مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال بیست و نهم/شماره ۱۴۲/هفته دوم مرداد ماه ۱۳۹۰

مقاله پژوهشی
تاریخ دریافت: ۸۹/۸/۳۰ تاریخ پذیرش: ۹۰/۴/۶

الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سویه‌های کلبسیلا پنومونیه‌ی مولد β لاکتامازهای وسیع‌الطیف جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت‌های ادراری

شیلا جلال‌پور[1]

خلاصه

مقدمه: عفونت مجاری ادراری دومین عفونت شایع در انسان است. عمده‌ترین باکتری‌های عامل عفونت ادراری، باکتری‌های موجود در روده هستند. کلبسیلا پنومونیه از جمله پاتوژن‌های فرصت طلب و عامل عفونت بیمارستانی محسوب می‌شود. شیوع β-لاکتامازهای وسیع‌الطیف (ESBLs یا Extended-spectrum beta-lactamases) در سویه‌های کلبسیلا پنومونیه منجر به گسترش مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی و مرگ و میر در بیماران می‌گردد. این مطالعه به بررسی مقاومت به آنتی‌بیوتیک در سویه‌های کلبسیلای دارای ESBLs که از ادرار بیماران مبتلا به عفونت ادراری جدا شده بودند، پرداخت.

روش‌ها: مطالعه‌ی حاضر در سال های ۱۳۸۸ و ۱۳۸۹ در آزمایشگاه‌های بیمارستان‌های الزهرا (س)، شریعتی، کاشانی، مهدیه و آزمایشگاه رفرانس در اصفهان انجام گرفت. بر اساس فرمول حجم نمونه به طور تصادفی ۳۷۸ نمونه از عفونت‌های ادراری ارزیابی گردید. شناسایی باکتری‌ها بر اساس روش‌های میکروبیولوژیک مانند رنگ‌آمیزی، محیط‌های افتراقی و بررسی تولید ESBLs با تست‌های غربال‌گری و تست تأییدی انجام شد. برای بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی از روش Kirby Bauer استفاده شد.

یافته‌ها: از ۳۷۸ نمونه‌ی بررسی شده، فراوانی ESBLs در سویه‌های کلبسیلا پنومونیه جدا شده از بیماران بستری و سرپایی به ترتیب ۶۴ و ۲۲ درصد بود. بر اساس نتایج آنتی‌بیوگرام به ترتیب ۹۰/۵ درصد، ۶۵ درصد، ۵۷/۱ درصد، ۶۰ درصد، ۳۱/۶ درصد، صفر درصد، ۳۵ درصد، ۷۸/۶ درصد و ۱۹ درصد از سویه‌های کلبسیلا پنومونیه‌ی جدا شده از ادرار بیماران بستری در برابر آمپی‌سیلین، سفتازیدیم، سفوتاکسیم، سفپیم، آمیکاسین، ایمی‌پنم، سیپروفلوکسازین، کوتریموکسازول و نیتروفورانتوین و ۷۰/۶ درصد، ۴۱/۷ درصد، ۲۴ درصد، ۱۵ درصد، ۰ درصد، ۲۱/۴ درصد، ۲۸/۶ درصد، ۱۸/۸ درصد، ۲۵/۹ درصد و ۳۴/۶ درصد از سویه‌های کلبسیلا پنومونیه‌ی جدا شده از بیماران سرپایی در برابر آمپی‌سیلین، سفازولین، سفتازیدیم، سفوتاکسیم، آمیکاسین، جنتامایسین، نالیدیکسیک اسید، سیپروفلوکسازین، کوتریموکسازول و نیتروفورانتوین مقاوم بودند.

نتیجه‌گیری: نتایج حاکی از فراوانی بیشتر ESBLs و همچنین شیوع بیشتر مقاومت آنتی‌بیوتیکی در باکتری‌های جدا شده از بیماران بستری در مقایسه‌ی با بیماران سرپایی بود. شاید مهم‌ترین علت برای این مشکل، عدم شناسایی سویه‌های مولد ESBL در آزمایشگاه‌ها و تجویز سفالوسپورین‌ها و آزترئونام برای بیماران مبتلا باشد.

واژگان کلیدی: مقاومت آنتی‌بیوتیکی، کلبسیلا پنومونیه، بتا لاکتامازهای وسیع‌الطیف، عفونت ادراری، ایران.

مقدمه

عفونت مجاری ادراری دومین عفونت شایع در انسان است. حضور بیش از 10^5 واحد تشکیل دهنده‌ی کلنی از یک ارگانیسم در هر میلی‌لیتر از نمونه‌ی ادرار نشانه‌ی عفونت مجاری ادراری توسط باکتری‌ها (Bacteriuria) است. اغلب عفونت مجاری ادراری به وسیله‌ی باکتری‌هایی که به طور طبیعی در کولون ساکن هستند، ایجاد می‌شود. سویه‌های اشرشیاکلی، کلبسیلا پنومونیه، سودوموناس آئروجینوزا و گونه‌های پروتئوس عمده‌ترین باکتری‌های عامل عفونت مجاری ادراری محسوب می‌گردند (۱). عفونت‌های مجاری ادراری به سه گروه باکتری‌یوری بدون علامت، سیستیت

[1] مدرس میکروب‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرضا، عضو باشگاه پژوهشگران جوان و استعدادهای درخشان ایران، اصفهان، ایران.
نویسنده‌ی مسؤول: شیلا جلال‌پور
Email: shilla.jalalpoor@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

(Cystitis) و پیلونفرویت (Pyelonephritis) تقسیم می‌شوند. باکتری‌یوری بدون علامت شایع‌ترین نوع عفونت مجاری ادراری محسوب می‌گردد (۱). عفونت‌های ادراری به ویژه نوع حاد آن در زنان جوان شایع بوده، در ۳۰ تا ۴۰ درصد موارد پس از بهبودی، عود مجدد عفونت مشاهده می‌شود. سالانه در دنیا ۱۵۰ میلیون نفر مبتلا به عفونت ادراری می‌شوند. شیوع این عفونت در زنان ۱۰ برابر مردان است. در ایالات متحده سالانه بیش از ۱۰ میلیون مورد عفونت ادراری بدون علامت و حدود ۱۰ میلیون مورد عفونت ادراری علامت‌دار گزارش می‌شود (۵-۲).

آنتی‌بیوتیک‌ها از جایگاه ویژه‌ای در درمان بیماری‌های عفونی برخوردار می‌باشند. مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها در باکتری‌ها، یک پدیده‌ی جهانی است و دامنه‌ی آن بسیار وسیع و شامل تمام عوامل بیماری‌زای انسانی و تمام گروه‌های آنتی‌بیوتیکی می‌گردد (۷-۶). مقاومت در برابر داروهای ضد میکروبی در میان باکتری‌های گرم منفی از جمله سودوموناس آئروجینوزا و آنتروباکتریاسه‌های تولیدکننده‌ی ESBLها (Extended-spectrum beta-lactamases یا ESBLs) در حال انتشار و فزونی می‌باشد، علاوه بر این، امروزه شاهد انتشار مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌های خانواده‌ی β-لاکتام، در استرپتوکوکوس پنومونیه نیز می‌باشیم (۶).

برخی از ارگانیسم‌ها به طور ذاتی به تعدادی یا حتی تمامی عوامل ضدمیکروبی مقاوم هستند، اما برخی دیگر از ارگانیسم‌ها مقاومت به عوامل ضدمیکروبی را با مکانیسم‌های موتاسیون و انتقال ژن‌های مقاومت از ارگانیسم‌های مقاوم به سایر ارگانیسم‌ها اکتساب می‌نمایند. باکتری‌ها با روش‌های گوناگون در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم می‌شوند. مهم‌ترین مکانیسم مقاومت عبارت است از تولید آنزیم‌های غیر فعال کننده‌ی آنتی‌بیوتیک‌ها مانند آنتی‌بیوتیک‌های خانواده‌ی β-لاکتام. آنزیم β-لاکتاماز منجر به غیرفعال سازی آنتی‌بیوتیک‌های خانواده β-لاکتام می‌گردد (۷). پنی‌سیلیناز اولین β-لاکتامازی است که شناسایی شد.

ESBLها، β-لاکتامازهایی هستند که سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف مانند سفوتاکسیم، سفتریاکسون و سفتازیدیم را هیدرولیز می‌کنند. این آنزیم‌ها فاقد توانایی هیدرولیز سفامایسین‌ها و کاربا‌پنم‌ها می‌باشند (۹-۸). تولید β-لاکتامازها، قبل از آن که پنی‌سیلین به عنوان یک آنتی‌بیوتیک کلینیکی مصرف بالینی پیدا کند به وقوع پیوسته بود. در آن زمان فعالیت این آنزیم‌ها در سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس حایز اهمیت بود، اما به تدریج این آنزیم‌ها به سایر گونه‌های باکتریایی نیز انتقال یافتند تا آن جا که امروزه تولید ESBLها مکانیسم اصلی مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌های β-لاکتام در باکتری‌های گرم منفی محسوب می‌شود. توجه خاص به این آنزیم‌ها به دنبال شناسایی پلاسمید حامل ژن مقاومت به آمپی‌سیلین در اشرشیاکلی به وقوع پیوست (۱۱-۱۰).

اعضای خانواده‌ی انتروباکتریاسه و سودوموناس آئروژینوزا، کلبسیلا پنومونیه، اشرشیاکلی، سالمونلاهای گونه ی سراتیا مارسنس، مورگانلا و پروتئوس میرابیلیس عمده‌ترین باکتری‌های مولد ESBLها هستند (۱۳-۱۲).

ژن‌های ESBLها اغلب توسط پلاسمیدها حمل می‌شوند و پلاسمیدهای مزبور به طور عمده حامل ژن‌های مقاومت به سایر کلاس‌های دارویی از جمله آمینوگلیکوزیدها نیز می‌باشند و به همین دلیل انتخاب داروی مؤثر برای مهار چنین ارگانیسم‌هایی از

Archive of SID
www.SID.ir

محدودیت‌های فراوانی برخوردار است (۱۴). ESBLها به تمامی اکسی ایمینو β-لاکتام‌ها مقاوم می‌باشند و اکثر ESBLها توانایی هیدرولیز سفتازیدیم و آزترئونام را دارا می‌باشند و این در حالی است که در برابر سفوتاکسیم حساس باقی مانده‌اند (۱۰). اعضای خانواده‌ی انتروباکتریاسه اغلب حامل ژن‌های پلاسمیدی β-لاکتامازی مانند SHV-1، TEM2 و TEM-1 می‌باشند. وجود این آنزیم‌ها در باکتری‌ها باعث مقاومت آن‌ها در برابر پنی‌سیلین می‌شود اما بر سفالوسپورین‌های گسترده، اثر (سفالوسپورین‌های نسل سوم) تأثیری ندارند (۱۵، ۹). سویه‌های تولیدکننده‌ی ESBLها در برابر کمپلکس‌های ترکیبی β-لاکتام مهارکننده‌ی β-لاکتاماز نیز مقاومت نشان می‌دهند. همچنین برخی از آن‌ها سفامایسین‌ها را نیز هیدرولیز می‌کنند (۱۵). از جمله آنتی‌بیوتیک‌های خانواده‌ی β-لاکتام که بر انتروباکتریاسه‌های تولیدکننده‌ی ESBLها مؤثر هستند عبارت از کارباپنم‌ها، پنم‌ها و تموسیلین می‌باشد (۱۶-۱۵).

شناسایی سویه‌های مولد بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف با روش‌های گوناگونی انجام می‌گیرد. تست حساسیت میکروبی، تعیین MIC، E test، تست‌های مولکولی مانند LCR (Ligase chain reaction)، PCR (Polymerase chain reaction) و تعیین توالی ژن‌های ESBLها از جمله‌ی این روش‌ها هستند. تست‌های غرب‌ال‌گری و تست‌های تأییدی از جمله روش‌های اختصاصی پیشنهاد شده توسط مؤسسه‌ی استانداردهای بالینی و آزمایشگاهی (Clinical and laboratory standards institute یا CLSI) می‌باشند (۱۸-۱۷).

بر اساس نتایج ارائه شده در آزمایشگاه‌های میکروب شناسی در تهران، بیشترین حجم نمونه‌های ارسالی به آزمایشگاه‌های تشخیص طبی و بیشترین توزیع فراوانی عفونت در بین بیماران بستری و سرپایی در ارتباط با عفونت‌های ادراری می‌باشد. در این میان سویه‌های کلبسیلا پنومونیه (Klebsiella pneumoniae یا K. pneumoniae) از فراوانی قابل ملاحظه‌ای در عفونت‌های ادراری برخوردار می‌باشند (۱۹). در ایران آنتی‌بیوگرام براساس الگوی روتین کربی بائر انجام می‌گیرد و تست شناسایی ESBLها برای اعضای خانواده‌ی انتروباکتریاسه انجام نمی‌شود و بر اساس نتایج آنتی‌بیوگرام آنتی‌بیوتیک‌های خانواده‌ی β-لاکتام برای این بیماران تجویز می‌گردد (۷). با توجه به این نکته که تجویز این آنتی‌بیوتیک‌ها برای بیماران مبتلا به سویه‌های مولد β-لاکتامازهای وسیع‌الطیف، نه تنها منجر به درمان بیمار نمی‌گردد بلکه منجر به شکل گیری سویه‌های مقاوم، کندی درمان و حتی مرگ و میر در بیماران می‌گردد، این مطالعه با هدف بررسی و مقایسه‌ی فراوانی β-لاکتامازهای وسیع‌الطیف در سویه‌های کلبسیلا پنومونیه‌ی جداسازی شده از عفونت‌های ادراری در بیمارن بستری و سرپایی و همچنین بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی نمونه‌های مزبور در برابر آنتی‌بیوتیک‌های معمول در شهر اصفهان انجام شد.

روش‌ها

این مطالعه با روش آزمایشگاهی در سال‌های ۱۳۸۸ و ۱۳۸۹ در بیمارستان فوق تخصصی الزهرا (س)، بیمارستان شریعتی، بیمارستان کاشانی، آزمایشگاه رفرانس و آزمایشگاه مهدیه در اصفهان انجام گرفت. روش نمونه‌گیری در این پژوهش، از نوع نمونه‌گیری آسان بود و تا رسیدن به حجم نمونه‌ی مورد نظر ادامه یافت. حجم نمونه‌ی مورد نیاز این مطالعه با استفاده از

Archive of SID
www.SID.ir

فرمول برآورد حجم نمونه جهت مطالعات شیوع و با در نظر گرفتن سطح اطمینان ۹۵ درصد، میزان خطای ۱۰ درصد و میزان شیوع ESBLها که در بررسی های قبلی در دیگر مطالعات ۵ تا ۳۵ درصد (میانگین ۲۰ درصد) ذکر شده بود، به تعداد حداقل ۶۲ کلبسیلا پنومونیه محاسبه گردید.

تنها سویه‌های K. pneumoniae مورد مطالعه قرار گرفتند. عفونت‌های ادراری بیمارستانی و غیر بیمارستانی (مربوط به جامعه) بنا بر آن چه که در کتاب نظام مراقبت از عفونت های بیمارستانی وزارت بهداشت و درمان و آموزش پزشکی نوشته شده است، تعریف گردید (۲۰).

نمونه‌های مورد نیاز این تحقیق از نمونه‌های عفونت‌های ادراری بیمارستانی و غیر بیمارستانی ارسالی به آزمایشگاه، جداسازی شدند. شناسایی سویه‌های K. pneumoniae بر اساس روش‌های میکروبیولوژیک از جمله رنگ‌آمیزی گرم، انجام تست‌های بیوشیمیایی، استفاده از محیط‌های افتراقی و اختصاصی انجام گرفت (۱۹).

شناسایی ESBLها در سویه‌های K. pneumoniae، با متدهای پیشنهادی CLSI یعنی روش غربال‌گری و آزمایش تأییدی انجام شد. در آزمایش غربال‌گری حضور ESBL در باکتری، بر اساس میزان هاله‌ی عدم رشد باکتری در اطراف دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی شناسایی شد. در این تست از محیط مولر هینتون آگار (Mueller hinton agar یا MHA) ساخت شرکت Merck و برای تلقیح نمونه روی محیط از روش انتقال مستقیم کلنی باکتری استفاده شد. زمان و دمای انکوباسیون به ترتیب ۱۶ تا ۱۸ ساعت و ۲ ± ۳۵ درجه‌ی سانتی‌گراد در نظر گرفته شد (۲۱، ۸).

اگر هاله‌ی عدم رشد باکتری، اطراف دیسک‌های سفتازیدیم ۳۰ میکروگرم (ساخت شرکت Mast) کوچک‌تر از ۲۲ میلی‌متر، سفتری آکسون ۳۰ میکروگرم (ساخت شرکت Mast) کوچک‌تر از ۲۵ میلی‌متر و سفوتاکسیم ۳۰ میکروگرم (ساخت شرکت Mast) کوچک‌تر از ۲۷ میلی‌متر بود، باکتری به عنوان سویه‌ی واجد ESBL گزارش شد. در نهایت تولید ESBLها توسط تست‌های تأییدی مورد آزمایش قرار گرفت. برای انجام تست غربال‌گری از یک نوع آنتی‌بیوتیک استفاده شد. برای تست کنترل کیفی از سویه‌ی استاندارد K. pneumoniae ATCC ۷۰۰۶۰۳ استفاده گردید، به این ترتیب که هاله‌ی عدم رشد برای سفتازیدیم (ساخت شرکت Mast) ۱۰ تا ۱۸ میلی‌متر، برای سفتری آکسون (ساخت شرکت Mast) ۱۶ تا ۲۴ میلی‌متر و برای سفوتاکسیم (ساخت شرکت Mast) ۱۷ تا ۲۵ میلی‌متر بود (۲۱، ۸).

در تست‌های تأییدی (تست فنوتیپی) از دیسک‌های سفتازیدیم ۳۰ میکروگرم (ساخت شرکت Mast) و سفتازیدیم-کلاونیک اسید ۳۰/۱۰ میکروگرم (ساخت شرکت Mast) و سفوتاکسیم ۳۰ میکروگرم و سفوتاکسیم کلاونیک اسید ۳۰/۱۰ میکروگرم (ساخت شرکت Mast)، استفاده گردید. برای انجام این تست فاصله‌ی مرکز- مرکز دو دیسک محیط MHA باید حداقل ۲۵ میلی‌متر در نظر گرفته شود (۸). در صورتی که هاله‌ی عدم رشد دیسک همراه با کلاولانیک اسید، حداقل ۵ میلی‌متر بیشتر از قطر هاله‌ی عدم رشد اطراف دیسک فاقد کلاولانیک اسید بود، این امر مؤید حضور آنزیم ESBL در باکتری تلقی شد (۲۳-۲۲، ۱۶). برای تست کنترل کیفی، هم زمان از یک سویه استفاده شد، سویه‌ی K. pneumoniae ATCC ۷۰۰۶۰۳، برای سویه

Archive of SID
www.SID.ir

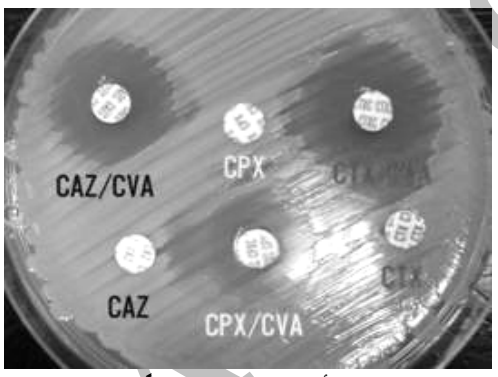
K. pneumoniae، در مورد سفتازیدیم-کلاولانیک اسید $\geq$۵ mm، در مقایسه با سفتازیدیم و برای سفوتاکسیم- کلاولانیک اسید $\geq$۳ mm، در مقایسه با سفوتاکسیم (۲۱، ۸).

بررسی الگوی مقاومتی سویه‌های K. pneumoniae جداسازی شده از نمونه‌های غیر بیمارستانی در برابر آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین، سفازولین، سفتازیدیم، سفوتاکسیم، آمیکاسین، جنتامایسین، نالیدیکسیک اسید، سیپروفلوکسازین، کوتریموکسازول، نیتروفورانتوئین (ساخت شرکت Mast) و سویه‌های K. pneumoniae جداسازی شده از نمونه‌های بیمارستانی در برابر آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین، سفتازیدیم، سفوتاکسیم، سفپیم، آمیکاسین، ایمی‌پنم، سیپروفلوکسازین، کوتریموکسازول، نیتروفورانتوئین (ساخت شرکت Mast)، با روش Kirby Bauer انجام گردید. در این روش ابتدا سوسپانسیونی از باکتری به غلظت ۰/۵ مک فارلند تهیه و با استفاده از سوآپ در سطح محیط MHA (ساخت شرکت Merck) کشت سطحی داده شد. سپس دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی روی محیط قرار داده شد و در نهایت پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه شدند (۲۱).

داده‌های مطالعه پس از جمع‌آوری وارد نرم‌افزار Whonet نسخه‌ی ۵/۴ شد و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. از آزمون χ^2 جهت بررسی ارتباط بین متغیرهای کیفی استفاده گردید.

یافته‌ها

در نهایت ۶۶ سویه‌ی K. pneumoniae بررسی شد. در گروه غیر بیمارستانی ۲۱۱ نمونه بررسی گردید که از این تعداد ۳۰ سویه‌ی K. pneumoniae جداسازی گردید. فراوانی نسبی سویه‌های K. pneumoniae در میان عوامل ایجاد کننده‌ی عفونت ادراری غیر بیمارستانی در مراکز منتخب ۱۴ درصد بود. در گروه بیمارستانی ۱۶۷ نمونه بررسی گردید که از این تعداد ۳۶ سویه‌ی K. pneumoniae جداسازی شد. فراوانی نسبی سویه‌های K. pneumoniae در میان عوامل ایجاد کننده‌ی عفونت ادراری بیمارستانی در مراکز منتخب ۱۵ درصد بود. از ۳۰ سویه‌ی K. pneumoniae جداسازی شده از گروه غیر بیمارستانی، فروانی نسبی سویه‌های K.pneomoniae تولید کننده‌ی ESBL ۲۲ درصد و از ۳۶ سویه‌ی K.pneomoniae جداسازی شده از گروه بیمارستانی، فروانی نسبی سویه‌های K. pneumoniae تولید کننده‌ی ESBL ۶۴ درصد تعیین گردید ($P < ۰/۰۰۱$) (شکل ۱).



شکل ۱. تست تأییدی فنوتیپی برای تأیید سویه‌های K.pneumoniae مولد ESBL. در این شکل مقاومت K.pneumoniae در برابر آنتی‌بیوتیک‌های CPX، CAZ، CTX و حساسیت در برابر آنتی‌بیوتیک‌های همراه با کلاولانیک اسید نشان داده شده است (Ceftazidime:CAZ، Ciprofloxacin:CPX، Cephotaxime:CTX).

جدول ۱ حساسیت سویه‌های K. pneumoniae جدا شده از عفونت‌های ادراری غیر بیمارستانی را

Archive of SID
www.SID.ir

نشان می‌دهد. در این مطالعه آمپی‌سیلین کمترین تأثیر را بر روی این گروه داشت. همچنین باکتری های این گروه نسبت به سفازولین و نیتروفورانتویین نیز مقاومت نشان دادند. آنتی‌بیوتیک‌های آمیکاسین و سیپروفلوکساسین با حساسیت به ترتیب ۱۰۰ درصد و ۷۷/۸ درصد بیشترین کارایی را داشتند. مقاومت به سفتازیدیم ۲۴ درصد گزارش گردید، در صورتی که فراوانی نسبی باکتری های تولید کننده‌ی آنزیم ESBL ۱۵ درصد تعیین شد (جدول ۱).

جدول ۲ حساسیت سویه‌های K. pneumoniae جدا شده از عفونت‌های ادراری بیمارستانی را نشان می‌دهد. در این مطالعه آمپی‌سیلین و کوتریموکسازول کمترین تأثیر را بر روی این گروه داشتند. همچنین باکتری های این گروه نسبت به سفتازیدیم و سفپیم به ترتیب نیز مقاومت نشان دادند. ایمی‌پنم با حساسیت ۱۰۰ درصد بیشترین کارایی را داشت (جدول ۲).

جدول ۱. حساسیت سویه‌های K. pneumoniae جدا شده از عفونت‌های ادراری افراد سرپایی در مراکز منتخب بر اساس روش Kirby Bauer (بر حسب درصد)

آنتی‌بیوتیک	مقاوم	حدواسط	حساس
آمپی‌سیلین	۷۰/۶	۰	۲۹/۴
سفازولین	۴۱/۷	۸/۳	۵۰
سفتازیدیم	۲۴	۰	۷۶
سفوتاکسیم	۱۵	۵	۸۰
آمیکاسین	۰	۰	۱۰۰
جنتامایسین	۲۱/۴	۷/۱	۷۱/۴
نادیکسیک اسید	۲۸/۶	۰	۷۱/۴
سیپروفلوکسازین	۱۸/۵	۳/۷	۷۷/۸
تری‌متوپریم/سولفامتازول	۲۵/۹	۰	۷۴/۱
نیتروفورانتوین	۳۴/۶	۱۱/۵	۵۳/۸

جدول ۲. حساسیت سویه‌های K. pneumoniae جدا شده از عفونت‌های ادراری افراد بستری در مراکز منتخب بر اساس روش Kirby Bauer (بر حسب درصد)

آنتی‌بیوتیک	مقاوم	حدواسط	حساس
آمپی‌سیلین	۹۰/۵	۰	۹/۵
سفتازیدیم	۶۵	۰	۳۵
سفوتاکسیم	۵۷/۱	۰	۴۲/۹
سفپیم	۶۰	۰	۴۰
آمیکاسین	۳۱/۶	۱۵/۸	۵۲/۶
ایمی‌پنم	۰	۰	۱۰۰
سیپروفلوکسازین	۳۵	۵	۶۰
تری‌متوپریم/سولفامتازول	۷۸/۶	۰	۲۱/۴
نیتروفورانتوین	۱۹	۹/۶	۷۱/۴

Archive of SID
www.SID.ir

بحث

در این مطالعه، فراوانی نسبی سویه‌های تولید کننده‌ی ESBL در سویه‌ی K. pneumoniae جدا شده از عفونت های ادراری بیمارستانی در مراکز درمانی منتخب به طور قابل ملاحظه‌ای بیشتر از فراوانی سویه‌ی K. pneumoniae جدا شده از عفونت‌های ادراری غیر بیمارستانی بود.

بر اساس نتایج حاصل از پژوهش های قبلی در ایران به ترتیب ۷۶/۷۴ درصد از گونه‌های کلبسیلای جداسازی شده از بخش های مراقبت ویژه مولد ESBL بوده‌اند (۲۴).

بر اساس مطالعات انجام شده مشخص گردید ۳۰/۸ درصد باکتری‌های عامل عفونت‌های بیمارستانی و ۴۳/۵ درصد از باکتری‌های مولد عفونت دربخش‌های مراقبت ویژه، مولد ESBL بوده اند (۲۲-۲۱، ۱۲).

در سال‌های ۲۰۰۳ و ۲۰۰۵ بر اساس گزارش منتشره از SENTRY antimicrobial surveillance شیوع ESBL در گونه‌های کلبسیلا ۱۹ درصد گزارش شد (۲۳، ۱۲). بیشترین شیوع ESBL در سویه‌های K. pneumoniae جداسازی شده از آمریکای لاتین با شیوع ۴۵ درصد و کمترین میزان با شیوع ۵ درصد در کانادا گزارش شده است (۲۵، ۱۲). در یک بررسی که در سال‌های ۱۹۹۳ تا ۱۹۹۸ در بیماستان‌های سئول انجام گرفت مشخص شد که ۵۲/۹ درصد از K. pneumoniae جداسازی شده از کشت‌های خون در کودکان مولد ESBL بودند (۱۷). در یک بررسی در سال ۲۰۰۳ روی سویه‌های E.coli و K.pneumoniae جداسازی شده از نمونه‌های ادراری بیماران بستری در بخش های مراقبت‌های ویژه‌ی بیمارستان، مشخص گردید ۲۵/۶ درصد سویه‌ها مولد ESBLs بوده‌اند (۱۲).

شیوع ESBLs در هندوستان از ۶ تا ۸۷ درصد گزارش شده است (۲۸-۲۶، ۸). در کشورهای اروپایی نیز شاهد تنوع شیوع آین آنزیم‌ها می‌باشیم؛ به طوری که در برخی از بیمارستان های کشور فرانسه شیوع این آنزیم ها بیش از ۴۰ درصد گزارش شده است (۱۸، ۱۵). در سال‌های اخیر شیوع ESBL در آمریکا، کانادا، چین و ایتالیا افزایش چشم‌گیری داشته است (۳۱-۲۹). در یکی از مطالعات اخیر شیوع این آنزیم‌ها در آلمان ۱/۵ درصد و در روسیه، ترکیه و یونان در دامنه‌ی ۳۹ تا ۴۷ درصد گزارش شده است (۳۲).

شیوع واقعی ESBLهادر کشورهای مختلف و حتی در مناطق مختلف یک کشور تفاوت‌های قابل ملاحظه‌ای با یکدیگر دارد. یکی از عوامل مؤثر در این امر، اتخاذ روش‌های متفاوت در شناسایی این آنزیم‌ها می‌باشد. پیشنهاد شده است برای به حداقل رساندن این تفاوت‌ها از دستورالعمل‌های SENTRY antimicrobial surveillance و NCCLS برای شناسایی ESBLها استفاده شود.

نتایج به دست آمده، در این پژوهش و سایر مطالعات انجام گرفته در این راستا، حاکی از فراوانی بیشتر ESBL در سویه‌های K. pneumoniae جداسازی شده از نمونه های بیمارستانی در مقایسه‌ی با نمونه‌های غیر بیمارستانی می‌باشد که این امر از یک سو بیانگر ریسک بیشتر بیماران بستری برای اکتساب سویه‌های مولد ESBL و از دیگر سو بیانگر شیوع سویه‌های مولد ESBL در محیط بیمارستان می باشد که این مسأله می‌تواند نشان‌گر عدم رعایت موازین بهداشت فردی پرسنل و بهداشت عمومی در بیمارستان‌ها باشد.

مؤثرترین آنتی‌بیوتیک در سویه‌های K. pneumoniae گروه غیر بیمارستانی آمیکاسین و سیپروفلوکساسین و کم اثرترین آمپی‌سیلین و سفازولین

Archive of SID
www.SID.ir

بوده است در حالی که در گروه بیمارستانی ایمی‌پنم و نیتروفورانتویین مؤثرترین و آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین و کوتری‌موکسازول کم اثرترین بودند. در تحقیق حاضر مقاومت سویه‌های K. pneumoniae جدا شده از عفونت‌های غیر بیمارستانی به سفالوسپورین‌های نسل سوم بیشتر از میزان فراوانی نسبی سویه‌های تولید کننده‌ی ESBL می‌باشد. دلیل این امر به دو عامل مهم بر می‌گردد اول این که ژن‌های دیگری به غیر از ژن‌های تولید کننده‌ی آنزیم‌های ESBL ممکن است این مقاومت را کد کرده باشند و دوم این که حساسیت تست‌های تأییدی به روش انتشار از دیسک از حساسیت بالایی برای جداسازی و تشخیص تمام باکتری‌های تولید کننده‌ی آنزیم β-لاکتاماز برخوردار نمی‌باشد.

بر اساس مطالعات مشابه انجام شده در جهان و ایران، اکثر گونه‌های پاتوژن عامل عفونت‌های بیمارستانی حداقل در برابر یک خانواده‌ی آنتی‌بیوتیکی مقاوم شده‌اند و به طور عمده واجد توانایی تولید آنزیم β-لاکتاماز بوده‌اند. از جمله‌ی این موارد می‌توان به انتشار و گسترش عفونت‌های بیمارستانی با منشأ اعضای خانواده‌ی انتروباکتریاسه با مقاومت چند گانه اشاره نمود. در بسیاری از کشورهای جهان بیش از ۱۰ درصد باکتری‌های عامل عفونت‌های بیمارستانی در برابر سفالوسپورین‌های نسل سوم مقاومت نشان می‌دهند. در این میان بخش‌های مراقبت ویژه از اهمیت بیشتری برخوردار می‌باشند و حدود ۳۰ درصد از باکتری های عامل عفونت های بیمارستانی مقاوم در برابر سفالوسپورین های نسل سوم از بخش های مراقبت ویژه جداسازی می‌شوند و ۶۷ درصد از باکتری‌های جداسازی شده از عفونت‌های بیمارستانی واجد توانایی تولید آنزیم β-لاکتاماز می‌باشند (۳۳، ۱۹).

در مطالعه ی مشابهی که در کشور ایران انجام گردید فراوانی نسبی باکتری‌های K. pneumoniae تولید کننده‌ی ESBL که از نمونه‌های کلینیکی بیماران بستری در بیمارستان جدا شده بودند ۷۷/۷ درصد گزارش شد. در این مطالعه حساسیت گونه‌های کلبسیلا به ایمی پنم ۱۰۰ درصد و اوفلوکساسین ۷۵ درصد گزارش گردید (۳۴).

شیوع مقاومت در برابر سفالوسپورین‌های نسل سوم در سویه‌های K. pneumoniae جداسازی شده از بیماران بستری در ICUها بیمارستان‌های آمریکا ۱۴ درصد بوده است (۱۴، ۱۲). بر اساس نتایج حاصل یک بررسی که در سال‌های ۹۸-۱۹۹۷ در ۲ بیمارستان در پنسیلوانیا انجام گرفت، ۵۵/۸ درصد از عفونت‌های ناشی سویه‌های K. pneumoniae و E. coli مولد ESBLs در برابر فلوروکینولون‌ها مقاوم بوده‌اند. با توجه به موارد مزبور همچنین نظر به جایگاه آنتی‌بیوتیک‌های فلوروکینون به خصوص در بخش های مراقبت ویژه، اهمیت چگونگی تجویز آنتی‌بیوتیک‌های مزبور بیشتر مشخص می‌گردد (۳۶-۳۵). در مطالعه‌ای که در کشور هند توسط Tsering و همکاران در سال ۲۰۰۷ تا ۲۰۰۸ انجام شد فراوانی نسبی گونه‌های کلبسیلاهای جدا شده از عفونت های ادراری بیمارستانی۵۷ درصد گزارش گردید. در این مطالعه مقاومت به آنتی بیوتیک های کوتریموکسازول ۷۵ درصد، سیپرو فلوکساسین ۵۲ درصد و جنتامایسین ۴۵ درصد بود (۳۷).

بر اساس مطالعات انجام شده، مقاومت در برابر فلوروکینون‌ها، ارتباط محسوسی با تولید ESBLs در باکتری‌ها دارد. البته این ارتباط به شکل ضعیف‌تری در مورد آمینوگلیکوزیدها و سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف و تریمتوپریم- سولفامتوکسازول نیز

www.SID.ir
Archive of SID

مشاهده شده است (۳۸، ۲۱، ۱۲).

نتایج این مطالعه حاکی از این واقعیت است که باکتری‌های مولد ESBL علاوه بر این که به خانواده‌ی بتالاکتام‌ها به جز کاربا‌پنم‌ها و سفامایسین مقاوم می‌باشند، مقاومت متقاطعی به آنتی‌بیوتیک‌های فلوروکینولون، آمینوگلیکوزیدها و کوتریموکسازول نیز پیدا کرده‌اند که این امر مشکلات عمده‌ای را در درمان بیماران مبتلا به این پاتوژن‌ها ایجاد کرده است. تشخیص، جداسازی و تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی این باکتری‌ها به پزشکان کمک قابل توجهی در درمان بیماران خواهد کرد. همچنین آگاهی از شیوع سویه‌های مولد ESBLs در اجتماع و بیمارستان‌ها و آنتی‌بیوتیک‌های تأثیرگذار در آن‌ها می‌تواند در انتخاب عوامل ضد میکروبی مناسب به صورت تجربی نیز به جامعه‌ی پزشکی کمک نماید.

تشکر و قدردانی

این مقاله بر اساس نتایج طرح شماره‌ی ۱۸۷۱۴۹ بوده است. به این وسیله از مدیریت بیمارستان فوق تخصصی الزهرا (س)، مدیریت بیمارستان شریعتی، مدیریت بیمارستان کاشانی، مدیریت آزمایشگاه رفرانس، مدیریت آزمایشگاه مهدیه، آقای دکتر مؤیدنیا، آقای دکتر الماسی، آقای حسن قجاوند، خانم ژینا وزیرزاده، خانم مریم خیرخواه، آقای سجادی و تمام عزیزانی که یارای ما در انجام این پژوهش بودند، تشکر و قدردانی می‌نمایم.

References

1. Bergus G. Urinary tract infections in pregnancy. In: Yankowitz J, Niebyl JR, editors. Drug Therapy in Pregnancy. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2001. p. 63-72.
2. Stanton SL, Dwyer PL. Urinary tract infection in the female. London: Martin Dunitz; 2000. p. 304.
3. Kunin CM. Urinary tract infections: detection, prevention, and management. Philadelphia: Williams & Wilkins; 1997. p. 2.
4. Habash MB, Van der Mei HC, Busscher HJ, Reid G. The effect of water, ascorbic acid, and cranberry derived supplementation on human urine and uropathogen adhesion to silicone rubber. Can J Microbiol 1999; 45(8): 691-4.
5. Perinatal group B streptococcal disease after universal screening recommendations--United States, 2003-2005. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2007; 56(28): 701-5.
6. Kaye KS, Kaye D. Multidrug-resistant pathogens: Mechanisms of resistance and epidemiology. Current Infectious Disease Reports 2005; 2(5): 391-8.
7. Jalal Pour SH, Kasra Kermanshahi R, Nouhi AS, Zarkesh Isfahani H. Comparing the Frequency of â-lactamase Enzyme in Isolated Nosocomial Infectious Bacteria. Zahedan Journal of Research in Medical Sciences 2010; 12(4): 3-10.
8. Agrawal P, Ghosh AN, Kumar S, Basu B, Kapila K. Prevalence of extended-spectrum beta-lactamases among Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae isolates in a tertiary care hospital. Indian J Pathol Microbiol 2008; 51(1): 139-42.
9. Hopley L, Schalkwyk JV. Mechanisms of resistance to antimicrobials. Date of Last [Online]. 2005 [cited 2006 Nov 24]; Available from: URL: http://anaesthetist.com/icu/infect/Findex.htm#resist.htm/
10. Larson LL, Ramphal R. Extended-spectrum beta-lactamases. Semin Respir Infect 2002; 17(3): 189-94.
11. Hanson ND, Thomson KS, Moland ES, Sanders CC, Berthold G, Penn RG. Molecular characterization of a multiply resistant Klebsiella pneumoniae encoding ESBLs and a plasmid-mediated AmpC. J Antimicrob Chemother 1999; 44(3): 377-80.
12. Mendelson G, Hait V, Ben Israel J, Gronich D, Granot E, Raz R. Prevalence and risk factors of extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae in an Israeli long-term care facility. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2005; 24(1): 17-22.
13. Bush K. Is it important to identify extended-spectrum beta-lactamase-producing isolates? Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1996; 15(5): 361-4.
14. Bradford PA. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization,

Archive of SID

www.SID.ir

epidemiology, and detection of this important resistance threat. Clin Microbiol Rev 2001; 14(4): 933-51, table.
15. Thomson KS, Sanders CC. Detection of extended-spectrum beta-lactamases in members of the family Enterobacteriaceae: comparison of the double-disk and three-dimensional tests. Antimicrob Agents Chemother 1992; 36(9): 1877-82.
16. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. Clin Microbiol Rev 2005; 18(4): 657-86.
17. Kim YK, Pai H, Lee HJ, Park SE, Choi EH, Kim J, et al. Bloodstream infections by extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae in children: epidemiology and clinical outcome. Antimicrob Agents Chemother 2002; 46(5): 1481-91.
18. Lytsy B, Sandegren L, Tano E, Torell E, Andersson DI, Melhus A. The first major extended-spectrum beta-lactamase outbreak in Scandinavia was caused by clonal spread of a multiresistant Klebsiella pneumoniae producing CTX-M-15. APMIS 2008; 116(4): 302-8.
19. Jalal Pour SH, Kasra Kermanshahi R, Noohi A, Zarkesh H. Study of -lactamase and S-layer Production in some of Isolated Pathogen Bacteria From Clinical and Environmental Hospital Samples, [MSc Thesis] Tehran: Tehran Science and Research Branch Islamic Azad University 2007.
20. National Nosocomial Infection Serviles System (NNIS). Tehran: Ministry of Health; 2009.
21. Wikler MA, Cockerill FR, Craig WA, Dudley MN, Eliopoulos GM, Hecht DW. Performance standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Clinical and Laboratory Standards Institute 2009; 29(3): 32-44.
22. Paterson DL, Ko WC, Von Gottberg A, Mohapatra S, Casellas JM, Goossens H, et al. International prospective study of Klebsiella pneumoniae bacteremia: implications of extended-spectrum beta-lactamase production in nosocomial Infections. Ann Intern Med 2004; 140(1): 26-32.
23. Gordon KA, Jones RN. Susceptibility patterns of orally administered antimicrobials among urinary tract infection pathogens from hospitalized patients in North America: comparison report to Europe and Latin America. Results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2000). Diagn Microbiol Infect Dis 2003; 45(4): 295-301.
24. Mirsalehian A, Nakhjavani F. Prevalence of ESBLs Producing Enterobacteria in Intensive Care Ynits. Proceedings of the 8th Iranian National Congress of Microbiology; 2006 May 23–25; Isfahan, Iran; 2006. p. 15.
25. Winokur PL, Canton R, Casellas JM, Legakis N. Variations in the prevalence of strains expressing an extended-spectrum beta-lactamase phenotype and characterization of isolates from Europe, the Americas, and the Western Pacific region. Clin Infect Dis 2001; 32 (Suppl 2): S94-103.
26. Jain A, Roy I, Gupta MK, Kumar M, Agarwal SK. Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase-producing Gram-negative bacteria in septicemia neonates in a tertiary care hospital. J Med Microbiol 2003; 52(Pt 5): 421-5.
27. Tankhiwale SS, Jalgaonkar SV, Ahamad S, Hassani U. Evaluation of extended spectrum beta lactamase in urinary isolates. Indian J Med Res 2004; 120(6): 553-6.
28. Manchanda V, Singh NP, Goyal R, Kumar A, Thukral SS. Phenotypic characteristics of clinical isolates of Klebsiella pneumoniae & evaluation of available phenotypic techniques for detection of extended spectrum beta-lactamases. Indian J Med Res 2005; 122(4): 330-7.
29. Luzzaro F, Mezzatesta M, Mugnaioli C, Perilli M, Stefani S, Amicosante G, et al. Trends in production of extended-spectrum beta-lactamases among enterobacteria of medical interest: report of the second Italian nationwide survey. J Clin Microbiol 2006; 44(5): 1659-64.
30. Xiong Z, Zhu D, Zhang Y, Wang F. [Extended-spectrum beta-lactamase in Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli isolates]. Zhonghua Yi Xue Za Zhi 2002; 82(21): 1476-9.
31. Cordero L, Rau R, Taylor D, Ayers LW. Enteric gram-negative bacilli bloodstream infections: 17 years' experience in a neonatal intensive care unit. Am J Infect Control 2004; 32(4): 189-95.
32. Goossens H. MYSTIC program: summary of European data from 1997 to 2000. Diagn Microbiol Infect Dis 2001; 41(4): 183-9.
33. Endimiani A, Paterson DL. Optimizing therapy for infections caused by enterobacteriaceae producing extended-spectrum beta-lactamases. Semin Respir Crit Care Med 2007; 28(6): 646-55.
34. Mehrgan H, Rahbar M, Arab-Halvaii Z. High prevalence of extended-spectrum beta-lactamase-producing Klebsiella pneumoniae in a tertiary care hospital in Tehran, Iran. J Infect Dev Ctries 2010; 4(3): 132-8.
35. Lautenbach E, Strom BL, Bilker WB, Patel JB, Edelstein PH, Fishman NO. Epidemiological investigation of fluoroquinolone resistance in infections due to extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae. Clin Infect Dis 2001;

Archive of SID

www.SID.ir

33(8): 1288-94.
36. Richard P, Delangle MH, Raffi F, Espaze E, Richet H. Impact of fluoroquinolone administration on the emergence of fluoroquinolone-resistant gram-negative bacilli from gastrointestinal flora. Clin Infect Dis 2001; 32(1): 162-6.
37. Tsering DC, Das S, Adhiakari L, Pal R, Singh TS. Extended Spectrum Beta-lactamase Detection in Gram-negative Bacilli of Nosocomial Origin. J Glob Infect Dis 2009; 1(2): 87-92.
38. Safdar N, Maki DG. The commonality of risk factors for nosocomial colonization and infection with antimicrobial-resistant Staphylococcus aureus, enterococcus, gram-negative bacilli, Clostridium difficile, and Candida. Ann Intern Med 2002; 136(11): 834-44.

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Isfahan Medical School Original Article

Vol 29, No 142, 2nd week, August 2011 Received: 21.11.2010 Accepted: 27.6.2011

Antibiotic Resistant Pattern in ESBLs Producer Klebsiella Pneumoniae Strains Isolated of Hospitalized and Out Patients Acquired Urinary Tract Infection

Shilla Jalalpoor[1]

Abstract

Background: Urinary tract infection (UTI) is the second most common infection in human. *Klebsiella pneumoniae* is an opportunistic pathogen bacteria, that accounts for nosocomial infections. Prevalence of extended-spectrum beta lactamase (ESBLs) in *K. pneumoniae* strains led to the spread of antibiotic resistance and mortality in patients. This study was done to evaluate the resistance to antibiotics in *K. pneumoniae* isolated from urinary tract infections.

Methods: This study was performed in Alzahra, Shariaty, Kashany, Mahdieh hospitals and References laboratories during 2009-2010 in Isfahan. According to statistical formula, 378 urine samples of patients with UTI were evaluated. Bacterial identification was performed with microbiological methods, including gram staining, differential environment and ESBLs production with screening and confirmatory tests. Antibiotics resistant pattern was performed with Kirby Bauer method.

Findings: From 378 sample, frequency of ESBLs in *K. pneumoniae* strains isolated in hospitalized and out patients was 64% and 22% respectively. According to antibiogram results 90.5%, 65%, 57.1%, 60%, 31.6%, 0%, 35%, 78.6% and 19% of *K.pneumoniae* strains isolated in hospitalized patients were resistant to Ampicillin, Ceftazidime, Cefotaxime, Cefepime, Amikacin, Imipenem, Ciprofloxacin, Trimethoprim/ Sulfamethoxazole and Nitrofurantoin respectively and 70.6%, 41.7%, 24%, 15%, 0%, 21.4%, 28.6%, 18.5%, 25.9% and 34.6% of *K. pneumoniae* strains isolated in out patients were resistant to Ampicillin, Cefazolin, Ceftazidime, Cefotaxime, Amikacin, Gentamicin, Nalidixic acid, Ciprofloxacin, Trimethoprim/ Sulfamethoxazole and Nitrofurantoin.

Conclusion: The results showed that frequency of ESBLs and antibiotic resistant in isolated bacteria from hospitalized patients was more prevalence than isolated bacteria from out patients. Perhaps the most important reason for this problem is unidentifying of ESBLs producer strains in laboratories and cephalosporins and Aztreonam prescription in UTI patients.

Keywords: Antibiotic resistant, *Klebsiella pneumonia*, Extended-spectrum beta lactamase, Urinary tract infection, Iran.

Archive of SID

[1] Lecturer of Microbiology, Islamic Azad University, Shahreza Branch, Membership of Young Researchers Club, Isfahan, Iran.
Corresponding Author: Shilla Jalalpoor, Email: shilla.jalalpoor@yahoo.com

www.SID.ir