

بررسی شیوع ژن تیپ TEM و مقاومت آنتیبیوتیکی در باکتری‌های اشريشیاکلی و کلبسیلا 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<sup>۱</sup>، رقیه صمدی<sup>۱</sup>، ندا باصری<sup>۱</sup>، رقیه زینال فام<sup>۲</sup>، رویا زینالی<sup>۲</sup>

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

## چکیده

**سابقه و هدف:** تولید آنزیم بتالاکتمازهای وسیع‌الطیف (Extended spectrum beta lactamase, ESBL) امروزه به عنوان 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 ایزووله‌های اشريشیاکلی 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 محفولات ژن TEM از روش PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی آن استفاده شد.

**یافته‌ها:** از میان ۵۰ ایزووله کلبسیلا پنومونیه تعداد ۱۷ ایزووله (۳۴٪) تولیدکننده بتالاکتمازهای وسیع‌الطیف ESBL و دارای ژن بتالاکتماز TEM بودند، مقاومت به سفوتاکسیم ۹۰٪، بیشترین مقدار و کمترین درجه مقاومت مربوط به ایمی پنم ۴٪ گزارش شدند. در میان ۵۰ سوش اشريشیاکلی از نظر مقاومت آنتی‌بیوتیکی، مقاومت به سفکسیم ۹۰٪ بیشترین مقدار و مقاومت به مروپنام ۶٪ کمترین مقدار گزارش شد. در بین سوش‌های اشريشیاکلی ۷ مورد (۱۴٪) تولیدکننده بتالاکتمازهای وسیع‌الطیف ESBL و دارای ژن بتالاکتماز TEM بودند.

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

**کلمات کلیدی:** مقاومت دارویی، بتالاکتماز طیف

نویسنده مسئول: رقیه صمدی

پست الکترونیکی: [Rsamadi88@yahoo.com](mailto:Rsamadi88@yahoo.com)

تاریخ دریافت مقاله: ۹۲/۰۳/۱۶

تاریخ پذیرش مقاله: ۹۲/۰۴/۰۲

## مقدمه

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 سیپروفلوکسازین با تولید آنزیم بتلاکتاماز 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 بتلاکتاماز تیپ TEM در نمونه‌های بالینی اشربیشیا 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 اشربیشیا کلی 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 (30 $\mu\text{g}$ )، سفتازیدیم (30 $\mu\text{g}$ )، سفکسیم (30 $\mu\text{g}$ )، سفتریاکسون (30 $\mu\text{g}$ )، سفالوتین (30 $\mu\text{g}$ )،

## استخراج DNA و انجام PCR

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

از نقطه نظر بالینی بتلاکتام‌ها مهم‌ترین و وسیع‌ترین آنزیم‌های تخریب‌کننده‌ای هستند که به آنتی‌بیوتیک‌های بتلاکتام حمله‌ور می‌شوند این آنزیم‌ها یک اتصال آسیل‌کووالانت را از طریق گروه کربوکسیل حلقه بتلاکتام به وجود می‌آورند که حاصل آن بازشدن حلقه بتلاکتام و غیرفعال شدن دارو می- باشد. نقش اولیه بتلاکتاماز حفاظت باکتری در برابر آنتی- بیوتیک‌های بتلاکتام است، اما در بیوسنتز پپتیدوگلیکان آنها به‌طور موقتی پیوندهای موجود در واسطه‌های ساختمان بتلاکتام را می‌شکند (۶). در باکتری‌های گرم منفی مقاومت در بتلاکتام می‌شکند (۶). در باکتری‌های گرم منفی مقاومت در پلاسمیدی باشد اما در نمونه‌های بالینی معمولاً بروز مقاومت وابسته به ژن پلاسمیدهای R است (۱، ۱۲) بتلاکتامازهای وابسته به پلاسمید در ۳ گروه بزرگ قابل تقسیم هستند: ۱- پنی‌سیلینیازهای وسیع‌الطیف، ۲- اگزاسیلینازهای، ۳- کاربنی- سیلینیازهای. HV-1، TEM-2، TEM-1، مهم‌ترین بتلاکتامازها هستند که محدود‌الطیف اثر وسیعی بر روی پنی- سیلین‌ها و سفالوسپورین‌ها دارند. این بتلاکتامازها بر روی پلاسمیدها حمل می‌شوند (۱۷، ۱۲). امروزه تعداد ارگانیسم‌هایی که قادر به تولید این آنزیم‌ها هستند سبب افزایش شیوع عفونتهای بیمارستانی در سراسر دنیا شده است (۶). اشربیشیا کلی و کلبسیلا پنومونیه از باکتری‌های خانواده آنتروباکتریاسه هستند که توانایی تولید آنزیم‌های ESBL را دارند و عامل بسیاری از عفونتهای بیمارستانی مثل عفونت‌های ادراری، عفونتهای دستگاه تنفسی و سپسیس می‌باشند (۱۹، ۲۶). بتلاکتاماز TEM، اولین بتلاکتامازی بود که به- وسیله پلاسمید در آنتروباکتریاسه‌ها کد شد ولی سایر باکتری- ها از جمله پسودوموناس آئروژینوزا، ویبریوکلراو نیز سویه‌های هموفیلوس‌ها و نایسیریاها نیز قادر به تولید آن می‌باشند (۱۰). بتلاکتامازهای وسیع‌الطیف عمدها در دو جنس کلبسیلا و اشربیشیا تولید می‌شوند و سایر جنس‌های باکتری‌های روده‌ای

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 PCR و انجام DNA

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 بتالاکتمازی TEM با شرایط مندرج در جدول ۲ انجام شد (۵).

هم‌چنین از سویه‌های استاندارد E.coli ATCC 25922 و Klebsiella pneumonia ATTC 13583 به عنوان کنترل منفی و به عنوان کنترل مثبت ژن TEM استفاده گردید. از ژن آگاروز SMO323 ۱۰۰bp (Ladder Fermantase) و مارکر (۱۱٪) برای الکتروفورز محصولات PCR استفاده شد.

استفاده قرار گرفتند به شرح جدول ۱ بود، سپس تست PCR جهت شناسایی ژن‌های بتالاکتمازی TEM با شرایط مندرج در جدول ۲ انجام شد (۵).

آمپی‌سیلین ( $30 \mu\text{g}$ )، کوتريماکسازول ( $25 \mu\text{g}$ )، پیپراسیلین ( $100 \mu\text{g}$ )، ایمی‌پنم ( $10 \mu\text{g}$ )، مرپونم ( $10 \mu\text{g}$ ) 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/سولبیاکتام به همراه سفتازیدیم، پیپراسیلین، آمپی-سیلین که محصول شرکت پادتن طب ایران بودند به کار گرفته شدند.

### جدول ۱: مشخصات پرایمرهای مورد استفاده جهت انجام PCR

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

### جدول ۲: شرایط مورد استفاده در PCR

| مراحل آزمایش       | درجه حرارت | زمان     |
|--------------------|------------|----------|
| دنا توراسیون اولیه | ۹۴         | ۴ دقیقه  |
| دنا توراسیون       | ۹۴         | ۴ دقیقه  |
| اتصال پرایمر       | ۵۳         | ۴۵ ثانیه |
| طويل سازی          | ۷۲         | ۱ دقیقه  |
| طويل سازی نهايی    | ۷۲         | ۱۰ دقیقه |
| تعداد سیکل ها      | ۳۵         |          |

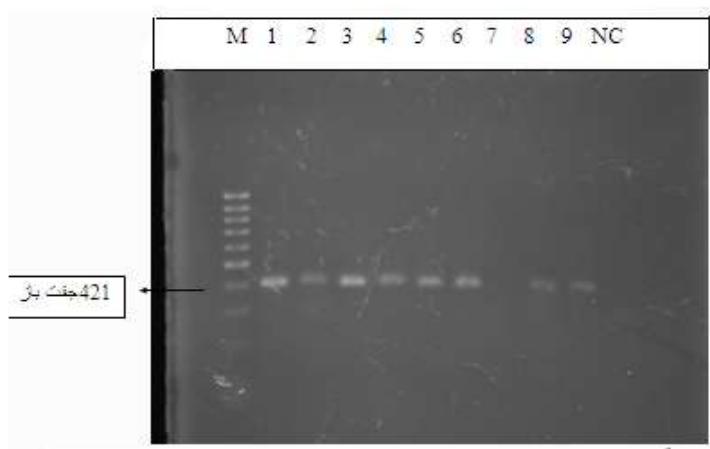
### جدول شماره ۳: الگوهای حساسیت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های اشريشیا کلی و کلبسیلا پنومونیه (%)

| ایزوله        | نوع مقاومت آمپی سیلین ایمی بنم پیپراسیلین سفکسیم سفتازیدیم سفتراکسیم کوتیریماکسازول مروبنم | اشriشیا کلی ۱. حساس | اشriشیا کلی ۲. بینایینی | اشriشیا کلی ۳. مقاوم | کلبسیلا پنومونیه ۱. حساس | کلبسیلا پنومونیه ۲. بینایینی | کلبسیلا پنومونیه ۳. مقاوم |
|---------------|--|---------------------|-------------------------|----------------------|--------------------------|------------------------------|---------------------------|
| ۹۴            | ۳۸   | ۲۶                  | ۱۶                      | ۵۸                   | ۴۲                       | ۱۰                           | ۴۲                        |
| ۰             | ۶  | ۲                   | ۵۶                      | ۶                    | ۶                        | ۰                            | ۴                         |
| ۶             | ۵۶   | ۷۲                  | ۲۸                      | ۳۶                   | ۵۲                       | ۹۰                           | ۵۸                        |
| ۶             | ۱۲   | ۱۰                  | ۳۲                      | ۷۲                   | ۷۴                       | ۴۴                           | ۳۶                        |
| ۹۴            | ۱۰   | ۳۲                  | ۷۲                      | ۷۴                   | ۴۴                       | ۹۶                           | ۱۲                        |
| ۰             | ۰  | ۰                   | ۰                       | ۰                    | ۰                        | ۰                            | ۰                         |
| ۶             | ۸۸   | ۹۰                  | ۶۸                      | ۲۸                   | ۲۶                       | ۶۶                           | ۶۴                        |
| ۶             | ۸۸   | ۹۰                  | ۶۸                      | ۲۸                   | ۲۶                       | ۶۶                           | ۶۴                        |
| ۸۱/۹۵ - ۹۲/۶۵ | ۸۲/۶۸ - ۹۲/۶۲  | ۸۲/۸۸ - ۹۳/۵۹       |                         |                      |                          |                              | افزایش هاله               |
| ۱۸/۰۵ - ۷/۳۵  | ۱۷/۳۲ - ۷/۳۸   | ۱۷/۱۲ - ۶/۴۱        |                         |                      |                          |                              | عدم افزایش هاله           |

### جدول ۴: نتایج تست تأییدی در ایزوله‌های اشريشیا کلی و کلبسیلا پنومونیه (%)

|                               |                               |                               |                      |
|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|----------------------|
| آمپی سیلین/ تازوباکترام       | پیپراسیلین/ کلاولانیک اسید    | سفتاژیدیم/ کلاولانیک اسید     | تغییرات هاله عدم رشد |
| کلبسیلا پنومونیه- اشريشیا کلی | کلبسیلا پنومونیه- اشريشیا کلی | کلبسیلا پنومونیه- اشريشیا کلی |                      |

|               |               |               |                 |
|---------------|---------------|---------------|-----------------|
| ۸۱/۹۵ - ۹۲/۶۵ | ۸۲/۶۸ - ۹۲/۶۲ | ۸۲/۸۸ - ۹۳/۵۹ | افزایش هاله     |
| ۱۸/۰۵ - ۷/۳۵  | ۱۷/۳۲ - ۷/۳۸  | ۱۷/۱۲ - ۶/۴۱  | عدم افزایش هاله |



شکل ۱: نمایش ایزوله‌های دارای ژن (TEM bp ۲۱) اشريشیا کلی

M : مارکر-کنترل مثبت ژن TEM (Klebsiella pneumonia ATCC 13583)

۸ و ۲-۶: ایزوله‌های دارای ژن TEM

(E.coli ATCC 25922: کنترل منفی NC)

## یافته‌ها

باشند برای افراد جامعه یک تهدید به شمار می‌آید. با توجه به میزان بالای مقاومت چند داروئی، باید به این نکته اشاره نمود که بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف اغلب پلاسمیدی می‌باشد و از آنجایی که این پلاسمیدها، به راحتی در میان انواع مختلف از باکتری‌های خانواده آنتروباکتریا سه انتقال می‌یابند، تجمع ژن‌های مقاوم منجر به ایجاد سویه‌هایی با مقاومت چند داروئی می‌گردد (۱۴). پس بی دلیل نیست که امروزه ظهر ESBL در سرتاسر جهان یک مسئله حائز اهمیت محسوب می‌شود. در مطالعه حاضر که بر روی ۱۰۰ نمونه باکتری جدا شده‌اند و متعلق به خانواده آنتروباکتریا سه 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 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 اشريشیا کلی (۱۴٪) و کلبسیلا پنومونیه (۳۴٪) بود که کمی کمتر از شایع‌ترین نقاط کنونی سوش‌های کلبسیلا پنومونیه یعنی آمریکای لاتین که (۴٪ 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 اشريشیا کلی به ترتیب ۵۶٪ 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 اشريشیا 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

در بین ۵۰ ایزوله کلبسیلا پنومونیه به دست آمده ۴۵ ایزوله (۹۰٪) مقاوم به سفوتاکسیم، ۴۴ ایزوله (۸۸٪) مقاوم به آمپی‌سیلین و کوتربیماکسازول، 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 مروپن، ۲ ایزوله (۴٪) مقاوم به ایمی‌پن بودند. تعداد ۲۱ ایزوله (۴۲٪) مربوط به نمونه‌های ادراری، ۱۰ ایزوله (۲۰٪) متعلق به کشت خون، ۱۵ ایزوله (۳۰٪) مربوط به نمونه‌های تنفسی و ۱۷ 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 اشريشیا کلی ۴۵ ایزوله (۹۰٪) مقاوم به سفوکسیم، ۳۶ ایزوله (۷۲٪) مقاوم به سفوتاکسیم و آمپی‌سیلین، ۲۹ ایزوله (۵۸٪) مقاوم به پیپراسیلین، ۲۸ ایزوله (۵۶٪) مقاوم به کوتربیماکسازول، ۲۶ ایزوله (۵۲٪) مقاوم به سفتازیدیم، ۱۸ ایزوله (۳۶٪) مقاوم به سفتریاکسون، ۱۴ ایزوله (۲۸٪) مقاوم به سفالوتین، ۵ ایزوله (۱۰٪) مقاوم به ایمی‌پن، ۳ ایزوله (۶٪) مقاوم به مروپن 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 آنتروباکتریا سه که در طبیعت به میزان زیاد گسترده می‌-

اختلاف معنی‌داری به دست نیامد (۲۲). بنابراین نتایج به- دست آمده از این روش تحقیق دارای ارزش و اعتبار می- باشد. در مطالعه حاضر ارزیابی نتایج PCR نمونه‌ها نشان می‌دهد که ۳۴٪ از نمونه‌های کلبسیلا پنومونیه واجد ژنوتیپ TEM و ۱۴٪ از نمونه‌های اشريشیاکلی واجد ژنوتیپ TEM بودند که در مجموع ۴۸٪ کل نمونه‌ها دارای ژن TEM تشخیص داده شده‌اند. بیشترین فراوانی سویه‌های مولد<sub>s</sub> ESBL در ایزوله‌های اشريشیاکلی و کلبسیلا 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 سوبی با افزایش مقاومت دارویی و فرایند کنزوگاسیون که در انتقال ژن‌های بتالاکتمامزهای پلاسمیدی نقش اساسی دارد، به رشد فزاینده مقاومت‌های دارویی می‌انجامد از سوبی دیگر در انتقال مقاومت بین سویه‌های بیمارستانی و جامعه دخیل بوده است. ظهور مقاومت آنتی‌بیوتیکی سالانه هزینه‌های گرافی به سیستم‌های بهداشتی کشورها تحمیل می‌کنند که علاوه بر مصرف ناجای 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 برابر عوامل ضد میکروبی برای درمان تجربی و انتخاب داروی مناسب مفید است. باکتری اشريشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه به عنوان پاتوژن‌های فرست طلب 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 آنتی‌بیوتیک‌های مختلف، تعیین دقیق تیپ‌های مختلف آنزیم TEM و سایر آنزیم‌های ESBL با روش‌های مولکولی دیگر

نمونه‌ها مثل ICU و کشور مورد مطالعه باشد (۲۱). زمان بستری شدن طولانی، مصرف زیاد آنتی‌بیوتیک (خصوصاً سفتازیدیم) بستری شدن در بخش ICU و استفاده از سوندهای اداری جزء فاکتورهای مستعد کننده جهت تولید ESBL<sub>s</sub> می‌باشد. سوش‌های تولید کننده ESBL<sub>s</sub> معمولاً سوش‌هایی با مقاومت چندگانه هستند. ESBL مولکول‌های بتالاکتمامز کلاس A یا D می‌باشند که قادر به هیدرولیز ایمینوسفالوپیورین در اندازه‌ای برابر با ۱۰ درصد بیشتر از بنزیل پنی‌سیلین هستند (۴، ۱۳). شیوع بالای مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌هایی مثل سفوتاکسیم (۹۰٪)، سفکسیم (۶۶٪) و کوتیریماکسازول و آمپی‌سیلین (۸۸٪) در سوش‌های کلبسیلا پنومونیه و سفکسیم (۹۰٪)، سفوتاکسیم و آمپی‌سیلین (۷۲٪) در سوش‌های اشريشیاکلی در مطالعه ما یک تهدید بزرگ می‌باشد. یکی از مهم‌ترین راه‌کارهای موفق در غلبه بر مقاومت بتالاکتمامزهای استفاده از ممانعت کننده‌های آن است. این مکانیسم بر اساس فعالیت ممانعت کننده‌گی توسط اتصالات کوالانت به سایت فعال بتالاکتمامز کلاس A صورت می‌پذیرد. تازو باکتم، سولباکتم و کلاولانیک اسید ممانعت کننده‌های بتالاکتمامز رایج مورد استفاده در بررسی بالینی می‌باشند. به علاوه بزرگ شدن سایت فعال که منجر به افزایش فعالیت علیه سفالوپیورین‌های وسیع‌الطیف می‌شود، ممکن است به افزایش حساسیت ESBL‌ها به بازدارنده‌های بتالاکتمامز منجر شود. در این مطالعه از ترکیب سولباکتم/آمپی-سیلین، پیپراسیلین/تازو باکتم و سفتازیدیم/کلاولانیک اسید استفاده شد و این بدین معنی است که درمان با آنتی‌بیوتیک‌هایی با مقاومت بالا مثل آمپی‌سیلین و جنتامایسین و سفالوپیورین‌های نسل سوم به تنها یی 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، vitek MIC و ... نیز در مطالعات synevgy، double-disk مختلف مورد بررسی و مقایسه قرار گرفته‌اند و بین آن‌ها

آمپیسیلین/سولباقدام در ایزوله‌های اشريشیا کلی) در حال افزایش است که تأثیر بالینی این داروها را به خطر انداخته است. بنابراین با توجه به ترشح آنزیم‌های بتالاکتماز در باکتری‌های مهم پزشکی جهت پیشگیری از انتشار بیشتر این مقاومت‌های داروبی، تجویز آنتی‌بیوتیک‌های مناسب بر اساس نتایج دقیق تست حساسیت توصیه می‌گردد (۲۰).

## سپاسگزاری

در پایان، از سرکار خانم دکتر گیتا اسلامی به‌خاطر راهنماییها و کمک‌های فراوان در تألیف این مقاله کمال تشکر را داریم.

مانند PCR-RFLP, REP-PCR و تعیین توالی این ژن‌ها را گوشزد می‌نمایید. با در نظر گرفتن این امر که آنتی-بیوتیک‌های بتالاکتماز 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 اشريشیا کلی و مهارکنندگان بتالاکتماز (۵۹٪/۹۳ و ۶۲٪/۹۲ و ۶۵٪/۹۲) به ترتیب در برابر سفتازیدیم/کلاولانیک اسید، پیپراسیلین/تازوپاکدام و آمپیسیلین/سولباقدام در ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه و همچنین به ترتیب ۸۸٪/۸۲٪ و ۶۸٪/۸۲٪ و ۹۵٪/۹۱٪ نسبت به سفتازیدیم/کلاولانیک اسید، پیپراسیلین/تازوپاکدام و

## 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. 15<sup>th</sup> 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 potentiation 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, 20<sup>th</sup> 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 I, 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, 5<sup>th</sup> 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.

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. Riyahizamani F, Meshkat Z, Naderi M. The prevalence of TEM and SHV gene among ESBL producing Ecoli and Klebsiella pneumoniae. 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 Escherichia 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 Enterobacteriaceae 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 pneumoniae. 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 pneumoniae and Escherichia coli in Japan. FEMS, 2009; 45(5):210.218.