

## Investigating Antibiotic Resistance and The Frequency of *SHV* and *TEM* Extended Expecterum Beta Lactamase Genes in *Klebsiella penumoniae* Isolated from Blood Samples of Neonates Admitted to Some Health Centers in Rasht

Tannaz Fatehi, Masoumeh Anvari, Najmeh Ranji

Department of Biology, faculty of Sciences, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran

### Article Information

#### Article history:

Received: 2016/11/20

Accepted: 2017/03/05

Available online: 2017/09/12

#### Article Subject:

Molecular Microbiology

IJMM 2017; 11(4): 57-63

#### Corresponding author:

Dr. Masoumeh Anvari

Department of Biology, faculty  
of Sciences, Rasht Branch,  
Islamic Azad University,  
Rasht, Iran

Tel: 0981333424080

#### Email:

[anvari@iaurasht.ac.ir](mailto:anvari@iaurasht.ac.ir)

### Abstract

**Background and Aims:** *Klebsiella pneumoniae* is one of the most common causes of nosocomial infections. The aim of this study was to determine the frequency of the *bla<sub>TEM</sub>* and *bla<sub>SHV</sub>* genes in *K. pneumoniae* strains isolated from blood samples of neonates admitted to some health centers in Rasht.

**Materials and Methods:** In this study, 163 isolates from blood samples were taken during 6 months from July to December 2015. Antibiotic susceptibility was conducted by disc diffusion method and screening test using combination disc method. Also, the presence of *bla<sub>TEM</sub>* and *bla<sub>SHV</sub>* genes were studied using PCR method.

**Results and Conclusions:** Among the total of 163 cultured blood samples, 16 were positive. Only 3 strains were diagnosed as *K. pneumoniae* (18.75%). Two out of 3 positive samples (67%) were identified as the ESBLproducers in the primary screening test. The isolated *K. pneumoniae* had the highest resistance to penicillin and amoxicillin (100%) and the lowest resistance to imipenem and ceftazidime (33%). The results of PCR on 3 samples showed that all the 3 isolates (100%) contained *SHV* gene, 1 strain (33.3%) had *TEM* gene and 1 case (33.3%) had both *TEM* and *SHV* genes simultaneously. In conclusion the horizontal gene transfer among bacteria in hospitals and clinical centers and the patterns of antibiotic useage should receive more attention.

**KeyWords:** *Klebsiella pneumoniae*, Extended Spectrum  $\beta$ -Lactamases (ESBLs), *TEM*, *SHV*, PCR

Copyright © 2017 Iranian Journal of Medical Microbiology. All rights reserved.

### How to cite this article:

Fatehi T, Anvari M, Ranji N. Investigating Antibiotic Resistance and The Frequency of *SHV* and *TEM* Extended Expecterum Beta Lactamase Genes in *Klebsiella penumoniae* Isolated from Blood Samples of Neonates Admitted to Some Health Centers in Rasht. Iran J Med Microbiol. 2017; 11 (4): 57-63

## بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی و فراوانی ژن های بتالاکتاماز وسیع الطیف *TEM* و *SHV* در سویه های کلبسیلا پنومونیه جدانشده از نمونه های خون نوزادان بستری در برخی بیمارستان های شهر رشت

طناز فاتحی، معصومه انوری، نجمه رنجی

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

### چکیده

### اطلاعات مقاله

**زمینه و اهداف:** کلبسیلا پنومونیه یکی از عوامل شایع عفونت های بیمارستانی می باشد. هدف از این مطالعه تعیین میزان فراوانی ژن های *blaTEM* و *blaSHV* در سویه های کلبسیلا پنومونیه جدانشده از نمونه های خون نوزادان بستری در بعضی مراکز درمانی رشت بود.

**مواد و روش کار:** در این مطالعه، ۱۶۳ جدایه در بازه زمانی ۶ ماهه از مرداد تا دی ۱۳۹۴ به دست آمد. حساسیت آنتی بیوتیکی به روش انتشار دیسک و تست غربالگری به روش دیسک ترکیبی بررسی شد. همچنین وجود ژن های *blaTEM* و *blaSHV* با استفاده از PCR مورد بررسی قرار گرفت.

**یافته ها و نتیجه گیری:** از مجموع ۱۶۳ نمونه خون کشت داده شده، ۱۶ نمونه کشت مثبت بود. تنها ۳ سویه (۱۸/۷۵ درصد) به عنوان کلبسیلا پنومونیه تشخیص داده شدند. در آزمون غربالگری اولیه از ۳ نمونه مثبت، ۲ نمونه (۶۷ درصد) تولیدکننده بتالاکتاماز وسیع الطیف تعیین شد. جدایه های کلبسیلا پنومونیه بیشترین مقاومت را نسبت به پنی سیلین و آموکسی سیلین (۱۰۰ درصد) و کمترین مقاومت را نسبت به ایمپنم و سفتازیدیم (۲۳ درصد) داشتند. نتایج PCR بر روی ۳ نمونه نشان داد که ۳ مورد (۱۰۰ درصد) حاوی ژن *SHV*، ۱ مورد (۲۳/۳ درصد) حاوی ژن *TEM* و ۱ مورد (۳۳/۳ درصد) نیز هر دو ژن *SHV* و *TEM* را دارا بودند. در مجموع انتقال افقی ژن به دیگر باکتری ها در بیمارستان ها و مراکز درمانی و الگوی مصرف آنتی بیوتیک ها، باید مورد توجه بیشتری قرار گیرد.

**کلمات کلیدی:** کلبسیلا پنومونیه، بتالاکتاماز طیف گسترده (ESBL)، *SHV*، *TEM*، PCR

**تاریخچه مقاله**  
دریافت: ۱۳۹۵/۰۸/۳۰  
پذیرش: ۱۳۹۵/۱۲/۱۵  
انتشار آنلاین: ۱۳۹۶/۰۶/۲۱  
**موضوع:**  
میکروبی شناسی مولکولی

IJMM 1396; 11(4): 57-63

**نویسنده مسئول:**

دکتر معصومه انوری

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

تلفن: ۰۹۸۱۳۳۳۴۲۴۰۸۰

پست الکترونیک:

[anvari@iaurasht.ac.ir](mailto:anvari@iaurasht.ac.ir)

کپی رایت ©: حق چاپ، نشر و استفاده علمی از این مقاله برای مجله میکروبی شناسی پزشکی ایران محفوظ است.

### مقدمه

می باشد. در سال های اخیر کلبسیلاها از پاتوژن های مهم در عفونت های بیمارستانی محسوب می شوند (۴). مقاومت بالای آن ها به آنتی بیوتیک های مختلف و گسترش سریع آن ها در بخش های مختلف به خصوص در بخش نوزادان سبب سپتی سمی و مرگومیر بالایی می گردند (۵).

بتالاکتامازها آنزیم هایی هستند که سبب تخریب آنتی بیوتیک های بتالاکتام می شوند. در حال حاضر بیش از ۵۰۰ نوع مختلف از بتالاکتامازها گزارش شده است. اولین مورد بتالاکتامازهای کد شده توسط پلاسمید در باکتری های گرم منفی

کلبسیلاها، باسیل های گرم منفی متعلق به خانواده انتروباکتریاسه هستند، دارای رابطه ژنتیکی نسبتاً نزدیکی با سایر جنس های این خانواده نظیر *اشریشیا*، *سالمونلا*، *شیگلا* و *یرسینیا* می باشند (۱). عامل طیف وسیعی از عفونت ها شامل سپتی سمی، پنومونی، عفونت مجاری ادراری، مننژیت و آبسه های چرکی در اندام های مختلف به خصوص آبسه های کبدی هستند (۲). پنومونی کلبسیلایی بخش کوچکی از موارد پنومونی را تشکیل می دهد، ولی میزان مرگومیر ناشی از آن بالا و حدود ۹۰ درصد است (۳). مهم ترین گونه بیماری زا در جنس کلبسیلا، کلبسیلا پنومونیه

و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت کشت داده شد. کلنی‌هایی که بر روی محیط‌های جامد قادر به رشد بودند، به‌عنوان باکتری در نظر گرفته شدند. تست‌های تشخیصی شامل رنگ‌آمیزی گرم، تست اکسیداز، تست کاتالاز و تست‌های بیوشیمیایی شامل کشت در محیط‌های TSI agar، SIM، Simmons citrate agar، MR-VP broth و Urea Agar (مرک، آلمان) جهت تشخیص و تأیید کلبسیلا پنومونیه استفاده گردید. پس از شناسایی، باکتری‌های جدا شده تا زمان انجام آزمایش‌های بعدی در محیط کشت TSB حاوی ۱۵ درصد گلیسرول و در دمای ۷۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند (۹).

### تعیین حساسیت دارویی دیسک‌های جداسازی شده

حساسیت آنتی‌بیوتیکی با استفاده از روش دیسک دیفیوژن بر روی محیط مولر هینتون آگار با توجه به دستورالعمل‌های CLSI سال ۲۰۱۵ انجام شد (۱۰). ذکر این نکته لازم است از سویه استاندارد *E. coli* ATCC 25922 به‌عنوان کنترل منفی و سویه استاندارد *Klebsiella* ATCC 70060 به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد. آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی شامل سفنازیدیم (۳۰ میکروگرم)، سفکسیم (۵ میکروگرم)، ایمی‌پنم (۱۰ میکروگرم)، سفتریاکسون (۳۰ میکروگرم)، سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرم)، پنی‌سیلین (۱۰ میکروگرم)، آموکسی‌سیلین (۳۰ میکروگرم)، سفوکسیتین (۳۰ میکروگرم)، سفنازیدیم/کلولانیک‌اسید (۱۰/۳۰ میکروگرم)، سفوتاکسیم/کلولانیک‌اسید (۱۰/۳۰ میکروگرم) بودند. تست تأییدی تولید بتالاکتامازهای با طیف گسترده به روش دیسک ترکیبی (CD) Combination (Disk با استفاده از دیسک‌های سفنازیدیم (۳۰ میکروگرم) و سفنازیدیم/کلولانیک‌اسید (۱۰/۳۰ میکروگرم)، سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرم) و سفوتاکسیم/کلولانیک‌اسید (۱۰/۳۰ میکروگرم) انجام گرفت. نتایج طبق دستورالعمل CLSI تفسیر شد بدین ترتیب که اگر در ایزوله‌ای قطر هاله عدم رشد دیسک ترکیبی برابر یا بیش از ۵ mm در مقایسه با قطر هاله عدم رشد دیسک به‌تنهایی باشد از نظر تولید ESBL مثبت در نظر گرفته شد هم‌چنین MIC برای نمونه‌های مورد بررسی نسبت به آنتی‌بیوتیک سفوتاکسیم و سفنازیدیم تعیین گردید.

باکتری‌های جداسازی شده به مدت ۱۶-۱۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس در محیط (Nutrient broth) NB کشت داده شدند و DNA با استفاده از کیت استخراج DNA (سینا ژن، ایران) و با توجه به دستورالعمل شرکت سازنده،

در کشور یونان گزارش شد و به دنبال آن باکتری‌های تولیدکننده بتالاکتاماز افزایش پیدا کرده و عامل ایجادکننده عفونت‌های شدید شدند. بتالاکتامازهای با طیف گسترده گروهی از آنزیم‌های ناشی از پلاسמיד هستند که قادر به تخریب سفالوسپورین‌های با طیف اثر وسیع مانند سفوتاکسیم، سفتریاکسون و سفنازیدیم هستند (۶) و عمده‌تاً توسط مهارکننده‌های بتالاکتاماز از جمله کلولانیک‌اسید، سولباکتام و تازوباکتام مهار می‌شوند. ESBL ها از بتالاکتامازهای کلاس A گروه 2be هستند. بیشتر این آنزیم‌ها مشتقات بتالاکتامازهای TEM و SHV با یک یا چند تغییر در اسیدهای آمینه آن‌ها می‌باشند (۷). دو گروه اصلی بتالاکتامازها TEM و SHV هستند.

ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه‌های حاوی ژن‌های SHV و TEM به علت مقاومت بالای آنتی‌بیوتیکی به آنتی‌بیوتیک‌های روتین و انتقال پلاسمیدی این ژن‌ها به گونه‌ها و جنس‌های دیگر انتروباکتریاسه، در سال‌های اخیر مسئول بروز عفونت بیمارستانی بوده‌اند، به‌طوری‌که امروزه جداسازی و شناسایی سویه‌های دارای SHV و TEM چالشی واقعی برای آزمایشگاه‌های تشخیصی هستند (۸). مطالعه حاضر باهدف تعیین الگوی مقاومت دارویی و بررسی میزان فراوانی ژن‌های bla<sub>SHV</sub> و bla<sub>TEM</sub> در سویه‌های کلبسیلا پنومونیه جدا شده از عفونت خون از نمونه‌های کلینیکی شهر رشت صورت گرفت. با توجه به اینکه تاکنون در سطح استان تحقیق مشابهی بر روی نمونه‌های خون انجام نشده است این مطالعه در نوع خود نخستین مطالعه محسوب می‌گردد.

### مواد و روش‌ها

#### تهیه نمونه‌ها

در مطالعه حاضر از مجموع ۱۶۳ ایزوله جدا شده در بازه زمانی ۶ ماهه از مرداد تا دی ۱۳۹۴ از نمونه خون نوزادان بستری در بیمارستان‌های شهر رشت جمع‌آوری شد. در این بررسی، سویه‌های کلبسیلا پنومونیه جدا شده با روش‌های استاندارد میکروب‌شناسی و آزمایش‌های بیوشیمیایی مورد شناسایی قرار گرفتند. نمونه‌های خون در محیط TSB (زیست کاوش، ایران) حاوی ماده ضد انعقاد سیرتات کشت و به مدت یک هفته در درجه حرارت ۳۷ درجه سلسیوس نگهداری شدند.

#### کشت نمونه‌ها جهت جداسازی و شناسایی باکتری‌ها

مایع محیط کشت حاوی خون به محیط‌های کشت EMB (مرک، آلمان) و Blood agar (میکرومدیا، مجارستان) منتقل شده

استخراج شد. نمونه های DNA استخراج شده تا زمان انجام واکنش PCR در فریزر ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند.

از آزمایش واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR) برای شناسایی حضور ژن های *TEM* و *SHV* استفاده شد. توالی و مشخصات پرایمرها در جدول ۱ نشان داده شده است. جهت واکنش PCR از کیت (سینا ژن ایران) استفاده شد. اجزای واکنش مطابق دستورالعمل کیت باهم مخلوط شد و طبق برنامه دمایی زیر در دستگاه ترموسایکلر (SensoQuest GmbH، آلمان) تکثیر قطعه مورد نظر صورت گرفت. دمای دناتوراسیون اولیه (۹۲ درجه سلسیوس به مدت ۳ دقیقه)، ۳۰ سیکل حرارتی شامل دمای دناتوراسیون (۹۲ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه)، دمای

اتصال پرایمر (۵۵ درجه سلسیوس به مدت یک دقیقه برای ژن *TEM*) و (۵۶ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه برای ژن *SHV*) و دمای تکثیر (۷۲ درجه سلسیوس به مدت یک دقیقه) و در پایان دمای تکثیر نهایی (۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه) در دستگاه Gel Doc. (Biorad، آمریکا) انجام شد. محصول به دست آمده از PCR روی ژل آگارز ۱ درصد الکتروفورز شد و حضور یا عدم حضور باند در دستگاه ژل داگ عکس برداری گردید. جهت تأیید نهایی و صحت تکثیر ژن های *TEM* و *SHV* محصول PCR جهت توالی یابی به شرکت Bioneer (کره جنوبی) ارسال گردید و توالی های به دست آمده با توالی های موجود در بانک ژنی NCBI مقایسه گردید (۱۱).

جدول ۱: توالی و مشخصات پرایمرهای مورد استفاده برای شناسایی ESBLs

نام پرایمر	توالی پرایمر	طول قطعه PCR
<i>TEM</i> <sup>F</sup>	5'-ATGAGTATTCAACATTTCCGTG-3' 5'-TTACCAATGCTTAATCAGTGAG-3'	861bp
<i>SHV</i> <sup>F</sup>	5'-ATGCGTTATTCGCTGTG-3' 5'-TTAGCGTTGCCAGTGCTC-3'	861bp

## یافته ها و بحث

سپتیسمی، یکی از عوامل مهمی است که باعث مرگ و میر نوزادان می شود و یک بیماری جدی تلقی می گردد. ۱/۶ میلیون مورد مرگ و میر هر ساله در جهان به واسطه عفونت های نوزادان اتفاق می افتد که ۴۰ درصد آن ها در کشورهای در حال توسعه دیده می شود. باکتری های مقاوم (باکتری های متعلق به خانواده آنتروباکتریاسه) که در طبیعت به میزان زیاد گسترده می باشند، برای افراد جامعه یک تهدید به شمار می آید. با توجه به میزان بالای مقاومت چند دارویی، بتالاکتامازهای وسیع الطیف اغلب پلاسمیدی می باشد، از آنجایی که این پلاسمیدها، به راحتی در میان انواع مختلف از باکتری های خانواده آنتروباکتریاسه انتقال می یابند، تجمع ژن های مقاوم منجر به ایجاد سویه هایی با مقاومت چند دارویی می گردد (۱۲).

در تحقیق حاضر، تولید آنزیم بتالاکتاماز وسیع الطیف توسط جنس کلبسیلا ایجادکننده عفونت خون نوزادان آزمایش شد. تعداد ۱۶۳ نمونه خون، در ۶ ماهه اول سال ۱۳۹۴-۱۳۹۵ تهیه شده بود مورد بررسی قرار گرفت، که ۱۶ نمونه کشت مثبت بود. تنها ۳ مورد (۱۸/۷۵ درصد) کلبسیلا پنومونیه تشخیص داده شد. نتایج نشان داد از ۳ نمونه جداسازی شده از کل نمونه های

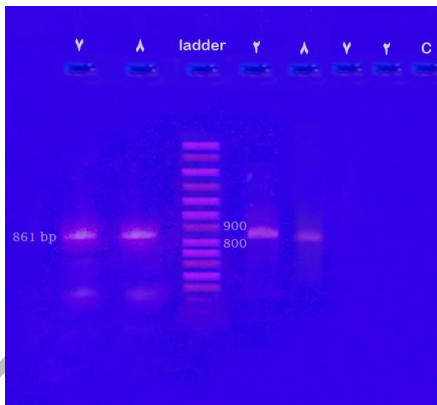
مثبت، ۲ نمونه (۶۷ درصد) در آزمایش دیسک دیفیوژن غربالگری اولیه، تولیدکننده بتالاکتامازهای وسیع الطیف ESBL بودند. نتایج نشان می دهد، از میان آنتی بیوتیک های مورد بررسی، کلبسیلا پنومونیه های جدا شده به پنی سیلین و آموکسی سیلین (۱۰۰ درصد)، سفتریاکسون، سفوتاکسیم و سفکسیم (۶۶/۶۶ درصد) بیشترین مقاومت و به ای می پنم و سفتازیدیم (۳۳/۳۳ درصد) کمترین مقاومت را نشان دادند. اختلاف نتایج مطالعه ما با تحقیقات ذکر شده فوق می تواند ناشی از محل جمع آوری نمونه ها (مثل ICU، NICU) و تفاوت الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی این سویه ها در مناطق جغرافیایی مختلف باشد. زمان بستری شدن طولانی، مصرف زیاد آنتی بیوتیک از جمله فاکتورهای مستعد کننده جهت تولید ESBLs می باشد. میزان مقاومت به سفتازیدیم در بین ایزوله های کلبسیلا پنومونیه حدود ۳۳ درصد و به سفوتاکسیم حدود ۶۷ درصد بود. نتایج حاصل از MIC نشان داد که ۱۰۰ درصد از نمونه ها به سفوتاکسیم و سفتازیدیم مقاومت نشان دادند. در تست MIC، این ایزوله های مقاوم به سفتازیدیم و سفوتاکسیم به ترتیب بالای ۸ و ۴ μg/mL را نشان دادند که مطابق با تفسیر CLSI، مقاوم در نظر گرفته می شوند.

جدول ۲: توزیع انواع ژن‌های مولد ESBLs و الگوی مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی بر مبنای حضور ژن‌های مختلف در سویه‌های کلبسیلا پنومونیه‌های مورد بررسی

ژن‌ها	TEM N=1	SHV N=3	TEM/SHV N=1
آنتی‌بیوتیک سفنازیدیم	٪۰ (۱)	٪۳۳/۳۳ (۱)	٪۰
ایمی‌پنم	٪۱۰۰ (۱)	٪۳۳/۳۳ (۱)	٪۱۰۰ (۱)
آموکسی‌سیلین	٪۱۰۰ (۱)	٪۱۰۰ (۳)	٪۳۳/۳۳ (۱)
سفتریاکسون	٪۱۰۰ (۱)	٪۶۶/۶۶ (۳)	٪۱۰۰ (۱)
سفوتاکسیم	٪۱۰۰ (۱)	٪۶۶/۶۶ (۳)	٪۱۰۰ (۱)
پنی‌سیلین	٪۱۰۰ (۱)	٪۱۰۰ (۳)	٪۱۰۰ (۱)

ژنوتیپی مورد استفاده در تحقیقات مختلف نیز می‌تواند از دلایل این اختلاف نتایج باشد.

نتایج توالی‌یابی ژن‌های SHV و TEM نشان داد که ژن‌های تکثیر شده در پژوهش حاضر به درستی تکثیر شده و همسانی بالای ۹۴٪ با ژن‌های مورد نظر موجود در بانک ژن دارد.



شکل ۱: الکتروفورز محصول PCR مربوط به قطعه 861 bp ژن SHV و TEM کلبسیلا پنومونیه مقاوم به سفوتاکسیم و سفنازیدیم بر روی ژل آگارز ۱ درصد، از چپ به راست: باند مربوط به ژن SHV در جدایه‌های شماره ۷، ۸، ۲، و باند مربوط به ژن TEM در جدایه‌های شماره ۷، ۸، ۲. در جدایه‌های شماره ۷ و ۲ باند مربوط به ژن TEM مشاهده نشد. C: کنترل منفی

در مطالعه Udomsantisuk و همکاران در سال ۲۰۱۱ بر روی شیوع ESBL از ۵۸ باکتری کلبسیلا پنومونیه، ۲۰ باکتری (۳۴/۵ درصد) دارای ژن ESBL اند، فراوانی ژن TEM ۵۰ درصد بود (۱۳). Kumar Sahay و همکاران در سال ۲۰۱۵ به مطالعه شیوع سپسیس نوزادی در بخش NICU هند پرداختند. از ۵۰ مورد کشت خون، ۴ مورد کلبسیلا شناسایی شد که ۲۵٪ تولیدکننده ESBL بودند (۱۴). Qureshi و همکاران، ۶۵/۸ درصد کلبسیلا پنومونیه تولیدکننده ESBL از نمونه‌های خون جداسازی کردند. تست حساسیت، حاکی از مقاومت چند دارویی در کلبسیلا پنومونیه تولیدکننده ESBL بوده است. حداکثر مقاومت در برابر سفنازیدیم (۱۰۰٪)، سفوتاکسیم (۸۹٪) بوده است. حداقل مقاومت به ایمی‌پنم (۴٪) مشاهده شد (۱۵).

در مطالعه حاضر، نتایج PCR بر روی ۳ نمونه نشان داد که ۳ مورد (۱۰۰ درصد) حاوی ژن SHV، ۱ مورد (۳۳/۳ درصد) حاوی ژن TEM و ۱ مورد (۳۳/۳ درصد) نیز هر دو ژن SHV و TEM را دارا بودند. نتیجه این مطالعه نشان داد، بین سویه‌های مورد بررسی، شیوع ژن SHV بیشترین درصد آماری را به خود اختصاص داده است اما تفاوت مشاهده شده بین این پژوهش و پژوهش‌های ذکر شده فوق می‌تواند به علت وجود تأثیر ژن‌های دیگر مانند CTX و OXA در ایجاد مقاومت باشد. این تنوع ژن‌های مقاومت در تمام باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه نیز صدق می‌کند و باعث تفاوت نتایج فنوتیپی و ژنوتیپی در سطح سویه‌های مقاوم این باکتری‌ها می‌گردد. به علاوه تنوع روش‌های



رشد بسیار سریع مقاومت آنتی بیوتیکی، به دلیل استفاده بی رویه از این داروها، نیاز به ارزیابی الگوی مقاومت ارگانسیم های بیماری زا، به ویژه گونه های کلبسیلا دارای ژن های *SHV* و *TEM* مولد آنزیم های ESBL وجود دارد. مشخص شدن این الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی، می تواند به منظور جلوگیری از ظهور و گسترش ارگانسیم های مقاوم به چند دارو مورد استفاده قرار گیرد.

#### تقدیر و تشکر

این مقاله تحقیقات، حاصل پایان نامه دانشجویی کارشناسی ارشد میکروشناسی می باشد. نویسندگان مقاله از معاونت محترم پژوهشی و فناوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت به خاطر همکاری، نهایت تشکر را دارند.

#### تعارض منافع

بین نویسندگان و مجله میکروشناسی پزشکی ایران هیچ گونه تعارض منافی وجود ندارد.

در مطالعه ای مشابه توسط Riyahi Zaniani و همکاران در سال ۲۰۱۲ از ۷۸ باکتری کلبسیلا پنومونیه، ۵۶/۱ درصد باکتری ها مولد ESBL بودند که فراوانی ژن *SHV* و *TEM* به ترتیب ۱۴/۴ و ۲۰/۶ درصد بود (۱۶). در مطالعه Doosti و همکاران در سال ۲۰۱۳ از ۱۷۹ کلبسیلا پنومونیه ۳۲ نمونه (۱۷/۷۸٪) دارای ژن *TEM* و ۱۵ نمونه (۸/۳۷٪) دارای ژن *SHV* بودند. (۱۷).

نتایج این مطالعه حاکی از حضور ایزوله های کلبسیلا پنومونیه تولیدکننده ESBLs در بیمارستان های مورد مطالعه است. بر اساس این نتایج، ارگانسیم های مولد ESBLs در بخش های مختلف بیمارستانی مشاهده گردیده است. تغییر در استراتژی مصرف آنتی بیوتیک ها و استفاده از ابزارهای مناسب کنترل عفونت در بخش هایی که به ویژه بیماران به مدت طولانی بستری می شوند

از عوامل مهمی هستند که می تواند در کنترل انتشار ارگانسیم های تولیدکننده ESBLs ایفای نقش کند. با توجه به

## References

1. Falade AG, Ayede AI. Epidemiology, aetiology and management of childhood acute community-acquired pneumonia in developing countries--a review. Afr J Med Med Sci. 2011; 40(4):293-308.
2. Livermore DM. Current epidemiology and growing resistance of gram-negative pathogens. Korean J Intern Med. 2012; 27(2):128-42.
3. Marra AR, Wey SB, Castelo A, Gales AC, Cal RG, do Carmo Filho JR, et al. Nosocomial bloodstream infections caused by Klebsiella pneumoniae: impact of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL) production on clinical outcome in a hospital with high ESBL prevalence. BMC Infect. Dis. 2006; 6(1):1.
4. Alves MS, da Silva Dias RC, de Castro AC, Riley LW, Moreira BM. Identification of clinical isolates of indole-positive and indole-negative Klebsiella spp. J. Clin. Microbiol. 2006; 44(10):3640-6.
5. Hirsch EB, Tam VH. Detection and treatment options for Klebsiella pneumoniae carbapenemases (KPCs): an emerging cause of multidrug-resistant infection. J. Antimicrob. Chemother. 2010; 65(6):1119-25.
6. Jacoby GA, Medeiros AA. More extended-spectrum beta-lactamases. Antimicrob. Agents Chemother. 1991; 35(9):1697.
7. Howard C, Van Daal A, Kelly G, Schooneveldt J, Nimmo G, Giffard PM. Identification and minisequencing-based discrimination of SHV  $\beta$ -lactamases in nosocomial infection-associated Klebsiella pneumoniae in Brisbane, Australia. Antimicrob. Agents Chemother. 2002; 46(3): 659-64.
8. Hussein K, Sprecher H, Mashiach T, Oren I, Kassis I, Finkelstein R. Carbapenem Resistance Among Klebsiella pneumoniae Isolates Risk Factors, Molecular Characteristics, and Susceptibility Patterns. Infect. Control Hosp. Epidemiol. 2009; 30(07):666-71.
9. Clinical Laboratory and Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 15th informational Supplement (M100-s15). National Committee for Clinical Laboratory Standards. Wayne, Pa: 2010.

10. Jorgensen JH, Turnidge JD. Susceptibility test methods: dilution and disk diffusion methods. In *Manual of Clinical Microbiology*, 11<sup>th</sup> ed. American Society of Microbiology; 2015.
11. Tumbarello M, Spanu T, Sanguinetti M, Citton R, Montuori E, Leone F, et al. Bloodstream infections caused by extended-spectrum- $\beta$ -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*: risk factors, molecular epidemiology, and clinical outcome. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2006; 50(2):498-504.
12. Rasheed JK, Tenover FC. Detection and characterization of antimicrobial resistance genes in bacteria. Murray, 8<sup>th</sup> ed. 2003.
13. Udomsantisuk N, Nunthapisud P, Tirawatanapong T, Dansuputra M. Molecular characterization of extended spectrum beta-lactamase among clinical isolates *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *J Med Assoc Thai.* 2011; 94(12):1504-12.
14. Kumar Sahay A, Kumar A, Shahnawaz K, Krishna A. Neonatal Septicemia: Still a Complicated Problem Due to Extended Spectrum Beta-lactamase Producing Organisms. *Intr J Sci Res in Environ Sci.* 2015; 2(12): 1-4.
15. Qureshi MA, Asif NA, Baig SU. Evaluation of extended spectrum  $\beta$ -lactamase mediated resistance in *Escherichia coli* and *Klebsiella* in urinary tract infection at a tertiary care hospital. *Biomedica.* 2013; 29(2):78-81.
16. 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; 15(1):654-60.
17. Doosti A, Pourabbas M, Arshi A, Chehelgerdi M, Kabiri H. TEM and SHV Genes in *Klebsiella pneumoniae* Isolated from Cockroaches and Their Antimicrobial Resistance Pattern. *Osong Public Health Res Perspect.* 2015 ;6(1):3-8.