



Research Paper

Detection of *bla*_{CTX-M}, *bla*_{TEM} and *bla*_{SHV} Genes in *Enterobacter cloacae* Isolates

Elahe Barzam Dehkordi¹, Elahe Tajbakhsh^{2*}, Hasan Momtaz³

¹Ph.D., Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

²Professor, Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

³Professor, Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

Received: 03/11/2023, Accepted: 24/12/2023

Abstract

Enterobacter cloacae strains, with having different virulence factors and multiple antibiotic resistances, are mainly considered as an opportunistic pathogen in nosocomial infections. The aim of this study was to determine the antibiotic resistance pattern of *Enterobacter aerogenes* isolates isolated from urinary tract infections in Shahrekord city and to detect broad-spectrum beta-lactamase (*SHV-CTX*, *TEM*) genes in these strains. In this study, 65 *Enterobacter cloacae* strains were studied. The antibiotic resistance of the isolates and the frequency of broad-spectrum beta-lactamase genes were studied phenotypically according to CLSI by instructions using a combined disk and genotypic method in the presence of specific primers. Out of 65 isolates of *Enterobacter cloacae*, 25 isolates (38.26%) were found to produce *ESBLs* in the phenotypic study, and the frequency of *bla*_{CTX-M}, *bla*_{TEM} and *bla*_{SHV} genes was reported as 28%, 32% and 10%, respectively. In the statistical analysis, no significant statistical relationship was observed between resistance to the antibiotics and *bla* genes. The present study indicates high prevalence *ESBLs* producing *Enterobacter cloacae* strains. The present study suggests that *ESBL* producing *Enterobacter cloacae* isolates have a high prevalence. The increase in the number of these species is often due to the irrational administration of antibiotics, which requires the use of new antimicrobial agents and limiting the unnecessary use of antimicrobial agents and increasing the use of infection control tools.

Keywords: *Enterobacter cloacae*, *ESBLs*, Antibiotic resistance

Citation: Barzam Dehkordi E, Tajbakhsh E, Momtaz H, Detection of *bla*_{CTX-M}, *bla*_{TEM} and *bla*_{SHV} genes in *Enterobacter cloacae* isolates. *Quality and Durability of Agricultural Products and Food Staffs*, 2024; 3(4): 36-51.



© The Author(s) **Publisher:** Islamic Azad University of Kerman, Iran

DOI: <https://doi.org/10.71516/qafj.2024.1127146>

*Corresponding author: Elahe Tajbakhsh, Email: ee_tajbakhsh@yahoo.com

Extended Abstract

Introduction

Enterobacter cloacae is a Gram-negative, facultatively anaerobic bacterium commonly found in the human gut but is also associated with a wide range of nosocomial infections, including urinary tract infections (UTIs), pneumonia, and sepsis. The increasing antibiotic resistance among *Enterobacter* species, particularly due to the production of extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs), poses a significant public health challenge. ESBL-producing strains hydrolyze a broad range of beta-lactam antibiotics, making treatment difficult. Among the most common ESBL genes are *blaCTX-M*, *blaTEM*, and *blaSHV*, which contribute to multidrug resistance (MDR) in *Enterobacter* species. This study aimed to determine the prevalence of these genes in *Enterobacter cloacae* isolates from patients with UTIs in Shahrekord, Iran, and assess their antibiotic resistance profiles.

Methods

This cross-sectional study was conducted over one year, from June 2019 to June 2020, on 1000 urine samples collected from patients suspected of UTIs in Shahrekord, Iran. The bacterial isolates were identified using standard biochemical and microbiological methods. Antibiotic susceptibility testing was performed using the disk diffusion method following Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) guidelines. The presence of *blaCTX-M*, *blaTEM*, and *blaSHV* genes was detected using polymerase chain reaction (PCR) with specific primers.

Results and Discussion

Of the 1000 urine samples, 300 were culture-positive for UTI pathogens, among which 65 isolates (21.66%) were identified

as *Enterobacter cloacae*. The prevalence of infections was significantly higher in female patients (76.92%) compared to males (23.08%). The highest infection rates were observed in patients aged above 60 years and those aged between 15-30 years. Antibiotic susceptibility testing revealed high resistance rates among the isolates, with the highest resistance observed against trimethoprim-sulfamethoxazole (84.62%) and the lowest resistance against nitrofurantoin (23.08%). Multidrug resistance (MDR) was detected in over 50% of the isolates. The phenotypic confirmatory test for ESBL production showed that 25 (38.26%) isolates were ESBL producers. PCR analysis detected *blaCTX-M* in 28% of isolates, *blaTEM* in 32%, and *blaSHV* in 10%. Some isolates harbored multiple resistance genes, with co-occurrence of *blaTEM* and *blaSHV* in 4%, *blaSHV* and *blaCTX-M* in 8%, and *blaCTX-M* and *blaTEM* in 16% of isolates. The presence of ESBL-producing *Enterobacter cloacae* in urinary tract infections (UTIs) represents a significant clinical concern, primarily due to its strong association with antimicrobial treatment failures, prolonged infection duration, and increased patient morbidity. Such infections often require extended hospital stays, more complex therapeutic regimens, and may result in higher healthcare costs. The high prevalence of extended-spectrum β -lactamase (ESBL) resistance genes detected in the isolates underscores the urgent need to re-evaluate current empirical antibiotic treatment protocols, as conventional regimens may no longer provide adequate coverage against multidrug-resistant (MDR) strains. Furthermore, the findings reinforce the importance of integrating continuous microbiological surveillance into clinical practice to detect emerging resistance trends in real time. Routine monitoring would enable healthcare providers to adapt antibiotic policies proactively, minimizing the risk of ineffective therapy. In parallel,

the implementation of stringent antimicrobial stewardship programs is critical to curbing the misuse and overuse of antibiotics in both hospital and community settings. Such programs should encompass evidence-based prescription guidelines, regular clinician training, and public awareness campaigns to limit the selection pressure driving resistance. Ultimately, a coordinated strategy involving early detection, targeted therapy, and robust infection control measures is essential to mitigate the spread of ESBL-producing *E. cloacae* and to preserve the efficacy of existing antimicrobial agents.

Conclusion

This study provides evidence of a high prevalence of ESBL-producing *Enterobacter cloacae* strains in Shahrekord, Iran, with a significant presence of *bla*_{CTX-M}, *bla*_{TEM}, and *bla*_{SHV} genes. The increasing resistance to commonly used antibiotics underscores the urgent need for infection control measures and judicious use of antimicrobials. Implementing molecular surveillance and incorporating novel therapeutic strategies will be crucial in controlling the dissemination of resistant strains.

Keywords: *Enterobacter cloacae*, ESBLs, Antibiotic resistance.

Funding: There was no external funding in this study.

Authors' contribution: All authors contributed equally to the writing and preparation of this manuscript.

Conflict of interest: The authors do not have any conflicts of interest with any commercial or other association with the article.



مقاله پژوهشی

ردیابی ژن های *bla_{CTX-M}*، *bla_{TEM}* و *bla_{SHV}* در جدایه های انتروباکتر کلوآکه

الهه برزم دهکردی^۱، الهه تاجبخش^{۲*}، حسن ممتاز^۳

^۱ دکتری تخصصی، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

^۲ استاد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

^۳ استاد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

دریافت: ۱۴۰۲/۰۸/۱۲، پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۰۳

چکیده

سویه های انتروباکتر کلوآکه با داشتن عوامل حدت مختلف و مقاومت آنتی بیوتیکی چندگانه، عمدتاً به عنوان یک پاتوژن فرصت طلب در ایجاد عفونت های بیمارستانی محسوب می شوند. این مطالعه بر روی ۶۵ جدایه انتروباکتر کلوآکه صورت گرفت، مقاومت آنتی بیوتیکی ایزوله های مورد بررسی و فراوانی ژن های بتالاکتامازهای وسیع الطیف به روش فنوتیپی مطابق دستورالعمل CLSI 2018 با استفاده از روش دیسک ترکیبی و ژنوتیپی، در حضور پرایمرهای اختصاصی بررسی شد. از ۶۵ جدایه انتروباکتر کلوآکه ۲۵ ایزوله (۳۸/۲۶ درصد) در بررسی فنوتیپی مولد بتالاکتامازهای وسیع الطیف تشخیص داده شدند که فراوانی ژن های *bla_{CTX-M}*، *bla_{TEM}* و *bla_{SHV}* به ترتیب ۲۸ درصد، ۳۲ درصد و ۱۰ درصد گزارش گردید. در تجزیه و تحلیل آماری بین مقاومت به آنتی بیوتیک های مورد بررسی و ژن های *bla* ارتباط آماری معنی داری مشاهده نگردید. مطالعه حاضر حاکی از آن است که سویه های انتروباکتر کلوآکه مولد ESBL از شیوع نسبتاً بالایی برخوردارند. افزایش میزان این گونه ها غالباً ناشی از تجویز غیرمنطقی آنتی بیوتیک ها است که رفع این مشکل مستلزم به کارگیری عوامل ضد میکروبی جدید و محدود نمودن استفاده غیرضروری از عوامل ضد میکروبی و افزایش بهره گیری از ابزارهای کنترل عفونت می باشد.

واژه های کلیدی: انتروباکتر کلوآکه، بتالاکتامازهای وسیع الطیف، مقاومت آنتی بیوتیکی

استناد: الهه برزم دهکردی، الهه تاجبخش، حسن ممتاز، ردیابی ژن های *bla_{CTX-M}*، *bla_{TEM}* و *bla_{SHV}* در جدایه های

انتروباکتر کلوآکه، کیفیت و ماندگاری تولیدات کشاورزی و مواد غذایی، (۱۴۰۳)، دوره ۳، شماره ۴، صفحات ۳۶-۵۱.

DOI: <https://doi.org/10.71516/qafj.2024.1127146>

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمان، ایران

© نویسندگان



مقدمه

باکتری‌های موجود در خانواده انتروباکتریاسه به دلیل فراوانی بسیار بالا در جوامع مختلف دارای اهمیت بیش‌تری می‌باشند. از این میان دو جنس *شریشیا* کلسی و *انتروباکتر* به دلیل فراوانی بالا و ایجاد عفونت‌های مختلف دارای اهمیت ویژه‌ای هستند. *انتروباکتر* باسیل گرم منفی، بی‌هوازی اختیاری به اندازه ۰/۶ تا ۲ میکرومتر می‌باشند و به‌واسطه دارا بودن فلاژل‌های پری‌تریش متحرک می‌باشند. *انتروباکتر کلوآکه* کومنسال معمول روده بزرگ در انسان و حیوانات است (۱). این باکتری عامل عفونت‌های بسیاری از جمله آبسه‌های مغزی، پنومونی، مننژیت، سپتی‌سمی، باکتریمی، آرتریت، استئومیلیت، عفونت‌های دستگاه ادراری و عفونت‌های رودهای می‌باشد. اگرچه *انتروباکتر* به‌ندرت در افراد سالم ایجاد عفونت می‌کند، اما می‌تواند عامل مهم مرگ‌ومیر و بیماری در افراد مبتلا به نقص ایمنی باشند. *انتروباکتر کلوآکه* مسئول ۶۵ تا ۷۵ درصد تمام عفونت‌های ناشی از جنس *انتروباکتر* است. (۲). علائم عفونت‌های *انتروباکتر* اختصاصی نبوده و در سایر باکتری‌های گرم منفی هم وجود دارد. *انتروباکتر* از گونه‌های متعددی تشکیل شده است (*انتروباکتر آئروژنز*، *انتروباکتر آمینوجنوس*، *انتروباکتر کانسروجنوس*، *انتروباکتر کلوآکه*، *انتروباکتر کووانی*، *انتروباکتر جورجوریا*، *انتروباکتر اینترمیدیوس*، *انتروباکتر پیرینوس*). یکی از شایع‌ترین گونه‌های *انتروباکتر*، *انتروباکتر کلوآکه* است. عفونت ناشی از *انتروباکتر کلوآکه* به‌طور شایعی در میان قربانیان سوختگی، بیماران با نقص ایمنی و بیماران با بدخیمی مشاهده شده است (۳). هم‌چنین این باکتری به‌عنوان یکی از مهم‌ترین باکتری‌های مقاوم آنتی‌بیوتیکی به لحاظ وجود مقاومت‌های متقاطع و تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع‌الطیف، AmpC بتالاکتاماز و کارباپنمازها در بین جدایه‌های بیمارستانی می‌باشند. روش‌های مولکولی در سال‌های اخیر به‌طور قابل‌توجهی به تشخیص جدایه‌های *انتروباکتر کلوآکه* کمک کرده است (۴). عفونت‌های اکتسابی از بیمارستان ناشی از این باکتری‌ها ممکن است سبب

ایجاد مشکلات درمانی احتمالاً به دلیل آن که برخی از این سویه‌ها می‌توانند بتالاکتامازهای مختلف مانند بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف نظیر TEM، SHV و دیگر آنزیم‌ها را تولید نمایند. برخی سویه‌های *انتروباکتر کلوآکه* موجود در بیمارستان می‌توانند با شرایط بیمارستانی خود را سازگار نموده و در این محیط‌ها زنده بمانند. شیوع بیماری‌های *انتروباکتر کلوآکه* به‌عنوان پاتوژنی فرصت‌طلب افزایش یافته است زیرا سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف در بالینی به‌طور وسیع استفاده می‌شوند و استفاده گسترده از بتالاکتام‌های وسیع‌الطیف، آمینوگلیکوزیدها یا فلوروکینولون‌ها به‌عنوان فاکتور خطری برای طغیان‌های متعدد در *انتروباکتر کلوآکه* بوده است (۵). از آنجاکه تاکنون تحقیقی در مورد میزان شیوع آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع‌الطیف در سویه‌های *انتروباکتر کلوآکه* جدا شده از موارد عفونت ادراری در شهرستان شهرکرد صورت نگرفته است، بر آن شدیم تا به بررسی فراوانی این آنزیم‌ها بپردازیم.

روش کار

این مطالعه از نوع توصیفی - مقطعی می‌باشد که در یک دوره یک‌ساله (از خردادماه ۱۳۹۸ تا خرداد ۱۳۹۹) در شهرستان شهرکرد با همکاری آزمایشگاه‌های تشخیص طبی انجام شده است. ۱۰۰۰ نمونه‌ی مشکوک به عفونت ادراری از مراجعه‌کنندگان به این آزمایشگاه طی یک دوره یک‌ساله جمع‌آوری و آزمایشات لازم جهت بررسی عفونت ادراری و تشخیص *انتروباکتر کلوآکه* انجام شد. این مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد با کد IR.IAU.SHK.REC.1399.039 تأیید گردید. برای این منظور ۵ تا ۱۰ سی‌سی از نمونه ادرار میانی بیمار (بزرگسالان بالاتر از ۱۸ سال) در ظروف استریل توسط بیمار جمع‌آوری گردید و بلافاصله پس از نمونه‌گیری، نمونه‌های ادرار جهت انجام کشت و آزمون‌های بیوشیمیایی جهت تشخیص نوع باکتری مورد بررسی قرار گرفتند. معیارهای ورود به این مطالعه عدم مصرف آنتی‌بیوتیک خاص و عدم

ابتلا به هر نوع بیماری عفونی یا بستری در بیمارستان در مدت دو هفته قبل از مراجعه به آزمایشگاه بود.

جداسازی باکتری

نمونه ادرار میانی گرفته شده در ظرف های استریل با استفاده از لوپ کالیبره ۰/۰۱ میلی لیتر، در شرایط استریل بر روی محیط بلاد آگار و مک کانکی آگار کشت داده شد. پس از انجام کشت به روش خطی، محیط های کشت داده شده به مدت ۱۸-۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. چنانچه در مدت ۲۴ ساعت انکوباسیون رشدی در پلیت ها دیده نمی شد، ۲۴ ساعت دیگر انکوبه و در صورت عدم رشد، به عنوان کشت منفی ثبت می شدند. بعد از مدت انکوباسیون تعداد کل باکتری های رشد کرده در نمونه ادرار را از طریق محاسبه CFU در محیط بلاد آگار به دست آورده شد و باسیل های گرم منفی از نظر مورفولوژی در محیط های مک کانکی آگار و بلاد آگار مورد بررسی قرار گرفتند (۶). نمونه های کشت داده شده از نظر رنگ آمیزی گرم و تخمیر قند لاکتوز مورد بررسی قرار گرفتند. جهت تشخیص بیوشیمیایی ایزوله های *انتروباکتر کلوآکه*، تست های بیوشیمیایی از قبیل تولید اندول، واکنش متیل رد، ووژس پروسکائر، سیترا، تولید سولفید هیدروژن، اوره، لایزین دکربوکسیلاز، آرژنین دهیدرولاز، اورنیتین دکربوکسیلاز، حرکت و تولید اسید در اثر تخمیر قندها انجام شد (۷).

شناسایی جدایه های *انتروباکتر کلوآکه*

تولیدکننده بتالاکتامازهای وسیع الطیف

به منظور بررسی سویه های *انتروباکتر کلوآکه* تولیدکننده آنزیم های ESBL^۱ آزمون دیسک ترکیبی^۲ انجام شد. در این تست مهار فعالیت ESBLs توسط اسید کلاوولانیک ارزیابی می شود و دیسک های حاوی سفالوسپورین به تنهایی (سفوتاکسیم، سفتازیدیم، سفپیم) و در ترکیب با اسید کلاوولانیک استفاده می -

شود. هاله اطراف دیسک سفالوسپورین همراه با اسید کلاوولانیک با هاله اطراف دیسک سفالوسپورین به تنهایی مقایسه می شود. اگر قطر ناحیه مهار اطراف دیسک های سفالوسپورین همراه با اسید کلاوولانیک بیش از ۵ میلی متر، از ناحیه مهار اطراف دیسک های سفالوسپورین به تنهایی بزرگ تر باشد، نتیجه مثبت است. برای انجام این تست، مانند تست دیسک دیفیوژن عمل شد. ۲ الی ۳ کلنی از کشت کلنی (۲۴ ساعته) در سرم فیزیولوژی استریل حل شد و بعد از مقایسه با محلول استاندارد ۰/۵ مک فارلند، بر روی محیط مولر هینتون آگار کشت انجام شد. از یک دیسک سفتازیدیم (CAZ) (۳۰ میکروگرم) به تنهایی و یک دیسک سفتازیدیم در ترکیب با اسید کلاوولانیک (CAC) (۳۰/۱۰ میکروگرم) و دیسک سفوتاکسیم (CTX) (۳۰ میکروگرم) در کنار دیسک اسید کلاوولانیک (CAC) (۳۰/۱۰ میکروگرم) استفاده گردید. پلیت ها در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. کشت های باکتریایی بعد از ۱۸ تا ۲۴ ساعت بررسی شدند و قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک های سفالوسپورین همراه و بدون اسید کلاوولانیک اندازه گیری و با هم مقایسه گردیدند. در صورتی که قطر هاله عدم رشد باکتری اطراف هر دیسک به تنهایی در مقایسه با دیسک ترکیبی خود ۵ میلی متر یا بیش تر بود به عنوان سویه تولیدکننده بتالاکتاماز وسیع الطیف در نظر گرفته شد. از سویه /شیریشیا کلی ATCC 25922 و کلبسیلا پنومونیه ATCC700603 تهیه شده از مرکز پژوهش های علمی و صنعتی ایران جهت کنترل روش های آنتی بیوگرام و دیسک ترکیبی استفاده شد (۷).

تعیین هویت مولکولی

به منظور تشخیص مولکولی و تأیید جدایه های *انتروباکتر کلوآکه*، استخراج DNA با استفاده کیت استخراج DNA (شرکت سیناژن)^۳ و طبق دستور شرکت سازنده صورت گرفت. جهت ارزیابی کیفیت DNA استخراج شده از نمونه های مورد مطالعه از روش الکتروفورز روی ژل آگارز استفاده شد. به این

^۱ Extended spectrum beta lactamase (ESBL)

^۲ Combination Disk Test (CDT)

^۳ DNPTM (CinnaGen)

جدول ۲- ترکیب اجزای PCR جهت ردیابی ژن *hsp60*/انتروباکتر کلوآکه

مواد	غلظت نهایی	حجم نهایی (میکرولیتر)
PCR Buffer 10 X	1X	۲/۵
dNTPs (10mM)	۰/۲ میلی مول	۰/۵
Mgcl2 (50mM)	۱/۵ میلی مول	۰/۷۵
PrimerF (25μM)	۱ میکرومول	۱
PrimerR (25μM)	۱ میکرومول	۱
Taq DNA Polymerase (5u/μl)	1U	۰/۲
DNA	۵۰ نانوگرم	۱
ddH2O	-	۱۸/۰۵
حجم نهایی واکنش	-	میکرولیتر

جدول ۳- برنامه حرارتی برای تکثیر ژن *hsp60* انتروباکتر کلوآکه

دما (°C)	زمان	مراحل
۹۵	۵ دقیقه	دناتوراسیون اولیه
۹۴	۴۵ ثانیه	دناتوراسیون
۵۷	۴۵ ثانیه	اتصال
۷۲	۱ دقیقه	طویل شدن
۷۲	۱۰ دقیقه	تکثیر نهایی

وجود قطعه ۳۴۱ جفت بازی تکثیر یافته از ژن *hsp60* در این مرحله نشان گر وجود قطعی انتروباکتر کلوآکه در ایزوله های مورد آزمایش بود. محصول PCR در این مرحله بر روی ژل آگارز ۲ درصد الکتروفورز شد و از ژل حاصله در حضور نور UV تصویربرداری شد و ثبت گردید.

واکنش PCR جهت ردیابی ژن های

bla^{SHV}, *bla^{TEM}*, *bla^{CTX-M}*

واکنش PCR برای ژن های *bla* به صورت جداگانه انجام شد. مواد مطابق با جدول (۴) مخلوط شده و واکنش PCR انجام شد (۱۰).

منظور ۵ میکرولیتر از DNA استخراج شده روی ژل یک درصد آگارز الکتروفورز گردید. برای تعیین غلظت DNA، استوک تهیه شده ۱:۱۰۰ رقیق شد. میزان جذب نوری در طول موج های ۲۸۰ و ۲۶۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد. جذب نوری در طول موج ۲۶۰ نانومتر بیانگر غلظت DNA در نمونه و جذب نوری در طول موج ۲۸۰ نانومتر نشان دهنده غلظت پروتئین در نمونه می باشد. در صورتی که جذب نوری ۲۶۰ به ۲۸۰ بین ۱/۸ تا ۲ باشد DNA دارای کیفیت خوبی جهت انجام PCR است. پس از خواندن جذب نوری نمونه ها، با استفاده از فرمول زیر غلظت DNA تعیین شد (۸).

فاکتور $\text{DNA (ng/μl)} = \text{OD } 260 \times 50 (\text{ng/μl}) \times \text{رق}$

جهت تأیید قطعی وجود انتروباکتر کلوآکه در کلونی های رشد یافته، از آزمایش PCR جهت ردیابی ژن *hsp60* استفاده شد (۹). در این تحقیق از سویه استاندارد انتروباکتر کلوآکه ATCC 23355 تهیه شده از مرکز پژوهش های علمی و صنعتی ایران به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. توالی پرایمر مورد استفاده در جدول (۱) نشان داده شده است.

جدول ۱- توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت

ردیابی ژن *hsp60* انتروباکتر کلوآکه

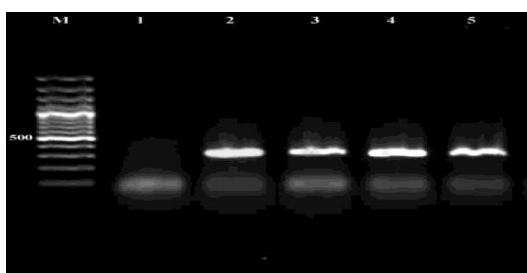
ژن	توالی	اندازه محصول	تعداد
<i>hsp60</i>	F: GGT AGA AGA AGG CGT GGT TGC R: ATG CAT TCG GTG GTG ATC ATC AG	۳۴۱	۹

جدول ۷- برنامه حرارتی برای تکثیر ژن *bla_{TEM}*

دما (°C)	زمان	مراحل
۹۴	۶ دقیقه	دناتوراسیون اولیه
۹۵	۷۰ ثانیه	دناتوراسیون
۵۹	۶۵ ثانیه	اتصال
۷۲	۹۰ ثانیه	طویل شدن
۷۲	۸ دقیقه	تکثیر نهایی

نتایج

انتروباکتر کلوآکه با سیل گرم منفی لاکتوز مثبت متحرکی است که تست های اندول، متیل رد و لایزین دکربوکسیلاز در این باکتری منفی می باشد ولی تست های وژس پروسکائر، سیترات، اوره آز، آرژینین دهیدرولاز و اورنیتین دکربوکسیلاز در این باکتری مثبت است. هم چنین این باکتری قادر به تولید سولفید هیدروژن نمی باشد ولی قادر به تخمیر قند سوربیتول می باشد. پس از کشت نمونه های ادرار، بر روی محیط بلاد آگار در نهایت ۳۰۰ نفر به عنوان افراد مبتلا به عفونت ادراری تشخیص داده شدند و پس انجام تست های تأییدی بیوشیمیایی و واکنش زنجیره ای پلیمراس برای شناسایی ژن *hsp60*، ۶۵ جدایه انتروباکتر کلوآکه (۲۱/۶۶ درصد) جداسازی شد، که از این تعداد ۵۰ جدایه مربوط به بیماران زن (۷۶/۹۲ درصد) و ۱۵ جدایه (۲۳ درصد) مربوط به بیماران مرد مبتلا به عفونت ادراری بود.



شکل ۱- ژل حاصل از الکتروفورس ژن *hsp60* ایزوله های انتروباکتر کلوآکه: ستون M مارکر، ستون ۱: کنترل منفی، ستون ۲: کنترل مثبت، ستون های ۳ تا ۵: تعدادی از نمونه های مثبت مورد بررسی

جدول ۴- دستورالعمل بهینه شده روش PCR

جهت ردیابی ژن های *bla_{CTX-M}*, *bla_{TEM}* و *bla_{SHV}*

حجم نهایی (میکرولیتر)	غلظت نهایی	مواد
۲/۵	1X	PCR Buffer 10 X
۰/۵	۰/۲ میلی مول	dNTPs(10mM)
۰/۷۵	۱/۵ میلی مول	Mgcl2 (50mM)
۳	۱ میکرومول	PrimerF (10μM)
۳	۱ میکرومول	PrimerR (10μM)
۰/۳	1.5U	Taq DNA Polymerase (5u/μl)
۱۵/۰۵	-	ddH2O
۱	۵۰ نانوگرم	DNA
۲۵	-	حجم نهایی واکنش

جدول ۵- برنامه حرارتی برای تکثیر ژن های

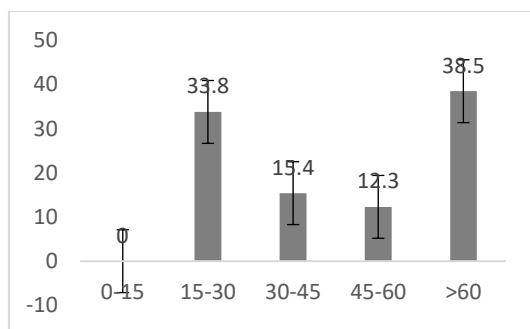
bla_{CTX-M}

دما (°C)	زمان	مراحل
۹۴	۵ دقیقه	دناتوراسیون اولیه
۹۵	۷۰ ثانیه	دناتوراسیون
۵۸	۶۵ ثانیه	اتصال
۷۲	۹۰ ثانیه	طویل شدن
۷۲	۷ دقیقه	تکثیر نهایی

جدول ۶- برنامه حرارتی برای تکثیر ژن

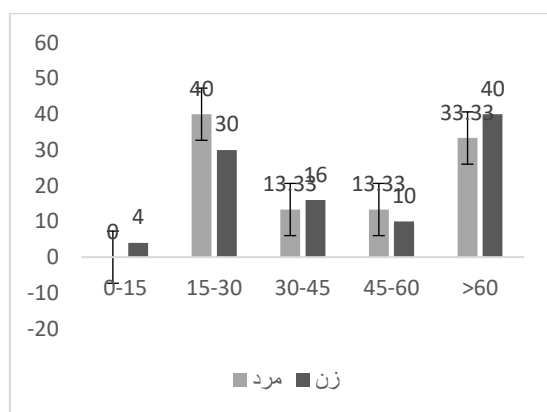
bla_{SHV}

دما (°C)	زمان	مراحل
۹۴	۶ دقیقه	دناتوراسیون اولیه
۹۵	۷۰ ثانیه	دناتوراسیون
۵۵	۶۰ ثانیه	اتصال
۷۲	۹۰ ثانیه	طویل شدن
۷۲	۸ دقیقه	تکثیر نهایی



نمودار ۲- فراوانی آلودگی به *انتروباکتر کلوآکه* در گروه‌های سنی مختلف بیماران مبتلا به عفونت ادراری

ارتباط بین گروه سنی و آلودگی به *انتروباکتر کلوآکه* به تفکیک جنسیت و گروه سنی نشان داد که بین آلودگی به این باکتری و جنسیت با گروه سنی ارتباط آماری معنی‌دار وجود دارد ($P < 0.05$).



نمودار ۳- میزان آلودگی به *انتروباکتر کلوآکه* در گروه‌های سنی مختلف به تفکیک جنس

بررسی ارتباط بین سابقه ابتلا به دیابت و عفونت ادراری و عفونت ادراری مجدد نشان می‌دهد که بین عفونت ادراری و ابتلا به دیابت و عفونت ادراری مجدد رابطه‌ی معنی‌داری وجود دارد (جدل ۹ و ۱۰).

جدول ۹- ارتباط بین سابقه ابتلا به دیابت و عفونت ادراری

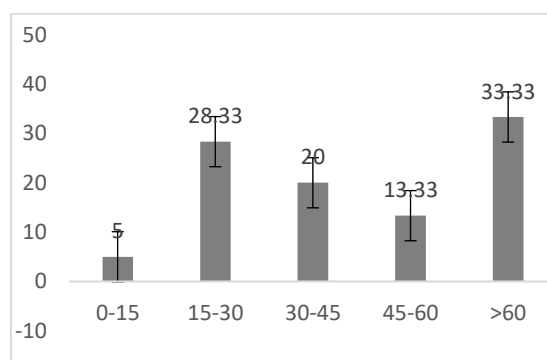
سابقه ابتلا به دیابت	تعداد	درصد
افراد مبتلا به دیابت	۳۵	۵۳/۸۴
افراد غیر دیابتی	۳۰	۴۶/۱۵
مجموع	۶۵	۱۰۰

از تعداد ۶۵ جدایه *انتروباکتر کلوآکه* تأیید شده توسط تست‌های بیوشیمیایی، ۵۰ جدایه مربوط به بیماران زن (۷۶/۹۲ درصد) و ۱۵ جدایه مربوط به بیماران مرد (۲۳ درصد) مبتلا به عفونت ادراری بودند. در مطالعه حاضر بین جنسیت افراد و ابتلا به عفونت ادراری بر اساس آزمون مربع کای ارتباط معنی‌دار آماری مشاهده شد ($P < 0.05$).

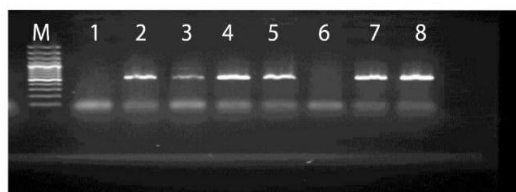
جدول ۸- فراوانی *انتروباکتر کلوآکه* جدا شده از موارد عفونت ادراری بر اساس جنسیت

جنس	زن	مرد	کل
تعداد	۵۰	۱۵	۶۵
درصد	۷۶/۹۰	۲۳/۱۰	۱۰۰

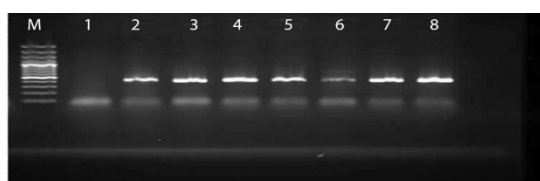
در توزیع سنی بیماران مبتلا به عفونت ادراری بر اساس نمودار (۱) در افراد بالای ۶۰ سال فراوانی عفونت بیش‌تر از سایر سنین بود و هم‌چنین عفونت ادراری در سنین ۳۰-۱۵ سالگی در رتبه بعد قرار داشت. در تجزیه و تحلیل آماری با آزمون مربع کای بین گروه سنی و عفونت ادراری رابطه معنی‌داری مشاهده گردید ($P < 0.05$). در گروه سنی ۳۰-۱۵ و ۶۰ سال بیشترین میزان آلودگی به *انتروباکتر کلوآکه* مشاهده گردید (نمودار ۲).



نمودار ۱- توزیع سنی بیماران مبتلا به عفونت ادراری



شکل ۲- ژل الکتروفورز محصول PCR ژن *bla_{CTX-M}*, در ایزوله های *انتروباکتر کلوآکه*. ستون M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی فرمنتاز، ستون ۱: کنترل منفی، ستون ۲: کنترل مثبت، ستون های ۳-۵ و ۷ و ۸ نمونه های مثبت واجد ژن *bla_{CTX-M}*.



شکل ۳- ژل الکتروفورز محصول PCR ژن *bla_{TEM}*, در ایزوله های *انتروباکتر کلوآکه*. ستون M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی فرمنتاز، ستون ۱: کنترل منفی، ستون ۲: کنترل مثبت، ستون های ۳ تا تعدادی از نمونه های مثبت

بحث

عفونت های باکتریایی به عنوان یک عامل تهدیدکننده جدی برای سلامت افراد جامعه محسوب می شود که سالانه میلیون ها نفر را درگیر می کند و در بیماران سرپایی و بیماران بستری در بیمارستان ایجاد می شود (۱۱). بر اساس آمار سازمان های جهانی، سالانه ۱۷ تا ۲۹ میلیارد دلار صرف هزینه درمان عفونت های بیمارستانی می شود که از این مبلغ ۳۹ درصد مربوط به هزینه های ایجاد شده ناشی از عفونت های ادراری می شود. عفونت های مجاری ادراری یکی از مهم ترین و شایع ترین عفونت هایی است که در سنین مختلف روی می دهد و درمان نادرست آن می تواند منجر به بروز عوارض خطرناکی مانند اختلالات دستگاه ادراری، فشارخون، اورمی و زایمان زودرس در زنان باردار شود. عفونت های دستگاه ادراری شامل سیستیت و پیلونفریت به طور رایج در بیمارستان وجود دارند. در میان پاتوژن های ایجادکننده عفونت های ادراری، *شریشیا کلی* پاتوژن غالب بوده که نزدیک به

جدول ۱۰- بررسی ارتباط بین سابقه ابتلا به عفونت ادراری و عفونت ادراری مجدد

سابقه ابتلا به عفونت ادراری	تعداد	درصد
افراد بدون سابقه ابتلا به عفونت ادراری	۲۰	۳۰/۷۶
افراد با سابقه ابتلا به عفونت ادراری	۴۵	۶۹/۲۳
مجموع	۶۵	۱۰۰

از ۶۵ ایزوله *انتروباکتر کلوآکه* جدا شده از موارد عفونت ادراری ۲۵ ایزوله (۳۸/۲۶ درصد) در بررسی فنوتیپی مولد بتالاکتامازهای وسیع الطیف تشخیص داده شدند. در بررسی مولکولی ۷ ایزوله (۲۸ درصد) دارای ژن *bla_{CTX-M}*، ۸ ایزوله (۳۲ درصد) دارای ژن *bla_{SHV}* و ۱۰ ایزوله (۴۰ درصد) دارای ژن *bla_{TEM}* بودند. به علاوه برخی از ایزوله ها نیز بیش از یک ژن مقاومت داشتند، به طوری که شیوع هم زمان ژن های *bla_{TEM}* و *bla_{SHV}* در ۱ ایزوله (۴ درصد) و شیوع هم زمان ژن های *bla_{SHV}* و *bla_{CTX-M}* در ۲ ایزوله (۸ درصد) و فراوانی ژن های *bla_{CTX-M}* و *bla_{TEM}* در ۴ ایزوله (۱۶ درصد) گزارش گردید.

جدول ۱۱- فراوانی ژن های *bla_{CTX-M}*، *bla_{TEM}* و *bla_{SHV}* در ایزوله های مورد بررسی

ژن بتالاکتاماز	<i>bla_{CTX-M}</i>	<i>bla_{TEM}</i>	<i>bla_{SHV}</i>
سفتریکسون	۳	۴	۵
	درصد ۴۲/۸۵	درصد ۵۰	درصد ۵۰
سفتازیدیم	۱	۱	۱
	درصد ۱۴/۲۸	درصد ۱۲/۵	درصد ۲۰
سفتواکسیم	۲	۲	۳
	درصد ۲۸/۵۷	درصد ۳۷/۵	درصد ۶۰
سفالوتین	۱	۱	۱
	درصد ۱۴/۲۸	درصد ۱۲/۵	درصد ۲۰

۸۰ درصد عفونت‌ها را ایجاد می‌کند. البته پاتوژن‌های دیگری نیز در عوارض ناشی عفونت‌های ادراری نقش دارند، که می‌توان به *سودوموناس آئروژینوزا*، *اسینتوباکتر*، *کلبسیلا پنومونیه*، *انتروکوکوس* و *انتروباکتر* اشاره کرد (۱۲). بررسی عوامل عفونت ادراری در هر منطقه به پزشک کمک می‌کند تا دانش خود را در زمینه شناخت عوامل مسبب عفونت ادراری و پروفایل حساسیت ضد میکروبی آن‌ها به‌روز نموده و درمان تجربی مناسبی را انتخاب نماید. باکتری‌های موجود در خانواده *انتروباکتریاسه* به دلیل فراوانی بسیار بالا در جوامع مختلف دارای اهمیت بیشتری می‌باشند. از این میان دو جنس *شریشیا کلی* و *انتروباکتر* دارای اهمیت ویژه‌ای هستند (۱۳). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که از بین ۱۰۰۰ نمونه ادرار افراد مشکوک به عفونت ادراری کشت داده شده بر روی محیط مک‌کانکی و بلاد آگار که از آزمایشگاه تشخیص طبی مهر شهرستان شهرکرد جمع‌آوری شده بود، تعداد ۳۰۰ نمونه مبتلا به عفونت ادراری بودند، که از این میان ۶۵ نمونه به‌عنوان *انتروباکتر کلوآکه* شناسایی شدند و از ۶۵ جدایه ۵۰ جدایه (۷۶/۹۲ درصد) مربوط به بیماران زن و ۱۵ جدایه (۲۳ درصد) مربوط به بیماران مرد بود. در این راستا می‌توان به مطالعات زیر اشاره نمود. در مطالعه انجام شده توسط ترشیزی و همکاران در سال ۲۰۱۱، که بر روی ۳۲۵ نمونه *انتروباکتریاسه* جدا شده از نمونه‌های کلینیکی در شهرستان شهرکرد صورت گرفت، ۱۹۳ ایزوله (۵۹/۴ درصد) را جنس *شریشیا*، ۹۹ ایزوله (۳۰/۴ درصد) را جنس *کلبسیلا*، ۲۶ ایزوله (۸ درصد) را جنس *انتروباکتر* و ۷ ایزوله (۲/۲ درصد) را جنس *پروتئوس* تشکیل دادند (۷). در مطالعه شاه‌صفی و همکاران در سال ۲۰۱۸، که به‌منظور بررسی شیوع و الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های گرم منفی جدا شده از عفونت ادراری در بیماران مراجعه‌کننده به آزمایشگاه در شهرستان نکا در سال ۲۰۱۸ انجام شد، مشخص گردید جنس *انتروباکتر* عامل ۱۲ درصد موارد بروز عفونت ادراری می‌باشد (شاه‌صفی و همکاران، ۲۰۱۸). در تحقیقات متعدد عوامل شایع عفونت ادراری متفاوت گزارش

شده است که می‌تواند به دلایل متعدد از جمله موقعیت جغرافیایی، تعداد نمونه اخذ شده، جنسیت و سن بیماران، سابقه عفونت ادراری قبلی و یا حتی سابقه ابتلا به دیابت باشد (۱۴). در مطالعه حاضر، متغیرهای جنسیت، سن بیماران، سابقه عفونت ادراری و دیابت مورد بررسی قرار گرفت. آنالیزهای آماری در این مطالعه نشان دادند که تمام متغیرهای مورد بررسی ارتباط معنی‌داری با عفونت ادراری دارند. در مطالعه دادمنش و همکاران در سال ۲۰۰۸، مطالعه اثر فاکتورهای مختلف سن، جنس، وضعیت تأهل، استفاده از سوند، مدت‌زمان استفاده از سوند، سابقه عفونت دستگاه ادراری قبلی، مصرف سیگار، سابقه انسداد دستگاه ادراری و دستکاری مجاری ادرار در ایجاد عفونت مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه ۸۸ بیمار مورد بررسی قرار گرفت و از این میان ۴۶/۶ درصد مرد و ۵۳/۴ درصد زن با میانگین سنی ۶۴ سال بودند. نسبت افراد متأهل به مجرد ۸۹/۸ به ۱۰/۲ درصد و نسبت افراد مبتلا به دیابت به غیرمبتلا ۳۰/۷ به ۶۹/۳ درصد و نسبت افرادی که از سوند استفاده کردند ۷۹/۵ به ۲۰/۵ درصد گزارش شد. ۲۶/۱ درصد سابقه عفونت ادراری قبلی ۹/۱ درصد سابقه انسداد دستگاه ادراری و ۴ درصد سابقه دستکاری مجاری ادراری و ۱۰ درصد سابقه مصرف سیگار داشتند. میانگین روزهای استفاده از سوند ۱۲ روز بوده است. بین عفونت ادراری، وجود سوند، سابقه عفونت ادراری قبلی، دیابت، جنسیت، مدت‌زمان بستری و مدت‌زمان استفاده از سوند و سن رابطه معنی‌داری برقرار بود (۱۵). مطالعه ادوکی و همکاران در سال ۲۰۱۹، به‌منظور تعیین شیوع عفونت ادراری با جداسازی و شناسایی عوامل مختلف باکتریایی و ارزیابی عوامل مرتبط با عفونت ادراری طراحی شده است. این مطالعه نشان داد که سن بیش‌تر از ۱۹ سال، جنسیت زن، افراد متأهل، ناهنجاری‌های دستگاه تناسلی ادراری، دیابت، بستری شدن در بیمارستان، کاتتر ساکن کم‌تر از ۶ روز و کاتتر ساکن بیش از ۶ روز با عفونت ادراری ارتباط آماری معنی‌داری داشتند (۱۶). وجود مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در پاتوژن‌های بیمارستانی یکی از

چند دارویی (MDR) بودند. بیش‌ترین مقاومت نسبت به کوتریموکسازول در ۵۵ ایزوله (۸۴/۶۲ درصد) و کم‌ترین مقاومت نسبت به نیتروفوراننتین در ۱۵ جدایه (۲۳/۸ درصد) گزارش شد. این نتایج با دیگر مطالعات کم‌وبیش هم‌خوانی دارد. مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف بر اساس الگوهای درمانی که در مناطق مختلف صورت می‌گیرد، متفاوت است که می‌تواند به دلایل متعدد از جمله موقعیت جغرافیایی، تعداد نمونه اخذ شده، منشأ نمونه و سلیقه تجویز پزشکان در یک منطقه خاص باشد. بتالاکتام‌های وسیع‌الطیف در دو دهه اخیر افزایش قابل‌ملاحظه‌ای داشته‌اند. این باکتری‌ها به علت غیرفعال‌سازی طیف وسیعی از داروهای بتالاکتام به‌ویژه‌ی نسل سوم سفالوسپورین‌ها و مونوباکتام‌ها، مشکلات فراوانی را برای درمان ایجاد کرده‌اند (۲۱). پیدایش و انتشار این باکتری‌ها به نظر می‌رسد که غالباً ناشی از استفاده گسترده داروهای بتالاکتام وسیع‌الطیف در بخش‌های مختلف بیمارستان باشد به‌طوری‌که امروزه شاهد افزایش روزافزون باکتری‌های تولیدکننده ESBL هستیم. عفونت با پاتوژن‌های تولیدکننده ESBLs اغلب همراه با شکست درمان، طولانی‌تر شدن زمان بستری، نرخ بالای مرگ‌ومیر و هزینه‌های بالای درمان همراه است. به‌علاوه، همانند عفونت‌های بیمارستانی، در جامعه نیز انتشار وسیعی از انتروباکتریاسه‌های تولیدکننده ESBLs وجود دارد که نتیجه آن بحران سلامت جهانی است (۲۲). ژن‌های ESBLs اغلب روی پلاسمید قرار دارند و متعلق به بتالاکتام‌های گروه A هستند. ارگانسیم‌های تولیدکننده بتالاکتام‌های وسیع‌الطیف از لحاظ بالینی بسیار بااهمیت هستند، زیرا الگوی مقاومت دارویی گسترده‌ای از خود نشان می‌دهند و باعث افزایش مرگ‌ومیر بیماران به‌ویژه در بخش مراقبت‌های ویژه بیمارستان‌ها می‌شوند. در اروپا شیوع بتالاکتام‌های وسیع‌الطیف در میان ایزوله‌های انتروباکتریاسه از کشوری به کشور دیگر متفاوت است. در یک گزارش از ۱۷ کشور مختلف در سال ۲۰۰۱ تا ۲۰۰۲ بیش‌ترین میزان شیوع در مصر (۳۸/۵ درصد) و یونان (۲۷/۴ درصد) و تولید بتالاکتاماز بین ایزوله‌های /شریشیا کلی، کلبسیلا پنومونیه و گونه‌های

نگرانی‌های بزرگ و اساسی علم پزشکی است. مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های جدید و گسترش باکتری‌های مقاوم نه تنها بین بیماران بستری در بیمارستان بلکه در بین افراد جامعه از پیامدهای این معضل است (۱۷). بسیاری از باکتری‌های خانواده‌ی انتروباکتریاسه از عوامل شایع عفونت‌های ادراری بوده و مصرف گسترده آنتی‌بیوتیک‌ها باعث افزایش مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در این باکتری‌ها شده است که مقاومت آن‌ها به بتالاکتام‌ها (مثل آمپی‌سیلین و سفوتاکسیم) و نیز سایر آنتی‌بیوتیک‌های دیگر مثل کوتریموکسازول و سولفونامیدها در بسیاری از مناطق دنیا گزارش شده است (۱۸). مطالعات نشان می‌دهد صرف‌نظر از الگوی مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها، ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی می‌توانند در ایجاد مقاومت باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها نقش داشته باشند. در سال‌های اخیر استفاده از طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌های مختلف از جمله سفالوسپورین‌ها، کینولون‌ها و آمینوگلیکوزیدها از تدابیر درمانی مناسب به‌منظور کنترل بیماری‌های عفونی در افراد مختلف می‌باشد و به دلیل استفاده زیاد از داروهای آنتی‌میکروبی، شیوع و انتشار کلون‌های مقاوم و ژن‌های مقاومت در بیمارستان‌ها افزایش یافته است. بنابراین، بررسی الگوی مقاومت ضد میکروبی باکتری عامل عفونت‌های ادراری ضروری به نظر می‌رسد. در تحقیق مولزاده و همکاران در سال ۲۰۱۴ که بر روی ۲۴۸۴ نمونه‌ی کشت مثبت ادرار انجام شد، /شریشیا کلی در رتبه اول با فراوانی ۶۹/۱ درصد، کلبسیلا در رتبه‌ی دوم با فراوانی ۱۶/۲ درصد و انتروباکتر در رتبه سوم با فراوانی ۵/۶ درصد شناخته شدند. در ایزوله‌های انتروباکتر بالاترین حساسیت در برابر سیپروفلوکساسین (۸۰ درصد) و بیش‌ترین مقاومت نسبت به سفالوتین (۶۵/۱ درصد) بود (۱۹). در مطالعه‌ای که توسط بیانی و همکاران^۱ در سال ۲۰۱۳ در شهرستان بابل بر روی ۳۰ ایزوله/نتروباکتر/کلو/که انجام شد، در بین ایزوله‌های/نتروباکتر بیش‌ترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به سفتازیدیم گزارش شد (۲۰). نتایج حاصل از تحقیق ما حاکی از آن بود که بیش از ۵۰ درصد نمونه‌ها دارای مقاومت

¹ Bayani et al

ترکیبی انجام شد. میزان تولید *ESBLs* در ایزوله‌های انتروباکتریاسه (۳۶/۷۵ درصد) گزارش گردید. در این تحقیق ۱۵ ایزوله انتروباکتر شناسایی شد و تولید *ESBLs* در ایزوله‌های انتروباکتر ۲/۷۲ درصد گزارش شد (۲۴). در مطالعه ما از مجموع ۶۵ ایزوله انتروباکتر کلواکه مورد بررسی به روش دیسک ۲۵ ایزوله، (۳۸/۴۶ درصد) مولد بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف تشخیص داده شدند. در مطالعاتی که در ایران و سراسر دنیا با روش مشابه صورت گرفته است، نتایج متفاوتی از نظر میزان تولید *ESBLs* در انتروباکتریاسه‌ها را نشان داده است. میزان شیوع باکتری مولد *ESBLs* بسته به ناحیه (حتی از بیمارستانی به بیمارستان دیگر) و زمان ممکن است متفاوت باشد. به خصوص هنگام وقوع همه‌گیری، شیوع در بین بیماران بستری در بیمارستان می‌تواند به‌طور ناگهانی افزایش یابد (۲۵). تحلیل نتایج فوق نشان‌دهنده این مطلب خواهد بود که شیوع ژن‌های بتالاکتاماز در ایزوله‌های جدا شده از کشورهای مختلف و یا مناطق گوناگون متفاوت است و این امر مرتبط با سیستم کنترل درمانی و رژیم‌درمانی مورد استفاده در هر منطقه و بیمارستان نیز خواهد بود. امروزه بیش‌ترین تمرکز در مورد مقاومت آنتی‌بیوتیکی بر روی باکتری‌هایی است که از نمونه‌های بالینی (پزشکی و دامپزشکی) جدا می‌شوند. تحقیقات نشان می‌دهد که باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک و ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی در همه جای طبیعت وجود دارند. به‌طوری‌که شیوع بالای مقاومت آنتی‌بیوتیکی در فاضلاب‌های مراکز پزشکی، صنعتی و مراکز پرورش حیوانات گزارش شده است. این محیط‌ها اغلب حاوی غلظت بالایی از آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشد و انتقال افقی ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی در این محیط‌ها به راحتی صورت می‌گیرد (۲۶). نگرانی بسیار مهم مربوط به انتقال ژن‌های مقاومتی به محیط‌زیست می‌باشند. تداوم و انتشار باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک در محیط‌های آبی طبیعی ممکن است به افزایش عفونت پاتوژن‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک کمک کند. با تداوم و انتشار این باکتری‌ها انتقال ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی به

انتروباکتر به ترتیب ۵/۴، ۱۸/۲ و ۸/۸ درصد ذکر شده است. در مطالعه‌ای که توسط بورویس و همکارانش در سال ۲۰۱۳، بر روی ۸ جدایه انتروباکتر کلواکه مقاوم به سفوناکسیم برای بررسی حضور ژن *bla_{CTX-M-21}* صورت گرفت، ۵ نمونه (۶۲/۵ درصد) دارای ژن *bla_{OXA-1}* بودند (۲۳). در مطالعه‌ای که روکوتورینیا و همکارانش^۱ در سال ۲۰۱۳، در ماداگاسکار بر روی ۱۴ ایزوله انتروباکتر کلواکه تولیدکننده بتالاکتاماز وسیع‌الطیف که دارای مقاومت چند دارویی بودند صورت گرفت، ۲ ایزوله انتروباکتر کلواکه (۱۴/۲۸ درصد) دارای ژن *bla_{OXA-1}* بودند (روکوتورینیا و همکاران، ۲۰۱۳). در تحقیق انجام شده توسط نادری‌فر و همکاران در سال ۲۰۱۲ که بر روی ۱۰۰ نمونه ادراری جمع‌آوری شده در مشهد صورت گرفت، گونه‌های باکتریایی شناسایی شده در میان ایزوله‌های انتروباکتریاسه عبارت بودند از: *شریشیا کلی* ۶۵ درصد، *کلبسیلا پنومونیه* ۱۹ درصد، گونه‌های *یرسینیا* ۷ درصد، انتروباکتر کلواکه ۵ درصد، گونه‌های پروتئوس ۵ درصد و سیتروباکتر دایورسوس ۲ درصد گزارش شدند که ۲۷ ایزوله (۲۷ درصد) تولیدکننده بتالاکتاماز بودند (نادرفر و همکاران، ۲۰۱۲). در مطالعه انجام شده توسط ترشیزی و همکاران در سال ۲۰۱۱، که بر روی ۳۲۵ نمونه انتروباکتریاسه جدا شده از نمونه‌های کلینیکی در شهرستان شهرکرد صورت گرفت، ۹۱ ایزوله (۲۸ درصد) مولد بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف بودند. در این بررسی ۴۶ ایزوله از ۹۱ سویه انتروباکتریاسه (۵۰/۵ درصد) مثبت واجد ژن *CTX-M* بودند. بیش‌ترین فراوانی ژنوتیپ مزبور در ایزوله‌های *شریشیا کلی* (۱۹/۷ درصد) بعد از آن در ایزوله‌های انتروباکتر و *کلبسیلا* به ترتیب ۱۵/۴ درصد و ۴ درصد به دست آمد (۷). در تحقیق انجام شده توسط اکبری و همکاران در سال ۲۰۱۴ که به‌منظور بررسی شیوع انتروباکتریاسه‌های مولد آنزیم‌های بتالاکتاماز با طیف وسیع در نمونه ادرار بیماران صورت گرفت، ۴۰۰ ایزوله انتروباکتریاسه با روش‌های معمول بیوشیمیایی مورد شناسایی قرار گرفتند. آزمون تأییدی برای تولید *ESBLs* توسط تست دیسک

¹ Rakotonirina et al

که سویه‌های انتروباکتر کلوآکه از شیوع نسبتاً بالایی در نمونه‌های ادرار برخوردار بودند که بسیار قابل توجه است.

سپاسگزاری

نویسندگان، صمیمانه از زحمات معاونت محترم پژوهشی و جناب آقای مهندس منوچهر مؤمنی تشکر و قدردانی به عمل می‌آورند.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافع ندارند.

باکتری‌های دیگر صورت می‌گیرد. به این ترتیب انتقال ژن‌های مقاومت در پاتوژن‌ها به سهولت در حال افزایش می‌باشد. به نظر می‌رسد باکتری‌های مقاوم به چند آنتی‌بیوتیک در درجه اول از محیط‌هایی جداسازی می‌شوند که استفاده از آنتی‌بیوتیک در آن محیط‌ها مثل بیمارستان‌ها زیاد می‌باشد (۲۷).

نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر برای اولین بار در ایران به منظور ارزیابی میزان شیوع، خصوصیات فنوتیپی و ژنوتیپی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و فراوانی ژن‌های حدت و تایپینگ مولکولی سویه‌های انتروباکتر کلوآکه جدا شده از موارد عفونت ادراری انجام شد. نتایج این تحقیق نشان داد

References

1. Medina M, Castillo-Pino E. An introduction to the epidemiology and burden of urinary tract infections. *Therapeutic advances in urology*. 2019; 11:1756287219832172.
2. Annavajhala MK, Gomez-Simmonds A, Uhlemann AC. Multidrug-resistant *Enterobacter cloacae* complex emerging as a global, diversifying threat. *Frontiers in microbiology*. 2019; 10:44.
3. Ioannou P, Vamvoukaki R, Kofteridis DP. Infective endocarditis by *Enterobacter cloacae*: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Chemotherapy*. 2022; 34(1):1-8.
4. Mancuso G, Midiri A, Gerace E, Biondo C. Bacterial antibiotic resistance: the most critical pathogens. *Pathogens*. 2021; 10(10):1310.
5. Aoki K, Harada S, Yahara K, Ishii Y, Motooka D, Nakamura S, Akeda Y, Iida T, Tomono K, Iwata S, Moriya K. Molecular characterization of IMP-1-producing *Enterobacter cloacae* complex isolates in Tokyo. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2018; 62(3):10-128.
6. Kaur J, Chopra S, Mahajan G. Modified double disc synergy test to detect ESBL production in urinary isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*. 2013; 7(2):229.
7. Torshizi R, Zamanzad B, Mokhtareyan K, Karimi A. Determination of CTX-M genes in enterobacteriaceae producing extended-spectrum beta-lactamase using PCR method. *Journal of Shahrekord University of Medical Sciences*. 13(3): 9-17.
8. Klymus KE, Merkes CM, Allison MJ, Goldberg CS, Helbing CC, Hunter ME, Jackson CA, Lance RF, Mangan AM, Monroe EM, Piaggio AJ. Reporting the limits of detection and quantification for environmental DNA assays. *Environmental DNA*. 2020; 2(3):271-82.
9. Hoffmann H, Roggenkamp A. Population genetics of the nomenclature species *Enterobacter cloacae*. *Applied and Environmental Microbiology*. 2003; 69(9):5306-18.

10. Rizi KS, Peerayeh SN, Bakhshi B, Rahbar M. Prevalence of integrons and antimicrobial resistance genes among clinical isolates of *Enterobacter* spp. from hospitals of Tehran. *Int J Enteric Pathog*. 2015; 3(1): e22531.
11. Makabenta JM, Nabawy A, Li CH, Schmidt-Malan S, Patel R, Rotello VM. Nanomaterial-based therapeutics for antibiotic-resistant bacterial infections. *Nature Reviews Microbiology*. 2021; 19(1):23-36.
12. Amini FA, Vaziri SI, Karimpour HA, Hassani S, Mohamadi S, Azizi MO. Antibiotic resistance pattern of urinary tract infection pathogens in children of Kermanshah in 2015. *Razi Journal of Medical Sciences*. 24(155):20-27.
13. Magruder M, Edusei E, Zhang L, Albakry S, Satlin MJ, Westblade LF, Malha L, Sze C, Lubetzky M, Dadhania DM, Lee JR. Gut commensal microbiota and decreased risk for Enterobacteriaceae bacteriuria and urinary tract infection. *Gut microbes*. 2020; 12(1):1805281.
14. Zare F, Mohammadzadeh Rostami F, Shahsafi M. Prevalence and pattern of antibiotic resistance of gram-negative bacteria isolated from urinary tract infections in patients referring to Neka Laboratories-Iran. *International Journal of Biomedicine and Public Health*. 2018; 1(1):30-6.
15. Dadmanesh M, Dormanesh B, Ghasemzadeh S, Ghorban KH, Zahirian SH. Evaluation of nosocomial urinary tract infection in the intensive care unit patients at Tehran 501 hospital during 2007. *Journal of Annals of Military and Health Sciences Research*. 4:1407-10.
16. Odoki M, Almustapha Aliero A, Tibyangye J, Nyabayo Maniga J, Wampande E, Drago Kato C, Agwu E, Bazira J. Prevalence of bacterial urinary tract infections and associated factors among patients attending hospitals in Bushenyi district, Uganda. *International Journal of Microbiology*. 2019; 2019(1):4246780.
17. Yelin I, Snitser O, Novich G, Katz R, Tal O, Parizade M, Chodick G, Koren G, Shalev V, Kishony R. Personal clinical history predicts antibiotic resistance of urinary tract infections. *Nature medicine*. 2019; 25(7):1143-52.
18. Yang Q, Zhang H, Yu Y, Kong H, Duan Q, Wang Y, Zhang S, Sun Z, Liao K, Gu L, Jiang X. In vitro activity of imipenem/relebactam against Enterobacteriaceae isolates obtained from intra-abdominal, respiratory tract, and urinary tract infections in China: Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART), 2015–2018. *Clinical Infectious Diseases*. 2020; 71(4): S427-35.
19. Molazade A, Shahi A, Gholami MS, Najafipour S, Mobasheri F, Jafari S, Ashraf Mansuri JA. The antibiotic resistance pattern of gram-negative bacilli isolated from urine cultures of adult outpatients admitted to ValiAsr Hospital of Fasa Clinical Laboratory in 2012-13. *Pars Journal of Medical Sciences*. 2022; 12(3):22-15.
20. Bayani M, Siadati S, Rajabnia R, Taher AA. Drug resistance of *Pseudomonas aeruginosa* and *Enterobacter cloacae* isolated from ICU, Babol, and Northern Iran. *International Journal of Molecular and Cellular Medicine*. 2013; 2(4):204.
21. Wang G, Zhu Y, Feng S, Wei B, Zhang Y, Wang J, Huang S, Qin S, Liu X, Chen B, Cui W. Extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae related urinary tract infection in adult cancer patients: a multicenter retrospective study, 2015–2019. *BMC Infectious Diseases*. 2023; 23(1):129.
22. Ahn ST, Lee HS, Lee DH, Kim JW, Park MG, Park HS, Moon DG, Oh MM. What are the risk factors for recurrent UTI with repeated ESBL-producing Enterobacteriaceae? A retrospective cohort studies. *Journal of Infection and Chemotherapy*. 2023; 29(1):72-7.

23. Bourouis A, Chihi H, Mahrouki S, Ayari K, Moussa MB, Belhadj O. Molecular characterization of a transferable blaCTX-M-28 gene in clinical isolates of *Enterobacter cloacae*. J Microbiol Antimicrob. 2013; 5(4):38-43.
24. Akbari M, Amir Mozaffari N, Peeri Dogaheh H. Prevalence of extended-spectrum beta lactamase in Entrobacteriaceae isolated from urinary tract infections in Ardabil, Iran. Journal of Ardabil University of Medical Sciences. 2014; 14(3):285-91.
25. Khademi F, Vaez H, Neyestani Z, Sahebkar A. Prevalence of ESBL-Producing Enterobacter Species Resistant to Carbapenems in Iran: A systematic review and meta-analysis. International journal of microbiology. 2022; 2022(1):8367365.
26. Delory T, Gravier S, Le Pluart D, Gaube G, Simeon S, Davido B, Piet E, Lepeule R, Lesprit P, Lafaurie M. Temocillin versus carbapenems for urinary tract infection due to ESBL-producing Enterobacteriaceae: a multicenter matched case-control study. International Journal of Antimicrobial Agents. 2021; 58(1):106361.
27. Al Mana H, Sundararaju S, Tsui CK, Perez-Lopez A, Yassine H, Al Thani A, Al-Ansari K, Eltai NO. Whole-genome sequencing for molecular characterization of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae causing lower urinary tract infection among pediatric patients. Antibiotics. 2021; 10(8):972.