

## 基礎・臨床の両面からみた耐性菌の現状と対策 2

# 基質特異性拡張型 $\beta$ ラクタマーゼ (ESBL) 産生菌

いし い よし かず  
石 井 良 和  
Yoshikazu ISHII

### はじめに

1929年、フレミングがペニシリウムの産生する黄色ブドウ球菌の発育を阻止する物質、すなわちペニシリンの発見から $\beta$ ラクタム系薬開発の歴史が始まった。換言すればペニシリンの発見から細菌と人類の戦いが始まったのである。すなわち、細菌は $\beta$ ラクタム系薬に対するさまざまな耐性因子を入手し、人類はこれに打ち勝つ抗菌薬を作り続けてきた。その因子の中で、 $\beta$ ラクタム環を加水分解して $\beta$ ラクタム系薬を不活化する酵素である $\beta$ ラクタマーゼはグラム陰性菌の $\beta$ ラクタム系薬に対する主要な耐性因子として知られている。1980年代になると $\beta$ ラクタマーゼに極めて安定でグラム陰性菌に強力な抗菌力を有する第三世代セフェム系薬の臨床使用が開始された。菌種特異的な一部の $\beta$ ラクタマーゼを除き、1980年までに発見された $\beta$ ラクタマーゼは、いずれも第三世代セフェム系薬を分解することはできなかった。しかし、1983年にKnotheらによって、第三世代セフェム系薬の1つであるセフォタキシムに耐性を示す肺炎桿菌とセラチアに関して報告された<sup>1)</sup>。このセフォタキシム耐性菌は感性菌と混合するだけでその耐性因子が感性菌に伝達され、伝達された耐性因子は $\beta$ ラクタマーゼであった。その後、DNA塩基配列が決定され、この $\beta$ ラクタマーゼは、主としてペニシリン系薬を分解していたSHV型 $\beta$ ラクタマーゼにアミノ酸置換が生じ、セフォタキシムを分解する能力を獲得した酵素であることが明らかとなった。このように、狭域の基質特異性を示していた $\beta$ ラクタマーゼに変異が生じ、その基質特異性を拡張した酵素を基質特異性拡張型 $\beta$ ラクタマー

ゼと呼ぶようになった。

本稿では、ESBL、特にCTX-M型 $\beta$ ラクタマーゼを中心に、これまでに得られた知見をまとめ、臨床における問題点や対策についても概説する。

### I. ESBL の定義

$\beta$ ラクタマーゼはクラスA、B、CおよびDの4つの異なるクラスに分類されている<sup>2)</sup>。クラスBを除く3クラスの $\beta$ ラクタマーゼは活性中心にセリン残基が存在するセリンペプチダーゼである。一方、クラスBに属する $\beta$ ラクタマーゼはその活性に亜鉛イオンを要求するメタロペプチダーゼである。クラスAに属する $\beta$ ラクタマーゼはペニシリン系薬を好適基質とすることからペニシリナーゼ、クラスDに属する酵素はオキサシリンを含むペニシリン系薬を好適基質とすることからオキサシリナーゼ、クラスCに属する酵素はセファロスポリン系薬を分解することからセファロスポリナーゼとそれぞれ呼ばれていた。ESBLは、クラスAに属する主としてペニシリン系薬を分解していた酵素にアミノ酸置換が生じて、第三世代、第四世代セフェム系薬をも分解する能力を獲得した酵素を指す<sup>3)</sup> (表1)。

### II. ESBL の種類および産生菌種

現時点では、ESBLは狭域基質特異性の酵素をその起源とするTEM型およびSHV型、例外はあるものの環境菌の1つである *Kluyvera* 属菌の染色体上に存在する $\beta$ ラクタマーゼをその起源とするCTX-M型、起源が明らかとなっていないVEB型、

表1 主なβラクタマーゼの機能およびAmblerの分類法の関係

| 機能分類 | 主要サブグループ   | Ambler 分類 | 機能上の特徴   |
|------|------------|-----------|--|
| 1    |            | C         | グラム陰性菌が産生、カルバペネム系薬を除く全てのβラクタム系薬に耐性を示す。<br>クラブラン酸による阻害を受けない。                                |
| 2    | 2a         | A, D      | 多くの酵素はクラブラン酸による阻害を受ける。   |
|      | 2b         | A         | ブドウ球菌と腸球菌が産生するペニシリンに高度耐性を示すβラクタマーゼ   |
|      | 2be        | A         | TEM-1、TEM-2およびSHV-1といった広域スペクトルのβラクタマーゼ<br>オキシイミノセファロスポリンおよびモノバクタム耐性に係わる基質特異性<br>拡張型βラクタマーゼ |
|      | 2br        | A         | βラクタマーゼ阻害剤耐性のTEM-型(IRT)、SHV-10およびSHV-49  |
|      | 2c         | A         | カルベニシリン分解型酵素   |
|      | 2d         | D         | オキサシリン分解型酵素、若干クラブラン酸による阻害を受ける。   |
|      | 2e         | A         | セファロスポリン系薬分解酵素、クラブラン酸による阻害を受ける。  |
|      | 2f         | A         | 活性中心にセリンを有するカルバペネム系薬分解酵素、クラブラン酸による<br>阻害を受ける。  |
| 3    | 3a, 3b, 3c | B         | カルバペネム系薬分解型メタロ-βラクタマーゼ、モノバクタム系薬を除く<br>全てのβラクタム系薬に耐性を示す。                                    |

GES型などから形成されている。ESBLに関する情報は Hahey Clinic のホームページ内で Jacoby と Bush が運営する「Amino Acid Sequences for TEM, SHV and OXA Extended-Spectrum and Inhibitor Resistant β-Lactamases (<http://www.lahey.org/Studies/>)」にまとまっている。この中で、クラスAに属するβラクタマーゼはTEM型、SHV型、CTX-M型、VEB型、GES型、PER型はそれぞれ126種類、90種類、59種類、3種類、9種類、3種類であった(2006年7月12日現在)。

腸内細菌科や糖非発酵菌に属する菌種にはクラスCに属するβラクタマーゼをコードする遺伝子がその染色体上に存在するものが多い。第三世代セフェム系薬はクラスCに属するβラクタマーゼの大量産生株に対する抗菌力が低下する。したがって、大腸菌を除く、クラスCに属するβラクタマーゼをコードする遺伝子が染色体上に存在する菌種は、ESBLの検出が困難であり、Clinical Laboratory and Standards Institute (CLSI : 旧 NCCLS) は検出対象菌種から除外している<sup>4)</sup>。すなわち、CLSIがESBLの検出対象菌種としているのは大腸菌、肺炎桿菌、*Klebsiella oxytoca* および *Proteus mirabilis* の4菌種

である(表2および表3)。

### Ⅲ. ESBL 産生菌の疫学

ESBLの検出頻度は病院ごと、国あるいは地域ごと、また菌種ごとに異なっている。SENTRYのデータをみると、ESBL産生株の分離頻度が最も高い地域は、アジアあるいは南米である。1998年から2002年までのデータを見てみると、アジアでは中国、シンガポールおよびフィリピンにおいて、対象とした肺炎桿菌の中でESBL産生株菌の占める頻度は、それぞれ35.6%、30.7%および21.9%と高かった。ESBL産生大腸菌は中国、香港およびシンガポールで分離頻度が高くそれぞれ24.5%、14.3%および11.3%、ESBL産生*P. mirabilis*はシンガポールおよび香港の分離頻度が高くそれぞれ17.9%および8.1%であった。一方、日本はアジア地域の中ではESBLの分離頻度が低い傾向が低く、肺炎桿菌、大腸菌および*P. mirabilis*のESBL産生株の占める割合はそれぞれ10%、2.4%および3.7%であった<sup>5)</sup>。このサーベイランスは世界規模で行われ、その実施するためのプロトコルも厳密に定められており、取

表2 ディスク法による肺炎桿菌、*Klebsiella oxytoca*、大腸菌および *Proteus mirabilis* における ESBL 産生菌のスクリーニング試験および確認試験

| 方法               | スクリーニング試験  | 表現系による確認試験   |
|------------------|--|--|
| 使用培地             | Mueller-Hinton 寒天培地  | Mueller-Hinton 寒天培地  |
| 抗菌薬ディスクの<br>薬剤含量 | 肺炎桿菌、 <i>Klebsiella oxytoca</i> 、<br>大腸菌：<br>セフポドキシム 10μg<br>セフトラジジム 30μg<br>アズトレオナム 30μg<br>セフォタキシム 30μg<br>セフトリアキソン 30μg<br><i>Proteus mirabilis</i> ：<br>セフポドキシム 10μg<br>セフトラジジム 30μg<br>セフォタキシム 30μg         | セフトラジジム 30μg<br>セフトラジジム/クラブラン酸 30/10μg<br><b>および</b><br>セフォタキシム 30μg<br>セフォタキシム/クラブラン酸 30/10μg                       |
| 陽性判定             | 肺炎桿菌、 <i>Klebsiella oxytoca</i> 、<br>大腸菌：<br>セフポドキシム ≤17mm<br>セフトラジジム ≤22mm<br>アズトレオナム ≤27mm<br>セフォタキシム ≤27mm<br>セフトリアキソン ≤25mm<br><i>Proteus mirabilis</i> ：<br>セフポドキシム ≤22mm<br>セフトラジジム ≤22mm<br>セフォタキシム ≤27mm | クラブラン酸配合ディスクと抗菌薬単独の<br>阻止円径を比較した場合、配合ディスク側<br>に 5mm 以上の阻止円径拡大  |
| 精度管理株            | <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC<br>700603<br>セフポドキシム 9-16mm<br>セフトラジジム 10-18mm<br>アズトレオナム 9-17mm<br>セフォタキシム 17-25mm<br>セフトリアキソン 16-24mm  | クラブラン酸/セフトラジジム配合ディスク<br>とセフトラジジム単独の阻止円径を比較する<br>と配合側に 5mm 以上の阻止円径拡大。セ<br>フォタキシムの場合は、クラブラン酸配合<br>ディスク側に 3mm 以上の阻止円径拡大 |

集された菌株数も多く有益な情報を私たちに与えている。しかし、注意深くデータを見ると、このサーベイランスに参加している施設数が少なく、日本から3施設、台湾から3施設、中国から2施設、シンガポール、香港、フィリピンはそれぞれ1施設のみである。現時点において、このプログラムが提供するデータは国を代表するものではなく、参加施設のデータとして読むほうが適切であると考えている。2005年の東邦大学医療センター大森病院における尿路由来肺炎桿菌、大腸菌および *P. mirabilis* の ESBL 産生株の分離頻度は、それぞれ 0.16%、0.4%

および 0.16%と明らかに SENTRY のデータとは異なっている。

欧米や韓国で ESBL として検出頻度が高かった TEM-型や SHV-型に変わり、CTX-M-型 ESBL が世界の主流となっている<sup>6)</sup>。本邦で最初に検出された ESBL は FEC-1 であるが、その DNA 塩基配列あるいはアミノ酸配列が報告されておらずどの型に属するのかわからない。本邦の臨床材料から分離された菌株から最初に検出された ESBL は Toho-1 である<sup>7)</sup>。同時に本酵素は最初にその DNA 塩基配列が決定された CTX-M-型 β ラクタマーゼであり、且つ世

表3 液体微量希釈法による肺炎桿菌、*Klebsiella oxytoca*、大腸菌および *Proteus mirabilis* における ESBL 産生菌のスクリーニング試験および確認試験

| 方法    | スクリーニング試験  | 表現系による確認試験   |
|-------|--|--|
| 使用培地  | カチオン調整済み Mueller-Hinton プロス  |  |
| 抗菌薬濃度 | 肺炎桿菌、 <i>Klebsiella oxytoca</i> 、<br>大腸菌：<br>セフポドキシム 4μg/mL<br>セフトラジジム 1μg/mL<br>アズトレオナム 1μg/mL<br>セフトリアキソン 1μg/mL<br><i>Proteus mirabilis</i> ：<br>セフポドキシム 1μg/mL<br>セフトラジジム 1μg/mL<br>セフトリアキソン 1μg/mL        | セフトラジジム 0.25-128μg/mL<br>セフトラジジム/クラブラン酸 0.25/4-128/4μg/mL<br><b>および</b><br>セフトリアキソン 0.25-64μg/mL<br>セフトリアキソン/クラブラン酸 0.25/4-64/4μg/mL |
| 陽性判定  | 肺炎桿菌、 <i>Klebsiella oxytoca</i> 、<br>大腸菌：<br>セフポドキシム ≥8μg/mL<br>セフトラジジム ≥2μg/mL<br>アズトレオナム ≥2μg/mL<br>セフトリアキソン ≥2μg/mL<br><i>Proteus mirabilis</i> ：<br>セフポドキシム ≥2μg/mL<br>セフトラジジム ≥2μg/mL<br>セフトリアキソン ≥2μg/mL | クラブラン酸含有側と抗菌薬単独時の MIC 値を比較した場合、配合側に3管以上の MIC 値の改善  |
| 精度管理株 | <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603<br>セフポドキシム ≥8μg/mL<br>セフトラジジム ≥2μg/mL<br>アズトレオナム ≥2μg/mL<br>セフトリアキソン ≥2μg/mL  | クラブラン酸含有側と抗菌薬単独時の MIC 値を比較した場合、配合側に3管以上の MIC 値の改善  |

界で初めてその3次元構造が解き明かされた ESBL でもある<sup>8)</sup>。現在までに CTX-M-型 βラクタマーゼは 59 種類の DNA 塩基配列が登録されている。

#### IV. ESBL 産生菌の拡散するルート

CTX-M-型 βラクタマーゼは環境から家畜、そしてヒトにまで広く分布している<sup>9)</sup>。そして、英国ではこれまで多く検出されていた TEM-型や SHV-型から CTX-M-型へと主として検出される ESBL が変化してきたことが報告されている。これは、英国に

限らずアジア・オセアニア、北米、南米、アフリカ、ヨーロッパなどでも分離されており、世界的な傾向であると考えられる。しかし、なぜ CTX-M-型 ESBL が急速に且つ世界中に拡散したのかその理由は不明のままである<sup>6)</sup>。このタイプの ESBL 産生株が他の βラクタマーゼ産生株と大きく異なる点は、院内のみならず市中からも分離されることである。すなわち、外来患者の感染症の原因菌が CTX-M-型 βラクタマーゼ産生菌であったとの報告や、さらには健常人からも CTX-M-型酵素産生菌が分離されたとの報告がある。したがって、今後は入院中の患者に見られ

る院内感染の原因菌としてのみならず、外来患者からも分離される耐性菌として注目する必要がある。

## V. ESBL 産生菌感染症のリスクファクター

Mendelson らは、尿路由来検体から分離された長期介護施設における、ESBL 産生大腸菌および肺炎桿菌が分離される患者について解析している。その結果、リスクファクターは、過去3カ月の抗菌薬使用、貧血、および尿路カテーテル留置であると述べている。さらに、フルオロキノロン系抗菌薬の投与歴のある場合において、ESBL 産生株の分離頻度が有意に高かったと記載している<sup>10)</sup>。一方、他の論文ではESBL 産生菌による感染のリスクファクターとして長期入院、カテーテル留置および第三世代セフェム系薬投与歴を挙げている<sup>11)</sup>。両論文に共通して見られるファクターは、長期入院とカテーテル留置である。投与された抗菌薬は異なるが、投与歴も共通のリスクファクターである。

## VI. ESBL 産生菌の検出法

CLSI は、ESBL の検出法として、薬剤感受性試験に汎用される、ディスク法 (KB ディスク) および液体微量希釈法に基づくスクリーニング試験と確認試験を推奨している<sup>4)</sup> (表 2, 3)。私は、日本で検出頻度が高い ESBL は CTX-M-型であることから、基本的にセフトキシムをスクリーニングに用いている。また、CLSI が検出対象としていない、*Enterobacter* spp.、*Citrobacter* spp.あるいは *Serratia* spp. など、他の腸内細菌科に属する菌種の ESBL のスクリーニングには、セフェピムを使用している。その理由は、セフェピムがクラス C に属する  $\beta$  ラクターマーゼに極めて安定で、これらの菌種が産生するクラス C に属する  $\beta$  ラクターマーゼの影響を受けにくいからである。ESBL の確認には、シカベータテスト I およびシカベータテスト CVA の組み合わせ<sup>12)</sup> や Etest を用いる方法もある。しかし、いずれの方

法も ESBL 産生株であるか否かの判定は可能であるが、表現系 (薬剤感受性試験結果) からその型別までも確定することはできない。ESBL の型別まで行うには DNA 塩基配列の決定が必須であり、微生物検査室で実施することは困難である。臨床検査において最も重要なことは、医師が正しい診断を下すためのデータの提供と、治療薬に関する情報提供であると考えている。したがって、ESBL の型別は感染症の治療のために必須ではなく、院内感染の発生を把握するための疫学情報の1つとして有用であると考えている。

## VII. ESBL 産生菌感染症の治療

ESBL 産生株は、すべての第三世代セフェム系薬に対して耐性を示すわけではない。多くの場合、セフトキシムに耐性を示す菌株はセフトジジムに感性を示し、セフトジジムに耐性を示す菌株はセフトキシムに感性を示す。TEM-型や SHV-型に属する ESBL の多くがセフトジジムに耐性を示し (もちろんすべてではない)、CTX-M-型の ESBL の多くがセフトキシムに耐性を示す。翻って言えば、TEM-型や SHV-型に属する ESBL はセフトキシムに感性を示すことが多く、CTX-M-型の ESBL はセフトジジムに感性を示すことが多い。この特徴は、各種 ESBL の酵素学検討結果から説明可能である<sup>13)</sup>。それでは、セフトキシムに感性を示す ESBL 産生株による感染症に対してセフトキシムによる治療は有効であろうか。これに関しては、治療失敗例が報告されており<sup>14)</sup>、CLSI も実際の薬剤感受性試験結果にかかわらず (たとえ感性と判断されても)、すべてのペニシリン系薬およびセファロsporin系薬に耐性であると報告すべきとしている。ESBL 産生株による感染症治療の第一選択薬は、カルバペネム系薬である。フルオロキノロン系薬も有用な抗菌薬であると考えられるが、ESBL 産生株はフルオロキノロン系薬にも同時に耐性を示す菌株が多いことも事実である。 $\beta$  ラクターマーゼ阻害剤との配合剤やセ

ファマイシン系薬も良好な薬剤感受性試験成績を示すことがあるが、第一選択薬とはされていない。

## VIII. ESBL 産生菌の拡大を防止するために

ESBL 産生菌による複数の感染症が発生した医療施設では、院内感染を疑って院内における拡散防止策を取らなければならない。その対策とは、標準予防策の徹底であり、保菌あるいは感染が確認された患者と医療スタッフを含む入室者が直接接触することを防ぐことである。その対策を取りながら、感染症の原因菌となった ESBL 産生菌の起源に関する検討をしなければならない。そのための標準法はパルスフィールド電気泳動法であるが、設備、コスト、人員、時間などの問題から実施は困難である。他にも菌株の起源を検討するための PCR を応用した方法がある。残念なことに、いずれもパルスフィールド電気泳動法と比較して再現性やデータの蓄積が不十分なことなどの理由から標準法となるには至っていない。今後、より簡便に実施可能で再現性が高い、安価な方法の構築が必要であると考えている。

一方、欧米で問題となっている、いわゆる市中感染型 ESBL 産生菌感染症のリスクファクターは特定されるに至っていない。これらの ESBL は、その種類が CTX-M-型であることが共通である。本邦で多く検出される ESBL が CTX-M-型であることを考えると、市中から院内への ESBL 産生菌の持ち込みも視野に入れ、外来診療においても標準予防策を徹底することが急務であると考えられる。

## おわりに

また、ESBL のカテゴリーに含まれないため、今回は触れなかったが、カルバペネム系薬分解型のクラス A やクラス D に属する  $\beta$ ラクタマーゼを産生する菌株が臨床材料から分離されている。これらの耐性株による院内感染や市中感染が諸外国で報告されている。本邦ではこの種の酵素産生株は分離され

ていないが、注視すべき耐性因子であると考えている。耐性菌の制御において最も重要なことは、耐性菌の出現に常に気を配りながら、耐性菌による感染症が発生した際に的確に対応できるような体制作りであろう。そのためには、迅速に感染症の発生を把握するシステムを構築することが必要である。そのための支援ソフトも開発されており、本システムを導入することで中小規模の病院でも薬剤耐性菌あるいは薬剤感受性サーベイランスを実施することが可能となっている。先に述べたとおり、本邦では、ESBL 産生菌が院内感染のみならず市中感染からも分離される条件は揃っていると考えられる。今後はその点にも配慮した感染対策を考える必要がある。

## 文 献

- 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*. *Infection*, **11** (6): 315-317, 1983.
- 2) Ambler RP.: The structure of  $\beta$ -lactamases. *Philosophical transactions of the Royal Society of London*, **289** (1036): 321-331, 1980.
- 3) Bush K.: New  $\beta$ -lactamases in gram-negative bacteria: diversity and impact on the selection of antimicrobial therapy. *Clin Infect Dis*, **32** (7): 1085-1089, 2001.
- 4) Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Sixteenth Informational Supplement. M100-S16. Wayne, Pa.: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2006.
- 5) Hirakata Y, Matsuda J, Miyazaki Y, Kamihira S, Kawakami S, Miyazawa Y, Ono Y, Nakazaki N, Hirata Y, Inoue M *et al.*: Regional variation in the prevalence of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing clinical isolates in the Asia-Pacific region (SENTRY 1998-2002). *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, **52** (4): 323-329, 2005.
- 6) Canton R, Coque TM.: The CTX-M  $\beta$ -lactamase pandemic. *Current Opinion in Microbiology*, **9** (5): 466-475, 2006.
- 7) Ishii Y, Ohno A, Taguchi H, Imajo S, Ishiguro M, Matsuzawa H.: Cloning and sequence of the gene encoding a cefotaxime-hydrolyzing class A  $\beta$ -lactamase isolated from *Escherichia coli*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **39** (10): 2269-2275, 1995.

- 8) Ibuka A, Taguchi A, Ishiguro M, Fushinobu S, Ishii Y, Kamitori S, Okuyama K, Yamaguchi K, Konno M, Matsuzawa H.: Crystal structure of the E166A mutant of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase Toho-1 at 1.8 Å resolution. *Journal of Molecular Biology*, **285** (5) : 2079-2087, 1999.
- 9) Kojima A, Ishii Y, Ishihara K, Esaki H, Asai T, Oda C, Tamura Y, Takahashi T, Yamaguchi K.: Extended-spectrum- $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* strains isolated from farm animals from 1999 to 2002 : report from the Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring Program. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **49** (8) : 3533-3537, 2005.
- 10) Mendelson G, Hait V, Ben-Israel J, Gronich D, Granot E, Raz R.: Prevalence and risk factors of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in an Israeli long-term care facility. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, **24** (1) : 17-22, 2005.
- 11) Paterson DL, Bonomo RA.: Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases : a clinical update. *Clinical Microbiology Reviews*, **18** (4) : 657-686, 2005.
- 12) Hanaki H, Yamazaki H, Harada H, Kubo R, Kobayashi T, Atsuda K, Sunakawa K.: The synthesis of 7-substituted-3-dinitrostyryl cephalosporins and their ability for detecting extended spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBLs) . *The Journal of Antibiotics*, **58** (1) : 69-73, 2005.
- 13) Ishii Y, Galleni M, Ma L, Frere JM, Yamaguchi K.: Biochemical characterisation of the CTX-M-14  $\beta$ -lactamase. *International Journal of Antimicrobial Agents*, **29** (2) : 159-164, 2007.
- 14) Paterson DL, Ko WC, Von Gottberg A, Casellas JM, Mulazimoglu L, Klugman KP, Bonomo RA, Rice LB, McCormack JG, Yu VL.: Outcome of cephalosporin treatment for serious infections due to apparently susceptible organisms producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamases : implications for the clinical microbiology laboratory. *Journal of Clinical Microbiology*, **39** (6) : 2206-2212, 2001.