Medical Journal
of
Tabriz University of Medical Sciences and Health Services

Original Article

Antibiotic resistance pattern of clinical isolates of ESBL strains and determination of enzymatic relationship with clinical specimen type

Mahyar Porbaran, Reza Habibipour*, Sarah Rajaei

Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Hamedan Branch, Islamic Azad University, Hamedan, Iran
*Corresponding author; E-mail: Habibipour@iauh.ac.ir

Received: 29 November 2018 Accepted: 20 February 2019 First Published online: 28 Oct 2020
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services.2020;42(4):386-393

Abstract

Background: Differences in clinical isolates may affect the frequency of Extended Spectrum Beta-Lactamase enzymes (ESBLs) in some gram-negative bacteria. The aim of this study was to pattern survey of Antibiotic resistance of clinical isolates of ESBL strains and determination of enzymatic relationship with clinical specimen type.

Methods: In this descriptive-analytic study, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* and *Enterobacter cloacae* were identified by biochemical tests. Combination disk test was used to determine ESBL strains. Chi-square test with significant range of $P<0.05$ was used to examine the relationship between variables.

Results: Out of 270 isolated gram-negative isolates, 95 isolates was produced ESBL enzyme. Of the 95 isolates, 28 isolates (29.47%) were *E. coli*, 22 isolates (23.15%), *P. aeruginosa*, 19 isolates (20%), *A. baumannii*, 17 isolates (17.89%) of *K. pneumoniae* and 9 isolates (33.3%) were E. *cloacae*. There was a significant relationship between the presence of ESBL enzymes and the type of clinical specimen, so that isolates with this enzyme had the highest frequency in the wound and urine specimens.

Conclusion: Considering the relationship between type of clinical specimen and the frequency of ESBL enzyme in resistant strains, some environmental factors and underlying variables such as the type of clinical specimen can increase the abundance of ESBL enzymes.

Keywords: Bacterial Infections; Enterobacteriaceae Infections; Beta-Lactamase; Drug Resistance

How to cite this article: Porbaran M, Habibipour R, Ragaei S. [Antibiotic resistance of clinical isolates of ESBL strains and determination of enzymatic relationship with clinical specimen type]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2020;42(4):386-393. Persian.

© 2020 The Author(s). This is an Open Access article published by Tabriz University of Medical Sciences under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

مقاله پژوهشی

بررسی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی ایزوله‌های بالینی مولد ESBL و تعیین ارتباط آنزیمی با نوع نمونه بالینی

مهیار پرباران، رضا حبیبی‌پور*، سارا رجایی

گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد همدان، دانشگاه آزاد اسلامی، همدان، ایران
*نویسنده مسؤول؛ ایمیل: Habibipour@iauh.ac.ir

دریافت: ۱۳۹۷/۹/۸ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۲/۱ انتشار برخط: ۱۳۹۹/۸/۷
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی تبریز.۱۳۹۹؛۴۲(۴):۳۸۶-۳۹۳

چکیده

زمینه: تفاوت در نوع ایزوله بالینی ممکن است در فراوانی آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع الطیف (ESBLs) در برخی باکتری‌های گرم منفی موثر باشد. هدف از این مطالعه تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های بالینی مولد ESBL و تعیین ارتباط آنزیمی با نوع نمونه بالینی می‌باشد.

روش کار: در این مطالعه توصیفی-تحلیلی، باکتری‌های *اشریشیاکلی*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *آسینتوباکتر بومانی*، *کلبسیلا پنومونیه* و *انتروباکترکلوآکه* با استفاده از آزمون‌های بیوشیمیایی شناسایی شدند. برای تعیین سویه‌های ESBL از آزمون دیسک ترکیبی استفاده گردید. همچنین به منظور بررسی ارتباط بین متغیرها، از آزمون Chi-Square با دامنه معنی‌داری $P\leq ۰/۵$ استفاده شد.

یافته‌ها: از مجموع ۲۷۰ ایزوله گرم منفی جدا گردیده، ۹۵ ایزوله ۳۵/۱۸ درصد تولید کننده آنزیم ESBL بودند. از این ۹۵ ایزوله، ۲۸ ایزوله ۲۹/۴۷درصد *اشریشیاکلی*، ۲۲ ایزوله ۲۳/۱۵ درصد *سودوموناس آئروژینوزا*، ۱۹ ایزوله ۲۰ درصد *آسینتوباکتر بومانی*، ۱۷ ایزوله ۱۷/۸۹درصد *کلبسیلا پنومونیه* و ۹ ایزوله ۳۳/۳ درصد *انتروباکترکلوآکه* بودند. ارتباط معنی‌داری بین حضور آنزیم ESBL با نوع نمونه بالینی مشاهده گردید، به طوری که ایزوله‌های دارای این آنزیم در نمونه‌های زخم و ادرار دارای بیشترین فراوانی بودند.

نتیجه‌گیری: با توجه به مشاهده ارتباط بین نوع نمونه بالینی و فراوانی آنزیم ESBL در سویه‌های مقاوم، برخی عوامل محیطی و متغیرهای زمینه‌ای مانند نوع نمونه بالینی می‌توانند فراوانی آنزیم ESBL را افزایش دهند.

کلید واژه‌ها: عفونت باکتریایی، عفونت انتروباکتریاسه، بتالاکتاماز، مقاومت دارویی

نحوه استناد به این مقاله: پرباران م، حبیبی‌پور ر، رجایی س. بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های بالینی مولد ESBL و تعیین ارتباط آنزیمی با نوع نمونه بالینی. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی تبریز.۱۳۹۹؛۴۲(۴):۳۸۶-۳۹۳

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.
این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تبریز تحت مجوز کریتیو کامنز (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0) منتشر گردیده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

عفونت‌های بیمارستانی به عنوان یکی از مشکلات بهداشتی و درمانی جامعه مطرح می‌باشند، به طوری که بیماران بستری در بیمارستان‌ها را از نظر هزینه‌های درمانی و اختلال در سلامتی، تحت تاثیر قرار می‌دهند (۱). از طرف دیگر استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های مختلف در درمان عفونت‌های باکتریایی سبب ظهور سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک گردیده است که یکی از این موارد بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف (ESBLs) می‌باشند (۲). اولین ارگانیسم تولید کننده ESBLs از اعضای خانواده انتروباکتریاسه در سال ۱۹۸۳ در آلمان شناسایی گردید و از آن زمان به بعد افزایش روزافزون این سویه‌ها در سراسر جهان گزارش گردیده است. بتالاکتامازهای وسیع الطیف اغلب توسط پلاسمیدها منتقل می‌شوند و در اثر ایجاد جهش در ژن‌های *TEM* و *SHV* کلاسیک و به واسطه جایگزینی اسیدهای آمینه در جایگاه فعال این آنزیم‌ها توسعه می‌یابند (۳). به طور کلی دو نوع طبقه‌بندی برای بتالاکتامازها توصیف گردیده است: طبقه‌بندی ساختاری که بر این اساس آنزیم‌های بتالاکتاماز بر پایه ساختمان و یا ساختار اولیه به چهار گروه مولکولی A تا D تقسیم می‌شوند. بتالاکتامازهای گروه‌های A و C رایج‌ترین آن‌ها می‌باشد و همانند کلاس D در جایگاه فعال خود دارای اسیدآمینه سرین می‌باشد (۴و۵). بتالاکتامازهای کلاس B شامل متالوبتالاکتامازها می‌باشند و کوآنزیم آن‌ها فلز روی است. طبقه‌بندی عملکردی که در این طبقه‌بندی بر اساس نوع سوبستراهای بتالاکتامازها و پاسخ آن‌ها در برابر مهار کننده‌ها می‌باشند و بر این اساس بتالاکتامازها به گروه‌های عملکردی متنوع و زیادی تقسیم‌بندی می‌گردند (۳و۶). در بررسی‌های اخیر نشان داده شده است که ژن $bla_{CTX-M-1}$ از ESBLs شایع‌ترین نوع از ژن‌های بتالاکتامازی بوده است. آنزیم‌های ESBLs، توسط ژن‌های متنوعی کد می‌شوند که از جمله ژن‌های اصلی آن می‌توان به bla_{SHV} ,bla_{ctx-9} ,bla_{TEM-1} اشاره کرد. بتالاکتامازهای *CTX-M* به طور فزاینده‌ای در *اشریشیاکلی* و *کلبسیلا پنومونیه* شایع هستند. ژن *CTX-M* بر اساس تغییرات اسیدآمینه به پنج گروه اصلی CTX M2-M9, CTX-M25، *CTX-M1* CTX-, CTX-M8 تقسیم می‌شوند (۷–۹). در برخی مطالعات اهمیت و نقش نوع نمونه بالینی در بروز مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی مطرح گردیده است. تولید برخی عوامل بیماریزا مانند بیوفیلم و لایه‌های لعابی خارج سلولی در برخی باکتری‌های گرم منفی می‌تواند سبب افزایش پایداری ارگانیسم به دارو شود (۱۰). باکتری‌های ساکن شده در عفونت‌های حاصل از زخم و کاتتر که عموما با مواد ضدعفونی کننده و متغیرهای محیطی فراوانی در تماس هستند، با استفاده از این لایه‌های خارج سلولی، قدرت بقا خود را نیز افزایش می‌دهند. این در حالی است که، ارگانیسم به منظور اتصال قوی‌تر به موضع درگیر شده و ایجاد فازهای پلانکتونیک و بیوفیلمی، شرایط متابولیک خود را تنظیم می‌کند تا بتواند پایداری خود را در برابر عوامل نامساعد حفظ کند و همچنین مقاومت دارویی خود را نیز افزایش دهد (۱۱و۱۲). وجود اتصالات محکم به زخم‌های پوستی و کاتترهای پزشکی، بیمار را با خطر عفونت‌های باکتریایی روبرو می‌کند. از این رو، ممکن است حضور و نقش این متغیرها بتوانند نقش مهمی را در انتشار و گسترش باکتری‌های دارای مقاومت آنتی‌بیوتیکی گسترده، ایفا کنند. لذا هدف از این مطالعه، تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های بالینی گرم منفی بیمارستانی دارای آنزیم ESBL و تعیین ارتباط آنزیمی و نوع نمونه بالینی می‌باشد.

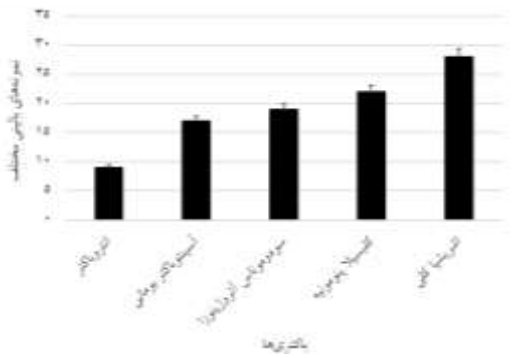
روش‌کار

در این مطالعه توصیفی- تحلیلی، ۲۷۰ ایزوله جدا گردیده از نمونه‌های بالینی مختلف شامل خون، ادرار، زخم، خلط و سایر موارد در بازه زمانی ۶ ماهه (از بهمن ۹۶ تا تیر ۹۷) از بیماران بستری در بخش‌های مختلف بیمارستان‌های همدان جمع‌آوری گردید. مبنای نمونه‌گیری بر اساس نمونه‌گیری آسان و در دسترس پایه‌ریزی شد و معیار ورود افراد برای نمونه‌گیری، بیماران دچار عفونت باکتریایی و معیار خروج افرادی بودند که دچار عفونت باکتریایی نبودند. به منظور جداسازی باکتری‌های *سودوموناس آئروژینوزا*، *کلبسیلا پنومونیه*، *اشریشیاکلی*، *آسینتوباکتر بومانی* و *انتروباکترکلواکه* از تست‌های بیوشیمیایی نظیر رشد در محیط مک کانکی آگار، محیط ستریماید آگار، عدم تخمیر گلوکز و لاکتوز در محیط TSI، تولید اکسیداز، مصرف قند از طریق اکسیداسیون در محیط of (اکسیداتیو فرمنتاتیو)، رشد در دمای ۴۲ درجه سانتیگراد، تولید پیگمان و حرکت استفاده گردید (۱۳). الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی، با استفاده از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی پیپراسیلین (۱۰ میکروگرم)، آزترئونام (۳۰ میکروگرم)، آمیکاسین (۳۰ میکروگرم)، سفکسیم (۵ میکروگرم) و کولیستین (۳۰ میکروگرم) (MAST انگلستان) به روش دیسک دیفیوژن تعیین شد. به منظور تعیین قطر هاله سویه‌های مورد بررسی از CLSI نسخه ۲۰۱۷ استفاده گردید (۱۴). با استفاده از از کیت تشخیصی شرکت MAST انگلستان با شماره ثبت D68C سویه‌های حامل آنزیم ESBL شناسایی گردید. تمامی مراحل جهت شناسایی سویه‌های مورد مطالعه با توجه به پروتکل کیت انجام شد. در این بررسی از سویه *E. coli ATCC 25922* به عنوان کنترل منفی و از سویه‌های *k.pneumoniae ATCC 70063* جهت شناسایی سویه‌های ESBL استفاده گردید. نتایج بدست آمده از الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی به روش فنوتیپی، با استفاده از نرم‌افزار اکسل نسخه ۲۰۱۳ مورد بررسی، تجزیه و تحلیل قرار گرفت. جهت بررسی ارتباط بین متغیرها، از نرم‌افزار

آماری SPSS نسخه ۱۶ و آزمون آماری K2 استفاده گردید. در این مطالعه مقدار P<۰/۰۵ معنی‌دار در نظرگرفته شد.

یافته‌ها

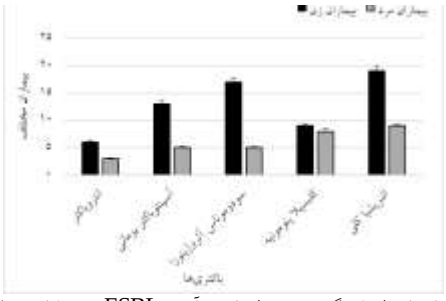
در این بررسی از ۲۷۰ ایزوله گرم منفی بالینی مختلف، ۵۷ ایزوله (۲۱/۱۱ درصد) *اشریشیاکلی*، ۳۸ ایزوله (۱۴/۰۸ درصد) *سودوموناس آئروژینوزا*، ۴۳ ایزوله ۱۵/۹۲ درصد *آسینتوباکتربومانی*، ۲۳ ایزوله (۸/۵۴ درصد) *کلبسیلا پنومونیه* و ۹ ایزوله (۳/۳۳ درصد) *انتروباکتر کلوآکه* جداسازی شد. سایر ایزوله‌های مورد مطالعه فاقد مشخصات باکتری‌های مورد نظر بودند و از مطالعه حذف شدند. در این مطالعه از مجموع ۲۷۰ ایزوله گرم منفی جدا شده، ۹۵ ایزوله تولید کننده آنزیم ESBL بودند (تصویر ۱). همچنین از این ۹۵ ایزوله، ۲۸ ایزوله (۲۹/۴۷ درصد) *اشریشیاکلی*، ۲۲ ایزوله ۲۳/۱۵ درصد *سودوموناس آئروژینوزا*، ۱۹ ایزوله (۲۰ درصد) *آسینتوباکتر بومانی*، ۱۷ ایزوله (۱۷/۸۹ درصد) *کلبسیلا پنومونیه* و ۹ ایزوله (۹/۴۷ درصد) *انتروباکترکلوآکه* بودند (نمودار ۱).



نمودار ۱: فراوانی ایزوله‌های تولید کننده آنزیم ESBL در باکتری‌های گرم منفی

تصویر ۱: ایزوله‌های تعیین شده به عنوان تولید کننده آنزیم ESBL توسط روش دیسک دیفیوژن

فراوانی ایزوله‌های بدست آمده بر اساس جنسیت بیماران بر این اساس بود که، از مجموع ۲۷۰ ایزوله گرم منفی، ۱۳۳ ایزوله (۴۹/۲۵ درصد) از بیماران زن و ۱۳۷ ایزوله (۵۰/۷۴ درصد) از بیماران مرد بدست آمد. همچنین فراوانی سویه‌های ESBL در زنان بیشتر از مردان بود (نمودار۲).



نمودار ۲: فراوانی ایزوله‌های گرم منفی تولید کننده آنزیم ESBL در بیماران مختلف بر اساس جنسیت

بیشترین ایزوله‌های جمع‌آوری گردیده از نمونه‌های خون و ادرار بدست آمدند. به طوری که، فراوانی ایزوله‌های بدست آمده بر اساس نوع نمونه بالینی، از مجموع ۲۷۰ ایزوله گرم منفی، ۸۹ ایزوله ۳۲/۹۶ درصد از کشت خون، ۴۳ ایزوله ۱۵/۹۲ درصد از کشت ادرار، ۲۹ ایزوله ۱۰/۷۴ درصد از کشت زخم و ۹ ایزوله ۳/۳۳ درصد از سوند جداسازی شدند. نتایج بدست آمده از الگوی مقاومتی باکتری‌های مختلف به صورت زیر مشخص گردید: از ۲۸ ایزوله *اشریشیاکلی*، ۷ ایزوله (۲۵ درصد) مقاوم به آزترئونام، ۲۱ ایزوله (۷۵ درصد) مقاوم به آمیکاسین، ۱۱ ایزوله (۳۹/۲۸ درصد) مقاوم به سفکسیم، ۱۹ ایزوله (۶۷/۸۵ درصد) به پیپراسیلین بودند. از ۲۲ ایزوله *سودوموناس آئروژینوزا*، ۳ ایزوله (۱۳/۶۶ درصد) مقاوم به آزترئونام، ۱۸ ایزوله (۸۱/۸۱ درصد) مقاوم به آمیکاسین، ۱۰ ایزوله (۴۵/۴۵ درصد) مقاوم به سفکسیم، ۲۱ ایزوله (۹۵/۴۵ درصد) به پیپراسیلین بودند. از ۱۹ ایزوله *آسینتوباکتربومانی*، ۱ ایزوله (۵/۸۸ درصد) مقاوم به آزترئونام، ۱۴ ایزوله (۸۲/۳۵ درصد) مقاوم به آمیکاسین، ۱۳ ایزوله (۷۶/۴۷ درصد) مقاوم به سفکسیم، ۱۳ ایزوله (۷۶/۴۷ درصد) به پیپراسیلین بودند. از ۱۷ ایزوله *کلبسیلا پنومونیه*، ۴ ایزوله (۲۳/۴۲ درصد) مقاوم به آزترئونام، ۹ ایزوله (۵۲/۹۴ درصد) مقاوم به آمیکاسین، ۱۱ ایزوله (۶۴/۰۷ درصد) مقاوم به سفکسیم و ۱۴ ایزوله (۸۲/۳۵ درصد) به پیپراسیلین بودند. از ۹ ایزوله *انتروباکترکلواکه* ۲ ایزوله (۲۲/۲۲ درصد) مقاوم به آمیکاسین و ۲ ایزوله (۲۲/۲۲ درصد) مقاوم به سفکسیم بودند. هیچ یک از باکتری‌های مورد مطالعه به کولیستین مقاوم نبودند (جدول۱). ارتباط معنی‌داری بین حضور آنزیم ESBL و نوع نمونه بالینی مشاهده گردید، به طوری که ایزوله‌های دارای این آنزیم در نمونه‌های زخم و ادرار دارای بیشترین فراوانی بودند. مقادیر بدست آمده برای باکتری‌های *اشریشیاکلی*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *آسینتوباکتر بومانی*، *کلبسیلا پنومونیه* و *انتروباکترکلوآکه* به ترتیب P=۰/۰۳، P=۰/۰۹، P= ۰/۰۱۵، P= ۰/۰۴۵ و P= ۰/۰۲ بود.

جدول ۱: فراوانی ایزوله‌های تولید کننده آنزیم ESBL در باکتری‌های گرم منفی مختلف

باکتری‌ها	*اشریشیاکلی* (n=۲۸)			*سودوموناس آئروژینوزا* (n=۲۲)			*اسینتوباکتر بومانی* (n=۱۹)			*کلبسیلا پنومونیه* (n=۱۷)			*انتروباکترکلواکه* (n=۹)			P
آنتی‌بیوتیک‌ها	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S	
آمیکاسین	۲۱	۰	۷	۱۸	۲	۲	۱۴	۰	۵	۹	۱	۷	۲	۰	۷	P=۰/۱۷۰
آزترئانوم	۷	۰	۲۱	۳	۰	۱۹	۱	۰	۱۸	۴	۰	۱۳	۰	۰	۹	P=۰/۰۵
پیپراسیلین	۱۹	۱	۸	۲۱	۰	۱	۱۳	۱	۵	۱۴	۰	۳	۰	۲	۷	P=۰/۰۳
سفکسیم	۱۱	۳	۱۴	۱۰	۰	۱۲	۱۳	۰	۶	۱۱	۰	۶	۲	۰	۷	P=۰/۰۱۵
کولیستین	۰	۱	۲۹	۰	۰	۲۲	۰	۰	۱۹	۰	۰	۱۷	۰	۰	۹	P=۰

بحث

در این مطالعه ۵ گروه باکتریایی شامل *اشریشیاکلی*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *آسینتوباکتر بومانی*، *کلبسیلا پنومونیه* و *آسینتوباکتر کلوآکه* مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که فراوانی ایزوله‌های *سودوموناس آئروژینوزا* ۷۷/۲۷ درصد و *اشریشیاکلی* ۶۷/۸۵ درصد در بیماران زن بیشتر از بیماران مرد می‌باشد، همچنین، سویه‌های ESBL در این دو باکتری دارای بیشترین فراوانی بودند. در مطالعه Bokaian و همکاران که بر روی ایزوله‌های گرم منفی تولید کننده آنزیم ESBL صورت گرفته بود، از چندین باکتری بیمارستانی مختلف، *اشریشیاکلی* بیشترین فراوانی را داشت (۱۵). Farid و همکاران نشان دادندکه ایزوله‌های بالینی *سودوموناس آئروژینوزا* و *اشریشیاکلی* حامل آنزیم ESBL دارای بیشترین فراوانی بین گرم منفی‌های بیمارستانی بودند (۱۶). این در حالی است که *اشریشیاکلی* در مقام اول و *سودوموناس آئروژینوزا* در مقام دوم باکتری‌های ایجاد کننده عفونت‌های بیمارستانی قرار دارند. همسویی این مطالعات با نتایج ما، به نوعی اثبات کننده نقش و اهمیت *اشریشیاکلی*، به عنوان یکی از مهم‌ترین باکتری‌های گرم منفی بیمارستانی، در انتقال ژن‌های عامل مقاومت به آنتی‌بیوتیک بین سایر سویه‌ها و حتی سایر جنس‌های باکتریایی، می‌باشد. یکی از مهمترین مواردی که می‌توان به آن اشاره کرد شیوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی و فراوانی آن در باکتری‌های مورد مطالعه می‌باشد، بدین صورت که مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف در باکتری *اشریشیاکلی* و *سودوموناس آئروژینوزا* در مطالعه ما بیشترین فراوانی را داشت و در واقع، سویه‌های دارای مقاومت به چند آنتی‌بیوتیک در این دو گونه دارای توزیع بالاتری بود. این موارد در مطالعهShayan & Bokaeian (۱۷) که بر روی *اشریشیاکلی* جدا شده از نمونه‌های ادراری انجام گرفت نیز مشاهده شد، به طوری که در این مطالعه ۳۵ ایزوله مولد بتالاکتاماز وسیع‌الطیف بودند و بیشترین میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک کوتریموکسازول و بیشترین حساسیت به ایمیپنم گزارش شد. همچنین در مطالعه Kalaskar و همکاران (۱۸) مشخص گردید که فراوانی بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف در *اشریشیاکلی* بیش از ۸۰ درصد می‌باشد. همچنین ۸۵ درصد از سویه‌ها مقاوم به آمپی‌سیلین بودند و هیچ یک از باکتری‌های به ایمیپنم مقاومت نداشتند. علاوه بر این، مشخص گردید که ۹۴ ایزوله حامل آنزیم ESBL بودند و همه باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک ایمیپنم حساس و نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین، آزترونام و کوآموکسی‌کلاو مقاومت کامل داشتند. در مطالعه حاضر، فراوانی سویه‌های مولد ESBL در *اشریشیاکلی* با فراوانی ۲۹/۴۷ درصد، ایزوله *سودوموناس آئروژینوزا* با فراوانی ۲۳/۱۵ درصد، *آسینتوباکتر بومانی* با فراوانی ۲۰ درصد، *کلبسیلا پنومونیه* با فراوانی ۱۷/۸۹ درصد و *انتروباکترکلواکه* با فراوانی ۹/۴۷ درصد گزارش شدند. در مطالعات Ogefere و همکاران (۱۹) و Aminzadeh و همکاران (۱) که به بررسی باکتری‌های گرم منفی در ایزوله‌های بالینی پرداخته بودند، مشخص گردید که فراوانی *اشریشیاکلی* مولد ESBL دارای فراوانی بیشتری نسبت به سایر باکتری‌های گرم منفی می‌باشد. همچنین در این مطالعات مشخص گردید که ایزوله‌های *اشریشیاکلی* در نمونه ادرار دارای بیشتری فراوانی بودند که با مطالعه ما مشابهت دارد. در گذر زمان مقاومت آنتی‌بیوتیکی و ظهور سویه‌های ESBL در *سودوموناس آئروژینوزا* نیز سیر افزایشی داشته است به طوری که در مطالعات Tavajjohi و همکاران (۳)، Adabi و همکاران (۲۰) فراوانی سویه‌های ESBL *سودوموناس آئروژینوزا* بیش از ۲۰ درصد گزارش گردید که از این نظر با نتایج ما مطابقت دارد. گرچه، در مطالعات Aminzadeh و همکاران (۱)، Knudsen و همکاران (۴) بر خلاف نتایج مطالعه ما، سویه‌های تولید کننده آنزیم ESBL در *کلبسیلا پنومونیه* با بیشترین فراوانی دارای الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی متفاوتی بودند. در باکتری‌های گرم منفی عامل عفونت بیمارستانی، *اشریشیاکلی* به دلایل مختلف دارای بیشترین سازگاری در تولید آنزیم‌های مختلف بتالاکتامازی است. از مهمترین دلایل می‌توان به خصوصیات ساختاری این باکتری اشاره کرد؛ به طوری که در کنار اپیدمی بالای این باکتری و حضور در روده انسان به عنوان فلور طبیعی، سبب گردیده است که در مواجه با طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک ها حضور فعال داشته باشد. این امر زمینه‌ای را فراهم می‌کند تا *اشریشیاکلی* جهت حفظ بقا خود، سازگاری بالایی نسبت به حضور آنتی‌بیوتیک‌های مختلف

پیدا کند. این در حالی است که، در بسیاری از افرادی که سویه‌های مقاوم این باکتری فعالیت می‌کند، می‌تواند به راحتی از طریق مدفوع و آلودگی دست قابل انتقال باشد. از این رو، طیف بسیار زیادی از مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی توسط *اشریشیاکلی* ایجاد و منتقل می‌گردد و یکی از مهمترین دلایلی که برای فراوانی بالای این باکتری در زمینه انتقال مقاومت آنتی‌بیوتیکی می‌توان ذکر کرد، نقش آن در فلور نرمال انسانی است. وجود افراد ناقل و حامل از خطرناکترین مسیرهای انتقال برخی مقاومت‌های وابسته به حضور آنزیم ESBL است. بدین صورت که شخص دارای یک سویه *اشریشیاکلی* حامل آنزیم ESBL است و در صورت مبتلا شدن به یک عفونت سودوموناسی و یا عفونت‌های گرم منفی مشابه، دارو همه این باکتری‌ها را از بین نبرده و با شکل‌گیری حالت تولرانت، باکتری‌های مقاوم به دارو ایجاد می‌گردد. همچنین یکی از باکتری‌هایی که بیشترین نزدیکی را با *اشریشیاکلی* از جهت دریافت مقاومت‌های متنوع داشته است، *کلبسیلا پنومونیه* بوده است. این دو انتروباکتریاسه، از مهمترین باکتری‌های گروه خود می‌باشند که به طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتامی مقاومت پیدا کرده‌اند (۲۱و۲۲). در مطالعه حاضر، ارتباط معنی‌داری بین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و نوع نمونه بالینی بدست آمد، به طوری که در ایزوله‌های جمع‌آوری گردیده از نمونه‌های ادراری و زخم بیشتری سویه‌های مولد ESBL مشاهد شد. حضور آنزیم ESBL با توجه به نوع نمونه بالینی در باکتری‌های *اشریشیاکلی*، *سودوموناس آئروژینوزا* و *کلبسیلا پنومونیه* و ارتباط آن با نمونه زخم به ترتیب با مقادیر P=۰/۰۰۱، P=۰/۰۰۵ و P=۰/۰۰۷ بدست آمد و ارتباط آن‌ها با نمونه ادرار به ترتیب P=۰/۰۴۵، P=۰/۰۳ و p=۰/۰۲ بود. Rafiee و همکاران با مطالعه بر باکتری‌های گرم منفی مختلف، وجود ارتباط الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی با نوع نمونه بالینی را گزارش دادند (۱۱). در مطالعه‌ای که Cornut و همکاران داشتند مشخص شد که نمونه‌های جدا گردیده از زخم‌های عفونی نسبت به سایر نمونه‌های بالینی دارای الگوی مقاومت متفاوت‌تری بوده و فراوانی بالایی از نظر مقاومت دارویی داشتند (۲۳). این در حالی بود که، سویه‌های جمع‌آوری شده از عفونت‌های ایجاد شده در سطوح باز، مانند پوست، نسبت به سایر نمونه‌های حامل عفونت باکتریایی، دارای مقاومت بیشتری بود. گرچه مطالعه حاضر از محدودیت‌هایی مانند عدم دسترسی به یک جامعه گسترده و محدودیت زمانی برخوردار است و با قوت بالا نمی‌تواند ارتباط مقاومت آنتی‌بیوتیکی با نوع نمونه بالینی را مطرح کند، اما دانش ما از این بررسی مشخص کرد که وجود این احتمال نیز می‌تواند به عنوان خطری بزرگ در گسترش سویه‌های مولد ESBL در انتروباکتریاسه‌ها و غیرتخمیری های عامل عفونت بیمارستانی نقش مهمی داشته باشند.

نتیجه‌گیری

با تکیه بر نتایج بدست آمده از این مطالعه، ممکن است نمونه‌های بالینی در گسترش مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی نقش مثبتی داشته باشند و باعث ظهور برخی سویه‌ها مانند ESBL ها شوند. از طرفی، چنین می‌توان استنتاج کرد که ایزوله‌های جدا گردیده از نمونه‌های بالینی زخم و ادرار دارای بیشترین فراوانی از نظر حضور سویه‌های *اشریشیاکلی*، *سودوموناس آئروژینوزا* و *کلبسیلا پنومونیه* مولد ESBL بودند که می‌تواند به دلیل حضور برخی عوامل که مانع از نفوذ آنتی‌بیوتیک به داخل باکتری و یا ایجاد حالت تولرانس در ارگانیسم شوند، باشد. از این رو، جهت درمان بهتر و جلوگیری از مصرف بی رویه آنتی‌بیوتیکهای غیر ضروری، شناسایی سویه‌های مولد ESBL امری اجتناب ناپذیر می‌باشد.

قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از پایان‌نامه خانم مهیار پرباران دانشجو کارشناسی ارشد میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان می‌باشد که با کد ۱۷۱۳۰۵۰۷۹۶۲۰۰۱ به تصویب معاونت محترم پژوهشی دانشگاه رسیده است. لذا نویسندگان مراتب تشکر و سپاسگزاری خود از این دانشگاه را به دلیل همه حمایت‌ها، اعلام می‌دارند.

ملاحظات اخلاقی

پروتکل این مطالعه شامل ملاحظات اخلاقی نمی باشد.

منابع مالی

منابع مالی ندارد.

منافع متقابل

مؤلفان اظهار می‌دارند که منافع متقابلی از تالیف یا انتشار این مقاله ندارند.

مشارکت مؤلفان

۱. ر.ح.پ طراحی، اجرا و تحلیل نتایج مطالعه را بر عهده داشتند (۴۵ درصد نقش در مطالعه حاضر). ۲. م.پ در اجرای عملی مطالعه، جمع آوری نتایج نقش اصلی را داشتند. همچنین مقاله را تالیف نموده و نسخه نهایی آن را خوانده و تایید کرده است (۴۵ درصد نقش در مطالعه حاضر). ۳. س.ر در مشاوره علمی مطالعه همکاری داشتند (۱۰ درصد نقش در مطالعه حاضر).

References

1. Aminzadeh Z, Yadegarynia D, Fatemi A, Azad Armaki S, Aslanbeygi B. Prevalence and Antimicrobial Susceptibility Pattern of Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBL) and non-ESBL Producing Enteric Gram-Negative Bacteria and Activity of Nitrofurantoin in the era of ESBL. [*Jundishapur J Microbiol* 2013];6(7):e6699. Persian. doi: 10.58 12/jjm.6699
2. Oberoi L, Singh N, Sharma P, Aggarwal A. ESBL, MBL and Ampc β Lactamases Producing Superbugs – Havoc in the Intensive Care Units of Punjab India. Journal of clinical and diagnostic research. *JCDR* 2013;7(1):70-3. doi: 10.7860/jcdr/2012/5016.2673
3. Tavajjohi Z, Moniri R, Khoeshidi A. Frequency of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) multidrug-resistance produced by Pseudomonas aeruginosa isolated from clinical and environmental specimens in Kashan Shahid Beheshti hospital during 2010-11. [*Feyz Journal of Kashan University of Medical Sciences* 2011];15(2):139-45. Persian. doi: 10.9734/ bmrj/2015/13360
4. Knudsen JD, Andersen SE. The Bispebjerg Intervention G. A Multidisciplinary Intervention to Reduce Infections of ESBL- and AmpC-Producing, Gram-Negative Bacteria at a University Hospital. *Plos One* 2014;9(1):e86457. doi: 10.1371/journal.pone.008 6457
5. Bakthavatchalu S, Shakthivel U, Mishra T. Detection of ESBL among AmpC producing enterobacteriaceae using inhibitor-based method" *Pan Afr Med J* 2013;14(1). doi: 10.11604/pamj.2013.14.28.1347
6. Laube H, Friese A, von Salviati C, Guerra B, Rosler U. Transmission of ESBL/AmpC-producing Escherichia coli from broiler chicken farms to surrounding areas. *Vet Microbiol* 2014;172(3-4):519-27. doi: 10.1016/j.vetmic. 2014.06.008
7. Liu L, He D, Lv L, Liu W, Chen X, Zeng Z, et al. blaCTX-M-1/9/1 Hybrid Genes May Have Been Generated from blaCTX-M-15 on an IncI2 Plasmid. *Antimicrob Agents Chemother* 2015;59(8):4464-70. doi: 10.1128/aac.0050 1-15
8. Chen PA, Hung CH, Huang PC, Chen JR, Huang IF, Chen WL, et al. Characteristics of CTX-M Extended-Spectrum β-Lactamase-Producing Escherichia coli Strains Isolated from Multiple Rivers in Southern Taiwan. *Appl Environ Microbiol* 2016;82(6):1889-97. doi: 10.1128/aem.03222-15
9. Anssour L, Messai Y, Derkaoui M, Alouache S, Estepa V, Somalo S, et al. ESBL, plasmidic AmpC, and associated quinolone resistance determinants in coliforms isolated from hospital effluent: first report of qnrB2, qnrB9, qnrB19, and blaCMY-4 in Algeria. *J Chemother* 2014;26(2):74-9. doi: 10.1179/19739478 13y.0000000115
10. Tahmasebi H, Yousef Alikhani M, Dehbashi S, Arabestani MR. Investigation of the relationship between the presence of chromosomal and plasmid-encoded ampc genes and type of clinical specimen in pseudomonas aeruginosa. *Journal of Babol University of Medical Sciences* 2018;20(3):36-43.
11. Rafiee R, Eftekhar F, Tabatabaei SA, Minaee Tehrani D. Prevalence of Extended-Spectrum and Metallo beta-Lactamase Production in AmpC beta-Lactamase Producing Pseudomonas aeruginosa Isolates From Burns. *Jundishapur J Microbiol* 2014;7(9):e16436. doi: 10.5812/jjm. 16436
12. Husickova V, Cekanova L, Chroma M, Htoutou-Sedlakova M, Hricova K, Kolar M. Carriage of ESBL- and AmpC-positive Enterobacteriaceae in the gastrointestinal tract of community subjects and hospitalized patients in the Czech Republic. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2012;156(4):348-53. doi: 10.5507/bp. 2012.039
13. Tahmasebi H, Dehbashi S, Arabestani MR. High resolution melting curve analysis method for detecting of carbapenemases producing pseudomonas aeruginosa. *Journal of Krishna Institute of Medical Sciences University* 2018;7(4):70-7. doi: 10.1111/lam. 13270
14. Fothergill AW. Antifungal Susceptibility Testing: Clinical Laboratory and Standards Institute (CLSI) Methods. *Interactions of Yeasts, Moulds, and Antifungal Agents* 2012. doi: 10.1007/978-1-59745-134-5_2
15. Bokaian M, Shahraki S, Raeisi J, Mohammadzadeh Rostami F. Prevalence of OXA-2 and OXA-10 Type ESBL among Acinetobacter Strains Isolated from Patients of Zahedan (South Eastern Iran). *Med J Mashhad Univer Med Sci* 2016;59(1):26-34.
16. Farid S, Peeri Dogaheh H, Ghiami Rad M. Prevalence of SHV-1 Type Extended- Spectrum β-Lactamases in Enterobacteriaceae Isolated from Urinary Samples in Ardabil, Iran. *J Ardabil Univer Med Sci* 2015;15(3): 311-9.
17. Shayan S, Bokaeian M. Detection of ESBL- and AmpC-producing E. coli isolates from urinary tract infections. *Adv Biomed Res* 2015;4:220. doi: 10.4103/ 22 7-9175.166643
18. Kalaskar A, Venkataramana K. Determination of Antimicrobial Resistance Pattern and Production of Extended-Spectrum B-Lactamases amongst Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae from Clinical Isolates. *JMB* 2011;1(3-4):17-24.
19. Ogefere HA, Aigbiremwen P, Omoregie R. Extended-Spectrum Beta-Lactamase (ESBL)–Producing Gram-negative Isolates from Urine and Wound Specimens in a Tertiary Health Facility in Southern Nigeria.

Tropical Journal of Pharmaceutical Research 2015;14(6):1089-94. doi: 10.4314/tjpr.v14i6.22

20. Adabi J, Shahraki Zahedan S, Bokaeian M, Tahmasebi H. The phenotype of antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa isolates producing ESBL in Zahedan 2014. [*Pars of Jahrom University of Medical Sciences* 2017];15(1):7-15. doi: 10.29252/jmj.15.1.7
21. Umadevi S, Joseph NM, Kumari K, Easow JM, Kumar S, Stephen S, et al. Detection of extended spectrum beta lactamases, ampc beta lactamases and metallobetalactamases in clinical isolates of ceftazidime resistant Pseudomonas Aeruginosa. *Braz J Microbiol* 2011;42(4):1284-8. doi: 10.1590/s1517-838 2201100040000 6
22. Hammerum AM, Lester CH, Jakobsen L, Porsbo LJ. Faecal carriage of extended-spectrum beta-lactamase-producing and AmpC beta-lactamase-producing bacteria among Danish army recruits. *Clin Microbiol Infect* 2011;17(4):566-8. doi: 10.1111/j.1469-0691.20 10.03340.x
23. Cornut PL, Thuret G, Creuzot-Garcher C, Maurin M, Pechinot A, Bron A, et al. Relationship between baseline clinical data and microbiologic spectrum in 100 patients with acute postcataract endophthalmitis. *Retina* 2012;32(3):549-57. doi: 10.1097/iae.0b013e31 82205996