

Wytwarzanie beta-laktamaz o rozszerzonym spektrum substratowym (ESBL) przez bakterie występujące w żywności

BERNARD WASIŃSKI, HANNA RÓŻAŃSKA, JACEK OSEK

Zakład Higieny Żywności Pochodzenia Zwierzęcego Państwowego Instytutu Weterynaryjnego
– Państwowego Instytutu Badawczego, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Wasiński B., Różańska H., Osek J.

Production of extended spectrum beta-lactamases (ESBL) by bacteria present in food

Summary

Extended-spectrum beta-lactamases (ESBL) have recently been among the most frequent causes of antimicrobial resistance in bacterial strains from the family Enterobacteriaceae. Especially dangerous features of these enzymes are their diversity and ability to spread with plasmids among strains of the same bacterial species or between different species. ESBL-producing strains, found in the past mainly in nosocomial infections, now often cause community-acquired infections. The strains producing ESBL are also widespread among animals, which constitute reservoirs of these microbes and sources of infection in humans. An important path for transmission of these infections are most probably meat and meat products. This paper presents the current state of knowledge concerning the transmission of ESBL-producing Enterobacteriaceae from animals to humans via animal meat and meat products.

Keywords: Extended-spectrum beta-lactamases, ESBL, meat, meat products

Zjawisko oporności bakterii na antybiotyki znane jest i opisywane od czasu wprowadzenia do użytku tej grupy leków. Znaczne zróżnicowanie poznanych dotychczas mechanizmów oporności oraz pojawianie się wciąż nowych ich wariantów jest przyczyną wielu niepowodzeń terapeutycznych, jak też ciągłego zagrożenia związanego z możliwością rozprzestrzenienia szczepów opornych na znane obecnie antybiotyki.

Jednym z najwcześniej opisanych mechanizmów oporności był proces wytwarzania beta-laktamaz przez bakterie. Jest to grupa enzymów zdolnych do hydrolizowania wiązań amidowych w pierścieniu beta-laktamowym, wynikiem czego jest inaktywacja antybiotyku. Beta-laktamazy są zróżnicowaną grupą enzymów kodowanych przez geny zawarte w chromosomach bakteryjnych, lecz częściej w DNA plazmidów. Wytwarzanie tych enzymów stwierdzono u bakterii Gram-dodatnich, Gram-ujemnych i prątków. Wykrywano je również u promieniowców i sinic (26).

Najwcześniej odkrytą beta-laktamazą była penicylina. Opisujące ją doniesienia pojawiły się na początku lat czterdziestych ubiegłego wieku (1, 20, 26). W 1960 r. wprowadzono do obrotu metycylinę – półsyntetyczną penicylinę niewrażliwą na działanie peni-

cyliny, jednak już dwa lata po jej wprowadzeniu pojawiły się szczepy metycylinooporne (MRSA). Wprowadzanie do użytku kolejnych generacji antybiotyków beta-laktamowych skutkowało pojawianiem się, po krótszym lub dłuższym okresie stosowania, szczepów opornych na ich działanie. Oporność ta powodowana była w większości przypadków przez enzymy z grupy beta-laktamaz (25). Z upływem czasu zaobserwowano pojawianie się i coraz częstsze występowanie beta-laktamaz wykazujących aktywność w odniesieniu do grup bądź generacji antybiotyków. Do najbardziej znanych przedstawicieli tej grupy należą enzymy TEM-1, TEM-2 i SHV-1. Klasyczne beta-laktamazy wykazują zdolność hydrolizowania penicylin (z wyjątkiem temocyliny) oraz cefalosporyn I generacji, nie mają jednak zdolności inaktywowania cefalosporyn wyższych generacji z wyjątkiem cefoperazonu. Aktywność tej grupy enzymów jest skutecznie hamowana przez inhibitory beta-laktamaz, takie jak: kwas klawulanowy, sulbaktam i tazobaktam.

Od początku lat osiemdziesiątych ubiegłego wieku pojawiały się doniesienia opisujące przypadki izolowania Gram-ujemnych pałeczek wykazujących oporność o spektrum substratowym prezentowanym przez

klasyczne beta-laktamazy, poszerzoną jednak m.in. o zdolność hydrolizowania cefalosporyn wyższych generacji (22, 23, 32). Oporność taka generowana jest przez enzymy będące często powstałymi w wyniku mutacji pochodnymi TEM-1, TEM-2 i SHV-1, jak też inne enzymy, np. z rodzin oznaczonych jako OXA, CTX-M, VEB, PER i in. Ze względu na szerokie spektrum substratowe tę nową grupę enzymów określono nazwą beta-laktamazy o rozszerzonym spektrum (ESBL – extended-spectrum beta-lactamases). Oprócz zdolności hydrolizowania oksyiminocefalosporyn, która jest cechą charakterystyczną ESBL, enzymy wymienionej grupy generują oporność na monobaktamy (4, 11, 17, 36). Nie inaktywują natomiast karbapenemów, a wobec cefamycyn wykazują słabą aktywność (37). Wspomniane wyżej inhibitory beta-laktamaz hamują aktywność większości ESBL.

Charakterystyka ESBL

Beta-laktamazy o rozszerzonym spektrum kodowane są przez geny zlokalizowane w plazmidach. Cecha ta stanowi jedno z istotnych zagrożeń epidemiologicznych związanych z ESBL. Informacja genetyczna generująca ich ekspresję może być przekazywana bardzo szybko nie tylko wśród szczepów tego samego gatunku (np. między szczepami niepatogennymi i patogennymi), lecz również między różnymi, ważnymi z punktu widzenia etiologii zakażeń człowieka i zwierząt, drobnoustrojami z rodziny *Enterobacteriaceae* lub też przedstawicielami innych gatunków, np. pałeczek z rodzaju *Pseudomonas* czy *Acinetobacter*. Drugą, stwarzającą istotne zagrożenie cechą ESBL, jest ich znaczne zróżnicowanie. Jak wspomniano wyżej, wiele spośród enzymów grupy ESBL jest pochodnymi klasycznych beta-laktamaz z rodzin SHV i TEM. I tak, opisana jako pierwsza beta-laktamaza typu ESBL, oznaczona jako SHV-2, różniła się od prekursorowej, klasycznej beta-laktamazy SHV-1 tylko jedną punktową mutacją, w wyniku której glicyna w pozycji 213 została zastąpiona seryną. Zmiana ta pozwoliła na poszerzenie miejsca wiązania enzymu z antybiotykami beta-laktamowymi i w efekcie doprowadziła do uzyskania dla SHV-2 większego spektrum substratowego niż w przypadku SHV-1.

Z kolei beta-laktamazy z rodziny TEM stanowią obecnie wśród ESBL najbardziej zróżnicowaną grupę pod względem rodzajów enzymów. Dotychczas ich występowanie w Polsce odnotowywane jest stosunkowo rzadko (3). Ich geny różnią się od prekursorowych, klasycznych beta-laktamaz z rodziny TEM kilkoma (zwykle od 1 do 6) mutacjami punktowymi, które warunkują rozszerzenie spektrum substratowego m.in. na cefalosporyn wyższych generacji. Kilka enzymów tej rodziny wykazuje również oporność na niektóre spośród inhibitorów beta-laktamaz.

Inna, dominująca wśród ESBL rodzina to CTX-M. Enzymy te wywodzą się od beta-laktamaz niepatogen-

nych bakterii z rodzaju *Kluyvera* (34). W ostatnich kilkunastu latach zaobserwowano dynamiczne rozprzestrzenianie się różnych gatunków bakteryjnych wytwarzających enzymy tej rodziny, których określono do tej pory ok. 130 (8, 12, 19, 21, 27). Na podstawie podobieństwa sekwencji nukleotydowych zostały one podzielone na 5 podgrup oznaczonych jako CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9 i CTX-M-25. Beta-laktamazy CTX-M spotyka się głównie u drobnoustrojów rodziny *Enterobacteriaceae*, zwłaszcza u *Escherichia coli*, ale również u innych bakterii, np. *Pseudomonas aeruginosa* czy *Stenotrophomonas maltophilia*. Szczepy wytwarzające CTX-M-1 i CTX-M-9 są stosunkowo często izolowane w krajach Europy Zachodniej, zaś CTX-M-3 dominują w Europie Wschodniej. Na południu Europy izoluje się natomiast bakterie produkujące CTX-M-9 -14 -10, a na północy kontynentu dominują szczepy CTX-M-1 (8). Badania klinicznych izolatów *Enterobacteriaceae* pozyskanych w 17 szpitalach z 11 miast na terenie Polski wykazały najwięcej szczepów ESBL wytwarzających beta-laktamazę CTX-M-3. Wykryto również 3 szczepy wytwarzające nie stwierdzaną wcześniej w Polsce CTX-M-15 (3). Izolaty wytwarzające CTX-M-15 są ostatnio wysoce rozpowszechniane w wielu krajach Europy i poza nią (8). Uważa się, że rozprzestrzenianie to w istotnej części odbywa się dzięki przenoszeniu plazmidów z genami CTX-M-15 przez wywołujący zakażenia dróg moczowych, wysoce zjadliwy szczep *E. coli*, oznaczany jako C25b:H4-ST131 (9).

Zróżnicowanie enzymów CTX-M jest między innymi odzwierciedleniem różnic ich aktywności wobec poszczególnych substratów. Cechą omawianej rodziny jest zdolność efektywnej hydrolizy cefatoksymu, stąd oznaczenie (CTX – cephalotaximase), jednak niektórzy jej przedstawiciele (np. CTX-M-15) wykazują zwiększoną, w porównaniu z innymi, zdolność hydrolizy innej cefalosporyny III generacji – ceftazydymu. Podobne zróżnicowanie aktywności wobec poszczególnych cefalosporyn III generacji obserwowano również w przypadku beta-laktamaz ESBL z rodziny TEM.

Niepokojącym zjawiskiem, obserwowanym w dość znacznym stopniu wśród szczepów wytwarzających beta-laktamazę CTX-M, jest stosunkowo częste pojawianie się wielooporności, tzn. łącznego występowania oporności na różne grupy antybiotyków z zakresu spektrum substratowego beta-laktamaz oraz na należące do innych grup. Jedną z istotnych przyczyn jest łączne występowanie w tych samych plazmidach genów CTX-M oraz markerów innych beta-laktamaz i/lub genów warunkujących oporność na inne grupy antybiotyków. Badania przeglądowe przeprowadzone m.in. w Grecji, Hiszpanii, Izraelu, Kanadzie, Wielkiej Brytanii i we Włoszech wykazały występowanie u szczepów wytwarzających CTX-M dodatkowo oporności na tetracykliny, gentamycynę i ciprofloksacyne (34). Wielooporność odnotowywana była również

u szczepów wytwarzających ESBL zaliczane do innych rodzin, lecz zjawiska te występują rzadziej niż w przypadku izolatów wytwarzających CTX-M. Jest prawdopodobne, że częste występowanie genów beta-laktamaz CTX-M, łącznie z genami warunkującymi oporność na inne grupy antybiotyków, znacznie przyczyniło się do rozprzestrzenienia genów wymienionej rodziny.

Kolejna rodzina ESBL, oznaczona jako PER (*Pseudomonas Extended Resistance*), zawiera enzymy warunkujące wysoki poziom oporności na ceftazydym, zaś zdecydowanie niższy dla pozostałych cefalosporyn oraz penicylin. Dotychczas opisano 7 odmian tych enzymów. Pierwsze spośród zidentyfikowanych PER wytwarzane były przez szczepy z rodzaju *Pseudomonas*, lecz obecnie wiadomo, że mogą też być produkowane przez bakterie z rodzajów *Salmonella*, *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Proteus* (29).

Rodzina enzymów oznaczona jako VEB wykazuje niewielką homologię do pozostałych beta-laktamaz o rozszerzonym spektrum. Stosunkowo największe podobieństwo (około 38%) łączy przedstawicieli VEB z niektórymi beta-laktamazami z rodziny PER (35). Znanych jest obecnie 7 typów enzymów VEB. Szczepy wytwarzające VEB izolowane były w południowej Azji i w Europie. Wytwarzanie VEB stwierdzano u *E. coli* oraz m.in. szczepów z rodzaju *Acinetobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Pseudomonas* (29).

Niektórzy autorzy wymieniają wśród ESBL rodzinę OXA (25, 37). Jest to grupa o dość zróżnicowanych cechach, obejmująca ok. 250 enzymów, które posiadają zdolności hydrolizowania oksacyliny (stąd nazwa od oxacillinase) i kloksacyliny. Ich aktywność może być w nieznacznym stopniu hamowana przez kwas klawulanowy. Wiele spośród enzymów rodziny OXA jest karbapenemazami, jednak bez zdolności hydrolizowania cefalosporyn. Część jest wyłącznie oksacylinazami, zaś jedynie 16 z całej grupy wykazuje cechy fenotypowe ESBL (hydroliza cefalosporyn).

Oprócz wspomnianych rodzin znany jest jeszcze szereg rzadziej występujących enzymów posiadających właściwości ESBL, wytwarzanych głównie przez bakterie Gram-ujemne. Przykładami takich ESBL są: BEL, BES, GES, SFO czy TLA (25). Enzymy te nie są odmianami znanych dotychczas beta-laktamaz, a pochodzenie większości z nich pozostaje nieokreślone. Wszystkie one zdolne są do hydrolizowania, z różną aktywnością, poszczególnych grup cefalosporyn. Niektóre z nich wykazują też mniejszą lub większą oporność na działanie inhibitorów beta-laktamaz.

Wymienione grupy enzymów zaliczane do ESBL stanowią tylko część szerokiego wachlarza beta-laktamaz. W klasyfikacji beta-laktamaz opartej na właściwościach struktury molekularnej zaliczane są one do grupy A, zaś w podziale biorącym pod uwagę profil substratowy i cechy funkcjonalne zaliczane są do podgrup 2be i 2de (2, 5, 6).

Występowanie w żywności szczepów wytwarzających ESBL

Pierwsze izolaty bakteryjne wytwarzające ESBL stwierdzono u ludzi w zakażeniach szpitalnych. Presja powodowana powszechnym stosowaniem antybiotyków stwarzała warunki do ich selekcji i namnażania. Opisano wiele przypadków poważnych zakażeń z udziałem drobnoustrojów zdolnych do wytwarzania ESBL (15, 31, 33). Ostatnio coraz częściej problem zaczynają stanowić zakażenia pozaszpitalne, zwłaszcza szczepy wytwarzające beta-laktamazy z rodziny CTX-M (8, 33, 34, 36).

Oprócz zakażeń wywoływanych przez szczepy ESBL u ludzi, coraz częściej odnotowuje się je ostatnio również u zwierząt. Przypadki izolacji szczepów *E. coli* wykazujących zdolności wytwarzania ESBL opisano zarówno u zwierząt udomowianych (10, 14, 16), jak i żyjących na wolności (18). Wyniki badań wskazują na zwierzęta jako istotny rezerwuuar szczepów *Enterobacteriaceae* wytwarzających ESBL oraz jako potencjalne źródło zakażenia dla człowieka (7). W związku z tym coraz więcej uwagi poświęca się obecności wymienionych szczepów w mięsie i produktach żywnościowych zwierzęcego pochodzenia. Szersze badania w tym zakresie rozpoczęto stosunkowo niedawno, zaledwie kilka lat temu. Ich wyniki sugerują możliwość transmisji szczepów wytwarzających ESBL od zwierząt na ludzi za pośrednictwem pożywkanej z nich żywności, jednak dotychczas niewiele jest publikacji zawierających dane mogące jednoznacznie potwierdzać tę drogę szerzenia zakażeń wymienionymi szczepami (30).

Autorzy holenderscy (24) porównali występowanie genów ESBL, przenoszących je plazmidów i genotypów szczepów *E. coli* izolowanych z próbek pobranych od drobiu oraz z zakupionego w sklepach mięsa drobiowego ze szczepami izolowanymi od ludzi. W oparciu o badanie drobiu i mięsa określono panel sześciu genów beta-laktamaz „związanych z drobiem” (*poultry associated – PA*). Następnie zbadano, w jakim zakresie i z jaką częstotliwością geny te występują wśród izolatów *E. coli* pozyskanych od ludzi. Stwierdzono, że 35% *E. coli* pochodzących od ludzi zawierało geny ESBL należące do grupy określonej jako PA. Wykazano, że u 19% tych szczepów geny ESBL-PA obecne były w plazmidach nie dających się pod względem molekularnym odróżnić od występujących u szczepów izolowanych od drobiu. Stwierdzono również, że spośród wszystkich markerów ESBL wykrytych u szczepów izolowanych od ludzi 86% stanowiły geny CTX-M-1 i TEM-52. W przypadku szczepów *E. coli* pochodzących od drobiu geny te stanowiły 77%, a u izolatów z mięsa drobiowego 75%. Ogółem 94% próbek mięsa drobiowego w omawianych badaniach zanieczyszczonych było szczepami *E. coli* wytwarzającymi ESBL. Natomiast 39% z tych szcze-

pów wykazywało genotypy obecne również w *E. coli* izolowanych od ludzi.

Częste występowanie szczepów wytwarzających ESBL u drobiu i w mięsie drobiowym odnotowywane było również przez innych autorów (16, 30). Jednym z zasadniczych powodów tego zjawiska wydaje się stosowanie w fermach brojlerów znacznych ilości antybiotyków. Istotnym faktem jest też wspomniane znaczące podobieństwo genomu szczepów wytwarzających ESBL izolowanych od ludzi i drobiu (24). Stwierdzono m.in., że pochodzące od drobiu wysoce zjadliwe szczepy *E. coli* oznaczane jako O25b:H4-ST131 i O25a-ST648-D przenoszące geny beta-laktamaz rodziny CTX-M były genetycznie identyczne ze szczepami izolowanymi z przypadków chorobowych ludzi (28, 39). Fakty te mogą stanowić pośrednie dowody przeniesienia genów ESBL za pośrednictwem mięsa drobiowego na ludzi.

Informacje dotyczące występowania szczepów ESBL u drobiu pochodzą też z badań przeprowadzonych w Hiszpanii z wykorzystaniem mięsa i wyrobów wołowych, wieprzowych i drobiowych (30). Stwierdzono obecność izolatów wytwarzających ESBL u drobnoustrojów z rodziny *Enterobacteriaceae* w przypadku 55-84% badanych próbek. Wyizolowane szczepy najczęściej wykazywały zdolność produkcji CTX-M-14, CTX-M razem z TEM oraz SHV-12. Wśród wszystkich pozyskanych szczepów ESBL dominującą grupę (71%) stanowiły izolaty z gatunku *E. coli*. Stwierdzono, że o ile w ponad 50% zanieczyszczonych próbek liczba bakterii nie przekraczała 100 komórek/g, to w przypadku ponad 14% próbek przekraczała ona 1000 komórek/g, co może stwarzać zagrożenie dla konsumenta nawet po obróbce termicznej danego wyrobu (30). W konkluzji autorzy stwierdzili, że znaczny stopień zanieczyszczenia badanych próbek szczepami wytwarzającymi ESBL sugeruje możliwość transferu genów oporności z drobnoustrojami występującymi u zwierząt za pośrednictwem żywności na ludzi.

Geser i wsp. (16) zbadali 334 próbki kału bydła, owiec, świń i drobiu oraz 104 próbki mięsa mielonego (wołowiny i wieprzowiny) i 100 próbek mleka surowego. Występowanie szczepów wytwarzających ESBL, głównie *E. coli*, stwierdzono w kale każdego z gatunków (drób – 63,4%, świnię – 15,3%, bydło – 13,7%, owce – 8,6%), natomiast ich obecności nie wykryto w żadnej próbce mięsa ani mleka. Autorzy tłumaczą takie wyniki efektem wysokich standardów higienicznych utrzymywanych w szwajcarskich rzeźniach, zakładach przetwórczych oraz mleczarniach. Podkreślono jednak, że dość liczne występowanie szczepów ESBL u zwierząt stwarza ryzyko zanieczyszczenia pochodzących od nich produktów żywnościowych i wymaga zachowania najwyższych standardów higienicznych podczas uboju oraz doju mleka (16).

Niejasności związane z możliwością przeniesienia szczepów wytwarzających ESBL za pośrednictwem

żywności dotyczą również tego problemu w aspekcie geograficznym. Międzynarodowy obrót żywnością potencjalnie stwarza znaczne ułatwienia dla przeniesienia tych czynników ze stref, gdzie występują one częściej do rejonów, w których dotychczas pojawiały się sporadycznie. W Szwecji przeprowadzono badania dotyczące występowania szczepów ESBL w żywności pochodzącej z tego kraju (34 próbki) oraz importowanej z państw śródziemnomorskich (385 próbek), wśród których były wyroby z mięsa wołowego, wieprzowego, mięsa kaczek, ryb, jak również różne sałatki mięsno-roślinne oraz żywność pochodzenia roślinnego (38). Próbki żywności szwedzkiej obejmowały mięso wołowe i drobiowe. Szczepy różnych rodzajów *Enterobacteriaceae* izolowano łącznie z 311 próbek żywności importowanej i 33 pochodzących ze Szwecji. Żaden z izolatów nie posiadał jednak zdolności wytwarzania ESBL. Wskazano w związku z tym wniosek, że obserwowane w ostatnich kilku latach częstsze pojawianie się na terenie Szwecji szczepów ESBL jest wynikiem raczej rozprzestrzenienia ich przez podróżujące osoby zakażone niż rezultatem przeniesienia tych izolatów za pośrednictwem importowanej żywności. Autorzy tych badań zwracają jednak uwagę, że wykonano je zimą na przełomie lat 2007-2008, natomiast wzrost częstości występowania szczepów wytwarzających ESBL w Szwecji obserwowano po roku 2008.

Epidemiologia szczepów wytwarzających ESBL jest zagadnieniem kompleksowym. Przy jej rozpatrywaniu bierze się pod uwagę częstość występowania drobnoustrojów w danym regionie geograficznym czy kraju, jak też możliwość transmisji w danej społeczności, szpitalu czy między poszczególnymi zakażonymi osobami (wykazującymi objawy choroby lub bezobjawowymi nosicielami). Określane są też potencjalne rezerwuary zakażeń, zarówno środowiskowe (np. gleba, woda), jak i zwierzęce (zwierzęta żyjące na wolności, udomowione, towarzyszące). Rozpatruje się wreszcie możliwe drogi transmisji tych szczepów na człowieka, np. za pośrednictwem wody, żywności czy przez bezpośredni kontakt ludzi ze zwierzętami lub na drodze człowiek – człowiek. Dokładne prześledzenie i jednoznaczne wykazanie powiązań między poszczególnymi wymienionymi czynnikami wymaga obecnie dalszych badań. Celem potwierdzenia transmisji szczepów ESBL ze zwierząt za pośrednictwem żywności na ludzi konieczne jest wykazanie pokrewieństwa genów i/lub plazmidów i/lub klonów bakterii wraz z danymi ilościowymi dotyczącymi ich występowania u zwierząt rzeźnych, w żywności, u konsumentów i pacjentów. Takie wskazanie związków epidemiologicznych między poszczególnymi wymienionymi etapami może być więc, mimo dostępnych obecnie metod biologii molekularnej, utrudnione ze względów organizacyjnych. Stąd być może kwestia możliwości przekazywania zakażeń szczepami ESBL

od zwierząt za pośrednictwem żywności na ludzi oczekuje wciąż na ostateczne udowodnienie. Ostatnia opinia naukowa Europejskiego Urzędu ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) (13) w tym zakresie stwierdza, że istniejące dane dostarczają pośrednich dowodów dotyczących występowania transmisji szczepów *E. coli* wytwarzających ESBL ze zwierząt rzeźnych za pośrednictwem żywności na ludzi.

Piśmiennictwo

1. Abraham E. P., Chain E.: An enzyme from bacteria able to destroy penicillin. *Nature* 1940, 146, 837.
2. Ambler R. P.: The structure of beta-lactamases. *Philosoph. Trans. Royal Soc. of London B.* 1980, 289, 321-331.
3. Baraniak A.: Epidemiologia molekularna i ewolucja szczepów Enterobacteriaceae wytwarzających β -laktamazy o rozszerzonym spektrum substratowym (ESBL) w Polsce. Praca dokt. Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, Warszawa 2010.
4. Bradford P. A.: Extended-spectrum β -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin. Microbiol. Rev.* 2001, 14, 933-951.
5. Bush K., Jackoby G. A.: Updated functional classification of beta-lactamases. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2010, 54, 969-976.
6. Bush K., Jacoby G. A., Medeiros A. A.: A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1995, 39, 1211-1233.
7. Carattoli A.: Animal reservoirs for extended spectrum beta-lactamase producers. *Clin. Microbiol. Infect.* 2008, 14 (Suppl. 1), 117-123.
8. Coque T. M., Baquero T. M., Canton R.: Increasing prevalence of ESBL-producing Enterobacteriaceae in Europe. *Eurosurveillance* 2008, 13, no. 47.
9. Coque T. M., Novais A., Carattoli A., Poirel L., Pitout J., Peixe L., Baquero F., Canton R., Nordmann P.: Dissemination of clonally related *Escherichia coli* strains expressing extended-spectrum beta-lactamase CTX-M-15. *Emerg. Infect. Dis.* 2008, 14, 195-200.
10. Derikx C. M., van Duijkeren E., Schoormans A. H., van Essen-Zandbergen A., Veldman K., Kant A., Huijsdens X. W., van der Zwaluw K., Wagenaar J. A., Mevius D. J.: Occurrence and characteristics of extended-spectrum β -lactamase- and Amp C-producing clinical isolates derived from companion animals and horses. *J. Antimicrob. Chemother.* 2012, 67, 1368-1374.
11. Dzierżanowska D., Pawińska A., Kamińska W., Patzer J.: Lekooporne drobnoustroje w zakażeniach szpitalnych. *Post. Mikrobiol.* 2004, 43, 81-105.
12. Essack F. Y., Hall M. L. C., Pillay D. G., McFadyen M. L., Livermore D. M.: Complexity and diversity of *Klebsiella pneumoniae* strains with extended spectrum β -lactamases isolated in 1994 and 1996 at a teaching hospital in Durban, South Africa. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2001, 45, 88-95.
13. European Food Safety Authority: Scientific Opinion on the public health risks of bacterial strains producing extended-spectrum β -lactamases and/or Amp C β -lactamases in food and food-producing animals. *EFSA Journal* 2011, 9, 2322.
14. Ewers C., Bethe A., Semmler T., Guenther S., Wieler L. H.: Extended spectrum β -lactamase-producing and Amp C-producing *Escherichia coli* from livestock and companion animals and their putative impact on public health a global perspective. *Clin. Microbiol. Infect.* 2012, 18, 646-655.
15. Falagas M. E., Karageorgopoulos D. E.: Extended spectrum β -lactamase-producing organisms. *J. Hospit. Infect.* 2009, 73, 345-354.
16. Geser N., Stephan R., Hächler H.: Occurrence and characteristics of extended spectrum β -lactamase (ESBL) producing Enterobacteriaceae in food producing animals, minced meat and raw milk. *BMC Vet. Res.* 2012, 8, 21.
17. Gniadkowski M.: Ewolucja i epidemiologia szczepów pałeczek z rodziny Enterobacteriaceae wytwarzających β -laktamazy o rozszerzonym spektrum substratowym (ES β L) w Polsce. Praca hab. Akademia Medyczna, Warszawa 2003.
18. Guenther S., Ewers C., Wieler L. H.: Extended-spectrum beta-lactamases producing in wildlife: yet another form of environmental pollution? *Front. Microbiol.* 2011, 2, 246.
19. Havkey P. M.: Prevalence and clonality of extended spectrum β -lactamases in Asia. *Clin. Microbiol. Infect.* 2008, 14, 159-165.
20. Hächler H.: Antibiotic resistance emerging along the food chain, for example MRSA and ESBL. *Proc. Max Rubner Conference October 8-12, 2012, Karlsruhe, Germany*, s. 19.
21. Khalaf N. G., Eleteby M. M., Hanson N. D.: Characterization of CTX-M ESBLs in *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates from Cairo, Egypt. *BMC Infect. Dis.* 2009, 9, 84.
22. Kleibe C., Nies B. A., Meyer J. F.: Evaluation of plasmid-closed resistance to broad spectrum cephalosporins. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1985, 28, 302-307.
23. Knothe H., Shah P., Kremery V., Antal M., Mitsuhashi S.: Transformable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. *Infection* 1983, 11, 315-317.
24. Leverstein-van Hall M. A., Dierikx C. M., Cohen Stuart J., Voets G. M., van den Munckhof M. P., van Essen-Zandbergen A., Platteel T., Fluit A. C., van de Sande-Bruiksma N., Scharinga J., Bonten M. J. M., Mevius D. J.: Dutch patients, retail chicken meat and poultry share the same ESBL genes, plasmids and strains. *Clin. Microbiol. Infect.* 2011, 17, 873-880.
25. Livermore D. M.: Defining an extended-spectrum β -lactamase. *Clin. Microbiol. Infect.* 2008, 14 Suppl. 1, 3-10.
26. Markiewicz Z., Kwiatkowski Z. A.: Bakterie antybiotyki lekooporność. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2001, s. 163 i 165.
27. Melano R. G., Davidson H. L., Musgrave H. L., Forward K. R.: Cephalosporin resistance in *Klebsiella pneumoniae* from Nova Scotia, Canada. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2006, 56, 197-205.
28. Mora A., Herrera A., Mamani R., Lopez C., Alonso M. P., Blanco J. E., Blanco M., Dahbi G., Garcia-Garrote F., Pita J. M., Coira A., Bernardez M. I., Blanco J.: Recent emergence of clonal group O25b:K1:H4-B2-ST131 *ibea* strains among *Escherichia coli* poultry isolates, including CTX-M-9-producing strains, and comparison with clinical human isolates. *Appl. Environ. Microbiol.* 2010, 76, 6991-6997.
29. Naas T., Bogaerts P., Bauraing C., Drgheldre Y., Glupczynski Y., Nordmann P.: Emergence of PER and VEB extended-spectrum β -lactamases in *Acinetobacter baumannii* in Belgium. *J. Antimicrob. Chemother.* 2006, 58, 178-182.
30. Ojer-Usoz E., González D., Vitas A. I., Leiva J., García-Jalón I., Febles-Casquero A., de la Soledad Escolano M.: Prevalence of extended spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in meat products sold in Navarra, Spain. *Meat Sci.* 2013, 93, 316-321.
31. Paterson D. L., Bonomo R. A.: Extended spectrum β -lactamases: a clinical update. *Clin. Microbiol. Rev.* 2005, 18, 657-686.
32. Petit A.: Molecular epidemiology of TEM-3 (CTX-M-1) β -lactamase. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1990, 34, 219-224.
33. Pitout D. D., Nordmann P., Laupland K. B., Poiler L.: Emergence of Enterobacteriaceae producing extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) in the community. *J. Antimicrob. Chemother.* 2005, 56, 52-59.
34. Pitout J. D. D., Laupland K. B.: Extended spectrum β -lactamase producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health problem. *Lancet Infect. Dis.* 2008, 8, 159-166.
35. Poirel L., Naas T., Guibert M., Chaïbi E. T., Labia R., Nordmann P.: Molecular and biochemical characterization of Veb-1, a novel class A extended spectrum beta-lactamase encoded by an *Escherichia coli* integron gene. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1999, 43, 573-581.
36. Rish H., Dhillon P., Clark J.: ESBL-s: A clear and present danger? *Crit. Care Res. Pract.* 2012, 625170, 1-11.
37. Rzewuska M.: Antybiotykooporność Gram-ujemnych pałeczek wytwarzających beta-laktamazy. *Życie Wet.* 2009, 84, 199-205.
38. Tham J., Walder M., Melandr E., Odenholt I.: Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase-producing bacteria in food. *Infect. Drug Resist.* 2012, 5, 143-147.
39. Vincent C., Boerlin P., Daignault D., Dozois C. M., Dutil L., Galanakis C., Reid-Smith R. J., Tellier P. P., Tellier P. A., Ziebell K., Manges A. R.: Food reservoir for *Escherichia coli* causing urinary tract infections. *Emerg. Infect. Dis.* 2010, 16, 88-95.

Adres autora: dr Brenard Wasiński, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy;
e-mail: wasinski@piwet.pulawy.pl