مقاله پژوهشی

مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
دوره ۳۴ شماره ۱ فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۱ صفحات ۶۲- ۵۶

بررسی بتالاکتامازهای وسیع الطیف (ESBLS) تیپ TEM در ایزوله‌های بالینی اشریشیاکلی به وسیله روش‌های فنوتیپی و ژنوتیپی

محمد مهدی سلطان دلال: مرکز تحقیقات مقاومت میکروبی، گروه پاتوبیولوژی، بخش میکرب شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
فرناز شامکانی: گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، واحد بین المللی، تبریز، ایران
محمد کاظم شریفی یزدی: گروه آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
جلیل فلاح: گروه میکروب شناسی، انستیتو بیوانفورماتیک تهران، تهران، ایران
محمد حسین سروش برحقی: گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
هدروشا ملاآقامیرزایی: گروه پاتوبیولوژی، بخش میکرب شناسی، دانشکده بهداشت ، دانشگاه علوم پزشکی تهران
آیلار صباغی: گروه پاتوبیولوژی، بخش میکرب شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
ترانه پیمانه عابدی محتسب: گروه پاتوبیولوژی، بخش میکرب شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
محمد آذرسا: گروه پاتوبیولوژی، بخش میکرب شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
رضا قوطاسلو: گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
محمد تقی اخی: گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران، نویسنده رابط:
E-mail:M_T_Akhi@yahoo.com

دریافت: ۸۹/۱۱/۱۱ پذیرش: ۹۰/۴/۱

چکیده

زمینه و اهداف: آنزیمهای بتالاکتاماز وسیع‌الطیف یکی از دلایل بروز مقاومت دارویی در ایزوله های اشریشیاکلی است. هدف از این تحقیق بررسی الگوهای حساسیت آنتی بیوتیکی نسبت به انتی بیوتیک های بتالاکتام و تحقیق پیرامون وجود ژن (TEMbla) در ایزوله های اشرشیاکلی جمع اوری شده ازنمونه های بالینی می باشد.

مواد و روش‌ها: در مدت ۵ ماه، ۱۸۸ ایزوله اشرشیاکلی از بیمارستان های امام رضا (ع) و شهید مدنی تبریز و مراکز درمانی خوی جمع آوری واز طریق تست های افتراقی، تعیین هویت شدند. برای تعیین الگوی حساسیت جدا شده ها نسبت به انتی بیوتیک ها، از روش Disk diffusion استفاده گردید.
تولید ESBLs در ایزوله های مقاوم به سفتازیدیم بوسیله CDT تعیین گردید. PCR جهت *کشف وجودژن (*TEMbla*) مورد استفاده قرار گرفت.*

یافته‌ها: از ۹۴ ایزوله جمع آوری شده از تبریز به ترتیب ۲۹(۳۰/۸۵٪) و ۳۸ (۴۰/۴۲٪) مورد مقاوم به سفتازیدیم و سفوتاکسیم بودند که در میان آنها ۳۸ (۵۶/۷۱٪) ایزوله به عنوان تولید کننده ESBL تشخیص داده شدند. هفت و هشتادونه درصد (۷/۸۹٪) از ایزوله های تولید کننده ESBL حاوی ژن bla_{TEM} بودند. از۹۴ ایزوله جمع آوری شده از خوی ۲۴ (۲۵/۵۳٪) مورد مقاوم به سفتازیدیم و ۲۵(۲۶/۵۹٪) ایزوله مقاوم به سفوتاکسیم کشف گردید.
در میان ایزوله های مقاوم به بتا لاکتام ها ۲۴(۵۲/۱۲٪) مورد تولید کننده ESBL بدست آمد که ۱۲/۵٪ از آنها حاوی ژن bla_{TEM}بودند.

نتیجه‌گیری: تشخیص این نوع مقاومت ها با استفاده از روش های ملکولی به همراه روش های فنوتیپی و کنترل مصرف آنتی بیوتیک ها امری ضروری تلقی می شود.

کلید واژه ها: اشرشیاکلی، تبریز، خوی، مقاومت آنتی بیوتیکی، ESBL, bla_{TEM}

مقدمه

اشریشیاکلی، یک پاتوژن فرصت طلب از خانواده آنتروباکتریاسه بوده و اغلب عفونت هایی مثل عفونت‌های کلیه، مثانه، زخم، ریه و منتژها را ایجاد می‌کند. هر کدام از این عفونت-ها می‌توانند منجر به سپتی سمی شده و تهدید کننده زندگی باشند. بر این اساس اشریشیاکلی یکی از پاتوژن های اصلی عفونت های بیمارستانی محسوب می‌شود (۲-۱). مقاومت‌های آنتی بیوتیکی به عنوان یک مشکل اساسی در درمان و کنترل عفونت‌ها محسوب می‌شوند (۳).

مکانیسم‌های مقاومت‌های باکتریایی در برابر آنتی بیوتیک‌ها، مختلف و متفاوت می باشند، اما یکی از این مکانیسم‌های مقاومتی، که برای ما بسیار مشکل ساز شده است، تولید آنزیم-های بتالاکتامازی در باکتری‌ها می‌باشد.

این آنزیم‌ها از طریق هیدرولیز هسته مرکزی آنتی بیوتیکهای بتالاکتام باعث غیر فعال شدن آن‌ها می‌شوند. بتا لاکتامازها انواع مختلفی دارند، که از آن جمله می‌توان به آنزیم TEM اشاره نمود. این آنزیم‌ها قادر بودند آنتی بیوتیک‌های گروه پنی‌سیلین، سفالوسپورین‌ها و نیز آزترئونام را هیدرولیز نمایند.

در واقع بروز موتاسیون های نقطه ایی در سکانس اسید آمینه-ایی بتالاکتامازهای اولیه نظیر TEM-1، TEM-2، باعث اشتقاق و پیدایش این آنزیم های جدید و وسیع الطیف گردید که امروزه آن ها را تحت عنوان ESBLs می‌شناسند (۴). ESBLs، در تقسیم بندی که توسط Bush، Jacoby و Medeiros، به ۴ گروه اصلی از ۱ تا ۴ طبقه بندی شدند (۵).

ESBL گروه A، پلازمیدهای مربوط به بتالاکتاماز هستند، که فقط در باسیل‌های گرم منفی شرح داده شده اند و سبب هیدرولیز پنی‌سیلین، سفالوسپورین ها با طیف کم و وسیع می-شوند. بیشتر سویه‌های تولید کننده ESBL دارای موتانت های TEM-1، TEM-2 و SHV-1 از باکتری‌های اشریشیاکلی و کلبسیلاپنومونیه می باشند.

گروه B، شامل متالوپروتئازهایی هستند که قادر به هیدرولیز کرباپنم‌ها هستند. گروه C، عموماً کروموزومی بوده و با فرکانس بالا در میان انتروباکتر کلوآکه گزارش شده است (۶). گروه D، بتالاکتامازها با قدرت هیدرولیز زیاد علیه اکساسیلین و کلوکساسیلین هستند و اسید کلاوونیک به طور ضعیف از فعّالیت آن ها جلوگیری می‌کند (۷).

اولّین بار در سال ۱۹۶۵ این آنزیم از سویه E.coli، از کشت خونی فردی به نام Temoneria در آتن جدا شد (۸). اولین بار این نوع مقاومت در سال ۱۹۸۳ گزارش شد. Paterson و همکاران در سال ۲۰۰۴ به بررسی میزان شیوع ESBL در طی سال های ۱۹۸۳ الی ۲۰۰۴ در میان سویه های باکتریایی پرداختند. نتایج حاصل از این تحقیق حاکی از افزایش سویه های مولّد ESBLs در طی این سال ها می باشد (۶). Bradford و همکارانش در سال ۲۰۰۱ نشان دادند که اکثر شیوع ESBLs در ایالات متحده، مربوط به خانواده TEM می‌باشد (۷).

میزان ESBLs در سویه های ایزوله شده از کشورهای مختلف و همچنین در یک کشور از یک بیمارستان با بیمارستان دیگر متفاوت است (۹) امروزه بیش از ۱۱۹ تیپ TEM شناسایی شده است (۱۰). بنابراین بررسی و شناسایی این سویه ها به منظور تشخیص این نوع مقاومت امری مهم تلقی می‌شود (۱۱). برای شناسایی بتالاکتامازهای وسیع الطیف بهترین روش، یک غربالگری اولیه برای حساسیت کاهش یافته نسبت به آنتی بیوتیک های پیشنهادی Clinical and laboratory (CLSI) standards institute است و سپس انجام آزمون های تاییدی، به منظور اثبات اثر سینرژیسم، بین یک نشانگر سفالوسپورین و یک مهارکننده بتالاکتامازی می‌باشد (۱۲).

هدف از انجام این تحقیق، تعیین الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی و بررسی وجود ژن بتالاکتامازی TEM با استفاده از پرایمرهای یونیورسال به وسیله روش PCR در ایزوله‌های اشرشیاکلی بیمارستان های آموزشی- درمانی امام رضا (ع) و شهید مدنی شهر تبریز ومراکز درمانی شهر خوی می باشد.

مواد و روش‌ها

در یک مطالعه توصیفی- مقطعی تعداد ۱۸۸ ایزوله اشرشیاکلی، در مدت ۵ ماه بصورت تصادفی ساده از بیمارستان های امام رضا (ع) و شهید مدنی شهر تبریز و مراکز درمانی شهر خوی جمع آوری گردید و از طریق کشت برروی‌محیط‌های انتخابی EMB، سیمون سیترات اگار، TSI اوره و SIM تعیین هویت شدند.

برای تعیین الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی، سوسپانسیونی معادل نیم مک فارلند از تمام ایزوله ها تهیه و در محیط کشت مولر هینتون آگار(Merck, Germany) کشت داده شد. سپس از دیسک های‌آنتی بیوتیکی تهیه شده از شرکت Mast شامل، سفتازیدیم (۳۰µg)، سفوتاکسیم (۳۰µg)، نالیدیکسیک اسید (۳۰µg)، کوتریماکسازول (۱/۲۵µg)، آموکسی‌سیلین (۳۰µg)، استرپتومایسین (۱۰µg) جنتامایسین (۱۰µg)، سیپروفلوکساسین (۵µg)، کلرامفنیکل (۱۰µg) و ایمی پنم (۱۰µg) جهت آنتی‌بیوگرام روی محیط مزبور قرار داده و نتایج بعد از ۱۸تا ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد با استفاده از دستورالعمل CLSI مورد بررسی قرار گرفت.

کلیه ایزوله های مقاوم به سفتازیدیم به منظور تأیید تولید ESBL با آزمون CDT (Combined Disk Test) مورد ارزیابی قرار گرفتند. در این آزمون، سوسپانسیونی معادل نیم مک فارلند از ایزوله‌ها تهیه و بر روی محیط مولر هینتون آگار کشت داده شد سپس دیسک های سفتازیدیم و سفتازیدیم- کلاوولانیک اسید (۱۰µg /۳۰µg)، سفوتاکسیم و سفوتاکسیم-کلاوولانیک اسید (۳۰µg/۱۰µg) به فاصله حداقل (۲/۵ سانتی‌متر) از یکدیگر بر

روی محیط قرار داده و پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد اگر قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک های حاوی اسید کلاوولانیک پنج یا بیشتر از پنج میلی‌متر از دیسک-های بدون مهار کننده بزرگتر باشد، سویه مورد نظر را با در نظر گرفتن ضوابط CLSI، می‌توان ESBL مثبت گزارش کرد (۱۳).

استخراج DNA ایزوله‌های مقاوم از طریق پروسه جوشاندن انجام گرفت. برای بررسی وجود ژن bla_{TEM} در ایزوله‌ها از پروسه PCR بهره گرفته شد. برای این منظور واکنش PCR را در حجم نهایی ۲۵µl شامل: ۲µl DNA استخراج شده، ۲ میکرولیتر ($Mgcl_2$ (mM۵۰، ۲/۵µl بافر ۱،X۱۰ میکرولیتر dNTP (mM۱۰)، ۱µl Taq DNA polymerase۵) U/µl) (Fermentase, Litvania)، ۱۴/۵µl آب مقطر استریل، ۱/۵µl پرایمر ۵۰Pmol/µl از هر کدام (Bioneer,Germany)،

F:5'TAATCAGTGAGGCAGACCTATCTC3'
R:5' GAGTATTCAACATTTCCGTGTC 3'

انجام داده شد (۱۴).

برنامه زمانی دستگاه ترموسایکلر در طی ۳۵ سیکل برای تولید محصول (bp۶۳۷) شامل موارد ذیل، First Denaturation ۹۴ درجه سانتیگراد ۳ دقیقه، Denaturation بعدی ۹۴ درجه سانتیگراد ۱ دقیقه، Annealing در ۶۲ درجه سانتیگراد بمدت ۱ دقیقه، Extension ۷۲ درجه سانتیگراد ۱ دقیقه و Last Extension۷۲ درجه سانتیگراد ۱۰ دقیقه تنظیم شد. الکتروفورز محصول PCR در آگاروز۰/۸٪ با مارکر bp۱۰۰ انجام شد.

پس از رنگ آمیزی با اتیدیم بروماید (Fermentase) زیر نور UV نتایج مورد بررسی قرار داده شد. از سویهE.coli، ۷۸۵۲، وبه عنوان کنترل مثبت ژن bla_{TEM} استفاده شد. داده ها به وسیله روش های آمار توصیفی (فراوانی– درصد) وبا استفاده از نرم افزار آماری SPSS.13 مورد بررسی قرار گرفت.

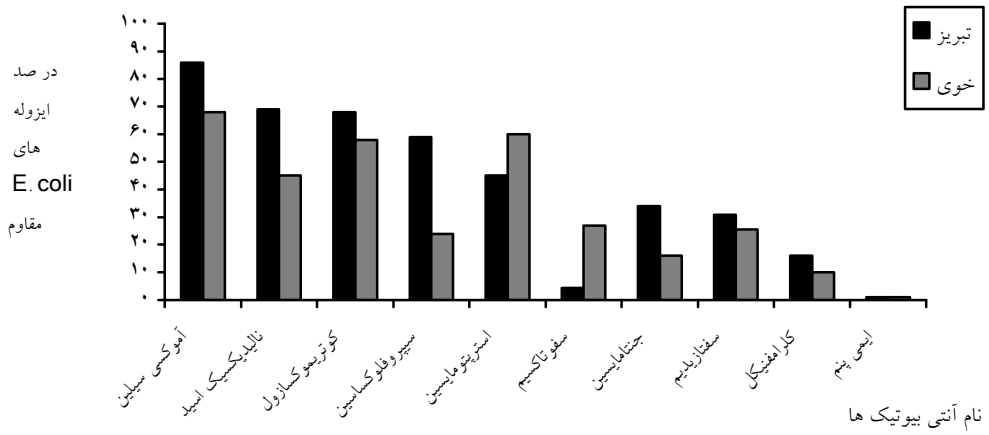
یافته‌ها

در مدت ۵ ماه، ۱۸۸ ایزوله اشرشیاکلی، از بیمارستان های امام رضا (ع) و شهید مدنی شهر تبریز و مراکز درمانی شهر خوی جمع آوری گردید که از این تعداد ۹۴ ایزوله از مرکز آموزشی و درمانی تبریز و ۹۴ ایزوله از مراکز درمانی شهر خوی می باشد.

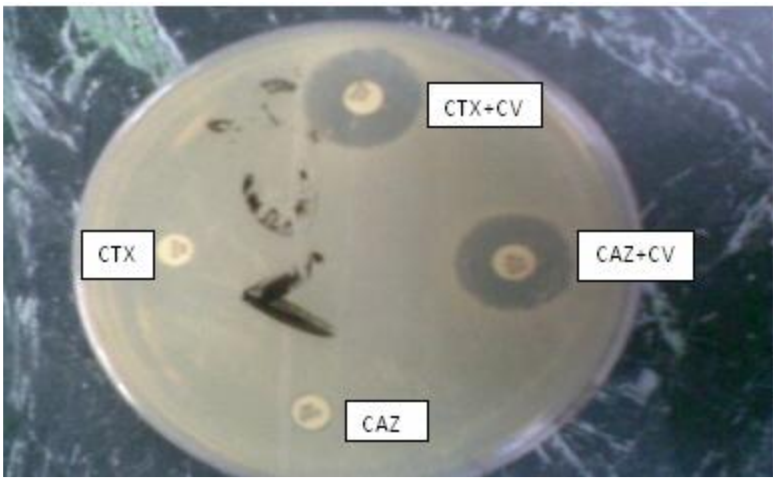
از ۹۴ ایزوله تبریز، ۶۳ ایزوله مربوط به بیمارستان امام رضا (ع) و ۳۱ ایزوله مربوط به بیمارستان شهید مدنی می‌باشد. این ایزوله-ها از نمونه‌های ادرار جدا سازی شدند. نتایج حاصل ازآنتی بیوگرام به شرح زیر می‌باشد: در نمونه های جمع آوری شده از تبریز ۲۹ ایزوله (۳۰/۸۵٪) مقاوم به سفتازیدیم و ۳۸ ایزوله (۴۰/۴۲٪) مقاوم به سفوتاکسیم و کمترین میزان مقاومت مربوط به ایمی پنم بود. در نمونه های جمع‌آوری شده از خوی ۲۴ ایزوله (۲۵/۵۳٪) مقاوم به سفتازیدیم و ۲۵ ایزوله (۲۶/۹۵٪) مقاوم به سفوتاکسیم و کمترین میزان مقاومت مربوط به ایمی‌پنم بود. الگوی مقاومتی ایزوله‌های تبریز و خوی نسبت به ۱۰ آنتی-بیوتیک به کار گرفته شده در شکل شماره ۱ نمایان است.

در میان ایزوله‌های مقاوم به سفتازیدیم و سفوتاکسیم جمع-آوری شده از تبریز سی و هشت ایزوله (۵۶/۷۱٪) و در نمونه-های جمع‌آوری شده از خوی ۲۴ ایزوله (۵۲/۱۲٪) با آزمون CDT تولید کننده آنزیم ESBL تشخیص داده شدند (شکل ۲).

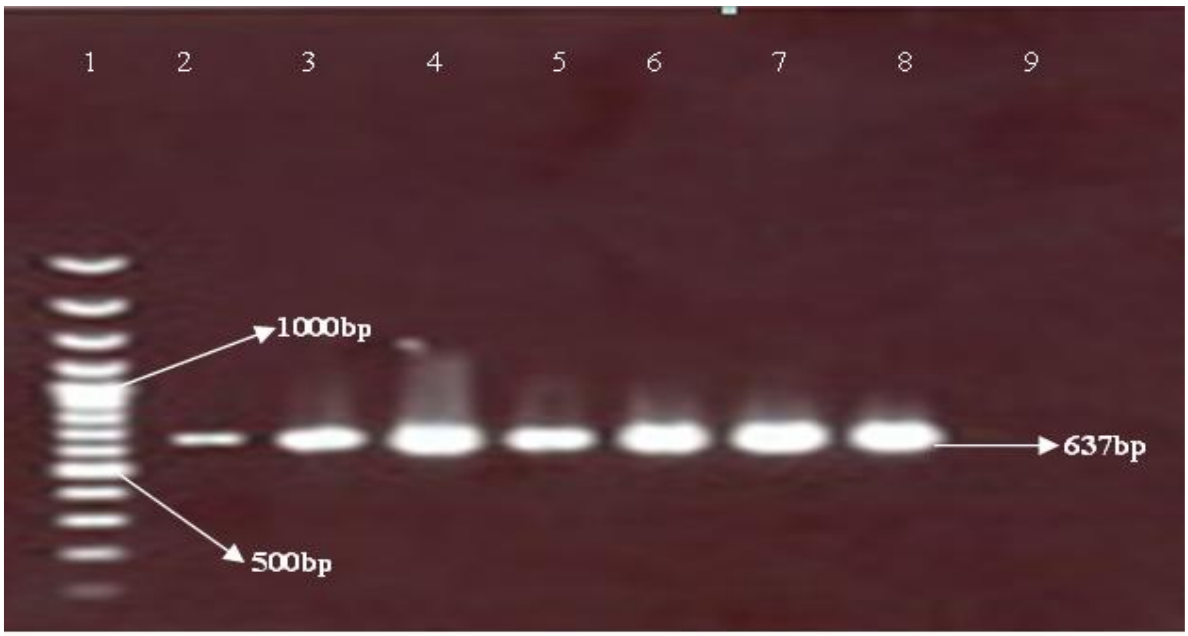
نتایج واکنش PCR برروی ایزوله‌های تولید کننده ESBL این گونه بود که در تبریز ۳ ایزوله (۷/۸٪) و در خوی ۳ ایزوله (۱۲/۵٪) حاوی ژن blaTEM بودند (شکل ۳).



شکل ۱: مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های E. coli مورد بررسی در این مطالعه



شکل شماره ۲:تشخیص فنوتیپی تولید کننده های ESBL (CDT) : قطر هاله عدم رشد در اطراف دیسک های حاوی مهار کننده اسید کلاوولانیک (CV) ۵ ≥ بزرگتراز دیسک های حاوی سفتازیدیم (CAZ) و سفوتاکسیم (CTX) بدون مهار کننده است.



شکل شماره ۳: الکتروفورز ژل آگارز, ژن TEM در ایزوله هاي E.coli
چاهک ۱: سایزمارکر ۱۰۰bp
چاهک ۲: کنترل مثبت:E.coli۷۸۵۲
چاهک ۳, ٤، ٥، ٦، ٧، ٨: ایزوله های واجد ژن TEM
چاهک ۹: کنترل منفی

بحث

از زمانی که موجوداتی تحت عنوان باکتری‌ها شناخته شد بشر به دنبال یافتن داروئی مؤثّر علیه آنها بوده است. از طرفی باکتری ها نیز بااستفاده از مکانیسم‌های مختلف نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها از خود مقاومت نشان می‌دهند (۱۵). مقاومت آنتی بیوتیکی بلافاصله پس از چند سال از مصرف انبوه آنتی بیوتیک‌ها، در جوامع انسانی ایجاد شده و بصورت‌های مختلف تکی و یا چند دارویی دیده می‌شوند (۲).

بعلّت استفاده گسترده از عوامل ضد باکتریایی وسیع الطیف از قبیل آنتی بیوتیک های خانواده بتالاکتام با طیف وسیع، مشکل ظهور مقاومت های دارویی در این چند دهه اخیر، به شدّت رو به وخامت است و تا زمانیکه تجویز بی‌رویه‌ی آنتی‌بیوتیک ها بدین صورت ادامه داشته باشد، این مشکل یعنی شیوع ژنوتیپ ESBLs در میان سویه ها امری عادّی تلقی می شود (۱۶).

این نوع مقاومت در ایران بیشتر از سایر کشورهای جهان است که این به دلیل مصرف خودسرانه آنتی بیوتیک های بتالاکتام می-باشد. بنابراین تشخیص و شناسایی ارگانیسم‌های مولد آنزیم های بتالاکتامازی امری مهم می باشد (۱۷).

در مطالعه حاضر نیز این مطلب بررسی شد که ایزوله ها (۴/۵ ٪) نسبت به ۳ یا تعداد بیشتری از آنتی بیوتیک ها از خود مقاومت نشان دادند. در میان ایزوله‌های مقاوم به سفتازیدیم و سفوتاکسیم از تبریز ۳۸ ایزوله (۵۶/۷۱٪) و در ایزوله های مقاوم از خوی ۲۴ ایزوله (۵۲/۱۲) تولید کننده آنزیم ESBL بودند و نتایج واکنش PCR روی ایزوله های مقاوم این گونه بود که در تبریز ۳ ایزوله (۷/۸٪) و در خوی ۳ ایزوله (۱۲/۵٪) حاوی ژن bla_{TEM} بودند و ایزوله های دارای ژن TEM نسبت به سفالوسپورین های وسیع الطیف از خود مقاومت زیادی را نشان دادند.

در این رابطه تحقیقات مشابهی در ایران صورت گرفته است: در تحقیقی که توسط سلطان دلال و همکاران در سال ۱۳۷۸ بر روی ۲۰۰ ایزوله E.coli در تهران انجام گرفت ۱۱۵ (۸۹/۸ ٪) ایزوله تولید کننده آنزیم های ESBL بودند که از این تعداد ۷۴(۵۷/۸ ٪) حاوی ژن TEM بودند (۱۴).

در سال ۱۳۸۶ تحقیقی توسط حسین زادگان و همکارانش در دانشگاه علوم پزشکی لرستان در رابطه با میزان شیوع ESBL در سویه های E.coli در بیمارستان شهدای عشایر شهر خرم آباد انجام شد، از مجموع ۲۲۵ نمونه، ۵۳ مورد (۲۳/۵۵٪) از نظر ESBL مثبت بودند و از این تعداد ۷ مورد حاوی ژن TEM بودند (۱۸).

در طی تحقیقی که توسط شاهچراغی و همکارانش در پاییز ۱۳۸۶ در انسیتو پاستور ایران صورت گرفت، بدین نتیجه رسیدند که از کل ۲۰۰ نمونه بالینی E.coli، ۱۰۵ مورد (۵۲/۵٪) ESBL مثبت و از این تعداد ۱۲ مورد (۶٪) حاوی ژن TEM بودند (۹). میزان شیوع ژن TEM در تحقیقی که توسط میرصالحیان و همکاران در سال ۱۳۷۸ بر روی ۳۳ ایزوله E.coli انجام گرفت (۳۹/۴ ٪) گزارش شد (۱۹). در سال ۱۳۸۶ مسجدیان و همکاران نشان دادند که از ۱۴۸ سویه E.coli، (۳۹/۴٪) حاوی ژن TEM بودند (۲۰).

میزان شیوع این ژن در کشور های مختلف وحتی از یک بیمارستان به بیمارستان دیگر متفاوت است. Corinne Arpin و همکارانش بر اساس تحقیقی که در سال ۱۹۹۹در بیمارستانی واقع در جنوب غربی فرانسه انجام دادند، مشخص کردند که در میان ۱۵۸۴ نمونه از سویه های خانواده انتروباکتریاسه، ۳/۵ ٪ از این سویه‌ها، می‌توانند این آنزیم های طیف وسیع را تولید کنند (۲۱). Mirelis et al. بر اساس تحقیقی که در ۲۰۰۱ انجام داد، به یک افزایش بیش از ۲/۱ ٪ در شیوع سویه های E.coli مولّد ESBLs اشاره نمود. ولی این میزان در سال ۲۰۰۷ به یک افزایش ۱۴٪ رسیده است که به نوعی می توان ازاین پدیده بعنوان یک فاجعه طبیعی نام برد. (Antonio Sorlo´zano et al) (۲۲) سوش-های تولید کننده ESBLs: نتایج منتشره در تحقیقات علمی مختلف، مربوط به ژن های ESBLs، نشان می دهد که درصد سویه های E.coli تولید کننده ESBLs در کشورهای چین، ژاپن و در شهر شیکاگو، به ترتیب ۲۴/۵٪، ۸-۵٪ و ۴۶٪ می‌باشد (۲۵-۲۳).

در تحقیقی که توسط Hong Fang و همکاران در سال‌های ۲۰۰۱ الی ۲۰۰۶ انجام شد نشان دادند که از۸۷ ایزوله E.coli که به روش فنوتیپی ESBL تشخیص داده شدند ۶۳٪ حاوی ژن TEM بودند (۲۶). در سال ۲۰۰۷ Emilio David Valverde و همکاران در طی مطالعه که بر روی ۱۱۲۷۲ نمونه E.coli جمع آوری شده از بیمارستان سالامانسا در اسپانیاانجام دادند نشان دادند که ۱۳۰(۱٪) نمونه تولید کننده آنزیم های ESBL بودند که از این تعداد (۲۲/۱ ٪) حاوی ژن TEM بودند (۲۷).

با توجه به این که الگوی مقاومتی در کشورهای مختلف از جمله ایران (در شهرهای مختلف) متفاوت است بهتر است برنامه‌هایی اتخاذ شود که با جلوگیری از مصرف بی‌رویه و خودسرانه آنتی بیوتیک ها توسط افراد و رعایت بهداشت بیماران به یک الگوی مقاومتی یکسان برسیم که پزشکان نیز بتوانند تجویز درستی را داشته باشند.

نتیجه‌گیری

با توجه به مطالعه انجام شده می توان بیان کرد که اشریشیاکلا یکی از باکتری هایی است که مولد آنزیم‌های ESBL از جمله تیپ TEM می باشد (۲۸). بادر نظر گرفتن مقاومت بالای سویه-ها به آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام، ضرورت شناسایی کامل ESBLها توسط آزمایشگاه، شناخت مکانیسم های مقاومت ESBLها توسط پزشکان و استفاده از آنتی بیوتیک‌های دارای قدرت ممانعت کننده‌ی بتالاکتام، در کاهش ظهور مقاومت بسیار مؤثّرند.

از آنجا که روش های فنوتیپی به تنهایی در شناسایی سویه های مولد این آنزیم ها کافی نیست استفاده از روش‌های مولکولی در کنار روش‌های فنوتیپی بسیار مفید است (۲۹).

تقدیر و تشکر

این مقاله نتیجه طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی تبریز- شعبه بین المللی ارس و دانشگاه علوم پزشکی تهران می باشد و نویسندگان مراتب تقدیر و تشکر خود را از مسئولین محترم هر دو دانشگاه اعلام می‌دارند.

از کلیه کارکنان بیمارستان های آموزشی- درمانی امام رضا (ع) و شهید مدنی تبریز و مراکز درمانی شهر خوی که در جمع آوری ایزوله های مورد مطالعه ما را یاری نمودند کمال تشکر و قدردانی را داریم.

References

1. Jeong SH, Bae I, Lee JH, Sohn SG, Kang GH, Jeon GJ. Molecular Characterization of Extended-Spectrum Beta-lactamases Produced by clinical Isolates of Klebsiella Pneumoniae and Escherichia coli from a korean Nationwid Survey. *J Clin Microbiol* 2004; **42**(7): 2902-2906.
2. Pitout JD, Hossain A, Hanson ND. Phenotypic and Molecular Detection of CTX-M-B-Lactamases Produced by Escherchia Coli and Klebsiella Spp. *J Clin Microbiol* 2004; **42**(12): 5715-5721.
3. John P. Burke MD. Infection control-A problem for patient safety. *N Engl J Med* 2003; **348**: 619-651.Peterson L. Antibiotic policy and perscribing strategies for therapy of extended-spectrum B-lactamse producing Enterobacteriaceae; the role of piperacillin–tazobactam. *Clinical Micrrobiology & Infection* 2007; **14**(1); 181-184.
5. Mesa Rj, Blanc V, Cortes P, Gonzalez J, Blanch V. Extended-Spectrum Beta Lactamas Producing Enterobacteriaceae In Different Environments (Humans , Food , Animal Farms & Sewage). *Ofor J Med* 2006; **58**(1): 211-215.
6. Paterson DL, Bonmo RA. Extended–spectrum beta-lactamases; a clinical upda. *Clin Microbial Rev* 2005; **18**(4): 657-686.
7. Bradford PA. Extended-Spectrum β-Lactamases in the 21st century: Characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev* 2001; **14**(4): 933–951.
8. Natural evolution of TEM-1 beta-lactamase; experimental reconstruction and clinical relevance. *Fems Microbiol Rev* 2010; 34(6): 1015-1036.
9. Shahcheragh F, Nasiri S, Neurath H. Presence of SHV and TEM lactamase genes in E. coli strains resistant to antibiotics isolated from clinical specimens from hospitals in Tehran. *Journal of Medical Microbiology, Iran J Med Microbiol* 2007; **1**(2): 1-8.
10. Vakulenko S, Golemi D. Mutant TEM B-lactamase producing resistance to ceftazidim,ampicillins and B-lactamase inhibitors. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; **46**(3): 646-653.
11. Kurokawa H, Shibata N, Doi Y, Shibayama K, Kamachi KY,Yagi T, et al. A new TEM-derived extended-spectrum B- lactamase (TEM-91) with an R164C substitution at the loop confers ceftazidim resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; **47**(9): 2981-2983.
12. Soltan Dallal MM, Sabbaghi A, Fallah Mehrabadi J, Molla Aghamirzaei H, Rastegar Lari A, Eshraghian MR, et al. Survey exsist B-lactamase Gense bla-SHV and bla-Amps (CITM,FOX) in clinical isolates of Escherichia coli. *J of Med Coun of Islamic Republic of Iran* 2010; **28**(3): 269-276.
13. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 16th Informational Supplement (M100-S16), CLSI, Wayne, PA 2006; **26**(3): 15-100.
14. Soltan Dallal MM, Molla Aghamirzaei H, Fallah Mehrabadi J, Rastegar Lari A, Sabbaghi A, Eshraghian MR, et al. Molecular detection of TEM and Ampc(Dha,mox)-type broad spectrum beta-lactamases in clinical isolates of Escherichia coli; PCR method. *Tehran Univer J Med* 2010; **68**(6): 827-877.
15. Brooks GF, Butel JS, More SA. Medical Microbiology. United States of America, McGrew Hill, 2000; PP: 145.
16. Coudron PE, Moland ES, Thomson KS. Occurrence and Detection of AmpC beta-lactamases among Escherichiacoli, Klebsiella pneumoniae, and Proteus mirabilis isolate at a veterans medical center. *J Clin Microbiol* 2000; **38**(5): 1791-1796.
17. AI-Jasser A. Extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs); a global problem. *Kuwait Med J* 2006; **38**(3): 171-185.
18. Hosseinzadegan H, Hasani A, Azadpor M, Soleiman Nejad S, Mohammadi F. Identification B-lactamase producing gram negative broad spectrum of bacteria isolated from clinical cases. *Iran J Experimen Sci* 2007; **1**(2): 33-38.
19. Mirsalehian A, Akbari-Nakhjavani F, Peymani A, Kazemi B, Jabal Ameil F, Mirafshar SM. Prevalence of extended spectrum B-lactamase producing Enterobacteriaceae by phenotypic and genotypic methods in intensive care unit in Tehran. *Iran Daru* 2008; **16**(3): 169-173.
20. Masjedian GF, Valehi F, Talebi A, Rastegar LA. Molecular evaluation of resistance to espanded antibiotics in Escherchia coli and Klebsiella pneumoniae. *Iran J Med Microbiol* 2007; 1(2): 27-34.
21. Bermudes H, Arpin F. Jude Z. El-Harrif C, Bebear C. Molecular epidemiology of an outbreak due to extended spectrum Beta-lactamases producing Enterobacteria in a French hospital. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1997; **16**(9): 523-526.
22. Mirelis B, Navarro F, Miro´ E, Mesa R, Coll P, Prats G. Community transmission of extended-spectrum Beta-lactamase. *Emerg Infect Dis* 2003; **9**: 1024–1025.
23. Bell JM, Turnidge JD, Gales AC, Pfaller MA, Jones RN. Prevalence of extended spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing clinical isolates in the Asia-Pacific region and South Africa: regional results from SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1998-99) *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002; **42**: 193-198.
24. Lewis MT, Yamaguchi K, Biedenbach DJ, Jones RN. In vitro evaluation of cefepime and other broad-spectrum beta-lactams in 22 medical centers in Japan: a phase II trial comparing two annual organism samples. The Japan Antimicrobial Resistance Study Group. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1999; **35**: 307-315.
25. Wiener J, Quinn JP, Bradford PA, Goering RV, Nathan C, Bush K, Weinstein RA. Multiple antibiotic-resistant

Klebsiella and Escherichia coli in nursing homes. *JAMA* 1999; **281**: 517-523.
26. Fang H, Ataker F, Hedin G, Dornbusch K. Molecular epidemiology of extended-spectrum B-lactamases among Escherchia coli isolates collected in a Swedish hospital and its associated health care facilities from 2001 to 2006. *J Clin Microbiol Infect Dis* 2008; **46**(2): 707-712.
27. Valvered ED, Padilla TP, Hernandez AH. Prevalence of clinical isolates of Escherchia coli and Klebsiella spp.producing multiple extended-spectrum B-lactamases. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007; **56**: 433-437.
28. Pitout JDD, Laupland KB. Extended-spectrum B-lactamases producing Enterobacteriaceae;an emerging public-health concern. *Lancet Infect Dis* 2008; **8**: 159-166.
29. Rodrigez Bano J, Navarro MD, Romero L, Martinez Martinez L. Epidemiology and clinical features of infections caused by extended spectrum B-lactamase producing E.coli in non hospitalized patient. *J Clin Microbiol* 2004; **42**: 1089-1094.