

تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی ایزوله‌های ادراری اشریشیاکلی و شیوع بتالاکتامازهای طیف وسیع در بین آنها

محبوبه نحعی مقدم^۱، شیلا مشرفی^۲

^۱ استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد

^۲ کارشناس آزمایشگاه میکروبیشناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد

نشانی نویسنده مسؤل: مشهد، خیابان راهنمایی ۲۴، دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی، گروه زیست‌شناسی، دکتر محبوبه نحعی مقدم

E-mail: mahboobe_nak@yahoo.com

وصول: ۸۸/۸/۲۶، اصلاح: ۸۸/۱۰/۸، پذیرش: ۸۸/۱۱/۳

چکیده

زمینه و هدف: گسترش روزافزون مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در بین سویه‌های اشریشیاکلی، به‌عنوان شایع‌ترین عامل عفونت‌های ادراری می‌تواند ناشی از تولید افزایش شیوع سویه‌های مولد بتالاکتامازهای طیف وسیع (ESBL) در میان آنها باشد. هدف از انجام این تحقیق، بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های ادراری اشریشیاکلی و شناسایی ایزوله‌سویه‌های مولد ESBL در شهر مشهد بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه توصیفی، از نمونه‌های ادراری بیماران بستری در بیمارستان‌های قائم و ۱۷ شهریور مشهد، ۱۰۹ ایزوله اشریشیاکلی با آزمایشات بیوشیمیایی افتراقی شناسایی شد. آزمایش حساسیت آنتی‌بیوتیکی با روش انتشار در آگار مطابق متد Kirby-Bauer انجام شد. برای شناسایی ایزوله‌های مولد بتالاکتاماز از آزمایش هم‌افزایی دیسک دوتایی (Double disc test) و برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار Statistica و آزمون مجذور کای استفاده گردید. نتایج با $p < 0/05$ به‌عنوان اختلاف معنادار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: مقاومت ایزوله‌ها نسبت به کوتریموکسازول، نالیدیکسیک اسید، سیپروفلوکساسین، جنتامایسین، پلی‌میکسین و نیتروفورانتوئین به ترتیب ۵۵/۰۵٪، ۳۴/۸۶٪، ۲۱/۱۰٪، ۱۲/۸۴٪، ۲/۷۵٪ و ۱/۸۳٪ بود. بیشترین و کمترین میزان مقاومت به ترتیب نسبت به کوتریموکسازول و ایمی‌پنم بود. تعداد ۲۲ ایزوله مقاومت چندگانه به هر سه آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین، نالیدیکسیک اسید و کوتریموکسازول مقاوم بوده و مقاومت چندگانه داشتند. تعداد ۳۵ ایزوله (۳۲/۱۱٪) ESBL مثبت از ۱۰۹ باکتری جدا شده، دارای تست مثبت از نظر بتالاکتاماز طیف وسیع بودند که بین آنها مقاومت وابسته به آنتی‌بیوتیک‌های غیر بتالاکتام (کوتریموکسازول، کینولون‌ها، جنتامایسین و پلی‌میکسین) بیشتر مشاهده شد ($p < 0/05$).

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج این مطالعه، سویه‌های مولد بتالاکتاماز در بین اشریشیاکلی‌های جدا شده در جامعه مورد بررسی، شیوع بالایی دارد. (مجله دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی سبزوار، دوره ۱۶/شماره ۴ / صص ۲۳۳-۲۲۸).

واژه‌های کلیدی: اشریشیاکلی؛ مقاومت آنتی‌بیوتیکی؛ بتالاکتاماز.

مقدمه

بیمارستانی یکی از نگرانی‌های بزرگ و اساسی علم پزشکی است (۱). مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های جدید و

وجود مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در پاتوژن‌های

مقاومت به نالیدیکسیک اسید نیز برای سویه‌های مولد ESBL و غیر مولد آن در شهر مشهد مقایسه شد.

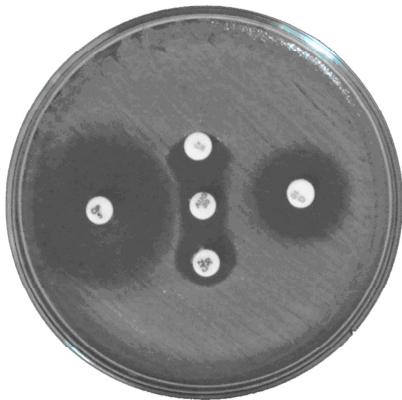
با توجه به مقاومت روزافزون باکتری‌ها نسبت به آنتی بیوتیک‌ها که به‌نظر می‌رسد در هر منطقه الگوی خاص خود را دارد، لزوم بررسی‌های جدید در رابطه با مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی مشهود است. از طرف دیگر، از شیوع سویه‌های مولد ESBL در برخی بیمارستان‌های مشهد اطلاعات کافی در دسترس نیست. شناسایی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی اشریشیا کلی در شهر مشهد و نیز شیوع ایزوله‌های مولد ESBL از نظر درمان عفونت با داروهای غیر بتالاکتامی اهمیت دارد و می‌تواند از شکست درمان ضد میکروبی جلوگیری نماید. بنابراین هدف از انجام این تحقیق، بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی به‌عنوان مطالعه‌ای جدیدتر و شناسایی ایزوله‌های ادراری مولد بتالاکتاماز طیف وسیع در میان اشریشیاکلی‌های جدا شده از بیماران بستری در دو بیمارستان منتخب مشهد می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه توصیفی - مقطعی که از تاریخ اسفند ۱۳۸۷ تا تیر ۱۳۸۸ در دو بیمارستان قائم و ۱۷ شهریور مشهد انجام شد، پس از جمع‌آوری نمونه‌های ادراری بیماران بستری به‌صورت تصادفی که به آزمایشگاه بیمارستان‌ها ارسال شده بود، تعداد ۱۰۹ باکتری اشریشیاکلی جدا شد که با استفاده از آزمایش‌های بیوشیمیایی (تست اندول، MRVP، تولید SH2، تخمیر قند، تولید گاز، تست اوره، سترات و مالونات) شناسایی شدند. سپس آزمایش حساسیت آنتی‌بیوتیکی با روش انتشار از طریق دیسک، طبق دستورالعمل‌های مؤسسه استانداردهای آزمایشگاهی و کلینیکی (Clinical and Laboratory Standards Institute یا CLSI که سابق بر این NCCLS خوانده می‌شد) انجام (۱۴) و قطر هاله‌های عدم رشد ثبت شد. آزمایش‌ها دو تا سه بار تکرار شدند و

گسترش باکتری‌های مقاوم نه تنها بین بیماران بستری در بیمارستان بلکه در بین افراد جامعه از پیامدهای این معضل است (۲). اشریشیا کلی شایع‌ترین عامل عفونت‌های ادراری بوده و مصرف گسترده آنتی‌بیوتیک‌ها باعث افزایش مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در این باکتری شده است (۳) که مقاومت آن به بتالاکتام‌ها (مثل آمپی‌سیلین و سفوتاکسیم)، و نیز سایر آنتی‌بیوتیک‌های دیگر مثل کوتریموکسازول و سولفونامیدها در بسیاری از مناطق دنیا گزارش شده است (۶-۴). بتالاکتام‌های طیف وسیع (ESBLs)، آنزیم‌های بتالاکتامازی هستند که اکسی‌ایمینوسفالوسپورین‌ها را هیدرولیز می‌نمایند و توسط مهارکننده‌های بتالاکتاماز مهار می‌شوند. طی سال‌های گذشته، شیوع سویه‌های مولد بتالاکتام‌های طیف وسیع (ESBLs) که اکسی‌ایمینوسفالوسپورین‌ها را هیدرولیز می‌نمایند، در بین ایزوله‌های کلینیکی رو به افزایش بوده و منجر به محدودیت درمان‌های دارویی شده است (۸،۷). مقاومت روزافزون باکتری‌های اشریشیاکلی و گونه‌هایی از کلبسیلا (۹) نسبت به سفالوسپورین‌های نسل سوم نیز اغلب در رابطه با تولید این آنزیم‌ها گزارش شده است (۱۰،۱۱) که مشکل مهم بیماران بستری در اغلب مناطق سراسر جهان است (۱۲). این آنزیم‌ها مقاومت دارویی چندگانه دارند که با افزایش شیوع عفونت و مرگ و میر در بیماران بستری به‌ویژه بیماران بخش مراقبت‌های ویژه همراه هستند (۱۱،۲).

در مطالعات انجام شده در رابطه با مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در بیمارستان قائم مشهد بیشترین مقاومت نسبت به آمپی‌سیلین و کوتریموکسازول و بیشترین حساسیت نسبت به آمیکاسین، سیپروفلوکساسین و نیتروفورانتوئین قید شده است (۴). در مطالعات قبلی در سایر کشورها مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی غیر بتالاکتامی که به همراه تولید ESBL در باکتری‌ها منتقل می‌گردند، برای سیپروفلوکساسین و کوتریموکسازول عنوان شده است (۷،۱۳). در تحقیق حاضر، علاوه بر این آنتی‌بیوتیک‌ها



شکل ۱: آزمایش دیسک دوتایی مثبت برای یکی از ایزوله های اشریشیا کلی. دیسک های وسط از بالا به پایین: سفالوتین، Augmentin و سفنازیدیم، دیسک های سیپروفلوکساسین و جنتامیسین به ترتیب در سمت چپ و راست.

جنتامیسین، ۳ (۲/۷۵ درصد) نسبت به پلی میکسین و ۲ (۱/۸۳ درصد) نسبت به نیتروفورانتوئین مقاوم بودند. تعداد ۲۲ ایزوله (۲۰/۱۸ درصد) از ۱۰۹ باکتری جدا شده نسبت به سه آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین، نالیدیکسیک اسید و کوتریموکسازول مقاوم بوده و مقاومت چندگانه داشتند. تمامی باکتری های جدا شده به ایمی پنم حساس بودند و ۹۶/۳۳ درصد ایزوله ها به آمیکاسین و نیتروفورانتوئین حساس بودند.

مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های غیر بتالاکتام (سیپروفلوکساسین، نالیدیکسیک اسید و کوتریموکسازول، جنتامیسین و پلی میکسین) بین ایزوله های مولد ESBL به طور معناداری از ایزوله های غیر مولد آن بیشتر بود. ۳۵ ایزوله از ۱۰۹ باکتری جدا شده (۳۲/۱۱ درصد)، با استفاده از آزمایش هم افزایی دیسک دوتایی از نظر بتالاکتامازهای طیف وسیع مثبت بودند (شکل ۱). اکثر ایزوله های مولد ESBL از بیماران بستری در بیمارستان قائم جدا شدند.

در رابطه با مقاومت آنتی بیوتیکی ایزوله های ESBL مثبت و منفی، ۱۵ ایزوله از ۲۲ باکتری (۶۸/۱۸ درصد) مقاوم به هر سه آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین، نالیدیکسیک اسید و کوتریموکسازول، جزو باکتری های ESBL مثبت بودند. به عبارت دیگر، درصد بیشتری از ایزوله های مولد بتالاکتاماز در مقایسه با انواع بتالاکتاماز

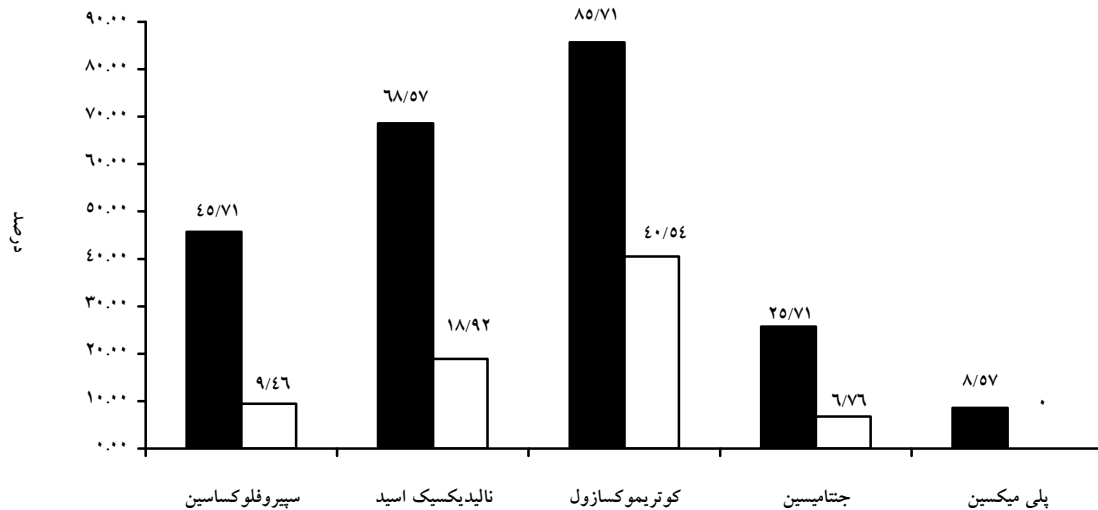
میانگین قطر هاله ها در نظر گرفته شد. دیسک های آنتی بیوتیکی مورد استفاده (Liofilichem, Italy) عبارت بودند از: نالیدیکسیک اسید (۳۰ μg)، سفنازیدیم (۳۰ μg)، سفوتاکسیم (۳۰ μg)، نیتروفورانتوئین (۳۰ μg)، آمیکاسین (۳۰ μg)، جنتامیسین (۱۰ μg)، کوتریموکسازول (۲۵ μg)، ایمی پنم (۱۰ μg)، سیپروفلوکساسین (۵ μg) و پلی میکسین B (۱۰۰ Iu).

برای شناسایی ایزوله های مولد بتالاکتاماز از آزمایش هم افزایی دیسک دوتایی (Double disc test) مطابق استانداردهای CLSI استفاده شد. پس از تلقیح تعداد استاندارد باکتری خالص (۱۰۸ × ۱/۵ باکتری/میلی لیتر با استفاده از سوسپانسیون باکتریایی با کدورت معادل ۰/۵ مک فارلند) بر روی محیط مولر هیتون آگار، دیسک حاوی آموکسی سیلین / کلاولانیک اسید (۲۰/۱۰ μg) (Mast Diagnostics Ltd., UK) و سفوتاکسیم (۳۰ μg) با فاصله ۱۵ میلی متر روی پلیت قرار داده شدند. پس از گذاشتن در گرمخانه ۳۷°C به مدت ۲۴ ساعت، گسترش هاله مهاری از ناحیه دیسک سفوتاکسیم به طرف دیسک Augmentin به عنوان باکتری مولد ESBL در نظر گرفته شد (۷، ۱۱).

تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار Statistica انجام شد و برای آنالیز الگوی حساسیت آنتی بیوتیک های غیر بتالاکتام بین ایزوله های مولد ESBL و غیر مولد ESBL از آزمون Chi square استفاده شد. نتایج با $p < 0/05$ به عنوان اختلاف معنادار در نظر گرفته شد. همچنین ملاحظات اخلاقی مربوط به تحقیقات بر روی نمونه های کلینیکی بیماران مدنظر قرار گرفت.

یافته ها

از ۱۰۹ باکتری اشریشیاکلی جدا شده، ۶۰ ایزوله (۵۵/۰۵ درصد) نسبت به کوتریموکسازول، ۳۸ (۳۴/۸۶ درصد) نسبت به نالیدیکسیک اسید، ۲۳ (۲۱/۱۰ درصد) نسبت به سیپروفلوکساسین، ۱۴ (۱۲/۸۴ درصد) نسبت به



نمودار ۱: درصد مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های ادراری اشریشیاکلی مولد ESBL و غیر مولد آن در دو بیمارستان منتخب مشهد

تهران در مقایسه با تحقیق حاضر نسبت به کوتریموکسازول، مقاوم و نسبتاً مقاوم گزارش کردند (۵). علت اختلاف نتایج می‌تواند مربوط به این باشد که الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی بسته به منطقه مورد مطالعه و زمان مطالعه می‌تواند متفاوت باشد (۴). در مطالعه‌ای در انگلستان، تعداد کمتری (۲۲ درصد) از ایزوله‌های اشریشیاکلی نسبت به کوتریموکسازول مقاوم بودند (۳). درصد بیشتر مقاومت نسبت به کوتریموکسازول در مطالعه حاضر و بعضی تحقیقات دیگر در ایران (۵) در مقایسه با مطالعات مشابه در مناطق دیگر دنیا (۳، ۱۳، ۱۵) که میزان کمتری از مقاومت نسبت به این آنتی‌بیوتیک را گزارش کرده‌اند، شاید مربوط به مصرف بیشتر این آنتی‌بیوتیک در ایران باشد. البته برای مشخص شدن علت این اختلاف نیاز به تحقیقات بیشتر است.

در این تحقیق مشخص شد که بیشترین میزان حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های اشریشیاکلی در شهر مشهد به ترتیب ایمپی‌پنم، آمیکاسین، نیتروفوران‌توئین، پلی‌میکسین، جتتامایسین و سیروفلوکسازین است که امین-زاده و همکاران نیز در مطالعه خود در بین آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه، آمیکاسین، سیروفلوکسازین و جتتامایسین را مؤثرترین آنتی‌بیوتیک‌ها برای ایزوله‌های اشریشیاکلی قید نمودند اما اثر ایمپی‌پنم در مطالعه آن‌ها

منفی (۲۲/۸۶ درصد در مقابل ۹/۴۶ درصد) به هر سه آنتی‌بیوتیک مقاوم بودند (مقاومت چندگانه) و اختلاف حاصله معنادار بود ($p < 0.05$).

تعداد ۳۰ ایزوله (۸۵/۷۱ درصد) از ۳۵ باکتری مولد ESBL مقاوم به کوتریموکسازول بودند، در حالی که ۳۰ ایزوله (۴۰/۵۴ درصد) از ۷۴ باکتری ESBL منفی مقاوم به کوتریموکسازول بودند. از طرفی ۶۸/۵۷ درصد باکتری‌های ESBL مثبت و ۱۸/۹۲ درصد باکتری‌های ESBL منفی، مقاوم به نالیدیکسیک اسید بودند. از تعداد ۳۵ ایزوله مولد ESBL، ۱۶ مورد (۴۵/۷۱ درصد) مقاوم به سیروفلوکسازین بودند و ۷ باکتری (۹/۴۶ درصد) از ایزوله‌های ESBL منفی مورد آزمایش، به سیروفلوکسازین مقاوم بودند (نمودار ۱).

بحث

نتایج این تحقیق نشان داد که بین آنتی‌بیوتیک‌های مورد آزمایش، کمترین و بیشترین میزان حساسیت ایزوله‌ها به ترتیب نسبت به کوتریموکسازول و ایمپی‌پنم بوده است. تعدادی نیز در مقابل نالیدیکسیک اسید و سیروفلوکسازین مقاوم بودند. امین‌زاده و همکاران در سال ۱۳۸۲ درصد بیشتری از ایزوله‌های ادراری اشریشیاکلی (۷۲ درصد) را در بیمارستان لقمان حکیم

ESBL در تانزانیا بیشتر از ایزوله‌های ESBL منفی، مقاوم به جنتامایسین و سیپروفلوکسازین بودند (۱۷). مقاومت ایزوله‌های مولد ESBL به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها در یکی از مطالعات در هند عبارت بود از: ۹۳/۸ درصد نسبت به سیپروفلوکسازین، ۷۹/۱ درصد به سولفامتوکسازول، ۱۴/۷ درصد به آمیکاسین (۱۶). در پژوهشی در آمریکا از ۲۰ ایزوله مقاوم به آنتی‌بیوتیک جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان و خانه سالمندان، ۱۷ باکتری حاوی پلاسمید ۵۴ کیلوبازی بودند که مقاومت به سفنازیدیم را از طریق ESBL TEM-10 کُد می‌کردند و این پلاسمید واسطه مقاومت به کوتریموکسازول و جنتامایسین نیز بود (۲).

در پژوهش حاضر، تولید بتالاکتام‌های طیف وسیع در درصد بالایی از ایزوله‌های ادراری اشریشیاکلی شناسایی شد و این بیماران نمی‌توانند با آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام درمان شوند. از آن جایی که درصد بالایی از ایزوله‌ها مقاومت به بتالاکتام‌ها را به همراه مقاومت با آنتی‌بیوتیک‌های غیر بتالاکتام مثل کوتریموکسازول، نالیدیکسیک اسید، سیپروفلوکسازین و جنتامایسین داشتند، می‌توان ایمپنم، آمیکاسین و نیتروفورانتوئین را راه دیگر درمان این بیماران در نظر گرفت.

به‌طور کلی، شناسایی مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی شایع و نیز شناسایی و ردیابی سویه‌های مولد بتالاکتام‌ها طیف وسیع در جامعه می‌تواند کمک بزرگی به بیماران از نظر جلوگیری از شکست درمان، درمان سریع عفونت و صرفه‌جویی در زمان و هزینه‌ها باشد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد انجام شده است که بدین‌وسیله از مساعدت مسؤولین و همکاران محترم این حوزه تشکر و قدردانی می‌شود.

بررسی نشده بود (۵). شناسایی مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی شایع در جامعه از اهمیت خاصی برای درمان عفونت‌ها برخوردار است و می‌تواند در جلوگیری از شکست درمان مفید باشد.

بتالاکتام‌های طیف وسیع، در حال حاضر یکی از مشکلات مهم در سراسر دنیا به ویژه برای بیماران بستری هستند که ژن‌های مولد آن‌ها می‌توانند از طریق انتقال پلاسمیدی بین باکتری‌ها منتشر شوند. شیوع این آنزیم‌ها در نواحی جغرافیایی مختلف و با زمان تغییر می‌کند (۷). شیوع سویه‌های مولد ESBL بین باکتری‌های اشریشیاکلی جدا شده در این تحقیق، ۴۱ درصد به‌دست آمد. در تحقیقی در یکی از بیمارستان‌های جنوب هند در سال ۲۰۰۴ شیوع این باکتری‌ها مشابه با مطالعه حاضر ۴۱ درصد گزارش شده است (۷). در مطالعه دیگری در هند در سال ۲۰۰۹، شیوع بتالاکتام‌های طیف وسیع بیشتر و ۶۳/۶ درصد ایزوله‌های اشریشیاکلی گزارش شده است (۱۶). شیوع آن در تانزانیا کمتر و از ۳۹ ایزوله انتروباکتریاسه، ۱۱ ایزوله (۲۸/۲ درصد) مولد ESBL بودند (۱۷). در تحقیق دیگری در آفریقای مرکزی، افزایش شیوع سویه‌های مولد ESBL در میان باکتری‌های انتروباکتریاسه‌های مولد عفونت ادراری از ۳/۷ درصد به ۱۹/۳ درصد بین سال‌های ۲۰۰۴ و ۲۰۰۶ گزارش شده است (۱۸).

در تحقیق حاضر، با توجه به بالا بودن میزان مقاومت ایزوله‌های مولد ESBL در مقایسه با سویه‌های غیر تولیدکننده ESBL نسبت به کوتریموکسازول، نالیدیکسیک اسید، سیپروفلوکسازین، جنتامایسین و پلی‌میکسین، احتمال دارد که ژن‌های کُدکننده مقاومت در برابر این آنتی‌بیوتیک‌ها همراه ژن‌های ESBL منتقل شوند. مشابه تحقیق حاضر، مقاومت سویه‌های مولد ESBL به همراه مقاومت به کوتریموکسازول و سیپروفلوکسازین در مطالعات زیر نیز گزارش شده است. ایزوله‌های مولد

References

1. Gold HS, Moellering RC. Antimicrobial-drug resistance. *N Engl J Med*. 1996; 335 (19): 1445-53.

2. Wiener J, Quinn JP, Bradford PA, Goering RV, Nathan C, Bush K, et al. Multiple antibiotic-resistant *Klebsiella* and *E. coli* in nursing homes. *JAMA*. 1999; 281 (6): 517-23.
3. Manges AR, Johnson JR, Foxman B, O'Bryan TT, Fullerton KE, Riley LW. Widespread distribution of urinary tract Infections caused by a multidrug-resistant *E. coli* clonal group. *N Engl J Med*. 2001; 345 (14): 1007-13.
- ۴- صفدری هادی، قزوینی کیارش. الگوی مقاومت اشریشیاکلی های جدا شده از عفونت های ادراری نسبت به آنتی بیوتیک های رایج در درمان این عفونت در شهر مشهد. *طبيب شرق*، ۱۳۸۶؛ دوره ۹، شماره ۳، صفحات ۲۲۵ تا ۲۲۹.
- ۵- امین زاده زهره، زارع ده آبادی محمود، گچکار لطیف، شاه حسینی حمیدرضا. بررسی فراوانی عفونت های گرم منفی و تعیین الگوی آنتی بیوتیکی آن ها در بیمارستان لقمان حکیم سال ۱۳۸۲. *بیماری های عفونی و گرمسیری ایران*، ۱۳۸۴؛ دوره ۱۰، شماره ۲۹، صفحات ۴۷ تا ۵۲.
6. Enne VI, Livermore DM, Stephens P, Hall L. Persistence of sulphonamide resistance in *E. coli* in the UK despite national prescribing restriction. *The Lancet*. 2001; 357 (9265): 1325-8.
7. Babypadmini S, Appalaraju B. Extended spectrum β - lactamases in urinary isolates of *E. coli* and *Klebsiella pneumoniae*- Prevalence and susceptibility pattern in a tertiary care hospital. *Indian J Med Microbiol*. 2004; 22 (3): 172-4.
8. Bradford PA. Extended spectrum β - lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev*. 2001; 14 (4): 933- 51.
9. Soge OO, Queenan AM, Ojo KK, Adeniyi BA, Roberts MC. CTX-M-15 extended-spectrum β -lactamase from Nigerian *Klebsiella pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother*. 2006; 57 (1): 24-30.
10. Stobberingh EE, Arends J, Hoogkamp- Korstanje JAA, Goessens WHF, Visser MR, Buiting AGM et al. Occurrence of ESBL in Dutch hospitals. *Infection*. 1999; 27(9): 348-54.
11. Jenny A. Detection of ESBLs in *E. coli* and *Klebsiella* species. British Society for Antimicrobial Chemotherapy (BSAC). Available from: http://www.bsac.org.uk/_db/_documents/Ecoliklebsiella.pdf
12. Mirfalsafi A, Akbari-Nakhjavani F, Peymani B, Jabal Ameli F and 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): 169-73.
13. Sahm DF, Thornsberry C, Mayfield DC, Jones ME, Karlowsky JA. Multidrug resistance urinary tract isolates of *E. coli*: Prevalence and patient Demographics in the United States in 2000. *Antimicrob Agents Chemoter*. 2001; 45 (5): 1402- 6.
14. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: fourteenth information supplement. 2004; 24 (1).
15. Dornbusch K, King A, Legakis N. Incidence of antibiotic resistance in blood and urine isolates from hospitalized patients. Report from a European collaborative study group on antibiotic resistance (ESGAR). *Scand J Infect Dis* 1998; 30 (3): 281- 8.
16. Goyal A, Prasad KN, Prasad A, Gupta S, Ghoshal U, Ayyagari A. Extended spectrum β - lactamases in *E. coli* and *Klebsiella pneumoniae* and associated risk factors. *Indian J Med Res*. 2009; 129 (6): 695-700.
17. Ndugulile F, Jureen R, Harthug S, Urassa W, Langeland N. Extended spectrum β -lactamases among Gram-negative bacteria of nosocomial origin from an intensive care unit of a tertiary health facility in Tanzania. *BMC Infect Dis*. 2005; 5: 86.
18. Bercion R, Mossoro-Kpinde D, Manirakiza A, Le Faou A. Increasing prevalence of antimicrobial resistance among *Enterobacteriaceae* uropathogens in Bangui, Central African Republic. *J Infect Dev Ctries*. 2009; 30 (3): 187-90.