



## Revisión de la bibliografía sobre AmpC: Una importante $\beta$ -lactamasa

Cendry Alfaro Rojas <sup>1</sup>

### Introducción

Las  $\beta$ -lactamasas son enzimas sintetizadas por las bacterias, ya sea Gram negativo o Gram positivo y que actúan como un mecanismo de defensa contra los antibióticos  $\beta$ -lactámicos. Su mecanismo de acción se fundamenta en la unión irreversible al antibiótico, inhabilitando la capacidad de romper la pared bacteriana y permitiendo a la bacteria continuar con su crecimiento, aún en presencia del antibiótico (1,6). Actualmente, debido a la gran cantidad de diferentes  $\beta$ -lactamasas que se han descrito, se implementaron dos clasificaciones: la de Ambler (1), que incorpora características moleculares, y la de Bush et al.(6), la cual incluye parámetros fenotípicos.

Las  $\beta$ -lactamasas clasificadas como AmpC son enzimas con serinas en el sitio activo y funcionan principalmente como cefalosporinasas. En muchos organismos Gram negativo, la expresión de los genes *ampC* cromosomales es baja, pero inducible en respuesta a algunos estímulos (14,18). Otros organismos, como *Escherichia coli*, presentan un gen *ampC* cromosomal que se expresa de manera constitutiva. Sin embargo, recientemente se ha descrito la transferencia horizontal de los genes *ampC* desde *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Morganella morganii* y otros, hacia especies como *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Salmonella* ssp, a través de plásmidos que acarrean los componentes para esta inducción (4,11,47,54,55). Desde el punto de vista clínico, esto trae implicaciones muy grandes, con la falla en el tratamiento con antimicrobianos, que antiguamente eran utilizados en las bacterias que acarreaban estos genes de resistencia (7).

La inducción de AmpC requiere de la exposición de la bacteria a drogas  $\beta$ -lactámicas o a otros estímulos, lo cual está ligado a la vía de reciclaje de la pared celular (10,17); esta inducción abarca de AmpC incluye diferentes productos génicos asociados a esta vía, los cuales incluyen AmpR, AmpD y AmpG, además de precursores muropéptidos, que al parecer actúan como cofactores (9,10,17,40,48,53,56).

Actualmente, algunas publicaciones mencionan la relevancia de cuatro tipos de enzimas que están llegando a ser importantes en nuevos aislamientos clínicos y en la resistencia en bacterias Gram negativo. Estos son: las  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (ESBL), las  $\beta$ -lactamasas con sensibilidad reducida a los inhibidores de  $\beta$ -lactamasas, las  $\beta$ -lactamasas AmpC mediadas por plásmidos y las  $\beta$ -lactamasas que hidrolizan carbapenems (perteneciendo a los grupos C,

<sup>1</sup> Laboratorio Clínico, Hospital Nacional de Niños "Dr. Carlos Sáenz Herrera", Caja Costarricense de Seguro Social. Correo electrónico: calfaror@hnn.sa.cr





A y D, A y B de la clasificación de Ambler (1) o a los grupos 1, 2 2be y 3a, 3b, y 3c de la clasificación de Bush) (6,51).

En este resumen se hará énfasis en las  $\beta$ -lactamasas del tipo AmpC, las cuales pasaron de ser elementos cromosomales de cierto grupo de bacterias, a formar parte de elementos móviles, como los plásmidos, y a llegar a formar parte importante de la multiresistencia a cefalosporinas de bacterias muy prevalentes en aislamientos clínicos, como *E. coli* y *K. pneumoniae*. A nivel de laboratorio clínico, este conocimiento es fundamental para la implementación de nuevas técnicas de diagnóstico y para el manejo clínico de pacientes portadores de cepas de este tipo (36,39).

### Inducción de la $\beta$ -lactamasa AmpC

Las  $\beta$ -lactamasas AmpC han sido objeto de estudio desde la década de los años 70. La mayoría de estas enzimas son cefalosporinasas, pero son capaces de hidrolizar todos los antibióticos  $\beta$ -lactámicos. Muchos estudios han analizado las características de ambas AmpC, inducibles y no inducibles, como las propiedades físicas, actividad hidrolítica, los mecanismos involucrados en la expresión cromosomal, además de estudios comparativos entre géneros en el potencial inductor de la enzima (14). En las tablas 1 y 2 se muestran los géneros más estudiados y la capacidad de inducción.

En los años 80, estos genes cromosomales inducibles fueron detectados en plásmidos (la mayoría aún sin las capacidades de inducción) y transferidos a organismos que típicamente no expresan este tipo de enzimas, como *E. coli*, *K. pneumoniae* o *Salmonella* ssp (4,11,35,36,37,41). Esto ha venido a complicar el trabajo en la microbiología clínica, sobretodo en el ámbito hospitalario, ya que actualmente no se puede “predecir” a partir de su identificación, si una bacteria es acarreadora de un gen *ampC*, lo que le conferiría resistencia a antibióticos  $\beta$ -lactámicos. Otro gran problema que se introduce con esta diseminación horizontal, es que la detección fenotípica de estos plásmidos es muy difícil y se confunde con las presentaciones de las  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (ESBL).

**Tabla N° 1**  
**Enterobacteriaceae productoras de  $\beta$ -lactamasas AmpC inducibles\***

Género	Especie
Citrobacter	Citrobacter freundii
<i>Enterobacter</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Enterobacter sakazakii</i>
<i>Hafnia</i>	<i>Hafnia alvei</i>
<i>Morganella</i>	<i>Morganella morganii</i>
<i>Providencia</i>	<i>Providencia rettgeri</i> , <i>Providencia stuartii</i>
<i>Serratia</i>	<i>Serratia marcescens</i>

\* tomado de la referencia 19





**Tabla N° 2**  
**Potencial inductor consenso para antibióticos  $\beta$ -lactámicos\***

Potencial de inducción	$\beta$ -lactámicos
Más alto	Carbapenems y cefamicinas (Cefmetazole, cefotetan y ceftioxitin)
	Aminopenicillinas
	Carbenicillina, ticarcillina
	Ureidopenicillinas
	Cefalosporinas de primera, segunda y tercera generación
	Ácido clavulánico
	Cefpirome, cefepime
	Inhibidores de sulfonas
Más bajo	Aztreonam

\* tomado de la referencia 19

Los mecanismos de expresión del gen *ampC* han sido analizados usando dos organismos modelos, *E. cloacae* y *C. freundii* (2, 3, 10, 12, 15, 16, 23, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 38, 44, 48).

Dicha expresión es un proceso complejo, que primariamente es regulado por el producto del gen *ampR*, AmpR, además de otros dos genes *ampD* y *ampG*, estos últimos expresados en todas las enterobacterias, incluyendo las que no producen AmpC, participando primariamente en el reciclaje de los componentes de la pared bacteriana.

AmpR fue descrito en un inicio en *E. cloacae* y *C. freundii*, genéticamente ubicado junto al gen *ampC*, formando la región control *ampRC*, la cual se encuentra sólo en las bacterias Gram negativo con producción inducible de AmpC, opuesto a las que tienen una expresión constitutiva, como *E. coli*, donde el gen *ampR* fue eliminado (16, 31). AmpR es una proteína que se une al ADN y funciona como proteína reguladora, uniéndose al promotor de *ampR* y corriente arriba del promotor de *ampC*, trabajando entonces como estimulador de la expresión de AmpC y como autoregulador negativo. Mutaciones en *ampR* se han descrito en aislamientos clínicos, donde la expresión de AmpC aumenta a niveles muy altos, aún sin inducción (28). Estas bacterias presentan un fenotipo similar al mostrado por cepas productoras de ESBL.

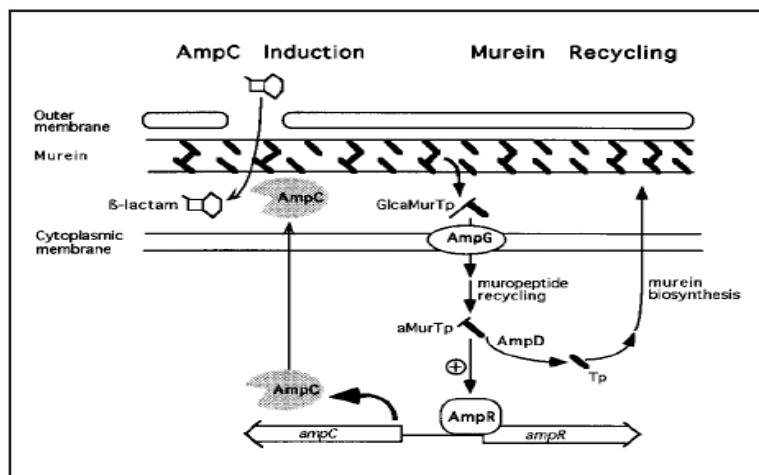
AmpD es una N-acetilmuramil-L-alanina amidasa, que participa en el reciclaje de los fragmentos de peptidoglicán. AmpD funciona como un regulador negativo de la expresión de *ampC* y su participación en este proceso se descubrió originalmente en cepas sobreproductoras de AmpC, donde se encontró que la mutación causante de dicho fenotipo se localizaba en *ampD*, la cual estaba inactiva y por lo tanto, no ejercía su efecto regulador (15,17).





La verdadera inducción de la producción de AmpC, está relacionada con las vías de reciclaje del peptidoglicán. Los antibióticos  $\beta$ -lactámicos producen perturbaciones en la pared, al ser su sitio blanco, obligando a las bacterias a activar sus mecanismos de defensa, en este caso, las  $\beta$ -lactamasas (ver figura 1). Las propuestas más estudiadas han postulado como el verdadero inductor de AmpC, a varias moléculas que se acumulan durante el proceso de reciclaje y rompimiento de la pared producido por los antibióticos  $\beta$ -lactámicos, entre ellos el anhidroMurNAc-tripéptido (17) o el GlcNAc-anhMurNAc-peptapéptido (10). Ambas moléculas se han encontrado acumuladas en grandes cantidades en el espacio periplásmico, durante el curso de terapias con antibióticos  $\beta$ -lactámicos, como el imipenem y la cefoxitina y se les ha relacionado con la activación de AmpR y la consecuente expresión de AmpC (49).

**Figura 1**  
Interconexión entre las vías de reciclaje de peptidoglicán y la inducción de AmpC \*



\* Tomado de la referencia 17

### $\beta$ -lactamasas de tipo AmpC acarreadas por plásmidos, un nuevo problema en multirresistencia

Las AmpC que han demostrado ser codificadas cromosomalmente, han sido descritas en bacterias como *Acinetobacter* spp., *Aeromonas* spp., *Chromobacterium violaceum*, *C. freundii*, *Enterobacter* spp., *E. coli*, *Morganella morganii*, *Proteus rettgeri*, *Providencia stuartii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Yersinia enterocolitica*, entre otras (5,13,18,29). La resistencia a antibióticos,





aparece inicialmente en organismos como *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens*, y *Pseudomonas aeruginosa* (19,20,34,42,43), que podrían sobreproducir su  $\beta$ -lactamasa AmpC por mutación, generándose fenotipos de resistencia a ambos oximiino- y 7- $\beta$ -metoxicefalosporinas y monobactamas (46). En otros organismos, como *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, y *Proteus mirabilis*, fue apareciendo un fenotipo similar, el cual fue atribuido a ESBL en plásmidos, pero a diferencia de AmpC, no eran resistentes a los 7- $\beta$ -metoxicefalosporinas (cefoxitin y cefotetan) y sí eran bloqueadas por el ácido clavulánico, sulbactam o tazobactam. Con el uso de cefoxitin y cefotetan, así como de los inhibidores de  $\beta$ -lactámicos para contrarrestar estas nuevas cepas, los plásmidos acarreadores de  $\beta$ -lactamasas AmpC empezaron a ser descritos.

La primera prueba de que una  $\beta$ -lactamasa AmpC había sido capturada en un plásmido, fue demostrado por Papanicolaou et al. en 1988, quienes describieron una enzima (MIR-1) con propiedades bioquímicas idénticas y con 90% de identidad con el gen *ampC* de *E. cloacae*, expresada en *K. pneumoniae*. Dichos reportes se han realizado a lo largo del mundo. Estas cepas fueron consistentemente resistentes a aminopenicilinas (ampicilina y amoxicilina), carboxipenicilinas (carbenicilina o ticarcilina) y ureidopenicilinas (piperacilina), a cefalosporinas de los grupos oximiino (ceftazidime, cefotaxime, ceftriaxone, ceftizoxime, cefurotime) y al grupo metoxi (cefoxitin, cefotetan, cefmetazole, moxalactam). Las enzimas también fueron activas contra aztreonam, aunque la sensibilidad contra cefepime y ceftiprome fue poco afectada y no cambió para los carbapenems (imipenem y meropenem) (4,11,45,47,54,55).

### Altos niveles de expresión de AmpC

La resistencia de los miembros de la familia Enterobacteriaceae a las cefalosporinas de tercera generación constituye un serio problema clínico. Esta resistencia se da por la sobreexpresión constitutiva del gen *ampC* cromosomal, que originalmente, en estas cepas, es de bajo nivel y no es inducible, y no solo por la presencia de un plásmido que acarrea un gen *ampC* procedente de otros géneros, como se trató en la sección anterior. En *E. coli* se han encontrado mutaciones en las cajas -35 y -10 y en los segmentos Inter. cajas de las regiones promotoras (8,35,50,52), lo cual lleva a un promotor tan fuerte, que desencadena una sobreexpresión de AmpC. En estos casos, las mutaciones en estos segmentos del ADN que forman parte de la región promotora del gen (cajas), provoca que la ARN polimerasa se una con más afinidad al ADN, provocando una mayor síntesis de ARNm y por lo tanto, llevando a una mayor síntesis de  $\beta$ -lactamasa. Los patrones fenotípicos encontrados van desde resistencia solamente a cefoxitin, hasta multi resistencia a cefalosporinas de tercera generación, dependiendo del tipo de mutación que se haya producido.

Cepas sobreproductoras se han encontrado además en *E. Cloacae* (20,23,28,46) y *P. Aeruginosa* (21,22,24,33,57), donde también se corre el peligro





de que estas nuevas porciones mutadas se pasen a elementos móviles, como plásmidos, y se diseminen a otros géneros bacterianos.

## Conclusiones

El conocimiento de los mecanismos genéticos responsables de los patrones de resistencia, que actualmente encontramos en los aislamientos clínicos, es fundamental, como parte integral del gran problema y la epidemia de multi resistencia que se está presentando en los centros hospitalarios a nivel mundial, donde Costa Rica no es la excepción. A partir de dicho conocimiento, se pueden planear estrategias de vigilancia epidemiológica y control de infecciones, para monitorear la aparición de nuevas cepas multi resistentes, con patrones de susceptibilidad presuntivos de la presencia de una  $\beta$ -lactamasa AmpC. Otro aspecto muy importante, es el planeamiento, a partir del personal médico, de las estrategias terapéuticas ideales para utilizar en estas situaciones, donde la ayuda brindada por el personal de laboratorio es indispensable para analizar y atender estos casos.

A modo de recomendación para el personal médico, el reporte del laboratorio respecto a la presencia de una cepa productora de AmpC o de una ESBL, conlleva el no utilizar ningún antibiótico  $\beta$ -lactámico. Por otro lado, si no se hace una búsqueda específica de estos elementos moleculares, la cepa puede ser reportada como sensible a los  $\beta$ -lactámicos y una vez que se induzca en el paciente la producción de los elementos moleculares antes mencionados y se tenga el desarrollo de resistencia en el paciente, se documentaría eso como un fallo terapéutico. Recordemos que muchos de los procesos moleculares descritos, ocurren a niveles muy bajos, ya que son inducidos y es en el paciente donde se manifiestan y pueden pasar desapercibidos, si no existe una cultura en el laboratorio, de hacer una búsqueda expresa de ellos.

## Bibliografía

1. Ambler, R. The Structure of  $\beta$ -lactamases. *Philos Trans R Soc Lond Biol Sci.* 289: 321, 1980.
2. Barlow, M. & Hall, B. Origin and Evolution of the AmpC  $\beta$ -Lactamases of *Citrobacter freundii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 46: 1190, 2002.
3. Barnaud, G., et al. Cloning and Sequencing of the Gene Encoding the AmpC  $\beta$ -lactamase of *Morganella morganii*. *FEMS Microbiol Letter.* 148:15,1997.
4. Barnaud, G., et al. *Salmonella enteritidis*: AmpC Plasmid-Mediated Inducible  $\beta$ -lactamase (DHA-1) with an *ampR* Gene from *Morganella morganii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 42: 2352, 1998.
5. Bonnet, R., et al. Inducible AmpC  $\beta$ -Lactamase of a New Member *Enterobacteriaceae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 46: 3316, 2002.
6. Bush, K., et al. A Functional Classification Scheme for  $\beta$ -Lactamases and Its Correlation with Molecular Structure. *Antimicrob Agents Chemother.* 39:1211, 1995.







7. Bush, K. New  $\beta$ -Lactamases in Gram-Negative Bacteria: Diversity and Impact on the Selection of Antimicrobial Therapy. *Clin. Infec. Dis.* 32:1085, 2001.
8. Corvec, S., et al. Mutation in the *ampC* Promoter Increasing Resistance to  $\beta$ -lactamase in a Clinical *Escherichia coli* Strain. *Antimicrob Agents Chemother.* 46: 3265, 2002.
9. Dietz, H., et al. Location of N-Acetylmuramyl-L-Alanyl-D-Glutamylmesodiaminopimelic Acid, presumed Signal Molecule for  $\beta$ -Lactamase induction, in the Bacterial Cell. *Antimicrob Agents Chemother.* 40: 2173, 1996.
10. Dietz, H., et al. The Signal Molecule for  $\beta$ -lactamase Induction in *Enterobacter cloacae* Is the Anhydromuramyl- Pentapeptide. *Antimicrob Agents Chemother.* 41: 2113, 1997.
11. Fortineau, N., et al. Plasmid-mediated and Inducible Cephalosporinase DHA-2 from *Klebsiella pneumoniae*. *J. Antimicrobial Chemother.* 47: 207, 2001.
12. Genereux, C., et al. Mutational analysis of the catalytic centre of the *Citrobacter freundii* AmpD N-acetylmuramyl-L-alanine amidase. *Biochem J.* 377: 111, 2004.
13. Handson, N. AmpC  $\beta$ -lactamase: what do we need to know for the future? *J. Antimicrobiol Chemother.* 52: 2, 2003.
14. Handson, N. & Sanders, C. Regulation of Inducible AmpC  $\beta$ -lactamase Expression Among Enterobacteriaceae. *Curr. Pharmac Design.* 5, 11: 881, 1999.
15. Holtje, J., et al. The Negative Regulator of  $\beta$ -lactamase induction AmpD is a N- acetyl-anhydromuramyl-L-alanine amidase. *FEMS Microbiol Letter.* 122: 159,1994.
16. Honoré, N., et al. Inducible cephalosporinase production in clinical isolates of *Enterobacter cloacae* is controlled by a regulatory gene that has been deleted from *Escherichia coli*. *EMBO J.* 5: 3709, 1986.
17. Jacobs, C., et al. Cytosolic Intermediates for Cell Wall Biosynthesis and Degradation Control Inducible  $\beta$ -lactam Resistance in Gram-Negative Bacteria. *Cell.* 88: 823,1997.
18. Jacoby, J. & Muñoz, L. The New  $\beta$ -Lactamase. *N. Engl J. Med.* 352: 380, 2005.
19. Jones, R. Important and Emerging  $\beta$ -lactamase-mediated Resistances in Hospital- based Pathogens: The Amp C Enzymes. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 31: 461,1998.
20. Juan, C., et al. Molecular Mechanisms of  $\beta$ -lactam resistance Mediated by AmpC Hyper production in *Pseudomonas aeruginosa* Clinical Strains. *Antimicrob Agents Chemother.* 49: 4733, 2005.
21. Juan, C., et al. Stepwise up regulation of the *Pseudomonas aeruginosa* Chromosomal Cephalosporinase Conferring High-Level  $\beta$ -Lactam Resistance Involves Three AmpD Homologues. *Antimicrob Agents Chemother.* 50: 1780,2006.
22. Kadima, T. & Weiner, J. Mechanism of Suppression of Piperacillin Resistance in Enterobacteria by Tazobactam. *Antimicrob Agents Chemother.* 41: 2177,1997.
23. Kaneko, K., et al. Gene mutations Responsible for Over expression of AmpC  $\beta$ -lactamase in Some clinical Isolates of *Enterobacter cloacae*. *J. Clin Microbiol.* 43, 6: 2955, 2005.
24. Kong, K., et al. *Pseudomonas aeruginosa* AmpR Is a Global Transcriptional Factor That Regulates Expression of AmpC and *poxB*  $\beta$ -lactamases, Proteases, Quorum Sensing, and Other Virulence Factors. *Antimicrob Agents Chemother.* 49: 4567, 2005.
25. Kopp, U., et al. Sequence of Wild-Type and Mutant *ampD* Genes of *Citrobacter freundii* and *Enterobacter cloacae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 37, 2: 224-228,1993.
26. Korfman, G., et al. Altered Phenotypes Associated with *ampD* Mutations in *Enterobacter cloacae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 35, 2: 358,1991.
27. Korfman, G. & Sanders, C. *ampG* Is Essential for High-Level Expression of AmpC  $\beta$ -lactamase in *Enterobacter cloacae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 33: 1946, 1989.
28. Kuga, A., et al. *ampR* Gene Mutations That Greatly Increase Class C  $\beta$ -lactamase Activity in *Enterobacter cloacae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 44: 561, 2000.
29. Lindberg, F. & Normark, S. Common Mechanism of *ampC*  $\beta$ -lactamase Induction in Enterobacteria: Regulation of the cloned *Enterobacter cloacae* P99  $\beta$ -Lactamase Gene. *J. Bacteriol.* 169, 2: 758, 1987.





30. Lindberg, F., et al. Inactivation of the *ampD* Gene Causes Semi constitutive Overproduction of the Inducible *Citrobacter freundii*  $\beta$ -lactamase. *J. Bacteriol.* 169: 1923, 1987.
31. Lindberg, F., et al. Regulatory Components in *Citrobacter freundii ampC*  $\beta$ -lactamase induction. *Proc Natl Acad Sci.* 82: 4620, 1985.
32. Lindquist, S., et al. Binding of the *Citrobacter freundii* AmpR Regulator to a Single DNA Site Provides Both Auto regulation and Activation of the Inducible *ampC*  $\beta$ -lactamase Gene. *J. Bacteriol.* 171, 7: 3746, 1989.
33. Lodge, J., et al. Investigation of the *Pseudomonas aeruginosa ampR* gene and its role at the chromosomal *ampC*  $\beta$ -lactamase promoter. *FEMS Microbiol Letter.* 111: 315, 1993.
34. Mahlen, S., et al. Analyses of *ampC* gene expression in *Serratia marcescens* reveal new regulatory properties. *J. Antimicrobiol Chemother.* 51: 791, 2003.
35. Mammeri, H., et al. AmpC  $\beta$ -lactamase in an *Escherichia coli* Clinical isolate Confers Resistance to Expanded-Spectrum Cephalosporins. *Antimicrob Agents Chemother.* 48:450, 2004.
36. Nasim, K., et al. New Method for Laboratory Detection of AmpC  $\beta$ -lactamase in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *J. Clin Microbiol.* 42, 10: 4799, 2004.
37. Nelson, E. & Elisha, B. Molecular basis of AmpC Hyper production in Clinical Isolates of *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother.* 43: 957, 1999.
38. Oliva, B. et al. Penicillin-Binding Protein 2 Is required for Induction of the *Citrobacter freundii* Class I Chromosomal  $\beta$ -lactamase in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother.* 33: 1116, 1989.
39. Pérez, F. & Handson, N. Detection of Plasmid-Mediated AmpC  $\beta$ -lactamase Genes in Clinical isolates by Using Multiplex PCR. *J. Clin Microbiol* 40: 2153, 2002
40. Pfeifle, D., et al. Role of Penicillin-Binding Proteins in the initiation of the AmpC  $\beta$ -lactamase Expression in *Enterobacter cloacae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 44: 169, 2002.
41. Philippon, A., et al. Plasmid-Determined AmpC-type  $\beta$ -Lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.* 46: 1, 2002.
42. Poirel, L., et al. Cloning, Sequence Analyses, Expression, and Distribution of *ampC-ampR* from *Morganella morganii* Clinical Isolates. *Antimicrob Agents Chemother.* 43: 769, 1999.
43. Power, P., et al. Biochemical and Molecular Characterization of Three New Variants of AmpC  $\beta$ -lactamase from *Morganella morganii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 50: 962, 2006.
44. Preston, K., et al. Nucleotide Sequence of the chromosomal *ampC* Gene of *Enterobacter aerogenes*. *Antimicrob Agents Chemother.* 44, 11: 3158, 2000.
45. Reisbig, M., et al. Factors Influencing Gene Expression and resistance for gram- negative organisms expressing plasmid-encoded *ampC* Genes of *Enterobacter* origin. *J. Antimicrobiol Chemother.* 51: 1141, 2003.
46. Reisbig, M. & Handson, N. Promoter Sequences Necessary for High-Level Expression of the plamid-Associated *ampC*  $\beta$ -Lactamase Gene *bla<sub>MIR-1</sub>*. *Antimicrob Agents Chemother.* 48: 4177, 2004.
47. Reisbig, M. & Handson N. The ACT-1 plasmid-encoded AmpC  $\beta$ -lactamase is inducible: detection in a complex  $\beta$ -lactamase background. *J. Antimicrobiol Chemother.* 49: 557, 2002.
48. Sanders, C., et al. Penicillin-Binding Proteins and induction of AmpC  $\beta$ -lactamase. *Antimicrob Agents Chemother.* 41: 2013, 1997.
49. Schmidtke, A., et al. Model System To Evaluate the Effect of *ampD* Mutations on AmpC-Mediated  $\beta$ -Lactam Resistance. *Antimicrob Agents Chemother.* 50: 2030, 2006.
50. Siu, L., et al. High-level Expression of AmpC  $\beta$ -Lactamase Due to Insertion of nucleotides between  $-10$  and  $-35$  Promoter Sequences in *Escherichia coli* Clinical isolates: cases Not Responsive to Extended-Spectrum-Cephaloporin Treatment. *Antimicrob Agents Chemother.* 47: 2138, 2003.
51. Thomson, K. & Moland, E. Version 2000: The New  $\beta$ -lactamases of Gram-negative bacteria at the dawn of the new millennium. *Microb Infec.* 2: 1225, 2000.
52. Tracz, D., et al. Increase in *ampC* promoter strength due to Mutations and deletion of the attenuator in a Clinical Isolate of cefoxitin-resistant *Escherichia coli* as determined by RT-







- PCR. J Antimicrobiol Chemother. 55: 768, 2005.
53. Uehara, T. & Park, J. Role of the murein Precursor UDP-N-Acetylmuramyl-L-Ala- $\gamma$ -D-Glu-meso-Diaminopimelic Acid-D-Ala-D-Ala in repression of  $\beta$ -Lactamase Induction in Cell Division Mutants. J. Bacteriol. 184, 15: 4233, 2002.
  54. Verdet, C., et al. A novel Integron in *Salmonella enterica* Serovar Enteritidis, carrying the *bla*<sub>DHA-1</sub> Gene and Its Regulator Gene *ampR* Originated from *Morganella morganii*. Antimicrob Agents Chemother. 44: 222, 2000.
  55. Verdet, C., et al. Emergence of DHA-1-Producing *Klebsiella* spp. in the Parisian Region: genetic Organization of the *ampC* and *ampR* Genes Originating from *Morganella morganii*. Antimicrob Agents Chemother. 50, 2: 607, 2006.
  56. Weidemann, B., et al. Induction of  $\beta$ -lactamase in *Enterobacter cloacae*. Clin Inf Dis. 27 (suppl 1): S42-47, 1998.
  57. Yousef, T., et al. An *ampD* Gene in *Pseudomonas aeruginosa* Encodes a Negative Regulator of AmpC  $\beta$ -lactamase Expression. Antimicrob Agents Chemother. 42: 3296, 1998.

