تشخیص مولکولی ژنهای بتالاکتامازی CTX & PER در سویه های *E. coli* جدا شده از نمونه های کلینیکی از بیمارستان های تهران

فرشته شاهچراغی[1*]، هانیه نویری [2]، سیاوش نصیری [2]

۱.میکروب شناس، استادیار انستیتو پاستور ایران
۲.کارشناس ارشد میکروب شناسی، انستیتو پاستور ایران

* **نشانی برای مکاتبه:** تهران- خیابان پاستور- انستیتو پاستور ایران- بخش میکروب شناسی- دکتر فرشته شاهچراغی تلفن۶۶۴۰۵۵۳۵ ، Feresh100@yahoo.com
دریافت مقاله: خرداد هشتاد و هفت پذیرش برای چاپ: مرداد هشتاد و هفت

چکیده

سابقه و هدف: *باکتری اشریشیا کلی قادر به تولید بتالاکتامازهای وسیع الطیف (ESBLs) از جمله آنزیمهای CTX و PER می‌باشد که سبب مقاومت بالای آن در برابر آنتی‌بیوتیکهای بتا لاکتام می شود. با توجه به اینکه E. coli درصد قابل توجهی از عفونتهای بیمارستانی و خارج بیمارستانی را شامل می‌شود، بنابراین شناخت الگوی مقاومت و حساسیت این باکتری نسبت به آنتی‌بیوتیک های بتالاکتام در درمان و کنترل عفونتهای ناشی از این باکتری نقش بسزایی دارد. هدف از انجام این تحقیق تعیین الگوهای حساسیت آنتی‌بیوتیکی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام و تحقیق پیرامون وجود ژنهای بتالاکتامازی CTX, PER در نمونه‌های بالینی E. coli می‌باشد.*

روش کار: *تعداد ۲۶۰ نمونهٔ E. coli جمع‌آوری گردید. الگوهای حساسیت آنتی‌بیوتیکی با روش disk diffusion تعیین گردید. تشخیص ایزوله‌های تولید کنندهٔ ESBL براساس تست فنوتیپی تأییدی انجام پذیرفت، همچنین MIC سفتازیدیم با استفاده از روش Microbroth Dilution تعیین شد. در نهایت ژنهای bla_{PER} , bla_{CTX} در نمونه‌های مورد نظر با روش PCR شناسایی گردید.*

یافته ها: *سوش مقاومی نسبت به ایمی‌پنم یافت نشد. MIC سفتازیدیم برابر یا بیش از ۴ میکروگرم در میلی لیتر بود. ۱۸/۱ درصد از نمونه‌ها دارای بتالاکتاماز نوع CTX بودند و نمونه‌ای حاوی ژن PER یافت نگردید. ۴۲/۷ درصد ازکل نمونه های تحت بررسی دارای ژنهای ESBL (۱۱۱نمونه) و ۳۹/۷ درصد از نمونه‌های ESBL مثبت حامل ژنهای CTX بودند.*

نتیجه گیری: *نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیکهای بتالاکتام و سویه‌های تولید کننده ESBL در E. coli روبه افزایش است و تولید ESBL می‌تواند یکی از دلایل افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی باشد.*

واژگان کلیدی: مقاومت آنتی بیوتیکی، E. coli, ESBL , PER , CTX.

مقدمه

در اثر استفاده بی رویه آنتی بیوتیکها، مقاومت عوامل بیماری زا به این داروها از مشکلات عمده در درمان عفونتهای انسانی به شمار می رود. در این میان مصرف آنتی بیوتیکهای پنی سیلین و سفالوسپورین که جهت درمان عفونتهای ناشی از *E. coli* استفاده می شوند، عامل ایجاد برخی از این مقاومتها می باشند(۱). مقاومت نسبت به سفالوسپورینهای نسل سوم ناشی از تغییرات ثانویه در پروتئینهای غشاء خارجی و تولید بالای بتالاکتامازهای وسیع الطیف (ESBL) می‌باشد(۲). بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف(ESBL) در گونه‌های باکتریایی گرم منفی گزارش شدند، این آنزیمها معمولا" پلاسمیدی بوده و قادر به هیدرولیز و غیرفعال کردن تعداد زیادی از بتالاکتامها از جمله سفالوسپورینهای نسل سوم، پنی‌سیلینها و آزترئونام هستند، اما به مهار کننده‌های بتالاکتامازی مانند کلاوولانات، سولباکتام و تازوباکتام حساسند(۳). در دو دهه اخیر، انواع زیادی از ESBLs شناسایی شده‌اند، تاکنون ۲۰۰ تیپ گوناگون بتالاکتامازها از نمونه‌های کلینیکی جدا شده است، از جمله می‌توان به آنزیمهای نوع PER و CTX اشاره نمود. ژنهای تولید کنندهٔ این‌دو آنزیم بنامهای bla_{PER} و bla_{CTX} جزو ژنهایی هستند که بر روی پلاسمید قرار گرفته‌اند(۴). بتالاکتامازهای CTX-M به تازگی در اعضای مختلف انتروباکتریاسه و بیشتر در *Salmonella enterica serovar Typhimurium* و *E. coli* انتشار پیدا کرده‌اند و شامل MEN-1,CTX-M-1,CTX-M-2,...,CTX-M-12 و Toho-2 می‌باشند.(۵،۶،۲). بتالاکتامازهای نوع PER نیز از جمله آنزیمهایی هستند که توجه زیادی را به خود معطوف داشته‌اند.آنزیم PER-1 اولین ESBL بود که در سال ۱۹۹۳ در *Pseudomonas aeroginosa* شناسایی شد و ویژگیهای آن بطور کامل مشخص گردید(۷).

امروزه تعداد ارگانیسم هایی که قادر به تولید آنزیمهای ESBL هستند در حال افزایش است و این مسئله بعنوان یکی از بحرانهای موجود در درمان عفونتهای ناشی از این باکتریها مطرح است. انتقال وانتشارسریع ارگانیسم هایی که قادر به تولید آنزیمهای مذکور هستند، باعث بالا رفتن میزان عفونتهای بیمارستانی مربوطه در سراسر دنیا از جمله ایران شده است که سالانه هزینه های زیادی صرف درمان این عفونتها می‌شود(۴). با توجه به اینکه در رابطه با سویه های تولید کننده آنزیم های بتا لاکتاماز مطالعات محدودی در ایران صورت گرفته است و با توجه به اهمیت موضوع، این مطالعه به منظور تعیین مقاومت و حساسیت سوش های *E. coli*جدا شده از نمونه های مختلف کلینیکی بیمارستانهای تهران نسبت به انتی بیوتیکهای بتالاکتام انجام گرفته است.

روش کار

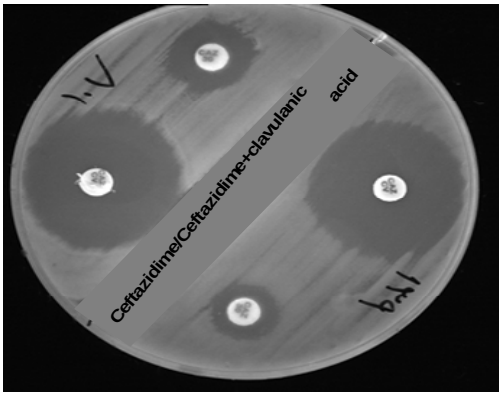
تعداد ۲۶۰ نمونه بالینی *E. coli* شامل نمونه های ادرار، مدفوع، زخم و آبسه از۵ بیمارستان تهران جمع آوری شد. تعیین حساسیت و مقاومت آنتی بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن (طبق پروتکل CLSI) صورت پذیرفت. دیسکهای مورد استفاده که از شرکت BBL تهیه شد شامل کربنی‌سیلین (۱۰۰µg)، سفوتاکسیم (۳۰µg)، سفتازیدیم (۳۰µg)، سفتی زوکسیم (۳۰µg)، پیپراسیلین (۱۰۰µg)، پیپراسیلین/تازوباکتام (۱۱۰µg)، آمیکاسین (۳۰µg)، جنتامایسین (۱۰µg)، ایمی‌پنم (۱۰µg)، سیپروفلوکساسین (۵µg)، سفتری‌آکسون (۳۰µg) بود. به منظور تعیین حداقل غلظت آنتی‌بیوتیک که مانع رشد باکتری شود تست MIC سفتازیدیم طبق پروتکل CLSI به روش Microdilution صورت گرفت (شکل ۱). جهت شناسایی بتالاکتامازهای وسیع الطیف، سویه های که قطر هاله عدم رشد آنها با استفاده از روش دیسک دیفیوژن حداکثر رنج ۲۰mmداشتند، انتخاب شدند و با استفاده از تستهای فنوتیپی تأئیدی وجود ژنهای ESBL در آنها مورد بررسی قرار گرفت. در این تستها از دیسکهای بتالاکتام/ مهار کنندهٔ بتالاکتاماز استفاده شد. اساس کار به این صورت است که هرگاه قطرهاله عدم رشد در اطراف دیسک بتالاکتام/ مهارکنندهٔ بتالاکتاماز در مقایسه با دیسک بتالاکتام به اندازهٔ ۵mm یا بیشترافزایش پیدا کند، آنگاه نتیجهٔ تست مثبت بوده و ایزولهٔ مورد نظر بعنوان ایزولهٔ $ESBL^{+}$ تلقی می‌شود. در این تحقیق دیسکهای سفتازیدیم/ کلاوولانیک اسید و سفوتاکسیم/ کلاوولانیک اسید مورد استفاده قرار گرفتند. (شکل۱)(۱،۸)سویه‌ها یی که قطر ناحیهٔ عدم رشد در آنها حداکثر تا محدوده ۲۰ میلیمتر بودند، برای تعیین MIC سفتازیدیم انتخاب شدند. در این تحقیق برای تعیین MIC سویه ها از روش Microbroth dilution استفاده کردیم. از سویه *P. aeruginosa* ATCC 27853 جهت کنترل روشهای آنتی‌بیوگرام و MIC استفاده شد.سوشهای باکتریایی را در ۲/۵ سی‌سی محیط LB Broth تلقیح کرده سپس آنها را بصورت شبانه (Overnight) در ۳۷°C انکوبه نمودیم، کشتهای باکتریایی را ورتکس کرده، مقدار ۱۰۰۰µl از آنها را در داخل اپندورفهای استریل ریخته، اپندورفها را با دور بالا(۱۳۰۰۰ rpm) بمدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق سانتریفیوژ کردیم، رسوب باقیمانده را در۵۰۰µl از بافرTE کاملا"حل کرده تا سوسپانسیون یکنواختی بدست آید، اپندورفها را سانتریفیوژ نموده ، فاز رویی را دور ریخته و مرحلهٔ ۵ را دوباره تکرار کردیم' نمونه ها را مجددا" سانتریفیوژ کرده این بار رسوب حاصله را در ۵۰۰µl بافر TE RNase حل کرده و سپس سوسپانسیونها را در آب C °۱۰۰ بمدت ۱۳ دقیقه جوشاندیم' سوسپانسیونها را در دور بالا بمدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ کردیم. مقدار ۲۰۰µl از فاز رویی حاوی DNA باکتریها را در داخل اپندورفهای استریل ریختیم. (DNA های استخراج شده را در دمای۲۰ - نگهداری کردیم) تست PCR برای شناسایی ژنهای بتالاکتامازی (550bp) bla_{CTX} و (925bp) bla_{PER} تحت شرایط مندرج در جدول ۱ انجام شد. (۱۰،۹) مشخصات پرایمرهایی که در انجام PCR مورد استفاده قرار گرفتند، به شرح جدول ۲ می باشد. لازم به ذکر است که کلبسیلا پنومونیه ۷۸۸۱ حاوی ژنهای CTX-M و سویه *P. aeruginosa KOAS* تولید کننده PER-1 به عنوان سویه استاندارد مورد استفاده قرار گرفت. برای الکتروفورز محصولات PCR از ژل آگاروز ۱٪ و مارکر 100bp Ladder Fermentase (Lithuania) ، استفاده شد.

جدول۱: شرایط مورد استفاده جهت انجام PCR

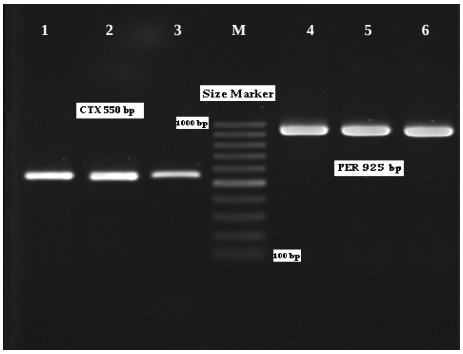
Factor / Gene / Step	Temp. (°C)	Time
	CTX/ PER	CTX/ PER
Initial denaturation	94/ 94	3/ 3 min
Denaturation	94/ 94	30/ 30 s
Annealing	63/ 43	1/ 1 min
Extention	72/ 72	1/ 1 min
Final extention	72/ 72	10/ 10 min
Cycle number	35	

جدول۲: مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در PCR

نام ژن	وزن مولکولی (bp)	توالی نوکلئوتیدی	مشخصات / نام پرایمر
CTX-A	550	5′-CGCTTTGCGATGTGCAG-3′	bla_{CTX}
CTX-B	550	5′-ACCGCGATATCGTTGGT-3′	bla_{CTX}
PER-A	925	5′-ATGAATGGTCATTATAAAGC-3′	bla_{PER}
PER-B	925	5′-AATTTGGGCTTAGGGCAGAA-3′	bla_{PER}



شکل۱: تست فنوتیپی تأئیدی (Phenotypic Confirmatory Test = PCT) **برای بررسی ژنهای** ESBL **به روش** Disk diffusion



شکل ۲: الکتروفورز ژل آگارز: شماره های ۱ و ۲ نمونه های ژن (550bp) bla_{CTX}و شماره های ۴ و۵ نمونه های مثبت برای ژن bla_{PER} (925bp) می باشند. شماره های ۶،۳ به ترتیب کنترل مثبت برای ژنbla_{CTX} و bla_{PER} هستند(Klebsiella pneumoniae 7881). M : مارکر

بحث

باکتری E. coli به جهت نقشی که در ایجاد عفونتهای حاد اجتماعی و عفونتهای بیمارستانی دارد، از لحاظ پزشکی حائز اهمیت است. نکته ای که در این جا باید توجه بیشتری بدان داشته باشیم، میزان مقاومت بالایی است که E. coli در برابر گروههای مختلف آنتی بیوتیکی از خود نشان می دهد و به نظر می رسد که میزان این مقاومت ها روز به روز در حال افزایش است. یکی از عوامل مهمی که در ایجاد مقاومت های باکتریایی شناخته شده است، تولید آنزیمهای بتالاکتامازی توسط باکتریهاست که انواع مختلفی دارند. استفادهٔ بی رویه از آنتی بیوتیکها و بروز موتاسیونهای خود به خودی در توالی ژنهای کد کنندهٔ این آنزیمها، سبب پیدایش دسته ای بتالاکتامازها شده است که به این آنزیمها اصطلاحا" آنزیمهای بتالاکتامازی وسیع الطیف (Extended Spectrum Beta-Lactamases= ESBL) گویند (۱۱) که از آن جمله می توان به بتالاکتامازی نوع CTX و PER اشاره کرد. بالا رفتن میزان عفونت های بیمارستانی و مرگ و میر ناشی از آنها در موارد شدید، از جمله پیامدهایی است که این قبیل مقاومت ها به دنبال دارند (۱۴-۱۲). بر اساس تحقیقات Anthony و همکاران که در سال ۲۰۰۷ صورت گرفته درصد نمونه های حساس به سفتازیدیم ٪۹۴، ایمی‌پنم ٪۹۹/۸، پیپراسیلین/تازوباکتام ٪ ۹۴/۸، سفتری‌آکسون ٪ ۹۵/۲، آمیکاسین ٪۷۷/۳ گزارش گردید که در مقایسه با ایران، درصد حساسیت به سفتازیدیم (٪۶۱/۹)، سفتری‌آکسون (٪۶۰/۴) بالاتر است و درصد حساسیت به ایمی‌پنم (٪۱۰۰)، پیپراسیلین/تازوباکتام (٪۸۴/۶)، آمیکاسین (٪۶۹/۲۳) تقریبا" برابر می‌باشد(۱۵). تحقیق دیگری در تگزاس توسط Yvonne Vasquez و همکاران در سال ۲۰۰۱ انجام شده درصد حساسیت به سفوتاکسیم ٪۹۹/۷، آمیکاسین ٪۱۰۰، پیپراسیلین ٪۶۹/۸، کربنی‌سیلین ٪۴۸، جنتامایسین ٪ ۹۷/۲، سیپروفلوکساسین ٪۹۳/۷ گزارش شده است که در مقایسه با ایران حساسیت بالاتری را نشان می‌دهند(۱۶). در بین نمونه‌های مورد بررسی در این تحقیق، نمونه‌ها مقاومت بالایی به آنتی‌بیوتیک پیپراسیلین نشان دادند(٪ ۸۳)، در صورتیکه نمونه‌ها ی مذکورنسبت به آنتی بیوتیک پیپراسیلین که همراه با تازوباکتام مورد بررسی قرار گرفت حساسیت بالایی داشتند (٪۸۴/۶). بررسیهای Nwanze و همکاران در سال ۲۰۰۵ در نیجریه فراوانی سوشهای حساس به سیپروفلوکساسین (٪۴۱)، جنتامایسین (٪۵۴) در مقایسه با ایران(به ترتیب ٪۴۵ و ٪۶۷) تقریبا" برابر می‌باشد(۱۷) در صورتیکه تحقیقات Inna Chmelnitsky و همکاران در سال ۲۰۰۵ حاکی از بالاتر بودن فراوانی سوشهای حساس به سفتازیدیم در ایران در مقایسه با اسرائیل است (ایران: ٪۶۱/۹، اسرائیل: ٪۴۵ (۱۸). همچنین Seok Hoon Jeong و همکاران در سال ۲۰۰۴ نشان دادند که میزان سوشهای مقاوم به این آنتی‌بیوتیک در مقایسه با کره بالاتراست(ایران: ٪۳۰/۴، کره: ٪۱۱). سوشهای مقاوم به سفوتاکسیم درکشور ما نیزفراوانی بیشتری درمقایسه با کره نشان می دهند(۱۹). از طرف دیگر بر اساس نتایجی که Carole و همکاران در سال ۲۰۰۵ بدست آورده‌اند، میزان مقاومت به جنتامیسین در کشور ما پائینتر از لبنان (ایران:٪۲۷/۱، لبنان: ٪۴۲) ولی میزان مقاومت به آمیکاسین در هر دو کشور تقریبا" یکسان است (ایران: ٪۱۲/۷،لبنان: ٪۱۷)(۱۱). همچنین، بررسی نتایج بدست آمده درتحقیقی که توسط Kader AA و Kumar A در سال ۲۰۰۵ انجام شد، میزان سوشهای حساس به آمیکاسین و سوشهای حساس به پیپراسیلین/تازوباکتام درایران به ترتیب پائینتر و بالاتراز آلمان است(ایران : میزان سوشهای حساس به آمیکاسین و پیپراسیلین/تازوباکتام بترتیب ٪۶۹/۲۳ و٪۸۴/۶ ، آلمان: ٪۷۲/۸و٪۶۶)(۲۰).در این مطالعه ٪۴۲/۷ سوشهای ایزوله شده تولیدکننده ESBLs بودند. مدت زیاد بستری شدن، مصرف زیاد آنتی‌بیوتیک (خصوصاً سفتازیدیم)، بستری شدن در بخش ICU استفاده از سوندهای ادراری، جز عوامل تولید کننده ESBLs هستند(۲۱). سوشهای تولیدکننده ESBLs معمولاً سوشهایی با مقاومت چندگانه هستند. نتایج منتشره در تحقیقات علمی مختلف مربوط به ژنهای ESBL (سالهای ۲۰۰۶- ۱۹۹۸) نشان می‌دهند که درصد سویه های E. coli تولید کنندهٔ ESBL در کشورهای روسیه ٪۱۵/۸ (۹)، ایالات متحده ٪۲۰(۱۰)، هندوستان ٪۴۱(۲۲) ، انگلیس ٪۲۶/۳(۲۳)، یونان ٪۴/۸۸ (۲۵) می‌باشد. در این مطالعه ٪۸۶/۴ از سویه‌های حاوی آنزیم ESBL مقاوم به پیپراسیلین بوده در حالیکه مقاومت به پیپراسیلین/ تازوباکتام در این دسته ٪۲۷/۹ 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 سفالسپورینهای نسل سوم از آن استفاده نمود. در تحقیق دیگری که Carole Moubareck و همکاران در سال ۲۰۰۵ انجام دادند، تمام نمونه های $ESBL^{+}$ مقاوم به سفتازیدیم بودند(۱۱). در تحقیق صورت گرفته توسط ما نیز تمام نمونه های ESBL مثبت، نسبت به سفتازیدیم و سفوتاکسیم مقاوم و یا حدواسط (nonsusceptible) شناخته شده‌اند، همچنین در نمونه های ESBL مثبت بالاترین درصد نمونه‌های جداشده مربوط به نمونه‌های زخم (٪ ۴۲/۸) و سپس نمونه‌های خلط (٪۳۳/۳)، مدفوع (٪۳۰)و ادرار (٪۲۹/۳) می‌باشند. در بین نمونه‌های تحت بررسی فاقد آنزیم ESBL ۷ نمونه دارای MIC_{CAZ} برابر یا بیش از ۱۲۸ میکروگرم در میلی لیتر بوده که نشان دهنده این است که مکانیزمهای دیگری غیر از آنزیم بتالاکتاماز در ایجاد مقاومت در این سویه‌ها نقش دارند. بتالاکتامازهای نوع CTX-M گروهی از آنزیمهای پلاسمیدی هستند که در کلاس A آمبلر (Ambler) جای گرفته‌اند آنزیمهای خانواده CTX توسط کلاوولانیک اسید و تازوباکتام به خوبی مهار می‌شوند (۲۵). در مطالعه انجام شده توسط Fursova N و همکاران در سال ۲۰۰۵، CTX-M، ٪۲۲ از ESBLs را در بر می‌گیرد(۲۶). ایزوله های E. coli تولید کننده ژنهای بتالاکتامازی وسیع الطیف (ESBL) نوع CTX-M در انسان در دهه ۹۰ شناسایی گردید و در حال حاضر عامل بیشترین عفونتهای حاد اجتماعی به شمار می‌روند(۲۷). تحقیقات علمی مختلفی که در طی سالهای۲۰۰۶-۲۰۰۱ انجام شده، نشان می‌دهد که ارگانیسمهای تولید کنندهٔ ESBL نوع CTX-M در کشورهای ویتنام ٪۱۸/۷(۲۸) ، اسپانیا ٪۸/ ۵۵ (۲۹) ، تانزانیا ٪۲۳/۱ (۳) ، کره ٪۷۲ (۳۰)، ایتالیا ٪۷۵/۴ (۳۱)، فرانسه ٪۵۸ (۳۲) ، بلژیک ٪۵۳ (۳۳)، کانادا ٪۶۴ (۱۴)، روسیه ٪۳۳/۲ ، نسبت به کشور ما بالاتر است(ایران:٪۱۸/۱). در بین نمونه های تحت بررسی تعداد ۴۳ نمونه، ESBL و CTX مثبت بودند، که از نمونه های فوق الذکر تعداد ۴۳ نمونه (٪۱۰۰) دارای MIC_{CAZ} برابر یا بیش از ۴ و ۴۱ نمونه (٪۹۵/۳) دارای MIC_{CAZ} برابر یا بیش از ۱۲۸ میکروگرم در میلی لیتر شناسایی شدند. در مطالعه ما تمام سویه های حاوی ژن CTX نسبت به سفوتاکسیم مقاوم و یا حدواسط دیده شدند. بتالاکتامازهای نوع PER نیز از جمله آنزیمهایی هستند که توجه زیادی را به خود معطوف داشته‌اند. آنزیم PER-1 اولین ESBL بود که در سال ۱۹۹۳ در Pseudomonas aeroginosa شناسایی شد و ویژگیهای آن بطور کامل مشخص گردید (۸). نمونه‌های حاوی آنزیم PER مقاومت بالایی نسبت به سفالوسپورینهای نسل سوم ایجاد می‌کنند

در بررسی انجام شده در ویتنام نمونه‌ای که حاوی ژن PER باشد، یافت نشد(۲۸). همانند تحقیقهایی که در ویتنام (۲۸) و ترکیه (۳۴) صورت گرفت، در این تحقیق نیز ایزوله ای از *E. coli* که تولید کننده آنزیم PER باشد ، در بین نمونه‌های مورد بررسی شناسایی نگردید. در بین نمونه های بالینی *E. coli* سویه هایی بدست آمده‌اند که دارای MIC های بالا نسبت به سفتازیدیم هستند ولی فاقد ژنهای CTX بودند، در این مطالعه ۴ سویه حاوی ژن CTX فاقد آنزیم ESBL بودند. بخشی از نمونه های بالینی *E. coli* که حاوی آنزیمهای ESBL هستند که مقاومت بالایی نسبت به سفتازیدیم ایجاد نکرده‌اند بطوریکه MIC_{CAZ} در آنها کمتر از۳۲ میکروگرم در میلی لیتر و حتی در تعدادی از آنها کمتر از ۲ میکروگرم در میلی لیتر می‌باشد. در محدودهٔ کمتر از ۲ میکروگرم در میلی لیتر هیچ یک از این نمونه های $ESBL^+$ دارای ژنهای CTX نیستند. در این تحقیق ژن CTX، صرفا" درMIC برابر یا بیش از ۶۴ میکروگرم در میلی لیتر دیده می شوند و MIC های پائین فاقد نمونه های حاوی CTX هستند. به عبارت دیگر، نمونه هایی که واجد ژنهای CTXهستند، MIC های بالایی در برابرسفتازیدیم دارند.

نتیجه گیری

ارگانیسم های تولید کنندهٔ ESBL مسئول ایجاد عفونتهای بیمارستانی، شیوع بیماری ومرگ ومیرمی‌باشند. بنابراین، کنترل انتقال و شیوع ارگانیسمهای فوق ذکر ضروری می‌باشد. نتایج ما نشان می‌دهد که، *E. coli* تولیدکنندهٔ ESBL، در بیمارستانهای تهران دارای شیوع بالایی می‌باشند. به منظورجلوگیری ازشکست درمانی دراثردرمان آنتی‌بیوتیکی نامناسب، تشخیص آزمایشگاهی دقیق لازم است. اما جهت جلوگیری از شیوع سویه‌های مقاوم به داروهای جدید همواره مصرف آنها باید کنترل شود و سویه‌های تحت درمان دائما مورد بررسی قرارگیرند. بالا بردن سطح آگاهی های عمومی جامعه در رابطه با شیوع مقاومتهای آنتی‌بیوتیکی، رعایت بهداشت فردی و اجتماعی در جامعه، پرهیز از مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیکها ، بکارگیری نیروهای متخصص در مراکزتشخیصی- درمانی، شناسایی سویه های مولد ESBLs و ایزولاسیون بیماران حامل این سویه ها و غیره از اقداماتی است که می‌توانند در جلوگیری از شیوع ارگانیسمهای مقاوم به آنتی‌بیوتیک مفید واقع شوند.

تشکر و قدردانی

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

REFERENCES

1. Cao Bin, Wang Hui, Zhu Renyuan, Ning Yongzhong, Xie Xiuli, Xu Yingchun,et al. Outcome of cephalosporin treatment of bacteremia due to CTX-M–type extended-spectrum h-lactamase–producing Escherichia coli. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 56 2006. 351–357

2.Yagi, T., H. Kurokawa, K. Senda, S. Ichiyama, H. Ito, S. Ohsuka, K. Shibayama, K. et al.. Nosocomial spread of cephem-resistant Escherichia coli strains carrying multiple Toho-1-like beta-lactamase genes. Antimicrob. Agents Chemother. 1997. 41:2606-2611.

3. Faustine Ndugulile, Roland Jureen, Stig Harthug, Willy Urassa and Nina Langeland. Extended Spectrum β-Lactamases among Gram-negative bacteria of nosocomial origin from an Instensive Care Unit of a tertiary health facility in Tanzania. BMC Infectius Disease. 2005.,P.1-6.

4.David L. Paterson and Robert A.Bonomo. Extended-Spectrum beta-Lactamases:a clinical update, Clin.Microbiol. rewiev,2005,Vol.18,No.4,Pp.657-686.

5.Ishii, Y., A. Ohno, H. Taguchi, S. Imajo, M. Ishiguro, and H. Matsuzawa. Cloning and sequence of the gene encoding a cefotaxime-hydrolyzing class A beta-lactamase isolated from Escherichia coli. Antimicrob. Agents Chemother. 1995. 39:2269-2275.

6.Ma, L., Y. Ishii, M. Ishiguro, H. Matsuzawa, and K. Yamaguchi. Cloning and sequencing of the gene encoding Toho-2, a class A beta-lactamase preferentially inhibited by tazobactam. Antimicrob. Agents Chemother. 1998. 42:1181-1186.

7.Bantar, C., A. Famiglietti, M. Goldberg. The Antimicrobial Committee, and The National Surveillance Program (SIR) Participants Group. Three-year surveillance study of nosocomial bacterial resistance in Argentina. Int. J. Infect. Dis. 2000.P. 85-90.

8. Seema Singh. Extended-Spectrum beta-Lactamases: An overwiev, Diagnostic Laboratory Services.INC,1999.

9. Edelstein M., Pimkin M., Edelstein I., Narezkina A., Stratchounski L. High prevalence of nosocomial Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae producing CTX-M-type extended spectrum β-lactamases in Russian hospitals. Institute of Antimicrobial Chemotherapy, Smolensk, Russia. P1398.

10. Emilia Hadziyannis, Marion Tuohy, Linda Thomas, Gary W. Procop, John A. Washington, Geraldine S. Hall. Screening and confirmatory testing for extended spectrum-lactamases(ESBL) in Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, and Klebsiella oxytoca clinicali solates. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. 2000, 113 – 117.

11. Carole Moubareck, Ziad Daoud, Noha I. Hakimé, Monzer Hamzé, Nicole Mangeney, Hiam Matta, Jacques et al. Countrywide Spread of Community- and Hospital-Acquired Extended-Spectrum ß-Lactamase (CTX-M-15)- Producing Enterobacteriaceae in Lebanon,J. Clin.Microb.,July 2005, Vol.43,No.7,P.3309-3313.

12. Ebbing Lautenbach, Jean Baldus Patel, Warren B. Bilker, Paul H. Edelstein, and Neil O. Fishman, Extended-Spectrum ß-Lactamase Producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae: Risk Factors for Infection and Impact of Resistance on Outcomes,Clin. Infect. Dis. ,2001,Vol.32,P.1162-1171.

13. Jean M. Whichard, Kevin Joyce, Paul D. Fey, Jennifer M. Nelson, Frederick J. Angulo, and Timothy J. Barrett, β-Lactam Resistance and Enterobacteriaceae, United States,Emerging infect.Dis. J.,2005,Vol.11,No.9.

14. Johann D. Pitout D., Deirdre L. Church, Daniel B. Gregson, Barbara L. Chow, Melissa McCracken, et al. Laupland Molecular Epidemiology of CTX-M-Producing Escherichia coli in the Calgary Health Region: Emergence of CTX-M-15- Producing Isolates. Antimicrob Agents Chemother. 2007 April; 51(4): 1281–1286.

15. Anthony M. Nicasio, Pharm.D. Joseph L. Kuti, Pharm.D. David P. Nicolau, Pharm.D. FCCP the current state of multiple-drug resistant gram-negatIve bacilli in north america: insights from the society of infectious diseases pharmacists. Center for Anti-Infective Research and Development, Hartford Hospital, Hartford, Connecticut . Pharmacotherapy Publications. 2008; 28(2):235-249.

16. Yvonne Vasquez, MPH. W. Lee Hand, MD. Community-Acquired Urinary Tract Infection Isolates from Female Patients on the US (Texas)- Mexico Border. he Journal of Applied Research. Vol.4,No.2.

17.Nwanze, P. I. , Nwaru, L. M. , Oranusi, S. , Dimkpa, U. , Okwu, M. U. , Babatunde, B. B. , et al. Urinary tract infection in Okada village: Prevalence and antimicrobial susceptibility pattern. Scientific Research and Essay. 2007 April. Vol. 2 (4), pp. 112-116,

18. Inna Chmelnitsky, Yehuda Carmeli, Azita Leavitt, Mitchell J. Schwaber, and Shiri Navon-Venezia , 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 , Antimicrobial Agents and Chemotherapy, November 2005, Vol. 49, No. 11,Pp. 4745-4750.

19. Seok Hoon Jeong, Il Kwon Bae, Jung Hun Lee, Seung Ghyu Sohn, Geun Ho Kang, Ghil Ja Jeon, et al. Molecular Characterization of Extended-Spectrum Beta-Lactamases Produced by Clinical Isolates of Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli from a Korean Nationwide Survey, Journal of Clinical Microbiology, July 2004 Vol. 42, No.7, P p. 2902-2906.

20.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 May-Jun;25(3):239-42.

21. Lucet JC,Chevert S ,Vanjak D ,Decre D ,Macrez A & Wolff M :Out break of multiple resistance Enterobacteriaceae in an intensive care unit : Epidemiology and risk factor acquisition.Clin Infect Dis 1996, 22:430-436.

22. Babypadmini S, Appalaraju B. extended-spectrum beta-lactamase In urinary isolates of Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae - prevallence and susceptIbility pattern in a tertiary care hospital. Indian Journal of Medical Microbiology, (2004) 22 (3):172-174.

23. Melzer M. , Petersen I. and Cheasty T. The difference in serotypes between extended-β-lactamase (ESBL) and non-ESBL-producing E. coli blood culture isolates at a UK district general hospital. Journal of Hospital Infection. Volume 68, Issue 4, April 2008, Pages 367-369.

24. Vasilaki O., Manolopoulos C., Raptis G., Alexiou-Daniel S. Comparison of the E-test method with the VITEK 2 antimicrobial susceptibility detection system for screening of extended-spectrum beta-lactamase Klebsiella and E. coli strains in a Greek university hospital. European Socity of Clinical Microbiology and Infection Diseases. 2007. Abstract number: p450

25. Ahmed A, Li J, Shiloach Y, Robbins J, Szu S. Safety and immunogenicity of Escherichia coli O157 O-specific polysaccharide conjugate vaccine in 2-5-year-old children. J Infect Dis. 2006.193 (4): 515-21. PMID 16425130.

26. Fursova N., Abaev I., Korobova O., Pecherskikh E., Shishkova N., Pryamchuk S., et al. Comparative study for conjugative plasmids carrying CTX-M genes in Escherichia coli nosocomial isolates. European Socity of Clinical Microbiology and Infection Diseases. Abstract number: 1733_85.

27. Delphine Girlich, Laurent Poirel, Alessandra Carattoli, Isabelle Kempf, Marie-Frédérique Lartigue, Alessia Bertini, et al. Extended-Spectrum ß-Lactamase CTX-M-1 in Escherichia coli Isolates from Healthy Poultry in France. Applied and Environmental Microbiology,July2007,p.4681-4685,Vol.73,No.14.

28.Van Coa, Thierry Lambert, Duong Quynh Nhu, Huynh Kim Loan, Nguyen Kim Hoang, Guillaume Arlet, et al. Distribution of Extended-Spectrum β-Lactamases in Clinical Isolates of Enrerobacteriaceae in Vietnam. Antimicrobial Agents and Chemotherapy.December 2002., P. 3739-3743.

29.Laura Brinas, Myriam Zarazaga, Yolanda Sáenz, Fernanda Ruiz-Larrea, and Carmen Torres, ß-Lactamases in Ampicillin-Resistant Escherichia coli Isolates from Foods, Humans, and Healthy Animals,Antimicrob.Agents Chemother.,October 2002, Vol. 46, No. 10, P. 3156 - 3163.

30. Hyunjoo Pai, MD; Mi Ran Kim, MD; Mi-Ran Seo, BS; Tae Yeal Choi, MD; Sung Hee Oh, MD. A Nosocomial Outbreak of Escherichia coli Producing CTX-M-15 and OXA-30 β-Lactamase. Infect Control Hosp Epidemiol. 2006; 27:312–314.

31. Migliavacca R., Balzaretti M., Nucleo E., D'Andrea M.M., Mugnaioli C., Spalla M., Giani T., et al. Detection of CTX-M-14 □-lactamase in Escherichia coli from a long-term care and rehabilitation facility in northern Italy. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. 2007. Abstract number: 1732_278.

32.Jean-Philippe Lavigne, Hélène Marchandin, Julien Delmas, Nicole Bouziges, Evelyne Lecaillon, Laurent Cavalie, et al. qnrA in CTX-M-Producing Escherichia coli Isolates from France Antimicrob Agents Chemother. 2006 December; 50(12): 4224–4228.

33. Rodriguez-Villalobos H., Cuvelier S., Dom I., Frankard J., Malaviolle V., Deplano A., et al. Community-associated emergence of CTX-M and TEM extended spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing Escherichia coli in Belgium. Abstract number: 1134_01_22.

34. ERAC B., GULAY Z. Molecular Epidemiology of PER-1 Extended Spectrum-Lactamase among Gram-negative Bacteria Isolated. Folia Microbiol. (2007) . 52 (5), 535–541