مقاله پژوهشی

مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
دوره ۳۲ شماره ۲ خرداد و تیر ۱۳۸۹ صفحات ۳۴- ۳۰

بررسی مولکولی ژن های بتالاکتاماز طیف گسترده تیپ TEM در ایزوله های اشریشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه جدا شده از نمونه های بالینی

مجید پرنور: گروه میکروب شناسی، مرکز تحصیلات تکمیلی، دانشگاه آزاد اسلامی زنجان
محمد رضا نهایی: گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی و مرکز تحقیقات کاربردی دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز: نویسنده رابط
E-mail:nahaeim@tbzmed.ac.ir
هایده مبین: گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی تبریز
علیرضا مبشر کار جدی: گروه میکروب شناسی، مرکز تحصیلات تکمیلی، دانشگاه آزاد اسلامی زنجان

دریافت: ۸۷/۹/۳۰ ، پذیرش: ۸۸/۴/۱۰

چکیده

زمینه واهداف: یکی ازمشکلات عمده درکنترل عفونتهای میکروبی بروز مقاومت دارویی است. تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع الطیف (Extended spectrum beta lactamases, $ESBL_S$) می تواند سبب ایجاد مقاومت به آنتی بیوتیکها در باکتریها گردد. این مطالعه جهت بررسی الگوهای حساسیتً آنتی بیوتیکی و بررسی حضور ژن bla_{TEM} در ایزوله های اشریشیا کلی و کلبسیلا پنومونیه *جداسازی*شده از نمونه های مختلف بالینی انجام شد.

روش بررسی: در طول یک سال (۱۳۸۷) از بیماران بستری در مراکز آموزشی و درمانی شهر تبریز نمونه برداری بعمل آمد که نمونه های مورد استفاده شامل ترشحات لوله تراشه، ادرار، خون، ترشحات برونش، خلط، مایع صفاق، زخم، سوآپ گلو بود. ایزوله های اشریشیا کلی (۴۱ ایزوله) و کلبسیلا پنومونیه (۴۷ ایزوله) به روش Kirby-Bauer آنتی بیوگرام گردیدند. آنتی بیوتیک‌های استفاده شده در این تست سفوتاکسیم، سفتازیدیم، سفتریاکسون، آزترونام، آمیکاسین، پیپراسیلین تازوباکتام، سفوروکسیم، سفپیم و ایمی‌پنم بودند. جهت انجام تست تاییدی به روش Combined disk test از دیسک های سفوتاکسیم، سفوتاکسیم / کلاولانیک اسید و سفتازیدیم، سفتازیدیم/ کلاولانیک اسید استفاده شد و از سویه ی *E. coli* ATCC 25922 به عنوان کنترل منفی و از سویه‌ی *E. coli* ATCC 35218 به عنوان کنترل مثبت ژن bla_{TEM} استفاده گردید. درنهایت با استفاده از روش PCR ژنهای bla_{TEM} شناسایی شدند.

یافته ها: از ۴۱ ایزوله *اشریشیا کلی* تعداد ۳۶ ایزوله (۸۷/۸٪) حاوی ژن bla_{TEM} بودند. ۴۱ ایزوله (۱۰۰٪) حساس به ایمی پنم ، ۳۶ ایزوله (۸۷/۸٪) مقاوم به آزترونام و ۴۰ ایزوله (۹۷/۵٪) مولد ESBL بودند. از۴۷ ایزوله *کلبسیلا پنومونیه*، ۴۷ ایزوله (۱۰۰٪) حساس به ایمی پنم، ۴۳ ایزوله (۹۷/۸) مقاوم به سفوروکسیم، ۴۱ ایزوله (۸۷/۲٪) مقاوم به آزترونام، ۴۶ ایزوله (۹۷/۸٪) مولد ESBL بودند و ۳۵ ایزوله (۷۴/۴٪) حاوی ژن bla_{TEM} بودند.

نتیجه گیری: درصد بالای مقاومت در ایزوله های *اشریشیاکلی* (۸۰/۴٪) و *کلبسیلا پنومونیه* (۹۱/۴٪) انجام دقیق آنتی‌بیوگرام لازم است.

کلید واژه ها: اشریشیا کلی، کلبسیلا پنومونیه، بتا لاکتاماز طیف گسترده، دیسک آگار دیفیوژن، واکنش زنجیره پلیمراز.

مقدمه

از نقطه نظر بالینی بتا لاکتامازها مهم ترین و وسیع‌ترین آنزیم‌های تخریب کننده ای هستند که به آنتی بیوتیک های بتا لاکتام حمله ور می شوند. این آنزیم ها یک اتصال آسیل کووالانت را از طریق گروه کربوکسیل حلقه بتا لاکتام بوجود می آورند که حاصل آن باز شدن حلقه بتا لاکتام و غیرفعال شدن دارو می باشد. نقش اولیه بتا لاکتاماز حفاظت باکتری در برابر آنتی‌بیوتیک‌های بتا

لاکتام است، اما در بیوسنتز پپتیدوگلیکان آنها بطور موقتی پیوندهای موجود در واسطه های ساختمان بتا لاکتام را می‌شکنند (۱). درباکتری‌های گرم منفی مقاومت در برابر بتا لاکتام می‌تواند به واسطه‌ی ژن های کروموزومی یا پلاسمیدی باشد اما در نمونه‌های بالینی معمولا"بروز مقاومت وابسته به ژن پلاسمیدهای R است (۳و۲). بتالاکتامازهای وابسته به پلاسمید در۳ گروه بزرگ قابل تقسیم هستند: ۱- پنی سیلینازهای وسیع الطیف ۲- اگزاسیلینازها ۳- کاربنی‌سیلینازها. TEM-1و TEM-2و SHV-1 مهمترین بتا لاکتامازها هستند که محدوده طیف اثر وسیعی برروی پنی سیلینها و سفالوسپورینها دارند. این بتا لاکتامازها بر روی پلاسمیدها حمل می‌شوند (۴و۲و۱). امروزه تعداد ارگانیسم‌هایی که قادر به تولید آنزیم های ESBL هستند در حال افزایش است (۳و۱). انتقال و شیوع سریع میکروارگانیسم‌هایی که قادر به تولید این آنزیم‌ها هستند سبب افزایش شیوع عفونت های بیمارستانی در سراسر دنیا شده است (۱). اشریشیا کلی و کلبسیلا پنومونیه از باکتریهای خانواده انتروباکتریاسه هستند که توانایی تولید آنزیم های ESBL را دارند و عامل بسیاری از عفونت های بیمارستانی مثل عفونت‌های ادراری، عفونت‌های وابسته به کاتتر، انتریت، منتژیت نوزادی، عفونتهای دستگاه تنفسی و سپسیس می‌باشند (۶و۵و۱). هدف این مطالعه، بررسی الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی شناسایی ژن های بتا لاکتاماز تیپ TEM در نمونه های بالینی اشریشیا کلی و کلبسیلا پنومونیه *جداسازی شده* از مراکز آموزشی و درمانی شهر تبریز (امام خمینی، سینا، شهدا و کودکان) بود.

مواد و روش ها

تعداد ۴۱ ایزوله‌ی بالینی اشریشیاکلی و ۴۷ ایزوله‌ی بالینی کلبسیلا پنومونیه شامل نمونه های ادراری، مدفوع، زخم، آبسه، کاتتر و تراشه از مراکز آموزشی و درمانی شهر تبریز (سینا، امام خمینی، شهدا و کودکان) جمع آوری و با انجام تست‌های بیوشیمیایی شناسایی و تعیین هویت شدند.

سپس باکتریهای جداسازی شده در محیط تریپتیکاز سوی براث حاوی گلیسرول کشت و در ۸۰°C- نگهداری شدند. تعیین حساسیت و مقاومت آنتی بیوتیکی بوسیله روش دیسک آگار دیفیوژن (Kirby-Bauer) انجام شد (۷). دیسک های مورد استفاده شامل سفوتاکسیم (30µg)، سفتازیدیم (30µg)، آمیکاسین (30µg)، ایمی‌پنم (10 µg)، آزترونام (30µg)، سفوروکسیم (30µg)، پیپراسیلین/ تازوباکتام (10µg/ 100 µg) و سفپیم (30µg) بودند که از شرکت MAST تهیه شدند (۷).

تست فنوتیپی تاییدی:

هدف از انجام این تست جداسازی سویه های تولید کننده ESBL بود. دیسک های مورد آزمایش شامل سفتازیدیم/ کلاولانیک اسید (CAZ: 30µg / CV: 10µg) و سفوتاکسیم/ کلاولانیک اسید(CTX: 30µg/CV: 10µg) به همراه سفوتاکسیم (30µg) و سفتازیدیم (30µg) که محصول شرکت Mast بودند به کار گرفته شدند.

بعد از انکوباسیون به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷°C تولید $ESBL_S$ از طریق افزایش قطر هاله به اندازه ۵ میلیمتر یا بیشتر در اطراف دیسک سفتازیدیم/کلاولانیک اسید یا سفوتاکسیم/ کلاولانیک اسید مشخص گردید (۱).

استخراج DNA و انجام PCR:

ابتدا DNAی پلاسمیدی نمونه‌ها به روش جوشانیدن (boiling) استخراج گردید (۸). سپس تست PCR جهت شناسایی ژن‌های بتا لاکتامازی bla_{TEM} (421bp) با شرایط مندرج در جدول ۱ انجام شد (۹). مشخصات پرایمرهایی که در انجام PCR مورد استفاده قرار گرفتند به شرح جدول ۲ بود.

همچنین از سویه ها ی استاندارد *E. coli* ATCC 25922 به عنوان کنترل منفی و *E. coli* ATCC 35218 به عنوان کنترل مثبت ژن bla_{TEM} استفاده گردید. از ژل آگارز ۱/۱٪ و مارکر (Ladder Fermantase) SMO323 100bp برای الکتروفورز محصولات PCR استفاده شد.

جدول۱: مشخصات پرایمرهای مورد استفاده جهت انجام PCR

پرایمر	ترتیب توالی نوکلئوتیدی
Forward - TEM	5´-ACA TGG GGG ATC ATG TACT-3´
Reverse - TEM	5´- GAC AGT TAC AAT GCT TACT-3´

جدول۲: شرایط مورد استفاده درPCR

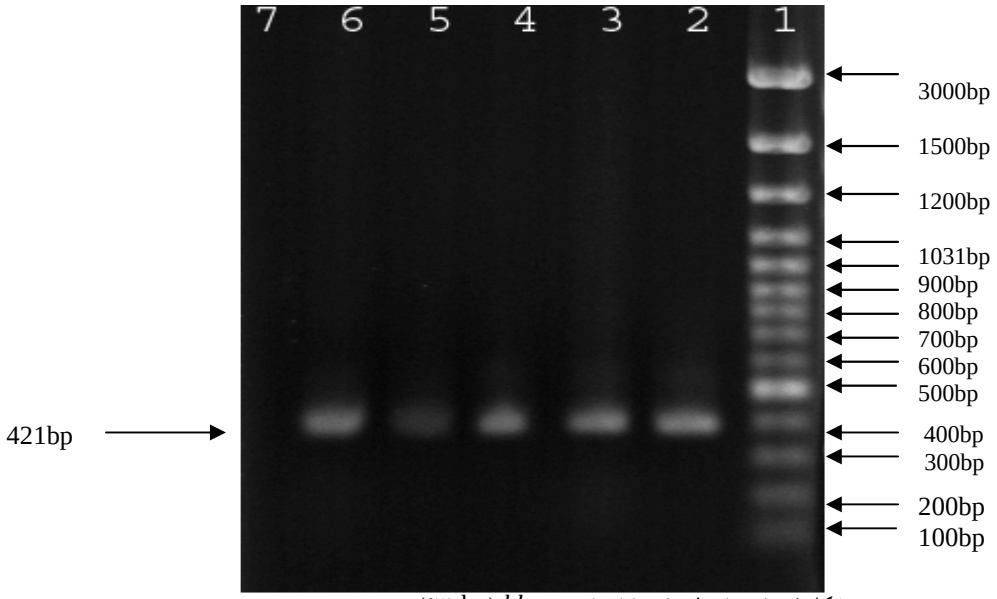
مراحل آزمایش	درجه حرارت (°C)	زمان
دناتوراسیون اولیه	۹۴	۴دقیقه
دناتوراسیون	۹۴	۱دقیقه
اتصال پرایمر	۵۳	۴۵ثانیه
طویل سازی	۷۲	۱دقیقه
طویل سازی نهایی	۷۲	۱۰دقیقه
تعداد سیکل ها	۳۵	

جدول ۳: الگو های حساسیت آنتی بیوتیکی در ایزوله های *اشریشیا کلی* و *کلبسیلا پنومونیه* (٪)

ایزوله	نوع مقاومت	پیپراسیلین/تازوباکتام	ایمی پنم	آمیکاسین	سفپیم	سفوروکسیم	سفتازیدیم	سفتریاکسون	سفوتاکسیم	آزترونام
اشریشیا کلی	حساس	۹/۷۶	۱۰۰	۸۷/۸۰	۱۴/۶۳	۴/۸۸	۱۹/۵۱	۲۱/۹۵	۷۸/۰۵	۴/۸۸
	بینابینی	۹/۷۵	۰/۰۰	۷/۳۲	۱۹/۵۲	۱۷/۰۷	۰/۰۰	۰/۰۰	۴/۸۸	۷/۳۲
	مقاوم	۸۰/۴۹	۰/۰۰	۴/۸۸	۶۵/۸۵	۷۸/۰۵	۸۰/۴۹	۷۸/۰۵	۱۷/۰۷	۸۷/۸۰
کلبسیلا پنومونیه	حساس	۴/۲۶	۱۰۰	۷۲/۳۴	۸/۵۱	۰/۰۰	۴/۲۶	۲/۵۰	۰/۰۰	۲/۱۳
	بینابینی	۸/۵۱	۰/۰۰	۱۷/۰۲	۸/۵۱	۲/۱۳	۴/۲۶	۴/۲۵	۱۰/۶۴	۱۰/۶۴
	مقاوم	۸۷/۲۳	۰/۰۰	۱۰/۶۴	۸۲/۹۸	۹۷/۸۷	۹۱/۴۸	۹۳/۶۲	۸۹/۳۶	۸۷/۲۳

جدول ۴: نتایج تست تاییدی در ایزوله های اشریشیا کلی و کلبسیلا پنومونیه (٪)

تغییرات هاله عدم رشد	سفوتاکسیم/کلاولانیک اسید (*کلبسیلا پنومونیه*)	سفتازیدیم/کلاولانیک اسید (*کلبسیلا پنومونیه*)	سفوتاکسیم/کلاولانیک اسید (*اشریشیا کلی*)	سفتازیدیم/کلاولانیک اسید (*اشریشیا کلی*)
افزایش هاله	۹۳/۶۲	۹۳/۶۲	۸۲/۹۲	۹۲/۶۸
عدم افزایش هاله	۶/۳۸	۶/۳۸	۱۷/۰۸	۷/۳۲



شکل ۱: نمایش ایزوله های دارای ژن bla_{TEM} (۴۲۱ bp).

۱: مارکر.

۲: کنترل مثبت ژن bla_{TEM} (*E. coli* ATCC 35218)

۳-۶: ایزوله های دارای ژن bla_{TEM}

۷:کنترل منفی (*E. coli* ATCC25922)

یافته ها

در بین ۴۱ ایزوله اشریشیا کلی بدست آمده۳۶ ایزوله (۸۷/۸٪) مقاوم به آزترونام، ۳۳ ایزوله (۸۰/۴۹٪) مقاوم به پیپراسیلین/ تازوباکتام و سفتازیدیم، ۳۲ ایزوله (۷۸/۰۵٪) مقاوم به سفوتاکسیم، سفوروکسیم و سفتریاکسون، ۲۷ ایزوله (۶۵/۸۵٪) مقاوم به سفپیم و ۲ ایزوله (۴/۸۸٪) مقاوم به آمیکاسین بودند، ولی هیچکدام از ایزوله‌ها به ایمی‌پنم مقاومت نداشتند. تعداد ۱۹ ایزوله (۴۶/۳۴٪) مربوط به نمونه‌های ادراری وتعداد ۱۲ ایزوله (۲۹/۲۷٪) متعلق به نمونه‌های تراشه، ۷ ایزوله (۱۷/۰۷٪) مربوط به نمونه خون، یک ایزوله (۲/۴۴٪) مربوط به نمونه کاتتر، یک ایزوله (۲/۴۴٪) مربوط به نمونه مایع پلور و یک ایزوله (۲/۴۴٪) مربوط به نمونه خلط بود. همچنین۴۰ ایزوله (۹۷/۵۶٪) ESBL مثبت و از ۴۱ ایزوله ای که آزمایشPCR بر روی آنها انجام گرفت ۳۶ ایزوله (۸۷/۸٪) حاوی ژن bla_{TEM} بودند. در این مطالعه یک ایزوله حاوی ژن bla_{TEM} شناسایی گردید که آزمایش ESBL آن منفی بود.

از بین ۴۷ ایزوله *کلبسیلا پنومونیه* ۴۶ ایزوله (۹۷/۸۷٪) مقاوم به سفوروکسیم، ۴۴ ایزوله (۹۳/۶۲٪) مقاوم به سفتریاکسون، ۴۳ ایزوله (۹۱/۴۸٪) مقاوم به سفتازیدیم، ۴۲ ایزوله (۸۹/۳۶٪) مقاوم به سفوتاکسیم، ۴۱ ایزوله (۸۷/۲۳٪) مقاوم به آزترونام و پیپراسیلین/ تازوباکتام، ۳۹ ایزوله (۸۲/۹۸٪) مقاوم به سفپیم و۵ ایزوله (۱۰/۶۴٪) مقاوم به آمیکاسین بودند ولی هیچکدام از ایزوله‌ها به ایمی‌پنم مقاومت نداشتند. تعداد ۱۹ ایزوله (۴۰/۴۲٪) مربوط به نمونه‌های خون، ۱۷ ایزوله (۳۶/۱۷٪) مربوط به نمونه‌های تراشه،

۴ ایزوله(۸/۵۱٪) مربوط به نمونه‌های ادراری، ۴ ایزوله (۸/۵۱٪) مربوط به نمونه‌های مایع برونش، یک ایزوله (۲/۱۳٪) مربوط به مایع پلور، یک ایزوله (۲/۱۳٪) مربوط به ترشحات حلق ویک ایزوله (۲/۱۳٪) مربوط به نمونه مدفوع بود. تعداد ۴۶ ایزوله (۹۷/۸۷٪) ESBL مثبت بودند. از ۴۷ ایزوله *کلبسیلا پنومونیه* که آزمایش PCR بر روی آنها انجام گرفت ۳۵ ایزوله (۷۴/۴۶٪) حاوی ژن bla_{TEM} بودند.

بحث

بتالاکتامازهای طیف گسترده قادرهستند تعداد زیادی از آنتی بیوتیک های بتالاکتام را که بطور رایج استفاده می‌شوند هیدرولیز کنند و به همین دلیل به آنها بتا لاکتامازهای طیف گسترده ($ESBL_S$) گفته می‌شود. بطور ذاتی به نظر می‌رسد ESBL ها بوسیله ژن‌های کروموزومی سفالوسپورین‌های کلاس C (*AmpC*) تولید و در مکانیسم ایجاد مقاومت در باکتری‌های گرم منفی شرکت می‌کنند. با این تعاریف ESBLها مولکول های بتا لاکتاماز کلاس A یا D هستند که قادر به هیدرولیز اکسی ایمینوسفالوسپورین‌ها در اندازه‌ای برابر یا ۱۰٪ بیشتر از بنزیل پنی‌سیلین‌ها می‌باشند (۶). ارگانیسم‌هایی که این ژن ها را حمل می‌کنند، باعث افزایش بیماریزایی دربین افراد می‌شوند (۴). مطالعات Chmelnitsky و همکاران در سال ۲۰۰۵ در اسراییل نشان می‌دهد که میزان حساسیت به سفتازیدیم در ایزوله های *اشریشیا کلی* ۴۵٪ است و در مقابل میزان مقاومت به سفتازیدیم در این مطالعه ۸۰/۴۹٪ بود (۱۰). بر اساس نتایجی که Lal وهمکاران در سال ۲۰۰۶ در هندوستان بر روی نمونه‌های کلبسیلا پنومونیه به دست آوردند، میزان ESBL ها را ۸۶٪ تعیین کردند (۸) و این در حالی است که این میزان در این مطالعه ۷۴/۴۷٪ است میزان ایزوله های اشریشیا کلی مقاوم به آمیکاسین و پیپراسیلین/ تازوباکتام در مطالعه ی حاضر ۴/۸۸ ٪ و ۸۰/۴۹٪ و این میزان در یک مطالعه که در آلمان در سال ۲۰۰۵ توسط Kader وهمکاران انجام گرفته بود ۷۲/۸٪ و ۶۶٪ گزارش شده بود (۱۱).

در این مطالعه۹۷/۵۶٪ از ایزوله های *اشریشیا کلی* و ۹۷/۸۷٪ از ایزوله های کلبسیلا پنومونیه *مولد* آنزیم‌های ESBL بودند. مصرف بی‌رویه آنتی بیوتیک‌ها بخصوص سفتازیدیم و بستری شدن در بخش ICU و استفاده از سوندهای ادراری و کاترها جزو عوامل شیوع ESBL ها بودند. نتایج انتشار یافته در تحقیقات علمی گوناگون در سال‌های گذشته در مورد سویه‌های *اشریشیا کلی* تولید کننده ESBL در کشورهای مختلف به شرح ذیل بوده است: سال ۲۰۰۶ در پاکستان ۵۳/۳٪ (۱۲)، سال ۲۰۰۲ در هندوستان ۶۸٪ (۱۳)، سال ۲۰۰۵ در اسپانیا ۵۱/۸٪ (۱۴)، سال ۲۰۰۴ در کره ۹/۲٪ (۱۵)، سال ۲۰۰۵ در لبنان ۱۳/۳٪ (۱۶)، سال ۲۰۰۵ در اسراییل ۲۲٪ (۱۰) و سال ۲۰۰۲ در چین ۳۵-۱۳٪(۱۷) بود. همچنین نتایج انتشار یافته در تحقیقات علمی گوناگون درسال های گذشته در مورد سویه‌های *کلبسیلا پنومونیه* تولید کننده ESBL در کشورهای مختلف به شرح ذیل بوده است: سال ۲۰۰۲ در ژاپن کمتر از۱۰٪ (۱۸)، ۲۰۰۲ در هندوستان ۶۸٪ (۱۴)، ۲۰۰۵ در پاکستان ۲۵٪ (۱۲) و۲۰۰۲ در چین ۳۰٪ (۱۷) بود. میزان شیوع ESBL ها در نمونه های جداسازی شده از کشورهای مختلف و حتی از یک بیمارستان در یک کشور با بیمارستان دیگر در همان کشور می‌تواند تفاوت زیادی داشته باشد (۶).

در این مطالعه میزان تولید ژن bla_{TEM} در ایزوله های *اشریشیا کلی* حدود ۸۷/۸٪ بود. این میزان در مطالعه ای که در سال ۲۰۰۸ در مالزی توسط Zamberi و همکاران انجام گرفت ۷۵٪ گزارش شد (۱۹). همچنین در مطالعه‌ای دیگر سال ۲۰۰۵ در کره ۷۸/۳٪ از کل ایزوله‌های *اشریشیاکلی*، ESBL مثبت دارای ژن bla_{TEM} بودند (۲۰) و این میزان در مطالعه اخیر ۹۰٪ نمونه‌های ESBL مثبت (۸۷/۸٪ کل نمونه ها) بود.

همچنین میزان ژن bla_{TEM} در یک مطالعه در هندوستان ۸۷/۳٪ بود (۱۰). در سال ۲۰۰۵ در کره ۶۰٪ از کل ایزوله‌های ESBL مثبت کلبسیلا پنومونیه دارای ژن bla_{TEM} بودند (۲۰) و این میزان در مطالعه اخیر۷۶/۰۹٪ نمونه‌های ESBL مثبت بود (۲۰). در این مطالعه به ترتیب ۷۸/۰۵٪، ۷۵/۶۱٪ و۷۳/۱۷٪ از ایزوله‌های *اشریشیاکلی* همزمان با داشتن ژن bla_{TEM} مقاوم به پیپراسیلین/تازوباکتام، سفوتاکسیم و سفتازیدیم بودند و به همین ترتیب در ایزوله‌های *کلبسیلا پنومونیه*، ۷۲/۳۴٪ مقاوم به پیپراسیلین/تازوباکتام و سفوتاکسیم و ۷۰/۲۱٪ مقاوم به سفتازیدیم بودند. با توجه به افزایش روز افزون تیپ‌های مختلف آنزیمهای ESBL و تاثیر متفاوت آنها برروی آنتی‌بیوتیک‌های مختلف، تعیین دقیق تیپ‌های مختلف آنزیم TEM و سایر آنزیم‌های ESBL با روشهای مولکولی دیگر مانند PCR-RFLP، REP-PCR و تعیین توالی (Sequencing) این ژن‌ها را گوشزد می‌نماید.

نتیجه گیری

با در نظر گرفتن این امر که آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام بخصوص سفالوسپورین‌های نسل سوم اغلب درمان‌های آنتی‌بیوتیکی را در مراکز درمانی بخود اختصاص می‌دهند، مقاومت باکتریایی نسبت به این داروها به ویژه سفتازیدیم (۸۰/۴۹٪) در ایزوله های *اشریشیا کلی* و ۹۱/۴۸٪ در ایزوله‌های *کلبسیلا پنومونیه* و مهارکنندگان بتا لاکتاماز (۹۳/۶۲٪ و ۹۳/۶۲٪ به ترتیب دربرابر سفتازیدیم/ کلاولانیک اسید و سفوتاکسیم/ کلاولانیک اسید در ایزوله‌های *کلبسیلا پنومونیه* وهمچنین به ترتیب ۹۲/۶۸٪ و۸۲/۹۲٪ نسبت به سفتازیدیم/ کلاولانیک اسید و سفوتاکسیم/ کلاولانیک اسید در ایزوله‌های *اشریشیا کلی*) در حال افزایش است که تاثیر بالینی این داروها را به خطر انداخته است. بنابراین با توجه به ترشح آنزیم‌های ESBL در باکتریهای مهم پزشکی جهت پیشگیری از انتشار بیشتر این مقاومت‌های دارویی، تجویز آنتی‌بیوتیک‌های مناسب بر اساس نتایج دقیق تست حساسیت توصیه می‌گردد (۲۱).

References:

1. Joklik WK, Willett HS, Wilfert CH (eds). Antimicrobial agents. In: *Zinsser Microbiology*. 20th ed. Norwalk, Appleton and Lange, 1992; PP: 153-187.
2. Mocktar C, Govinden U, Sturm AW, Essack S. TEM-146beta- lactamases produced by *Escherichia Coli* isolates from state hospitals Kwazulu- Natal, South Africa. *African Journal Of Biotechnology* 2007; **6**(5): 493- 495.
3. AL-Agamy MHM, Ashour MS, Wiegand I. First description of CTX_M beta- lactamase-producing clinical *Escherichia Coli* isolates from Egypt. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2006; **27**: 545-548.
4. Song JS, Lee JH, Lee JH, Jeong BC, Lee WK, LeeSH. Removal of contaminating TEM-la beta-lactamase gene from commercial Taq DNA polymerase. *Journal of Microbiology* 2006; **44**(1): 126-128.
5. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrobial Agents Chemother* 1995; **39**: 1211- 1233.
6. Sturenburg E, Mak D. Extended-spectrum beta-lactamases: Implications for the clinical microbiology Laboratory, therapy, and infection control of infection, *Journal of Infection* 2003; **47**: 273-295.
7. Clinical Laboratory and Standards Institute. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. 15th informational supplement (M100-s15). National Committee for Clinical Laboratory Standards. Wayne, Pa: 2005.
8. Lal P, Kapil A, Das BK, Sood S. Occurrence of *TEM and SHV* gene in extended-spectrum beta- lactamases (ESBLS) producing *Klebsiella Sp*. Isolated from a tertiary care hospital. *Indian Journal Med Res* 2007; **125**: 173-178.
9. Goyal A, Prasad A, Ghoshal U, Prasad KN. Comparison of disk diffusion, disk potention and double disk synergy methods for detection of extended spectrum beta lactamases in Enterobacteriaceae. *Indian Journal Med Res* 2008; 128: 209-211.
10. Chmelinitsky I, Carmeli Y, Leavitt A, Schwaber MJ , Navon – Venezia S. *CTX – M- 2* and a new CTX – M - 39 enzyme are the major extended-spectrum beta – lactamases in multiple *Escherichia Coli* clones isolated in Tel Aviv, Israel . *Antimicrob Agents Chemother* 2005; **49** (11): 4745-4750.
11. Kader AA, Kumar A. Prevalence and antimicrobial susceptibility of extended-spectrum beta- lactamase (*CTX-M-15*) producing *Enscherichia Coli* and *Klebsiella Pneumoniae* in a genral hospital. *Ann Saudi Med* 2005**; 25**(3)**:** 239-242.
12. Shamim M, Mumtaz A, Irum A, Naeem A. Abdul H. Frequency of extended-spectrum beta-lacamse (ESBL) and Blood Stream Infections. *Infection Journal of Pakestan* 2008; **17**: 48-51.
13. Mathani D, Rhomberg PR, Biedenbach, Jones RN. Evaluation of the invitro activity of six broad-spectrum beta-lactam antimicrobial agents tasted against recent clinical isolates from India: a survey of ten medical center laboratories. *Diagn Microbial Infect Dis* 2002*;* **44**: 367-377.
14. Rodrieguez BJ, Navarro MD, Romero L, Martinez L. Epidemiology and clinical ifections ESBL- producing *Klebsiella Strain*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2006; **57**: 562-565.
15. Jeong SH, Bae IK, Lee JH, Sohn SG , Jeon GJ, Kim YH, Jeong BC , Lee SH. Spectrum beta-Lactamases Produced by Clinical Isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Esherichi Coli* from a Korean Nationwide Survey. *Journal Clincal Microbiol* 2004; 42 (7): 2902-2906.
16. Moubareck C, Daoud Z, Hakime NI, Hamze M, Mangeney N. Countrywide Spread of Community and Hospital Acquired Extended-Spectrum beta–Lactamases *(CTX – M – 15)* Producing Enterobacteriaceae in Lebanon, *Journal Clincal Microbial* 2005*;* **43**(7): 3309 – 3313.
17. Hawkey PM. Prevalence and clonality of extended-spectrum beta-lactamase in Asia. *Journal European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 2008; **14**: 159-165.
18. Hira KY, Matsuda J, MizyazakiY. Regional variation in the prevalence of extended-spectrum beta-lactmase producing clinical isolatesin the Asia pacific region (SENTRY 1998-2002). *Diagn Microbial Infect Dis* 2005*;* **52**: 323-329.
19. Zamberi S, Rusmah Y, Rusmah M. Extende d-spectrum beta- lactamases- producing *Escherichia coli* from a tertiary hospital in Malaysia: emergence of CTX- M- type beta- lactamases variation. *Research of Microbiology* 2008; **125**: 1-5.
20. Ryoo NH, Kim EC, Hong SG, Park YJ, Lee K, Bae IK. Dissemination of SHV-12 and CTX-M-type extended-spectrum beta- lactamases among clinical isolates *Escheirchia Coli* and *Klebsiella Pneumoniae* and emergence of GES-3 in Korea. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2005; **56**: 698-702.
21. Thomson KS. Controversies about extended-spectrum and AmpC beta- lactamases. *Emerg Infect Dis* 2001; **7**(2): 1-9.