فصلنامه بیماری های عفونی و گرمسیری وابسته به انجمن متخصصین بیماری های عفونی و گرمسیری
سال دوازدهم ، شماره ۳۸ ، صفحات ۲۱ تا ۲۵، پاییز۱۳۸۶

آنزیم بتالاکتاماز طیف گسترده (ESBL) گروه CTX- M درسویه های بالینی کلبسیلا پنومونیه جدا شده از بخش مراقبت های ویژه در بیمارستان های آموزشی شهر تبریز

هایده مبین *[1]، محمد رضا نهایی[2]، نور امیر مظفری[3]، سید رضا مودب[4]، شفیقه مونسی[5]فیروزه صفائیان[6]، گلی انگوتی[7]، لیلا دهقان[8]

۱- Ph.D میکروبیولوژی ، استادیار دانشکده پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی - واحد تبریز
۲- Ph.D میکروبشناسی ، استاد دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز و رئیس آزمایشگاه میکروبشناسی مرکز تحقیقات کاربردی و دارویی تبریز
۳- Ph.D میکروبشناسی ، دانشیار دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ایران
۴- D میکروبیولوژی ، استادیار دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز و رئیس آزمایشگاه مرکز تحقیقات سل و بیماریهای ریوی
۵- کارشناس آزمایشگاه میکروبشناسی بیمارستان شهداء تبریز
۶- کارشناس آزمایشگاه میکروبشناسی بیمارستان شهید مدنی تبریز
۷- کارشناس آزمایشگاه میکروبشناسی بیمارستان امام خمینی تبریز
۸- کارشناس آزمایشگاه میکروبشناسی بیمارستان سینای تبریز

*نشانی برای مکاتبه: تبریز، خیابان منظریه، جنب اداره بهزیستی، دانشکده پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز، تلفن: ۴۷۹۲۴۵۰- ۰۴۱۱ ، نمابر ۴۷۸۱۴۹۶-۰۴۱۱،
haiedeh41@yahoo.com

دریافت مقاله: خرداد هشتاد و شش پذیرش برای چاپ شهریور هشتاد و شش

چکیده

سابقه و هدف: *پس از معرفی اکسی ایمینوسفالوسپورین‌های جدید مثل سفوتاکسیم، آزترونام و سفتازیدیم آنزیم β – لاکتاماز طیف گسترده(ESBL) برای اولین بار در کلبسیلا پنمونیه، در آلمان گزارش شد. شناسایی سویه‌های مولد این آنزیم‌ها با روش معمول آزمایش حساسیت در برابر عوامل ضد میکروبی به‌سختی امکان‌پذیر می‌باشد و از طرف دیگر، توسط ژن های پلاسمیدی در میان باکتری‌ها بسرعت انتقال می‌یابند. از سویه‌های تولید کننده ESBL ها از ایران، گزارشهایی وجود دارد ولی خصوصیات ملکولی آنها کمتر مطالعه شده است. مطالعه حاضر، با هدف تعین شیوع و الگوی پلاسمیدی سویه‌های کلبسیلا پنومونیه مولد ESBL و تیپ آنزیم فوق انجام شد.*

روش کار: *به مدت یک سال از۷۸۶ بیمار بستری در بخش مراقبت‌های ویژه پنج بیمارستان آموزشی و درمانی مختلف شهر تبریز نمونه‌برداری شد. پس از شناسایی سویه‌ها، تست حساسیت با ۱۵ آنتی‌بیوتیک مختلف انجام شد. با روش E-test و Combined disk Method سویه‌های مولد ESBL تعیین و الگوی پلاسمیدی آنها با روش لیز قلیایی و ژنوتایپینگ $bla_{CTX-M-1}$ و $bla_{CTX-M-2}$ سویه ها با روش PCR انجام شد.*

یافته ها: *مقاومت سویه‌ها نسبت به سفالوسپورین‌های مختلف ۸۷٪- ۸۶٪، یوریدوپنی‌سیلین‌ها ۸۹٪ و کینولون‌ها ۲۶٪-۲۳٪ تعیین شد. در مقایسه با روش‌های مختلف ۹۷/۷٪- ۹۰/۹٪ از سویه‌ها به‌عنوان مولد ESBL شناخته شدند. از ۷۹/۳٪ از سویه‌ها ۱ الی ۴ پلاسمید با وزن ملکولی ۷ kb تا بیش از ۶۳ kb جدا شد که در آزمایش PCR در ۲۹ سویه آمپلیکون حاصل از پلی‌مریزه شدن ژن CTX-M-1 حاصل شد.*

نتیجه گیری: *در این پژوهش شایع‌ترین ارگانیسم عامل عفونت Klebsiella pneumoniae بود و فشار انتخابی ناشی از مصرف سفالوسپورین‌های نسل سوم به بروز مقاومت و مهمتر از آن بروز سویه‌های مولد آنزیم‌های ESBL از گروه آنزیمی CTX-M-1 منجر شده است. آنزیم فوق در این سویه‌ها هم نقش سفوتاکسمازی و هم سفتازیدیمازی را دارند که نیاز به ایجاد برنامه‌های کنترل دقیق و محدودیت در مصرف این داروها را روشن می‌سازد. ایمی‌پنم به‌عنوان داروی حساس شناخته شد.*

واژگان کلیدی: کلبسیلا پنومونیه، آنزیم β – لاکتاماز طیف گسترده (ESBL) ، واکنش پلیمراز زنجیره ای (PCR)

مقدمه

باسیل های گرم منفی خانواده آنتروباکتریاسه، معمول ترین پاتوژن های گرم منفی جداشده از عفونت های بیمارستانی بوده و آنتی بیوتیک های β – لاکتام برای درمان این عفونت ها ازعوامل ضد میکروبی انتخابی می باشند. با این وجود، کارآیی این داروها با ظهور آنزیم های β – لاکتاماز که فعالیت گسترده ای دارند به طور افزاینده ای کاهش یافته است(۱). آنزیم های β – لاکتامازهاز طیف گسترده (ESBLs) اولین بار، درکشور آلمان از کلبسیلاپنمونیه در سال ۱۹۸۳، بلافاصله بعد از معرفی اکسی ایمینوسفالوسپورین های جدید مثل سفوتاکسیم، آزترونام و سفتازیدیم جدا شد(۲). اغلب ESBL ها در اشریشیا کلی و کلبسیلا پنمونیه ازβ – لاکتامازهای تیپ TEM وتیپ SHV با یک و یا چند جانشینی اسید آمینه ای مشتق شده اند که این آنزیم ها سبب مقاومت باکتری نسبت به سفالوسپورین های طیف گسترده می گردد. اخیرا ، بیشتر ESBL های غیرمشتق از TEM وSHV نظیر آنزیم های وابسته به تیپ CTX-M در اغلب مناطق جغرافیایی به طور وسیع ، تعیین هویت شده اند(۳ و ۴) .

مطالعات فیلوژنیک انجام شده، پنج گروه عمده از آنزیم های اکتسابی CTX-M را نشان داده اند. (i) گروه CTX-M-1 شامل۶ آنزیم وابسته به پلاسمید (CTX-M-1، CTX-M-3، CTX-M-10، CTX-M-12، CTX-M-15، FEC-1) و آنزیم های چا پ نشده (CTX-M-22 و CTX-M-23 و CTX-M-28) (ii) گروه CTX-M-2 شامل هشت آنزیم CTX-M وابسته به پلاسمید(CTX-M-2، CTX-M-4، CTX-M-4L ، CTX-M-5 ، CTX-M-6 ، CTX-M-7، CTX-M-20 و Toho-1) (iii) گروه CTX-M-8 شامل یک عضو وابسته به پلاسمید (iv) گروه CTX-M-9 شامل نه آنزیم وابسته به پلاسمید (CTX-M-9، CTX-M-13، CTX-M-14، CTX-M-16 ، CTX-M-17 ، CTX-M-19 ، CTX-M-21 ، CTX-M-27 و Toho-2) و دو آنزیم چاپ نشده CTX-M-24 و CTX-M مطابق با accession no. JP 0074 و (v) گروه CTX-M-25 شامل آنزیم های CTX-M-25 و CTX-M-26 (۵) .

ESBL ها، نه تنها توسط پلاسمیدها در میان باکتری ها انتقال می یابند بلکه شناسایی آنها با آزمایش حساسیت در برابر عوامل ضد میکروبی معمول نیز به سختی قابل انجام است (۶). تاکنون در فامیل CTX-M ۵۳ آنزیم شناسایی شده است(۷). اخیرا، باکتری های تولید کننده ESBL در ایران گزارش شده است(۸). ولی خصوصیات مولکولی این ESBL ها مورد توجه نبوده است. مطالعه حاضر با هدف تعیین شیوع ، الگوی پلاسمیدی و ژنوتایپینگ ESBL های تیپ CTX-M در میان نمونه های بالینی جدا شده از *KLebsiella pneuomoniae* از بخش های مراقبت ویژه بیمارستان های آموزشی و درمانی شهر تبریز در ایران را انجام شده است.

روش کار

از مجموع ۷۸۶ بیمار بستری درپنج بیمارستان آموزشی شهر تبریز از سال ۱۳۸۳ الی ۱۳۸۴، تعداد ۹۲ سویه ی بالینی *Klebsiella pneumoniae* جدا شد. همه سویه های بالینی جدا شده از بیماران بستری در بخش ICU اخذ شده بودند. اغلب نمونه های بالینی از ترشحات لوله دستگاه تنفسی، ادرار و خون بودند. تعیین هویت گونه ها با روش معمول و در صورت مشکوک بودن با (Hi Enterobacteriaceae Kit (Hi Media) (strip 1,2) انجام شد. آزمایش دیسک آگار دیفیوژن روی محیط کشت Muller Hinton agar انجام یافت. دیسک های سفتازیدیم، سفتریاکسون، سفوتاکسیم، پی پراسیلین، تیکارسیلین، سیپروفلوکساسین، نورفلوکساسین، افلوکساسین، آمیکاسین، توبرامایسین، سفوکسیتین، سفوروکسیم، تتراسایکلین و سولفامتوکسازول(شرکت Mast) مورد استفاده قرار گرفتند. توانایی تولید ESBL در سویه های آزمایشی بوسیله آزمایشهای تاییدی فنوتیپک مثل آزمایش ترکیب دو دیسک با استفاده از سفتازیدیم، سفتازیدیم/کلاولانیک اسید و سفوتاکسیم، سفوتاکسیم/کلاولانیک اسید (Mast) مطابق با استانداردهای NCCLS (۹) انجام یافت. حداقل غلظت مهار کننده (MIC) بوسیله AB E-test) Biodisk, Solna, Sweden) با نوارهای سفتازیدیم، سفتازیدیم/کلاولانیک اسید(TZ/TZL)، ایمی‌پنم(IP)، سفتی‌زوکسیم (CZ)، سفوتاکسیم(CT)، آزترونام (AT)، آموکسی کلاو (XL) انجام گردید. *E. coli* ATCC 25922 و *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 به ترتیب به عنوان کنترل منفی و مثبت استفاده شدند.

DNA پلا سمیدی با روش لیز قلیایی(۱۰) با استفاده از CTAB (Cetyl trimethyl ammonium bromide) استخراج شد. پلا سمید های استخراج شده بوسیله الکتروفورز روی ژل آگارز ۰/۸ ٪ به مدت ۳ ساعت در ۱۵۰ Volt و ۵۰ mA آنالیز شدند. λ DNA هضم شده با*Hind*III, *Eco*RI، پلا سمیدهای سویه *E. coli* V 517 و *E. coli* 39R861 به عنوان سایز مارکر استاندارد استفاده شدند. ژل های آگارز با اتیدیوم بروماید (Merck) رنگ آمیزی شد و باند های پلاسمیدی زیر نورUV آشکار شد. پلا سمیدهای استخراج شده از سویه های *K. pneumoniae* به عنوان الگو در واکنش PCR به کار گرفته شدند. پرایمر F با توالی (5´CGCTTTGCGATGTGCAG 3´) و پرایمر R با توالی (5´ACCGCGATATCGTTGGT 3´) برای آمپلیفیکاسیون ژن *bla*$_{\text{CTX-M-1}}$ وپرایمر F با توالی (5´TTAATGACTGAGCATTC3´) وپرایمر R با توالی (5´GATACCTACCGCTCCATTTG3´) برای آمپلیفیکاسیون ژن *bla*$_{\text{CTX-M-2}}$ انتخاب شدند. کنترل مثبت برای این دو گروه از پروفسور Quinn از کشور آمریکا تهیه شد(۱۱).

مخلوط واکنش PCR شامل مقادیر زیربود. 5 µg از DNA پلا سمیدی ۱/۴. رقیق شده، ۱۰µ l از بافر ۱۰X PCR ، با 1 µ l ۰/۷۵ از$MgCl_2$ ، l µ ۰/۵ از هرپرایمر ، 1 µ l ۰/۲۵ از آنزیم Taqپلی مراز و برای انجام PCR از دستگاه Techena استفاده شد. واکنشPCR تحت شرایط ۱ دقیقه در ۹۵°C، ۳۰ سیکل به مدت۱ دقیقه در۵۵°C و ۱ دقیقه در°C ۷۲ و برای مرحله آخر جهت امتداد ژن پلی مریزه شده مدت ۱۰ دقیقه در ۷۲°C انجام شد. محصول حاصل از واکنشPCR در آگارز ۱/۷٪ و به مدت ۵۰ دقیقه الکتروفورز شد. جهت تعیین اندازه محصول PCR از سایز مارکر(100bp DNA Ladder) SM 0323 استفاده شد.

یافته ها

نتایج تست حساسیت در سویه های جدا شده از ۵ بیمارستان آموزشی و درمانی شهر تبریز در برابر عوامل ضد میکروبی مورد مطالعه درنمودار۱ نشان داده شده است.

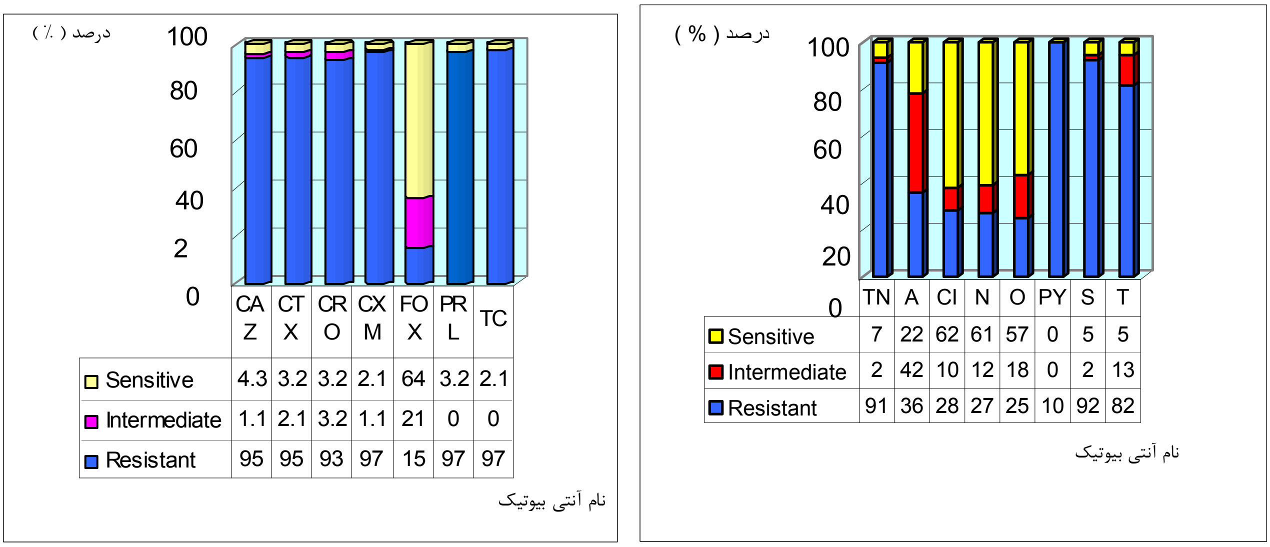
در تست ترکیب دو دیسک از ۸۷ سویه مقاوم به سفتازیدیم و سفوتاکسیم با در نظر گرفتن تفاوت قطرهاله مهار رشد بیش از ۵ میلیمتر مابین دو دیسک سفوتاکسیم، سفوتاکسیم/کلاولانیک اسید و سفتازیدیم، سفتاریدیم/کلاولانیک اسید به ترتیب ۸۶ سویه (۹۷/۷٪) و ۸۵ سویه (۹۰/۹٪) به عنوان تولید کننده ESBL تعیین شدند.

در تست MIC به روش E-test که با مقادیر بالا رونده از سفتازیدیم، آزترونام، سفوتاکسیم، سفتی زوکسیم، آموکسی سیلین/ کلاولانات و ایمی پنم انجام شد؛ ۷۱ سویه (۸۵/۵٪)نسبت به سفتازیدیم، ۷۳ سویه(۸۷/۹٪) نسبت به آزترونام، ۶۰ سویه (۷۲/۲٪) نسبت به سفتی زوکسیم، ۷۲ مورد(۸۶/۷٪) نسبت به سفوتاکسیم و ۱ سویه (۱/۱٪) نسبت به آموکسی سیلین/ کلاولانات MIC > ۳۲µ g/ml را نشان دادند، در حالیکه تمام سویه ها دارای µ g/ml ۲> MIC در برابر ایمی پنم بودند.

پلاسمید سویه های مورد آزمایش ابتدا با روش لیز قلیایی استخراج شد ولی با توجه به اینکه در الکتروفورز پلاسمیدهای فوق اسمیر حاصل شد بنابراین جهت حذف آن قبل از اضافه کردن کلروفروم محلول (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide) CTAB اضافه شد و در دمای ۶۵ ˚C به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد. از مجموع ۹۲ سویه، از ۷۳ سویه(۷۹/۳٪) پلاسمید استخراج شد . تعداد پلاسمیدها بین ۱ تا ۴ عدد متغیر بود . اندازه پلاسمیدهای استخراج شده در مقایسه با سایز مارکر DNA λ برش داده شده با *Hind*III و *Eco*RI وپلاسمیدهای موجود در دوسویه *E. coli* V517 و *E. coli* 39 R 861 بین ۷kb تا ۶۳ kb < متغیر بود و در مجموع ۲۲ الگوی پلاسمیدی از سویه های مورد آزمایش حاصل شد.

از ۷۳ سویه ی دارای پلاسمید، ۲۹ سویه (۲۵/۱٪) دارای آمپلیکون حاصل از پلیمریزه شدن ژن CTX-M-1 حاصل شد در حالیکه در هیچیک از سویه های مورد آزمایش محصول ژن CTX-M-2 حاصل نگردید. از نمونه ارسالی پروفسور Quinn نتیجه مثبت عاید گشت(تصویر ۱).

نتایج MIC به روش E-test در سویه های دارای ژن CTX-M-1 در جدول ۱ نشان داده شده است. توالی آمپلیکون حاصل از PCR با پرایمر CTX-M-1 Forward توسط برنامه Chromas LITE version 2 تعیین توالی شد و توالی ۵۲۰ نوکلئو تید در آن مشخص شد.



نمودار۱؛ میزان شیوع مقاومت در برابر عوامل ضد میکروبی در سویه‌های Klebsiella pneumoniae جدا شده از بیمارستان های آموزشی و درمانی مختلف شهر تبریز

CAZ, Ceftazidime; CTX, Cefotaxime; CRO, Cefriaxone; CXM, Cefuroxime; FOX, Cephoxitin; PRL,Piperacillin; TC, Ticarcillin; TN, Tobramycin; AN, Amikacin; CIP, Ciprofloxacine; NOR, Norfloxacin;OFX, Ofloxacin; PY, Carbenicillin, SMX, Sulphamethoazle; T, Tetracycline

بحث

در این مطالعه از مجموع ۷۸۶ بیمار بستری در پنج بیمارستان آموزشی شهر تبریز۹۲ ایزوله ی کلبسیلا پنمونیه جدا شد. این باکتری برخلاف مطالعات مشابه که باسیل گرم منفی اشریشیا کلی را عامل اصلی در عفونت های بیمارستانی معرفی نموده اند(۱۲ و ۱۳)، به عنوان عامل اصلی عفونت بیمارستانی بدست آمد. تست حساسیت ضد میکروبی در سویه های مورد مطالعه نشان داد که بیشترین میزان مقاومت نسبت به کاربنی سیلین، پی پراسیلین و کمترین میزان مقاومت نسبت به سفوکسیتین وجود دارد(نمودار۱). مقاومت نسبت به سفالوسپورین های نسل سوم نسبت به سفتریاکسون، سفوتاکسیم و به ترتیب ۹۳/۴٪ و ۹۴/۵٪ بود که در مقایسه با مطالعات Nigssen(۱۳) و Jones (۱۴) که به ترتیب ۱۸/۷٪و ۱۰٪ گزارش نمودند، بسیار بالاتر می باشد. با توجه به اینکه در مطالعه پرونده بیماران ۱۰۰٪ موارد از سه داروی سفتازیدیم، سفوتاکسیم و سفتریاکسون (به تنهایی و یا به صورت توام) استفاده شده بود نقش فشار انتخابی ناشی از مصرف زیاد و بدون محدودیت خاص را در ایجاد مقاومت به خوبی روشن می سازد.

در آزمایش بتا لاکتاماز طیف گسترده با روش E-test که با استفاده از نوار دارای گرادیان غلظتی از سفتازیدیم در یک طرف نوار و سفتازیدیم/ کلاولانیک اسید در طرف دیگر نوار انجام شد با توجه به اینکه اختلاف غلظت بیش از 3log2 در تیتر دارو به عنوان تولید کننده آنزیم ESBL در نظر گرفته میشود که ۸۹/۱٪ از سویه ها به عنوان مولد ESBL شناخته شدند. این یافته ها با نتایج حاصل از آزمایش ترکیب دو دیسک (۹۰/۹٪)تطابق خوبی را نشان می دهد. بنابراین استفاده از هر دو روش جهت شناسایی ESBL ها کارآیی یکسان را نشان داد.

در مقایسه نتایج E-test سویه های مورد مطالعه با مطالعات مشابه در کشور فرانسه ۱۵- ۵٪ ، ایتالیا و اسپانیا۱۰٪ (۱۵) و در بنگلادش ۳۹/۵٪ (۱۶) نشان داد که شیوع ESBL ها در جامعه مورد مطالعه ما، از وضعیت بحرانی برخوردار است و نیازمند برنامه های کنترل و ایجاد محدودیت در مصرف آنتی بیوتیکها بخصوص در مصرف سفالوسپورین های نسل سوم می باشد.

با توجه به اینکه ژنهای *bla* در روی پلاسمید های باکتری حمل میگردند در سویه های مورد مطالعه از ۷۸/۳٪ سویه ها پلاسمید استخراج شد به طوری که از برخی از سویه ها تا ۴ پلاسمید با اندازه های مولکولی مختلف را دارا بودند که وزن مولکولی پلاسمیدهای استخراج شده بین ۷ kb تا بیش از ۶۳ kb بود و ۲۲ الگوی پلاسمیدی در سویه های مورد مطالعه مشاهده شد که نشاندهنده وجود کلون های مختلف از باکتری های مولد ESBL می باشد و این امر نشانگر مشکلات بیشتر در کنترل سویه های فوق می باشد.

طرح فنوتیپیکی مقاومت نسبت به سفتازیدیم، سفوتاکسیم، سفتریاکسون و آزترونام همراه با حساسیت ۱۰۰٪ سویه ها نسبت به ایمی پنم و اغلب آنها نسبت به سفوکسیتین وجود آنزیم β - لاکتاماز گروه CTX-M را پیشنهاد می نمود که در آزمایش PCR از ۲۹ سویه گروه آنزیم CTX-M-1 با توالی ۵۲۰ نوکلئوتید حاصل شد. توالی این ژن در نوکلوتیدهای ۲۲ تا ۵۰۶، دارای ۱۰۰٪ همولوگی با accession no AY 960984 ، DQ 4053310 ، DQ 4853309 ، AY 044436 ، DQ335219 ، AM 040707 و AY 995206 را نشان داد .

MIC سفتازیدیم در گروه آنزیمی CTX-M معمولا در حد حساس باقی میماند؛ به جزء آنزیم های گروه CTX-M-16 ، CTX-M-15 و CTX-M-27 که جانشینی Asp 240 Gly را با خود حمل میکنند ۸ برابر مقاومت بالاتر نسبت به سفتازیدیم را در مقایسه با آنزیم های والد خود یعنی CTX-M-3، CTX-M-9 و CTX-M-14 را دارند (۵). اغلب سویه های مورد مطالعه در این پژوهش، مقاومت نسبتا بالاتر نسبت به سفتازیدیم را نشان دادند و با توجه به اینکه به گروه آنزیم CTX-M-1 تعلق داشتند. بنظر می رسد که سویه های مورد مطالعه به گروه CTX-M-15 تعلق داشته باشد زیرا همولوگی ۱۰۰٪ با این آنزیم هم در *E. coli* و هم در *K. pneumoniae* در مقایسه با ژن کامل ، PMI و ISceps را نشان دادند . پیشنهاد می شود که در سویه های مولد CTX-M-1 مقاوم به سفوکسیتین وجود ژن های AmpC مورد بررسی قرار گیرد. در صورت مصرف ایمی پنم ایجاد مقاومت نسبت به آن مورد کنترل مستمر قرار گیرد .

نتیجه گیری

در این پژوهش شایع‌ترین ارگانیسم عامل عفونت *Klebsiella pneumoniae* بود و فشار انتخابی ناشی از مصرف سفالوسپورین‌های نسل سوم به بروز مقاومت و مهمتر از آن بروز سویه‌های مولد آنزیم‌هایESBL از گروه آنزیمی CTX-M-1 منجر شده است. آنزیم فوق در این سویه‌ها هم نقش سفوتاکسمازی و هم سفتازیدیمازی را دارند که نیاز به ایجاد برنامه‌های کنترل دقیق و محدودیت در مصرف این داروها را روشن می‌سازد. ایمی‌پنم به‌عنوان داروی حساس شناخته شد.

تشکر وقدر دانی

از همکاران آزمایشگاه میکروبشناسی دانشکده پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی- واحد تبریز به دلیل همکاری در جداسازی و تعیین هویت باکتری های مورد آزمایش، همکاران آزمایشگاه میکروبشناسی و بیوشیمی مرکز تحقیقات کاربردی دارویی تبریز به دلیل همکاری های صادقانه خود در امر جدا سازی پلاسمید سویه های مورد آزمایش، همکاران مرکز تحقیقات سل و بیماری های ریوی به دلیل همکاری در مراحل انجام آزمایش PCR، همکاران آزمایشگاه میکروبشناسی بیمارستان های امام خمینی، شهید مدنی، سینا، شهداء، مرکز آموزشی کودکان شهر تبریز به دلیل همکاری در تامین نمونه های مورد آزمایش و پروفسور Quinn از کشور آمریکا که DNA پلاسمیدی تولید کننده بتالاکتامازهای طیف گسترده گروه CTX-M را ارسال نمودند،سپاسگزاری می شود.

REFERENCES

1. Livermore D.M. Beta-lactamases in laboratory and clinical resistance. Clin Microbiol Rev. 1995 ; 8(4) 557-584.

2. Philippon A, Arlet G, Lagrange PH. Origin and import of plasmid-mediated extended-spectrum β-lactamases. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 1994; 13(Suppl 1). S17-29.

3. Bonnet R. Sampaio JL M, Labia R, Champs C. De, Sirot D, Chanal C, Sirot J. A novel CTX-M ß-lactamase (CTX-M-8) in cefotaxime-resistant Enterobacteriaceae isolated in Brazil. Antimicrob. Agents Chemother, 2000; 44:1936-1942

4. Sabate M, Tarrago R, Navarro F, Miro E, verges C, Barbe J, Prats G. Cloning and sequence of the gene encoding a novel cefotaxime-hydrolyzing β-lactamases (CTX-M-9) from Escherichia coli in Spain. Antimicrob. Agents Chemother, 2002; 44: 1970-1973.

5. Bonnet R. Growing group of extended-spectrum β-lactamases: the CTX-M enzymes. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2004; 48(1): 1-14

6. Jacoby GA, Han P. Detection of extended-spectrum β-lactamases in clinical isolates of K. pneumoniae and E. coli. J Clin Microbiol, 1996; 34: 908-11

7. Lahey Clinic. Amino acid sequences for TEM, SHV and OXA extended-spectrum and inhibitor resistant β-lactamases. Available on Google. Last modified 01/30/06

۸. مبین- هایده، نهایی – محمد رضا ، امیر مظفری- نور، صادقی- جاوید و رسولی – مریم. تابستان ۱۳۸۵، مجله پزشکی علوم پزشکی تبریز ، دوره ۲۸ ، صفحات ۱۰۱- ۹۵ .

9. Thirteenth Informational Supplement. NCCLS document M100-S13.NCCLS, Wayne, Pennsylvania, 2003

10. Sambrook KJ,Fritsch EF, ManiatisT. Molecular cloning. A laboratory manual, A2nd ed. New York. 1989; P- 1-1 , 1-59.

11. Villagas MV, Correa A, Perez F, Miranda MC, Zuluaga T, Quinn JP. Prevalence and characterization of extended-spectrum β-lactamases in K. pneumoniae and Escherichia coli isolates from Colombian hospitals. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, 2004; 49: 217-222

12. Kôseoglu. O, Kocaguz S, Gur D, Akova M. Nosocomial bloodstream NCCLS. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility testing. infection in Turkish university hospital: Study of Gram-negative bacilli and their sensitivity patterns. International of Antimicrobial Agents, 2001; 17: 477-481

13. Nijssen S, Florijn A, Bonten MJM, Schmitz FJ, Verhoef J, Fluit AC. Beta-lactam susceptibilities and prevalence of ESBL-producing isolates among more than 5000 European Enterobacteriaceae isolates. International Journal of Antimicrobial Agents, 2004; 24: 585-59.

14. Jones RN, Biedenbach DJ, Gales AC Sustained activity and spectrum of selected extended- spectrum β-lactams (Carbapenems and Cefepim) against Enterobacter spp. And ESBL-producing Klebsiella spp.: report of the Sentry antimicrobial surveillance program (USA, 1997-2000). International Journal of Antimicrobial Agents, . 2003; 21: 1-7

15. Bertrand X. Hocquet D. Boisson K. Siebor E. Plesiat P. Talon D. Molecular epidemiology of Enterobacteriaceae producing extended-spectrum β-lactamases in a French university-affiliated hospital. International Journal of Antimicrobial Agents, 2003; 22: 128-133.

16. Rahman MM, Ashaful haq J, Hossain MA, Sultana R, Islam F, Shafiqul Islam AHM. Prevalence of extended – spectrum producing Esherichia coli and Klebsiella pneumoniae in an urban hospital in Daka, Banglades. International Journal of Antimicrobial Agents, 2004; 24: 508-510.