مجله میکروب شناسی پزشکی ایران
سال ۲ شماره ۲ تابستان ۱۳۸۷، صفحات ۸-۱

شیوع ژن بتالاکتامازهای وسیع الطیف نوع AmpC در ایزوله های بالینی *کلبسیلا پنومونیه*

محمد نیاکان*، محسن چیت ساز ، علیرضا مطوائی

گروه میکروب شناسی ، دانشکده پزشکی ، دانشگاه شاهد
نویسنده مسئول : محمد نیاکان ، گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی ، دانشگاه شاهد
تلفن:۸۸۹۶۴۷۹۲ همراه: ۰۹۱۲۱۰۱۴۰۶۰ niakan@shahed.ac.ir

تاریخ دریافت مقاله : ۸۷/۹/۱۰ تاریخ پذیرش مقاله : ۸۷/۱۲/۸

چکیده:

زمینه و اهداف : مواد ضد میکروبی بتالاکتام درحال حاضر رایج ترین درمان برای عفونت های باکتریایی می باشند. استفاده از آنها منجر به بروز مقاومت باکتری های گرم منفی در برابر آنتی بیوتیک های بتالاکتام در سراسر جهان می شود. آنزیم های بتالاکتاماز وسیع الطیف (ESBLs) آنتی بیوتیک های بتالاکتام راهیدرولیز و غیرفعال می کنند. آنزیم های AmpC درکلاس C طبقه بندی ESBLs جای دارند. آنزیم های AmpC تیپیک که سفالوسپورینازهای مقاوم به اسید کلاولانیک می باشند باعث مقاومت در برابراغلب اکسی امینوسفالوسپورین ها می گردند. این آنزیم ها گروهی جداگانه از ESBLs می باشند، اما یک مشکل طبقه بندی درجهش یافته های *AmpC* رخ داده که منجر به افزایش فعالیت آنها دربرابر سفپیم و سفپیروم (سفالوسپورین های نسل چهارم) شده است. چنین جهش هایی در انواع کروموزومی جدایی ناپذیر AmpC رخ داده است ، اما آنها می توانند به صورت همسان از انواع پلاسمیدی AmpC گسترش یافته و به طور فزاینده درگونه های کلبسیلا و *اشریشیا کلی* بسط پیدا کنند. هدف این مطالعه تعیین شیوع ژن های بتالاکتاماز وسیع الطیف AmpC در ایزوله های بالینی *کلبسیلا پنومونیه بود.*

روش بررسی: ایزوله های بالینی *کلبسیلا پنومونیه* مربوط به سه بیمارستان امام خمینی ، مصطفی خمینی و مرکز طبی کودکان در تهران بود. روش فنوتیپی که برای تشخیص سویه های بالینی مولد ESBLs مورد استفاده قرار گرفت روش آگار دایلوشن بود. برای جداسازی ژن های AmpC از روش مالتی پلکس PCR استفاده شد.

یافته ها: از۱۶۸ ایزوله بالینی *کلبسیلا پنومونیه* ۱۱۹ (۷۰،۸٪) ایزوله در غربالگری اولیه ، از نظر تولید ESBLs مثبت بودند که ۹۹ (۸۳،۲٪)ایزوله در تست فنوتیپی تاییدی مثبت شدند و ۱۰ ایزوله (۸،۴٪) دارای ژن های AmpC بودند.

نتیجه گیری: مطالعه نشان داد که در ایزوله های بالینی *کلبسیلا پنومونیه* آنزیم های بتالاکتاماز وسیع الطیف و ژن AmpC وجود دارند، که بالطبع درمان را با مشکل مواجه می نماید. به نظر می رسد اینگونه مشکلات در بیمارستان های شهر تهران در حال گسترش باشد.

کلید واژه ها : *کلبسیلا پنومونیه* ، بتالاکتاماز وسیع الطیف ، ژن AmpC

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه :

بتالاکتامازها آنزیم های باکتریایی هستند که آنتی‌بیوتیک های بتالاکتام ، یعنی پنی‌سیلین‌ها و سفالوسپورین‌ها، را با هیدرولیز حلقه بتالاکتام غیرفعال می‌کنند(۱).

یکی از مشکل‌سازترین مکانیسم‌های مقاومت به آنتی‌بیوتیک ها در رابطه با بتالاکتامازها می‌باشد. عوامل ضدمیکروبی بتالاکتام شایع‌ترین درمان بر ضد عفونت های باکتریایی هستند (٤-۲). میزان مقاومت به عوامل ضدمیکروبی به طور گسترده و جهانی در حال افزایش می‌باشد. تولید بتالاکتامازها شایع‌ترین مکانیسم مقاومت باکتریایی می‌باشد(٤،۳).این آنزیم‌ها بی شمار هستند (تاکنون بیش از ٤۰۰ نوع مختلف بتالاکتاماز در نمونه‌های بالینی تعریف شده‌اند) و به علت مصرف زیاد آنتی‌بیوتیک ها به طور مداوم در حال افزایش می‌یابند که منجر به گسترش و توسعه بتالاکتامازهای وسیع الطیف می‌شوند(٦،٥). بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف (ESBLs) برای اولین بار در سال ۱۹۳۸ شناسایی و تعریف شدند و به طور کلی عبارتند از بتالاکتامازهایی که قادر به هیدرولیز و غیرفعال کردن آنتی‌بیوتیک های بتالاکتام رایج از قبیل پنی‌سیلین‌ها، آکسی آمینوسفالوسپورین‌ها، منوباکتام‌ها و حتی کارباپنم‌ها می‌باشد. اما سفامایسین‌هارا نمی‌توانند هیدرولیز کنند واثر آنها توسط مهارکننده اسید کلاوولانیک مهار می شود(۸،۷).

عفونت با باکتری های مولد بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف در انتشار وسیع این سویه ها ، به ویژه در بیمارستان ها، باعث افزایش هزینه درمان و افزایش طول مدت بستری می‌گردد. امروزه وجود انتروباکتریاسه مولد ESBLs یک نگرانی بزرگ و در حال گسترش در دنیا محسوب می‌شود. بعلاوه ، باکتری های مولد ESBLs به طور شایع به بسیاری از داروهای غیربتالاکتام مانند کینولون ها، آمینوگلیکوزیدها، تری‌متوپریم و سولفامتوکسازول نیز مقاومت نشان می‌دهند که این امر باعث ایجاد مشکلات زیادی در درمان عفونت های ناشی از آنها می‌شود(۷).

مطالعه بر روی بتالاکتامازهای نوع AmpC از اواخر دهه ۱۹۷۰ شروع شد. آنزیم‌های AmpC که اغلب قابل القاء توسط بتالاکتام‌ها هستند به وسیله ژن های کروموزومی کد می‌شوند و در بسیاری از باسیل‌های گرم منفی وجود دارند. جهش‌هایی که موجب افزایش بیان ژن AmpC می‌شود مسئول ظهور سریع و آسان سویه‌های مقاوم فراوان نسبت به سفالوسپورین‌ها در *انتروباکتر کلواکه* می‌باشد.آنزیم AmpC در باکتری *اشریشیا کلی* به مقدار کم بیان می‌شود. کروموزوم‌های کلبسیلا و سالمونلا فاقد ژن AmpC هستند. اما آنزیم‌های AmpC با واسطه پلاسمید می‌توانند به این ارگانیسم‌ها منتقل شده و مقاومتی شبیه به مقاومت بتالاکتام در انتروباکتر ، به آنها ببخشند.

تاکنون بیش از بیست بتالاکتاماز مختلف نوع AmpC با واسطه پلاسمید شناسایی شده اند. آنزیم AmpC نسبت به مهار با اسیدکلاولانیک مقاوم بوده و از نظر بیولوژیک مقاومت به سفامایسین ها را به خوبی مقاومت به اکسی آمینوبتالاکتام‌ها ایجاد می‌کنند (۹).بیشتر آنزیم‌های AmpC، سفالوسپورینار هستند ولی تا حدی توانایی هیدرولیز سایر بتالاکتام‌ها نظیر پنی‌سیلین‌ها را نیز دارا می‌باشند(۱۰).

در اواخر دهه ۱۹۸۰ این ژن های کروموزومی قابل القاء روی پلاسمید آشکار شدند و به سایر باکتری های فاقد آنها نظیر کلبسیلا، *اشریشیا کلی* و یا گونه‌های سالمونلا انتقال یافتند. تشخیص فنوتیپی میکروارگانیسم‌های واجد AmpC دشوار است.این مسأله کار افرادی را که در آزمایشگاه بیمارستان کار می‌کنند، مشکل می‌سازد. زیرااین آنزیم‌ها نظیر ESBLs ممکن است با روش های رایج تعیین حساسیت شناسایی نشوند(۱۱). لذا این مطالعه به منظور تشخیص و تعیین شیوع ژن AmpC در ایزوله های بالینی کلبسیلا پنومونیه انجام گرفته است.

مواد و روش ها :

۱) سویه های باکتریال :

از ۱۶۸ ایزوله بالینی کلبسیلا پنومونیه به دست آمده از سه بیمارستان امام خمینی ، رسول اکرم خمینی و مرکز طبی کودکان در تهران که از بخش های مختلف بیمارستان به آزمایشگاه ارسال شده بود استفاده گردید .

۲) تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی :

بر اساس دستورالعمل CLSI (Clinical and laboratory standards institute) و از روش رقت در آگار برای اندازه گیری و تعیین MIC استفاده شد. آنتی بیوتیک های مورد استفاده در این تحقیق شامل سفتازیدیم ، سفتریاکسون و سفوکسیتین به تنهایی و همراه با مهار کننده اسید کلاوولانیک بود.

Archive of SID

www.SID.ir

۳ ـ تست فنوتیپی غربالگری اولیه تولید بتالاکتامازهای وسیع الطیف (ESBLs):

برای انجام این تست از پودر آنتی بیوتیک های سفتریاکسون و سفتازیدیم (ساخت شرکت Glaxo Smith Klin) یک سریال رقت ۱۵ تایی از ۰/۷۵ µl- ۱۲۸۰۰ µl تهیه شد.

۱-۳- قبل از انجام تست تعیین MIC برای آنتی بیوتیک ها به روش مایکرو براث دایلوشن تست کنترل کیفی انجام شد. جهت صحت تست از سویه های استاندارد زیر استفاده گردید(۱۳،۱۲):

استافیلوکوکوس اورئوس: ATCC ۲۹۲۱۳

اشریشیا کلی :ATCC ۲۵۹۲۲

کلبسیلا پنومونیه :ATCC ۷۰۰۶۲۲

۲-۳- آزمایش های تاییدی فنوتیپی تولید ESBLs :

در این مرحله به وسیله آنتی بیوتیک های سفتازیدیم و سفتریاکسون به همراه اسید کلاوولانیک برای ایزوله ها به روش رقت در آگار تست تعیین MIC انجام شد (۱۲و۱۳).

۳-۳ ـ آزمایش فنوتیپی تاییدی تولید بتالاکتاماز وسیع الطیف نوع AmpC :

طبق تعریف ایزوله هایی که پس از انجام تست فنوتیپی غربالگری اولیه و تاییدی به عنوان تولید کننده ESBLs شناسایی شده و اثر بتالاکتاماز در آنها به وسیله مهار کننده کلاولانات مهار نمی شود و همچنین در برابر سفامایسین ها مقاوم هستند، تولید کننده بالقوه بتالاکتاماز های وسیع الطیف نوع AmpC محسوب می شوند. از این رو، برای تمامی ایزوله ها به روش رقت در آگار تست تعیین MIC انجام گرفت .

۴ ـ تعیین ژن های بتالاکتاماز نوع AmpC :

از روش مالتی پلکس PCR جهت شناسایی AmpC بتالاکتاماز های پلاسمیدی استفاده شد. برای استخراج DNA باکتری از روش جوشاندن (boiling) استفاده شد. بدین ترتیب که پس از یک پاساژ از نمونه ها بر روی محیط بلاد آگاریک کلنی تک از هر ایزوله به پنج میلی لیتر محیط کشت مایع لوریا برتانی تلقیح شد و در دمای ۳۷°C به مدت ۲۰ ساعت بر روی شیکر انکوبه شد. پس از آن ۱/۵ میلی لیتر از محیط کشت حاوی باکتری درون لوله های اپندورف به مدت ۵ دقیقه در ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس مایع رویی دور ریخته شد و رسوب آن به وسیله ۰/۵ میلی لیتر آب مقطراستریل به حالت سوسپانسیون در آمد و به وسیله دستگاه ترموبلاک به مدت ۱۰ دقیقه در دمای۹۵°C قرار گرفت . لوله های اپندورف مجددا به مدت ۵ دقیقه در ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد . در این مرحله بقایای لاشه باکتری ها رسوب کرده و DNA آنها در مایع رویی به حالت محلول در می آید که برای تست PCR مورد استفاده قرار گرفت(۱۴و۱۵).

ترکیب مخلوط واکنش PCR برای یک تست ۵۰ تایی مالتی پلکس PCR به قرار زیر است :

آب مقطر استریل: ۱۰۹۸ µl ، PCR buffer 10x : ۲۵۰ µl، مخلوط dNTP : ۴۰۰ µl ، از هر جفت پرایمرهای MOXM و CITM و DHAM هر کدام ۶۰ µl ، از جفت پرایمر ACCM وEBCM هر کدام ۵۰ µl و از جفت پرایمر FOXM هر کدام ۴۰ µl و Taq DNA Polymerase : ۱۲/۵ µl.

برای تست PCR برای هر ایزوله از ۴۸ µl مخلوط واکنش به اضافه ۲ µl DNA الگو استفاده گردید . پرایمر ها از شرکت Roche آلمان تهیه شدند . برنامه PCR برای ۲۵ سیکل تکثیر به دستگاه ترموسایکلر داده شد که شامل مراحل زیر بود :

مرحله اولیه جداسازی یا باز شدن دو رشته به مدت۳ دقیقه در دمای۹۴۰c ، مرحله بازشدن دو رشته به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۹۴۰ C (denaturation) ، مرحله اتصال پرایمر ها به مدت ۳۰ ثانیه در دمای۶۴۰C (annealing) ، مرحله طویل شدن یا ساخته شدن رشته هدف به مدت ۶۰ ثانیه در دمای۹۴۰C (extention) ، مرحله طویل شدن نهایی به مدت ۷ دقیقه در دمای ۷۲۰C.

محصولات PCR توسط الکتروفورز با ژل آگاروز ۱/۵ ٪ در بافر TBE بررسی گردیدند. ژل ها با اتیدیوم برومایید رنگ آمیزی و سپس محصولات PCR با نور UV مشاهده گردیدند.

در این مطالعه از شش جفت پرایمر اختصاصی برای شش خانواده مختلف ژنی بتالاکتاماز AmpC استفاده شد. خصوصیات این پرایمر ها در جدول۱ آورده شده است.

یافته ها :

نتایج تست فنوتیپی غربالگری اولیه MIC : از کل ۱۶۸ ایزوله بالینی که توسط تست MIC جهت مقاومت به سفتازیدیم وسفتریاکسون مورد بررسی قرار گرفتند ۱۱۹ (۷۰/۸٪) ایزوله بر اساس دستورالعمل CLSI به عنوان سویه های بالقوه تولید کننده ESBLs شناسایی شدند.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول۱: خصوصیات پرایمرهای خانواده های مختلف ژنی AmpC بتالاکتامازها

Primer	PCR Product (bp)	Target(s)
MOXM	520	MOX-1, MOX-2, CMY-1, CMY-8 to CMY-11
CITM	462	LAT-1 to LAT-4, BIL-1, CMY-2 to CMY-7
DHAM	405	DHA-1, DHA-2
ACCM	346	ACC
EBCM	302	MIR-1, ACT-1
FOXM	190	FOX-1 to FOX-5b

نتایج تست فنوتیپی تاییدی SBLs ا :

در این مرحله MIC تمام ایزوله های با ی در ب انتی بیوتیک سفتازیدیم و سفتریاکسون به همراه مهار کنن سید کلاوو نیک مورد بررسی قرار گرفت که مشخص شد از بی ۱۱۹ ایزوله از ارگانیسم هایی که در تست غربالگری اولیه به صورت بالقوه تولید کننده ESBLs شناخته شده بودند،۹۹ ایزوله (۸۳،۲ ٪) کاهش ۲ مرتبه یا بیشتر MIC در حضور مهار کننده کلاوولانات نش دادند یعنی تولید ESBLs در آنها تایید گردید.

نتیجه آزمایش تایید تولید ESBLs نوع AmpC :

پس از انجام تعیین MIC سفوکسیتین مشخص شد که از کل ۱۶۸ ایزوله کلبسیلا پنومونیه ۲۶ ایزوله (۱۵/۴٪) در برابر این آنتی بیوتیک حساس و تعداد ۱۴۲ ایزوله (۸۴/۶ ٪) مقاوم می باشند. یعنی به صورت بالقوه می توانند تولید کننده AmpC بتالاکتاماز ها در نظر گرفته شوند. زیرا که مکانیسم های دیگری به غیر از تولید AmpC جهت بروز مقاومت در برابر سفوکسیتین در باکتری ها وجود دارد .

نتایج تست مالتی پلکس PCR :

تست تشخیص ژنوتیپی AmpC نشان داد که از میان ۱۶۸ ایزوله بالینی تعداد ۱۰ ایزوله (۵/۹۵ ٪) دارای ژن های کد کننده آنزیم های بتالاکتاماز نوع AmpC بودند. این ژن ها به ترتیب متعلق به خانواده های زیر بودند:

FOXM (n=9), EBCM (n=1), DHAM (n=1), CITM (n=6)

لازم به ذکر است که تعداد ۷ ایزوله واجد ۲ خانواده مختلف از AmpC بتالاکتاماز بودند ازجمله خانواده های :

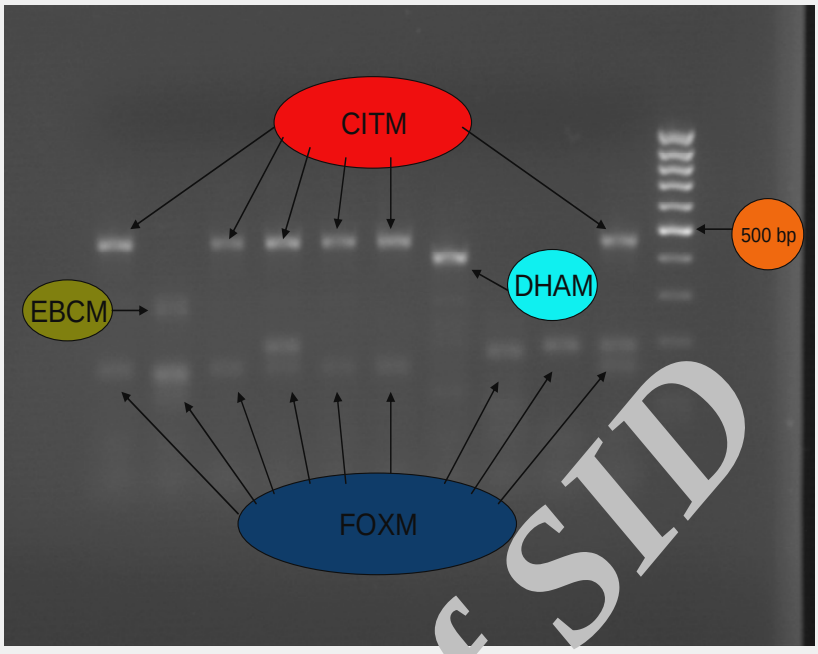
CITM- FOXM (n=6)

EBCM- FOXM (n=1)

در مورد خانواده ژنی FOXM لازم به ذکر است که برخی از باندها در جایگاه سایز ۱۹۰ جفت بازی قرار نداشتند . از آنجا که این باندها پس از تکرار تست مالتی پلکس PCR و الکتروفورز با ژل های جدید باز هم مشاهده شدند، این نظریه وجود دارد که برخی از آنها ممکن است یک خانواده جدید از AmpC بتالاکتامازها باشند که در اثر جهش های ژنی بوجود آمده اند. زیرااسا گسترش خانواده های مختلف ژنی AmpC بتالاکتامازها در گذشته به همین شکل بوده است. از آنجا که برای ما در این مطالعه امکانا تعیین والی این باندهای ژنی جدید ویا تکرار تست ها با کیت مقاوت دیگر و حتی استفاده ازالکتروفورز با ژل پلی آکریلامید وجود نداشت ، نمی توانیم در مورد ماهیت آنها اظهار نظر مطمئنی داشته باشیم. تمام ۱۰ ایزوله قبلا در برابر آنتی بیوتیک سفوکسیتین مقاوم گزارش شده بودند و به صورت بالقوه تولید کننده بتالاکتامازها AmpC شناخته شده بودند (تصویر ۱).

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱: تصویرژل حاوی باندهای حاصل از الکتروفورز محصولات PCR استخراج شده از ایزوله های بالینی *کلبسیلا پنومونیه*

بحث :

در این مطالعه ۱۶۸ ایزوله بالینی *کلبسیلا پنومونیه* از سه مرکز بیمارستانی تهران از نظر وجود ESBLs به صورت فنوتیپی و از نظر وجود بتالاکتامازهای نوع AmpC به صورت فنوتیپی و ژنوتیپی بررسی شدند.تست های غربالگری وتاییدی فنوتیپی ESBLs نشان داد که ۸۴،۶٪ ایزوله ها در برابر هر سه آنتی بیوتیک سفالوسپورین نسل سوم یعنی سفتازیدیم ، سفتریاکسون و سفوکسیتین مقاوم هستند. ۵،۹۵٪ ایزوله ها واجد ژن های کد کننده آنزیم های بتالاکتاماز نوع AmpC بودند.

کلبسیلا پنومونیه یکی از باکتری های خانواده انتروباکتریاسه می باشد که به عنوان پاتوژن فرصت طلب شناخته و معرفی می شود و می تواند عامل عفونت های شدیدی در نقاط مختلف بدن باشد. اما اغلب در دستگاه ادراری و تنفسی عفونت ایجاد می کند (۱۶).به طورکلی گفته می شودکه *کلبسیلا پنومونیه* عامل حدود٪۸عفونت های بیمارستانی است(۱۷).آنتی بیوتیک های بتالاکتام از جمله سفالوسپورین ها عوامل ضد میکروبی هستند که رایج ترین درمان برای بسیاری از عفونت های باکتریایی می باشند (۱۸).امروزه وجود انتروباکتریاسه تولید کننده آنزیم های بتالاکتاماز وسیع الطیف (ESBLs) یک نگرانی بزرگ در حال گسترش محسوب می شود (۱۹).

از زمانی که پلاسمید های کد کننده ESBLs پدید آمدند ارگانیسم های واجد آن ها تا حد زیادی در هیدرولیز و غیر فعال کردن آنتی بیوتیک های بتالاکتام نظیر پنی سیلین ها، سفالوسپورین ها و آزترئونام موثر شدند (۲۰).

جداسازی ارگانیسم های مولد ESBLs می تواند دشوار باشد زیرا حضور ESBLs در باکتری ها همواره منجر به بروز مقاومت فنوتیپی نمی شود. خصوصا اگر از روش های سنتی تعیین MIC یا دیسک دیفیوژن ساده برای تفسیر نتایج حساسیت به آنتی بیوتیک ها استفاده شود (۲۰). در نتیجه سویه ای که از نظر ESBLs حساس

Archive of SID

www.SID.ir

گزارش می شود باید به وسیله تست های فنوتیپی استاندارد آزمایش شده باشد (۲۱).تشخیص فنوتیپی صحیح ESBLs روش خوبی جهت افتراق بین سویه های مو لد ESBLs و سویه هایی است که از دیگر مکانیسم ها جهت مقاومت به آنتی بیوتیک های بتالاکتام استفاده می کنند (۲۲).

مکانیسم های غیر آنزیمی مقاومت در برابر ESBLs نظیر نقص در کانال های پورینی غشاء خارجی باکتری و کاهش نفوذ پذیری آن در برابر آنتی بیوتیک ها و مکانیسم Efflux تفسیر حاصل از مقاومت باکتری ها را پیچیده می کند (۲۳).معمولا بسیاری از نمونه هایی که از عفونت های بیمارستانی بدست می ایند در برابر آنتی بیوتیک های متعددی مقاومت دارند (۱).

از نظر آماری شیوع ESBLs در ایران نسبت به سایر کشورهای جهان و حتی آسیا چشمگیرتر می باشد. یکی از مهم ترین دلایل آن می تواند استفاده بیش از حد و نابجا از داروهای بتالاکتام مخصوصا سفالوسپورین های وسیع الطیف باشد (۲۵). بنابراین یک اقدام مفید و موثر در زمینه کنترل عفونت های مقاوم به درمان می تواند کاهش مصرف نادرست این آنتی بیوتیک ها و استفاده اصولی از آنها باشد.

تعدادی از ایزله ها در برابر اثر مهارکننده اسید کلاولانیک مقاوم بودند که به طور بالقوه می توانند واجد AmpC باشند و در تعدادی نیز ژن AmpC یافت شد، که از این نظر اهمیت زیادی دارند.

باید خاطر نشان کرد که امروزه راهنماهای قابل توجهی برای طراحی واجرای تست های غربالگری و تایید AmpC در باکتری ها وجود ندارد . مثلا اگر یک ایزوله در برابر آنتی بیوتیک سفوکسیتین مقاوم باشد هر چند به طورکلی بالقوه می تواند دارای AmpC باشد

ولی این مسئله به طور کامل قطعیت ندارد و مقاومت می تواند ناشی از اختلال در نفوذپذیری غشاء خارجی باکتری باشد و منشا آنزیماتیک نداشته باشد (۲۶). بنابراین تشخیص و شناسایی مولکولی بتالاکتاماز هابه خصوص نوع AmpC برای بررسی مطمئن و دقیق مقاومت آنتی بیوتیکی لازم وضروری است. یکی از بهترین روش های مولکولی تکنیک PCR می باشد .

هر چند مدت زیادی از کشف AmpC بتالاکتامازهای با واسطه پلاسمید می گذرد ولی متاسفانه هنوز اهمیت بالینی این آنزیم ها بدرستی درک نشده و سویه های واجد این آنزیم ها در آزمایشگاه بالینی، جداسازی و تشخیص داده نمی شوند. هر چند که روش مالتی پلکس PCR به عنوان یک ابزار تحقیقی سودمند برای تشخیص این آنزیم ها در دسترس است اما به صورت یک روش عادی در دسترس آزمایشگاه های بالینی قرار ندارد. به همین خاطر یکی از عوامل مشکلات درمان و مرگ ومیر از عفونت های بیمارستانی می تواند AmpC بتالاکتامازهای شناخته نشده می باشند .

نتیجه گیری :

با توجه به کم بودن تحقیقات در زمینه تعیین شیوع ESBLs در ایران و با توجه به گسترش روزافزون آن ها و اهمیت این گروه از آنزیم ها به خاطر اعطای سطح بالای مقاومت در برابر آنتی بیوتیک های بتالاکتام به خصوص سفالوسپورین های نسل سوم که داروهایی بسیار رایج جهت درمان عفونت های بیمارستانی می باشند و به منظور جلوگیری از شکست های درمانی و کنترل عفونت های بیمارستانی ناشی از باکتری های حامل ESBLs ; توصیه می شود تحقیقات بیشتر و جامع تری در این زمینه انجام گیرد. با توجه به نتایج معتبر بدست آمده یک سری سیاست های کلی و عمومی جهت مقابله با گسترش وتوسعه این آنزیم ها در پیش گرفته شود .

بهتر است باکتری هایی که در برابرداروهای سفالوسپورین نسل سوم و ... پنم مقاوم بوده و همچنین این مقاومت به وسیله مهارکننده های آنزیم های بتالاکتاماز از جمله اسید کلاولانیک مهار نمی شوند مورد بررسی مولکولی قرار گیرند وژنوتیپ مقاومت آن ها مشخص گردد.این کار جهت جلوگیری از گسترش شیوع AmpC بتالاکتامازها که به وسیله پلاسمیدها براحتی به دیگر باکتری های حساس قابل انتقال هستند و ریسک درمانی بسیار بالایی را ایجاد می کند، مفید و کارامد می باشد.

Archive of SID

www.SID.ir

فهرست مراجع :

1. Bush K. New β-lactamases in gram-negative bacteria: diversity and impact on the selection of antimicrobial therapy. *Clin Infect Dis*; 2001; **32**:1085-9.
2. Albertini MT , Benoit C , Berardi L , BerrouneY , Boisivon A, and et al .Surveillance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and Enterobacteriacae producing extended-spectrum beta-lactamase(ESBL) in Northern France : a five year multi-center incidences study. *J Hosp Infect*; 2002; **52**;107-13.
3. Jawetz M. Ernest. *Medical Microbiology*, McGraw-Hill Company. Twenty-Third editions; 2004.
4. Walker T. Stuart. *Microbiology*, Philadelphia USA, W.B. Saunders Company Chapter 3; 1998.
5. Jacoby GA, Munoz-Price LS. The new β-lactamases. *N Engl J Med*; 2005; **352:**380-91.
6. Gniadwski M. Evaluation and epidemiology of extended-spectrum β-lactamase (ESBLs) and ESBL-producing microorganisms. *Clin Microbiol Infect;* 2001; **7**:597-608.
7. Bradford PA . Extended-spectrum b -lactamases in the21st century:characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbial Rev*; 2001; **14**:933–51.
8. Jiang X, Ni Y, Jiang F, Yuan L, Hu L and et al. outbreak of infection caused by Entrobacter cloacae producing the novel VEB-3 Beta-lactamase in china. *J Clin Microbiol*; 2005; **43**; 826-31.
9. Hanson NL, Sander CC.Regulation of inducible AmpC β-lactamases expression among Enterobacteriaceae. *Current pharmaceutical Design*; 1999; **5**:881-884.
10. Matthew A, Harris AM, Marshall MJ, Ross GW.The use of analytical isoelectric focusing for detection and identification of β-lactamases. *J Gen Microbiol*;1975 ; **88**:169-178.
11. Barlow M , Hall , BG. Origin and evolution of the AmpC β-lactamases of Citrobacter freundii, *Antimicrob Agents Chemother*; 2002;46:1190-1198.
12. Pitout J.D.D, Hosain A,Honson N.D. Phenotypic and molecular detection of CTX-M-β-lactamase produced by *Escherichia coli* and Klebsiella spp. *J Clin Microbiol* 2004;**42**: 5715-21.
13. Hanson ND, Thomson KS, Moland ES, Sanders CC, Berthold G, Penn RG. Molecular characterization of a multiply resistant *Klebsiella pneumoniae* encoding ESBLs and a plasmid-mediated *AmpC. J Antimicrob Chemother* 1999; **44**: 377-80.
14. Pitout JDD, Thomson K, Hanson N, Ehrhardt A, Moland E, Sander C. β-lactamase responsible for resistance to expanded-spectrum cephalosporins in *Klebsiella pneumoniae, Escherichia coli* and *Proteus mirabilis* isolates recovered in South Africa. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; **42**:1350-1654.
15. Moland E, Black J, Hanson N, Thomson K. Discovery of CTX-M like extended- spectrum β-lactamases in *Escherichia coli* isolates from five U.S. hospitals. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;**47**:238-83.
16. Perilli M, Felici A, Franceschini N, De Santis A, Pagani L, Luzzaro F, Oratore A, Rossolini G, Knox J, Amicosante G. Characterization of a new TEM-derived beta-lactamases produced in a *Serratia marcescens* strain. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; **41**:2374-82.
17. Marra AR, Pereira CA, Castela A. Health and economic outcomes of the detection of *Klebsiella pneumoniae* – produced extended – spectrum beta – lactamases (ESBLs) in a hospital with high prevalence of this infection. *Int J Infect Dis*; 2006; **10** (1): 56-60.
18. Colodner R. Extended – Spectrum β– lactamases: A challenge for clinical microbiologists and infection control specialists. *J Clin Microbiol Infect Dis*; 2006; **25** (1):49-51.
19. NCCLS. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; eleventh informational supplement. National Committee for Clinical Laboratory Standards document. Wayne, PA: NCCLS Press. January; 2001.M100-S11.
20. Drieux L, Brossier F, Sougakoff W, Jarlier V. Phenotypic detection of extended-spectrum β-lactamase-production in Enterobacteriaceae: review and bench guide. *Clin Microbiol Infect* 2008; **14**:90-103.
21. Baquero MR, Nilsson AI, Sandvang D, Galan J, Martinez JL. Polymorphic mutation frequencies in *Escherichia coli*: emergence of weak mutators in clinical isolates. *J Bacteriol*; 2004; **186**:5538-5542.

Archive of SID

www.SID.ir

22. Barlow M, Hall, BG.Origin and evolution of the *AmpC* β-lactamases of *Citrobacter freundii* , *Antimicrob Agents Chemother*; 2002**;46**:1190-98.
23. Murray P, Jo baron E, H.Jorgensen J, A. faller M, H.Yolken R. Manual of clinical microbiology. 8th Ed. New York: ASM press; 2003. 110-120.
24. Ali Shah A,Hasan F,Ahmed S, Hameed A. Characteristics , epidemiology and clinical importance of gram negative bacilli producing extended – spectrum β –lactamases. *Research* ; **88**:304-317.
in Microbiology; 2004; **155**: 409-21.
25. Lucet JC, Chevert S, Decre D, et al. Outbreak of multiply resistant entrobactriacae in an intensive care unit: epidemiology and risk factors for acquisition. Clinical Infectious Disease; 1996; **22**:430-436.
26. mangeney N , Niel P , Paul G. A 5 year epidemiological study of extended-spectrum β-lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* isolates in a medium and long stay neurological unit. *J Appl Moicrobiol*; 2000

Archive of SID

www.SID.ir