Journal of Ardabil University of Medical Sciences

Vol.15, No.2, Summer 2015, Pages 144 - 153

Molecular Detection of TEM-1 Type Extended-Spectrum ß-Lactamases in Enterobacteriaceae Isolated from Urinary Tract Infections in Ardabil, Iran

Danesh far N[1], Peeri Dogaheh H *[2], Ghiamirad M[1]

1. Department of Microbiology, Islamic Azad University of Ahar, 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 2, 2015

ABSTRACT

Background & objectives: Resistant microbial strains are a serious threat to public health in different societies. Among the extended-spectrum β-lactamases (ESBL) producing strains the Enterobacteriaceae family which is considered as the main factors producing urinary tract infections, have created many problems in treatment of this kind of infections. This study was conducted to determine the frequency of β-lactamase TEM-1 gene in Enterobacteriaceae isolated from urine samples in Ardabil city.

Methods: Within 6 months, 400 urinary isolates of Enterobacteriaceae of inpatients and outpatients were collected in Ardabil hospitals and were identified by standard methods. Antimicrobial susceptibility of isolates was tested by disk diffusion method, and ESBL producer confirmatory test was conducted using combined disk. Finally, the frequency of β-lactamase TEM-1 gene in producing extended-spectrum β-lactamases strains was investigated using PCR.

Results: From 400 isolates of Enterobacteriaceae, 150 cases (37.5%) were ESBL producing. PCR results showed presence of the TEM-1 gene in 69 cases (46%). The frequency of this gene in isolates of *Enterobacter (Aerogenes, Cloacae)*, *Klebsiella (Pneumoniae, Oxytoca*) and *E. coli* was obtained to be 62.5%, 54.5% and 44.8%, respectively. *Proteus mirabilis* and *Serratia marcescens* strains were lacking these genotypes.

Conclusion: As regards the presence of TEM-1 gene, there is also increasing in other members of the Enterobacteriaceae family including *Klebsiella* and *Enterobacter* in addition to *E. coli*, therefore sufficient identification of this strains is necessary to prescribe the right medicine.

Keywords: Extended-Spectrum Beta-Lactamases, TEM-1, Entrobacteriaceae, Ardabil

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-05-17]

بررسی مولکولی فراوانی ژن‌های بتالاکتاماز طیف گسترده تیپ TEM-1 در انتروباکتریاسه‌های جداشده از نمونه‌های ادراری در شهر اردبیل

ندا دانش فر[۱]، هادی پیری دوگاهه[۲]، مهدی قیامی راد[۱]*

۱.گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر، اهر، ایران

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

*نویسنده مسئول. تلفن ۰۴۵۳۳۵۲۲۳۹۱ فاکس:۰۴۵۳۳۵۲۲۰۸۶ پست الکترونیک:h.peeridogaheh@arums.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: سویه‌های مقاوم میکروبی تهدیدی جدی برای سلامت عمومی افراد در جوامع مختلف می‌باشند. در این میان ظهور سویه‌های مولد بتالاکتامازهای طیف گسترده در میان اعضای خانواده انتروباکتریاسه که به عنوان عوامل اصلی تولیدکننده عفونت‌های ادراری محسوب می‌شوند، مشکلات عدیده‌ای را در درمان این نوع از عفونت‌ها، به وجود آورده است. در همین راستا مطالعه‌ای باهدف تعیین فراوانی ژن بتالاکتاماز TEM-1 در سوش های انتروباکتریاسه جداشده از نمونه‌های ادراری در شهر اردبیل صورت گرفت.

روش کار: طی ۶ ماه ۴۰۰ سوش انتروباکتریاسه ادراری از بیماران بستری و سرپایی بیمارستان‌های اردبیل جمع‌آوری و بر اساس روش‌های استاندارد تعیین هویت شدند. سپس حساسیت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها با روش انتشار در دیسک بررسی‌شده و آزمودن تأییدی مولدین بتالاکتامازهای طیف گسترده، به روش آزمون دیسک ترکیبی انجام شد. درنهایت حضور ژن TEM-1 در سویه‌های مولد بتالاکتاماز های طیف گسترده، به روش PCR بررسی گردید.

یافته‌ها: از ۴۰۰ سوش انتروباکتریاسه، ۱۵۰ مورد (۳۷/۵ درصد) مولد بتالاکتاماز طیف گسترده بودند. بررسی نتایجPCR ، حضور ژن TEM-1 را در ۶۹ مورد (۴۶ درصد) از این مولدین، نشان داد. فراوانی این ژن در سوش های *انتروباکتر* (*آئروژنز*، *کلوآکه*)، *کلبسیلا* (*پنومونیه*، *اکسی توکا*) و *اشرشیاکلی* به ترتیب ۶۲/۵ درصد، ۵۴/۵ درصد و ۴۴/۸ درصد به دست آمد. سوش های *پروتئوس میرابیلیس* و *سراشیا مارسسنس* فاقد ژن مزبور بودند.

نتیجه‌گیری: با توجه به این‌که حضور ژن TEM-1 علاوه بر *اشرشیاکلی* در سایر اعضای خانواده انتروباکتریاسه اعم از *کلبسیلا* و *انتروباکتر* نیز در حال افزایش است. پس شناسایی کافی این سویه‌ها جهت تجویز داروی مناسب، لازم و ضروری است.

واژه های کلیدی: بتالاکتامازهای طیف گسترده، TEM-1، انتروباکتریاسه، اردبیل

دریافت: ۹۳/۱۰/۲۵ **پذیرش:** ۹۴/۳/۱۲

مقدمه

مقاومت‌های ضد میکروبی به‌عنوان یک مشکل اساسی در درمان، کنترل و مهار عفونت‌ها محسوب می‌شوند [۱]. یکی از مهم‌ترین سازوکارهای مقاومت ضد میکروبی، تولید آنزیم‌های بتالاکتامازی علیه آنتی‌بیوتیک‌های خانواده بتالاکتام است [۲]، آنتی‌بیوتیک‌هایی که جایگاه ویژه‌ای در درمان بیماری‌های عفونی خصوصا عفونت‌های ناشی از باکتری‌های گرم منفی داشته و در میان بیشتر داروهای تجویزشده در سراسر جهان قرار دارند [۳،۴]. گسترش آنتی‌بیوتیک‌های خانواده بتالاکتام و ایجاد انواع جدید با طیف گسترده، منجر به تولید دسته جدیدی از آنزیم‌های بتالاکتامازی به نام بتالاکتاماز های طیف گسترده یا Extended Spectrum β- Lactamases (ESBLs) شده است [۵] که باکتری را قادر می‌سازد تا در برابر طیف گسترده‌ای از آنتی‌بیوتیک‌های خانواده بتالاکتام، ایجاد مقاومت کند [۶]. تولید ESBL ها، مهم‌ترین مکانیسم مقاومتی نسبت به سفالوسپورین های طیف گسترده در بین اعضای خانواده انتروباکتریاسه می‌باشد [۷،۸]

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-05-17]

که به‌طور عمده توسط آنتی‌بیوتیک‌های خانواده بتالاکتام تحت درمان قرار می‌گیرند [۳]. اعضای این خانواده از باکتری‌ها، علت عمده شایع‌ترین عفونت‌های باکتریایی در جوامع انسانی، یعنی عفونت ادراری محسوب می‌شوند [۷،۹]. بتالاکتاماز های تیپ TEM ازجمله بهترین پژوهش‌های انجام‌شده در مورد آنزیم‌های ایجادکننده مقاومت آنتی‌بیوتیکی هستند. در این میان TEM-1 شایع‌ترین بتالاکتاماز باواسطه پلاسمید بوده و یکی از شناخته‌شده‌ترین عوامل مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشد. این مقاومت به پنی‌سیلین و سفالوسپورین های اولیه، اعطا شده و قدرت انطباق عملکردی حیرت‌آوری را در پاسخ به معرفی انواع جدید به‌دست‌آمده از این آنتی‌بیوتیک‌ها، نشان داده است. از زمان کشف آن در اوایل دهه ۱۹۶۰، بیش از ۱۷۰ گونه از TEM-1 از بیمارستان‌ها و درمانگاه‌های سراسر جهان جداشده است [۱۰،۱۱]. بتالاکتاماز TEM-1 اولین بتالاکتامازی می‌باشد که به‌وسیله پلاسمید در انترو باکتریاسه ها کد شد. پلاسمیدی بودن و انتقال باواسطه ترانسپوزون، باعث تسهیل گسترش TEM-1 به گونه‌های دیگر از باکتری‌ها شده، به‌طوری‌که در عرض چند سال پس از اولین جداسازی، بتالاکتاماز TEM-1 در سراسر جهان گسترش‌یافته است و در حال حاضر در بسیاری از گونه‌های مختلف از اعضای خانواده *انتروباکتریاسه*، *سودوموناس*، *هموفیلوس آنفولانزا* و *نایسریا گونوره آ* وجود داشته و به‌عنوان یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های مقاومتی در برابر آنتی‌بیوتیک‌های خانواده بتالاکتام، در میان باکتری‌های گرم منفی مطرح می‌باشد [۱۲]. لذا، ازآنجایی‌که الگوی مناسبی از فراوانی ژن TEM-1 در انتروباکتریاسه های مولد ESBL در شهر اردبیل یافت نشد، مطالعه‌ای باهدف بررسی فراوانی ژن TEM-1 در انتروباکتریاسه های جداشده از نمونه‌های ادراری در شهر اردبیل انجام گرفت.

روش کار

در این مطالعه توصیفی- مقطعی ۴۰۰ سویه انتروباکتریاسه ادراری، طی یک دوره ۶ ماهه، از آذر ۱۳۹۲ تا اردیبهشت ۱۳۹۳، به‌صورت کاملا تصادفی از بین کل مراجعین سرپایی و بستری با علائم عفونت ادراری، از بیمارستان‌های شهر اردبیل (امام خمینی، تأمین اجتماعی، علوی و فاطمی) جمع‌آوری شدند. نمونه‌ها، در شرایط مناسب و استریل از قسمت میانی جریان ادرار و ترجیحا از ادرار صبحگاهی، جمع‌آوری‌شده و در محیط‌های آگار خوندار و EMB آگار، کشت داده شدند. نمونه‌های کشت مثبت، بر اساس رؤیت و وجود $۱۰^{۵}$ کلنی کانت در هر میلی‌لیتر ادرار، مشخص گردیده و باکتری‌ها با استفاده از آزمون‌های بیوشیمیایی استاندارد و کشت در محیط‌های افتراقی و اختصاصی مرسوم همانند؛ TSI، SIM، سیمون سیترات، MR-VP، اوره آز، فنیل آلانین دآمیناز، لیزین دکربوکسیلاز تعیین هویت شدند. پرگنه‌های مربوط به سوش‌های مثبت جهت استفاده‌های بعدی، در دمای ۸۰- و در داخل محیط skim milk ۱۰ درصد حاوی ۳ درصد گلیسرول، نگهداری شدند [۱۳].

تعیین الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی

بر اساس پیشنهاد CLSI[1]، جهت تعیین الگوی مقاومت و حساسیت ایزوله ها، روش انتشار دیسک در آگار[2] به کار گرفته شد [۱۴، ۱۵]. برای این منظور دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی آمپی‌سیلین (۱۰µg)، جنتامایسین (۱۰µg)، کوتریموکسازول (۲µg)، سفکسیم (۵µg)، سفوتاکسیم (۳۰µg)، سفتازیدیم (۳۰µg)، سیپروفلوکساسین (۵µg)، سفتی زوکسیم (۳۰µg)، سفتریاکسون (۳۰µg)، نالیدیکسیک اسید (۳۰µg) و ایمی پنم (۱۰µg) ساخت شرکت (Hi-Media, India) استفاده شد.

[1] Clinical and Laboratory Standards Institute
[2] Disk Agar Diffusion (DAD)

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-05-17]

آزمون فنوتیپی تأییدی

تأیید مولدین ESBL در ارگانیسم‌های غربالی مثبت، بر اساس روش دیسک ترکیبی یا Combined Disk Test انجام شد. در این روش از دیسک‌های سفتازیدیم (۳۰µg) و سفوتاکسیم (۳۰µg) به همراه دیسک‌های ترکیبی آن‌ها سفتازیدیم/ کلاولانیک اسید (۳۰µg/۱۰gµ)، سفوتاکسیم/ کلاولانیک اسید (۱۰µg /۳۰µg) ساخت شرکت Hi-Media, India استفاده شد. سوسپانسیونی معادل نیم مک فارلند تهیه‌شده و بر روی محیط مولر هینتون آگار (Pronadisa, Spain)، کشت داده شد. سپس دیسک‌ها به فاصله حداقل ۲/۵ سانتی‌متر از یکدیگر بر روی محیط قرار داده شدند. پس از ۲٤ ساعت گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه، هاله عدم رشد اطراف دیسک حاوی کلاولانیک اسید نسبت به هاله عدم رشد دیسک بدون .کلاولانیک اسید از همان آنتی‌بیوتیک سنجیده شد. در مواردی که قطر هاله عدم رشد باکتری در اطراف دیسک ترکیبی ۵≤ میلی‌متر، بیشتر از قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک تکی همان آنتی‌بیوتیک بود، سویه موردنظر، بر اساس ضوابط CLSI به‌عنوان سویه ESBL مثبت در نظر گرفته شد[۱٤،۱۵].

استخراج DNA و انجام PCR

استخراج DNA پلاسمیدی با استفاده از کیت استخراج پلاسمید شرکت (ایران، سیناژن) و بر اساس دستورالعمل شرکت انجام گرفت. برای انجام پروسه PCR جهت شناسایی ژن‌های بتالاکتامازی TEM-1 از یک جفت پرایمر اختصاصیbp ۱۱۹۹، با توالی ذکرشده در جدول ۱ استفاده شد [۱۶].

جدول ۱. توالی پرایمر های مورداستفاده جهت ردیابی ژن TEM-1 [۱۶]

اندازه محصول (bp)	توالی پرایمر	نام پرایمر
bp۱۱۹۹	5'- GGGGAGCTCATAAAATTCTTGAAGAC -3'	MAb/F
	5'- GGGGGATCCTTACCAATGCTTAATCA -3'	MAb/R

واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵µL شامل؛ ۰/۸۱ میکرولیتر$MgCL_2$ ۵۰mM، ۰/۵٤ میکرولیتر dNTP mix 10mM، ۲/۷ میکرولیتر 10x PCR Buffer، ۰/۸ میکرولیتر از هرکدام از پرایمرهای F و R، ۰/۲ میکرولیتر Taq DNA polymerase، ۲/۵ میکرولیتر DNA Template و ۱۶/۵ میکرولیتر آب مقطر استریل (ساخت شرکت سیناژن) و تحت برنامه زمانی ترموسایکلر (Bio-Rad, America) شامل؛ یک سیکل ۵ دقیقه در ۹۵° c، واسرشت سازی اولیه[1]، سپس ۳۰ سیکل شامل، ۳۰ ثانیه در ۹۵°c، واسرشت سازی[2]، ۱ دقیقه در۴۷/۵ °c، اتصال[3]، ۱ دقیقه در °c ۷۲، طویل شدن[4] و ۱۰ دقیقه در ۷۲°c، طویل شدن نهایی[5] انجام شد. در این مطالعه از سویه *Klebsiella pneumonia* ATCC 700603 به عنوان سویه کنترل مثبت و از مخلوطی از مواد PCR بدون رشته الگو به عنوان کنترل منفی استفاده شد [۱٤،۱۵].

الکتروفورز محصولات PCR با استفاده از ژل آگارز ۱ درصد در ولتاژ ۱۰۰ ولت به مدت ۳۰ دقیقه در کنار لدر ۱۰۰ bp plus DNA ladder (ایران، سیناژن) انـجام شد و پس از رنگ‌آمیزی با DNA safe stain (ایران، سیناژن) با استفاده از دستگاه ژل داکومنتیشن (Uvitec, Germany) زیر نور UV مورد بررسی قرار گرفت. حضور باند قوی در منطقه bp ۱۱۹۹ مارکر وزن مولکولی، نشان‌دهنده تکثیر قطعه مورد نظر و در نتیجه وجود ژن مقاومت TEM-1 در سویه باکتریایی مورد نظر بود. در نهایت داده‌ها به روش آمار توصیفی و به‌صورت استفاده از آزمون

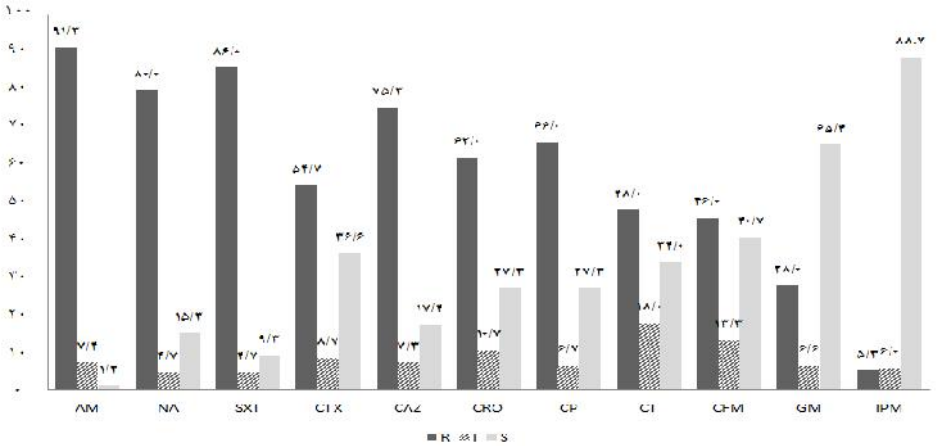
[1] First Denaturation
[2] Denaturation
[3] Annealing
[4] Extention
[5] Final Extention

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-05-17]

آماری کای دو توسط نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ تجزیه و تحلیل شدند. مقدار p کمتر از ۰/۰۵، از لحاظ آماری معنی‌دار تلقی گردید.

یافته‌ها

از مجموع ٤۰۰ نمونه باکتری عضو خانواده انتروباکتریاسه جداشده از نمونه‌های ادراری، ۱۵۰ مورد (۳۷/۵٪) مولد ESBL شناسایی شدند. توزیع فراوانی مولدین ESBL در *اشرشیاکلی* ۱۱۶ مورد (٤۱/۹٪)، سویه های *کلبسیلا* ۲۲ مورد (۳۶/۷٪)، سویه‌های *انتروباکتر* ۸ مورد (۱۸/۶٪)، *پروتئوس میرابیلیس* ۳ مورد (۳۰٪) و در *سراشیا مارسسنس* ۱ مورد (۳۳/۳٪) بود. همچنین توزیع فراوانی حساسیت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های مولد ESBL در نمودار ۱ مشخص‌شده است. بیشترین میزان حساسیت در این باکتری‌ها نسبت به ایمی پنم با ۸۸/۷ درصد و بعدازآن جنتامایسین با ۶۵/٤ درصد مشاهده شد (نمودار ۱).

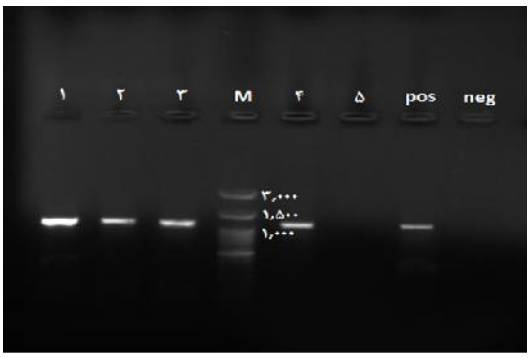


نمودار ۱. توزیع فراوانی حساسیت و مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری‌های مولد ESBL

AM: آمپی‌سیلین NA: نالیدیکسیک اسید SXT: کوتریموکسازول CTX: سفوتاکسیم CAZ: سفتازیدیم CRO: سفتریاکسونCP : سیپروفلوکساسین CT: سفتی زوکسیم CFM: سفکسیم GM: جنتامایسین IPM: ایمی پنم

بررسی نتایج PCR حضور ژن TEM-1 را در ۶۹ مورد (٤۶٪) از مولدین ESBL نشان داد. فراوانی این ژن در سوش های *انتروباکتر*، *کلبسیلا* و *اشرشیاکلی* به ترتیب در ۵ مورد (۶۲/۵٪)،۱۲ مورد (۵٤/۵٪) و ۵۲ مورد (٤٤/۸٪) به دست آمد. سوش‌های *پروتئوس میرابیلیس* و *سراشیا مارسسنس* فاقد ژن مزبور بودند (شکل ۱).

فراوانی ژن TEM-1 در گروه سنی ۶۰-۳۱ سال با ٤۸/۳ درصد بیشترین میزان را به خود اختصاص داد که این امر می‌تواند ناشی از افزایش ابتلا به عفونت‌های ادراری و به دنبال آن مصرف بالای آنتی بیوتیک خصوصا در زنان به علت فعالیت‌های جنسی، باروری و مسائلی ازجمله یائسگی باشد (جدول ۲).



شکل ۱. ژل آگارز محصولات PCR مربوط به ژن TEM-1

M: لدر ۱۰۰bp، neg: کنترل منفی،Pos : سویه کنترل مثبت ATCC 700603

۱،۲،۳،٤: سویه‌های حاوی ژن TEM-1 (۱۱۹۹ bp) ۵: سویه فاقد TEM-1

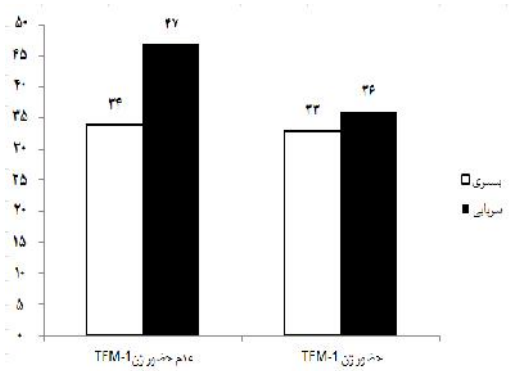
در بین زنان و مردان نیز، فراوانی این ژن در بین مردان با ٤۷/۲ درصد بیشتر از زنان با میزان ٤۵/٤

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-05-17]

درصد بود (جدول ۲). همچنین در بین بیماران بستری ۴۹/۳ درصد و در بین بیماران سرپایی ۴۳/۴ درصد از سویه‌های مولد ESBL، این مقاومت را از طریق ژن بتالاکتاماز TEM-1 کسب کرده و واجد چنین ژنوتیپ مقاومتی بودند. آزمون آماری نشان داد که فراوانی انتروباکتریاسه های ژنوتیپ مثبت در بیماران بستری در مقایسه با بیماران سرپایی، تفاوت معنی‌دار نداشت (نمودار ۲).

جدول ۲. توزیع فراوانی سوش های مولد ژن TEM-1 بر اساس سن، جنس و نوع مراجعه

مشخصه	تعداد	درصد
جنس		
مرد	۲۵	۴۷/۲
زن	۴۴	۴۵/۴
سن		
۰-۳۰	۱۵	۴۱/۷
۳۱-۶۰	۲۸	۴۸/۳
بالای ۶۰	۲۶	۴۶/۴
نوع مراجعه		
بستری	۳۳	۴۹/۳
سرپایی	۳۶	۴۳/۴



نمودار ۲. فراوانی ژن بتالاکتاماز TEM-1 در ایزوله های بیماران بستری و سرپایی

بحث

در این مطالعه *اشرشیاکلی* با ۲۷۷ مورد (۶۹/۳٪) شایع‌ترین عامل عفونت ادراری شناخته شد و گونه‌های *کلبسیلا* با ۶۰ مورد (۱۵٪) در رتبه بعدی قرار داشتند. این یافته‌ها مشابه گزارش‌های انجام‌گرفته در جنوب شرقی ایران [۱۷]، ترکیه، هند و آمریکا بود [۱۸،۲۰]. با این وجود، *پروتئوس میرابیلیس* در برخی از کشورهای اروپایی از جمله ایتالیا، به‌عنوان دومین عامل شایع در میان انتروباکتریاسه‌ها گزارش‌شده است [۲۱]. از میان سوش‌های مورد بررسی در این مطالعه، ۱۵۰ مورد (۳۷/۵٪) مولد ESBL بودند. تفاوت قابل‌ملاحظه‌ای بین مطالعه نادری فر در مشهد و فیض‌آبادی در تهران در خصوص فراوانی سوش‌های مولد ESBL مشاهده شد (به ترتیب ۲۷٪ و ۷۲/۱٪) [۲۲،۲۳]. در سایر مناطق جهان گزارش‌ها متفاوت بود. شیوع مولدین ESBL در پرتغال ۲/۶ درصد، در سوئیس ۵/۸ درصد در ایتالیا این میزان با ۵۱/۸ درصد تفاوت قابل‌توجهی را نشان داد [۲۱،۲۴،۲۵] و در فیلادلفیا بسیار پایین و حدود ۲/۶ درصد گزارش شد [۲۶]. در آسیا مولدین ESBL در مقایسه با کشورهای اروپایی و آمریکا به میزان بیشتری گزارش شد. فراوانی آن در عربستان ۳۰/۶ درصد، هند ۴۸/۲۷ درصد و چین ۴۲ درصد بود [۲۷،۲۹] .

در مطالعه‌ای در شهرکرد فراوانی ژن TEM-1 در ۴۵ مورد (۵۴/۲٪) گزارش شد که فراوانی آن در سوش های *انتروباکتر* ۶۲/۵ درصد، در سویه‌های *کلبسیلا* ۵۸/۳ درصد و *اشرشیا کلی* ۴۸/۷ درصد به دست آمد. در مطالعه حاضر، حضور ژن TEM-1 در ۶۹ مورد (۴۶٪) از سویه‌ها گزارش شد، که کمی پایین‌تر از میزان گزارش‌شده در شهرکرد بود. اما فراوانی این ژن با ۶۲/۵ درصد در *انتروباکترها*، ۵۴/۵ درصد در سوش های *کلبسیلا* و ۴۴/۸ درصد در *اشرشیاکلی*، به‌طور قابل‌توجهی با مطالعه انجام شده در شهرکرد شباهت داشت [۳۰]. فراوانی این ژن در مطالعه‌ای در تهران بین سال‌های ۲۰۰۷-۲۰۰۶، ۳۰/۷ درصد گزارش شد، اما در مطالعه مشابه دیگری در سال ۲۰۱۰ در تهران این میزان به ۵۴ درصد رسید که نشان‌دهنده افزایش فراوانی این ژن در سال‌های اخیر می‌باشد [۲۳،۳۱].

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-05-17]

در اصفهان حضور TEM-1 در *اشرشیا کلی* ۸٤/۶ درصد و در نمونه‌های *کلبسیلا پنومونیه* ۸۰ درصد گزارش شد که در مقایسه با گزارشات مطالعه حاضر، بسیار بالاتر بود. با این وجود در مطالعه حاضر فراوانی این ژن در سویه‌های *کلبسیلا* و *انتروباکتر* نسبت به *اشرشیا کلی* بیشتر گزارش شد که حاکی از افزایش انتشار این ژن به واسطه پلاسمید های کد کننده آن به سایر اعضای خانواده انتروباکتریاسه است [۳۲]. فراوانی این ژن در مطالعه مشابه در سوئیس با ٤٤/۲ درصد بسیار نزدیک به نتایج مطالعه حاضر بود [۲۵]. همچنین فراوانی آن در آسیا از ۸/۷ درصد در مالزی تا ۷۵ درصد در ویتنام متغیر بود [۳۳،۳٤]. در مطالعه حاضر بررسی ژنوتیپی مولدین ESBL بر اساس ژن TEM-1 نشان داد که ژن TEM-1 در نزدیک به نیمی از سویه‌های مولد ESBL (٤۶٪) حضورداشته است. به‌عبارت‌دیگر، قسمت اعظمی از سویه‌هایی که به روش فنوتیپی مولد ESBL شناخته شدند، ازلحاظ ژنوتیپی حامل این ژن بوده و مقاومت خود را از طریق آن به دست آورده‌اند. همچنین بررسی مقایسه‌ای این ژن در سویه های مختلف نشان داد که حضور ژن TEM-1 علاوه بر *اشرشیا کلی* که به‌عنوان عمده‌ترین ارگانیسم مولد این ژن محسوب می‌شود، در سایر اعضای خانواده انتروباکتریاسه اعم از *کلبسیلا* و *انتروباکتر* نیز در حال افزایش است که این امر به‌واسطه پلاسمیدهایی صورت می‌گیرد که حامل این ژن بوده و قادر به انتقال سریع آن از یک‌سویه به سویه دیگر یا حتی از یک‌گونه به گونه دیگر هستند.

از لحاظ جنس حضور ژن TEM-1 در مردان با ٤۷/۲ درصد بیشتر از زنان بود، با توجه به اینکه حضور این ژن در بین مردان، اکثرا در سنین بالا و در بین بیماران بستری مشاهده شد این امر می‌تواند نشان‌دهنده انتشار فراوان این ژن در بین سویه‌های بیمارستانی باشد. در بین بیماران بستری ٤۹/۳ درصد و در بین بیماران سرپایی ٤۳/٤ درصد از سویه فنوتیپ مثبت، این مقاومت را از طریق ژن بتالاکتاماز TEM-1 کسب کرده بودند. به نظر می‌رسد مصرف خودسرانه و بیش از حد دارو و تجویز آنتی‌بیوتیک‌های غیرضروری، همچنین انتشار ژن‌های مقاومت دارویی به واسطه پلاسمید ها و ترانسپوزون در بیمارستان‌ها، در رشد فزاینده این ژن و از سوی دیگر انتشار آن بین سویه‌های بیمارستانی و جامعه دخیل بوده است، که این امر لزوم توجه و نظارت بر عدم گسترش مقاومت دارویی در جامعه موردنظر را خاطرنشان می‌کند. استفاده از روش‌های فنوتیپی جهت شناسایی انواع مولد ESBL و هم‌چنین به کار بردن روش‌های ژنوتیپی در شناسایی نوع آنزیم‌های مولد این مقاومت از اهمیت زیادی برخوردار است. به این طریق می‌توان با محدود کردن استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتامی و استفاده مناسب از داروهای بتالاکتامی ممانعت کننده از عملکرد بتالاکتاماز ها، کارایی این داروها را تا حد امکان حفظ کرد.

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر، حضور ژن TEM-1 را تنها به‌عنوان جزئی از خانواده بزرگ بتالاکتامازهای طیف گسترده، در نزدیک به نیمی از سویه‌های مختلف از خانواده انتروباکتریاسه نشان داد. جهت کسب آگاهی بیشتر از فراوانی دیگر ژن‌های مولد ESBL در گونه‌های مختلف باکتری‌ها در این منطقه، بررسی‌های مولکولی بیشتری پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدرانی

این مقاله مستخرج از پایان نامه کارشناسی ارشد می‌باشد. بدین وسیله از ریاست محترم دانشگاه علوم پزشکی اردبیل و کارکنان محترم آزمایشگاه میکروب‌شناسی که ما را در اجرای این مطالعه یاری نمودند، تشکر و قدردانی می گردد.

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-05-17]

References

1- Soltan Dallal MM, Shamkani F, Sharifi Yazdi M K, Fallah J, soroush Barhaghi M H, Molla Agha Mirzaei H, et al. Survey of TEM type extended-spectrum β-lactamases (ESBL) in clinical isolates of *Escherichia Coli* by Phenotypic and genotypic methods. Med J Tabriz Univ Med Sci. 2012 Apr-May; 34(1): 56-62. (Full text in Persian)

2-Li Q, Lee JY, Castillo R, Hixon MS, Pujol C, Doppalapudi VR, et al. NB2001, a novel antibacterial agent with broad-spectrum activity and enhanced potency against beta-lactamase-producing strains. Antimicrob Agents Chemother. 2002 May; 46(5): 1262-8.

3-Riyahi Zaniani F, Meshkat Z, Naderi Nasab M, Khaje-Karamadini M, Ghazvini K, Rezaee A, et al. The prevalence of TEM and SHV genes among extended-spectrum beta- lactamases producing *Escherichia Coli* and *Klebsiella Pneumoniae*. Iran J Basic Med Sci. 2012 Jan-Feb; 15(1): 654-660.

4- Pitout JDD, Nordmann P, Laupland KB, Poirel L. Emergence of enterobacteriaceae producing extended-spectrum β-lactamases (ESBLs) in the community. J Antimicrob Chemother. 2005 May; 56(1): 52–59.

5- Soltan Dallal MM, Molla Aghamirzaei H, Fallah Mehrabadi J, Rastegar Lari A, Sabbaghi A, Eshraghian MR, et al. Molecular detection of TEM and AmpC (Dha, mox) broad spectrum β-lactamase in clinical isolates of *Escherichia coli*. Tehran Univ Med J. 2010 Sep; 68(6): 315-320. (Full text in Persian)

6-Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum β-lactamases: a clinical update. Clin Microbiol Rev. 2005 Oct; 18(4): 657–686.

7- Moyo SJ, Aboud S, Kasubi M, Lyamuya EF, Maselle SY. Antimicrobial resistance among producers and non –producers of extended spectrum betalactamases in urinary isolates at a tertiary hospital in Tanzania. BMC Research Notes. 2010 Dec; 3: 348.

8- Goyal A, Prasad A, Ujjala Gh, Prasad KN. Comparison of disk diffusion, disk potentiation & double disk synergy methods for detection of extended spectrum beta lactamases in Enterobacteriaceae. Indian J Med Res. 2008 Aug; 128(2): 209-211.

9- Mohammadi M, Mohammadi M. Antibiotic susceptibility of bacteria isolated from urinary tract infection. Med Sci J Islamic Azad Univ Tehran Med Branch. 2006 Summer; 16(2): 95-99. (Full text in Persian)

10- Ptrosino JF, Palzkill T. Systematic mutagenesis of the active site omega loop of TEM-1 β-Lactamase. J Bacteriol. 1996 Apr; 178(7): 1821-1828.

11- Salverda MLM, de Visser AGM, Barlow M. Natural evolution of TEM-1 β-lactamase: experimental reconstruction and clinical relevance. FEMS Microbiol Rev. 2010 April; 34(6): 1015–1036.

12-Bradford PA. Extended-spectrum β-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. Clin Microbiol Rev. 2001 Oct; 14 (4): 933–951.

13- Baron EJ, Finegold SM. Baily & Scott's Diagnostic Microbiology, Eighth th ed. Philadelphia: The C.V Mosby Company, 1990; 216-232.

14- Coyle MB. Manual of antimicrobial susceptibility testing. Washington: Organización Panamericana de la Salud, 2005: 39-166.

15- Patel JB, Cockerill FR, Alder J, Bradford PA, Eliopoulos GM, Hardy DJ, et al. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-fourth informational supplement. CLSI standards for antimicrobial susceptibility testing. 2014 January; 34(1): 1-226.

16- Spanu T, Luzzaro F, Perilli M, Amicosante G, Toniolo A, Fadda G, et al. Occurrence of extended-spectrum β-lactamases in members of the family Enterobacteriaceae in Italy: implications for resistance to β-lactams and other antimicrobial drugs. Antimicrob Agents Chemother. 2002 Jan; 46(1): 196–202.

17- Mansouri Sh, Abbasi S. Prevalence of multiple drug resistant clinical isolates of extended-spectrum beta- lactamase producing Enterobacteriaceae in southeast Iran. Iran J Med Sci. 2010 June; 35 (2): 101-108.

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-05-17]

18- Senbayrak Akcay S, Inan A, Cevan S, Ozaydin AN, Cobanoglu N, Ozyurek SC, et al. Gram-negative bacilli causing infections in an intensive care unit of a tertiary care hospital in Istanbul, Turkey. J Infect Dev Ctries. 2014 May; 8(5): 597-604.
19- Haque Sh F, Ali S Z, TP M, Khan AU. Prevalence of plasmid mediated blaTEM-1 and blaCTX-M-15 type extended spectrum beta-lactamases in patients with sepsis. Asian Pac J Trop Med. 2012 Feb; 5(2): 98-102.
20- Bouchillon SK, Badal RE, Hoban DJ, Hawser SP. Antimicrobial susceptibility of inpatient urinary tract isolates of gram-negative bacilli in the United States: results from the study for monitoring antimicrobial resistance trends (SMART) program: 2009-2011. Clin Ther. 2013 Jun; 35(6): 872-7.
21- Arnoldo L, Migliavacca R, Regattin L, Raglio A, Pagani L, Nucleo E, et al. Prevalence of urinary colonization by extended spectrum-beta-lactamase Enterobacteriaceae among catheterised inpatients in Italian long term care facilities. BMC Infect Dis. 2013 Mar; 13(124): 1-8.
22- Naderifar S, Nakhaei Moghaddam M. Phenotypic and molecular detection of PER extended spectrum β- lactamases in urinary Enterobacteriaceae isolates in Mashhad. J North Khorasan Univ Med Sci. 2012 Spring; 4(1): 87-93. (Full text in Persian)
23- Feizabadi MM, Mohammadi-Yeganeh S, Mirsalehian A, Azimi P, Mirafshar SM, Mahboobi M, et al. Genetic characterization of ESBL-producing strains of *Klebsiella pneumoniae* from Tehran hospitals. J Infect Dev Ctries. 2010 Oct; 4(10): 609-615.
24- Fernandes R, Amador P, Oliveira C, Prudêncio C. Molecular characterization of ESBL-producing Enterobacteriaceae in Northern Portugal. Scientific World J. 2014 Feb; Article ID 782897: 6 pages.
25- Geser N, Stephan R, Korczak BM, Beutin L, Hächlera H. Molecular identification of extended-spectrum-β-lactamase genes from Enterobacteriaceae isolated from healthy human carriers in Switzerland. Antimicrob Agents Chemother. 2012 Mar; 56(3): 1609-1612.
26- Han JH, Nachamkin I, Zaoutis TE, Coffin SE, Linkin DR, Fishman NO, et al. Risk factors for gastrointestinal tract colonization with extended-spectrum β-lactamase (ESBL)–producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* species in hospitalized patients. Infect Control Hosp Epidemiol. 2012 Dec; 33(12): 1242–1245.
27- Hassan H, Abdalhamid B. Molecular characterization of extended-spectrum beta-lactamase producing Enterobacteriaceae in a Saudi Arabian tertiary hospital. J Infect Dev Ctries. 2014 Mar; 8(3): 282-288.
28- Sun Q, Tarnberg M, Zhao L, Stalsby Lundborg C, Song Y, Grape M, et al. Varying high levels of faecal carriage of extended- spectrum beta-lactamase producing Enterobacteriaceae in Rural villages in Shandong, China: Implications for Global Health. Plos one. 2014 Nov; 9(11): 1-10.
29-Shashwati N, Kiran T, Dhanvijay AG. Study of extended spectrum β-lactamase producing Enterobacteriaceae and antibiotic coresistance in a tertiary care teaching hospital. J Nat Sc Biol Med. 2014 Jan; 5(1): 30-35.
30-Zamanzad B, Daiham B, Nafisi MR, Karimi A, Farrokhi E. The frequency of TEM-1 gene in extended spectrum beta lactamases producing *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Enterobacter* strains isolated from hospital clinical samples using PCR. Sci J Hamdan Univ Med Sci. 2007 Winter; 14(4): 19-25. (Full text in Persian)
31- Feizabadi MM, Delfani S, Raji N, Majnooni A, Aligholi M, Shahcheraghi F, et al. Distribution of bla(TEM), bla(SHV), bla(CTX-M) genes among clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* at Labbafinejad Hospital, Tehran, Iran. Microb Drug Resist. 2010 Mar; 16(1): 49-53.
32- Masjedian F, Valehi F, Talebi A, Rastegar Lari A. Evaluation of wide broad spectrum antibiotic resistance of *E. coli* and *Klebsiella pneumonia*. Iran J Med Microbiol. 2007 Summer; 1(2): 27-34. (Full text in Persian)
33- Lim KT, Yeo ChCh, Yasin RMd, Balan G, Thong KL. Characterization of multidrug-resistant and extended-spectrum β-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* strains from Malaysian hospitals. J Med Microbiol. 2009 Nov; 58: 1463–1469.
34- Thu Trang NH, Thieu Nga TV, Campbell JI, Hiep NT, Farrar J, Baker S, et al. The characterization of ESBL genes in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* causing nosocomial infections in Vietnam. J Infect Dev Ctries. 2013 Dec; 7(12): 922-928.

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-05-17]