Archive of SID

طب‌نظامی
پاییز ۱۳۸۸، دوره ۱۱، شماره ۳
صفحات: ۱۴۹-۱۵۳

شیوع ژن‌های TEM1 و SHV1 در *کلبسیلا پنومونیه* تولیدکننده بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف

احمد خورشیدی[۱] PhD، زهرا موذن[۱] MSc، مهدی روحانی[*] MSc،
رضوان منیری[۱] PhD، غلامرضا شجری[۱] PhD، غلامعباس موسوی[۱] MSc، محمدمهدی امیری[۱] MSc

آدرس مکاتبه: گروه میکروبیولوژی و ایمونولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران
kia_rohani@yahoo.com

تاریخ اعلام وصول: ۸۸/۵/۲۱ تاریخ اعلام قبولی مقاله: ۸۸/۱۰/۷

چکیده

اهداف. کلبسیلاها، پاتوژن‌های فرصت‌طلبی هستند که باعث عفونت‌های بیمارستانی می‌شوند. *کلبسیلا پنومونیه* در ایجاد عفونت‌های بیمارستانی سهم عمده‌ای دارد. شیوع سویه‌های تولیدکننده بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف و مقاومت آنها به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام در دهه اخیر افزایش روزافزونی داشته است. به‌دلیل اهمیت این آنزیم‌ها در *کلبسیلا پنومونیه*، این پژوهش به‌منظور بررسی آنها در این باکتری و میزان شیوع آن در بیمارستان شهید بهشتی کاشان انجام شد.

روش‌ها. این مطالعه توصیفی روی نمونه‌های کلینیکی (ادرار، خلط، زخم و غیره) جمع‌آوری‌شده از بخش‌های مختلف بیمارستان شهید بهشتی کاشان انجام گرفت. باکتری‌های تولیدکننده بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف مشخص شدند و وجود آنها با روش دابل‌دیسک‌سینرژی تأیید گردید. DNAهای استخراج‌شده با استفاده از پرایمرهای اختصاصی برای ژن‌های SHV1 و TEM1 با روش PCR مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها. از ۱۰۰ مورد *کلبسیلا پنومونیه* جداشده، ۳۲ نمونه حاوی بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف بود. ۷ مورد (۲۱/۸٪) از این نمونه‌ها حاوی هر دو ژن SHV1 و TEM1 بودند. ۱۶ نمونه (۵۰٪) تنها ژن SHV1 و ۱۲ نمونه (۳۷/۵٪) تنها ژن TEM1 را داشتند.

نتیجه‌گیری. شیوع بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف در *کلبسیلا پنومونیه* و الگوی مقاومت قابل‌توجه است، به‌طوری‌که ترکیبی از آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام به‌همراه ممانعت‌کننده‌های بتالاکتاماز فقط در عفونت‌های شدید توصیه می‌شوند. نوع و میزان مصرف آنتی‌بیوتیک و طول زمان بستری شدن در بیمارستان با تولید بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف ارتباط مستقیم دارد.

کلیدواژه‌ها: بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف، *کلبسیلا پنومونیه*، عفونت بیمارستانی

۱- گروه میکروبیولوژی و ایمونولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

از سال ۱۹۸۴، *کلبسیلا پنومونیه* حاوی مقاومت‌های چندگانه، به‌عنوان عامل عفونت‌های اکتسابی بیمارستانی شناخته شده است [۱]. میزان حاملین این باکتری، در محیط بیمارستان، جایی که کلونیزاسیون ارتباط مستقیمی با طول مدت بستری شدن در بیمارستان دارد، به‌طور چشمگیری افزایش می‌یابد. حتی کارکنان بیمارستان به میزان بالایی حامل کلبسیلا هستند.

طبق بررسی‌های *سلدن*، میزان حاملین کلبسیلا در بیماران بستری در حدود ۷۷٪ در مدفوع، ۱۹٪ در فارنکس و ۴۲٪ روی دست‌ها است که ارتباط مستقیمی با مصرف آنتی‌بیوتیک دارد؛ به‌طوری‌که درمان قبلی با آنتی‌بیوتیک، به میزان قابل‌توجهی در اکتساب کلبسیلا توسط بیماران تأثیر می‌گذارد [۲]. کلبسیلا عامل ۵ تا ۷/۵٪ کل عفونت‌های بیمارستانی است و عفونت‌های ناشی از آن در بخش کودکان و مراقبت‌های ویژه معضل بزرگی ایجاد می‌نماید. کلبسیلا یکی از چهار پاتوژن شایع در بخش مراقبت‌های ویژه است [۳، ۴، ۵]. همچنین میزان مرگ‌ومیر ناشی از پنومونی و باکتریمی کلبسیلایی بسیار بالاست.

هنگام تولید سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف، تمام سویه‌های *کلبسیلا پنومونیه* و سایر گونه‌های کلبسیلا نسبت به آن حساس بودند، اما به‌سرعت سویه‌های مقاوم به این آنتی‌بیوتیک‌ها نیز آشکار شدند. اولین سویه‌های *کلبسیلا پنومونیه* مقاوم به نسل سوم سفالوسپورین‌ها در سال ۱۹۸۳ در آلمان توسط *نات* و همکاران گزارش شد [۶، ۷]. به‌دنبال آن، گزارش‌های مشابهی مبنی بر شیوع سویه‌های کلبسیلایی تولیدکننده بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف که علاوه بر آمینوگلیکوزیدها نسبت به سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف نیز مقاومت داشتند، از کشورهای مختلفی نظیر فرانسه، انگلستان، یونان، ایتالیا، هلند، ایالات متحده امریکا، افریقای جنوبی، آسیا و بحرین منتشر شد [۸، ۹، ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳]. بدین‌ترتیب مقاومت نسبت به نسل سوم سفالوسپورین‌ها به‌خصوص سفتازیدیم در اغلب ایزوله‌های *کلبسیلا پنومونیه* و *کلبسیلا اکسی‌توسا* مشاهده شد [۹، ۱۲، ۱۳، ۱۴].

این ارگانیزم‌ها به‌دلیل اکتساب پلازمیدهایی که بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف (ESBLs) و آنزیم‌های تغییردهنده آمینوگلیکوزیدی را رمز می‌کنند، به تعدادی از آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف و آمینوگلیکوزیدها مقاومند [۱۵، ۱۶، ۱۷، ۱۸] و بدین‌ترتیب، احتمال درمان عفونت‌های کلبسیلایی توسط این آنتی‌بیوتیک‌ها بسیار ضعیف است.

بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف اغلب پلازمیدی هستند. از آنجایی‌که این پلازمیدها به‌راحتی در میان انواع مختلفی از انتروباکتریاسه‌ها انتقال می‌یابند، تجمع ژن‌های مقاومت منجر به ایجاد سویه‌های پلازمیدهایی با مقاومت چندگانه می‌شود. بنابراین، تعیین الگوی پلازمیدی این سویه‌ها ضروری است، چراکه در بررسی‌های اپیدمیولوژیک، درمان مناسب، کنترل و پیشگیری عفونت‌های بومی و همه‌گیری‌شناسی ناشی از کلبسیلا از اهمیت بسزایی برخوردار است.

شیوع عفونت‌های بیمارستانی ناشی از *کلبسیلا پنومونیه*، با واسطه پلازمیدهای خودانتقال‌دهنده‌ایست که بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف را رمز می‌کنند. شایع‌ترین ESBLهای گزارش‌شده از کشورهای غربی و آسیایی، بتالاکتازمازهای وسیع‌الطیف مشتق از TEM و SHV است که روی پلازمیدهای بزرگی حمل می‌شوند و اغلب همراه با سایر شاخص‌های مقاومت، به سویه‌های مختلفی از یک جنس یا سایر جنس‌های خانواده انتروباکتریاسه انتقال می‌یابند [۱۹]. بررسی‌ها نشان می‌دهند که SHV-1 شایع‌ترین بتالاکتازماز در ایزوله‌های کلینیکی کلبسیلا است و ۷۳–۱۱٪ ایزوله‌ها این آنزیم را دارند [۲۰]. بتالاکتازماز TEM-1 نیز در بسیاری از سویه‌های دیگر کلبسیلا، به‌تنهایی یا همراه با SHV-1 انتشار یافته است [۲۱، ۲۲].

در این تحقیق به بررسی وضعیت رایج گونه‌های کلبسیلای حاوی ESBL جداشده از بیمارستان شهید بهشتی کاشان در ارتباط با تعیین هویت ژنتیکی مقاومت آنتی‌بیوتیکی این باکتری‌ها در ایجاد اپیدمیولوژی عفونت‌های بیمارستانی و مقاومت نسبت به انواع آنتی‌بیوتیک‌ها پرداخته شده است.

روش‌ها

در این مطالعه در مجموع ۱۰۰ ایزوله *کلبسیلا پنومونیه* از بیمارستان شهید بهشتی کاشان (از آذر ۱۳۸۶ تا شهریور ۱۳۸۷) با روش‌های بیوشیمیایی استاندارد تعیین هویت شدند و از نظر فنوتیپ ESBL با ۵ دیسک آنتی‌بیوتیک ازترونام، سفی‌پیم، سفوتاکسیم و سفتریاکسون و آموکسی‌سیلین کلاولونیک‌اسید تهیه‌شده از شرکت بِکتون دیکینسون (Becton Dickinson Microbiology System; England) طبق معیار CLSI و با تهیه سوسپانسیون نیم‌مک‌فارلند و کشت روی محیط مولر هینتون و انجام آنتی‌بیوگرام به‌روش دابل‌دیسک دیفیوژن [۲۳] مورد شناسایی قرار گرفتند. سپس DNA نمونه‌های شناسایی شده به‌عنوان ESBL با استفاده از روش جوشاندن استخراج و برای انجام واکنش PCR در بافر TE و در دمای ۲۰– درجه سانتیگراد نگهداری شد.

واکنش PCR با تغییر دمای اتصال پرایمرها و غلظت آنها بهینه شد. مخلوط واکنش در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل Tris-HCl ۱۰میلی‌مولار (pH ۸/۴)، KCl ۵۰میلی‌مولار، $MgCl_2$ ۲/۵میلی‌مولار، پرایمرهای با غلظت ۱۵ پیکومول، غلظت بهینه dNTPs (سینا‌ژن؛ ایران) و یک میکرولیتر از آنزیم تک‌پلیمراز نیم‌واحدی (سینا‌ژن؛ ایران) تهیه و ۵ میکرولیتر از DNA استخراج شده به آنها اضافه شد. واکنش PCR برای ژن TEM به‌صورت واسرشته‌سازی اولیه در $95^{\circ}C$ به‌مدت ۴ دقیقه و سپس در ۳۵ دوره PCR به‌ترتیب واسرشته‌سازی $95^{\circ}C$ به‌مدت یک دقیقه، اتصال پرایمر $50^{\circ}C$ به‌مدت یک دقیقه و طویل‌سازی در $72^{\circ}C$ به‌مدت یک دقیقه انجام گرفت و در نهایت یک مرحله طویل‌سازی نهایی

www.SID.ir

Archive of SID

به‌مدت ۱۰ دقیقه در ۷۲°C انجام شد. واکنش PCR برای ژن SHV به‌صورت واسرشته‌سازی اولیه در ۹۵°C به‌مدت ۴ دقیقه و سپس در ۳۵ دوره PCR به‌ترتیب واسرشته‌سازی ۹۵°C به‌مدت یک دقیقه، اتصال پرایمر ۵۵°C به‌مدت یک دقیقه و طویل‌سازی ۷۲°C به‌مدت یک دقیقه انجام گرفت و در نهایت یک مرحله طویل‌سازی نهایی به‌مدت ۱۰ دقیقه در ۷۲°C انجام شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه در جدول ۱ آورده شده است. سپس ۵ میکرولیتر از محصول PCR در ژل آگارز ۱/۲٪ و اتیدیوم‌بروماید در دستگاه ژل داکومنتیشن (مدل InGenius، شرکت SYNGENE؛ آمریکا) مورد شناسایی قرار گرفت.

جدول۱) پرایمرهای مورد استفاده و قطعات تکثیر شده

اندازه قطعه تکثیر شده	توالی پرایمرها	هدف پرایمرها
1080 bp	5' ATA AAATTCTTGAAGACG AAA 3' 5' GCAAGTTACCAATGCTTAATC A3'	blaTEM
865 bp	5'TGGTTATGCGTTATATTCGCC 3' 5'GGTTAGCGTTGCCAGTGCT3'	blaSHV

نتایج

۳۲٪ نمونه‌ها حاوی فنوتیپ بتالاکتاماز وسیع‌الطیف بودند که از این تعداد ۲۱ نفر مرد (۵۲/۵٪) و ۱۹ نفر زن (۴۷/۵٪) بودند. در جدول ۲ موارد جداسازی هر یک از ژن‌ها بر حسب جنس مورد بررسی قرار گرفته است.

جدول ۲) توزیع ژن TEM1 و SHV1 بر حسب جنس

ESBL	جنس		جمع
	زن	مرد	
TEM1	۵ ٪۴۱/۷	۷ ٪۵۸/۳	۱۲
SHV1	۹ ٪۵۶/۲	۳ ٪۴۳/۷	۱۶
TEM1+SHV1	۱۴ ٪۵۰	۱۴ ٪۵۰	۲۸ ٪۱۰۰
PV	۰/۴۴۵		

همان‌گونه که در جدول ۳ نشان داده شده است، بیشترین فراوانی ژن TEM1در گروه سنی ۴۰ تا ۸۵ سال و همین‌طور بالاترین میزان SHV1 نیز در همین گروه سنی دیده شد. در گروه سنی زیر ۴۰ سال تعداد ۹ نفر (۲۸/۱٪) و بالای ۴۰ سال تعداد ۳۱ نفر (۴۵/۶٪) قرار داشتند که میانگین سنی افراد مورد مطالعه ۱۹/۲±۳۹/۲۷ بود. از مجموع ۳۲ سویه جداشده، ۲۸ مورد (۸۷/۵٪) حاوی ژن‌های SHV1 و TEM1 بودند که از این میان ۱۲ نمونه (۳۷/۵٪) حاوی ژن TEM1 (شکل ۱) و ۱۶ نمونه (۵۰٪) حاوی ژن SHV1 (شکل ۲) بودند. برخی از نمونه‌ها حاوی هر دو ژن به‌صورت همزمان بودند.

جدول ۳) بررسی فراوانی سویه‌های تولیدکننده ESBL بر حسب گروه سنی

ESBL	سن				جمع
	۴۰تا۸۵		۴۰تا۴		
TEM1	۲	٪۱۶/۶۷	۱۰	٪۸۳/۳۳	۱۲
SHV1	۲	٪۱۲/۵	۱۴	٪۸۷/۵	۱۶
TEM1+SHV1	۴	٪۱۴/۲۸	۲۴	٪۸۵/۷۲	۲۸ ٪۱۰۰
PV	۱ #				

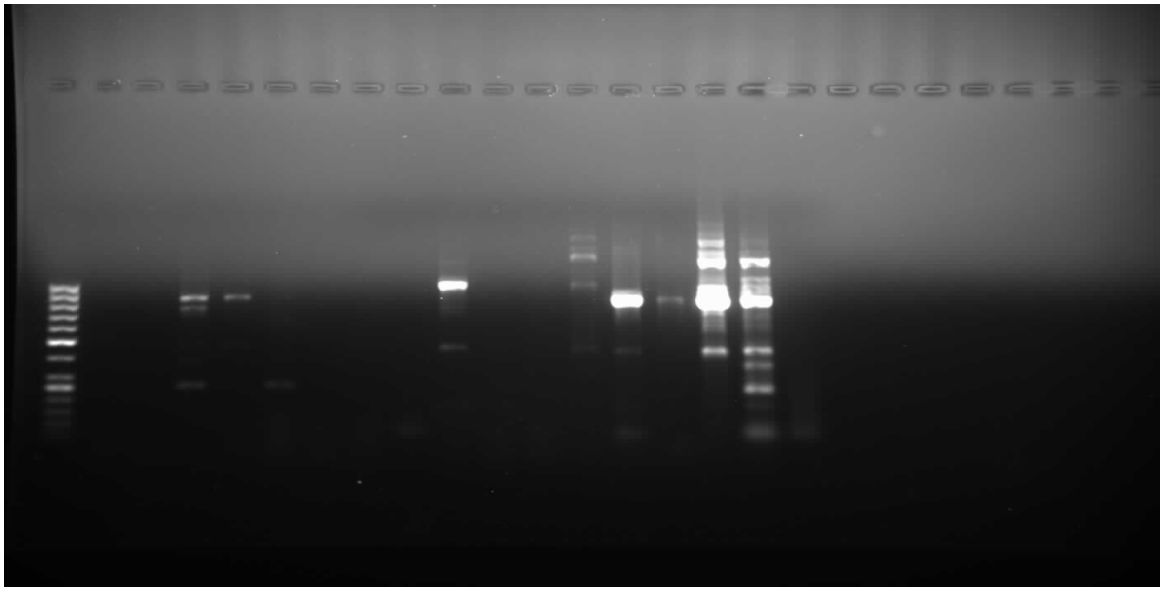
بحث

بیماری‌های عفونی و درمان آنها، مشکلی اساسی در زندگی بشر هستند و در سال‌های اخیر افزایش میزان مقاومت در باکتری‌ها به‌صورت روزافزون هزینه‌های بیماران را افزایش داده است. در دو دهه اخیر، میزان تولید بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف توسط باکتری‌های انتروباکتریاسه افزایش چشمگیری داشته است. اغلب بیماران بستری در بیمارستان دارای ضعف در سیستم ایمنی و بیماری زمینه‌ای هستند و *کلبسیلا پنومونیه* به‌عنوان پاتوژن فرصت‌طلب، یکی از مهم‌ترین عوامل ایجادکننده عفونت‌های بیمارستانی به‌خصوص در بخش‌های مراقبت‌ویژه بیمارستانی است. در این مطالعه از مجموع ۱۰۰ نمونه *کلبسیلا پنومونیه* جداشده ۳۲ نمونه (۳۲٪) تولیدکننده بتالاکتاماز وسیع‌الطیف بودند. گزارشات مختلفی از سراسر جهان در مورد میزان شیوع باکتری‌های ESBL وجود دارد. در مطالعه‌ای در ژاپن میزان شیوع آنها ۴۰٪ [۲۴] و در مطالعه مشابهی در ایالت برکلی امریکا این مقدار ۴۴٪ گزارش شده است [۲۵]. در مطالعه‌ای در فرانسه میزان بروز این فنوتیپ در بیماران بستری ۳۰ تا ۴۰٪ و در بیماران سرپایی ۶٪ اعلام شده است [۲۶]. در آسیای جنوب‌شرقی هرچند میزان شیوع ESBLها در برخی مطالعات ۲۰٪ گزارش شده، اما در برخی مناطق به بیش از ۶۰٪ نیز رسیده است [۲۷]. به‌صورت میانگین در مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۴ نشان داده شد که میزان شیوع ESBL در اروپا ۱۸/۴٪ است که در هلند ۴۰٪ و در سوئد ۳٪ گزارش شده است [۲۸]. در مطالعه‌ای در بیمارستان‌های ترکیه در سال ۲۰۰۵، مهم‌ترین ژن‌های جداشده SHV-1 و SHV-5 بودند [۳۲]. در مطالعات محققان ایرانی نیز میزان شیوع این فنوتیپ متفاوت بوده است. در مطالعه‌ای در بیمارستان الزهرای اصفهان، ۲۱۸ سویه باکتری بررسی شد که از این میان ۷۰ سویه (۳۲٪) کلبسیلا و از این میان، ۴۹ سویه (۷۰٪) *کلبسیلا پنومونیه* دارای ESBL بود [۲۹]. مطالعه مشابه دیگری که توسط *بینش* و همکاران در تبریز صورت گرفت نشان داد که ۶۲/۹٪ نمونه‌های *کلبسیلا پنومونیه* دارای ESBL بودند [۳۰]. در مطالعه‌ای در دانشگاه تهران، ۷۶٪ سویه‌های *کلبسیلا پنومونیه* دارای آنزیم ESBL بودند که نشان‌دهنده پتانسیل بالای بیماری‌زایی این سویه‌ها در بخش‌های مختلف بیمارستانی است [۳۱].

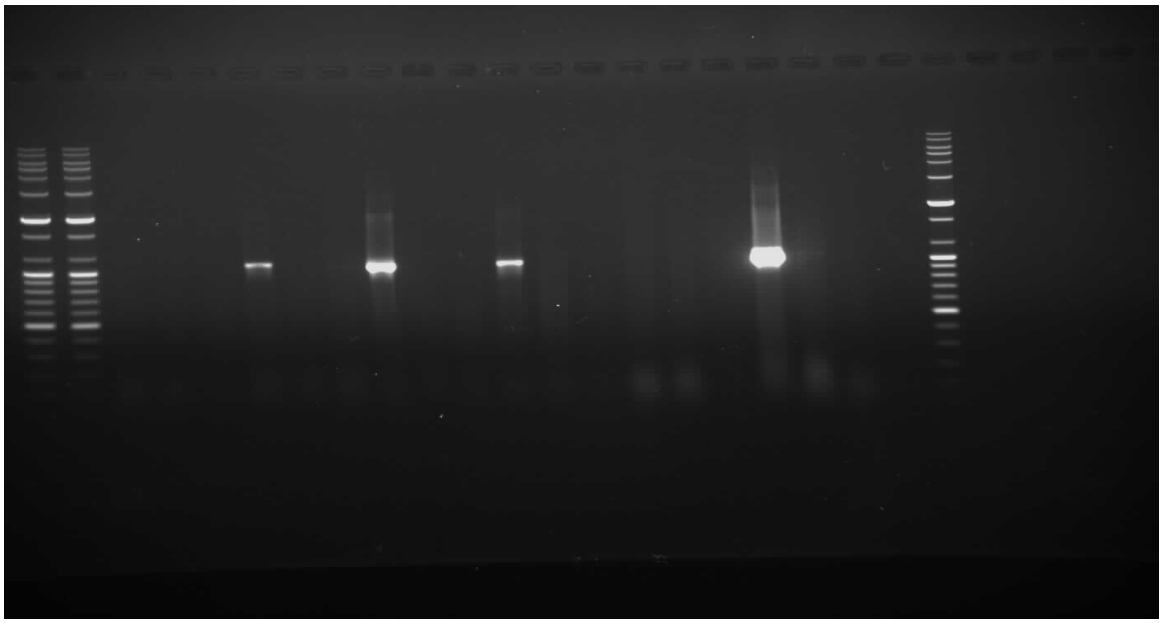
www.SID.ir

Archive of SID

شکل ۱) تکثیر قطعه ۱۰۸۰ جفت‌بازی برای ژن TEM-1 (ستون ۱ و ۲: نردبان ۱۰۰ جفت‌بازی)



شکل ۲) تکثیر قطعه ۸۶۵ جفت بازی برای ژن SHV-1 (ستون ۱: نردبان ۱۰۰ جفت‌بازی)



در پژوهش حاضر، ژن‌های TEM-1 و SHV-1 مورد ارزیابی قرار گرفتند که ۱۲ نمونه حاوی TEM-1 (۳۷/۵٪) و ۱۶ نمونه حاوی SHV-1 (۵۰٪) هستند. در مطالعات سایرین، میزان شیوع این ژن‌ها در *کلبسیلا پنومونیه* مورد ارزیابی قرار گرفته است؛ هرچند ژن TEM-1 در سال‌های دهه ۱۹۸۰ و اوایل دهه ۱۹۹۰ میلادی شایع‌ترین ژن در تولیدکنندگان ESBL بوده است، اما امروزه SHV-1 در اکثر نقاط و همچنین شهر نیویورک شایع‌ترین ژن شناسایی شده است [۳۳]. در مطالعه حاضر نیز میزان شیوع SHV-1 بیش از TEM-1 در سویه‌های تولیدکننده بتالاکتاماز *کلبسیلا پنومونیه* بوده است.

در آسیا، ناقلین مدفوعی ESBL رو به افزایش است و به‌نظر می‌رسد عدم دفع صحیح فاضلاب‌ها باعث افزایش شیوع این‌گونه ارگانیزم‌ها می‌شود. علاوه بر این استفاده از سوندهای ادراری و مصرف نابه‌جای آنتی‌بیوتیک می‌توانند موجب شیوع و کلونیزاسیون بیشتر ارگانیزم‌های تولیدکننده ESBL باشند.

نتیجه‌گیری

شیوع بسیار کم ESBLها در برخی کشورها که کنترل عفونت‌های بیمارستانی دقیقی در آنها اعمال شده و نظارت مناسبی در مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها وجود دارد، نشان‌دهنده اهمیت نظارت‌های بیمارستانی در توانایی کنترل این سویه‌های هزینه‌آور در مراکز بهداشتی است.

www.SID.ir

Archive of SID

منابع

1- Eisen D, Russell EG, Tymus M, Roper EJ, Grayson ML, Turnidge J. Random amplified polymorphic DNA and plasmid analyses used in investigation of an outbreak of multiresistant Klebsiella pneumonia. J Clin Microbiol. 1995;3(33):713-7.

2- Selden R, Lee S, Wang WL, Bennett JV, Eickhoff TC. Nosocomial Klebsiella infections: Intestinal colonization as a reservoir. Ann Intern Med. 1971;74(5):657-64.

3- Cryz SJ, Furer E, Germanier R. Safety and immunogenicity of Klebsiella pneumonia K1 capsular polysaccharide vaccine in humans. J Infect Dis. 1985;151(4):665-71.

4- Domenico P, Marx JL, Schoch PE, Cunha BA. Rapid plasmid DNA isolation from mucoid gram-negative bacteria. J Clin Microbiol. 1992;30(11):2859-63.

5- Tash H, Hakki Bahar L. Molecular characterization of TEM- and SHV-derived extended spectrum b-lactamases in hospital: Based Entrobacteriaceae in Turkey. Jpn J Infect Dis. 2005;58:162-7.

6- Urban C, Rahal JJ. Klebsiella and extended spectrum b-lactamases. Int J Antimicrob Agents. 1997;8(1):37-43.

7- Knothe H, Shah P, Krcmery V, Antal M, Mitsuhashi S. Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of Klebsiella pneumonia and Serratia marcescens. Infection. 1983;11(6):315-7.

8- Coovadia YM, Johnson AP. Multiresistant Klebsiella pneumonia in a neonatal nursery: The importance of maintenance of infection control policies and procedures in the prevention of outbreaks. J Hosp Infect. 1992;22:197-205.

9- Johnson AP, Weinbren MJ, Ayling-Smith B, Bois SK, Amyes SG, George RC. Outbreak of infection in two UK hospital caused by a strain of Klebsiella pneumonia resistant to cefotaxime and ceftazidime. J Hosp Infect. 1992;20(2):97-103.

10- Noriega ER, Leibowitz RE, Richmond AS, Rubinstein E, Schaefler S, Simberkoff MS, et al. Nosocomial infection caused by gentamycin-resistant, streptomycin-sensitive Klebsiella. J Infect Dis. 1975;131:45-50.

11- Bauernfeind A, Rosenthal E, Eberlein E, Holley M, Schweighart S. Spread of Klebsiella pneumonia producing SHV-5 b-lactamases among hospitalized patients. Infection. 1993;21(1):18-22.

12- Medeiros AA. Nosocomial outbreaks of multiresistant bacteria: Extended-spectrum beta-lactamases have arrived in North America. Ann Intern Med. 1993;119(5):428-30.

13- Reish O, Ashkenazi S, Naor N, Samra Z, Merlob P. An outbreak of multiresistant Klebsiella in a neonatal intensive care unit. J Hosp Infect. 1993;25(4):287-91.

14- Smith JMB, Chambers ST. Klebsiella oxytoca revealing decreased susceptibility to extended spectrum beta-lactamses. J Antimicrob Chemother. 1995;36(1):265-7.

15- Quinn JP, Miyashiro D, Sahm D, Flamm R, Bush K. Novel plasmid-mediated beta-lactamase (TEM-10) conferring selective resistance to ceftazidime and aztreonam in clinical isolates of Klebsiella pneumonia. Rev Infect Dis. 1988;10(9):850-8.

16- Meyer KS, Urban C, Eagan JA, Berger BJ, Rahal JJ. Nosocomial outbreak of Klebsiella infection resistant to late-generation cephalosporins. Ann Intern Med. 1993;119(5):353-8.

17- French GL, Shanon KP, Simmons N. Hospital outbreak of Klebsiella pneumonia resistant to broad-spectrum cephalosporins and b-lactam: B-lactamase inhibitor combinations by hyperproduction of SHV-5 b-lactamase. J Clin Microbiol. 1996;34(2):358-63.

18- Bradford PA, Urban C, Mariano N, Projan SJ, Rahal JJ, Bush K. Imipenem resistance in Klebsiella pneumonia is associated with the combination of ACT-1, a plasmid-mediated AmpC beta-lactamase and the fuss of an outer membrane protein. Antimicrob Agents Chemother. 1997;41(3):563-9.

19- Verma A, Desai N, Shannon K, Philpott-Howard J, Hill RLR. Intra- and inter-generic plasmid-mediated spread of cephalosporin and aminoglycoside resistance among Klebsiella aerogenes K41 and other enterobacteria. Int J Antimicrob Agents. 2001;17(2):123-9.

20- Mitchell J, Navon-Venezia SS, Schwartz D, Carmeli Y. High levels of antimicrobial coresistance among extended spectrum β-lactamase producing enterobacteriaceae. Am Soc Microbiol. 2005;49(5):2137-9.

21- Jada JM, Abbot SL. The enterobacteria. New York: Lippincott; 1998.

22- Urban C, rahal JJ. Klebsiella and extended spectrum b-lactamases. Int J Antimicrob Agents. 2002;6(1):125-9.

23- Bush K. B-lactamase inhibitors. In: Grady HP, Finch RG, editors. Antibiotics and chemotherapy. 7th ed. Livingston: Churchill; 1997.

24- Hawkey PM. Prevalence and clonality of extended spectrum B-lactamases in Asia. Clin Microbiol Infect. 2008;14(1):159-65.

25- Patzer JA, Dzierzanowska D, Pawinska A, Turner PJ. High activity of meropenem against gram-negative bacteria from a pediatric intensive care unit, 2001-2005. Int J Antimicrob Agents. 2007;29(3):285-8.

26- Sirot DL, Goldstein FFW, Soussy CJ. Resistance to cefotaxime and seven other beta-lactamases in members of the family Enterobacteriaceae: A 3-year survey in France. Antimicrob Agents Chemother. 1992;36(8):1677-81.

27- Pitout JD. Multiresistant Enterobacteriaceae: New threat of an old problem. Expert Rev Anti Infect Ther. 2008;6(5):657-69.

28- Canton R, Novais A, Valverde A, Machado E, Peixe L, Baquero F, et al. Prevalence and spread of extended-spectrum b-lactamases producing Enterobacteriaceae in Europe. Clin Microbiol Infect. 2008;14(1):144-53.

۲۹- مسجدیان‌جزی فرامرز، والهی فرحناز، طالبی اردشیر، رستگارلاری عبدالعزیز. بررسی مولکولی مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های وسیع‌الطیف در اشریشیا کلی و کلبسیلا پنومونیه. مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران. ۱۳۸۶؛۱(۲):۳۴-۲۷.

30- Mirsalehian A, Akbari-Nakhjavani F, Peymani A, Kazemi B, Jabal-Ameli F, Mirafshar SM. Prevalence of extended spectrum β-lactamase producing Enterobacteriaceae by phenotypic and genotypic methods in intensive care units in Tehran, Iranl. Daru. 2008;16(3):169-73.

۳۱- میرصالحیان اکبر، اکبری‌نخجوانی فرخ، پیمانی امیر، جبل‌عاملی فرشته، میرافشار سیدمحمد، حمیدیان محمد. بررسی فراوانی انتروباکتریاسه تولیدکننده بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف در بخش‌های مراقبت ویژه. مجله دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران. ۱۳۸۶؛۶۵(۱):۸-۳۳.

32- Machado E, Coque TM, Canton R, Novais A, Sousa JC, Baquero F, et al. High diversity of extended-spectrum beta-lactamases among clinical isolates of Enterobacteriaceae from Portugal. J Antimicrob Chemother. 2007;60(6):1370-4.

33- Schumachera H, Scheibelb J, Mollera JK. Cross-resistance patterns among clinical isolates of Klebsiella pneumonia with decreased susceptibility to cefuroxime. J Antimicrob Chemother. 2000;46:215-21.

32- Iwuji CC, Reeves I, Nambiar K, Richardson D. Diagnostic utility of urethral smears in predicting urethral chlamydia in HIV-infected men. Int J STD AIDS. 2008;19(11):741-3.

33- Yanagisawa N, Imamura A. HIV-positive man with ulceronecrotic skin lesions. Clin Infect Dis. 2008;47(8):1068-109.

www.SID.ir