

دارای رتبه علمی - پژوهشی از کمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور

فراوانی اشیریشیا کلی های مولد آنزیم بتالاکتاماز وسیع الطیف در گرگان

چکیده

زمینه و هدف: وجود ایزوله های مولد آنزیم بتالاکتاماز وسیع الطیف (ESBLs) برای سیستم بهداشتی مشکلات زیادی را به همراه خواهد داشت، این ایزوله ها علاوه بر افزایش مقاومت به سایر آنتی بیوتیک ها، احتمال انتقال سریع ژن های مقاومت به سفالوسپورین های نسل سوم به سایر سویه های کلینیکی و گسترش مقاومت دارویی را دارند. این مطالعه با هدف تعیین فراوانی این ایزوله و ژنهای مسئول آن در شهر گرگان در شمال ایران انجام شده است.

روش بررسی: 218 نمونه اشیریشیا کلی جدا شده از عفونت ادراری بیماران سرپائی مراجعه کننده به 6 آزمایشگاه تشخیص طبی شهر گرگان به مدت یکسال از تیرماه 1389 تا تیرماه 1390 مورد بررسی قرار گرفتند. مقاومت به سفوتاکسیم (MAST Co.) با روش کربی با اثر انجام شد و برای ایزوله های مقاوم، تست تائید فنوتیپا ارزیابی افزایش قطر هاله عدم رشد در حضور دیسک سفوتاکسیم/کلاولانیک اسید انجام شد. همچنین حضور ژنهای بتالاکتاماز وسیع الطیف *blaTEM*, *blaSHV*, *blaCTX-M* در سویه های ESBLs با استفاده از روش PCR مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته ها: مقاومت به سفوتاکسیم در 70 (32/1%) ایزوله اشیریشیا کلی مشاهده شد که از این تعداد 62 (88/6%) نمونه در تست تائیدی بعنوان ESBLs شناسائی شدند. 28 (45/2%)، 26 (41/9%) و 6 (9/7%) مورد از نمونه ها به ترتیب حاوی *blaCTX-M* و *blaTEM* و *blaSHV* بودند.

نتیجه گیری: فراوانی اشیریشیا کلی های مولد ESBL شهر گرگان در حد متوسط کشوری است و ژن *blaCTX-M* شایعترین ژن مسئول آن می باشد.

واژه های کلیدی: اشیریشیا کلی، سفالوسپورین نسل سوم، بتالاکتاماز وسیع الطیف، گرگان

مایا بابائی کوچکسرائی

کارشناسی ارشد، میکروبیشناسی دانشگاه آزاد اسلامی تنکابن

آیت الله نصرالهی عمران

استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن

نانه جاوید

کارشناس ارشد، دانشگاه علوم پزشکی گلستان

فاطمه شاکری

کارشناس ارشد، دانشگاه علوم پزشکی گلستان

مهسا یزدی

کارشناسی ارشد میکروبیشناسی دانشگاه آزاد اسلامی تنکابن

عزت الله قائمی

دانشیار، مرکز تحقیقات عفونی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان

نویسنده مسئول: مایا بابائی کوچکسرائی

تلفن:

پست الکترونیک:

mayasayeh@gmail.com

آدرس: تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی تنکابن

وصول مقاله: 91/1/19

اصلاح نهایی: 91/2/29

پذیرش مقاله: 91/3/4

آدرس مقاله:

بابائی کوچکسرائی م، نصرالهی آ، جاوید ن، شاکری ف، یزدی م، قائمی ع " فراوانی اشیریشیا کلی های مولد آنزیم بتالاکتاماز وسیع الطیف در گرگان ". مجله علوم آزمایشگاهی بهار و تابستان، 1391 دوره ششم (شماره 1): 51-58

مقدمه

آنتی بیوتیک های بتالاکتام بهترین گزینه برای درمان بسیاری از باکتری ها می باشند، آنها به دلیل قدرت سمیت پایین برای سلولهای یوکاریوتی، طیف اثر گسترده و اثر ضد میکروبی قوی، از پر مصرف ترین گروه آنتی بیوتیکی در دسترس هستند. در بین انواع مقاومتهای تولید شده بوسیله باکتریها، انواعی که توانائی تولید آنزیم بتالاکتاماز موثر علیه سفالوسپورین های نسل سوم به خصوص سفتازیدیم، سفپودوکسیم و سفوتاکسیم را دارند از نظر بالینی اهمیت خاصی دارنده این گروه باکتریهای مولد ESBLs (Expanded spectrum of β -lactamase) گفته می شود (1). اولین سویه ESBLs در سال 1983 در آلمان در کلبسیلا هاو متعاقب آن در سودوموناس اثرورزینوزا، اشریشیا کلی و سراشیا مارسه سنسو سایر باسیل های گرم منفی بدست آمد (2). باکتریهای مولد آنزیم ESBL در تمام جهان پراکنده اند و علاوه بر ایجاد عفونت بیمارستانی، براحثی در اجتماع انتشار می یابند و از مشکلات مهم جهان امروز محسوب میشوند. فراوانی این باکتری در نقاط مختلف متفاوت است. ژن مسئول مقاومت به سفالوسپورینهای وسیع الطیف (ESBLs) عمدتاً در پلاسمید قرار داشته و بهمین دلیل با سرعت بیشتری قابلیت انتشار در بین باکتریها را دارد (3). از طرفی ممکن است در این پلاسمیدها بطور همزمان، ژن مقاومت به سایر آنتی بیوتیکها (مثل آمینوگلیکوزیدها) قرار گرفته و مقاومت همزمان باکتری به آنتی بیوتیکها را ایجاد نماید که در این صورت داروهای مناسب برای درمان این باکتریها بسیار محدود خواهد شد و این از دلایل مهم نگرانی از گسترش سویه های ESBL می باشد (4)

اشاعه باکتریهای مولد ESBL به همراه انواع دیگر مقاومت های آنتی بیوتیکی مثل مقاومت به متی سیلین در استافیلوکوکها MRSA، مقاومت به ونکوماکسین در انتروکوکها VRE و مقاومت میکوباکتریومها به ایزونیاژید و ریفامپین و... از دلایل نامگذاری سال 2011 از طرف سازمان بهداشت جهانی بعنوان سال مقاومت داروئی می باشد که بیانگر نگرانی جهانی در مورد گسترش این عوامل می باشد.

در حال حاضر بیش از 300 نوع آنزیم بتالاکتاماز وسیع الطیف شناسائی شده است که این آنزیم ها به دنبال موتاسیون آنزیم های بتالاکتاماز اولیه، شکل گرفته اند (2) ژن های اصلی کد کننده آنزیم بتالاکتاماز وسیع الطیف (ESBLs) به گروههای SHV، TEM، و CTX-M تعلق دارند که در سالهای اخیر CTX-M پراکندگی بیشتری یافته است (5) به طوریکه امروزه آنزیم بتالاکتاماز CTX-m نقش مهمی را در ESBL های کشور های مختلف ایفا می کند (6). یزدی و همکاران در سال 2011 (7) فراوانی CTX-M را 87/1% و شاهچراغی (8) 42/4% گزارش کردند، همین محققین فراوانی TEM را به ترتیب 68/8% و 46/4% اعلام نموده همچنین میزان فراوانی SHV را یزدی و همکاران 70/6% (7) گزارش کرده اند.

دانش ما در مورد شناسائی این باکتری ها در یک ناحیه جغرافیایی به مصرف صحیح و معقول آنتی بیوتیک ها کمک خواهد کرد، بنابر این برعهده مسئولین بهداشتی و میکروشناسی هر منطقه میباشد که با مانیتورینگ و نظارت دائمی بر باکتریهای مقاوم به آنتی بیوتیک بخصوص سویه های ESBL تغییرات در فراوانی آنها را تحت کنترل داشته باشند تا در صورت ازدیاد موارد، راهحالی را جهت تغییر رژیم داروئی و پیشگیری از بروز مقاومت پیشنهاد نمایند. این مطالعه با هدف تعیین فراوانی ESBL و شناسائی ژنهای مسئول آن در اشریشیا کلی های عامل عفونت ادراری در شهرستان گرگان در شمال ایران طراحی شده است که اطلاعی از آن در دسترس نمی باشد.

روش بررسی

جداسازی ایزوله ها و شناسائی ESBL

در یک دوره یک ساله از تیرماه 1389 تا تیرماه 1390 تعداد 218 ایزوله اشریشیا کلی از بیماران مبتلا به عفونت ادراری مراجعه کننده به 6 آزمایشگاه تشخیص طبی شهرگرگان در شمال ایران جمع اوری شد. برای هر بیمار پرسشنامه حاوی اطلاعات دموگرافیک تکمیل شد. تعیین هویت ایزوله ها با استفاده از تستهای بیوشیمیائی (9) و آنتی

سپس نمونه‌ها به مدت 15 دقیقه در 100 درجه سلیسیوس جوشانده و به مدت 10 دقیقه در 14000 دور سانتریفیوژ گردید. 10 میکرولیتر از فاز رویی پس از انجام آنالیزهای کیفی و کمی به عنوان DNA الگو برای انجام واکنش PCR مورد

استفاده قرار گرفت (7). شناسایی ژن های مولد **ESBL**

حضور سه ژن مولد آنزیم های بتالاکتامازی -CTX، TEM+M و SHV توسط آزمایش PCR انجام شد. واکنش PCR در حجم واکنش کلی 25 میکرولیتر شامل: Tris-Hcl ۵۰ میلی مولار، 50 میلی مولار KCl، pH=8، 2 میلی مولار Mgcl2، dNTP mix 2/0 میلی مولار، 10 پیکومول از هر یک از پرایمرها و 200 نانوگرم DNA الگو طبق شرایط دمایی و زمانی ارائه شده در دستگاه ترموسایکلر انجام گرفت. توالی نوکلئوتیدی پرایمرها در جدول 1 و شرایط دمایی ترموسایکلر در جدول 2 ارائه شده است (7 و 11 و 12).

بیوگرام نمونه‌ها در محیط کشت مولر هینتون آگار با روش کربی بائر با دستورالعمل CLSI با استفاده از دیسکهای آنتیبیوتیکسفتوتاکسیم (CTX) 30 µg (شرکت MAST) انجام شد. برای نمونه هایی که نسبت به سفالوسپورین نسل سوم (سفتوتاکسیم) مقاومت نشان دادند تست تائیدی فنوتیپی ESBL (Confirmatory Test) با استفاده از دو دیسک سفتوتاکسیم (30 میکرو گرمی) و سفتوتاکسیم / کلاولانیک اسید 30 و 10 میکرو گرمی (شرکت MAST) انجام و افزایش بیش از 5 میلی متری قطر هاله عدم رشد در حضور کلاونیک اسید بعنوان ESBL تائید شد (10).

جداسازی و استخراج DNA

جداسازی و استخراج DNA به روش Boiling انجام شد. برای این منظور دو تا سه کلنی از باکتری را در 500 میکرولیتر آب دیونیزه استریل در درون میکروتیوپ حل کرده،

جدول 1: توالی نوکلئوتیدی پرایمر های مورد استفاده برای شناسایی اشرشیا کلی های ESBLs

نام ژن	توالی نوکلئوتید پرایمرهای مورد استفاده	وزن محصول	رفرنس
bla _{CTX-M-F} bla _{CTX-M-R}	5'-TTTGCGATGTGCAGTACCAGTAA-3' 5'-CGATATCGTTGGTGGCATA-3'	214 (bp)	۱۱
bla _{SHV-F} bla _{SHV-R}	5'-GATGAACGCTTTCCCATGATG-3' 5'-CGCTGTTATCGCTCATGGTAA-3'	590 (bp)	۱۲
bla _{TEM-F} bla _{TEM-R}	5'-ATGAGTATTCAACATTTCCG-3/ 5'-GTCACAGTTACCAATGCTTA-3/	847(bp)	۷

جدول 2: پروسه زمانی و دمایی آمپلیفیکسیون ژن های مولد ESBL در اشرشیا کلی های شهر گرگان (7 و 11 و 12)

ردیف	مراحل	درجه حرارت (C°)			زمان (دقیقه)		
		SHV	CTX-M	TEM	SHV	CTX-M	TEM
1	Initial denaturation	94	94	94	5	4	5
2	Denaturation	94	94	94	1	1	1
3	Anneling	61	60	58	1	0.5	1
4	Extention	72	72	72	1	1	1
5	Final extention	72	72	72	5	5	5
6	Cycle number	35 دور					

سنی بیماران $34 \pm 24/1$ سال بود. (88%) 192 از بیماران زن بودند و (80/2%) 175 از بیماران در شهر سکونت داشتند و (13/3%) 29 از بیماران سابقه استفاده از سوندرها داشتند، همچنین (66/5%) 145 از بیماران سابقه حداقل یک بار عفونت ادرار در سال اخیر را داشتند و (61/4%) 134 نفر سوزش ادرار داشتند. (32/1%) 70 ایزوله اشریشیا کلیه سفوتاکسیم مقاوم بودند که به عنوان کاندید ESBL در نظر گرفته شدند و بعد از انجام تست تائیدی فنوتیپی (Confirmatory Test)، (28/4%) 62 از نمونه ها ESBL تائید شدند. (3/6%) 8 مورد از نمونه ها با این که به سفالوسپورین نسل سوم مقاوم بودند ولی ESBL نبودند .

فراوانی ESBL در اشریشیا کلی به هیچیک از عوامل دموگرافیک بیماران مثل محل زندگی، قومیت، جنس (جدول 3) و نیز علائم بالین مثل وجود سوزش، تکرر و دفع ناقص ادرار، درد پهلویستگی نداشت ($P > 0.05$) ولی در استفاده از سوند و سابقه عفونت ادراری در سال اخیر توزیع فراوانی ESBL و غیر ESBL تفاوت معنی دار بود (جدول 4).

محصول PCR برای بررسی وجود ژن های مورد نظر در ژل آگاروز 2% الکتروفورز شد، برای این منظور 6 میکرولیتر از محصول PCR و 4 میکرولیتر Loading Buffer با هم مخلوط و در چاهک ژل ریخته شد. دستگاه الکتروفورز بر روی ولتاژ 100 ولت و 50 میلی آمپر تنظیم شد و الکتروفورز انجام، در محلول اتیدیوم بروماید در مدت 15 دقیقه قرار داده شد و سپس وجود باند در دستگاه ژل داک مورد بررسی قرار گرفت. اطلاعات دموگرافیک بیماران و نتایج آنتی بیوگرام و تست تائیدی ESBL و وجود ژن های بتالاکتاماز در نرم افزار SPSS (version 16) وارد گردید. آنالیز آماری داده ها با محاسبه توزیع فراوانی داده ها، مقایسه و آنالیز نتایج و تست X^2 ، ANOVA و مقایسه میانگین ها انجام شد. در تمامی موارد $P < 0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

آزمایش بر روی 218 ایزوله اشریشیا کلی جدا شده از نمونه عفونت ادراری در شهر گرگان انجام شد. محدوده سنی بیماران از کودک زیر یک سال تا سن 80 سالگی متغیر بود و میانگین

جدول 3: توزیع فراوانی عوامل دموگرافیک در بیماران مبتلا به عفونت ادراری ناشی از اشریشیا کلی در دو گروه ESBL و غیر ESBL

متغیر	ESBL	NONESBL	P value
	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	
محل زندگی	شهر	49 (27/7%)	>0/05
	روستا	13 (30/2%)	
جنسیت	زن	54 (87%)	>0/05
	مرد	8 (13%)	
قومیت	فارسی	48 (26/7%)	>0/05
	غیر فارسی	14 (36/8%)	

جدول 4: توزیع فراوانی بعضی از علائم بالینی در بیماران مبتلا به عفونت ادراری ناشی از اشریشیا کلی در دو گروه ESBL و غیر ESBL

علائم بالینی	ESBL	NONESBL
سوزش ادرار	%59/1	%62/5
تکرر ادرار	%62/2	%53/6
دفع ناقص ادرار	%24/4	%33/9
درد پهلو	%37/8	%40/2
تب	%26/7	%25
سابقه مصرف آنتی بیوتیک در سال	%65/2	%67/3
سابقه بستری در بیمارستان	%18/8	%13/6
سابقه استفاده از سوند ادراری	%32/3	%5/7
سابقه ابتلا به عفونت ادراری در سال اخیر	%67/4	%47/7

بعد از انجام PCR برای سه ژن بتالاکتاماز و bla_{CTX-M} ، bla_{TEM} و bla_{SHV} میزان فراوانی سه ژن به ترتیب 28(45,2)٪، 26(41,9)٪ و 6(9,7)٪ مورد بدست آمد (جدول 5).

جدول 5: میزان فراوانی ژن های مقاومت بتالاکتامازی در ایزوله های ESBL جدا شده از عفونت ادراری در شهرستان گرگان

مشخصات	ESBL (مورد 62)
وجود تنها یکی از ژن های مقاومت	36 مورد (58,1)٪
وجود دو ژن CTX و TEM	9 مورد (14,5)٪
وجود دو ژن SHV و CTX	2 مورد (3,2)٪
وجود دو ژن SHV و TEM	1 مورد (1,6)٪
وجود هر سه ژن CTX و TEM و SHV	-
عدم وجود ژن های فوق	14 (22,6)٪

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که در 70 مورد (32/1%) از اشریشیا کلی های مورد بررسی مقاومت به سفوتاکسیم وجود دارد و در تست تائیدی مشخص شد که از این تعداد 62 ایزوله ESBL بودند بنابراین فراوانی موارد ESBL در کل نمونه ها (28/4%) تعیین گردید. این آمار در شهر های ایران متفاوت گزارش شده است، کمترین آمار مربوط به بیماران بستری و سرپائی شهر رفسنجان (13)، خرم آباد (14) و سنج (15) است که به ترتیب 10/2%، 11/5% و 14/5% از اشریشیا کلی ها ESBL بودند و بالاترین آمار مربوط نمونه های تهیه شده از بیماران شهر کرمان (16)، تهران (17) و بخش ICU بیمارستانهای آموزشی تهران (18) است که به ترتیب 68%، 64/8% و 60/6% می باشد. آمارهای نگران کننده ای از سایر نقاط جهان ارائه شده است مثلاً آمار ESBL در بیمارستانی در لهستان (92/2%) (19) و بیمارستان هائی در ترکیه و اسپانیا 69/14% و 98/4% (20 و 21)، در بیمارستان های کره در سال 2005، 84/3% (22)، بیمارستانی در اسرائیل سال 2004، 73% (23) گزارش شده است. Umadevi در بیمارستان آموزشی در هند 75% (24)، در سال 2008 در برزیل میزان آن را (61/1%) گزارش کردند (25) که بسیار بالاتر از کشور و آمار شهر گرگان می باشد و علت آن را اقامت طولانی بیماران در بیمارستان (19) و استفاده نامناسب و زیاد آنتی بیوتیک دانسته اند (21). جامعه مورد مطالعه (بستری یا سرپائی - بستری در ICU یا سایر بخشها)، زمان مطالعه (سال تحقیق)، سن بیمار، مدت بستری بودن، اقدامات تهاجمی تشخیصی یا درمانی برای بیمار، روش آزمون، نوع دیسک آنتی بیوتیک مورد استفاده، نوع سفالوسپورین مورد آزمون، شرکت سازنده دیسک (هایمدیا، پادتن طب، ...) می تواند از سایر دلایل این تفاوت باشد. بر اساس مجموع این موارد مشخص می گردد که فراوانی ایزوله های ESBL در اشریشیا کلی های شهر گرم در محدوده موارد گزارش شده در کشور می باشد.

نقش ژن CTX-M در مقاومت به بتالاکتامازهای وسیع الطیف در سالیان اخیر بطور روزافزونی در حال افزایش است. اگرچه فراوانی آن در نقاط مختلف متفاوت است ولی به نظر می رسد که توزیع کلی آن به نسبت سایر ژنهای مسئول در حال افزایش

باشد (26) در این مطالعه فراوانی *bla_{CTX-M}* 28 (77/8%) بدست آمد. در پاکستان فراوانی آن را 100% (27)، یزدی و همکاران 87,1% در سال 2011 (7) گزارش نمودند. همچنین سلطان دلال و همکاران در تبریز فراوانی آن 84,1% بدست آوردند که بسیار بالاتر از نتیجه ما بوده است (28)، میرزائی در مطالعه خود از 140 ایزوله اشریشیا کلی ESBL در 56 مورد (40%) ژن CTX-M را شناسائی کرد، (29)، شاهچراغی فراوانی آن را در 125 ایزوله ESBL در 53 مورد (44/2%) گزارش نمود که به نتایج ما نزدیک است (17).

در مطالعه حاضر 26 ایزوله (41/9%) از اشریشیا کلی های ESBL حاوی ژن TEM بوده اند که بعد از CTX دومین ژن شایع محسوب می شود. شاهچراغی و همکاران فراوانی این ژن را 46/4% (8)، کلاترو همکاران در کرمان 43/5% (16) در بلژیک 44% (30) و در سال 2009 در فرانسه 52/9% (23) گزارش کرده اند که با آمار ما نزدیک می باشد. یزدی و همکاران فراوانی آن را در تهران 68/8% (7) گزارش نموده اند که بالاتر از نتایج ما می باشد.

آنزیم بتالاکتاماز *SHV* عمدتاً در کلبسیلاهای مقاوم و همچنین در سودوموناس ائروژنزا و آسینتوباکتر دیده شده است (31) بهمین دلیل انتظار می رفت که فراوانی آن در اشریشیا کلی از دو تیپ دیگر کمتر باشد و در این بررسی ESBL6 (66/7%) واجد *bla_{SHV}* بودند. نتایج ما با نتایج مطالعات توسط Jonas Bonnedahl و همکاران در فرانسه 11/7% (32)، Masroor Hussain و همکاران در پاکستان (15/4%) (116)، کلاتر در ایران (15/9%) (بالاتر است (27) (16) و همچنین از آمار بدست آمده در مطالعه شاهچراغی در 2009 که 5/77% و رمضانزاده در سال 2010 که 5/8% گزارش نموده، بالاتر است (8) (15). یزدی و همکاران در سال 2011 فراوانی این ژن را 70/6% (7) و در برزیل در سال 2008، 67/8% گزارش نموده اند که بالاتر از فراوانی آن در شهر گرگان است (25)

بنابراین نتایج ما نشان داد که در اشریشیا کلی های ESBL جدا شده از عفونت ادراری در شهر گرگان شایعترین ژن CTX-M با فراوانی (77/8%) و ژن های *SHV* و TEM به

باکتریهای مقاوم منتشر در بیمارستان همراه باشد. از طرفی ممکن است بیمار بعثت درگیری با اقدامات تهاجمی تشخیصی یا درمانی، با این ارگانیزم ها کلونیزه شده باشد، ولی از آنجائیکه بیماران در این مطالعه سرپائی بودند، امکان کسب دقیق علت بستری شدن قبلی و اقدامات انجام شده وجود نداشت. بر این اساس پیشنهاد می شود با مطالعه وسیعتر کوهورت در بیمارستان، ضمن مشخص کردن میزان ESBL در بیمارستان، ریسک فاکتورها و عوامل گسترش آن تعیین گردد.

ترتیب با فراوانی (66/7%) و (41/9%) در این نمونه ها بدست آمدند. داشتن سابقه عفونت در طی سال گذشته (67/4% و 47/7%) و سابقه استفاده از سوند ادراری (32/3% و 5/7%) توسط بیمار مبتلا به ESBL بطور معنی داری بیشتر از مبتلایان به اشرشیا کلی غیر ESBL بود. ($P < 0.001$) بنابراین، داشتن سابقه سوند ادراری و سابقه ابتلا به عفونت ادراری در سال اخیر از عوامل مستعد کننده ابتلا به ESBL محسوب می شود. سابقه بستری بودن می تواند با سابقه تماس بیشتر با پاتوژن های بیمارستانی و

References

- 1-Shafaq AH, Syed A J, Mustafa K. Occurrence of multidrug resistant and ESBL producing *E. coli* causing urinary tract infections. Journal of Basic and Applied Sciences. 2011;7(1): 39-43
- 2-Bali EB, Açık L, Sultan N. Phenotypic and molecular characterization of SHV, TEM, CTX-M and extended-spectrum BETA-lactamase produced by *Escherichia coli*, *Acinobacterbaumannii* and *Klebsiella* isolates in a Turkish hospital. African Journal of Microbiology Research. 2010; 4(8):650-654
- 3-Chong Y, Ito Y, Kamimura T. Genetic evolution and clinical impact in extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. Infect Genet E. 2011;10 (16):11-13
- 4-Emery CL, Weymouth LA. Detection and clinical significance of extended-spectrum β -lactamases in a tertiary-care medical center. J Clin Microbiol. 1997;35(8): 2061-7
- 5-Paterson DL, Hujer KM, Hujer AM, Yeiser B, Bonomo MD, Rice LB, Bonomo RA. The International *Klebsiella* Study Group Extended-Spectrum-Lactamases in *Klebsiella pneumoniae* Bloodstream Isolates from Seven Countries: Dominance and Widespread Prevalence of SHV- and CTX-M-Type β -Lactamases. Antimicrob Agents Chemother. 2003; 47(11): 3554-3560
- 6-Livermore DM, Hawkey PM. CTX-M: changing the face of ESBLs in the UK. J Antimicrob Chemother. 2005;56(3):451-4
- 7-Yazdi M, Nazemi A, Mir inargasi M, Khataminejad MR, Sharifi S, Babai Kochaksaraei M. Prevalence of SHV/CTX-M/TEM (ESBL) β -lactamase Resistance Genes in *Escherichia coli* Isolated from Urinary Tract Infections in Tehran, Iran. Medical Laboratory Journal. 2010; 4(1):67 (Persian)
- 8-Shahcheraghi F, Nasiri S, Noveiri H. Detection of extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) in *Escherichia coli*. Iranian Journal of Clinical Infectious Diseases. 2009;4(2):65-70
- 9-Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Baily & Scotts Diagnostic Microbiology. Mosby Elsevier. pub 12th Edition. 2007; 187-214, 323-332, 842-854

- 10-Nazik H, Öngen B, Yildirim E, Ermi F. High prevalence of CTX-M-type β -lactamase in *Escherichia coli* isolates producing extended-spectrum β -lactamase (ESBL) and displaying antibiotic co-resistance. African Journal of Microbiology Research. 2011; 5(1):44-49
- 11-Acikgoz ZC, Koseoglu EO, Kocagoz S. CTX-M-3 β lactamase producing *Sigella sonnei* isolated from pediatric Bacillary Dysentery cases. Jpn J Infect Dis. 2007;61:135-137.
- 12-Junyoung K, Semi J, Hogeun R, Bokkwon L, Misun P, Hoanjong L, Jina L and Seonghan K. Rapid Detection of Extended Spectrum β -Lactamase (ESBL) for Enterobacteriaceae by use of a Multiplex PCR-based Method. Infection and Chemotherapy. 2009;41(3): 181-184
- 13-Tashkori M, Farokhnia M, Zia Sheikholeslami N, Mirzaei T, Yosefi H, Mokhtari F, Mohyadini A. Evaluation of Producing Extended Spectrum β -lactamase among Isolated *Escherichia coli* from Patients Suffering from Urinary Tract Infections. Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences. 2011; 10(1):62-68 (Persian)
- 14-Hosain Zadegan H, Ramazanzadeh R, Hasany A. Cross-sectional study of extended spectrum β -lactamase producing gram-negative bacilli from clinical cases in Khorramabad, Iran. Iranian journal of Microbiology. 2009; 1(3):16-19 (Persian)
- 15-Ramazanzadeh R. Etiologic agents and extended-spectrum β -lactamase production in urinary tract infections in Sanandaj, Iran. Eastern Journal of Medicine. 2010; 15:57-62
- 16-Kalantar D, Mansouri Sh. Emergence of multiple β -lactamases produced by *Escherichia coli* clinical isolates from hospitalized patient in Kerman, Iran. Jundishapur Journal of Microbiology. 2010; 3(4): 137-145
- 17-Shahcheraghi F, Nikbin VA, Shouraj F. PCR detection of *per*, *veb*, *shv* and *tem* β -lactamases in multidrug resistant *P. aeruginosa* isolated from wound infections in two hospitals of Tehran. Iranian journal of medical microbiology. 2008; 1(4):21-27
- 18-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, Iran. DARU. 2008; 16(3): 169-173

- 19-Franciczek R, Ddolnai, Krzyżanowska B, Szufnarowski K, kowalska-krochmal B. *Conjugative Transfer of Multiresistance Plasmids from ESBL positive Escherichia coli and Klebsiella spp. Clinical Isolates to Escherichia coli Strain K12 C600*. Adv Clin Exp Med. 2007; 16(2): 239–247
- 20-Bali El, Açık L, Sultan N. *Phenotypic and molecular characterization of SHV, TEM and CTX-M and extended-spectrum beta -lactamase produced by Escherichia coli, Acinobacter baumannii and Klebsiella isolates in a Turkish hospital*. African Journal of Microbiology Research. 2010; 4 (8): 650-654
- 21-Sorlózano A, Gutiérrez J, Fernández F, Soto MJ, Piédrola G. *A preliminary study on the presence of extended spectrum beta-lactamases (ESBL) in clinical isolates of Escherichia coli in Granada (Spain)*. Annals of Microbiology. 2004; 54 (2): 99-104
- 22-Park Y, Kang H, Bae K, Kim J, Kim J, Uh Y. *Prevalence of the Extended-Spectrum β -Lactamase and qnr Genes in Clinical Isolates of Escherichia coli*. Korean J Lab Med. 2009; 29: 218
- 23-Sompolsky D, Nitzan Y, Tetry Sh, Wolk M, Vulikh I, Barendorff M, et al. *Integron-mediated ESBL resistance in rare serotypes of Escherichia coli causing infections in an elderly population of Israel*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2005; 55(1): 119–122
- 24-Umadevi S, Kandhakumari G, Joseph NM, Kumar S, Easow j M, Stephen S, Singh UK. *Prevalence and antimicrobial susceptibility pattern of ESBL producing Gram Negative Bacilli*. Journal of Clinical and Diagnostic Research. 2011 ;5(2): 236-239
- 25-Oliveira CF, Salla A, Maria Lara V, Rieger A, J Hortao A, Alves SH. *Prevalence of extended-spectrum beta-lactamases-producing microorganisms in nosocomial patients and molecular characterization of the shv type isolates*. Brazilian Journal of Microbiology. 2010; 41(2): 278-282
- 26-Bonnet R. *Growing group of expanded-spectrum beta lactamase: the CTXM enzymes*. Antimicrob Agent Chemoter. 2004; 48(1): 1-14.
- 27-Hussain M, Hasan F, Ali Shah A, Hameed A, Jung M, Rayamajhi N, et al. *Prevalence of Class A and AmpC β -Lactamases in Clinical Escherichia coli Isolates from Pakistan Institute of Medical Science, Islamabad, Pakistan*. Jpn J Infect Dis. 2011; 64(3): 249-252
- 28-Soltan Dallal MM, Azarsa M, Shirazi MH, Rastegar Lari A, Owlia P, Fallah Mehrabadi J, et al. *The prevalence of extended-spectrum beta-lactamases and CTX-M-1 producing Escherichia coli in urine samples collected at Tabriz city Hospitals*. TUMJ. 2011; 69(5): 273-278 (Persian)
- 29-Mirzaee M, Pourmand M R, Chitsaz M, Mansouri S. *Antibiotic Resistance to Third Generation Cephalosporins Due to CTX-M-Type Extended-Spectrum-Lactamases in Clinical Isolates of Escherichia coli*. Iranian J Publ Health. 2009; 38(1): 10-17
- 30-Rodriguez-Villalobos H, Malaviolle V, Frankard J, Mendon R, Nonhoff C, Struelens M J. *In vitro activity of temocillin against extended spectrum β -lactamase-producing Escherichia coli*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2006; 57: 771–774
- 31-Bonnedahl J, Drobní M, Gauthier-Clerc M, Hernandez J, Ranholm S G, Kayser Y, et al. *Dissemination of Escherichia coli with CTX-M Type ESBL between Humans and Yellow-Legged Gulls in the South of France*. PLoS ONE. 2009; 4 (6): 5958