Medical Journal
of
Tabriz University of Medical Sciences and Health Services

Original Article

Phenotypic and molecular detection of esbl-producing genes tem-1 and shv-1 in uropathogenic *escherichia coli* isolates

Bahman Doosti*, Ehsan Rashidian, Nemat Shams

Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Lorestan University, Khorramabad, Iran.
*Corresponding Author; E-mail: Bahman.doosti@gmail.com

Received: 11 May 2014 Accepted: 14 July 2015 First Published online: 26 February 2017
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2017 April;39(1):44-49

Abstract

Background: Spread of pathogenic strains carrying genes Extended-spectrum beta-lactamases (ESBL) is one of the major health concerns in the world. These genes caused due to the inefficient beta-lactam antibiotics in the treatment of infectious diseases. The purpose of this study was to determine the prevalence of TEM-1 and SHV-1 beta-lactamase genes in uropathogenic *E. coli* isolates from the city of Khorramabad.

Methods: A total of 100 *E. coli* isolates were collected from patients with urinary tract infections in clinical laboratories from city of Khorramabad. Originality isolates were confirmed by biochemical tests. ESBLs positives isolates were determined by using a combined disk based instruction the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) and then all the positive isolates were studied by PCR assay for the presence of genes TEM-1 and SHV-1.

Results: Thirty one (31%) out of 100 *E. coli* isolates were ESBL positive based on the results of combined disc tests. PCR analysis using the specific primers revealed that 18 isolates (58.06%) contained β–lactamases genes encoding TEM, and while none of isolates did not carry SHV gene.

Conclusion: The relatively high prevalence of resistance genes to third generation of cephalosporins among the *E. coli* isolates was found which indicates a challenge in successful treatment with current antibiotics.

Keywords: Extended Spectrum Beta Lactamases, beta-lactamase TEM-1, beta-lactamase SHV-1

How to cite this article: Doosti B, Rashidian E, Shams N. [Phenotypic and molecular detection of esbl-producing genes tem-1 and shv-1 in uropathogenic escherichia coli isolates]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2017 April;39(1):44-49. Persian.

© 2017 The Author(s). This is an Open Access article published by Tabriz University of Medical Sciences under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

مقاله پژوهشی

شناسایی فنوتیپی و مولکولی ژن‌های مولد بتالاکتامازهای وسیع الطیف TEM-1 و SHV-1 در جدایه‌های *اشریشیا کولای* مولد عفونت ادراری

بهمن دوستی*، احسان رشیدیان، نعمت شمس

گروه میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران
* نویسنده؛ رابط ایمیل: Bahman.doosti@gmail.com

دریافت: ۱۳۹۳/۲/۲۱ پذیرش: ۱۳۹۳/۴/۲۳ انتشار برخط: ۱۳۹۵/۱۲/۸
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تبریز. فروردین ۱۳۹۶؛ ۳۹(۱): ۴۴-۴۹

چکیده

زمینه: انتشار سویه‌های پاتوژن حامل ژن‌های بتالاکتامازهای وسیع الطیف (Extended-spectrum beta-lactamases, ESBLs) به عنوان یکی از نگرانی‌های عمده‌ی بهداشتی در سطح دنیا مطرح است. این ژن‌ها باعث ناکارآمدی آنتی‌بیوتیک های بتالاکتام در درمان بیماریهای عفونی شده‌اند. هدف از این مطالعه تعیین فراوانی ژن‌های بتالاکتامازی TEM-1 و SHV-1 در جدایه‌های *اشریشیا کولای* مولد عفونت ادراری در شهرستان خرم آباد بود.

روش کار: ۱۰۰ جدایه *اشریشیا کولای* از بیماران مبتلا به عفونت‌های ادراری، از چندین آزمایشگاه بالینی مختلف در شهرستان خرم‌آباد جمع‌آوری گردید. اصالت جدایه‌ها با انجام آزمایشات بیوشیمیایی مورد تایید قرار گرفتند. جدایه‌های ESBLs مثبت با روش دیسک ترکیبی بر اساس دستور العمل موسسه استاندارد (CLSI) مشخص گردیدند و در ادامه تمامی جدایه‌های مثبت با آزمون PCR از نظر وجود ژن‌های TEM-1 و SHV-1 مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها: ۳۱ نمونه (۳۱٪) از مجموع ۱۰۰ نمونه‌ی *اشریشیا کولای* با توجه به نتایج آزمون‌های دیسک ترکیبی، ESBL مثبت تشخیص داده شدند. تجزیه و تحلیل نمونه‌ها با روش PCR و با استفاده از پرایمرهای اختصاصی نشان داد که ۱۸ جدایه (۵۸/۰۶٪) حاوی ژن‌های بتالاکتامازی رمزگذاری شده برای TEM بودند، در حالی که هیچ کدام از جدایه‌ها ژن SHV را حمل نمی‌کردند.

نتیجه‌گیری: تحقیق اخیر میزان شیوع نسبتا بالای ژن‌های مقاومت نسبت به سفالوسپورین‌های نسل سوم در بین جدایه‌های *اشریشیا کولای* را نشان داده که حاکی از چالش در درمان موفقیت‌آمیز با آنتی‌بیوتیک‌های رایج است.

کلید واژه‌ها: بتالاکتامازهای وسیع الطیف، بتالاکتاماز TEM-1، بتالاکتاماز SHV-1

نحوه استناد به این مقاله: دوستی ب، رشیدیان ا، شمس ن. شناسایی فنوتیپی و مولکولی ژن‌های مولد بتالاکتامازهای وسیع الطیف TEM-1 و SHV-1 در جدایه‌های اشریشیا کولای مولد عفونت ادراری. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تبریز. ۱۳۹۶؛ ۳۹(۱): ۴۴-۴۹.

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.
این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تبریز تحت مجوز کریتو کامنز (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

بتالاکتامازهای وسیع الطیف گروهی از آنزیم‌ها هستند که نخستین بار در اواسط دهه ۱۹۸۰ در غرب اروپا از باکتری کلبسیلا جداسازی شدند (۱) و بعد از آن در گونه‌های مختلف انتروباکتریاسه کشف گردیدند، اما گونه‌ای که بیشترین شیوع را از این نظر دارا می‌باشد باکتری *اشریشیا کولای است* (۲). جنس باکتری متعارف‌ترین عامل ایجاد کننده‌ی عفونت در بین باکتری‌های گرم منفی بوده و به عنوان یک پاتوژن فرصت‌طلب اغلب عفونت‌هایی در کلیه، مثانه، ریه و منژ ایجاد می‌کند که هر کدام از این عفونت‌ها می‌توانند منجر به سپتی‌سمی شده و تهدید کننده زندگی باشند (۴–۳). عناصر ژنتیکی متحرک می‌توانند ژن‌های بتالاکتاماز را در اعضای خانواده‌ی انتروباکتریاسه، *هموفیلوس آنفلوانزا*، *نایسریا گنوره‌آ* و *سودوموناس ائروژینوزا* انتشار داده و وقوع مقاومت باکتریایی چند دارویی با الگوهای مقاومت پیچیده را بروز دهند (۶–۵). یکی از این ژن‌های بتالاکتامازی ژن TEM-1 است که نخستین بار در سال ۱۹۶۵ در یونان از باکتری *اشریشیا کولای* از یک بیمار به نام Temoniera جدا شد که به همین خاطر TEM نامیده می‌شود (۷). این ژن شایعترین بتالاکتاماز شناسایی شده در باکتری‌های گرم منفی بوده و اغلب در *اشریشیا کولای* و *کلبسیلا پنومونیه* یافت می‌شود ولی در دیگر باکتری‌های گرم منفی هم دیده شده است (۸). ژن دیگر که بعد از TEM کشف شد SHV بود این ژن در سال ۱۹۷۲ توسط پیتون کشف شد که به بتالاکتاماز پیتون نوع ۲ (PIT-2) موسوم بود (۱۰–۹). در سال ۱۹۷۹، Matthew و همکاران خواص بیوشیمیایی بی‌نظیری را در این گروه در مقایسه با دیگر بتالاکتامازها یافتند و آنها نام این گروه را به SHV-1 به معنی (Sulfhydryl variable) تغییر دادند (۱۱). بتالاکتامازهای وسیع الطیف از نوع SHV در طیف گسترده‌ای از انتروباکتریاسه‌ها و در گونه‌های *سودوموناس* و *آسینتوباکتر* شناسایی شدند (۱۲). جهش در بتالاکتامازهای TEM و SHV طیف گسترده‌ای از فعالیت بر ضد اکسی‌آمینو بتالاکتام‌ها را به این بتالاکتامازها داده است به همین خاطر است که این آنزیم‌ها را بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف می‌نامند (۱۳). بتالاکتامازهای وسیع الطیف قادر هستند مقاومت به پنی سیلین، سفالوسپورین‌های نسل اول، دوم و سوم و آزترونام (بجز سفالوسپورین‌ها و کرباپنم‌ها) را به باکتری‌ها اعطاء کنند که این کار را با هیدرولیز این آنتی‌بیوتیک انجام می‌دهند اما توسط اسیدکلاولانیک که یک مهارکننده‌ی بتالاکتاماز است مهار می‌شوند. بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف در تقسیم‌بندی که توسط بوش (Bush)، جاکوبی (Jacoby) و مدیروس (Medeiros) بر اساس پروفایل سوبسترا، ممانعت‌کنندگی و خصوصیات فیزیکی نظیر وزن ملکولی، نقطه ایزوالکتریک صورت گرفت، به چهار گروه اصلی از ۱ تا ۴ (A,B,C,D) طبقه بندی شدند (۱۴). بر اساس این طبقه‌بندی، آنزیم‌های وسیع الطیف در گروه A قرارگرفته و شامل مشتقات آنزیم‌های موتاسیون یافته TEM، SHV می‌باشند (۱۶–۱۵). هدف از این تحقیق بررسی شیوع ژن‌های TEM و SHV در نمونه‌های ادراری در شهرستان خرم‌آباد بوده تا بدین ترتیب شیوع باکتری‌های تولیدکننده ESBLs و ژن‌های دخیل در ایجاد مقاومت در این ناحیه‌ی مشخص شود که این کار می‌تواند زمینه‌ساز اتخاذ تدابیر مناسب برای درمان عفونت‌های ناشی از این ارگانیسم‌های مقاوم باشد.

روش‌کار

در این مطالعه توصیفی–مقطعی از ۱۰۰ جدایه‌ی *اشریشیاکولای* که از افراد مبتلا به عفونت ادراری که در مقطع زمانی ۶ ماهه در بین سال‌های ۱۳۸۹ تا ۱۳۹۰ که به آزمایشگاه تشخیص طبی شهرستان خرم‌آباد مراجعه کرده بودند استفاده گردید، این جدایه‌ها پس از کشت بر روی محیط اختصاصی و افتراقی و انجام تست‌های بیوشیمیایی و همچنین انجام تست IMViC و مقایسه آنها با جدول استاندارد جدا-سازی گردیدند. جدایه‌های شناسایی شده در محیط TSB با ۱۵ درصد گلیسرول کشت، و در دمای منفی ۲۰ درجه برای مراحل بعدی نگهداری شدند. تست غربالگری اولیه بر اساس دستور العمل شماره‌ی M100-S24 موسسه‌ی استاندارد (CLSI) با استفاده‌ی از آنتی‌بیوتیک-های سفوتاکسیم و سفتازیدیم (ROSCO Diagnostica, Denmark) با روش انتشار دیسک (Kirby&Bauer) انجام گرفت. تست تایید فنوتیپی به روش ترکیب دو دیسک (Combination disk method) بر اساس دستور العمل CLSI برای کلیه‌ی جدایه‌های مقاوم به سفوتاکسیم و سفتازیدیم صورت گرفت. در این آزمایش سوسپانسیون معادل نیم مک‌فارلند از جدایه‌ها تهیه و بر روی محیط مولر هینتون آگار کشت داده شد. سپس دیسک‌های سفتازیدیم (۳۰µg) و سفتازیدیم–کلاولانیک اسید (۱۰+۳۰µg)، سفوتاکسیم (۳۰µg) و سفوتاکسیم–کلاولانیک اسید (۱۰+۳۰µg) بر روی محیط قرار داده شد و پس از گذشت ۱۸ تا ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۲±۳۵ درجه سانتی‌گراد هاله ممانعت‌کنندگی بررسی گردید. بر اساس دستور العمل CLSI اگر قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک‌های ترکیب با غیر ترکیبی بیشتر یا مساوی ۵ میلی‌متر باشد جدایه‌ی مورد نظر را می‌توان ESBLs مثبت گزارش کرد (۱۷). در این تست فنوتیپی از سویه‌های *کلبسیلا پنومونیه* (ATCC700603) به عنوان کنترل مثبت و *اشریشیا کولای* (ATCC25922) به عنوان کنترل منفی استفاده گردید. استخراج DNA: DNA جدایه‌های ESBLs مثبت با روش جوشاندن (Boiling) طبق دستورالعمل زیر انجام شد: ابتدا سوسپانسیون میکروبی در حجم ۵۰۰ میکرولیتر بافر TE تهیه و سپس به مدت ۱۰ دقیقه در بنماری در حال جوش قرار داده شد. بعد از گذشت این زمان به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۱۳۰۰۰rpm سانتریفیوژ گردید و فاز رویی حاوی DNA مورد استفاده قرار گرفت. PCR نمونه‌ها به صورت ذیل بود برای شناسایی ژن TEM وSHV از پرایمرهای اختصاصی طراحی شده شرکت سیناژن و سیکل‌های حرارتی مندرج در جدول شماره ۱ استفاده گردید (۱۹–۱۸). برای آزمون PCR از مستر میکس ساخت شرکت سیناژن استفاده گردید که حجم نهایی مواد موجود در یک میکروتیوب PCR، ۲۵µl و شامل موارد زیر بود: DNA ۲µl استخراج شده، ۱۲/۵µl مسترمیکس، ۱µl از هر پرایمر Forward و Reverse و ۸/۵µl آب مقطر استریل. بعد از انجام PCR، الکتروفورز محصولات PCR در آگاروز ۱٪ با مارکر ۱۰۰bp انجام گرفت. پس از رنگ‌آمیزی ژل با Safe Stain(CinnaGen.,Iran)، نتایج زیر نور UV مورد بررسی قرار گرفتند. در آزمون PCR از سویه‌ی استاندارد *کلبسیلا پنومونیه* (*K. pneumoniae* ATCC700603) به عنوان کنترل مثبت ژن SHV و از سویه‌ی *کلبسیلا پنومونیه* (*K. pneumoniae* ATCC7881) به عنوان کنترل مثبت ژن TEM و همچنین سویه‌ی *اشریشیا کولای* (*E. coli*

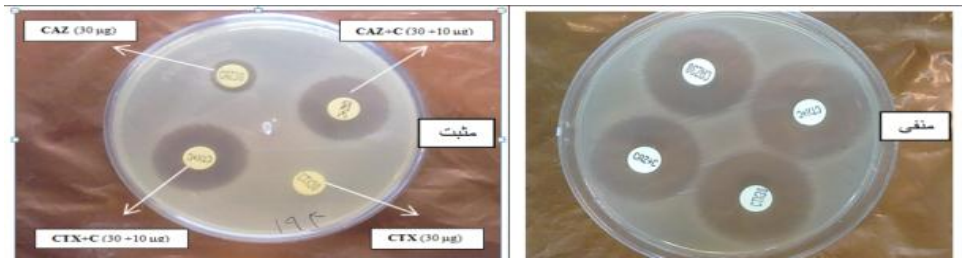
ATCC25922) به عنوان کنترل منفی استفاده گردید. برای توصیف داده‌ها از نرم افزار SPSS استفاده شد.

یافته‌ها

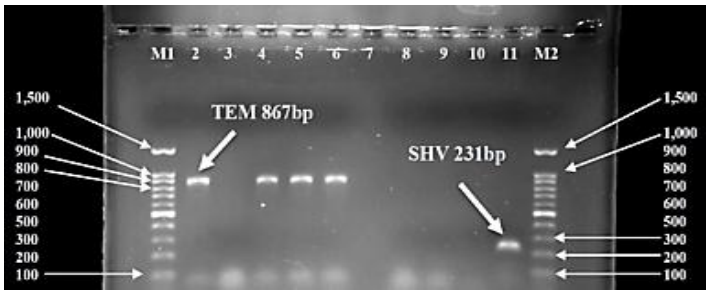
۱۰۰ جدایه *اشریشیا کولای* که برای انجام این آزمایش استفاده شد از نظر تفکیک سن و جنس شامل ۵۸ جدایه مونث، ۱۶ جدایه مذکر و ۲۱ جدایه مونث زیر ۱۵ سال و ۵ جدایه مذکر زیر ۱۵ سال بودند. بر اساس نتایج حاصل از آزمون غربالگری و ترکیب دو دیسک ۳۱ جدایه (۳۱٪) ESBLs مثبت تشخیص داده شد (شکل ۱). بعد از این مرحله برای این جدایه‌ها آزمایش PCR برای شناسایی ژن‌های bla_{TEM} و bla_{SHV} انجام گرفت که مشخص شد از ۳۱ جدایه ESBLs مثبت ۱۸ جدایه (۵۸/۰۶٪) دارای ژن TEM بوده اما ژن SHV در هیچ یک از جدایه شناسایی نشد (شکل ۲). توزیع پراکندگی ژن TEM در تست ژنوتیپی بر اساس سن و جنس در نمودار ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱ : پرایمرها و دمای مورد استفاده برای شناسایی ژن‌های بتالاکتاماز TEM-1 و SHV-1

پرایمر			PCR						
ژن	توالی پرایمر	سیکل	دناتوریشن اولیه	دناتوریشن	آنلینگ	گسترش	گسترش نهایی	منابع
TEM ۸۶۷bp	F: 5´- ATGAGTATTCAACATTTCCG-3´ R: 5´- CTGACAGTTACCAATGCTTA-3´	۳۵	۹۴ ۳دقیقه	۹۴ ۱ دقیقه	۵۲ ۱ دقیقه	۷۲ ۱ دقیقه	۷۲ ۱۰دقیقه	۲۱
SHV ۲۳۱bp	F: 5´- AAGATCCACTATCGCCAGCAG-3´ R: 5´- ATTCAGTTCCGTTTCCCAGCGG-3´	۳۵	۹۴ ۳دقیقه	۹۴ ۳۰ثانیه	۶۷ ۱ دقیقه	۷۲ ۱ دقیقه	۷۲ ۱۰دقیقه	۲۰



شکل ۱: روش دیسک ترکیبی برای تشخیص فنوتیپی ESBLs مثبت‌ها



چاهک M1 و M2: مارکر 100 bp

چاهک ۲ : کنترل مثبت ژن TEM (867 bp) (*K. pneumoniae* ATCC 7881)

چاهک ۳ : کنترل منفی ژن TEM (*E. coli* ATCC 25922)

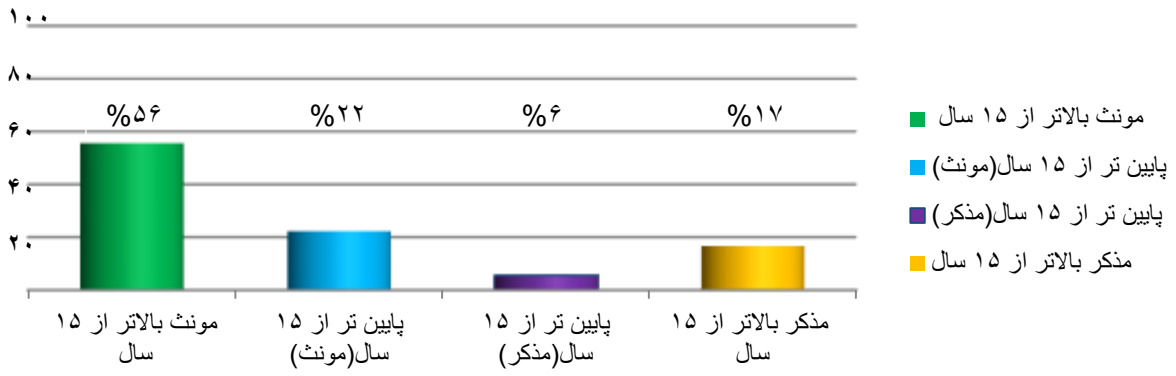
چاهک های ۴، ۵ و ۶ : نمونه‌های مثبت ژن TEM

چاهک ۱۱ : کنترل مثبت ژن SHV (231 bp) (*K. pneumoniae* ATCC 700603)

چاهک ۱۰ : کنترل منفی ژن SHV (*E. coli* ATCC 25922)

چاهک های ۸ و ۹ : نمونه‌های منفی ژن SHV.

***شکل۲**: ژل الکتروفورز محصولات PCR ژن‌های TEM-1 و SHV-1*



نمودار ۱: توزیع پراکندگی ژن TEM بر اساس سن و جنس

بحث

در طی چند دهه‌ی گذشته آنتی‌بیوتیک‌های گروه بتالاکتام به دلیل قدرت اثر، طیف گسترده و سمیت انتخابی علیه سلول‌های پروکاریوتی، بیش از حد در درمان عفونت‌های بالینی مورد استفاده قرار گرفته‌اند و همین امر باعث افزایش مقاومت نسبت به داروهای مذکور شده است. در مطالعه‌ی حاضر از بین ۱۰۰ جدایه *اشریشیا کولای* اخذ شده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری، تعداد ۳۱ نمونه (٪۳۱) ESBLs مثبت تشخیص داده شد و نتایج حاصل از آزمون PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی نشان داد که ۱۸ جدایه (٪۵۸/۰۶) حامل ژن TEM بود و هیچ یک از جدایه‌ها ژن SHV را حمل نمی‌کردند. از نظر توزیع پراکندگی ژن TEM در بین نمونه‌ها، ٪۵۵/۵ متعلق به نمونه‌های اخذ شده از افراد مونث بالای ۱۵ سال، ٪۱۶/۶ متعلق به افراد مذکر بالای ۱۵ سال و ٪۲۷/۷ مربوط به افراد مونث و مذکر زیر ۱۵ سال بود. به علت استفاده گسترده از آنتی-بیوتیک های بتالاکتام و ظهور مقاومت نسبت به آنها، مطالعاتی در سراسر کشور در مورد بتالاکتامازهای وسیع الطیف صورت گرفته که هر کدام آمار و ارقام متفاوتی را در مورد این نوع مقاومت بیان می-کنند که شماری از آنها در اینجا ذکر شده است. در طی تحقیقی که از بیمارستان شهدای عشایر شهرستان خرم‌آباد توسط Hosain Zadegan و همکاران در سال ۱۳۸۶ انجام گرفت از ۲۲۵ نمونه بالینی از باسیل‌های گرم *منفی* اخذ شده از بیماران، ۵۳ مورد (٪۲۳/۵۵) از نظر ESBLs مثبت بودند که فقط ۱۰ جدایه (٪۴/۴۴) از این نمونه‌های ESBLs مثبت *اشریشیا کولای* بود (۲۰). مقایسه نتایج Hosain Zadegan با نتایج مطالعه حاضر از افزایش مقاومت به آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام در سویه‌های *اشریشیاکولای* مولد عفونت ادراری در شهرستان خرم آباد حکایت می‌کند و نشان می دهد که ژن‌های بتالاکتامازهای وسیع الطیف در میان سویه‌های *اشریشیا کولای* عامل عفونت ادراری گسترش پیدا کرده‌اند. در تحقیقی دیگر که توسط Mobasher Kare Jeddi و همکاران در سال ۱۳۸۷ صورت گرفت از ۴۱ جدایه *اشریشیا کولای* که از نمونه‌های بالینی ۴ مرکز آموزشی و درمانی شهر تبریز جمع‌آوری کرده بودند ۳۳ نمونه به سفتازیدیم و ۳۲ نمونه به سفوتاکسیم مقاومت نشان دادند که ۴۰ ایزوله (٪۹۷/۵۶) ESBLs مثبت و از این ESBLs ها فقط ۷ ایزوله (٪۱۷/۰۷) حاوی ژن bla_{SHV} بود (۲۱) و در بررسی که در طول دوره‌ی یک ساله Mobin و همکاران در سال ۱۳۸۸ از بیماران بستری شده در ICU بیمارستان امام رضای شهر تبریز انجام دادند ۳۲ سویه‌ی *اشریشیا کولای* جدا کردند که ٪۹۳/۷ سویه ها تولید کننده ESBLs و از این ESBLs مثبت ها ٪۸۷/۵ ژن bla_{TEM}، ٪۱۲/۵ ژن bla_{SHV} و ٪۳۱/۵ ژن bla_{CTX-M} را دارا بودند (۲۲). این نتایج نسبت به نتایج حاضر از فراوانی بیشتری برخوردار هستند. این نتایج بدست آمده شاید به دلیل شیوع کلون‌های مقاوم و مولد بتالاکتامازهای وسیع الطیف در این منطقه و استفاده بی‌رویه از سفالوسپورین‌های وسیع الطیف در درمان بیماری‌های عفونی باشد. و همچنین طی تحقیقی که Soltan Dalal و همکاران در سال ۱۳۹۱ انجام دادند، ۱۸۸ ایزوله *اشریشیا کولای* که از بیمارستان امام رضا (ع) و شهید مدنی تبریز و مراکز درمانی خوی جمع‌آوری شد که از ۹۴ ایزوله جمع‌آوری شده از تبریز به ترتیب ۲۹ ایزوله (٪۳۰/۸۵) و ۳۸ ایزوله (٪۴۰/۴۲) مقاوم به سفتازیدیم و سفوتاکسیم بودند که در میان آنها ۳۸ ایزوله (٪۵۶/۷۱) به عنوان تولیدکننده ESBLs تشخیص داده شدند و ٪۷/۸۹ از ایزوله های تولیدکننده ESBLs، ژن bla_{TEM} را حمل می‌کردند. همچنین، از ۹۴ ایزوله جمع‌آوری شده از خوی ۲۴ ایزوله (٪۲۵/۵۳) مقاوم به سفتازیدیم و ۲۵ ایزوله (٪۲۶/۵۹) مقاوم به سفوتاکسیم تشخیص داده شد و در میان ایزوله‌های مقاوم به بتالاکتام‌ها ۲۴ ایزوله (٪۵۲/۱۲) تولید کننده ESBLs تشخیص داده شد که ٪۱۲/۵ ازآنها ژن bla_{TEM} را حمل می‌کردند (۲۳). مقایسه نتایج تست فنوتیپی در خوی و تبریز با نتایج مطالعه‌ی کنونی از فراوانی نسبتاً بالای بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف در این سه منطقه حکایت می‌کند ولی از نظر درصد مشارکت ژن‌های بتالاکتاماز متفاوت می‌باشد که شاید به نوع الگوی مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها و نوع انتقال و حرکت پلاسمید ژن‌های مختلف بتالاکتامازی در بین سویه باکتری‌ها بستگی داشته باشد. در سال ۲۰۰۵ در ترکیه تحقیقی مشابه انجام شد که از ۱۶۶ نمونه کلینیکی ۶۳ مورد ESBLs مثبت مشاهده گردید که ٪۵۲/۷ نمونه دارای ژن TEM، ٪۷۴/۳ دارای ژن SHV و ٪۳۲/۴ دارای هر دو ژن بودند (۲۴) و در تحقیقی مشابه که در سال ۲۰۱۰ در ترکیه صورت گرفت از میان ۴۴ نمونه *اشریشیا کولای* ESBLs مثبت، ۳۲ نمونه (٪۷۲/۷۲) دارای ژن TEM، ۴ نمونه (٪۹/۵۲) SHV بودند (۲۵) که مقایسه نتایج در طی سال‌های ۲۰۰۵ تا ۲۰۱۰ نشان می‌دهد که شیوع ژن TEM در این کشور حدود ٪۲۰ افزایش یافته ولی در مقابل ژن SHV ٪۶۰ درصد کاهش پیدا کرده است. در آلمان طی سال ۲۰۰۸ بررسی صورت گرفت که نشان داد فراوانی اشریشیاکولای‌های مولد ESBLs در بخش مراقبت‌های ویژه آلمان از ٪۱۴ در سال ۲۰۰۱ به ٪۵۲/۱ درصد در سال ۲۰۰۷ رسیده است (۲۶) که این نشان‌دهنده افزایش رو به رشد مقاومت به آنتی-بیوتیک‌های بتالاکتام در این کشور است. در مطالعه‌ی که در هند انجام گرفت از مجموع ۱۳۵ جدایه‌ی گرم منفی ۹۶ جدایه (٪۷۱/۱۱) بتالاکتاماز مثبت بودند که از این ۹۶ جدایه‌ی بالینی ۶۰ جدایه (٪۴۴/۴۴) *اشریشیا کولای* و ۳۴ جدایه دیگر *کلبسیلا پنومونیه* بودند که همه‌ی ایزوله‌ها به ایمی‌پنم حساس ولی به سفالوسپورین‌ها (نسل ۱و۴) و آمپی‌سیلین، آزترنام و کوآموکسی‌کلاو ۱۰۰ درصد مقاومت نشان دادند (۲۷). این نتایج حاکی از گسترش روبه رشد مقاومت در این کشور بوده که دلایل آن به احتمال قوی مصرف بی-رویه و خودسرانه، بیش از حد دارو و فقر بهداشتی این کشور است.

نتیجه‌گیری

مطالعه ذکر شده نشان داد که شیوع بتالاکتامازهای وسیع الطیف در شهرستان خرم آباد در حال افزایش می‌باشد که عوامل زیادی از جمله میزان و چگونگی مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها، در افزایش این نوع مقاومت دخیل است که باید راهکاری برای مقابله با آن اتخاذ گردد.

References

1. Nathisuwan S, Burgess DS, Lewis JS. Extended-spectrum beta-lactamases: *epidemiology, detection, and treatment*. 2nd ed. *Pharmacotherapy* 2001; **21**(8): 920-928. doi: 10.1592/phco.21.11.920.34529
2. Galas M, Decousser JW, Breton N, Godard T, Allouch PY, Pina P. Nationwide study of the prevalence, characteristics, and molecular epidemiology of extended-spectrum-beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in France. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; **52**(2): 786-789. doi: 10.1128/AAC.00906-07
3. Pitout JD, Hossain A, Hanson ND. Phenotypic and Molecular Detection of CTX-M-B-Lactamases Produced by *Escherchia Coli* and Klebsiella Spp. *J Clin Microbiol* 2004; **42**(12): 5715-5721. doi: 10.1128/JCM.42.12.5715-5721.2004
4. Jeong SH, Bae I, Lee JH, Sohn SG, Kang GH, Jeon GJ. Molecular Characterization of Extended-Spectrum Beta-lactamases produced by clinical Isolates of *Klebsiella Pneumoniae* and *Escherichia coli* from a Korean Nationwide Survey. *J Clin Microbiol* 2004; **42**(7): 2902-2906. doi: 10.1128/JCM.42.7.2902-2906.2004
5. Weldhagen GF. Integrons and β-lactamases: a novel perspective on resistance. *Int J Antimicrob Agents* 2004; **23**(6): 556-562. doi: 10.1016/j.ijantimicag. 2004. 03.007
6. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum β-lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev* 2005; **18**(4): 657-686. doi: 10.1128/CMR.18.4.657-686.2005
7. Datta N, Kontomichalou P. Penicillin's synthesis controlled by infectious R factors in Enterobacteriaceae. *Nature* 1965; **208**: 239-241. doi: 10.1038/208239a0
8. Bradford, PA. Extended-spectrum β-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev* 2001; **14**(4): 933-951. doi: 10.1128/CMR.14.4.933-951.2001
9. Pitton J. Mechanism of bacterial resistance to antibiotics. Ergebnisse der Physiologe. *Biologischen Chemie Und Experimentally Pharmacology* 1979; **65**: 15-93.
10. Barthelemy M, Peduzzi J, Verchere-Beaur C, Yaghlane H Ben, Labia R. Purification and biochemical properties of Pitton s type 2 β-lactamase (SHV-1). Annales de I Institut Pasteur. *Microbiologie* 1986; **137**(1): 19-27. doi: 10.1016/s0769-2609(86)80090-4
11. Matthew M, Hedges R, Smith J. Types of β-lactamase determined by plasmids in Gram-negative bacteria. *Journal of Bacteriology* 1979; **138**(3): 657-662.
12. Nuesch-Inderbinen MT, Kayser FH, Hachler H. Survey and molecular genetics of SHV ß-lactamases in Enterobacteriaceae in Switzerland: two novel enzymes, SHV-11 and SHV-12. *Antimicrobial Agents Chemother* 1997; **41**: 943-949.
13. Gniadkowski M. Evolution of extended-spectrum β-lactamases by mutation. *Clinical Microbiology and Infection* 2008; **14**: 11-32. doi: 10.1111/j.1469-0691.2007.01854.x
14. Mesa RJ. Extended spectrum β-lactamase producing Enterobacteriaceae in different environments (humans, food, animal farms and sewage). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2006; **58**(1): 211-215. doi: 10.1093/jac/dkl211
15. Thomson KS, Prevan AM, Sanders CC. Novel plasmid mediated beta-lactamases in enterobacteriaceae: emerging problems for new beta-lactam antibiotics. *Curr Clin Top Infect Dis* 1996; **16**: 151-163.
16. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for β-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrobial Agents Chemother* 1995; **39**: 1211-1233. doi: 10.1128/AAC.39.6.1211
17. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 24th *ed. Informational Supplement* (M 100- S24) 2014.
18. Shahcheraghi F, Noveiri H, Nasiri S. Detection of bla TEM and bla SHV genes among clinical isolates of E. coli from Tehran hospitals. *Iran J Med Microbiol* 2007; **1**(3): 1-8.
19. Tabbouche S, Khudary R, Beyrouthy R, Dabboussi F, Achkar M, Mallat H, et al. Detection of genes TEM, OXA, SHV and CTX-M in 73 clinical isolates of *Escherichia coli* producers of extended spectrum Beta lactamases and determination of their susceptibility to antibiotics. *I Medpub Journals* 2011; **1**(1): 5.
20. Hosain Zadegan H, Ramazanzadeh R, Hasany A. Cross-sectional study of extended spectrum beta-lactamase producing gram-negative bacilli from clinical cases in Khorramabad, Iran. *Iranian Journal of Microbiology* 2009; **1**(3): 16-19.
21. Mobasher Kare Jeddi A, Nahaei M, Mobayyen H, Pornour M, Sadeghi J. Molecular study of extended-spectrum beta-lactamase (SHVtype) in *Esherichia coli* and *Klebsiella pneumonia* isolated from Medical Centers of Tabriz. *Iran J Med Microbiol* 2009; **2**(3 & 4): 9-17.
22. Mobin H, Nahai MR, Purnor M, Mobasher A, Sadeghi J. Prevalence of Extended-spectrum beta-lactamases enzymes (type SHV, TEM and CTX-M) in *E. coli* isolated from Imam Reza hospital in Tabriz – Iran. *Quarterly Journal of Microbiology Knowledge* 2009; **1**(2): 33-39.
23. Soltan Dalal MM, Shamkani F, Sharifi Yazdi MH, Fallah J, Soroshbarghi MH, Sabaghi A, et al. Survey of TEM Type Extended-Spectrum β-Lactamases (ESBLs) in Clinical Isolates of *Escherichia Coli* by Phenotypic and Genotypic Methods. *Medical Journal of Tabriz University* 2012; **1**(34): 56-62.
24. Tasli, H, Bahar H. Molecular characterization of TEM and SHV derived ESBL in Hospital-Based Enterobacteriaceae in Turkey. *Jpn J Infect* 2005; **58**: 162-167.
25. Burcu B, Acik L, Sultan N. 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 Journal of Microbiology* 2010; **4**(8): 650-654.
26. Meyer E, Gastmeier P, Schwab F. The burden of multiresistant bacteria in German intensive care units. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2008; **62**(6): 1474-1476. doi: 10.1093/jac/dkn391
27. Kalaskar A, Venkataramana K. Determination of Antimicrobial Resistance Pattern and Production of Extended-Spectrum B-Lactamases amongst *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumonia* from Clinical Isolates. *J Med bacterial* 2012; **1**(2): 17-24.