Short Article

Iranian Journal of Medical Microbiology

Iran J Med Microbiol: Volume 11, Number 4 (September - October)

Journal homepage: www.ijmm.ir

# Investigating Antibiotic Resistance and The Frequency of *SHV*and *TEM* Extended Expecterum Beta Lactamase Genes in *Klebsiella penumoniea* 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

Downloaded from ijmm.ir at 5:00 +0430 on Tuesday May 22nd 2018

## *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**

## *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 $bla_{TEM}$ and $bla_{SHV}$ 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 $bla_{TEM}$ and $bla_{SHV}$ 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. pneumonia* (18.75%). Two out of 3 positive samples (67%) were identified as the ESBLproducers in the primary screening test. The isolated *K. pneumonia* 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 ß-Lactamases (ESBLs), *TEM*, *SHV*, PCR

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

Final

**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 penumoniea* Isolated from Blood Samples of Neonates Admitted to Some Health Centers in Rasht. Iran J Med Microbiol. 2017; 11 (4): 57-63

مقاله کوتاه

مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران

سال ۱۱ – شماره ۴– مهر و آبان ۱۳۹۶

Journal homepage: www.ijmm.ir

# بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و فراوانی ژن‌های بتالاکتاماز وسیع‌الطیف *TEM* و *SHV* در سویه‌های *کلبسیلا پنومونیه* جداشده از نمونه‌های خون نوزادان بستری در برخی بیمارستان‌های شهر رشت

طناز فاتحی، معصومه انوری، نجمه رنجی

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

*اطلاعات مقاله*

**تاریخچه مقاله**

**دریافت: ۱۳۹۵/۰۸/۳۰**

**پذیرش: ۱۳۹۵/۱۲/۱۵**

**انتشار آنلاین: ۱۳۹۶/۰۶/۲۱**

**موضوع:**

میکروب‌شناسی مولکولی

**IJMM 1396; 11(4): 57-63**

**نویسنده مسئول:**

**دکتر معصومه انوری**

**گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران**

**تلفن: ۰۹۸۱۳۳۳۴۲۴۰۸۰**

**پست الکترونیک:**

**anvari@iaurasht.ac.ir**

## چکیده

**زمینه و اهداف:** *کلبسیلا پنومونیه* یکی از عوامل شایع عفونت‌های بیمارستانی می‌باشد. هدف از این مطالعه تعیین میزان فراوانی ژن‌های $bla_{TEM}$ و $bla_{SHV}$ در سویه‌های *کلبسیلا پنومونیه* جداشده از نمونه‌های خون نوزادان بستری در بعضی مراکز درمانی رشت بود.

**مواد و روش کار:** در این مطالعه، ۱۶۳ جدایه در بازه زمانی ٦ ماهه از مرداد تا دی ۱۳۹٤ به دست آمد. حساسیت آنتی‌بیوتیکی به روش انتشار دیسک و تست غربالگری به روش دیسک ترکیبی بررسی شد . همچنین وجود ژن‌های $bla_{TEM}$ و $bla_{SHV}$ با استفاده از PCR موردبررسی قرار گرفت.

**یافته‌ها و نتیجه‌گیری:** از مجموع ۱٦۳ نمونه خون کشت داده‌شده، ۱٦نمونه کشت مثبت بود. تنها ۳ سویه (۱۸/۷۵ درصد) به‌عنوان *کلبسیلا پنومونیه* تشخیص داده شدند. در آزمون غربالگری اولیه از ۳ نمونه مثبت، ۲ نمونه (٦۷ درصد) تولیدکننده بتالاکتاماز وسیع‌الطیف تعیین شد. جدایه های *کلبسیلا پنومونیه* بیشترین مقاومت را نسبت به پنی‌سیلین و آموکسی‌سیلین (۱۰۰ درصد) و کمترین مقاومت را نسبت به ایمی‌پنم و سفتازیدیم (۳۳ درصد) داشتند. 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. درمجموع انتقال افقی ژن به دیگر باکتری‌ها در بیمارستان‌ها و مراکز درمانی و الگوی مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها، باید موردتوجه بیشتری قرار گیرد.

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

کپی‌رایت ©: حق چاپ، نشر و استفاده علمی از این مقاله برای مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران محفوظ است.

Downloaded from ijmm.ir at 5:00 +0430 on Tuesday May 22nd 2018

Final Proof

## مقدمه

*کلبسیلاها*، باسیل‌های گرم منفی متعلق به خانواده انتروباکتریاسه هستند، دارای رابطه ژنتیکی نسبتاً نزدیکی با سایر جنس‌های این خانواده نظیر *اشریشیا*، *سالمونلا*، *شیگلا* و *یرسینیا* می‌باشند (۱). عامل طیف وسیعی از عفونت‌ها شامل سپتی‌سمی، پنومونی، عفونت مجاری ادراری، مننژیت و آبسه‌های چرکی در اندام‌های مختلف به‌خصوص آبسه‌های کبدی هستند (۲). پنومونی کلبسیلایی بخش کوچکی از موارد پنومونی را تشکیل می‌دهد، ولی میزان مرگ‌ومیر ناشی از آن بالا و حدود ۹۰ درصد است (۳). مهم‌ترین گونه بیماری‌زا در جنس *کلبسیلا*، *کلبسیلا پنومونیه* می‌باشد. در سال‌های اخیر *کلبسیلاها* از پاتوژن‌های مهم در عفونت‌های بیمارستانی محسوب می‌شوند (۴). مقاومت بالای آن‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف و گسترش سریع آن‌ها در بخش‌های مختلف به‌خصوص در بخش نوزادان سبب سپتی‌سمی و مرگ‌ومیر بالایی می‌گردند (۵).

بتالاکتامازها آنزیم‌هایی هستند که سبب تخریب آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام می‌شوند. در حال حاضر بیش از ۵۰۰ نوع مختلف از بتالاکتامازها گزارش‌شده است. اولین مورد بتالاکتامازهای کد شده توسط پلاسمید در باکتری‌های گرم منفی

Downloaded from ijmm.ir at 5:00 +0430 on Tuesday May 22nd 2018

در کشور یونان گزارش شد و به دنبال آن باکتری‌های تولیدکننده بتالاکتاماز افزایش پیداکرده و عامل ایجادکننده عفونت‌های شدید شدند. بتالاکتامازهای با طیف گسترده گروهی از آنزیم‌های ناشی از پلاسمید هستند که قادر به تخریب سفالوسپورین‌های با طیف اثر وسیع مانند سفوتاکسیم، سفتریاکسون و سفتازیدیم هستند (۶) و عمدتاً توسط مهارکننده‌های بتالاکتاماز ازجمله کلاولانیک اسید، 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 پنومونیه*‌های 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 آزمایشگاهای تشخیصی هستند (۸). مطالعه حاضر باهدف تعیین الگوی مقاومت دارویی و بررسی میزان فراوانی ژن‌های $bla_{TEM}$ و $bla_{SHV}$ در سویه‌های *کلبسیلا پنومونیه* جداشده از عفونت خون از نمونه‌های کلینیکی شهر رشت صورت گرفت. با توجه به اینکه تاکنون در سطح استان تحقیق مشابهی بر روی نمونه‌های خون انجام‌نشده است این مطالعه در نوع خود نخستین مطالعه محسوب می‌گردد.

## مواد و روش‌ها

### تهیه نمونه‌ها

در مطالعه حاضر از مجموع، ۱۶۳ ایزوله جداشده 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* جداشده با روش‌های استاندارد میکروب‌شناسی و آزمایش‌های بیوشیمیایی مورد شناسایی قرار گرفتند. نمونه‌های خون در محیط TSB (زیست کاوش، ایران) حاوی ماده ضد انعقاد سیترات 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) منتقل‌شده 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 جداشده 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 موردبررسی شامل سفتازیدیم (۳۰ میکروگرم)، سفکسیم (۵ میکروگرم)، ایمی‌پنم (۱۰ میکروگرم)، سفتریاکسون (۳۰ میکروگرم)، سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرم)، پنی‌سیلین (۱۰ میکروگرم)، آموکسی‌سیلین (۳۰ میکروگرم)، سفوکسیتین (۳۰ میکروگرم)، سفتازیدیم/ کلاولانیک‌اسید (۱۰/۳۰ میکروگرم)، سفوتاکسیم/کلاولانیک‌اسید (۱۰/۳۰ میکروگرم) بودند. تست تأییدی تولید بتالاکتامازهای با طیف گسترده به روش دیسک ترکیبی Combination (CD) Disk با استفاده از دیسک‌های سفتازیدیم (۳۰ میکروگرم) و سفتازیدیم/ کلاولانیک‌اسید (۱۰/۳۰ میکروگرم)، سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرم) و سفوتاکسیم/کلاولانیک‌اسید (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 ازنظر تولید ESBL مثبت در نظر گرفته شد هم‌چنین MIC برای نمونه‌های موردبررسی نسبت به آنتی‌بیوتیک سفوتاکسیم و سفتازیدیم تعیین گردید.

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

Final Proof

Downloaded from ijmm.ir at 5:00 +0430 on Tuesday May 22nd 2018

استخراج شد. نمونه‌های DNA استخراج‌شده تا زمان انجام واکنش PCR در فریزر ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند.

از آزمایش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) برای شناسایی حضور ژن‌های *TEM* و *SHV* استفاده شد. توالی و مشخصات پرایمرها در جدول ۱ نشان داده‌شده 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 موردنظر 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 به‌دست‌آمده از PCR روی ژل آگارز ۱ درصد الکتروفورز شد و حضور یا عدم حضور باند در دستگاه ژل داک عکس‌برداری گردید. جهت تأیید نهایی و صحت تکثیر ژن‌های *TEM* و *SHV* محصول PCR جهت توالی‌یابی به شرکت Bioneer (کره جنوبی) ارسال گردید و توالی‌های به‌دست‌آمده با توالی‌های موجود در بانک ژنی NCBI مقایسه گردید (۱۱).

**جدول ۱: توالی و مشخصات پرایمرهای مورداستفاده برای شناسایی ESBLs**

| نام پرایمر | توالی پرایمر | طول قطعه PCR |
|---|---|---|
| $TEM_R^F$ | 5'–ATGAGTATTCAACATTTCCGTG-3'<br>5'-TTACCAATGCTTAATCAGTGAG-3' | 861bp |
| $SHV_R^F$ | 5'-ATGCGTTATTCGCCTGTG-3'<br>5'-TTAGCGTTGCCAGTGCTC-3' | 861bp |

## یافته‌ها و بحث

سپتی‌سمی، یکی از عوامل مهمی است که باعث مرگ‌ومیر نوزادان می‌شود و یک بیماری جدی تلقی می‌گردد.۱/۶ میلیون مورد مرگ‌ومیر هرساله در جهان به‌واسطه عفونت‌های نوزادان اتفاق می‌افتد که ۴۰ درصد آن‌ها در کشورهای درحال‌توسعه دیده می‌شود. باکتری‌های مقاوم (باکتری‌های متعلق به خانواده آنتروباکتریاسه) که در طبیعت به میزان زیاد گسترده می‌باشند، برای افراد جامعه یک تهدید به شمار می‌آید. با توجه به میزان بالای مقاومت چند دارویی، بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف اغلب پلاسمیدی می‌باشد، ازآنجایی‌که این پلاسمیدها، به‌راحتی در میان انواع مختلف از باکتری‌های خانواده آنتروباکتریاسه انتقال می‌یابند، تجمع ژن‌های مقاوم منجر به ایجاد سویه‌هایی با مقاومت چند دارویی می‌گردد (۱۲).

در تحقیق حاضر، تولید آنزیم بتالاکتاماز وسیع‌الطیف توسط جنس کلبسیلای ایجادکننده عفونت خون نوزادان آزمایش شد. تعداد ۱۶۳ نمونه خون، در ۶ ماهه اول سال ۱۳۹۵-۱۳۹۴ تهیه‌شده بود موردبررسی 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 نمونه‌های مثبت، ۲ نمونه (۶۷ درصد) در آزمایش دیسک دیفیوژن غربالگری اولیه، تولیدکننده بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف ESBL بودند. نتایج نشان می‌دهد، از میان آنتی‌بیوتیک‌های موردبررسی، *کلبسیلا پنومونیه*‌های جداشده به پنی‌سیلین و آموکسی‌سیلین (۱۰۰ درصد)، سفتریاکسون، سفوتاکسیم و سفکسیم (۶۶/۶۶ درصد) بیشترین مقاومت و به ایمی‌پنم و سفتازیدیم (۳۳/۳۳ درصد) کم‌ترین مقاومت را نشان دادند. اختلاف نتایج مطالعه ما با تحقیقات ذکرشده فوق می‌تواند ناشی از محل جمع‌آوری نمونه‌ها (مثل ICU، NICU) و تفاوت الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی این سویه‌ها در مناطق جغرافیایی مختلف باشد. زمان بستری شدن طولانی، مصرف زیاد آنتی‌بیوتیک ازجمله فاکتورهای مستعد کننده جهت تولید ESBLs می‌باشد. میزان مقاومت به سفتازیدیم در بین ایزوله‌های *کلبسیلا پنومونیه* حدود ۳۳ درصد و به سفوتاکسیم حدود ۶۷ درصد بود. نتایج حاصل از MIC نشان داد که ۱۰۰ درصد از نمونه‌ها به سفوتاکسیم و سفتازیدیم مقاومت نشان دادند. در تست MIC، این ایزوله‌های مقاوم به سفتازیدیم و سفوتاکسیم به ترتیب بالای ۸ µg /mL و ۴ را نشان دادند که مطابق با تفسیر CLSI، مقاوم در نظر گرفته می‌شوند.

Final Proof

Downloaded from ijmm.ir at 5:00 +0430 on Tuesday May 22nd 2018

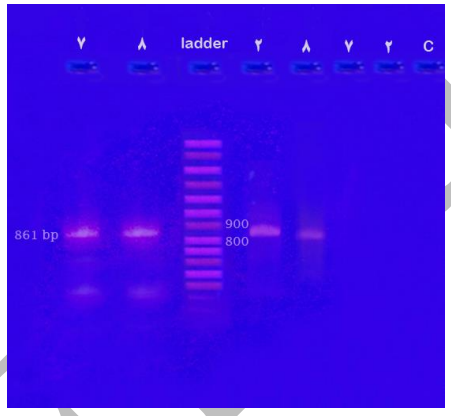
**جدول ۲: توزیع انواع ژن‌های مولد ESBLs و الگوی مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های موردبررسی بر مبنای حضور ژن‌های مختلف در سویه‌های *کلبسیلا پنومونیه*های موردبررسی**

| ژن‌ها | TEM N=1 | SHV N=3 | TEM/SHV N=1 |
|---|---|---|---|
| آنتی‌بیوتیک | (تعداد جدایه ها) و درصد مقاومت | | |
| سفتازیدیم | ٪۰ | ٪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 (۲) | ٪۱۰۰ (۱) |
| سفوتاکسیم | ٪۱۰۰ (۱) | ٪۶۶/۶۶ (۲) | ٪۱۰۰ (۱) |
| پنی‌سیلین | ٪۱۰۰ (۱) | ٪۱۰۰ (۳) | ٪۱۰۰ (۱) |

در مطالعه Udomsantisuk و همکاران در سال ۲۰۱۱ بر روی شیوع ESBL، از ۵۸ باکتری *کلبسیلاپنومونیه*، 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 سفتازیدیم (٪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 موردبررسی، شیوع ژن *SHV* بیشترین درصد آماری را به خود اختصاص داده است اما تفاوت مشاهده‌شده بین این پژوهش و پژوهش‌های ذکرشده 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. به‌علاوه تنوع روش‌های ژنوتیپی مورداستفاده در تحقیقات مختلف نیز می‌تواند از دلایل این اختلاف نتایج باشد.

نتایج توالی‌یابی ژن‌های *SHV* و *TEM* نشان داد که ژن‌های تکثیرشده در پژوهش حاضر به‌درستی تکثیرشده و همسانی بالای ٪۹۴ با ژن‌های موردنظر موجود در بانک ژن دارد.




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

Final Proof

در مطالعه‌ای مشابه توسط Riyahi Zaniani و همکاران در سال ۲۰۱۲ از ۷۸ باکتری *کلبسیلا پنومونیه*، ۵۶/۱ درصد باکتری‌ها 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 ایزوله‌های *کلبسیلا پنومونیه* تولیدکننده ESBLs در بیمارستان‌های موردمطالعه است. بر اساس این نتایج، ارگانیسم‌های مولد ESBLs در بخش‌های مختلف بیمارستانی مشاهده گردیده است. تغییر در استراتژی مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها و استفاده از ابزارهای مناسب کنترل عفونت در بخش‌هایی که به‌ویژه بیماران به مدت طولانی بستری می‌شوند

از عوامل مهمی هستند که می‌تواند در کنترل انتشار ارگانیسم‌های تولیدکننده ESBLs ایفای نقش کند. با توجه به رشد بسیار سریع مقاومت آنتی‌بیوتیکی، به دلیل استفاده بی‌رویه از این داروها، نیاز به ارزیابی الگوی مقاومت ارگانیسم‌های بیماری‌زا، به‌ویژه گونه‌های کلبسیلا دارای ژن‌های *SHV* و *TEM* مولد آنزیم‌های ESBL وجود دارد. مشخص شدن این الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی، می‌تواند به‌منظور جلوگیری از ظهور و گسترش ارگانیسم‌های مقاوم به چند دارو مورداستفاده قرار گیرد.

## تقدیر و تشکر

این مقاله تحقیقات، حاصل پایان‌نامه دانشجویی کارشناسی ارشد میکرب‌شناسی می‌باشد. 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 میکروب‌شناسی پزشکی ایران هیچ‌گونه تعارض منافعی وجود ندارد.

## 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 β-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 β-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.

Downloaded from ijmm.ir at 5:00 +0430 on Tuesday May 22nd 2018

Final Proof

10. Jorgensen JH, Turnidge JD. Susceptibility test methods: dilution and disk diffusion methods. In Manual of Clinical Microbiology, 11th 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-β-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, 8th 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 β-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.

Downloaded from ijmm.ir at 5:00 +0430 on Tuesday May 22nd 2018

Final Proof