

ESBLs Distribution in UPEP Isolates of *Escherichia coli*

Mehdi Moazzami Goudarzi^{1*}, Farzaneh Hosseini²

¹Department of Microbiology, Science and Research Unit, School of Science, Islamic Azad University, Tehran, Iran

²Department of Microbiology, School of Biological Sciences, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran

Received: 14 Feb, 2013 Accepted: 11 Apr, 2013

Abstract

Backgrounds and Objectives: Despite the widespread availability of antibiotics, antibiotic resistance uropathogens are increasing. The most common mechanism of antibiotic resistance is production of extended spectrum B-lactamas (ESBL). ESBLs are derived from TEM-1 + TEM-2 and SHV-1ancestral plasmids. Currently, according to a variety of mutations in these plasmids, there are more than 90 types for TEM and 25 types for SHV plasmids.

Materials and Methods: In this study, 146 uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) isolates were collected. Isolated organisms were identified by standard biochemical and microbial tests. Antibiotic susceptibility was examined by disc diffusion method and isolates with ESBL, were recognized. The presence of TEM and SHV plasmids in isolates were examined by PCR method.

Results: According to molecular estimations, TEM and SHV plasmids would be detected in 68/1% of isolates. But, TEM and SHV plasmids were detected in 18/1% and 13/6% of isolates, Separately. It seems that a chromosomal gene of beta lactam resistance was responsible in 52/1% of samples.

Conclusion: According to increase level of antibiotic resistance among UEPC isolates, complete recognition of ESBLs is necessary and also trying to understand who they affect antibiotics resistance.

Keywords: *Escherichia coli*, ESBL, Antibiotic resistance

*Corresponding author:

E-mail: moma1675@gmail.com

مقاله پژوهشی

شیوع بتالاکتام‌های وسیع الطیف در نژاد UPEC اشرشیاکلی

مهدی معظمی گودرزی: گروه میکروبیولوژی، واحد علوم و تحقیقات، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، نویسنده رابط:
E-mail: moma1675@gmail.com

فرزانه حسینی: گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران، ایران

دریافت: ۹۱/۱۱/۲۶ پذیرش: ۹۲/۱/۲۶

چکیده

زمینه و اهداف: علی‌رغم دستیابی به آنتی‌بیوتیک‌های متنوع، مقاومت دارویی پاتوژن‌های ادراری در حال فزونی است. یکی از شایع‌ترین ساز و کارها در مقاومت باکتری‌ها، تولید آنزیم‌های وسیع‌الطیف بتالاکتام‌هاست. پلاسمیدهای ESBL (بتالاکتام‌های وسیع‌الطیف) اجداد TEM-1، TEM-2 و SHV-1 می‌باشند که هم‌اکنون با رخداد جهش‌های نقطه‌ای در آنها، بیش از ۹۰ تیپ TEM و بیش از ۲۵ تیپ SHV بروز یافته است.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش ۱۴۶ جدایه ادراری باکتری اشرشیاکلی جمع‌آوری گردید. هویت میکروارگانیسم‌ها با تست‌های استاندارد بیوشیمیایی و میکروبی مورد تایید قرار گرفت. الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی آنها با روش Disc diffusion تعیین شد. سپس با استفاده از روش سینتریسیم، سویه‌های مولد بتالاکتام‌ها شناسایی شدند. در نهایت با استفاده از پرایمرهای اختصاصی TEM-1 و SHV-1 و با استفاده از روش PCR، پلاسمیدهای TEM و SHV مورد شناسایی قرار گرفتند.

یافته‌ها: بر اساس ارزیابی فنوتیپیک و مولکولی در جمعیت مورد مطالعه، در نهایت شیوع پلاسمید TEM و SHV به صورت همزمان در میان نژاد UPEC اشرشیاکلی ۶۸/۱٪ تعیین گردید. در حالی که شیوع مقاومت با منشأ پلاسمیدی TEM و SHV به ترتیب ۱/۸٪ و ۱۳/۶٪ بود. مقاومت با منشأ کروموزومی ۳۱/۹٪ تعیین گردید.

نتیجه‌گیری: با توجه به مقاومت بالای سویه‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام، شناسایی کامل ESBL‌ها، شناخت کامل مکانیسم‌های مقاومت ESBL‌ها و استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های جایگزین، نقش موثری در کاهش ظهور مقاومت ایفا می‌نمایند.

کلیدواژه‌ها: اشرشیاکلی، بتالاکتام‌های وسیع‌الطیف، مقاومت آنتی‌بیوتیکی

مقدمه

ظهور مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام به سال‌های اولیه کشف مقاومت نسبت به اولین آنتی‌بیوتیک (پنی‌سیلین) برمی‌گردد. گرچه اولین بتالاکتام‌ها در باکتری اشرشیاکلی مشاهده شد (۱)، امروزه شیوع این آنزیم‌ها در میان باکتری‌ها رو به افزایش است. چنین مقاومت‌هایی مربوط به پلاسمید کدکننده آنزیم تخریب‌کننده آنتی‌بیوتیک می‌باشد که به سرعت در میان نمونه‌های کلینیکی در حال افزایش است. در بسیاری از نژادهای باکتری‌های گرم منفی به‌طور طبیعی جهش‌های کروموزومی رخ می‌دهد، بر این اساس برخی از دانشمندان معتقدند، ممکن است این آنزیم‌ها محصول موتاسیون در ژن‌های کدکننده‌های پروتئین‌های متصل‌شونده به پنی‌سیلین باشند. نخستین پلاسمید کدکننده بتالاکتام‌ها که در میان گرم

منفی‌ها شناسایی شده است، TEM-1 نام دارد. این پلاسمید در سال ۱۹۶۰ در ایزوله‌های اشرشیاکلی حاصل از کشت خون به دست آمد (۲). ESBL‌ها شامل تعدادی آنزیم موتاسیون یافته هستند، که اجازه هیدرولیز آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام وسیع‌الطیف را می‌دهند (۳). علی‌رغم تلاش‌های صورت‌گرفته با توجه به شیوع رو به گسترش بتالاکتام‌های وسیع‌الطیف، به نظر می‌رسد یکی از راهکارهای موثر در جهت پیشگیری و حتی درمان عفونت‌های ناشی از باکتری اشرشیاکلی می‌تواند درک اکوفیزیولوژی بیان ژن‌های موثر در مرحله اتصال به عنوان نخستین گام پاتوژنز باکتری باشد. شناخت چنین فرایندهای تنظیمی همراه با سایر فاکتورهای محیطی - میزبانی در آینده‌ای نه‌چندان دور امکان جایگزینی درمان‌های

MID STREAM تهیه شدند. از میان این ۱۴۶ جدایه ۹۱ عدد از بیماران زن و ۳۷ نفر بیمار مرد و ۱۸ نفر نوزاد شامل ۷ نوزاد دختر و ۱۱ نوزاد پسر ایزوله گردیده است. صرف نظر از نوزادان ۳۶٪ افراد به صورت بیمار سرپایی و ۶۴٪ بستری در مرکز درمانی بوده اند. غربال گری جدایه های مولد بتالاکتاماز طی دو مرحله انجام پذیرفت.

الف) ارزیابی فنوتیپیک

جهت انجام نمونه‌گیری از کشت ادارار بیماران استفاده شد. سپس انجام تست‌های افتراقی نظیر IMViC برای شناسایی باکتری اشرشیا کلی در نمونه ادارار انجام شد. پس از تهیه کشت خالص از باکتری اشرشیاکلی، آزمون آنتی بیوگرام به روش دیسک گذاری (کری بوئر) انجام شد. تمامی دیسک های آنتی بیوتیک از شرکت Mast تهیه گردیدند. سپس جهت شناسایی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی ایزوله ها، تشخیص فنوتیپیک سوش های عرضه کننده بتالاکتام وسیع الطیف به روش زیر اجرا گردید:

برای این منظور از میان آن دسته از جدایه هایی که از طریق آزمون آنتی بیوگرام نسبت به بتالاکتام ها، یا حداقل برخی از آنها مقاوم تشخیص داده شده بودند، جدایه هایی که نسبت به دو آنتی بیوتیک سفوتاکسیم و سفنازیدیم (دیسک های ۳۰ میکروگرمی) مقاوم بودند، انتخاب گردیدند. سپس با استفاده از روش دیسک سینترسیم (Double Disc Method) بنا به تکنیک زیر نسبت به شناسایی فنوتیپیک جدایه های واجد بتالاکتاماز مطابق با توصیه (Clinical Standard Laboratory Institute, CSLI) اقدام شد. در این روش پس از تهیه سوسپانسیونی از باکتری، واجد کدورتی برابر نیم مک فارلند، باکتری مقاوم به سفوتاکسیم و سفنازیدیم روی سطح پلیت مولر هیتسون آگار توزیع گردید. سپس سه دیسک ۳۰ میکرو گرمی سفوتاکسیم، آموکسی کلاو، و سفنازیدیم به ترتیب و به فاصله تقریبی بیست میلی متر از یکدیگر روی پلیت تلقیح شده قرار گرفت. پلیت تلقیح شده برای مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت در حرارت ۳۷ درجه سانتیگراد گرماگذاری شد. در صورتی که علت مقاومت آنتی بیوتیکی در جدایه مورد مطالعه نسبت به بتالاکتام ها وجود آنزیم های بتالاکتاماز باشد، اسید کلاولانیک موجود در دیسک آموکسی کلاو موجبات حفظ ساختار آنتی بیوتیک بتالاکتام در حضور بتالاکتاماز را فراهم می آورد. در این صورت در محل تلاقی هاله عدم رشد اطراف دیسک آنتی بیوتیک بتالاکتام و دیسک آموکسی کلاو، حالت تشدید مشاهده می گردد.

ب) ارزیابی مولکولی حضور بتالاکتامازها

بتالاکتام‌های وسیع الطیف (ESBLs) از بتالاکتاماز های کلاس A / گروه be۲ می باشند. بیشتر این آنزیم ها از مشتقات TEM - 1 (یک بتالاکتاماز وابسته به پلاسمید از *E. coli*) و یا SHV - 1 (یک بتالاکتاماز کروموزومی از کلبسیلا پنومونیه) می باشد. در این پژوهش پس از تخلیص پلاسمید از جدایه هایی که

اکولوژیک محور، با درمان های تهاجم محور نظیر استفاده از آنتی بیوتیک ها که خود زمینه انتخاب سویه های مقاوم را فراهم خواهد آورد، مهیا خواهد نمود. ESBL ها در تقسیم بندی که توسط Jacoby, Bush و Medeiros بر اساس پروفایل سوسپترا، ممانعت کنندگی و خصوصیات فیزیکی نظیر وزن مولکولی و نقطه ایزوالکتریک صورت گرفته است، به چهار گروه اصلی تقسیم بندی می شوند (۴). ESBL های گروه A: این گروه شامل بتالاکتاماز هایی است که فقط در باسیل های گرم منفی شرح داده شده اند و سبب هیدرولیز پنی سیلین و سفالوسپورین های با طیف اثر اندک و وسیع می گردند. بیشتر سویه های تولید کننده ی این گروه شامل موتانت های TEM-1، TEM-2، و SHV-1 می گردند.

۱) ESBL های گروه B: این گروه شامل متالوپروتئیناز هایی هستند که قادر به هیدرولیز کاربامین ها بوده و به طور عمده در باکتری هایی نظیر سودوموناس آئروژینوزا و سراسیا مارسنس گزارش شده اند.
۲) ESBL های گروه C: این گروه از آنزیم ها عمدتاً محصول ژن های کروموزومی است و در میان آنتروباکتر کلاوآکه با بیشترین فرکانس یافت می شوند.
۳) ESBL های گروه D: این گروه از آنزیم ها با توانایی هیدرولیز بالا، معمولاً علیه اکسازولین و کلوکسازولین وارد عمل شده و اسید کلاولانیک به طور معمول تأثیر چندانی روی فعالیت آن ندارد (۵و۶).

بیشتر آن چه که در مورد تکامل ESBL ها میدانیم از مطالعات انجام شده روی آنزیم های TEM و SHV سرچشمه می گیرد. این آنزیم ها درواقع موتانت های ساختاری TEM-1، TEM-2، و SHV-1 می باشند (۷). امروزه بیش از ۹۰ تیپ TEM و بیش از ۲۵ تیپ SHV شناسایی شده است. تیپ های TEM و SHV معمولاً اغلب در میان اشرشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه و کمتر در میان پروتئوس و پروویدنسیا یافت می گردند (۸). پلاسمیدی بودن TEM-1 و رخ داد جهش نقطه ای در آن سبب تسهیل انتشار آن به سایر باکتری ها می گردد. به این دلیل طی سال های گذشته TEM-1 در اعضای خانواده انتروباکتریاسه، سودوموناسیه و همچنین باکتری های هموفیلوس انفولانزا و نایسریا گونوره آ انتقال و انتشار یافته است. دیگر پلاسمید مشترک میان کلبسیلا پنومونیه و اشرشیاکلی، SHV-1 است که به صورت عمده به شکل کروموزومی در کلبسیلا پنومونیه و پلاسمیدی در اشرشیاکلی وجود دارد (۸و۹). پژوهش پیش رو با توجه به کثرت موارد عفونت ادراری ناشی از اشرشیاکلی و سهولت تماس فلور میکروبی دستگاه ادراری و گوارشی اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

برای اجرای این پژوهش تعداد ۱۴۶ جدایه ادراری باکتری اشرشیاکلی از پنج مرکز بهداشتی درمانی تهران جمع آوری گردید. تمامی نمونه ها در شرایط کاملاً استریل و به صورت

در این مرحله به منظور انتخاب جدایه مولد بتالاکتاماز های وسیع الطیف در میان جدایه های مقاوم به بتالاکتاماز از روش دیسک سینتریزم استفاده گردید. جدایه هایی انتخاب شدند که تشدید قطر هاله عدم رشد در محل تلاقی هاله دیسک اسید کلاولانیک و دیسک آنتی بیوتیک بتالاکتاماز در آنها مشاهده گردید (شکل ۱). همان طور که پیش تر اشاره شد، در اسید کلاولانیک از طریق غیرفعال نمودن آنزیم های بتالاکتاماز ساختار آنتی بیوتیک را حفظ کرده و از این طریق در محل تلاقی هاله عدم رشد ناشی از دیسک آنتی بیوتیک بتالاکتاماز و اسید کلاولانیک سینتریزم مشاهده میگرد (شکل ۱). این جدایه ها برای آزمون PCR مورد استفاده قرار گرفتند. پس از اجرای تلخیص پلاسמיד از ۴۶ جدایه ای که آزمون دیسک سینتریزم آنها مثبت شده بود، از تمامی ۴۶ جدایه پلاسמיד به دست آمد و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد تا زمان اجرای آزمون PCR نگهداری شدند. یک ساعت قبل از انجام PCR نمونه ها به دمای صفر درجه سانتیگراد منتقل شدند. پس از اجرای برنامه TEM باند ۱۰۷۴ bp روی ژل آگارز مشاهده گردید. نتیجه الکتروفورز محصول PCR روی ژل در شکل ۲ مشاهده می گردد. پس از اجرای برنامه SHV باند ۱۰۱۶ bp روی ژل آگارز مشاهده گردید. نتیجه آزمون PCR روی ژل الکتروفورز در شکل ۳ قابل مشاهده است. از مجموع ۱۴۶ جدایه ی باکتری اشرشیا کلی ۴۶ جدایه که به طور هم زمان به دو آنتی بیوتیک سفنازیدیم و سفوتاکسیم مقاوم بودند، از نظر حضور پلاسמידهای کد کننده ی بتالاکتاماز وسیع الطیف مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج آزمون PCR نشان داد که بتالاکتاماز های وسیع الطیف با منشاء پلاسמידی دست کم در میان ۲۲ جدایه معادل تقریباً ۴۸٪ از سویه ها حضور دارند. به این ترتیب که بتالاکتاماز ها با منشاء TEM و SHV به صورت همزمان در میان ۱۵ جدایه (معادل: ۶۸٪) از نمونه ها مشاهده گردید. در عین حال بتالاکتامازها با منشاء TEM به تنهایی در ۴ جدایه (معادل: ۱۸٪) و بتالاکتاماز ها با منشاء SHV به تنهایی در ۳ جدایه (معادل: ۱۳٪) مشاهده گردید. با توجه به این که نتایج آزمون PCR روی پلاسמידهای تلخیص شده، تنها در ۲۲ نمونه از ۴۶ نمونه عرضه کننده خواص فنوتیپیک مشاهده گردید، مقاومت نسبت به بتالاکتامازها در ۲۴ جدایه باقی مانده با فراوانی ۳۱٪ منشاء کروموزومی دارد.

با آزمون فنوتیپیک حضور بتالاکتامازهای وسیع الطیف در آنها تایید شده بود، دو پرایمر اختصاصی با نام های TEM و SHV (شرکت Metabion) جهت شناسایی دو پلاسמיד TEM و SHV در اشرشیاکلی استفاده گردید. توالی این دو پرایمر از این قرار است:

TEM F: 5'- GAAGACGAAAGGGCCTCGTG - 3'

TEM R: 5'- GGTCTGACAGTTACCAATGC - 3'

SHV F: 5'- CGCCGGGTTATTCTTATTTGTCCG - 3'

SHV R: 5'- TCTTTCCGATGGCGCCAGTCA - 3'

جهت تخلیص نمودن پلاسמידها از سوش های انتخابی از کیت استخراج پلاسמיד (Miniprep) ساخت مرکز رشد پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، طبق پروتکل کیت استفاده گردید. به این منظور ابتدا یک کشت اورنایت از باکتری های انتخابی، مطابق شرایط زیر تهیه شد.

باکتری ها در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد در محیط کشت مایع (Luria bertani broth, LB) در انکوباتور شیکر داربا دور ۶۰۰ rpm کشت داده شدند. پس از ۲۴ ساعت محیط کشت تلقیح شده توسط سانتریفیوژ یخچال دار با دور ۱۳۰۰۰ rpm و در دمای ۴ درجه سانتیگراد و درون میکروتیوپ ۲ میلی لیتری، سانتریفیوژ گردیدند. مایع رویی میکروتیوپ درو ریخته شده و پلنت باقی مانده که شامل بیوس میکروبی است مطابق پروتکل کیت جهت استخراج پلاسמיד مورد استفاده قرار گرفت. پس از تخلیص پلاسמיד، میکروتیوب حاوی پلاسמיד تا زمان انجام واکنش در منهای بیست درجه سانتی گراد نگهداری شد. واکنش PCR جهت تکثیر قطعه ۱۰۷۴ bp، مطابق برنامه ای تحت عنوان TEM، با استفاده از دو پرایمر اختصاصی TEM F و TEM R اجرا گردید. جزئیات برنامه TEM در جدول ۱ آورده شده است. واکنش PCR جهت تکثیر قطعه ۱۰۱۶bp مطابق برنامه SHV، با استفاده از دو پرایمر اختصاصی SHV F و SHV R اجرا گردید. جزئیات برنامه SHV در جدول ۲ آورده شده است. جهت کنترل کیفی دیسک های آنتی بیوتیک و همچنین کنترل مثبت در واکنش PCR از دو سوش استاندارد اشرشیاکلی شامل: VEB-1, E.coli -MG-1 و E.coli -501,CTX-M-15 استفاده شد. به عنوان کنترل منفی از سوش های حساس استفاده شد.

یافته ها

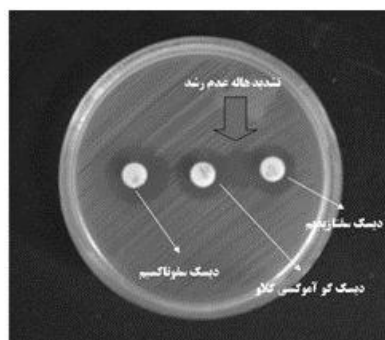
ارزیابی فنوتیپیک حضور بتالاکتاماز های وسیع الطیف در میان جدایه های مقاوم به بتالاکتاماز:

جدول ۱: برنامه TEM

مرحله	دما	زمان
پیش و اسرشت شدن	۹۴	۳ دقیقه
واسرشت شدن	۹۴	۷۵ ثانیه
اتصال آغازگرها	۵۵	۷۰ ثانیه
طویل شدن	۷۲	۱ دقیقه
تکرار	۳۴	-
طویل شدن انتهایی	۷۲	۱ دقیقه
نگه داشتن	۴	-

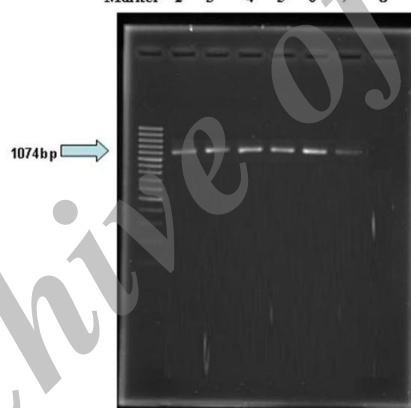
جدول ۲: برنامه SHV

مرحله	دما	زمان
پیش واسرشت شدن	۹۴	۳ دقیقه
واسرشت شدن	۹۴	۷۵ ثانیه
اتصال آغازگرها	۶۰	۷۰ ثانیه
طویل شدن	۷۲	۱ دقیقه
تکرار	۳۴	-
طویل شدن نهایی	۷۲	۱ دقیقه
نگه داشتن	۴	-



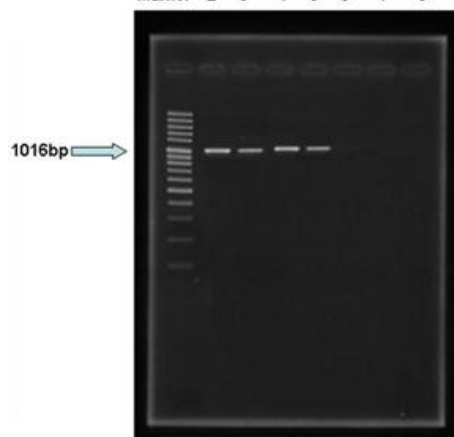
شکل ۱: روش دیسک سینرژیزم جهت ارزیابی فنوتیپیک حضور بتالاکتامازهای وسیع الطیف. همان طور که در شکل مشاهده می‌گردد هاله عدم رشد درمحل تلاقی دیسک سفتازیدیم و کو آموکسی کلاو تشدید شده است. این دسته از نمونه‌ها به لحاظ فنوتیپیک کاندید عرضه بتالاکتاماز میباشند

Marker 2 3 4 5 6 7 8



شکل ۲: آزمون PCR جهت تعیین حضور پلاسمید TEM در جدایه‌های مقاوم به بتالاکتام. خط ۱: مارکر. خطوط ۲، ۳، ۴، ۵، ۶ جدایه‌های مثبت از نظر حضور پلاسمید TEM - خط ۷ کنترل مثبت و خط ۸ کنترل منفی. مارکر (۱۵۰۰) bp

Marker 2 3 4 5 6 7 8



شکل ۳: نتیجه آزمون PCR جهت تعیین حضور پلاسمید SHV در جدایه‌های مقاوم به بتالاکتام. خط ۱: مارکر. خطوط ۲، ۳، ۴: نمونه‌های مثبت. خط ۵ کنترل مثبت. خط ۶: کنترل منفی. خط ۷ و ۸: نمونه‌ای لود نشده است. مارکر (۱۵۰۰) bp

بحث

کشور ایران طبق نتایج تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی مازندران در سال ۱۳۷۶ که روی ۹۰۹ نمونه انجام شده است، شیوع آلودگی مجرای ادرار ۱۳/۳۲٪ (در خانم ها ۱۴/۹۲٪ و در آقایان ۱۱/۸۳٪) گزارش گردیده است (۱۶ و ۱۷). در یک مطالعه توصیفی بر روی ۴۰۰ خانم، ۱۱ نفر به طور واضح علامت عفونت ادراری داشتند و در آزمایش ادرار هم باکتریوری مثبت بودند و ۱۹ نفر بدون علامت اما باکتریوری مثبت بودند. بر اساس این مطالعه فراوانی باکتریوری علامت دار ۲/۷۵٪ و باکتریوری بدون علامت ۴/۷۵٪ و در کل ۷/۵٪ خانم های مورد مطالعه واجد باکتریوری بودند (۱۸). بر اساس مطالعه مشابه دیگری از ۲۵۵ خانم، ۲۷ نفر (۱۰/۵۸٪) واجد عفونت ادراری بودند (۱۹). نتایج این مطالعه و سایر مطالعات انجام گرفته در این راستا، بیانگر فراوانی بیشتر عفونت های ادراری در خانم ها در مقایسه با آقایان بوده است که این نتایج به وضعیت فیزیولوژیک دستگاه ادراری در خانم ها ارتباط دارد (۱۹). فراوانی بالای عفونت های بیمارستانی نشان دهنده کیفیت ضعیف ارائه خدمات بهداشتی - درمانی می باشد (۱۹). درمان پادزست درصد قابل توجهی از عفونت ها، از جمله عفونت های ادراری اشرشیاکلی که در گذشته به سادگی امکان پذیر می بود، امروزه با کسب انواع مقاومت های آنتی بیوتیکی پرهزینه و دشوار گردیده است (۱۰). در مطالعه پیش رو از مجموع ۱۴۶ جدایه ی باکتری اشرشیا کلی ۴۶ جدایه که به طور هم زمان به دو آنتی بیوتیک سفتازیدیم و سفوتاکسیم مقاوم بودند، از نظر حضور پلاسمید های کد کننده ی بتالاکتاماز وسیع الطیف مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج حاصل نشان داد که بتالاکتامازهای وسیع الطیف در میان ۶۸/۱٪ از سویه ها حضور دارند. پژوهشی از ۱۵ بیمارستان ایالتی در امریکا در سال ۱۹۹۷ حضور بتالاکتاماز ها را در ۴۴٪ از سویه های اشرشیا کلی نشان داد (۱۱). مطالعات مشابهی که توسط Song و همکاران در سال ۲۰۰۷ میلادی انجام گرفت نشان میدهد که در ۴۰٪ نمونه ها ژنوتیپ TEM و در ۸۰٪ نمونه ها ژنوتیپ SHV مشاهده شده است (۱۲). در مطالعه ای دیگر Patzer و همکاران در سال ۲۰۰۷ میلادی نشان دادند که درصد سویه های اشرشیا کلی دارای ژن SHV از ۵۶٪ در سال ۲۰۰۱ به ۳۴٪ در سال ۲۰۰۵ کاهش یافته است (۱۱). در حالی که نتایج پژوهش مشابه در ترکیه نشان می دهد ۵۲/۷٪ از سویه های اشرشیاکلی دارای پلاسمید TEM و ۷۴/۳٪ از آنها دارای پلاسمید SHV و ۳۲/۴٪ از جدایه ها دارای هر دو نوع پلاسمید مقاومت آنتی بیوتیکی بودند (۱۳). در این راستا در ایران مشخص گردید که به ترتیب ۷۶/۷٪ و ۶۰/۶٪ از گونه های کلبسیلا و اشرشیاکولی، جداسازی شده از بخش های مراقبت ویژه، مولد بتالاکتامازهای وسیع الطیف بوده اند (۲۰). بر اساس مطالعات انجام شده مشخص گردید ۳۰/۸٪ باکتری های عامل عفونت های بیمارستانی و ۴۳/۵٪ از باکتری های مولد عفونت در بخش های مراقبت ویژه، مولد ESBL بوده اند (۲۱ و ۲۲). در سال ۱۳۸۶ تحقیقی توسط حسین زادگان و همکاران در دانشگاه علوم پزشکی لرستان با موضوع شیوع ESBL در میان اشرشیاکلی در بیمارستان شهدای

عشایر شهر خرم آباد انجام گردید. از مجموع ۲۲۵ نمونه، ۵۳ مورد (۲۳/۵۵٪) مثبت بودند که از این تعداد ۷ مورد عرضه کننده TEM بودند (۲۴). در تحقیقی که توسط شاهچراغی و همکاران در پاییز سال ۸۶ در انستیتو پاستور ایران انجام گرفت، از ۲۰۰ نمونه بالینی اشرشیاکلی ۱۰۵ مورد (۵۲/۵٪) از نظر ESBL مثبت گزارش شدند. که از این تعداد ۱۲ مورد (۶٪) حاوی TEM بودند (۲۳). میزان شیوع TEM در تحقیقی که توسط میرصالحی و همکاران در سال ۱۳۷۸ بر روی ۳۳ ایزوله از اشرشیا کلی انجام گرفت شیوع ESBL (۳۹/۴٪) گزارش گردید (۲۵). در سال ۱۳۸۶ مسجیدیان و همکاران نشان دادند که از ۱۴۸ جدایه اشرشیاکلی (۳۹/۴٪) حاوی ژن TEM بوده اند (۲۶). ژینوس بیات ماکو و همکاران در سال ۱۳۸۹ در مطالعه ای در دانشگاه علوم پزشکی تبریز شیوع ESBL را در میان جدایه های اشرشیاکلی ۴۹/۲٪ گزارش کردند (۲۷). تنوع نتایج و افزایش نسبی مقادیر شیوع، جای نگرانی است. لازم به ذکر است که باکتری های حامل ژن آنزیم بتالاکتاماز حتی در صورت نشان دادن حساسیت نسبت به داروهای بتالاکتام در آزمایشگاه، درمان عفونت های ناشی از آن را با شکست مواجه می سازند. بیمارانی که به عوامل عفونی مولد بتالاکتاماز های وسیع الطیف دچار میشوند، علاوه بر عدم درمان با آنتی بیوتیک های وسیع الطیف، غالباً نسبت به سایر آنتی بیوتیک ها نیز مقاومت نشان می دهند. بتالاکتاماز های وسیع الطیف اهمیت خاصی در استراتژی درمانی دارند، زیرا به علت شکست های درمانی حاصل از تجویز آنتی بیوتیک بدون انجام آزمون حساسیت، زمینه افزایش مرگ و میر، طولانی شدن طول دوره درمان و افزایش هزینه ها را فراهم آورده است (۱۱). تعیین و شناسایی بتالاکتاماز های وسیع الطیف از دو جهت واجد اهمیت می باشد: ۱) بتالاکتاماز های وسیع الطیف به طور گسترده در سطح جهان در حال گسترش می باشند. ۲) افزایش تعداد باکتری هایی که وارد بدن میزبان می گردند باعث ایجاد نژاد های مولد بتالاکتاماز وسیع الطیف میگردد. چرا که پژوهش ها نشان می دهد حداقل غلظت مهارکننده ی رشد باکتری در حضور سفالوسپورین ها با افزایش دوز تلقیح باکتری از ۱۰^۵ به ۱۰^۷ افزایش میابد (۱۲ و ۱۳). بیمارانی که به عوامل عفونت زای مولد بتالاکتاماز وسیع الطیف مبتلا می باشند، معمولاً به طور غالب به سایر آنتی بیوتیک ها نیز مقاومت نشان می دهند. لذا پیشنهاد می گردد کلیه ایزوله ها از نظر تولید بتالاکتاماز وسیع الطیف مورد ارزیابی قرار گیرند و طبق دستورالعمل NCCLS گزارش گردند. در این گونه موارد ضروری است که پژوهشگر بدون توجه به نتیجه آزمون آنتی بیوگرام، ایزوله به دست آمده را بالقوه مولد بتالاکتاماز وسیع الطیف در نظر بگیرد (۱۴). اگرچه برخی از نژاد های مولد ESBL دارای مقاومت آشکار به آنتی بیوتیک های وسیع الطیف می باشند ولی در هر حال ممکن است در بررسی فنوتیپیک، مقاومتی نشان ندهند (۱۵ و ۱۶). لذا ضروری است که آن دسته از باکتری هایی که MIC افزایش یافته نسبت به اکسی آمینوسفالوسپورین ها را نمایش می دهند، به طور دقیق مورد شناسایی مراجع تشخیصی قرار گرفته و حتی اگر سوش، حساس

شود، درمان همواره با مشکلات جدی روبه رو بوده است. بر این اساس ضرورت غربالگری ایزوله ها و شناسایی نوع آنزیمی که توسط ایزوله ها حمل می شود، جهت اتخاذ تدابیر پیشگیرانه و طراحی استراتژی های درمانی کارآمدتر ضروری می نماید.

به آنتی بیوتیک گزارش شود، ضرورتا بایستی حضور یک نوع ESBL را در نظر داشت. در میان بیماران مبتلا به عفونت های ناشی از ارگانسیم های مولد بتالاکتاماز های وسیع الطیف غالباً به علت مقاومت متقاطع وسیعی که با سایر داروهای پادزیست ایجاد می

References

1. Simoes RR, Poirel L, Da Costa PM, Nordmann P. Seagulls and beaches as reservoirs for multidrug-resistant *Escherichia coli*. *Emerg Infect Dis* 2010; **16**: 110-112.
2. Mesa RJ, Blanc V, Blanch AR, Cortés P, González JJ, Lavilla S, et.al. Extended spectrum beta lactamase producing *Enterobacteriaceae* in different environments (humans, food, animal farms and sewage). *Journal of Antimicrobial chemotherapy* 2006; **58**(1): 211-215.
3. Rodríguez-Bano JP, Paasch F. Community-onset bacteremia due to extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*: risk factors and prognosis. *Clin Infect Dis* 2010; **50**: 40-43.
4. Abraham E, Chain E. An enzyme from bacteria able to destroy penicillin. *Nature* 1970; **12**: 125-126.
5. Tschudin-Sutter S, Casellas JM. Rate of transmission of extended-spectrum Beta-lactamase-producing *enterobacteriaceae* without contact isolation. *Clin Infect Dis* 2012; **55**: 1505-1509.
6. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for beta lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrobial Agents Chemotherapy* 1995; **39**: 1211-1233.
7. Hitikhar A, Abdus S. Extended spectrum beta lactamases and bacterial resistance. *J Med Sci* 2002; **18**(2): 151-152.
8. Tetsuya Y, Hiroshi K, Naohiro S, Keigia S. A preliminary survey of extended spectrum beta lactamases in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in Japan. *Microbiology letters* 2000; **184**(1): 53-56.
9. Tangden T, Cars O, Melhus A, Lowdin E. Foreign travel is a major risk factor for colonization with *Escherichia coli* producing CTX-M-type extended-spectrum beta-lactamases: a prospective study with Swedish volunteers. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; **54**: 3564-3566.
10. Marty L, Jarlier V. Surveillance des bacteries multiresistant: Justification, role of laboratories. *Progress in urology* 1999; **9**: 41-49.
11. Patzer JA, Dzierzaniwska D, Pawinska A, Turner PJ. High activity of meropenem against Gram negative bacteria from a pediatric intensive Care Unit, 2001 -2005. *J Antimicrobial agents* 2007; **2**: 211-212.
12. Song W, Bae IK, Lee CH, Lee SH. Detection of extended - spectrum β - lactamases by using boronic acid as an AmpC β - lactamas inhibitor in clinical isolates of *Klebsiella* SPP. & *Escherichia coli*, K. *CLI MICROBIAL* 2007; **6**: 115-116.
13. Alsterlund R, Axelsson C, Olsson-Liljequist B. Long-term carriage of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*. *Scand J Infect Dis* 2012; **44**: 51-55.
14. Gould CV, Umscheid CA, Agarwal RK, Kuntz G, Pegues DA. Guideline for revention of catheter-associated urinary tract infections 2009. *Infect Control Hosp Epidemiol* 201; **31**(4): 319-326.
15. Salverda ML, De Visser JA, Barlow M. Natural evolution of TEM-1 beta-lactamase; experimental reconstruction and clinical relevance. *Fems Microbial Rev* 2010; **34**(6): 1015-1036.
16. Myrmobiny M, Haghshenas M. Comparison of bacterial pollution in ureteral men and women referred to health centers of Sari. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences* 1997; **15**: 6-9.
17. Nikpour S, Tabrizian L, Masroor Roodsari D, Haghani H. Study of predisposing factors of urinary tract infections among married women referred to selected hospitals in Tehran city (2003). *IUMSJ* 2004; **11**: 489-491.
18. Jain A. Prevalence of extended spectrum beta-lactamases producing gram negative bacteria in septicemia neonates in a tertiary care hospital. *J Med Microbial* 2003; **52**: 421-425.
19. Zeighami H. Etiology of UTI in pregnant women. *The 9th National Congress of Microbiology. Iran-Kerman* 2007; **34**.
20. Mirsalehian A, Nakhjavani F. Prevalence of ESBLs producing Enter bacteria in intensive care units. *The 8th National Congress of Microbiology. Iran-Isfahan* 2006; **15**.
21. Paterson DL, Ko WC, Von Gottberg A. International prospective study of *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: *J Med Microbial* 2003; **57**: 354-357.
22. Mendelson GV, Hait J, Ben-Israel D, Gronich E, Granot R. Prevalence and risk factors of extended-spectrum beta lactamase- producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in an Israeli long-term care facility. *Eur J Clin Microbial Infect Dis* 2005; **24**: 17-22.
23. Shahcheragh F, Nasiri S, Neurath H. Presence of SHV and TEM lactamase genes in *E. coli* strains resistant to antibiotics isolated from clinical specimens from hospitals in Tehran. *Journal of Medical Microbiology. Iran J Med Microbial* 2007; **1**: 1-8.

24. Hosseinzadegan H, Hasani A, Azadpor M, Soleiman Nejad S, Mohammadi F. Identification B-lactamase producing gram negative broad spectrum of bacteria isolated from clinical cases. *Iran J Experiment Sci* 2007; **1**: 33-38.
25. Mirsalehian A, Akbari-Nakhjavani F, Peymani A, Kazemi B, Jabal Ameil F, Mirafshar SM. Prevalence of extended spectrum B-lactamase producing Enterobacteriaceae by phenotypic and genotypic methods in intensive care unit in Tehran. *Iran Daru* 2008; **16**(3): 169-173.
26. Masjedian GF, Valehi F, Talebi A, Rastegar LA. Molecular evaluation of resistance to expanded antibiotics in *Escherchia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Iran J Med Microbial* 2007; **1**: 27-34.
27. Bayat Makoo Z, Binesh E, Hasani A, Nagili B, Alipour Study on Prevalence of Extended Spectrum , Lactamase Producing Gram Negative Bacilli in Clinical Specimens Isolated From Hospitalized Patients in Tabriz Sina Hospital. *Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences* 2010; **32**: 11-15.

Archive of SID