam halkasına bağlı yan zincirler ve diğer halkalara göre penisilinler, sefalosporinler, monobaktamlar, karbapenemler ve beta-laktamaz inhibitörleri olmak üzere beş temel sınıfa ayrılırlar (2,3). Beta-laktam antibiyotikler gerek toplum gerekse hastane kökenli infeksiyonların tedavisinde kullanılan antibakteriyel ajanların başında gelmektedir. Ancak bu yaygın kullanıma paralel olarak bakterilerin de yeni direnç mekanizmaları geliştirdiği ve beta-laktam antibiyotiklere direnç oranlarının giderek arttığı gözlenmektedir.

Beta-laktam ajanlara direnç mekanizmaları ve beta-laktamazlar

Beta-laktam ajanlar hücre duvar sentezinin transpeptidasyon basamağında görev alan transpeptidaz ve karboksipeptidazlara (Penisilin Bağlayan Proteinler; PBP) bağlanarak etki ederler (4,5). Bir beta-laktam ajanın etki gösterebilmesi için, eğer varsa dış zardan ve periplazmik aralıktan geçmesi, hücre zarındaki PBP'lere etkin konsantrasyonda ulaşması ve bu enzimlere bağlanması gereklidir (6). Dirençli bakteriler bu basamakların her birinde beta-laktam ajanlar için bir engel oluşturabilirler. Beta-laktam ajanlara direnç üç genel mekanizma ile ortaya çıkmaktadır (7,8):

- 1- İlacın hedefine etkin konsantrasyonda ulaşmasının engellenmesi
- 2- Hedef PBP moleküllerinin değişmesi
- 3- İlacı inaktive eden beta-laktamazların üretimi

Bu mekanizmalardan ilki ve sonucusu Gram negatif bakterilerde, ikincisi ise Gram pozitif bakterilerde daha sık görülmektedir.

Beta-laktamazlar, beta-laktam halkasındaki siklik amid bağı parçalayan, böylelikle beta-laktam ajanların etkinliğini ortadan kaldıran enzimlerdir (6). Penisilinler, sefalosporinler, monobaktamlar ve karbapenemler, beta-laktamaz ailesindeki enzimlerden biri veya birkaçı tarafından inaktive edilebilirler. Beta-laktamazlar, hem Gram negatif hem de Gram pozitif bakterilerce üretilmelerine karşın, beta-laktamaz yapımı başta

Enterobacteriaceae üyeleri olmak üzere Gram negatif bakterilerin beta-laktam direncindeki en önemli mekanizmadır.

Beta-laktamaz genleri bakteri kromozomunda veya plazmid, transpozon, integron gibi hareketli genetik elemanlarda bulunabilir. Bu enzimler, Gram pozitif türlerde doğrudan dış ortama salınırlarken, Gram-negatiflerde periplazmik aralıkta bulunurlar (9). Bu nedenle Gram negatif bakteri türlerinde beta-laktamazlara bağlı dirençte sıklıkla ilaç geçirgenliği ile ilgili mekanizmalar da rol almaktadır (10).

Günümüzde, substrat profili, moleküler yapı, inhibitörlere duyarlılık, hidrolitik etkinlik gibi özellikler açısından farklı 350'ye yakın beta-laktamaz tanımlanmıştır (11).

Beta-laktamaz üreten tüm türlerde, bu enzimlerin klinik etkisi sadece mikroorganizmada genlerin bulunması ile görülmez. Klinik etki bu genlerin ekspresyonunun ve hidrolitik etkinliklerinin bir sonucudur. Ayrıca, beta-laktam direncinde etkili olan diğer mekanizmalar da beta-laktamazlarca oluşturulan direnç fenotipine katkıda bulunurlar.

Beta-laktamazların adlandırılması

Beta-laktamazlar; tercih ettikleri substrata göre (ör. CARB, IMP, OXA), biyokimyasal özelliklerine göre (ör. SHV-sulphydryl variant), genlerine göre (ör. AmpC), direnç fenotipine göre (ör. ARI- acinetobacter resistant to imipenem), izole edildikleri bakterilere göre (ör. PSE, Cfre), suşlara göre (ör. P99), hasta isimlerine göre (TEM, ROB), hastaneye göre (ör. MIR), izole edildikleri bölgeye göre (ör. OHIO, GES), bulan kişiye göre (ör. HMS) adlandırılabilirler.

Beta-laktamazların sınıflandırılması

Beta-laktamazlar, moleküler yapılarına ya da substrat ve inhibitör profilleri ile belirlenen işlevsel özelliklerine göre sınıflandırılabilirler.

Moleküler yapılarına göre beta-laktamazlar, aktif bölgelerinde serin amino asiti bulunanlar veya çinko (Zn^{+2}) atomu bulunanlar olmak üzere iki geniş gruba ayrılırlar. Bu iki grubun üyeleri, Ambler sınıflamasına göre dört moleküler sınıfta yer alırlar: Sınıf A beta-

laktamazlar aktif bölgelerinde bir serin amino asiti bulunan ve temel substratları penisilinler olan beta-laktamazlardır. Bu enzimlerin çoğu plazmidlerle taşınırlar. Sınıf B beta-laktamazlar, aktif bölgelerinde Zn^{+2} bağımlı bir tiol grubu bulunan metalloenzimlerdir. Bu enzimlerin çoğu karbapenemaz aktivitesi taşımaktadır. Sınıf C beta-laktamazlar, kromozomal *amp* C geni tarafından kodlanan, bu nedenle AmpC tipi enzimler olarak da adlandırılan ve *Salmonella spp.* haricinde tüm Gram negatif basillerde bulunan beta-laktamazlardır. Bu enzimler de aktif bölgelerinde serin amino asiti taşırlar ve esas olarak sefalosporinaz niteliğindedirler. Sınıf C beta-laktamazların yapı olarak PBP'lere çok benzemeleri, bu beta-laktamazların PBP'lerden köken almış olabileceklerini düşündürmektedir. Sınıf D beta-laktamazlar yine serin proteazlar olup oksasilini hızla hidrolize edebilme yeteneğindedirler. Bu dört sınıf enzimin kendi aralarında yapısal homolojileri yok denecek kadar azdır (8).

1995 yılında ise, Bush, Jacoby ve Mederios tarafından, beta-laktamazların yapısal özellikleri yanısıra substrat profilleri, inhibitörlere duyarlılık gibi işlevsel özelliklerinin de değerlendirildiği yeni bir fonksiyonel sınıflama önerilmiştir - ki günümüzde en yaygın olarak bu sınıflama kullanılmaktadır (12). Tablo I'de fonksiyonel sınıflamaya göre gruplandırılmış bakteriyel beta-laktamazlara örnekler yer almaktadır.

Beta-laktamaz gelişimi ve klinik olarak önemli beta-laktamaz grupları

Birçok bakteri türü çevrelerinde bulunan doğal antibiyotik saldırtılarına karşı koyacak mekanizmalar geliştirmişlerdir. Bunun sonucunda, daha önceden hiçbir ticari antibiyotik preparatu ile karşılaşmamış bakterilerde bile, bazı antibiyotik sınıflarına karşı direnç genleri bulunabilmektedir. Antibiyotiklerin yaygın kullanımını ise gizli direnç genlerinin ekspresyonunu sağlamakta ve seçici bir baskıya yol açtığı için dirençli bakterilerin yayılımına neden olmaktadır. Son 40 yıldır, beta-laktamaz etkisine dayanıklı olabilmesi amacıyla birçok yeni beta-laktam ajan geliştirilmesine rağmen, bunun net sonucunun daha etkili ve etki spektrumu daha geniş beta-laktamazların ortaya çıkışı olduğu izlenmektedir.

Beta-laktamazların tarihçesi 1940 yılında Abraham ve Chain tarafından bir *Escherichia coli* suşunda bu antibiyotiği parçalayabilen bir penisilinazın gösterilmesi ile başlamaktadır. 1944 yılında Kirby, *Staphylococcus aureus* suşlarından benzer nitelikte bir enzim elde etmiştir. Penisilinlin klinik tedaviye girmesini izleyen 20-25 yıl boyunca beta-laktamazların sayısı ve çeşitleri oldukça kısıtlı kalmıştır (13). Bu dönemde Gram negatif bakterilerin çoğunun TEM-1, *Klebsiella pneumoniae* suşlarının SHV-1 ve *S. aureus* suşlarının da bir penisilinaz ürettiği görülmektedir. Ancak, 1978-80 yıllarında, klinik tedaviye toprak bakterilerince üretilen yeni beta-laktam ajanların (sefamisinler, karbapenemler, sulfonlar, monobaktamlar) girmesiyle beta-laktamaz tiplerinin de hızla arttığı izlenmektedir (13). Tablo II'de görüldüğü gibi, beta-laktam ajanların yaygın kullanımı, beta-laktamazların evrimsel değişikliklere uğramasına, sayı ve etki spektrumlarının inanılmaz bir ivme ile artmasına neden olmuştur. 1995-2000 yılları arasındaki beş sene içerisinde Grup 1, 2be, 2br, 2d ve 3'deki enzim sayıları neredeyse iki katına çıkmıştır (11).

Beta-laktam antibiyotiklerin klinik tedaviye girmesi ve kullanım prensiplerindeki farklılara bağlı olarak beta-laktamazların prevalansı ülkeden ülkeye, şehirden şehire hatta hastaneden hastaneye değişmektedir.

Beta-laktamazlar arasında TEM ve SHV grubu enzimler, mikrobiyoloji laboratuvarlarında sık soyutlanan türlerde yaygın olmaları ve plazmidlerce taşınmaları nedeniyle klinik önem açısından ön planda gelmektedirler. Bush grup 2b'de yer alan TEM-1 beta-laktamazı, özellikle *E. coli* suşlarında penisilin ve dar spektrumlu sefalosporin direncine yol açan mekanizmalar arasında en sık görülenidir. TEM-1, diğer enterobacteriaceae üyeleri yanısıra *Haemophilus*, *Vibrio* ve *Neisseria* türlerinde de bulunmaktadır. Buna karşın, SHV grubu beta-laktamazların prototipi olan SHV-1 esas olarak *Klebsiella pneumoniae* suşlarında saptanmaktadır (8).

Günümüzde özellikle Gram negatif basillerce üretilen grup 1 sefalosporinazlar, grup 2be genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar ve grup 3 metallo-beta-laktamazların tüm dünyada yaygın olarak bulunduğu ve klinik tedavi sorunlarına yol açtığı izlenmektedir. Bu beta-laktamaz gruplarındaki enzimler ve ilgili literatüre (www.lahey.org/studies.webt.htm) web sayfasından ulaşılabilir.

Tablo I. Bakteriyel beta-laktamazlar

Grup	Moleküler sınıf	Öncelikli Substrat	İnhibisyon		Enzimlere örnekler
				Klav. EDTA	
1	C	Sefalosporinler	-	-	Gram negatif basillerin kromozomal ve plazmid kökenli enzimleri a. Kromozomal enzimler Smar, Yent, AbauRYC, Pstu, Paer, Cfre, CMY-3b b. Plazmid kökenliler CMY-1-9, FOX-1-5, LAT-1-4, MIR-1, Bıl-1 (CMY-2), MOX-1-2, ACT-1, ACC-1
2a	A	Penisilinler	+	-	Gram pozitif bakterilerin penisilinazları
2b	A	Penisilinler, dar spektrumlu sefalosporinler	+	-	TEM-1, TEM-2, SHV-1, SHV-11, SHV-19, SHV-25, TLE-2, ROB-1, OHIO-1, HMS-1
2be	A	Penisilinler, sefamisinler hariç sefalosporinler, monobaktamlar	+	-	TEM-3- TEM-29, TEM-37, TEM-42,43, TEM-46-TEM-50, TEM-52-58, TEM-60-64, TEM-66-72, TEM-85-94*, SHV-2-9, SHV-1218, SHV-20-24, SHV-27-34*, PER-1, PER-2, CTXM-1-16, TOHO-1, TOHO-2, VEB-1, GES1, GES-2, TLA-1, IBC-1, K.oxytoca KI
2br	A	Penisilinler	±	-	IRT-1-26 (TEM30-36, TEM-38-41, TEM-44, TEM-45, TEM-51, TEM-59, TEM-65, TEM 73, TEM-74, TEM 76-79, TEM-81-TEM-84), SHV-10, SHV-26 (SHV kökenliler GSBL etkisindedirler), TRC-1
2c	A	Penisilinler, karbenisilin	+	-	PSE-1, PSE-3, PSE-4, BRO-1-3, CARB3-5, SAR-1
2d	A	Oksasilin, penisilin	±	-	OXA tipi enzimler (OXA-1-31) a. Dar spektrumlular: OXA1-10, OXA-20-27, OXA-30-31 b. GSBL etkinliğindekiler OXA-11-19, OXA-28 A. Karbapenemleri hidrolize edenler OXA-23-27
2e	A	Sefalosporinler	+	-	<i>P. vulgaris</i> 'in indüklenebilir sefalosporinazı
2f	A	Penisilinler, sefalosporinler, karbapenemler, monobaktam	+	-	<i>E. cloacae</i> 'nin IMI-1 ve NMC-A enzimleri, <i>S. marcescens</i> 'in Sme-1 ve 2 enzimleri, <i>K. pneumoniae</i> 'nin KPC-1 enzimi
3	B	Monobaktamlar hariç tüm beta-laktamlar	-	+	a. Altgrup 3a: <i>Bacillus cereus</i> II, <i>B. fragilis</i> 'in Ccr A, <i>B. cepacia</i> 'nın PCM-1, <i>S. maltophilia</i> 'nın I.1, <i>Chryseobacterium indologenes</i> 'in IND-1-4, <i>C. meningosepticum</i> 'un BlaB, <i>S. marcescens</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Acinetobacter baumannii</i> , <i>Shigella flexneri</i> , <i>K. pneumoniae</i> gibi değişik türlerde saptanan IMP 1-8 ve <i>P. aeruginosa</i> 'da saptanan VIM 1-3 enzimleri b. Altgrup 3b: <i>Aeromonas</i> türlerinin metallo-enzimlerini c. Altgrup 3c: <i>Legionella gormannii</i> 'nin metallobetalaktamazı
4	?	Penisilinler	-	?	Diğer gruplara girmeyen veya henüz düzgi analizi yapılmamış çeşitli beta-laktamazlar

*Henüz yayınlanmamış enzimler

Tablo II. Beta-laktam antibiyotiklerin klinik kullanıma girmesi ile yeni beta-laktamazların ilişkisi

Antibiyotik devri	Antibiyotik	Onay tarihi*	Beta-laktamaz yanıtı
1940-1960 Penisilin devri	Penisilin G	05/46	<i>E. coli</i> ve stafilokoklarda penisilinazların saptanması (1940, 1944)
1960-78 Aminopenisilinler, karboksipenisilinler, penisilinazlara dirençli penisilinler gibi geniş spektrumlu penisilinler, 1. kuşak sefalosporinler devri	Metisilin	10/60	Plazmid kökenli beta-laktamazlar ve Grup 2b enzimler Gram negatif basiller arasında yayılmıştır. (TEM-1 (1963), TEM-2(1969), SHV-1 (1974) OXA-1 (1978)
	Oksasilin	01/62	
	Ampisilin	12/63	
	Nafsilin	01/64	
	Sefalotin	07/64	
	Karbenisilin	08/70	
	Sefazolin	10/73	
	Tikarsilin	11/76	
	Sefamandol	09/78	
	Sefoksitin	10/78	
1978- günümüz Sefamisinler, oksiminosefalosporinler, monobaktamlar, karbapenemler ve beta-laktamaz inhibitörlerinin devri	Sefotaksim	03/81	<ul style="list-style-type: none"> • GSBL'ler: TEM ve SHV grubu (1983-günümüz) PER-1(1991) PER-2 (1996) OXA-tipi (1991-günümüz) CTX-M (1990-günümüz) • IRT'ler (1992-1999) • Plazmid kökenli kromozomal enzimler (sefamisin ve inhibitör direnci) BIL-1 (1989) CMY1 ve 2 (1989, 1990)-CMY-9 (günümüz) • Karbapenemleri hidrolize eden enzimler IMI-1 (1982) Sme -1(1982) NmcA (1990) IMP-1 (1991)-IMP 8 (2001) VIM-1 (1999), VIM-2 (2000), VIM-3 (2001) OXA-23 (1985)-OXA-27 (2001)
	Piperasilin	12/81	
	Sefoperazon	11/82	
	Seftizoksim	09/83	
	Sefuroksim	10/83	
	Amoksisilin/klav	08/84	
	Seftriakson	12/84	
	Tikarsilin/klav	04/85	
	Seftazidim	07/85	
	İmipenem/silastatin	11/85	
	Seforetan	12/85	
	Ampisilin/sulbakt.	12/86	
	Aztreonam	12/86	
	Pip/tazo	10/93	

*: ABD'deki onay tarihleri. Kaynak 13'den yararlanılmıştır.

Gram-negatif bakterilerde bulunan ve güncel önem taşıyan bazı beta-laktamaz grupları ve tanımlanmaları

Bush Grup 1 kromozomal enzimler (Amp C beta-laktamazlar)

Gram negatif basillerin hemen hepsi kromozomal Amp C tipi beta-laktamazlar üretmektedir. Bu enzimler aktif bölgelerinin özellikleri nedeniyle 1., 2., 3. kuşak sefalosporinleri, penisilinleri ve monobaktamları hidrolize edebilirler (14). Sefalosporinlerden sefepim, grup 1 kromozomal enzimlerin etkilerine göreceli olarak dayanıklıdır. Karbapenemler üzerine etkileri son

derece az olmasına karşın, bu enzimlerin aşırı üretimi dış membran porin değişiklikleri gibi bir diğer mekanizma ile birleştiğinde karbapenem direncine yol açabilmektedir (15). Bu enzimler, aktif bölgelerinin yapısal özellikleri nedeniyle klavulanik asit ve sulfonların beta-laktam halkalarına bağlanamazlar (14). Bu nedenle de bu beta-laktamaz inhibitörlerine dirençlidirler. Grup 1 enzimlerin çoğu indüklenebilir niteliktedir. Yani ortamda bir beta-laktam ajan varsa salınırlar. Beta-laktamaz indüksiyonu için bakteri hücresinde *ampC*, *ampD*, *ampG*, ve *ampR* olmak üzere dört gen bulunmaktadır (14,16). *E.coli*'de *ampR* bulunmadığı için bu türde indüklenebilir kromozomal enzimler görülmez.

Kromozomal Bush grup 1 beta-laktamazları yüksek oranda üreten bazı Gram negatif bakterilerde geniş spektrumlu penisilinlere ve sefalosporinlere direnç görülmektedir. Bu durum en sık *Enterobacter spp.*, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens*, *Morganella morganii*, *Proteus vulgaris*, *Providencia spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*'da saptanmaktadır (8,14,16,17). Grup 1 beta-laktamazlar indüklenebilir özelliktedir. Yani normalde bakteri tarafından az miktarda sentezlenen enzim ortamda bulunan bir indükleyicinin etkisi ile yüksek miktarlarda sentezlenmeye başlar. Farklı beta-laktam ajanların bu beta-laktamazları indüklenme yeteneği ve indükledikleri enzimlere dayanıklılıkları farklıdır. Normalde indüksiyon etkisi geçici olup indükleyicinin etkisi kalkınca tekrar bazal düzeye döner. Ancak bu tip beta-laktamazları üreten türlerde esas sorun, indüksiyona gerek olmaksızın yüksek oranda beta-laktamaz üreten (dereprese) mutantların bulunmasıdır. *AmpD* genlerinde defekt bulunan bu mutantlar bakteri popülasyonunda 10^{-5} - 10^{-8} sıklığında bulunurlar. 2. kuşak, 3. kuşak sefalosporinler, aztreonam ve üredopenisilinler bu tip beta-laktamazlar için zayıf indükleyiciler olmalarına karşın, üretilen enzime duyarlıdır. Dolayısıyla, bu ajanlar, tedavide tek başlarına kullanılmaları halinde dereprese mutantları seçme özelliğindedirler. Bunun sonucunda tedavi başarısızlıkları ortaya çıkmaktadır. Üçüncü kuşak sefalosporinlerle bakteriyemi tedavisi sırasında dereprese mutantların seçilme sıklığı %20-40 arasında bildirilmektedir (9). İndüklenebilir beta-laktamaz (İBL) varlığı disk indüksiyon testi ile gösterilebilir (18). Bu testte kuvvetli indükleyiciler olan imipenem veya sefoksitin diskleri 3. kuşak sefalosporin diskleri ile aralarındaki mesafe 1,5-2 cm olacak şekilde yanyana agar yüzeyine yerleştirilir. Sefalosporin diskinin zonunda indükleyiciye bakan tarafta bir düzleşme olması İBL varlığı açısından pozitif olarak değerlendirilir.

- Laboratuvarından İBL varlığı bildirilmese bile yukarıda sayılan türlerin bu özellikte olduğu bilinmelidir.
- Bu türlerle gelişen infeksiyonlarda 2.-3. kuşak sefalosporinlerin ve aztreonamın tek başına kullanılmasından kaçınılmalıdır.

- Uzun süreli tedavi söz konusu ise bu türlerin antibiyotik duyarlılık testleri 3-4 günde bir tekrarlanmalıdır.

Plazmid kökenli AmpC tipi beta-laktamazlar

Plazmid kökenli aktarılabılır AmpC tipi beta-laktamazlar, kromozomal Amp C beta-laktamaz genlerinin plazmidlere transfer olması ile gelişmiştir (19). Bu tür enzimler, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Salmonella spp.*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes*, *Proteus mirabilis* suşlarında bulunabilmektedir. Bu beta-laktamazların substrat profilleri köken aldıkları kromozomal enzimlerle aynıdır (11). Ancak plazmid kökenli Amp C tipi enzimler indüklenebilir olmamaları ile parental enzimlerden ayrılırlar. Bu enzimler geniş spektrumları yanı sıra aktarılabılır olmaları ile sorun yaratmaktadırlar. Örneğin Yunanistan'da sefoksitine dirençli 12 *K. pneumoniae*, 2 *E. coli* ve 2 *Enterobacter aerogenes* suşunda, sefoksitin direncinin aktarılabıldığı ve plazmid kökenli bir Amp C tipi enzim olan LAT-2'ya bağlı olduğu gösterilmiştir (20). Günümüzde plazmid kökenli AmpC tipi enzimlerin sayısı 20'yi aşmıştır.

Özellikle AmpC tipi enzim aşırı üretimi dış membran porin kaybı veya bir diğer beta-laktamazın sentezi gibi ek bir mekanizma ile birleştiğinde enzimlerin etki spektrumları iyice genişlemektedir. Örneğin, plazmid kökenli ACT-1 beta-laktamazı üreten *K. pneumoniae* suşlarında 42 kDa'luk bir dış membran proteinin kaybı, imipenem direncine yol açmaktadır (15). Sonuç olarak, AmpC tipi enzimlerin enterik bakteriler arasında yayılıyor olması tedavi seçeneklerinin iyice daralması yüzünden sorun oluşturmaktadır. Bu tip bakterilerin seleksiyonu açısından en düşük riski sefepimin taşıdığı öne sürülmektedir (19).

E. coli ve *K. pneumoniae* suşlarında, 3. kuşak sefalosporinlerin yanı sıra sefoksitine ve beta-laktamaz inhibitörlerine direnç bulunması, AmpC tipi bir enzimin varlığını düşündürmelidir (21,22).

Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL)

Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar, sefamisinler hariç tüm sefalosporinleri, penisilinleri ve aztreonamı inaktive eden enzimlerdir (11,12,23,24). Grup 2b 'de yer alan ve penisilin türevleri ile dar spektrumlu

sefalosporinleri parçalayan enzimlere göre daha geniş spektrumlu oldukları için bu şekilde adlandırılmaktadırlar. Bu enzimler, Bush grup 2be 'de yer almaktadır (Tablo 1). GSBL'ler klavulanik asit, tazobaktam ve daha az oranda sulbaktam gibi beta-laktamaz inhibitörlerine duyarlıdır. Sefamisinler ve karbapenemler GSBL'lerden etkilenmezler.

Son 5 yıl içerisinde GSBL beta laktamazların sayısı dört kat artmış, klinik açıdan önemli yeni türler tanımlanmıştır. GSBL'ler iki gruba ayrılabilir:

- 1- TEM ve SHV türevi GSBL'ler
- 2- TEM ve SHV dışı GSBL'ler

1-TEM ve SHV türevi genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar: Bu enzimler TEM-1, TEM-2, SHV-1 gibi enzimlerden 1-4 nokta mutasyonu ile köken almış, geniş spektrumlu beta-laktamazları hidrolize edebilen enzimlerdir (13). İlk GSBL 1983 yılında bir *K. pneumoniae* suşunda bildirilen SHV-2'dir. TEM ve SHV tipi GSBL'ler plazmid kökenlidir ve başta *K. pneumoniae* olmak üzere, *E. coli*, *Enterobacter*, *Salmonella*, *Proteus*, *Citrobacter*, *M. morganii*, *Shigella dysenteriae*, *S. marcescens*, *P. aeruginosa*, *Burkholderia cepacia* gibi birçok Gram negatif bakteride bulunabilmektedir (23). GSBL üreten izolatlar tüm dünyada bu arada ülkemizde de yaygındır. 1998 yılında hastane kökenli suşlarda yapılmış çok merkezli bir çalışmada, merkezlere göre değişmekle birlikte *K. pneumoniae* suşlarının %33-74'ünün, *E.coli* suşlarının ise %0-27'sinin GSBL ürettiği gösterilmiştir (25). GSBL'ler, 1980'li yıllarda klinik tedaviye giren 3. kuşak sefalosporinlerin yaygın kullanımının bir sonucudur. Nitekim bu yaygın kullanım sonucunda 1995 yılında 35 civarında olan GSBL sayısı günümüzde 100'ü geçmiştir (11). Hastanelerde seftazidim ve sefotaksim gibi 3. kuşak sefalosporinlerin empirik tedavide kullanımının kısıtlanması genellikle GSBL üreten suş prevalansında düşme ile sonuçlanmaktadır (23).

GSBL prevalansı özellikle genişlemiş spektrumlu sefalosporinlerin klinik tedaviye girme zamanı ve yaygın kullanımı ile ilişkili olduğu için GSBL üreten suş sayısı ülkeden ülkeye, şehirden şehire, hastaneden hastaneye hatta aynı hastanedeki servisler arasında

değişmektedir. Özellikle yatak sayısı çok olan eğitim hastanelerinde GSBL üreten suş prevalansı daha yüksektir. Ayrıca hastaya ait altta yatan hastalık, düşük doğum ağırlığı, prematürite, üriner/ santral venöz/ arteriyel katater varlığı, entübasyon, önceden sefalosporin kullanımı, gibi faktörler GSBL üreten suşlarla kolonizasyon/infeksiyon riskini arttırmaktadır (23,26). GSBL'si bulunan ve bulunmayan bakterilerle gelişen infeksiyonlar, mortalite, morbidite ve sağlık giderleri açısından karşılaştırıldığında, ilk tedavi olarak karbapenemlerin kullanıldığı hastalar hariç GSBL üreten suşlarla gelişen infeksiyonlarda mortalitenin daha yüksek, yatış süresinin daha uzun ve sağlık giderlerinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir (23). Ayrıca GSBL üretiminden sorumlu plazmidler aminoglikozid, kloramfenikol, tetrasiklin ve sulfonamid direnç genlerini de taşıyabildiklerinden GSBL üreten suşlar sıklıkla çoğul dirençlidir. Örneğin, 1995 yılında hastane kökenli *K. pneumoniae* suşları ile yaptığımız bir çalışmada, seftazidim direncine yol açan ve izoelektrik noktası 8.2 olan (olasılıkla SHV-5) bir enzimle birlikte başta kanamisin ve trimetoprim olmak üzere, amikasin, netilmisin, tobramisin, tetrasiklin direncinin de nakledebildiği görülmüştür (27).

Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar, genellikle seftazidim ve/veya sefotaksim minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerlerinde orta dereceli bir artışa yol açmaları için bu enzimlerin rutin laboratuvarlarda tanımlanmaları güç olabilmektedir (21). Bunun sonucunda da antimikrobiyal duyarlılık yanlış değerlendirilerek genişlemiş spektrumlu bir beta-laktam ile tedavi başlanabilmekte ve özellikle bakteriyemi gibi ciddi infeksiyonlarda fatal olabilen tedavi başarısızlıkları görülebilmektedir (28). Dolayısıyla hasta prognozu ve uygun tedavi seçimi için GSBL'lerin özel testler uygulanarak tanımlanması, klinisyenlerin de bu enzimler hakkında bilgi sahibi olması gereklidir. Bu tip enzimlerin tanımlanması ile ilgili bazı önemli noktalar ve test yöntemleri aşağıda yer almaktadır (22,29,30):

- GSBL üretimi normal duyarlılık testleri ile saptanamaz. Bu nedenle etkilenen antibiyotiklere azalmış duyarlılık GSBL göstergesi olarak kabul edilir.

- GSBL üreten suşlar bazı genişlemiş spektrumlu beta-laktam ajanlara duyarlı gibi gözükseler de MİK değerlerinde **inokulum etkisi** görülür. Inokulum etkisi, GSBL üreten mikroorganizmaların bakteri sayısının yüksek olduğu durumlarda, direnç düzeylerinin de yükseldiğini açıklayan bir tanımdır. Önerilen inokulum düzeylerinde (5×10^5 bakteri/ml) MİK değerleri düşüktür, ancak inokulum bir infeksiyon bölgesinde olduğu gibi 10^7 'ye çıkarıldığında MİK değerleri 100-500 kat yükselmektedir. Bu durum neden in vitro testlerde duyarlı gibi gözükseler de GSBL yapan bakterilerin etken olduğu infeksiyonlarda genişlemiş spektrumlu beta-laktam kullanımından kaçınılması gerektiğini göstermektedir.
 - Enzimin substrat profili değişik olabildiği için tutarsız veya mantıksız sonuçlar görülebilir. Bu nedenle antibiyogramlarda indikatör antibiyotiklerin hemen hemen tümünün yer alması önerilmektedir.
 - 3. kuşak sefalosporinlerden herhangi birinin MİK değeri ≥ 2 mg/L olarak saptandığında ya da seftazidim ve sefpodoksim inhibisyon zon çaplarının ≤ 22 mm; aztreonam ve sefotaksim zon çaplarının ≤ 27 mm; seftriakson zon çapının ≤ 25 mm olduğu durumlarda GSBL varlığı için doğrulama testi yapılmalıdır.
 - Doğrulama testlerinde söz konusu enzimlerin klavulanik asit ile inhibisyonu temeline dayanan yöntemler uygulanır:
 - 1- Çift disk sinerji testi: GSBL varlığı araştırılan mikroorganizmanın yayıldığı Mueller Hinton besiyeri yüzeyine bir amoksisilin/klavulanik asit diski ile bundan 2 cm uzaklıkta olacak şekilde sefotaksim, seftazidim, aztreonam ve sefepim diskleri yerleştirilmesinden ve 35°C 'de 18 saat inkübasyondan sonra, genişlemiş spektrumlu beta-laktam disklerinden herhangi birinin inhibisyon zonuunun AMC diskiye doğru genişlemesi,
 - 2- Mikrodilüsyon testinde 4 mg/L klavulanik asit eklenmesiyle genişlemiş spektrumlu beta-laktam ajanların MİK değerlerinde ≥ 8 kat azalma saptanması,
 - 3- Bir tarafında seftazidim diğer tarafında seftazidim ve klavulanik asit bulunan E-Test striplerinde klavulanik asit etkisiyle MİK değerinde ≥ 8 kat azalma saptanması,
 - 4- Üzerine klavulanik asit (10 µg) damlatılan genişlemiş spektrumlu beta-laktam disklerinin zon çaplarında ≥ 5 mm genişleme saptanması GSBL üretimi açısından pozitif kabul edilir.
 - Doğrulama testleri bu suşların Amp C tipi üreten suşlardan ayırımı için önemlidir. AmpC tipi beta-laktamazlar beta-laktamaz inhibitörlerinden etkilenmezler. Ayrıca daha önce de belirtildiği gibi AmpC tipi beta-laktamazlar 3. kuşak sefalosporinler yanısıra sefoksitin direncine de yol açarlar. AmpC üreten suşlarla GSBL üreten suşların ayırımı için ÇDS testinde sefepim diskinin kullanılması yararlı olabilir. Doğrulama testleri GSBLlerin *K. oxytoca*'nın K1 beta-laktamazından ayırımında da önemlidir.
 - GSBL üreten suşlar genellikle gentamisin ve SXTye de dirençlidir. Çoğul direnç özelliği de bu tip enzimler için bir diğer ipucu olabilir.
 - Bir izolatu GSBL ürettiği saptandığında in vitro duyarlılık sonucu ne olursa olsun, beta-laktamaz inhibitör kombinasyonları ve sefamisinler hariç tüm sefalosporinler, penisilin türevleri ve monobaktamlara dirençli olarak rapor edilmelidir.
- 2-TEM ve SHV dışı genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar
- Son yıllarda, Grup 2b'ye TEM ve SHV dışı GSBL'lerin eklendiği, bunların bir kısmının özel coğrafik bölgelerle ilişkili olduğu gözlenmektedir (11,31). Bu enzimler de TEM ve SHV enzimleri ile benzer biyokimyasal ve hidrolitik özellikleri içermektedir. Bu beta-laktamazlar arasında
- 1- Ülkemizdeki *Salmonella typhimurium*, *A. baumannii* ve *P. aeruginosa* suşlarında gösterilen PER-1 (32,33) ve Güney Amerika ülkelerinde izole edilen *P.aeruginosa* suşlarında gösterilen PER-2 (34),
 - 2- İlk kez Viyetnamlı bir hastadan izole edilen bir *E. coli* ve bir *K. pneumoniae* suşunda daha sonra da yine

- Tayland'da hastaneye yatış öyküsü olan hastaların *P. aeruginosa* suşlarından izole edilen VEB-1 (35,36),
- 3- İlk kez Fransız Guyana'sında izole edilen bir *K. pneumoniae* gösterilen GES-1 (37) ve bu enzimden etki spektrumunu imipenemi de dahil edecek şekilde genişleten bir nokta mutasyonu ile ayrılan GES-2 (38),
 - 4- Brezilya'da izole edilen bir *S. marcescens* suşunda gösterilen BES-1 (39),
 - 5- *E. coli* suşlarında gösterilen TLA-1 (40),
 - 6- Özellikle Güney Amerika ülkeleri ve bazı Avrupa ülkelerinde sık görülen ve sayıları her geçen gün artan CTX-M grubu enzimler (CTX-M-1 (MEN-1)- CTX-M-16; Japonya'da TOHO-1 ve TOHO-2) sayılabilir (41-51).

Bu enzimlerin moleküler yapıları değerlendirildiğinde CTX-M grubunun özellikle Enterobacteriaceae üyeleri ve *B. cepacia*'nın kromozomal Sınıf A enzimlerine; PER tipleri, TLA-1 ve VEB tiplerinin ise *Bacteroides fragilis*'in Sınıf A kromozomal beta-laktamazlarına benzer yapıda oldukları görülmüştür.

TEM ve SHV dışı GSBL'ler arasında özellikle CTX-M grubu enzimlerin sayısı hızla artmaktadır (11). Bu tip enzimler, Güney Amerika, yakındoğu, Uzakdoğu ve Avrupa ülkelerinde, *E. coli*, *S. typhimurium*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, *C. freundii*, *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *V. cholerae* izolatlarında gösterilmiştir. Japonya'dan bildirilen TOHO-1 ve TOHO-2 de aynı grup enzimler içerisinde yer almaktadır. CTX-M tipi enzimler, seftazidim ve aztreonama kıyasla seftoksimi daha etkin biçimde hidrolize eden enzimlerdir. Bunun sonucunda bu grup enzimleri üreten izolatların seftoksim MİK değerleri, seftazidiminkinden 2-16 kez yüksektir. Bu enzimler beta-laktamaz inhibitörlerine duyarlı olup tazobaktamın inhibitör aktivitesi diğerlerine kıyasla daha yüksektir.

Bu enzimler dışında ayrıca grup 2d içerisinde de GSBL etkinliğinde OXA türevleri bulunmaktadır. Bunlar daha sonra ele alınacaktır.

Inhibitörlere dirençli TEM ve SHV türevleri

Gerek TEM-1 ve TEM-2 gerekse bunların genişlemiş spektrumlu türevleri klavulanik asite duyarlıdır.

Ancak ana enzimdeki 69., 244., ve 276. pozisyonlardaki değişiklikler bu enzimlerden inhibitörlere dirençli mutantların gelişmesine yol açmıştır (52). İnhibitörlere dirençli enzimlerin çoğu TEM türevi olduğu için İnhibitörlere Rezistan TEM (IRT) olarak adlandırılırlar. Günümüze kadar 26 IRT enzimi bildirilmiştir (Tablo I). IRT enzimleri başta *E. coli* olmak üzere, *K. pneumoniae*, *C. freundii*, ve diğer enterobacteriaceae üyelerinde bulunmaktadır. İnhibitörlere dirençli enzimlerin çoğu TEM türevi olmakla birlikte SHV türevi olanlar da bulunmaktadır ve bunlardan SHV-10 ve SHV-25 aynı zamanda GSBL niteliği de taşımaktadır (53).

E. coli suşlarında beta-laktamaz inhibitörlerine direnç ayrıca; OXA-1, kromozomal / plazmid kökenli AmpC tipi beta-laktamazlar gibi inhibitörlere kısmen veya tümüyle dayanıklı enzimlerin üretimine ya da OmpF/OmpC mutasyonlarına bağlı olabilir (54). Bu nedenle, inhibitörlere dirençli enzimler, amoksisilin/klavulanat kombinasyonlarına "ortada" veya dirençli gözükten enterobacteriaceae izolatlarında beta-laktamazları kodlayan *bla*_{TEM-1a,b} ve *bla*_{TEM2} genlerinin PCR tabanlı yöntemlerle çoğaltılması ve dizgi analizlerinin yapılması ile tanımlanabilmektedir.

Bush Grup 2d oksasilineazlar

Bush grup 2d'de oksasiline hızla hidrolize edebilen OXA grubu enzimler yer almaktadır (Tablo I). Günümüzde sayıları 31'e ulaşan OXA tipi enzimlerden özellikle iki alt sınıf güncel önem taşımaktadır. Bunlardan birincisi özellikle *P. aeruginosa* suşlarında görülen genişlemiş spektrumlu türevler, ikincisi de karbapenemleri hidrolize eden enzimlerdir.

OXA-tipi genişlemiş spektrumlu betalaktamazlar, plazmid veya integron kökenli, seftazidim ve/veya seftoksim, sefepim, sefpirom, aztreonamı inaktive edebilen enzimlerdir (55-62). OXA-18 haricinde betalaktamaz inhibitörlerine duyarlılıkları düşüktür. Kökenlerine göre üç grupta incelenebilirler:

- 1- OXA-2 türevi OXA-15
- 2- OXA-10 türevleri (OXA-11,12,13,14,16,17,19, 28)
- 3- OXA-18

OXA-tipi genişlemiş spektrumlu beta-laktamazların birçoğu ülkemize özgüdür (55-58,60).

Moleküler sınıf D de bulunan karbapenemleri hidrolize eden enzimler özellikle *A. baumannii* izolatlarında görülmektedir (63-66). Bu enzimlerin karbapenemaz aktiviteleri modifiye Hodge testi ile gösterilebilir (67). Bu amaçla imipeneme duyarlı bir indikatör suş bir DST plağına McFarland 0.5 yoğunluğunda yayılmakta, plağın biraz kuruması beklendikten sonra ortasına bir imipenem diski konulmaktadır. Bundan sonraki basamakta karbapenemleri hidrolize eden enzimleri araştırılacak olan suşlardan koyu bir süspansiyon hazırlanıp, imipenem diskine dik açıyla değecek şekilde bu süspansiyondan çizgi ekimi yapılır. Bir gece inkübasyondan sonra çizgilerin bulunduğu alanlarda imipenem inhibisyon zonunda daralma, testin pozitif olduğunu göstermektedir (67). Ayrıca bu enzimler, yine karbapenemaz aktivitesi bulunan metalloenzimlerden klavulanik asit ve tazobaktam kısmen duyarlı, buna karşın EDTA'ya dayanıklı olmaları ile ayrılabilirler.

Metallo-beta-laktamazlar

Metallo-beta-laktamazlar, Bush sınıflamasında fonksiyonel grup 3 içerisinde yer alan ve şimdiye kadar gördüğümüz enzimlerden farklı olarak aktif bölgelerinde bir Zn^{+2} iyonu bulunan enzimlerdir (68). Dolayısıyla bu enzimler klavulanat, tazobaktam, sulbaktam gibi klasik beta-laktamaz inhibitörlerinden etkilenmezken EDTA gibi bir metal şelatörü ile inaktive olurlar. Bu enzimlerin en önemli özelliği monobaktamlar hariç tüm beta-laktamları ve bu arada karbapenemleri de hidrolize edebilmeleridir. Önceleri bu grupta sadece kromozomal enzimlerin varlığı bilinirken 1991'de Japonya'da *S. marcescens* ve *P. aeruginosa* suşlarında plazmid kökenli bir metallobeta-laktamazın (IMP-1) saptanması, karbapenemlerin geleceği konusunda endişe doğurmuştur (69,70). Nitekim geçen süre içinde integron kökenli IMP (IMP 1-8) ve VIM (VIM 1-3) ailesi üyeleri Avrupa ülkelerinde de giderek artan oranlarda bildirilmeye başlanmıştır (71-73).

Metallo-beta-laktamazlar içerisinde de üç işlevsel grup yer almaktadır (68):

Altgrup 3a'da bulunan enzimler, genellikle penisilinleri imipenemden daha hızlı olarak hidrolize edebilirler. Bu grup içerisinde *Bacillus cereus* II, *B. fragilis*'in Cer A, *B. cepacia*'nın PCM-1, *Stenotrophomonas maltophilia*'nın L1 (74), *Chryseobacterium indologenes*'in IND-1-4 (75), *C. meningosepticum*'un BlaB enzimleri(76) yanısıra, *S. marcescens*, *P. aeruginosa*, *A.baumannii*, *Shigella flexneri*, *K. pneumoniae* gibi değişik türlerde saptanan IMP 1-8 (69-71,77-80) ve *P. aeruginosa*'da saptanan VIM 1-3 (72,73,81) enzimleri de yer almaktadır.

Altgrup 3b, *Aeromonas* türlerinin metalloenzimlerini kapsar ve bunlar "gerçek" karbapenemazlardır. Karbapenemler dışındaki beta-laktamlara etkileri çok az olduğundan varlıkları nitrosefin hidrolizine dayanan testlerle gösterilemez.

Altgrup 3c'de ise sadece *Legionella gormanii*'nin metallo-beta-laktamazı yer almaktadır. Bu enzim yüksek sefalosporinaz aktivitesi ile diğer altgruplardan ayrılmaktadır.

Metallo-beta-laktamazlar sıklıkla etki spektrumlarını genişletecek bir diğer enzimle birlikte üretilirler. Örneğin altgrup 3b genellikle Grup 2b'deki penisilinazlarla birlikte (68). *S.maltophilia*'da ise L1 ile birlikte GSBL niteliği taşıyan L2 üretilmektedir (82). Böylelikle *S.maltophilia* suşları normalde metallo-beta-laktamazların etki etmediği aztreonama da direnç göstermektedir.

Metallo enzimler aktif bölgelerinde bir Zn^{+2} iyonu taşıdıklarından tanımlanmalarında bu çinko iyonuna bağlanarak enzimi inaktive eden EDTA, 2-merkaptopropionik asit gibi bileşikler kullanılmaktadır (67,83).

Hastane salgınları açısından önemli bakteri türlerinde buldukları için tanımlanmaları enfeksiyon kontrolü açısından önemlidir.

Karbapenemleri hidrolize eden diğer beta-laktamazlar

Yukarıda sözü edilen metallo-beta-laktamazlar ve sınıf D oksasilinazlar dışında karbapenemler üzerine etkili iki grup enzim daha bulunmaktadır.

1. Sınıf A (Bush grup 2f)'da yer alan karbapenem hidrolize

eden enzimler: *E. cloacae*'nin IMI-1 ve NMC-A enzimleri, *S. marcescens*'in Sme-1 ve 2 enzimleri, *B. fragilis*'in CfiA, *K. pneumoniae*'nin KPC-1 enzimi bu grupta yer almaktadır (84-89). Bunlar, imipenem, meropenem, penisilinler, genişlemiş spektrumlu sefalosporinler ve aztreonama direnç gelişmesine neden olan ve tazobaktam başta olmak üzere beta-laktamaz inhibitörlerine duyarlı olan enzimlerdir.

2. *Sınıf C beta-laktamazlar*: Kromozomal AmpC enzimlerinin aşırı üretimini özellikle dış membran porin değişimleri ile birleştiğinde karbapenem direncine yol açması büyük olasılıkla en yaygın karbapenem direnç mekanizmasıdır (89). Bu durum *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *K. pneumoniae*, *P. rettgeri*, *C. freundii*, *E. coli*, *P. aeruginosa* gibi birçok türde gösterilmiştir (90-96). İmipeneme yüksek düzey direnç gösteren dereprese bir *E. aerogenes* mutantında hücre genomuna *amp D* geni sokulduğunda imipenem MİK değerlerinin normale dönmesi AmpC tipi enzimlerin karbapenemlere dirençteki önemini vurgulamaktadır (97).

Gram pozitif bakterilerin beta-laktamazları

Gram pozitif bakteri türleri arasında beta-laktamaz yapan başlıca patojenler stafilokoklardır. Bu cins bakterilerce üretilen beta-laktamazlar penisilnaz niteliğinde olup Grup 2a da yer alırlar (12). Stafilokokkal beta-laktamazlar indüklenebilir özelliktedir, yani ortamda penisilin ve türevlerinin bulunması halinde salgırlar.

Gram pozitif bakteriler arasında beta-laktamaz üreten diğer bir cins ise enterokoklardır. Beta-laktamaz üretimi özellikle *E. faecalis* suşlarında ampisilin direncinden sorumlu mekanizmadır (98). Bu türde betalaktamaz genleri çoğunlukla yüksek düzey gentamisin direncine yol açan genler ile beraber bulunmaktadır (99). Hatta beta-laktamaz pozitif suşların gentamisine yüksek düzeyde dirençli kabul edilebileceği öne sürülmektedir. Enterokok beta-laktamazları stafilokok beta-laktamazlarından köken aldıkları için benzer niteliktedirler. Ancak enterokoklarda beta-laktamaz ile görevli genler bulunmamaktadır. Stafilokok ve enterokok beta-laktamazları transpozonlar aracılığıyla taşınırlar.

Sonuç

Bu derlemeden de görüldüğü gibi bakteriler yaygın olarak kullanılan tüm beta-laktam ajanlara karşı etkili beta-laktamazlar geliştirmişlerdir. Bu enzimlerin etki spektrumlarının ve epidemiyolojik özelliklerinin bilinmesi, en azından bunlara yenilerinin eklenmemesi için klinikte ve laboratuvarında yapmamız gerekenleri belirlememize yardımcı olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Jawetz E. Penicillins and cephalosporins. In: Katzung BG (ed). Basic and Clinical Pharmacology. 3rd ed. California. Appleton and Lange. 1987;516-526.
2. Chambers HF. Penicillins. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th ed. Philadelphia. Churchill and Livingstone. 2000;261-274.
3. Lee NLS, Yuen KY, Kumana CR. β -lactam antibiotic and β -lactamase inhibitor combinations. JAMA 2001; 285:386-388.
4. Ghuysen JM. Molecular structures of penicillin-binding proteins and beta-lactamases. Trends Microbiol 1994;2:372-380.
5. Chambers HF. Penicillin-binding protein mediated resistance in pneumococci and staphylococci. J Infect Dis 1999;179(Suppl 2):353-359.
6. Gülay Z. Antimikrobiyal ilaçlara direnç. In: Mutlu G, İmir T, Cengiz T, Ustaçelebi Ş, Tümbay E, Mete Ö (editörler). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara. Güneş Kitabevi. 1999;91-108.
7. Shlaes DM, Gerding DN, John JF et al. Society for healthcare epidemiology of America and infectious diseases society of America joint committee on the prevention of antimicrobial resistance: guidelines for the prevention of antimicrobial resistance in hospitals. Clin Infect Dis 1997;25:584-599.
8. Mayer KH, Opal SM, Medeiros AA: Mechanisms of antibiotic resistance. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th ed. Philadelphia. Churchill and Livingstone. 2000;238-253.
9. Livermore DM. β -lactamases: quantity and resistance. Clin Microbiol infect 1997;3(suppl 4): 410-419.
10. Cornaglia G, Mazzariol A, Fontana R. The astonishing

- complexity of antibiotic resistance. Clin Microbiol Infect 2000;6(suppl 3):93-94.
11. Bush K. New β -lactamases in Gram negative bacteria, diversity and impact on selection of antimicrobial therapy. Clin Infect Dis 2001;32:1085-1089.
 12. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure. Antimicrob Agents Chemother 1995;39:1211-1233.
 13. Medeiros AA. Cooperative evolution of mechanisms of β -lactam resistance. Clin Microbiol Infect 2000;6(suppl 3):3-5.
 14. Medeiros AA. β -lactamases: quality and resistance. Clin Microbiol Infect 1997;3(suppl4) 42-49.
 15. 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 β -lactamase and the loss of an outer membrane protein. Antimicrob Agents Chemother 1997; 41:563-569.
 16. Wiedemann Bi Dietz H, Preifile D. Induction of β -lactamase in *Enterobacter aerogenes* Clin Infect Dis 1998;27(suppl1):42-47.
 17. Shannon K, Philips I. The effects on β -lactam susceptibility and phenotypic induction and genotypic derepression of β -lactamase synthesis. J Antimicrob Chemother 1986;18(suppl 1E): 15-22.
 18. Sanders CC, Sanders W Jr. β -lactam resistance in Gram negative bacteria global trends and clinical impact. Clin Infect Dis 1992;15:824-839.
 19. Negri MC, Morrossini MI, Blazquez J, Bacquero F. Antibiotic resistance in hospital infections: the role of newer cephalosporins. Clin Microb Infect 2000;6(suppl3):95-97.
 20. Gazouli M, Tzouveleki LS, Prinarakis E, Miniagou V, Tzelepis E. Transferable cefoxitin resistance in enterobacteriaceae from Greek hospitals and characterization of a plasmid mediated Group 1 beta-lactamase (LAT-2). Antimicrob Agents Chemother 1996;40:1736-1740.
 21. Thomson KS. Controversies about extended spectrum and AmpC β -lactamases. Emerg Infect Dis 2001;7:333-336.
 22. Jorgensen JH, Ferraro MJ. Antimicrobial susceptibility testing: special needs for fastidious organisms and difficult to detect resistance mechanisms. Clin Infect Dis 2000;30:799-808.
 23. Rahal JJ. Extended spectrum β -lactamases; how big is the problem. Clin Microbiol Infect 2000; 6 (suppl2):2-6.
 24. Rice L. Evolution and clinical importance of extended spectrum β -lactamases. Chest 2001; 119: 391-396.
 25. Gür D, Gültekin M, Ögünç D et al. Comparative in vitro activity of piperacillin tazobactam against Gram negative nosocomial pathogens. 21st International Congress of Chemotherapy, 4-7 July 1999, Birmingham, UK, J Antimicrob Chemother 1999; 44(suppl A):71.
 26. Lautenbach E, Patel JB, Bilken WB, Edelstein PH, Kishmann NO. Extended spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*; risk factors for infection and impact of resistance on outcomes. Clin Infect Dis 2001;32:1162-1171.
 27. Gülay Z, Thomson CJ, Yuluğ N, Amyes SGB. High prevalence of extended spectrum beta-lactamase production among *Klebsiella pneumoniae* isolated at a university hospital in Turkey. J Chemother 2000;12:145-152.
 28. Paterson DL, Kow C, Gottberg A, et al. Outcome of cefalosporin treatment for serious infections due to apparently susceptible organisms producing extended spectrum β -lactamases; implications for the clinical microbiology laboratory. J Clin Microbiol 2001;39:2206-2212.
 29. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 11th informational supplement M100-S11; Villanova, Pa, 2001.
 30. Jarlier V, Nicoles MM, Fournier G, Philippon A. Extended broad spectrum β -lactamases conferring resistance to newer beta-lactam agents in Enterobacteriaceae; hospital prevalence and susceptibility patterns. Rev Infect Dis 1988;10:867-871.
 31. Nordmann P. Trends in β -lactam resistance among Enterobacteriaceae. Clin Infect Dis 1998;27: (suppl 1):100-107.
 32. Danel F, Hall M, Gur D, Akalin HE, Livermore DM.

- Transferable production of PER-1 β -lactamase in *Pseudomonas aeruginosa*.] Antimicrob Chemother 1995;35:281-294.
33. Vahaboglu H, Öztürk R, Aygun G et al. Widespread detection of PER-1 type extended spectrum β -lactamases among nosocomial *Acinetobacter* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Turkey; anationwide multicenter study. Antimicrob Agents Chemother 1997;41:2265-2269.
 34. Bauernfeind A, Stempinger I, Jungwirth R et al. Characterization of β -lactamase gene *bla_{PER-2}* which encodes an extended-spectrum class A β -lactamase. Antimicrob Agents Chemother 1996;40:616-620.
 35. Girlich D, Poirel L, Lelaporn A et al. Molecular epidemiology of the integron-located VEB-1 extended spectrum beta-lactamase in nosocomial enterobacterial isolates in Bangkok, Thailand. J Clin Microbiol 2001;39:175-182.
 36. Naas T, Poirel L, Karim A, Nordmann P. Molecular characterization of In50, a class 1 integron encoding the gene for the extended spectrum β -lactamase VEB-1 in *Pseudomonas aeruginosa*. FEMS Microbiol Lett 1999;176:411-419.
 37. Poirel L, LeThomas I, Naas T, Karim A, Nordmann P. Biochemical sequence analyses of GES-1 a novel class A extended spectrum β -lactamase, and the class 1 integron In52 from *Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother 2000;44:622-632.
 38. Poirel L, Weldhagen GF, Naas T, DeChamps C, Dove MG, Nordmann P. GES-2 a class A β -lactamase from *Pseudomonas aeruginosa* with increased hydrolysis of imipenem. Antimicrob Agents Chemother 2001;45:2598-2603.
 39. Bonnet R, Sampaio JL, Chanal C, Sirot D, et al. A novel class A extended spectrum β -lactamase (BES-1) in *Serratia marcescens* isolated in Brazil. Antimicrob Agents Chemother 2000; 44:3061-3068.
 40. Silva J, Aguilar C, Ayala G, Estrada MA, et al. A new plasmid mediated extended spectrum β -lactamase from *Escherichia coli*. Antimicrob Agents Chemother 2000; 44:997-1003.
 41. Bernard H, Tancrede C, Livrelli A, Morand A, Barthelemy M, Labia R. A novel plasmid-mediated extended spectrum beta-lactamase not derived from TEM- or SHV-type enzymes. J Antimicrob Chemother 1992;29:590-592.
 42. Bauernfeind A, Stempinger I, Jungwirth R, Ernst S, Casellas JM. Sequences of β -lactamase genes encoding CTX-M-1 (MEN-1) and CTX-M-2 and relationship of their amino acid sequences with those of other β -lactamases. Antimicrob Agents Chemother 1996;40:509-513.
 43. Gniadowski M, Schneider I, Paucha A, Jungwirth R, Mikiewicz B, Bauernfeind A. Cefotaxime resistant *Enterobacteriaceae* isolates from a hospital in Warsaw, Poland: identification of a new CTX-M-3 cefotaxime-hydrolyzing β -lactamase that is closely related to the CTX-M-1/MEN-1 enzyme. Antimicrob Agents Chemother 1998;42:827-832.
 44. Gazouli M, Tzelepi E, Sidorenko S, Tzouveleki LS. Sequence of the gene encoding a plasmid mediated cefotaxime hydrolyzing class A β -lactamase (CTX-M-4): involvement of serine 237 in cephalosporin hydrolysis. Antimicrob Agents Chemother 1998;42:1259-1262.
 45. Bradford PA, Yang Y, Sahn D, Grope I, Gardovska D, Storch G. CTX-M-5, a novel cefotaxime-hydrolyzing β -lactamase from an outbreak of *Salmonella typhimurium* in Latvia. Antimicrob Agents Chemother 1998;42:1980-1984.
 46. Gazouli M, Tzelepi E, Markogiannakis A, Legakis NJ, Tzouveleki LS. Two novel plasmid-mediated cefotaxime hydrolyzing β -lactamases (CTX-M-5 and CTX-M-6) from *Salmonella typhimurium*. FEMS Microbiol Lett 1998;165:289-293.
 47. Bonnet R, Sampaio Labia R, De Champs C, Sirot D, Chanal C, Sirot J. A novel CTX-M β -lactamase (CTX-M-8) in cefotaxime resistant *Enterobacteriaceae* isolated in Brazil. Antimicrob Agents Chemother 2000;44:1936-1942.
 48. Sabate M, Tarrago R, Navarro F, Miro E, Verges C, Barbe J, Prats G. Cloning and sequence of the gene encoding a novel cefotaxime-hydrolyzing β -lactamase (CTX-M-9) from *Escherichia coli* in Spain. Antimicrob Agents Chemother 2000;44:1970-1973.
 49. Oliver A, Perz-Diaz JC, Coque TM, Baquero F, Canton R. Nucleotide sequence and characterization of a novel

- cefotaxime-hydrolyzing β -lactamase (CTX-M-10) isolated in Spain. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:616.
50. Kariuki S, Corkill JE, Revathi G, Musoke R, Hart CA. Characterization of a novel plasmid-encoded cefotaximase (CTX-M-12) found in clinical *Klebsiella pneumoniae* isolates from Kenya. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:2141-2143.
 51. Bonnet R, Dutour C, Sampaio JLM, Chanal D et al. Novel cefotaximase (CTX-M-16) with increased catalytic efficiency due to substitution Asp-240-Gly. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:2269-2275.
 52. Gülay Z. Beta-laktamaz inhibitörlerine dirençli enzimler. *ANKEM Derg* 1997;11:213-219.
 53. Chang FY, Siu LK, Fung CP, Huang MH, Ho M. Diversity of SHV and TEM β -lactamases in *Klebsiella pneumoniae*; gene evolution in northern Taiwan and two novel β -lactamases, SHV-25 and SHV-26. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:2407-2413.
 54. Stapleton P, Wu J, King A, Shannon K, et al. Incidence and mechanisms of resistance to the combination of amoxicillin and clavulanic acid in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39:2478-2455.
 55. Hall LMC, Livermore DM, Gur D, Akova M, Akalin HE. OXA-11, an extended spectrum variant of OXA-10 (PSE-2) β -lactamase from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1993 37 1637-1644.
 56. Danel F, Hall LMC, Duke B, Gur D, Livermore DM. OXA-14, another extended spectrum variant of OXA-10 (PSE-2) β -lactamase from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39:1881-1884.
 57. Danel F, Hall LMC, Duke B, Gur D, Livermore DM. OXA-15, an extended spectrum variant of OXA-2 β -lactamase isolated from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1997;41:785-790.
 58. Danel F, Hall LMC, Duke B, Gur D, Livermore DM. OXA-16 β -lactamase a further extended spectrum variant of OXA-10 β -lactamase isolated from two *Pseudomonas aeruginosa* isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42:3117-3122.
 59. Mugnier P, Casin I, Bouthors AT, Collatz E. Novel OXA-10 derived extended spectrum beta-lactamases selected in vivo and in vitro. *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42:3113-3116.
 60. Danel F, Hall LMC, Duke B, Gur D, Livermore DM. OXA-17, a further extended spectrum variant of OXA-10 β -lactamase isolated from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:1362-1366.
 61. Philippon L, Naas T, Bouthors AT, Barakett V, Nordmann P. OXA-18, a Class D clavulanic acid inhibited extended spectrum β -lactamase from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1997;41:2188-2195.
 62. Poirel L, Girlich D, Naas T, Nordmann P. OXA-28, an extended spectrum variant of OXA-10 β -lactamase from *Pseudomonas aeruginosa* and its plasmid- and integron-located gene. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:447-453.
 63. Amyes SGB. Carbapenemases. *ANKEM Derg* 1997;11:221-224.
 64. Donald HM, Scaife W, Amyes SGB, Young HK. Sequence analysis of ARI-1, a novel OXA β -lactamase, responsible for imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii* 6b92. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44:196-199.
 65. Bou G, Oliver A, Martinez -Beltran J. OXA-24 a novel class D β -lactamase with carbapenemase activity in an *Acinetobacter baumannii* clinical strain *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44: 1556-1561.
 66. Afzal-Shah M, Woodford N, Livermore DM. Characterization of OXA-25, OXA-26, OXA-27, molecular Class D β -lactamases associated with carbapenem resistance in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:583-588.
 67. Lee K, Chong Y, Shin HB, Kim YA, Yong D, Yun JH. Modified Hodge and EDTA synergy tests to screen metallo β -lactamase producing strains of *Pseudomonas* and *Acinetobacter* species. *Clin Microb Infect* 2001;7:88-102.
 68. Bush K. Metallo β -lactamases; a class apart. *Clin Infect Dis* 1998; 27 (suppl 1): 49-53.
 69. Watanabe M, Iyobe S, Inoue M, et al. Transferable imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1991;35:147-151.
 70. Senda K, Arakawa Y, Ichiyama S, et al. PCR detection

- of metallo-beta-lactamase gene (*bla_{IMP}*) in gram negative rods resistant to broad spectrum β -lactams. *J Clin Microbiol* 1996; 34:2909-2913.
71. Riccio ML, Franceschini N, Boschi L, et al. Characterization of the metallo- β -lactamase determinant of *Acinetobacter baumannii* AC54/97 reveals the existence of *bla*(IMP) allelic variants carried by gene cassettes of different phylogeny. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44:1229-1235.
 72. Lauretti L, Riccio ML, Mazzairol A et al. Cloning and characterization of *bla_{VIM}*, a new integron borne metallo- β -lactamase from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:1584-1590.
 73. Poirel L, Naas T, Nicolas D et al. Characterization of VIM-2, a carbapenem hydrolyzing metallo- β -lactamase and its plasmid- and integron-borne gene from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate in France. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44:891-897.
 74. Sanschagrın F, Dufresne J, Levesque RC. Molecular heterogeneity of the L1 metallo- β -lactamase family from *Stenotrophomonas maltophilia*. *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42: 1245-128.
 75. Bellais S, Poirel L, Leotard S, Naas T, Nordmann P. Genetic diversity of carbapenem hydrolyzing metallo- β -lactamases from *Chryseobacterium* (*Filabacterium*) *indologenes*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44:3028-3034.
 76. Bellais S, Aubert D, Naas T, Nordmann P. Molecular and biochemical heterogeneity of class B carbapenem hydrolyzing- β -lactamases in *Chryseobacterium meningosepticum*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44:1878-1886.
 77. Iyobe S, Kusadoroko G, Ozaki J, Matsamura N, Minami S, Haruta S et al. Amino acid substitutions in a variant of IMP-1 metallo- β -lactamase. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44:2023-2027.
 78. Chu YW, Afzal-Shah M, Houang ET, Palepou MI, et al. A novel metallo-beta-lactamase from nosocomial *Acinetobacter* spp. collected in Hong Kong between 1994-1998. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:710-714.
 79. Yano H, Kuga A, Okamoto R, Kitasato H, Kobayashi T, Inoue M. Plasmid encoded metallo- β -lactamase (IMP-6) conferring resistance to carbapenems, especially meropenem. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:1343-1348.
 80. Yan JJ, Ko WC, Wu JJ. Identification of a plasmid encoding SHV-12, TEM-1 and a variant of IMP-2 metallo- β -lactamase, IMP-8, from a clinical isolate of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:2368-2371.
 81. Yan JJ, Hsueh PR, Ko WC, Luh KT et al. Metallo- β -lactamases in clinical *Pseudomonas* isolates in Taiwan and identification of VIM-3, a novel variant of the VIM-2 enzyme. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:2224-2228.
 82. Walsh Tr, MacGowan AP, Bennett PM. Sequence analysis and enzyme kinetics of the L-2 serine β -lactamase from *Stenotrophomonas maltophilia*. *Antimicrob Agents Chemother* 1997;41:1460-64.
 83. Arakawa Y, Shibata N, Shibayama K et al. Convenient test for screening β -lactamase producing Gram-negative bacteria by using thiol compounds. *J clin Microbiol* 2000;38:40-43.
 84. Rasmussen BA, Bush K, Keeney D, Yang Y, Hare R, O'Gara C, Medeiros AA. Characterization of IMI-1 β -lactamase, a class A carbapenem hydrolyzing enzyme from *Enterobacter cloacae*. *Antimicrob Agents Chemother* 1996;40:2080-2086.
 85. Nordmann P, Marriotte S, Naas T, Labia R, Nicolas MH. Biochemical properties of a carbapenem hydrolyzing β -lactamase from *Enterobacter cloacae* and cloning of the gene to *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 1994;37:939-946.
 86. Naas T, Vandel L, Sougakoff W, Livermore DM, Nordmann P. Cloning and sequence analysis of the gene for carbapenem-hydrolyzing class A β -lactamase, Sme1, from *Serratia marcescens* S6. *Antimicrob Agents Chemother* 1994;38:1262-1270.
 87. Quincean AM, Tarros-Viero C, Gold HS, Carmeli Y, et al. Sme type carbapenem-hydrolyzing class A β -lactamases from geographically diverse *Serratia marcescens* strains. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44:3035-39.
 88. Thompson JS, Malmly MH. Sequencing the gene for

- an imipenem-cefoxitin-hydrolyzing enzyme (CfiA) from *Bacteroides fragilis* TAL2480 reveals strong similarity between CfiA and *Bacillus cereus* β -lactamase II. *J Bacteriol* 1990;172:2584-2593.
89. Yigit H, Queenan AM, Anderson GJ, Domencch-Sanchez A, et al. Novel carbapenem hydrolysing β -lactamase, KPC-1, from a carbapenem resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:1151-1161.
 90. Ardanuy C, Linares J, Dominguez A, Hernandez-Alles S, Benedi VJ, Martinez-Martinez L. Outer membrane profiles of clonally related *Klebsiella pneumoniae* isolates from clinical samples and activities of cephalosporins and carbapenems. *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42:1636-1640.
 91. Charrel RN, Pages JM, De Micco P, Mallea M. Prevalance of outer membrane porin alteration in β -lactam-antibiotic-resistant *Enterobacter aerogenes*. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40:2854-288.
 92. Chow JW, Shlaes DM. Imipenem resistance associated with the loss of a 40 kDa outer membrane protein in *Enterobacter aerogenes*. *J Antimicrob Chemother* 1991;28:499-504.
 93. Cornaglia G, Guan L, Fontana R, Satta G. Diffusion of meropenem and imipenem through the outer membrane of *Escherichia coli* K-12 and correlation with their antimicrobial activities. *Antimicrob Agents Chemother* 1992;36:1902-1908.
 94. DeChamps C, Henquell C, Guelon D, Sirot D, Gazuy N, Sirot J. Clinical and bacteriological study of nosocomial infections due to *Enterobacter aerogenes* resistant to imipenem. *J Clin Microbiol* 1993;3:123-127.
 95. Ehrhardt AF, Sanders CC, Thomson KS, Watanakunakorn C, Trujilliano-Martin I. Emergence of resistance to imipenem in *Enterobacter aerogenes* masquerading as *Klebsiella pneumoniae* during therapy with imipenem/cilastatin. *Clin Infect Dis* 1993;12:120-122.
 96. Stapleton PD, Shannon KP, French GL. Carbapenem resistance in *Escherichia coli* associated with plasmid determined CMY-4 β -lactamase production and loss of an outer membrane protein. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:1206-1210.
 97. Tzouveleakis LS, Tzelepi E, Mentis AF, Vatapoulos AC, Tsakris A. Imipenem resistance in *Enterobacter aerogenes* is associated with derepression of chromosomal cephalosporinases and impaired permeability. *FEMS Microbiol Lett* 1992;95:195.
 98. Kaye KS, Fraimow HS, Abrutyn E. Pathogens resistant to antimicrobial agents; epidemiology, molecular mechanisms, and clinical management. *Infect Dis Clin North Am* 2000;14:293-319.
 99. Rice LB. Bacterial monopolists; the bundling and dissemination of antimicrobial resistance genes in gram-positive bacteria. *Clin Infect Dis* 2000;31:762-69.