

## ***Prevalence of Beta-lactamases Genes and Antibiotic Resistance Pattern of Klebsiella pneumoniae Isolated from Teaching Hospitals, Sari, Iran, 2014***

Mohammad Ahanjan<sup>1</sup>,  
Fatemeh Naderi<sup>2</sup>,  
Arya Solimani<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Associate Professor, Department of Microbiology, Infectious Diseases Research Center with Focus on Nosocomial Infection  
Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

<sup>2</sup> General Practitioner, Student Research Committee, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

<sup>3</sup> Assistant Professor, Department of Anesthesiology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received Jan 19, 2016 Accepted March 6, 2017)

### ***Abstract***

**Background and purpose:** Klebsiella pneumoniae has emerged as a significant opportunistic pathogen responsible for nosocomial infections. This bacteria is frequently resistant to multiple classes of antibiotics such as family of beta-lactam antibiotics.  $\beta$ -lactamases enzyme represent the main mechanism of bacterial resistance to  $\beta$ -lactam antibiotics. This study was conducted to determine the prevalence of TEM-I and CTX  $\beta$ -lactamases in Klebsiella pneumoniae isolates from the hospitals in Sari, Iran.

**Materials and methods:** The study included 45 *Klebsiella pneumoniae* isolates that were isolated from various clinical specimens. Susceptibility of isolates to antibiotics was determined by standard disk diffusion method. ESBL production was determined by combination disk method. The resistance of TEM and CTX types of ESBL producing genes was identified by PCR test using specific primers. Data analysis was done in SPSS V16 applying Chi-square test.

**Results:** Among all *Klebsiella pneumoniae* isolates, the highest resistance was seen against cefotaxime (100%) and ceftazidim (100%), while the highest susceptibility was observed to gentamycin (63%). According to the results, 60% of isolates were ESBL positive and among them 55% and 45% were positive for blaTEM and blaCTX genes, respectively.

**Conclusion:** In this study drug resistance of *Klebsiella pneumoniae* isolates was observed in 60% of blaTEM and blaCTX genes, therefore, other mechanisms such as efflux pumps and biofilm formation can have a role in drug resistance.

**Keywords:** *Klebsiella pneumoniae*, antimicrobial resistance,  $\beta$ -lactamases genes

J Mazandaran Univ Med Sci 2017; 27 (149):79-87 (Persian).

# بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی و شیوع ژن های بتالاکتامازی کلبسیلا پنومونیه در بیمارستان های آموزشی دانشگاه علوم پزشکی مازندران 1393

محمد آهانجان<sup>1</sup>

فاطمه نادری<sup>2</sup>

آریا سلیمانی<sup>3</sup>

## چکیده

**سابقه و هدف:** کلبسیلا پنومونیه به عنوان پاتوژن فرصت طلب در بروز عفونت های بیمارستانی نقش دارد. این باکتری غالباً به چندین کلاس از آنتی بیوتیک ها از جمله خانواده بتالاکتام ها مقاومت دارد. این مطالعه به منظور تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی و شیوع ژن های بتالاکتامازی TEM و CTX در ایزوله های کلبسیلا پنومونیه جدا شده از بیمارستان های آموزشی شهرستان ساری انجام گرفته شده است.

**مواد و روش ها:** این مطالعه بر روی 45 ایزوله کلبسیلا پنومونیه که از نمونه های بالینی مختلف جمع آوری شده بودند، انجام گرفت. حساسیت ایزوله ها نسبت به آنتی بیوتیک ها با روش انتشار دیسک های استاندارد (کربی - بائر) تعیین شد. برای شناسایی ایزوله های مولد بتالاکتاماز از روش دیسک ترکیبی استفاده شد. برای بررسی وضعیت مقاومت ژن های بتالاکتامازی TEM و CTX از روش PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی انجام گرفت. شاخص های آماری با کمک نرم افزار SPSS ویرایش 16 محاسبه شد و از تست آماری کای دو برای تحلیل یافته ها استفاده شد. مقادیر  $P < 0/05$  معنی دار در نظر گرفته شد.

**یافته ها:** نتایج به دست آمده نشان داد که بیش ترین مقدار مقاومت در برابر آنتی بیوتیک های سفوتاکسیم (100 درصد) و سفتازیدیم (100 درصد) بود، در حالی که جنتامایسین (63 درصد) بیش ترین مقدار حساسیت را نشان داد. نتایج حاصل نشان داد که 60 درصد از ایزوله ها، مولد ESBL بودند و فراوانی ژن های TEM و CTX به ترتیب 55 و 45 درصد تعیین گردید.

**استنتاج:** نتایج این مطالعه نشان داد که میزان مقاومت دارویی در کلبسیلا پنومونیه تنها در 60 درصد از ایزوله های دارای CTX و TEM مشاهده شده است که مربوط به ژن های کلاس بتالاکتامازی هستند؛ لذا مکانیسم های دیگری هم چون افلاکس پمپ ها و تشکیل بیوفیلیم در ایجاد مقاومت دارویی نقش به سزایی دارند.

**واژه های کلیدی:** کلبسیلا پنومونیه، الگوی آنتی بیوتیکی، ژن های بتالاکتاماز

## مقدمه

و اساسی در عدم کنترل و درمان عفونت های باکتریایی دارند و به عنوان یک نگرانی عمده در جوامع بشری

امروزه ایجاد مقاومت های دارویی در باکتری های بیماری زا نسبت به بسیاری از آنتی بیوتیک ها، نقشی مهم

Email: ahanjan2007@gmail.com

**مؤلف مسئول:** محمد آهانجان - ساری، کیلومتر 18 جاده خزرآباد - دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران

1. دانشیار میکروبیشناسی دانشگاه علوم پزشکی مازندران

2. مرکز تحقیقات عفونی با گرایش عفونت های بیمارستانی دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ایران

3. استادیار دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مازندران

تاریخ دریافت: 1395/10/30 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 1395/11/4 تاریخ تصویب: 1395/12/16

عنوان شایع ترین تیپ در ایران مورد بررسی قرار گرفته است که در این تحقیق روی CTX M<sub>1</sub> بررسی صورت گرفت (10، 11).

این آنزیم‌ها باعث ایجاد مقاومت به پنی‌سیلین و طیف وسیعی از سفالوسپورین‌های نسل سوم مانند سفتازیدیم، سفوتاگسیم، سفتریاکسون و مونوباکتام‌ها مثل آزوترونام می‌شوند. اما در عین حال مقاومت به سفامايسين‌ها و کرباپنم‌ها در آن‌ها وجود ندارد. عواملی هم چون کللولونیک اسید، تازوباکتام و سولباکتام با اثر بازدارندگی منجر به مهار عملکرد این آنزیم‌ها می‌گردند (12، 13). مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های سفتازیدیم و سفوتاگسیم، شاخص ESBL بودن سویه‌ها را نشان می‌دهد. لذا مقاومت به این دو آنتی‌بیوتیک شرط اول وارد شدن سویه‌ها به تحقیق می‌باشد. بررسی‌ها نشان دادند که ژن‌های حمل‌کننده این آنزیم‌ها می‌توانند بر روی عناصر ژنتیکی متحرک هم چون پلاسمید، ترانسپوزون و اینتگرون قرار گرفته و بدین واسطه به راحتی از یک سویه به سویه‌ای دیگر منتقل شوند (14). از آن‌جا که شیوع مقاومت‌های دارویی رو به افزایش است و درمان بیماران، به خصوص بیماران بستری در بیمارستان‌ها را به تعویق انداخته است، درمان عفونت‌های ناشی از گونه‌های کلبسیلا پنومونیه مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های خانواده بتالاکتام در بیمارستان‌های آموزشی شهرستان ساری ضروری انجام گرفت تا بدین وسیله راه‌کارهایی در استفاده صحیح از انواع آنتی‌بیوتیک‌ها در معالجه بیماران صورت گرفته و ایجاد مقاومت‌های دارویی به حداقل ممکن برسد. شایان ذکر است که تحقیق در جهت شناسایی درمان مورد نظر نبود، بلکه به منظور کمک به پزشکان در تجویز نوع درمان بوده است.

## مواد و روش‌ها

مطرح می‌باشند (1). کلبسیلا پنومونیه یکی از باکتری‌های گرم منفی است که به این شیوه نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت کسب می‌کند و به عنوان پاتوژن فرصت‌طلب در بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه عامل مهمی در پیدایش عفونت‌های بیمارستانی و عفونت‌هایی همچون پنومونی، مننژیت، عفونت دستگاه ادراری، باکتری می و عفونت زخم در سوختگی، همراه با مقاومت چندگانه دارویی می‌باشد (15، 16). آنتی‌بیوتیک‌های خانواده بتالاکتام از جمله مهم‌ترین این داروها می‌باشند که به طور گسترده در درمان استفاده می‌شود. راهکار باکتری‌ها به خصوص باکتری‌های گرم منفی برای مقابله با آنان، تولید آنزیم‌های بتالاکتامازی است (2). مصرف بی‌رویه این آنتی‌بیوتیک‌ها منجر به ایجاد گروهی دیگر از آنزیم‌های بتالاکتامازی به نام بتالاکتامازهای طیف گسترده شده است. این آنزیم‌ها بر اساس ویژگی‌های ساختاری به 4 گروه A، B، C و D تقسیم شده که گروه‌های A، C و D بر اساس مکانیسم سرین و گروه B برای انجام عملکرد خود نیازمند عنصر روی می‌باشد و متالوبتالاکتاماز محسوب می‌شود. از مهم‌ترین ESBL‌هایی که مورد بررسی قرار گرفته اند، TEM و CTX می‌باشند (3-1).

TEM1 در سال 1960 به عنوان اولین آنزیم بتالاکتامازی در باکتری‌های گرم منفی که انتقال آن به واسطه پلاسمید صورت می‌گیرد، از کشت خون یک بیمار به نام Temoniera در یونان مورد شناسایی قرار گرفت. با جایگزینی اسیدهای آمینه مختلف در جایگاه فعال این آنزیم، انواع مختلفی از بتالاکتاماز TEM1 به وجود آمد تا جایی که تاکنون بیش از 100 نوع آنزیم TEM مورد شناسایی قرار گرفته‌اند. شیوع این آنزیم‌ها در نواحی مختلف متفاوت گزارش شده است (7-5). CTXM نیز گروهی دیگر از ESBL‌ها هستند که اولین بار در سال 1989 در کشور آلمان شناسایی شدند (8). آن‌ها به پنج گروه CTX M<sub>1</sub>، CTX M<sub>2</sub>، CTX M<sub>8</sub>، CTX M<sub>9</sub> و CTX M<sub>25</sub> تقسیم‌بندی می‌شوند (9). تیپ CTX M<sub>1</sub> به

سفتنازیدیم (30 µg)، سفکسیم (30µg)، سفتریاکسون (30µg)، سفوتاکسیم (30 µg)، کولیسیتین (110µg)، سفپیم (30 µg)، جنتامایسین (30 µg)، آمیکاسین (30µg)، ایمی پنم (30 µg)، مروپنم (30µg)، پیراکتام (30µg) و تویرامایسین (10µg).

#### آزمون تشخیصی بتالاکتامازهای طیف گسترده

برای این منظور روش فنوتیپی combined Disk به کار برده شد. به این ترتیب که ابتدا غلظت استاندارد از باکتری در محیط مولر هینتون به صورت چمنی کشت داده شد. بعد از آن از دیسک‌های ترکیبی سفتنازیدیم و سفتنازیدیم-کلاولونیک اسید و دیسک‌های سفوتاکسیم و سفوتاکسیم-کلاولونیک اسید به فاصله 25 میلی متر از هم روی پلیت قرار داده شد. پس از 24 ساعت انکوباسیون در دمای 37 درجه سانتی گراد، هاله عدم رشد اطراف دیسک حاوی کلاولونیک اسید به عنوان مهار کننده آنزیم ESBL نسبت به همان دیسک به تنهایی سنجیده شد، به طوری که اگر هاله عدم رشد اطراف دیسک‌های حاوی کلاولونیک اسید بزرگ تر یا مساوی از 5 میلی متر نسبت به همان دیسک به تنهایی باشد، سویه مورد نظر را می توان بر طبق CLSI، به عنوان مولد ESBL در نظر گرفت. از سویه کلبسیلا پنومونیه ATCC 700603 برای کنترل کیفی آنتی بیوگرام استفاده شد. در مرحله بعد، DNA ژنومی با استفاده از روش کیت (شرکت سینا ژن) استخراج شد و با استفاده از پرایمرهای اختصاصی که از مقالات مربوطه تهیه گردید و از شرکت تکاپوزیست در خواست طراحی گردید، پرایمر مربوطه از کشور کره جنوبی دریافت گردید. سپس واکنش PCR انجام شد.

#### برنامه دستگاه ترموسایکلر برای بررسی ژن

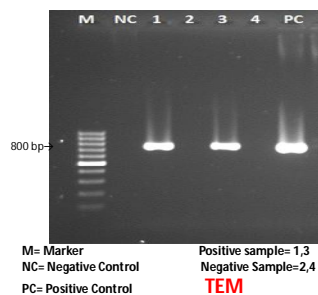
دنا تورا سیون اولیه در دمای 94 درجه سانتی گراد به مدت 3 دقیقه انجام شد. سیکل اصلی با 35 بار تکرار شامل دنا تورا سیون در 94 درجه سانتی گراد به مدت 1

در این مطالعه توصیفی - مقطعی، 150 نمونه مورد بررسی قرار گرفتند که تعداد 45 نمونه باکتری کلبسیلا پنومونیه جدا گردیده در فاصله زمانی شهریور تا بهمن 93 از 5 بیمارستان آموزشی شهرستان ساری جمع آوری شد. نمونه ها شامل نمونه زخم سوختگی (8 درصد)، لوله تراشه (20 درصد)، سایر زخم‌ها (5 درصد)، ادرار (37 درصد)، خون (5 درصد) و خلط (25 درصد) بوده است که از بخش های مختلف بیمارستان ها جمع آوری گردید. نمونه ها پس جمع آوری در محیط ترانسپورت Aimes تا دو ساعت در یخچال نگهداری و سپس به آزمایشگاه تحقیقات میکروب شناسی جهت کشت ارسال گردید. بعد از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه و کشت روی محیط بلاد آگار و مک کانکی آگار، انکوباسیون به مدت 24 ساعت انجام گرفت.

در صورت مشاهده رشد، باکتری ها در رنگ آمیزی گرم به شکل کوکوباسیل هایی گرم منفی قابل مشاهده بودند. در مرحله بعد در تست اکسیداز این باکتری‌ها به صورت اکسیداز منفی بودند. سپس به منظور انجام تست‌های بیوشیمیایی تکمیلی، این باکتری‌ها در محیط TSI، SIM، اوره و سیترات کشت داده شدند. انجام تست حساسیت و مقاومت آنتی بیوتیکی به روش استاندارد دیسک دیفیوژن (Baur- Kirby) و طبق استاندارد CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) انجام گرفت.

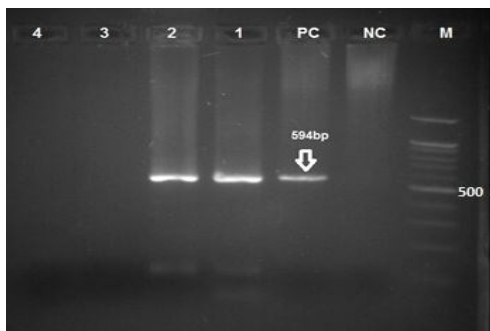
برای این منظور، سوسپانسیونی با غلظت نیم مک فارلند تهیه شد. سپس با استفاده از یک سوآب استریل، از آن نمونه برداشته و روی محیط مولر هینتون آگار به‌طور کامل پخش شد. سپس دیسک‌های آنتی بیوتیک روی محیط قرار داده و بعد از انکوباسیون 24 ساعته، نتایج بر اساس جدول استاندارد به اشکال حساس، مقاوم و حد واسط گزارش گردید. از دیسک‌های آنتی بیوتیکی شرکت پادتن طب استفاده شد که شامل موارد زیر بودند:

(63 درصد) بود. بر اساس نتایج حاصل از آزمون تاییدی combined Disk، تعداد 29 ایزوله تولید کننده ESBL بودند که این تعداد هم مربوط به نمونه‌هایی غیر از نمونه زخم سوختگی بودند. در آزمایش PCR از مجموع 29 ایزوله، وجود قطعه مربوط به ژن CTX و TEM و به ترتیب در 55 و 45 درصد از ایزوله‌ها مثبت و باعث تولید محصولاتی در اندازه‌های مورد انتظار شد که در الکتروفورز بر روی ژل آگارز به صورت باندهایی در محدوده‌های 800 bp و 594 bp آشکار شدند که با اطمینان 95 درصد مورد بررسی قرار گرفتند. در جدول شماره یک آورده شده است.



تصویر شماره 1: الکتروفورز محصول PCR ژن blaTEM کلبسیلا در ژل آگارز

PC= کنترل مثبت (کلبسیلا سویه 7881)، NC= کنترل منفی  
1 و 4= نمونه‌های منفی، 2 و 3 و 5= نمونه‌های مثبت



تصویر شماره 2: الکتروفورز محصول PCR ژن blaCTX کلبسیلا در ژل آگارز

PC= کنترل مثبت (کلبسیلا سویه 7881)، NC= کنترل منفی  
1 و 2= نمونه‌های مثبت، 3 و 4= نمونه‌های منفی

دقیقه، اتصال پرایمرها در 45 درجه سانتی‌گراد به مدت 45 ثانیه، تکثیر در 72 درجه سانتی‌گراد به مدت 40 ثانیه و تکثیر نهایی در 72 درجه سانتی‌گراد به مدت 7 دقیقه قرار گرفت. هم‌چنین برای بررسی ژن نیز از همین برنامه دمایی استفاده شد، با این تفاوت که دمای اتصال پرایمر مورد نظر روی 53 درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. در نهایت محصولات تکثیر شده بر روی ژل آگارز 2 درصد با ولتاژ 95 به مدت 30 دقیقه الکتروفورز شده و توسط سایبرگرین رنگ آمیزی شد. سپس توسط دستگاه آشکارساز ژل تحت تاثیر نور بنفش با طول موج 230 نانومتر باندهای مربوطه مشاهده و عکس برداری شدند. در نهایت با استفاده از DNA الگو که حاوی قطعاتی با وزن مولکولی مشخص است، محصول شناسایی گردید. برای کنترل مثبت از باکتری *Klebsiella pneumonia* (7881) استفاده شد که ذاتاً دارای ژن‌های مزبور می‌باشد.

## یافته‌ها

از مجموع 45 نمونه کلبسیلا پنومونیه تشخیص داده شده در آزمایشگاه، بیشترین نمونه‌ها به ترتیب شامل نمونه ادرار، خلط، لوله تراشه، زخم و نمونه خون بودند. تمامی ایزوله‌ها از لحاظ تست‌های تشخیصی بیوشیمیایی دارای الگوی یکسانی بودند. همه از نظر تست اکسیداز و تولید گاز سولفید هیدروژن مثبت و تست اندول، حرکت، لیزین دکربوکسیلاز و اووره آز در آن‌ها منفی گزارش شد. ولی سیترات مثبت بودند. قادرند در محیط مک کانکی در دمای 37 درجه سانتی‌گراد رشد کنند. نتایج حاصل از تست آنتی‌بیوگرام به روش کربی-بائر بر روی نمونه‌ها نشان داد که از میان 12 دیسک آنتی‌بیوتیکی به کار برده شده، بیشترین مقاومت به ترتیب در برابر آنتی‌بیوتیک‌های سفوناکسیم (100 درصد) و سفنازیدیم (100 درصد) و سفتریاکسون (96 درصد) بود. این در حالیست که بیشترین حساسیت به ترتیب در برابر آنتی‌بیوتیک جنتامایسین

جدول شماره 1- توالی پرایمرهای مورد استفاده در تکثیر ژن

پرایمر	توالی پرایمر 5'-3'	اندازه محصول
TEM-F	GAGTATTCAACATTTCCTGTGC	800 bp
TEM-R	TAATCAGTGAGGCACCTATCTC	
CTX-MU1	ATGTGCAGTACCAGTAAGGT	594 bp
CTX-MU2	TGGGTAAGTAGGTACCACAGA	

## بحث

در مطالعه حاضر که بر روی ایزوله های کلبسیلا جدا شده از نمونه های سوختگی و سایر نمونه های بالینی از بیمارستان های آموزشی شهرستان ساری صورت گرفت، از نظر مقاومت آنتی بیوتیکی بیشترین مقاومت در آنتی بیوتیک های سفوتاکسیم و سفتازیدیم و سفتریاکسون و بیشترین حساسیت در آنتی بیوتیک جنتامایسین دیده شد. هم چنین نتایج حاصل از بررسی ایزوله ها با روش دیسک ترکیبی نشان داد که 24 درصد از کل نمونه ها ESBL مثبت می باشند. فراوانی ژن های بتالاکتامازی TEM و CTX طبق نتایج به دست آمده با روش PCR به ترتیب 79/1 و 37/5 درصد گزارش شد. در حالی که در مطالعه Smolyakov و همکاران که بر روی نمونه های کلبسیلا که دارای مقاومت چندگانه دارویی بودند انجام گرفت، مشخص شد که 93 درصد سویه ها به ایمپنم و 100 درصد سویه ها به کلسیتین، سولباکتام و آمپی سیلین حساس بودند (10).

در مطالعه دیگری که توسط Aryan و همکاران در کشور ترکیه بر روی 52 ایزوله کلبسیلا انجام گرفت، نتایج تست های مقاومت آنتی بیوتیکی نشان داد که کل ایزوله ها به آنتی بیوتیک های سفپیم، سفتازیدیم، سفوتاکسیم، جنتامایسین، آزوترونام، پیراسیلین و پیراسیلین - تازوباکتام، تیکارسیلین مقاوم بودند و مقاومت به توبرامایسین و سیپروفلوکساسین، کوتریماکسازول و آمیکاسین به ترتیب 5، 8، 66 و 74 درصد مشاهده گردید (12). در مطالعه شبیل و همکاران در سال 2012 در عربستان از 60 نمونه بالینی 39 مورد حامل ژن بتالاکتامازی و 12 مورد حامل ژن کاربامازی بودند (13). آمپی سولباکتام ها در گروه پنسیلین ها قرار

گرفته اند که بیش تر در عفونت های تنفسی و عفونت های ادراری کاربرد دارند که سولباکتام یک مهارکننده آنزیم های بتالاکتاماز هستند و موجب گسترش طیف اثر پنسیلین ها می شوند. ممکن است سولباکتام ها به همراه آمینو گلیکوزیدها تجویز شوند که در این صورت باید با فاصله زمانی مصرف گردند.

هم چنین Maninder Kaur and Aruna Aggarwal در مطالعه ای که بر روی نمونه های بالینی شامل خلط، ادرار و زخم انجام دادند، نشان دادند که تنها 8/3 درصد از ایزوله ها با روش PCR دارای ژن TEM بودند (20). در بررسی دیگری که به وسیله ElifBurcu Bali و همکاران در سال 2010 در ترکیه انجام شد، 69/14 درصد از نمونه ها به روش دابل دیسک سینرزی ESBL مثبت گزارش شد و تعداد ایزوله هایی دارای ژن TEM و CTX به ترتیب 73/43 و 17/18 درصد گزارش شدند (14).

در مطالعات دیگری که در سال 2009 در چین بر روی نمونه های کلبسیلا جدا شده از بخش مراقبت های ویژه انجام گرفت، میزان نمونه های TEM مثبت گزارش شده 81/5 درصد بودند که این میزان همانند مطالعه ElifBurcu Bali، دارای شباهت نسبت به مطالعه ما بودند (15).

وفایی و همکاران نیز در سال 1391 در تهران، میزان مقاومت به آنتی بیوتیک های وسیع الطیف و شیوع ژن CTX را بر روی 500 نمونه کلینیکی مورد بررسی قرار دادند که طبق یافته های آن ها، 20 درصد نمونه ها مولد ESBL و 19 درصد از نمونه ها حامل ژن کد کننده بتالاکتامازی CTX-M بودند (16). هم چنین در بررسی های انجام شده در سال 2006 در کشور بولیوی که روی 604 نمونه بالینی انجام شده بود، 23/4 درصد از نمونه ها، ESBL مثبت گزارش شدند که از این تعداد، میزان نمونه های مثبت برای ژن های TEM و CTX به ترتیب 26/1 و 30/4 درصد بوده است که دارای تشابه با مطالعه حاضر است (17).

جهت تشخیص بتالاکتامازهای وسیع الطیف نیز انجام پذیرد تا بدین وسیله هم کمک قابل توجهی به پزشکان در تشخیص نوع آنتی بیوتیک موثر تجویزی و متقابلاً به بیماران در کاهش طول دوره بیماری شود و از سوی دیگر، هزینه‌های درمان از طریق کاهش انتشار سوش‌های مقاوم به درمان باکتری‌ها کاهش یابد. البته با توجه به پایین بودن درصد شیوع ESBL به خصوص در میان ایزوله‌های جدا شده از بیمارستان سوختگی در این تحقیق، انتظار می‌رود علت بالا بودن مقاومت آنتی بیوتیکی، مربوط به مکانیسم‌های دیگری از جمله پمپ‌های ترشحی، تشکیل بیوفیلم و نیز تغییر در پورین‌ها باشند که باید مورد بررسی قرار گیرند.

### سپاسگزاری

این مقاله تحقیقاتی حاصل پایان نامه دانشجویی می‌باشد. نویسندگان مقاله از معاونت محترم پژوهشی و مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی مازندران به خاطر تامین هزینه‌ها و همکاری نهایت تشکر را دارد.

نتایج حاصل از این بررسی نشان می‌دهد که میزان شیوع کلبسیلا در بیماران بستری در بیمارستان‌ها به خصوص بیمارستان سوختگی به شدت زیاد است. از طرفی نتایج حاصل از تست‌های آنتی بیوگرام میزان مقاومت چند گانه به آنتی بیوتیک‌ها را نشان می‌دهد. با توجه به این نکته که در سال‌های اخیر به دلایل مختلفی هم‌چون مصرف بی‌رویه داروها و تجویزهای تجربی و عدم بهره‌گیری از ابزارهای مناسب جهت کنترل عفونت، میزان مقاومت به آنتی بیوتیک‌های خانواده بتالاکتام به خصوص سفالوسپورین‌های نسل سوم که از جمله مهم‌ترین داروهای مورد استفاده در درمان عفونت‌های باکتریایی هستند، زیاد شده است. با توجه به این مطلب که ژن‌های مقاومت بتالاکتامازی، در اکثر موارد توسط عناصر ژنتیکی همچون پلاسمید منتقل می‌گردند، لذا انتشار این عناصر به سادگی از یک سویه به سویه دیگر صورت گرفته و می‌تواند به سادگی باعث انتشار مقاومت در بیمارستان یا هر محیط دیگر درمانی گردند. لذا توصیه می‌شود که در کنار تست‌های آنتی بیوگرام برای تشخیص مقاومت، تست‌های تکمیلی

### References

1. AL- Thahab AAL. Molecular Detection of Extended-Spectrum Beta- Lactamases in Clinical Isolates of *Klebsiella*. Journal of Biology, Agriculture and Healthcare. 2013; 3(3): 32-39.
2. Al-Zahrani AJ, Akhtar N. Susceptibility Patterns of Extended Spectrum  $\beta$ -Lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated in a teaching hospital. Pakistan J Med Res. 2005; 44(2): 64-67.
3. Bush K. New  $\beta$ -Lactamases in Gram-Negative Bacteria: Diversity and Impact on the Selection of Antimicrobial Therapy. Clin Infect Dis. 2013; 32(7):1085-1089.
4. Brun-Buisson C, Legrand P, Philippon A, Montravers F, Ansquer M, Duval J. Transferable enzymatic resistance to third generation cephalosporins during nosocomial outbreak of multiresistant *Klebsiella pneumoniae*. Lancet. 1987; 2 (8554): 302-306.
5. Celenza G, Pellegrini C, Caccamo M, Segatore B, Amicosante G, Perilli M. Spread of bla(CTX.M-type) and bla(PER-2) beta-lactamase genes in clinical isolates from

- Bolivian hospitals. J Antimicrob Chemother. 2006; 57(5): 975-978.
6. Howard CH, Van Daal A, Kelly G, Schooneveldt J, Nimmo G, Giffars PM. Identification and Minisequencing-Based Discrimination of SHV  $\beta$ -Lactamases in Nosocomial Infection-Associated *Klebsiella pneumoniae* in Brisbane, Australia. ANTIMICROB AGENTS CHEMOTHER. 2002; 46(issue 3): 659-664.
  7. Rupp ME, Fey PD. Extended Spectrum  $\beta$ -Lactamase(ESBL)-Producing Enterobacteriaceae Considerations for Diagnosis, Prevention and Drug Treatment. Drugs . 2003; 63(4): 353-365.
  8. Falagas ME, Karageorgopoulos DE. Extended spectrum b-lactamase-producing Organisms. J Hosp Infect . 2009.73(4): 345-354.
  9. Młynarczyk G1, Młynarczyk A, Bilewska A, Dukaczewska A, Gołowski C, Kicman A, et al. Effectiveness of the method with cefpirome in detection of extended-spectrum beta-lactamases in different species of gram-negative bacilli. Med Dosw Mikrobiol. 2006; 58 (1): 59-65.
  10. GA Jacoby, AA Medeiros. More extended spectrum  $\beta$ -lactamases. Antimicrob Agents Chemother. 1991; 35(9):1697-1704.
  11. JIN H, Xu XM, Mou Y, Liu P. Drug-resistant gene based genotyping for kleseilla in tracing epidemiological events and for clinical treatment within nosocomial settings. Chin Med J (Engl). 2009;122(3):301-306.
  12. Ayan M, Durmaz R, Aktas E, Durmaz B. Bacteriological, clinical and epidemiological characteristics of hospital-acquired kleseilla infection in a teaching hospital. J Hosp Infect. 2003; 54(issue 1):39-45.
  13. Nematzadeh S, Nasehi L, Shahcheraghi F, Sadat Nikbin V. Beta-lactamases in clinical isolates of klebsiella pneumoniae isolated from Tehran, Iran. Iran J Basic Med Sci. 2010; 13(3): 111-118.
  14. Tripathi PC, Gajbhiye SR, Agrawal GN. Clinical and antimicrobial profile of *Acinetobacter* spp.: An emerging nosocomial superbug. Adv Biomed Res. 2014;3 :13.
  15. Rahimi S, Appala RB. Evaluation on of CIVA agar for rapid detection of extended spectrum b- lactamases (ESBL) among isolates of Enterobacteriaceae. Indian J Med Res. 2008; 127(2): 195-197.
  16. Zarrilli R, Pourmaras S, Giannouli M, Tsakris A. Global evolution of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clonal lineages. Int J Antimicrob Agents. 2012; 41(1): 11-19.
  17. Farhani R, Monir R, Shajari GH, Nazem Shirazi MH, Mousavi Gh, Ghasemi A , et al. Antimicrobial susceptibility patterns and the distribution of resistance genes among *Acinetobacter* species isolated from patients in Shahid eheshti hospital. (Persian)).Kashan Univ Med Sci (FEYZ). 2009; 4 (48): 60-66.
  18. Smolyakov R, Borer A, Riesenber K, Schlaeffer F, Alkan M, Porath A, et al. Nosocomial multi- drug resistant *Acinetobacter baumannii* bloodstream infection: risk factors and outcome with ampicillin-sulbactam treatment. J Hosp Infect. 2003; 54(1):32-38.
  19. Soltan Dalal MM, Azarsa M, Shirazi MH, Rastegar Lari A, Mobasseri G, Fallah



Mehrabadi J, et al. Detection of CTX-M-1 beta clinical samples by using polymerase chainlactamase gene in escherichia coli isolated from. Reaction (PCR) method. Tehran Uni Med J. 2011; 69 (5): 16-21.

20. Vafaei S, Mirnejad R, Amirmozafari N. Determining the Patterns of Antimicrobial

Susceptibility and theDistribution of blaCTX-M Genes in Strains of kleseilla Isolated from Clinical Samples.J Isfahan Med Sch. 2013; 31(252): 1443-1445.