

## مقاله تحقیقی

### فراوانی ژن های *bla-shv, bla-tem* و *ctx-M* در بین ایزوله های *اشریشیا کلی* یوروپاتوژن مولد آنزیم های بتالاکتاماز با طیف اثر وسیع

علیرضا اقبالی، سحر هنرمند جهرمی\*، فاطمه نوربخش

۱. گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین-پیشوا

\* مسئول مکاتبات: آدرس الکترونیکی: sahar\_hj2@yahoo.com

محل انجام تحقیق: دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین - پیشوا

تاریخ دریافت: ۹۵/۳/۱۵

تاریخ پذیرش: ۹۵/۶/۲۳

## چکیده

عفونت دستگاه ادراری ناشی از باکتری های مولد آنزیم های (ESBL) بتالاکتاماز با طیف اثر وسیع یک مشکل مهم در سراسر جهان است. انواع مختلفی از ESBL در باکتری اشریشیا کلی شناسایی شده است که توسط ژنهای مختلفی کد می شوند. هدف از انجام این مطالعه، بررسی شیوع جدایه های *اشریشیا کلی* یوروپاتوژن مولد ESBL و بررسی فراوانی ژن های *bla-shv, bla-tem* و *ctx-M* است. ۱۰۰ جدایه اشریشیاکلی پس از انجام تست های بیوشیمیایی از نمونه های ادراری بیماران مبتلا به عفونت ادراری مراجعه کننده به بیمارستان میلاد تهران مورد شناسائی قرار گرفت و تست حساسیت ضد میکروبی جدایه ها نسبت به آنتی بیوتیک های سفالوسپورین نسل سوم با استفاده از امتد انتشار در دیسک تعیین شد. آزمون تأییدی برای تشخیص تولید ESBL توسط تست دیسک ترکیبی و بر اساس دستورالعمل CLSI انجام شد. جهت تکثیر ژن های *bla-shv, bla-tem* و *ctx-M*; Multiplex PCR استفاده شد. آنالیز آماری داده ها با نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ و آزمون مربع کای انجام گرفت. فراوانی سویه های *اشریشیا کلی* یوروپاتوژن مولد ESBL ۷۴٪ بود. فراوانی ژنهای *bla-tem* ۸۳ درصد، *ctx-M* ۵۷ درصد و *shv* ۲۳ درصد بود. بیشترین فراوانی ترکیبات ژنی مربوط به ترکیب *ctx-tem* (۳۸ درصد) و کمترین فراوانی مربوط به ترکیب *shv-tem* (۴ درصد) بود. در این مطالعه شیوع آنزیم های ESBL در جدایه های اشریشیا کلی بالا بود. بین فراوانی ژن *tem* و ESBL بودن سویه ها ارتباط معنی داری مشاهده شد. وجود ژن های کد کننده آنزیم های بتالاکتاماز در بین جدایه های باکتریایی می تواند نقش مهمی در گسترش مقاومت ضد میکروبی داشته باشد.

**واژگان کلیدی:** اشریشیاکلی یوروپاتوژن، بتالاکتامازهای با طیف اثر وسیع، ژن های *ctx-M, bla-shv, bla-tem*

## مقدمه

افزایش یافته و مصرف آنها را محدود کرده است (۱۰). بتالاکتامازها آنزیم هایی هستند که حلقه بتالاکتام پنی سیلین ها و سفالوسپورین ها را باز کرده و فعالیت ضد میکروبی آنها را از بین می برند (۱۱). شیوع بالای موتانت های مقاوم آنتی بیوتیکی مولد بتالاکتامازهای با طیف

آنتی بیوتیک های بتالاکتام در میان داروهای ضد میکروبی در جهان رایج ترین آنتی بیوتیک ها هستند. با این حال شیوع مقاومت نسبت به بتالاکتام ها به ویژه توسط آنزیم های بتالاکتاماز در بین پاتوژن های مهم از نظر پزشکی

بررسی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در باکتریهای مولد ESBL می تواند اطلاعات مفیدی درباره اپیدمیولوژی و فاکتورهای خطر مرتبط با عفونت های وابسته به آنها ارائه بدهد. هدف از انجام این تحقیق جدا سازی و شناسایی سویه های *اشریشیا کلی* *یوروپاتوژن* مولد ESBL و تشخیص مولکولی انواع ژنهای کد کننده آنزیم های بتالاکتاماز با طیف گسترده در بین این جدایه ها است.

### مواد و روش ها

#### جمع آوری نمونه ها

این مطالعه مقطعی - توصیفی بر روی ۱۰۰ ایزوله *اشریشیا کلی* جدا شده از نمونه ادرار بیماران مبتلا به عفونت ادراری که به مدت ۶ ماه در سال ۱۳۹۵ به بیمارستان میلاد تهران مراجعه کرده بودند، انجام شد. بیماران بر اساس جنسیت به دو گروه زنان و مردان تقسیم شدند. بر اساس سن بیماران نیز به گروه های سنی کمتر از ۲۰، ۲۰ تا ۴۰، ۴۰ تا ۶۰ و بالای ۶۰ سال تقسیم شدند. ادرار میانی بیماران در ظروف استریل جمع آوری شد. نمونه های ادراری حاوی باکتریوری (بیش از  $10^5$  CFU/ml) به عنوان عفونت ادراری در نظر گرفته شدند. نمونه های ادراری در پلیت های حاوی محیط مک کانکی آگار EMB آگار کشت داده شدند و به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه گذاری شدند. شناسایی جدایه های *اشریشیا کلی* بر اساس انجام تست های بیوشیمیایی مانند کشت در محیط TSI آگار، SIM، سیمون سترات و محیط مایع MRVP (Merck, Germany) انجام گرفت.

#### تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه های

##### *اشریشیا کلی* *یوروپاتوژن*

حساسیت آنتی بیوتیکی ۱۰۰ جدایه باکتریایی با انجام تست آنتی بیوگرام به روش انتشار دیسک بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار (Merck, Germany) بر اساس متد کربی بائر و استاندارد CLSI 2015 تعیین شد. دیسک های آنتی بیوتیکی تهیه شده از شرکت پادتن طب که در این

گسترده (ESBL) در میان باکتریهای گرم منفی انتروباکتریاسه گزارش شده است (۱۲). ESBL گروهی از آنزیم های منتقله به وسیله پلاسمید ها هستند که توانایی هیدرولیز سفالوسپورین های نسل سوم و مونوباکتام ها را دارند و کلونلیک اسید مهارکننده مناسب این خانواده می باشد (۱۳). در سال های اخیر اهمیت عفونت های ناشی از سویه های ESBL به دلیل نقص درمان آنها رو به افزایش است (۱۴). طی سال های ۲۰۰۶ و ۲۰۰۷ میزان شیوع سویه های کلبسیلا پنومونیه و *اشریشیا کلی* مولد آنزیم های بتالاکتاماز با طیف اثر گسترده در سراسر جهان به ترتیب ۵۰ درصد و ۱۵ درصد گزارش شد (۱۵، ۱۶). این ارگانیزم ها عامل تعدادی از عفونت ها شامل عفونت مجاری ادراری (UTI)، سیتی سمی، پنومونی اکتسابی از بیمارستان، آبسه های داخلی، آبسه های مغزی و عفونت های مرتبط با ابزار پزشکی هستند (۱۷). آنتروباکتریاسه معمول ترین پاتوژن های گرم منفی جدا شده از عفونت های بیمارستانی به ویژه عفونت های دستگاه ادراری (UTI) هستند (۱۸). عفونت های ادراری از شایع ترین عفونت های بیمارستانی می باشند و از نظر شیوع دومین نوع عفونت باکتریال پس از عفونت های مجاری تنفسی محسوب می شوند (۱۹). سویه های *اشریشیا کلی* *یوروپاتوژن* (UPEC) به عنوان یکی از عوامل اصلی ایجاد کننده UTI و مسئول ۹۰ درصد از کل موارد عفونت مجاری ادراری باکتریال اکتسابی از جامعه می باشند (۲۰). باکتری های مولد ESBL می توانند مقاومت به سایر آنتی بیوتیک ها مانند کینولون ها، تتراسایکلین ها، کوتریموکسازول و آمینوگلیکوزید ها را نیز کسب کنند و ایشن های درمانی را محدودتر کنند (۲۱). مطالعات نشان داده اغلب آنزیم های بتالاکتاماز با طیف گسترده، موتانت های تمونیرا (TEM) و آنزیم های متغیر سولفیدریل (SHV) و لاکتاماز های نوع سفوتاکسیم (CTX-M) هستند. بیش از ۳۰۰ واریانت مختلف ESBL وجود دارد که بر اساس توالی اسید های آمینه به ۹ خانواده تقسیم می شوند. TEM و SHV مهمترین انواع آنها هستند و نوع CTX-M در برخی از کشورها شایع است (۲۲، ۲۳). تعیین ژن های بتالاکتامازی با استفاده از روش های مولکولی مثل PCR و

<sup>3</sup> uropathogenic *Escherichia coli*

<sup>1</sup> Extended Spectrum Beta-Lactamase

<sup>2</sup> Urinary tract infection

به منظور استخراج DNA همه جدایه های/شریشیا کلی از کیت استخراج DNA باکتری گرم منفی شرکت سینا ژن استفاده شد. کمیت و کیفیت DNA استخراج شده مورد بررسی قرار گرفت. به جهت تکثیر و بررسی فراوانی ژن های *bla-SHV*، *bla-TEM* و *CTX-M* با روش *Multiplex PCR* با استفاده از پرایمرهای اختصاصی که توالی آنها در جدول ۱ ارائه شده است واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۱X بافر PCR (۱۰×) (شرکت سیناکلون)، ۲ میلی مولار MgCl<sub>2</sub>، ۰/۳ میلی مولار dNTP (شرکت سیناکلون)، ۱/۵ واحد آنزیم TagDNA polymerase (شرکت سیناکلون)، ۱۰ پیکومول از هر یک از پرایمرها و ۱۰۰ نانوگرم DNA باکتریایی انجام گرفت. برنامه دمایی و زمانی PCR شامل مرحله واسرشت اولیه ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه، مرحله واسرشت ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۵۵ ثانیه، مرحله اتصال ۶۰ درجه سلسیوس به مدت ۵۵ ثانیه، مرحله بسط ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه در ۳۲ سیکل و مرحله بسط نهایی ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه بود. جهت بررسی محصولات PCR نمونه ها بر روی ژل آگارز ۱ در صد انتقال داده شده و بعد از رنگ آمیزی در دستگاه ژل داگ مورد بررسی قرار گرفت.

تحقیق مورد استفاده قرار گرفتند، عبارت بودند از سفنازیدیم (۳۰ میکروگرم)، سفتریاکسون (۳۰ میکروگرم)، سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرم)، و آزترونام (۳۰ میکروگرم). نتایج به صورت حساس، نیمه حساس و مقاوم با توجه به قطر هاله عدم رشد و هاله رشد اطراف هر یک از دیسک های آنتی بیوتیکی مشخص شد. *Escherichia coli* ATCC25922 به منظور کنترل کیفی مورد استفاده قرار گرفت.

### تایید فنوتیپی بتالاکتاماز با طیف گسترده به روش دیسک ترکیبی

جهت تایید فنوتیپی از روش دیسک ترکیبی سفنازیدیم ۳۰ میکروگرم-کلاولانیک اسید ۳۰/۱۰ میکروگرم و سفوتاکسیم ۳۰ میکروگرم-کلاولانیک اسید ۳۰/۱۰ میکروگرم (پادتن طب) بر اساس استاندارد CLSI 2015 استفاده شد. اگر افزایش قطر هاله مربوط به کلاولانیک نسبت به هر یک از آنتی بیوتیک ها در مقایسه با قطر هاله آنها به تنهایی به میزان حداقل ۵ میلی متر بود تایید کننده وجود ESBL است. سویه *Escherichia coli* ATCC 25922 به عنوان کنترل مثبت انتخاب شدند.

### تکثیر ژن های *bla-SHV*، *bla-TEM* و *ctx-M* با روش Multiplex PCR

جدول ۱ - توالی نوکلئوتیدی پرایمرهای ژن های *bla-SHV*، *bla-TEM* و *ctx-M*.

Primer name	Sequence direction	Amplicon(bp)	References
Bla-SHV.SE	5'-ATGCGTTATATTCGCCTGTG-3'	747	(۲۴)
Bla-SHV.SE	5'-TGCTTTGTTCGGGCCAA-3'	747	(۲۴)
TEM-164.SE	5'-TCGCCGCATACACTATTCTCAGAATG-3'	445	(۲۴)
TEM-165.AS	5'-ACGCTCACCGGCTCCAGATTTAT-3'	445	(۲۴)
CTX-M-U1	5'-ATGTGCAGYACCAGTAARGTKATGGC-3'	593	(۲۴)
CTX-M-U2	5'-TGGGTRAARTARGTSACCAGAAYCAGCG-3'	593	(۲۴)

و تحلیل قرار گرفت. سطح معنا داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

### نتایج

#### فراوانی نمونه ها

### آنالیز آماری

آنالیز آماری داده ها با نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ و با استفاده از آزمون آماری توصیفی تست مربع کای ( $X^2$ ) برای بررسی ارتباط فراوانی جدایه های ESBL/شریشیا کلی و فراوانی ژن های *bla-SHV*، *bla-TEM* و *CTX-M* مورد تجزیه

از بین سویه های /اشریشیا کلی با روش دیسک ترکیبی، ۴۰ درصد سویه ها ESBL مثبت و ۶۰ درصد ESBL منفی گزارش شدند (نمودار ۱).

#### نتایج تکثیر ژن های *bla-SHV*، *bla-TEM* و *ctx-M* در جدایه های اشریشیا کلی

پس از تکثیر ژن های *bla-shv*، *bla-tem* و *bla-ctx* برای همه سویه های اشریشیا کلی، محصول PCR به صورت باندهایی به طول ۷۴۷bp، ۴۴۵bp و ۵۹۳bp مشخص و بر روی ژل آگاروز ۱ درصد مشاهده شد (شکل ۱).

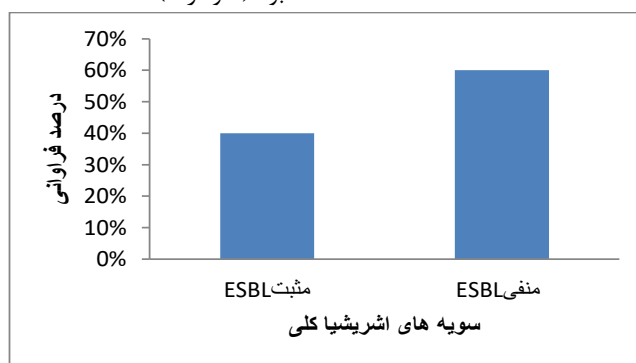
در بین جدایه های اشریشیا کلی، ژن *tem* با ۸۳ درصد بیشترین فراوانی، فراوانی ژن *ctx* ۵۷ درصد و *shv* با ۲۲ درصد کمترین فراوانی را داشت. آنالیز آماری ارتباط معناداری بین فراوانی ژن *tem* و سویه های ESBL نشان داد (۰/۰۰۲  $p$ ). بین فراوانی ژن های *ctx* و *shv* با سویه های ESBL ارتباط معناداری مشاهده نشد. در این مطالعه برخی سویه ها به طور همزمان دارای دو یا سه ژن بودند. در جدایه های اشریشیا کلی بیشترین فراوانی ژنها به صورت ترکیبی مربوط به ژن *tem* (۲۹ درصد) و کمترین فراوانی مربوط به ژن *shv* (۲ درصد) بود. بیشترین ترکیب دو تایی مربوط به ترکیب ژنهای *ctx-tem* (۳۸ درصد)، سپس ترکیب *shv-tem* (۱۲ درصد) و کمترین فراوانی مربوط به ترکیب ژن های *shv-ctx* (۴ درصد) بود. فراوانی ترکیب سه تایی ژن ها (*ctx-tem-shv*) ۴ درصد بود (نمودار ۲).

از ۱۰۰ جدایه /اشریشیا کلی مورد مطالعه، ۸۶ جدایه مربوط به نمونه زنان و ۱۴ جدایه مربوط به نمونه مردان بود. فراوانی سویه های /اشریشیا کلی در زنان تقریباً ۶ برابر بیشتر از مردان بود. ارتباط معناداری بین فراوانی /اشریشیا کلی و نمونه ادراری زنان مشاهده شد ( $p < 0.001$ ). از بین ۸۶ سویه /اشریشیا کلی ایزوله شده از زنان ۴۹ (۵۷ درصد) بالای ۴۰ سال و ۳۷ (۴۳ درصد) پایین ۴۰ سال بودند و از ۱۴ سویه ایزوله شده از مردان ۱۰ (۷۱ درصد) بالای ۴۰ سال و ۴ (۲۹ درصد) پایین ۴۰ سال بودند. اختلاف معناداری بین سن زنان و فراوانی سویه های /اشریشیا کلی مشاهده نشد.

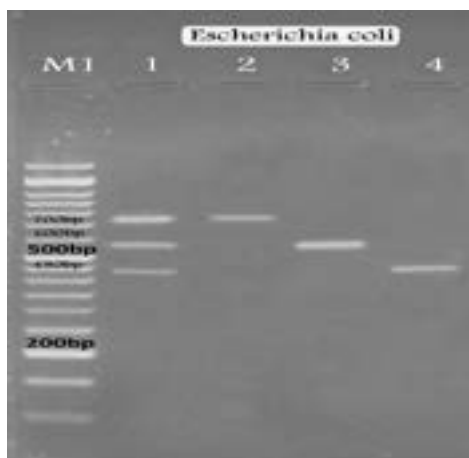
#### نتایج تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه های اشریشیا کلی

سویه هایی که به یکی از آنتی بیوتیک های نسل سوم مقاومت نشان دادند در غربال گری اولیه ESBL انتخاب شدند. میزان مقاومت بدست آمده برای آنتی بیوتیک های سفوتاکسیم (۶۹ درصد)، سفنازیدیم (۴۸ درصد)، آزترونام (۴۵ درصد)، سفتریاکسون (۴۷ درصد) در باکتری اشریشیا کلی بدست آمد.

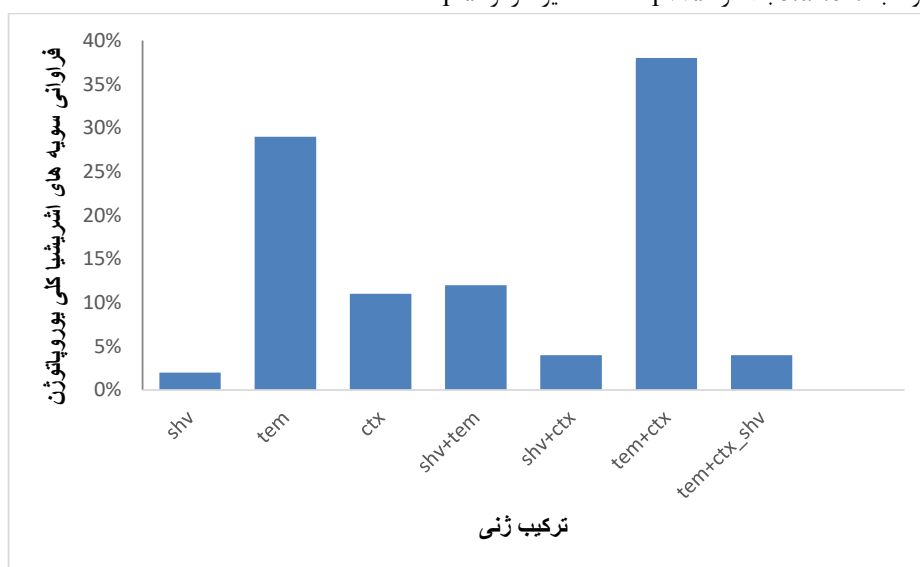
#### نتایج تعیین فراوانی جدایه های اشریشیا کلی دارای بتالاکتاماز با محدوده اثر وسیع



نمودار ۱ - میزان فراوانی جدایه های ESBL مثبت و منفی اشریشیا کلی یورویاتوزن.



شکل ۱ - تصویر ژل الکتروفورز محصولات PCR تکثیر ژنهای *bla-shv*، *bla-tem* و *ctx-m* برای جدایه های اشریشیا کلی : چاهک شماره ۱ سویه کنترل مثبت، چاهک شماره ۲ باند مربوط به *bla-shv* با اندازه ۷۴۷bp، چاهک شماره ۳ باند مربوط به *ctx-m* با اندازه ۹۳bp و چاهک شماره ۴ باند مربوط به *bla-tem* با اندازه ۴۴۵bp. M1. سایز مارکر ۵۰ bp.



نمودار ۲ - فراوانی ژن های *shv*، *tem* و *ctx* به صورت تکی و ترکیبی در جدایه های اشریشیا کلی یورپاتوزن.

گسترده می باشند (۲۶). باکتری های دارای بتالاکتامازهای با طیف اثر گسترده قادر هستند سایر ژن های مقاومت را بدست آورند و در نتیجه مقاومت اضافی به کینولون ها، تتراسایکلین، کوتریموکسازول، تری متوپریم و آمینوگلیکوزید ها پدید می آید و این امر منجر به ایجاد محدودیت های درمانی می شود (۲۷). یکی از مهمترین مشکلات ایجاد شده توسط سویه های ESBL مشارکت آنها در بروز بیماری های مختلفی از جمله عفونت مجاری ادراری و عدم درمان مناسب این عفونت ها با

### بحث

گسترش تولید آنزیم های بتالاکتاماز با طیف اثر گسترده یکی از خطرهای جدی در درمان عفونت های دارای مقاومت چندگانه می باشد که از زمان کشف آن ها در سال ۱۹۸۰ به سرعت در سطح جهان گسترش یافته اند و به عنوان یکی از معضلات بهداشت عمومی خود را نمایان ساخته است (۲۵). از طرفی یکی از علل مهم شکست درمان با سفالوسپورین ها، میکروارگانسیم های تولید کننده بتالاکتاماز با طیف اثر

های/شرشیاکلی یورپاتوزن تولید کننده آنزیم ESBL بترتیب ۸۳ درصد، ۳۰ درصد، ۶۳ درصد گزارش شد. در مطالعه مشابهی که توسط Reynolds در سال ۲۰۰۶ انجام گرفت در بریتانیای کبیر و ایرلند به ترتیب ۸۳ درصد از/شرشیاکلی تولید کننده ESBL بواسطه *ctx-m* بوده و ۷۴ درصد کلپسیلا تولید کننده ESBL نیز بواسطه *ctx-m* بودند (۳۳). همچنین، در مطالعه ای که Pournaras در سال ۲۰۰۷ انجام داد ۷۱/۴۲ درصد از/شرشیاکلی تولید کننده ESBL جدا شده در یونان حامل ژن *ctx-m* بودند (۳۴). Yazdi و همکاران در سال ۲۰۱۰ شیوع ژن *tem* را ۸۷/۱ درصد گزارش کردند (۳۵). Mobayen و همکاران نیز در تبریز فراوانی ژن *tem* را ۸۷/۵ درصد گزارش کردند (۳۶). با توجه به مطالعه دیگری که توسط Bali و همکاران، در سال ۲۰۱۰ انجام شد بتالاکتاماز با طیف گسترده *tem* در ۷۲/۷۲ درصد ایزوله های/شرشیاکلی گزارش شد (۳۷). در حالی که فراوانی بسیار پایین ۹/۹ درصدی برای ژن *ctx* در همان مطالعه اعلام شد (۳۶). طی مطالعه Soltan Dalal و همکاران بر روی ایزوله های/شرشیاکلی، فراوانی ژن *tem* ۵۷/۱۸ درصد گزارش شد (۳۷). Shahcheraghi و همکاران فراوانی ژن *shv* را در ایزوله های/شرشیاکلی ۶ درصد گزارش دادند (۳۸). بیشترین فراوانی ژنها در جدایه های/شرشیاکلی به صورت تکی مربوط به *tem* و کمترین فراوانی برای ژن *shv* بود. بیشترین ترکیب دو تایی مربوط به ژنهای *ctx-tem* (۳۸ درصد) سپس ترکیب *shv-tem* (۱۲ درصد) و کمترین فراوانی مربوط به ترکیب *shv-ctx* (۴ درصد) بود. در مطالعه رویا مرتضوی در سال ۱۳۹۳، ۲۲/۶۴ درصد ایزوله های/شرشیاکلی دارای هر دو ژن *tem-shv* بودند (۷). توزیع فراوانی ژن ها در مطالعه قاسم میراعلمی در سال ۱۳۹۰ در/شرشیاکلی برای ژن *tem* ۴۷/۲۷ درصد و برای ژن *ctx* ۷۴/۵۴ درصد و برای ترکیب ژنی *tem-ctx* ۳۲/۷۲ درصد گزارش شد (۸). در مطالعه حدادی و همکاران سال ۱۳۹۶، فراوانی ترکیب ژنی *shv-tem* در سویه های/شرشیاکلی، ۹/۳۲ درصد بود (۹).

نتایج حاصل از این مطالعه نشان می دهد که شیوع جدایه های/شرشیاکلی یورپاتوزن مولد ESBL در ایران بالا است.

توجه به بروز مقاومت انتی بیوتیکی است و باکتری اشرشیاکلی نقش مهمی در ایجاد این نوع عفونت ها دارد (۲۸). در این مطالعه از ۱۰۰ جدایه/شرشیاکلی از بیماران مبتلا به عفونت ادراری، ۸۶ جدایه از نمونه ادرار زنان و ۱۴ جدایه از نمونه ادراری مردان جدا شده بودند. در مطالعه ای که توسط زهرا بابایی و همکارانش در سال ۱۳۸۹ صورت گرفت، ۲۳ درصد و ۷۷ درصد سویه های/شرشیاکلی جدا شده از بیماران مربوط به نمونه مردان و زنان دارای عفونت ادراری بود (۱). طبق مطالعه معصومه اکبری و همکاران در سال ۱۳۹۳ از تعداد ۴۰۰ پاتوزن جدا شده از نمونه های ادراری، ۶۷ جدایه/شرشیاکلی بوده که در تقسیم بندی بر اساس جنسیت ۳۱۵ مورد (۷۹ درصد) مربوط به نمونه ادرار زنان و ۸۵ مورد (۲۱ درصد) مربوط به نمونه مردان بود (۲). مطالعات نشان داده که میزان شیوع سویه های مولد ESBL در نمونه های جدا شده از کشورهای مختلف و حتی از یک بیمارستان یک کشور با بیمارستان دیگر همان کشور می تواند تفاوت زیادی داشته باشد (۲۹). در مطالعه حاضر، شیوع سویه های/شرشیاکلی یورپاتوزن مولد آنزیم های ESBL ۴۰ درصد گزارش شد. در مطالعه صورت گرفته در ایران توسط کجباف در سال ۱۳۷۵ شیوع سویه های اشرشیاکلی مولد آنزیم های ESBL ۳۹/۶۱ درصد در اهواز (۳) و ۱۱/۵ درصد در خرم آباد توسط حسین زادگان در سال ۱۳۸۶ گزارش شده است (۴). در مطالعه ای توسط میرصالحیان و همکارانش در سال ۱۳۸۶ بر روی نمونه های جدا شده از بیماران بستری در بخش مراقبت های ویژه، ۶۰/۶۰ درصد جدایه های/شرشیاکلی تولید کننده آنزیم ESBL بودند (۵). مسجیدیان و همکاران در سال ۱۳۸۶، ۵۱ درصد جدایه های/شرشیاکلی را تولید کننده ESBL گزارش دادند (۶). شیوع این آنزیم در کشورهای اروپایی برای کلپسیلا ۲۳-۲۵ درصد و برای/شرشیاکلی ۴/۵ درصد توسط Stobberingh در سال ۱۹۹۹ گزارش شده است (۳۰). این میزان در ژاپن بسیار پایین تر می باشد و برای/شرشیاکلی کمتر از ۰/۱ درصد توسط جارلیر در سال ۱۹۹۸ گزارش شده است (۳۱) در یک بررسی سراسری انجام شده در سال ۲۰۰۹ در ژاپن نرخ تشخیص تولید ESBL در سویه های/شرشیاکلی در بیماران بستری در حدود ۵ درصد بوده است (۳۲). در این مطالعه شیوع ژن های *tem, shv, ctx* در میان جدایه

های بتالاکتاماز بین جدایه های باکتری ها امکان انتقال این ژن ها و شیوع بیش از بیش ایزوله های ESBL را افزایش می دهد. در نتیجه ارائه گزارش های متفاوت از نواحی مختلف جغرافیایی بر نقش مطالعات منطقه ای و اختصاصی بروز مقاومت ها از جمله مقاومت وابسته به سویه های ESBL و شیوع آنزیم های بتالاکتامازی امری ضروری است.

#### تقدیر و تشکر

از همکاری صمیمانه جناب آقای امید حسینی کارشناس آزمایشگاه جامع تحقیقاتی دانشگاه شهید بهشتی در انجام این تحقیق که پایان نامه دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی از دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین - پیشوا است، تشکر و قدردانی می شود.

از طرفی میزان فراوانی ژن *shv* همانند سایر مطالعات داخل و خارج از کشور نسبت به ژن های *tem* و *ctx* پایین تر می باشد.

#### نتیجه گیری کلی

میزان بالای مقاومت نسبت به سفالوسپورین های نسل سوم در ایزوله های باکتریایی گرم منفی به ویژه انتروباکتریاسه یک نگرانی جدی است. با ادامه استفاده از سفالوسپورین های نسل سوم شیوع جدایه های مولد آنزیم های بتالاکتاماز با طیف اثر گسترده منجر به سختی درمان بیماریهای ایجاد شده توسط این باکتری ها می شود. بنابراین بایستی در انتخاب آنتی بیوتیک مناسب برای درمان عفونت هایی که مشکوک به ارگانسیم های تولیدکننده بتالاکتاماز هستند دقت نمود. به علاوه شیوع ژن های کد کننده آنزیم

#### منابع مورد استفاده

۱. بابایی کسمائی، ز.، مظفری، ن. ا.، فوهش تهرانی، ه.، آرش کیا، آ.، مهوی، س.، بهرامی، آ.، ۱۳۹۱، تعیین حساسیت دارویی در اشریشیاکلی دارای مقاومت دارویی چندگانه در بیماران سرپایی مبتلا به عفونت ادراری در تهران. مجله میکروب شناسی پزشکی ایران، جلد ۶، شماره ۳: ۳۷-۴۴.
۲. اکبری، م.، امیر مظفری، ن.، پیری دوگانه، ه.، ۱۳۹۳، بررسی فراوانی آنزیم ESBL در انتروباکتریاسه های جدا شده از عونت دستگاه ادراری از بیمارستان امام خمینی (ره) اردبیل مجله علوم پزشکی اردبیل، دوره ۱۴، شماره ۳: ۲۸۵-۲۹۱.
۳. کجیاف، م. ج.، مشهدی زاده، م. ع.، ۱۳۷۵، بررسی وفور بتالاکتاماز در باکتری های گرم مثبت و گرم منفی در اهواز. مجله علوم پزشکی اهواز، شماره ۱۹: ۲۱-۲۴.
۴. حسین زادگان، ح.، حسنی آ.، آزادپور، م.، ۱۳۸۶، شناسایی باسیل های گرم منفی مولد بتالاکتاماز طیف وسیع از باکتری های جدا شده از موارد بالینی. مجله علوم آزمایشگاهی جلد ۲۰، شماره ۲: ۲۳-۲۵.
۵. میرصالحیان، ا.، اکبری نخجوانی، ا.، پیمانی، ا.، جبل عاملی، ف.، میر افشار، م.، حمیدیان، م.، ۱۳۸۶، بررسی فراوانی انتروباکتریاسه تولید کننده بتالاکتامازهای وسیع الطیف در بخش های مراقبت ویژه. مجله دانشکده پزشکی دانشگاه تهران جلد ۶۵، شماره ۱: ۳۳-۳۸.
۶. مسجدیان جزی، م.، والهی، ف.، طالبی، ا.، رستگار لاری، ع.، ۱۳۸۶، بررسی ملکولی مقاومت به آنتی بیوتیک های وسیع الطیف در اشریشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه. مجله میکروب شناسی پزشکی ایران. جلد ۱، شماره ۲: ۲۷-۳۴.
۷. مرتضوی، ر.، خسروانی، ع. م.، نقوی، ن.، ۱۳۹۳، تعیین مولکولی فراوانی ژن های در سویه های اشریشیاکلی مقاوم به آنتی بیوتیک های بتالاکتاماز SHV و TEM. CTX-M جدا شده از عفونت های ادراری بیمارستان های شهر یاسوج جلد ۱۹، شماره ۳: ۲۳۳-۲۴۱.
۸. میر اعلملیف ق.، پرویز، م.، خلج زاده، س.، ۱۳۹۴، بررسی ژنهای بتالاکتاماز طیف گسترده bla ctx-m, bla shv, bla tem در سویه های اشریشیاکلی جدا شده از عفونتهای ادراری و مقاومت آنتی بیوتیکی آنها. مجله علوم پزشکی بابل. جلد ۱۷ شماره ۸: ۱۹-۲۶.
۹. حدادی، ا.، یکه فلاح، ۱۳۹۶، بررسی فراوانی ژن های blaTEM و blaSHV در سویه های اشریشیاکلی مولد بتالاکتامازهای وسیع الطیف جمع آوری شده از شهر کرج. مجله میکروب شناسی پزشکی ایران. جلد ۱۱، شماره ۲: ۷۵-۸۰.

10. Samaha-Kfoury, J. N., Araj, G. F., 2003. Recent development in  $\beta$ -lactamase and extended spectrum  $\beta$ -lactamases. *BMJ* 327: 1209-13.
11. Gava, J., Switzerland, 2001. World Health Organization. Who Global strategy for Contamination of Antimicrobial Resistance. WHO: 1-105.
12. 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-lactamases-producing strains. *Antimicrobial Agent Chemother* 46 (5): 1262-8.
13. Nijssen, S., Florijn, A., Bonten, M. J., Schmitz, F. J., Verhoef, J., Fluit, A.C., 2004. Beta-lactam susceptibilities and prevalence of ESBL-producing isolates among more than 5000 European Enterobacteriaceae isolates. *Int J Antimicrob Agents*. 24: 585-91.
14. Rossi, F., Baquero, F., Hsueh, P. R., Paterson, D. L., Bochicchio, G. V., Snyder, T. A., Satishchandran, V., McCarroll, K., DiNubile, M. J., Chow, J. W., 2006. In vitro susceptibilities of aerobic and facultatively anaerobic Gram-negative bacilli isolated from patients with intra-abdominal infections worldwide: results from SMART (Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends). *J Antimicrob Chemother* 58: 205-210.
15. Reinert, R. R., Low, D. E., Rossi, F., Zhang, X., Watal, C., Dowzicky, M. J., 2007. Antimicrobial susceptibility among organisms from the Asia/Pacific Rim, Europe and Latin and North America collected as part of TEST and the in vitro activity of tigecycline. *J Antimicrob Chemother* 60: 1018-1029.
16. Maina, D., Makau, P., Nyerere, N., Revathi, G., 2013. Antimicrobial resistance patterns in extended-spectrum  $\beta$ -lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates in a private tertiary hospital, Kenya. *Microbiology Discovery* 2052-6180: 1-5
17. Foxman, B., 2002. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity, and economic costs. *Am J Med* 113 (1A): 5S-13S.
18. Stapleton, A. E., 2003. Urinary tract infections in healthy women. *Curr Treat Opt Infect Dis* 5: 43-51.
19. Agrawal, P., Ghosh, A. N., Kumar, S., 2008. Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase among *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates in a tertiary care hospital. *Indian J Path Microbiol* 51(1): 139142.
20. Bradford, P. A., 2001. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev* 14: 933-51.
21. Bonnet, R., 2004. Growing group of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 48 (1): 1-14.
22. Perez, F., Endimiani, A., Hujer, K. M., Bonomo, R. A., 2007. The continuing challenge of ESBLs. *Current Opinion in Pharmacology* 7 (5): 459-69.
23. Monstein, H. J., Ostholm-Balkhed, A., Nilsson, M. V., Nilsson, M., Dornbusch, K., Nilsson, L. E., 2007. APMIS. Multiplex PCR amplification assay for the detection of blaSHV, blaTEM and blaCTX-M genes in Enterobacteriaceae. *APMIS* 115(12): 1400-8.
24. Canton, R., Novais, A., Valverde, A., 2008. Prevalence and spread of extended spectrum  $\beta$ -lactamase producing Enterobacteriaceae in Europe. *Clin Microbiol Infect* 14: 144-153.
25. Bradford, P. A., 2001. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev* 14: 933-51.
26. Paterson, D. L., Bonomo, R. A., 2005. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev* 18: 657-86.
27. Daoud, Z., Afif, C., 2005. *Escherichia coli* isolated from urinary tract infections of Lebanese patients between 2000-2005: Epidemiology and profile of resistance. *Chemotherapy Research and Practice* 11: 1-6.
28. Blomberg, B., Jureen, R., Manji, K. P., Tamim, B. S., Mwakagile, D. S. M., Urasa, W. K., 2005. High rate of fatal cases of pediatric septicemia Caused by gram-negative bacteria with extended-spectrum beta-lactamases in Dar al Salaam, Tanzania. *J Clin Microbiol* 43 (2): 745-9.
29. Stobberingh, E. E., Arends, J., Hoogkampkorstanje, A. A., 1999. Occurrence of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in Dutch hospital. *Infection* 27: 348-354.
30. Jarlier, V., Nicolas, M. H., Fournier, G., 1988. Extended spectrum  $\beta$ -lactamases conferring transferable resistant resistance to newer  $\beta$ -lactam agents in Enterobacteriaceae: Hospital prevalence and susceptibility pattern. *Rev Infect Dis* 10: 867-878.
31. Yamaguchi, K., Ishii, Y., Iwata, M., Watanabe, N., Shinagawa, M., Yasujima, M., Suwabe, A., Kuroda, M., Kaku, M., 2011. Nationwide surveillance of parenteral antibiotics containing meropenem activities against clinically isolated strains in 2009. *Jpn J Antibiot* 64: 53-95.
32. Reynolds, R., Hope, R., Livermore, D. M., 2006. Activity of Doripenem in the context of rising antimicrobial resistance in invasive Enterobacteriaceae in the UK and Ireland. C2-0065. 46th ICAAC, San Francisco.



33. Pournaras, S., 2007. CTX-M-type b-lactamases affect community Escherichia coli treatment, Greece, 6th international Congreence of infectious diseases: 1487.
34. Yazdi, M., Nazemi, A., Inargasi, M., Khataminejad, M. R., Sharifi, S. H., Babai Kochkaksaraei, M., 2010. Prevalence of SHV/CTX-M/TEM (ESBL) Beta-lactamase resistance genes in Escherichia coli isolated from urinary tract infections in Tehran, Iran. Med Lab J 4: 120-4.
35. Mobayyen, H., Nahaie, M. R., Pornour, M., Mobasher, A., Sadeggy, J., 2009. The Prevalence of TEM gene among extended-spectrum beta-lactamases producing Escherichia coli in Imam Reza Hospital in Tabriz, Iran. Iran J Med Microbiol 1: 33-9.
36. Bali, E. B., Sultan, N., 2010. Phenotypic and molecular characterization of SHV, TEM, CTX-M and extended-spectrum-lactamase produced by Escherichia coli, Acinobacter baumannii and Klebsiella isolates in a Turkish hospital. African J Microbiol Res 4 (8): 650-54.
37. Soltan Dallal, M., Molla Aghamirzaei, H., Fallah Mehrabadi, J., Rastegari, L., Sabbaghi, A., Eshraghian, M., 2010. Molecular detection of TEM and AMPC (Dha, mox) broad spectrum b-lactamase in clinical isolates of Escherichia coli. Tehran Uni Med J 68(6): 315-20.
38. Shahcheraghi, F., Nikbin, V., Shorj, F., 2008. PCR detection of PER & VEB & SHV and TEM  $\beta$ -lactamases in multi-drug resistant P. aeruginosa isolated from wound infections in two hospitals of Tehran. Iran J Med Microbiol 1(4): 21-7.