مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۲۶، شماره ۲، تابستان ۹۵، صفحات ۷۶ تا ۸۱

Original Article

بررسی ژن‌های بتالاکتامازی bla_{TEM}، bla_{SHV}، bla_{oxa} وآمینوگلیکوزیدی *aadA* در سویه‌های *اشریشیاکلی* جداسازی شده از مراکز درمانی شهر تهران و تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی

شیما معینی [۱]، کیومرث امینی [۲]

[۱] کارشناس ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ساوه
[۲]استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ساوه

چکیده

سابقه و هدف: *امروزه مصرف گسترده بتالاکتام‌های وسیع الطیف موجب افزایش مقاومت به بتالاکتام‌ها در سراسر دنیا شده است. هدف این تحقیق، بررسی و شناسایی ژن‌های bla_{tem}، bla_{SHV}، bla_{OXA} و آمینوگلیکوزیدی aadA در ایزوله‌های بالینی اشریشیاکلی به روش Multiplex PCR بود.*

روش بررسی: *در این مطالعه توصیفی، تعداد ۱۵۰ نمونه مدفوع اسهالی از مراکز درمانی مختلف شهر تهران که به صورت تصادفی انتخاب شده بودند، جمع‌آوری و با آزمون‌های بیوشیمیایی، تعداد ۵۵ نمونه اشریشیاکلی شناسایی گردیدند. آزمون حساسیت آنتی‌بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن مطابق CLSI انجام و جهت شناسایی ژن‌های بتالاکتاماز از آزمون PCR چندگانه‌ای استفاده شد. داده‌های آماری با SPSS نسخه ۱۹ و با استفاده از آزمون‌های آماری توصیفی تحلیل شدند.*

یافته‌ها: *بیشترین حساسیت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سفپودوکسیم و تری‌متوپریم (به ترتیب ۹۰/۹ درصد و ۵۸/۱ درصد) و بیشترین مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های ایمی‌پنم و سیپروفلوکساسین (به ترتیب ۱۰۰ درصد و ۷۶/۳ درصد) گزارش شد. نتایج Multiplex PCR نشان داد که از میان ۵۵ ایزوله E.coli، تعداد ۴۰ نمونه (۷۲/۷ درصد) دارای ژن بتالاکتاماز bla_{oxa}، ۱۵ نمونه (۲۷/۲ درصد) دارای ژن آمینوگلیکوزیدی aadA و تعداد ۱۲ نمونه (۲۱/۸ درصد) نیز دارای هر دو ژن بتالاکتاماز bla_{oxa} / aadA بودند. ژن‌های bal و bla_{SHV} و bla_{TEM} در هیچ کدام از نمونه‌ها شناسایی نشدند.*

نتیجه‌گیری: *وجود مقاومت آنتی بیوتیکی نسبت به اشریشیاکلی در کودکان مبتلا به اسهال نشان‌دهنده مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها است. پایش و نظارت بر مقاومت دارویی باکتری‌های روده‌ای، نقش مهمی در پیشگیری از ایجاد سویه‌های مقاوم دارد.*

واژگان کلیدی: *اشریشیاکلی، بتالاکتاماز وسیع‌الطیف، Multiplex PCR*

مقدمه

اشریشیاکلی از عوامل مهم شیوع اسهال در بین بیماران مراجعه کننده به بیمارستان‌ها در مناطق شهری و روستایی محسوب می‌شود (۱). در درمان عفونت‌های ناشی از این میکروارگانیسم از رهیدراسیون و در مواقع لزوم از آنتی‌بیوتیک‌های مختلف استفاده می‌شود. آنتی‌بیوتیک‌های دسته پنی‌سیلین‌ها و سفالوسپورین‌های نسل اول و دوم و سوم به وفور استفاده می‌شود. در باکتری‌های گرم منفی، آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع الطیف β- Extended Specterum lactamases (ESBLs) که توانایی هیدرولیز پنی‌سیلین‌ها، سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف، مونوباکتام‌ها و کربا‌پنم‌ها و مقاومت به آمینوگلیکوزیدی را دارند، در فضای پری پلاسمیک

آدرس نویسنده مسئول: تهران، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران، کیومرث امینی (**email**: dr_kumarss_amini@yahoo.com)
تاریخ دریافت مقاله: ۹۴/۸/۴
تاریخ پذیرش مقاله: ۹۴/۱۰/۱۹

قرار می‌گیرند و قبل از اینکه آنتی‌بیوتیک‌های فوق‌الذکر بتوانند به گیرنده متصل شوند، این آنزیم‌ها با تخریب این آنتی‌بیوتیک‌ها آنها را غیرفعال می‌کنند. اغلب آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام با اثر بر دیواره سلولی باکتری‌ها اثر می‌کنند. ساخت آنزیم بتالاکتاماز توسط باکتری‌ها یکی از دلایل مقاومت به این گروه از آنتی‌بیوتیک‌ها است (۲). در پاتوژن‌های گرم منفی، تولید بتالاکتامازها به عنوان مهم‌ترین علت مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام تلقی می‌شوند (۲). در سال‌های اخیر، بروز پدیده مقاومت بر علیه آنتی بیوتیکهای رایج در باکتری‌های گروه انتروباکتریاسه، نگرانی‌های فراوانی را در جوامع پزشکی به دلیل شکست درمان پدید آورده است (۳). مطالعات متعددی، شیوع مقاومت‌های چندگانه دارویی با واسطه انواع مختلف ESBL، به خصوص آنزیم‌های تیپ SHV,TEM,OXA و آمینوگلیکوزیدی aadA در نقاط مختلف دنیا گزارش کرده‌اند (۴-۲). بتالاکتامازها به چهار گروه یا چهار کلاس اصلی A، B، C و D طبقه بندی می‌شوند. ESBL گروه A، پلاسمیدهای مربوط به بتالاکتاماز و موجود در باسیل‌های گرم منفی هستند که سبب هیدرولیز پنی سیلین و سفالسپورین‌هایی با طیف تاثیر کم و وسیع می‌شوند. بیشتر سویه‌های تولیدکننده ESBL دارای موتانت‌های TEM-1، TEM-2 و SHv-1 از باکتری‌های اشریشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه و سودوموناس آئروژینوزا هستند (۲). ژن OXA متعلق به کلاس A برای اولین بار در کلبسیلا پنومونیه شناسایی شد. TEM -1 معمول‌ترین فرم بتالاکتاماز باکتری‌های گرم منفی است که عامل بیش از ۹۰ درصد مقاومت سویه‌های اشریشیا کلی به آمپی‌سیلین قلمداد می‌شود (۵،۴،۲). هدف از انجام این مطالعه، جداسازی ژن مقاومت آنتی‌بیوتیکی و فراوانی بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف در اشریشیاکلی‌های جدا شده از نمونه‌های بالینی جهت کسب اطلاعات مفیدی درباره اپیدمیولوژی و پیشگیری از عوامل خطر مسبب انتشار عفونت و همچنین درمان آنها بود.

مواد و روشها

در این مطالعه مقطعی- توصیفی، که طی اردیبهشت ماه تا آبان ماه سال ۱۳۹۳ در موسسه پژوهشی میکروبیولوژی پاسارگاد انجام شد، تعداد ۱۵۰ نمونه مدفوع افراد دارای اسهال جمع‌آوری و در ظرف استریل و درپوش دار مخصوص در شرایط ۲ درجه سانتی‌گراد به آزمایشگاه میکروب شناسی منتقل شد. در آزمایشگاه جهت آماده سازی نمونه‌ها، نمونه های مدفوعی با محلول فسفات بافرسالین یکنواخت شدند. سپس ذرات جامد موجود در مدفوع، با استفاده از سانتریفیوژ با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه رسوب داده شدند و مایع فوقانی در ظرف استریل دیگری در ۲ درجه سانتی گراد جهت آزمایش بعدی نگهداری شد (۶). این نمونه‌ها جهت کشت بر روی محیط‌های مک کانکی آگار، EMB آگار و کروم آگار *E.coli* انتقال داده شده و در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوباسیون شدند. بعد از شناسایی و تایید حضور باکتری *E.coli*، آزمون‌های بیوشیمیایی IMViC و TSI (Triple Sugar Iron Agar) جهت تشخیص نهایی انجام شد و در نهایت، تعداد ۵۵ نمونه باکتری *اشریشیاکلی* شناسایی و تایید شدند. بعد از تعیین هویت گونه‌های باکتری *E.coli*، با آزمون‌های بیوشیمیایی، جهت انجام آزمون آنتی‌بیوگرام از روش دیسک دیفیوژن (Diskdiffusion) به روش کربی بائر و بر طبق دستورالعمل CLSI (Clinical and Laboratory Standards institute) استفاده شد (۷). دیسک‌های آنتی بیوگرام مورد استفاده در این تحقیق شامل آمپی‌سیلین (۱۰ میکروگرم)، آمپی‌سیلین/سولباکتام (۱۰ میکروگرم)، سفپودوکسیم (۱۰ میکروگرم)، آمیکاسین (۳۰ میکروگرم)، سفتازیدیم (۳۰

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت انجام Multiplex-PCR

پرایمر	توالی پرایمر	ژن هدف	اندازه باند (bp)
blaTEM-F	GAGTATTCAACATTTTCGT	*TEM*	۸۵۷
blaTEM-R	ACCAATGCTTAATCAGTGA		
blaSHV-F	TCGCCTGTGTATTATCTCCC	*SHV*	۷۶۸
blaSHV-R	CGCAGATAAATCACCACAATG		
blaOXA-F	GCAGCGCCAGTGCATCAAC	*OXA*	۱۹۸
blaOXA-R	CCGCATCAAATGCCATAAGTG		
aadA-F	TGATTTGCTGGTTACGGTGAC	*aadA*	۲۸۴
aadA-R	CGCTATGTTCTCTTGCTTTTG		

میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۳۰ میکروگرم)، تری‌متوپریم (۱۰ میکروگرم)، تتراسایکلین (۳۰ میکروگرم)، آزترئونام (۳۰ میکروگرم)، ایمی‌پنم (۱۰ میکروگرم)، کلرامفنیکل (۱۵ میکروگرم)، سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرم) و سفتریاکسون (۳۰ میکروگرم) تهیه شده از شرکت MAST انگلستان بودند. از سویه استاندارد *اشریشیا کلی* ATCC 25922 به منظور بررسی کنترل کیفی به عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

برای استخراج DNA از کیت باکتری‌های گرم منفی سیناژن (Cinna Pure DNA KIT-PR881613) استفاده شد. برای برنامه آزمون Multiplex-PCR، مرحله دناتوراسیون اولیه ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه، مرحله دناتوراسیون ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، مرحله اتصال ۵۹ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۵ ثانیه، مرحله بسط ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه (تعداد ۳۵ سیکل)، و مرحله بسط نهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه بود. پرایمرهای مورد استفاده در این آزمون در جدول ۱ ذکر شده‌اند (۸). آب مقطر ۱۱/۱۵ میکرولیتر، 1X. PCR buffer به میزان ۲ میکرولیتر، $MgCl_2$ به میزان ۰/۶ میکرولیتر، (dNTP mix 5Mm) به میزان ۰/۶ میکرولیتر، پرایمرهای مورد استفاده هرکدام ۰/۷ میکرولیتر، آنزیم *Taq* polymerase به میزان ۰/۲۵ میکرولیتر، و نمونه DNA ۴ میکرولیتر در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر تهیه و مورد استفاده قرار گرفتند (۸). آزمون Multiplex-PCR در دستگاه BIORAD انجام شد. جهت بررسی محصول، نمونه‌ها بر روی ژل آگارز ۲٪ انتقال داده شدند و بعد از رنگ‌آمیزی در دستگاه ژل داک BIORAD مورد بررسی قرار گرفتند. داده‌های آماری با نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ و با استفاده از آزمون‌های آماری توصیفی تحلیل شدند.

یافته‌ها

از میان ۵۵ نمونه ایزوله *اشرشیاکلی* شناسایی شده در این تحقیق، بیشترین حساسیت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سفپودوکسیم و تری‌متوپریم (به ترتیب ۹۰/۹ درصد و ۵۸/۱ درصد) و بیشترین مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های ایمی‌پنم و سیپروفلوکساسین (به ترتیب ۱۰۰ درصد و ۷۶/۳ درصد) مشاهده شد. وجود مقاومت و حساسیت به همه آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در این تحقیق، در هیچ یک از نمونه‌های بالینی مشاهده نشد (جدول ۳). نتایج آزمون ملکولی PCR جهت شناسایی ژن‌های بتالاکتاماز با روش Multiplex PCR نشان داد که از میان ۵۵ ایزوله *E.coli*، تعداد ۴۰ نمونه (۷۲/۷ درصد) دارای ژن بتالاکتاماز *bla* $_{o\ jprdrxa}$، ۱۵ نمونه (۲۷/۲ درصد) دارای ژن آمینوگلیکوزیدی *aadA* و ۱۲ نمونه (۸ /۲۱ درصد) دارای هر دو ژن بتالاکتاماز *aadA* / *bla* $_{oxa}$ به طور همزمان بودند. ژن‌های *bal* $_{TEM}$ و *bla* $_{SHV}$ در هیچ کدام از نمونه‌ها شناسایی نشد (جدول ۲). در شکل ۱ تصویر باندهای مربوط به ژن‌های مورد نظر همراه با کنترل مثبت و منفی و نمونه‌های مورد مطالعه مشخص شده است.

جدول۲. توزیع فراوانی ژن‌های *اشریشیاکلی* مورد مطالعه

ژن‌های بتالاکتام و آمینوگلیکوزیدی	تعداد	درصد
bla $_{oxa}$	۴۰	۷۲/۷
bla $_{aada}$	۱۵	۲۷/۲
bla $_{SHV}$	۰	۰
bal $_{TEM}$	۰	۰
aadA/*bla* $_{oxa}$	۱۲	۲۱/۸

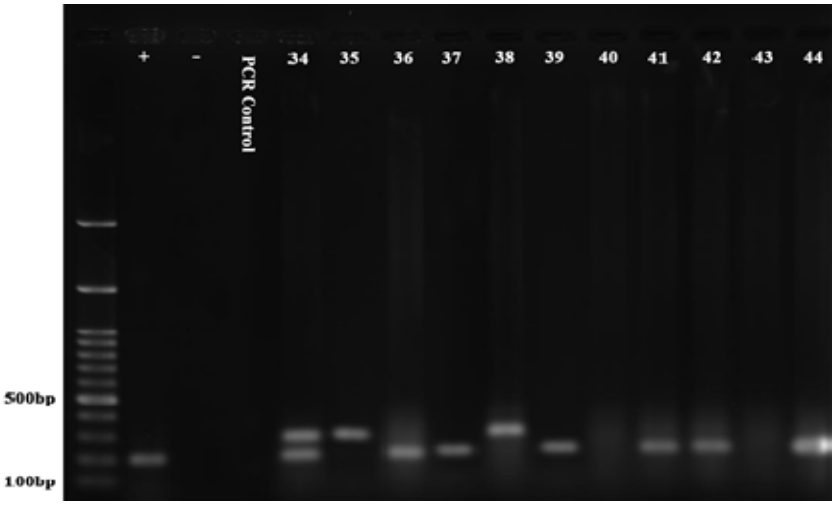
بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها، به خصوص بتالاکتام‌ها و کاربا‌پنم‌ها، بسیار بالا است. میزان شیوع ESBL در میان باکتری‌های خانوادهٔ انتروباکتریاسه در کشورهای مختلف متفاوت است (۲). اساس درمان مناسب در عفونت‌ها، انتخاب یک آنتی‌بیوتیک با کارآیی بالا و ارزان است؛ از طرف دیگر گسترش مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی تقریباً همیشه با افزایش مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها همراه است (۹). سعید بوذری و همکارانش در مطالعه‌ای بر روی ۲۰۴ ایزوله *EAEC* جدا شده از کودکان مبتلا به اسهال در سال ۱۳۸۸، بیشترین درصد مقاومت را به آمپی‌سیلین، و بیشترین حساسیت را به آنتی‌بیوتیک‌های نالیدکسیک اسید، جنتامایسین و سیپروفلوکساسین گزارش کردند (۱۰). در مطالعه مشابهی که توسط میر صالحیان و همکارانش در سال ۱۳۸۶ در تهران صورت گرفت، نتایج مشابهی به دست آمد و بیشترین درصد مقاومت نسبت به آمپی‌سیلین با ۹۸/۰۵ درصد و کمترین درصد مقاومت مربوط به ایمی‌پنم با ۲/۹۱ درصد گزارش شد (۱۱).

جدول۳. میزان حساسیت سویه‌های جداسازی شده به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف با روش دیسک دیفیوژن

نوع انتی بیوتیک	میزان حساسیت (Sensitive)	میزان حساسیت متوسط (Intermediate)	میزان مقاومت (Resistance)
آمپی سیلین	۲۴* (۴۳/۷)	۹ (۱۶/۳)	۲۲ (۴۰)
آمپی سیلین/سولباکتام	۱۱ (۲۰)	۱۷ (۳۰/۹)	۲۷ (۴۹/۱)
سیپروفلوکساسین	۳ (۵/۵)	۱۰ (۱۸/۲)	۴۲ (۷۶/۳)
ایمی پنم	-	-	۵۵ (۱۰۰)
سفتریاکسون	-	۱۴ (۲۵/۵)	۴۱ (۷۴/۵)
سفتازیدیم	۶ (۱۰/۹)	۹ (۱۶/۴)	۴۰ (۷۲/۷)
سفوتاکسیم	۸ (۱۴/۵)	۲۲ (۴۰)	۲۵ (۴۵/۵)
تری متوپریم	۳۲ (۵۸/۱)	۷ (۱۲/۸)	۱۶ (۲۹/۱)
تتراسایکلین	۲۷ (۴۹/۱)	۱۸ (۳۲/۷)	۱۰ (۱۸/۲)
آزترئونام	۱۰ (۱۸/۲)	۴۱ (۷۴/۵)	۴ (۷/۳)
آمیکاسین	۷ (۱۲/۸)	۱۸ (۳۲/۷)	۳۰ (۵۴/۵)
کلرامفنیکل	۱۰ (۱۸/۲)	۹ (۱۶/۴)	۳۶ (۶۵/۴)
سفپودوکسیم	۵۰ (۹۰/۹)	۵ (۹/۱)	-
جنتامایسین	۵ (۹/۱)	۶ (۱۰/۹)	۴۰ (۷۲/۷)

* تعداد (٪)



شکل۱. نتایج Multiplex PCR. به ترتیب از چپ به راست: مارکر ۱۰۰ bp، کنترل مثبت، کنترل منفی، نمونه‌های شماره ۳۴، ۳۶، ۳۷، ۳۹، ۴۱، ۴۲ و ۴۴ واجد ژن ۱۹۸ bp:*bla* $_{oxa}$، نمونه‌های شماره ۳۴، ۳۵، ۲۸، ۳۸ واجد ژن ۲۸۴ bp :*aadA*

تحقیق حاضر نیز میزان مقاومت به آمپی‌سیلین را ۴۰ درصد و به ایمی‌پنم را ۱۰۰ درصد گزارش کرد. قابل ذکر است که آمیکاسین و ایمی‌پنم از داروهای انتخابی موثر بر علیه باکتری‌های تولید کننده ESBL هستند. در مورد سویه‌های *اشریشیاکلی*، درصد مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های انتخابی تقریباً بالا است. اختلاف مشاهده شده در این نتایج با سایر کشورها می‌تواند مربوط به الگوی مصرف آنتی‌بیوتیک، منطقه جغرافیایی، تفاوت در الگوی مقاومت در مناطق مختلف و مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک در کشور ما باشد. همچنین بالا بودن میزان مقاومت سویه‌های مقاوم به بعضی آنتی‌بیوتیک‌ها نشان دهنده مصرف بی‌رویه این آنتی‌بیوتیک در کشور است. CLSI توصیه کرده است که ارگانیسم‌های تولید کننده ESBL باید نسبت به تمامی پنی‌سیلین‌ها، سفالوسپورین‌ها و مونوباکتام مقاوم در نظر گرفته شوند (۴). انتشار باکتری‌های مقاوم به نظر می‌رسد ناشی از استفاده وسیع سفالوسپورین‌های وسیع الطیف در بخش‌های مختلف بیمارستان باشد، به طوری که شاهد افزایش روز افزون

میزان الگوی مقاومت‌های دارویی به ویژه ESBL در بخش‌های مراقبت ویژه بیمارستان هستیم. همچنین مطالعات بسیاری، ارتباط نزدیک بین استفاده قبلی و تجربی از آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام با پیدایش و افزایش مکانیسم‌های تولید کننده این آنزیم‌ها را نشان داده‌اند. در بررسی شاهچراغی در سال ۱۳۸۵ بر روی ۱۹۶ سویه *اشریشیاکلی* جدا شده از بیمارستان‌های شهر تهران، روش‌های فنوتیپی (دیسک دیفیوژن) نشان دادند که ۷۰ درصد سویه‌های مورد مطالعه، دارای بتالاکتاماز وسیع الطیف هستند (۱۲). در مطالعه حقیقت‌پناه و همکارانش بیشترین میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی به آموکسی‌سیلین و بیشترین حساسیت نسبت به ایمی‌پنم گزارش شد و در ۵۱/۹ درصد از کل نمونه‌ها آنزیم ESBL شناسایی شد. همچنین فراوانی ژن bal_{TEM} در ۳۲/۵ درصد نمونه‌ها شناسایی شد (۵). در صورتی که در تحقیق ما هرچند مقاومت به همه آنتی‌بیوتیک‌ها مشاهده نشد، ولی میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها درصد قابل توجهی بود و برخلاف نتایج حقیقت‌پناه، کل نمونه‌ها به ایمی‌پنم مقاوم بودند. مقایسه نتایج این مطالعه و سایر پژوهش‌های انجام شده در ارتباط با آنتی بیوگرام باکتری‌ها، حاکی از شیوع مقاومت در برابر آنتی بیوتیک‌های خانواده بتالاکتام در باکتری‌های جداسازی شده از نمونه‌های بالینی است. در مطالعه زمان‌زاد، ۵۸ درصد از سویه‌های مولد بتالاکتامازهای وسیع الطیف دارای ژن TEM-1 و در مطالعه مسجدیان ۶/۸۴ درصد نمونه‌ها واجد این ژن بودند (۱۴،۱۳). در صورتی که در پژوهش ما این ژن در هیچ یک از نمونه‌ها شناسایی نشد. این میزان در بعضی از گزارشات، روند نگران کننده‌ای را نشان می‌دهد، به طوری که در مطالعه‌ای که در تایوان انجام شد، ژن مزبوردر ۸۱ درصد سویه‌های بیمارستانی *اشریشیاکلی*، *کلبسیلا پنومونیه* و انتروباکتر گزارش شد (۱۵). در مطالعه میرصالحیان و همکارانش بر روی نمونه‌های جدا شده از بیماران بستری در ICU، ۶۰ درصد از *اشریشیاکلی*‌های جدا شده تولید کننده آنزیم ESBL بودند (۱۱). Ryu و همکارانش در سال ۲۰۱۲ طی تحقیقی بر روی نمونه‌های اشریشیاکلی جداشده از موادغذایی دریایی، بیشترین مقاومت را نسبت به آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین (۳۰/۷ درصد) مشاهده کردند؛ به علاوه فراوانی ژن *blaTEM* ۲۱/۴ درصد بود و ژن مربوط به آمینوگلیکوزیدها در ۱۸ نمونه (۲۵/۷ درصد) گزارش شد (۴). اما در نتایج تحقیق ما، برخلاف نتایج آنها، ژن TEM شناسایی نشد، اما فراوانی ژن *aadA* در ۱۵ نمونه ۲۷/۲ درصد شناسایی شد که با نتایج Ryu همخوانی دارد. در مطالعه Bradford، بیشترین فراوانی آنزیم‌های ESBLs در ایالات متحده، مربوط به خانواده TEM بتالاکتاماز بود (۱۶). بنابراین ضروری است که برای شناسایی دقیق این نوع مقاومت از روش‌های مولکولی در کنار روش‌های فنوتیپی استفاده شود و بیمارانی که مبتلا به عوامل عفونت‌زای تولید کننده ESBLs هستند، علاوه بر مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های وسیع الطیف غالباً به سایر انواع آنتی‌بیوتیک‌ها نیز مقاومت نشان می‌دهند. بنابراین شناسایی سریع سویه‌های تولید کننده ESBLs در آزمایشگاه‌های میکروب شناسی بسیار مهم و ضروری است (۱۷). در این تحقیق، ژن‌های *aadA/ bla oxa* به طور هم‌زمان بررسی شدند که میزان فراوانی هم‌زمان این ژن‌ها ۲۱/۸ درصد گزارش شد؛ البته گزارش مشابهی در ایران و سایر نقاط جهت مقایسه با این موضوع یافت نشد. در مطالعه یزدی و همکارانش در سال ۱۳۸۹، فراوانی ژن‌های *bla TEM ,M-blaCTX ,blaSHV* به ترتیب ۸۷ درصد، ۶۸ درصد و ۷۰ درصد گزارش شد و بیان کردند که با توجه به درصد بالای مقاومت به سفالوسپورین‌های نسل سوم، انجام دقیق آزمایش‌های آنتی‌بیوگرام قبل از تجویز آنتی‌بیوتیک در عفونت‌های ناشی از ارگانیسم‌های تولیدکننده ESBLs ضرورتی اجتناب‌ناپذیر است (۱۷).

از این مطالعه نتیجه‌گیری می‌شود که علی‌رغم هزینه‌های بالای روش‌های ژنوتیپی در مقایسه با روش‌های فنوتیپی تشخیص مقاومت، نیاز به گسترش روش‌های مولکولی منجر به درمان مؤثر و سریع و جلوگیری از گسترش ایزوله‌های مقاوم باکتریها، مهم به نظر می‌رسد. پایش و نظارت بر مقاومت دارویی باکتری‌های روده‌ای ارزش قابل توجهی برای توسعه دستورالعمل‌های درمان و نظام سلامت ملی و نقش مهمی در پیشگیری از ایجاد سویه‌های مقاوم دارد.

تشکروقدردانی

این تحقیق حاصل پایان نامه است و نگارنده، کمال تشکر و سپاسگزاری خود را از کارکنان آزمایشگاه پژوهشی میکروبیولوژی پاسارگاد مهندس ابوالفضل مقدم و رامین خاکی جوان که در انجام مراحل عملی این تحقیق یاری نمودند، اعلام می‌دارد.

REFERENCES

1.Karami P, Aslani M M, Najafi Mosleh M, Alikhani M Y. Determination Pattern of Antibiotic Resistance in Entropathogenic Escherichia coli Strains Isolated from Children with Diarrh. J Hamedan Uni Med Sci 2012;19:27-31. [In Persian]

2. Shebani AA, Aghaee SS, Nasr R. Prevalence of gene TEM-1 in E. coli strains isolated from clinical samples in Damghan. J Islamic Azad Uni Microbial Biotech 2010;3:15-22. [In Persian]

3. Rahimi M, Tajbakhsh M, Razaghi M, Tajeddin E, Alebouyeh M, Rajabi Bazl M, et al. Frequency of β-lactamase producing isolates of Escherichia coli and their diversity in enzyme activities among the resistance isolates from patients with diarrhea and nosocomial infections in Tehran, Iran. Koomesh 2014;15:197-205. [In Persian]

4. Ryu SH, Park SG, Choi SM, Hwang YO, Ham HJ, Kim SU, Lee YK, Kim MS, Park GY, Antimicrobial resistance and resistance genes in Escherichia coli strains isolated from commercial fish and seafood. Int J Food Microbiol 2012;152:14-8.

5. Haghighatpanah M, Faezi M, Shenagari M. The study of antibiotic resistance in clinical isolates Ashryshyaklay track lactamase TEM wide range of ESBL in Rasht. Scientific J Ilam Uni Med Sci 2014;22:180-9. [In Persian]

6. Murray PR, Rosenthal K, Pfaller MA, Eds. Medical microbiology. New York: Elsevier Health Sciences; 2015. p. 328.

7. Cockerill FR, Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility testing: approved standard. National Committee for Clinical Laboratory Standards; 2012.

8. Van TT, Chin J, Chapman T, Tran LT, Coloe PJ. Safety of raw meat and shellfish in Vietnam: an analysis of Escherichia coli isolations for antibiotic resistance and virulence genes. Int J Food Microbiol 2008;124:217-23.

9. Mokhtarian H, Nourzad H. A styudy of antibiotic resistance of Escherichia coli isolated from urinary tract infection. J Gonabad Uni Med Sci 2006;12:1-6. [In Persian]

10. Bouzari S, Azizi A, Oloomi M, Nataro J. Short report: characterization of enteroaggregative Escherichia coli isolates from Iranian children. J Trop Med and hygiene 2001;65:4-13. [In Persian]

11. Mirsalehian A, Peymani A, Mirafshar M, Hamidian M. Prevalence of ESBL-producing Enterobacteriaceae parts Care. J Tehran Uni Med Sci 2007;65:33-8. [In Persian]

12. Shahcheraghi F, Noviri F. Detection of blaTEM & blaSHV antibioticresistant genes in E.coli strain isolated from clinical specimens from hospitals in Tehran, Iran. J Med Microbiol 2007;1:1-8. [In Persian]

13. Masjedian F, Talebi A, Rastegarlari, A. Molecular analysis of resistance to broad-spectrum antibiotics in Escherichia coli & Klebsiellapneumoniae isolates, Iran. J Med Microbiol 2007;2:27-34. [In Persian]

14. Zamanzad B, Nafis M, karimi A, Farokhi A. Prevalence of TEM-1 gene in E. coli strains, Klbsya pneumoniae and Enterobacter lactamase (ESBL) producing isolates from hospital clinical specimens by PCR. J Hamadan Uni Medl Sci 2007;14:19-25. [In Persian]

15. Wu JJ, Chen HM, Ko WC, Wu HM, Tsai SH, Yan JJ. Prevalence of extended-spectrum β-lactamases in Proteus mirabilis in a Taiwanese university hospital, 1999 to 2005: identification of a novel CTX-M enzyme (CTX-M-66). Diagn Microbiol Infect Dis 2008;60:75-169.

16. Bradford P. Extended-spectrum beta lactamases in the 21st century: Characterization epidemiology and detection of this important resistance threat. Clin Microbiol 2001;14:933-51.

17. Yazdi M, Mirnargesi M. The Prevalence of beta-lactamase resistance SHV/CTX-M/TEM genes in E.coli strain isolated from urine samples in Tehran,Iran. J Lab Med 2009;4:48-54. [In Persian]