ORIGINAL ARTICLE

Epidemiology of Extended Spectrum Beta Lactamases Producing E. coli Genes in Strains Isolated from Children with Urinary Tract Infection in North of Iran

Gohar Eslami[1],
Mohammad Sadegh Rezai[2],
Ebrahim Salehifar[3],
Alireza Rafiei[4],
Taimour langaee [5],
Mohammad Reza Rafati[6],
Kheironesa Shafahi[7]

[1] Associate Professor, Cardiovascular Research Center, Department of Clinical Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[2] Associate Professor, Infection Diseases Research Center with Focus on Nosocomial Infection, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[3] Professor, Department of Clinical Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[4] Professor, Department of Immunology, Molecular and Cell Biology Research Center, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[5] Assistant Professor, Department of Pharmacotherapy and Translational Research, Center for Pharmacogenomics, College of Pharmacy, University of Florida, USA
[6] Assistant Professor, Department of Clinical Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[7] MSc in Microbiology, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received October 18, 2014 Accepted October 14, 2015)

Archive of SID

Abstract

Background and purpose: Extended Spectrum Beta Lactamases (ESBLs) are one of the most important health care issues all over the world. Uropathogenesis are responsible for life threatening infections in children. In this study we aimed at investigating the epidemiology of CTX, TEM and VEB genes in pediatric UTI.

Materials and methods: Urine samples were collected during six months in Sari Bou Alisina Hospital. The samples were inoculated onto 5% blood agar and MacConkey's agar and the *E. coli* isolates were identified by standard methods. Minimum inhibitory concentration (MIC) of fourteen routine antibiotics was determined by agar dilution method. Resistance to Cefotaxime and ceftazidime was considered as ESBL producing bacteria. These isolates were then tested by Polymerase Chain Reaction (PCR) for the presence or absence of *CTX*, *TEM* and *VEB* beta-lactamase genes.

Results: Of 327 *E. coli* uropathogen, 100 (30.5%) were identified as ESBL producer. The ESBL-producing *E. coli* isolates were susceptible to carbapenems (66%) and amikacin (58%). The most prevalent ESBL genes were TEM (49%) following CTX (28%) and VEB (8%). TEM negative ESBL, were significantly more resistant to cefotaxime, ceftriaxone and amikacin ($P< 0.05$). VEB-producing strains were significantly more resistant to ceftazidime ($P< 0.05$). ESBLs were associated with resistance to cefixime, colistin and cefepime.

Conclusion: Regarding the high level of resistance to broad-spectrum antibiotics, more rational prescribing, empiric therapy assessment and TDM of broad-spectrum antibiotics are recommended.

Keywords: *E. coli*, ESBL, children, *TEM*, carbapenem

J Mazandaran Univ Med Sci 2015; 25(132): 270-279(Persian).

www.SID.ir

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و پنجم شماره ۱۳۲ دی سال ۱۳۹۴ (۲۷۹-۲۷۰)

اپیدمیولوژی ژن های اشریشیاکلی مولد بتالاکتاماز وسیع الطیف در عفونت های ادراری کودکان در شمال ایران

گوهر اسلامی[۱]
محمدصادق رضایی[۲]
ابراهیم صالحی فر[۳]
علیرضا رفیعی[۴]
تیمور لنگایی[۵]
محمدرضا رافتی[۶]
خیرالنسا شفاهی[۷]

چکیده

سابقه و هدف: مقاومت به باکتری‌های Extended Spectrum Beta Lactamases (ESBLs) به عنوان یکی از اصلی‌ترین مشکلات درمانی مطرح می‌باشد. با توجه به اهمیت یوروپاتوژن ها در بروز عفونت‌های تهدید کنده حیات در اطفال، هدف از انجام این مطالعه بررسی اپیدمیولوژی ژن های مقاومت CTX, TEM و VEB در عفونت ادراری اطفال می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی نمونه‌های ادراری کودکان مراجعه کننده به بیمارستان بوعلی سینا ساری در طول ۶ ماه جمع‌آوری شد. بعد از تشخیص باکتری اشریشیاکلی براساس تست‌های استاندار، تست حداقل غلظت مهاری (MIC) برای چهارده آنتی‌بیوتیک معمول با استفاده از روش رقیق‌سازی میکرو در آگار انجام شد. در صورت مقاومت به دو آنتی بیوتیک سفوتاکسیم و سفتازیدیم، باکتری مولد ESBL در نظر گرفته شد. سپس استخراج DNA و PCR بر روی باکتری‌های ESBL انجام شد و بیان سه ژن CTX, TEM و VEB مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: از مجموع ۳۲۷ پاتوژن اشریشیاکلی، ۱۰۰ (۳۰/۵ درصد) مورد از آن‌ها مولد ESBL شناخته شدند. بالاترین حساسیت آنتی‌بیوتیکی نسبت به کارباپنم ها (۶۶ درصد) و آمیکاسین (۵۸ درصد) وجود داشت. TEM (۴۹ درصد) شایع‌ترین ژن مولد ESBL شناخته شد و شیوع CTX و VEB به ترتیب ۲۸ و ۸ درصد بود. در ESBL های فاقدTEM، مقاومت نسبت به سفوتاکسیم، آمیکاسین و سفتریاکسون به صورت معنی‌داری بیش‌تر به دست آمد ($p<0/05$). در سوش‌های مولد VEB مقاومت به سفتازیدیم به صورت معنی‌داری بیش‌تر بود ($p<0/05$). در مجموع حضور ژن‌های مولد ESBL همراه با مقاومت بالا به سفیکسیم، کلستین و سفپیم بود.

استنتاج: با توجه به میزان بالای مقاومت به کارباپنم‌ها و آنتی بیوتیک های وسیع الطیف، تجویز منطقی‌تر، ارزیابی درمان‌های تجربی و مانیتورینگ سطح خونی آنتی بیوتیک‌های وسیع الطیف در مراکز آموزشی- درمانی توصیه می گردد.

واژه های کلیدی: اشریشیاکلی، مولد بتالاکتاماز وسیع الطیف، اطفال، ژن TEM، کاربابنم

مقدمه

باسیل‌های گرم منفی مقاوم به آنتی‌بیوتیک یکی از عوامل اصلی عفونت‌های تهدیدکننده حیات در سراسر جهان می‌باشند(۱). باکتری‌های Extended Spectrum Beta Lactamases (ESBLs) به

مولف مسئول: ابراهیم صالحی فر- ساری: کیلومتر ۱۸ جاده فرح آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده داروسازی E-mail: Salehifare@yahoo.com
۱. دانشیار، مرکز تحقیقات قلب و عروق، گروه داروسازی بالینی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۲. دانشیار، مرکزتحقیقات عفونی با گرایش عفونت های بیمارستانی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۳. استاد، گروه داروسازی بالینی، دانشکده دروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۴. استاد، گروه ایمونولوژی، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۵. استادیار، گروه فارماکوتراپی، دانشگاه فلوریدا، امریکا
۶. دانشیار، گروه داروسازی بالینی، دانشکده دروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۷. کارشناسی ارشد میکربیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۶/۷/۲۶ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۳/۹/۱۰ تاریخ تصویب : ۱۳۹۴/۷/۲۲

Archive of SID
www.SID.ir

عنوان مهم‌ترین باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها هستند(۲،۳). براساس معیارهای CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) در صورت مقاومت به بیش از یکی از آنتی‌بیوتیک‌های سفتازیدیم، آزترونام، سفوتاکسیم و سفتریاکسون پاتوژن به عنوان ESBL در نظر گرفته می‌شود(۴،۵). اشریشیاکلی یکی از پاتوژن‌های فرصت طلب بیمارستانی به ویژه در اطفال می‌باشد، که به علت دارا بودن پلاسمیدهای کدکننده بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف، به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام مقاوم می‌باشد. به همین دلیل، درمان عفونت‌های ناشی از اشریشیاکلی با مشکل مواجه شده است. مقاومت ضد میکروبی در اشریشیاکلی در سرتاسر جهان گزارش شده است و سرعت افزایش مقاومت در این باکتری، نگرانی‌های زیادی در کشورهای در حال توسعه و توسعه یافته ایجاد کرده است(۳). تاکنون در مناطق مختلف دنیا بیش از ۲۰۰ نوع ESBL شناسایی شد. اولین ژن‌های مولد، TEM و SHV بوده‌اند که از کلبسیلا نومونیه در اروپا غربی جدا شدند(۷). ژن VEB نیز اولین بار از باکتری اشریشیاکلی در کشور ویتنام جدا شد. در سال‌های اخیر ژن CTX که مولد آنزیم سفوتاکسیماز می‌باشد، رو به افزایش بوده است(۹،۸). این آنزیم عامل ایجاد مقاومت سفالوسپورین‌های نسل سوم به‌ویژه سفتازیدیم می‌باشد(۳،۱۰،۱۱). براساس رابطه‌ای که بین ژنوتیپ باکتری‌های مولد ESBL با مقاومت آنتی‌بیوتیکی گزارش شده است،حضور ژن CTX منجر به مقاومت به فلوروکینولون‌ها، آمینوگلیکوزیدها و کوتریماکسازل می‌گردد(۱۱). هم‌چنین آنتی‌بیوتیک‌ها و به‌ویژه آنتی‌بیوتیک‌های وسیع‌الطیف، مهم‌ترین عامل ایجاد مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های وسیع‌الطیف و شیوع بالای ESBL گزارش شده است(۱۲-۴). عامل ۳۵درصد عفونت‌های ادراری در کودکان در ایران، باکتری‌های اشریشیاکلی مولد بتا لاکتاماز وسیع الطیف گزارش‌شده است، که باتوجه به رو به رشد بودن آن و محدودیت‌های عوامل درمانی حایز اهمیت می‌باشد. با توجه به شیوع بالا و روز افزون باکتری‌های مولد ESBL در کشور و هم‌چنین با توجه به اهمیت یوروپاتوژن‌ها در بروز عفونت‌های تهدیدکننده حیات در اطفال، هدف از انجام این مطالعه بررسی رابطه بین بروز ژن‌های CTX، TEM و VEB با مقاومت آنتی بیوتیکی می‌باشد.

مواد و روش ها

نمونه گیری و جداسازی باکتری ها

در این مطالعه تجربی نمونه‌های ادرار در طول ۶ ماه (از دی ماه ۹۱ تا خرداد ماه ۹۲) در بیمارستان بوعلی سینا ساری (مرکز آموزشی- درمانی شمال ایران) جمع‌آوری شد. نمونه‌گیری از وسط ادرار به‌صورت استریل، سوپراپیک مثانه و یا کاتتر مثانه به دست آمد(۱۵). نمونه‌ها در محیط کشت آگار خون‌دار ۵ درصد و مک کانکی کشت داده شدند. سپس جداسازی اشریشیاکلی با استفاده از روش‌های استاندارد انجام شد.

تست حساسیت آنتی بیوتیکی

حساسیت آنتی‌بیوتیک‌ها با استفاده از تست دیسک دیفیوژن کربی بائر در مولر هینتون آگار انجام شد و با توجه به گایدلاین CLSI 2011 نتایج مورد بررسی قرار گرفت(۱۷).

تشخیص باکتری‌های مولد ESBL توسط روش رقیق‌سازی میکرو ترقیقی (Microdilution)

ایزوله‌های مقاوم به سفوتاکسیم و سفتریاکسون به عنوان نمونه‌های مولد ESBL جهت انجام تست MIC (Inhibitory Concentration Minimum) با رقت‌های متوالی ارسال شدند. تست MIC برای چهارده آنتی‌بیوتیک از جمله سفتازیدیم، سفتریاکسون، سفوتاکسیم، سفتی زوکسیم، سفپیم، سفیکسیم، جنتامایسین، آمیکاسین، مروپنم، ایمی پنم، سیپروفلوکساسین، کوتریموکسازول، کلستین و پیپراسیلین- تازوباکتام با استفاده از روش رقیق سازی میکرو در آگار تعیین

Archive of SID

www.SID.ir

شد(۲). جهت تعیین MIC محیط آگار مولر هینتون با دو برابر غلظت آنتی بیوتیک مورد نظر (از ۰/۵ µg/ml تا ۲۵۶ µg/ml و ۱۰ µl از سوسپانسیون میکروبی) مورد استفاده قرار گرفت. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، رشد میکروبی مشاهده و ثبت شد. سپس براساس گایدلاین CLSI 2011 گزارش و به سه دسته مقاوم، حد واسط و حساس تقسیم شدند. در صورت مقاومت به دو آنتی‌بیوتیک سفوتاکسیم و سفتازیدیم، باکتری، مولد ESBL در نظر گرفته شد(۱۸).

جداسازی DNA و Genotyping

جهت استخراج DNA باکتری، ابتدا تک کلونی از محیط کشت به همراه ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر به میکروتیوپ منتقل شد. سپس استخراج با استفاده از کیت استخراج DNA (RTA، آنکارا، ترکیه) انجام شد. تشخیص ژن‌های باکتری با استفاده از توالی پرایمرهای PCR بررسی شد. جدول شماره ۱ توالی پرایمر و ویژگی حرارتی برای ژن‌های *TEM*، *VEB* و *CTX* را نشان می‌دهد. محصول PCR با استفاده از ۵ میکرولیتر DNA الگو و ۱۲/۵ میکرولیتر mix master : ۱ × بافر PCR [tris-cl، محلول KCl، $(NH_4)_2SO_4$، 1.5 میلی $MgCl_2$] {pH8.7، 200 میکرومولار dNTP و ۱ میکرولیتر از هر پرایمر و ۰/۵ واحد DNA tag polymerase با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر. هم‌چنین به عنوان کنترل مثبت، اشریشیاکلی 35218ATCC برای ژن‌های CTX و TEM و سودوموناس ATCC 27853 برای ژن VEB استفاده شد. همه محصولات PCR در ژل آگارز ۲ درصد به مدت ۴۵ دقیقه و رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید الکتروفورز شدند. برای تجزیه و تحلیل اطلاعات از نرم‌افزار آماری SPSS و آزمون آماری Chi-square استفاده شد و P کم‌تر از ۰/۰۵ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته ها

از مجموع ۳۲۷ پاتوژن اشریشیاکلی، ۱۰۰ (۳۰/۵ درصد) مورد از آن‌ها مولد ESBL شناخته شدند. با توجه به آزمون MIC (جدول شماره ۲)، ESBLها، بالاترین حساسیت آنتی‌بیوتیکی را نسبت به کاربانم‌ها (۶۶ درصد) و آمیکاسین (۵۸ درصد) نشان دادند. هم‌چنین بیش‌ترین مقاومت نسبت به سفیکسیم (۹۹ درصد)، کلستین (۸۲ درصد) و سیپروفلوکساسین (۷۶ درصد) مشاهده شد. براساس جدول شماره ۳، TEM (۴۹ درصد) شایع‌ترین ژن مولد ESBL شناخته شد و شیوع CTX ۲۸ درصد و VEB ۸ درصد بود. جدول شماره ۴ رابطه بین بیان ژن با مقاومت آنتی‌بیوتیک را نشان می‌دهد. با توجه به ارزش p، در اکثر موارد تفاوت معنی‌داری بین حضور ژن و مقاومت آنتی‌بیوتیک ها مشاهده نشد. در مجموع حضور ژن‌های مولد ESBL همراه با مقاومت بالا به سفیکسیم، کلستین و سفپیم بود. در سوش های مولد VEB نیز مقاومت به سفتازیدیم به صورت معنی‌داری بیش‌تر مشاهده شد (p =۰/۰۴).

براساس نمودار شماره ۲، ۵۳/۴ درصد بیماران بستری و ۴۲/۹ درصد بیماران سرپایی حامل ژن مقاوم TEM بودند. در مجموع تفاوت معنی‌داری از لحاظ بروز این ژن در کودکان بستری و سرپایی مشاهده نشد (p>۰/۰۵). مطابق نمودار شماره ۳، بروز ژن CTX به

جدول شماره ۱: توالی پرایمرها و شرایط دمایی در PCR ژن های TEM، VEB و CTX

ژن ها	توالی پرایمرها	شرایط دمایی	سایز (bp)
TEM	F: TAATCAGTGAGGCACCTATCTC R: GAGTATTCAACATTTCCGTGTC (21)	94°c 3min→35×[94°c 30sec, 45°c 45sec, 72°c 40sec] → 72°c 7 min	۸۰۰
CTX	F: TTTGCGATGTGCAGTACCAGTAA R: CGATATCGTTGGTGGCATA (25)	94°c 5min→40×[94°c 45sec, 53.1°c 45sec, 72°c 1min] → 72°c 7 min	۵۹۳
VEB	F: CGACTTCCATTTCCCGATGC R: GGACTCTGCAACAAATACGC (29)	93°c 3min→40×[93°c 1min, 54.9°c 1min, 72°c 1min] → 72°c 7 min	۵۸۵

F: Forward primer, R: Reverse primer

Archive of SID
www.SID.ir

جدول شماره ۲: مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری اشریشیاکلی مولد بتالاکتاماز وسیع الطیف بر اساس تست رقت متوالی

آنتی بیوتیک ها	مقاوم (درصد)	حد واسط (درصد)	حساس (درصد)
سفالوسپورین ها:			
سفپیم	۶۷	۱۳	۲۰
سفکسیم	۹۹	۰	۱
سفتریاکسون	۲۸	۴۲	۳۰
سفتازیدیم	۱۹	۲۶	۵۵
سفتی زوکسیم	۴۶	۲۷	۲۷
سفوتاکسیم	۱۳	۴۰	۴۷
کارباپنم:			
ایمی پنم	۲۳	۱۱	۶۶
مروپنم	۱۸	۱۵	۶۷
آمینوگلیکوزیدها:			
آمیکاسین	۳۴	۸	۵۸
جنتامایسین	۳۷	۱۲	۵۱
متفرقه:			
سیپروفلوکساسین	۷۶	۰	۲۴
کلستین	۸۲	۰	۱۸
کوتریماکسازول	۶۵	۷	۲۸
پیپراسیلین/تازوبکتام	۲۰	۳۸	۴۲

جدول شماره ۳: توزیع فراوانی ژن های مقاوم *CTX*، *TEM* و *VEB* در باکتری های جدا شده اشریشیاکلی مولد بتالاکتاماز وسیع الطیف

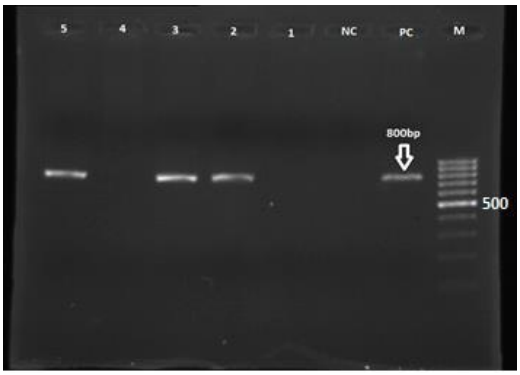
ژن های مقاوم	فراوانی ژن ها
TEM	۴۹
CTX	۲۸
VEB	۸
TEM & CTX	۱۲
VEB & TEM	۵

جدول شماره ۴: حضور ژن های مقاوم و مقاومت آنتی بیوتیک ها در سوش های اشریشیاکلی مولد بتالاکتاماز وسیع الطیف

آنتی بیوتیک ها	*TEM* تعداد (درصد)	*CTX* تعداد (درصد)	*VEB* تعداد (درصد)
سفالوسپورین ها:			
سفپیم	(۷۷,۶)۳۸	(۸۲,۱)۲۳	(۷۵)۶
سفکسیم	(۱۰۰)۴۹	(۹۶,۴)۲۷	(۱۰۰)۸
سفتریاکسون	(۵۹,۲)۲۹	(۷۸,۶)۲۲	(۵۰)۴
سفتازیدیم	(۴۴,۹)۲۲	(۳۹,۳)۱۱	*(۷۵)۶
سفتی زوکسیم	(۶۹,۴)۳۴	(۸۲,۱)۲۳	(۷۵)۶
سفوتاکسیم	(۴۲,۹)۲۱	(۶۴,۳)۱۸	(۶۲,۵)۵
کارباپنم:			
ایمی پنم	(۲۸,۶)۱۴	(۳۹,۳)۱۱	(۳۷,۵)۳
مروپنم	(۲۴,۵)۱۲	(۳۲,۱)۹	(۳۷,۵)۳
آمینوگلیکوزیدها:			
آمیکاسین	(۲۸,۶)۱۴	(۴۶,۴)۱۳	(۳۷,۵)۳
جنتامایسین	(۴۲,۹)۲۱	(۵۰)۱۴	(۶۲,۵)۵
متفرقه:			
سیپروفلوکساسین	(۶۹,۴)۳۴	(۷۵)۲۱	(۶۲,۵)۵
کلستین	(۷۹,۶)۳۹	(۸۲,۱)۲۳	(۷۵)۶
کوتریماکسازول	(۶۹,۴)۳۴	(۷۵)۲۱	(۵۰)۴
پیپراسیلین/تازوبکتام	(۵۹,۲)۲۹	(۵۳,۶)۱۵	(۵۰)۴

*تفاوت معنی دار آماری (ارزش p کم تر از ۰/۰۵)

صورت معنی‌داری در بیماران سرپایی بیشتر گزارش شد (p=۰/۰۴). به گونه‌ای که ۳۸ درصد از بیماران سرپایی و ۲۱ درصد بیماران بستری حامل این ژن بودند. بر اساس نمودار شماره ۴، تفاوت معنی‌داری از لحاظ بروز ژن VEB در بیماران بستری و سرپایی مشاهده نشد (p>۰/۰۵).



نمودار شماره ۱: تصویر ژل آگارز ژن *TEM* در نمونه اشریشیاکلی مولد ESBL (۸۰۰ bp).

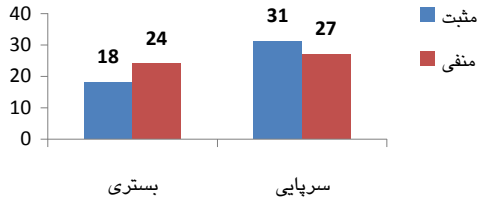
M : مارکر (۱۰۰ bp)

PC (Positive control) : باکتری کلبسیلا پنومونی ۷۸۸۱،

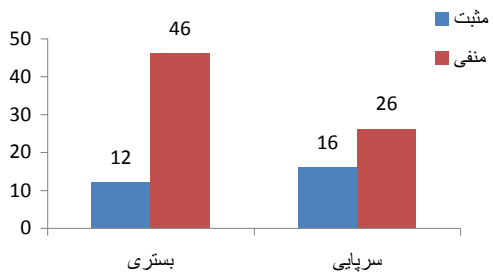
NC (Negative control) : E. coli ATCC25922 ،

۲،۳ و ۵ : نمونه‌های مثبت حامل ژن *TEM*،

۱ و ۴ : نمونه‌های منفی فاقد ژن *TEM*



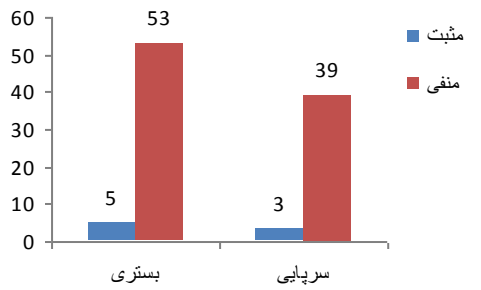
نمودار شماره ۲: توزیع فراوانی ژن *TEM* در اطفال بستری و سرپایی (p=۰/۲)



نمودار شماره ۳: توزیع فراوانی ژن *CTX* در اطفال بستری و سرپایی (p=۰/۰۴)

Archive of SID

www.SID.ir



نمودار شماره۴: توزیع فراوانی ژن*VEB* درموارد بستری و سرپایی (p=۰/۵)

بحث

شیوع نسبتاً بالای باکتری‌های مولد ESBL (۳۰/۵ درصد) و مقاومت بالا به عوامل آنتی‌باکتریال وسیع‌الطیف (۳۴ درصد مقاومت به کاربا‌پنم‌ها) از یافته‌های نگران‌کننده در این مطالعه بود. شیوع اشریشیاکلی مولد ESBL در مطالعات نقاط مختلف دنیا، متفاوت گزارش شده است. در بسیاری از مطالعات بسیار نزدیک به این مطالعه (۳۰ درصد) بود(۲۱-۱۹). در تعدادی از مطالعات این عدد کم‌تر گزارش شد: هند (۲۷ درصد)، لبنان (۱۳/۳ درصد)، کره (۲/۹ درصد) و ترکیه (۱۷ درصد)(۲۴،۲۳). هم‌چنین در بسیاری از مطالعات نیز شیوع آن بیشتر گزارش شد(۲۶،۲۵،۲۳،۲۱). نتایج نشان می‌دهد، شیوع باکتری‌های ESBL در کشورهای مختلف و حتی در مراکز مختلف درمانی متفاوت می‌باشد. مصرف بیش از اندازه آنتی‌بیوتیک‌ها از مهم‌ترین عوامل شیوع بالای این باکتری‌ها و مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های وسیع الطیف می‌باشد. در مطالعات قبلی که درهمین مرکز انجام شده بود وضعیت مقاومت باکتری‌های ESBL نسبت به سایر عوامل آنتی‌باکتریال مانند آمینوگلیکوزیدها، کوتریماکسازول و تتراسایکلین‌ها نیز مقاومت چشم‌گیری را نشان دادند. مقاومت به این عوامل منجر به پیچیده‌تر شدن درمان جهت انتخاب عوامل آنتی‌باکتریال موثر می‌گردد(۲۷). در مطالعه حاضر مقاومت بالایی نسبت به آمیکاسین (۳۴ درصد)، کلستین (۸۲ درصد) و کوتریماکسازول (۶۵ درصد) وجود داشت. در مطالعه Babypadmini و همکارانو با استفاده از روش دیسک دیفیوژن ۷۴ درصد مقاومت به کوتریماکسازول و ۹۱/۶ درصد مقاومت به فلوروکینولون‌ها مشاهده شد(۲۸). این تفاوت ممکن است به دلیل روش‌های مختلف ارزیابی مقاومت آنتی‌بیوتیک‌ها باشد. در مطالعه حاضر مقاومت آنتی‌بیوتیک‌ها با روش رقت متوالی ارزیابی شد، که از روش دیسک دقیق‌تر می‌باشد. در مطالعات دیگر در مالزی و اسپانیا مقاومت نسبت به هر دو داروی کوتریماکسازول و سیپروفلوکساسین کم‌تر گزارش شد(۲۹،۳۰). این دو دارو درمان‌های موثر در درمان عفونت‌های ادراری (اشریشیاکلی) می‌باشند. افزایش مقاومت نسبت به این داروها در مطالعه ما نشان می‌دهد، این عوامل به عنوان آنتی‌باکتریال تجربی نمی‌توانند اثربخشی لازم را دارا باشند. مطالعات مختلفی در بزرگسالان اثربخشی کلستین را بر علیه باکتری‌های کلبسیلا نومونیه و اشریشیاکلی مولد ESBL نشان دادند(۳۱). از طرفی مقاومت نسبت به این دارو روند رو به رشدی داشته است(۳۲). با وجود اثربخشی این دارو بر علیه آسینتوباکتر و سودوموناس، میزان اثربخشی آن در اشریشیاکلی مولد ESBL هنوز چندان مشخص نیست(۳۳،۳۲). هم‌چنین با توجه به مقاومت بالا نسبت به این دارو در این مطالعه، کلستین عامل آنتی‌باکتریال مناسب بر علیه این سوش ها در اطفال نمی‌باشد. کاربا‌پنم‌ها به عنوان عوامل آنتی‌باکتریال موثر در درمان ESBLها گزارش شده است(۳۵،۳۴،۲۹،۲۰). در مطالعه‌ای در عربستان سعودی مقاومت به این دسته از داروها ۱۴ درصد گزارش شد(۳۶). یکی از یافته‌های نگران‌کننده مطالعه حاضر مقاومت بالا نسبت به کاربا‌پنم‌ها (۳۴ درصد) می‌باشد، که می‌تواند این سوش‌ها را به عوامل تهدیدکننده حیات در اطفال مبدل سازد. مقاومت تهدیدکننده حیات در اثر مصرف غیرمنطقی آنتی‌بیوتیک‌ها بویژه آنتی‌بیوتیک‌های وسیع‌الطیف می‌باشد. هم‌چنین مطالعه‌ای که در این مرکز توسط ناصحی و همکاران انجام شد، تجویز زیاد آنتی بیوتیک‌ها بویژه سفتریاکسون، در مقایسه با سایر مراکز درمانی را نشان داد(۳۷). در دو دهه اخیر TEM شایع‌ترین ژن مولد بتالاکتاماز وسیع الطیف

Archive of SID
www.SID.ir

در اشریشیاکلی شناخته شـد(۳۵،۲۹،۲۰). در مطالعـه‌ای در تایلند نیز شایع‌ترین ژن TEM (۷۶ درصد)، سپس CTX و VEB به ترتیب با فراوانی ۵۲/۸ درصد و ۱۶/۷ درصـد بودند. در مطالعه حاضر بعـد از TEM، بـه ترتیـب CTX (۲۸ درصد) و VEB (۸ درصد) کم‌ترین شـیوع را داشـتند. هم‌چنین، در مجموع ۱۷ سـوش، همزمـان حامـل دو ژن مقاوم بودند. در سال‌های اخیر CTX رشد قابـل تـوجهی داشت و به عنوان یکی از شایع‌ترین ژن‌های مولـد مولـد بتالاکتاماز وسیع‌الطیف بـه ویـژه در اشریشـیاکلی مطـرح می‌باشد. با توجه به این نکته که بیـان بعضـی از ژن‌هـا بـا مقاومت به عوامل آنتی بیوتیک خاص ارتباط دارد. رشد روز افزون CTX منجر به بروز مقاومت به کینولون ها در باکتری‌های بتالاکتاماز وسیع‌الطیف مـی‌شـود(۲۷) و ایـن امر منجر به عدم کارایی مناسب کینولون‌ها در درمان ایـن عفونت‌ها شده است. در مطالعه حاضر علی‌رغم مقاومت ۷۶ درصد نسبت به سیپروفلوکساسین، ارتباط معنی‌داری بین وجود ژن‌ها و مقاومت به کینولون‌هـا مشـاهده نشـد. در مطالعـه Bragner و همکـاران مقاومـت نسـبت بـه فلوروکینولون‌ها در گروه مولد CTX و حساسیت نسبت به سیپروفلوکساسین در سوش‌هـای مولـد TEM و SHV به‌صورت چشم‌گیری بیش‌تر گزارش شد(۲۷). در مطالعه حاضر ۷۵ درصد سوش‌های مولد CTX به کینولون‌هـا و ۵۰ درصـد نسـبت بـه آمینوگلیکوزیـدها مقـاوم بودنـد. مقاومت نسبت به کینولون‌ها به صورت قابل تـوجهی در مطالعه Eldestein و همکاران (۲۱ درصد) کم‌تر گـزارش شد(۳۸) و در مقابل در مطالعه Mendoneca و همکـاران (۹۳ درصد) میزان مقاومت بیش‌تر بود(۳۹). نتایج مختلـف در مطالعات می‌تواند در تفاوت روش نمونه‌گیری باشـد، در مطالعـه دیگـر بـر خـلاف مطالعـه حاضـر نمونـه‌هـای اشریشیاکلی تنها از ادرار جداسـازی نشـد. هـم‌چنـین در سوش‌های مولـد CTX مقاومـت نسـبت بـه سفوتاکسـیم بـیش‌تـر از سـفتازیدیم گـزارش شـد(۴۰،۳۸). در مطالعـه دیگری که در این مرکز جهت بررسـی مصـرف منطقـی آمیکاسـین انجـام شـد تـا ۳۰ درصـد تجـویز آمیکاسـین غیرمنطقی گزارش شد(۴۱). نتایج مطالعـه مـا تاییدکننـده آن می‌باشد کـه در صـورت بـروز ژن CTX سـفتازیدیم عامل موثرتری خواهد بود.

یکی از یافتـه‌هـای مهـم مطالعـه مـا بـروز بـالای ژن مقاوم CTX به‌ویژه در بیماران سرپایی بـوده اسـت. ایـن ژن در سال‌های اخیر رشد چشم‌گیری داشـته بـه‌گونـه‌ای کـه در عفونـت‌هـای اکتسـابی از جامعـه نیـز در حـال گسترش می‌باشـد. در مطالعـه‌ای کـه توسـط Falagas و همکاران انجام شد، نیز گسترش روزافزون این ژن مقاوم بـویژه در جامعـه بـه عنـوان عامـل تهدیدکننـده حیـات شناخته شد(۱۳). با توجه به مقاومت بالای آنتـی‌بیـوتیکی که در سوش‌های حامل CTX مطالعه حاضر دیـده شـد، این ژن می‌تواند عامل ایجاد مقاومت عفونـت‌هـای ادراری اطفال در جامعه و بیمارستان باشد. در نتیجه جلوگیری از گسترش روز افزون آن اهمیت به‌سزایی در بهبـود پیامـد این بیماران خواهد داشـت. انجـام تسـت‌هـای تشخیصـی سوش‌های ESBL در عفونت‌هـای اکتسـابی از جامعـه و بیمارستان جهت انتخاب صحیح درمان کودکان مبتلا بـه عفونـت ادراری و همچنـین جهـت جلـوگیری از شـیوع روز افزون این سوش‌ها توصیه می‌گردد.

با توجه به میـزان بـالای مقاومـت بـه کاربـاپنم‌هـا و آنتی‌بیوتیک‌های وسیع‌الطیف، تجویز منطقی‌تر، ارزیـابی درمـان‌هـای تجربـی و مانیتورینـگ سـطح خـونی آنتـی‌بیوتیـک‌هـای وسـیع‌الطیـف در مراکـز آموزشـی- درمـانی توصـیه مـی‌گـردد. هـم‌چنـین انجـام سـریع‌تـر تست‌های تشخیصی جهت شناسایی پاتوژن های ESBL، در عفونت‌های ادراری کودکـان بـه منظـور جلـوگیری از شیوع این ارگانیسم‌ها در عفونت‌های اکتسابی از جامعـه اکیداً توصیه می‌شود.

References

1. Girish N, Saileela K, Mohanty SK. Extended Spectrum beta-Lactamase Producing Klebsiella

Archive of SID

www.SID.ir

pneumoniae and Escherichia coli in Neonatal Intensive Care Unit. J Bacteriol Parasitol 2012; 3(4):1-3.

2. Bhat MA, Sageerabanoo S, Kowsalya R, Sarkar G. The Occurrence of CTX-M ۳Type Extended Spectrum Beta Lactamases among Escherichia Coli Causing Urinary Tract Infections in a Tertiary Care Hospital in Puducherry. J Clin Diag Res 2012; 6(7): 1203-1206.
3. Bhattacharjee A, Sen MR, Prakash P, Gaur A, Anupurba S. Increased prevalence of extended spectrum Î² lactamase producers in neonatal septicaemic cases at a tertiary referral hospital. Indian J Med Microbiol 2008; 26(4): 356-360.
4. Bradford PA. Extended-spectrum Î²-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. Clin Microbiol Rev 2001; 14(4): 933-951.
5. Paterson DL, Hujer KM, Hujer AM, Yeiser B, Bonomo MD, Rice LB. Extended-spectrum Î²-lactamases in Klebsiella pneumoniae bloodstream isolates from seven countries: dominance and widespread prevalence of SHV-and CTX-M-type Î²-lactamases. Antimicrob Agents Chemother 2003; 47(11): 3554-3560.
6. Lal P, Kapil A, Das BK, Sood S. Occurrence of TEM & SHV gene in extended spectrum b-lactamases (ESBLs) producing Klebsiella sp. isolated from a tertiary care hospital. Indian J Med Res 2007; 125(2): 173-178.
7. RodrÃ-guez-Bano J, Navarro MD, Romero L, Muniain MA, Perea EJ, Pérez-Cano R, et al. Clinical and molecular epidemiology of extended-spectrum Î²-lactamaseâ€"producing Escherichia coli as a cause of nosocomial infection or colonization: implications for control. Clin Infect Dis 2006; 42(1): 37-45.
8. Jemima SA, Verghese S. Multiplex PCR for blaCTX-M & blaSHV in the extended spectrum beta lactamase (ESBL) producing gram-negative isolates. Indian Med Res 2008; 128(3): 313-317.
9. RuppÃ E, Hem S, Lath S, Gautier V, Ariey F, Sarthou JL, et al. CTX-M Î²-lactamases in Escherichia coli from community-acquired urinary tract infections, Cambodia. Emerging Infectious Diseases 2009; 15(5): 741.
10. Shukla I, Tiwari R, Agrawal M. Prevalence of extended spectrum-lactamase producing Klebsiella pneumoniae in a tertiary care hospital. Indian J Med Microbiol 2004; 22(2): 87-91.
11. Liem TBY, Filius PMG, Linden VD, Janknegts R, Natsch S, Vulto AG. Changes in antibiotic use in Dutch hospitals over a 6-year period: 1997-2002. Antimicrobial drug use in hospitalized children 2011; 63(9): 60.
12. Oteo Js, Bautista V, Lara N, Cuevas O, Arroyo M, Fernández S, et al. Parallel increase in community use of fosfomycin and resistance to fosfomycin in extended-spectrum Î²-lactamase (ESBL) producing Escherichia coli. J Antimicrob Chemother 2010; 65(11): 2459-2463.
13. Falagas ME, Karageorgopoulos DE. Extended-spectrum Î²-lactamase-producing organisms. J Hosp Infect 2009; 73(4): 345-354.
14. Askarian M, Maharlouie N. Irrational antibiotic use among secondary school teachers and university faculty members in Shiraz, Iran. Int J Prev Med 2012; 3(12): 839-845.
15. Bazzaz BS, Naderinasab M, Mohamadpoor AH, Farshadzadeh Z, Ahmadi S, Yousefi F. The prevalence of extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli and

Archive of SID
www.SID.ir

Klebsiella pneumoniae among clinical isolates from a general hospital in Iran. Acta Microbiol Immunol Hung 2009; 56(1): 89-99.

16. Representatives L. Practice Parameter: The Diagnosis, Treatment, and Evaluation of the Initial Urinary Tract Infection in Febrile Infants and Young Children. American Academy of Pediatrics. Committee on Quality Improvement. Subcommittee on Urinary Tract Infection. Pediatrics 1999; 103(4): 843-856.
17. Cockerill FR. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty-first Informational Supplement. 2011: Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).
18. Wayne P. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing .Twenty-first informational supplement. Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI document. M100-S21; 2011; 32(1).
19. Kochaksaraii B, Nasrolahiomran A, Javid N, Yazdi M, Ghaemi EA. Extended spectrum beta lactamase producing E.coli isolated from Gorgan, North of Iran. Medical Laboratory Journal 2012; 6(1).
20. Moosavian M, Deiham B. Distribution of TEM, SHV and CTX-M Genes among ESBL-producing Enterobacteriaceae isolates in Iran. Afr J Microbiol Res 2012; 6(26): 5433-5439.
21. Manoharan A, Premalatha K, Chatterjee S, Mathai D; SARI Study Group. Correlation of TEM, SHV and CTX-M extended-spectrum beta lactamases among Enterobacteriaceae with their in vitro antimicrobial susceptibility. Indian J Med Microbiol 2012 ; 29(2): 161-164.
22. Arbabi L, Rahbar M, Jabbari M, Mohammad zadeh M, Azimi L, Ebrahimzadeh Namvar A. Extended-spectrum beta-lactamase-producing E.coli and Klebsiella pneumoniae isolated from urinary tract infections in Milad Hospital, Tehran, Iran. Health Med 2012; 6(11): 2818-2822.
23. Shahcheraghi F, Nikbin VS, Feizabadi MM. Prevalence of ESBLs genes among multidrug-resistant isolates of Pseudomonas aeruginosa isolated from patients in Tehran. Microb Drug Resist 2009; 15(1): 37-39.
24. Ananthan S, Subha A. Cefoxitin resistance mediated by loss of a porin in clinical strains of Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli. Indian J Med Microbiol 2005; 23(1): 20-23.
25. Mirzaee M, Pourmand MR, Chitsaz M, Mansouri S. Antibiotic resistance to third generation cephalosporins due to CTX-M-type extended-spectrum Î²-lactamases in clinical isolates of Escherichia coli. Iranian Journal of Public Health 2009; 38(1): 10-17.
26. Nakhaei Moghaddam, Forghanifard MM, Moshrefi S. Prevalence and Molecular Characterization of Plasmid-mediated Extended-Spectrum Î²-Lactamase Genes (balaTEM, blaCTX and blASHV) Among Urinary Escherichia coli Clinical Isolates in Mashhad, Iran. Iran J Basic Med Sci 2012; 15(3): 833-839.
27. Branger C, Zamfir O, Geoffroy S, Laurans G, Arlet G, Thien HV, et al. Genetic background of Escherichia coli and extended-spectrum Î²-lactamase type. Emerg Infect Dis 2005; 11(1): 54.-61
28. Babypadmini S, Appalaraju B. Extended spectrum-lactamases in urinary isolates of Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae-Prevalence and susceptibility pattern in a tertiary care hospital. Indian J Med Microbiol 2004; 22(3): 172-174.

Archive of SID

www.SID.ir

29. Lim TL, Yasin R, Yeo CC, Puthucheary S, Thong KL. Characterization of multidrug resistant ESBL-producing Escherichia coli isolates from hospitals in Malaysia. Journal of biomedicine and biotechnology, 2009.
30. Oteo J1, Lázaro E, de Abajo FJ, Baquero F, Campos J. Antimicrobial-resistant invasive Escherichia coli, Spain. Emerg Infect Dis 2005; 11(4): 546-553.
31. Ku YH, Lee MF, Chuang YC, Chen CC, Yu WL. In vitro activity of colistin sulfate against Enterobacteriaceae producing extended-spectrum beta lactamases. J Microbiol Immunol Infec 2013; S1684-1182.
32. Benenson S, Navon-Venezia S, Carmeli Y, Adler A, Strahilevitz J, Moses AE, et al. Carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae endocarditis in a young adult: Successful treatment with gentamicin and colistin. Int J Infect Dis 2009; 13(5): e295-e298.
33. Walkty A, DeCorby M, Nichol K, Karlowsky JA, Hoban DJ, Zhanel GG. In vitro activity of colistin (polymyxin E) against 3,480 isolates of gram-negative bacilli obtained from patients in Canadian hospitals in the CANWARD Study, 2007-2008. Antimicrob Agents Chemother 2009; 53(11): 4924-4926.
34. Manoharan A, Premalatha K, Chatterjee S, Mathai D. Correlation of TEM, SHV and CTX-M extended-spectrum beta lactamases among Enterobacteriaceae with their in vitro antimicrobial susceptibility. Indian J Med Microbiol 2011; 29(2): 161-164.
35. Rezai MS, Salehifar E, Rafiei A, Langaee T, Rafati M, Shafahi K, et al. Characterization of Multidrug Resistant Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing Escherichia coli among Uropathogens of Pediatrics in North of Iran. Biomed Research International 2015.
36. Kader AA, Kumar AK. Prevalence of extended spectrum beta-lactamase among multidrug resistant gram-negative isolates from a general hospital in Saudi Arabia. Saudi Med J 2004; 25(5): 570-574.
37. Salehifar E, Nasehi M, Eslami G, Sahraei S3, Alizadeh Navaei R4. Determination of antibiotics consumption in Buali-Sina Pediatric Hospital, Sari 2010-2011. Iran J Pharm Res 2014; 13(3): 995-1001.
38. Edelstein M, Pimkin M, Palagin I, Edelstein I, Stratchounski L. Prevalence and molecular epidemiology of CTX-M extended-spectrum Î²-lactamase-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae in Russian hospitals. Antimicrob Agents Chemother 2003; 47(12): 3724-3732.
39. Mendonca N, Leitao J, Manageiro V, Ferreira E. Spread of extended-spectrum Î²-lactamase CTX-M-producing Escherichia coli clinical isolates in community and nosocomial environments in Portugal. Antimicrob Agents Chemother 2007; 51(6): 1946-1955.
40. Baraniak A, Fiett J, Sulikowska A, Hryniewicz W, Gniadkowski M. Countrywide spread of CTX-M-3 extended-spectrum Î²-lactamase-producing microorganisms of the family Enterobacteriaceae in Poland. Antimicrob Agents Chemother 2002; 46(1): 151-159.
41. Eslami G, Ebrahim Salehifar E, Behbudi M, Rezai MS. Rational Use of Amikacin in Buali-Sina Hospital in Sari 2011. J Mazand Univ Med Sci 2013; 23(100): 2-9 (Persian).

Archive of SID
www.SID.ir