

تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های اشریشیا کلی انتروپاتوژن ایزوله شده از کودکان مبتلا به اسهال

پژمان کرمی*، دکتر محمدمهدی اصلانی**، دکتر محمد نجفی مصلح***، دکتر محمدیوسف علیخانی****

دریافت: ۹۰/۷/۱، پذیرش: ۹۰/۱۰/۱۳

چکیده:

مقدمه و هدف: بیماریهای اسهالی یک مساله مهم و قابل توجه در سلامت عمومی جامعه خصوصاً در کودکان محسوب میگردد. سویه های انتروپاتوژنیک اشریشیا کلی (Enteropathogenic *E. coli* (EPEC) به عنوان عامل عمده اسهال در کودکان خصوصاً در کشورهای در حال توسعه می باشند. به دلیل اثرات نامطلوب اسهال و تداخل در رشد کودکان، در برخی موارد درمان آنتی بیوتیکی توصیه میگردد. از آنجائیکه در سال های اخیر مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های رایج و مؤثر در درمان بیماری های عفونی به یکی از چالشهای مهم جامعه پزشکی تبدیل شده است، بدین منظور باید مقاومت و حساسیت آنتی بیوتیکی این سویه ها در هر منطقه جغرافیائی مشخص گردد. لذا در مطالعه حاضر الگوی آنتی بیوتیکی این باکتری مورد بررسی قرار گرفت.

روش کار: این مطالعه توصیفی- مقطعی بر روی ۱۹۲ سویه اشریشیا کلی انتروپاتوژن جدا شده از کودکان مبتلا به اسهال در طی سال ۱۳۹۰-۱۳۸۹ در دانشکده پزشکی همدان انجام پذیرفت. تست های بیوشیمیایی استاندارد و سرولوژی برای تعیین هویت این سویه ها مورد استفاده قرار گرفت. حساسیت آنتی بیوتیکی این ایزوله ها با استفاده از ۱۴ آنتی بیوتیک مختلف با روش استاندارد دیسک دیفیوژن آگار و بر اساس معیار CLSI انجام پذیرفت. مقاومت به سه یا بیش از سه کلاس از آنتی بیوتیک ها مقاومت چند دارویی تعریف گردید.

نتایج: نتایج این مطالعه نشان داد که سویه های اشریشیا کلی انتروپاتوژن به ترتیب بیشترین مقاومت را به سفیدوکسیم (۹۷٪)، تریمتوپریم (۶۰/۷٪)، تتراسایکلین (۵۸/۴٪) و آمپی سیلین (۴۵/۸٪) دارند. مقاومت به چند آنتی بیوتیک ۶۸/۷٪ بود. این سویه ها همچنین بیشترین حساسیت رانسبت به آنتی بیوتیکهای ایمی پنم، سفتریاکسون و سیپروفلوکساسین نشان دادند. **نتیجه نهایی:** سویه های EPEC مورد مطالعه با مقاومت نسبت به آمپی سیلین و تتراسایکلین و حساسیت مناسب نسبت به فلوروکینولونها از عوامل عمده اسهال در کودکان میباشند. نتایج این پژوهش پیشنهاد میکند که مقاومت ضد میکروبی در سویه های اشریشیا کلی بالا بوده و تجویز و مصرف آنتی بیوتیکها به صورت منطقی انجام نمی گیرد و این امر درمان بیماریهای عفونی را با مشکل مواجه می سازد. لذا بانظارت بر مصرف موادضدمیکروبی در درمان عفونتهایی که واجد مقاومت های چنددارویی می باشند و در صورت امکان تعیین فنوتیپ و ژنوتیپ سویه های مقاوم می توان تا حدودی از توسعه مقاومت در باکتریها جلوگیری به عمل آورد.

کلید واژه ها: آنتی بیوگرام / اسهال / اشریشیاکلی / مقاومت آنتی بیوتیکی

* کارشناس ارشد میکروبیولوژی دانشگاه علوم پزشکی همدان

** استاد گروه میکروبیولوژی انستیتوپاستور

*** استادیار گروه میکروبیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان

**** دانشیار گروه میکروبیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان (alikhani@umsha.ac.ir)

مقدمه :

میزان مرگ و میر کودکان از ۱۲/۵ میلیون نفر در سال ۱۹۹۰ به ۸/۸ میلیون نفر در سال ۲۰۰۸ کاهش یافته است (۱). با این وجود بیماری های عفونی همچنان یکی از علل مهم مرگ و میر کودکان می باشند و از این تعداد مرگ و میر اسهال باعث مرگ ۱/۳ میلیون کودک می گردد (۲). اسهال حاد شایعترین فرم اسهال بوده و بوسیله بسیاری از عوامل عفونی ویروسی، باکتریایی و انگلی بوجود می آید و از عوامل اصلی مرگ و میر خصوصاً در کودکان محسوب میشود (۳،۴). اشریشیاکلی انتروپاتوژن (EPEC) علت عمده اسهال کودکان در کشورهای توسعه نیافته می باشد (۵،۶). این باکتری به سلولهای اپیتلیال روده کوچک متصل شده و باعث ایجاد ضایعات اتصالی-تخریبی (Attachment & Effacement lesions) و در نهایت اسهال در کودکان می گردد (۷). علی رغم اهمیت محدود سویه های EPEC در کشورهای صنعتی و پیشرفته، این سویه ها در کشورهای در حال توسعه بعنوان عامل عمده اسهال کودکان قلمداد میشوند (۸). مطالعاتی در برزیل، مکزیک و آفریقای جنوبی نشان داده است که ۳۰ الی ۴۰٪ اسهال کودکان در این مناطق توسط سویه های انتروپاتوژنیک اشریشیاکلی ایجاد میگردد (۹-۱۱). همچنین این سویه ها یکی از عوامل مهم اسهال در شیوع های بیمارستانی، کلینیکهای سرپائی و بیماران مراجعه کننده به بیمارستانها در مناطق شهری و روستائی محسوب میشوند (۸). در درمان عفونت های ناشی از این میکروارگانیسم از رهیدراسیون و در مواقع لزوم از آنتی بیوتیک های مختلف استفاده می شود (۱۲). در درمان این عفونتها از آنتی بیوتیکهای دسته پنی سیلینها و سفالوسپورنیهای نسل اول و دوم و سوم به وفور استفاده می شود.

در سال های اخیر بروز پدیده مقاومت بر علیه آنتی بیوتیکهای رایج در باکتریهای گروه انتروباکتریاسه نگرانیهای فراوانی را در جوامع پزشکی بدلیل شکست درمان پدید آورده است (۱۳) و داشتن اطلاعاتی در مورد الگوی آنتی بیوگرام و مقاومت آنتی بیوتیکی این باکتری اطلاعات مفیدی را در مورد استراتژی مناسب درمانی بر علیه این عفونت ها بدست می دهد. بهمین منظور این مطالعه با هدف تعیین الگوی حساسیت و مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های اشریشیا کلی انتروپاتوژن ایزوله شده از کودکان مبتلا به اسهال انجام گرفت.

روش کار:

جداسازی و تعیین هویت سویه ها: این مطالعه توصیفی مقطعی طی سالهای ۱۳۹۰-۱۳۸۹ بر روی ۱۹۲ سویه اشریشیاکلی انتروپاتوژن جدا شده از کودکان مبتلا به اسهال (سویه های جمع آوری شده از مطالعه قبلی بوده و اطلاعات آن در این تحقیق آورده نشده است) در دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان انجام گردید. نمونه ها ابتدا بر روی محیط کشت ائوزین متیلن بلو آگار (EMB agar) کشت داده شده و پس از انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد بمدت ۱۸ ساعت با تستهای بیوشیمیایی استاندارد (۱۴) شناسائی و با تکنیک آگلوتیناسیون بر روی لام با استفاده از آنتی سرمهای اختصاصی بر علیه آنتی ژن O سروگروپ های اشریشیا کلی انتروپاتوژن شامل O26, O55, O86 O111, O114, O119, O124, O125, O126, O127, O128, O142, دستورالعمل شرکت سازنده (Bio-Rad) تعیین هویت گردیدند.

تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی: آنتی بیوگرام این نمونه ها با روش کربی-بائر (Kirby-Bauer) انجام گرفت (۱۵). از نمونه کشت داده شده در محیط کشت LB (MERCK)، در کنارشعله یک لوپ برداشته ودریک لوله با آب مقطر استریل مطابق با لوله نیم مک فارلند رقیق شد، سپس محتویات این لوله روی پلیت مولر هینتون آگار (MERCK) ریخته شده و پس از اینکه تمام سطح آن با مایع پوشیده شد، با سمپلر مایع اضافی برداشته و دور ریخته شد. پلیتها با در نیمه باز در انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد گذاشته شد تا خشک شوند. سپس دیسکهای مربوط به آنتی بیوتیکهای مختلف تهیه شده از شرکت هایمدیا هند شامل: Ampicilin(10µg)، Ampicillin/ Sulbactam (10/10µg)، Cefazidime(30µg)، Cefpodoxime(10µg)، Amikacin (30µg)، Gentamicin(10µg)، Trimethoprim(10µg)، Ciprofloxacin(30µg)، Tetracycline(30µg)، Azteronam(30µg)، Imipenem(10µg)، Chloramphenicol(15µg) و Ceftriaxone(30µg) و Cephotoxime(30µg) روی پلیت قرار گرفتند و در انکوباتور به مدت ۱۸ ساعت در دمای ۳۷°C انکوبه شدند. ازباکتری اشریشیاکلی ATCC 25192 به عنوان سویه رفرانس در آنتی بیوگرام استفاده

داده اند. بیشترین درصد مقاومت به سفپودوکسیم و بیشترین حساسیت در بین سویه ها به ترتیب نسبت به آنتی بیوتیک های ایمی پنم، جنتامایسین و سیپروفلوکساسین دیده شد.

سویه های EPEC در این مطالعه از لحاظ مقاومت چند گانه (Multi Drug Resistance) مورد بررسی قرارگرفتند. نتایج بررسی نشان می دهد که ۱۳۲ سویه (۶۸/۷٪) به سه و یا بیش از سه آنتی بیوتیک مقاوم بوده اند. نتایج حاصل از بررسی الگوی چند مقاومتی در جدول ۲ خلاصه شده است. میزان مقاومت سویه های ایزوله شده نسبت به سفالوسپورینهای نسل سوم و مونوباکتامها بسیار بالا بوده و نتایج نشان داده است که ۱۸۸ سویه (۹۷/۹٪) حداقل نسبت به یکی از آنتی بیوتیکهای سفپودوکسیم، سفوتاکسیم، سفتازیدیم و آزترونام مقاوم بوده اند، در حالیکه ۱۳٪ نسبت به دو، ۶/۲٪ به سه و ۲/۶٪ نسبت به هر چهار آنتی بیوتیک ذکر شده مقاومت نشان داده اند.

جدول ۲: توزیع فراوانی سویه های EPEC مقاوم به چند دارو (MDR)

الگوی مقاومتی	تعداد نمونه ها (درصد مقاومت)
۳ مقاومتی	۳۷ (۱۹/۲۷)
۴ مقاومتی	۳۸ (۱۹/۷۹)
۵ مقاومتی	۳۴ (۱۷/۷)
۶ مقاومتی	۱۷ (۸/۵۸)
۷ مقاومتی	۵ (۲/۶)
۸ مقاومتی	۱ (۰/۵۲)

بحث:

بیماریهای اسهالی ایجاد شده توسط سویه های اسهال زای اشریشیا کلی یک مشکل بهداشتی در بسیاری از نقاط جهان بوده و یکی از علل شایع مرگ و میر خصوصاً در کودکان محسوب میگردند. اغلب موارد اسهال های خفیف بطور موثری با پودرهای ORS درمان میشوند و تنها بیماران با اسهال شدید و یا مزمن باید آنتی بیوتیک دریافت کنند. مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های اشریشیا کلی اسهال زا معمولاً نسبت به آنتی بیوتیکهای بتا لاکتام بطور مکرر گزارش می گردد، لذا اطلاعات نظارتی در مورد مقاومت ضد آنتی میکروبی باید به روز شده و در مدیریت بالینی و دستورالعمل های درمانی مورد استفاده قرار گیرند.

شد. نتایج آنتی بیوگرام بر مبنای معیارهای توصیه شده CLSI 2010 به صورت حساس (Sensitive)، مقاوم (Resistance) و نیمه حساس (Intermediate) گزارش گردید.

به منظور تجزیه و تحلیل الگوی حساسیت و مقاومت آنتی بیوتیکی در سویه های اشریشیا کلی انتروپاتوژن از آزمون مجذور کای استفاده گردید.

نتایج:

در این مطالعه ۱۹۲ سویه اشریشیاکلی انتروپاتوژن مورد بررسی قرار گرفت. نتایج تست تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی سویه های اشریشیا کلی انتروپاتوژنیک مورد مطالعه در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱: توزیع فراوانی الگوی مقاومت و حساسیت آنتی بیوتیکی در ۱۹۲ سویه انتروپاتوژن اشریشیا کلی جدا شده از کودکان مبتلا به اسهال

Antibiotic	Resistance No(%)	Intermediate No(%)	Sensitive N0(%)
Ampicillin (A)	88(45.8)	28(14.7)	76(39.5)
Ampicillin/SULBACTAM (A/S)	41(21.3)	56(29.3)	95(49.4)
Ceftazidime(CA)	16(8.4)	33(17.1)	143(74.5)
Cefotaxime(CE)	11(5.8)	91(47.4)	90(46.8)
Ceftriaxone(CI)	0(0)	50(26.1)	142(73.9)
Cefpodoxime(CEP)	188(97.9)	4(2.1)	0(0)
Imipenem(I)	0(0)	0(0)	192(100)
Aztereonam(Ao)	31(15.7)	154(80.6)	7(3.7)
Gentamicin(Gm)	11(5.8)	23(11.9)	158(82.3)
Amikacin(AK)	14(7.3)	49(25.6)	129(67.1)
Tetracycline(TE)	112(58.4)	48(24.9)	32(16.7)
Ciprofloxacin(CF)	6(3.2)	34(17.6)	152(79.2)
Trimethoprim(Tr)	116(60.7)	18(9.2)	58(30.1)
Chloramphenicol(C)	36(18.8)	29(15.1)	127(66.1)

نتایج بدست آمده بیانگر میزان بالای مقاومت (مقاومت و حساسیت نسبی) نسبت به آنتی بیوتیکهای آمپی سیلین، تتراسایکلین، تری متوپریم و سفپودوکسیم میباشد. از ۱۹۲ سویه EPEC ایزوله شده ۹۷/۹٪ نسبت به سفپودوکسیم، ۶۰/۷٪ نسبت به تری متوپریم، ۵۸/۴٪ نسبت به تتراسایکلین و ۴۵/۸٪ نسبت به آمپی سیلین دارای مقاومت بوده اند. این سویه ها نسبت به آنتی بیوتیک های جنتامایسین (۸۲/۳)، سیپروفلوکساسین (۷۹/۲٪) و کلرامفنیکل (۶۶/۱٪) حساسیت بالائی نشان

EPEC در مقایسه با سایر سویه های DEC مقاومت کمتری نسبت به آنتی بیوتیکهای مورد بررسی داشتند (۱۸). بررسی الگوی آنتی بیوگرام در فرانسه نشان از مقاومت بسیار کمتر سویه های اشریشیاکلی در این نقطه جغرافیایی نسبت به کشورهای در حال توسعه دارد، بطوریکه درصد مقاومت نسبت به جنتامایسین ۰/۱٪، امیکاسین ۰/۷٪، تری متوپریم ۲۱/۱٪ و تتراسایکلین ۵۰/۱٪ برآورد شده است (۱۷).

مقایسه الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی بین این مطالعه و بررسیهای انجام شده در کشورهای پرو (۱۸)، ویتنام (۱۶)، فرانسه (۱۷)، کره جنوبی (۱۹) و هندوستان (۲۰) هرچند شباهت هایی از لحاظ الگوی آنتی بیوگرام بین این سویه ها را نشان داد اما بطور کلی می توان نتیجه گرفت که الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در گونه های اشریشیاکلی در میان جوامع و کشورهای مختلف و حتی مناطق جغرافیایی مختلف متفاوت می باشد. در ایران نیز مطالعه اصلانی نشان داده است که سویه های DEC بیشترین مقاومت را نسبت به تتراسایکلین، آمپی سیلین، آموکسی سیلین/ کلانولانیک اسید و تری متوپریم دارند (۲۳). مطالعه مطلبی و همکارانشان در شهر کاشان بر روی نمونه های EPEC نشان از مقاومت بسیار بالای این سویه ها در این منطقه داشته و به نظر می رسد که الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در جوامع مختلف بسیار متغیر و شدیداً تابع منطقه و جامعه مورد مطالعه می باشد (۲۴). مقایسه میزان شیوع سویه های چندمقاومتی (MDR) بین این مطالعه (۶۸/۷٪) و مطالعه لیاثو و همکاران (۲۶/۷٪) نشان از مقاومت بسیار بالا در بین سویه های مورد مطالعه دارد (۲۵).

نتیجه نهایی:

نتایج حاصل از این مطالعه نشان می دهد که مقاومت دارویی طی درمان آنتی بیوتیکی و نیز شیوع سویه های چندمقاومتی اشریشیاکلی انتروپاتوژن روبه افزایش است و تدوین برنامه ای جامع جهت کنترل مداوم مقاومت آنتی بیوتیکی نسبت به این ارگانیسمها ضروری به نظر میرسد. لذا بانظارت بر مصرف مواد ضد میکروبی در درمان عفونتهایی که واجد مقاومت های چند دارویی می باشند و در صورت امکان تعیین فنوتیپ و ژنوتیپ سویه های مقاوم می توان تا حدودی از توسعه مقاومت در باکتریها جلوگیری به عمل آورد.

از ۱۹۲ سویه اشریشیا کلی انتروپاتوژنیک مورد مطالعه، ۶۸/۷٪ مقاومت چند گانه نسبت به آنتی بیوتیکهای مورد استفاده از جمله سفپودوکسیم (۹۷/۹٪)، تری متوپریم (۶۰/۷٪)، تتراسایکلین (۵۸/۴٪) و آمپی سیلین (۴۵/۸٪) را نشان داده اند. این داده ها مطابق با مطالعات قبلی (۲۰-۱۶) نشان میدهد که استفاده از این داروها یک عامل کلیدی در ظهور مقاومت آنتی میکروبیال در سویه های اشریشیا کلی اسهال زا میباشد.

سویه های مورد مطالعه تقریباً ۶۵٪ مقاومت و یا حساسیت نسبی نسبت به آمپی سیلین و تتراسایکلین نشان داده اند. از آنجائیکه این آنتی بیوتیکها برای درمان عفونتهای متفاوتی در بچه ها پیشنهاد میگردند، لذا ایزوله های اشریشیا کلی باید از نظر مقاومت به این داروها بیشتر مد نظر قرار گیرند. اگرچه ایزوله های EPEC در این مطالعه نسبت به سفالوسپورینها و سیپروفلوکساسین حساسیت خوبی نشان داده اند. این آنتی بیوتیک ها در درمان عفونتهای ایجاد شده بوسیله سویه های اشریشیا کلی انتروپاتوژنیک مقاوم به چند دارو دارای اهمیت هستند. نتایج این بررسی همچنین نشان داد که آنتی بیوتیکهای رایج امیکاسین، جنتامایسین و کلرامفنیکل که در درمان عفونتهای روده ای به وفور مورد استفاده قرار می گیرند همچنان می توانند بعنوان درمانی قابل اعتماد مورد استفاده قرار گیرند. نشانه هایی از افزایش گونه های EPEC مقاوم به دارو در کشورهای در حال توسعه وجود دارد و الگوی مقاومت بیشتر در میان آنتی بیوتیکهای دسته پنی سیلینها، سفالوسپورینها و آمینوگلیکوزیدها مشاهده شده است (۲۱). گزارشها نشان از مقاومت ۷۰ درصدی سویه های اشریشیاکلی اسهالزا (*Diarrheagenic Escherichia coli/ DEC*) نسبت به آمپی سیلین و همچنین ۵۱ درصدی به تری متوپریم در کودکان زیر ۵ سال بستری شده در بیمارستانهای شهر مکزیکو دارند (۲۲). مطالعه مشابهی در پرو که در مورد کودکان ۲ تا ۱۲ ماهه انجام شد نشان داد که سویه های DEC نسبت به آنتی بیوتیکهای آمپی سیلین، تری متوپریم و تتراسایکلین به ترتیب ۸۵، ۶۵ و ۷۹٪ مقاوم هستند (۱۸) طی مطالعه ای که در سال ۲۰۰۸ در کشورهای امریکای جنوبی بر روی سویه های EPEC انجام گرفت درصد مقاومت نسبت به آنتی بیوتیکهای آمپی سیلین، کلرامفنیکل و تری متوپریم به ترتیب ۴۷/۱٪، ۸/۸٪ و ۶۱/۸٪ برآورد شده است. در این مطالعه سویه های

منابع :

1. You D , Wardlaw T, Salama P, Jones G. Levels and trends in under-5mortality, 1990-2008. *Lancet* 2009; 375:100-3.
2. Black RE , Cousens S , Johnson HL , Lawn JE , Rudan I , Bassani DG, et al. Global, regional, and national causes of child mortality in 2008-2010. *Lancet* 2010; 375(9730): 1969-1987.
3. Thapar N, Sanderson IR. Diarrhea in children: an interface between developing and developed countries. *Lancet* 2004;363:641-653.
4. Toila V. Acute infectious diarrhea in children. *Curr Sci* 2002;4: 183-194.
5. Murray P , Pfaller M, Rosenthal K. *Medical Microbiology*. 5th ed. chapter 31 Enterobacteriaceae: 328
6. Trabulsi LR , Keller R, Tardelli Gomes TA. Typical and atypical enteropathogenic escherichia coli. *Emerg Infect Dis* 2002;8(5):508-512.
7. Brooks G, Butel J, Morse S, Carroll KC. *Jawetz, Melnick & Adelberg's medical microbiology*, 25th ed. (LANGE Basic Science) chapter 10 antimicrobial chemotherapy :299.
8. Nataro JP, Kaper JB. Diarrheagenic Escherichia coli. *Clin Microbiol Rev* 2008;11(1): 142-201
9. Gomes TA, Vieira MA, Wachsmuth IK, Blake PA, Trabulsi LR. Prevalence of Escherichia coli strains with EPEC adherence factor genes in infants with and without diarrheain Sao Paulo, Brazil. *J Infect Dis* 2006;160(1): 131-35.
10. Cravioto A, Molina J, Manjarrez A, Eslava C. Enteropathogenic Escherichiacoli: The Mexican experience. *Rev Microbiol* 2007;27(Supple): 21-24.
11. Robins-Browne RM, Levine MM, Rowe B, Gabriel EM. Failure to detect conventional enterotoxins in classical enteropathogenic (serotyped) Escherichiacoli strains of proven pathogenicity. *Infect Immun* 1982; 38: 798-801.
12. Stuart Walker T. *Microbiology review* , 1999, chapter imicrobial agents : 129-131
13. Coque TM, Baquero F , Canton R. Increasing prevalence of ESBL-producing enterobacteriaceae in Europe. *Euro Surveillance* 2008;13:47.
14. Forbes BE , Sahn DF, Weissfeld AS, Trevino E. A. *Bailey & Scott's diagnostic microbiology*, 11th ed. Toronto: Mosby , 2002.
15. Irajian G, Jazayeri Moghadas A. Frequency of extended-spectrum beta lactamase positive and multidrug resistance pattern in gram-negative urinary isolates, Semnan, Iran. *Jundishapur Journal of Microbiology* 2010; 3(3): 107-113.
16. Nguyen TV, Le PV, Le CH, Weintraub A. Antibiotic resistance in diarrheagenic Escherichia coli and Shigella strains isolated from children in Hanoi, Vietnam. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49:816-9.
17. Quentin C, Arpin C, Dubois V, André C, Lagrange I, Fischer I , et al. Antibiotic resistance rates and phenotypes among isolates of enterobacteriaceae in French extra-hospital practice biomedical and life sciences. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2009; 23(3): 185-193
18. Ochoa TJ, Ruiz J, Molina M, Del Valle LJ, Vargas M, Gil AI, et al. High frequency of antimicrobial drug resistance of diarrheagenic Escherichia coli in infants in Peru. *Am J Trop Med Hyg* 2009; 81:296-301.
19. Park Y, Kang HK, Bae K, Kim J, Kim JS, Uh Y, et al. Prevalence of the extended-spectrum β -lactamase and qnr genes in clinical isolates of escherichia coli. *Korean J Lab Med* 2009; 29: 218-23
20. Goyal A, Prasad KN, Prasad A, Gupta S, Ghoshal U, Ayyagari A. Extended spectrum B-lactamases in Escherichia coli & Klebsiellapneumoniae & associated risk factors. *Indian J Med Res* 2009; 129: 695-700
21. Bujdáková H, Hanzen J, Jankovicová S, Klimácková J, Moravčíková M, Milosovic P, et al. Occurrence and transferability of beta-lactam resistance in enterobacteriaceae isolated in children's university hospital in Bratislava. *Folia Microbiol (Praha)* 2001;46(4):339-44.
22. Estrada-Garcia T , Cerna JF, Paheco-Gil V, Velazquez RF, Ochoa TJ, Torres J, et al. Drug-resistant diarrheogenic Escherichia coli, Mexico. *Emerg Infect Dis* 2005;11:1306-8.
23. Aslani MM, Salmanzadeh-Ahrabi S, Alikhani MY , Jafari F, Zali MR. Molecular detection and antimicrobial resistance of diarrheagenic Escherichia coli strains isolated from diarrheal cases. *Saudi Med J* 2008; 29(3):
24. Motallebi M, Piroozmand A, Rohani M, Akbari H, Khorshidi A. Prevalence and multi-drug resistance of enteropathogenic Escherichia coli (EPEC) isolated from children under 5 years of age with diarrhea in Kashan Shahid Beheshti Hospital during 2009-10. *Journal of Kashan University of Medical Sciences*, 2011; 15(1): 61-68. (Persian)
25. Liao W, Jiang J, Xu Y, Yi J, Chen T, Su V, et al. Survey for b-lactamase among bacterial isolates from Guangzhou, China hospitals between 2005-2006. *J Antibiot* 2010; 63: 225-229.