مجله میکرب شناسی پزشکی ایران
سال ۶ شماره ۹ ، پاییز ۱۳۹۱، صفحات ۴۴- ۳۷

تعیین حساسیت دارویی در اشریشیا کلی دارای مقاومت دارویی چندگانه در بیماران سرپایی مبتلا به عفونت ادراری در تهران

زهرابابائی کسمائی [۱]، نور امیرمظفری [۲]، هما فروهش تهرانی [۳]، آرش آرش کیا [۴]
سعید مهدوی [۳]، اسماء بهرامی [۵]

۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم، لاهیجان، ایران.
۲- دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران، گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، تهران، ایران.
۳- آزمایشگاه پاتوبیولوژی سعید، تهران، ایران.
٤- انیستیتو پاستور ایران، گروه ویروس شناسی، تهران، ایران.
٥- دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم، تهران، ایران.
نویسنده رابط: نور امیرمظفری، گروه میکروب شناسی، دانشکده علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران، ایران.
همراه: ۰۹۱۲۳۸۷۷۹۸۸ amirmozafari@yahoo.com

چکیده:

زمینه و اهداف: اشریشیاکلی رایج ترین دلیل بروز عفونت ادراری می باشد، داروهای مختلفی از جمله سفالوسپورین ها در درمان عفونت ادراری ناشی از آن مورد استفاده قرار می گیرند. در سالهای اخیر مقاومت نسبت به سفالوسپورینها به دلیل تولید بتالاکتاماز وسیع الطیف ازنوع ESBL افزایش یافته است. هدف از این پژوهش تعیین میزان حساسیت آنتی بیوتیکی در اشریشیا کلی با مقاومت دارویی چندگانه جدا شده از نمونه های ادراری در بیماران سرپایی تهران بوده است.

مواد و روشها: ۱٦۷۷ نمونه ادرار از اول مهر لغایت آخر اسفند ۱۳۸۹ از آزمایشگاههای منتخب تهران جمع آوری شدند که از این بین ۱۲۳ مورد، یعنی ۱۳/٦۳ اشریشیا کلی بودند. جهت تعیین مقاومت دارویی از روش انتشار دیسک و برای بررسی ESBL از روش Double disk با استفاده از دیسک سفتریاکسون و آموکسی کلاو وسفتازیدیم کلاولونات صورت پذیرفت. تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی توسط دیسکهای آموکسی کلاو، تتراسیکلین، سفتریاکسون، سفالوتین، سفیکسیم، نالیدیکسیک اسید، آموکسی سیلین، کوتریموکسازول، سیپروفلوکساسین، سفپیم، نیتروفورانتوئین، آمیکاسین، ایمی پنم، جنتامایسین، سفتازیدیم و سفوکسیتین انجام گردید.

نتایج : از بین ۱۲۳ مورد، ٥٦ مورد یعنی ٤٥/٥۲٪ مقاومت دارویی چند گانه داشته و بیشترین حساسیت دارویی در ایمی پنم، نیتروفورانتوئین و آمیکاسین دیده شد.

بحث: نتایج حاصله در این تحقیق نشان می دهد که اگرچه نالیدیکسیک اسید و نیتروفورانتوئین رایج ترین آنتی بیوتیک مورد استفاده در درمان عفونتهای ادراری ناشی از انتروباکتریاسه هستند، اما در درمان مقاومت دارویی ناشی از ESBL بهترین دارو نیتروفورانتوئین است، چون در این بررسی مقاومت نالیدیکسیک اسید افزایش داشته و آمیکاسین و ایمی پنم به صورت تزریقی، آن هم تحت شرایط خاص برای بیماران توصیه می شود.

واژگان کلیدی: *E .coli*، مقاومت آنتی بیوتیکی، عفونت ادراری، روش دیسک دیفیوژن، ESBL

مقدمه:

عفونت ادراری یکی از شایع ترین بیماریهای انسانی می باشدکه نیاز مبرم به درمان آنتی بیوتیکی دارد (۱). در صورت عدم درمان و در صورت گسترش بیماری عوارض آن تا از کارافتادن کلیه ها پیش می رود. بیشترین عامل عفونت دستگاه ادراری اشریشیاکلی و به مراتب کمتر، سایر باکتریهای خانواده انتروباکتریاسه از جمله کلبسیلا می باشد.باکتری اشریشیاکلی برای اولین بار توسط یک متخصص کودکان و یک باکتریولوژیست آلمانی به نام تئودور اشریش در سال ۱۸۸۵ شناسایی شد و در حال حاضر در طبقه بندی باکتریایی در خانواده انتروباکتریاسه و گروه گاما پروتئوباکتر قرار دارد (۲). اشریشیاکلی باکتری گرم منفی، میله ای شکل، بی هوازی اختیاری و فاقد اسپور است که در دستگاه گوارش حیوانات خونگرم وجود داشته و در اغلب موارد بی ضرر است. اما برخی از سویه های آن می توانند باعث مسمومیت غذایی، بیماری کرون ، اسهال در بالغین، اسهال کشنده در کودکان، عفونت ادراری، منتژیت نوزادان، ورم پستان، سپتی سمی یا پنومونی در کودکان شوند (۳).

اشریشیا کلی یکی از شایعترین عوامل عفونت ادراری محسوب میشود و به لحاظ اهمیت عفونت، درمان آن بسیارمورد توجه میباشد.افزایش مقاومت دارویی عوامل ایجاد کننده عفونتهای دستگاه ادراری معضل بزرگی است و یکی ازعلل اصلی پیدایش مقاومت، مصرف بی رویه آنتی بیوتیک ها می باشد. با کتریها بامکانیسم های خاصی در برابر آنتی بیوتیک ها مقاومت پیدا می کنند. امروزه شاهد افزایش روزافزون عفونت های ناشی از *E. coli* مقاوم به آنتی بیوتیک در جهان هستیم که این امر به عنوان یک موضوع مهم مورد توجه متخصصین قرار گرفته است.پیدایش آنتی بیوتیک های جدید از قبیل سفالوسپورین های وسیع الطیف، آزترونام و رواج استفاده از آنها در درمان بیماریهای عفونی باکتریال منجر به بروز دسته ی جدیدی از آنزیم های عامل مقاومت دارویی به نام بتالاکتامازهای وسیع الطیف شده است (٤).

براساس عملکرد، آنزیم های بتالاکتامازی در ٤ کلاس اصلی A، B، C و D طبقه بندی می شوند. این تیپهای آنزیمی به عنوان یکی از مهم ترین مکانیسم های مقاومتی در برابر آنتی بیوتیک های خانواده بتالاکتام و در میان باکتریهای گرم منفی مطرح می باشند. شناسایی سریع این سویه های مقاوم در آزمایشگاههای بالینی به منظور تشخیص این مقاومت بسیار حائز اهمیت است. از این ر و هدف از این بررسی شناسایی سویه های مولدESBL بهترین روش یک روش غربالگری اولیه برای حساسیت کاهش یافته نسبت به آنتی بیوتیک های پیشنهادی(CLSI) می باشد و توصیه می شود برای شناسایی کامل این آنزیم ها از روشهای مولکولی استفاده شود (۵).

هدف از این پژوهش تعیین میزان مقاومت آنتی بیوتیکی در *E. coli* جدا شده از نمونه های ادراری در بیماران سرپایی مبتلا به عفونت ادراری در چند آزمایشگاه تهران بوده است.

مواد و روش کار:

این مطالعه از نوع توصیفی- تحلیلی می باشد. ۱٦۷۷ نمونه ادراری در طی ٦ ماه از اول مهر ماه تا پایان اسفند ماه ۱۳۸۹ از بیماران سرپایی از چند آزمایشگاه بدست آمد، که نمونه های ادرار بر روی محیط های Blood Agar ۵٪ خون گوسفند وMac Ckonkey Agar به وسیله لوپ استاندارد کشت داده شدند، از این میان تعداد ۱۲۳ نمونه یعنی (۱۳/٦۳٪) *E. coli* بدست آمد که با انجام تستهای بیوشیمیایی افتراقی همانند تستMRVP و دکربوکسیلاسیون لیزین در محیط LIA، هیدرولیز اوره و TSI، تولید اوره و آزمون سیمون سیترات تأیید شدند. پس از طی روشهای افتراقی، تست حساسیت دارویی بر اساس دستورالعمل CLSI بر روی محیط کشت Muller Hinton Agar انجام شده و بعد در دمای $37\ ^{\circ}C$ به مدت ٢٤ ساعت قرار داده شدند. شناسایی فنوتیپی سویه های مولد ESBL به روش دیسک آگار دیفیوژن Double disk (D.D method) به منظور غربالگری اولیه ایزوله های مولد آنزیم بتالاکتامازی بر روی محیط Muller Hinton Agar انجام شد و به مدت ٢٤ ساعت

در دمای $^{\circ}C$ ۳۷ قرار داده شد. جهت انجام تست حساسیت دارویی، سوسپانسیون میکروبی مطابق با غلظت نیم مک فارلند (تشکیل شده از سولفات باریم که از حل شدن کلرید باریم ۱٪ و اسیدسولفوریک ۱٪ که پس از حل شدن در اسپکتروفتومتری با طول موج ۶۲۰ nm ، OD برابر ۰/۱ تا ۰/۸ داشته باشد) سنجیده شده و سپس در دو جهت با سواب استریل بر روی محیط مذکور تلقیح شد. در نهایت دیسکهای آنتی بیوتیکی تهیه شده از شرکت Span Lab پس از طی ۵-۳ دقیقه بر روی پلیت قرار داده شدند و در دمای $^{\circ}C$ ۳۷ به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند.

دیسکها پس از چیده شدن بر روی محیط در دمای $^{\circ}C$ ۳۷ و به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند. پس از طی این زمان ، با استفاده از خط کش منطقه عدم رشد اطراف هر دیسک مورد اندازه گیری قرار گرفته و با جدول استاندارد CLSI مقایسه و تفسیر گردید. شایان ذکر است ایزوله های مقاوم به آنتی بیوتیک های وسیع الطیف در جهت تأیید حضور بتالاکتامازهای وسیع الطیف از طریق روش (D.D method) مورد بررسی قرار گرفتند. در این آزمایش در محیط مولرهینتون آگار دیسک Amoxiclave در فاصله ۳۰mm از دیسک Ceftriaxon یا Ceftazidim قرار داده شد و پس از آن در دمای $^{\circ}C$ ۳۷ به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد. این تکنیک فقط برای نشان دادن باکتریهای مولد ESBL مورد استفاده قرار می گیرد.

نتایج:

در طول ۶ ماه و از بین ۱۶۷۷ نمونه ادراری، تعداد ۱۲۳ نمونه، به عبارتی ۱۳/۶۳٪ با تستهای افتراقی به عنوان اشریشیاکلی شناسایی شدند و از بین این ۱۲۳ مورد، ۵۶ نمونه و به عبارتی ۴۵/۵۲٪ پس از طی تست های مربوطه به عنوان ESBL شناسایی شدند.

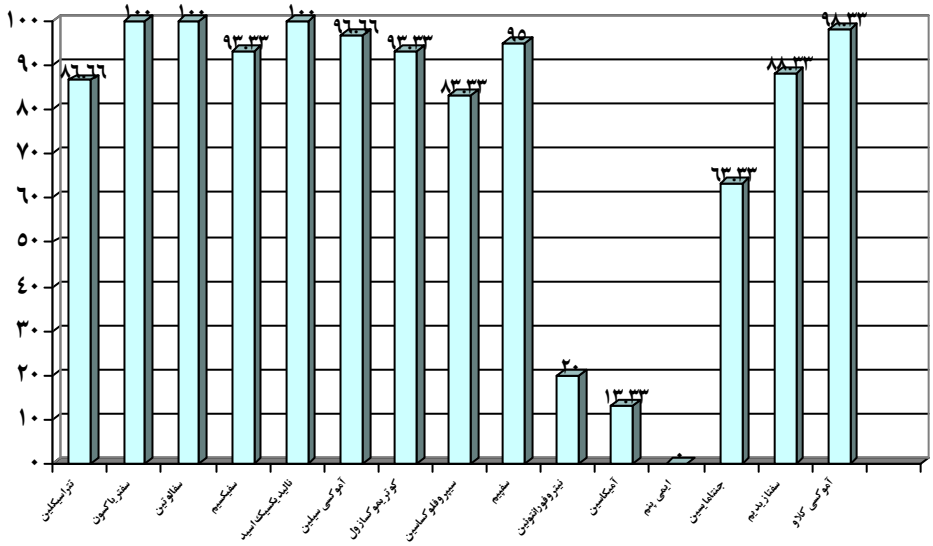
با توجه به نمودار شماره ۱ درصد مقاومت در اشریشیاکلی مورد بررسی ما به صورت زیر نشان داده می شود:

تتراسیکلین ۸۶/۶۶٪، سفتریاکسون ۱۰۰٪، سفالوتین ۱۰۰٪، سیفیکسیم ۹۳/۳۳٪، نالیدیکسیک اسید ۱۰۰٪، آموکسی سیلین ۹۶/۶۶٪، کوتریموکسازول ۹۳/۳۳٪، سیپروفلوکساسین ۸۳/۳۳٪، سفپیم ۹۵٪، نیتروفورانتوئین ۲۰٪، آمیکاسین ۱۳/۳۳٪، جنتامایسین ۶۳/۳۳٪، سفتازیدیم ۸۸/۳۳٪، سفوکسیتین ۲۸/۳۳٪، آموکسی کلاو ۹۸/۳۳٪ و ایمی پنم که در تمامی مراحل حساس بود.

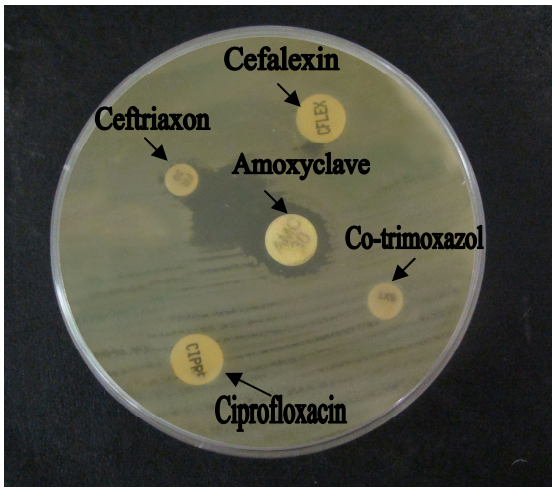
اغلب بیماران از لحاظ جنسیت ۴۳ مورد و به عبارتی ۷۶/۸٪ زن و ۱۳ مورد یا به عبارتی ۲۳/۲٪ مرد بودند و این نشان می دهد که بیماری عفونت ادراری در زنان به نسبت بیشتر از مردان بروز کرده و دلیل آن را می توان آناتومی خاص دستگاه ادراری جنس مذکور دانست. جدول مذکور این رابطه را نشان می دهد (جدول شماره ۱).

از بین ۵۶ ایزوله مثبت از لحاظ ESBL ، دامنه سن بیماران از ۱۱ ماهه شروع و تا ۹۳ ساله خاتمه یافت و این رابطه در جدول شماره ۲ به تصویر کشیده شده است. با توجه به جدول شماره ۲ اگر چه میزان بروز این بیماری در تمامی سنین وجود دارد، اما با توجه به تحقیق انجام شده میزان بروز این بیماری در سنین بالای ۴۰ سال شایع تر می باشد و این نشان می دهد که افراد بالای ۴۰ سال شانس بیشتری برای ابتلاء به این بیماری را دارند.

نمودار شماره ۱: میزان مقاومت آنتی بیوتیکی ایزوله های مورد مطالعه را نشان می دهد.



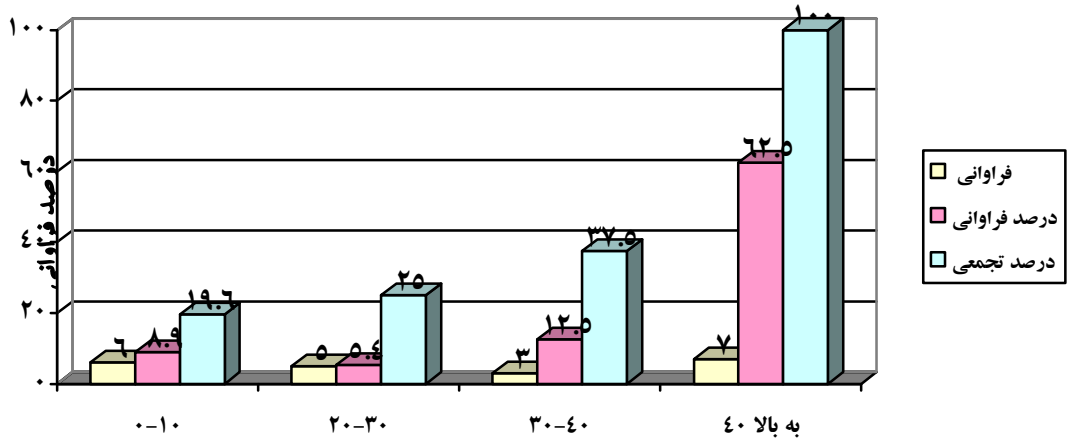
شکل شماره ۱- باکتری تولیدکننده ESBL را با روش D.D method



جدول ۱- فراوانی و درصد تجمعی نمونه آماری بر حسب جنس

متغیر		فراوانی	درصد	درصد تجمعی
جنس	مرد	۱۳	۲۳/۲	۲۳/۲
	زن	٤۳	۷٦/۸	۷٦/۸
	جمع	٥٦	۱۰۰	

نمودار۲- رابطه سن با عفونت ادراری



بحث:

یکی از این مکانیسم هایی که در باکتریهای گرم منفی علیه آنتی بیوتیکهای حاوی ساختار بتالاکتام به کار گرفته می شود، تولید آنزیم های بتالاکتاماز وسیع الطیف (Extended Spectrum Beta-Lactamase) است که با نام اختصاری ESBL شناخته می شوند (٦).

بتالاکتامازها آنزیم هایی هستند که بوسیله برخی از باکتریها تولید می شوند که مسئول مقاومت آنها در برابر آنتی بیوتیک های بتالاکتام هستند. این آنزیم ها حلقه بتالاکتام پنی سیلین ها و سفالوسپورینها را باز کرده و فعالیت ضدمیکروبی آنها را از بین می برند. آنتی بیوتیک های گروه بتالاکتام عناصر مشترکی در ساختمان مولکولی خود بوده و مهارکننده اختصاصی سنتز دیواره سلول باکتری ها هستند. آنزیم های بتالاکتامازی از طریق هیدرولیز حلقه بتالاکتام منجر به ایجاد مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک ها می شوند، بنابراین مولکولهای ضدباکتریایی غیرفعال شده و خاصیت خود را از دست داده و این امر سبب مقاومت می شود (۷).

بتالاکتامازها با طیف گسترده (ESBL) گروهی از آنزیم های منتقله به وسیله پلاسمید هستند که توانایی هیدرولیز سفالوسپورینهای نسل سوم و منوباکتام را دارند. اغلب ارگانیسم های حاوی این آنزیم ها نسبت به کاربا‌پنم ها حساس باقی هستند در حالیکه فعالیت آنها نسبت به سیپروفلوکساسین و سفپیم و ترکیبات حاوی بتالاکتام و مهارکننده بتالاکتاماز متغیر است (۸).

ESBL ها از بتالاکتامازهای کلاس A گروه 2be هستند و بیشتر این آنزیم ها از مشتقات TEM-1 (یک کلاس بتالاکتاماز وابسته به پلاسمید *E .coli*) و یا SHV-1 (یک بتالاکتاماز کروموزومی از *Klebsiella pneumonia* می با شند (۹).

در این تحقیق مقاومت نسبت به آنتی بیوتیکها به صورت :تتراسیکلین ۸٦/٦٦٪، سفتریاکسون ۱۰۰٪، سفالوتین ۱۰۰٪، سیفیکسیم ۹۳/۳۳٪، نالیدیکسیک اسید ۱۰۰٪، آموکسی سیلین ۹٦/٦٦٪، کوتریموکسازول ۹۳/۳۳٪، سیپروفلوکساسین ۸۳/۳۳٪، سفپیم ۹۵٪، نیتروفورانتوئین ۲۰٪، آمیکاسین ۱۳/۳۳٪، جنتامایسین ٦۳/۳۳٪، سفتازیدیم ۸۸/۳۳٪، سفوکسیتین ۲۸/۳۳٪، آموکسی کلاو ۹۸/۳۳٪ و ایمی پنم که در تمامی مراحل حساس بود.

حساسیت سویه های یافت شده نسبت به ایمی پنم، تأییدی بر تولید آنزیم های ESBL توسط سویه های یافت شده بود. نتایج مقاومت سویه های مورد مطالعه یعنی مقاومت نسبت به سفالوتین، سفتریاکسون و نالیدیکسیک اسید به خوبی روشن می سازد که آنزیم های

بتالاکتامازی تولیدی توسط این باکتریها ازدسته A زیرگروه 2be می باشند، زیرا این گروه آنزیم ها قادر به غیرفعال سازی سفالوسپورینهای نسل سوم و منوباکتام بوده در حالی که نسبت به کارباپنم ها حساس باقی می مانند.

شاهچراغی و همکاران در سال ۲۰۰۹ در مقاله ای به این نکته اشاره کرده اند که تولید ESBL در میان خانواده انتروباکتریاسه در میان باکتریها در سراسر جهان رو به افزایش می باشد. در تحقیق انجام شده توسط گروه ایشان، نمونه های کلینیکی از ادرار، مدفوع، زخم، آبسه، خلط و ترشحات سینه بوده و از میان ۲٦۰ نمونه ی کلینیکی *E coli*. که در طول یکسال جمع آوری شده، ٤۹ نمونه به عنوان تولیدکننده ESBL شناسایی شده اند و در این میان ۷۳/٦٪ نسبت به سفتازیدیم و ۸۵/٦٪ نسبت به سفوتاکسیم مقاومت داشته اند (۱۰) .

Laura Brinas و همکاران در سال ۲۰۰۵ درتحقیقی تحت عنوان مکانیسم مقاومت وسیع الطیف *E .coli* در مقابل سفالوسپورینها که در بیمارستانی در اسپانیا و در طی یک سال انجام دادند و جمع آوری نمونه هایشان در طول یکسال انجام شد، از بین ۱۷۰۰ *E .coli* جداشده ۳٤ ایزوله مقاوم در مقابل سفالوسپورین بدست آمد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که ۱/۵٪ *E .coli* جداشده از بیمارستان مورد نظر دارای ژن تولیدکننده ESBL بوده اند (۱۱).

Yu Yunsong و همکارانش در سال ۲۰۱۰ تحقیقی تحت عنوان اپیدمیولوژی و تولید بتالاکتاماز در اشریشیاکلی و کلبسیلا در چین انجام دادند. در طول یکسال ۲۸۲ ایزوله *E .coli* و ۱۸۰ ایزوله *Klebsiella pneumonia* بدست آوردند که *E .coli* تولید کننده ESBL ۳٤٪ و *Klebsiella pneumonia* تولیدکننده ESBL ۳۸/۳٪ بدست آمده است. سویه هایی که تولید ESBL داشتند ٤۰٪ نسبت به سفتازیدیم و ۲٦٪ نسبت به سفوتاکسیم مقاومت داشتند، هر چند که نسبت به سفپیم، سفوکسیتین، پیپراسیلین- تازوباکتام، سفوپرازون- سولباکتام، آمیکاسین و سیپروفلوکساسین نیز مقاومت نشان داده اند اما میزان این مقاومتها ذکر نشده است و تمامی این ایزوله ها نیز نسبت به ایمی پنم حساس بودند. نتایج این تحقیق به این نکته اشاره دارد که شیوع طیف وسیع بتالاکتامازها رو به افزایش بوده و زمانی که بتالاکتاماز افزایش یابد، نسبت به اغلب عناصر آنتی بیوتیکی بجز ایمی پنم مقاومت بوجود خواهد آمد (۱۲).

بررسی Laura Vinue و همکارانش در سال ۲۰۰٤ تحت عنوان توصیف بتالاکتامازهای وسیع الطف و اینتگرون ها در *E .coli* جدا شده از بیمارستانهای اسپانیا انجام و در طول یکسال ۱۳۷٦ *E .coli* جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان ٦۱ مورد (٤٤٪) نسبت به سفوتاکسیم و سفتازیدیم مقاوم بودند. نمونه ها از خون، مایع نخاع، آب میان بافتی، املاح صفراوی، زخمهای جراحی شده، اسپیراسیون نای، چرک و ...تهیه شدند. از بین نمونه های ایزوله شده، ۷۳/۲٪ دارای ژن بتالاکتاماز کلاس CTX-M ، ۲۵٪ دارای ژن بتالاکتامازی کلاس SHV و ۱/۸٪ دارای ژن بتالاکتامازی کلاس TEM بودند (۱۳).

سلطان دلال و همکارانش در سال ۱۳۸۹ در مقاله ای تحت عنوان بررسی فراوانی ژن های بتالاکتامازی وسیع الطیف گروه TEM و AmpC به روش PCR در نمونه های بالینی اشریشیاکلی در ایران، از مجموع ۲۰۰ اشریشیاکلی، ۱۲۵ نمونه از ادرار و کاتتر ادراری (٦۲/۵٪)، ٤۸ (۲٤٪) از مدفوع، ۱۸ (۹٪) از خون، ۵ (۲/۵٪) از زخم و ٤ (۲٪) از سایر نمونه های بالینی جمع آوری نمودند. نتایج حاصل از آزمون غربالی دیسک آگار دیفیوژن ۱۲۸ (٦٤٪) نمونه به منظور تأیید تولید ESBL از طریق آزمون Combined disk مورد ارزیابی قرار گرفت و از این بین ۱۱۵ (۸۹/۸٪) و ۱۳ (۱۰/۲٪) ایزوله به ترتیب به عنوان مولد ESBLs و AmpC بتالاکتامازی شناسایی شد و از نکات قابل توجه در این تحقیق این است که بیشترین مولدین آنزیم های بتالاکتامازی (۸۰٪) متعلق به نمونه های ادراری بودند و در آزمایش واکنش زنجیره ای PCR از میان ۱۲۸ نمونه غربال شده در تست تأییدی، ۷٤ (۵۷/۸٪) و ۵ (۳/۹٪) نمونه به ترتیب حاوی ژن های TEM و DHA بود و ژن MOX در هیچ ایزوله ای شناسایی نشد (۱٤).

میرصالحیان و همکارانش در سال ۲۰۰۷ در تحقیقی که بر روی تولید بتالاکتاماز در اشریشیاکلی در تهران انجام داده اند میزان ۶۰/۶۰٪ اشریشیاکلی تولیدکننده بتالاکتاماز را گزارش می کنند (۱۵) و این در حالی است که بررسی حاضر فراوانی ۴۸/۷۹٪ را بیان می کند.

Ananthan S و همکارانش در سال ۲۰۰۵ طی مطالعاتی که بر روی اشریشیاکلی تولیدکننده بتالاکتاماز انجام دادند به این نتیجه رسیدند که در قرن اخیر میزان تولید بتالاکتاماز افزایش یافته است، چنانچه در هند با فراوانی ۲۷٪، ژاپن با فراوانی ۱۳/۳٪، کره با فراوانی ۹/۲٪، عربستان صعودی با فراوانی ۱۰/۳٪ و ترکیه با فراوانی ۱۷٪ را گزارش نموده اند (۱۶).

نتیجه گیری:

از بین ۱۶۷۷ نمونه ادراری بدست آمده تعداد ۱۲۳ ایزوله (۱۳/۶۳٪) *E .coli* بوده که از بین آنها ۵۶ مورد یعنی ۴۵/۵۲٪ سویه مقاوم جدا شد که دارای الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی بودند.

نتایج این بررسی نشان می دهد که میزان تولید ESBL رو به افزایش است، با توجه به اینکه در این بررسی فقط بیماران سرپایی مورد مطالعه قرار گرفته و بیماران در بیمارستان بستری نبوده و با سویه های بیمارستانی نیز آلوده نشده اند.

پیشنهاد:

جهت شناسایی سویه های مولد این آنزیم ها تست های فنوتیپی با لذا لحاظ کردن بررسی های مولکولی با پرایمرهای اختصاصی در کنار آزمون های فنوتیپی می تواند در تشخیص کامل این نوع مقاومت ها مؤثر واقع شده و سهم عمده ای را در کنترل عفونت ایفا کند به این منظور موارد زیر پیشنهاد می شود:

- انجام روش استاندارد تست حساسیت دارویی
- کنترل کیفی دیسکهای آنتی بیوتیکی
- انجام روش خاص غربالگری فنوتیپی جهت تشخیص ESBL

تشکر و قدردانی:

از جناب آقای سهیل شکری و سرکار خانم راحیل کاظمی و خانواده ام به دلیل همراهی های صادقانه و صمیمی شان کمال تشکر و قدردانی را دارم.

منابع:

1. Sefton AM. The impact of resistance on management of urinary tract infection. Int J Antimicrob Agents 2000؛ 16: 489-91.

2. Romero L, Lopez L, Rodriguez-Bano J, Ramon Hernandez J, Martinez-Martinez L, Pascual A. Long-term study of the frequency of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates producing extended-spectrum beta-lactamases. Clin Microbial Infect 2005؛ 11(8): 625-31.

3. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification schem for beta-lactamase and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother* 1995؛ 39 (6): 1211-33.

4. Gava J, Switzerland. Word Health Organization. Who Global straegy for Contamination of Antimicrobial Resistance: Who؛ 2001. p, 1-105.

5. Enne VI, Livermore DM, Stephens P, Hall LM. Persistence of sulphonamide resistance in *Escherichia coli* in the UK despite national prescribing restriction. Lancet 2001؛ 357: 1325-28.

6. Romero L, Lopez L, Rodriguez-Bano J, Ramon Hernandez J, Martinez-Martinez L, Pascual A. Long-term study

of the frequency of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates producing extended-spectrum beta-lactamases. Clin Microbial Infect 2005؛ 11(8): 625-31.

7. Villegas MV, Correa A, Perez F, Mirand MC, Zuluaga T, Quinn JP. Prevalence and characterization of extended-spectrum beta-lactamases in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* isolates from Colombian hospitals. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease.* 2004؛ 49: 217-222.

8. Li Q, Lee JY, Castillo R, Hixon MS, Pujol C, Doppalapudi VR, et al. NB 2001, a novel antibacterial agent with broad-spectrum activity and enhanced potency against beta-lactamases-producing strains. *Antimicrobial Agent Chemother* 2002؛ 46(5): 1262-8.

9. Shah AA, Hasan F, Ahmad S, Hameed A. characteristics, epidemiology and clinical importance of emerging strains of Gram-negative bacilli producing extended-spectrum B-lactamases. Research in Microbiology. 2004. Avaiable online at www. Sciencedirect. Com.

10. Shahcheraghi,F. Nasiri,s. Noviri,sh. 2009. Detection of extanded-spectrum B-lactamase (ESBL) in Escherichia coli. Iranian Jornal of clinical Infection Disease. (4):65-70.

11. Laura Brinas, Marta Lantero, Isabel de Diego, Maria Alverez, Myriam Zarazaga, Carmen Torres. Emergence, spread, and environmental effect of antimicrobial resistance: how use of an antimicrobial resistance : how use of an antimicrobial anywhere can increase resistance to any antimicrobial anywhere else. Clin Infect Dis 2005؛ 34: S78-84.

12. Yu Yungson, Zhou Weilin, Chen Yagang, Ding Yongxiang, Ma Yilin. Epidemiologycal and antibiotic resistant study on extended-spectrum B-lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Zhejiang Province. Chinese Medical Journal. 2010؛ Vol. 115 No. 10: 1479-1482.

13. Laura Vinue, Marta Lentero, Yolanda Saenz, Sergio Somalo & etal. Characterizathio of extanded-spectrum B- lactamase and integron in *Escherichia coli* isolates in a Spanish hospital. Departmento de Agricultura y Alimentacion. 2004؛ Vol. 125 No. 20: 135-154.

۱۴. سلطان دلال م، ملاآقامیرزایی ه، فلاح مهرآبادی ج، رستگار لاری ع، صباغی آ، اشراقیان م و همکاران. فراوانی ژن های بتالاکتامازی وسیع الطیف گروه TEM و (MOX و DHA) AmpC به روش PCR در ایزوله های بالینی اشریشیاکلی. مجله دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران. شهریور ۱۳۸۹، دوره ۶۸، شماره ۶.

15. Mirsalehian A, Nakhjavan F, Nakhjavani F, Pymani A, Kazemi B, Jabal Ameli F, Mirafshar SM, Hamidian M. Frequency of extanded spectrum B-lactamase producing Enterobacteriacaea in intensive care units. Journal of Tehran University of Medical Sceinces 2007؛ 65 (1): 33-38.

16. Ananthan S, Subba A. Cefoxitin resistance mediated by loss of a porin in clinical strains of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*. Indian J Med MICROBIAL 2005؛ 23:20-23.