تازه‌های بیوتکنولوژی سلولی – ملکولی

دوره چهارم، شماره شانزدهم، پائیز ۱۳۹۳

Research Article
مقاله تحقیقی

بررسی شیوع ژن تیپ TEM و مقاومت آنتی‌بیوتیکی در باکتری‌های اشریشیاکلی وکلبسیلا پنومونیه جدا شده از بیماران با عفونت بیمارستانی مراجعه‌کننده به بیمارستان‌های وابسته به دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی در طول سال ۱۳۹۰

دکتر گیتا اسلامی[۱] ، رقیه صمدی[۱]، ندا باصری[۱] ، رقیه زینال فام [۲] ، رویا زینالی[۲]

۱. گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۲. گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه و پزشکی ، دانشگاه آزاد اسلامی زنجان

Archive of SID

چکیده

سابقه و هدف: تولید آنزیم بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف(Extended spectrum beta lactamase, ESBL) امروزه به‌عنوان یک تهدید عمده در سراسر جهان با توجه به درمان‌های محدود می‌باشد. این مطالعه جهت بررسی الگوهای حساسیت آنتی‌بیوتیکی و بررسی حضور ژن TEM در ایزوله‌های اشریشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه جداسازی شده از نمونه‌های مختلف بالینی انجام شد.

مواد و روش‌ها: نمونه‌های مختلف بالینی در طول سال ۹۰ از مراکز درمانی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی جمع‌آوری و جهت تشخیص آن به آزمایشگاه دانشگاه فرستاده شد؛ برای شناسایی مقاومت آنتی‌بیوتیکی از روش دیسک دیفیوژن و برای تعیین فراوانی محصولات ژن TEM از روش PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی آن استفاده شد.

یافته‌ها: از میان ۵۰ ایزوله کلبسیلا پنومونیه تعداد ۱۷ ایزوله (۳۴٪) تولیدکننده بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف ESBL و دارای ژن بتالاکتاماز TEM بودند، مقاومت به سفوتاکسیم۹۰ ٪، بیشترین مقدار و کمترین درجه مقاومت مربوط به ایمی پنم ۴ ٪ گزارش شدند. در میان ۵۰ سوش اشرشیاکلی از نظر مقاومت آنتی‌بیوتیکی، مقاومت به سفکسیم ۹۰ ٪ بیشترین مقدار و مقاومت به مروپنم ۶ ٪ کمترین مقدار گزارش شد. در بین سوش‌های اشرشیاکلی ۷ مورد (۱۴٪) تولیدکننده بتالاکتامازهای وسیع الطیف ESBL و دارای ژن بتالاکتاماز TEM بودند.

نتیجه‌گیری: با توجه به شیوع بالای مقاومت به داروهای بتالاکتام در بین باکتری‌های مورد مطالعه، انجام دقیق تست آنتی‌بیوگرام جهت درمان مناسب توصیه می‌گردد.

کلمات کلیدی: مقاومت دارویی، بتالاکتاماز طیف گسترده، اشریشیاکلی، کلبسیلا پنومونیه

نویسنده مسئول : رقیه صمدی
پست الکترونیکی: Rsamadi88@yahoo.com
تاریخ دریافت مقاله: ۹۲/۰۳/۱۶
تاریخ پذیرش مقاله: ۹۲/۰۴/۰۲

www.SID.ir

مقدمه

از نقطه نظر بالینی بتالاکتام‌ها مهم‌ترین و وسیع‌ترین آنزیم-های تخریب‌کننده‌ای هستند که به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام حمله‌ور می‌شوند این آنزیم‌ها یک اتصال آسیل‌کووالانت را از طریق گروه کربوکسیل حلقه بتالاکتام به وجود می‌آورند که حاصل آن بازشدن حلقه بتالاکتام و غیرفعال‌شدن دارو می-باشد. نقش اولیه بتالاکتاماز حفاظت باکتری در برابر آنتی-بیوتیک‌های بتالاکتام است، اما در بیوسنتز پپتیدوگلیکان آنها به‌طور موقتی پیوندهای موجود در واسطه‌های ساختمان بتالاکتام را می‌شکند (۶). درباکتری‌های گرم منفی مقاومت در برابر بتالاکتام می‌تواند به واسطه‌ی ژن‌های کروموزومی یا پلاسمیدی باشد اما در نمونه‌های بالینی معمولاً بروز مقاومت وابسته به ژن پلاسمیدهای R است (۱،۱۲) بتالاکتامازهای وابسته به پلاسمید در ۳ گروه بزرگ قابل تقسیم هستند: ۱ – پنی‌سیلینازهای وسیع‌الطیف، ۲- اگزاسیلینازها، ۳- کاربنی-سیلینازها. TEM-1، TEM-2، HV-1 مهم‌ترین بتالاکتامازها هستند که محدودالطیف اثر وسیعی بر روی پنی-سیلین ها و سفالوسپورین‌ها دارند. این بتالاکتامازها بر روی پلاسمیدها حمل می‌شوند (۶،۱۲،۱۷). امروزه تعداد ارگانیسم-هایی که قادر به تولید این آنزیم‌ها هستند سبب افزایش شیوع عفونتهای بیمارستانی در سراسر دنیا شده است (۶). اشرشیاکلی و کلبسیلاپنومونیه از باکتری‌های خانواده آنتروباکتریاسه هستند که توانایی تولید آنزیم‌های ESBL را دارند و عامل بسیاری از عفونت‌های بیمارستانی مثل عفونت-های ادراری، عفونت‌های وابسته به کاتتر، انتریت، مننژیت نوزادی، عفونت‌های دستگاه تنفسی و سپسیس می‌باشند (۲،۶،۱۹). بتالاکتاماز TEM، اولین بتالاکتامازی بود که به-وسیله پلاسمید درآنتروباکتریاسه‌ها کد شد ولی سایر باکتری-ها از جمله پسودوموناس آئروژینوزا، ویبریوکلراو نیز سویه‌های هموفیلوس‌ها و نایسریاها نیز قادر به تولید آن می‌باشند (۱۰). بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف عمدتاً در دو جنس کلبسیلا و اشریشیا تولید می‌شوند و سایر جنس‌های باکتری‌های روده‌ای در رتبه‌های بعدی قرار دارند. مطالعات متعددی شیوع کلبسیلا پنومونیه مولد ESBLs را در عفونت‌های بیمارستانی با منشاء باکتری‌های روده‌ای گزارش کرده‌اند که درصد بالایی از این سویه‌ها دارای ژن TEM بوده‌اند . فراوانی سویه‌های دارای ESBL در نمونه‌های مورد مطالعه در حد کشورهای اروپائی بوده ولی احتمال افزایش آن‌ها به دلیل حضور پلاسمیدهای حامل ژن‌های کد کننده مقاومت وجود دارد. ارتباط معنی‌داری بین مقاومت نسبت به سفتازیدیم، جنتامایسین و سیپروفلوکساسین با تولید آنزیم بتالاکتاماز وجود داشته و حاکی از پیوستگی ژن‌های مربوطه و احتمال انتقال هم‌زمان آن‌ها توسط پلاسمید می‌باشد (۱۰،۱۶). هدف این مطالعه بررسی الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی شناسایی ژن‌های بتالاکتاماز تیپ TEM در نمونه‌های بالینی اشریشیا کلی و کلبسیلا پنومونیه جداسازی شده از مراکز آموزشی و درمانی وابسته به دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی بود.

روش تحقیق:

تعداد ۵۰ ایزوله بالینی اشریشیاکلی و ۵۰ ایزوله بالینی کلبسیلا پنومونیه شامل نمونه‌های ترشحات تنفسی، ادرار، خون و زخم از مراکز آموزشی درمانی دانشگاه شهید بهشتی جمع‌آوری و با انجام تست‌های بیوشیمیایی شناسایی و تعیین هویت شدند. سپس باکتری‌های جداسازی شده در محیط تریپتیکاز سوی براث حاوی گلیسرول کشت و در ۸۰- نگهداری شدند. تعیین حساسیت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی به-وسیله روش دیسک آگار دیفیوژن (Kirby-Bauer) انجام شد (۳). دیسک‌های مورد استفاده شامل سفوتاکسیم(30µg)، سفتازیدیم(µg 30)، سفکسیم(30µg)، سفتریاکسون(30 µg)، سفالوتین(µg 30).

استخراج DNA و انجام PCR:

ابتدا DNA پلاسمیدی نمونه‌ها به روش جوشانیدن استخراج گردید (۱۱). مشخصات پرایمرهایی که در انجام PCR مورد

www.SID.ir

استفاده قرار گرفتند به شرح جدول ۱ بود، سپس تست PCR جهت شناسایی ژن‌های بتالاکتامازی TEM با شرایط مندرج در جدول۲ انجام شد (۵).

آمپی‌سیلین (30 µg)، کوتریماکسازول (25 µg)، پیپراسیلین (100 µg)، ایمی‌پنم (10 µg) ، مروپنم (10 µg) بودند که از شرکت پادتن ایران تهیه شدند (۳).

تست فنوتیپی تأییدی:

هدف از انجام این تست جداسازی سویه‌های تولیدکننده ESBL بود. دیسک‌های مورد آزمایش شامل سفتازیدیم/کلاولانیک اسید/پیپراسیلین/تازوباکتام و آمپی-سیلین/سولباکتام به همراه سفتازیدیم، پیپراسیلین، آمپی-سیلین که محصول شرکت پادتن طب ایران بودند به‌کار گرفته شدند.

بعد از انکوباسیون به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه تولید ESBLs از طریق افزایش قطر هاله به اندازه ۵ میلی‌متر یا بیشتر در اطراف دیسک‌ها مشخص گردید (۶).

استخراج DNA و انجام PCR:

ابتدا DNA پلاسمیدی نمونه‌ها به روش جوشانیدن استخراج گردید (۱۱). مشخصات پرایمرهایی که در انجام PCR مورد استفاده قرار گرفتند به شرح جدول ۱ بود، سپس تست PCR جهت شناسایی ژن‌های بتالاکتامازی TEM با شرایط مندرج در جدول۲ انجام شد (۵).

هم‌چنین از سویه‌های استاندارد E.coli ATCC 25922 به عنوان کنترل منفی و Klebsiella pnumonia ATTC 13583 به عنوان کنترل مثبت ژن TEM استفاده گردید. از ژن آگاروز ۱/۱٪ و مارکر (Ladder Fermantase) 100bp SMO323 برای الکتروفورز محصولات PCR استفاده شد.

جدول ۱: مشخصات پرایمرهای مورد استفاده جهت انجام PCR

پرایمر	ترتیب توالی نوکلئوتیدی
Forward-TEM	5'-ACATGGGGGATCATCATGTACT-3'
Reverse-TEM	5'-GACAGTTACAATGCTTACT-3'

جدول ۲: شرایط مورد استفاده در PCR

مراحل آزمایش	درجه حرارت	زمان
دناتوراسیون اولیه	۹۴	۴ دقیقه
دناتوراسیون	۹۴	۴ دقیقه
اتصال پرایمر	۵۳	۴۵ ثانیه
طویل سازی	۷۲	۱ دقیقه
طویل سازی نهایی	۷۲	۱۰ دقیقه
تعداد سیکل ها	۳۵	

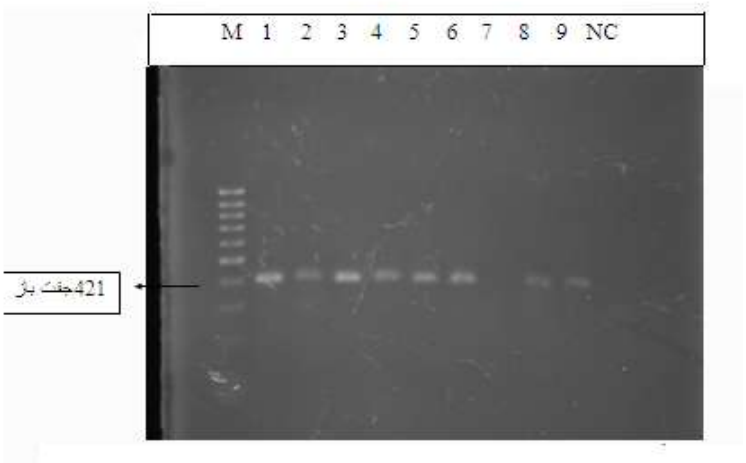
Archive of SID
www.SID.ir

جدول شماره۳: الگوهای حساسیت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های اشریشیا کلی و کلبسیلا پنومونیه (٪)

ایزوله	نوع مقاومت	آمپی سیلین	ایمی پنم	پیپراسیلین	سفکسیم	سفتازیدیم	سفتریاکسون	سفالوتین	سفوتاکسیم	کوتریماکسازول	مروپنم
اشریشیا کلی	۱.حساس	۲۸	۸۶	۴۲	۱۰	۴۲	۵۸	۱۶	۲۶	۳۸	۹۴
	۲.بینابینی	۰	۴	۰	۰	۶	۶	۵۶	۲	۶	۰
	۳.مقاوم	۷۲	۱۰	۵۸	۹۰	۵۲	۳۶	۲۸	۷۲	۵۶	۶
کلبسیلا پنومونیه	۱.حساس	۱۲	۹۶	۳۶	۴۴	۷۴	۷۲	۳۲	۱۰	۱۲	۹۴
	۲.بینابینی	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
	۳.مقاوم	۸۸	۴	۶۴	۶۶	۲۶	۲۸	۶۸	۹۰	۸۸	۶

جدول ۴: **نتایج تست تأییدی در ایزوله‌های اشریشیا کلی و کلبسیلا پنومونیه** (٪)

تغییرات هاله عدم رشد	سفتازیدیم/کلاولانیک اسید کلبسیلا پنومونیه- اشریشیا کلی	پیپراسیلین/تازوباکتام کلبسیلا پنومونیه- اشریشیا کلی	آمپی سیلین/ سولباکتام کلبسیلا پنومونیه- اشریشیا کلی
افزایش هاله	۸۲/۸۸ -۹۳/۵۹	۸۲/۶۸ -۹۲/۶۲	۸۱/۹۵ - ۹۲/۶۵
عدم افزایش هاله	۱۷/۱۲ -۶ /۴۱	۷/۳۸ - ۱۷/۳۲	۱۸/۰۵ -۷/۳۵



شکل ۱: نمایش ایزوله‌های دارای ژن (bp_{TEM} ۴۲۱) اشرشیاکلی

M : مارکر-کنترل مثبت ژن TEM (Klebsiella pnumonia ATTC 13583)

۶-۲ ، ۹و۸ : ا یزوله‌های دارای ژن TEM

NC: کنترل منفی(E.coli ATCC 25922)

www.SID.ir

یافته‌ها

در بین ۵۰ ایزوله کلبسیلا پنومونیه به‌دست آمده ۴۵ ایزوله (۹۰٪) مقاوم به سفوتاکسیم، ۴۴ ایزوله (۸۸٪) مقاوم به آمپی‌سیلین وکوتریماکسازول ، ۳۴ ایزوله (۶۸٪) مقاوم به سفالوتین، ۳۳ ایزوله (۶۶٪) مقاوم به سفکسیم، ۳۲ ایزوله (۶۴٪) مقاوم به پیپراسیلین، ۱۴ ایزوله (۲۸٪) مقاوم به سفتریاکسون، ۱۳ ایزوله (۲۶٪) مقاوم به سفتازیدیم، ۳ ایزوله (۶٪) مقاوم به مروپنم، ۲ ایزوله (۴٪) مقاوم به ایمی‌پنم بودند. تعداد ۲۱ ایزوله (۴۲٪) مربوط به نمونه‌های ادراری، ۱۰ ایزوله (۲۰٪) متعلق به کشت خون، ۱۵ ایزوله (۳۰ ٪) مربوط به نمونه‌های تنفسی و ۴ ایزوله (۸٪) از زخم جدا گردید. هم‌چنین ۱۷ ایزوله (۳۴٪) ESBL مثبت و از ۱۷ ایزوله‌ای که آزمایش PCR بر روی آن‌ها انجام گرفت تمامی آنها حاوی ژن TEM بودند.

از بین ۵۰ ایزوله اشریشیاکلی ۴۵ ایزوله (۹۰٪) مقاوم به سفکسیم، ۳۶ ایزوله (۷۲٪) مقاوم به سفوتاکسیم و آمپی-سیلین، ۲۹ ایزوله (۵۸٪) مقاوم به پیپراسیلین، ۲۸ ایزوله (۵۶٪) مقاوم به کوتریماکسازول، ۲۶ ایزوله (۵۲٪) مقاوم به سفتازیدیم، ۱۸ ایزوله (۳۶٪) مقاوم به سفتریاکسون،۱۴ ایزوله (۲۸٪) مقاوم به سفالوتین، ۵ ایزوله (۱۰٪) مقاوم به ایمی‌پنم، ۳ ایزوله (۶٪) مقاوم به مروپنم بودند. تعداد ۳۴ ایزوله (۶۸٪) مربوط به نمونه‌های ادراری، تعداد ۸ ایزوله (۱۶٪) متعلق به نمونه‌های کشت خون، ۳ ایزوله (۶٪) مربوط به نمونه‌های تنفسی، ۵ ایزوله (۱۰٪) از زخم جدا گردید. هم‌چنین ۷ ایزوله (۱۴٪) ESBL مثبت و از ۷ ایزوله‌ای که آزمایش PCR بر روی آن‌ها انجام گرفت همه آن‌ها حاوی ژن TEM بودند.

بحث

باکتری‌های مقاوم از جمله باکتری‌های متعلق به خانواده آنتروباکتریاسه که در طبیعت به میزان زیاد گسترده می-باشند برای افراد جامعه یک تهدید به‌شمار می‌آید. با توجه به میزان بالای مقاومت چند داروئی، باید به این نکته اشاره نمود که بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف اغلب پلاسمیدی می‌باشد و از آنجائی‌که این پلاسمیدها، به راحتی در میان انواع مختلف از باکتری‌های خانواده آنتروباکتریاسه انتقال می‌یابند ، تجمع ژن‌های مقاوم منجر به ایجاد سویه‌هایی با مقاومت چند داروئی می‌گردد (۱۴). پس بی دلیل نیست که امروزه ظهور ESBL در سرتاسر جهان یک مسأله حائز اهمیت محسوب می‌شود. در مطالعه حاضر که بر روی ۱۰۰ نمونه باکتری جدا شده‌اند و متعلق به خانواده آنتروباکتریاسه می‌باشد کلبسیلا پنومونیه درصد بالای مقاومت را نشان می‌دهد . پدیده ESBL از اروپای شرقی آغاز گردیده، زیرا به احتمال زیاد در این مکان از آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام در بالین به مقادیر زیاد استفاده می‌شود. اما طولی نکشید که ESBL در ایالت متحده آمریکا و سایر نقاط جهان نیز شناسائی گردیدند. میزان شیوع ESB ها در میان ایزوله‌های بالینی از کشوری به کشور دیگر متفاوت است (۷،۹).

در این مطالعه شیوع تولید ESBL در سوش‌های اشریشیا کلی (۱۴٪) و کلبسیلا پنومونیه (۳۴٪) بود که کمی کمتر از شایع‌ترین نقاط کنونی سوش‌های کلبسیلا پنومونیه یعنی آمریکای لاتین که (۴۵/۴ ٪) است (۲۲). در مطالعه‌ای مشابه توسط فاطمه ریاحی و همکاران در ایران در سال ۲۰۱۲ از میان ۷۸ باکتری کلبسیلا پنومونیه و ۸۲ باکتری اشریشیاکلی به ترتیب ۵۶/۱٪ و ۴۳/۹٪ باکتری‌ها مولد ESBL بودند که فراوانی ژن SHV (۱۴/۴٪) و TEM (۲۰/۶٪) بود (۱۵). در مطالعه‌ی Udomsantisuk و همکاران در تایلند در سال ۲۰۱۱ بر روی شیوع ESBL، از میان ۲۱۲ باکتری اشریشیا کلی ۳۶ باکتری (۱۷٪) و از میان ۵۸ باکتری کلبسیلا پنومونیه ۲۰ باکتری (۳۴/۵٪) دارای ژن ESBLاند که فراوانی ژن TEM به ترتیب ۷۲/۲٪ و ۵۰٪ بود، که علت اختلاف نتایج این مطالعه با تحقیق ما می‌تواند ناشی از محل جمع‌آوری

www.SID.ir

نمونه‌ها مثل ICU و NICU و کشور مورد مطالعه باشد (۲۱). زمان بستری‌شدن طولانی، مصرف زیاد آنتی‌بیوتیک (خصوصاً سفتازیدیم) بستری‌شدن در بخش ICU و استفاده از سوندهای اداری جزء فاکتورهای مستعدکننده جهت تولید $ESBL_s$ می‌باشد. سوش‌های تولیدکننده $ESBL_s$ معمولاً سوش‌هایی با مقاومت چندگانه هستند. ESBL مولکول‌های بتالاکتاماز کلاس A یا D می‌باشند که قادر به هیدرولیزاکسی ایمینوسفالوسپورین در اندازه‌ای برابر با ۱۰ در صد بیشتر از بنزیل پنی‌سیلین هستند (۴،۱۳). شیوع بالای مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌هایی مثل سفوتاکسیم (۹۰٪)، سفکسیم (۶۶٪) و کوتریماکسازول و آمپی‌سیلین (۸۸٪) در سوش‌های کلبسیلا پنومونیه و سفکسیم (۹۰٪)، سفوتاکسیم و آمپی‌سیلین (۷۲٪) در سوش‌های اشیرشیاکلی در مطالعه ما یک تهدید بزرگ می‌باشد. یکی از مهم‌ترین راه‌کارهای موفق در غلبه بر مقاومت بتالاکتامازها، استفاده از ممانعت‌کننده‌های آن است. این مکانیسم بر اساس فعالیت ممانعت‌کنندگی توسط اتصالات کووالانت به سایت فعال بتالاکتامازهای کلاس A صورت می‌پذیرد. تازوباکتام، سولباکتام و کلاولانیک اسید ممانعت‌کننده‌های بتالاکتاماز رایج مورد استفاده در بررسی بالینی می‌باشند. به علاوه بزرگ‌شدن سایت فعال که منجر به افزایش فعالیت علیه سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف می‌شود، ممکن است به افزایش حساسیت ESBLها به بازدارنده‌های بتالاکتاماز منجر شود. در این مطالعه از ترکیب سولباکتام/آمپی-سیلین، پیپراسیلین/تازوباکتاوم و سفتازیدیم/کلاونیک اسید استفاده شد و این بدین معنی است که درمان با آنتی‌بیوتیک‌هایی با مقاومت بالا مثل آمپی‌سیلین وجنتامایسین و سفالوسپورین های نسل سوم به تنهایی در بخش‌هایی با ریسک بالا و در مورد سوش‌های مول ESBL به شکست منجر می‌شود. روش‌های مختلف تعیین وجود ESBL مثل انتشار دیسک، E-test، vitek، double-disk ، synevgy، MIC و ... نیز در مطالعات مختلف مورد بررسی و مقایسه قرار گرفتند و بین آن‌ها اختلاف معنی‌داری به‌دست نیامد (۲۲). بنابراین نتایج به-دست‌آمده از این روش تحقیق دارای ارزش و اعتبار می-باشد. در مطالعه حاضر ارزیابی نتایج PCR نمونه‌ها نشان می‌دهد که۳۴ ٪ از نمونه‌های کلبسیلاپنومونیه واجد ژنوتیپ TEM و ۱۴٪ ازنمونه‌های اشرشیاکلی واجد ژنوتیپ TEM بودند که در مجموع ۴۸٪ کل نمونه‌ها دارای ژن TEM تشخیص داده شده‌اند. بیشترین فراوانی سویه‌های مولد $ESBL_s$ در ایزوله‌های اشریشیاکلی وکلبسیلا پنومونیه گزارش گردیده است (۱۵،۱۸،۲۱) که با نتایج این مطالعه شباهت دارد.

به نظر می‌رسد که مصرف خودسرانه و بیش از حد دارو به ویژه در محیط بیمارستان از سویی با افزایش مقاومت دارویی و فرایند کنژوگاسیون که درانتقال ژن‌های بتالاکتامازهای پلاسمیدی نقش اساسی دارد، به رشد فزاینده مقاومت‌های دارویی می‌انجامد از سویی دیگر در انتقال مقاومت بین سویه‌های بیمارستانی وجامعه دخیل بوده است. ظهور مقاومت آنتی‌بیوتیکی سالانه هزینه‌های گزافی به سیستم‌های بهداشتی کشورها تحمیل می‌کنند که علاوه بر مصرف نابجای آنتی‌بیوتیک‌ها، استفاده از اقدامات تهاجمی درمانی، بیماران دچار نقص ایمنی و عدم نکات عملی در زمینه کنترل عفونت نیز نقش مهمی را ایفا می‌کند (۸،۱۸). متأسفانه اطلاعات مربوط به مقاومت باکتریایی نسبت به عوامل آنتی‌باکتریال بسیار محدود است. پس شناخت اطلاعات مربوط به مقاومت این ارگانیزم‌ها در برابرعوامل ضد میکروبی برای درمان تجربی و انتخاب داروی مناسب مفید است. باکتری اشریشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه به عنوان پاتوژن‌های فرصت‌طلب و عامل اتیولوژیک در عفونت‌های UTI می‌باشد به همین دلیل از نظر مقاومت آنتی‌بیوتیکی و درمان دارای ارزش بسزایی می‌باشند. با توجه به افزایش روز افزون تیپ‌های مختلف آنزیم‌های ESBL و تأثیر متفاوت آن‌ها بر روی آنتی بیوتیکهای مختلف، تعیین دقیق تیپ‌های مختلف آنزیم TEM و سایر آنزیم‌های ESBL با روش‌های مولکولی دیگر

www.SID.ir

مانند PCR-RFLP,REP-PCR و تعیین توالی این ژن‌ها را گوشزد می‌نماید. با در نظر گرفتن این امر که آنتی-بیوتیک‌های بتالاکتام به خصوص سفالوسپورین‌های نسل سوم اغلب درمان‌های آنتی‌بیوتیکی را در مراکز درمانی به خود اختصاص می‌دهند، مقاومت باکتریایی نسبت به این داروها به ویژه سفوتاکسیم (۹۰٪) در ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه و ۷۲٪ در ایزوله‌های اشریشیاکلی و مهارکنندگان بتالاکتاماز (۹۳/۵۹ ٪و ۶۲/ ۹۲٪ و ۹۲/۶۵٪ به ترتیب در برابر سفتازیدیم/کلاولانیک اسید، پیپراسیلین/تازوباکتام و آمپی‌سیلین/سولباکتام در ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه و همچنین به‌ترتیب ۸۲/۸۸٪ و ۸۲/۶۸٪ و ۸۱/۹۵٪ نسبت به سفتازیدیم/کلاولانیک اسید، پیپراسیلین/تازوباکتام و آمپی‌سیلین/سولباکتام در ایزوله‌های اشریشیا کلی) در حال افزایش است که تأثیر بالینی این داروها را به خطر انداخته است. بنابراین با توجه به ترشح آنزیم‌های بتالاکتاماز در باکتری‌های مهم پزشکی جهت پیشگیری از انتشار بیشتر این مقاومت‌های دارویی، تجویز آنتی‌بیوتیک-های مناسب بر اساس نتایج دقیق تست حساسیت توصیه می‌گردد (۲۰).

سپاسگزاری

در پایان، از سرکار خانم دکترگیتا اسلامی به‌خاطر راهنمایها و کمک‌های فراوان در تألیف این مقاله کمال تشکر را داریم.

منابع

1. Al-Agamy MHM, Ashour MS , Wiegand .First description of CTX-M beta-lactamase-producing clinical Esherichia Coli isolates from Egypt. International Journal of Antimicrobial Agents, 2006; 27: 545-548.
2. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for Beta-lactamases and its correlation with molecular structure. Antimicrobial Agents Chemother ,1995;39: 1211-1233.
3. Clinical Laboratory and Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 15th informational Supplement (M100-s15). National Committee for Clinical Laboratory Standards. Wayne, Pa:2010.
4. Eric G, Steven J. Extended-Spectrum B-lactamase Resistance in the ICU. Journal of pharmacy practice, 2009; 15(29):96-105.
5. Goyal A, Prasad A, Ghoshal U, Prasad KN. Comparsion of disk diffusion, disk potention and double disk synergy methods for detection of extended spectrum beta lactamases in Enterobacteriaceae. Indian Journal Med, 2008;128:209-211.
6. Joklik WK, Willett HS, Wilfert CH, Antimicrobial agents In:Zinsser Microbiology, 20th ed, Nrwolk Appleton and lange, 2000 , PP 153-187.
7. junmin k, Insoo R, Yeonhee L. CTX-M and SHV-12Beta-lactamases are the most common extended-spectrum enzymes in clinical isolates of Escherichia coli and klebsiella pneumonia collected from 3 university hospitals within korea. FEMS Microbiol Lett, 2005; 245: 93-98.
8. Kesselov M, Kolar M, Sauer P, Koukalova D, Petrzelova J, Vagnerova l, et al. Molecular biology Characteristics of ESBL Klebsiella pneumonia collected in the neonatal unit of the Teaching Hospital in Olomouc. Klin Microbiol Infekc Lek, 2005;11(1):20-24.
9. Koneman Elmer W, Allen Stephen D, Janda William M, Clor Atlas and Text Book of Diagnostic Microbiology, 5th ed, Philadelphia New –York: Lippincott, 1997,PP 171-241.
10. Labia R, Barthelemy M, Peduzzi J, Morand A. Tiwari K. Behavior of ceftazidime in regard to different classes of beta-lactamases. The situation in 1988. Presse Med, 1988;17:1890-94.
11. Lal P, Kapil A, Das BK, Sood S. Occurrence of TEM and SHV gene in extended-spectrum beta-lactamases(ESBL) Producing Klebsiella Sp. Isolated from a tertiary care hospital. Indian Journal Med Res, 2007;125:173-178.
12. Mocktar C, Govinden U, Sturm AW, Essack S. TEM-146 beta-lactamases Produced by Escherichia Coli isolates from State hospitals Kwazulu-Natal south Afric. African journal of Biotechnology, 2007;6(5) : 493-495.

Archive of SID

www.SID.ir

13. Prinarakis EE, Miriagou V, Tzeleoi E, Gazouli M, Tzouvelekis LS. Emergence of an inhibitor resistant beta-lactamases (SHV-10) derived from an SHV- 5 variant . Antimicrob Agents Chemother, 1997; 41:838-84.
14. Rasheed JK, Tenover FC, Detection and characterization of antimicrobial resistance genes in bacteria In: Murray, 8th ed, Baron EJ , 2003, PP 1196-1212.
15. Riyahizaniani F, Meshkat Z, Naderi M. The prevalence of TEM and SHV gene among ESBL producing Ecoli and Klebsiella pnemoniae. Iranian Journal Basic Medical Sciences, 2012;15(1):654-660.
16. Skippen I, Shemko M, Turton J, Kaufmann ME, Palmer C, Shetty N. Epidemiology of infections caused by extended –spectrum beta –lactamase-producing Esherichia coli and Klebsiella spp: a nested case- control study from a tertiary hospital in London . JHosp Infect, 2006; 64:115-23.
17. Song js, lee JH , Lee JH. Jeno BC , lee WK , Lee SH. Removal of contaminating TEM-1 beta-lactamase gene from commercial Taq DNA polymerase. Journal of Microbiology, 2006; 44(1): 126-128.
18. Spnu T, Luzzar F, Perilli M, Amicosante G. Occurrence of extended spectrum B-Lactamases in members of the family Enterobateriaceae in Italy: Implications for resistance to betalactams and other antimicrobial drugs Antimicrob Agents Chemother, 2002;46(1): 167-202.
19. Sturenburg E, Mak D. Extended-spuectrum beta-lactamases : Implications for the clinical microbiology laboratory therapy. And infection control of infection Journal of infection, 2003; 47: 273-295.
20. Thomson KS. Controversies about extended spectrum and AmpC beta-lactamases. Emerg Infect Dis, 2010; 7 (2):1-9.
21. Udomsantisuk N, Nunthapisud P. Molecular characterization of extended spectrum beta-lactamase among clinical isolates Ecoli and Klebsiella pnemoniae. J Med Assoc Thai, 2011; 94(12):1504-12.
22. Yagi T, Kruokawa H, Shibata N,Shibayama K,Arakawa Y. A preliminary survey of extended-spectrum beta- Lactamases(ESBLs) in clinical isolates of Klebsiella pnemoniae and Escherichia coli in Japan. FEMS, 2009; 45(5):210.218.

Archive of SID

www.SID.ir