Downloaded from jarums.arums.ac.ir at 21:34 IRST on Saturday September 22nd 2018

Journal of Ardabil University of Medical Sciences

Vol.15, No.3, Autumn 2015, Pages 311- 319

Prevalence of SHV-1 Type Extended- Spectrum β-Lactamases in *Enterobacteriaceae* Isolated from Urinary Samples in Ardabil, Iran

Farid S[1], Peeri Dogaheh H[2*], Ghiami Rad M[1]

1. Department of Microbiology, School of Basic Sciences, Ahar branch, Islamic Azad University, Ahar, Iran
2. Department of Microbiology, school of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran
**** Corresponding author.*** Tel:+984533522391 Fax: +984533522086 E-mail:h.Peeridogaheh@ arums.ac.ir

Received: Jan 15, 2015 Accepted: Jun 29, 2015

ABSTRACT

Background & objectives: Drug resistance is one of the most problems in controlling microbial infections which assumes to be ever-increasing problem all through the world. Production of extended-spectrum β-lactamases enzyme (ESBLS) can cause a resistance to antibiotics of gram negative bacteria. The main purpose of this study was to determine antibiotic sensitivity patterns and SHV-1 genes frequency in collected urinary samples from hospitalized patients in Ardebil.

Methods: 400 isolated *Enterobacteriaceae* from urinary samples were recognized using an ordinary biochemical method. Antibiotic sensitivity test was conducted by Kirby and Bauer. The combined disk method was also utilized as a confirmatory test. The results were compared to clinical and laboratory standards institute (CLSI) standards. Finally, ESBL positive isolates were investigated by PCR method regarding the SHV-1 gene.

Results: From the total of 400 urinary isolates Enterobacteriaseae resistance to Ampicilin, Nalidixicacid, Co-trimoxazole, Cefotaxime, Ceftazidime, Ceftriaxone, Ciprofloxacin Ceftizoxime, Cefixime, Gentamycin, Imipenem were 82.5, 62.3, 67, 36, 49.5, 50.3, 52, 36, 41, 24.8 and 7.7 percents, respectively. 150 isolates (37.5%) were positive ESBL, and among all, 28 isolates (18.7%) contained SHV-1 gene.

Conclusion: According to obtained results from the study, regarding high percentage of resistance to antibiotics and high reduction of $ESBL_S$ in bacteria from who suffered from urinary infections, taking some logical steps for prevention seems to be essential.

Keywords: *Enterobacteriaceae*; Extended-Spectrum β-Lactamases ($ESBL_S$); SHV-1

Downloaded from jarums.arums.ac.ir at 21:34 IRST on Saturday September 22nd 2018

بررسی فراوانی ژن‌های بتالاکتاماز وسیع‌الطیف نوع SHV-1 در انتروباکتریاسه‌های جدا شده از نمونه‌های ادراری در بیماران مراجعه کننده به بیمارستان‌های شهر اردبیل

سمیه فرید[1]، هادی پیری دوگاهه[2]، مهدی قیامی راد[1]*

۱. گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر، اهر، ایران

۲. گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

* نویسنده مسئول. تلفن : ۰٤۵۳۳۵۲۲۳۹۱ فاکس: ۰٤۵۳۳۵۲۲۰۸۸ پست الکترونیک: h.peeridogaheh@arums.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: یکی از مشکلات کنترل عفونت‌های میکروبی، بروز مقاومت دارویی است که یک مشکل رو به رشد در سراسر جهان می‌باشد. تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع الطیف (ESBLs) می‌تواند سبب ایجاد مقاومت به آنتی بیوتیک‌ها در باکتری‌های گرم منفی گردد. هدف از این مطالعه، تعیین الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی و فراوانی ژن SHV-1 در نمونه‌های ادرار جمع آوری شده از بیماران بستری و سرپایی بیمارستان‌های شهر اردبیل بود.

روش کار: تعداد ٤۰۰ سویه انتروباکتریاسه جدا شده از نمونه‌های ادراری وارد مطالعه شدند. همه نمونه ها با روش معمول بیوشیمیایی مورد شناسایی قرار گرفتند. تست حساسیت آنتی بیوتیکی با روش کربی- بائر انجام شد. از روش دیسک ترکیبی جهت انجام تست تأییدی استفاده شد. نتایج با استانداردهای CLSI مقایسه شد. در نهایت ایزوله‌های ESBL مثبت، توسط روش PCR از نظر ژن SHV-1 بررسی شدند.

یافته‌ها: از تعداد ٤۰۰ ایزوله ادراری انتروباکتریاسه، مقاومت به آمپی سیلین، نالیدیکسیک اسید، کوتری موکسازول، سفوتاکسیم، سفتازیدیم، سفتریاکسون، سیپروفلوکساسین، سفتیزوکسیم، سفکسیم، جنتامایسین، ایمیپنم به ترتیب برابر ۸۲/۵، ۶۲/۳، ۶۷، ۳۶، ٤۹/۵، ۵۰/۳، ۵۲، ۳۶، ٤۱، ۲٤/۸، ۷/۷ درصد بودند. ۱۵۰ ایزوله (۳۷/۵ ٪) ESBL مثبت بودند و از بین آنها ۲۸ ایزوله (۱۸/۷٪) حاوی ژن SHV-1 بودند.

نتیجه گیری: بر اساس نتایج به دست آمده از این مطالعه، با توجه به درصد بالای مقاومت به آنتی بیوتیک‌ها و همچنین به علت بالا بودن تولید آنزیم بتالاکتاماز وسیع الطیف در باکتری‌های جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری، اتخاذ تدابیر لازم در منطقه ضروری می‌باشد.

کلمات کلیدی: انتروباکتریاسه، بتالاکتامازهای وسیع الطیف، SHV-1

دریافت: ۱۳۹۳/۱۰/۲۵ **پذیرش:** ۱۳۹٤/٤/۸

مقدمه

میزان مقاومت به عوامل ضد میکروبی به طور گسترده و جهانی در حال افزایش می‌باشد. یکی از مشکل‌سازترین مکانیسم‌های مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها در رابطه با بتالاکتامازها می‌باشد. این آنزیم‌ها مهمترین و وسیع‌ترین آنزیم‌های تخریب‌کننده‌ای هستند که توانایی هیدرولیز آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام را دارند [۱]. بتالاکتامازها در یک اتصال آسیل کووالانت را از طریق گروه کربوکسیل حلقه بتالاکتام به وجود می‌آورند که حاصل آن بازشدن حلقه بتالاکتام و غیرفعال‌شدن دارو می‌باشد [۲]. با مصرف گسترده و روز افزون آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله سفالوسپورین‌ها، دسته دیگری از بتالاکتامازها به وجود می‌آیند که در مقایسه با بتالاکتامازهای اولیه طیف فعالیت گسترده‌تری دارند. این آنزیم‌ها به نام بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف

Downloaded from jarums.arums.ac.ir at 21:34 IRST on Saturday September 22nd 2018

(ESBLs)[1] نامگذاری می‌شوند [۳]. اولین ایزوله تولیدکننده ESBL در سال ۱۹۸۳ در آلمان گزارش گردید [۵،٤]. ESBL ها شامل تعدادی آنزیم‌های موتاسیون یافته هستند که اجازه هیدرولیز آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام وسیع‌الطیف نسل سفالوسپورین‌ها (سفتازیدیم، سفوتاکسیم) و مونوباکتامها (آزترئونام) را می‌دهند. این آنزیم‌ها جزء کلاس A از بتا لاکتامازها طبقه‌بندی می‌شوند [۶].ESBLها به طور عمده در گونه‌های *کلبسیلا پنومونیه* و *اشریشیا کلی* یافت می‌شوند، ولی در گونه‌های دیگر انتروباکتریاسه نیز وجود دارند. بتالاکتاماز SHV-1 یکی از تیپ‌های ژن SHV و شایع‌ترین فرم بتالاکتاماز در ایزوله‌های بالینی انتروباکتریاسه‌ها به خصوص *کلبسیلا پنومونیه* می‌باشدکه برای نخستین بار توسط شخصی به نام پیتون[2] در سال ۱۹۷۲ کشف شد و PIT-2 نام گرفت. این آنزیم با توجه به طبقه‌بندی بوش و جاکوبی[3] جزء کلاس A، گروه 2b بتالاکتامازها طبقه‌بندی می‌شود [۹،۸،۷،۶]. امروزه پاتوژن‌های تولیدکننده ESBL عامل اصلی عفونت‌های بیمارستانی همانند عفونت ادراری، عفونت‌های وابسته به کاترها، مننژیت نوزادی، عفونت‌های دستگاه تنفسی و سپسیس بوده و به سرعت در حال افزایش هستند [۱۰].

با توجه به اینکه الگوی مناسبی از مقاومت سویه‌های باکتریایی مولد عفونت‌های ادراری با مکانیسم ESBLs در شهر اردبیل در دسترس نبود، بنابراین در این مطالعه محققین بر آن شدند تا فراوانی ژن بتالاکتاماز SHV-1 در انتروباکتریاسه‌های تولیدکننده بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف در شهر اردبیل را مورد بررسی قرار دهند.

روش کار

در این مطالعه توصیفی- مقطعی، تعداد ٤۰۰ سویه انتروباکتریاسه جدا شده از نمونه‌های ادرار از بیماران بستری و سرپایی بیماران مبتلا به عفونت‌های ادراری از بیمارستان‌های اردبیل در یک دوره شش ماهه به صورت تصادفی جمع‌آوری شدند. نمونه‌های ادراری تهیه شده از بیماران، بر روی دو محیط کشت بلادآگار و EMB آگار کشت داده شده و به مدت ۲٤ ساعت در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. کلنی‌هایی که روی هر دو محیط کشت رشد کرده بودند، به عنوان باکتری گرم منفی مورد توجه قرار گرفتند. ایزوله‌ها با انجام تست‌های بیوشیمیایی استاندارد، تعیین هویت شدند [۱۱]. تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی به وسیله روش انتشار دیسک[4] (کربی بائر)[5] انجام شد [۱۲]. از سوسپانسیون باکتریایی ۰/۵ مک فارلند به کمک سوآپ استریل بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شد. سپس دیسک‌های آنتی‌بیوتیک مورد نظر به کمک پنس استریل روی محیط کشت مولر هینتون قرار داده شده و بعد در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲٤ ساعت انکوبه شدند. بعد از انکوباسیون هاله عدم رشد هر کدام از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی بکمک خط کش، بر حسب میلی متر (mm) اندازه‌گیری شدند و نتایج این آزمایش به کمک قطر هاله عدم رشد مشخص شده توسط CLSI[6] تفسیر شد.

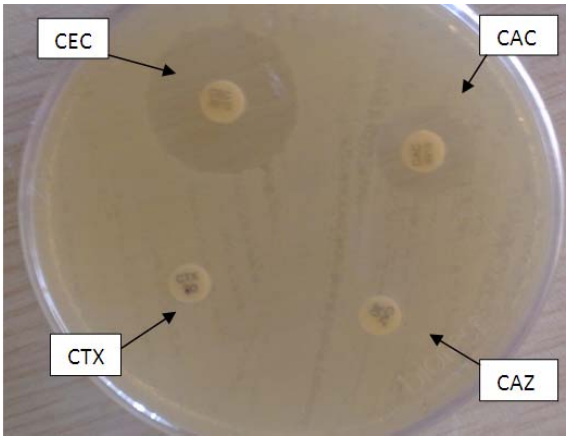
دیسک‌های مورد استفاده شامل: سفوتاکسیم (۳۰µg)، سفتازیدیم (۳۰µg)، ایمی پنم (۱۰µg)، آمپی‌سیلین (۱۰ µg)، نالیدیکسیک اسید (۳۰µg)، کوتری‌موکسازول (۲۵µg)، سفکسیم (۵µg)، جنتامایسین (۱۰µg)، سیپروفلوکساسین (۵µg)،

[1] Extended Spectrum Beta-Lactamases
[2] Piton
[3] Bush & Jacoby
[4] Disk Diffusion
[5] Kirby & Bauer
[6] Clinical and Laboratory standards Institute

Downloaded from jarums.arums.ac.ir at 21:34 IRST on Saturday September 22nd 2018

سفتریاکسون (۳۰µg)، سفتیزوکسیم (۳۰µg) بودند. همه دیسک‌ها ساخت شرکت Himedia بودند.

برای شناسایی ایزوله‌های تولید کننده ESBL، از تست تأییدی (دیسک ترکیبی[1]) طبق معیار CLSI استفاده شد [۱۳]. دیسک‌های مورد آزمایش سفتازیدیم (CAZ:۳۰µg) و سفوتاکسیم (CTX:۳۰µg) به همراه سفتازیدیم/ کلاولانیک اسید (CAC:۳۰/۱۰µg) و سفوتاکسیم کلاولانیک اسید (CEC: ۳۰/۱۰µg) ساخت شرکت Himedia بودند. از سوسپانسیون باکتریایی ۰/۵ مک فارلند به کمک سوآپ استریل بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شد. دیسک‌ها با فاصله ۲۰mm مرکز به مرکز قرار داده شدند. بعد از انکوباسیون به مدت ۲٤ ساعت در ۳۷°C، تولید سویه‌های ESBL طبق شکل ۱، از طریق افزایش قطرهاله به اندازه ۵ mm یا بیشتر در اطراف دیسک سفتازیدیم/کلاولانیک اسید و یا سفوتاکسیم/کلاولانیک اسید مشخص شدند.



شکل ۱. نتایج تست تأییدی بر روی محیط مولرهینتون آگار

برای استخراج DNA پلاسمیدی از کیت استخراج پلاسمید (سیناژن: ایران) استفاده شد [۱٤]. در ایزوله‌هایی که از نظر تست تأییدی، ESBL مثبت شدند، با استفاده از پرایمر اختصاصی (سینا ژن: ایران) طبق جدول ۱، از نظر حضور ژن SHV-1 مورد بررسی قرار گرفتند.

[1] Combined Disk

واکنش PCR برای ژن SHV-1 در حجم نهایی ۲۵µl شامل: $MgCl_2$ ۰/۸µl، DNTP ۰/۵µl، Buffer(10x) ۲/۵ µl، H_2O ۱۷µl، پرایمر Forward ۰/۸ µl، پرایمر Reverse ۰/۸µl، Polymerase Tag DNA ۰/۲µl (سیناژن: ایران) و DNA ۲/۵µl استخراج شده، تهیه و تحت شرایط دمایی و زمانی زیر انجام شد. دمای دناتوراسیون اولیه ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ٤ دقیقه، ۳۵ سیکل حرارتی شامل دمای دناتوراسیون ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، دمای اتصال پرایمر ۵۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، دمای تکثیر ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و در پایان دمای تکثیر نهائی ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. محصولات PCR از نظر حضور ژن مورد نظر با انجام الکتروفورز به روی ژل آگارز ۱٪، و پس از رنگ‌آمیزی با DNA Safe Stain، بررسی شدند. در این آزمون از سویه استاندارد *Klebsiella pneumonia* ATCC 700603 (انستیتو پاستور ایران) به عنوان سویه کنترل مثبت و از آب مقطر به عنوان کنترل منفی استفاده شد. الکتروفورز محصولات PCR در ژل آگارز ۱٪ در ولتاژ ۱۰۰ انجام گرفت و سپس نتایج توسط دستگاه ژل داکیومنت با نور UV مشاهده شدند [۱۶].

یافته‌ها

از تعداد کل ٤۰۰ باکتری شایع‌ترین نوع، *اشریشیا کلی* با ۲۷۷ مورد (۶۹/۳٪) ودر رتبه بعدی کلبسیلا با ۶۰ مورد (۱۵/۱٪) و کمترین میزان متعلق به *سراشیا مارسسنس* با ۳ مورد (۰/۸٪) بود. در جدول ۲ تعداد و درصد تمام عوامل باکتریایی جداسازی شده آورده شده است. در توزیع الگوی مقاومتی، بیشترین میزان متعلق به آمپی سیلین با ۳۳۰ مورد (۸۲/۵٪) و بیشترین حساسیت با ۲۹۸ مورد (۷٤/۵٪) مربوط به ایمی پنم بود. از کل نمونه‌های جمع‌آوری شده ۳۱۵ نفر (۷۸/۷٪) زن و ۸۵ نفر (۲۱/۳٪) مرد بودند. در توزیع سنی بیشترین تعداد مربوط به گروه سنی

Downloaded from jarums.arums.ac.ir at 21:34 IRST on Saturday September 22nd 2018

۶۰-۳۰ با ۱۵۱ نفر (۳۷/۷٪) و در رتبه بعدی گروه سنی ۳۰-۰ سال با ۱۳۵ نفر (۳۳/۸٪) قرار داشت و کمترین درصد مربوط به گروه سنی بالای ۶۰ سال با ۱۱٤ نفر (۲۸/۵٪) بود. از کل مراجعین، ۱۵۰ نفر (۳۷/۵٪) بیماران بستری و ۲۵۰ نفر (۶۲/۵٪) بیماران سرپایی بودند.

جدول ۱. پرایمر استفاده شده

منبع	اندازه قطعه تکثیر شده	توالی پرایمر	پرایمر
15	865bP	5' TGGTTATGCGTTATATTCGCC3' 5' GGTTAGCGTTGCCAGTGCT3'	BlaSHV

جدول ۲. توزیع فراوانی نوع باکتری در نمونه‌های مورد مطالعه

نوع باکتری	تعداد	درصد
اشریشیا کلی	۲۷۷	۶۹/۳
کلبسیلا	۶۰	۱۵/۱
انتروباکتر	٤۳	۱۰/۸
پروتئوس	۱۰	۲/۵
مورگانلا	۷	۱/۸
سراشیا	۳	۰/۸
جمع	٤۰۰	۱۰۰

از تعداد ٤۰۰ ایزوله انتروباکتریاسه، در نتیجه آزمایش فنوتیپ تأییدی ۱۵۰ ایزوله (۳۷/۵ ٪) به عنوان سویه‌های مولد بتالاکتاماز وسیع‌الطیف (ESBL مثبت) تأیید گردیدند. فراوانی باکتری‌ها در سویه‌های ESBL مثبت، به این صورت بود که : بیشترین نوع باکتری متعلق به *اشریشیا کلی* با ۱۱۶ مورد (۷۷/۳٪) و بقیه عوامل طبق جدول ۳ به دست آمد. در توزیع سنی ۳۶ نفر (۲٤٪) زیر ۳۰ سال، ۵۸ نفر (۳۷/۸٪) در گروه سنی ۶۰-۳۰ سال و ۵۶ نفر (۳۷/۳٪) بالای ۶۰ سال بودند. از کل ۱۵۰ ایزوله فنوتیپ مثبت ۵۳ نفر (۳۵/۳٪) مرد و ۹۷ نفر (٦٤/۷٪) زن بودند. توزیع نوع مراجعه در ایزوله‌های فنوتیپ مثبت به این صورت بود که ۶۷ نفر (٤٤/۷٪) بیماران بستری و ۸۳ نفر (۵۵/۳٪) بیماران سرپایی بودند.

نتایج به دست آمده از آزمایش PCR برای حضور ژن SHV-1 در ایزوله‌های ESBL مثبت نشان داد که از بین ۱۵۰ ایزوله مولد بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف، ۲۸ مورد (۱۸/۷٪) حاوی ژن SHV-1 بودند و طبق شکل ۲ نتیجه الکتروفورز محصول PCR حاصل از تکثیر قطعه مورد نظر از ژن SHV-1 به طول ۸۶۵ جفت باز مشخص شده است.

توزیع فراوانی نوع باکتری بر حسب وجود یا عدم وجود ژن SHV-1 در نمونه‌های ESBL مثبت طبق جدول ٤ به دست آمد.

در توزیع فراوانی ژن SHV-1 مثبت در گروه‌های سنی، گروه سنی زیر ۳۰ سال (۱۸٪)، بین ۶۰-۳۰ سال (۳۲٪) و بالای ۶۰ سال (۵۰٪) بودند.

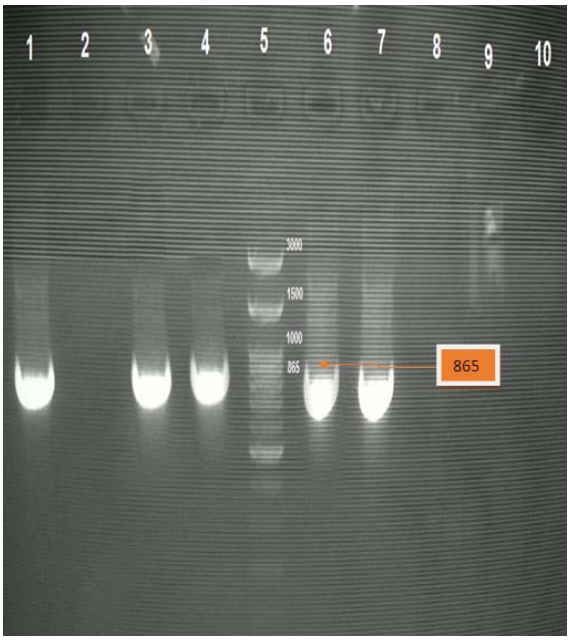
جدول ۳. توزیع فراوانی نوع باکتری در نمونه‌هایESBL مثبت

نوع باکتری	تعداد	درصد
اشریشیا کلی	۱۱۶	۷۷/۳
کلبسیلا پنومونیه	۱۷	۱۱/۳
کلبسیلا اکسی توکا	۵	۳/۳
انتروباکتر کلوآکه	۳	۲
انتروباکتر آئروژنز	۵	۳/۳
پروتئوس میرابیلیس	۳	۲
سراشیا مارسسنس	۱	۰/۷
جمع	۱۵۰	۱۰۰

جدول ٤. توزیع فراوانی SHV-1 به تفکیک نوع باکتری در نمونه‌های ESBL مثبت

باکتری	SHV-1(-)		SHV-1(+)	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد
اشریشیا کلی	۱۰۷	۸۷/۷	۹	۳۲/۱
کلبسیلا پنومونیه	۵	٤/۱	۱۲	٤۲/۹
کلبسیلا اکس توکا	۲	۱/۶	۳	۱۰/۷
انتروباکتر کلوآکه	۱	۰/۸	۲	۷/۱
انتروباکتر آئروژنز	٤	۳/۳	۱	۳/۶
پروتئوس میرابیلیس	۲	۱/۶	۱	۳/۶
سراشیا مارسسنس	۱	۰/۸	۰	۰

Downloaded from jarums.arums.ac.ir at 21:34 IRST on Saturday September 22nd 2018



شکل ۲. نتیجه الکتروفورز محصول PCR حاصل از قطعه مورد نظر از ژن SHV-1 به طول ۸۶۵bp: شماره ۱: سویه کنترل مثبت *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603، شماره‌های ۳، ٤، ۶،۷ نمونه‌های فنوتیپ مثبت حاوی ژن SHV-1، شماره‌های۲، ۸، ۹ نمونه‌های فنوتیپ مثبت فاقد ژن SHV-1، شماره ۱۰ کنترل منفی (آب مقطر)، شماره ۵.Ladder

بحث

بیماری‌های عفونی و درمان آنها، مشکلی اساسی در زندگی بشر به شمار می‌روند. اغلب بیماران بستری در بیمارستان دارای ضعف در سیستم ایمنی و بیماری زمینه‌ای می‌باشند و سالانه درصدی از بیماران بستری شده در بیمارستان دچار عفونت می‌شوند. ۳۵ درصد از همه عفونت‌های بیمارستانی در مجرای ادراری ایجاد می‌شود. در سال‌های اخیر مقاومت باکتری‌های گرم منفی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها در حال افزایش بوده و این امر ضمن ایجاد اختلال در روند درمان، باعث افزایش مدت بستری‌شدن و بالارفتن هزینه‌های درمانی نیز شده است. لذا بررسی پیوسته و مداوم وضعیت مقاومت این باکتری‌ها نسبت به داروهای رایج امری ضروری می‌باشد. در مطالعه حاضر میزان تولید ESBL از ٤۰۰ ایزوله انتروباکتریاسه جدا شده از نمونه‌های ادراری افراد مبتلا به عفونت ادراری، ۱۵۰ ایزوله (۳۷/۵٪) بود و بیشترین مقاومت باکتری‌ها در برابر آنتی‌بیوتیک‌های آمپی سیلین (۸۲/۵٪)، کوتری‌موکسازول (۶۷٪) و نالیدیک سیک اسید (۶۲/۳٪) بوده و بیشترین حساسیت در برابر آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین (۲٤/۸%) و ایمی پنم (۷/۷%) بود. در مطالعاتی که در ایران و سراسر دنیا با روش مشابه صورت گرفته، نتایج متفاوتی از نظر میزان تولید ESBL و میزان مقاومت در انتروباکتریاسه‌ها نشان داده شده است.

مطالعه‌ای توسط نخعی مقدم و همکاران در سال ۱۳۸۸-۱۳۸۷در مشهد بر روی ۱۰۹ ایزوله *اشریشیاکلی* از نمونه‌های ادراری انجام گرفت و ۳۵ ایزوله (۳۲/۱۱٪) مولد بتالاکتاماز وسیع‌الطیف بودند و بیشترین میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک کوتری‌موکسازول و بیشترین حساسیت به ایمی پنم بود [۱۰]. گودرزی و همکاران در شهر دلفان در بررسی فروانی بتالاکتامازهای طیف گسترده روی ۱۰۰ ایزوله *اشریشیا کلی*، به ۸۰ درصد ایزوله ESBL مثبت دست یافتند. همچنین بیشترین مقاومت مربوط به آمپی سیلین با ۸۵ درصد بود و ایزوله‌ها نسبت به ایمی پنم هیچ مقاومتی نداشتند [۱۷]. در مطالعه کالاسکار[1] و همکاران در سال ۲۰۱۲، ۹٤ ایزوله ESBL مثبت بودند و همه باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک ایمی پنم کاملاً حساس بودند و نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی سیلین، آزترئونام و کوآموکسی کلاو ۱۰۰ درصد مقاوم بودند [۱۸]. یک مطالعه توسط سریسنکاو[2] و همکاران در سال ۲۰۰٤ در تایلند، ۱۸۲ ایزوله مولد ESBL بودند. در این مطالعه میزان مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سفتریاکسون، سفوتاکسیم و سفتازیدیم به ترتیب برابر ۹۷/۲۵، ۹۷/۲۵ و ۷٤/۱۸ درصد بود که نشان‌دهنده وجود مقاومت بالا به سفالوسپورین‌های نسل سوم در بیمارستان‌های تایلند می‌باشد [۱۹].

[1] Kalaskar
[2] Srisangkaw

Downloaded from jarums.arums.ac.ir at 21:34 IRST on Saturday September 22nd 2018

در این مطالعه میزان نمونه‌های ESBL مثبت حاوی ژن SHV-1، ۱۸/۷درصد به دست آمد. در یک مطالعه توصیفی، توسط خورشیدی و همکاران در شهر کاشان، از ۳۲ نمونه حاوی بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف، ۱۶ ایزوله (۵۰٪) حاوی ژن SHV-1 بودند [۲۰]. در مطالعه خسروی و همکاران در شهر اهواز، از ۲۶ مورد (۴۷/۲۷٪) ESBL مثبت، ۱۲ مورد (۴۶/۱۵٪) حاوی ژن SHV-1 بودند. این مطالعه در مقایسه با مطالعه حاضر از شیوع ژن بتالاکتامازی بالایی برخوردار می‌باشد [۲۱]. طی پژوهشی توسط شاهی[1] و همکاران در هندوستان، از میان ۱۲ نمونه ESBL مثبت ۸ نمونه حاوی ژن SHV-1 بودند. ایزوله‌های مولد ژن‌های بتالاکتامازی در مطالعه شاهی از شیوع بالایی نسبت به مطالعه حاضر برخوردار بودند [۲۲]. مطالعه جین[2] و همکاران نیز نشان داد که در بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی بتالاکتامازهای SHV بر روی ۱۳۰ ایزوله کلبسیلا، از ۶۴ ایزوله تولیدکننده ESBL، ۱۳ ایزوله (۲۰/۳٪) سویه‌ها دارای ژن تولید کننده مقاومت بتالاکتامازی بودند [۲۳]. دانگ[3] و همکاران در شانگهای چین نشان دادند از ۱۶ آلل مختلف ژن bla(SHV) مشخص شده در ۶۲ ایزوله کلبسیلا حاوی ژن bla(SHV)، نوع SHV-1، با فراوانی ۳۲/۲۶ درصد، نوع شایع بود [۲۴]. مندونچا[4] و همکاران، در آلمان طی مطالعه‌ای در بررسی تنوع ژن‌های SHV در نمونه‌های *کلبسیلا پنومونیه*، از میان ۲۱۲ ایزوله باکتری، ۵۴ ایزوله (۲۶٪) حاوی ژن SHV-1 یافتند [۲۵]. مطالعه‌ای توسط کاپور چیچک[5] و همکاران روی ۴۴۰ نمونه بالینی مختلف *اشریشیا کلی* جمع‌آوری شده از ۱۰ بیمارستان مختلف ترکیه نشان داد که از آن تعداد ایزوله، ۸ مورد (۱/۸۱٪) SHV-1 به دست آمد. مقایسه این نتایج با نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که به دلیل مصرف غیرصحیح و بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها، میزان شیوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی با ژن SHV-1 در منطقه مورد مطالعه بالاتر از ترکیه می‌باشد [۲۶].

نتیجه گیری

بیشترین مقاومت باکتری‌ها در برابر آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین (۸۲/۵٪)، کوتری‌موکسازول (۶۷٪) و نالیدیک سیک اسید (۶۲/۳٪) بوده و بیشترین حساسیت در برابر آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین (۲۴/۸%) و ایمی پنم (۷/۷%) بود. بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف شیوع روزافزون دارند و نتایج مطالعه حاضر هم نشان از مقاومت بیشتر ایزوله‌ها علیه سفالوسپورین‌ها دارد. یافته‌های چنین مطالعاتی به ضرورت اتخاذ راهکارهای عملی در مورد تجویز منطقی داروها، ضرورت تجهیز آزمایشگاه‌ها به روش‌های تشخیصی (فنوتیپی، تکنیک‌های مولکولی و...) جهت شناسایی و تعیین نوع مقاومت ژنتیکی، برآورد میزان شیوع سویه‌های مقاوم باکتری‌ها و اتخاذ تدابیر لازم جهت درمان بیماران و کنترل مقاومت در باکتری‌ها تأکید دارد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همکاری مسئولین محترم دانشگاه علوم پزشکی اردبیل قدردانی بعمل می‌آید. این مقاله مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد می‌باشد.

[1] Shahi
[2] Jain
[3] Dong
[4] Mendoncha
[5] Copurcicek

Downloaded from jarums.arums.ac.ir at 21:34 IRST on Saturday September 22nd 2018

References

1- Apertiniti MT, Benot C, Berardi L, Berroune Y, Boisivon A. Surveillance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (M RSA) and Enterobacteriacea producing extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) in Northern France. A five year multi- center incidences study. J Hosp Infect. 2002 Mar; 52:107-13.

2- Brooks GF, Butel JS, More SA. Medical Microbiology.22nded.united states, Mc-Graw Hill. 2000:1454.

3- Jacoby AG, Medeiros AA. More extended-spectrum b-lactamases. Antimicrob Agents Chemother. 2000 Sep; 35(9):1697-1704.

4- Al- Jasser AM. Extended-Spectrum betalactamase(ESBL): a global problem. Kuwait Med J. 2006 Jun; 38(3):171-185.

5- Corkill JE, Cuevas LE, Gurgel RQ, Greensill J, Hart A. SHV-27, a novel cefotaxime-hydrolysing beta-lactamase, identified in *Klebsiella pneumonia* isolate from a Brazilian hospital. J Antimicrob Chemother. 2001 Apr; 47(٤):463-465.

6- Livermore DM. Beta- lactamase in laboratory and clinical resistance. CLIN microbial Rev. 1995 Oct; 8(4):557-584.

7- Chaves J, Margarret GL, Amparo C, Roser R, Coral A. SHV-1 β-lactamase is mainly a chromosomally encoded species-specific Enzyme in *Klebsiella pnemoniae*. Antimicrob Agents Chemother. 2001 Oct ; 45(10): 2856-2861.

8- Shahid M, Malok A. Plasmid mediated amikacin resistance in clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa. Indian J Med Microbiol. 2004 Jul-Sept; 22(3):182-184.

9- Ford PJ, Avison MB. Evolutionary mapping of the SHV beta lactamase and evidence for two separate IS 26-dependent belaSHV mobilization events from the *Klebsiella pneumonia* chromosome. J Antimicrob Chemother. 2004 Jul; 54(1):69-75.

10- Nakhaee-Moghadam M, Moshrefi S. Determining the antibiotic resistance pattern of urinary isolates of *Escherichia coli* and prevalence of extended spectrum beta lactamase among them. J Sabzevar Uni Med sci. 2010 Des; 16(4):228-233. (Full text in Persian).

11- Koneman EW, Allen S, Janda WM, editors. Color atlas and text book of diagnostic microbiology. 5th ed. Phiadelphia: Lippincott, 1997: 171-241.

12- Beuer AW, Kirby WMM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk metod. Am J Clin pathol. 2005 Apr; 45(4):493-496.

13- Del Carmen Rodriguez M, Vera DE, Ramirez-Ronda CH, Saavedra S. Phenotypic confirmation of extended-spectrum B-lactamases (ESBL) in clinical isolates of Escherichia coli and *Klebsiella pneumonia* at the San Juan Veterans Affairs Medical Center. PR Health Sci J. 2004 Sep; 23(3):207-215.

14- Kado CI, Liu ST. Rapid Procedure for detection and isolation of large and small plasmids. J Bacteriol. 2000 Mar; 145(3):1365-1373.

15- Jiang X, Ni Y, Jiang Y, Li M, Lu Y, Zhou D . Outbereak of infection caused by *Enterobacter cloacae* producing the novel VEB-3 beta-lactamase in China. J Clin Microbiol. 2005 Nov; 43(2): 826-831.

16- Gudarzi GH, Momeni S, Shakib P. The prevalence of ESBL among *Escherichia coli* isolates Sina Hospital Dolfan city of Lorestan. J lorestan Uni Med sci. 2014 Mar; 16(2):78-84 (Full text in Persian).

17- Akbari-Nakhjavani F, Mirsalehian A. Antimicrobial susceptibility testing of Escherichia coli strains isolated from urinary tract infection to fluorquinolones and detection of gyrA mutations in resistant strain. DARU. 2007 Jun; 15(3):97-99 (Full text in Persian).

18- Kalaskar A, Venkataramana K. Determination of Antimicrobial Resistance pattern and production of extended spectrum beta lactamases amongst *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumonia* from clinical Isolates. J Med Bacterial. 2012 Nov; 1(2): 17-24.

19- Srisangkaw S, Vorachit M. The optimum agent for screening and confirmatory tests for extended spectrum beta lactamases in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumonia* in Ramathibodi Hospital Thailand. J Infect Dis Antimicrob Agents. 2004 Jan- Apr; 21(1):1-5.

20- Khorshidi A, Moazen Z, Rohani M, Moniri R, Shajari GH, Mousavi GH. The prevalence of TEM-1 and SHV-1 genes in extended spectrum beta lactamase producing *Klebsiella pneumonia*. Jundishapur J Microbiol. 2009 May; 11(3):149-153 (Full text in Persian).
21- Khosravi AD, Hoveizavi H, Mehdinejad M. Prevalence of *Klebsiella pneumonia* encoding genes for CTX-M-1, TEM-1 AND SHV-1 Extended-spectrum beta lactmases Enzymes in clinical specimens. Jundishapur J Microbiol. 2013 Des; 6(10):765-785.
22- Shahi SK, Singh VK, Kuma A. Detection of *Escherichia coli* and associated β – Lactamases gens from diabetic foot ulcers by multiplex PCR and molecular modeling and docking of SHV-1, TEM-1, and OXE-1 β-lactamases with clindamycin and piperacillin-tazobactam.PLOS one. 2013 Jul; 8(7):78-86.
23- Amita J, Mondal A. TEM, SHV genes in extended spectrum β-lactamase producing *Klebsiella* species & their antimicrobial resistance pattern. Indian J Med Res. 2008 Dec; 128(3):759-764.
24- Dong Y, Sheng H, Zeng X, Yan J, Li H, Xiao H, et al. Insvestigation of genetic diversity of the bla(SHV) gene and development of an oligonucleotide microarray to detect mutations in the bla (SHV) gene. Microb Drug Resist. 2012 Dec; 18(6):539-545.
25- Mendonca N, Caniga M. Evolution of bla genus from SHV family. ESCMID J. 2007 Oct; 7(5):459-469.
26. Copur cicek A, Saral AO, Duzgun A, Yasar E, Cizmeci Z, Ozlem balci P, et al. Nationwide study of *Escheichia coli* producing extended-spectrum beta lactamases TEM, SHV and CTX-M in Turky. J Antibiot. 2013 Sep; 66(11):647-650.

Downloaded from jarums.arums.ac.ir at 21:34 IRST on Saturday September 22nd 2018