ORIGINAL ARTICLE

Prevalence of Beta-lactamases Genes and Antibiotic Resistance Pattern of Klebsiella pneumoniae Isolated from Teaching Hospitals, Sari, Iran, 2014

Mohammad Ahanjan [1],
Fatemeh Naderi [2],
Arya Solimanii[3]

[1]Associate Professor, Department of Microbiology, Infectious Diseases Research Center with Focus on Nosocomial Infection Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[2] General Practitioner, Student Research Commiittee , Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[3] Assistant Professor, Department of Anesthesiology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received Jan 19, 2016 Accepted March 6, 2017)

Abstract

Background and purpose: *:* Klebsiella pneumoniae has emerged as a significant opportunistic pathogen responsible for nosocomial infections. This bacteria is frequently resistant to multiple classes of antibiotics such as family of beta-lactam antibiotics. β-lactamases enzyme represent the main mechanism of bacterial resistance to β-lactam antibiotics. This study was conducted to determine the prevalence of TEM-1and CTX β-lactamases in Klebsiella pneumoniae isolates from the hospitals in sari, Iran.

Materials and methods: The study included 45 *Klebsiella pneumoniae* isolates that were isolated from various clinical specimens. Susceptibility of isolates to antibiotics was determined by standard disk diffusion method. ESBL production was determined by combination disk method. The resistance of TEM and CTX types of ESBL producing genes was identified by PCR test using specific primers. Data analysis was done in SPSS V16 applying Chi-square test.

Results: Among all Klebsiella pneumoniae isolates, the highest resistance was seen against cefotaxime (100%) and ceftazidim (100%), while the highest susceptibility was observed to gentamycin (63%). According to the results, 60% of isolates were ESBL positive and among them 55% and 45% were positive for blaTEM and blaCTX genes, respectively.

Conclusion: : In this study drug resistance of Klebsiella pneumoniae isolates was observed in 60% of blaTEM and blaCTX genes, therefore, other mechanisms such as efflux pumps and biofilm formation can have a role in drug resistance.

Keywords: Klebsiella pneumonia, antimicrobial resistance, β-lactamases genes

J Mazandaran Univ Med Sci 2017; 27 (149):79-87 (Persian).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-28]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و هفتم شماره 149 خرداد سال 1396 (87-79)

بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی و شیوع ژن های بتالاکتامازی کلبسیلا پنومونیه در بیمارستان های آموزشی دانشگاه علوم پزشکی مازندران 1393

محمد آهنجان[1]
فاطمه نادری[2]
آریا سلیمانی[3]

چکیده

سابقه و هدف: کلبسیلا پنومونیه به عنوان پاتوژن فرصت طلب در بروز عفونت‌های بیمارستانی نقش دارد. این باکتری غالباً به چندین کلاس از آنتی بیوتیک ها از جمله خانواده بتالاکتام ها مقاومت دارد. این مطالعه به منظور تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی و شیوع ژن های بتالاکتامازی TEM و CTX در ایزوله های کلبسیلا پنومونیه جدا شده از بیمارستان‌های آموزشی شهرستان ساری انجام گرفته شده است.

مواد و روش‌ها: این مطالعه بر روی 45 ایزوله کلبسیلا پنومونیه که از نمونه های بالینی مختلف جمع آوری شده بودند، انجام گرفت. حساسیت ایزوله ها نسبت به آنتی بیوتیک ها با روش انتشار دیسک های استاندارد (کربی –بائر) تعیین شد. برای شناسایی ایزوله های مولد بتالاکتاماز از روش دیسک ترکیبی استفاده شد. برای بررسی وضعیت مقاومت ژن های بتالاکتامازی TEM و CTX از روش PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی انجام گرفت. شاخص های آماری با کمک نرم افزار SPSS ویرایش 16 محاسبه شد و از تست آماری کای دو برای تحلیل یافته ها استفاده شد. مقادیر P <0/05 معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: نتایج به دست آمده نشان داد که بیش‌ترین مقدار مقاومت در برابر آنتی بیوتیک های سفوتاکسیم (100 درصد) و سفتازیدیم (100 درصد) بود، در حالی که جنتامایسین (63 درصد) بیش‌ترین مقدار حساسیت را نشان داد. نتایج حاصل نشان داد که 60 درصد از ایزوله ها، مولد ESBL بودند و فراوانی ژن های TEM و CTX به ترتیب 55 و 45 درصد تعیین گردید.

استنتاج: نتایج این مطالعه نشان داد که میزان مقاومت دارویی در کلبسیلا پنومونیه تنها در 60 درصد از ایزوله‌های دارای CTX و TEM مشاهده شده است که مربوط به ژن های کلاس بتالاکتامازی هستند؛ لذا مکانیسم‌های دیگری هم‌چون افلاکس پمپ‌ها و تشکیل بیوفیلم در ایجاد مقاومت دارویی نقش به سزایی دارند.

واژه های کلیدی: کلبسیلا پنومونیه، الگوی آنتی بیوتیکی، ژن های بتالاکتاماز

مقدمه

امروزه ایجاد مقاومت‌های دارویی در باکتری‌های بیماری‌زا نسبت به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها، نقشی مهم و اساسی در عدم کنترل و درمان عفونت های باکتریایی دارند و به عنوان یک نگرانی عمده در جوامع بشری

مولف مسئول: محمد آهنجان - ساری، کیلومتر 18 جاده خزرآباد - دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران Email: ahanjan2007@gmail.com
1. دانشیار میکروبشناسی دانشگاه علوم پزشکی مازندران
2. مرکز تحقیقات عفونی با گرایش عفونت های بیمارستانی دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ایران
3. استادیار دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مازندران
تاریخ دریافت : 1395/10/30 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : 1395/11/4 تاریخ تصویب : 1395/12/16

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-28]

مطرح می‌باشند(1). کلبسیلا پنومونیه یکی از باکتری‌های گرم منفی است که به این شیوه نسبت به آنتی‌بیوتیک ها مقاومت کسب می کند و به عنوان پاتوژن فرصت‌طلب در بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه عامل مهمی در پیدایش عفونت‌های بیمارستانی و عفونت‌هایی همچون پنومونی، منتژیت، عفونت دستگاه ادراری، باکتریمی و عفونت زخم در سوختگی، همراه با مقاومت چندگانه دارویی می‌باشد(15، 16). آنتی‌بیوتیک های خانواده بتالاکتام از جمله مهم‌ترین این داروها می باشند که به طورگسترده در درمان استفاده می شود. راهکار باکتری ها به خصوص باکتری‌های گرم منفی برای مقابله با آنان، تولید آنزیم‌های بتالاکتامازی است(2). مصرف بی رویه این آنتی‌بیوتیک‌ها منجر به ایجاد گروهی دیگر از آنزیم‌های بتالاکتامازی به نام بتالاکتامازهای طیف گسترده شده است. این آنزیم‌ها بر اساس ویژگی‌های ساختاری به 4 گروه A، B، C و D تقسیم شده که گروه های A، C و D بر اساس مکانیسم سرین و گروه B برای انجام عملکرد خود نیازمند عنصر روی می‌باشد و متالوبتالاکتاماز محسوب می‌شود. از مهم‌ترین ESBLهایی که مورد بررسی قرار گرفته اند، TEM و CTX می باشند(3- 1).

TEM1 در سال 1960 به عنوان اولین آنزیم بتالاکتامازی در باکتری های گرم منفی که انتقال آن به واسطه پلاسمید صورت می گیرد، از کشت خون یک بیمار به نام Temoniera در یونان مورد شناسایی قرار گرفت. با جایگزینی اسیدهای آمینه مختلف در جایگاه فعال این آنزیم، انواع مختلفی از بتالاکتاماز TEM1 به وجود آمد تا جایی که تاکنون بیش از 100 نوع آنزیم TEM مورد شناسایی قرار گرفته‌اند. شیوع این آنزیم‌ها در نواحی مختلف متفاوت گزارش شده است(7-5). CTXM نیز گروهی دیگر از ESBL ها هستند که اولین بار در سال 1989 در کشور آلمان شناسایی شدند(8). آن‌ها به پنج گروه $CTX\ M_1$، $CTX\ M_2$، $CTXM_8$، $CTXM_9$ و $CTX\ M_{25}$تقسیم‌بندی می‌شوند(9). تیپ $CTX\ M_1$ به عنوان شایع ترین تیپ در ایران مورد بررسی قرار گرفته است که در این تحقیق روی $CTX\ M_1$ بررسی صورت گرفت(10، 11).

این آنزیم‌ها باعث ایجاد مقاومت به پنی‌سیلین و طیف وسیعی از سفالوسپورین‌های نسل سوم مانند سفتازیدیم، سفوتاکسیم، سفتریاکسون و مونوباکتام‌ها مثل آزوترئونام می‌شوند. اما در عین حال مقاومت به سفامایسین‌ها و کرباپنم‌ها در آن‌ها وجود ندارد. عواملی هم‌چون کلاولونیک اسید، تازوباکتام و سولباکتام با اثر بازدارندگی منجر به مهار عملکرد این آنزیم‌ها می‌گردند(12، 13). مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های سفتازیدیم و سفوتاکسیم، شاخص ESBL بودن سویه ها را نشان می دهد. لذا مقاومت به این دو آنتی‌بیوتیک شرط اول وارد شدن سویه‌ها به تحقیق می‌باشد. بررسی‌ها نشان دادند که ژن‌های حمل کننده این آنزیم‌ها می‌توانند بر روی عناصر ژنتیکی متحرک هم‌چون پلاسمید، ترانسپوزون و اینتگرون قرار گرفته و بدین‌واسطه به راحتی از یک سویه به سویه ای دیگر منتقل شوند(14). از آن‌جا که شیوع مقاومت‌های دارویی رو به افزایش است و درمان بیماران، به خصوص بیماران بستری در بیمارستان‌ها را به تعویق انداخته است، درمان عفونت‌های ناشی از گونه‌های کلبسیلا پنومونیه مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های خانواده بتالاکتام در بیمارستان‌های آموزشی شهرستان ساری ضروری انجام گرفت تا بدین وسیله راه‌کارهایی در استفاده صحیح از انواع آنتی‌بیوتیک‌ها در معالجه بیماران صورت گرفته و ایجاد مقاومت‌های دارویی به حداقل ممکن برسد. شایان ذکر است که تحقیق در جهت شناسایی درمان مورد نظر نبود، بلکه به منظور کمک به پزشکان در تجویز نوع درمان بوده است.

مواد و روش ها

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-28]

در ایـن مطالعـه توصـیفی- مقطعـی، 150 نمونـه مـورد بررسی قرار گرفتند که تعداد 45 نمونه بـاکتری کلبسـیلا پنومونیه جدا گردیده در فاصله زمانی شـهریور تـا بهمـن 93 از 5 بیمارستان آموزشی شهرستان ساری جمع آوری شد. نمونه ها شـامل نمونـه زخـم سـوختگی (8 درصـد)، لوله تراشه (20 درصد)، سایر زخـم‌هـا (5 درصـد)، ادرار (37 درصد)، خون (5 درصد) و خلط (25 درصـد) بـوده است که از بخش های مختلف بیمارستان ها جمع آوری گردید. نمونه ها پس جمع آوری در محـیط ترانسـپورت Aimes تا دو سـاعت در یخچـال نگهـداری و سـپس بـه آزمایشـگاه تحقیقـات میکـروب شناسـی جهـت کشـت ارسال گردیـد. بعـد از انتقـال نمونـه‌هـا بـه آزمایشـگاه و کشـت روی محـیط بـلاد آگـار و مـک کـانکی آگـار، انکوباسیون به مدت 24 ساعت انجام گرفت.

در صورت مشاهده رشد، بـاکتری هـا در رنـگ آمیـزی گرم به شکل کوکوباسیل هایی گرم منفی قابـل مشـاهده بودند. در مرحله بعد در تست اکسیداز این باکتری‌ها بـه صورت اکسـیداز منفـی بودنـد. سـپس بـه منظـور انجـام تست‌های بیوشیمیایی تکمیلی، این باکتری‌هـا در محـیط TSI، SIM، اوره و سـیترات کشـت داده شـدند. انجـام تسـت حساسـیت و مقاومـت آنتـی بـوتیکی بـه روش اسـتاندارد دیسـک دیفیـوژن (Baur- Kirby) و طبـق اسـتاندارد CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) انجام گرفت.

برای این منظور، سوسپانسیونی با غلظت نیم مک فارلنـد تهیه شد. سپس با استفاده از یک سـواپ اسـتریل، از آن نمونه برداشته و روی محیط مـولر هینتـون آگـار بـه‌طـور کامل پخش شد. سپس دیسک‌های آنتـی‌بیوتیـک روی محیط قرار داده و بعد از انکوباسیون 24 ساعته، نتایج بـر اساس جدول استاندارد به اشکال حسـاس، مقـاوم و حـد واسط گـزارش گردیـد. از دیسـک‌هـای آنتـی‌بیـوتیکی شرکت پادتن طـب اسـتفاده شـد کـه شـامل مـوارد زیـر بودند: سـفتازیدیم (30 µg)، سفکسـیم (30µg)، سفتریاکسـون (30µg)، سفوتاکسـیم (30 µg)، کولیسـیتین (110µg)، سـفپیم (30 µg)، جنتامایسـین (30 µg)، آمیکاسـین (30µg)، ایمی پنم (30 µg)، مروپنم (30µg)، پیراکتـام (30µg) و توبرامایسین (10µg).

آزمون تشخیصی بتالاکتامازهای طیف گسترده

برای این منظور روش فنوتیپی combined Disk به کـار برده شد. به این ترتیب کـه ابتـدا غلظـت اسـتانداردی از باکتری در محیط مولر هینتون به صـورت چمنـی کشـت داده شد. بعد از آن از دیسک‌های ترکیبی سـفتازیدیم و سـفتازیدیم– کلاولونیـک اسـید و دیسـک‌هـای سفوتاکسیم و سفوتاکسیم– کلاولونیک اسید بـه فاصـله 25 میلی متر از هم روی پلیت قرار داده شـد. پـس از 24 ساعت انکوباسیون در دمای 37 درجه سانتی گراد، هالـه عدم رشد اطراف دیسـک حـاوی کلاولانیـک اسـید بـه عنوان مهار کننده آنزیم ESBL نسبت به همـان دیسـک به تنهایی سنجیده شد، به طوری که اگر هاله عـدم رشـد اطراف دیسک‌های حاوی کلاولانیک اسید بـزرگ تـر یا مساوی از 5 میلی متر نسبت به همان دیسک به تنهـایی باشد، سویه مورد نظر را می‌توان بر طبق CLSI، به عنوان مولد ESBL در نظر گرفـت. از سـویه کلبسـیلا پنومونیـه ATCC 700603 برای کنترل کیفی آنتی‌بیوگرام استفاده شد. در مرحلـه بعـد، DNA ژنـومی بـا اسـتفاده از روش کیت (شـرکت سـینا ژن) اسـتخراج شـد و بـا اسـتفاده از پرایمرهای اختصاصی که از مقالات مربوطه تهیه گردید و از شرکت تکاپوزیست در خواسـت طراحـی گردیـد، پرایمر مربوطه از کشـور کـره جنـوبی دریافـت گردیـد. سپس واکنش PCR انجام شد.

برنامه دستگاه ترموسایکلر برای بررسی ژن

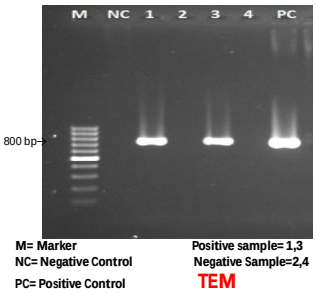
دناتوراسیون اولیـه در دمـای 94 درجـه سـانتی گـراد بـه مدت 3 دقیقه انجام شد. سیکل اصـلی بـا 35 بـار تکـرار شامل دناتوراسیون در 94 درجه سـانتی‌گـراد بـه مـدت 1

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-28]

دقیقه، اتصال پرایمرها در 45 درجه سانتی‌گراد به مدت 45 ثانیه، تکثیر در 72 درجه سانتی‌گراد به مدت 40 ثانیه و تکثیر نهایی در 72 درجه سانتی‌گراد به مدت 7 دقیقه قرار گرفت. هم‌چنین برای بررسی ژن نیز از همین برنامه دمایی استفاده شد، با این تفاوت که دمای اتصال پرایمر مورد نظر روی53 درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. در نهایت محصولات تکثیر شده بر روی ژل آگارز 2 درصد با ولتاژ 95 به مدت 30 دقیقه الکتروفورز شده و توسط سایبرگرین رنگ آمیزی شد. سپس توسط دستگاه آشکارساز ژل تحت تاثیر نور بنفش با طول موج 230 نانومتر باندهای مربوطه مشاهده و عکس برداری شدند. در نهایت با استفاده از DNA الگو که حاوی قطعاتی با وزن مولکولی مشخص است، محصول شناسایی گردید. برای کنترل مثبت از باکتری Klebsiella pneumonia (7881) استفاده شد که ذاتاً دارای ژن‌های مزبور می‌باشد.

یافته ها

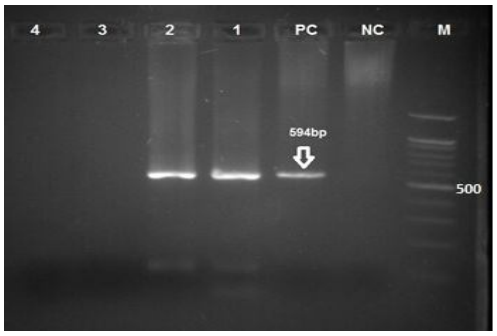
از مجموع 45 نمونه کلبسیلا پنومونیه تشخیص داده شده در آزمایشگاه، بیش ترین نمونه‌ها به ترتیب شامل نمونه ادرار، خلط، لوله تراشه، زخم و نمونه خون بودند. تمامی ایزوله‌ها از لحاظ تست‌های تشخیصی بیوشیمیایی دارای الگوی یکسانی بودند. همه از نظر تست اکسیداز و تولید گاز سولفید هیدروژن مثبت و تست اندول، حرکت، لیزین دکربوکسیلاز و اوره آز در آن‌ها منفی گزارش شد.ولی سیترات مثبت بودند. قادرند در محیط مک کانکی در دمای 37 درجه سانتی گراد رشد کنند نتایج حاصل از تست آنتی‌بیوگرام به روش کربی–بائر بر روی نمونه ها نشان داد که از میان 12 دیسک آنتی‌بیوتیکی به کار برده شده، بیش‌ترین مقاومت به ترتیب در برابر آنتی‌بیوتیک‌های سفوتاکسیم (100 درصد) و سفتازیدیم (100 درصد) و سفتریاکسون (96 درصد) بود. این در حالیست که بیش‌ترین حساسیت به ترتیب در برابر آنتی‌بیوتیک جنتامایسین (63 درصد) بود. بر اساس نتایج حاصل از آزمون تاییدی combined Disk، تعداد 29 ایزوله تولید کننده ESBL بودند که این تعداد هم مربوط به نمونه‌هایی غیر از نمونه زخم سوختگی بودند. در آزمایش PCR از مجموع 29 ایزوله، وجود قطعه مربوط به ژن CTX و TEM و به ترتیب در 55 و 45 درصد از ایزوله ها مثبت و باعث تولید محصولاتی در اندازه های مورد انتظار شد که در الکتروفورز بر روی ژل آگارز به صورت باندهایی در محدوده های 800 bp و 594 bp آشکار شدند که با اطمینان 95 درصد مورد بررسی قرار گرفتند. در جدول شماره یک آورده شده است.



تصویر شماره 1: الکتروفورز محصول PCR ژن bla_{TEM} کلبسیلا در ژل آگارز

PC= کنترل مثبت (کلبسیلا سویه 7881)، NC= کنترل منفی

1 و 4= نمونه های منفی، 2 و 3 و 5= نمونه های مثبت



تصویر شماره 2:الکتروفورز محصول PCR ژن bla_{CTX} کلبسیلا در ژل آگارز

PC= کنترل مثبت (کلبسیلا سویه 7881)، NC= کنترل منفی

1 و 2 = نمونه های مثبت، 3 و 4= نمونه های منفی

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-28]

جدول شماره 1- توالی پرایمرهای مورد استفاده در تکثیر ژن bla_{TEM} و bla_{CTX}

پرایمر	توالی پرایمر ´3-´5	اندازه محصول
TEM-F	GAGTATTCAACATTTCCGTGTC	800 bp
TEM-R	TAATCAGTGAGGCACCTATCTC	
CTX-MU1	ATGTGCAGTACCAGTAAGGT	594 bp
CTX-MU2	TGGGTAAAGTAGGTCACCAGA	

بحث

در مطالعه حاضر که بر روی ایزوله‌های کلبسیلا جدا شده از نمونه‌های سوختگی و سایر نمونه‌های بالینی از بیمارستان‌های آموزشی شهرستان ساری صورت گرفت، از نظر مقاومت آنتی‌بیوتیکی بیش‌ترین مقاومت در آنتی بیوتیک های سفوتاکسیم و سفتازیدیم و سفتریاکسون و بیش‌ترین حساسیت در آنتی بیوتیک جنتامایسین دیده شد. هم‌چنین نتایج حاصل از بررسی ایزوله‌ها با روش دیسک ترکیبی نشان داد که 24 درصد از کل نمونه‌ها ESBLمثبت می‌باشند. فراوانی ژن‌های بتالاکتامازی TEMو CTX طبق نتایج به دست آمده با روش PCR به ترتیب 79/1 و 37/5 درصد گزارش شد. در حالی که در مطالعه Smolyakov و همکاران که بر روی نمونه‌های کلبسیلا که دارای مقاومت چندگانه دارویی بودند انجام گرفت، مشخص شد که 93 درصد سویه ها به ایمیپنم و 100 درصد سویه ها به کلسیتین، سولباکتام و آمپی سیلین حساس بودند(10).

در مطالعه دیگری که توسط Aryan و همکاران در کشور ترکیه بر روی 52 ایزوله کلبسیلا انجام گرفت، نتایج تست‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی نشان داد که کل ایزوله‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های سفپیم، سفتازیدیم، سفوتاکسیم، جنتامایسین، آزوترونام، پیپراسیلین و پیپراسیلین– تازوباکتام، تیکارسیلین مقاوم بودند و مقاومت به توبرامایسین و سیپروفلوکساسین، کوتریماکسازول و آمیکاسین به ترتیب 5، 8، 66 و 74 درصد مشاهده گردید(12). در مطالعه شبیل و همکاران در سال 2012 در عربستان از 60 نمونه بالینی 39 مورد حامل ژن بتالاکتامازی و 12 مورد حامل ژن کاربامازی بودند(13). آمپی‌سولباکتام‌ها در گروه پنیسیلین‌ها قرار گرفته‌اند که بیش‌تر در عفونت‌های تنفسی و عفونت‌های ادراری کاربرد دارند که سولباکتام یک مهارکننده آنزیم‌های بتالاکتاماز هستند و موجب گسترش طیف اثر پنیسیلین‌ها می‌شوند. ممکن است سولباکتام‌ها به همراه آمینوگلیکوزیدها تجویز شوند که در این صورت باید با فاصله زمانی مصرف گردند.

هم‌چنین Maninder Kaur and Aruna Aggarwal2011در مطالعه‌ای که بر روی نمونه‌های بالینی شامل خلط، ادرار و زخم انجام دادند، نشان دادند که تنها 8/3 درصد از ایزوله ها با روش PCR دارای ژن TEMبودند(20). در بررسی دیگری که به وسیله ElifBurcu Baliو همکاران در سال 2010 در ترکیه انجام شد، 69/14 درصد از نمونه‌ها به روش دابل دیسک سینرژی ESBL مثبت گزارش شد و تعداد ایزوله هایی دارای ژن TEM وCTX به ترتیب 73/43 و 17/18 درصد گزارش شدند(14).

در مطالعات دیگری که در سال 2009 در چین بر روی نمونه‌های کلبسیلا جدا شده از بخش مراقبت‌های ویژه انجام گرفت، میزان نمونه‌های TEM مثبت گزارش شده 81/5 درصد بودند که این میزان همانند مطالعه ElifBurcu Bali، دارای شباهت نسبت به مطالعه ما بودند(15).

وفایی و همکاران نیز در سال 1391 در تهران، میزان مقاومت به آنتی بیوتیک های وسیع الطیف و شیوع ژن CTXرا بر روی 500 نمونه کلینیکی مورد بررسی قرار دادند که طبق یافته‌های آن‌ها، 20 درصد نمونه‌ها مولد ESBLو 19 درصد از نمونه‌ها حامل ژن کد کننده بتالاکتامازیCTX-M بودند(16). هم‌چنین در بررسی‌های انجام شده در سال 2006 در کشور بولیوی که روی 604 نمونه بالینی انجام شده بود، 23/4 درصد از نمونه‌ها، ESBLمثبت گزارش شدند که از این تعداد، میزان نمونه های مثبت برای ژن‌های TEM و CTX به ترتیب 26/1 و 30/4 درصد بوده است که دارای تشابه با مطالعه حاضر است(17).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-28]

نتایج حاصل از این بررسی نشان می‌دهد که میزان شیوع کلبسیلا در بیماران بستری در بیمارستان ها به خصوص بیمارستان سوختگی به شدت زیاد است. از طرفی نتایج حاصل از تست‌های آنتی‌بیوگرام میزان مقاومت چند گانه به آنتی‌بیوتیک‌ها را نشان می دهد. با توجه به این نکته که در سال های اخیر به دلایل مختلفی هم‌چون مصرف بی رویه داروها و تجویزهای تجربی و عدم بهره‌گیری از ابزارهای مناسب جهت کنترل عفونت، میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های خانواده بتالاکتام به خصوص سفالوسپورین‌های نسل سوم که از جمله مهم‌ترین داروهای مورد استفاده در درمان عفونت‌های باکتریایی هستند، زیاد شده است. با توجه به این مطلب که ژن‌های مقاومت بتالاکتامازی، در اکثر موارد توسط عناصر ژنتیکی همچون پلاسمید منتقل می‌گردند، لذا انتشار این عناصر به سادگی از یک سویه به سویه دیگر صورت گرفته و می‌تواند به سادگی باعث انتشار مقاومت در بیمارستان یا هر محیط دیگر درمانی گردند. لذا توصیه می‌شود که در کنار تست‌های آنتی بیوگرام برای تشخیص مقاومت، تست‌های تکمیلی جهت تشخیص بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف نیز انجام پذیرد تا بدین‌وسیله هم کمک قابل توجهی به پزشکان در تشخیص نوع آنتی‌بیوتیک موثر تجویزی و متقابلا به بیماران در کاهش طول دوره بیماری شود و از سوی دیگر، هزینه‌های درمان از طریق کاهش انتشار سوش‌های مقاوم به درمان باکتری ها کاهش یابد. البته با توجه به پایین بودن درصد شیوع ESBL به خصوص در میان ایزوله‌های جدا شده از بیمارستان سوختگی در این تحقیق، انتظار می‌رود علت بالا بودن مقاومت آنتی‌بیوتیکی، مربوط به مکانیسم‌های دیگری از جمله پمپ‌های ترشحی، تشکیل بیوفیلم و نیز تغییر در پورین‌ها باشند که باید مورد بررسی قرار گیرند.

سپاسگزاری

این مقاله تحقیقاتی حاصل پایان نامه دانشجویی می‌باشد. نویسندگان مقاله ار معاونت محترم پژوهشی و مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی مازندران به خاطر تامین هزینه‌ها و همکاری نهایت تشکر را دارد.

References

1. AL- Thahab AAL. Molecular Detection of Extended-Spectrum Beta- Lactamases inClinical Isolates of kleseilla. Journal of Biology, Agriculture and Healthcare. 2013; 3(3): 32-39.
2. Al-Zahrani AJ, Akhtar N. Susceptibility Patterns of Extended Spectrum ß-Lactamase (ESBL)-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae isolated in a teaching hospital. Pakistan J Med Res. 2005; 44(2): 64-67.
3. Bush K. New b-Lactamases in Gram-Negative Bacteria: Diversityand Impact on the Selection of Antimicrobial Therapy. Clin Infect Dis. 2013; 32(7):1085-1089.
4. Brun-Buisson C, Legrand P, Philippon A, Montravers F, Ansquer M, Duval J. Transferable enzymatic resistance to third generation cephalosporins during nosocomial outbreak of multiresistant Kelbsiella pneumoniae. Lancet. 1987; 2 (8554): 302-306.
5. Celenza G, Pellegrini C, Caccamo M, Segatore B, Amicosante G, Perilli M. Spread of bla(CTX.M-type) and bla(PER-2) beta-lactamase genes in clinical isolates from

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-28]

Bolivian hospitals. J Antimicrob Chemother. 2006; 57(5): 975-978.

6. Howard CH, Van Daal A, Kelly G, Schooneveldt J, Nimmo G, Giffars PM. Identification and Minisequencing-Based Discrimination of SHV β-Lactamases in Nosocomial Infection-Associated *Klebsiella pneumoniae* in Brisbane, Australia. ANTIMICROB AGENTS CHEMOTHER. 2002; 46(issue 3): 659–664.
7. Rupp ME, Fey PD. Extended Spectrum β-Lactamase(ESBL)-Producing EnterobacteriaceaeConsiderations for Diagnosis, Prevention and Drug Treatment. Drugs . 2003; 63(4): 353-365.
8. Falagas ME, Karageorgopoulos DE. Extended spectrum b-lactamase-producing Organisms9. J Hosp Infect . 2009.73(4): 345-354.
9. Młynarczyk G1, Młynarczyk A, Bilewska A, Dukaczewska A, Goławski C, Kicman A, et all. Effectiveness of the method with cefpirome in detection of extended-spectrum beta-lactamases in different species of gram-negative bacilli. Med Dosw Mikrobiol. 2006; 58 (1): 59-65.
10. GA Jacoby, AA Mederios. More extended spectrum β-lactamases. Antimicrob Agents Chemother. 1991; 35(9):1697-1704.
11. JIN H, Xu XM, Mou Y, Liu P. Drug-resistant gene based genotyping for kleseilla in tracing epidemiological events and for clinical treatment within nosocomial settings. Chin Med J (Engl). 2009;122(3):301-306.
12. Ayan M, Durmaz R, Aktas E, Durmaz B. Bacteriological, clinical and epidemiological characteristics of hospital-acquired kleseilla infection in a teaching hospital. J Hosp Infect. 2003; 54(issue 1):39-45.
13. Nematzadeh S, Nasehi L, Shahcheraghi F, Sadat Nikbin V. Beta-lactamases in clinical isolates ofklebsiella pneumoniae isolated from Tehran, Iran. Iran J Basic Med Sci. 2010; 13(3): 111-118.
14. Tripathi PC, Gajbhiye SR, Agrawal GN. Clinical and antimicrobial profile of *Acinetobacter* spp.: An emerging nosocomial superbug. Adv Biomed Res. 2014;3 :13.
15. Rahimi S, Appala RB. Evaluation on of CIVA agar for rapid detection of extended spectrum b- lactamases (ESBL) among isolates of Enterobacteriaceae. Indian J Med Res. 2008; 127(2): 195-197.
16. Zarrilli R, Pourmaras S, Giannouli M, Tsakris A. Global evolution of multidrug-resistant Acinetobacter baumannii clonal lineages. Int J Antimicrob Agents. 2012; 41(1): 11-19.
17. Farhani R, Monir R, Shajari GH, Nazem Shirazi MH, Mousavi Gh, Ghasemi A , et all. Antimicrobial susceptibilitypatterns and the distribution of resistance genes among Acinetobacter species isolated from patients in Shahid eheshti hospital. (Persian)).Kashan Univ Med Sci (FEYZ). 2009; 4 (48): 60-66.
18. Smolyakov R, Borer A, Riesenberg K, Schlaeffer F, Alkan M, Porath A, et al. Nosocomial multi- drug resistant Acinetobacter baumannii bloodstream infection: risk factors and outcome with ampicillin-sulbactam treatment. J Hosp Infect. 2003; 54(1):32-38.
19. Soltan Dalal MM, Azarsa M, Shirazi MH, Rastegar Lari A, Mobasseri G, Fallah

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-28]

Mehrabadi J, et al. Detection of CTX-M-1 beta clinicall samples by using polymerase chainlactamase gene in escherichia coli isolated from. Reaction (PCR) method. Tehran Uni Med J. 2011; 69 (5): 16-21.

20. Vafaei S, Mirnejad R, Amirmozafari N. Determining the Patterns of Antimicrobial Susceptibility and theDistribution of blaCTX-M Genes in Strains of kleseilla Isolated from Clinical Samples.J Isfahan Med Sch. 2013; 31(252): 1443-1445.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-28]