Arak Medical University Journal (AMUJ) *Original Article*
2016; 19(107): 59-67

The Frequency of Extended Spectrum β-Lactamase Genes of SHV-2a, SHV-5 and SHV-12 in Clinical Isolates of Klebsiella Pneumoniae Isolated from Kermanshah Medical Centers in 2014

Mohammad Hosein Feiz Sarshar[1], Alisha Akya[2*]

1- MSc in Microbiology, Department of Biology, kurdistan Science and Research Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran.
2- Associate Professor, Department of Medical Microbiology, Hospital Infections Research Center, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran.

Received: 13 Dec 2015, Accepted: 12 Jan 2016

Abstract

Background: The dissemination of extended-spectrum β-lactamases (ESBL) in Klebsiella pneumoniae isolates has resulted in the increase of antibiotic resistance and mortality among patients. The aim of this study was to determine the prevalence of ESBL and SHV-2a, SHV-5 and SHV-12 genes in K. pneumoniae isolates from Kermanshah.

Materials and Methods: In this descriptive – analytical study, from 112 clinical samples of patients admitted at Kermanshah medical centers in 2014, 60 K. pneumoniae isolates were recognized by standard methods of bacteriology and API Kit. Antibiotic susceptibility of isolates was determined by disk diffusion method and the isolates were screened for ESBL-producerig using the combination disc method. The SHV-2a, SHV-5 and SHV-12 genes were determined among isolates using PCR method. Primers were designed in this study.

Results: Of 60 isolates tested, the highest and the lowest resistance was for ampicillin and carbapenem antibiotics, respectively. Forty-five percent of isolates were ESBL-producer. Among 60 isolates tested, 5 (8.3%), 57 (95%) and 43 (71.7%) isolates contained SHV-2a, SHV-5 and SHV-12 genes, respectively. Five isolates contained all the three genes of SHV-2a, SHV-5 and SHV-12.

Conclusion: The results indicate the relatively high prevalence of SHV type beta-lactamase genes in K. pneumoniae isolates in Kermanshah. Given this high prevalence, the surveillance of antibiotic resistant patterns and relevant genes is necessary among gram-negative bacilli in Kermanshah region. Due to the high resistance of K. pneumoniae isolates to antibiotics and to reduce the dissemination of resistant genes, susceptibility testing to choose more affective antibiotics is recommended even for isolates from outpatients.

Keywords: ESBL, Klebsiella pneumoniae, SHV

*Corresponding Author:
Address: Department of Microbiology P.O.Box:6714869914, Faculty of Medicine, Daneshgah St., Shahid Shiroodi BlVd, Kermanshah, Iran.
Email: akya359@yahoo.com

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک

سال ۱۹، شماره ۲ (شماره پیاپی ۱۰۷)، اردیبهشت ۱۳۹۵، ۶۷-۵۹

فراوانی ژن‌های بتالاکتاماز طیف گسترده SHV-2a، SHV-5 و SHV-12 در ایزوله‌های بالینی کلبسیلا پنومونیه جدا شده از مراکز پزشکی شهر کرمانشاه در سال ۱۳۹۳

محمد حسین فیض سرشار[۱]، علیشا اکیا[۲*]

۱-کارشناس ارشد میکروبیولوژی، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم تحقیقات کردستان، سنندج، ایران.

۲- دانشیار، گروه میکروب شناسی پزشکی، مرکز تحقیقات عفونت‌های بیمارستانی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه ، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۴/۹/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۰/۳۰

چکیده

زمینه و هدف: گسترش بتالاکتامازهای طیف گسترده (ESBL) در ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه منجر به افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی و مرگ و میر در بیماران گردیده است. هدف از این مطالعه تعیین شیوع ESBL و ژن‌های SHV-2a ، SHV-5 و SHV-12 در ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه در کرمانشاه بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه توصیفی- تحلیلی از بررسی ۱۱۲ نمونه بالینی بیماران در مراکز پزشکی شهر کرمانشاه در سال ۱۳۹۳، تعداد ۶۰ ایزوله کلبسیلا پنومونیه با روش‌های استاندارد باکتری شناسی و کیت API شناسایی گردید. حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها با روش دیسک دیفیوژن تعیین و ایزوله‌های مولد ESBL به روش دیسک ترکیبی غربال‌گری شدند. ژن‌های SHV-2a ، SHV-5 و SHV-12 در میان ایزوله‌ها با روش PCR تعیین گردیدند و پرایمرها طراحی شدند.

یافته‌ها: از ۶۰ ایزوله مورد بررسی، بیشترین و کمترین میزان مقاومت به ترتیب به آمپی‌سیلین و آنتی‌بیوتیک‌های گروه کارباپنم نشان داده شد. ۴۵ درصد ایزوله‌ها مولد آنزیم ESBL بودند. از میان ۶۰ ایزوله مورد بررسی، ۵ (۸/۳ درصد) ایزوله حاوی ژن SHV-2a ، ۵۷ (۹۵ درصد) ایزوله حاوی ژن SHV-5 و ۴۳ (۷۱/۷ درصد) ایزوله حاوی ژن SHV-12 بودند. در این مطالعه، ۵ ایزوله دارای هر سه ژن SHV-2a ، SHV-5 و SHV-12 بودند.

نتیجه‌گیری: نتایج بیان‌گر شیوع نسبتاً بالای ژن‌های بتالاکتاماز نوع SHV در ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه در کرمانشاه می‌باشد. با توجه به بالا بودن میزان شیوع، پایش الگوی مقاومت‌ها و ژن‌های مربوطه در ایزوله‌های باسیل‌های گرم منفی در منطقه کرمانشاه ضرورت دارد. باتوجه به درصد بالای مقاومت ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه به آنتی‌بیوتیک‌ها و نیز برای کاهش گسترش ژن‌های مقاومت، انجام سنجش حساسیت برای انتخاب آنتی‌بیوتیک‌های موثرتر حتی برای ایزوله‌های بیماران سرپایی توصیه می‌گردد.

واژگان کلیدی: بتالاکتاماز طیف گسترده، کلبسیلا پنومونیه، SHV

***نویسنده مسئول:** ایران، کرمانشاه، بلوار شهید شیرودی، خیابان دانشگاه، دانشکده پزشکی ، کد پستی۶۷۱۴۸۶۹۹۱۴ ، گروه میکروب‌شناسی

Email: akya359@yahoo.com

مقدمه

کلبسیلا پنومونیه یکی از باسیل‌های گرم منفی خانواده انتروباکتریاسه است که در طبیعت منتشر می‌گردد و جزو باکتری‌های فلور نرمال در انسان محسوب می‌شود(۱). این پاتوژن فرصت طلب عامل طیف وسیعی از عفونت‌ها به ویژه در بیماران بستری از جمله سپتی سمی، پنومونی و عفونت مجاری ادراری می‌باشد. کلنیزه شدن این باکتری در بیماران بستری بیشتر از بیماران سرپایی است(۲). آنتی‌بیوتیک‌های معمول برای درمان عفونت کلبسیلایی عمدتاً از داروهای دسته بتالاکتام‌ها می‌باشند. اما استفاده بیش از حد و مداوم این داروها باعث بروز مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به این گروه از آنتی‌بیوتیک‌ها در کلبسیلا پنومونیه شده است(۳).

یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های مقاومت در برابر بتالاکتام‌ها، تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز است که از طریق هیدرولیز هسته مرکزی آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام موجب غیر فعال شدن آن‌ها می‌شوند(۴). بتالاکتامازهای طیف گسترده (ESBLs) اولیه بیشتر از نوع TEM وSHV بودند که به دنبال جهش‌های نقطه‌ای در ژن اجداد این آنزیم‌ها (TEM-1, TEM-2, SHV-1) تاکنون ۱۷۴ زیر گروه TEM و ۱۱۹ زیر گروه از SHV در سراسر جهان گزارش شده است. این جهش‌های ژنتیکی باعث گرایش این آنزیم‌ها به سوبسترای اختصاصی هم‌چون سفالوسپورین‌های نسل سوم و چهارم به ویژه سفوتاکسیم، سفتریاکسون و سفتازیدیم شده‌اند(۴، ۵). آنزیم بتالاکتاماز نوعSHV بیشتر از سویه‌های کلبسیلا جدا شده است. ژن پیش ساز SHV احتمالاً به صورت یک ژن کروموزومی در کلبسیلا ظاهر شده و سپس از راه‌های انتقال ژنتیکی به پلاسمیدها منتقل شده و از این طریق در بین گونه‌های مختلف انتروباکتریاسه پخش شده است(۶). آنالیز ژنومی در کلبسیلا پنومونیه، منشا کروموزومی آن را تایید می‌کند(۷).

با توجه به مقاومت بالای ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه وگسترش مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در نقاط مختلف کشور و این که شناسایی زیر گروه‌های SHV این باکتری در کرمانشاه انجام نشده است، این پژوهش جهت بررسی ایزوله‌های مولد ESBL و شیوع ژن‌های SHV-2a، SHV-5 و SHV-12 در این پاتوژن فرصت طلب انجام شد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه توصیفی- تحلیلی که طی سال‌های ۱۳۹۲ تا ۱۳۹۳ صورت گرفت، از میان ۱۱۲ نمونه بالینی از بیماران مراجعه کننده به مراکز پزشکی کرمانشاه، تعداد ۶۰ ایزوله کلبسیلا پنومونیه شناسایی گردید که ۳۵ ایزوله مربوط به نمونه‌های بیماران بستری در بیمارستان‌ها و ۲۵ ایزوله مربوط به بیماران سرپایی در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی بود. ایزوله‌ها با انجام تست‌های استاندارد باکتری شناسی شناسایی و با تست API تایید نهایی گردیدند. حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها به روش دیسک دیفیوژن و با استفاده از ۱۵ دیسک آنتی‌بیوتیکی(Mast، انگستان) شامل آمپی‌سیلین (۱۰ میکروگرم)، سفازولین (۳۰ میکروگرم)، جنتامیسین (۱۰ میکروگرم)، سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرم)، سفتریاکسون، سفپودوکسیم، آزترئونام، مروپنم، ارتاپنم، پیپراسیلین-تازوباکتام، توبرامایسین (۱۰ میکروگرم)، ایمیپنم (۱۰ میکروگرم)، سفتازیدیم (۳۰ میکروگرم) و کوتریموکسازول (۳۰ میکروگرم) و سیپروفلوکساسین طبق استاندارد CLSI 2013 تعیین شد. برای کنترل کیفی از سویه‌ی استاندارد کلبسیلا پنومونیه ATCC 700603 استفاده شد. در صورتی که ایزوله‌ای به حداقل سه کلاس از آنتی‌بیوتیک‌های تست شده مقاومت داشت، دارای مقاومت دارویی چندگانه (MDR) در نظر گرفته می‌شد.

غربال‌گری فنوتیپی ESBL در ایزوله‌ها به روش دیسک ترکیبی و با استفاده از دیسک‌های آنتی‌بیوتیک ترکیبی [سفتازیدیم (۳۰ میکروگرم) همراه با سفتازیدیم (۳۰ میکروگرم)/ کلاوونیک اسید(۱۰ میکروگرم)] و [سفوتاکسیم(۳۰ میکروگرم) همراه با سفوتاکسیم(۳۰ میکروگرم)/ کلاوونیک اسید(۱۰ میکروگرم)] انجام شد. طبق معیار CLSI ، اگر افزایش قطر هاله عدم رشد ایزوله در اطراف دیسک آنتی‌بیوتیک با کلاوونیک اسید به اندازه ۵ میلی‌متر یا بیشتر باشد، ایزوله مولد ESBL ارزیابی می‌گردد.

ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه با استفاده از پرایمرهای اختصاصی که در این مطالعه طراحی شدند، جهت بررسی حضور ژن‌های SHV-2a، SHV-5 و SHV-12 با PCR مورد آزمایش قرار گرفتند(جدول۱). DNA ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه به روش جوشاندن استخراج شد و واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۱۲/۵ میکرولیتر Master mix 2x (سیناکلون، ایران)، ۲ میکرولیتر DNA باکتری، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر (سیناکلون، ایران) و ۸/۵ میکرولیتر آب مقطر استریل انجام شد. پرایمرها با استفاده از نرم افزار Primer3 (http://simgene.com/Primer3) و محصولات PCR با انجام الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۱ درصد و پس از رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید با دستگاه (BioRad ، ایالات متحده امریکا) Gel Doc بررسی شدند. از سویه‌های اشرشیا کلی که دارای ژن‌های SHV-2a، SHV-5 و SHV-12بودند به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. در این مطالعه برای تحلیل آماری نتایج آنتی‌بیوگرام، ESBL، PCR و اطلاعات ایزوله‌ها، از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ و از آزمون کای مربع استفاده شد. نتایج با فاصله اطمینان ۹۵ درصد محاسبه و $p<۰/۰۵$ معنی‌دار گزارش شد.

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده و اندازه محصول آن‌ها

پرایمرها	توالی پرایمرها (5'→3')	اندازه محصول PCR (bp)
SHV-2a- F SHV-2a- R	GGAAACGTCGAGCATTGTGG TAACTTTGCAACAGCTGCCCA	535
SHV-5- F SHV-5- R	TATCGGCCCTCACTCAAGGA TGCTCATCATGGGAAAGCGT	231
SHV-12- F SHV-12- R	GCCGCGTAGGCATGATAGAA CGGCGTATCCCGCAGATAAA	677

یافته‌ها

نمونه‌ها شامل ۳۲ ایزوله مربوط به نمونه‌ی ادرار، ۸ ایزوله از نمونه‌ی سوختگی، ۱۰ ایزوله از نمونه‌ی تراشه، ۵ ایزوله از نمونه خون، ۳ ایزوله از نمونه زخم، ۱ ایزوله از نمونه برانکارد و ۱ ایزوله از نمونه پانسمان بود.

در این مطالعه بیشترین میزان مقاومت ایزوله‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین (۱۰۰ درصد) و بیشترین میزان حساسیت ایزوله‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های ایمی‌پنم (۱/۷ درصد)، مروپنم (۱/۷ درصد) و ارتاپنم (۱/۶ درصد) بود(نمودار ۱). هم‌چنین ۴۶ درصد ایزوله‌ها MDR بودند و میزان مقاومت نسبت به داروهای بتالاکتام در ایزوله‌های بیماران بستری متفاوت اما بالاتر از مقاومت ایزوله‌های بیماران سرپایی بود(جدول ۲)، به طوری که رابطه معنی‌داری در آزمون آماری کای مربع بین نمونه‌های بیماران بستری و سرپایی از نظر میزان مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سفتازیدیم، سفپودوکسیم، آزترئونام و پیپراسیلین-تازوباکتام وجود داشت($p<۰/۰۵$).

جدول۲. فراوانی ایزوله‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام بر حسب بیماران سرپایی و بخش‌های بیماران بستری

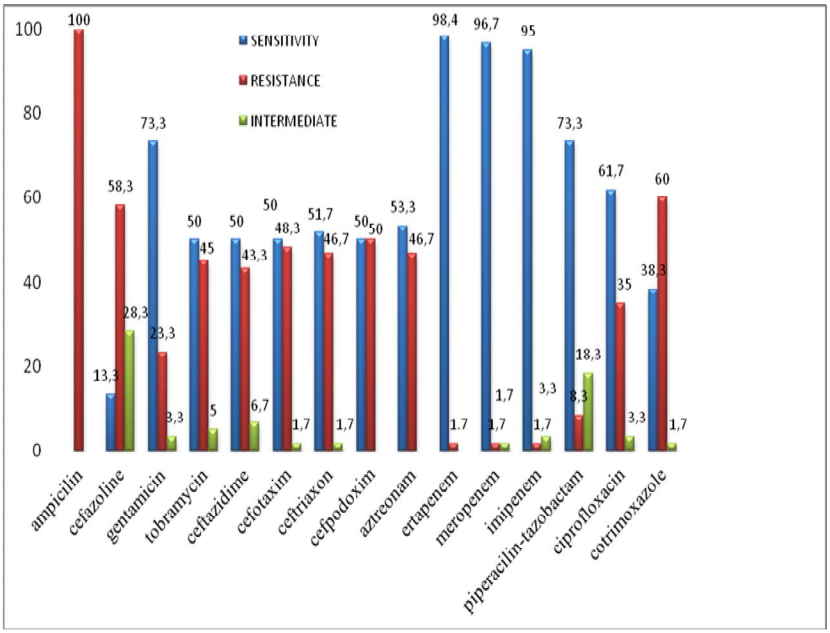
بخش بستری بیماران	تعداد نمونه	مقاومت ایزوله ها به آنتی بیوتیکهای بتالاکتام										
		AMP	CFZ	CAZ	CTX	CRO	CPD	ATM	TZP	IPM	MEM	ETP
سرپایی	۲۵	۲۵	۸	۲	۴	۴	۵	۳	۲	۱	۱	۱
ICU	۱۳	۱۳	۸	۸	۸	۷	۸	۸	۱	۰	۰	۰
سوختگی	۸	۸	۷	۷	۷	۷	۷	۷	۱	۰	۰	۰
داخلی	۵	۵	۴	۳	۴	۴	۴	۴	۰	۰	۰	۰
جراحی	۵	۵	۴	۳	۳	۳	۳	۳	۰	۰	۰	۰
نورولوژی	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۰	۰	۰
عفونی	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۰	۰	۰	۰
CCU	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۰	۰	۰	۰
پانسمان	۱	۱	۱	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰

اختصارات: AMP : آمپی سیلین؛ CFZ: سفازولین؛ CAZ : سفتازیدیم؛ CTx: سفوتاکسیم؛ CRO : سفتریاکسون؛ CPD: سفپودوکسیم؛ ATM: آزترونام؛ TZP: پیپراسیلین- تازوباکتام؛ IPM: ایمی پنم؛ MEM: مروپنم؛ETP: ارتاپنم؛ CCU: بخش مراقبت های قلبی؛ ICU: بخش مراقبت های ویژه

نتایج تست دیسک ترکیبی نشان داد که ۲۷ ایزوله (۴۵ درصد) دارای آنزیم ESBL بودند و میزان مقاومت آن‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین، سفازولین، سفپودوکسیم و سفوتاکسیم ۱۰۰ درصد بود. از ۶۰ ایزوله مورد آزمایش PCR، ۵(۸/۳ درصد) ایزوله حاوی ژن SHV-2a ، ۵۷(۹۵ درصد) ایزوله حاوی ژن SHV-5 و ۴۳(۷۱/۷ درصد) ایزوله حاوی ژن SHV-12 بود(جدول ۳). هر چند شیوع ژن‌های SHV برحسب بخش بستری بیماران تا حدی متفاوت بود، ولی از نظر آماری معنی‌دار نبود($p>۰/۰۵$). ژن‌های SHV-5و SHV-12 در تمام ایزوله‌های بستری و سرپایی انتشار داشتند. اما ژن SHV-2a فقط در بعضی از ایزوله‌های بستری یافت شد. در این مطالعه ۵ ایزوله حاوی هر سه ژن SHV-2a ، SHV-5 و SHV-12 و هر ۵ ایزوله از نمونه‌های یک بیمارستان جدا شده بودند.

جدول۳. توزیع فراوانی ایزوله‌های دارای ژن‌های SHV بر حسب بیماران سرپایی و بخش‌های بیماران بستری

بخش بستری	تعداد نمونه	تعداد ایزوله ی دارای ژن‌های SHV		
		SHV-2a	SHV-5	SHV-12
سرپایی	۲۵	۰	۲۵	۱۸
ICU	۱۳	۲	۱۲	۱۰
سوختگی	۸	۲	۷	۷
داخلی	۵	۱	۵	۴
جراحی	۵	۰	۵	۲
نورولوژی	۱	۰	۰	۰
عفونی	۱	۰	۱	۱
CCU	۱	۰	۱	۰
پانسمان	۱	۰	۱	۱



نمودار ۱. نتایج سنجش حساسیت آنتی بیوتیکی ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه

بحث

در این تحقیق میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های بیماران بستری بسیار بیشتر از ایزوله‌های بیماران سرپایی بود که از نظر آماری معنی‌دار بود($p<۰/۰۵$). این موضوع گسترش سویه‌های مقاوم در بخش‌های بیمارستانی و اهمیت کنترل و استفاده مناسب از آنتی‌بیوتیک‌ها را نشان می‌دهد. از بین داروهای بتالاکتام، مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های گروه کارباپنم بسیار پایین بود که در نتیجه می‌توانند به عنوان آنتی‌بیوتیک‌های مناسب جهت درمان عفونت‌های کلبسیلا پنومونیه به کار روند. در مطالعاتی که در ایران و سایر کشورها از جمله پاکستان، اردن و ژاپن انجام شده، نتایج مشابهی در مورد مقاومت پایین به کارباپنم‌ها به دست آمده است(۱۱-۸).

نتایج به دست آمده از این تحقیق فراوانی بسیار بیشتر آنزیم ESBL در ایزوله‌های نمونه‌های بیمارستانی(۸۸ درصد) را در مقایسه با نمونه‌های سرپایی (۱۱ درصد) نشان داد که این نتیجه بیان‌گر گسترش سویه‌های مولد ESBL در بیمارستان‌ها و در نتیجه افزایش مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها و مرگ و میر بیشتر بیماران است. تحقیقات نشان داده که ایزوله‌های دارای آنزیم ESBL، معمولا دارای مقاومت آنتی‌بیوتیکی چندگانه هستند(۳)، به طوری که میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین، سفازولین، سفوتاکسیم و سفپودوکسیم در بین ایزوله‌های مولد ESBL ۱۰۰ درصد بود. از طرفی ۵۵ درصد ایزوله‌های مولد ESBL به سیپروفلوکساسین مقاومت داشتند، در حالی که مقاومت به سیپروفلوکساسین در بین ایزوله‌های فاقد ESBL ۱۸ درصد بود. هم‌چنین در این تحقیق میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک کوتریموکسازول در بین ایزوله‌های تولید کننده ESBL ۹۶ درصد بود، اما ایزوله‌های فاقد ESBL ۳۰ درصد مقاومت داشتند که این پدیده اهمیت ESBL ها را در ایجاد مقاومت در این پاتوژن فرصت طلب نشان می‌دهد. با در نظر گرفتن نوع و تعداد نمونه و نیز بستری یا سرپایی بودن بیماران، نتایج پژوهش‌های پیشین میزان فراوانی ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه مولد ESBL را در نقاط مختلف جهان متفاوت گزارش کرده‌اند. مثلاً در یک بررسی که در سال‌های ۱۹۹۳ تا ۱۹۹۸ در بیمارستان‌های سئول انجام گرفت، مشخص شد که ۵۲/۹ درصد از کلبسیلا پنومونیه‌ی جدا شده از کشت‌های خون در کودکان، مولد ESBL بوده است(۱۲). در کشورهای اروپایی شیوع این آنزیم‌ها نیز مختلف بوده است، به طوری که در فرانسه شیوع این آنزیم‌ها بیش از ۴۰ درصد گزارش

شده است(۱۳، ۱۴). در یکی از مطالعات اخیر شیوع این آنزیم‌ها در آلمان ۱/۵ درصد و در روسیه، ترکیه و یونان از ۳۹ تا ۴۷ درصد گزارش شده است(۱۵). هم‌چنین شیوع ESBL در هندوستان از ۶ تا ۸۷ درصد گزارش شده است(۱۹-۱۶). مطالعاتی در سال‌های ۱۳۸۷ و ۱۳۹۱در ایران شیوع ایزوله‌های مولد ESBL را از ۲۰/۲ تا ۷۶ درصد گزارش کرده‌اند(۲۲-۲۰).

مطالعات مشابهی که در ایران و دیگر کشورها انجام شده، شیوع متفاوتی برای ژن‌های SHV گزارش کرده‌اند. در مطالعه‌ای از سال ۱۹۹۶ تا ۱۹۹۷روی ۴۵۵ ایزوله کلبسیلا پنومونیه از هفت کشور جهان از جمله آرژانتین، آفریقای جنوبی، آمریکا، استرالیا، تایوان، بلژیک و ترکیه، ژن SHV با فراوانی ۶۷/۱ درصد، بیشترین درصد شیوع را در بین ژن‌های ESBL داشته است(۲۳). در مطالعه دیگری در کشور اسپانیا که در سال‌های ۱۹۸۹ تا ۲۰۰۰ روی ۱۵۹ ایزوله کلبسیلا پنومونیه انجام شد، ۴ ایزوله دارای ژن SHV-2a و ۱ ایزوله حاوی ژن SHV-5 بود که در مقایسه با نتایج مطالعه ما شیوع ژن SHV-5 و SHV-2a بسیار پایین‌تر بود(۲۴). هم‌چنین مطالعات دیگری که در سال‌های ۲۰۰۴ و ۲۰۰۵ در کشورهای کره و ترکیه انجام شد، درصد فراوانی ژن SHV را به ترتیب ۴۰ و ۷۴/۳ درصد گزارش کردند که به نتایج مطالعه ما نزدیک است(۲۶، ۲۵). مطالعات مشابهی که در شهرهای ایران از جمله اصفهان و تبریز روی ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه در سال‌های ۱۳۸۵ و ۱۳۸۷انجام شدند، شیوع ژن SHV را به ترتیب ۸۰ و ۲۵ درصد گزارش کردند، بر این اساس درصد شیوع ژن SHV در مطالعه اصفهان به نتایج مطالعه ما نزدیک‌تر است(۲۸،۲۷). این اختلاف در میزان شیوع ژن SHV ممکن است به دلایلی از جمله تعداد و نوع نمونه مورد بررسی، میزان و رویه تجویز آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله داروهای دسته بتالاکتام و شرایط بهداشت فردی و عمومی باشد.

در این مطالعه، ۵ ایزوله هر سه ژن SHV-2a، SHV-12 و SHV-5 را داشتند و از نمونه‌های سوختگی، خون و زخم بیماران بستری در بخش‌های ICU در یک بیمارستان جمع آوری شدند. این ۵ ایزوله علاوه بر مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های دسته بتالاکتام (به جز گروه کرباپنم) به آمینوگلیکوزیدها و کوتریموکسازول ۱۰۰ درصد مقاومت داشتند. از این ۵ ایزوله، ۴ ایزوله به سیپروفلوکساسین نیز مقاومت نشان دادند. این موضوع اهمیت ژن‌های گروه SHV را در ایجاد مقاومت نشان می‌دهد.

نتیجه‌گیری

فراوانی ژن بتالاکتاماز SHV به خصوص SHV-5 بالا بود که ضرورت کنترل و پایش مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها را نشان می‌دهد. ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه‌ی مولد آنزیم ESBL علاوه بر این که به آنتی‌بیوتیک‌های خانواده بتالاکتام (به جز کارباپنم‌ها) مقاومت بالایی دارند، به گروه‌های دیگر آنتی‌بیوتیک از جمله فلوروکینولون، آمینوگلیکوزیدها و کوتریموکسازول نیز عمدتاً مقاومند که این امر مشکلات عمده‌ای را در درمان بیماران ایجاد کرده است. با توجه به اهمیت ایزوله‌های مولد آنزیم ESBL در ایجاد مقاومت آنتی‌بیوتیکی، تشخیص این ارگانیسم‌ها در آزمایشگاه‌های تشخیصی ضروری است.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله نویسندگان از همکاری خانم دکتر فاطمه کشاورزی و پرسنل آزمایشگاه میکروب شناسی دانشکده پزشکی کرمانشاه قدر دانی می‌نمایند.

منابع

1. Janda JM, Abbott SL. The Enterobacteria. New York: Lippincott- Raven. 1998. p.110-30.
2. Livermore DM. Current epidemiology and growing resistance of gram-negative pathogens. The Korean journal of internal medicine. 2012; 27(2):128-42.
3. Kamatchi C, Magesh H, Sekhar U, Vaidyanathan R. Identification of clonal clusters of Klebsiella pneumoniae isolates from Chennai by extended spectrum beta lactamase genotyping and antibiotic resistance

phenotyping analysis. Am J Infect Dis. 2009; 5(2):74-82.
4. Raveh D, Yinnon AM, Broide E, Rudensky B. Susceptibilities of ESBL-producing Enterobacteriaceae to ertapenem, meropenem and piperacillin-tazobactam with and without clavulanic acid. Chemotherapy. 2007; 53(3): 185-9.
5. Pfeifer Y, Cullik A, Witte W. Resistance to cephalosporins and carbapenems in Gram-negative bacterial pathogens. International Journal of Medical Microbiology. 2010; 300(6): 371-9.
6. Livermore DM. beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance. Clinical microbiology reviews. 1995;8(4):557-84.
7. Ford PJ, Avison MB. Evolutionary mapping of the SHV β-lactamase and evidence for two separate IS26-dependent blaSHV mobilization events from the Klebsiella pneumoniae chromosome. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2004; 54(1):69-75.
8. Soltan Dalal M M, Miremadi S, Sharify Yazdi M K, Rastegar Lari A, Rajabi Z, Avadis Yans S. Antimicrobial resistance trends of Klebsiella Spp. isolated from patients in imam Khomeini Hospital. J Payavard Salamat, Tehran Uni Med Sci. 2012; 6(4): 275-81. [persiain]
9. Amin A, Ghumro P, Hussain S, Hameed A. Prevalence of antibiotic resistance among clinical isolates of Klebsiella pneumoniae isolated from a Tertiary Care Hospital in Pakistan. Malaysian Journal of Microbiology. 2009; 5(2):81-6.
10. Al Shara MA. Emerging antimicrobial resistance of Klebsiella pneumonia strains isolated from pediatric patients in Jordan. Iraqi J Med. 2011; 7(2): 29-32.
11. Ishii Y, Kimura S, Alba J, Shiroto K, Otsuka M, Hashizume N, et al. Extended-spectrum β-lactamase-producing shiga toxin gene (stx1)-positive Escherichia coli O26: H11: a new concern. Journal of clinical microbiology. 2005; 43(3):1072-5.
12. Kim Y-K, Pai H, Lee H-J, Park S-E, Choi E-H, Kim J, et al. Bloodstream infections by extended-spectrum β-lactamase-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae in children: epidemiology and clinical outcome. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2002; 46(5):1481-91.
13. Thomson KS, Sanders CC. Detection of extended-spectrum beta-lactamases in members of the family Enterobacteriaceae: comparison of the double-disk and three-dimensional tests. Antimicrobial agents and chemotherapy. 1992; 36(9):1877-82.
14. Lytsy B, Sandegren L, Tano E, Torell E, Andersson DI, Melhus A. The first major extended-spectrum β-lactamase outbreak in Scandinavia was caused by clonal spread of a multiresistant Klebsiella pneumoniae producing CTX-M-15. Apmis. 2008; 116(4):302-8.
15. Goossens H, Group MS. MYSTIC program: summary of European data from 1997 to 2000. Diagnostic microbiology and infectious disease. 2001; 41(4):183-9.
16. Agrawal P, Ghosh A, Kumar S, Basu B, Kapila K. Prevalence of extended-spectrum β-lactamases among Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae isolates in a tertiary care hospital. Indian Journal of Pathology and Microbiology. 2008; 51(1):139-42.
17. Jain A, Roy I, Gupta MK, Kumar M, Agarwal S. Prevalence of extended-spectrum β-lactamase-producing Gram-negative bacteria in septicaemic neonates in a tertiary care hospital. Journal of Medical Microbiology. 2003; 52(5): 421-5.
18. Tankhiwale SS, Jalgaonkar SV, Ahamad S, Hassani U. Evaluation of extended spectrum beta lactamase in urinary isolates. Indian Journal of Medical Research. 2004; 120(6):553-6.
19. Manchanda V, Singh N, Goyal R, Kumar A, Thukral S. Phenotypic characteristics of clinical isolates of Klebsiella pneumoniae & evaluation of available phenotypic techniques for detection of extended spectrum beta-lactamases. Indian Journal of Medical Research. 2005; 122(4):330-7.
20. Jazi Msjdyan F, Valle F, Talebi A, Rstgarlary A. Molecular evaluation of resistance to broad spectrum antibiotics in E.coli and Kelebsiella pneumoniae. Iranian J Med Microbiol. 2007; 1(2): 24-7.[Persian]
21. Myrsalyhan A, Akbari Nakhjavani F, Pymani A, Jebelameli F, Myrafshar S, Hamidian M. Evaluation of frequency of

broad-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in ICU. J Med Tehran Univ Med Sci. 2007; 65(1): 8 -33.[Persian]
22. Torshizi R, Zaman Zad B, Mokhtarian K, Karimi A. Determination of CTX-M genes in enterobacteriaceae producing extended-spectrum beta-lactamase using PCR method. J Shahrekord Univ Med Sci. 2011; 13(3): 9-17.[Persian]
23. Paterson DL, Hujer KM, Hujer AM, Yeiser B, Bonomo MD, Rice LB, et al. Extended-spectrum β-lactamases in Klebsiella pneumoniae bloodstream isolates from seven countries: dominance and widespread prevalence of SHV-and CTX-M-type β-lactamases. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2003; 47(11):3554-60.
24. Coque TM, Oliver A, Pérez-Díaz JC, Baquero F, Cantón R. Genes encoding TEM-4, SHV-2, and CTX-M-10 extended-spectrum β-lactamases are carried by multiple Klebsiella pneumoniae clones in a single hospital (Madrid, 1989 to 2000). Antimicrobial agents and chemotherapy. 2002; 46(2):500-10.
25. Song W, Bae IK, Lee Y-N, Lee C-H, Lee SH, Jeong SH. Detection of extended-spectrum β-lactamases by using boronic acid as an AmpC β-lactamase inhibitor in clinical isolates of Klebsiella spp. and Escherichia coli. Journal of clinical microbiology. 2007; 45(4):1180-4.
26. Tasli H, Bahar IH. Molecular characterization of TEM-and SHV-derived extended-spectrum beta-lactamases in hospital-based Enterobacteriaceae in Turkey. Japanese journal of infectious diseases. 2005; 58(3):162-7.
27. Masjedian F, Valehi F, Talebi A, Rastegar Lari A. Evaluation of broad spectrum antibiotic resistance of E. coli and Klebsiella pneumonia. Iran J Med Microbiol. 2007; 1(2): 27-34.[Persian]
28. Mobasher Kare Jeddi A, Nahaei M, Mobayyen H, Pornour M, Sadeghi J. Molecular study of extended-spectrum beta-lactamase (SHVtype) in Esherichia coli and Klebsiella pneumonia isolated from Medical Centers of Tabriz. Iran J Med Microbiol. 2009; 2(3 and 4): 9-17. [Persian]