



เอนไซม์ extended-spectrum β -lactamases ที่พบในประเทศไทย Extended-spectrum β -lactamases among Gram-negative bacilli from Thailand

อรุณวดี ชนะวงศ์*

บทคัดย่อ

Extended-spectrum cephalosporins (ESCs) เช่น ceftazidime, cefotaxime, ceftriazone เป็นยาต้านจุลชีพที่ใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อที่มีสาเหตุจากแบคทีเรียแกรมลบทรงแท่งโดยเฉพาะแบคทีเรียในวงศ์ Enterobacteriaceae หลังจากมีการใช้ยากลุ่ม ESCs ได้ไม่นานก็มีรายงานการดื้อต่อยากลุ่มนี้ของแบคทีเรียจากประเทศต่างๆทั่วโลก กลไกสำคัญเกิดจากแบคทีเรียสร้างเอนไซม์ extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) ซึ่งสลายยากลุ่ม ESCs ได้ ทำให้ออกฤทธิ์ไม่ได้ นอกจากนี้เอนไซม์ที่สร้างเอนไซม์เหล่านี้มักพบอยู่บนพลาสมิด จึงมีโอกาสที่เอนไซม์เหล่านี้จะถูกถ่ายทอดไปให้แบคทีเรียอื่นๆได้ทำให้เกิดปัญหาการดื้อยามากขึ้นในประเทศไทยได้มีรายงานอัตราความชุก (prevalence) ของแบคทีเรียแกรมลบทรงแท่งที่สร้าง ESBLs เช่นกัน โดยแบคทีเรียที่สร้าง ESBLs ที่พบในประเทศไทยส่วนใหญ่จะดื้อต่อยา ceftazidime มากกว่า ceftriazone และชนิดของเอนไซม์ ESBLs เท่าที่มีรายงานจนถึงขณะนี้ได้แก่ VEB-1, SHV-12, SHV-5 และ SHV-2a โดย VEB-1 เป็น ESBL ที่พบบ่อยใน *Pseudomonas aeruginosa* ในขณะที่ชนิดของ ESBLs ที่สร้างโดยแบคทีเรียวงศ์ Enterobacteriaceae จะแตกต่างกันในโรงพยาบาลแต่ละแห่ง อย่างไรก็ตามข้อมูลทางระบาดวิทยาของ ESBLs ในประเทศไทยยังมีค่อนข้างน้อย การตรวจหา ESBLs จะเป็นประโยชน์ต่อแพทย์ในการเลือกใช้ในการรักษาผู้ป่วยต่อไป

คำรหัส: เบตาแลกตาเมส • แบคทีเรียแกรมลบทรงแท่ง

* ภาควิชาจุลชีววิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002

Abstract

Extended-spectrum β -lactamases among Gram-negative bacilli from Thailand

Aroonwadee Chanawong*

Extended-spectrum cephalosporins (ESCs) including ceftazidime, cefotaxime and ceftriazone are widely used for treatment of serious infections caused by Gram-negative bacilli particularly in members of the family Enterobacteriaceae. After the introduction of ESCs into clinical use, strains resistant to these drugs have emerged around the world. The most common mechanism of resistance is drug inactivation by enzymes known as extended-spectrum β -lactamases (ESBLs). The resistance is more complicated since most ESBLs are plasmid-mediated enzymes, thus allowing spread of resistance genes among various genera of bacteria. Recently, prevalence of ESBL-producing bacteria in Thailand has also been reported. They were more resistant to ceftazidime than ceftriazone. Until now, ESBLs reported from Thailand included VEB-1, SHV-12, SHV-5 and SHV-2a. VEB-1 ESBL is commonly found in *Pseudomonas aeruginosa*, whereas ESBL types among members in the family Enterobacteriaceae from different hospitals were varied. More detailed surveillance and epidemiological surveys of ESBLs in this region are still needed.

Key words: extended-spectrum β -lactamases • Gram-negative bacilli

บทนำ

Extended-spectrum cephalosporins (ESCs) เป็นยาต้านจุลชีพในกลุ่ม β -lactams ซึ่งออกฤทธิ์โดยการยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรีย ยาในกลุ่ม ESCs เช่น ceftazidime, cefotaxime, ceftriazone ใช้ได้ผลดีในการรักษาโรคติดเชื้อที่มีสาเหตุจากแบคทีเรียแกรมลบตรงแท่งโดยเฉพาะแบคทีเรียในวงศ์ Enterobacteriaceae ทั้งนี้เนื่องจากยาในกลุ่มนี้สามารถทนต่อเอนไซม์

β -lactamases ชนิด SHV-1, TEM-1 และ TEM-2 ซึ่งเป็น narrow-spectrum β -lactamase หรือ non ESBL ที่สร้างและพบบ่อยในแบคทีเรียเหล่านี้ได้ อย่างไรก็ตามในปี ค.ศ. 1983 ได้มีรายงานการดื้อต่อยากลุ่ม ESCs ของแบคทีเรียเป็นครั้งแรกที่ประเทศเยอรมนี¹ ESBL ชนิดแรกที่พบคือเอนไซม์ SHV-2 ซึ่งเป็นผลจากการเกิด point mutation เพียงตำแหน่งเดียวในจีนที่สร้างเอนไซม์ β -lactamase ชนิด SHV-1 ผลจากการเกิด mutation ในจีนนี้ทำให้ได้เอนไซม์ใหม่คือ SHV-2

* Department of Clinical Microbiology, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University 40002

ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สามารถสลายยาในกลุ่ม ESCs และ monobactams ได้ในเวลาต่อมาได้มีรายงาน ESBLs ชนิด TEM เป็นครั้งแรกในประเทศฝรั่งเศส² เอนไซม์นี้คือ TEM-3 ซึ่งเป็นผลจากการเกิด point mutation ของจีนที่สร้างเอนไซม์ β -lactamase ชนิด TEM-2 ซึ่งเป็น non ESBL เช่นเดียวกับ SHV-1 หลังจากนั้นก็มีรายงาน ESBLs ในแบคทีเรียจากประเทศต่างๆทั่วโลก³ ปัจจุบันมีรายงานการพบ ESBLs ชนิดต่างๆโดยเฉพาะ ESBLs ที่เกิดจาก point mutation ของจีนที่สร้างเอนไซม์ SHV-1, TEM-1 และ TEM-2 (<http://www.lahey.org/studies/webt.htm> และ <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) อย่างไรก็ตามปัจจัยที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งในการดื้อยาของกลุ่มนี้คือจีนดื้อยาเหล่านี้มักพบอยู่บนพลาสมิดของแบคทีเรีย จึงมีโอกาสที่แบคทีเรียที่มีจีนดื้อยาเหล่านี้จะถ่ายทอดจีนนี้ไปยังแบคทีเรียชนิดอื่น ๆ ได้ ทำให้ปัญหาการดื้อยาของแบคทีเรียขยายวงกว้างออกไป

ความสำคัญของการตรวจหาเอนไซม์ ESBLs

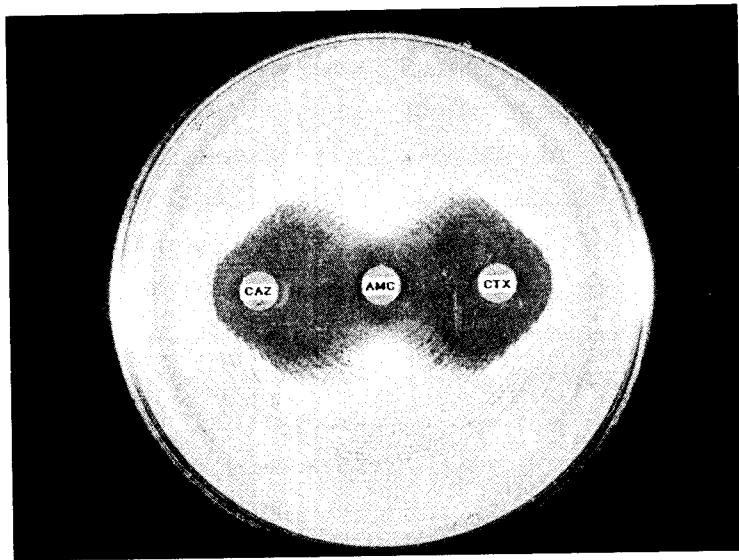
แม้ว่าแบคทีเรียที่สร้าง ESBLs บางสายพันธุ์อาจจะให้ค่า minimum inhibitory concentration (MIC) ดื้อยาในกลุ่ม ESCs อยู่ในช่วงที่อ่านผลว่ามีความไวต่อยา อย่างไรก็ตามไม่แนะนำให้ใช้ยาในกลุ่ม ESCs ในการรักษาโรคติดเชื้อที่มีสาเหตุจากแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ ESBLs ได้ ทั้งนี้เนื่องจากการรักษาผู้ป่วยมักจะได้ผล ยกเว้นการรักษาโรคติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ ที่พบว่ายาในกลุ่มนี้ยังใช้ได้ผลในการรักษา แม้ว่าแบคทีเรียจะสร้าง ESBLs ได้ ทั้งนี้อาจจะเนื่องจากความเข้มข้นของยาในระบบทางเดินปัสสาวะสูงเพียงพอที่จะทำลายแบคทีเรียเหล่านี้ได้⁴ โดยทั่วไปจึงแนะนำให้ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาคลินิกตรวจหาเอนไซม์ ESBLs ในแบคทีเรียแกรมลบทรงแท่ง โดยเฉพาะแบคทีเรียในวงศ์ Enterobacteriaceae และหากเชื้อสร้าง ESBLs ได้ก็แนะนำให้รายงาน ว่าเชื่อนั้นดื้อต่อยาในกลุ่ม ESCs ทั้งหมดถึงแม้ว่า

แบคทีเรียนั้นจะให้ค่า MIC ดื้อยา ESCs อยู่ใน ช่วงที่ไวต่อยาก็ตาม⁴

การทดสอบการสร้างเอนไซม์ ESBLs ของแบคทีเรีย

โดยทั่วไปเมื่อกล่าวถึงเอนไซม์ ESBLs มักจะหมายถึงเอนไซม์ที่สลายยาในกลุ่ม ESCs และ monobactams ได้ และถูกยับยั้งการทำงานได้ด้วย clavulanic acid (CA) ดังนั้นการทดสอบที่ใช้ในการตรวจกรองการสร้างเอนไซม์ ESBLs ของแบคทีเรียแกรมลบทรงแท่งที่ทำได้ง่ายและสะดวกคือวิธี double-disc diffusion⁵ ซึ่งอาศัยคุณสมบัติของเอนไซม์ที่ถูกยับยั้งการทำงานได้ด้วย CA การทดสอบนี้ทำเช่นเดียวกับการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาด้านจุลชีพ โดยยาที่ใช้ในการทดสอบได้แก่แผ่นยา amoxicillin/clavulanic acid (AMC) ที่มีความเข้มข้น 20/10 ไมโครกรัมต่อแผ่น และยาในกลุ่ม ESCs เช่น ceftazidime (CAZ) ที่มีความเข้มข้น 30 ไมโครกรัมต่อแผ่น และ cefotaxime (CTX) ที่มีความเข้มข้น 30 ไมโครกรัมต่อแผ่น เป็นต้น หลังจากปรับความขุ่นของเชื้อให้เท่ากับ McFarland No. 0.5 และป้ายเชื้อลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแล้ว ให้วางแผ่นยา AMC ไว้ตรงกลางของอาหารเลี้ยงเชื้อ และวางยาในกลุ่ม ESCs ไว้รอบนอกโดยวางให้ห่างจากแผ่นยา AMC ประมาณ 15 มิลลิเมตร จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 18-24 ชั่วโมง การอ่านผลให้สังเกตการเสริมฤทธิ์กันของยา AMC และ ESCs โดยแบคทีเรียที่สร้าง ESBLs จะทำให้ inhibition zone ของยา ESCs ด้านที่ติดกับยา AMC กว้างขึ้นดังแสดงในรูปที่ 1 การทดสอบนี้บางครั้งเรียกว่า synergy test หรือ augmentation test

The National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) ได้แนะนำวิธีการตรวจกรองการสร้างเอนไซม์ ESBLs ใน Enterobacteriaceae⁶ โดยใช้เกณฑ์คือแบคทีเรียที่ให้ค่า MIC ของ CAZ หรือ CTX มากกว่าหรือ



รูปที่ 1 การทดสอบการสร้างเอนไซม์ ESBLs ของ *Klebsiella pneumoniae* ที่แยกได้จากผู้ป่วย
โรงพยาบาลศรีนครินทร์ โดยวิธี double-disc diffusion (แผ่นยาที่อยู่ตรงกลางคือ amoxicillin/
clavulanic acid ด้านซ้ายคือ ceftazidime และ ด้านขวาคือ cefotaxime)

เท่ากับ 2 ไมโครกรัม/มิลลิเมตร น่าจะสร้าง ESBLs ได้จากนั้นนำมาตรวจยืนยันการสร้างเอนไซม์ ESBLs โดยการทดสอบการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ESBLs โดย CA ซึ่งทำได้ 2 วิธี วิธีแรกคือวิธี disc diffusion โดยใช้แผ่นยา CAZ (ความเข้มข้น 30 ไมโครกรัมต่อแผ่น) และ CTX (ความเข้มข้น 30 ไมโครกรัมต่อแผ่น) ที่ไม่ได้เติม CA ลงไป และแผ่นยา CAZ และ CTX ที่เติม CA (ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อแผ่น) ลงไป อ่านผลโดยเชื่อกำลังการสร้าง ESBLs ได้จะให้นิยามเส้นผ่าศูนย์กลางของ inhibition zone ของ CAZ หรือ CTX ที่เติม CA ลงไปกว้างขึ้นมากกว่าหรือเท่ากับ 5 มิลลิเมตรเมื่อเปรียบเทียบกับขนาดของ inhibition zone ของแผ่นยา CAZ หรือ CTX ที่ไม่ได้เติม CA ลงไป วิธีที่สองคือวิธี broth microdilution เป็นการหาค่า MIC ต่อยา CAZ และ CTX ทั้งที่เติมและไม่เติม

CA ลงไป โดยเชื่อกำลังการสร้าง ESBLs ได้จะหาค่า MIC ของ CAZ หรือ CTX ลดลงมากกว่าหรือเท่ากับ 3 two-fold dilutions เมื่อเติม CA ลงไป การตรวจหา ESBLs โดยการเปรียบเทียบค่า MIC เช่นนี้อาจทดสอบโดยวิธี Etest ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป ทำได้ง่ายและสะดวกแต่มีราคาแพง

การตรวจแยกชนิดของ ESBLs

เอนไซม์ ESBLs มีอยู่หลายชนิด ชนิดที่พบได้บ่อยในแบคทีเรียวงศ์ Enterobacteriaceae ได้แก่ SHV และ TEM นอกจากนี้ก็มีชนิด CTX-M, PER และ VEB เป็นต้น การทดสอบที่ใช้ในการตรวจแยกชนิดของ ESBLs อาศัยลักษณะที่แสดงออก (phenotype) ของแบคทีเรีย เช่น การตรวจหาค่า MIC ต่อยาในกลุ่ม cephalosporins ของแบคทีเรีย และการตรวจหาเอนไซม์

β -lactamases ของแบคทีเรียโดยวิธี iso-electric focusing (IEF) นอกจากนี้ก็มีการทดสอบ substrate profiles ของเอนไซม์ เป็นต้น อย่างไรก็ตามการทดสอบเหล่านี้ไม่สามารถระบุชนิดของ ESBLs ที่แน่นอนได้เนื่องจากเอนไซม์บางชนิดให้ผลการทดสอบเหล่านี้คล้ายกัน ปัจจุบันมีการนำเทคนิคทางอณูชีววิทยามาช่วยในการแยกชนิดของ ESBLs เช่น การตรวจหาจีโนมด้วยวิธีต่าง ๆ โดยเทคนิค polymerase chain reaction (PCR) และการตรวจหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของจีโนมที่สร้าง ESBLs ทำให้ทราบชนิดที่แน่นอนของ ESBLs เป็นต้น

อัตราความชุกและชนิดของ ESBLs ที่พบในประเทศไทย

ได้มีการศึกษาอัตราความชุกของ *E. coli* และ *Klebsiella spp* ที่สร้าง ESBLs ได้ในประเทศแถบเอเชีย ได้แก่ สาธารณรัฐประชาชนจีน ไต้หวัน ญี่ปุ่น เกาหลี ไทย มาเลเซีย สิงคโปร์ อินโดนีเซีย และฟิลิปปินส์ โดยทำการสำรวจในปี พ.ศ. 2541 ถึง 2542⁷ พบว่าอัตราความชุกของ ESBLs ใน *E. coli* อยู่ในช่วงร้อยละ 5.0 ถึงร้อยละ 23.3 และใน *Klebsiella spp* อยู่ในช่วงร้อยละ 5.0 ถึงร้อยละ 48.8 ประเทศที่มีอัตราความชุกของ ESBLs ต่ำที่สุดคือญี่ปุ่น ซึ่งพบใน *E. coli* และ *Klebsiella spp* เพียง ร้อยละ 8.1 และ 5.0 ตามลำดับ สำหรับประเทศไทยจากการสำรวจในโรงพยาบาลจำนวน 8 โรงพยาบาล ซึ่งอยู่ในกรุงเทพฯ จำนวน 5 โรงพยาบาล และในขอนแก่น เชียงใหม่ และสงขลา จังหวัดละ 1 โรงพยาบาล พบอัตราความชุกของ ESBLs ใน *E. coli* เฉลี่ยร้อยละ 15.7 และใน *Klebsiella spp* เฉลี่ยร้อยละ 45.6 โดยแบคทีเรียส่วนใหญ่จะดื้อต่อยา ceftazidime มากกว่า ceftriazone อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้ยังไม่ได้แยกชนิดของ ESBLs ที่สร้างโดยแบคทีเรียเหล่านี้

ในประเทศไทยได้มีการรายงานชนิดของ ESBLs ครั้งแรกในปี พ.ศ. 2536 โดย Alexov และคณะ⁸

ซึ่งตรวจพบ ESBLs ชนิด SHV-5 ใน *K. pneumoniae* จำนวน 11 ตัวอย่างที่แยกได้จากผู้ป่วยในโรงพยาบาลศรีนครินทร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ต่อมาในปี พ.ศ. 2542 ได้มีรายงาน ESBLs ชนิด VEB-1 ที่สร้างโดย *P. aeruginosa* ซึ่งแยกได้จากผู้ป่วยในโรงพยาบาลศิริราช⁹ แต่ในขณะนั้นผู้รายงานได้ตั้งชื่อเอนไซม์นี้ว่า CEF-1 ซึ่งในเวลาต่อมาพบว่าจีโนมที่สร้างเอนไซม์ CEF-1 มีลำดับนิวคลีโอไทด์เหมือนกับจีโนมที่สร้างเอนไซม์ ESBLs ชนิด VEB-1 ซึ่งพบครั้งแรกใน *E. coli* ที่แยกได้จากผู้ป่วยชาวเวียดนามที่อาศัยอยู่ในประเทศฝรั่งเศส¹⁰ เพื่อมิให้เกิดความสับสนในการเรียกชื่อเอนไซม์นี้ปัจจุบันจึงใช้ชื่อ VEB-1 เท่านั้น หลังจากนั้นได้มีการรายงานการพบ VEB-1 ใน *P. aeruginosa* อีกครั้งโดยแยกเชื้อได้จากผู้ป่วยชาวไทยที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลในประเทศฝรั่งเศส¹¹ นอกจากนี้ยังพบว่าจีโนมที่สร้างเอนไซม์ VEB-1 นี้อยู่บน integron ซึ่งเป็นส่วนที่ช่วยในการแพร่กระจายของจีโนมนี้ดังจะเห็นได้จากการตรวจพบเอนไซม์ชนิดนี้ได้ทั้งในแบคทีเรียวงศ์ Enterobacteriaceae และ Pseudomonadaceae อย่างไรก็ตามรายงานการตรวจพบ ESBLs ชนิด VEB-1 ทั้งสองรายงานนี้เป็นการศึกษาพบในแบคทีเรียเพียง 1 สายพันธุ์เท่านั้น

ชนิดและขนาดวิทยาของเอนไซม์ ESBLs ในประเทศไทยเพิ่งจะเริ่มมีการศึกษากันอย่างจริงจังเมื่อเร็ว ๆ นี้ โดย Girlich และคณะ¹² ได้รายงานอัตราความชุกของ ESBLs ในแบคทีเรียแกรมลบทรงแท่งในวงศ์ Enterobacteriaceae ที่แยกได้จากผู้ป่วยในโรงพยาบาลศิริราช ในปี พ.ศ. 2542 โดยตรวจพบ ESBLs ใน *E. coli* ร้อยละ 4.5 ใน *K. pneumoniae* ร้อยละ 9.6 และใน *Enterobacter spp.* พบสูงถึงร้อยละ 41 จากการตรวจหาชนิดของ ESBLs ในแบคทีเรียทั้งหมด 30 ตัวอย่างที่สร้าง ESBLs ได้ พบว่าร้อยละ 60 ของเชื้อสร้าง ESBLs ชนิด VEB-1 ส่วนที่เหลือให้ผลบวกต่อการตรวจหาจีโนมของ SHV หรือ TEM โดยวิธี PCR

อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้ยังไม่ได้แยกชนิดของ SHV และ TEM ในปี พ.ศ. 2540 อรุณลักษณ์ ลุติตานนท์และคณะ¹³ ได้รายงานอัตราความชุกของ ESBLs ในแบคทีเรียวงศ์ Enterobacteriaceae และ Pseudomonadaceae ซึ่งแยกได้จากผู้ป่วยในโรงพยาบาลศรีนครินทร์ ในปี พ.ศ. 2537 และ 2539 จากการศึกษาพบ ESBLs ใน Enterobacteriaceae เฉลี่ยร้อยละ 26 และใน Pseudomonadaceae เฉลี่ยร้อยละ 28 ในเวลาต่อมาได้มีการศึกษาชนิดของ ESBLs ในแบคทีเรียเหล่านี้¹⁴ โดยศึกษาในแบคทีเรียวงศ์ Enterobacteriaceae จำนวน 43 ตัวอย่างที่สร้าง ESBLs พบว่าร้อยละ 60.5 ของเชื้อสร้าง ESBLs ชนิด SHV-12 ร้อยละ 30.2 สร้าง SHV-5 ร้อยละ 4.7 สร้าง SHV-2a และเพียงร้อยละ 2.3 ที่สร้าง VEB-1 ส่วน *P. aeruginosa* จำนวน 17 ตัวอย่าง พบว่าร้อยละ 94.1 สร้าง ESBLs ชนิด VEB-1 และมีเพียงตัวอย่างเดียวเท่านั้นที่สร้าง SHV-12 ต่อมา Girlich และคณะ¹⁵ ได้รายงาน ESBLs ใน *P. aeruginosa* ที่แยกได้จากผู้ป่วยโรงพยาบาลศิริราชในปี พ.ศ. 2542 โดยศึกษาใน *P. aeruginosa* จำนวน 33 ตัวอย่างที่สร้าง ESBLs พบว่าร้อยละ 94 ของเชื้อสร้าง VEB-1 จากรายงานชนิดของ ESBLs ในโรงพยาบาลศิริราช และโรงพยาบาลศรีนครินทร์ พบว่า VEB-1 เป็นเอนไซม์ที่พบได้บ่อยใน *P. aeruginosa* จากทั้งสองโรงพยาบาล ในขณะที่ ESBLs ที่พบในแบคทีเรียวงศ์ Enterobacteriaceae จากโรงพยาบาลทั้งสองนั้นแตกต่างกัน ความแตกต่างกันนี้อาจจะเกิดจากความแตกต่างของแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ และช่วงเวลาที่เกิดขึ้น หรืออาจจะเกิดจากความแตกต่างของ selective pressure

จากข้อมูลข้างต้นจะเห็นว่าการศึกษา ESBLs ในประเทศไทยยังมีค่อนข้างน้อย การตรวจหาและรายงานการสร้างเอนไซม์ ESBLs ของแบคทีเรียในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาคลินิกจะเป็นประโยชน์ต่อแพทย์ในการเลือกใช้ยาในการรักษาผู้ป่วย นอกจากนี้การตรวจว่าจีนดื้อยานั้นอยู่บนพลาสมิดหรือไม่

อย่างไร ตลอดจนการศึกษาว่าแบคทีเรียที่สร้าง ESBLs ได้นั้นเป็นเชื้อสายพันธุ์เดียวกันหรือไม่ เป็นสิ่งที่น่าจะทำการศึกษาต่อไปเพื่อเป็นข้อมูลในการเฝ้าระวัง ควบคุมและป้องกันการระบาดของจีนดื้อยาในโรงพยาบาลต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Knothe H, Shah P, Krcmery V, Antal M, Mitsuhashi S. Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. Infect 1983;11:315-7.
2. Sirot D, Sirot J, Labia R, et al. Transferable resistance to third-generation cephalosporins in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*: identification of CTX-1, a novel β -lactamase. J Antimicrob Chemother 1987;20:323-34.
3. Jacoby GA, Medeiros AA. More extended spectrum β -lactamases. Antimicrob Agents Chemother 1991;35:1697-704.
4. Paterson DL, Ko W-C, Gottberg AV et al. Outcome of cephalosporins treatment for serious infections due to apparently susceptible organisms producing extended-spectrum β -lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory. J Clin Microbiol 2001;39:2206-12.
5. Jarlier V, Nicolas M-H, Fournier G, Philippon A. Extended broad-spectrum β -lactamases conferring transferable resistance to newer β -lactam agents in Enterobacteriaceae: hospital prevalence and susceptibility patterns. Rev Infect Dis 1988;10:867-78.

6. Steward CD, Rasheed JK, Hubert SK, et al. Characterisation of clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* from 19 laboratories using the National Committee for Clinical Laboratory Standards extended-spectrum β -lactamase detection methods. *J Clin Microbiol* 2001;39:2864-72.
7. Jones RN. Summation: β -lactam resistance surveillance in the Asia-Western Pacific region. *Diag Microbiol Infect Dis* 1999;35:333-8.
8. Alexov M, Ehrhardt AF, Moland ES, Bradford PA, Sanders CC, Sookpranee T. β -lactam resistance mediated by SHV-5 in *Klebsiella pneumoniae* recovered from Thailand. In: Abstracts of the 93rd General Meeting of the American Society for Microbiology, Atlanta, GA, 1993. Abstract A-89, p.16. American Society for Microbiology, Washington, DC.
9. Tribuddharat C, Fennewald M. Integron-mediated rifampin resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:960-2.
10. Poirer L, Naas T, Guibert M, Chaibi EB, Labia R, Nordmann P. Molecular and biochemical characterization of VEB-1, a novel Class A extended-spectrum β -lactamase encoded by an *Escherichia coli* integron gene. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:573-81.
11. Naas T, Poirer L, Karim A, Nordmann P. Molecular characterisation of In50, a class 1 integron encoding the gene for the extended-spectrum β -lactamase VEB-1 in *Pseudomonas aeruginosa*. *FEMS Microbiol Lett* 1999;176:411-9.
12. Girlich D, Poirer L, Leelaporn A, Karim A, Tribuddharat C, Fennewald M, Nordmann P. Molecular epidemiology of the integron-located VEB-1 extended-spectrum β -lactamase in nosocomial enterobacterial isolates in Bangkok, Thailand. *J Clin Microbiol* 2001;39:175-82.
13. Lulitanond A, Kaewkes W, Kitcharoen K. Extended spectrum β -lactamases (ESBs) from Gram negative bacilli isolated from Srinagarind Hospital, Thailand. *Clin Microbiol Infect* 1997;3 (Suppl. 2). Abstract P1214, p. 300.
14. Chanawong A, M'Zali FH, Heritage J, Lulitanond A, Hawkey PM. SHV-12, SHV-5, SHV-2a and VEB-1 extended-spectrum β -lactamases in Gram-negative bacteria isolated in a university hospital, Thailand. *J Antimicrob Chemother* 2001;48:839-52.
15. Girlich D, Naas T, Leelaporn A, Poirer L, Fennewald M, Nordmann P. Nosocomial spread of the integron-located veb-1-like cassette encoding an extended-spectrum β -lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* in Thailand. *Clin Infect Dis* 2002;34:603-11.