تحقیقی

دارای رتبه علمی - پژوهشی از کمیسیون
نشریات علوم پزشکی کشور

فراوانی اشریشیا کلی های مولد آنزیم بتالاکتاماز وسیع الطیف در گرگان

مایا بابائی کوچکسرائی
کارشناسی ارشد، میکروبشناسی دانشگاه آزاد اسلامی تنکابن

آیت الله نصرالهی عمران
استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن

نائمه جاوید
کارشناس ارشد ،دانشگاه علوم پزشکی گلستان

فاطمه شاکری
کارشناس ارشد، دانشگاه علوم پزشکی گلستان

مهسا یزدی
کارشناسی ارشد میکروبشناسی دانشگاه آزاد اسلامی تنکابن

عزت الله قائمی
دانشیار، مرکز تحقیقات عفونی،دانشگاه علوم پزشکی گلستان

نویسنده مسئول: مایا بابائی کوچکسرائی
تلفن :

پست الکترونیک:
mayasayeh@gmail.com

آدرس : تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی تنکابن

وصول مقاله: 91/1/19
اصلاح نهایی: 91/2/29
پذیرش مقاله:91/3/4

چکیده

زمینه و هدف : وجود ایزوله های مولد آنزیم بتالاکتاماز وسیع الطیف(ESBLs) برای سیستم بهداشتی مشکلات زیادی را به همراه خواهد داشت، این ایزوله ها علاوه بر افزایش مقاومت به سایر آنتی بیوتیک ها، احتمال انتقال سریع ژن های مقاومت به سفالوسپورین های نسل سوم به سایر سویه های کلینیکی و گسترش مقاومت داروئی را دارند. این مطالعه با هدف تعیین فراوانی این ایزوله و ژنهای مسئول آن در شهر گرگان در شمال ایران انجام شده است.

روش بررسی: 218 نمونه اشریشیا کلی جداشده از عفونت ادراری بیماران سرپائی مراجعه کننده به 6 آزمایشگاه تشخیص طبی شهر گرگان به مدت یکسال ازتیرماه 1389تا تیر ماه 1390 مورد بررسی قرار گرفتند. مقاومت به سفوتاکسیم (MAST Co.) با روش کربی بائر انجام شد و برای ایزوله های مقاوم، تست تائید فنوتیپیا ارزیابی افزایش قطر هاله عدم رشد در حضور دیسک سفوتاکسیم/ کلاولانیک اسید انجام شد. همچنین حضور ژنهای بتالاکتاماز وسیع الطیف blaTEM, blaSHV, blaCTX-M در سویه های ESBLsبا استفاده از روش PCRمورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: مقاومت به سفوتاکسیم در70(32/1%)ایزوله اشریشیا کلی مشاهده شد که ازاین تعداد 62(88/6%) نمونه در تست تائیدی بعنوان ESBLs شناسائی شدند. 28(45/2%),26(41/9%) و 6(9/7%) مورد از نمونه ها به ترتیب حاویblaCTX-Mو blaTEMو blaSHVبودند.

نتیجه گیری: فراوانی اشریشیا کلی های مولد ESBL شهر گرگان در حد متوسط کشوری است و ژن blaCTX-M شایعترین ژن مسئول آن می باشد.

واژه های کلیدی: اشریشیا کلی، سفالوسپورین نسل سوم ، بتالاکتاماز وسیع الطیف، گرگان

آدرس مقاله:
بابائی کوچکسرائی م، نصرالهی آ، جاوید ن، شاکری ف، یزدی م، قائمی ع ا" فراوانی اشریشیا کلی های مولد آنزیم بتالاکتاماز وسیع الطیف در گرگان ". مجله علوم آزمایشگاهی بهار و تابستان ، 1391دوره ششم(شماره1) :58-51

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

آنتی بیوتیک های بتالاکتام بهترین گزینه برای درمان بسیاری از باکتری ها می باشند، آنها به دلیل قدرت سمیت پایین برای سلولهای یوکاریوتی، طیف اثر گسترده و اثر ضد میکروبی قوی،از پر مصرف ترین گروه آنتی بیوتیکی در دسترس هستند. در بین انواع مقاومتهای تولید شده بوسیله باکتریها ،انواعی که توانائی تولید آنزیم بتالاکتاماز موثر علیه سفالوسپورین های نسل سوم به خصوص سفتازیدیم،سفپودوکسیم وسفوتاکسیم را دارند از نظر بالینی اهمیت خاصی دارندبه این گروه باکتریهای مولد ESBLs (Expanded spectrum of β- lactamase) گفته می شود(1).اولین سویه ESBLs در سال 1983در آلمان در کلبسیلا هاو متعاقب آن درسودوموناس ائروژینوزا ، اشریشیا کلی و سراشیا مارسه سنسو سایر باسیل های گرم منفی بدست آمد(2). باکتریهای مولد آنزیم ESBL در تمام جهان پراکنده اند و علاوه بر ایجاد عفونت بیمارستانی، براحتی در اجتماع انتشار می یابند و از مشکلات مهم جهان امروز محسوب میشوند. فراوانی این باکتری در نقاط مختلف متفاوت است. ژن مسئول مقاومت به سفالوسپورینهای وسیع الطیف(ESBLs) عمدتا در پلاسمید قرار داشته و بهمین دلیل با سرعت بیشتری قابلیت انتشاردر بین باکتریها را دارد(3).از طرفی ممکن است دراین پلاسمیدها بطور همزمان، ژن مقاومت به سایر آنتی بیوتیکها (مثل آمینوگلیکوزیدها) قرار گرفته و مقاومت همزمان باکتری به آنتی بیوتیکها را ایجاد نماید که در این صورت داروهای مناسب برای درمان این باکتریها بسیار محدود خواهد شد و این از دلایل مهم نگرانی از گسترش سویه هایESBL می باشد(4)

اشاعه باکتریهای مولد ESBL به همراه انواع دیگر مقاومت های آنتی بیوتیکی مثل مقاومت به متی سیلین در استافیلوکوکهاMRSA ، مقاومت به ونکومایسین در انتروکوکها VREو مقاومت میکوباکتریومها به ایزونیازید و ریفامپین و.. از دلایل نامگذاری سال 2011 از طرف سازمان بهداشت جهانی بعنوان سال مقاومت داروئی می باشد که بیانگر نگرانی جهانی در مورد گسترش این عوامل می باشد.

در حال حاضر بیش از 300 نوع آنزیم بتالاکتاماز وسیع الطیف شناسائی شده است که این آنزیم ها به دنبال موتاسیون آنزیم های بتالاکتاماز اولیه ، شکل گرفته اند(2) ژن های اصلی کد کننده آنزیم بتالاکتاماز وسیع الطیف (ESBLs) به گروههایTEM, SHVو CTX-M تعلق دارندکهدر سالهای اخیر CTX-M پراکندگی بیشتری یافته است(5) به طوریکه امروزه آنزیم بتالاکتاماز ctx-m نقش مهمی را در ESBL های کشور های مختلف ایفا می کند(6).یزدی و همکاران در سال 2011 (7) فراوانیژن CTX-M را 87/1% و شاهچراغی(8) 42/4% گزارش کردند ، همین محققین فراوانی TEMرا به ترتیب 68/8% و46/4%اعلام نموده همچنین میزان فراوانی SHV را یزدی و همکاران 70/6% (7) گزارش کرده اند .

دانش ما در مورد شناسائی این باکتری ها در یک ناحیه جغرافیایی به مصرف صحیح و معقول آنتی بیوتیک ها کمک خواهد کرد، بنابر این برعهده مسئولین بهداشتی و میکروبشناسی هر منطقه میباشد که با مانیتورینگ و نظارت دائمی بر باکتریهای مقاوم به آنتی بیوتیک بخصوص سویه های ESBL تغییرات در فراوانی آنها را تحت کنترل داشته باشند تا در صورت ازدیاد موارد ، راههائی را جهت تغییر رژیم داروئی و پیشگیری از بروز مقاومت پیشنهاد نمایند. این مطالعه با هدف تعیین فراوانی ESBL و شناسائی ژنهای مسئول آن دراشریشیا کلی های عامل عفونت ادراری در شهرستان گرگان در شمال ایران طراحی شده است که اطلاعی از آن در دسترس نمی باشد.

روش بررسی

جداسازی ایزوله ها و شناسائیESBL

در یک دوره یک ساله از تیرماه 1389 تا تیرماه 1390 تعداد 218 ایزولهاشریشیا کلی ازبیماران مبتلا به عفونت ادراری مراجعه کننده به 6 آزمایشگاه تشخیص طبی شهرگرگان در شمال ایران جمع اوری شد. برای هر بیمار پرسشنامه حاوی اطلاعات دموگرافیک تکمیل شد.تعیین هویت ایزوله ها با استفاده از تستهای بیوشیمیائی(9) و آنتی

www.SID.ir
Archive of SID

بیوگرام نمونه ها در محیط کشت مولر هینتون آگار با روش کربی بائر با دستورالعمل CLSI با استفاده از دیسکهای آنتیبیوتیکسفوتاکسیم (CTX) 30 µg(شرکت MAST)انجام شد.برای نمونه هایی که نسبت به سفالوسپورین نسل سوم (سفوتاکسیم) مقاومت نشان دادند تست تائیدی فنوتیپی ESBL (Confirmatory Test) با استفاده از دو دیسک سفوتاکسیم (30 میکرو گرمی)و سفوتاکسیم / کلاولانیک اسید 30و10 میکروگرمی(شرکت MAST)انجام و افزایش بیش از 5 میلی متری قطر هاله عدم رشد در حضور کلاونیک اسید بعنوان ESBLتائید شد(10) .

جدا سازی و استخراج DNA

جداسازی و استخراج DNA به روش Boiling انجام شد.برای این منظور دو تا سه کلنی ازباکتری را در500 میکرولیتر آب دیونیزه استریل در درون میکروتیوپ حل کرده، سپس نمونهها به مدت 15 دقیقه در 100درجه سیلیسیوس جوشانده و به مدت 10 دقیقه در14000 دور سانتریفیوژ گردید. 10میکرولیتر از فاز رویی پس از انجام آنالیزهای کیفی و کمی به عنوان DNA الگو برای انجام واکنش PCR مورد استفاده قرار گرفت(7).**شناسائی ژن های مولد ESBL**

حضور سه ژن مولد آنزیم های بتالاکتامازی CTX-M، TEM و SHVتوسط آزمایش PCR انجام شد.واکنش PCR در حجم واکنش کلی 25 میکرولیتر شامل: Tris-Hcl ۵۰ میلی مولار، 50 میلی مولارKcl pH =8، 2 میلیمولار Mgcl2 ، dNTP mix=2 /0 میلیمولار، 10 پیکومول از هر یک از پرایمرها و 200 نانوگرم DNA الگو طبق شرایط دمایی و زمانی ارائه شده در دستگاه ترموسایکلر انجام گرفت. توالی نوکلئوتیدی پرایمرها در جدول 1 و شرایط دمائی ترموسایکلر در جدول 2 ارائه شده است(7و11و12) .

جدول 1:توالی نوکلئوتیدی پرایمر های مورد استفاده برای شناسائی اشرشیا کلی های ESBLs

نام ژن	توالی نوکلئوتیدپرایمرهای مورد استفاده	وزن محصول	رفرنس
bla_{CTX-M} _F bla_{CTX-M}–R	5′-TTTGCGATGTGCAGTACCAGTAA-3′ 5′-CGATATCGTTGGTGGCATA-3′	214 (bp)	۱۱
bla_{SHV} F bla_{SHV} R	5′-GATGAACGCTTTCCCATGATG-3′ 5′-CGCTGTTATCGCTCATGGTAA-3	590 (bp)	۱۲
bla_{TEM} _F bla_{TEM}-R	5/-ATGAGTATTCAACATTTCCG-3/ 5/-GTCACAGTTACCAATGCTTA-3/	847(bp)	۷

جدول 2 :پروسه زمانی و دمائی آمپلیفیکسیون ژن های مولد ESBL در اشریشیا کلی های شهر گرگان(7و11و12)

ردیف	مراحل	درجه حرارت(c°)			زمان(دقیقه)		
		SHV	CTX-M	TEM	SHV	CTX-M	TEM
1	Initial denaturation	94	94	94	5	4	5
2	Denaturation	94	94	94	1	1	1
3	Anneling	61	60	58	1	0.5	1
4	Extention	72	72	72	1	1	1
5	Final extention	72	72	72	5	5	5
6	Cycle number	35 دور					

Archive of SID

www.SID.ir

محصول PCR برای بررسی وجود ژن های مورد نظر در ژل آگاروز 2% الکتروفورز شد، برای این منظور 6 میکرولیتر از محصول PCR و4 میکرولیتر Loading Buffer با هم مخلوط و در چاهک ژل ریخته شد. دستگاه الکتروفورز برروی ولتاژ100 ولت و50 میلی آمپر تنظیم شد و الکتروفورز انجام ، در محلول اتیدیوم بروماید در مدت 15 دقیقه قرارداده شد و سپس وجود باند در دستگاه ژل داک مورد بررسی قرار گرفت.اطلاعات دموگرافیک بیماران ونتایج آنتی بیوگرام و تست تائیدی ESBL و وجود ژن های بتالاکتاماز در نرم افزار SPSS (version 16) وارد گردید. آنالیز آماری داده ها با محاسبه توزیع فراوانی داده ها ، مقایسه و آنالیز نتایج و تست X^2، ANOVA و مقایسه میانگین ها انجام شد . در تمامی موارد $P<0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد .

یافته ها

آزمایش بر روی218 ایزوله اشریشیا کلی جدا شده از نمونه عفونت ادراری در شهر گرگان انجام شد. محدوده سنی بیماران از کودک زیر یک سال تا سن 80 سالگی متغیر بود و میانگین سنی بیماران24/1±34 سال بود. (88%)192 از بیماران زن بودند و(80/2%)175از بیماران در شهر سکونت داشتند و(13/3%)29 از بیماران سابقه استفاده از سوندرا داشتند،همچنین (66/5%)145 از بیماران سابقه حداقل یک بار عفونت ادارایدر سال اخیر را داشتند و (61/4%) 134 نفرسوزش ادارار داشتند.(32/1%)70 ایزوله اشریشیا کلیبه سفوتاکسیم مقاوم بودند که به عنوان کاندیدESBL در نظر گرفته شدندو بعد از انجام تست تائیدی فنوتیپی(Confirmatory Test) ،(28/4%) 62 از نمونه هاESBLتائید شدند. (3/6%) 8 مورد از نمونهها با این که به سفالوسپورین نسل سوم مقاوم بودند ولی ESBL نبودند .

فراوانی ESBL دراشرشیا کلی به هیچیک از عوامل دموگرافیک بیماران مثل محل زندگی، قومیت،جنس (جدول 3) و نیز علائم بالین مثل وجود سوزش ، تکرر و دفع ناقص ادرار، درد پهلوبستگی نداشت($P>0.05$)ولی در استفاده از سوند و سابقه عفونت ادراری در سال اخیر توزیع فراوانی ESBLو غیر ESBL تفاوت معنی دار بود (جدول 4).

جدول 3: توزیع فراوانی عوامل دموگرافیک در بیماران مبتلا به عفونت ادراری ناشی از اشریشا کلی در دو گروه ESBL و غیرESBL

متغیر		ESBL تعداد(درصد)	NONESBL تعداد(درصد)	P value
محل زندگی	شهر	49(% 27/7)	126(%72/3)	>0/05
	روستا	13(%30/2)	30(%69/8)	
جنسیت	زن	54 (%87)	138(%88/6)	>0/05
	مرد	8(%13)	18 (%11/4)	
قومیت	فارس	48 (%26/7)	132(%73/3)	>0/05
	غیر فارس	14(%36/8)	24(%63/2)	

Archive of SID

www.SID.ir

جدول 4: توزیع فراوانی بعضی از علائم بالینی در بیماران مبتلا به عفونت ادراری ناشی از *اشریشیا کلی* در دو گروه ESBL و غیرESBL

علائم بالینی	ESBL	NONESBL
سوزش ادرار	%59/1	%62/5
تکرر ادرار	%62/2	%53/6
دفع ناقص ادرار	%24/4	%33/9
درد پهلو	%37/8	%40/2
تب	%26/7	%25
سابقه مصرف آنتی بیوتیک در سال	%65/2	%67/3
سابقه بستری در بیمارستان	%18/8	%13/6
سابقه استفاده از سوند ادراری	%32/3	%5/7
سابقه ابتلا به عفونت ادراری در سال اخیر	%67/4	%47/7

بعد از انجام PCR برای سه ژن بتالاکتاماز و bla_{CTX-M} ، bla_{TEM} و bla_{SHV} ،میزان فراوانی سه ژن به ترتیب 28(45,2%) ، 26(41/9%) و6 (9,7%) مورد بدست آمد(جدول5).

جدول 5: میزان فراوانی ژن های مقاومت بتالاکتامازی در ایزوله های ESBLجداشده از عفونت ادراری در شهرستان گرگان

مشخصات	ESBL(62 مورد)
وجود تنها یکی از ژن های مقاومت	36مورد(58,1%)
وجود دو ژن CTX و TEM	9 مورد(14,5%)
وجود دو ژن SHV و CTX	2 مورد(3,2%)
وجود دوژن TEMو SHV	1 مورد(1,6%)
وجود هر سه ژن CTX و TEMو SHV	-
عدم وجود ژن های فوق	14(22,6%)

Archive of SID

www.SID.ir

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که در 70مورد (32/1 %) از *اشریشیا کلی* های مورد بررسی مقاومت به سفوتاکسیم وجود دارد و در تست تائیدی مشخص شد که از این تعداد 62 ایزوله ESBL بودند بنابراین فراوانی موارد ESBL درکل نمونه ها (28/4%) تعیین گردید. این آمار در شهر های ایران متفاوت گزارش شده است ، کمترین آمار مربوط به بیماران بستری و سرپائی شهر رفسنجان (13) ، خرم آباد (14) و سنندج (15) است که به ترتیب 10/2%، 11/5% و 14/5% از *اشریشیا کلی* ها ESBL بودند و بالاترین آمار مربوط نمونههای تهیه شده از بیماران شهر کرمان(16)، تهران (17) و بخش ICU بیمارستانهای آموزشی تهران(18) است که به ترتیب 68%، 64/8%و 60/6% می باشد. آمارهای نگران کننده ای از سایر نقاط جهان ارائه شده است مثلا آمار ESBL در بیمارستانی در لهستان (92/2%) (19)و بیمارستان هائی در ترکیه و اسپانیا 69/14% و 98/4% (20و21)، دربیمارستان های کره در سال 2005، 84/3% (22)، بیمارستانی در اسرائیل سال 2004 ،73% (23) گزارش شده است.Umadevi در بیمارستان آموزشی در هند 75 % (24)، در سال 2008 در برزیل میزان آن را (61/1%) گزارش کردند (25) که بسیار بالاتر از کشور و آمار شهر گرگان می باشد و علت آن را اقامت طولانی بیماران در بیمارستان(19) و استفاده نامناسب و زیاد آنتی بیوتیک دانسته اند(21). جامعه مورد مطالعه(بستری یا سرپائی – بستری در ICU یا سایر بخشها)، زمان مطالعه (سال تحقیق)، سن بیمار، مدت بستری بودن ، اقدامات تهاجمی تشخیصی یا درمانی برای بیمار، روش آزمون ، نوع دیسک آنتی بیوتیک مورد استفاده ، نوع سفالوسپورین مورد آزمون ، شرکت سازنده دیسک(هایمدیا ، پادتن طب ، ...) می تواند از سایر دلایل این تفاوت باشد. بر اساس مجموع این موارد مشخص می گردد که فراوانی ایزوله های ESBL در اشرشیا کلی های شهر گرم در محدوده موارد گزارش شده در کشور می باشد.

نقش ژنCTX-M در مقاومت به بتالاکتامازهای وسیع الطیف در سالیان اخیربطور روزافزونی در حال افزایش است. اگرچه فراوانی آن در نقاط مختلف متفاوت است ولی به نظر می رسد که توزیع کلی آن به نسبت سایر ژنهای مسئول در حال افزایش باشد(26)در این مطالعه فراوانیbla_{CTX-M} 28، (77/8%) بدست آمد. در پاکستان فراوانی آن را 100%(27) ، یزدی و همکاران 87,1%در سال 2011 (7)گزارش نمودند .همچنین سلطان دلال و همکاران در تبریز فراوانی آن 84,1% بدست آوردند که بسیار بالاتر از نتیجه ما بوده است(28)،میرزائی در مطالعه خود از 140 ایزوله *اشرشیاکلی*ESBL در 56 مورد (40%) ژن CTX-M را شناسائی کرد،(29)، شاهچراغی فراوانی آن را در 125 ایزوله ESBLدر 53 مورد(4/42%) گزارش نمودکه به نتایج ما نزدیک است (17).

در مطالعه حاضر 26 ایزوله (41/9%) *ا زاشرشیا کلی* های ESBL حاوی ژنTEM بوده اند که بعد از CTX دومین ژن شایع محسوب می شود. شاهچراغی و همکاران فراوانی این ژن را 46/4%(8)، کلانترو همکاران در کرمان 43/5% (16) در بلژیک 44% (30) و درسال 2009در فرانسه 52/9% (23) گزارش کرده اند که با آمار ما نزدیک می باشد. یزدی و همکاران فراوانی آن را در تهران 68/8% (7) گزارش نموده اند که بالاتر از نتایج ما می باشد.

آنزیم بتالاکتاماز *SHV*عمدتا در کلبسیلاهای مقاوم و همچنین در *سودوموناس ائروژنزا وآسینتوباکتر*دیده شده است (31) بهمین دلیل انتظار می رفت که فراوانی آن در *اشریشیا کلی* از دو تیپ دیگر کمتر باشد و در این بررسیESBL6 (66/7%) واجدbla_{SHV} بودند .نتایج ما با نتایج مطالعات توسط Jonas Bonnedahl و همکاران در فرانسه 11/7% (32)، MasroorHussain و همکاران در پاکستان (15/4%)116، کلانتر در ایران(15/9%)بالاتر است .(27)(16) وهمچنین از آمار بدست آمده در مطالعه شاهچراغی در 2009 که 5/77 % و رمضانزاده در سال 2010 که 5/8% گزارش نموده ، بالاتر است (8)(15). یزدی و همکاران در سال 2011 فراوانی این ژن را 70/6% (7) و در برزیل در سال 2008 ،67/8% گزارش نموده اند که بالاتر از فراوانی آن در شهر گرگان است (25)

بتابراین نتایج ما نشان داد که در اشرشیا کلی های ESBLجدا شده از عفونت ادراری در شهر گرگان شایعترین ژنCTX-M با فراوانی(77/8%)و ژن های*SHV*و TEM به

Archive of SID
www.SID.ir

ترتیب با فراوانی (66/7%) و (41/9%) در این نمونه ها بدست آمدند .

داشتن سابقه عفونت درطی سال گذشته (67/4% و 47/7%) و سابقه استفاده از سوند ادراری (32/3% و 5/7%) توسط بیمار مبتلا به ESBL بطور معنی داری بیشتراز مبتلایان به *اشرشیا کلی* غیر ESBL بود. (P<0.001) بنابراین . داشتن سابقه سوند ادراری و سابقه ابتلا به عفونت ادراری در سال اخیر از عوامل مستعد کننده ابتلا به ESBL محسوب می شود . سابقه بستری بودن می تواند با سابقه تماس بیشتر با پاتوژن های بیمارستانی و باکتریهای مقاوم منتشر در بیمارستان همراه باشد. از طرفی ممکن است بیمار بعلت درگیری با اقدامات تهاجمی تشخیصی یا درمانی ،با این ارگانیسم ها کلونیزه شده باشد، ولی از آنجائیکه بیماران در این مطالعه سرپائی بودند ، امکان کسب دقیق علت بستری شدن قبلی و اقدامات انجام شده وجود نداشت . بر این اساس پیشنهاد می شود با مطالعه وسیعتر کوهورت در بیمارستان ، ضمن مشخص کردن میزان ESBL در بیمارستان , ریسک فاکتورها وعوامل گسترش آن تعیین گردد.

References

1-Shafaq AH, Syed A J, Mustafa K.*Occurrence of multidrug resistant and ESBLproducing E.coli causing urinary tract infections*.Journal of Basic and Applied Sciences. 2011;7(1): 39-43

2-Bali EB, Açık L, Sultan N. *Phenotypic and molecular characterization of SHV, TEM, CTX-M and extended-spectrum BETA-lactamase produced by Escherichia coli, Acinobacterbaumanniiand Klebsiella isolates in a Turkish hospital*. African Journal of Microbiology Research. 2010; 4(8):650-654

3-Chong Y, Ito Y,Kamimura T.*Genetic evolution and clinical impact in extended-spectrum b-lactamase-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumonia*. Infect Genet E.2011;10 (16):11-13

4-Emery CL,Weymouth LA.*Detection and clinical significance of extended-spectrum β-lactamases in a tertiary-care medical center*. *J ClinMicrobiol*. 1997;35(8): 2061–7

5-Paterson DL, Hujer KM, Hujer AM, YeiserB, Bonomo MD, Rice LB ,Bonomo RA. *The International Klebsiella Study Group Extended-Spectrum-Lactamases in Klebsiella pneumonia Bloodstream Isolates from Seven Countries: Dominance and Widespread Prevalence of SHV- and CTX-M- Type beta-Lactamases.* AntimicrobAgents Chemother.2003; 47(11): 3554-3560

6-Livermore DM, Hawkey PM. *CTX-M: changing the face of ESBLsin the UK*. J AntimicrobChemother.2005;56(3):451–4

7-Yazdi M, Nazemi A, Mir inargasi M, KhataminejadMR, Sharifi S , Babaikochkaksaraei M.*Prevalence of SHV/CTX-M/TEM (ESBL) Beta-lactamase Resistance Genes in Escherichia Coli Isolated from Urinary Tract Infections in Tehran, Iran*. Medical Laboratory Journal. 2010; 4(1):67(Persian)

8-ShahcheraghiF,Nasiri S,Noveiri H.*Detection of extended-spectrum β-lactamases (ESBLs) in Escherichia coli.*Iranian Journal of Clinical Infectious Diseases.2009;4(2):65-70

9-Forbes BA, Sahm DF, WeissfeldAS.*Baily& Scotts Diagnostic Microbiology .Mosby Elsevier* .pub 12th Eddition.2007; 187-214 , 323- 332, 842-854

10-Nazik H, Öngen B, Yildirim E ,Ermi F. *High prevalence of CTX-M-type beta-lactamase in Escherichia coli isolates producing extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) and displaying antibiotic co-resistance* .African Journal of Microbiology Research.2011; 5(1):44-49

11-AcikgozZC, Koseoglu EO, Kocagoz S.*CTX-M-3 Beta lactamase produsingSigellaSonnei isolated from pediatric BacillaryDysentry cases*. JpnJInfect Dis.2007;61:135-137.

12-Junyoung K, Semi J, Hogeun R, Bokkwon L, Misun P, Hoanjong L, Jina L and Seonghan K.*Rapid Detection of Extended Spectrum β-Lactamase (ESBL) for Enterobacteriaceae by use of a Multiplex PCR-based Method* . Infection and Chemotherapy. 2009;41(3): 181-184

13-Tashkori M,Farokhnia M, Zia Sheikhaleslami N, Mirzaei T , Yosefi H, Mokhtari F,Mohyadini A .*Evaluation of Producing Extended Spectrum β-lactamase among Isolated Escherchia Coli from Patients Suffering from Urinary Tract Infections*. Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences. 2011; 10(1):62-68(Persian)

14*HosainZadegan H, Ramazanzadeh R,Hasany A . *Cross-sectional study of extended spectrum beta-lactamase producing gram-negative bacilli from clinical cases in Khorramabad, Iran*. Iranian journal of Microbiology. 2009; 1(3):16 –19 (Persian)

15-RamazanzadehR.*Etiologic agents and extended-spectrum beta-lactamase production in urinary tract infections in Sanandaj, Iran*. *Eastern Journal of Medicine*. 2010; 15:57-62

16-Kalantar D, MansouriSh. *Emergence of multiple β-lactamases produced by Escherichia coli clinical isolates from hospitalized patient in Kerman, Iran*. Jundishapur Journal of Microbiology.2010; 3(4): 137-145

17-Shahcheraghi F,nikbinVA,shourajF.*PCR detection of per,veb,shv andtem beta-lactamases in multidrug resistant P.aeruginoasa isolated from wound infections in two hospitals of Tehran* .Iranian journal of medicalmicrobiology. 2008; 1(4):21-27

18-MirsalehianA,Akbari-NakhjavaniF,PeymaniA, Kazemi B,JabalAmeli F, Mirafshar SM. *Prevalence of Extended Spectrum β-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae by Phenotypic and Genotypic Methods in Intensive Care Units in Tehran, Iran.* DARU. 2008; 16(3): 169-173

Archive of SID

www.SID.ir

19-Franiczek R, DdolnaI, KrzyżanowskaB , Szufnarowski K, kowalska−krochmalB.*Conjugative Transfer of Multiresistance Plasmids from ESBL positive Escherichia coli and Klebsiellaspp.Clinical Isolates to Escherichia coli Strain K12 C600* .AdvClinExp Med. 2007; 16(2): 239–247

20-Bali El, AçıkL,Sultan N. *Phenotypic and molecular characterization of SHV, TEM and CTX-M and extended-spectrum beta -lactamase produced by Escherichia coli, Acinobacterbaumannii and Klebsiella isolates in a Turkish hospital* .African Journal of Microbiology Research. 2010; 4 (8): 650-654

21-Sorlózano A, Gutiérrez J, Fernández F, SotoMJ, PiédrolaG. *A preliminary study on the presence of extendedspectrum beta-lactamases (ESBL) in clinical isolates of Escherichia coli in Granada (Spain)*. Annals of Microbiology. 2004; 54 (2): 99-104

22-Park Y, Kang H, Bae K, Kim J, Kim J, Uh Y. *Prevalence of the Extended-Spectrum β-Lactamase and qnr Genes in Clinical Isolates of Escherichia coli*. Korean J Lab Med. 2009;29:218

23-Sompolinsky D, Nitzan Y, TetrySh, Wolk M,Vulikh I, Barendorff M.et al.*Integron-mediated ESBL resistance in rare serotypes of Escherichia coli causing infections in an elderly population of Israel***.** Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2005; 55(1): 119–122

24-UmadeviS,KandhakumariG,Joseph NM, Kumar s,Easow j M,stephenS,SinghUK.*Prevalence and antimicrobial susceptibility pattern of ESBL producing Gram Negative Bacilli*. Journal of Clinical and Diagnostic Research. 2011 ;5(2):236-239

25-Oliveira CF, Salla A, Maria Lara V, Rieger A, J HortaoA, Alves SH . *Prevalence of extended-spectrum beta-lactamases-producing microorganisms in nosocomial patients and molecular characterization of the shv type isolates. Brazilian Journal of Microbiology*. 2010; 41(2): 278-282

26-Bonnet R.*Growing group of expanded-spectrum beta lactamase: the CTXM enzymes.*Animicrob Agent Chemoter .2004;48(1): 1-14.

27-Hussain M,Hasan F,Ali Shah A,Hameed A,Jung M ,Rayamajhi N,et al .*Prevalence of Class A and AmpC b-Lactamases in Clinical Escherichia coli Isolates from Pakistan Institute of Medical Science, Islamabad, Pakistan*.Jpn J Infect Dis. 2011; 64(3): 249-252

28-SoltanDallalMM,Azarsa M, Shirazi MH, RastegarLariA, OwliaP, FallahMehrabadiJ, et *al.The prevalence of extended-spectrum beta-lactamases and CTX-M-1 producing Escherichia coli in urine samples collected at Tabriz city Hospitals*.TUMJ. 2011;69(5): 273-278 (Persian)

29-Mirzaee M, Pourmand M R, Chitsaz M,Mansouri S *.Antibiotic Resistance to Third Generation Cephalosporins Due to CTX-M-Type Extended-Spectrum-Lactamases in Clinical Isolates of Escherichia coli*. Iranian J Publ Health.2009; 38(1):10-17

30-Rodriguez-Villalobos H,Malaviolle V,Frankard J, Mendon R, Nonhoff C,Struelens M J .*In vitro activity of temocillin against extended spectrum b-lactamase-producing Escherichia coli*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2006; 57: 771–774

31-Bonnedahl J,Drobni M,Gauthier-Clerc M, Hernandez J,Ranholm S G,Kayser Y, et al.*Dissemination of Escherichia coli with CTX-M Type ESBL between Humans and Yellow-Legged Gulls in the South of France*. PLoS ONE. 2009; 4 (6):5958

Archive of SID

www.SID.ir