تحقیقی

شناسایی باسیلهای گرم منفی مولد بتالاکتاماز طیف وسیع از باکتریهای جدا شده از موارد بالینی

حسن حسین زادگان
استادیار گروه میکروب شناسی دانشکده پزشکی ،
دانشگاه علوم پزشکی لرستان- شهر خرم آباد

آماندا حسنی
پزشک عمومی بیمارستان شهدای عشایر، شهر خرم آباد

مژگان آزاد پور
کارشناس آزمایشگاه بیمارستان شهدای عشایر خرم آباد

سهیلا سلیمان نژاد
کارشناس آزمایشگاه بیمارستان شهدای عشایر خرم آباد

فرزانه محمدی
کارشناس پرستاری بیمارستان شهدای عشایر خرم آباد

نویسنده مسئول: حسن حسین زادگان
پست الکترونیک:
asadzade_2003@yahoo.com
تلفن: ۰۹۱٦۳٦۷۸۷٦۲
آدرس: استان لرستان، شهر خرم آباد، پردیس دانشگاهی(کمالوند)، دانشکده پزشکی- گروه میکروب شناسی

وصول مقاله: ۸٦/۱۰/۲۳
اصلاح نهایی: ۸٦/۱۲/٦
پذیرش مقاله: ۸٦/۱۲/۱۹

چکیده

زمینه و هدف: *مقاومت آنتی بیوتیکی در بین باکتری ها و از جمله سویه های مولد بتالاکتاماز طیف وسیع یا ESBL (Extended Spectrum Beta Lactamases) اخیرا به عنوان یکی از مشکلات بهداشتی درمانی نوپدید در سطح دنیا مطرح شده اند. برخی از سویه های باسیلهای گرم منفی، از جمله گونه های کلبسیلا پنومونیه و اشرشیا کولی از مولدین اصلی و شناخته شده ESBL در بین باکتریها هستند. و عفونتهای غیر قابل کنترلی را ایجاد می کنند. این مطالعه برای شناسایی باسیلهای گرم منفی مولد بتالاکتاماز طیف وسیع در باکتریهای جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان شهدای عشایر شهر خرم آباد در یک دوره ۶ ماهه اجرا شده است.*

روش بررسی: *نمونه های ارسال شده به آزمایشگاه با روشهای استاندارد باکتری شناسی کشت و شناسایی شدند، و باسیلهای گرم منفی از نظر تولید ESBL با روش توصیه شده انستیتو ملی استانداردهای آزمایشگاهی (کشت روی محیط مکانکی آگار دارای ۴ میکروگرم در هر میلی لیتر سفتازیدیم و روش دیسک دوگانه) شناسایی شدند.*

یافته ها: *در این مطالعه از ۲۲۵ نمونه کشت مثبت باسیلهای گرم منفی، ۵۳ مورد (۲۳/۵۵٪) از نظر ESBL مثبت بودند. کلبسیلا پنومونیه با ۲۰ مورد (۸/۸۸٪) و اشرشیاکلی و سودوموناس آئروژینوزا هر کدام با ۱۰ مورد(۴/۴۴ ٪) از فراوانترین باکتریهای مولد ESBL در این مطالعه بودند .بیشترین باسیل های ESBL مثبت از نمونه ادرار (۲۱ مورد معادل ۳۹/۶۲٪) و در مرتبه بعد نمونه ریه با ۱۰ مورد (۱۸/۸۶ ٪) جدا شدند.*

نتیجه گیری: *نتایج این مطالعه نشان می دهد که باسیلهای گرم منفی مولد ESBL از بیمارستان شهدای عشایر شهر خرم آباد به فراوانی جداسازی می شوند. با توجه به مقاومت بالای این سویه ها در برابر اکثر آنتی بیوتیکهای رایج و اخیرا حتی برخی سویه های مقاوم در برابر کاربا پنم ها، نیازمند تدوین سیاستهای لازم در شناسایی روزمره و کنترلی در رابطه با انتشار و تولید این نوع از باکتریها هستیم.*

واژه های کلیدی : *اشرشیاکلی، کلبسیلا پنومونیه، بتالاکتاماز طیف وسیع، خرم آباد*

مقدمه

مقاومت آنتی بیوتیکی در بین باکتریها از سالهای دور یکی از مشکلات بهداشتی درمانی در سطح دنیا بوده است. در این میان برخی از انواع مقاومتهای دارویی اهمیت فوق العاده ای در عفونتهای بیمارستانی دارند. نوعی از مقاومت به واسطه تولید آنزیمهایی به نام بتالاکتامازها صورت می گیرد، که عامل مقاومت در برابر داروهای بتالاکتامی است. اخیرا برخی از سویه های باسیلهای گرم منفی و از جمله گونه های کلبسیلا پنومونیه و اشرشیاکولی پیدا شده اند، که نوع خاصی از آنزیمهای بتالاکتاماز بنام بتالاکتامازهای طیف وسیع ESBL را تولید می نمایند. این سویه ها در برابر پنی سیلینها، سفالوسپورینهای طیف وسیع ، و آزترئونام (منوباکتامها) از خود مقاومت نشان می دهند. سویه های ESBL برای میکروبیولوژیستهای بالینی، کلینیسینها، متخصصین حرفه ای کنترل عفونت، و تولیدکنندگان داروهای ضد باکتریال مشکلات لاینحلی را ایجاد نموده اند.(۱)

الگوهای مختلفی برای طبقه بندی بتالاکتامازها وجود دارد. یکی از این روشها که عمدتاً از آن استفاده می شود ، بوسیله بوش(Bush)، جاکوبی(Jacoby) و مدیروس(Medeiros)، ابداع شده است، که بر اساس نوع سوبستراها، ممانعت کنندگی و خصوصیات فیزیکی نظیر وزن ملکولی و نقطه ایزوالکتریک بتالاکتامازها به ۴ گروه تقسیم می شوند. یکی از این گروه ها بتالاکتامازهای طیف وسیع (ESBL) هستند که پس از تولید و مصرف انبوه سفالوسپورین های طیف وسیع ظاهر شدند. (۳،۲) این آنزیمها اولین بار در اوایل دهه ۱۹۸۰ از اروپا گزارش شدند (۴) و در حال حاضر از تمام کشورهای جهان گزارش می شوند. (۶،۵) آنزیمهای بتالاکتاماز طیف وسیع انواع تغییر یافته آنزیمهای اولیه SHV-1 ,TEM-2, TEM-1 هستند. این تغییر عمدتاً شامل تنها تغییر ردیف یک یا چند اسید آمینه در ترادف اسیدهای آمینه است.(۲)

در ایران مطالعه جامعی در این باره نشده است. در برخی مطالعات مقاومتهای دارویی در برابر سفالوسپورینهای نسل سوم و بقیه داروهای طیف وسیع انجام گرفته است، که عمدتاً به مقاومت باسیلهای گرم منفی شایع جداشده در بیمارستانها در برابر داروهای طیف وسیع از قبیل سفتازیدیم، سیپروفلوکساسین، و سفتیزوکسیم ، سفالوسپورینهای نسل سوم متمرکز شده اند(۱۰-۷)اخیرا مسجدیان و همکاران مقاومت با واسطه تولید ESBL را در سویه های اشرشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه با روشهای آزمایشگاهی و ژنتیکی بررسی نموده اند(۱۱) .

درصد سویه های مولد بتالاکتاماز طیف وسیع در ایران و اکثر کشورهای آسیایی مشخص نیست. به صورت تخمینی۱۹-۷ ٪ اشرشیاکولی و۳۸-۲۷ ٪ گونه های کلبسیلا در کشور مالزی مولد بتالاکتاماز طیف وسیع اند.(۱۲) در حالی که در کشور ما آمار دقیقی در این مورد در دست نبوده، نیازمند تحقیقات بیشتر در این زمینه ایم.

با توجه به مطالب ذکر شده ، نیز به دلیل نقش و اهمیت سویه های مولد ESBL در عفونتهای بیمارستانی غیر قابل کنترل، این پژوهش به منظور بررسی وجود سویه های نامبرده در بخشهای مختلف بیمارستانی در شهر خرم آباد طراحی شده است.

روش بررسی

این مطالعه از نوع مقطعی (cross-sectional) است، که در یک دوره ۶ ماهه از دی ماه ۱۳۸۵ تا خرداد ماه ۱۳۸۶ در بیمارستان شهدای عشایر شهر خرم آباد اجرا شده است. از پودر سفتازیدیم ساخت شرکت داروسازی اکسیر با سری ساخت ۰۰۶۱۱۰۶ و دیسک های (Aug 30C) Augmentin، Ceftazidime (CAZ 30C)،Cefotaxime(CTX 30C) Cefpodoxime (CPD 10C) ، Ceftriaxone (CRO30C)، همگی ساخت شرکت Mast Group (Merseyside, U.K) Ltd استفاده شد. از دیسک توام سفتازیدیم و سفتازیدیم + کلاولانیک اسید نیز برای تائید فنوتیپی سویه های مورد آزمایش استفاده شد.

از کل ۲۲۵ نمونه کشت مثبت باسیلهای گرم منفی در دوره ۶ ماهه ۱۵۶ نمونه در آنتی بیوگرام روتین مقاومت چندگانه در برابر سفالوسپورینها و از جمله سفتازیدیم داشتند، و برای تولید بتالاکتاماز طیف وسیع انتخاب شدند. این سویه ها ابتدا با کشت در محیط مکانکی آگار دارای ۴میلی گرم سفتازیدیم در لیتر از نظر حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد ،غربالگری شدند. سویه های رشد یافته در محیط نامبرده، در مرحله بعد یک شب در براث نوترینت کشت شدند. کدورت آنها معادل لوله نیم مک فارلند تنظیم شد. با استفاده از سواپ پنبه ای با روش کربی بایر در روی محیط مولر هینتون به صورت چمنی کشت شد، سپس دیسک کوآموکسی کلاو در وسط پلیت و هر کدام از دیسکهای سفتازیدیم، سفوتاکسیم، و سفتریاکسون با غلظت های ۳۰میکروگرم ، و سفپودوکسیم(۱۰میکروگرم) با ۲/۵-۳ سانتی متر فاصله از آن قرار داده شدند.

پس از ۲۴ساعت انکوباسیون در ۳۵درجه سانتی گراد هاله های عدم رشد در اطراف دیسکها مورد مشاهده قرار می گرفت. در صورت مشاهده هر گونه تشدید هاله عدم رشد در حد فاصل

دیسک مرکزی با دیسکهای محیطی و بویژه سفتریاکسون سویه را مولد احتمالی ESBL در نظر گرفته، و مطابق روش زیر از نظر فنوتیپی تائید می شدند.(۱۴-۱۲)

تائید فنوتیپی تولید ESBL: به دنبال مثبت شدن سویه ها در روش غربالگری از روش زیر برای تائید فنوتیپی سویه ها استفاده شد. در این روش دیسکهای سفتازیدیم(۳۰میکروگرمی) به همراه سفتازیدیم/کلاولانیک اسید (۳۰/۱۰ میکرو گرم) روی محیط مولر هینتون آگارکشت شده ، با سوسپانسیون نیم مک فارلند باکتری قرار داده می شدند. همانند روش بالا در ۳۵ درجه سانتی گراد به مدت یک شب انکوبه شده، در صورتی که هاله عدم رشد در کنار دیسک های شامل ترکیب آنتی بیوتیک با کلاولانیک اسید ۵ میلی متر بیشتر از قطر هاله عدم رشد در کنار دیسک مربوطه به تنهایی باشد، بدون در نظر گرفتن قطر هاله عدم رشد، مطابق توصیه انستیتو استاندارد ملی آزمایشگاه بالینی، مولد بتالاکتاماز طیف وسیع در نظر گرفته می شد.

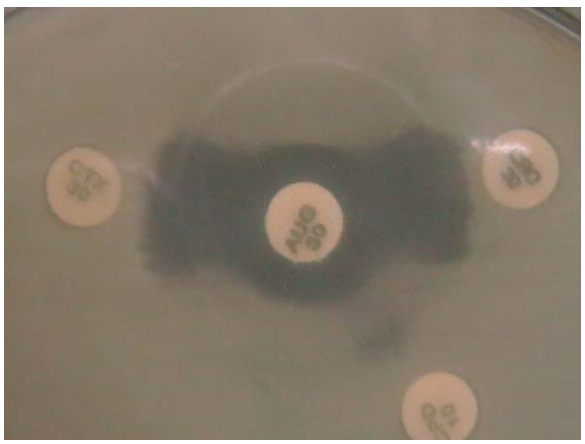
یافته ها

در این مطالعه از ۲۲۵ نمونه کشت مثبت باسیلهای گرم منفی ، ۱۰۳ مورد روی محیط مکانکی آگار دارای ۴ میلی گرم در هر لیتر سفتازیدیم رشد یافتند.(MIC معادل ۴ میکروگرم در میکرولیتر) این سویه ها در برابر سفتازیدیم مقاوم بودند. که از آنها ۵۳ مورد (۲۳/۵۵٪) از نظر ESBL مثبت بودند. نمونه ای از سویه های مولد ESBL با دیسکهای ترکیبی و تائید شده با روش دیسک دوگانه در شکل های ۱ و ۲ آورده شده است. کلبسیلا پنومونیه با ۲۰ مورد (۸/۸۸٪) بیشترین ، و بقیه به ترتیب اشرشیاکلی و سودوموناس آئروژینوزا هر کدام با ۱۰ مورد(۴/۴۴٪)، انتروباکتر با ۴ مورد(۱/۷۷ ٪)، پرووویدنسیا، سیتروباکتر و آسینتوباکتر هر کدام با ۲ مورد(۰/۸۸٪)، پروتئوس و آئروموناس هر کدام با ۱ مورد(۰/۴۴٪) موارد سویه های مثبت مولد بتالاکتاماز طیف وسیع را تشکیل داده بودند. (جدول-۱) اگرچه روش مورد استفاده برای بررسیهای آزمایشگاهی تولید ESBL در سویه های غیر از جنس های کلبسیلا و اشرشیا مورد بحث است.

جدول۱: توزیع فراوانی گونه های مختلف باسیلهای گرم منفیESBL در شهر بیمارستان شهدای عشایر خرم آباد

	کل ایزوله ها (درصد)	رشد در محیط دارای سفتازیدیم (درصد)	مولد بتالاکتاماز طیف وسیع (درصد)
کلبسیلا پنومونیه	۵۰ (۲۲/۲۲٪)	۳۲(۱۴/۲۲٪)	۲۰(۸/۸۸٪)
سودوموناس آئروژینوزا	۲۷(۱۲٪)	۱۹(۸/۴۴٪)	۱۰(۴/۴۴٪)
اشرشیاکلی	۸۷(۳۸/۶۶٪)	۲۴(۱۰/۶۶٪)	۱۰ (۴/۴۴٪)
انتروباکتر	۱۹(۸/۴٪)	۹(۴٪)	۴(۱/۷۷٪)
پرووویدنسیا	۷(۳/۱٪)	۴(۱/۷۷٪)	۲(۰/۸۸٪)
سیتروباکتر	۹(۴٪)	۵(۲/۲۲٪)	۲(۰/۸۸٪)
آسینتوباکتر	۹(۴٪)	۳(۱/۳۳٪)	۲(۰/۸۸٪)
پروتئوس	۱۲(۵/۳۳٪)	۴ (۱/۷۷٪)	۱(۰/۴۴٪)
آئروموناس	۵(۲/۲۲٪)	۳(۱/۳۳٪)	۱(۰/۴۴٪)
کل	۲۲۵ (۱۰۰٪)	۱۰۳ (۴۵/۷۷٪)	۵۲(۲۳/۵۵٪)

قابل ذکر است که تعدادی از سویه ها که در غربالگری اولیه در محیط دارای سفتازیدیم (با MIC بالای ۴ میکروگرم در هر میلی لیتر) رشد یافته بودند، سایر کلاس های بتالاکتامازها از قبیل AmpC را تولید می کردند، که در این مطالعه مورد بررسی قرار نگرفتند بیشترین باسیلهای ESBL مثبت از نمونه ادرار (۲۱ مورد معادل ۳۹/۶۲٪) و در مرتبه بعد نمونه ریه با ۱۰ مورد (۱۸/۸۶ ٪) جدا شدند. ۳۵ مورد از کل نمونه ها شامل ادرار، خون و ترشحات ریه (۶۶٪) از نمونه های ذاتا استریل بودند.



شکل۱: روش دیسک ترکیبی که در آن دیسک آموکسی کلاو در مرکز پلیت کشت داده شده و دیسک های های سفتازیدیم، سفوتاکسیم، و سفتریاکسون با غلظت های ۳۰میکروگرم ، و سفپودوکسیم(۱۰میکروگرم) با فاصله ۲/۵-۳ سانتی متر فاصله از آن قرار داده می شوند. هر گونه تشدید هاله عدم رشد در حد فاصل دیسک مرکزی با دیسکهای محیطی و بویژه سفتریاکسون پس از ۲۴ساعت انکوباسیون در ۳۵درجه سانتی گراد مولد احتمالی ESBL در نظر گرفته می شود.

شکل ۲: تائید فنوتیپی ESBL در این شکل نشان داده شده است . دیسکهای سفتازیدیم(۳۰میکروگرمی) به همراه سفتازیدیم/کلاولانیک اسید (۳۰/۱۰ میکرو گرم) با فاصله تقریبی ۲ سانتی متر از هم روی محیط مولر هینتون آگارکشت شده، با سوسپانسیون نیم مک فارلند باکتری قرار داده شدند. در صورتی که هاله عدم رشد در کنار دیسکهای شامل ترکیب آنتی بیوتیک با کلاولانیک اسید ۵ میلی متر بیشتر از قطر هاله عدم رشد در کنار دیسک سفتازیدیم به تنهایی باشد بدون در نظر گرفتن قطر هاله عدم رشد، مولد بتالاکتاماز طیف وسیع تائید می شود.

بحث

پدیده مقاومتهای دارویی بلافاصله پس از چند سال از مصرف انبوه آنتی بیوتیکها در جوامع انسانی شناخته شده است و به صورتهای مختلف تکی و یا چند دارویی دیده می شود . سویه های ESBL نوع خاصی از مقاومتهای دارویی اند که اولین بار در سال ۱۹۸۳ گزارش شدند(۴) و به دنبال آن از کشورهای مختلف در سطح دنیا گزارش شده اند. بنابراین از پدیده های جدید بهداشتی درمانی محسوب می شوند.

داوید و همکاران گزارش کرده اند که تا سال ۲۰۰۲- ۲۰۰۱ اکثریت سویه های جدا شده باکتریال مولد ESBL در بریتانیا از بخشهای تخصصی بیمارستانها گونه های کلبسیلا بوده است (۱۵).

شن و همکاران ۱۴ سویه کلبسیلا پنومونیه بیماریزا در کشور چین (شهر پکن) را با استفاده از روش دیسک دوگانه و نوار ETest ESBL مورد مطالعه قرار داده اند. در این سویه ها علاوه بر مقاومت در برابر سفالوسپورینها و بتالاکتامها، مقاومت متقاطع در برابر آمینوگلیکوزیدها، فلوروکینولونها، تتراسیکلینها، و کوتریموکسازول نیز گزارش شده است (۱۶).

گولای و همکارانش در دانشگاه دوکوز ایلول ازمیر کشور ترکیه با بررسی ۴۴ سویه کلبسیلا پنومونیه به صورت تصادفی که از عفونت های بیمارستانی جدا شده بود، در یافتند که تمامی سویه ها مقاوم آموکسی سیلین بودند. در حالی که ۲۶ تا از آنها هنگام استفاده همزمان از توام کلاولانیک اسید حساس گزارش شدند. در همین مطالعه ۳۹ تا از سویه ها مقاوم سفتازیدیم بودند که در استفاده همزمان از کلاولانیک اسید ۲۸ تا از آنها از خود حساسیت نشان دادند. بنا بر این ۸۴ درصد سویه ها را مولدESBL گزارش نمودند. و برای تائید آنها از روش دیسک دوگانه استفاده نمودند(۱۷).

کریستین و همکاران با بررسی ۱۳۹ سویه کلبسیلا پنومونیه جدا شده از ۱۹ آزمایشگاه در ۱۱ ایالت آمریکا و استفاده از روش دیسک دوگانه ۱۱۴ سویه (۸۲درصد) را مولد ESBL گزارش نمودند (۱۸). در یک مطالعه در آمریکا بر روی ۹۰۶ ایزوله انتروباکتریاسه نشان داده که ۸۳ مورد (۹ درصد) مولد ESBL بودند (۱۹).

در برخی مطالعات در ایران، مقاومتهای دارویی در برابر سفالوسپورینهای نسل سوم و بقیه داروهای طیف وسیع بررسی شده است. برای مثال در مطالعه قناعت و صادقیان مقاومت ۱۲۶۱ باکتری بیماریزا در برابر سه داروی طیف وسیع سفتازیدیم، سیپروفلوکساسین، و سفتیزوکسیم بررسی شد که هر سه دارو اثر خوبی روی باسیلهای گرم منفی داشتند.(۷) در مطالعه رستگار لاری و همکاران بر روی بیماران بستری مبتلا به عفونت ادراری ناشی از باسیلهای گرم منفی نشان داده شد که باکتریهای مختلف از جمله اشرشیا کلی، کلبسیلا ها، سودوموناس ، و پروتئوس ۱۴ درصد در برابر سفتازیدیم مقاوم بودند(۸).

اخیرا مسجدیان و همکاران با بررسی ۱۴۸ سویه اشرشیا کلی و ۷۰ سویه کلبسیلا پنومونیه با دو روش دیسک ترکیبی و دیسک دوگانه به ترتیب ۵۱ درصد(۷۶ مورد) و ۷۰ درصد(۴۹ مورد) را مولد ESBL گزارش نمود ند. این محققین سویه های اشرشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه مورد مطالعه را به ترتیب ۵۰ درصد و ۶۳ درصد دارای پلاسمیدهای مقاومت مربوط به آنزیمهای ESBL گزارش نموده اند.(۱۱)

در سایر کشورهای آسیایی نیز آمار مربوط به سویه های مولد بتالاکتاماز طیف وسیع تفاوت بارزی با کشور خودمان نداشته، اغلب به صورت طرحهای تحقیقاتی پراکنده می باشد برای مثال در ۱۹۹۴ ، چنگ و همکارانش الگوی مقاومت ۳۶۲۴۳ سویهٔ باکتریایی جدا شده از ۶ بیمارستان عمومی کشور مالزی در سالهای ۱۹۹۱ تا ۱۹۹۲ را گزارش نمودند.

در این مطالعه باکتریهای اشرشیاکولی ،کلبسیلا پنومونیه و سودوموناس آئروژینوزا به ترتیب ۵/۵ ٪، ۱۶/۶٪ و ۶/۸ ٪ در برابر سفتازیدیم مقاوم بودند . در این مطالعه تولید بتالاکتاماز طیف وسیع در سویه ها بررسی نشده بود (۱۲).

آزمایش تولید بتالاکتاماز طیف وسیع در سال ۱۹۹۵ برروی سویه های اشرشیاکولی و کلبسیلا پنومونیه مقاوم چند دارویی با استفاده از E-test در کشور مالزی اجرا شد. این سویه ها به ترتیب ٪۱۹ و ۲۷٪ مولد آنزیم بتالاکتاماز طیف وسیع بودند (۲۰).

مطالعه بیماران کلونیزه یا عفونی شده با باکتریهای مولد بتالاکتاماز طیف وسیع نشان داد که همه آنها دارای چندین عامل زمینه ساز عمومی اند.

از جمله این عوامل استفاده از انواع کاتترها، جراحیها، مصرف آنتی بیوتیکهای طیف وسیع، سابقه پرستاری و بستریهای طولانی مدت اند. پزشک معالج با مشاهده عوامل خطر ساز در بیمار بایستی احتمال وجود عفونت مرتبط با باکتریهای مولد بتالاکتاماز طیف وسیع را در نظر بگیرد. درچنین مواردی احتیاطهای بهداشتی جهت مدیریت، درمان، و کنترل عفونتهای مرتبط باید رعایت گردد(۲۱).

پیشنهادات

با توجه به فراوانی باسیلهای گرم منفی مولد ESBL و مقاومت بالای آنها در برابر اکثر داروهای طیف وسیع، به نظر می رسد که شناسایی سویه های مولد ESBL بایستی در برنامه روزانه آزمایشگاههای میکروبشناسی در مورد باسیلهای گرم منفی و از جمله اشرشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه گنجانده شوند.

علاوه بر این، بایستی کمیته های تجویز آنتی بیوتیک در بیمارستانها تشکیل شده، با جدیت بر مصرف آنتی بیوتیکهای طیف وسیع در بیمارستانها نظارت داشته باشند. شناسایی و ایزولاسیون بیماران ناقل باکتریهای مولد ESBL، بهداشتی نمودن محیط اتاق های بستری بیماران و بررسی و گزارش ماهانه سویه های مقاوم بیمارستانی به پزشکان نیز از سایر موارد مهم کنترل وممانعت از انتشار سویه های مقاوم نامبرده در بیمارستانها هستند.

References

1) David L. Paterson and Robert A. *Bonomo.Extended-Spectrum Lactamases: a Clinical Update.Clinic Microb Rev*, 2005; 18(4): 657–686.

2)-Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. *A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure***.** Antimicrob Agents Chemother. 1995;39(6):1211-33.

3) Thomson KS, Prevan AM, Sanders CC. *Novel plasmid-mediated beta-lactamases in enterobacteriaceae: emerging problems for new beta-lactam antibiotics***.** Curr Clin Top Infect Dis. 1996;16:151-63.

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

5) Paterson DL, Bonomo RA.*Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update*.Clin Microbiol Rev. 2005 ;18(4):657-86.

6) Harris AD, Kotetishvili M, Shurland S, Johnson JA, Morris JG, Nemoy LL, etal. *How important is patient-to-patient transmission in extended-spectrum beta-lactamase Escherichia coli acquisition***.** Am J Infect Control. 2007 ;35(2):97-101.

۷) قناعت ج ، صادقیان ع. *مقاومت میکروبی در عفونت های بیمارستانی. مجله گوش، گلو، بینی و حنجره ایران*، ۱۳۸۰؛ دوره ۱۳،شماره ۲۷: ٥٤-٤٤

۸) رستگار لاري ع ، شمشيري ا ، مسجديان ف ، سالك مقدم ع . *مقايسه حساسيت آزمايشگاهي افلوكساسين با سفترياكسون به روش حداقل غلظت مهاري بر ضد باكتري هاي گرم منفي جدا شده از بيماران بستري مبتلا به عفونت مجاري اداري*. فصلنامه ره آورد دانش، مجله دانشگاه علوم پزشكي اراك.۱۳۸۰؛ دوره ٤ شماره ۱۵: ٦-۱.

۹) مجتبايي ح ، نورصالحي ا. *بررسي نتايج مصرف آنتي بيوتيك در سپتي سمي گرم منفي كودكان و نوزادان*. مجله دانشكده پزشكي دانشگاه علوم پزشكي گيلان. ۱۳۸۳؛ دوره ۱۳، شماره ۵۰: . ٤٤-۳۹.

۱۰) فتحيه ع ، صفايي م. *بررسي اثر شيمي درماني بر فلور ميكروبي دهان كودكان مبتلا به لوسمي*. مجله دانشكده دندانپزشكي دانشگاه علوم پزشكي شهيد بهشتي. ۱۳۸۱؛ دوره ۲۰ ، شماره ۳: ۳٤۳-۳۳٦

۱۱) مسجديان جزي ف. بررسي *ملكولي مقاومت به آنتي بيوتيک هاي وسيع الطيف در اشرشياكلي و كلبسيلا پنومونيه*. مجله ميكروبشناسي پزشكي ايران، ۱۳۸۶، سال اول، شماره ۲ : ۳۴-۲۷.

12) Cheong YM, Lim VK, Jegathesan M, Suleiman AB. *Antimicrobial resistance in 6 Malaysian general hospitals***.** Med J Malaysia. 1994 ;49(4):317-26**.**

13) Zali m, Chanawong A , Kerr A G, Birkenhead D, and Hawkey PM . *Detection of extended spectrum b-lactamases in members of the family Enterobacteriaceae: comparison of the Mastd d test, the double disk and the E-test ESBL*. J. Antimicrob. Chemother. 2000; 45:881–885**.**

14) National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2000. *Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests*. 7th ed. Approved standard M2–A7 (M100–S10). NCCLS, Wayne, Pa.

15) http://www.hpa.org.uk/cdr/archive04/news2704.html

16) Shen D, Winokur P, Jones RN. *Characterization of extended spectrum beta-lactamase-producing Klebsiella pneumoniae from Beijing, China*.Int J Antimicrob Agents. 2001;18(2):185-8.

17) Gulay Z, Thomson CJ, Yulug N, Amyes SG. *High prevalence of extended spectrum beta-lactamase production among Klebsiella pneumoniae strains isolated at a University Hospital in Turkey*. J Chemother . 2000 ;12(2):145-52.

18) Christine D. S, Kamile J R, Susannah K H, etal. *Characterization of clinical isolates of Klebsiella pneumoniae from 19 laboratories using the national committee for clinical laboratory standards extended spectrum beta lactamase detection methods* . J Clinic Microbiol. 2001; 39: 2864-2872.

19) Occurance PE, Coudron PE, Moland ES, Sanders CG. *Detection of Extended Spectrum b-lactamases in Members of the Family Enterobacteriaceae at a Veterans Medical Centre:Seek and You May Find.* J Clin Microbilogy 1997;.35:2593-2597

20) Rahizan I. Int J Med Research 1998; 2: 93 – 95.

21) Wiener J, Quinn JP, Bradford PA, Goering RV, Nathan C, Bush K, Weinstein RA. *Multiple antibiotic-resistant Klebsiella and Escherichia coli in nursing homes*. JAMA. 1999 ;281(6):517-23.