مجله دانشگاه علوم پزشکی تربت حیدریه
دوره ۸. شماره ۲. تابستان ۱۳۹۹

مقاله پژوهشی

بررسی شیوع و الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی باسیل های گرم منفی مولد بتالاکتامازهای وسیع الطیف جدا شده از نمونه های بالینی بیماران بستری در یک بیمارستان در گرگان

سحر خان بیکی[۱]، آنیا آهنی آذری[۱*]، احمد دانش[۲]

۱. گروه میکروبیولوژی، دانشکدهٔ علوم زیستی، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران
۲. مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی گلستان، گرگان، ایران

چکیده

زمینه و هدف: در حال حاضر مقاومت آنتی بیوتیکی در بین باسیل های گرم منفی یکی از بزرگترین چالش های نظام سلامت در کشورهای در حال توسعه است. از آن جایی که آگاهی از روند مکانیسم های مقاومت در انتخاب گزینه های درمانی موجود، بسیار حائز اهمیت است، هدف از انجام این مطالعه تعیین فراوانی و الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی باسیل های گرم منفی شایع مولد ESBL جدا شده از نمونه های بالینی بیماران بستری در بیمارستان فلسفی شهرستان گرگان بود.

روش‌ها: در این مطالعه توصیفی- مقطعی طی یک دوره سه ماهه در پاییز ۱۳۹۵، نمونه های بالینی بیماران بستری از نظر حضور باسیل های گرم منفی شایع بررسی شدند. سپس الگوی مقاومت دارویی جدایه ها و تولید بتالاکتامازهای وسیع الطیف به روش های انتشار از دیسک و تست فنوتیپی تعیین گردید.

نتایج: از مجموع ۱۵۴ نمونه بالینی، ۱۰۰ نمونه از نظر عفونت با باسیل های گرم منفی شایع مثبت شده و۵۰ سویه *اشریشیاکلی*، ۳۸ سویه *سودوموناس آئروژینوزا* و ۱۲ سویه *کلبسیلا پنومونیه* شناسایی گردید. همه این جدایه ها نسبت به آنتی بیوتیک های آمپی سیلین و کوتریموکسازول مقاوم بودند. ۱۷٪ جدایه ها از نظر فنوتیپی ESBL مثبت بودند و جدایه های *کلبسیلا پنومونیه* (۴۱/۶٪) از این نظر بیشترین فراوانی را به خود اختصاص دادند.

نتیجه‌گیری: نتایج بیانگر شیوع بالای ESBL در جدایه های بالینی کلبسیلا پنومونیه می باشد، بنابراین پیشنهاد می گردد در درمان عفونت های ناشی از این باکتری در تجویز سفالوسپورین های نسل سوم احتیاط بیشتری گردد.

کلید واژه‌ها:
ESBL، گرم منفی، نمونه های بالینی، شیوع

تمامی حقوق نشر برای دانشگاه علوم پزشکی تربت حیدریه محفوظ است.

مقدمه

استفاده بیش از حد و نادرست از آنتی بیوتیک های بتالاکتام منجر به ظهور سریع باکتری های مقاوم به آنتی بیوتیک شده است (۱) به طوری که هم اکنون مقاومت دارویی در بین باسیل های گرم منفی شایع بیمارستانی به یک چالش جدی در سراسر جهان تبدیل شده است (۲). رایج ترین مکانیسم مقاومت به آنتی بیوتیک های بتالاکتام در این باکتری ها تولید بتالاکتامازهای وسیع الطیف (Extended spectrum β-lactamases) است که حلقه بتالاکتام داروهایی مانند سفالوسپورین ها و پنی سیلین ها را می شکند. در طی دو دهه گذشته، آنتی بیوتیک های بتالاکتام جدید که به طور خاص در برابر آنزیم های بتالاکتاماز مقاوم هستند تولید شده اند، اما باکتری های گرم منفی با تولید انواعی از بتالاکتامازها توانسته-اند جدیدترین آنتی بیوتیک های بتالاکتام را نیز غیرفعال کنند (۳).

*آدرس نویسنده مسئول: گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، دانشکدهٔ علوم زیستی، گروه میکروبیولوژی
آدرس پست الکترونیک: a.ahani@gorganiau.ac.ir

عواملی چون استفاده غیر منطقی از آنتی بیوتیک ها از جمله تجویز دوزهای نادرست، خود درمانی، درمان بیماری غیرباکتریایی، اقدامات بهداشتی ضعیف در بیمارستان ها و عدم نظارت مقاومت دارویی میکروبی ممکن است با فشار انتخابی منجر به ظهور ESBLs شده باشند (۵، ٤).

بتالاکتامازهای وسیع الطیف علاوه بر مقاومت در برابر پنی سیلین ها، در برابر طیف گسترده ای از سفالوسپورین ها از جمله سفالوسپورین های نسل سوم (سفتریاکسون، سفتازیدیم و سفوتاکسیم) و مونوباکتام ها مقاومت ایجاد می کنند و توسط مهارکننده های بتالاکتاماز مانند کلاوولانیک اسید، سولباکتام و تازوباکتام مهار می شوند (٦-٤). بتالاکتامازهای وسیع الطیف آنزیم های با واسطه پلاسمید هستند که پلاسمیدهای مسئول تولید آن‌ها ممکن است ژن مقاومت به بسیاری از آنتی بیوتیک-ها مانند آمینوگلیکوزیدها، فلوروکینولون ها، تتراسایکلین ها، کلرامفنیکل و کوتریموکسازول را نیز با خود حمل کرده و در نتیجه مقاومت چندگانه ایجاد نمایند.

بتالاکتامازهای وسیع الطیف عمدتا توسط *کلبسیلا پنومونیه* و *اشرشیاکلی* تولید می شوند، اما ممکن است در سایر باکتری های گرم منفی مانند *سودوموناس ائروژینوزا* و سایر اعضای انتروباکتریاسه نیز حضور داشته باشند (۷). این ارگانیسم ها به علت افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی خصوصاً به صورت چند دارویی مشکلات بسیاری را برای درمان عفونت های ناشی از آن ها ایجاد کرده است و تهدیدی جدی محسوب می شوند (۸). بتالاکتامازهای وسیع الطیف در تمام جهان پراکنده اند، اما فراوانی باکتری های مولد آن ها در نقاط مختلف متفاوت است. باکتری های مولد ESBLs، علاوه بر ایجاد عفونت بیمارستانی، به راحتی در جامعه انتشار می یابند و یکی از مشکلات مهم دنیای امروز محسوب می شوند (۹).

با توجه به گسترش باکتری های مولد ESBLs در سراسر دنیا، شناسایی و تعیین شیوع آن ها در هر منطقه ضروری به نظر می رسد. چرا که شیوع ESBLs در بین باسیل های گرم منفی از یک منطقه به منطقه دیگر متفاوت بوده و احتمالا شیوع آن ها بیشتر از میزانی است که با تست های روتین سنجش حساسیت به آنتی بیوتیک های بتالاکتام وسیع الطیف در بیمارستان ها تعیین می گردد (۱۰). لذا انجام دوره ای مطالعات اپیدمیولوژیک در مورد شیوع ESBLs و الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی آن ها در هر منطقه اطلاعات مناسبی را در خصوص روند مقاومت دارویی آن ها ایجاد می کند. در همین راستا هدف از انجام مطالعه حاضر تعیین شیوع و الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی باسیل های گرم منفی شایع مولد بتالاکتامازهای وسیع الطیف در نمونه های ادرار، خون و زخم بیماران بستری در بیمارستان فلسفی شهرستان گرگان، واقع در شمال شرق استان گلستان، می باشد.

روش‌ها

طی پاییز ۱۳۹۵ در یک مطالعه مقطعی توصیفی باسیل های گرم منفی شایع جدا شده از نمونه های ادراری، خون و زخم بیماران بستری در بخش های ارولوژی و مراقبت های ویژه بیمارستان فلسفی گرگان از نظر تولید ESBL و الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی مورد بررسی قرار گرفتند. اطلاعات بیماران به صورت بی نام و کدگذاری شده شامل سن، جنس، وضعیت تاهل، وضعیت بارداری، ابتلا به دیابت، سابقه ی بستری طی ۳ ماه اخیر، سابقه ی استفاده از سوند، بخش بستری وسابقه ی مصرف آنتی بیوتیک طی ٦ ماه گذشته ثبت شدند. نتایج به صورت تعداد و درصد در هر مورد ارائه شدند.

نمونه ها روی محیط کشت های بلاد آگار و مک کانکی آگار (ساخت شرکت مرک آلمان) کشت و در دمای ۳۷ درجه سانتی-گراد به مدت ۲٤ ساعت گرمخانه گذاری شدند. در مورد نمونه های ادراری نمونه هایی با 10^5 CFU/ml کلنی یا بیشتر به عنوان کشت مثبت تلقی می شدند. سپس کلنی ها از نظر مورفولوژی مورد بررسی قرارگرفته و باکتری ها با استفاده از رنگ آمیزی گرم و تست های بیوشیمیایی معمول مثل کاتالاز و اکسیداز، TSI، IMViC، OF، لیزین آیرون آگار، تولید پیگمان و اوره شناسایی شدند (۱۰، ۷).

برای انجام تست آنتی بیوگرام از روش دیسک دیفیوژن در محیط کشت مولرهینتون آگار استفاده گردید و نتایج مطابق با استانداردهای (Clinical & Laboratory Standards Institute) تفسیر شدند. دیسک های آنتی بیوتیکی مورد استفاده در این پژوهش (خریداری شده از شرکت پادتن طب، ایران) عبارت بودند از آمپی سیلین (۱۰µg)، سفازولین (۳۰µg)، سفتازیدیم (۳۰µg)، سفتریاکسون (۳۰µg)، سفوتاکسیم (۳۰µg)، سفپیم (۳۰µg)، ایمی پنم (۱۰µg)، سیپروفلوکساسین (۵µg)، نوروفلوکساسین (۱۰µg)، نالیدیکسیک اسید (۳۰µg)، جنتامایسین (۳۰µg)، آمیکاسین (۳۰µg)، نیتروفورانتوئین (۳۰µg)، کوتریموکسازول (۱/۲۵µg) و کوآموکسی کلاو (۲۰/۱۰µg) (دیسک های شرکت پادتن طب تهران-ایران). طبق توصیه CLSI از *E. coli* ATCC 25922 به عنوان کنترل کیفیت استفاده شد (۹).

همهٔ جدایه هایی که به سفوتاکسیم یا سفتازیدیم از خود مقاومت نشان دادند از نظر تولید ESBL بررسی شدند. برای انجام این آزمون از تست تاییدی فنوتیپی (Double disk-diffusion test) استفاده گردید. در این روش هاله های عدم رشد در اطراف دیسک های سفوتاکسیم و سفتازیدیم به تنهایی و به صورت ترکیب با کلاولانیک اسید روی محیط کشت مولرهینتون آگار بررسی می شوند. در صورتی که هاله عدم رشد در اطراف دیسک ترکیبی ۵ میلی متر بیشتر از قطر هالهٔ عدم رشد در اطراف دیسک سفوتاکسیم یا سفتازیدیم به تنهایی باشد تولیدESBL توسط جدایه مورد نظر مثبت در نظر گرفته می شود (۱۱).

نتایج

در این مطالعه توصیفی- مقطعی ۱۵۴ نمونه بالینی شامل ۸۵ نمونهٔ ادرار، ۵۳ نمونه خون و ۱۶ نمونهٔ زخم از بخش های اورولوژی (۹۷ نمونه) و مراقبت های ویژه (۵۷ نمونه) جمع-آوری شدند که ۱۰۳ (۶۶/۸٪) نمونه مربوط به بخش زنان و ۵۱ (۳۳/۱٪) نمونه مربوط به بخش مردان بودند. از بین نمونه ها، ۱۸ مورد عفونت مجاری ادراری، ۲۸ مورد عفونت خون و ۹ مورد عفونت زخم به مردان و۶۷ مورد عفونت ادراری، ۲۵ مورد عفونت خون و ۷ مورد عفونت زخم به زنان تعلق داشت. همچنین ۷۳ نمونه از عفونت های ادراری، ۳۷ نمونه از عفونت های خون و ۱۰ نمونه از عفونت های زخم مربوط به افراد متاهل و۱۲ نمونه از عفونت های ادراری، ۱۶ نمونه از عفونت های خون و ۶ نمونه از عفونت های زخم مربوط به افراد مجرد بود. میانگین سنی بیماران ۲۶/۶ سال با انحراف معیار ۲۲/۰۱ بود. خصوصیات دموگرافیک بیماران در جدول ۱ ذکر شده است.

جدول ۱. خصوصیات دموگرافیک بیماران بستری در بخش های اورولوژی و مراقبت های ویژه

مشخصات	متغیر	تعداد	درصد	تعداد کل
جنسیت	مرد	۵۱	۳۳/۱	۱۵۴
	زن	۱۰۳	۶۶/۸	
وضعیت بارداری (باردار)		۱۲	۱۱/۶	۱۰۳
سابقه ی بستری طی ۳ ماه اخیر		۲۲	۱۴/۲	۱۵۴
دیابت		۱۶	۱۰/۳	۱۵۴
سابقه ی استفاده از سوند		۱۱۳	۷۳/۳	۱۵۴
سابقه ی مصرف آنتی بیوتیک طی ۶ ماه گذشته		۱۰۵	۶۸/۱	۱۵۴
وضعیت تاهل (متاهل)		۱۲۰	۷۷/۹	۱۵۴
میانگین سنی		۲۶/۶، SD=۲۲/۰۱		-

از مجموع ۱۵٤ نمونه بالینی، ۱۰۰ نمونه از نظر عفونت با باسیل های گرم منفی مثبت تشخیص داده شدند. پس از انجام کشت و شناسایی، شایع ترین باسیل های گرم منفی جدا شده از این نمونه ها شامل *اشرشیا کلی*، *سودوموناس آئروژینوزا* و *کلبسیلا پنومونیه* به ترتیب به تعداد ۵۰ (۵۰٪)، ۳۸ (۳۸٪) و ۱۲ (۱۲٪) در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفتند. الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی این جدایه ها نسبت به آنتی بیوتیک های مورد مطالعه در جدول ۲ ذکر شده است. بیشترین میزان مقاومت را جدایه ها نسبت به نالیدیکسیک اسید (٥٤٪)، کوتریموکسازول (٤٥٪) و آمپی سیلین (٤٢٪) داشتند. همچنین جدایه ها بیشترین حساسیت را نسبت به ایمی پنم (٥٧٪)، نورفلوکساسین (٥٥٪) و آمیکاسین (٥٣٪) از خود نشان دادند. در جدایه های *کلبسیلا پنومونیه* بیشترین مقاومت آنتی بیوتیکی چندگانه مشاهده شد یعنی حداقل به ۳ کلاس آنتی بیوتیکی یا بیشتر مقاومت داشتند (۱۲).

جدول ۲. مقاومت آنتی بیوتیکی باسیل های گرم منفی مورد مطالعه برحسب تعداد و درصد

نام آنتی بیوتیک	حساس (درصد/تعداد)	متوسط (درصد/تعداد)	مقاوم (درصد/تعداد)
کوآموکسی کلاو	۳۳ (۳۳)	۲۹ (۲۹)	۳۸ (۳۸)
کوتریموکسازول	۲۹ (۲۹)	۲٦ (۲٦)	٤٥ (٤٥)
نیتروفورانتوئین	۳٦ (۳٦)	۳٤ (۳٤)	۳۰ (۳۰)
آمیکاسین	٥۳ (٥۳)	۲۷ (۲۷)	۲۰ (۲۰)
جنتامایسین	٤٦ (٤٦)	۳٦ (۳٦)	۱۸ (۱۸)
نالیدیکسیک اسید	۲۳ (۲۳)	۲۳ (۲۳)	٥٤ (٥٤)
نورفلوکساسین	٥٥ (٥٥)	۲۰ (۲۰)	۲٥ (۲٥)
سیپروفلوکساسین	٤۸ (٤۸)	۲٤ (۲٤)	۲۸ (۲۸)
ایمی پنم	٥۷ (٥۷)	۱۲ (۱۲)	۳۱ (۳۱)
سفپیم	٤۳ (٤۳)	۲۹ (۲۹)	۲۸ (۲۸)
سفوتاکسیم	۲۷ (۲۷)	۳۲ (۳۲)	٤۱ (٤۱)
سفتریاکسون	٤٤ (٤٤)	۱۸ (۱۸)	۳۸ (۳۸)
سفتازیدیم	۳۹ (۳۹)	۲٦ (۲٦)	۳٥ (۳٥)
سفازولین	٥۱ (٥۱)	۱٥ (۱٥)	۳٤ (۳٤)
آمپی سیلین	۳۷ (۳۷)	۲۱ (۲۱)	٤۲ (٤۲)

جدایه های مقاوم به آنتی بیوتیک های سفوتاکسیم و سفتازیدیم جهت انجام آزمون تاییدی فنوتیپی انتخاب شدند. بر این اساس ۱۲ سویه *اشرشیا کلی*، ۷ سویه *کلبسیلا پنومونیه* و ۱٥ سویه *سودوموناس آئروژینوزا* جهت انجام آزمون خالص سازی شدند. با انجام این تست مشخص شد که در بین این جدایه ها ۸ سویه *اشرشیا کلی* (۱٦٪)، ٥ سویه *کلبسیلا پنومونیه* (٤۱/٦٪) و ٤ سویه *سودوموناس آئروژینوزا* (۱۰/٥٪) مولد ESBL هستند. بنابراین ESBL در جدایه های *کلبسیلا پنومونیه* بیشترین شیوع را داشت که همگی آن ها از نمونه های ادراری بخش

جدول ۳. درصد مقاومت آنتی بیوتیکی باسیل های گرم منفی ESBL در این مطالعه

جدایه	آنتی بیوتیک														
	SXT	FM	AN	GM	NA	NOR	CP	IPM	FEP	CTX	CRO	CAZ	CZ	AM	AMC
اشرشیاکلی	۱۰۰	۷۵	٦۲/۵	۷۵	۸۷/۵	٦۲/۵	٦۲/۵	۵۰	۵۰	۱۰۰	۷۵	۱۰۰	۸۷/۵	۱۰۰	٦۲/۵
کلبسیلا پنومونیه	۱۰۰	۱۰۰	۸۰	۸۰	۱۰۰	٦۰	٦۰	۸۰	۸۰	۱۰۰	۸۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
سودوموناس ائروژینوزا	۱۰۰	۱۰۰	۷۵	۲۵	۱۰۰	۵۰	۱۰۰	۷۵	۷۵	۱۰۰	۵۰	۱۰۰	۷۵	۱۰۰	۵۰

AMC Amoxicillin/clavulanic acid, FM Nitrofurantoin, SXT Cotrimoxazole, IPM Imipenem, AN Amikacin, NA Nalidixic acid, GM Gentamicin, NOR Norfloxacin, AM Ampicillin, CTX Cefotaxime, FEP Cefepime, CIP Ciprofloxacin, CRO Ceftriaxone, CAZ Ceftazidime, CZ Cefazolin.

مراقبت های ویژه جدا شده بودند. همه جدایه های ESBL از نمونهٔ بیمارانی جدا شده بودند که سابقه بستری در بیمارستان طی سه ماه اخیر، مصرف آنتی بیوتیک طی ٦ ماه گذشته و سابقهٔ استفاده از سوند داشتند. جدایه های ESBL *اشرشیا کلی* همگی به آنتی بیوتیک های آمپی سیلین و کوتریموکسازول از خود مقاومت نشان دادند. در این جدایه ها بیشترین حساسیت آنتی بیوتیکی نسبت به ایمی پنم، سیپروفلوکساسین، آمیکاسین و سفپیم مشاهده شد. جدایه های ESBL *سودوموناس آئروژینوزا* همگی به آنتی بیوتیک های آمپی سیلین، نالی دیکسیک اسید، سیپروفلوکساسین، نیتروفورانتوئین و کوتریموکسازول مقاوم بودند. همه جدایه های ESBL *کلبسیلا پنومونیه* نیز نسبت به آنتی بیوتیک های آمپی سیلین، سفازولین، نالی دیکسیک اسید، آموکسی سیلین کلاولانیک اسید، نیتروفورانتوئین وکوتریموکسازول از خود مقاومت نشان دادند. جدایه های ESBL *سودوموناس آئروژینوزا* و *کلبسیلا پنومونیه* بیشترین حساسیت آنتی بیوتیکی را نسبت به نورفلوکساسین داشته و در آن ها مقاومت آنتی بیوتیکی چندگانه نیز مشاهده شد. به علاوه بر اساس نتایج به دست آمده جدایه های ESBL مثبت در مقایسه با جدایه های ESBL منفی مقاومت آنتی بیوتیکی بیشتری داشتند. به طوری که درصد مقاومت آنتی بیوتیکی در جدایه های ESBL *اشرشیا کلی*، *کلبسیلا پنومونیه* و *سودوموناس آئروژینوزا* به ترتیب ۷٦/٦٪، ۸۸٪ و ۷۸/۳٪ بود در حالی که در جدایه های ESBL منفی ۲۸/۹٪، ۵۰/۵٪ و ۳٤/۹٪ بود.

بحث

در این پژوهش فراوانی و الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی باسیل های گرم منفی شایع مولد ESBL جدا شده از نمونه های بیماران بستری در بخش های اورلوژی و مراقبت های ویژه بیمارستان فلسفی گرگان مورد مطالعه قرار گرفت. در بین جدایه ها *اشرشیاکلی* بیشترین فراوانی و *کلبسیلا پنومونیه* کمترین فراوانی را داشت. بیشترین میزان مقاومت را جدایه ها نسبت به نالیدیکسیک اسید، کوتریموکسازول و آمپی سیلین داشتند. ۱۷٪ از این جدایه ها ESBL مثبت بودند که به ترتیب ۱۳ و ٤٪ از آن ها از نمونه های ادرار و زخم جدا شده بودند.

از نظر نوع ارگانیسم، ٤۱/٦٪ از سویه های *کلبسیلا پنومونیه*، ۱٦٪ از سویه های *اشرشیاکلی* و ۱۰/۵٪ از سویه های *سودوموناس ائروژینوزا* مولدESBL بودند. بنابراین در بین این جدایه ها، ESBL بیشترین شیوع را در بین سویه های *کلبسیلا پنومونیه* داشت. بر اساس نتایج به دست آمده از تست آنتی بیوگرام همه جدایه هایESBL مثبت نسبت به آنتی بیوتیک های آمپی سیلین و کوتریموکسازول مقاوم بودند. همچنین جدایه های ESBL *سودوموناس آئروژینوزا* و *کلبسیلا پنومونیه* به اکثر آنتی بیوتیک های مورد مطالعه مقاومت داشته و در آن‌ها مقاومت آنتی بیوتیکی چندگانه مشاهده شد. مطالعات

مشابه در نقاط مختلف ایران و جهان انجام شده است که نتایج تعدادی از آن ها با نتایج مطالعه حاضر مورد مقایسه قرار گرفته است.

در مطالعه ای که هداوند و همکاران در بیمارستان امام حسین تهران روی نمونه های بالینی بیماران بستری انجام دادند شایع ترین باکتری های گرم منفی جدا شده به ترتیب شیوع *اشرشیاکلی*، *کلبسیلا پنومونیه* و *سودوموناس ائروژینوزا* بودند که بیشترین مقاومت آنتی بیوتیکی را نسبت به سفالکسین، سفتریاکسون و سفوتاکسیم داشتند (۱۳). Nagdeo و همکاران باسیل های گرم منفی جدا شده از نمونه های بالینی را در هندوستان از نظر تولید بتالاکتامازهای مختلف بررسی کردند. سویه های *اشرشیاکلی*، *کلبسیلا پنومونیه* و *سودوموناس ائروژینوزا* بیشترین فراوانی را در بین جدایه ها داشته و شیوع ESBL در آن ها ۳۹/۰۳ ٪ بود (۱٤). در مطالعه Ehidiamen Ibadin و همکاران در نیجریه نیز این سویه ها بیشترین فراوانی را در بین جدایه های بالینی داشته و از نظر نوع ارگانیسم، ٥٤/٤٪ از سویه های *کلبسیلا پنومونیه*، ٤١/٦٪ از سویه های *اشرشیاکلی* و ۱۰/۸٪ از سویه های *سودوموناس ائروژینوزا* مولد ESBL بودند (٤). نتایج این دو پژوهش با نتایج پژوهش اخیر از نظر نوع جدایه و شیوع ESBL در بین جدایه های *کلبسیلا پنومونیه و سودوموناس ائروژینوزا همخوانی داشت*. مشابه این مطالعات را Haider و همکاران در هندوستان انجام دادند که بیشترین شیوع را در بین جدایه ها *اشرشیاکلی* و *سودوموناس ائروژینوزا* داشتند و اما ESBL بیشترین فراوانی را در بین جدایه های *کلبسیلا پنومونیه* داشت (۸). شاهنده و همکاران نیز ٥۹ سویه *کلبسیلا پنومونیه* و ٤۹ سویه *انتروباکتر* جدا شده از نمونه های مختلف بالینی بیماران را در بابل از نظر تولید بتالاکتامازهای مختلف بررسی کردند. در بین بتالاکتامازها، ESBL بیشترین شیوع را در جدایه های *کلبسیلا پنومونیه* (٤٢/٤٪) داشت (۱٥) در مطالعه آهنی آذری و همکاران در بندرترکمن ۲٥/۸٪ از سویه های *اشرشیاکلی* و همه سویه های *کلبسیلا پنومونیه* جدا شده از نمونه های ادراری بیماران سرپایی مولد ESBL بودند (۹). در پژوهشی که جلال پور در اصفهان انجام داد فراوانی ESBL در سویه های *کلبسیلا پنومونیه* جدا شده از نمونه های ادراری بیماران بستری و سرپایی به ترتیب ٦٤٪ و ۲۲٪ بود (۱٦). در مطالعه Ali Al Yousef و همکاران در عربستان ٥٦/۹۲٪ از سویه های *اشرشیاکلی* و ٤۸/۷٥ درصد از سویه های *کلبسیلا پنومونیه* جدا شده از نمونه های ادراری بیماران ESBL مثبت بودند و جدایه های مولد ESBL مقاومت آنتی بیوتیکی بیشتری در مقایسه با سایر جدایه ها داشتند (۱۷). در مطالعه جلال پور و مباشری زاده در اصفهان فراوانی ESBL در سویه های *اشرشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه* جدا شده از نمونه های ادراری بیماران بستری و سرپایی به ترتیب ٤۷/۹۷ و ٤۱/٦٦ ٪ بود و جدایه ها بیشترین مقاومت آنتی بیوتیکی را نسبت به نالیدیکسیک اسید، کوتریموکسازول و آمپی سیلین داشتند (۱۸).

نتایج این مطالعه از نظر فراوانی ESBL در جدایه های *کلبسیلا پنومونیه* و مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه ها با پژوهش حاضر همخوانی دارد. در پژوهش انجام شده توسط قوطاسلو و همکاران روی نمونه های بالینی ٥ مرکز درمانی در آذربایجان فراوانی ESBLs در جدایه های *اشرشیاکلی*، *کلبسیلا پنومونیه* و انتروباکتر *کلواکه* به ترتیب ۳۸/۳٥، ٦٤/۹ و ۳٥/۷ ٪ بود (۱۹). در تحقیقی که Sheemar و همکاران در هندوستان انجام دادند ٥۸ ٪ سویه های *کلبسیلا پنومونیه* جدا شده از نمونه های بالینی مختلف مولد ESBL بودند. به علاوه جدایه های ESBL مثبت در مقایسه با جدایه های ESBL منفی مقاومت آنتی بیوتیکی بیشتری داشتند (۲۰) که این نتیجه با نتایج پژوهش اخیر و Ali Al Yousef و همکاران در عربستان نیز مطابقت دارد (۱٦). یکی از نتایجی که در مطالعه حاضر و سایر مطالعات ذکر شده به چشم می خورد شیوع بالای آنزیم ESBL در جدایه های *کلبسیلا پنومونیه* است. بنابراین پیشنهاد می گردد در درمان عفونت های ناشی از این باکتری در تجویز سفالوسپورین های نسل سوم احتیاط بیشتری گردد.

اگرچه در همه مطالعات مشابه انجام شده در ایران و سایر کشورها افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی و گسترش سویه های مولد ESBL در بین باکتری های گرم منفی اثبات شده است، اما در مورد میزان مقاومت و شیوع ESBL در بین آن ها گزارشات مختلفی وجود دارد. این اختلافات ممکن است ناشی از انتشار جغرافیایی میکروارگانیسم های مقاوم به آنتی بیوتیک، مصرف بی رویه و تجویز نامناسب آنتی بیوتیک ها و تفاوت در سیاست‌های کنترل عفونت در مراکز درمانی باشد (۱۰). از محدودیت‌های مطالعه حاضر می توان به بررسی نمونه های ادراری، خون و زخم بیماران بستری فقط در دو بخش از بیمارستان تحت مطالعه اشاره کرد که می تواند اعتبار خارجی نتایج بدست آمده را تحت تأثیر قرار دهد. پیشنهاد می گردد در مطالعات بعدی نمونه های بالینی همه بخش های بیمارستان مورد مطالعه قرار گرفته و الگوی مقاومتی سایر باسیل های گرم منفی نیز تعیین گردد.

نتیجه‌گیری

براساس نتایج این مطالعه و نتایج سایر محققین فراوانی سویه‌های **ESBL** مثبت به خصوص در باسیل های گرم منفی شایع بیمارستانی رو به افزایش است که می تواند درمان بیماران را با مشکل مواجه کرده و در نهایت منجر به مرگ و میر بالای آنان گردد. بنابراین به منظور پیشگیری از ایجاد سویه های مقاوم اتخاذ برنامه های کنترلی در هر مرکز درمانی مثل شناسایی سویه های **ESBL**، تجویز آنتی بیوتیک مناسب و دوز موثر و محدود کردن استفاده از آنتی بیوتیک های وسیع الطیف فقط در موارد لزوم ضروری به نظر می رسد.

تشکر و قدردانی

از مساعدت و همکاری پرسنل محترم آزمایشگاه بیمارستان فلسفی گرگان در جمع آوری نمونه ها قدردانی می شود. شایان ذکر است که این مقاله حاصل کار پایان نامهٔ سرکار خانم سحرخان بیکی برای دریافت درجهٔ کارشناسی ارشد در رشتهٔ میکروبیولوژی از دانشگاه آزاد اسلامی گرگان می باشد.

تضاد منافع

در این پژوهش هیچ گونه تعارض منافعی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

مشارکت نویسندگان:

(۱) مفهوم پردازی و طراحی مطالعه، یا جمع آوری داده ها، یا تجزیه و تحلیل و تفسیر داده ها: آنیا آهنی آذری، سحر خان بیکی، احمد دانش

(۲) تهیه پیش نویس مقاله یا بازبینی آن جهت تدوین محتوای اندیشمندانه: آنیا آهنی آذری، احمد دانش

(۳) تایید نهایی دستنوشته پیش از ارسال به مجله : آنیا آهنی آذری، احمد دانش

References

1. Wei J, Wenjie Y, Ping L, Na Wang, Haixia R and Xuequn Z. Antibiotic resistance of *Klebsiella pneumoniae* through β-arrestin recruitment-induced β-lactamase signaling pathway. Exp Ther Med. 2018; 15: 2247-2254.

2. Nepal K, Dutt Pant N, Neupane B, Belbase A, Baidhya R, Krishna Shrestha , et al. Extended spectrum beta‑lactamase and metallo beta‑lactamase production among *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated from different clinical samples in a tertiary care hospital in Kathmandu, Nepal. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2017; 16(62): 1-7.

3. Mansouri S, Chitsaz M, Haji Hosseini R, Mirzaei M and Ghini MH. Determination of resistance pattern of clinical isolates *Escherichia coli* producing AmpC-type β-lactamases based on Phenotypic and genotypic characteristics. Daneshvar Med J. 2009; 16(80): 61-70. [In Persian]

4. Ephraim Ehidiamen Ibadin, Richard Omoregie, Isaac Ohiorenuan Igbarumah, Nana Atinuke Anogie, Helen Oroboghae Ogefere. Prevalence of Extended Spectrum β-Lactamase, AmpC β-Lactamase and Metallo-β-Lactamase among Gram Negative Bacilli Recovered from Clinical Specimens in Benin City, Nigeria. Int J Enteric Pathog. 2017; 5(3):85-91.

5. Laudy AE, RoÂg P, Smolińska-KroÂl K,C Â miel M, Søoczyńska A, Patzer J, et al. Prevalence of ESBL-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Warsaw, Poland, detected by various phenotypic and genotypic methods. PLoS one.2017; 12(6): 1-15

6. Mboya E.A, Sanga L.A, Ngocho J.S. Irrational use of antibiotics in the Moshi Municipality Northern Tanzania: a cross sectional study. Pan Afr Med J. 2018; 31: 165.

7. Imani Foolad AA, Rostami Z, Shapouri R. Antimicrobial resistance and ESBL prevalence in *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from clinical specimen by phenotypic and genotypic methods. J Ardabil Univ Med Sci. 2010; 3 (37): 189-198.

8. Haider M, Rizvi M, Fatima N, Shukla I, Malik A. Necessity of detection of extended spectrum beta-lactamase, AmpC and metallo-beta-lactamases in Gram-negative bacteria isolated from clinical specimens. Muller J Med Sci Res 2014; 5:23-8.

9. Ahani Azari A, Khajeh A, Danesh A. Assessment of antibiotic resistance pattern and frequency of extended spectrum β-lactamases (ESBLs) in gram negative bacteria isolated from urine samples in Bandar-e Torkaman. J Neyshabur Univ Med Sci. 2019; 7(1):134-43.

10. Bayat Maku ZH, Hassani A, Naqili B, Alipour L. Prevalence of gram-negative bacilli producing broad-spectrum beta-lactamases in clinical samples of hospitalized patients. J Tabriz Univ Med Sci. 2010; 32 (4): 11-15

11. Moayednia R, Shokri D, Mobasherizadeh S, Baradaran A, Fatemi SM, Merrikhi A. Frequency assessment of β-lactamase enzymes in *Escherichia coli* and *Klebsiella* isolates in patients with urinary tract infection. J Res Med Sci. 2014; 19 (Suppl 1):S41-5.

12. Beyene G and Tsegaye W. Bacterial uropathogens in urinary tract infection and antibiotic susceptibility pattern in Jimma University specialized hospital, southwest Ethiopia. Ethiop J Health Sci. 2011; 21:141-6.

13. Hadavand F Gachkar L, Amini M. High Prevalence of Drug-Resistant Gram-Negative Bacteria: A Hospital-Based Cross-Sectional Study in Tehran, in 2017. Arch Clin Infect Dis. 2019; 14(6):e93637.

14. Nagdeo NV, Kaore NM, Thombare VR. Phenotypic methods for detection of various β-lactamases in Gram-negative clinical isolates: Need of the hour. Chron Young Sci. 2012; 3:292-8.

15. Shahandeh Z, Sadighian,F, Rekabpor KH. Phenotypic Detection of ESBL, MBL (IMP-1), and AmpC Enzymes, and Their Coexistence in *Enterobacter* and *Klebsiella* Species Isolated From Clinical Specimens. Int J Enteric Pathog. 2016; 4(2):1-7.

16. Jalalpoor SH. Antibiotic Resistant Pattern in ESBLs Producer *Klebsiella Pneumoniae* Strains Isolated of Hospitalized and Out Patients Acquired Urinary Tract Infection. J Isfahan Univ Med Sci. 2011; 29(142): 695-706. [Persian]

17. Ali Al Yousef S, Younis S, Farrag E, Moussa H, Sayed Bayoumi F, Mohamed Ali A.(2016) Clinical and Laboratory Profile of Urinary Tract Infections Associated with Extended Spectrum β-Lactamase Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumonia*. Ann Clin Lab Sci. 2016; 46 (4): 393-400.

18. Jalalpoor S, Mobasherizadeh S. Frequency of ESBLs and antibiotic resistant pattern in to *E. coli* and *K. pneumoniae* Strains isolated of hospitalized and out patients acquired urinary tract infection (Esfahan/2008-2009)]. J Microbial World. 2009; 2(2):105-11. [Persian]

19. Ghotasloua R, Sadeghian M, Akhib M, Hasanib A, Asgharzadehd M. Prevalence and Antimicrobial Susceptibility Patterns of ESBL, AmpC and Carbapenemase-producing Enterobactericeae Isolated from Hospitalized Patients in Azerbaijan, Iran. Iran J Pharm Res. 2018;17 (Special Issue): 79-88

20. Sheemar S, Chopra S, Mahajan G, Kaur J, Chouhan YS. Extended spectrum beta-lactamase and AmpC producing *Klebsiella pneumoniae*: A therapeutic challenge. Trop J Med Res. 2016; 19:114-7.

Journal of Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences
2020, Volume 8, No. 2: 47-56.

Original article

Prevalence and Antibiotic Resistance Pattern of Extended Spectrum β-Lactamase- (ESBL-) Producing Gram Negative Bacilli isolated from Clinical Samples of hospitalized Patients in a hospital in Gorgan

Sahar Khanbeyki[1], Ania Ahani Azari*[1], Ahmad Danesh[2]

1. Department of Microbiology, Gorgan Branch, Islamic Azad University, Gorgan, Iran
2. Infectious Diseases Research Center, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran

Corresponding author: a.ahani@gorganiau.ac.ir

Keywords:
Clinical specimens,
ESBL,
Gram-negative,
Prevalence

Abstract

Background & Aim: Antibiotic resistance among gram-negative bacilli is currently one of the major challenges for the health system in developing countries. The aim of this study was to determine the frequency and antibiotic resistance pattern of common ESBL-producing gram negative bacilli isolated from clinical specimens of hospitalized patients in Falsafi Hospital in Gorgan.

***Methods*:** In this descriptive cross-sectional study, during October to December 2016, clinical samples of hospitalized patients including urine, blood and wound specimens were examined for the presence of common Gram-negative bacilli. Then the drug resistance pattern of the isolates and the production of ESBLs were determined by disk diffusion and phenotypic methods.

***Results*:** Of 154 clinical samples, 100 samples were positive for gram-negative bacilli and 50 isolates of *Escherichia coli*, 38 isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and 12 isolates of *Klebsiella pneumoniae* were identified. All the isolates were resistant to ampicillin and co-trimoxazole antibiotics. 17% of the isolates were phenotypically ESBL positive and this enzyme had the highest frequency among *K. pneumoniae* isolates (41.6%).

***Conclusion*:** The results of this study, in line with the results of other researchers, indicate high prevalence of ESBL in clinical isolates of *K. pneumoniae*. Therefore, third-generation cephalosporins are not recommended in treatment of infections caused by *K. pneumonia* as the first line drug.

How to Cite this Article: Khanbeyki S, Ahani Azari A, Danesh A. Prevalence and Antibiotic Resistance Pattern of Extended Spectrum β-Lactamase- (ESBL-) Producing Gram Negative Bacilli isolated from Clinical Samples of hospitalized Patients in a hospital in Gorgan. Journal of Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences. 2020;8(2):47-56.

Copyright © 2020 Journal of Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Noncommercial 4.0 International License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cite.