

## بررسی شیوع و فراوانی ژن های بتالاکتامازی SHV / CTX-M / TEM در کلبسیلا و اشریشیاکلی های جدا شده از نمونه های کلینیکی در آزمایشگاه کهورستان بندرعباس

سمیه شبان پیشه، عباسعلی رضائیان\*

گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم، جهرم، ایران.

### چکیده

**سابقه و هدف:** امروزه وجود بتالاکتامازهای وسیع الطیف در باکتری های جدا شده از بیماران بستری که مقاومت چندگانه دارویی را بیان می کنند، یک واقعیت و معضل مهم بهداشتی در اکثر کشورها محسوب می گردد.

**مواد و روش ها:** تعداد ۳۴۶ سویه انترو باکتریاسه از نمونه های مختلف در کهورستان جداسازی شد. برای تعیین مقاومت نمونه ها، تست آنتی بیوگرام انجام شد. در نهایت ایزوله های ESBL مثبت، توسط روش PCR از نظر ژن های SHV، CTX-M، TEM مورد بررسی قرار گرفتند.

**یافته ها:** از ۳۴۶ ایزوله مورد بررسی، ۱۶۲ ایزوله کلبسیلا و ۱۳۲ ایزوله اشریشیاکلی به آنتی بیوتیک های سفزازیدیم یا سفوتاکسیم و یا هر دو آن ها مقاوم بودند. همچنین ۸۲ (۴۲/۲۶٪) ایزوله مولد ESBL بودند.

**بحث:** با توجه به درصد بالای مقاومت به سفالوسپورین های نسل سوم انجام دقیق آزمایش های آنتی بیوگرام قبل از تجویز آنتی بیوتیک در عفونت های ناشی از ارگانسیم های تولید کننده ESBL ضرورت دارد.

**واژه های کلیدی:** بتالاکتامازهای وسیع الطیف، اشریشیاکلی، عفونت ادراری، SHV، CTX-M، TEM.

### مقدمه

شناسایی شد از آن زمان به بعد افزایش چشم گیر این سویه ها در سراسر جهان گزارش گردیده است (۴).

اگرچه بتالاکتامازهای وسیع الطیف به صورت غالب در گونه های اشریشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه مشاهده می شوند اما این آنزیم ها در جنس های دیگر انتروباکتریاسه مانند سراسیا، سیتروباکتر، سالمونلا، پروتئوس و انتروباکتر هم دیده شده اند (۱).

آنزیم های بتالاکتاماز در باکتری ها متنوع هستند و در پاسخ به فشار انتخابی آنتی بیوتیک ها، مرتب در حال موتاسیون و جایگزین کردن اسیدهای آمینه به ویژه در جایگاه فعال آنزیم هستند به طوری که باعث ایجاد انواع جدیدی از بتالاکتامازهای طیف وسیع شده اند (۲۰).

الگوهای مختلفی برای طبقه بندی بتالاکتامازها وجود دارد یکی از این روش ها که بیش تر از آن استفاده می شود به وسیله مدیروس و جکوبی ابداع شده است که بر این اساس بتالاکتامازها به چهار گروه اصلی A تا D طبقه بندی می شوند. آنزیم های وسیع الطیف در گروه A قرار گرفته اند و شامل مشتقات آنزیم های موتاسیون یافته SHV و TEM می باشند (۲۵،۶). بتالاکتامازها از لحاظ عملکردی به چهار گروه طبقه بندی می شوند گروه اول: سفالوسپورینازهایی

روش های مختلفی توسط باکتری ها به کار گرفته می شود تا از اثرهای مضر آنتی بیوتیک ها مصون بمانند یکی از مهم ترین این روش ها، که در باکتری های گرم منفی علیه آنتی بیوتیک های بتالاکتام به کار می رود تولید آنزیم های بتالاکتامازی می باشد (۹). بتالاکتامازهای وسیع الطیف (ESBLs: Extended Spectrum Beta Lactamases) گروه بزرگ و در حال رشدی از آنزیم های بتالاکتاماز هستند که به وسیله باکتری های گرم منفی تولید می شوند. این آنزیم ها توانایی هیدرولیز تمامی سفالوسپورین ها و آزترونام ها را داشته و توسط مهارکننده های بتالاکتامازها مانند اسید کلاوولانیک مهار می شوند (۱۰). اولین ارگانسیم تولید کننده ESBLs از اعضای خانواده انتروباکتریاسه در سال ۱۹۸۳ در آلمان

نویسنده مسئول :

گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم، جهرم، ایران.

پست الکترونیکی: rezaeianfon45@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۹/۱۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۵/۱

خلط بودند که در آزمایشگاه کلیه سوش‌ها بعد از شناسایی دقیق و انجام تست‌های بیوشیمیایی استاندارد در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. تعیین حساسیت و مقاومت آنتی-بیوتیکی به روش انتشار دیسک انجام گرفت (۱۶). دیسک‌های آنتی‌بیوتیک مورد استفاده از شرکت پادتن طب و شامل سفنازیدیم ۳۰ میکروگرم، سفوتاکسیم ۳۰ میکروگرم، سیپروفلوکساسین ۵ میکروگرم، ایمی‌پنم ۱۰ میکروگرم، نالیدیکسیک اسید ۳۰ میکروگرم، جنتامایسین ۱۰ میکروگرم و کوتریموکسازول ۲۵ میکروگرم بودند.

بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نتایج آنتی‌بیوگرام طبق دستور العمل CLSI ثبت شدند. سپس سویه‌های کلسییلا و اش‌ریشیاکلی مقاوم به سفوتاکسیم و سفنازیدیم به روش CDT (دیسک ترکیبی) با قرار دادن دیسک‌های سفوتاکسیم و سفوتاکسیم + کلاولانیک اسید، سفنازیدیم و سفنازیدیم + کلاولانیک اسید جهت تأیید تولید بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف غربال‌گری شدند و سویه‌هایی که قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک‌های حاوی کلاولانیک اسید آن‌ها ۵ یا بیش‌تر از ۵ میلی‌متر از دیسک‌های بدون مهار کننده آن‌ها بود با در نظر گرفتن ضوابط CLSI، به‌عنوان بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف در نظر گرفته شدند.

پس از آن به‌منظور تعیین حداقل غلظت آنتی‌بیوتیکی که مانع رشد باکتری‌ها می‌شود، تست MIC به‌روش رقیق‌سازی مایع بر روی سوش‌های مولد بتالاکتاماز وسیع‌الطیف صورت گرفت. برای استخراج DNA و انجام PCR ابتدا از نمونه‌ها کشت شبانه تهیه شد سپس چندین کلونی از هر کشت شبانه باکتری‌ها به اپندورف‌های استریل که حاوی ۱۰۰ میکرو لیتر آب مقطر بودند منتقل و DNA هر یک به‌روش جوشاندن استخراج گردید. تست PCR برای شناسایی ژن‌های بتالاکتامازی (SHV (۹۷۳ bp، TEM (۴۴۵ bp) و CTX-M (۵۹۳bp) با استفاده از پرایمرهای یونیورسال انجام شد.

واکنش PCR در دستگاه ترموسایکلر به شرح زیر انجام شد یک سیکل ۱۵ دقیقه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد (دناتوراسیون اولیه) سپس ۳۰ سیکل شامل مرحله واسرشت شدن ۳۰ ثانیه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد، مرحله اتصال ۳۰ ثانیه در ۶۰ درجه سانتی‌گراد و مرحله طویل شدن ۲ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد و در نهایت یک سیکل ۱۰ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد.

از کلسییلا پنومونیه ATCC700603 و اش‌ریشیاکلی ATCC35218 به‌ترتیب به‌عنوان کنترل مثبت و منفی استفاده

که توسط کلاولانیک اسید به خوبی مهار نمی‌شوند و به کلاس C مولکولار تعلق دارند. گروه دوم: شامل پنی‌سیلیناز و سفالوسپوریناز یا هر دو که به‌طور کلی توسط مهار کننده‌های بتالاکتاماز مهار شده و به کلاس مولکولار A یا D متعلق هستند. گروه سوم: از یون‌های روی برای تخریب حلقه بتالاکتام استفاده می‌کنند و متالوبتالاکتاماز هستند. گروه چهارم: شامل پنی‌سیلیناز بوده و توسط کلاولانیک اسید مهار نمی‌شود (۲۳).

ژن تولید کننده بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف کمابیش بر روی پلاسمیدها واقع شده‌اند که مقاومت متقاطع نسبت به کلاس‌های دیگر آنتی‌بیوتیک را هم ممکن می‌سازند، که این امر موجب محدودیت در انتخاب درمان آنتی‌بیوتیک صحیح می‌شود (۲۲)، (۷).

این پلاسمیدها به آسانی در میان گونه‌های باکتریایی قابل انتقال هستند. اغلب بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف به‌دلیل ایجاد جهش در ژن‌های SHV و TEM به‌وجود آمده‌اند (۱۸). بخشی از سویه‌های تولید کننده TEM و SHV هم‌زمان آنزیم‌های CTX-M را نیز تولید می‌کنند (۲). شناسایی ژن‌های شایع مولد ESBLs از قبیل TEM, SHV و CTX-M با استفاده از روش‌های مولکولی در باکتری‌های تولید کننده ESBLs و بررسی الگوی مقاومت دارویی آن‌ها می‌تواند اطلاعات مفیدی در رابطه با اپیدمیولوژی و درمان ضد میکروبی منطقی در مقابل ارگانسیم‌های تولید کننده ESBLs فراهم نماید (۱۲). امروزه تعداد ارگانسیم‌هایی که توانایی تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع‌الطیف را دارند در حال افزایش است و این مسئله به‌عنوان یکی از بحران‌های موجود در درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری‌ها مطرح می‌باشد. انتقال و انتشار سریع ارگانسیم‌هایی که آنزیم‌های مذکور را تولید می‌کنند باعث بالا رفتن میزان عفونت‌های بیمارستانی مربوطه در سراسر دنیا شده است (۱۷). بنابراین لازم است که شیوع باکتری‌های تولید کننده آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع‌الطیف در هر منطقه ای مشخص شود تا تدابیر درستی برای درمان عفونت‌های ایجاد شده به‌وسیله این ارگانسیم‌های مقاوم به‌کار رود. هدف این مطالعه بررسی شیوع و فراوانی ژن‌های مقاومت بتالاکتامازی TEM, SHV و CTX-M در بیماران مراجعه کننده به آزمایشگاه کهورستان بندر خمیر می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

در این مطالعه مقطعی- توصیفی در طول مدت ۶ ماه تعداد ۵۰۰ نمونه بالینی از بیماران مراجعه کننده به آزمایشگاه کهورستان جمع آوری شد. نمونه‌ها شامل ادرار، خون، مدفوع، ترشحات و

گردید (۳). سپس از ژل آگارز ۱ درصد برای الکتروفورز محصول- های PCR و از سایز مارکر 100bpLadder استفاده شد. داده های جمع آوری شده با استفاده از آزمون فیشر مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

## یافته ها

از ۳۴۶ انتروباکتریاسه جمع آوری و تأیید شده به وسیله تست های بیوشیمیایی افتراقی ۱۰ (۲/۸۹ درصد) ایزوله مربوط به نمونه های مدفوع، ۴ (۱/۱۵۶ درصد) ایزوله مربوط به ترشحات و خلط، ۲ (۰/۵۷۸ درصد) ایزوله مربوط به خون و ۳۳۰ (۹۵/۳۷ درصد) ایزوله مربوط به ادرار بود. بررسی میزان مقاومت ایزوله ها به آنتی بیوتیک های مورد مطالعه با استفاده از روش انتشار دیسک نشان داد که بیشترین میزان مقاومت مربوط به نالیدیکسیک اسید (۵۰ درصد) و کمترین میزان مقاومت مربوط به سفنازیدیم (۱۹/۹۴ درصد) بوده است. میزان مقاومت به سایر آنتی بیوتیک ها نیز به شرح زیر مشاهده شد. کوتریموکسازول ۱۵۱ (۴۳/۶۴ درصد)، ایمی پنم ۱۰۸ (۳۱/۲۱ درصد)، سفوتاکسیم ۱۴۷ (۴۲/۴۸ درصد)، جنتامایسین ۹۰ (۲۶/۰۱)، سفکسیم ۱۶۷ (۴۸/۵۵ درصد) و سیپروفلوکساسین ۱۲۲ (۳۵/۲۶ درصد) (جدول ۱). همان طور که در جداول ۲ و ۳ مشاهده می شود مقاومت کلبسیلا و اشریشیاکلی های جدا شده به کلاس های مختلف آنتی بیوتیکی

جدول ۱: درصد نتایج آنتی بیوگرام ایزوله های انتروباکتریاسه

آنتی بیوتیک	مقاوم	حدواسط	حساس
کوتریموکسازول	۴۳/۶۴	۶/۳۵	۵۰
ایمی پنم	۳۱/۲۱	۱۰/۶۹	۵۸/۰۹
سفوتاکسیم	۴۲/۴۸	۸/۹۵	۴۸/۵۵
جنتامایسین	۲۶/۰۱	۱۶/۴۷	۵۷/۵۱
سفکسیم	۴۸/۵۵	۷/۸۰	۴۳/۶۴
نالیدیکسیک اسید	۵۰	۱۰/۱۱	۳۹/۸۸
سیپروفلوکساسین	۳۵/۲۶	۸/۰۹	۵۶/۶۴
سفنازیدیم	۱۹/۹	۷/۵۱	۴۲/۵۴

جدول ۲: مقاومت چند گانه E.coli های جدا شده به کلاس های مختلف آنتی بیوتیکی

Sulfonamid (SXT)		Carbapenem (IPM)		Aminoglycosid (GM)		Quinolones (CP,NA)		Cephalosporins (CAZ,CTX,CFM)	
درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد
۲/۵۱	۱۰۷	۶/۱۶	۳۵	۵/۱۱	۲۴	۴۱/۴۶	۹۷	۱/۴۲	۸۸

جدول ۳: مقاومت چند گانه Klebsiella های جدا شده به کلاس های مختلف آنتی بیوتیکی

Sulfonamid (SXT)		Carbapenem (IPM)		Aminoglycosid (GM)		Quinolones (CP,NA)		Cephalosporins (CAZ,CTX,CFM)	
درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد
۲۶	۲۳	۸۰/۷	۷۱	۷۱/۶	۶۳	۷۳/۴	۶۹	۶۹/۳	۶۱

جدول ۴: بررسی تست MIC برای سویه های مقاوم به سفنازیدیم

لوله ۹	لوله ۸	لوله ۷	لوله ۶	لوله ۵	لوله ۴	لوله ۳	لوله ۲	لوله ۱	تعداد	
$\leq 0.4 \mu\text{g/ml}$	$\leq 0.8 \mu\text{g/ml}$	$\leq 1.6 \mu\text{g/ml}$	$\leq 3.13 \mu\text{g/ml}$	$\leq 6.25 \mu\text{g/ml}$	$\leq 12.5 \mu\text{g/ml}$	$\leq 25 \mu\text{g/ml}$	$\leq 50 \mu\text{g/ml}$	$\leq 100 \mu\text{g/ml}$		
	۱	۱	۲	۷	۱۲	۵	۴	۱	۳۲	E.coli
			۲	۴	۷	۵	۱	۲	۲۱	Klebsiella

جدول ۵: بررسی تست MIC برای سویه های مقاوم به سفنوتاکسیم

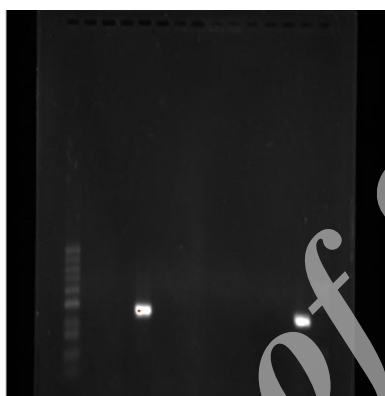
لوله ۹	لوله ۸	لوله ۷	لوله ۶	لوله ۵	لوله ۴	لوله ۳	لوله ۲	لوله ۱	تعداد	
$\leq 0.4 \mu\text{g/ml}$	$\leq 0.8 \mu\text{g/ml}$	$\leq 1.6 \mu\text{g/ml}$	$\leq 3.13 \mu\text{g/ml}$	$\leq 6.25 \mu\text{g/ml}$	$\leq 12.5 \mu\text{g/ml}$	$\leq 25 \mu\text{g/ml}$	$\leq 50 \mu\text{g/ml}$	$\leq 100 \mu\text{g/ml}$		
		۱	۲	۵	۲۵	۱۵	۴	۱	۵۳	E.coli
					۴	۵	۲	۳	۱۴	Klebsiella

جدول ۶: پراکندگی ژن های مقاوم به بتالاکتام در باکتری اشریشیاکلی

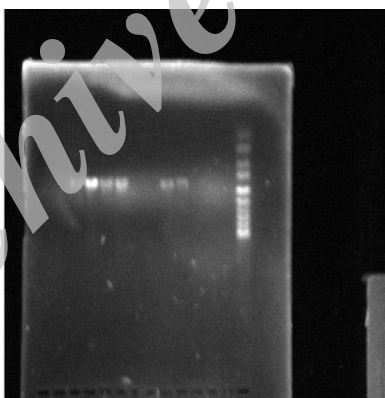
کوئریموکسازول	جنتامیسین	ایمی پنم	تالیپکسیک اسید	سیروفلوکساسین	سفاکسیم	سفنوتاکسیم	سفتازیدیم		
۱۰	۳	۱۰	۱۱	۹	۱۱	۱۲	۵	No.%	CTX-M ۱۲
-/۷۱۲	-/۷۲۴	-/۰۰۹	-/۰۸۶	-/۰۲۶	-/۶۷۱	-/۳۲۶	-/۰۸۳	P	
۱۵	۱۳	۱۱	۱۴	۱۱	۱۶	۱۷	۱۳	No.%	TEM ۲۰
۱/۰۰۰	۱/۰۰۰	-/۵۸۶	۱/۰۰۰	-/۲۸۸	-/۲۶۴	-/۶۷۶	۱/۰۰۰	P	
۵	۲	۴	۴	۴	۴	۵	۲	No.%	CTX-M/TEM ۵
-/۳۶۸	۱/۰۰۰	-/۱۸۸	۱/۰۰۰	-/۱۶۴	-/۵۷۰	۱/۰۰۰	-/۳۲۲	P	

جدول ۷: پراکندگی ژن های مقاوم به بتالاکتام در باکتری کلبسیلا

کوتریموکسازول	جتنامین	ایمی پنم	تالیسیک اسید	سیروفلوکساسین	سفسیوم	سفلوتامسیم	سفتازیدیم		
۴	۳	۱	۴	۰	۴	۵	۷	No%	CTX-M ۷
۱/۱۰۰۰	۰/۲۷۶	۱/۱۰۰۰	۱/۱۰۰۰	۰/۲۲۰	۰/۲۷۴	۰/۵۶۵	۱/۱۰۰۰	P	
۳	۴	۱	۲	۲	۲	۲	۴	No%	TEM ۵
۱/۱۰۰۰	۰/۲۶۰	۱/۱۰۰۰	۰/۲۲۴	۱/۱۰۰۰	۰/۰۵۵	۰/۰۴۴	۰/۴۱۱	P	
۱	۱	۱	۰	۰	۱	۱	۱	No%	CTX- M/TEM ۲
۱/۱۰۰۰	۰/۴۹۴	۱/۱۰۰۰	۱/۱۰۰۰	۰/۵۱۵	۰/۰۴۳	۰/۳۳۸	۱/۱۰۰۰	P	



تصویر ۱: محصول PCR ژن TEM (445 bp)، نمونه ۱ سایز مارکر ژنی bp ۱۰۰ و نمونه های ۲،۳،۴ دارای ژن TEM



تصویر ۲: محصول PCR ژن CTX-M (593bp)، نمونه ۱ سایز مارکر ژنی bp ۱۰۰ و نمونه های ۲،۳،۴،۵،۷ دارای ژن CTX-M

## بحث

طوری که افزایش شیوع این ارگانیزمها باعث ایجاد نگرانی شده است. باکتری های مولد بتالاکتامزهای وسیع الطیف کمابیش به چندین گروه آنتی بیوتیک مقاوم بوده و در نتیجه منجر به شکست درمانی و مشکلات جدی می شوند. این باکتری ها یک تهدید کلینیکی به حساب می آیند و موجب نگرانی پزشکان در درمان عفونت های ایجاد شده توسط این باکتری ها شده اند (۴).

هدف از این مطالعه تعیین شیوع و فراوانی انتروباکتریاسه های تولیدکننده بتالاکتامزهای وسیع الطیف و تشخیص مولکولی ژن های بتا لاکتاماز SHV,TEM,CTX-M آنها است. تست

در دهه اخیر باکتری های مولد آنزیم های بتا لاکتاماز وسیع الطیف به خصوص گونه های مختلف انتروباکتریاسه حاوی این آنزیمها رو به افزایش است که این مسئله مقاومت به آنتی بیوتیک های بتالاکتام را افزایش داده است. این امر باعث به وجود آمدن مشکلاتی در درمان بیماران مبتلا به عفونت های ایجاد شده توسط این باکتری ها شده است (۱۹). مطالعه ها و گزارش های متعددی در رابطه با افزایش و شیوع رو به رشد ارگانیزم های مولد ESBLs از مناطق مختلف در کشور وجود دارد (۳،۲۱،۲۷) به-

بررسی دقیق در سطح کشور را جهت بررسی میزان شیوع مقاومت در باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه گوشزد می‌کند. بر اساس یافته‌های آزمایشگاهی حاضر ایمی‌پنم، جنتامایسین و سیپروفلوکساسین به ترتیب از مؤثرترین آنتی‌بیوتیک‌ها علیه کلبسیلا و اشریشیاکلی تولید کننده بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف بودند.

بررسی مولکولی سویه‌های مورد آزمایش از نظر وجود ژن‌های بتالاکتاماز SHV، CTX-M و TEM نشان داد که ژن TEM بیش‌ترین ژن در سویه‌های مولد بتالاکتاماز وسیع‌الطیف بود. در این مطالعه با روش PCR، ۲۳/۷ درصد حاوی ژن CTX-M، ۳۰/۴۸ درصد حاوی ژن TEM بودند و هیچ‌کدام از نمونه‌ها ژن SHV را نداشتند. مطالعه‌هایی که توسط مزبانی و همکاران در سال ۱۳۸۶ در تهران صورت گرفت ۶۰ درصد ایزوله‌ها حاوی ژن TEM بودند (۸)، در مطالعه مسجدیان ۸۶/۴ درصد نمونه‌ها ژن TEM را در برداشتند (۱۱) و در تحقیق میرصالحیان ۳۹/۴ درصد ایزوله‌ها حاوی ژن TEM بودند (۱۵). مقایسه نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر با مطالعه‌های مذکور نشان دهنده شیوع بالای تیپ آنزیمی TEM در کشور ماست. بنابراین ضروری است که برای شناسایی این نوع از مقاومت از روش‌های مولکولی در کنار روش‌های فنوتیپی استفاده شود و باید تحقیقات مشابهی در نقاط مختلف کشور صورت گیرد تا ژنوتیپ‌های بتالاکتامازی وسیع‌الطیف در نواحی جغرافیایی مختلف به دست آید.

### نتیجه گیری

در نهایت این مطالعه نشان داد که سویه‌های تولید کننده بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف یک معضل جدی و رو به پیشرفت است. بنابراین ضرورت دارد تا با اتخاذ راه‌کارهای علمی مناسب در مورد درمان آنتی‌بیوتیکی، تجهیز آزمایشگاه‌ها به روش‌های تشخیصی فنوتیپی و در کنار آن تکنیک‌های مولکولی میزان شیوع سویه‌های مقاوم باکتری‌ها مورد بررسی قرار گیرد و تدابیر لازم جهت درمان بیماران و کنترل مقاومت در باکتری‌ها صورت گیرد.

### سپاسگزاری

نویسنده این مقاله مراتب سپاسگزاری خود را از دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم به دلیل حمایت اجرایی اعلام می‌دارد.

حساسیت ضد میکروبی در سویه‌های مورد مطالعه نشان داده است که بیش‌ترین میزان مقاومت آن‌ها نسبت به نالیدیکسیک اسید (۵۰ درصد) و کم‌ترین میزان مقاومت نسبت به سفتازیدیم (۱۹/۹۴) درصد بوده است. از مقایسه مطالعه مهاجری و همکاران در کرمانشاه (۱۴) با این مطالعه مشاهده شد که درصد مقاومت نمونه‌ها به سفتازیدیم از درصد مقاومت این مطالعه بیش‌تر و درصد مقاومت سیپروفلوکساسین، کوتریموکسازول، جنتامایسین و سفوتاکسیم از این بررسی کم‌تر است. با انجام آزمون تأییدی بر روی ارگانیسیم‌های غربالی تولید کننده بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف به روش CDT، ۴۲/۲۶ درصد از نمونه‌های کلبسیلا و اشریشیاکلی تولید کننده نهایی بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف بودند. این در حالی است که در مطالعه میرصالحیان و همکاران در سال ۲۰۰۸ بر روی ایزوله‌های انتروباکتریاسه در تهران از ۱۵۰ ایزوله ۸۹ (۵۹/۳ درصد) به عنوان تولید کننده بتالاکتاماز وسیع‌الطیف گزارش شدند که از این مطالعه بیش‌تر است. در مطالعه تاسلی و همکاران در ترکیه تولید آنزیم بتالاکتاماز وسیع‌الطیف در سویه‌های اشریشیاکلی معادل ۱۷ درصد (۲۴) و در مطالعه ویلگاس در کلمبیا ۴/۷-۳/۳ درصد (۲۶) گزارش شده است که نسبت به این مطالعه کم‌تر است. نتایج منتشر شده در تحقیقات علمی مختلف مربوط به ژن‌های بتالاکتاماز وسیع‌الطیف نشان می‌دهند که بالاترین درصد سویه‌های تولید کننده بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف در کلبسیلا در کشورهای آمریکای لاتین ۵۴/۴ درصد، اروپا ۲۲/۶ درصد و حوزه غربی اقیانوس آرام ۲۶/۶ درصد می باشد (۵). مقایسه این نتایج و مطالعه حاضر نشان می‌دهد که میزان بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف در سوش‌های جدا شده از کشورهای مختلف و همچنین در یک کشور از یک بیمارستان با بیمارستان دیگر متفاوت است که این مسئله بستگی به سیستم کنترل عفونت و چگونگی درمان بیماران دارد. فاکتورهای مختلفی در افزایش میزان باکتری‌های تولید کننده بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف دخیل اند که مصرف بیش از حد و خودسرانه آنتی‌بیوتیک‌ها، طولانی بودن مدت زمان بستری در بیمارستان، استفاده از کاتترهای عروقی و ادراری، سابقه جراحی و... از جمله این موارد می‌باشند (۲۱).

میزان مقاومت کلی سوش‌های انتروباکتریاسه مورد بررسی بسیار بالا بود. مقاومت به نالیدیکسیک اسید ۵۰ درصد، سفکسیم ۴۸/۵۵ درصد، سفوتاکسیم ۴۲/۴۸ درصد، کوتریموکسازول ۴۳/۶۴ درصد مشاهده شد که این میزان بالای مقاومت دارویی اهمیت انجام یک

## منابع

- 1-Al-Zarouni M, Senok A, Rashid F, Al-Jesmi S.M, Panigrahi D. 2008. Prevalence and antimicrobial susceptibility pattern of extended-spectrum beta lactamase producing Enterobacteriaceae in the United Arab Emirates. *Med Princ Pract.* 17(1): 32-6.
- 2- Roschanski N, Fischer J, Guerra B, Roesler U. Development of a Multiplex Real- Time PCR for the Rapid Detection of the Predominant Beta-Lactamase Genes CTX-M,SHV,TEM and CIT-Type AmpCs in Entrobacteriaceae. *PloS one.* 2014;9(7):e100956.
- 3-Archin T, Ghasemi Y, Kargar M, Mohkam M.A. 2013. simple multiplex PCR For assessing prevalence of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases producing klebsiella pneumonia in Intensive care units of a referral Hospital in Shiraz, Iran. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine.* 703-708.
- 4-Aubert D, Girich D, Naas T, Nagarajan S, Nordmann P. 2004. Functional and Structural Characterization of the Genetic Environment of an Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase blaVEB Gene from a Pseudomonas aeruginosa isolate Obtained in India. *Antimicrobial agents and chemotherapy.* 48(9):3284-90.
- 5-Behroozi A, Rahbar M, Yousefi J. 2010. Frequency of extended spectrum beta lactamase (ESBLs) Producing Escherichia Coli and Klebsiella Pneumoniae isolated from Urine in an Iranian tertiary care hospital. *African J. microbiology.* 4(9): 881-4. bed 1000.
- 6-Bush K, Jacoby G.A, Medeiros A.A. 1995. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother.* 39(6):1211-33.
- 7-Chaudhary U, Aggarwal R. 2004. Extended spectrum beta Lactamases (ESBL)- An emerging threat to Clinical therapeutics. *Indian J med Microbial.* 22(2): 75-80.
- 8-Hosseini -Mazinani S.M, Eftekhar F, Milani M, Gandili. 2007. Characterization of B-lactamase from Urinary Isolated of Escherichia coli in Tehran. *Iranian Biomedical Journal.* 11(2):95-99.
- 9-Li Q, Lee J.Y, Castillo R, Hixon M.S, Pujol C, Doppalapudi V.R. 2002. A novel antibacterial agent with broad-spectrum activity and enhanced potency against beta-lactamase-producing strains. *Antimicrob Agents Chemother.* 46(5):1262-8.
- 10-Mirzaee M,Owlia P, Mansouri S.Distribution of CTX-M Beta Lactamase genes among Escherichia coli strains isolated from patients in Iran.*Lab Med.* 2009;40(12):724-7.
- 11-Masjedian G.F, Valehi F, Talebi A, Rastegar L.A. 2006. Molecular evaluation of resistance to expanded ntibiotics in Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae.*Iran JMed Microbiol.* 1(2):27-34.
- 12-Geyer CN,Hanson ND. Rapid PCR amplification protocols decrease the turn-around time for detection of antibiotic resistance genes in Gram-negative pathogens.*Diagn Microbiol Infect Dis.*2013;31;77(2):113-7.
- 13-Lina TT, Khajanchi BK,Azmi Ij, Islam MA, Mahmood B, Akter M, et al. phenotypic and Molecular Characterization of Extended-Spectrum Beta-Lactamase producing Escherichia coli in Bangladesh. *PloS one.*2014;9(10):e108735.
- 14-Mohajeri P, Izadi B, Rezai M, Falahi B, Khademi H, Ebrahimi R. 2011. Assessment of the frequency of Extended Spectrum Beta Lactamases Producing Escherichia coli Isolated from Urinary Tract Resistance Pattern in Kermanshah. *J Ardabil Univ Med Sci.* 11(1): 86-94.
- 15-Mirsalehian A, Akbari-Nakhjavani F, Peymani A, Kazemi B, Jabal Ameli F.Mirafshar S.m. 2008. Prevalence of Extended spectrum B- Lactamase-production Enterobacteriaceae by Phenotypic and Genotypic Methods in Intensive care Units in Tehran. *Iran J Med Microbiol.* 6:169-173.
- 16-National Committee for Clinical laboratory standards. 2005. erformance standard for antimicrobial susceptibility testing, 15In information supplement (M100- 315). National committee for Clinical laboratory standards, Wayne, pa.
- 17-Paterson D.L, Bonomo R.A. 2005. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev.* 18(4): 657-86.
- 18-Prabha L, Arti K.B. 2007. Occurrence of TEM, SHV gene in extended Spectram  $\beta$ - Lactamases (ESBLs) Producing Klebsiella SP. isolated from atertiary care hospital. *Indian J Med Res.*125: 173-8.
- 19-Quinteros M, Radice M, Gardella N, Rodriguez M.M, Costa N, Korbenfeld D.2003. Extended-spectrum B-Lactamases in Enterobacteriaceae in Buenos Aires, Argentina, Public Hospitals. *Antimicrob agent chemother.* 47(9): 286-7.
- 20-Samaha-Kfoury J.N, Araj G.F. 2003. Recent development in  $\beta$ -lactamase and extended spectrum  $\beta$ - lactamases. *BMJ.* 327: 1209-13.

- 21-Mansouri S, Neyestanaki DK, Shokoohi M, Halimi S, Beigverdi R, Rezagholezadeh F, et al. Characterization of AmpC, CTX-M and MBLs types of Beta Lactamases in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* producing Extended Spectrum Beta Lactamases in Kerman, Iran. *Jundishapur J Microbiol.* 2014;7(2): 12-16.
- 22-Sinha M, Srinivasa H, Macaden R. 2007. Antibiotic resistance profile and extended spectrum beta lactamas (ESBL) production in *Acinetobacter* species. *Indian J Med Res.* 126(1): 63- 7.
- 23-Soltan- Dallal M.M, Mobasser G, Fallah-Mehrabadi J, Rastegar-Lari A, Molla- Aghamirzaei H, Sabbaghi A, Azarsa M. 2011. Detection Of CTX-M-1 beta lactamase gene in *Escherichia coli* isolated from clinical samples by polymerase Chain Reaction (PCR). *Tehran University J.* 69(1):16-21.
- 24-Tasli H, Bahar I.H. 2005. Molecular characterization of TEM- and SHV-derived extended spectrum beta-lactamases in hospital-based *Enterobacteriaceae* in Turkey. *Jpn J Infect Dis .* 58(3): 162-7.
- 25-Thomson K.S, Prevan A.M, Sanders C.C. 1996. Novel plasmid mediated beta-lactamases in *Enterobacteriaceae*: Emerging problems for new beta-lactam antibiotics. *Curr Cline Top Infect Dis.* 16:151-63.
- 26-Villegas M.V, Correa A, Perez F, Miranda M.C, Zuluaga T, Quinn JP. 2004. Prevalence and characterization of extended-spectrum beta- lactamases in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* isolates from Colombian hospitals. *Diagn Microbiol Infect Dis .* 49(3): 217-22.
- 27-Moghaddam MN, Beidokhti MH, Jamehdar SA, Ghahraman M. Genetic properties of blaCTX-M and bla-PER Beta Lactamase genes in clinical isolates of *Enterobacteriaceae* by polymerase chain reaction. *Iran J Basic Med Sci.* 2014;17(5):378.