Mechanismen voor antibioticaresistentie in klinische stammen van Klebsiella pneumoniae en Acinetobacter baumannii

Literatuuronderzoek HBO-schakeljaar voor de Masteropleiding Moleculaire Biologie & Biotechnologie

rijksuniversiteit groningen

Naam student: Geerke Maathuis

Student nr: 1929941

Begeleider: prof. dr. A.J.M. Driessen

Datum: 4 December 2009

SUMMARY

Klebsiella pneumoniae and Acinetobacter baumannii are both nosocomial pathogens which cause severe infections in immunocompromised patients. Due to the extensive use of antibiotics worldwide, bacteria develop mechanisms which cause multidrug resistance in a fast rate. Especially in clinical centres these bacteria are getting more and more difficult to treat. By researching these antibiotic resistant strains, until now several multidrug resistant mechanisms are detected and still new are found at the moment. Mechanisms which are involved in antibiotic resistance are alterations in the expression of outer membrane proteins (so-called porins), efflux pumps, degradation enzymes and mutations in the antibiotics target. All of these four mechanisms were found in both *K. pneumoniae and A. baumannii*, but in different numbers. Resistant strains of *A. baumannii* are very dangerous nosocomial pathogens, which is also shown in this report by the many ways of resistance it has developed the past decades. Many porins, efflux pumps, mutations and degradation enzymes were detected in clinical strains of this bacterium. When comparing this with *K. pneumoniae*, a smaller amount of these mechanisms was detected. This bacterium mainly uses degradation enzymes to protect itself from antibiotics, with or without reduced porin expression. To combat antibiotics resistance, it is important to resolve how the resistance mechanisms work and how they were acquired. When the spread of antibiotic resistance remains to move at the current high pace, the future demand for efficient antibiotics will increase and the combat of infectious disease may be compromised. Therefore it is important to use antibiotics only by dangerous infections and the spreading of bacteria should be reduced as much as possible, for example by strict hygiene rules.

INHOUDSOPGAVE

Inleiding **4**
- §1 Antibiotica en resistentie 4
- §2 Het voorkomen van antibioticaresistentie 8
- §3 *Klebsiella pneumoniae* 9
- *§4 Acinetobacter baumannii* 9
- *§5 Het onderzoek* 10

Hoofdstuk 1 Resistentiemechanismen in *Klebsiella pneumoniae* **11**
- §1 Buitenmembraaneiwitten 11
- §2 Effluxpompen 11
- §3 Veranderingen in de target voor antibiotica 12
- §4 Degradatie-enzymen 13

Hoofdstuk 2 Resistentiemechanismen in *Acinetobacter baumannii* **14**
- §1 Buitenmembraaneiwitten 14
- §2 Effluxpompen 14
- §3 Veranderingen in de target voor antibiotica 15
- §4 Degradatie-enzymen 16

Hoofdstuk 3 Conclusies & Perspectieven **17**

Referenties **19**

Bijlagen **28**
- I Klasse A β-Lactamasen 28
- II Klasse B β-Lactamasen 29
- III Klasse C β-Lactamasen 30
- IV Klasse D β-Lactamasen 31
- V Enzymen in klinische stammen van *Klebsiella pneumoniae* 32
- VI Enzymen in klinische stammen van *Acinetobacter baumannii* 34

INLEIDING

§1 Antibiotica en resistentie

Antibiotica zijn antimicrobiële stoffen die worden geproduceerd door micro-organismen. Deze micro-organismen kunnen hiermee concurrerende micro-organismen remmen of doden. Slechts minder dan één procent van de duizenden bekende antibiotica zijn klinisch bruikbaar, vaak vanwege de toxiciteit of de slechte opname door gastheercellen. Echter, de antibiotica die wel klinisch geschikt zijn, hebben tot nu toe al een gunstig effect gehad op de behandeling van infectieziekten. De gevoeligheid van verschillende micro-organismen voor bepaalde antibiotica verschilt enorm. Grampositieve en -negatieve bacteriën verschillen bijvoorbeeld in gevoeligheid voor penicilline: Grampositieve bacteriën zijn hier meestal gevoelig voor, terwijl Gramnegatieve bacteriën vaak resistent voor dit antibioticum. Er zijn echter ook zogenaamde breedspectrum antibiotica, die werkzaam zijn tegen beide groepen. Een voorbeeld hiervan is tetracycline. Belangrijke aanvalspunten voor de antibiotica zijn de ribosomen (chloramphenicol, tetracycline, kanamycine), de celwand (penicillines, cefalosporines, carbapenems), het cytoplasmisch membraan (polymyxines), vetbiosynthese enzymen (platensimycine) en DNA-replicatie en transcriptie elementen (chinolonen, rifampine).[91] Het totale gebruik van antibiotica is in de laatste jaren niet gestegen, maar de hoeveelheid antibiotica per patiënt per verblijfdag in het ziekenhuis wel. Daarnaast verschuift het gebruik van eenvoudiger antibiotica naar antibiotica met een breder werkingsspectrum (Janknegt, 2001).[124] In onderstaande tabel staan een aantal groepen met voorbeelden van veelgebruikte antibiotica weergegeven en hun werking op de bacteriecel.

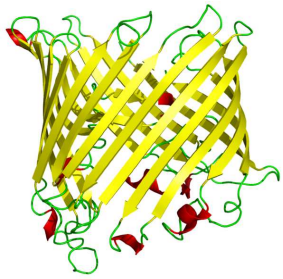
Groep	Antibioticum	Werking	Bijzonderheden
β-lactams	*Penicillines* *Cefalosporines* *Cefamycines*	Remmen celwandsynthese door te hechten aan penicillinebindende eiwitten (PBP)	- Alleen de semisynthetische penicillines zijn resistent tegen β-lactamases - Cefalosporines zijn vaak resistenter tegen β-lactamases dan penicillines
Aminoglycosides	*Kanamycine* *Streptomycine*	Remmen eiwitsynthese door te hechten aan de 30S subunit van het ribosoom	- Aminoglycoside antibiotica worden vaak alleen nog gebruikt wanneer andere antibiotica niet effectief werken
Macrolides	*Erythromycine*	Remt eiwitsynthese door te hechten aan de 50S subunit van het ribosoom	- Breedspectrum antibioticum
Tetracyclines	*Tetracycline*	Remt eiwitsynthese door te hechten aan de 30S subunit van het ribosoom	- Breedspectrum antibioticum
-	*Platensimycine*	Remt specifiek een bacterie-enzym dat een rol speelt bij de vetzuurbiosynthese, waardoor deze stopt	- Effectief tegen een grote groep Grampositieve bacteriën, ook tegen de moeilijk te behandelen infecties veroorzaakt door MRSA en VRE
Fluorochinolonen	*Ciprofloxacine*	Remt bacteriële enzym DNA-gyrase en/of topoisomerase IV, waardoor geen DNA-replicatie meer plaatsvindt	

Tabel 1: Verschillende antibiotica en hun werking

De tetracyclines en β-lactams zijn de twee belangrijkste groepen antibiotica voor de medische zorg. Het is dus belangrijk dat bacteriën geen resistentiemechanismen ontwikkelen waardoor deze antibiotica onbruikbaar zouden worden. Multidrug resistentie is een groot probleem in klinische centra. Het betekent dat een micro-organisme mechanismen ontwikkeld om de effecten van bepaalde antibiotica teniet te doen, waarvoor ze niet langer gevoelig zijn voor deze verbindingen. Dit wordt geanalyseerd door het vergeleken van de Minimum Inhibitory Concentration (MIC) waarden van een gevoelige stam en een nieuwe, resistente stam. De MIC-waarde is de laagste concentratie van een antibioticum die nodig is om de groei van een bacterie te remmen. Niet alleen in klinische centra, maar ook in de akkerbouw, veehouderij en dierenklinieken worden veel antibiotica toegepast die resistentie kunnen opwekken. Zoals al eerder is vermeld, worden de antibiotica geproduceerd door bepaalde micro-organismen. Dat micro-organisme heeft hier aanvankelijk ook resistentie voor moeten ontwikkelen om te kunnen overleven. Dit principe wordt gezien als de oorsprong van de genen die coderen voor antibioticaresistentie. Het overdragen van genetisch materiaal van het ene organisme op het andere zorgt ervoor dat andere soorten ook resistent kunnen worden voor een bepaald antibioticum. Dit principe heet horizontale genoverdracht en is een belangrijke oorzaak van multidrug resistentie in klinische stammen.[91]

Een bacteriecel beschikt over een aantal mechanismen om zich te beschermen tegen toxische stoffen:

- <u>Verminderde membraanpermeabiliteit voor het antibiotica</u>
  Antibiotica kunnen in de bacteriecel terecht komen door middel van buitenmembraaneiwitten, zogenaamde porinen. Deze eiwitten zijn aanwezig in Gramnegatieve bacteriën en kunnen kanaaltjes vormen, waardoor transport van moleculen door het membraan kan plaatsvinden. Ze zorgen voor de binding van antimicrobiële stoffen (antibiotica) aan het oppervlak van de bacteriecel en brengen deze daarna in de cel. Soms zijn deze porinen substraatspecifiek. Wanneer de expressie van porinen afneemt, kan een bepaald antibioticum dan dus niet meer getransporteerd worden, waardoor een bacterie resistent is geworden voor dit antibioticum.[45]



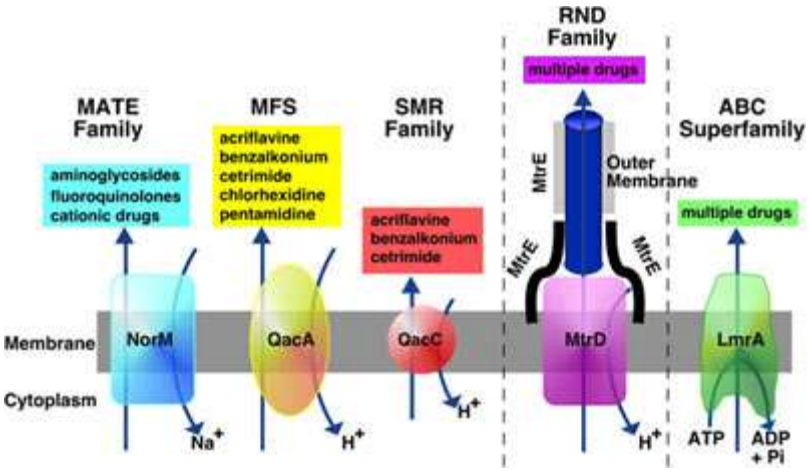
<u>Figuur 1:</u> Schematische weergave van een porine.[118]

- <u>Efflux van antibiotica door de bacteriecel</u>
  Multidrug effluxpompen exporteren de verschillende antibiotica op een energie-afhankelijke manier uit de cel. Zo beschermen ze de bacteriecel voor de giftige effecten van deze stoffen.[45] Overexpressie van de genen die coderen voor deze effluxpompen geeft een verhoogde resistentie tegen antibiotica, wat tot serieuze problemen kan leiden bij de bestrijding van infectieziekten in onder andere ziekenhuizen.[13] Gedurende de laatste twee decennia is gebleken dat dit mechanisme één van de belangrijkste is met betrekking tot antibioticaresistentie. Om resistentie te voorkomen is het daarom noodzakelijk om de structuren, functies en oorsprong van deze transportsystemen te begrijpen.[77] Het systeem bestaat uit de volgende zes families:
  1. ATP Binding Cassette (ABC) family: *Deze bestaat uit meerdere families, die elk een specifiek substraat transporteren met ATP als bron van energie. De familie is nauwelijks betrokken bij antibioticaresistentie in Gramnegatieve bacteriën*[45]
  2. Major Facilitator Superfamily (MFS): *Deze exporteren specifieke antibiotica (vooral tetracyclines) door middel van een H^+/Na^+ antiporter*[45]
  3. Resistance-Nodulation-Division (RND) family: *Deze exporteren vele soorten antibiotica door middel van een H^+ antiport mechanisme.*[77] *De effluxpomp is een driedelig systeem dat vooral aanwezig is in Gramnegatieve bacteriën. Het bestaat uit een binnenmembraaneiwit, een buitenmembraaneiwit en een periplasmisch fusie-*

eiwit. Verlies van één van deze componenten resulteert in een verlaagde resistentie tegen antibiotica.[13, 45, 55]

4. Multidrug And Toxic compound Extrusion (MATE) family: *Deze exporteren antibiotica door middel van een Na^+ antiporter of door middel van de proton motive force.*[45]
5. Small Multidrug Resistance (SMR) family: *Deze kleine effluxpompen exporteren antibiotica door middel van een H^+ antiporter*[77]

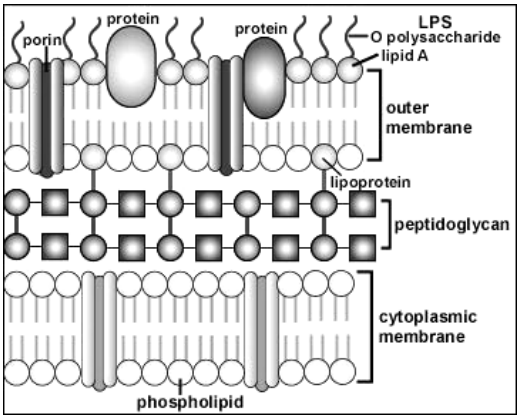
Het effluxmechanisme is vaak gekoppeld aan een vermindering van de permeabiliteit van het buitenmembraan door verlies van grote porinen.[2] De verschillende effluxfamilies zijn weergegeven in Figuur 2.



Figuur 2: De verschillende soorten effluxpompen in Gramnegatieve bacteriën

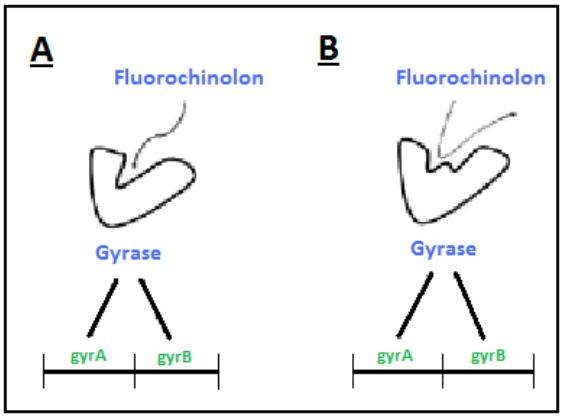
- <u>Veranderingen in de target voor antibiotica</u>

  Er zijn verschillende soorten antibiotica die ook op verschillende manieren werken (zie Tabel 1). Een voorbeeld zijn de fluorochinolonen, die binden aan bepaalde enzymen in de cel om daarmee DNA-replicatie te voorkomen. Deze antibiotica moeten eerst het cytoplasmatisch membraan en het buitenmembraan passeren, voordat ze hun werk in de cel kunnen doen (zie Figuur 3).



Figuur 3: Opbouw van de celwand bij Gramnegatieve bacteriën

Fluorochinolonen zijn meestal klein en hebben ladingen waarmee ze het buitenmembraan kunnen passeren door de porinen en het cytoplasmatisch membraan door diffusie. Daarna kan het antibioticum binden aan de enzymen betrokken bij de celdeling: gyrase en topoisomerase IV. Door mutaties in bepaalde genen die coderen voor deze enzymen, kunnen deze beschermd worden tegen deze antibiotica. De fluorochinolonen kunnen deze enzymen dan namelijk niet meer herkennen. Om die reden kan de verdubbeling van DNA blijven plaatsvinden en hebben fluorochinolonen geen effect meer op deze gemuteerde bacterie: ze zijn resistent geworden.[3] Dit is schematisch weergegeven in Figuur 4.

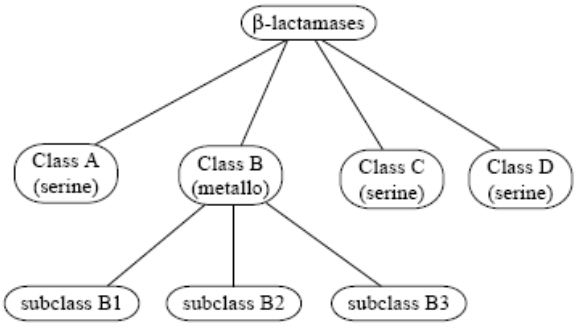


Figuur 4 Mechanisme van fluorochinolonen-resistentie. (A) Het fluorochinolon bindt aan gyrase, waardoor de enzymactiviteit geremd wordt. (B) Een mutatie in één van de genen die coderen voor gyrase, gyrA of gyrB, kan de structuur van het enzym veranderen en daarmee de affiniteit van het enzym voor het fluorochinolon verminderen. Hierdoor wordt de gyrase minder of niet meer geremd, waardoor de cel resistent is geworden voor het antibioticum.

Mutaties van deze enzymen kunnen dus een oorzaak zijn voor antibioticaresistentie.[2] Naast dit voorbeeld, zijn er meer mutaties mogelijk in verschillende genen, die uiteindelijk de resistentie van meerdere antibiotica kunnen veroorzaken.

- Inactivatie van antibiotica door middel van degradatie- of modificatie-enzymen

Er bestaan vele soorten enzymen die worden geproduceerd door bacteriën om zich te beschermen tegen bepaalde antibiotica. Ook nu worden er nog steeds nieuwe enzymen gevonden. Zogenaamde Extended-Spectrum β-Lactamases (ESBL's) zijn enzymen die oxyimino-β-lactams (onder andere cefotaxime, ceftazidime, ceftriaxone) en aztreonam kunnen hydrolyseren.[24] Hiervan worden de metallo-β-lactamases (MBL's) van de IMP en VIM typen klinisch steeds belangrijker. Deze zijn actief tegen de meeste β-lactams, inclusief carbapenems.[4] De meest gebruikte classificatie van een groep enzymen, zogenaamde β-lactamases, is de Ambler classificatie. Deze is gebaseerd op de aminozuursequenties in deze enzymen en is ingedeeld in vier verschillende klassen (A t/m D). Klassen A, C en D werken door middel van een serine in het actieve centrum, terwijl de klasse B enzymen (metallo-β-lactamases) een bivalent metaalion nodig hebben, meestal zink, om te kunnen functioneren.[79] De klasse B enzymen zijn daarnaast nog weer opnieuw ingedeeld in drie subklassen, vanwege de diversiteit in het genetisch materiaal. De indeling van de β-lactamases is hiernaast weergegeven.



Figuur 5: Indeling van de β-lactamases

Een korte omschrijving van de vier verschillende klassen zijn hieronder kort weergegeven:

- *Ambler Klasse A*: Penicillinases, worden niet geremd door clavulaanzuur. Een aantal carbapenemases behoren ook tot deze klasse (voorbeelden: TEM, SHV, CTX-M, SME, KCP, IMI, NMC, PER, GES). Zie ook bijlage I voor een aantal voorbeelden en de samenhang tussen een aantal van deze enzymen.[79]

- *Ambler Klasse B:* Metallo-β-Lactamases die algemeen voorkomen in Gramnegatieve bacteriën.[68] Ze hydrolyseren alle β-lactams behalve aztreonam.[17] Net als de Ambler klasse A enzymen zijn ze resistent tegen clavulaanzuur, maar gevoelig voor blokkering door divalente ionchelators zoals EDTA (voorbeelden: IMP, VIM, SPM, GIM).[17, 78] Zie ook bijlage II.[79]

- *Ambler Klasse C*: AmpC-β-lactamases zijn cefalosporinases die nauwelijks geremd worden door clavulaanzuur. Ze kunnen, in tegenstelling tot de andere ESBLS's, cefamycines en andere breedspectrum cefalosporines hydrolyseren. Enkele van deze enzymen zijn carbapenemases[76] (voorbeelden: CMY, ACT, ACC, MIR, FOX). Zie ook bijlage III. [79]

- *Ambler Klasse D*: Oxacillinases die meestal licht gevoelig zijn voor β-lactamaseremmers. Een aantal hiervan zijn carbapenemases (voorbeeld: OXA).[76] Zie ook bijlage IV. [79]

Carbapenemases zijn β-lactamases die behoren tot de Ambler klasse A, B of D. Klasse A carbapenemases zijn zeldzaam. Een voorbeeld is KPC in *Klebsiella pneumoniae* en GES in *Pseudomonas aeruginosa*. Klasse B enzymen daarentegen zijn klinisch gezien de belangrijkste carbapanemases. Dit zijn metallo-enzymen, onder andere van het IMP of VIM-type, en worden wereldwijd in bacteriën gevonden. De aanwezigheid van klasse D carbapenemases neemt steeds meer toe, maar dit verloopt nog slechts langzaam. Carbapenemases zijn enzymen die ten minste imipenem en/of meropenem kunnen hydrolyseren.[17] Deze beide antibiotica behoren tot de carbapenems, β-lactam antibiotica die vaak gebruikt worden voor de behandeling van infecties door multiresistente Gramnegatieve bacteriën.[20] Ze zijn vrij stabiel tegen de β-lactamases die worden geproduceerd door deze organismen.[66] Resistentie tegen carbapenems kan ontstaat door drie mechanismen: Hoge productie van een chromosomaal AmpC cefalosporinase gecombineerd met verminderde buitenmembraanpermeabiliteit. Ten tweede kan productie van carbapenemases, die carbapenems kunnen hydrolyseren, leiden tot resistentie voor dit antibioticum. Dit schijnt één van de belangrijkste mechanismen te zijn.[106] Ook veranderingen in de doeleiwitten kan tot carbapenemresistentie leiden.[23] Naast deze β-lactamases bestaan er ook nog andere groepen enzymen: acetyltransferases, adenylyltransferases en fosfotransferases. Deze enzymen werken tegen de antibiotica die behoren tot de aminoglycosiden, zoals kanamycine en streptomycine.[65]

§2 Het voorkomen van antibioticaresistentie

In Nederland zijn verschillende organisaties actief om antibioticaresistentie zo laag mogelijk te houden. Ook wordt voorlichting en informatie gegeven via websites en tijdschriften. In Tabel 2 staan de organisaties en stichtingen beschreven die betrokken zijn bij antibioticaresistentie in Nederland.

Organisatie / Stichting	**Taak**
Werkgroep Infectie Preventie (WIP)	Ontwikkelen van landelijke richtlijnen voor ziekenhuishygiëne en verantwoord antibioticumgebruik
Stichting Werkgroep Antibiotica Beleid (SWAB)	
College voor Zorgverzekeringen (CVZ)	Opstellen van naslagwerken met onder meer informatie over antibioticaresistentie
Wetenschappelijk Instituut Nederlandse Apothekers (WINAp)	
RIVM	Bijhouden van resistentiegegevens binnen ziekenhuizen
UMC St. Radboud	
Academisch Medisch Centrum (AMC)	
Werkgroep Antibioticumsurveillance (SWAB)	Het gebruik van antibiotica in Nederland in kaart brengen
Stichting Farmaceutische Kengetallen	
International Medical Services	

Tabel 2: Organisaties / Stichtingen die betrokken zijn bij antibioticaresistentie in Nederland

Door correct gebruik van antibiotica vermindert de kans op het ontstaan en dus ook de verspreiding van resistentie bij bacteriën. Het DNA kan spontaan veranderen, waardoor gemuteerde bacteriën door de aanwezigheid van antibiotica hogere overlevingskansen hebben. Dit is de oorzaak van antibioticaresistentie. Door het gebruik van antibiotica die meerdere soorten bacteriën tegelijk bestrijden (breedspectrum-antibiotica), kan ook resistentie ontstaan bij bacteriën waarop de behandeling in eerste instantie niet is gericht. Het is daarom ook beter om, wanneer mogelijk, selectieve antibiotica te gebruiken voor de behandeling van een infectie. Door middel van richtlijnen voor efficiënt gebruik van antibiotica en door het toepassen van deskundigheidsbevordering kan goed gebruik van antibiotica gestimuleerd worden. Monitoren en surveillance zijn erg belangrijk, omdat er een duidelijk verband bestaat tussen het gebruik van antibiotica en resistentieontwikkeling. Door vroegtijdig op de ontwikkeling van resistentiemechanismen in te spelen, kunnen maatregelen, zoals het ontwikkelen van richtlijnen, onderbouwd worden. Het beperken van de verspreiding van bacteriën kan gestimuleerd worden door een betere ziekenhuishygiëne. Dit gebeurt door middel van een aantal manieren. Eén ervan is het toepassen van richtlijnen voor hygiëne voor personeel (handhygiëne, handschoenen, mondkapjes, beperkt aantal verzorgenden per patiënt). Ten tweede is de 'Search and Destroy'-strategie erg belangrijk, wat inhoudt dat ziekenhuispersoneel risicopatiënten checkt en buitenlandse patiënten isoleert totdat gebleken is dat ze geen MRSA hebben. Mocht dit wel het geval zijn, dan moet de MRSA eerst actief bestreden worden, voordat ze naar huis worden gestuurd. Ook moet de zorgaanbieder (ziekenhuis, zorginstelling) zorgen voor voldoende en goed personeel en materiaal. Ook moet duidelijk vastgesteld zijn wie waarvoor verantwoordelijk is binnen de betreffende instelling. Resistente bacteriën hebben niet alleen nadelige gevolgen voor de patiënt zelf. Ook andere patiënten en het ziekenhuispersoneel lopen risico de resistente bacterie over te nemen. Voor enkele veel voorkomende infectieziekten in het ziekenhuis heeft de SWAB in het verleden al richtlijnen opgesteld voor de keuze van antibiotica, zoals voor pneumonia (Van Kasteren et al., 1998), bronchitis (Van Kasteren et al., 1998) en sepsis (Van Kasteren et al., 1999). Daarnaast heeft de stichting richtlijnen opgesteld voor het kortdurend toedienen van antibiotica rondom een operatieve ingreep ter voorkoming van postoperatieve infecties in het operatiegebied (Van Kasteren et al., 2000). Ook heeft de SWAB geadviseerd geen selectieve decontaminatie (bestrijding van ziekteverwekkers waarbij beschermende bacteriën gespaard blijven) toe te passen bij beademde IC-patiënten als aanpak van infectiepreventie (Bonten et al., 2001).[124]

§3 Klebsiella pneumoniae

Klebsiella pneumoniae is een Gramnegatieve bacterie die behoort tot één van de belangrijkste veroorzakers van ziekenhuisinfecties. In de Verenigde Staten staat deze bacterie al op de vierde plaats als oorzaak van pneumonia (longonsteking) die is opgelopen in het ziekenhuis.[20] In 2007 werd deze bacterie verdacht voor de dood van circa tweehonderd zieke patiënten in een Israëlisch ziekenhuis.[119] Het is een pathogeen die ernstige infecties in onder andere longen en urinewegen veroorzaakt in patiënten die vaak al een verminderde weerstand hebben. De kans op overleving voor deze patiënten wordt hierdoor ook sterk gereduceerd. Infecties met *K. pneumoniae* duiken tussen de vijf en zeven procent op in ziekenhuizen, wat deze bacterie tot een erg belangrijke pathogeen maakt die er kan worden opgelopen. Onderzoek toont aan dat steeds meer *Klebsiella spp.* resistent worden tegen antimicrobiële stoffen.[30] Vooral infecties met *K. pneumoniae* die resistent zijn tegen de β-lactams en fluorochinolonen zijn ernstige klinische problemen.[9, 10]

§4 Acinetobacter baumannii

Acinetobacter baumannii is een aërobe, Gramnegatieve, opportunistische ziekteverwekker. De bacterie kan overleven en groeien bij verschillende temperaturen en pH-waarden en kan leven van verschillende voedingsstoffen. *A. baumannii* is normaal aanwezig op de huid, slijmvliezen en in de bodem. De bacterie kan echter koloniseren en infecties aanrichten in het ademhalingsstelsel, bloed, longvocht, buikvlies, urinewegstelsel, operatiewonden, centraal zenuwstelsel, huid en in de ogen.[40] Amerikaanse troepen die gelegerd zijn in Irak en Afghanistan hebben ook al ernstige infecties van deze antibioticaresistente stammen opgelopen.[83] De bacterie is in de loop der jaren uitgegroeid tot

een belangrijke ziekenhuispathogeen, mede dankzij zijn hoge resistentie tegen vele soorten antibiotica.[41] Carbapenems worden echter nog wel gebruikt tegen multiresistente stammen van *A. baumannii*.[43] Mede hierdoor worden de laatste jaren steeds meer carbapenemresistente *A. baumannii* stammen gevonden. Oorzaken van deze resistentie zijn verlies van porinen, PBP's met verminderde affiniteit en verschillende klasse B en D β-lactamases.[57] *Acinetobacter* spp. kunnen effectief resistentiegenen verkrijgen door plasmiden, transposons (springende genen) en integron-dragende gencassettes.[49]

§5 Het onderzoek

Antibiotica worden in grote mate gebruikt in de medische zorg, waardoor de spreiding van resistentiegenen toeneemt. Zo is uit onderzoek gebleken dat een antibioticabehandeling nodig is bij slechts twintig procent van de mensen met infectieziekten, maar dat er in tachtig procent van de gevallen toch antibiotica wordt voorgeschreven. Ook het verkeerd toepassen van antibiotica is een belangrijke oorzaak voor de opkomst van antibioticaresistente stammen. In vijftig procent van de gevallen kloppen de voorgeschreven doses of behandelingstijden niet. Dit heeft tot gevolg dat het lange-termijn-gebruik van bepaalde antibiotica als een efficiënt medicijn zijn grenzen heeft.[91] De keuze voor bepaalde antibiotica wordt flink verlaagd door de ontwikkeling van multiresistente stammen die de infecties veroorzaken.[47] Soms wijken artsen voor behandeling van infecties met resistente bacteriën daarom noodgedwongen uit naar nieuwere, duurdere middelen of zelfs naar middelen die alleen gebruikt worden als laatste redmiddel.[124] Deze kunnen echter op den duur ook weer resistentie veroorzaken.[1,23] Kortom: het wordt steeds moeilijker om deze bacteriën uit te roeien. Plasmiden die coderen voor deze resistentiemechanismen verspreiden zich steeds meer in klinische centra.[20] Het is dus belangrijk om uit te zoeken welke resistentiemechanismen *K. pneumoniae* en *A. baumannii* gebruiken, om nieuwe antibiotica te kunnen ontwikkelen die gebruikt kunnen worden tegen resistente stammen. In dit literatuuronderzoek is onderzocht welke resistentiemechanismen tot nu toe zijn waargenomen in klinische stammen van de ziekenhuisbacteriën *K. pneumoniae* en *A. baumannii* en in hoeverre deze mechanismen het gebruik van bepaalde antibiotica beperken. Ook is gezocht naar oplossingen voor dit probleem. Is het mogelijk om de ontwikkeling van resistentiemechanismen tegen te houden of kan men, ondanks de vele kennis van deze mechanismen, hier niets tegen te doen?

§ 1 Buitenmembraaneiwitten

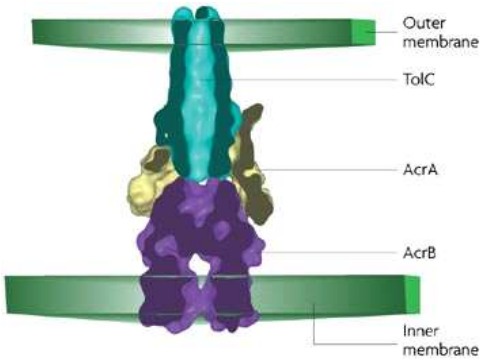
In *Klebsiella pneumoniae* zijn een aantal porinen beschreven die een belangrijke rol spelen in antibioticaresistentie. Twee porinen namelijk OmpK35 en OmpK36, zijn doorlaatbaar voor een groot aantal voedingsstoffen en antimicrobiële stoffen.[18, 19, 25] Onder andere β-lactam antibiotica komen door middel van deze porinen in de cel terecht. Een andere porine, OmpK37, is later ontdekt en is kleiner dan de eerder genoemde twee. Vanwege zijn grootte kunnen bepaalde antibiotica, zoals een aantal β-lactams, niet getransporteerd worden door dit porine. OmpK37 wordt vooral waargenomen in stammen met weinig of geen andere porinen, en functioneert daarom mogelijk als transporteiwit voor de opname van substraat in cellen die geen OmpK35 of -36 hebben vanwege β-lactam antibioticaresistentie. Deze porine wordt mogelijk wel gebruikt door de carbapenems om toegang te krijgen tot de bacteriecel, in tegenstelling tot de andere antibiotica.[18] Verlies van OmpK36 hangt samen met cefoxitineresistentie in ESBL-stammen.
Insertiesequenties bevinden zich aan beide kanten van springende genen (of transposons). Deze springende genen zijn stukjes DNA op een chromosoom, dat in het genoom van plaats kan verwisselen. De insertiesequenties bevatten geen genetische informatie, in tegenstelling tot de transposons. Springende genen kunnen in bacteriën uit het genoom-DNA springen naar de plasmiden en omgekeerd. Hierdoor kunnen antibioticaresistente stammen ontstaan.
Onderbreking van een porine-gen door insertiesequenties is een algemene vorm van mutatie dat de functionele expressie van porinen verlaagd en, in dit geval, de verhoogde cefoxitineresistentie in *K. pneumoniae* veroorzaakt.[27]
Expressie van OmpK35 verlaagt de MIC-waarden van meerdere antibiotica drastisch in tegenstelling tot OmpK36. Deze porine transporteert blijkbaar vele antibiotica en een verlaging van zijn expressie speelt dus een belangrijke rol in resistente stammen van *Klebsiella pneumoniae*.[19] Een voorbeeld zijn de antibiotica cefalosporinen en ceftazidime.[24] In de meeste ESBL-producerende *K. pneumoniae* stammen werd alleen de OmpK36-porine geproduceerd en niet OmpK35.[23, 24, 25] ESBL-producerende stammen gebruiken daarnaast vaak ook andere resistentiemechanismen, zoals mutaties in het *gyrA* gen of expressie van effluxpompen.[25]

§ 2 Effluxpompen

Resistente stammen van *Klebsiella pneumoniae* maken gebruik van bepaalde effluxpompen om antibiotica uit de cel te krijgen. De gevonden pompen zijn weergegeven in Tabel 3.

Efflux pomp	Familie	Antibiotica	Referentie
KdeA	MFS	Chloramphenicol, norfloxacine, acriflavine	[1]
AcrAB/KocC	RND	O.a. fluorochinolonen	[5][11][13]
KmrA	MFS	O.a. acriflavine, kanamycine, erythromycine en norfloxacine	[9]

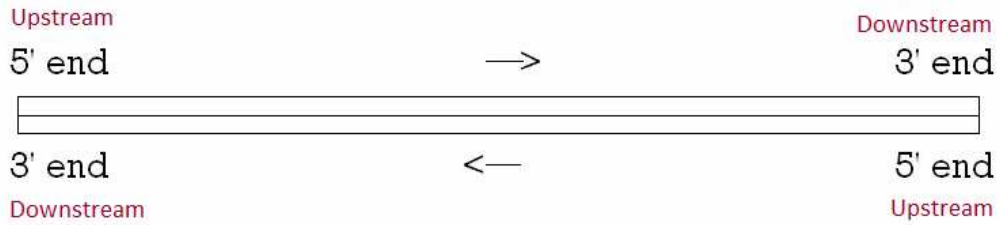
Tabel 3: Effluxpompen beschreven in *Klebsiella pneumoniae* en hun activiteit voor verschillende antibiotica



Een hogere expressie van het AcrA-eiwit of mutatie/deletie van *acrR*, een regulatorgen voor AcrAB, geeft een overexpressie van het AcrAB-gemedieerde effluxmechanisme.[5, 11, 13] Het AcrA- en AcrB-eiwit vormen samen met een buitenmembraaneiwit, KocC, een driedelig complex.[13] Dit is ook weergegeven in Figuur 6.

Figuur 6: Schematische weergave van het AcrAB/TolC effluxsysteem

Het *ramA* gen is normaal gesproken niet aanwezig in Gramnegatieve bacteriën, maar K. *pneumoniae* is één van de uitzonderingen. De mate van expressie van dit gen hangt af van de hoeveelheid oxidatieve stress in de cel, wat plaats vindt wanneer een bacterie verhoogde hoeveelheden reactieve zuurstof, zoals superoxide en waterstofperoxide bevat. Aangezien het lezen van DNA plaats vindt in de richting 5' → 3' en het gen dat codeert voor het AcrAB/KocC efflux-systeem upstream aanwezig is van het *ramA* gen, is de mate van efflux afhankelijk van de expressie van dit *ramA* gen.[122, 123] Zie ook Figuur 7.



Figuur 7: Het lezen van DNA vind plaats in de 5' → 3' richting. De 5'-terminaal is upstream en de 3'-terminaal is downstream.

Overexpressie van dit gen geeft een hogere mate van expressie van het efflux-systeem en leidt tevens tot tetracycline- en chloramphenicol-resistentie in *K. pneumoniae*.[7] De expressie van een ander regulatorgen, *marA*, reguleert de expressie van het *AcrAB*-operon positief.[13] Echter, de AcrAB expressie door RamA wordt niet gemedieerd door overexpressie van MarA.[7] Het effluxpomp mechanisme AcrAB/KocC heeft in Turkse stammen van *K. pneumoniae* al bewezen significant bij te dragen aan antibioticaresistentie.[2]

§ 3 Veranderingen in de target voor antibiotica

Fluorochinolonen zijn antibiotica die binden op het bacteriële enzym DNA-gyrase en/of Topoisomerase IV en deze daarbij remmen, waardoor de DNA-replicatie gestopt wordt en de bacteriecel uiteindelijk dood gaat. DNA gyrase is een enzym dat de dubbelstrengs DNA-helix splitst in enkelstrengs DNA, waardoor DNA-replicatie kan plaatsvinden. Het *qnra*-gen codeert voor het Qnr-eiwit, dat bestaat uit 218 aminozuren en fluorochinolonenresistentie veroorzaakt door de interactie van chinolonen met het DNA gyrase en topoisomerase IV te verminderen, waardoor het DNA dus intact blijft.[3, 34, 35] Expressie van het *qnra*-gen is alleen effectief in combinatie met andere resistentiemechanismen, zoals veranderingen in topoisomerases, verlaagde membraanpermeabiliteit of een verhoogde efflux van antibiotica. Wanneer deze bijkomende mechanismen niet aanwezig zijn, blijven de bacteriën die QnrA overproduceren gevoelig voor fluorochinolonen.[3] Er vindt een interactie plaats tussen het antibioticum met een complex van DNA en één van de twee targetenzymen, DNA gyrase en topoisomerase IV. De C7-amine substituent van chinolon reageert met bepaalde delen op het *gyrA* gen om de binding van antibioticum-DNA-enzymcomplex te versterken. Fluorochinolonen hechten aan het enzym tijdens de topoisomerisatiereactie, waardoor een fysische barrière wordt gevormd, wat uiteindelijk resulteert in celdood.[121] Mutaties in DNA gyrase en topoisomerases IV zijn waarschijnlijk ook betrokken bij de fluorochinolonen-resistentie in combinatie met de expressie van het effluxpompmechanisme AcrAB/kocC.[2, 5] Een mutatie in het *gyrA* gen is eerder al gecorreleerd aan ciprofloxacine-resistentie (fluorochinolon).[14] Het *waaE* gen codeert voor een glucosyltransferase enzym, wat glucosylgroepen overdraagt. Deze zorgt voor het transport van glucose door het membraan van de cel.[80] Echter, mutaties in dit gen zouden resistentie tegen imipenem veroorzaken, een antibioticum dat de celwandsynthese van bacteriën blokkeert (Tomas et al., 41st ICAAC).[20]

§ 4 Degradatie-enzymen

Klebsiella pneumoniae is een bacterie dat verschillende soorten enzymen uitscheidt om zich te kunnen verdedigen tegen antibiotica. Om onbekende redenen produceert *K. pneumoniae* de meeste soorten Klasse A ESBL's,[29] zoals β-lactamases van het TEM-, SHV-, KPC- en GES-typen. Ook Klasse C β-lactamasen zijn veel aanwezig, zoals de CMY-, FOX- en DHA-typen. De metallo-enzymen, behorende bij klasse B, zijn wel aanwezig, maar in mindere mate. Er zijn geen klasse D β-lactamasen gevonden in stammen van *K. pneumoniae*. Carbepenems, een groep antibiotica die veel wordt gebruikt voor de behandeling van multiresistente Gramnegatieve ziekenhuis-pathogenen, werkte tot een aantal jaren terug efficiënt tegen *K. pneumoniae* infecties. Echter, door de productie van carbapenemases zijn deze antibiotica steeds minder bruikbaar bij de bestrijding van infecties. Een overzicht van een aantal degradatie-enzymen, geproduceerd door klinische stammen van *K. pneumoniae*, zijn weergegeven in Bijlage V.

§ 1 Buitenmembraaneiwitten

Over de porinen die aanwezig zijn in *Acinetobacter baumannii* is tot nu toe nog slechts weinig bekend. Er zijn enkele buitenmembraaneiwitten beschreven, echter hiervan zijn de exacte functies nog vrijwel onbekend.[45] De vermindering van de permeabiliteit van het buitenmembraan kan verklaard worden door de lage aantallen en de beperkte doorlaatbaarheid van de porinen.[45] Het is echter wel duidelijk dat een gewijzigde membraanpermeabiliteit een belangrijke oorzaak is voor carbapenem-resistentie in *A. baumannii*.[59] In Tabel 4 staat de porinen beschreven die zijn gevonden in klinische stammen.

Porine	Grootte (kDa)	Substraat	Bijzonderheden	Referentie
HMP-AB	37	β-lactams, saccharide n	Groot transportkanaal voor substraat tot 800Da	[82]
-	33-36	Imipenem	Verlaagde gevoeligheid voor amikacine, tobramycine, ciprofloxacine, ceftazidime	[44]
CarO	29	O.a. carbapenems	Niet-specifiek transportkanaal	[58]
OprD	43	O.a. imipenem, meropenem, aminozuren	-	[92]
-	47	Carbapenems	-	[59]
-	44	Carbapenems	-	[59]
-	22	Carbapenems	In combinatie met verlies van 33kDa porine en productie van OXA-24 β-Lactamase	[57]

Tabel 4: Porinen beschreven in *Acinetobacter baumannii* en hun substraatspecificiteit

Resistentie van *A. baumannii* voor β-lactams kan veroorzaakt worden door een verminderde permeabiliteit van het buitenmembraan (minder of andere porinen), of door mutaties in penicillinebindende eiwitten (PBP).[94]

§ 2 Effluxpompen

In *A. baumannii* behoren de aanwezige effluxpompen meestal tot de MFS en de RND-familie. In Tabel 5 staan de gevonden effluxpompen en hun eigenschappen weergegeven.

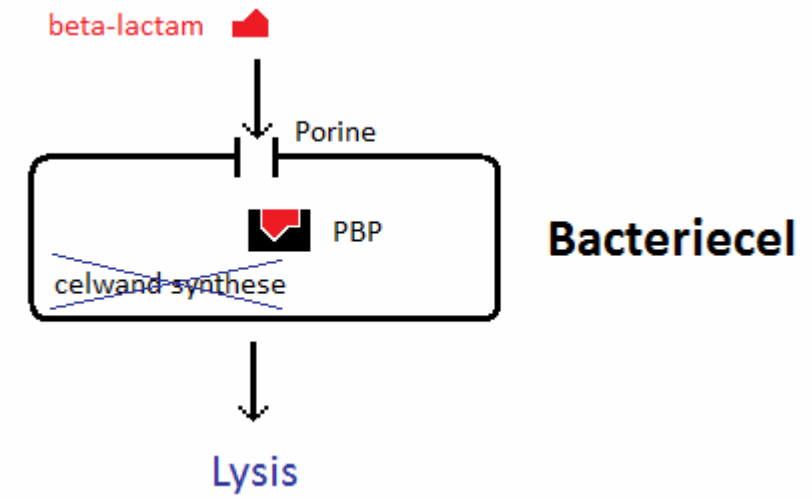
Effluxpomp	Familie	Antibiotica	Referentie
Tet(A)	MFS	Tetracycline	[95]
Tet(B)	MFS	Tetracycline, minocycline	[95]
CmlA	MFS	Chloramphenicol	[65]
CraA	MFS	Chloramphenicol	[96]
MdfA	-	O.a. ciprofloxacin, chloramphenicol	[45]
AdeABC	RND	Aminoglycosiden, β-lactams, chloramphenicol, tetracyclines, erythromycine,; verminderde gevoeligheid fluorochinolonen	[55]
AdeIJK	RND	O.a. β-lactams, chloramphenicol, tetracycline, novobiocine, erythromycine, fluorochinolonen, (amfifilische substraten)	[63]
AbeM	MATE	Norfloxacine, ofloxacine, ciprofloxacine, gentamicine, triclosan, acriflavine, daunorubicine, doxorubicine	[46]
AbeS	SMR	Erythromycine, novobiocine, aminoglycosides, chinolonen, tetracycline	[93]

Tabel 5: Effluxpompen beschreven in *Acinetobacter baumannii* en hun antibiotica-specificiteit

Tet(A) en Tet(B) genen komen niet beide in eenzelfde *A. baumannii* stam voor.[95] AdeABC en AdeIJK zijn effluxpompen die bestaan uit drie componenten: AdeA/AdeI zijn de membraanfusie-eiwitten (MFP), AdeB/AdeJ de multidrug transporters en AdeC/AdeK de buitenmembraaneiwitten (OMP).[55, 63] Het eiwit AdeB is verantwoordelijk voor de aminoglycoside resistentie.[55] AdeC is niet essentieel voor resistentie, aangezien de AdeAB effluxpomp ook andere porinen kan gebruiken, zoals AdeK. AdeABC wordt gereguleerd door twee naast elkaar gelegen open reading frames, AdeR en AdeS, waarvan de producten erg overeenkomen met eiwitten van tweecomponenten regulatorsystemen. Tweecomponenten systemen zorgen ervoor dat een bacterie zich gemakkelijk kan aanpassen aan verschillende omgevingsfactoren. Het systeem bestaat uit een sensor kinase (AdeR) en een responsregulator (AdeS). Het sensor kinase kan autofosforylatie ondergaan onder invloed van bepaalde stimuli, zoals veranderingen van pH en temperatuur. Deze fosfaatgroep wordt vervolgens overgedragen naar de responsregulator, waardoor deze actief wordt en de genexpressie activeert.[97] Overexpressie van de effluxpomp AdeABC geeft duidelijk een hogere resistentie voor de meeste β-lactams, inclusief carbapenems.[54]

§ 3 Veranderingen in de target voor antibiotica

Mutaties in penicillinebindende eiwitten (PBP) veroorzaken onder meer β-lactam resistentie in *A. baumannii*. β-lactams binden normaal gesproken aan deze eiwitten, die een belangrijke rol spelen in celwand biogenesis, en daarmee worden deze PBP's geïnactiveerd (zie Figuur 6).



Figuur 6: De werking van β-lactams op een bacteriecel.

Wanneer de PBP's echter niet meer herkenbaar zijn voor deze antibiotica, zullen deze geen effect meer hebben op de celwand biosynthese en celgroei.[43] Een open reading frame (ORF), gevonden op een chromosoom in *A. baumannii*, codeert voor het enzym dihydrofolaat reductase (DHFR). Dit enzym is verantwoordelijk voor de omzetting van dihydrofolaat naar tetrahydrofolaat, welke nodig is voor de synthese van purinen en bepaalde aminozuren. Er kunnen mutaties plaats vinden in dit gen, waardoor deze geen affiniteit meer heeft voor het antibioticum trimethoprime (een DHFR-remmer) en dus resistent wordt. (Goldstein et al., 1983).[105] Resistentie voor chinolonen is verkregen door een mutatie in het *gyrA* gen. Dit gen codeert voor het enzym DNA gyrase, dat dubbelstrengs DNA splitst in enkelstrengs DNA. Dankzij de mutatie wordt dit enzym niet herkend door het antibioticum, waardoor resistentie ontstaat.[47] *parC* is een gen dat codeert voor het enzym topoisomerase IV. Door mutaties is ook deze niet meer herkenbaar voor de (fluoro)chinolonen.[103]

§ 4 Afbraakenzymen

De eerste *A. baumannii* stam met een carbapenem-hydrolyserende β-lactamase werd in 1985 gevonden in Schotland en werd destijds ARI-1 genoemd (nu hernoemt tot OXA-23).[104] Deze behoort tot de Ambler Klasse D, maar ook klasse B enzymen geven resistentie tegen carbapenems.[43, 52, 54, 56] Volgens de literatuur worden Ambler klasse C enzymen het meest gevonden in *Acinetobacter species*.[48] *A. baumannii* produceert uit zichzelf een AmpC-type cefalosporinase, maar de hoeveelheid is niet zodanig dat resistentie ontstaat tegen breedspectrum cefalosporines.[100] De AmpC types die in *A. baumannii* zijn waargenomen, worden aangeduid met ADC-type enzymen (*Acinetobacter* derived cefalosporinase).[100] Deze enzymen kunnen amino-penicillines, eerste-, tweede- en derde-generatie cefalosporines hydrolyseren. Zonder overproductie van ADC's zijn deze bacteriën niet resistent tegen ceftazidime.[100, 101] Echter, door insertie van een specifiek insertiesequentie element IS*Aba*1 upstream van het bla_{ampC} gen wordt de expressie van dit enzym verhoogd, waardoor resistentie tegen ceftazidime ontstaat, maar niet tegen carbapenems.[101] Andere enzymen zijn de β-lactamases OXA-51 en -69. Deze hebben echter weinig effect op β-lactams, inclusief carbapenems.[85] Bij overexpressie is wel resistentie aangetoond in stammen van *A. baumannii*.[85,87] Ook dit gebeurt, net als bij het *AmpC*-gen, in aanwezigheid van het IS*Aba*1 element upstream van het $bla_{OXA-51/-69}$ gen.[105] Resistentie voor sulfonamiden wordt veroorzaakt door het verkrijgen van plasmiden met genen die coderen voor dihydropteroate synthase (DHPS). Sulfonamiden remmen normaal gesproken dit enzym, wat betrokken is in de folaatsynthese.[65] Het SIM-1-gen is door *A. baumannii* verkregen door middel van horizontale genoverdracht, wat aangeeft dat verdere verspreiding van antibioticaresistentie in de toekomst mogelijk is.[42] Hetzelfde geldt voor de IMP-genen in *A. baumannii*, maar dit proces is beperkt tot een omgeving waar imipenem aanwezig is.[53] Het eerste TEM-type ESBL is gevonden in een Italiaans ziekenhuis, waar TEM-92-producerende stammen van *A. baumannii* zijn aangetroffen. Het gen dat codeert voor dit enzym is waarschijnlijk verkregen van *Enterobacteriaceae*, die al een aantal jaren aanwezig is in dit ziekenhuis.[113] Een aantal van de gedetecteerde enzymen in klinische stammen van *A. baumannii* zijn weergegeven in bijlage VI.

HOOFDSTUK 3 Conclusies & Perspectieven

De bacteriesoorten die in dit rapport zijn beschreven, *Klebsiella pneumoniae en Acinetobacter baumannii*, gebruiken meerdere resistentiemechanismen om zich te beschermen tegen antibiotica. Deze zijn: de verlaagde expressie van porinen, de verhoogde expressie van effluxpompen, de productie van degradatie-enzymen en het ontstaan van mutaties in de cellulaire targets van bepaalde antibiotica. In *K. pneumoniae* zijn drie belangrijke porinen gevonden, die betrokken zijn bij het transport van bepaalde antibiotica in de bacteriecel. Er zijn slechts een aantal effluxpompen beschreven. Wel werden veel klasse A ESBL's gedetecteerd in deze stam, net als klasse C enzymen. Klasse B typen werden minder aangetoond en er werden helemaal geen enzymen behorende bij Ambler klasse D gevonden.
In *A. baumannii* komen veel porinen voor, die met name betrokken zijn bij de doorlaatbaarheid van het buitenmembraan voor carbapenems. Een verlaging in het aantal van dit porinen in een cel zou dus een belangrijk mechanisme voor carbapenem-resistentie zijn. Ook zijn er veel verschillende effluxpompen beschreven, meestal behorende tot de MFS- en RND-familie. Van de degradatie-enzymen zijn vooral veel klasse D enzymen aangetoond, waarvan een groot deel in staat is om carbapenems te hydrolyseren. Volgens de literatuur zou deze bacterie vooral veel klasse C enzymen produceren. Naar aanleiding van dit onderzoek, lijken vooral klasse D enzymen veel voor te komen (Zie ook bijlage VI). Door de horizontale overdracht van genen van andere bacteriesoorten kunnen deze resistentiemechanismen zich eenvoudig verspreiden. Beide bacteriesoorten, *K. pneumoniae* en *A. baumannii*, hebben mutaties aangetoond in het *gyrA* gen, wardoor deze resistent zijn geworden tegen fluorochinolonen.

Naar aanleiding van dit onderzoek zijn er een aantal aanbevelingen die verdere resistentie in de toekomst mogelijk kunnen vertragen of voorkomen. Ten eerste zullen antibiotica alleen gebruikt moeten worden voor de behandeling van vatbare ziektes. Deze zullen daarnaast in een zo laag mogelijk dosis en in zo kort mogelijke tijd gegeven moeten worden totdat de infectie voldoende behandeld is. Hiermee kan de kans op ontwikkeling van multiresistente stammen zo laag mogelijk gehouden worden.
Bacteriën kunnen zich door een slechte hygiëne gemakkelijk verspreiden. Dit geldt vooral voor resistente bacteriën, die moeilijker te bestrijden zijn dan gevoelige bacteriën. Er zijn al meerdere gevallen beschreven waarbij bacteriën resistentiegenen overnemen van andere soorten door middel van horizontale overdracht. Dit is vaak aanwezig bij meerdere bacteriesoorten die bij elkaar leven. In medische centra staan de bacteriën meer onder druk door de vele aanwezige antibiotica, waardoor ze na verloop van tijd ook resistentiemechanismen zullen ontwikkelen om deze te kunnen overleven. *Acinetobacter baumanni* is een bacterie die in sterk variërende leefomstandigheden kan overleven. Deze is bijvoorbeeld aanwezig op medische instrumenten en kan ook gemakkelijk verspreid worden door medisch personeel. Hierdoor komt deze sneller in aanraking met verschillende antimicrobiële stoffen, waardoor het resistentiemechanismen kan ontwikkelen. Ten tweede is het dus erg belangrijk om medische instrumenten goed te steriliseren. Ook andere middelen die in aanraking komen met patiënten en medisch personeel zal regelmatig ontsmet moeten worden om de ontwikkeling en verspreiding van antibioticaresistentie stammen tegen te gaan. Een voorbeeld hiervan is een duidelijk protocol voor handhygiëne en het streng naleven hiervan door het personeel. *A. baumannii* blijft een lastige pathogeen om te verwijderen, maar wanneer er verder weinig andere bacteriesoorten aanwezig zijn (bijvoorbeeld door grondig te steriliseren) zal de kans op horizontale overdracht van resistentiegenen gereduceerd worden.

Wanneer de ontwikkeling van resistentiemechanismen op deze manier doorgaat, wordt het in de toekomst erg lastig om deze twee pathogenen met antibiotica te bestrijden. Er moet meer bekend worden over de resistentiemechanismen die gebruikt worden door deze bacteriën en hoe deze

ontstaan. Daarbij zal er met verhoogde intensiteit naar nieuwe antibiotica moeten worden gezocht die de resistentiemechanismen kunnen omzeilen. De vraag hierbij is alleen: Hoe lang zullen antibiotica op efficiënte wijze toegepast kunnen blijven worden? Op een gegeven moment is men door alle opties heen en dan zullen de gevolgen ook verontrustend zijn. Om dit te voorkomen is het dus van groot belang om de genoemde aanbevelingen serieus te nemen en zo veel mogelijk toe te passen. Niet alleen in medische centra, maar ook in de veehouderij, akkerbouw en in dierenklinieken. Hier worden namelijk ook nog steeds veel antibiotica gebruikt, waardoor de ontwikkeling van antibioticaresistente stammen in snel tempo toeneemt.

REFERENTIES

[1] **P. Yu, O. Wakano, K. Teruo, T. Tomofusa.** 2007. Gene Cloning and Characterization of KdeA, a Multidrug Efflux Pump from *Klebsiella pneumonia*. Biol. Pharm. Bull. **30:**1962-1964

[2] **U.O. Hasdemir, J. Chevalier, P. Nordmann, J. Pagès.** 2004. Detection and Prevalence of Active Drug Efflux Mechanism in Various Multidrug-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Strains from Turkey. J. Clin. Microbiol. **42:**2701-2706

[3] **J.M. Rodríguez-Martínez, C. Pichardo, I. García, M.E. Pachón-Ibañez, F. Docobo-Pérez, A. Pascual, J. Pachón, L. Martínez-Martínez**. 2008. Activity of ciprofloxacin and levofloxacin in experimental pneumonia caused by *Klebsiella pneumoniae* deficiënt in porins, expressing active efflux and producing QnrA1. Clin. Microbiol. Infect. **14:**691-697

[4] **P. Giakkoupi, A. Xanthaki, M. Kanelopoulou, A. Vlahaki, V. Miriagou, S. Kontou, E. Papafraggas, H. Malamou-Lada, L.S. Tzouvelekis, N.J. Legakis, A.C. Vatapoulos.** 2003. VIM-1 Metallo-β-Lactamase-Producing *Klebsiella pneumoniae* Strains in Greek Hospitals. **41:**3893-3896

[5] **A. Mazzariol, J. Zuliani, G. Cornaglia, G.M. Rossolini, R. Fontana**. 2002. AcrAB Efflux System: Expression and Contribution to Fluoroquinolone Resistance in *Klebsiella* spp. Antimicrob. Agents Chemother. **46**:3984-3986

[6] **S. Ktari, G. Arlet, B. Mnif, V. Gautier, F. Mahjoubi, M.B. Jmeaa, M. Bouaziz, A. Hammami**. 2006. Emergence of Multidrug-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Isolates Producing VIM-4 Metallo-β-Lactamase, and CMY-4 AmpC β-Lactamase in a Tunisian University Hospital. Antimicrob. Agents Chemother. **50:**4198-4201

[7] **A. Ruzin, M.A. Visalli, D. Keeney, P.A. Bradford**. 2005. Influence of Transcriptional Activator RamA on Expression of Multidrug Efflux Pump AcrAB and Tigecycline Susceptibility in *Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob. Agents Chemother. **49:**1017-1022

[8] **J. Chevalier, J. Bredin, A. Mahamoud, M. Malléa, J. Barbe, J Pagès**. 2004. Inhibitors of Antibiotic Efflux in Resistant *Enterobacter aerogenes* and *Klebsiella pneumoniae* strains. Antimicrob. Agents Chemother. **48:**1043-1046

[9] **O. Wakano, K. Motohiro, K. Teruo, T. Tomofusa**. 2006. KmrA Multidrug Efflux Pump from *Klebsiella pneumoniae*. Biol. Pharm. Bull. **29**:550-553

[10] **J. Chevalier, J. Pagès, A. Eyraud, M. Malléa**. 2000. Membrane Permeability Modifications Are Involved in Antibiotic Resistance in *Klebsiella pneumoniae*. Biochemical and Biophysical Research Communications. **274:**496-499

[11] **O. Wakano, L. Dai-Wei, Y. Ping, B. Anowara, M. Tohru, K. Teruo, T. Tomofusa.** 2005. Multidrug Resistance in Klebsiella pneumoniae MGH78578 and Cloning of Genes Responsible for the Resistance. Biol. Pharm. Bull. **28:**1505-1508

[12] **Q. Tran, M. Dupont, J. Lavigne, J. Chevalier, J. Pagès, A. Sotto, A. Davin-Regli.** 2009. Occurrence of Efflux Mechanism and Cephalosporinase Variant in a Population of *Enterobacter aerogenes* and *Klebsiella pneumoniae* Isolates Producing Extended-Spectrum β-Lactamases. Antimicrob. Agents Chemother. **53:**1652-1656

[13] **L. Dai-Wei, O. Motoyasu, K. Takanori, M. Taira, O. Wakano, K. Teruo, T. Tomofusa.** 2008. Properties and Expression of a Multidrug Efflux Pump AcrAB-KocC from *Klebsiella pneumoniae*. Biol. Pharm. Bull. **31:**577-582

[14] **P. Gruteke, W. Goessens, J. van Gils, P. Peerbooms, N. Lemmens-den Toom, M. van Santen-Verheuvel, A. van Belkum, H. Verbrugh.** 2003. Patterns of Resistance Associated with Integrons, the Extended-Spectrum β-Lactamase SHV-5 Gene, and a Multidrug Efflux Pump of *Klebsiella pneumoniae* Causing a Nosocomial Outbreak. J. Clin. Microbiol. **41:**1161-1166

[15] **S. Coudeyras, L. Nakusi, N. Charbonnel, C. Forestier.** 2008. A Tripartite Efflux Pump Involved in Gastrointestinal Colonization by *Klebsiella pneumoniae* Confers a Tolerance Response to Inorganic Acid. Infect. Immun. **76:**4633-4641

[16] **S.Y. Essack, L.M.C. Hall, D.M. Livermore.** 2004. *Klebsiella pneumoniae* isolate from South Africa with multiple TEM, SHV and AmpC β-lactamases. Int. J. Antimicrob. Agents. **23:**398-400

[17] **P. Nordmann, L. Poirel.** 2002. Emerging carbapenemases in Gram-negative aerobes. Clin. Microbiol. Infect. **8:**321-331

[18] **A. Doménech-Sánchez, S. Hernández-Allés, L. Martínez-Martínez, V.J. Benedí, S. Albertí**. 1999. Identification and Characterization of a New Porin Gene of Klebsiella pneumoniae: Its Role in β-Lactam Antibiotic Resistance. J. Bacteriol. **181:**2726-2732

[19] **A. Doménech-Sánchez, L. Martínez-Martínez, S. Hernández-Allés, M. del Carmen Conejo, Á. Pascual, J.M. Tomás, S. Albertí, V.J. Benedí**. 2003. Role of *Klebsiella pneumoniae* OmpK35 Porin in Antimicrobial Resistance. Antimicrob. Agents Chemother. **47:**3332-3335

[20] **N. Woodford, P.M. Tierno Jr., K. Young, L. Tysall, M.I. Palepou, E. Ward, R.E. Painter, D.F. Suber, D. Shungu, L.L. Silver, K. Inglima, J. Kornblum, D.M. Livermore.** 2004. Outbreak of *Klebsiella pneumoniae* Producing a New Carbapenem-Hydrolyzing Class A β-Lactamase, KPC-3, in a New York Medical Center. Antimicrob. Agents Chemother. **48:**4793-4799

[21] **P.A. Bradford, C. Urban, N. Mariano, S.J. Projan, J.J. Rahal, K. Bush.** 1997. 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. **41:**563-569

[22] **V. Manchanda, N.P. Singh.** 2003. Occurrence and detection of AmpC beta-lactamases among Gram-negative clinical isolates using a modified three-dimensional test at Guru Tegh Bahadur Hospital, Delhi India. J. Antimicrob. Chemother. **51:**415-418

[23] **H. Yigit, A.M. Queenan, G.J. Anderson, A. Doménech-Sánchez, J.W. Biddle, C.D. Steward, S. Alberti, K. Bush, F.C. Tenover.** 2001. Novel Carbapenem-Hydrolyzing β-Lactamase, KPC-1, from a Carbapenem-Resistant Strain of *Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob. Agents Chemother. **45:**1151-1161

[24] **J.K. Rasheed, G.J. Anderson, H. Yigit, A.M. Queenan, A. Doménech-Sánchez, J.M. Swenson, J.W. Biddle, M.J. Ferraro, G.A. Jacoby, F.C. Tenover.** 2000. Characterization of the Extended-Spectrum β-Lactamase Reference Strain, *Klebsiella pneumoniae* K6 (ATCC 700603), Which Produces the Novel Enzyme SHV-18. Antimicrob. Agents Chemother. **44:**2382-2388

[25] **S. Hernández-Allés, S. Albertí, D. Álvarez, A. Doménech-Sánchez, L. Martínez-Martínez, J. Gil, J.M. Tomás, V.J. Benedí.** 1999. Porin expression in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*. Microbiology **145:**673-679

[26] **A. Bauernfeind, I. Schneider, R. Jungwirth, H. Sahly, U. Ullmann.** 1999. A Novel Type of AmpC β-Lactamase, ACC-1, Produced by a *Klebsiella pneumoniae* Strain Causing Nosocomial Pneumonia. Antimicrob. Agents Chemother. **43:**1924-1931

[27] **S. Hernández-Allés, V.J. Benedí L. Martínez-Martínez, Á. Pascual, A. Aguilar, J.M. Tomás, S. Alberti.** 1999. Development of Resistance during Antimicrobial Therapy Caused by Insertion Sequence Interruption of Porin Genes. Antimicrob. Agents Chemother. **43:** 937-939

[28] **C. Poyart, P. Mugnier, G. Quesne, P. Berche, P. Trieu-Cuot**. 1998. A Novel Extended-Spectrum TEM-Type beta-Lactamase (TEM-52) Associated with Decreased Susceptibility to Moxalactam in *Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob. Agents Chemotherap. **42:**108-113

[29] **L. Poirel, I. Le Thomas, T. Naas, A. Karim, P. Nordmann.** 2000. 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. **44:**622-632

[30] **S. Brisse, D. Milatovic, A.C. Fluit, J. Verhoef, F.J. Schmitz.** 2000. Epidemiology of Quinolone Resistance of *Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella oxytoca* in Europe. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. **19:**64-68

[31] **E. Smith Moland, N.D. Hanson, V.L. Herrera, J.A. Black, T.J. Lockhart, A. Hossain, J.A. Johnson, R.V. Goering, K.S. Thomson.** 2003. Plasmid-mediated, carbapenem-hydrolysing β-lactamase, KPC-2, in *Klebsiella pneumoniae* isolates. J. Antimicrob. Chemother. **51:**711-714

[32] **L.B. Rice, L.L. Carias, L. Etter, D.M. Shlaes.** 1993. Resistance to Cefoperazone-Sulbactam in *Klebsiella pneumoniae*: Evidence for Enhanced Resistance Resulting from the Coexistence of Two Different Resistance Mechanisms. Antimicrob. Agents Chemother. **37:**1061-1064

[33] **M. Yuan, L.M.C. Hall, P.H.M. Savelkoul, C.M.J.E. Vandenbroucke-Grauls, D.M. Livermore.** 2000. SHV-13, a Novel Extended-Spectrum β-Lactamase, in *Klesiella pneumoniae* Isolates from Patients in an Intensive Care Unit in Amsterdam. Antimicrob. Agents Chemother. **44:**1081-1084

[34] **J.M. Rodríguez-Martínez, C. Velasco, I. García, M.E. Cano, L. Martínez-Martínez, A. Pascual.** 2007. Characterisation of integrons containing the plasmid-mediated quinolone resistance gene qnrA1 in *Klebsiella pneumoniae*. Int. J. Antimicrob. Agents. **29:**705-709

[35] **J.M. Rodríguez-Martínez, A. Pascual, I. García, L. Martínez-Martínez.** 2003. Detection of the plasmid-mediated quinolone resistance determinant *qnr* among clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* producing AmpC-type β-lactamase. J. Antimicrob. Chemother. **52:**703-706

[36] **A.M. Queenan, S. Jenkins, K. Bush.** 2001. Cloning and Biochemical Characterization of FOX-5, an AmpC-Type Plasmid-Encoded β-Lactamase from a New York City *Klebsiella pneumoniae* Clinical Isolate. Antimicrob. Agents Chemother. **45:**3189-3194

[37] **A. Bauernfeind, I. Semplinger, R. Jungwirth, R. Wilhelm, Y. Chong.** 1996. Comparative Characterization of the Cephamycinase bla_{CMY-1} Gene and Its Relationship with Other β-Lactamase Genes. Antimicrob. Agents Chemother. **40:**1926-1930

[38] **F. Luzzaro, J. Docquier, C. Colinon, A. Endimiani, G. Lombardi, G. Amicosante, G.M. Rossolini, A. Toniolo.** 2004. Emergence in *Klebsiella pneumoniae* and *Enterobacter cloacae* Clinical Isolates of the VIM-4 Metallo-β-Lactamase Encoded by a Conjugative Plasmid. Antimicrob. Agents Chemother. **48:**648-650.

[39] **N. Kassis-Chickhani, D. Decré, V. Gautier, B. Burghoffer, F. Saliba, D. Mathieu, D. Samuel, D. Castaing, J. Petit, E. Dussaix, G. Arlet.** 2006. First outbreak of multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* carrying bla_{VIM-1} and bla_{SHV-5} in a French university hospital. J. Antimicrob. Chemother. **57:**142-145

[40] **K. Montefour, J. Frieden, S. Hurst, C. Helmich, D. Headley, M. Martin, D.A. Boyle.** 2008. *Acinetobacter baumannii*: An Emerging Multidrug-Resistant Pathogen in Critical Care. Critical Care Nurse **28:**15-25

[41] **A. Abbo, S. Navon-Venezia, O. Hammer-Muntz, T. Krichali, Y. Siegman-Igra, Y. Carmeli.** 2005. Multidrug-resistant *Actinetobacter baumannii*. Emerg. Infect. Dis. **11:**22-29

[42] **L. Kyungwon, H.Y. Jong, Y. Dongeun, M.L. Hyuk, D.K. Heung, J. Docquier, G.M. Rossolini, C. Yunsop.** 2005. Novel Acquired Metallo-β-Lactamase Gene, blaSIM-1, in a Class 1 Integron from *Acinetobacter baumannii* Clinical Isolates from Korea. Antimicrob. Agents Chemother. **49:**4485-4491

[43] **A. Tsakris, A. Ikonomidis, S. Pournaras, L.S. Tzouvelekis, D. Sofianou, N.J. Legakis, A.N. Maniatis.** 2006. VIM-1 Metallo-β-lactamase in *Acinetobacter baumannii*. Emerg. Infect. Dis. **12:**981-983

[44] **R.B. Clark.** 1996. Imipenem resistance among *Acinetobacter baumannii*: association with reduced expression of a 33-36 kDa outer membrane protein. J. Antimicrob. Chemother. **38:**245-251

[45] **J. Vila, S. Martí, J. Sánchez-Céspedes.** 2007. Porins, efflux pumps and multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. J. Antimicrob. Chemother. **59:**1210-1215

[46] **X.Z. Su, J. Chen, T. Mizushima, T. Kuroda, T. Tsuchiya.** 2005. AbeM, an H+-coupled Acinetobacter baumannii multidrug efflux pump belonging to the MATE family of transporters. Antimicrob. Agents Chemother. **49:**4362-4364

[47] **J.K. Mak, M. Kim, J. Pham, J. Tapsall, P.A. White.** 2009. Antibiotic resistance determinants in nosocomial strains of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. J. Antimicrob. Chemother. **63:**47-54

[48] **Y. Xiao-Lin, H. Tian-Wen, X. Shu-Bin, M. Cui-Qing, Y. Zhi-Yan, L. Wei, W. Lin.** 2008. Detection of Drug Resistance-Associated Genes of Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii*. **14:**145-150

[49] **W. Tsu-Lan, M. Ling, C. Jen-Chang, S. Lin-Hui, C. Chishih, L. Hsieh-shong, L.K. Siu.** 2004. Variable Resistance Patterns of Integron-Associated Multidrug-Resistant Acinetobacter baumannii Isolates in a Surgical Intensive Care Unit. Microb. Drug Resistance **10:**292-299

[50] **J.C. Yoo, C.M. Dong, S.J. Jong, H.C. Chul, C.L. Yoo, C.L. Je.** 2009. Genetic basis of resistance to aminoglycosides in *Acinetobacter* spp. and spread of *armA* in *Acinetobacter baumannii* sequence group 1 in Korean hospitals. Diagn. Microb. Infect. Dis. **64:**185-190

[51] **L. Li, L. Bao-Dong, L. Xian-Zhi.** 2009. Distribution of the multidrug efflux pump genes, *adeABC*, *adeDE* and *adeIJK*, and class 1 integron genes in multiple-antimicrobial-resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii-Acinetobacter calcoaceticus* complex. Int. J. Antimicrob. Agents. **33:**27-32

[52] **M. Afzal-Shah, N. Woodford, D.M. Livermore.** 2001. Characterization of OXA-25, OXA-26, and OXA-27, Molecular Class D β-Lactamases Associated with Carbapenem Resistance in Clinical Isolates of *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob. Agents Chemother. **45:**583-588

[53] **A. Takahashi, S. Yomoda, I. Kobayashi, T. Okubo, M. Tsunoda, S. Iyobe.** 2000. Detection of Carbapenemase-Producing *Acinetobacter baumannii* in a Hospital. J. Clin. Microbiol. **38:**526-529

[54] **C. Héritier, L. Poirel, T. Lambert, P. Nordmann.** 2005. Contribution of Acquired Carbapenem-Hydrolyzing Oxacillinases to Carbapenem Resistance in Acinetobacter baumannii. Antimicrob. Agents Chemother. **49:**3198-3202

[55] **S. Magnet, P. Courvalin, T. Lambert.** 2001. Resistance-Nodulation-Cell Division-Type Efflux Pump Involved in Aminoglyoside Resistance in *Acinetobacter baumannii* Strain BM4454. Antimicrob. Agents Chemother. **45:**3375-3380

[56] **H.M. Donald, W. Scaife, S.G.B. Amyes, H. Young.** 2000. Sequence Analysis of ARI-1, a Novel OXA beta-Lactamase, Responsible for Imipenem Resistance in *Acinetobacter baumannii* 6B92. Antimicrob. Agents Chemother. **44:**196-199

[57] **G. Bou, G. Cerveró, M.A. Domínuez, C. Quereda, J. Martínez-Beltrán.** 2000. Characterization of a Nosocomial Outbreak Caused by a Multiresistant *Acinetobacter baumannii* Strain with a carbapenem-Hydrolyzing Enzyme: High-Level Carbapenem Resistance in *A. baumannii* Is Not Due Solely to the Presence of β-Lactamases. J. Clin. Microb. **38:**3299-3305

[58] **M.A. Mussi, A.S. Limansky, A.M. Viale.** 2005. Acquisition of Resistance to Carbapenems in Multidrug-Resistant Clinical Strains of *Acinetobacter baumannii*: Natural Insertional Inactivation of a Gene Encoding a Member of a Novel Family of β-Barrel Outer Membrane Proteins. Antimicrob. Agents Chemother. **49:**1432-1440

[59] **J. Quale, S. Bratu, D. Landman, R. Heddurshetti.** 2003. Molecular Epidemiology and Mechanisms of Carbapenem Resistance in *Acinetobacter baumannii* Endemic in New York City. Clin. Infect. Dis. **37:**214-220

[60] **C. Yiu-Wai, M. Afzal-Shah, E.T.S. Houang, M.I. Palepou, D.J. Lyon, N. Woodford, D.M. Livermore.** 2001. IMP-4, a Novel Metallo-β-Lactamase from Nosocomial *Acinetobacter* spp. Collected n Hong Kong between 1994 and 1998. Antimicrob. Agents Chemother. **45:**710-714

[61] **L. Poirel, O. Menuteau, N. Agoli, C. Cattoen, P. Nordmann.** 2003. Outbreak of Extended-Spectrum β-Lactamase VEB-1-Producing Isolates of *Acinetobacter baumannii* n a French Hospital. J. Clin. Microbiol. **41:**3542-3547

[62] **K.M. Hujer, N.S. Hamza, A.M. Hujer, F. Perez, M.S. Helfand, C.R. Bethel, J.M. Thomson, V.E. Anderson, M. Barlow, L.B. Rice, F.C. Tenover, R.A. Bonomo.** 2005. Identification of a New Allelic Variant of the *Acinetobacter baumannii* Cephalosporinase, ADC-7 β-Lactamase: Defining a Unique Family of Class C Enzymes.

[63] **L. Damier-Piolle, S. Magent, S. Brémont, T. Lambert, P. Courvalin.** 2008. AdeIJK, a Resistance-Nodulation-Cell Division Pump Effluxing Multiple Antibiotics in Acinetobacter baumannii. Antimicrob. Agents Chemother. **52:**557-562

[64] **J.M. Adams-Haduch, D.L. Paterson, H.E. Sidjabat, A.W. Pasculle, B.A. Potoski, C.A. Muto, L.H. Harrison, Y. Doi.** 2008. Genetic Basis of Multidrug Resistance in Acinetobacter baumannii Clinical Isolates at a Tertiary Medical Center in Pennsylvania. Antimicrob. Agents Chemother. **52:**3837-3843

[65] **P. Fournier, D. Vallenet, V. Barbe, S. Audic, H. Ogata, L. Poirel, H. Richet, C. Robert, S. Mangenot, C. Abergel, P. Nordmann, J. Weissenbach, D. Raoult, J. Claverie.** 2006. Comparative Genomics of Multidrug Resistance in *Acinetobacter baumannii*. Plos Genet. **2:**62-72

[66] **S. Kazuyoshi, A. Yoshichika, I. Satoshi, N. Kazumitsu, I. Hideo, O. Shinji, S. Kaoru, K. Nobuo, O. Michio.** 1996. PCR Detection of Metallo-β-Lactamase Gene (bla_{IMP}) in Gram-Negative Rods Resistant to Broad-Spectrum β-Lactams. **34:**2909-2913

[67] **Y. Jing-Jou, K. Wen-Chien, W. Jiunn-Jong.** 2001. 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. **45:**2368-2371

[68] **M. Gonzalez Leiza, J.C. Perez-Diaz, J. Ayala, J.M. Casellas, J. Martinez-Beltran, K. Bush, F. Baquero.** 1994. Gene Sequence and Biochemical Characterization of FOX-1 from *Klebsiella pneumoniae*, a new AmpC-Type Plasmid-Mediated β-Lactamase with Two Molecular Variants. Antimicrob. Agents Chemother. **38:**2150-2157

[69] **C. Urban, K.S. Meyer, N. Mariano, J.J. Rahal, R. Flamm, B.A. Rasmussen, K. Bush.** 1994. Identification of TEM-26 β-Lactamase Responsible for a Major Outbreak of Ceftazidime-Resistant *Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob. Agents Chemother. **38:**392-395

[70] **H.Y. Chen, D.M. Livermore.** 1993. Activity of cefepime and other β-lactam antibiotics against permeability mutants of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. J. Antimicrob. Chemother. **32:**63-74

[71] **L. Martínez-Martínez, S. Hernández-Allés, S. Albertí, J.M. Tomás, V.J. Benedi, G.A. Jacoby.** 1996. In Vivo Selection of Porin-Deficient Mutants of *Klebsiella pneumoniae* with Increased Resistance to Cefoxitin and Expanded-Spectrum Cephalosporins. Antimicrob. Agents Chemother. **40:**342-348

[72] **H. Toshinobu, A. Yoshichika, O. Michio, I. Satoshi, W. Rochaporn, K. Nobuo.** 1993. Plasmid-Mediated AmpC-Type 1-Lactamase Isolated from *Klebsiella pneumoniae* Confers Resistance to Broad-Spectrum β-Lactams, Including Moxalactam. Antimicrob. Agents Chemother. **37:**984-990

[73] **G.A. Papanicolaou, A.A. Medeiros, G.A. Jacoby.** 1990. Novel Plasmid-Mediated β-Lactamase (MIR-1) Conferring Resistance to Oxyimino- and α-Methoxy β-Lactams in Clinical Isolates of *Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob. Agents Chemother. **34:**2200-2209

[74] **L.S. Tzouvelekis, E. Tzelepi, A.F. Mentis, A. Tsakris.** 1993. Identification of a novel plasmid-mediated β-Lactamase with chromosomal cephalosporinase characteristics from *Klebsiella pneumoniae*. J. Antimicrob. Chemother. **31:**645-654

[75] **L. Wu, S. Hung, Y. Chuang, H. Chen, R.N. Jones, W. Yu.** 2005. Identification of a novel cephalosporinase (DHA-3) in *Klebsiella pneumoniae* isolated in Taiwan. Clin. Microbiol. Infect. **11:**893-897

[76] **L. Pirel, P. Nordmann.** 2002. Acquired Carbapenem-Hydrolyzing Beta-Lactamases and their Genetic Support. Curr. Pharmac. Biotech. **3:**117-127

[77] **M.H. Saier Jr, I.T. Paulsen, M.K. Sliwinski, S.S. Pao, R.A. Skurray, H. Nikaido.** 2006. Evolutionary origins of multidrug and drug-specific efflux pumps in bacteria. The FASEB Journal **12:**265-273

[78] **T.R. Walsh, M.A. Toleman, L. Poirel, P. Normann.** 2005. Metallo-β-Lactamases: the Quiet before the Storm? Clin. Microbiol. Rev. **18:**306-325

[79] Barry G. Hall, Publicatiejaar: onbekend, The Ambler Classification Scheme for β-lactamases, http://homepage.mac.com/barryghall/Ambler.html, 27 nov. 2009

[80] **L. Izquierdo, N. Abitiu, N. Coderch, B. Hita, S. Merino, R. Gavin, J.M. Tomás, M. Regué.** 2002. The inner-core lipopolysaccharide biosynthetic *waaE* gene: function and genetic distribution among some *Enterobacteriaceae*. Microbiol. **148:**3485-3496

[81] **J. Vila.** 1998. Mechanisms of antimicrobial resistance in *Acinetobacter baumannii*. Rev. Med. Microbiol. **9:**87-97

[82] **A. Gribun, Y. Nitzan, I. Pechatnikov, G. Hershkovits, D.J. Katcoff.** 2003. Molecular and Structural Characterization of the HMP-AB Gene Encoding a Pore-Forming Protein from a Clinical Isolate of *Acinetobacter baumannii*. Curr. Microbiol. **47:**434-443

[83] http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5345a1.htm

[84] **G. Bou, A. Oliver, J. Martínez-Beltran.** 2000. OXA-24, a novel class D β-lactamase with carbapenemase activity in an *Acinetobacter baumannii* clinical strain. Antimicrob. Agents Chemother. **44:**1556-1561

[85] **S. Brown, H.K. Young, S.G. Amyes.** 2005. Characterisation of OXA-51, a novel class D carbapenemase found in genetically unrelated clinical strains of *Acinetobacter baumannii* from Argentina. Clin. Microbiol. Infect. **11:**15-23

[86] **F. Lopez-Otsoa, L. Gallego, K.J. Towner, L. Tysall, N. Woodford, D.M. Livermore.** 2002. Endemic carbapenem resistance associated with OXA-40 carbapenemase among *Acinetobacter baumannii* isolates from a hospital in northern Spain. J. Clin. Microbiol. **40:**4741-4743

[87] **S. Brown, S.G.B. Amyes.** 2005. The sequences of seven class D β-lactamases isolated from carbapenemresistant *Acinetobacter baumannii* from four continents. Clin. Microbiol. Infect. **11:**326-328

[88] **L. Poirel, S. Marqué, C. Héritier, C. Segonds, G. Chabanon, P. Nordmann.** 2005. OXA-58, a novel class D β-lactamase involved in resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob. Agents Chemother. **49:**202-208

[89] **Z.M. Huang, P.H. Mao, Y. Chen, L. Wu, J. Wu.** 2004. Study on molecular epidemiology of SHV type beta-lactamase-encoding genes of multiple-drug-resistant *Acinetobacter baumannii*. Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi. **25:**425-427

[90] **T. Naas, F. Namdari, H. Réglier-Poupet, C. Poyart, P. Nordmann.** 2007. Panresistant extended-spectrum beta-lactamase SHV-5 producing Acinetobacter baumannii. J. Antimicrob. Chemother. **60:**1174-1176

[91] **M.T. Madigan, J.M. Martinko, P.V. Dunlap, D.P. Clark.** 2009. Brock Biology of Microorganisms, Pearson Eduction, Inc., Verenigde Staten, 12th Edition:791-806

[92] **M. Dupont, J.M. Pages, D. Lafitte, A. Siroy, C. Bollet.** 2005. Identification of an OprD homologue in Acinetobacter baumannii. J. Proteome. Res. **4:**2386-2390

[93] **V. Bharathi Srinivasan, G. Rajamohan, W.A. Gebreyes.** 2009. Role of AbeS, a Novel Efflux Pump of the SMR Family of Transporters, in Resistance to Antimicrobial Agents in *Acinetobacter baumannii*. Antimicr. Agents Chemother. **53:**5312-5316

[94] **M. Gehrlein, H. Leying, W. Cullmann, S. Wendt, W. Opferkuch.** 1991. Imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii* is due to altered penicillinbinding proteins. Chemother. **37:**405-412

[95] **S. Martí, F. Fernández-Cuenca, A. Pascual, A. Ribera, J. Rodriguez-Baño, G. Bou, J.M. Cisneros, J. Pachón, L. Martínez-Martínez, J. Vila** 2006. Prevalence of the tetA and tetB genes as mechanisms of resistance to tetracycline and minocycline in *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. Enferm. Infecc. Microbiol. Clin. **24:**77-80

[96] **I. Roca, S. Martí, P. Espinal, P. Martinez, I. Gibert, J. Vila.** 2009. CraA, a Major Facilitator Superfamily Efflux Pump Associated with Chloramphenicol Resistance in *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob. Agents Chemother. **53:**4013-4014

[97] **I. Marchand, L. Damier-Piolle, P. Courvalin, T. Lambert.** 2004. Expression of the RND-type efflux pump AdeABC in *Acinetobacter baumannii* is regulated by the AdeRS two-component system. Antimicrob. Agents Chemother. **48:**3298-3304

[98] **A. Oka, H. Sugisaki, M. Takanami.** 1981. Nucelotide sequence of the kanamycin resistance transposon Tn903. J. Mol. Biol. **147:**217-226

[99] **R.L. Then, P. Angehrn.** 1979. Low Trimethoprim Susceptibility of Anaerobic Bacteria Due to Insensitive Dihydrofolate Reductases. Antimicrob. Agents Chemother. **15:**1-6

[100] **G. Bou, J. Martinez-Beltran.** 2000. Cloning, nucleotide sequencing, and analysis of the gene encoding an AmpC β-lactamase in *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob. Agents Chemother. **44:**428-432

[101] **S. Corvec, N. Caroff, E. Espaze, C. Giraudeau, H. Drugeon, A. Reynaud.** 2003. AmpC cephalosporinase hyperproduction in *Acinetobacter baumannii* clinical strains. J. Antimicrob. Chemother. **52:**629-635

[102] **L. Poirel, S. Corvec, M. Rapoport, P. Mugnier, A. Petroni, F. Pasteran, D. Faccone, M. Galas, H. Drugeon, V. Cattoir, P. Nordmann.** 2007. Identification of the Novel Narrow-Spectrum β-lactamase SCO-1 in Acinetobacter spp. from Argentina. Antimicrob. Agents Chemother. **51:**2179-2184

[103] **J. Vila, A. Ribera, F. Marco, J. Ruiz, J. Mensa, J. Chaves, G. Hernandez, M. Teres Jiminez De Anta.** 2002. Activity of clinafloxacine, compared with six other quinolones, against Acinetobacter baumannii clinical isolates. J. Antimicrob. Chemother. **49:**471-477

[104] **R. Paton, F.S. Miles, J. Hood, S.G.B. Amyes.** 1993. ARI-1: β-lactamase-mediated imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. Int. J. Antimicrob. Agents **2:**81-88

[105] **E. Bergogne-Bérézin, H. Friedman, M. Bendinelli.** 2008. *Acinetobacter* Biology and Pathogenesis, Springer, VS

[106] **L. Poirel, P. Nordmann.** 2002. Acquired carbapenems-hydrolyzing β-lactamases and their genetic support. Curr. Pharm. Biotechnol. **3:**117-127

[107] **F. Pasterán, M. Rapoport, A. Petroni, D. Faccone, A. Corso, M. Galas, M. Vazquez, A. Procopio, M. Tokumoto, V. Cagnoni.** 2006. Emergence of PER-2 and VEB-1a in *Acinetobacter baumannii* strains in the Americas. Antimicrob. Agents Chemother. **50:**3222-3224

[108] **N. Nagano, Y. Nagano, C. Cordevant, N. Shibata, Y. Arakawa.** 2004. Nosocomial transmission of CTX-M-2 beta-lactamase-producing *Acinetobacter baumannii* in a neurosurgery ward. J. Clin. Microbiol. **42:**3978-3984

[109] **T. Naas, P. Bogaerts, C. Bauraing, Y. Degheldre, Y. Glupczynski, P. Nordmann.** 2006. Emergence of PER and VEB extended-spectrum beta-lactamase in *Acinetobacter baumannii* in Belgium. J. Antimicrob. Chemother. **58:**178-182

[110] **M.L. Riccio, N. Franceschini, L. Boschi, B. Caravelli, G. Cornaglia, R. Fontana, G. Amicosante, G.M. Rossolini.** 2000. Characterization of the Metallo-beta-lactamase Determinant of *Acinetobacter baumannii* AC-54/97 Reveals the Existence of bla_{IMP} Allelic Variants Carried by Gene Cassettes of Different Phylogeny. Antimicrob. Agents Chemother. **44:**1229-1235

[111] **M.A. Toleman, R.N. Jones, T.R. Walsh.** 2004. Hospital outbreak of an imipenem-resistant VIM-2 encoding *Acinetobacter* DNA group 14TU strain in a German teaching hospital. Clin. Microbiol. Infect. **10:**48

[112] **L.B. Dalla-Costa, J.M. Coelho, H.A. Souza, M.E.S. Castro, C.J.N. Stier, K.L. Bragagnolo, A. Rea-Neto, S.R. Penteado-Filho, D.M. Livermore, N. Woodford.** 2003. Outbreak of carbapenems-resistant *Acinetobacter baumannii* producing the OXA-23 enzyme in Curitiba, Brazil. J. Clin. Microbiol. **41:**3403-3406

[113] **A. Endimiani, F. Luzzaro, R. Migliavacca, E. Mantengoli, A.M. Hujer, K.M. Hujer, L. Pagani, R.A. Bonomo, G.M. Rossolini, A. Toniolo.** 2007. Spread in an Italian Hospital of a Clonal Acinetobacter baumannii Strain Producing the TEM-92 Extended-Spectrum β-Lactamase. Antimicrob. Agents Chemother. **51:**2211-2214

[114] **R. Zarrilli, M. Crispino, M. Bagattini, E. Barretta, A. Di Popolo, M. Triassi, P. Villari.** 2004. Molecular Epidemiology of Sequential Outbreaks of *Acinetobacter baumannii* in an Intensive Care Unit Shows the Emergence of Carbapenem Resistance. J. Clin. Microbiol. **42:**946-953

[115] **J.J. Yan, W.C. Ko, Y.C. Jung, C.L. Chuang, J.J. Wu.** 2002. Emergence of *Klebsiella pneumoniae* isolates producing inducible DHA-1 β-lactamase in a university hospital in Taiwan. J. Clin. Microbiol. **40:**3121-3126

[116] **N. Fortineau, L. Poirel, P. Nordmann.** 2001. Plasmid-mediated and inducible cephalosporinase DHA-2 from *Klebsiella pneumoniae*. J. Antimicrob. Chemother. **47 :**207-210

[117] **J.J. Yan, S.M. Wu, S.H. Tsai, J.J. Wu, I.J. Su.** 2000. Prevalence of SHV-12 among clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* producing extended-spectrum β-lactamases and identification of a novel AmpC enzyme (CMY-8) in Southern Taiwan. Antimicrob. Agents Chemother. **44:**1438-1442

[118] http://de.wikipedia.org/wiki/Porine

[119] http://www.ad.nl/ad/nl/1013/Buitenland/article/detail/189729/2007/03/07/Bacterie-teistert-ziekenhuizen-Israel.dhtml

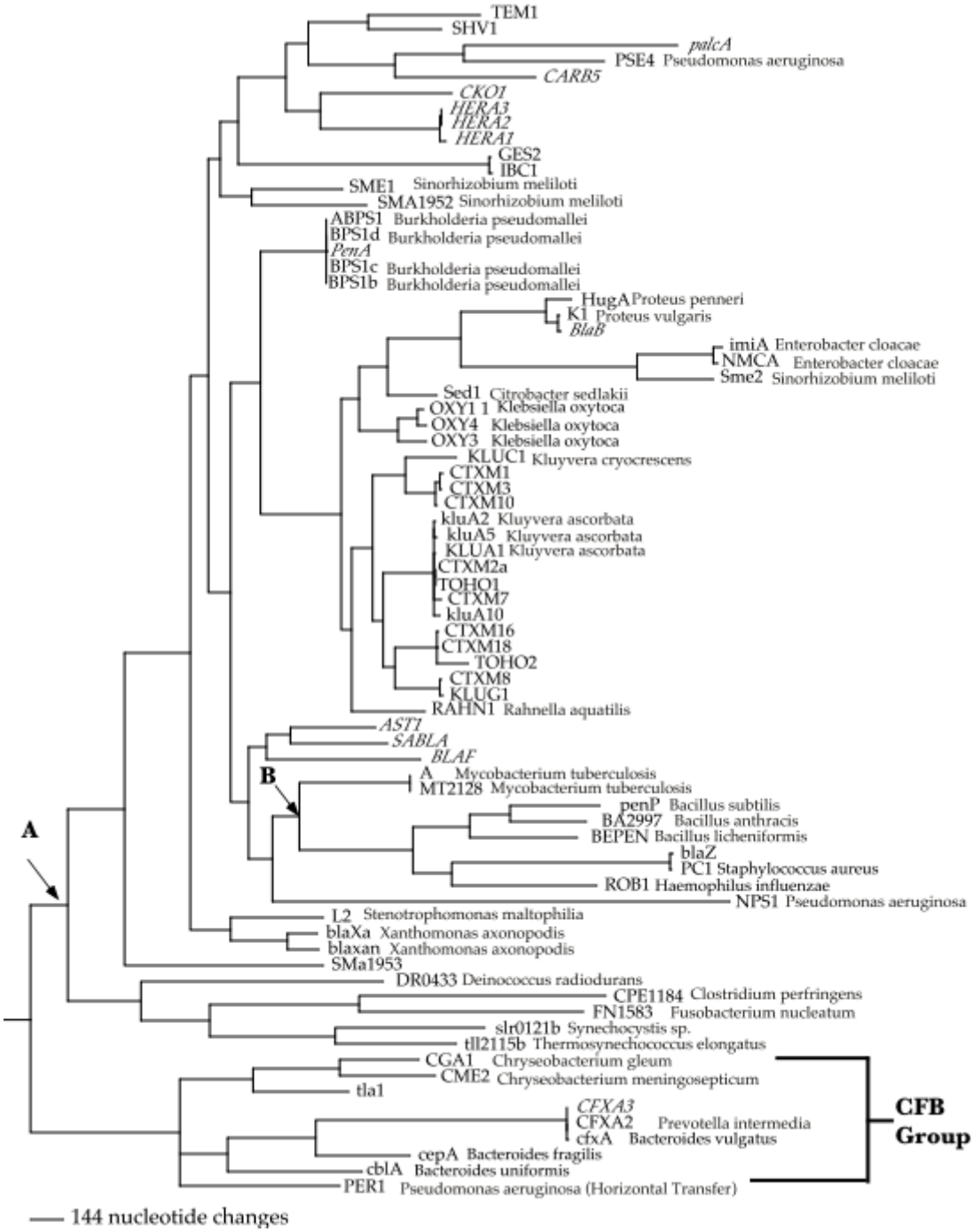
[120] **A. Leavitt, S. Navon-Venezia, I. Chmelnitsky, M.J. Schwaber, Y. Carmeli.** 2007. Emergence of KPC-2 and KPC-3 in Carbapenem-Resistant Klebsiella pneumoniae Strains in an Israeli Hospital. Antimicrob. Agents Chemother. **51:**3026-3029

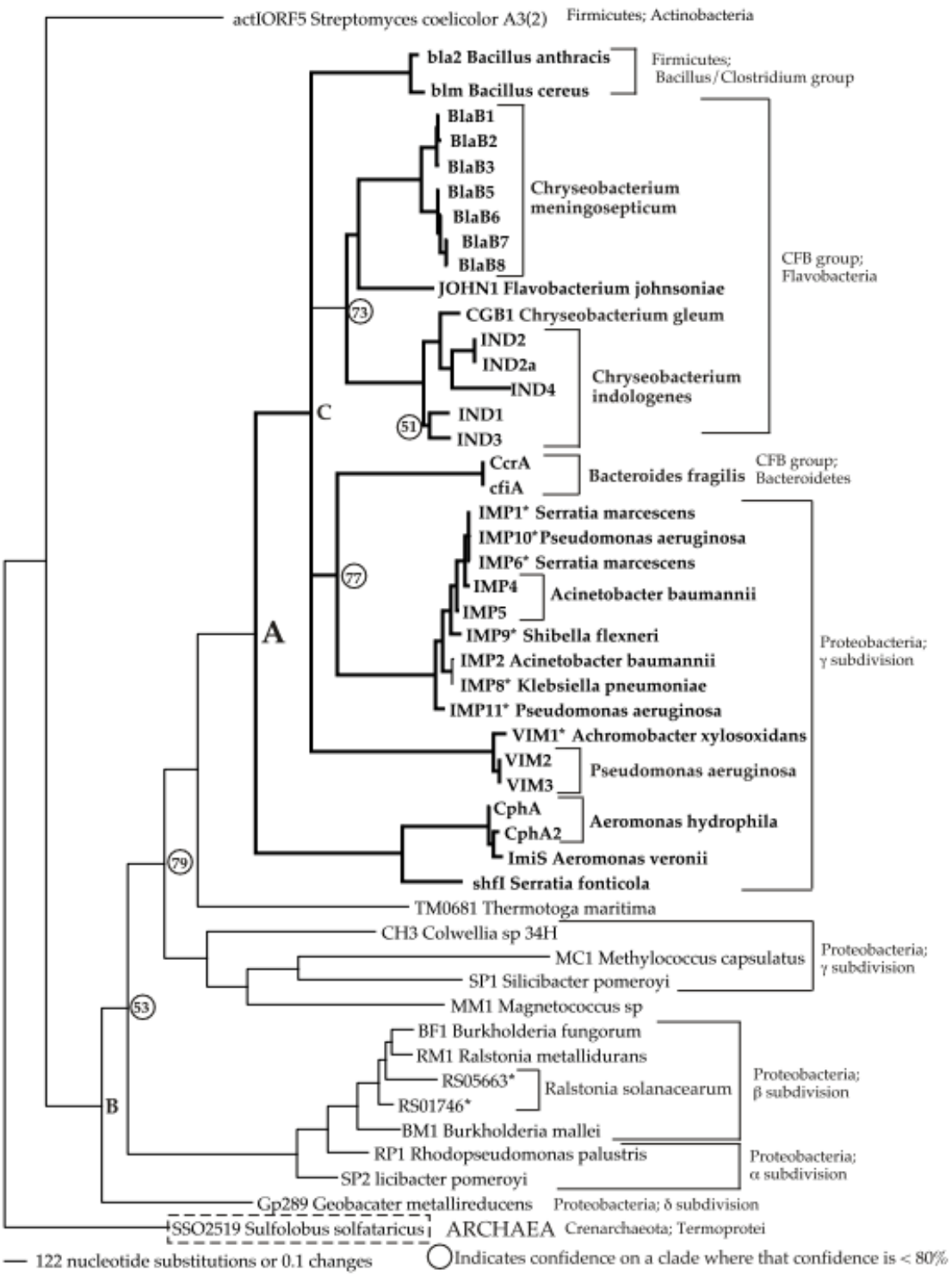
[121] **D.C. Hooper.** 2001. Emerging Mechanisms of Fluoroquinolone Resistance. Emerg. Inf. Dis. **7:**337-341

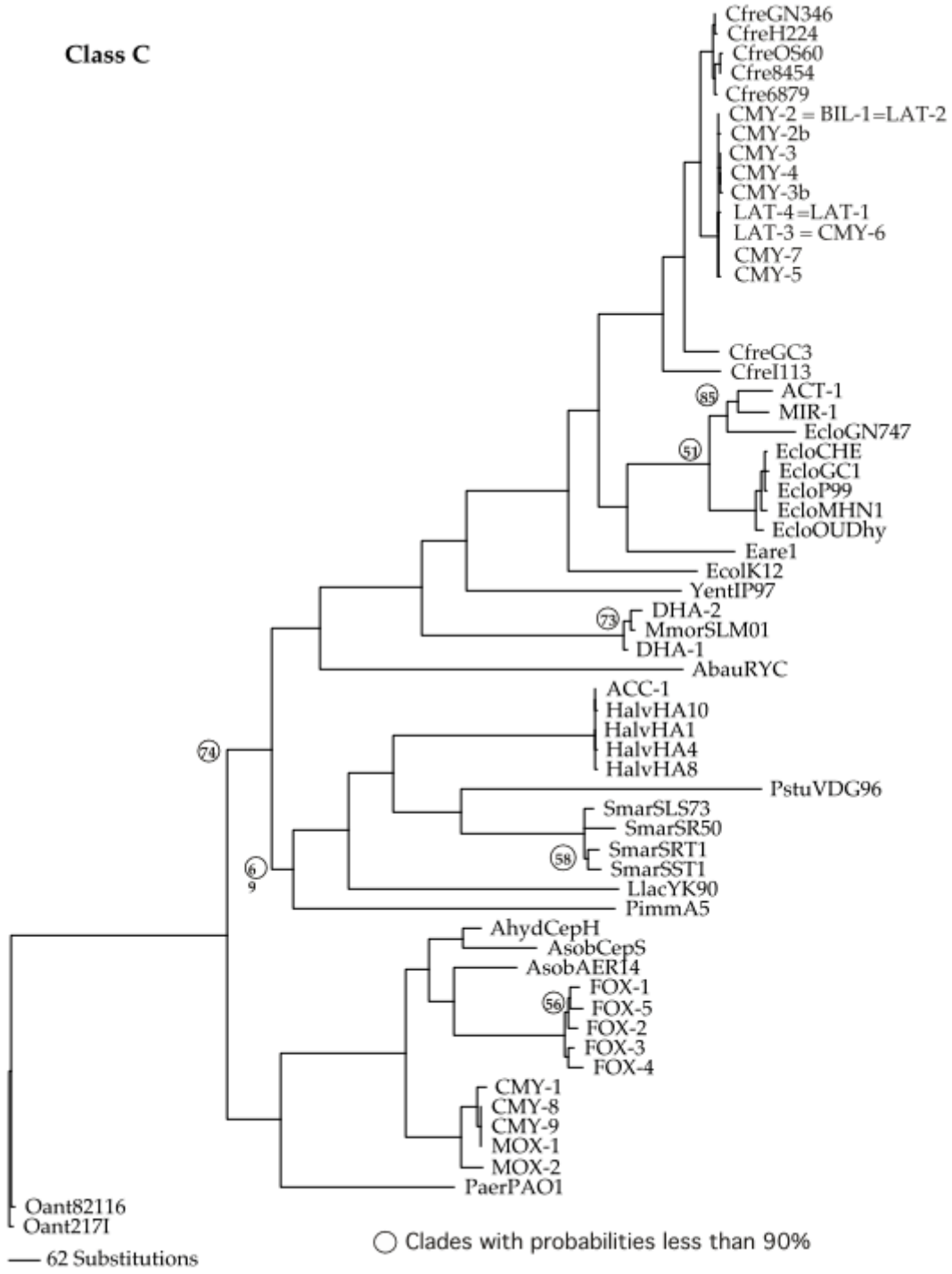
[122] **A.M. George, R.M. Hall, H.W. Stokes.** 1995. Multidrug resistance in Klebsiella pneumoniae: a novel gene, ramA, confers a multidrug resistance phenotype in Escherichia coli. Microbiol. **141:**1909-1920

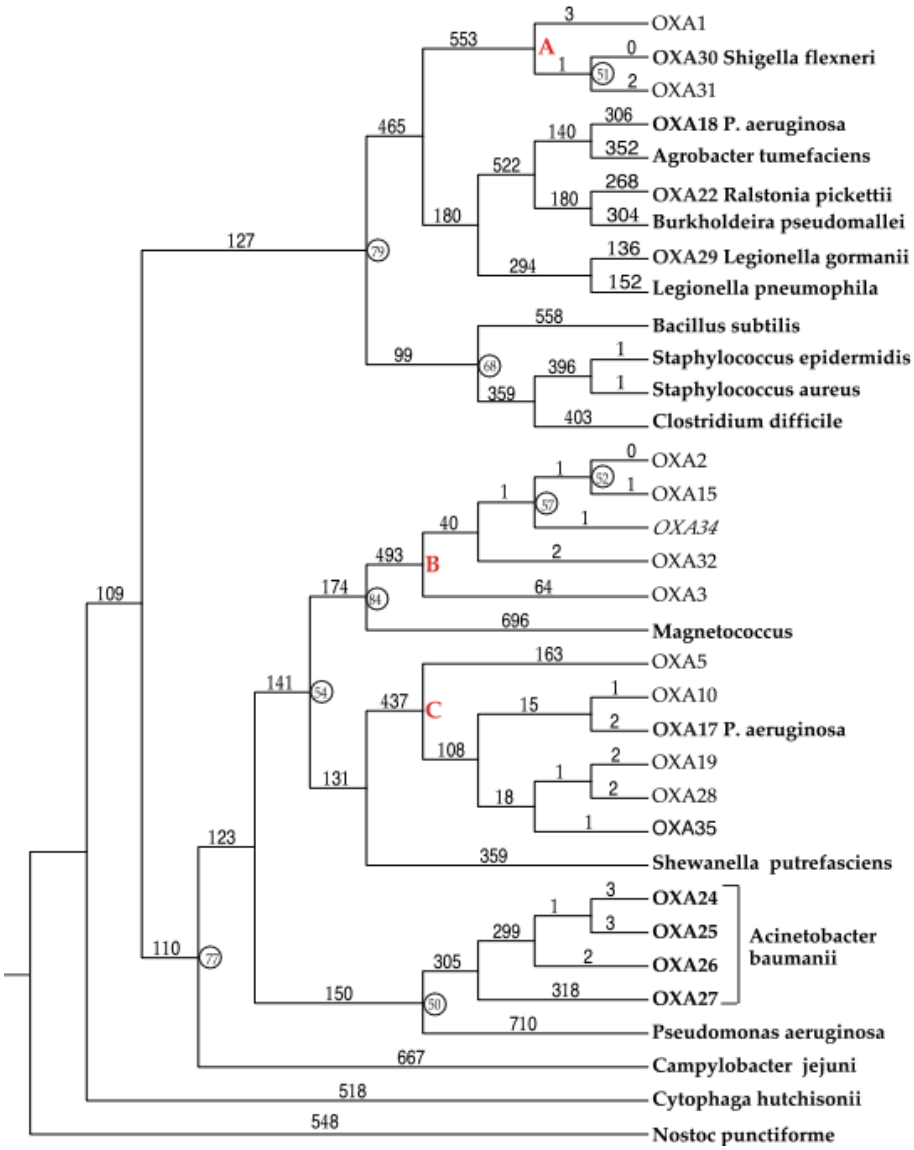
[123] **E. Hernández-Urzúa, D.S. Zamorano-Sánchez, J. Ponce-Coria, E. Morett, S. Grogan, R.K. Poole, J. Membrillo-Hernández.** 2007. Multiple regulators of the Flavohaemoglobin (hmp) gene of Salmonella enterica serovar Typhimurium include RamA, a transcriptional regulator conferring the multidrug resistance phenotype. Arch. Microbiol. **187:**67-77

[124] http://www.rivm.nl/vtv/object_class/kom_prevantibiotres.html


TEM1
SHV1
palcA
PSE4 Pseudomonas aeruginosa
CARB5
CKO1
HERA3
HERA2
HERA1
GES2
IBC1
SME1 Sinorhizobium meliloti
SMA1952 Sinorhizobium meliloti
ABPS1 Burkholderia pseudomallei
BPS1d Burkholderia pseudomallei
PenA
BPS1c Burkholderia pseudomallei
BPS1b Burkholderia pseudomallei
HugA Proteus penneri
K1 Proteus vulgaris
BlaB
imiA Enterobacter cloacae
NMCA Enterobacter cloacae
Sme2 Sinorhizobium meliloti
Sed1 Citrobacter sedlakii
OXY1 1 Klebsiella oxytoca
OXY4 Klebsiella oxytoca
OXY3 Klebsiella oxytoca
KLUC1 Kluyvera cryocrescens
CTXM1
CTXM3
CTXM10
kluA2 Kluyvera ascorbata
kluA5 Kluyvera ascorbata
KLUA1 Kluyvera ascorbata
CTXM2a
TOHO1
CTXM7
kluA10
CTXM16
CTXM18
TOHO2
CTXM8
KLUG1
RAHN1 Rahnella aquatilis
AST1
SABLA
BLAF
B
A Mycobacterium tuberculosis
MT2128 Mycobacterium tuberculosis
penP Bacillus subtilis
BA2997 Bacillus anthracis
BEPEN Bacillus licheniformis
blaZ
PC1 Staphylococcus aureus
ROB1 Haemophilus influenzae
NPS1 Pseudomonas aeruginosa
A
L2 Stenotrophomonas maltophilia
blaXa Xanthomonas axonopodis
blaxan Xanthomonas axonopodis
SMa1953
DR0433 Deinococcus radiodurans
CPE1184 Clostridium perfringens
FN1583 Fusobacterium nucleatum
slr0121b Synechocystis sp.
tll2115b Thermosynechococcus elongatus
CGA1 Chryseobacterium gleum
CME2 Chryseobacterium meningosepticum
tla1
CFXA3
CFXA2 Prevotella intermedia
cfxA Bacteroides vulgatus
cepA Bacteroides fragilis
cblA Bacteroides uniformis
PER1 Pseudomonas aeruginosa (Horizontal Transfer)
CFB Group
144 nucleotide changes


actIORF5 Streptomyces coelicolor A3(2)
Firmicutes; Actinobacteria
bla2 Bacillus anthracis
blm Bacillus cereus
Firmicutes; Bacillus/Clostridium group
BlaB1
BlaB2
BlaB3
BlaB5
BlaB6
BlaB7
BlaB8
Chryseobacterium meningosepticum
JOHN1 Flavobacterium johnsoniae
CFB group; Flavobacteria
73
CGB1 Chryseobacterium gleum
IND2
IND2a
IND4
Chryseobacterium indologenes
C
51
IND1
IND3
CcrA
cfiA
Bacteroides fragilis
CFB group; Bacteroidetes
IMP1* Serratia marcescens
IMP10* Pseudomonas aeruginosa
IMP6* Serratia marcescens
77
IMP4
IMP5
Acinetobacter baumannii
A
IMP9* Shibella flexneri
IMP2 Acinetobacter baumannii
IMP8* Klebsiella pneumoniae
IMP11* Pseudomonas aeruginosa
Proteobacteria; γ subdivision
VIM1* Achromobacter xylosoxidans
VIM2
VIM3
Pseudomonas aeruginosa
CphA
CphA2
Aeromonas hydrophila
ImiS Aeromonas veronii
79
shfI Serratia fonticola
TM0681 Thermotoga maritima
CH3 Colwellia sp 34H
MC1 Methylococcus capsulatus
SP1 Silicibacter pomeroyi
Proteobacteria; γ subdivision
53
MM1 Magnetococcus sp
BF1 Burkholderia fungorum
RM1 Ralstonia metallidurans
RS05663*
RS01746*
Ralstonia solanacearum
Proteobacteria; β subdivision
B
BM1 Burkholderia mallei
RP1 Rhodopseudomonas palustris
SP2 licibacter pomeroyi
Proteobacteria; α subdivision
Gp289 Geobacater metallireducens
Proteobacteria; δ subdivision
SSO2519 Sulfolobus solfataricus
ARCHAEA
Crenarchaeota; Termoprotei
122 nucleotide substitutions or 0.1 changes
Indicates confidence on a clade where that confidence is < 80%


Class C
CfreGN346
CfreH224
CfreOS60
Cfre8454
Cfre6879
CMY-2 = BIL-1=LAT-2
CMY-2b
CMY-3
CMY-4
CMY-3b
LAT-4=LAT-1
LAT-3 = CMY-6
CMY-7
CMY-5
CfreGC3
CfreI113
85
ACT-1
MIR-1
EcloGN747
51
EcloCHE
EcloGC1
EcloP99
EcloMHN1
EcloOUDhy
Eare1
EcolK12
YentIP97
73
DHA-2
MmorSLM01
DHA-1
AbauRYC
ACC-1
HalvHA10
HalvHA1
HalvHA4
HalvHA8
74
PstuVDG96
SmarSLS73
SmarSR50
58
SmarSRT1
SmarSST1
6
9
LlacYK90
PimmA5
AhydCepH
AsobCepS
AsobAER14
56
FOX-1
FOX-5
FOX-2
FOX-3
FOX-4
CMY-1
CMY-8
CMY-9
MOX-1
MOX-2
PaerPAO1
Oant82116
Oant217I
62 Substitutions
Clades with probabilities less than 90%


OXA1
OXA30 Shigella flexneri
OXA31
OXA18 P. aeruginosa
Agrobacter tumefaciens
OXA22 Ralstonia pickettii
Burkholdeira pseudomallei
OXA29 Legionella gormanii
Legionella pneumophila
Bacillus subtilis
Staphylococcus epidermidis
Staphylococcus aureus
Clostridium difficile
OXA2
OXA15
OXA34
OXA32
OXA3
Magnetococcus
OXA5
OXA10
OXA17 P. aeruginosa
OXA19
OXA28
OXA35
Shewanella putrefasciens
OXA24
OXA25
OXA26
OXA27
Acinetobacter baumanii
Pseudomonas aeruginosa
Campylobacter jejuni
Cytophaga hutchisonii
Nostoc punctiforme
A
B
C

Enzym	Type	Antitioticaresistentie	Land waar enzym is geïdentificeerd	Referentie
		β-lactamases		
Klasse A	TEM-1	-	Tunesië, Zuid-Afrika, Verenigde Staten	[6],[16],[23]
		-	Taiwan	[67]
	TEM-2	Cefoperazone-sulbactam*	Verenigde Staten	[32]
	TEM-26	Ceftazidime, aztreonam	Verenigde Staten	[69]
	TEM-52	Moxalactam	Frankrijk	[28]
	SHV-1	Cefalotine (zwak)*	Frankrijk, Verenigd Koninkrijk	[10], [70]
	SHV-2	Cefotaxime, ceftazidime, aztreonam	Frankrijk	[10]
	SHV-3	Ceftazidime	Frankrijk	[10]
	SHV-5	-	Nederland, Zuid-Afrika, Frankrijk	[14],[16],[39]
		Cefotaxime, cefoxitine*	Verenigde Staten, Taiwan	[71],[117]
	SHV-12	Aztreonam	Taiwan	[67][117]
	SHV-13	Cefotaxime	Nederland	[33]
	SHV-18	Cefotaxime en andere oxyimino-β-Lactams	Verenigde Staten	[24]
	SHV-23	-	Zuid-Afrika	[16]
	SHV-29	-	Verenigde Staten	[23]
	CTX-M-15	-	Tunesië	[6]
	GES-1	Oxyimino-β-Lactams (vooral ceftazidime)	Frans Guinea	[29]
	KPC-1	Carbapenems, penicillines, cefalosporines, aztreonam	Verenigde Staten	[23]
	KPC-2	Carbapenems	Verenigde Staten, Israël	[31],[120]
	KPC-3	Carbapenems, ceftazidime, gentamicine	Verenigde Staten, Israël	[20],[120]
Klasse B (Metallo-β-lactamases)	IMP-8	-	Taiwan	[67]
	VIM-1	-	Frankrijk, Griekenland	[39],[4]
	VIM-4	-	Tunesië, Italië	[6],[38]
	VIM-5	-	Turkije	[78]
Klasse C (Cefalosporinases)	CMY-1	Cefoxitine	Zuid Korea	[37]
	CMY-4	-	Tunesië	[6]
	CMY-8	-	Taiwan	[117]
	ACT-1	Cefoxitine, cefotetan, (imipenem)*	Verenigde Staten	[21]
	ACC-1	-	Duitsland	[26]
	MIR-1	Cefoxitine, ceftibuten, aztreonam, cefotaxime, ceftazidim	Verenigde Staten	[73]
	FOX-1	-	Argentinië	[68]
	FOX-5	-	Verenigde Staten	[35][36]
	MOX-1	Breedspectrum β-lactams	Japan	[72]
	LAT-1	-	Griekenland	[74]
	DHA-1	-	Taiwan	[115]
	DHA-2	-	Frankrijk	[116]
	DHA-3	Cefoxitine, cefotaxime, ceftazidime	Taiwan	[75]

* resistent i.c.m. verlaagde membraanpermeabiliteit
** resistent i.c.m. verhoogde expressie AdeABC effluxpomp

Gen enzym	Antitioticaresistentie	Land waar enzym is geïdentificeerd	Referentie
		Adenylyltransferases	
aadA2	Streptomycine	Nederland	[14]
aadB	Gentamycine	Nederland	[14]

Enzym	Type	Antitioticaresistentie	Land waar enzym is geïdentificeerd	Referentie
		β-lactamases		
Klasse A	TEM-1	Penicilline, ampicilline	Australië	[47]
	TEM-92		Italië	[113]
	SHV-5		Frankrijk	[90]
	SHV-12		China	[89]
	CTX-M-2		Japan	[108]
	PER-1		Turkije, Frankrijk, België	[109]
	PER-2		Verenigde Staten	[107]
	VEB-1	Alle β-lactams behalve carbapenems	Frankrijk	[61][65]
	SCO-1	Penicillines (sterk), Cefalosporines en	Argentinië	[102]
		Carbapenems (zwak)		
Klasse B (metallo-beta-lactamases)	IMP-2		Italië	[110]
	IMP-4	Carbapenems	China	[60]
	VIM-1		Griekenland	[43]
	VIM-2	Brede substraatspecifiteit, behalve colistin	Korea, Duitsland	[78],[111]
	SIM-1	Brede substraatspecifiteit, behalve aztreonam	Korea	[42]
		en piperacilline		
Klasse C (Cefalosporinases)	ADC-1		Spanje	[100]
	ADC-7		Verenigde Staten	[62]
Klasse D (Oxacillinases)	OXA-10	Alle β-lactams, behalve exteded-spectrum	Frankrijk	[61]
		cefalosporines en carbapenems		
	OXA-20	Amoxicilline, ticarcilline, oxacilline, cloxacilline	Italië	[114]
	OXA-23 (ARI-1)	Imipenem, meropenem**	Australië, Brazilië,	[47][64],[112]
			Verenigd Koninkrijk, Frankrijk	[56], [54]
	OXA-24	Carbapenems (zwak)*	Spanje	[84]
	OXA-25	Carbapenems (zwak)	Spanje	[52]
	OXA-26	Carbapenems (zwak)	België	[52]
	OXA-27	Carbapenems (zwak)	Singapore	[52]
	OXA-40	Carbapenems (zwak)**	Spanje, Frankrijk	[86],[54]
	OXA-51	Carbapenems (zwak)	Argentinië	[85]
	OXA-58	Penicillines, oxacillines, imipenem, behalve	Frankrijk	[88]
		extended-spectrum cefalosporines**		
	OXA-64		Zuid Afrika	[87]
	OXA-65		Argentinië	[87]
	OXA-66		Spanje, China, Singapore	[87]
	OXA-68		Spanje	[87]
	OXA-69	Carbapenems (zwak)	Singapore, Turkije	[87]
	OXA-70		China	[87]
	OXA-71		Zuid Afrika	[87]

* resistent i.c.m. verlaagde membraanpermeabiliteit
** resistent i.c.m. verhoogde expressie AdeABC effluxpomp

Enzym	Type	Antitioticaresistentie	Land waar enzym is geïdentificeerd	Referentie
		Acetyltransferases		
	aac3	Gentamycine	China	[48]
	aacC1	Gentamycine	Italië, Australië	[114]
	aac6	Alle aminoglycosides, behalve gentamycine	China	[48]
	aacA4	Alle aminoglycosides, behalve gentamycine	Italië	[114]
		Adenylyltransferases		
	aadA1	Spectinomycine, streptomycine	Australië, Korea, Italië	[47],[65],[114]
	aadDa1	Spectinomycine, streptomycine		[65]
	aadB	Gentamycine, kanamycine, tobramycine		[65]
		Fosfotransferases		
	aphA1	Amikacine, kanamycine	Japan, Australië	[98],[47]
	strA	Streptomycine	Data niet gegeven	[65]
	strB	Streptomycine	Australië	[47][65]
		Overig		
Dehydrofolaat reductases	*DHFR*	Trimethoprime	Australië	[47][65]
16S rRNA methylases	ArmA	Aminoglycosides	Zuid Korea	[50]