

## 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  $\beta$ -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.

## 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<sup>\*</sup>، احسان رشیدیان، نعمت شمس

گروه میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران  
<sup>\*</sup> نویسنده؛ رابط ایمیل: Bahman.doosti@gmail.com

دریافت: ۱۳۹۲/۲/۲۱ پذیرش: ۱۳۹۳/۴/۲۳ انتشار برخط: ۱۳۹۵/۱۲/۸  
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - 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 عمده بهداشتی در سطح دنیا مطرح است. این ژن‌ها باعث ناکارآمدی آنتی‌بیوتیک‌های 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 خرم‌آباد 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 دستورالعمل 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 نمونه 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 نسبتاً 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 - 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 - درمانی تبریز تحت مجوز کپی‌رایت 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

بتالاتکامازهای 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 ایجادکننده عفونت در بین باکتری‌های گرم منفی بوده و به عنوان یک پاتوژن فرصت‌طلب اغلب عفونت‌هایی در کلیه، مثانه، ریه و مننژ ایجاد می‌کند که هر کدام از این عفونت‌ها می‌توانند منجر به سبیتی‌سمی شده و تهدیدکننده زندگی باشند (۳-۴). عناصر ژنتیکی متحرک می‌توانند ژن‌های بتالاتکاماز را در اعضای خانواده‌ی انتروباکتریاسه، هموفیلوس *آنفلوانزا*، *نایسریا گنوره* و *سودوموناس اثرورینوزا* انتشار داده و وقوع مقاومت باکتریایی چند دارویی با الگوهای مقاومت پیچیده را بروز دهند (۵-۶). یکی از این ژن‌های بتالاتکامازی 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 بتالاتکاماز 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 بتالاتکاماز پیتون نوع ۲ (PIT-2) موسوم بود (۹-۱۰). در سال ۱۹۷۹، Matthew و همکاران خواص بیوشیمیایی بی‌نظیری را در این گروه در مقایسه با دیگر بتالاتکامازها یافتند و آنها نام این گروه را به SHV-1 به معنی (Sulphydryl variable) تغییر دادند (۱۱). بتالاتکامازهای وسیع الطیف از نوع SHV در طیف گسترده‌ای از انتروباکتریاسه‌ها و در گونه‌های *سودوموناس* و *آسیتوباکتر* شناسایی شدند (۱۲). جهش در بتالاتکامازهای SHV و TEM طیف گسترده‌ای از فعالیت بر ضد آکسی‌آمینو بتالاتکامازها را به این بتالاتکامازها داده است به همین خاطر است که این آنزیم‌ها را بتالاتکامازهای وسیع‌الطیف می‌نامند (۱۳). بتالاتکامازهای وسیع الطیف قادر هستند مقاومت به پنی‌سیلین، 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 اسیدکلانولانیک که یک مهارکننده بتالاتکاماز است مهار می‌شوند. بتالاتکامازهای وسیع‌الطیف در تقسیم‌بندی که توسط بوش (Bush)، جاکوبی (Jacoby) و مدیروس (Medeiros) بر اساس پروفایل سوپراسترا، 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 قرار گرفته و شامل مشتقات آنزیم‌های موتاسیون یافته SHV، TEM می‌باشند (۱۵-۱۶). هدف از این تحقیق بررسی شیوع ژن‌های SHV و TEM 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 ارگانسیم‌های مقاوم باشد.

## روش کار

در این مطالعه توصیفی-مقطعی از ۱۰۰ جدایه‌ی *اشریشیا کولای* 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 سفنازیدیم (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 سفنازیدیم صورت گرفت. در این آزمایش سوسپانسیون معادل نیم مک‌فارلند از جدایه‌ها تهیه و بر روی محیط مولر هیتتون آگار کشت داده شد. سپس دیسک‌های سفنازیدیم (۳۰ μg) و سفنازیدیم-کلانولانیک اسید (۱۰+۳۰ μg)، سفوتاکسیم (۳۰ μg) و سفوتاکسیم-کلانولانیک اسید (۱۰+۳۰ μg) بر روی محیط قرار داده شد و پس از گذشت ۱۸ تا ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۵±۲ 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 ۱۳۰۰۰ rpm سانتریفیوژ گردید و فاز رویی حاوی DNA مورد استفاده قرار گرفت. PCR نمونه‌ها به صورت ذیل بود برای شناسایی ژن SHV و TEM از پرایمرهای اختصاصی طراحی شده شرکت سیناژن و سیکل‌های حرارتی مندرج در جدول شماره ۱ استفاده گردید (۱۸-۱۹). برای آزمون PCR از مستر میکس ساخت شرکت سیناژن استفاده گردید که حجم نهایی مواد موجود در یک میکروتیوب PCR، ۲۵ μl و شامل موارد زیر بود: DNA ۲ μl استخراج شده، ۱۲/۵ μl مستر میکس، ۱ μl از هر پرایمر Forward و Reverse و ۸/۵ μl آب مقطر استریل. بعد از انجام PCR، الکتروفورز محصولات PCR در آگاروز ۱٪ با مارکر ۱۰۰ bp 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)

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<sub>SHV</sub>* و *bla<sub>TEM</sub>* 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.

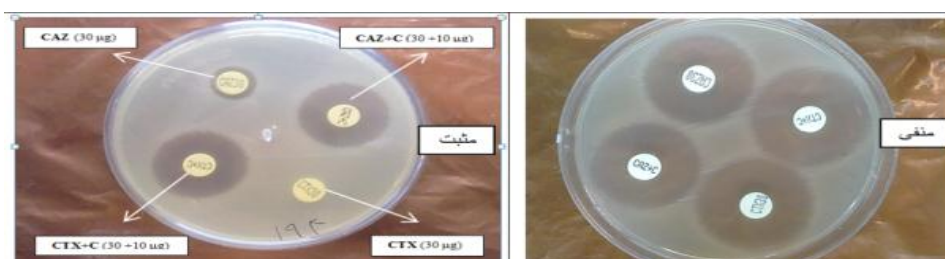
ATCC25922) به عنوان کنترل منفی استفاده گردید. برای توصیف داده‌ها از نرم افزار SPSS استفاده شد.

### یافته‌ها

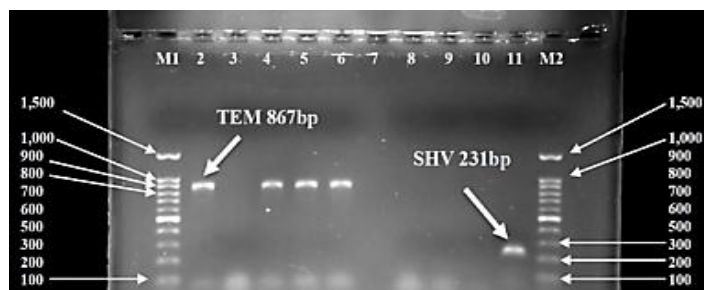
۱۰۰ جدایه /شریشیا کولای که برای انجام این آزمایش استفاده شد از نظر تفکیک سن و جنس شامل ۵۸ جدایه مونث، ۱۶ جدایه مذکر و ۲۱ جدایه مونث زیر ۱۵ سال و ۵ جدایه مذکر زیر ۱۵ سال بودند. بر اساس نتایج حاصل از آزمون غربالگری و ترکیب

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

منابع	PCR					سیکل	توالی پرایمر	ژن پرایمر
	گسترش نهایی	گسترش	انلینگ	دنا توریشن	دنا توریشن اولیه			
۲۱	۷۲	۷۲	۵۲	۹۴	۹۴	۳۵	F: 5'- ATGAGTATTCAACATTTCCG-3' R: 5'- CTGACAGTTACCAATGCTTA-3'	TEM ۸۶۷bp
۲۰	۷۲	۷۲	۶۷	۹۴	۹۴	۳۵	F: 5'- AAGATCCACTATCGCCAGCAG-3' R: 5'- ATTCAGTTCGGTTCCAGCGG-3'	SHV ۳۳۱bp

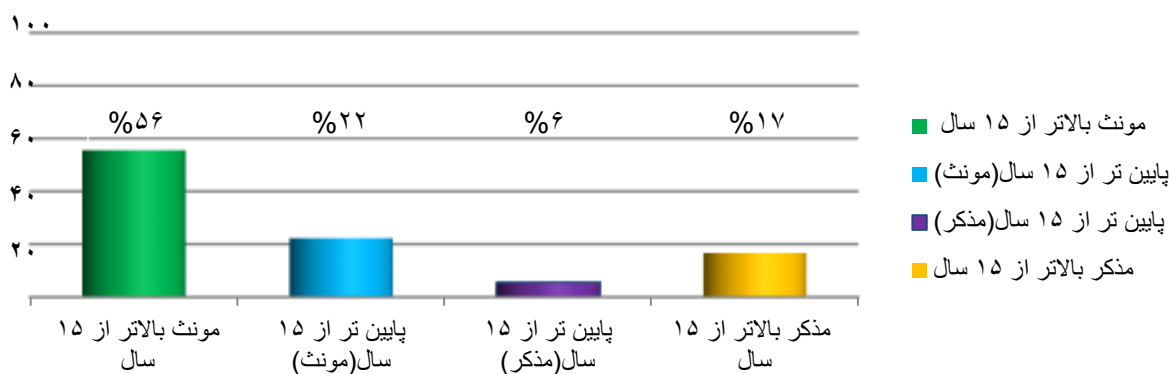


شکل ۱: روش دیسک ترکیبی برای تشخیص فنوتیپی ESBLs مثبت‌ها



شکل ۲: ژل الکتروفورز محصولات PCR ژن‌های SHV-1 و TEM-1

- 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



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/شریشیا 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 آنتی‌بیوتیک‌های 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 می‌کنند 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/شریشیا کولای بود (۲۰). مقایسه نتایج Hosain Zadegan با نتایج مطالعه حاضر از افزایش مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام در سویه‌های/شریشیا کولای مولد عفونت ادراری در شهرستان خرم‌آباد حکایت می‌کند و نشان می‌دهد که ژن‌های بتالاکتامازهای وسیع الطیف در میان سویه‌های/شریشیا 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/شریشیا کولای که از نمونه‌های بالینی ۴ مرکز آموزشی و درمانی شهر تبریز جمع‌آوری کرده بودند ۳۳ نمونه به سفوتازیدیم 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<sub>SHV</sub>* 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/شریشیا کولای جدا کردند که ۹۳/۷٪ سویه‌ها تولیدکننده ESBLs و از این ESBLs مثبت‌ها ۸۷/۵٪ ژن *bla<sub>TEM</sub>* /۱۲/۵٪ ژن *bla<sub>SHV</sub>* و ۳۱/۵٪ ژن *bla<sub>CTX-M</sub>* 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/شریشیا 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 سفوتازیدیم و سفوتاکسیم بودند که در میان آنها ۳۸ ایزوله (۵۶/۷۱٪) به عنوان تولیدکننده ESBLs تشخیص داده شدند و ۷/۸۹٪ از ایزوله‌های تولیدکننده ESBLs، ژن *bla<sub>TEM</sub>* را حمل می‌کردند. همچنین، از ۹۴ ایزوله جمع‌آوری شده از خوی ۲۴ ایزوله (۲۵/۵۳٪) مقاوم به سفوتازیدیم و ۲۵ ایزوله (۲۶/۵۹٪) مقاوم به سفوتاکسیم تشخیص داده شد و در میان ایزوله‌های مقاوم به بتالاکتام‌ها ۲۴ ایزوله (۵۲/۱۲٪) تولیدکننده ESBLs تشخیص داده شد که ۱۲/۵٪ از آنها ژن *bla<sub>TEM</sub>* 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/شریشیا 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 اشیریشیا کولای‌های 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 آنتی‌بیوتیک‌های 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٪)/شریشیا کولای و ۳۴ جدایه دیگر کلبسیلا پنومونیه بودند که همه‌ی ایزوله‌ها به ایمی‌پنم حساس ولی به سفالوسپورین‌ها (نسل ۴) 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 بی‌رویه 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 خرم‌آباد 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

- Nathisuwan S, Burgess DS, Lewis JS. Extended-spectrum beta-lactamases: *epidemiology, detection, and treatment*. 2<sup>nd</sup> ed. *Pharmacotherapy* 2001; **21**(8): 920-928. doi: 10.1592/phco.21.11.920.34529
- 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
- Pitout JD, Hossain A, Hanson ND. Phenotypic and Molecular Detection of CTX-M-B-Lactamases Produced by *Escherichia Coli* and *Klebsiella* Spp. *J Clin Microbiol* 2004; **42**(12): 5715-5721. doi: 10.1128/JCM.42.12.5715-5721.2004
- 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
- Weldhagen GF. Integrons and  $\beta$ -lactamases: a novel perspective on resistance. *Int J Antimicrob Agents* 2004; **23**(6): 556-562. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2004.03.007
- Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev* 2005; **18**(4): 657-686. doi: 10.1128/CMR.18.4.657-686.2005
- Datta N, Kontomichalou P. Penicillin's synthesis controlled by infectious R factors in Enterobacteriaceae. *Nature* 1965; **208**: 239-241. doi: 10.1038/208239a0
- Bradford, PA. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in the 21<sup>st</sup> 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
- Pitton J. Mechanism of bacterial resistance to antibiotics. *Ergebnisse der Physiologie. Biologischen Chemie Und Experimentally Pharmacology* 1979; **65**: 15-93.
- Barthelemy M, Peduzzi J, Verchere-Beaur C, Yaghlane H Ben, Labia R. Purification and biochemical properties of Pitton s type 2  $\beta$ -lactamase (SHV-1). *Annales de I Institut Pasteur. Microbiologie* 1986; **137**(1): 19-27. doi: 10.1016/s0769-2609(86)80090-4
- Matthew M, Hedges R, Smith J. Types of  $\beta$ -lactamase determined by plasmids in Gram-negative bacteria. *Journal of Bacteriology* 1979; **138**(3): 657-662.
- Nuesch-Inderbinen MT, Kayser FH, Hachler H. Survey and molecular genetics of SHV  $\beta$ -lactamases in Enterobacteriaceae in Switzerland: two novel enzymes, SHV-11 and SHV-12. *Antimicrobial Agents Chemother* 1997; **41**: 943-949.
- Gniadkowski M. Evolution of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases by mutation. *Clinical Microbiology and Infection* 2008; **14**: 11-32. doi: 10.1111/j.1469-0691.2007.01854.x
- Mesa RJ. Extended spectrum  $\beta$ -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
- 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.
- 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. doi: 10.1128/AAC.39.6.1211
- CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 24<sup>th</sup> ed. *Informational Supplement (M 100- S24)* 2014.
- 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.
- 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.
- Hosain Zadehan 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.
- Mobasher Kare Jeddi A, Nahaei M, Mobayyen H, Pornour M, Sadeghi J. Molecular study of extended-spectrum beta-lactamase (SHVtype) in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumonia* isolated from Medical Centers of Tabriz. *Iran J Med Microbiol* 2009; **2**(3 & 4): 9-17.
- 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.
- Soltan Dalal MM, Shamkani F, Sharifi Yazdi MH, Fallah J, Soroshbarghi MH, Sabaghi A, et al. Survey of TEM Type Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamases (ESBLs) in Clinical Isolates of *Escherichia Coli* by Phenotypic and Genotypic Methods. *Medical Journal of Tabriz University* 2012; **1**(34): 56-62.
- 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.
- 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.
- 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
- 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.