مجله میکرب شناسی پزشکی ایران
سال ۴ شماره های ۱و۲، بهار و تابستان ۱۳۸۹، صفحات۷۳-۶۶

بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و شناسایی مولکولی بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف TEM و SHV در ایزوله‌های *اشریشیاکلی* با مقاومت چندگانه جدا شده از ادرار بیماران بستری در بیمارستان‌های کرمان، ۸۷-۱۳۸۶

شهلا منصوری[۱]،داوود کلانتر*[۱] ، مصطفی شکوهی[۲]، ثمانه عباسی[۱]

۱) گروه میکرب‌شناسی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان
۲- مرکز تحقیقات فیزیولوژی، معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کرمان
نویسنده رابط: داوود کلانتر، گروه میکرب‌شناسی ، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان.
همراه: ۰۹۱۹۳۹۱۶۶۱۰ Davoud1362@gmail.com

تاریخ دریافت مقاله: ۸۸/۱۲/۱ تاریخ پذیرش مقاله: ۸۹/۶/۱۷

چکیده:

زمینه و اهداف: *اشریشیاکلی* از عوامل شایع عفونت‌های بیمارستانی از جمله عفونت‌های ادراری است. وجود مکانیسم-های مختلف ایجاد مقاومت به ویژه بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف($ESBL_S$) درمان عفونت‌های حاصل از آن را مشکل کرده است. شناسایی الگوی مقاومت و بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف مانند TEMو SHV که شایع می‌باشند برای درمان مناسب عفونت‌های این باکتری ضروری است. هدف از این مطالعه تعیین میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های *اشریشیاکلی* جدا شده از ادرار بیماران بستری و شناسایی بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف TEMو SHV در آنها بود.

روش بررسی : این بررسی بر روی ۱۱۵ ایزوله *اشریشیاکلی* جدا شده در سال‌های ۸۷-۱۳۸٦ از بیماران مبتلا به عفونت ادراری بستری در سه بیمارستان شهر کرمان انجام شد. حداقل غلظت ممانعت کنندگی از رشد برای آنتی-بیوتیک‌های مختلف با روش رقت در آگار تعیین شد. از روش دیسک ترکیبی برای تعیین $ESBL_S$ استفاده شد. از DNA پلاسمیدی و کروموزومی جهت شناسایی ژن بتالاکتامازهای TEM وSHV با روش PCR استفاده شد.

یافته ها : ٨٦ ایزوله (۷٤/۷٪)حداقل به سه آنتی‌بیوتیک از کلاس‌های مختلف مقاوم بودند که به‌عنوان ایزوله‌هایی با مقاومت چندگانه در نظر گرفته شدند. کمترین میزان مقاومت به سفتیزوکسیم در ۷ (۱٤/۷٪) ایزوله و بیشترین مقاومت به آموکسی‌سیلین و تری متوپریم/ سولفامتوکسازول به ترتیب در ۱۰۸ (۹٤٪) و ۱۱۰ (۹۵٪) ایزوله بود. جمعاً ۷٦ ایزوله (٦٦٪) تولید کننده $ESBL_S$ بودند. در آزمایش PCR بر روی DNA پلاسمیدی و کروموزومی در مجموع ٤۸ ایزوله (٤۱/۷٪) دارای ژن TEM و ۳۹ ایزوله (۳۳/۹٪) دارای ژن SHV و ۲۰ ایزوله (۱۷/۳٪) دارای هر دو ژن بودند.

نتیجه گیری: مقاومت چندگانه در ایزوله‌های *اشریشیاکلی* در عفونت‌های ادراری زیاد است. به علت مقاومت بالا، تری متوپریم/ سولفامتوکسازول و آموکسی‌سیلین جهت درمان عفونت‌های ادراری ناشی از این باکتری توصیه نمی‌شوند. در مجموع فراوانی ژن TEM بیشتر از SHV است.

واژه های کلیدی :عفونت بیمارستانی، عفونت ادراری، بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف ، مقاومت چندگانه، *اشریشیاکلی*

مقدمه:

عفونت مجاری ادراری(UTI) یکی از شایع ترین عفونت-های بیمارستانی می باشد، که ممکن است با علامت یا بدون علامت باشد. اگرچه چندین نوع میکروارگانیسم از جمله قارچ‌ها، ویروس‌ها و باکتری‌ها می‌توانند باعث عفونت‌های ادراری شوند ولی باکتری‌ها از مهم‌ترین و شایع‌ترین عوامل هستند(۱). این عفونت‌ها از مخازن و منابع مهم گسترش باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک در بیمارستان‌ها به شمار می روند، که سبب افزایش هزینه‌های درمانی عفونت‌های حاصل از این نوع باکتری‌ها می شوند(۲). امروزه درمان بیماران مبتلا به عفونت با باکتری‌ها به‌علت افزایش مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها در دنیا با مشکل مواجه شده است(۳). در این رابطه ایزوله‌های دارای فنوتیپ مقاومت به چند دارو (Multiple Drug Resistance)از اهمیت خاصی برخوردارند. استفاده وسیع و نادرست از عوامل ضدمیکربی، در بین دیگر عوامل خطر منجر به ایجاد باکتری‌های مقاوم به چند دارو می گردد. *اشریشیاکلی* یکی از شایع‌ترین عوامل ایجاد کننده عفونت‌های ادراری است. بیش از ۸۵ ٪ عفونت‌های دستگاه ادراری به‌خصوص در زنان جوان و حامله به وسیله این ارگانیسم ایجاد می‌شود. این عفونت‌ها به‌صورت سیستیت، پیلونفریت، سالیژیت و باکتریوری مشاهده می-شوند (٤).

یکی از عوامل اصلی مقاومت در این باکتری پیدایش آنزیم‌های بتالاکتاماز به‌ویژه بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف ($ESBL_S$) است. در اکثر موارد مقاومت اکتسابی بتالاکتامازها سبب مقاوم شدن باکتری به طیف وسیعی از سایر آنتی‌بیوتیک‌ها نظیر فلوئوروکئینولون‌ها، آمینو گلیکوزیدها و غیره می گردد که درمان عفونت‌های حاصل از این باکتری را با مشکلات جدی روبرو می‌سازد (۵). این آنزیم‌ها که بسیاری از آنها بتالاکتاماز وسیع‌الطیف (ESBLs) نامیده می‌شوند، به چهار گروه اصلی A تا D تقسیم می شوند. گروه A که سبب هیدرولیز پنی‌سیلین، سفالوسپورین‌های با طیف اثر کم و وسیع می‌شود، شامل TEM.1,TEM.2و SHV.1 است. این گروه تا کنون در باکتری‌هایی مانند *اشریشیاکلی* و *کلبسیلا پنمونیه* شناسایی شده‌اند. گروه B ، شامل متالوبتا لاکتامازهای وابسته به روی(Zn) می‌باشند که قادر به هیدرولیز کارباپنم‌ها هستند. این گروه در باکتری‌هایی مانند *پسودوموناس آئروژینوزا* و *سراشیامارسنس* گزارش شده‌است. گروهC ،که از آنها می-توان AmpCها را نام برد ، قادر به تجزیه سفومایسین‌ها می‌باشند. گروه D، بتالاکتاماز با قدرت هیدرولیز زیاد مانند OXA بر علیه اکساسیلین و کلوکساسین هستند که اسید کلاولانیک به‌طور ضعیف از فعالیت آنها جلوگیری می-کند(٦). در این تقسیم‌بندی آنزیم‌های بتالاکتامازهای وسیع الطیف TEMوSHV که در گروه A قرار دارند به طور وسیعی در *اشریشیاکلی* گزارش شده‌اند، این آنزیم‌ها سبب هیدرولیز آمپی‌سیلین، کاربنی‌سیلین، اکساسیلین، سفالوتین و سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف می‌گردند و معمولا توسط ژن‌های پلاسمیدی رمز دهی می شوند(۷). مقاومت در برابر آنتی بیوتیک‌ها به‌ویژه سفالوسپورین‌های وسیع الطیف و حتی سفالوسپورین های نسل چهارم مانند سفپیم و سایر آنتی‌بیوتیک‌ها مانند کینولون‌ها و نیز تری‌متوپریم/ سولفامتوکسازول که زمانی درمان انتخابی برای بسیاری از عفونت‌های ایجاد شده توسط این باکتری بود مشکلات جدی را در درمان به‌وجود آورده است(۳). بسیاری از ژن-های رمز دهی کننده عوامل مقاومت مانند TEM و SHV بر روی پلاسمیدهای قابل انتقال قرار دارند. بنابراین، بررسی الگوی مقاومت دارویی و شناسایی ژن‌های بتالاکتامازهای شایع، که امروزه یکی از دلایل اصلی مقاومت این باکتری می باشند، ضرروری است. این مطالعه با هدف تعیین میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های *اشریشیاکلی* جدا شده از ادرار بیماران بستری در بیمارستان‌های کرمان و شناسایی بتالاکتامازهای وسیع الطیف TEM وSHV در سال‌های ۱۳۸۷-۱۳۸٦انجام شد.

مواد و روش ها :

این مطالعه توصیفی درسال ۸۷-۱۳۸٦ بر روی ۱۱۵ ایزوله *اشریشیاکلی* انجام پذیرفت. ایزوله‌ها از نمونه ادرار بیماران بستری در دو بیمارستان دانشگاهی و یک بیمارستان تامین اجتماعی (بیمارستان های افضلی پور، شهید باهنر و آیتا.. کاشانی) جدا شدند. نمونه‌هامربوط به بیماران مبتلا به عفونت ادراری بود که شمارش کلنی آنها معادل یا بیشتر از 10^5 باکتری در هر میلی لیتر بود. ایزوله‌ها بعد از تعیین هویت در محیط کشت تریپتیکاز سوی براث (Trypticase Soy broth: TSB) (شرکت Merck) حاوی ٤۰٪ گلیسرول و در ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. مقاومت ایزوله‌ها به ایمیپنم، سفوتاکسیم، سفالکسین، نالیدیکسیک اسید، سفتازیدیم، آموکسی‌سیلین، سفالوتین،

سفتی زوکسیم، تتراسایکلین، تری‌متوپریم سولفامتوکسازول ،جنتامایسین و سیپروفلوکساسین (تهیه شده از شرکت MAST)با روش رقت در آگار به‌وسیله دستگاه Hand inculator(MAST) تعیین شد. برای مقاومت به سفپیم از روش انتشار از دیسک استفاده شد(۸). ایزوله‌ای که در روش رقت در آگار به یک یا چند سفالوسپورین وسیع الطیف مقاوم بود از نظر آنزیم‌های ESBLs بررسی می‌شد. برای شناسایی آنزیم‌های ESBLs از روش دیسک ترکیبی استفاده شد. دیسک‌های سفتازیدیم، سفوتاکسیم و سفپودکسیم با غلظت ۳۰µg به تنهایی و همراه با کلاوولانیک اسید (۱۰µg) (تهیه شده از شرکت MAST) به فاصله ۲ سانتی‌متر از یکدیگر بروی محیط تلقیح شده قرار داده شد. طبق دستورالعمل شرکت سازنده، ایزوله‌هایی ESBL مثبت منظور می‌شدند که در آنها نسبت قطر هاله عدم رشد دیسک حاوی کلاوولانیک اسید همراه با سفالوسپورین به دیسک حاوی سفالوسپورین به تنهایی مساوی یا بیشتر از ۱/۵ سانتی‌متر بود(۹).از سویه‌های استاندارد *E.coli ATCC 25922*، *Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853* و *Klebsiella pneumoniae ATCC* 700603 به ترتیب به‌عنوان شاهدهای آنتی بیوگرام و تولید ESBLs استفاده شد(۱۰)

استخراج DNA: ایزوله‌های تولید کننده ESBLs برای شناسایی بتالاکتامازهای TEM و SHV به روش PCR بررسی شدند. از کیت استخراج پلاسمید شرکت Bioneer جهت بررسی پلاسمیدی استفاده شد و DNA کروموزومی به روش فنل کلروفرم استخراج شد(۱۱)

برای شناسایی ژن‌های بتالاکتامازهای bla_{SHV} و bla_{TEM} آزمایش PCR با دستگاه ترموسایکلر MWG(Primus) و در شرایط زمانی و دمایی زیر انجام شد. مرحله اول (Initial Denaturation) یک سیکل در ۹۵ °C به مدت یک دقیقه برای DNA پلاسمیدی و سه دقیقه برای DNA کروموزومی، مرحله دوم(Denaturation)، ۲۵ سیکل در ۹۵ °C به مدت یک دقیقه، مرحله سوم (Annealing)، ۲۵ سیکل به مدت یک دقیقه در ۶۰ °C برای ژن SHV و ۴۸ °C برای ژن TEM، مرحله چهارم (Extension) ۲۵ سیکل به مدت یک دقیقه در ۷۲ °C و مرحله نهایی(Final Extension) یک سیکل به مدت ۱۰ دقیقه در ۷۲ °C.

پرایمرهای F با توالی 5′-AAGATCCACTATCGCCAGCAG-3′ و R با توالی 5′-ATTCAGTTCCGTTTCCCAGCGG-3′، برای آمپلیفیکاسیون ژن bla_{SHV} به طول 200bp، F با توالی 5′-GAGTATTCAACATTTCCGTGTC-3′ و R با توالی 5′-TAATCAGAGGCACCTATCTC-3′ برای آمپلیفیکاسیون ژن bla_{TEM} به طول 800bp انتخاب شدند و از شرکت سینا ژن تهیه شدند(۱۲).

مخلوط واکنش PCR شامل ۱۲/۵µl از PCR Master Mix تهیه شده از شرکت سیناژن، ۹/۵µl آب دیونیزه استریل و ۱µl از هر یک از پرایمرها برای هر ژن بعلاوه ۱µl از DNA الگو بود. محصولات PCR بر روی ژل آگاروز(سیناژن) ۱/۵٪ با بافر Tris- borate EDTA(TBE) الکتروفورز شد. ژل با محلول اتیدیوم بروماید(Merck) ۰/۵ µg/ml رنگ شد. برای مشاهده ژن‌های TEM و SHV از دستگاه UV gel documentation استفاده شد. در کلیه مراحل PCR از *Klebsiella pneumoniae ATCC* 700603 به عنوان شاهد مثبت برای ژن TEMو SHV استفاده شد(۱۳). جهت تعیین اندازه محصول PCR از DNA مارکر (100bp DNA Ladder) شرکت Fermentas استفاده شد.

یافته ها:

حداقل غلظت مهار رشد (MIC): میزان MIC ایمیپنم در تمام (۱۰۰٪) ایزوله‌ها مساوی یا کمتر از ۸ میکروگرم در میلی‌لیتر بود که نشان دهنده حساسیت کامل به این آنتی‌بیوتیک بود. تمام (۱۰۰٪) ایزوله‌ها حداقل به دو آنتی بیوتیک مقاوم بودند. ۸۶ ایزوله (۷۴/۷٪) حداقل به سه آنتی بیوتیک از کلاس‌های مختلف مقاوم بودند که به‌عنوان مقاومت چندگانه (Multiple drug resistance (MDR : در نظر گرفته شدند. بیشترین مقاومت به‌طور همزمان مربوط به تری‌متوپریم سولفامتوکسازول، آموکسی‌سیلین و تتراسایکلین بود. در ۶۳ ایزوله (۵۵٪) مقاومت به چهار کلاس از آنتی‌بیوتیک‌های متفاوت دیده شد. کمترین مقاومت دارویی ایزوله‌ها مربوط به سفتیزوکسیم و بیشترین مقاومت به تری‌متوپریم سولفامتوکسازول بود(جدول ۱).

تولید بتالاکتامازهای وسیع الطیف (ESBLs) : ۷۶ ایزوله(۶۶٪) به روش دیسک ترکیبی تولید کننده ESBL بودند(شکل ۱).

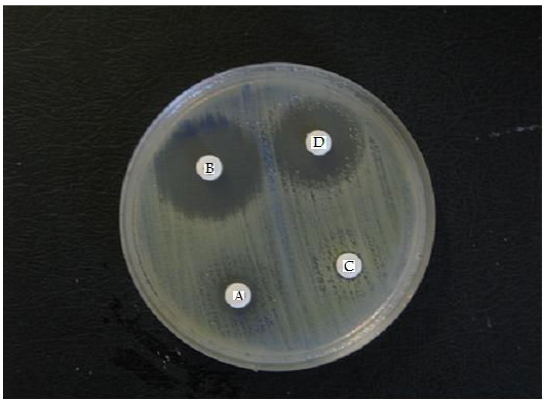
جدول ۱: مقاومت دارویی ایزوله‌های *اشریشیاکلی*

داروی ضد میکروبی	مقاوم تعداد(درصد)	MIC(µg/ml)		
		MIC_{50} *	MIC_{90} **	محدوده MIC حداقل(حداکثر)
سفتی زوکسیم	۱۷ (۱٤/۷)	۱٦	٦٤	۳۲(۱۲۸)
جنتامایسین	٤۷(٤۰)	۸	۱۲۸	۸(۱۰۲٤)
سفوتاکسیم	۵۱(٦۷)	٦٤	۱۲۸	۳۲(۱۰۲٤)
سیپروفلوکساسین	۵۷ (٤۹/۵)	۱۲۸	۵۱۲	٤(۱۰۲٤)
سفتازیدیم	۷٤ (٦٤)	۱۲۸	۵۱۲	۳۲(۱۰۲٤)
سفالکسین	۸٤ (۷۱/۳)	۱۰۲٤	۱۰۲٤	۳۲(۱۰۲٤)
نالیدیکسیک اسید	۸٦ (۷٤/۷)	۱۰۲٤	۱۰۲٤	۳۲(۱۰۲٤)
تتراسایکلین	۹٤(۸۱/۷)	۱۲۸	۵۱۲	۱٦(۱۰۲٤)
آموکسی سیلین	۱۰۸ (۹٤)	۱۰۲٤	۱۰۲٤	۳۲(۱۰۲٤)
تری متوپریم/ سولفامتوکسازول	۱۱۰ (۹۵)	۱۰۲٤	۱۰۲٤	۸(۱۰۲٤)
سفپیم	۳۸(۳۳)	n.d	n.d	n.d

*. حداقل غلظت مهار رشد برای ۵۰٪ ایزوله‌ها

**. حداقل غلظت مهار رشد برای ۹۰٪ ایزوله‌ها

n.d. تعیین نشده‌است.

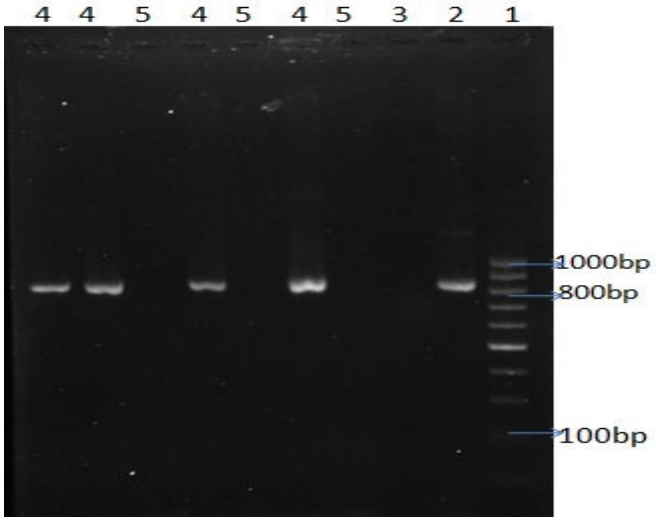


شکل ۱ : *اشریشیاکلی* تولید کننده بتالاکتاماز وسیع‌الطیف.

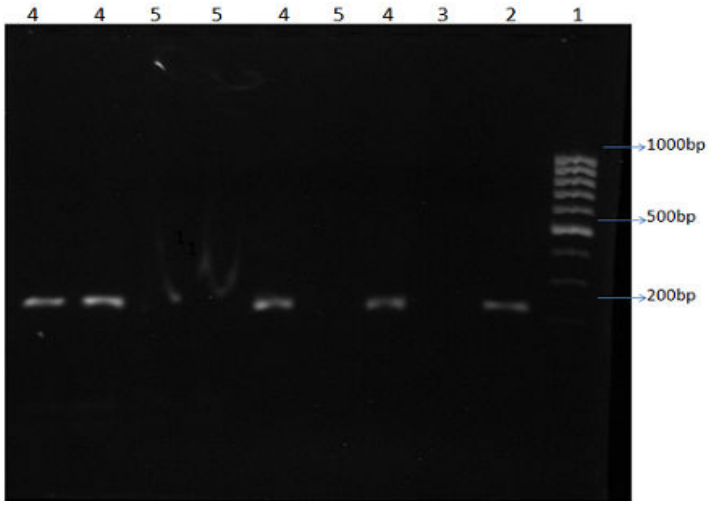
(A= Cefotaxime; B= Cefotaxime + Clavulanic acid; C= Ceftazidime; D= Ceftazidime + Clavulanic acid)

اسید کلاولانیک باعث مهار آنزیم‌های بتالاکتاماز و تشکیل هاله عدم رشد شده است.

آزمایش PCR بر روی DNA پلاسمیدی نشان داد که ٦٠ ایزوله (۷۸/۹٪)، از ۷٦ ایزوله تولید کننده ESBL با مقاومت چند گانه، دارای ژن‌های TEM و SHV بودند. ۳۰ ایزوله (۳۹/۵٪) ژن TEM، ۳۰ ایزوله (۳۹/۵٪) ژن SHV و١٤ ایزوله (١٨/٤٪) دارای هر دو ژن بودند. درآزمایش PCR بر روی DNA کروموزومی ۵۸ ایزوله (۷٦/۳٪)، از ۷٦ ایزوله تولید کننده ESBL با مقاومت چند گانه، دارای ژن‌های TEM و SHV بودند. ٣٦ ایزوله (٤٧/٣٪) ژن TEM، ۲۲ ایزوله(۲۸/۹٪) ژن SHV و ۹ ایزوله(۱۱/۸٪) دارای هر دو ژن بودند. ٦٧ ایزوله (۸۸/۳٪) تولید کننده ESBL دارای بتالاکتامازهای TEM و SHV بودند. ٤٨ ایزوله(٦٣/١٪) ژن TEM ، ۳۹ ایزوله (۵۱/۳٪) ژن SHV و ۲۰ ایزوله(۲٦/۳٪) دارای هر دو ژن بودند. ۱۲ ایزوله (۱۵/۷٪) بتالاکتامازهای TEM و SHV پلاسمیدی و ۱۵ ایزوله (۱۹/۷٪) کروموزومی داشتند. (شکل‌های ۲و۳).



شکل ۲: شماره ۱ مارکروزن مولکولی، شماره۲ شاهد مثبت ژن TEM(800bp)، شماره‌های ۳و۵ شاهد منفی، شماره ٤ ایزوله حاوی ژن TEM



شکل ۳ : شماره۱ مارکروزن مولکولی، شماره ۲ شاهد مثبت ژن SHV(200bp) ، شماره‌های ۳و۵ شاهد منفی، شماره ٤ ایزوله حاوی ژن SHV

بحث :

اشریشیاکلی یکی از عوامل اصلی عفونت‌های بیمارستانی به‌ویژه عفونت‌های مجاری ادراری است. متاسفانه مصرف بی‌رویه و نادرست آنتی بیوتیک‌ها موجب بروز پدیده مقاومت به اکثر آنها در ایران و جهان شده است (۱٤).

در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰٦ در ژاپن برروی *اشریشیاکلی* جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت‌های ادراری صورت گرفت ۵۰درصد تولید کننده ESBLs بودند که نشان دهنده سیر افزایشی مقاومت به آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام از سال ۱۹۹۷ تا سال ۲۰۰۳ در این کشور است(۱۵). در بررسی‌های سال‌های ۱۹۹۹تا ۲۰۰٤ در اروپا برروی *اشریشیا کلی* جدا شده از عفونت‌های ادراری مقاومت به آموکسی سیلین و آمپی سیلین ٦۰ درصد و به تری متوپریم سولفومتکسازول ۱۰تا ۳۰ درصد گزارش شده‌است (۱٦).

در مطالعه سال ۲۰۰٦ در تایوان کلیه ایزوله‌های *اشریشیا کلی* ادراری به سفتازیدیم مقاوم و تولید کننده ESBLs بودند. هیچکدام از ایزوله‌ها به سفپیم و ایمیپنم مقاوم نبودند(۱۷). در مطالعه‌ای (۲۰۰۹) در نیوزیلند ٦۵/۵ درصد از ایزوله‌های ادراری *اشریشیا کلی* به بیش از سه آنتی-بیوتیک مختلف مقاوم بودند. بیشترین مقاومت به سیپروفلوکساسین، تری‌متوپریم و توبرامایسین بود، اما هیچکدام به ایمیپنم مقاوم نبودند(۱۸). در تهران در سال ۲۰۰٦ تمام ایزوله‌های *اشریشیاکلی* جدا شده از عفونت‌های ادراری به آموکسی سیلین مقاوم بود. میزان مقاومت آنها به سفالکسین ،سفتیزوکسیم و سفوتاکسیم به‌ترتیب ۵۰ درصد، ۱/۳ درصد و ۲/٦ درصد و میزان شیوع بتالاکتامازهای TEM وSHV به ترتیب ٦۰ درصد و ۲٦ درصد گزارش شده است (۱۹). مقایسه این بررسی و مطالعه حاضر نشان دهنده بالا بودن میزان این نوع از بتالاکتامازها در کشور است. در بررسی که در سال ۱۳۸٦ بروی ۲۰۰ ایزوله *اشریشیاکلی* جمع‌آوری شده از بیمارستان‌های شهر تهران انجام شد ۸۳.۵ درصد از مقاومت‌های دارویی مربوط به نمونه‌های ادراری جدا شده بود. در این بررسی ۵۲/۵ درصد از نمونه‌ها تولید کننده ESBL بودند که مانند مطالعه حاضر کمترین مقاومت دارویی به سفتی‌زوکسیم بود و هیچ نوع مقاومتی به ایمیپنم گزارش نشد(۲۰). بیشتر گزارشات در مورد مقاومت دارویی و تولید ESBLs در ایزوله‌های *اشریشیاکلی* جدا شده از عفونت‌های ادراری در ایران نشان دهنده حساسیت بسیار بالای آنها به ایمیپنم و سفتی‌زوکسیم است. بیشترین میزان مقاومت به آموکسی-سیلین, تری متوپریم/ سولفامتوکسازول و تتراسایکلین است(۲، ۲۲-۲۰).

در بررسی حاضر شیوع تولید بتالاکتامازها ٦٦ درصد و مقاومت چندگانه۷٤/۷ درصد است. هرچند میزان مقاومت دارویی ایزوله‌های دارای ژن TEM به برخی آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام به‌ویژه سفپیم و سفوتاکسیم به میزان قابل توجهی نسبت به ایزوله‌های دارای ژن SHV بالاتر بود، اما این اختلاف معنی دار نبود. درمطالعه مشابه که در سال ۲۰۰۲ در همین منطقه انجام شد نیز بیشترین مقاومت مربوط به سه آنتی‌بیوتیک تری‌متوپریم/ سولفامتوکسازول، آموکسی سیلین و تتراسایکلین بود. ولی مقاومت به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها به‌ویژه بتالاکتام افزایش داشته است. به‌طوری که مقاومت به سفتی‌زوکسیم از صفر به حدود ۱٤/۷ درصد افزایش یافته است و مقاومت به جنتامایسین از ۱۱ درصد به ٤۰ درصد افزایش داشته-است(۲۳). در صورت نیندیشیدن تدابیر خاص برای کنترل تجویز و مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها در کشور در اینده با مشکلات جدی در درمان عفونت‌ها به‌ویژه عفونت‌های بیمارستانی مواجه خواهیم شد. این پدیده بیشتر توسط ایزوله‌های دارای مقاومت چندگانه خواهد بود که سبب مرگ و میر بیشتر خواهد شد(۲٤).

از مقاومت نسبت به سفپیم در این ناحیه اطلاعاتی وجود ندارد. لذا، نتایج حاصل از این مطالعه نشان دهنده مقاومت به سفپیم در این ناحیه است. به‌علاوه، مقاومت به ایمیپنم و آنتی‌بیوتیک‌های هم خانواده آن در باکتری‌هایی مانند *کلبسیلا پنمونیه* و *پسودوموناس آئروژینوزا* گزارش شده است(۲٦،۲۵).

طیف وسیعی از تایپ‌های بتالاکتامازهای TEM و SHV به‌صورت کروموزومی و پلاسمیدی گزارش شده-اند. TEM-12 ، TEM-6,28,43 و SHV-6,4,2,1 به صورت کروموزومی و تعدادی مانند SHV-18 به‌صورت پلاسمیدی هستند. در این صورت توانایی انتقال آنها به ایزوله‌های حساس وجود دارد که به راحتی در محیط‌های بیمارستانی از یک ایزوله مقاوم به یک ایزوله حساس منتقل می‌شود. پس درمان عفونت‌های حاصل از آنها هم با مشکلات جدی روبرو می‌شوند (۲۷، ۲۸). برای تعیین منشاء کروموزومی و یا پلاسمیدی ژن‌ها به بررسی‌های دقیق‌تری مانند کونژوگیشن، Curing(حذف پلاسمید) و تعیین توالی نیاز می‌باشد تا مکان واقعی این ژن‌ها تعیین

شود. صرف نظر از مکان واقعی ژن‌ها، مسئله مهم ایجاد مقاومت و چگونگی جلوگیری از شیوع هر چه بیشتر آنها است.

نتیجه گیری:

میزان مقاومت ایزوله‌های ادرای *اشریشیاکلی* در بیماران بستری به آنتی بیوتیک‌ها زیاد است و مقاومت چندگانه در آنها شایع است. وجودآنزیم‌های بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف TEM وSHV نیز باعث مقاومت به طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌ها به‌ویژه سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف می گردد. در نتیجه درمان عفونت‌های حاصل از این نوع ایزوله‌ها مشکل و پر هزینه می شود.

مطالعات نشان دهنده افزایش مقاومت‌های دارویی در کشور است. با روند رو به افزایش مقاومت‌های دارویی، عدم اقدام مناسب در کنترل تجویز و مصرف منطقی آنتی بیوتیک‌ها و عدم شناسایی ایزوله‌های تولید کننده آنزیم-های بتالاکتاماز در آزمایشگاها در اینده نه تنها سفالوسپورین‌های نسل سوم بلکه داروهای جدیدتر و با طیف اثر وسیع‌تر مانند سفپیم دیگر در درمان عفونت‌های حاصل از این باکتری کارایی مناسب نخواهند داشت.

تقدیر و تشکر:

در پایان مولفان سپاس خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کرمان به خاطر تامین بودجه این طرح تحقیقاتی اعلام می‌دارند.

فهرست مراجع:

1. Struelens M J, Denis O, Villalobos H R. Microbiology of nosocomial infections: progress and challenges. *Microbes Infection* 2004; **6**: 1043–1048.

2. Farajnia S, Alikhani M Y, Ghotaslou R ,Naghili B , Nakhlband A. Causative agents and antimicrobial susceptibilities of urinary tract infections in the northwest of Iran. *Int J Antimicrob Agents* 2009; **13**: 140-144.

3. Paterson L D. Resistance in Gram-negative Bacteria : *Enterobacteriaceae*. *Am J Med* 2006 **; 119**(6A): 20-8

4. Paterson L D, Bonomo A R. Extended-Spectrum β-Lactamase: a clinical Update. *Clin Microbiol Rev* 2005; **18**(4): 657-86.

5. Poole K . Resistance to *β*-lactam antibiotics. *CMLS, Cell. Mol. Life Sci* 2004; **61**: 2200–2223.

6. Jacoby A George , Munoz-Price LS. Mechanisms of disease the new β-lactamase. *N Engl J Med* 2005; **325**: 380-91.

7. Helfand MS , Bonomo RA. Current challenges in antimicrobial chemotherapy: the impact of Extended-Spectrum β-lactamases and metallo-β-lactamases on the treatment of resistant Gram-negative pathogens. *Curr Opin Pharmacol* 2005; **5**:452–458.

8. Jesudason M V, Kandathil A J, Balaji V. Comparison of two methods to detect carbapenemase & metallo-β- lactamase production in clinical isolates. *Indian J Med Res* 2005;121: 780-783.

9. Bradford P A. Extended-Spectrum β-Lactamases in the 21st Century: characterization, epidemiology, and detection of this tmportant resistance threat. *Clin Microbiol Rev* 2001; **14**:933-951.

10. Joon Park Y, Young Park S, Oh Jee E, Park Jun J, Lee Young K, Woo Jo G, *et al*. Occurrence of extended-specterum β-lactamase among chromosomal AmpC-producing *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, and *Serratia marcescens* in korea and investigation of screening criteria. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005; **51**: 265-69.

11. Chachaty E , Saulnier P. *Isolating chromosomal DNA from Bacteria*. *The Nucleic Acid Protocols Handbook*. Totowa ,New Jersey; Humana Press . 2000 ; PP:;29-32.

12. Shakibaie M R, Shahcheraghi F, Hashemi A, Adeli N S. Detection of TEM, SHV and PER type extended-spectrum β-lactamase genes among clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burnt patients at Shafa-hospital, kerman . *Iranian J Basic Med Sci* 2008; **11**(2): 49-54.

13. Coudron PE. Inhibitor-based methods for detection of plasmid –mediated AmpC β-lactamases in *Klebsiella spp*, *Escherichia coli*, and *Proteus mirabilis. J Clin Microbiol* 2005; **43**(8):4163-4167.

14. Baum VH, Marre R. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* and therapeutic implications. *Int J Med Microbiol*.2005;**295**:503-511

15. Tetsuro Muratani T, Matsumoto T . Urinary tract infection caused by fluoroquinolone- and cephem-resistant *Enterobacteriaceae*. *Int J Antimicrob Agents*2006; 28 : 10-13.

16. Denton M. *Enterobacteriaceae*. *Int J Antimicrob Agents* 2007; **3**:9-22.

17. Wu TL, Chia JH, Su LH, Chiu CH, Kuo AJ. Ma L, *et al*. CMY-2 β-lactamase-carrying community-acquired urinary tract *Escherichia coli*: genetic correlation with *Salmonella enterica*serotypes *Choleraesuis* and *Typhimurium*. *Int J Antimicrob Agents* 2007; **29**: 410-416.