مجله میکروب شناسی پزشکی ایران
سال ۱ شماره ۳ پاییز ۱۳۸۶، صفحات ۱-۸

بررسی وجود ژن های بتالاکتامازی bla_{SHV} و bla_{TEM} در سویه های *اشریشیا کلی* مقاوم به آنتی بیوتیک جدا شده از نمونه های کلینیکی از بیمارستان های تهران

فرشته شاهچراغی*، سیاوش نصیری، هانیه نویری

بخش باکتری شناسی، انستیتو پاستور ایران
نویسنده رابط: فرشته شاهچراغی، بخش باکتری شناسی، انستیتو پاستور ایران تلفن: ۶۶۴۰۵۵۳۵- ۰۲۱ *Feresh100@yahoo.com*

تاریخ دریافت مقاله: ۸۶/۸/۲۲ تاریخ پذیرش مقاله: ۸۶/۹/۲۲

چکیده:

زمینه و اهداف: پیدایش سویه های مقاوم به آنتی بیوتیک امروزه بعنوان یکی از چالش های درمان بیماران مبتلا به عفونت های ناشی از این سویه ها مطرح است و تحقیقات زیادی در این رابطه از جمله در مورد آنتی بیوتیک های بتالاکتام انجام شده است. تولید آنزیم های بتالاکتامازی از جمله آنزیم هایSHV و TEM در باکتری اشریشیاکلی باعث مقاوم شدن آن در برابر آنتی بیوتیک های بتالاکتام مختلف شده است. همچنین این باکتری قادر به تولید بتالاکتامازهای وسیع الطیف (ESBLs) نیز هست. هدف از انجام این تحقیق بررسی الگوهای حساسیت آنتی بیوتیکی نسبت به آنتی بیوتیک های بتالاکتام و تحقیق پیرامون وجود ژن های بتالاکتامازی bla_{SHV} و bla_{TEM} در نمونه های بالینی *E .coli* می باشد.

روش بررسی: برای انجام این تحقیق ۲۰۰ سویه اشریشیاکلی از نمونه های مختلف شامل ادرار، خلط، زخم، مایع مغزی نخاعی، از ۵ بیمارستان تهران ایزوله وجمع آوری شد برای تعیین مقاومت نمونه ها، تست آنتی بیوگرام با روش Disk diffusion صورت گرفت آنتی بیوتیک های تحت بررسی عبارت بودند از: سفتازیدیم، سفوتاکسیم، سفتری آکسون، سیپروفلوکساسین، سفتیزوکسیم، ایمی پنم، کربنی سیلین، آمیکاسین، جنتامایسین، پیپراسیلین و پیپراسیلین/تازوباکتام (BBL). سپس MIC سوش های جدا شده نسبت به آنتی بیوتیک های سفتازیدیم و ایمی پنم به روش Micro dilution تعیین شد (طبق پروتکل NCCLS). برای بررسی وجود ESBLs در سویه های ایزوله شده از روش Disk diffusion با استفاده از تست فنوتیپی تأییدی(Phenotypic Confirmatory Test=PCT) استفاده گردید و با استفاده از روش PCR ژن های bla_{SHV} و bla_{TEM} در سویه های ایزوله شده مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته ها: در این تحقیق بخش اعظم نمونه ها مربوط به عفونت های ادراری بود n=۱۷۸ (۸۹٪). همچنین بیشترین میزان مقاومت سوش ها در برابرکربنی سیلین۱۴۷=n(۷۳/۵٪) و بیشترین میزان حساسیت آنها در برابر ایمی پنم دیده شد n= ۲۰۰ (۱۰۰٪). همچنین۱۰۵=n (۵۲/۵٪) از نمونه های تحت بررسی، دارای ژن های ESBL بودند که بیشترین میزان مقاومت در این نمونه ها نیز در برابر کربنی سیلین دیده شد(۹۵٪). همچنین ۴۸ =n (۲۴٪) از سویه های مورد بررسی حاوی ژن bla_{TEM} و۱۲=n (۶٪) از سویه ها حاوی ژن bla_{SHV} بودند.

نتیجه گیری: با توجه به درصد بالای مقاومت به سفتازیدیم ومیزان بالای تولید ESBLs باید در مصرف سفالوسپورین های نسل سوم دقت نمود. همچنین به منظور درمان وجلوگیری از گسترش عفونت های ناشی از ارگانیسم های $ESBL^+$، انجام دقیق تست های آنتی بیوگرام قبل از تجویز آنتی بیوتیک و پرهیز از مصرف بی رویه و خودسرانه دارو بویژه آنتی بیوتیک های سفالوسپورینی ضروری است.

کلید واژه ها: اشریشیاکلی، مقاومت آنتی بیوتیکی، bla_{SHV},bla_{TEM}

مقدمه:

با کشف آنتی بیوتیک ها (فلمینگ،۱۹۲۸) پیدایش آنتی بیوتیک های جدید و رواج استفاده از آنها در درمان بیماری های عفونی باکتریال، مقاومت های باکتریایی در برابر این مواد ضد باکتریایی بوجود آمد(۱). مکانیسم های مقاومت باکتریایی در برابر آنتی بیوتیک ها مختلف و متفاوت هستند، یکی از این مکانیسم ها تولید آنزیم های بتالاکتامازی در باکتری هاست. این آنزیم ها از طریق هیدرولیز هسته مرکزی در آنتی بیوتیک های بتالاکتام باعث غیر فعال شدن آنها می شوند. بتالاکتامازها انواع مختلفی دارند که از آن جمله می توان به آنزیم های نوع SHV و TEM اشاره نمود. ژن های تولید کننده این دو آنزیم به نام های bla_{SHV} و bla_{TEM} جزو ژن هایی هستند که بر روی پلاسمید قرار گرفته اند. با مصرف گسترده و روز افزون آنتی بیوتیک ها از جمله آنتی بیوتیک های سفالوسپورینی، دسته دیگری از ژن های بتالاکتامازی بوجود آمدند که در مقایسه با بتالاکتامازهای اولیه طیف فعالیت بیشتری داشتند. این آنزیم ها قادر بودند آنتی بیوتیک های گروه پنی سیلین، سفالوسپورین ها و نیز ازترئونام را هیدرولیز نمایند. در واقع بروز موتاسیون های نقطه ای در سکانس اسیدآمینه ای بتالاکتامازهای اولیه نظیر SHV-1,TEM-1,TEM-2 باعث اشتقاق و پیدایش این آنزیم های جدید و وسیع الطیف گردید که امروزه آنها را تحت عنوان ESBLs می شناسند(Extended Spectrum Beta-Lactamases) (۳،۲). امروزه تعداد ارگانیسم هایی که قادر به تولید آنزیم های ESBL هستند در حال افزایش است و این مسئله بعنوان یکی از بحران های موجود در درمان عفونت های ناشی از این باکتری ها مطرح است. انتقال وانتشار سریع ارگانیسم هایی که قادر به تولید آنزیم های مذکور هستند، باعث بالا رفتن میزان عفونت های بیمارستانی مربوطه در سراسر دنیا شده است(۴).

E. coli یکی از باکتری هایی است که قادر به تولید آنزیم های ESBL می باشد(۵). این باکتری عضو اصلی خانواده انتروباکتریاسه و عامل بسیاری از عفونت های بیمارستانی از قبیل سپسیس، گاستروانتریت، مننژیت نوزادی و بالاخص عفونت های ادراری شناخته شده است. لذا بررسی الگوهای حساسیت آنتی بیوتیکی و تحقیق پیرامون وجود ژن های بتالاکتامازی در نمونه های بالینی *E. coli* بعنوان اهداف این تحقیق لحاظ شده است.

مواد و روش ها:

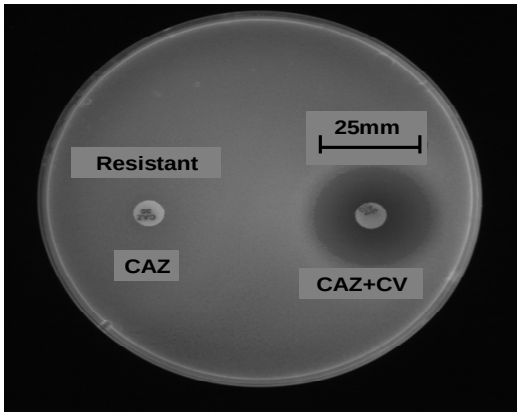
تعداد ۲۰۰ نمونه بالینی *E. coli* شامل نمونه های ادرار، مدفوع، زخم و آبسه از بیمارستان های تهران (طرفه، ولیعصر، هاشمی نژاد، خاتم الانبیاء و مطهری) جمع آوری شدند. در آزمایشگاه کلیه سوش ها بعد از شناسایی دقیق و انجام تست های بیوشیمیایی در ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند.تعیین حساسیت و مقاومت آنتی بیوتیکی به وسیله روش دیسک دیفیوژن (Kirby-Baur) صورت گرفت (۶). دیسک های مورد استفاده تهیه شده از شرکت BBL به شرح زیر بودند:

کربنی سیلین (۱۰۰ µg)، سفوتاکسیم (۳۰ µg)، سفتی زوکسیم (۳۰ µg)، پیپراسیلین (۱۰۰ µg)، پیپراسیلن/ تازوباکتام (۱۱۰ µg)، آمیکاسین(۳۰ µg)، جنتامیسین (۱۰ µg)، سفتازیدیم (۳۰ µg)، ایمی پنم (۱۰ µg)، سپیروفلوکساسین (۵ µg) و سفتریاکسون (۳۰µg). به منظور تعیین حداقل غلظت آنتی‌بیوتیک که مانع رشد باکتری شود تست MIC آنتی بیوتیک های سفتازیدیم و ایمی پنم به روش Micro dilution صورت گرفت (۷).

تست فنوتیپی تأئیدی:

هدف ازاین آزمایش جداسازی سوش های تولیدکننده ESBLs بود. دیسک های مورد آزمایش سفتازیدیم/کلاوولانیک اسید ($\frac{CAZ:30\mu g}{CA:10\mu g}$) وسفوتاکسیم کلاولانیک اسید ($\frac{CAZ:30\mu g}{CA:10\mu g}$) و سفوتاکسیم و سفتازیدیم به تنهایی بود (تهیه شده از شرکت Mast). بعد از انکوباسیون به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه، تولید ESBLs از طریق افزایش قطر هاله به اندازه ۵ میلیمتر یا بیشتر در اطراف دیسک سفتازیدیم- کلاوونیک اسید ویا سفوتاکسیم کلاوولانیک اسید مشخص گشت (شکل ۱) (۸،۴).

شکل ۱: تست فنوتیپی تأئیدی
(Phenotypic Confirmatory Test =PCT)
برای بررسی ژن های ESBL به روش Disk diffusion



استخراج DNA و انجام PCR:

ابتدا نمونه های باکتریایی(MIC≥2μg/ml) در ۲/۵ سی سی محیط LB مایع (broth) بصورت شبانه (overnight) در ۳۷ درجه سانتیگراد کشت داده شدند. سپس مقدار ۱۰۰μg از کشت های باکتریایی در داخل اپندورف های استریل ریخته شدند و DNA هر یک از ایزوله ها به روش جوشانیدن (boiling) استخراج گردید (۹).

تست PCR برای شناسایی ژن های بتالاکتامازی bla_{SHV} (200bp) و bla_{TEM} (800bp) تحت شرایط مندرج در جدول ۱ انجام شد (۱۰و۱۱).

مشخصات پرایمرهایی که در انجام PCR مورد استفاده قرار گرفتند، به شرح جدول ۲ می باشد.

جدول۱: شرایط مورد استفاده جهت انجام PCR

شماره	فاکتور / ژن / مراحل	درجه حرارت (°C) SHV/ TEM	زمان SHV/ TEM
۱	Initial denaturation	۹۴/ ۹۴	۳/ ۳ min
۲	Denaturation	۹۴/ ۹۴	۳۰/ ۳۰ s
۳	Annealing	۶۰/ ۴۵	۱/ ۱ min
۴	Extension	۷۲/ ۷۲	۱/ ۱ min
۵	Final extension	۷۲/ ۷۲	۱۰/ ۱۰ min
۶	Cycle number	۳۵	

جدول۲: مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در PCR

نام ژن شناسایی شده	توالی نوکلئوتیدی	مشخصات / نام پرایمر
SHV-A	5´- AAGATCCACTATCGCCAGCAG -3´	bla_{SHV}
SHV-B	5´- ATTCAGTTCCGTTTCCCAGCGG -3´	bla_{SHV}
TEM-A	5´- GAGTATTCAACATTTCCGTGTC -3´	bla_{TEM}
TEM-B	5´- TAATCAGTGAGGCACCTATCTC -3´	bla_{TEM}

لازم به ذکر است که کلبسیلا پنومونیه ۷۸۸۱ حاوی ژن های bla_{SHV} و bla_{TEM} به عنوان سویه استاندارد از پروفسور نوردمن، فرانسه، تهیه شد. همچنین ژل آگاروز ٪۱ برای الکتروفورز محصولات PCR و نیزاز مارکر 100bp Ladder Fermentase (Lithuania)، مورد استفاده قرار گرفت.

یافته ها:

از ۲۰۰سویه *E. coli* جدا شده از نمونه های کلینیکی تحت بررسی، ٪۸۹ (۱۷۸) مربوط به نمونه های ادرار، ٪۶ (۱۲) نمونه های زخم ، ٪۴/۵ (۹) نمونه های مدفوع و ٪۰/۵(۱) مربوط به نمونه آبسه بودند. میزان مقاومت سوش ها در برابر آنتی بیوتیک های مختلف به شرح ذیل بود:

کربنی سیلین: ٪۸۹ ، پیپراسیلین: ٪۸۳ ، سیپروفلوکساسین: ٪۴۳، سفوتاکسیم: ٪۳۲، سفتازیدیم: ٪۳۰، سفتریاکسون: ٪۳۰، سفتی زوکسیم: ٪۲۶،جنتامیسین: ٪۲۶/۷، پیپراسیلین/تازوباکتام: ٪۱۹ و آمیکاسین: ٪۱۶/۸. لازم به ذکر است که هیچ سوش مقاومی نسبت به ایمی پنم دیده نشد، همچنین ٪۷۳ از نمونه های مقاوم به کربنی سیلین دارای مقاومت مطلق در برابراین آنتی بیوتیک بودند (قطر ناحیه عدم رشد در آنها برابر صفر است)(جدول۳).

در بین ۵۹ نمونه ای که مقاوم به سفتازیدیم بودند، ٪۸۳/۰۵ از آنها (۴۹ نمونه) مربوط به نمونه های ادراری، ٪۱۰/۱۷(۶ نمونه) نمونه زخم و ٪۶/۷۸ (۴ نمونه) مربوط به نمونه های مدفوع بود. همچنین۱۰۵=n (٪۵۲/۵) از سویه های مورد مطالعه دارای ژن های

ESBL بودند. میزان مقاومت این نمونه ها در برابر آنتی بیوتیک های مختلف به این قرار بود: کربنی سیلین: ٪۹۵ ، پیپراسیلین: ٪۹۳/۵ ، سفوتاکسیم: ٪۶۵/۶، سیپروفلوکساسین: ٪۶۴، سفتازیدیم: ٪۶۴، سفتریاکسون: ٪۵۹، سفتی زوکسیم: ٪۵۴/۷،جنتامیسین: ٪۳۹، پیپراسیلین/تازوباکتام: ٪۲۶/۶، آمیکاسین: ٪۱۸/۷، ایمی پنم: هیچ سوش مقاومی نسبت به ایمی پنم دیده نشد (جدول۴).

از مجموع ۲۰۰ نمونه ای که MIC سفتازیدیم در آنها تعیین گردید، نتایجی به شرح جدول ۵ بدست آمد. همچنین نمونه های $ESBL^+$ بر اساس نحوه توزیع در محدوده های مختلف MIC (سفتازیدیم) مورد ارزیابی قرار گرفتند.

جدول۳: الگوهای مقاومت آنتی بیوتیکی در سوشهای بالینی *E. coli*

ردیف	مشخصات / نتایج / نام آنتی بیوتیک	درصد		
		مقاوم	حدواسط	حساس
۱	پیپراسیلین	۸۳/۱	--	۱۶/۹
۲	کربنی سیلین	۸۹/۱	۰	۱۰/۹
۳	سیپروفلوکساسین	۴۲/۹	۱۵/۳	۴۱/۸
۴	سفوتاکسیم	۳۲/۱	۲۴/۵	۴۳/۴
۵	سفتازیدیم	۳۰/۱	۸/۲	۶۱/۷
۶	سفتری آکسون	۳۰/۱	۱۰/۲	۵۹/۷
۷	سفتی زوکسیم	۲۶/۴	۸/۱	۶۵/۵
۸	جنتامایسین	۲۶/۷	۷/۸	۶۵/۵
۹	پیپراسیلین/ تازوباکتام	۱۹/۴	--	۸۰/۶
۱۰	آمیکاسین	۱۶/۸	۲۴	۵۹/۲
۱۱	ایمی پنم	۰	۰	۱۰۰

جدول۴: الگوهای حساسیت آنتی بیوتیکی در نمونه های تولید کننده ESBL

آنتی بیوتیک / میزان مقاومت	CB	PIP	CTX	CIP	CAZ	CRO	ZOX	GM	P/T	AK	IMP
فراوانی (درصد)	۸۰	۸۸/۶	۵۵/۲۳	۵۵/۲۳	۵۲/۴	۵۱/۴۳	۴۰	۲۶/۷	۲۸/۶	۲۱/۹	۰
تعداد	۸۴	۹۳	۵۸	۵۸	۵۵	۵۴	۴۲	۲۸	۳۰	۲۳	۰

جدول۵: MIC سفتازیدیم در نمونه های بالینی *E. coli*

ردیف	فراوانی / نمونه ها MIC(μg/ml)	تعداد	درصد
۱	<۲	۱۲۷	۳۹/۲۵
۲	۲	۳	۱/۸۷
۳	۴	۱	۰/۹۵
۴	۸	۰	۰
۵	۱۶	۰	۰
۶	۳۲	۳	۲/۸
۷	۶۴	۵	۴/۶۷
۸	۱۲۸	۲۲	۱۸/۶۹
۹	۲۵۶	۲۵	۲۲/۴۳
۱۰	۵۱۲	۱۴	۹/۳۵

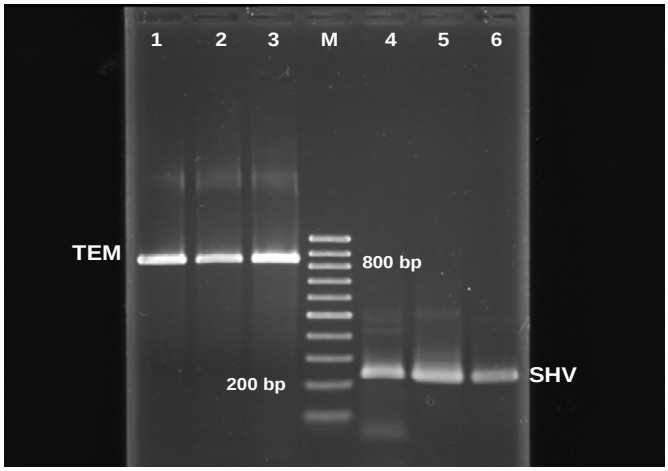
نتایج PCR : در این مطالعه ۶٪ (۱۲ نمونه)از سویه های مورد مطالعه دارای ژن bla_{SHV} ، ۲۴٪ (۴۸ نمونه) دارای ژن bla_{TEM} و بـالاخره ۳٪ (۶ نمونه) واجد هر دو ژن مذکور بودند (جدول۶).

جدول۶: فراوانی ژن های bla_{SHV} وbla_{TEM} در بین ایزوله ها

نام ژن / نتیجه	SHV	TEM	هر دو ژن SHV و TEM
فراوانی (٪)	۶	۲۴	۳
تعداد	۱۲	۴۸	۶

از ۹۲ نمونه ای که آزمایش PCR بر روی آنها انجام گردید ۳۹ سویه فاقد ژن های مورد مطالعه بودند. در این مطالعه ۴ سویه حـاوی ژن TEM شناسایی گردید که آزمایش ESBL آنها منفی بود.

شکل۱: الکتروفورز ژل آگاروز



۱،۲: نمونه های مثبت برای ژن bla_{TEM} (۸۰۰bp)، ۵،۴: نمونه های مثبت برای ژن bla_{SHV} (۲۰۰bp)، ۶،۳ : به ترتیب کنترل مثبت برای ژنbla_{TEM} و bla_{SHV} (*Klebsiella pneumoniae* 7881). M : مارکر

بحث:

ژن های بتالاکتامازی در باکتری بویژه ژن های ESBLs ، یکی ازعوامل مؤثر در افزایش مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های بتالاکتام از جمله سفالوسپورین های وسیع الطیف است. ارگانیسم هایی که این ژن ها را در خود حمل میکنند، باعث افزایش بیماریزایی و مرگ و میردر بین افراد می شوند، چه بسا ادامه روند رو به رشد در ایجاد مقاومت هایی از این دسته، جامعه را با خطر جدی مواجه خواهد کرد. بنابراین تشخیص های درست آزمایشگاهی برای جلوگیری از شکست درمانی ناشی از انتخاب نامناسب آنتی بیوتیک بسیار حائز اهمیت است (۱۱و۱۲).

مقایسه میان نتایج بدست آمده ازاین تحقیق و نتایج حاصل از تحقیق دیگری که توسط محمد ناصر امیدی در سال ۱۳۸۱ درتهران انجام شده است، حاکی از افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی در سوش های بالینی *E. coli* می باشد.

بر اساس نتایجی که Carole و همکاران در سال ۲۰۰۵ بدست آورده اند، میزان مقاومت به جنتامیسین در کشور ما پائینتر از لبنان (ایران: ۲۶/۷٪، لبنان: ۴۲٪) ولی میزان مقاومت به آمیکاسین در هر دو کشور تقریبا" یکسان است (ایران:۱۶/۸٪، لبنان:۱۷٪)(۱۳). همچنین، بررسی نتایج بدست آمده درتحقیقی که توسط Kader AA و Kumar A در سال ۲۰۰۵ انجام شد، میزان سوش های حساس به آمیکاسین و سوش های حساس به پیپراسیلین/تازوباکتام در ایران به ترتیب پائینتر و بالاتراز آلمان است (ایران: میزان سوشهای حساس به آمیکاسین و پیپراسیلین/تازوباکتام به ترتیب ۵۹/۲٪ و۸۰/۶٪، آلمان: ۷۲/۸٪ و ۶۶٪)(۱۴). از طرف دیگر بررسی های Inna Chmelnitsky و همکاران در سال ۲۰۰۵ حاکی از بالاتر بودن فراوانی سوش های حساس به سفتازیدیم در مقایسه با فلسطین اشغالی است (ایران: ۶۱/۷٪، فلسطین اشغالی: ۴۵٪) (۱۵) ولی تحقیقات Seok Hoon Jeong و همکاران در سال ۲۰۰۴ نشان می دهد که میزان سوش های مقاوم به این آنتی بیوتیک در مقایسه با کره بالاتراست (ایران: ۳۰/۱٪، کره: ۱۱٪) سوش های مقاوم به سفوتاکسیم درکشور ما نیزفراوانی بیشتری درمقایسه با کره نشان می دهند(۱۶).

در این مطالعه ۳۳٪ سوش های ایزوله شده تولیدکننده ESBLs بودند. مدت زیاد بستری شدن، مصرف زیاد آنتی بیوتیک (خصوصاً سفتازیدیم)، بستری شدن در بخش ICU استفاده از سوندهای ادراری، جز فاکتورهای تولیدکننده ESBLs هستند (۱۷).

سوش های تولیدکننده ESBLs معمولاً سوش هایی با مقاومت چندگانه هستند. نتایج منتشره در تحقیقات علمی مختلف مربوط به ژن های ESBL نشان می دهند که درصد سویه های *E. coli* تولید کننده ESBL در کشورهای هندوستان (۲۰۰۴)، کانادا و ایالات متحده (۲۰۰۳)،اسپانیا (۲۰۰۵) لبنان(۲۰۰۵) ،کره (۲۰۰۴)، آلمان(۲۰۰۵)، فلسطین اشغالی (۲۰۰۵)، بنگلادش (۲۰۰۴)، ترکیه(۲۰۰۴) ،فرانسه (۲۰۰۶) به ترتیب: ۲۷٪، ۶۳/۸٪، ۱۰-۲٪، ۵۱/۸٪، ۱۳/۳٪، ۹/۲٪، ۱۰/۳٪، ۲۲٪، ۴۳/۲٪، ۱۷٪، ۴٪ می باشد(۴). میزان ESBL در سویه های ایزوله شده از کشورهای مختلف و همچنین در یک کشور از یک بیمارستان با بیمارستان دیگر متفاوت می باشد که این مسئله بستگی به سیستم کنترل عفونت و رژیم درمانی دارد.

در تحقیق دیگری که Carole Moubareck و همکاران در سال ۲۰۰۵ انجام دادند، تمام نمونه های $ESBL^+$ مقاوم به سفتازیدیم بودند در حالیکه در این تحقیق ۶۴ درصد از نمونه های $ESBL^+$ مقاوم به این آنتی بیوتیک شناخته شده اند (۱۳). در این مطالعه ۴ سویه حاوی ژن bla_{TEM} فاقد آنزیم ESBL بودندکه نشانه این است که این ژن ها جزء دسته TEM-1, یا TEM-2 و یا ۱۳ TEM می باشند.

نتایج بدست آمده از میزان MIC سفتازیدیم سویه های حاوی ژن bla_{TEM} با bla_{SHV} نشان داد که تمام سویه های حاوی ژن bla_{TEM} میزان MIC آنها کمتر از ۳۲ μg/ml می باشد در حالیکه سویه های حاوی ژن bla_{SHV} میزان MIC سفتازیدیم آنها بیشتر از ۳۲μg/ml بوده و مقاومت بیشتری در مقابل سفتازیدیم از خود نشان می دهند. تمام شش نمونه ای که حاوی هر دو ژن بودند میزان MIC آنها بیشتر از۶۴μg/m وبه سفوتاکسیم مقاوم وتمام آنها به جز یک مورد از ادرار جدا شده بودند.

در این مطالعه ۹۳/۶ ٪ از سویه های حاوی آنزیم **ESBL** مقاوم به پیپراسیلین بوده در حالیکه مقاومت به پیپراسیلین-تازوباکتام در این دسته ۲۶/۶ ٪ مشاهده شد با توجه به این نتایج بایستی جهت جلوگیری از افزایش مقاومت در مصرف این آنتی بیوتیک دقت نمود و در عین حال بعنوان جایگزین در سویه های مقاوم به سفالسپورین های نسل سوم از آن استفاده نمود.

نتیجه گیری:

تولید ESBLs به عنوان یک تهدید بزرگ برای مصرف سفالسپورین ها با طیف وسیع به شمار می‌رود بنابرین برای درمان عفونت هایی که مشکوک به ارگانیسم های تولید کننده بتالاکتاماز

هستند، باید آنتی بیوتیک مناسب به دقت انتخاب شود (۱۸)، همچنین سوش هایی که حساسیت آنها در برابر سفتازیدیم و سفوتاکسیم کاهش پیدا کرده است، باید از نظر داشتن ژن های ESBL مورد بررسی قرار گیرند.

تقدیر و تشکر:

بدین وسیله از سرکار خانم شورج و خانم نیک‌بین که ما را در انجام این تحقیق یاری نموده‌اند تشکر می‌نماییم.

فهرست مراجع:

1. Murray PR, Drew WL, Kobayashi GS, Thompson JH: Medical Microbiology. (International Student Edition).Pub. Wolfe Publishing; USA. 1990.pp.103-107.
2. Koneman EW, Allen SD, Dowell VR, Janda WM, Sommers HM. Diagnostic Microbiology, 1990, 3rd Edition, Publisher: place of publication, pp.90-102 , 473-484.
3. Singh S. Extended-Spectrum beta-Lactamases: An overview. *Diagnostic Laboratory Services*. INC,1999.
4. Paterson DL, and Bonomo RA. Extended-Spectrum beta-Lactamases:a clinical update. *Clinl Microbiol Rev* 2005; **18** (4): 657-86.
5. Rodriguez-Bano J, Navarro MD, Romero L, Martinez-Martinez L, Epidemiology and clinical features of infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in nonhospitalized patients, *J Clin Microbiol* 2004; **42**:1089-94.
6. National Committee For Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing,15th informational supplement (M100-s15). National Committee For Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa. 2005.
7. National Committee For Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility testing for bacteria that grow aerobically, 2000; M7-A5, ed.NCCLS, Villanova, Pa.
8. Characterization of clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* from 19 laboratories using the national committee for clinical laboratory standards Extended-Spectrum beta-Lactamase detection Methods, *J Clin Microbiol* 2001; **39**(8): 2864-72.
9. Mndelson 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* 2005; **24**(1):17-22.
10. Howard C, van Daal A, van Daal A, Kelly G, Schooneveldt J, Nimmo G, Giffard PM. Identification and minisequencing-based discrimination of SHV beta-lactamases in nosocomial infection-associated *Klebsiella pneumoniae* in Brisbane, Australia. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; **46**:659-64.
11. Poirel L, Weldhagen GF ,Naas T ,De Champs C, Dove MG12-, Nordmann P. GES-2, a class A beta-lactamase from Pseudomonas aeruginosa with increased hydrolysis of imipenem. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; **45**(9):2598-603.
12. Branger C, Zamfir O, Geoffroy S, Laurans G, Arlet G, Thien H, *et al.* Genetic Background of *Escherichia coli* and Extended-Spectrum Beta-Lactamase type, *Emerg Infect Dis* 2005; **11**(1):54-61.
13. Moubareck C, Daoud Z, Hakimé NI, Hamzé M, Mangeney N, Countrywide Spread of Community- and Hospital-Acquired Extended-Spectrum ß-Lactamase (CTX-M-15)-Producing *Enterobacteriaceae* in Lebanon, *J Clin Microbiol* 2005; **43**(7): 3309-13.
14. Kader AA, Kumar A, Prevalence and antimicrobial susceptibility of extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli and *Klebsiella pneumoniae* in a general hospital. *Ann Saudi Med* 2005; **25**(3):239-42.
15. Chmelnitsky I, Carmeli Y, Leavitt A, Schwaber MJ and 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): 4745-50.
16. Jeong SH, Bae Il K, Lee JH , Sohn SG, Kang GH, Jeon GJ, Kim YH, Jeong BC and Lee SH. Molecular Characterization of Extended-Spectrum Beta-Lactamases Produced by Clinical Isolates of *Klebsiella pneumoniae* and

Escherichia coli from a Korean Nationwide Survey. *J Clin Microbiol* 2004; **42**(7): 2902-6.

17. Lucet JC, Chevert S, Vanjak D, Decre D, Macrez A, and Wolff M. Outbreak of multiple resistance Enterobacteriaceae in an intensive care unit: Epidemiology and risk factor acquisition. *Clin Infect Dis* 1996; **22**:430-6.
18. Thomson KS. Controversies about Extended-Spectrum and AmpC beta-Lactamases. *Emerg Infect Dis* 2001; **7**(2):1-9.