فراوانی ژن‌های بتالاکتاماز TEM و PER در ایزوله‌های ادراری *اشرشیاکلی* مولد بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف در شهرستان کرج

*مریم قانع[۱]، فریبا ادهم[۱]

۱. گروه زیست شناسی، واحد اسلامشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اسلامشهر، ایران.

اطلاعات مقاله:
تاریخ دریافت: ۱۵ اردیبهشت ۱۳۹۸
تاریخ پذیرش: ۲۳ آذر ۱۳۹۸
تاریخ انتشار: ۱۲ بهمن ۱۳۹۸

چکیده

زمینه و هدف در سال‌های اخیر، افزایش سویه‌های *اشرشیاکلی* تولیدکننده بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف (ESBL) منجر به محدودشدن گزینه‌های درمانی شده است. این مطالعه به منظور یافتن ژن‌های bla_{TEM} و bla_{PER} در ایزوله‌های ادراری *اشرشیاکلی* مولد ESBL و تعیین الگوی مقاومت آن‌ها انجام شد.

مواد و روش‌ها از بهمن ۱۳۹۴ تا اسفند ۱۳۹۵، ۹۷۲ نمونه از بیماران مشکوک به عفونت ادراری از سه بیمارستان اصلی و آزمایشگاه‌های شهرستان کرج جمع‌آوری شدند. شناسایی باکتری‌ها، آزمون حساسیت میکروبی و تولید ESBL با استفاده از آزمون‌های استاندارد انجام شد. از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) برای تشخیص ژن‌های بتالاکتاماز TEM و PER استفاده شد

ملاحظات اخلاقی این مطالعه با کد IR.IAU.TMU.REC.1396.274 به تصویب کمیته اخلاق پژوهشی دانشگاه علوم‌پزشکی آزاد اسلامی تهران رسیده است.

یافته‌ها از بین ۹۷۲ نمونه ادراری، ۵۰۰ ایزوله *اشرشیاکلی* جدا شد. ۱۸۰ ایزوله (۳۶ درصد) تولیدکننده ESBL بودند. در میان سویه‌های ESBL مثبت، بیشترین حساسیت نسبت به آمیکاسین و ایمی پنم (به ترتیب ۸۰ و ۶۰ درصد) مشاهده شد. مقاومت به کوتریموکسازول، سیپروفلوکساسین، تتراسایکلین و جنتامیسین به ترتیب ۹۲/۷، ۷۸/۹، ۶۶/۱ و ۵۷/۸ درصد بود. همه سویه‌های ESBL مثبت مقاومت چنددارویی داشتند. در میان سویه‌های ESBL مثبت، ژن bla_{TEM} در ۸۵ ایزوله (۴۴/۷۲ درصد) مشاهده شد، ولی ژن bla_{PER} در هیچ‌یک از ایزوله‌ها یافت نشد.

نتیجه‌گیری نتایج، شیوع بالایی از سویه‌های *اشرشیاکلی* تولیدکننده ESBL و مقاوم به چند دارو را نشان داد. نظارت مداوم بر باکتری‌های مولد ESBL و تعیین الگوهای مقاومتی آن‌ها می‌تواند به کاهش انتشار این گونه‌های مقاوم در جامعه کمک کند.

کلیدواژه‌ها:
اشرشیاکلی، مقاومت دارویی، بتالاکتامازها

مقدمه

عفونت‌های دستگاه ادراری یکی از مهم‌ترین بیماری‌های عفونی در جامعه و نیز در بیمارستان‌هاست و باعث افزایش مرگ‌ومیر می‌شود. میکروارگانیسم‌های مختلفی مسئول ایجاد عفونت‌های ادراری هستند که در بین آن‌ها باکتری‌ها مهم‌ترین عوامل ایجادکننده بوده و در بین باکتری‌ها، *اشرشیاکلی* شایع‌ترین ارگانیسم است و بیش از ۸۰ درصد عفونت‌ها را شامل می‌شود [۱]. تشخیص بیش از ۱۵۰ میلیون مورد عفونت ادراری در هر سال در سراسر جهان، باعث شده که از زمان‌های گذشته از آن به عنوان یکی از متداول‌ترین عفونت‌های کسب‌شده از جامعه و نیز بیمارستان یاد شود [۲].

مصرف بیش از حد و سوءمصرف آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان عفونت‌های ادراری باعث فشار انتخابی آنتی‌بیوتیک شده که نتیجه آن افزایش و پراکنده‌شدن باکتری‌های مقاوم در برابر چند داروست. در حال حاضر، کاهش حساسیت به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها در ایزوله‌های ادراری *اشرشیاکلی* مشاهده می‌شود. این وضعیت به طور معمول در بیمارستان‌ها مشاهده می‌شود و می‌تواند به افزایش هزینه بیمارستان، اقامت طولانی‌مدت در بیمارستان و همچنین شکست درمان منجر شود [۳].

در میان آنتی‌بیوتیک‌ها، بتالاکتام‌ها به دلیل عدم سمّیت به عنوان یکی از پرمصرف‌ترین داروهای شیمی‌درمانی محسوب می‌شوند. این ترکیبات در طی ۶۰ سال گذشته، در بین مؤثرترین داروها در درمان عفونت‌های باکتریایی ناشی از گونه‌های متعدد باکتری‌ها بوده‌اند و از سال ۲۰۰۴ بیش از ۶۵ درصد از بازار جهانی آنتی‌بیوتیک را به خود اختصاص داده‌اند [۴].

تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز توسط میکروارگانیسم‌های گرم مثبت

* نویسنده مسئول:
مریم قانع
نشانی: گروه زیست شناسی، واحد اسلامشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اسلامشهر، ایران.
تلفن: ۵۶۳۶۸۹۹۴ (۲۱) ۹۸+
پست الکترونیکی: ghane@iiau.ac.ir; maryamghaneh@yahoo.com

www.SID.ir

و گرم منفی مهم‌ترین مکانیسم مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام است. بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف آنزیم‌هایی هستند که باعث ایجاد مقاومت به سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف می‌شوند. از آنجایی که این آنزیم‌ها توسط پلاسمید رمز می‌شوند، مقاومت باکتریایی به دلیل این آنزیم‌ها به‌سرعت منتشر می‌شود. این پلاسمیدها اغلب ژن‌های مقاومت در برابر سایر آنتی‌بیوتیک‌ها مانند آمینوگلیکوزیدها، فلوروکینولون ها، تتراسایکلین، کلرامفنیکل و تری متوپریم سولفامتوکسازول را نیز با خود حمل می‌کنند [۵].

در باکتری‌ها مکانیسم اصلی مقاومت نسبت به بتالاکتام‌ها بیان بتالاکتامازهای TEM است. بتالاکتاماز TEM اولین‌بار در یک بیمار مبتلا به عفونت ادراری به نام تمورینا شناسایی شد. بتالاکتامازهای TEM یکی از مهم‌ترین بتالاکتامازهای پلاسمیدی در باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه و از علل مهم بروز مقاومت‌های چندداروی در عفونت‌های بیمارستانی هستند. بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف وابسته به TEM، اغلب از بتالاکتامازهای اصلی (TEM-1, TEM-2) با جایگزینی یک یا دو اسید آمینه در جایگاه فعال آنزیم حاصل شده‌اند [۶].

آنزیم‌های PER نوع دیگری از بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف هستند. این آنزیم‌ها برای اولین‌بار در *سودوموناس آئروژینوزا* شناسایی شدند، اما در سایر ارگانیسم‌ها، به‌ویژه در ایزوله‌های اسینتوباکتر نیز شناسایی شده‌اند [۷].

درمان عفونت‌های ادراری اغلب به طور تجربی و بر اساس گزارشات موجود در زمینه الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی پاتوژن‌های ادراری آغاز می‌شود. ارائه مداوم الگوهای مقاومت آنتی‌بیوتیکی در هر منطقه می‌تواند علاوه بر درمان عفونت‌های ادراری، از انتشار سویه‌های مقاوم جلوگیری کند. بنابراین، هدف از این مطالعه، تعیین میزان شیوع باکتری‌های *اشرشیاکلی* تولیدکننده بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف جداشده از ادرار بیماران مبتلا به عفونت ادراری، تعیین حساسیت آن‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های رایج مورد استفاده در عفونت ادراری و بررسی میزان شیوع بتالاکتامازهای نوع TEM و PER بود.

مواد و روش‌ها

کشت نمونه و شناسایی باکتری‌ها

این مطالعه مقطعی توصیفی در یک بازه زمانی ۱۳ماهه (از بهمن ۱۳۹۴ تا دی ۱۳۹۵) بر روی ۹۷۲ نمونه مشکوک به عفونت ادراری با علائم سوزش و تکرر ادرار از بیماران سرپایی مراجعه‌کننده به بیمارستان‌های امام خمینی، قائم و شهید رجایی شهرستان کرج و نیز آزمایشگاه‌های این شهرستان صورت گرفت. نمونه‌های ادراری از قسمت میانی جریان ادرار بیماران مشکوک به عفونت ادراری در لوله‌های استریل جمع‌آوری شدند. از نمونه‌های ادراری بر روی محیط بلاد آگار، ائوزین متیلن بلو آگار (مرک، آلمان) تلقیح شدند. بعد از گرماگذاری در ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت، پلیت‌هایی که رشد قابل ملاحظه داشتند (10^5 CFU) برای آزمایشات بعدی انتخاب شدند و از آن‌ها کشت خالص تهیه شد. شناسایی باکتری‌ها با استفاده از مورفولوژی، رنگ‌آمیزی گرم و خواص بیوشیمیایی آن‌ها انجام شد [۸]. آزمون‌های بیوشیمیایی مورد استفاده شامل کاتالاز، اکسیداز، کشت بر روی محیط SIM، محیط متیل رد، وژس پروس کوئر، TSI و مصرف سیترات بودند. از ۹۷۲ نمونه ادراری مشکوک به عفونت ادراری ۵۰۰ سویه *اشرشیاکلی* شناسایی شد.

غربالگری سویه‌های تولیدکننده بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف و بررسی حساسیت آنتی‌بیوتیکی

غربالگری سویه‌های *اشرشیاکلی* تولیدکننده بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف با استفاده از روش دیسک‌های ترکیبی و با استفاده از دو جفت دیسک سفوتاکسیم (۳۰ µg) و سفوتاکسیم / کلاوولانیک اسید (۳۰/۱۰µg)، سفتازیدیم (۳۰ µg) و سفتازیدیم / کلاوولانیک اسید (۳۰/۱۰µg) (شرکت روسکو، دانمارک) و مطابق با توصیه‌های مؤسسه استاندارد روش‌های آزمایشگاهی[1] انجام شد [۹]. برای این منظور چند کلنی از کشت شبانه باکتری‌ها در محیط نوترینت آگار برداشته و در سرم فیزیولوژی استریل سوسپانسیونی معادل نیم مک فارلند تهیه شد و با استفاده از سواپ استریل بر روی پلیت حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار (مرک، آلمان) به صورت متراکم کشت داده شد.

پس از قراردادن دیسک‌ها بر روی پلیت و گرماگذاری به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سلسیوس، مسافت انتشار اطراف هر دیسک با استفاده از خط‌کش میلی‌متری اندازه‌گیری و نتایج با استفاده از جداول استاندارد CLSI تفسیر شدند. اختلاف ۵ mm≥ بین قطر هاله عدم رشد اطراف سفوتاکسیم و سفوتاکسیم / کلاوولانیک اسید و نیز سفتازیدیم و سفتازیدیم / کلاوولانیک اسید به عنوان فنوتیپ مثبت در نظر گرفته شد. برای کنترل کیفی نتایج ESBL، از سویه استاندارد *کلبسیلا پنومونیه* ATCC700603 استفاده شد.

سنجش حساسیت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های مولد بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف با استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های جنتامیسین (۱۰ µg)، تتراسایکلین (۳۰ µg)، تری متوپریم سولفامتوکسازول (۲۵ µg)، ایمی‌پنم (۱۰ µg)، آمیکاسین (۳۰ µg) و سیپروفلوکساسین (۵ µg) (شرکت روسکو، دانمارک) انجام شد. برای کنترل کیفی آنتی‌بیوگرام از سویه *اشرشیاکلی* ATCC25922 استفاده شد برای این منظور سوسپانسیونی معادل نیم مک فارلند از سویه مذکور تهیه شد و با استفاده از سواپ استریل بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار به صورت متراکم کشت داده شد و دیسک‌ها با فاصله ۲۲ میلی‌متر از یکدیگر بر روی پلیت قرار داده شد. کنترل کیفی دیسک‌ها به صورت روزانه انجام گرفت.

1. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI)

www.SID.ir

شناسایی مولکولی ژن‌های bla_{TEM} و bla_{PER}

برای تهیه DNA ژنومی، تکه‌هایی از چند کلنی از هریک از سویه‌های جداشده در پنج میلی‌لیتر محیط کشت لوریا برتانی (LB) (مرک، آلمان) در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به صورت شبانه کشت داده شد. سپس استخراج DNA با استفاده از کیت استخراج DNA (سیناکلون، ایران) و بر اساس دستور کار شرکت سازنده کیت صورت گرفت.

کمیت و کیفیت DNA با استفاده از دستگاه نانودراپ مدل ۲۰۰۰ (آمریکا) در طول موج‌های ۲۶۰ نانومتر و ۲۸۰ نانومتر تعیین شد. آزمایش PCR برای شناسایی ژن bla_{TEM} و bla_{PER} با استفاده از پرایمرهای اختصاصی انجام گرفت. توالی پرایمرهای مورد استفاده و طول قطعات حاصل از PCR در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. واکنش PCR با استفاده از ۱۰ میکرولیتر مستر میکس (سیناژن، ایران)، ۱ میکرولیتر از هریک از پرایمرها (۵۰ پیکومول)، ۲ میکرولیتر (۵۰ پیکومول) DNA و آب مقطر دیونیزه استریل تا حجم ۲۰ میکرولیتر انجام شد.

برنامه زمانی PCR با یک سیکل ۹۴ درجه سلسیوس به مدت پنج دقیقه برای واسرشت‌سازی اولیه آغاز شد. سپس با ۳۰ سیکل شامل واسرشت‌سازی در دمای ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال پرایمرها در دمای ۵۵ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه و طویل‌سازی در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت یک دقیقه و ۳۰ ثانیه ادامه یافت. درنهایت ۱ سیکل ۷۲ درجه سلسیوس به مدت پنج دقیقه برای طویل‌سازی نهایی انجام گرفت. واکنش PCR در دستگاه ترمال سایکلر (PEQ STAR، آلمان) انجام شد، سپس محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد (مرک، آلمان) الکتروفورز شدند.

از سویه‌های *کلبسیلا پنومونیه* ATCC700603 و *سودوموناس آئروژینوزا* سویه KOAS به ترتیب به عنوان کنترل مثبت برای ژن‌های TEM و PER استفاده شد [۱۰، ۱۱].

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ و با استفاده از آزمون مربع کای انجام شد و $P\leq ۰/۰۵$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده در این تحقیق

منبع	طول قطعه (bp)	توالی (۵′-۳′)	ژن هدف
۱۰	۴۴۵	F: TCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGA R: ACGCTCACCGGCTCCAGATTTAT	bla_{TEM}
۱۱	۹۲۰	F: ATGAATGTCATTATAAAAGC R: AATTTGGGCTTAGGGCAGAA	bla_{PER}

یافته‌ها

درمجموع، از ۹۷۲ نمونه مشکوک به عفونت ادراری، ۷۸۰ نمونه عفونی تشخیص داده شد و از بین آن‌ها ۵۰۰ ایزوله *اشرشیاکلی* جداسازی شد. میانگین سنی افراد مبتلا ۱۶±۴۵ سال بود. در این بین ۱۶۹ نمونه (۳۳/۸ درصد) مربوط به مردان و ۳۳۱ نمونه (۶۶/۲ درصد) مربوط به زنان بود. از بین ۵۰۰ ایزوله *اشرشیاکلی*، ۱۸۰ ایزوله (۳۶ درصد) از لحاظ تولید بتالاکتاماز، مثبت بودند. تعداد سویه‌های ESBL در زنان (۱۳۲ نمونه؛ ۷۳/۳۳ درصد) بیش از مردان (۸ نمونه؛ ۲۶/۶۷ درصد) بود (P=۰/۰۰۷).

حساسیت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های مولد ESBL در جدول شماره ۲ نشان داده شده است. همان‌طور که در جدول مشاهده می‌شود سویه‌های تولیدکننده بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف نسبت به کوتریموکسازول و سیپروفلوکساسین مقاومت بالایی نشان دادند.

نتایج حاصل از بررسی ژن‌های بتالاکتاماز TEM با استفاده از پرایمرهای اختصاصی در تصویر شماره ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که ژن bla_{TEM} در ۸۵ ایزوله (۴۴/۷۲ درصد) مولد ESBL وجود دارد، در حالی که ژن‌های bla_{PER} در هیچ‌یک از ایزوله‌ها مشاهده نشد.

بحث

در طی دهه‌های گذشته، باسیل‌های گرم منفی تولیدکننده بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف به عنوان پاتوژن‌های مهم در عفونت‌های بیمارستانی و نیز عفونت‌های کسب‌شده از جامعه در سرتاسر جهان پدیدار شده‌اند. آگاهی از مقاومت آنتی‌بیوتیکی این سویه‌ها و میزان شیوع آن‌ها در هر منطقه می‌تواند به کنترل این میکروارگانیسم‌ها کمک کرده و از انتشار این پاتوژن‌ها جلوگیری کند. این مطالعه بر روی ۹۷۲ نمونه ادراری مشکوک به عفونت ادراری که به بیمارستان‌ها و آزمایشگاه‌های شهرستان کرج ارجاع داده شده بود، صورت گرفت. از بین نمونه‌های مورد آزمایش، ۷۸۰ نمونه عفونی تشخیص داده شد و باکتری *اشرشیاکلی* از ۵۰۰ نمونه (۶۴/۱ درصد) جداسازی شد.

در مطالعات انجام‌شده توسط جبرالدینی و همکاران باکتری *اشرشیاکلی* از ۴۳/۷ درصد نمونه‌های عفونی ادرار جدا شد [۱۲]. در مطالعه محمدی و همکاران در سنندج نیز اشریشیاکلی با ۶۳/۹

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲. میزان حساسیت سویه‌های مولد ESBL به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف با روش دیسک دیفیوژن

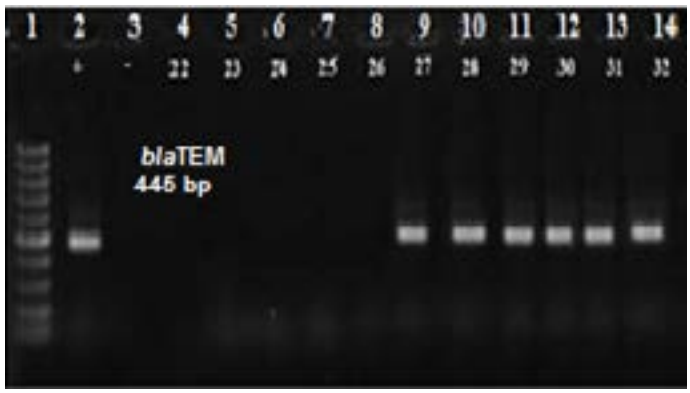
آنتی بیوتیک	تعداد (درصد)		
	حساس	نیمه‌حساس	مقاوم
جنتامایسین	۰	۸۵ (۴۷/۲)	۹۵ (۵۷/۸)
تتراسایکلین	۵۲ (۲۸/۹)	۹ (۵)	۱۱۹ (۶۶/۱)
کوتریماکسازول	۱۱ (۶/۱)	۲ (۱/۱)	۱۶۷ (۹۲/۷)
ایمی پنم	۱۰۸ (۶۰)	۱۸ (۱۰)	۵۴ (۳۰)
آمیکاسین	۱۴۴ (۸۰)	۰	۳۶ (۲۰)
سیپروفلوکساسین	۳۶ (۲۰)	۲ (۱/۱)	۱۴۲ (۷۸/۹)

درصد، شایع‌ترین باکتری جداشده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری بود [۱۳]. نتایج مشابهی در مطالعات انجام‌شده در سایر کشورها به دست آمد [۱۴، ۱۵].

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که شیوع عفونت ادراری در زنان به طور معنی‌داری بالاتر از مردان است. این نتایج با مطالعات انجام‌شده در ایران و سایر کشورها مطابقت دارد [۱۴، ۱۶]. نسبت مردان آلوده به زنان ۱:۱/۹۶ بود. زنان به دلیل کلونیزاسیون مجرای ادرار با باکتری‌های گرم منفی کلون که به دلیل نزدیکی مقعد و مجاری ادراری صورت می‌گیرد، بیشتر در معرض ابتلا به عفونت ادراری هستند [۱۷]. همچنین اکثریت سویه‌های تولیدکننده ESBL نیز در بین زنان مشاهده شد (P=۰/۰۰۷). این نتایج با مطالعات انجام‌شده در ایران در سال ۲۰۱۸ (۸۱/۸ درصد)، نپال در سال ۲۰۱۷ (۸۱/۸ درصد) و هند در سال ۲۰۱۶ (۶۲/۴ درصد) مطابقت دارد [۱۴، ۱۸، ۱۹].

میزان شیوع سویه‌های ESBL مثبت در مطالعه ما ۳۶ درصد بود که با مطالعات انجام‌شده در اصفهان در سال ۲۰۱۴ (۳۶ درصد) مشابه بود [۲۰]. شیوع پایین‌تری از *اشرشیاکلی* مولد ESBL در مطالعات بازی بورون و همکاران در سال ۲۰۱۸ (۲۵/۴ درصد) و اسلامی و همکاران در سال ۲۰۱۶ (۳۰/۵ درصد) مشاهده شد [۱۸، ۲۱]. شیوع سویه‌های مولد ESBL در نقاط مختلف دنیا، متفاوت گزارش شده است. میزان شیوع سویه‌های *اشرشیاکلی* مولد ESBL از ۳/۳ درصد در فرانسه تا ۶۱ درصد در هند متغیر است [۱۹، ۲۲]. نتایج نشان می‌دهد شیوع سویه‌های ESBL در کشورهای مختلف و حتی در بیمارستان‌های مختلف در یک شهر متفاوت است که این امر به دلیل تفاوت در رژیم درمانی به کار گرفته‌شده در مناطق مختلف است. مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها، به‌ویژه سفالوسپورین‌ها از مهم‌ترین عوامل شیوع بالای سویه‌های مولد ESBL است.

سویه‌های تولیدکننده ESBL مشکلات قابل توجهی را در درمان عفونت‌ها ایجاد می‌کنند؛ زیرا این پاتوژن‌ها به محدوده وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام شامل سفالوسپورین‌های نسل سوم مقاومت نشان می‌دهند. به علاوه آن‌ها به طور بالقوه دارای مقاومت کینولونی و کارباپنمی وابسته پلاسمید هستند [۱۴]. مطالعات نشان



تصویر ۱. نتایج حاصل از PCR ژن bla_{TEM} بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد. ستون ۱ سایز مارکر ۱۰۰pb، ستون ۲ کنترل مثبت (*کلبسیلا پنومونیه* ATCC 700603)، ستون ۳ کنترل منفی، ستون ۷-۴ سویه‌های فاقد ژن bla_{TEM} و ستون ۴۱-۹ سویه‌های دارای ژن bla_{TEM}.

www.SID.ir

داده سویه‌های تولیدکننده ESBL در برابر عوامل ضدمیکروبی نظیر تتراسایکلین، فلوروکینولون‌ها، آمینوگلیکوزیدها و تری متوپریم سولفامتوکسازول نیز مقاوم‌اند. الگوی مقاومت مشابهی در این مطالعه مشاهده شد. عوامل متعددی مسئول ایجاد چنین نرخ بالای مقاومت آنتی‌بیوتیکی هستند که شامل استفاده بی‌رویه از عوامل ضدمیکروبی در بیمارستان‌ها و نیز خوددرمانی در جامعه است.

در این مطالعه سویه‌های مولد ESBL مقاومت بالایی به سیپروفلوکساسین نشان دادند (۷۸/۷۵ درصد). در مطالعات انجام‌گرفته توسط بازی بورون و همکاران، دوستی مهاجر و همکاران و نیز اسلامی و همکاران به ترتیب ۶۱، ۵۵ و ۷۶ درصد سویه‌های *اشرشیاکلی* به سیپروفلوکساسین مقاوم بودند [۱۸، ۲۱، ۲۳]. میزان شیوع مقاومت به سیپروفلوکساسین در کشورهای هند (۸۲/۶ درصد) و ترکیه (۸۴ درصد) نیز بالا و مشابه نتایج این تحقیق بود [۱۹، ۲۴]. مطالعات انجام‌گرفته در ایران نشان داده که سیپروفلوکساسین بیش از سایر آنتی‌بیوتیک‌ها برای درمان عفونت‌های ادراری تجویز می‌شود [۲۵] که این امر می‌تواند در افزایش شیوع ایزوله‌های مقاوم به این آنتی‌بیوتیک نقش داشته باشد. افزایش مقاومت به این دارو در مطالعه ما نشان می‌دهد که این دارو به عنوان داروی آنتی‌باکتریال تجربی نمی‌تواند اثربخشی لازم را داشته باشد. همچنین در سویه‌های مورد مطالعه در این تحقیق مقاومت بالایی در برابر آمینوگلیکوزیدها، کارباپنم‌ها و کوتریموکسازول مشاهده شد و مقاومت به دست آمده نسبت به سایر مطالعات انجام‌شده در ایران و خارج از کشور بالاتر بود [۱۸، ۱۹، ۲۰].

معمولاً تولید ESBL با مقاومت به چندین آنتی‌بیوتیک همراه است؛ زیرا ژن‌های بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف توسط پلاسمیدها رمز می‌شوند و این پلاسمیدها معمولاً ژن‌های مقاومت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها را نیز با خود حمل می‌کنند. یکی از یافته‌های نگران‌کننده در این تحقیق، مقاومت بالا نسبت به کار با پنم‌ها است. اگرچه در اغلب مطالعات، ایمی پنم به عنوان داروی مناسب برای درمان عفونت‌های ناشی از سویه‌های مولد ESBL ذکر شده است، اما ایزوله‌های مورد مطالعه در این تحقیق مقاومت بالایی به ایمی پنم داشتند (۳۳ درصد). نتایج حاصل از این تحقیق با مطالعات بابایی همتی و همکاران (۲۰۱۵) و مهدی پور مقدم و همکاران (۲۰۱۵) در رشت (به ترتیب ۳۶/۳۶ و ۳۳/۳۳ درصد) مطابقت دارد [۲۶، ۲۷].

در مطالعه حاضر ۸۵ ایزوله (۴۷/۲ درصد) دارای ژن TEM بودند. در مطالعه رضایی و همکاران فراوانی ژن TEM در بین ایزوله‌های ESBL مثبت ۴۹ درصد گزارش شده بود [۲۸] که با میزان شیوع ایزوله‌های مورد مطالعه در این تحقیق مطابقت دارد. به طور مشابه در مطالعات انجام‌شده در سال ۲۰۱۷ در هند ۴۷/۹۳ درصد ایزوله‌های مولد ESBL دارای ژن TEM بودند [۲۹]. در حالی که شیوع ژن‌های TEM در تایلند ۳۱/۹۳ درصد گزارش شده است [۳۰]. آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در هر بیمارستان با هر منطقه می‌تواند توزیع ژنوتیپ‌های مقاومت را تحت تأثیر قرار دهد. با توجه به اینکه حضور ژن TEM در تقریباً نیمی از ایزوله‌های ESBL مثبت به اثبات رسید، لازم است در مطالعات بعدی سایر ژن‌های مسئول فنوتیپ ESBL نظیر SHV و CTX-M نیز بررسی شود.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه باکتری *اشرشیاکلی* به عنوان شایع‌ترین عامل عفونت ادراری جدا شد. میزان شیوع سویه‌های *اشرشیاکلی* مولد بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف با مقاومت چندداروی بالا بود. نتایج نشان داد که اکثریت سویه‌های ESBL در برابر اغلب آنتی‌بیوتیک هایی که در درمان عفونت‌های ادراری به کار می‌روند، مقاوم هستند. همچنین نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که درصد بالایی از سویه‌های ESBL نسبت به ایمی پنم مقاوم‌اند و ایمی پنم به عنوان داروی انتخابی در درمان عفونت‌های ادراری تأثیر خود را از دست داده است. یافته‌های حاضر باعث افزایش نگرانی در مورد انتشار سویه‌های *اشرشیاکلی* تولیدکننده ESBL می‌شود و بر تشخیص سویه‌های تولیدکننده ESBL در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی و نظارت دقیق بر الگوهای مقاومت آن‌ها تأکید دارد.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این مطالعه با کد IR.IAU.TMU.REC.1396.274 به تصویب کمیته اخلاق پژوهشی دانشگاه علوم‌پزشکی آزاد اسلامی تهران رسیده است.

حامی مالی

این مقاله برگرفته از پایان نامه خانم فریبا ادهم در مقطع کارشناسی ارشد رشته میکروبیولوژی است که با حمایت دانشگاه آزاد اسلامی واحد اسلامشهر انجام شده است

مشارکت نویسندگان

مفهوم سازی، روش شناسی، اعتبار سنجی، نظارت، تجزیه و تحلیل داده‌ها ، تهیه پیش‌نویس اولیه، ویرایش و بررسی: مریم قانع؛ تحقیق، منابع، آزمایش و تجزیه و تحلیل داده‌ها: فریبا ادهم.

تعارض منافع

بدین‌وسیله نویسندگان تصریح می‌کنند که هیچ‌گونه تضاد منافعی در خصوص این پژوهش وجود ندارد.

www.SID.ir

References

[1] Jena J, Debata N K, Subudhi E. Prevalence of extended-spectrum-beta-lactamase and metallo-beta-lactamase producing multi drug resistance gram- negative bacteria from urinary isolates. Indian J Med Microbiol. 2013; 3(31):420-1. [DOI:10.4103/0255-0857.118890] [PMID]

[2] Gonzalez CM, Schaeffer AJ. Treatment of urinary tract infection: What's old, what's new, and what works. World J Urol. 1999; 17(6):372-82. [DOI:10.1007/s003450050163] [PMID]

[3] Pitout JD, Sanders CC, Sanders WE. Antimicrobial resistance with focus on beta-lactam resistance in gram-negative bacilli. Am J Med. 1997; 103:51-9. [DOI:10.1016/S0002-9343(97)00044-2]

[4] Worthington RJ, Melander C. Overcoming resistance to β-lactam antibiotics. J Org Chem. 2013; 78(9):4207-13. [DOI:10.1021/jo400236f] [PMID] [PMCID]

[5] Bagattini M, Crivaro V, Di Popolo A, Gentile F, Scarcella A, Triassi M, et al. Molecular epidemiology of extended-spectrum beta-lactamase-producing Klebsiella pneumoniae in a neonatal intensive care unit. J Antimicrob Chemother. 2006; 57(5):979-82. [DOI:10.1093/jac/dkl077] [PMID]

[6] Tenover FC, Raney PM, Williams PP, Rasheed JK, Biddle JW, Oliver A, et al. Evaluation of the NCCLS extended-spectrum β-lactamase confirmation methods for Escherichia coli with isolates collected during project ICARE. J Clin Microbiol. 3003; 41(7):3142-6. [DOI:10.1128/JCM.41.7.3142-3146.2003] [PMID] [PMCID]

[7] Tada T, Shrestha S, Shimada K, Ohara H, Sherchand JB, Pokhrel BM, et al. PER-8, a novel extended-spectrum β-lactamase per variant, from an Acinetobacter baumannii clinical isolate in Nepal. Antimicrob Agents Chemother. 2017; 23:61(3). [DOI:10.1128/AAC.02300-16] [PMID] [PMCID]

[8] Versalovic J, Carroll KC, Funke G, Jorgensen JH, Landry ML, Warnock DW. Manual of clinical microbiology. 10th ed. Washington D.C: American Society of Microbiology; 2011. [DOI:10.1128/9781555816728]

[9] Wayne P. M100 Performance standards for antimicrobial susceptibility testing 27th ed. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI); 2017.

[10] Monstain HJ, Ostholm- Balkhed A, Nilsson MV, Nilsson M, Dornbusch K, Nilsson LE. Multiplex amplification assay for detection of blaSHV, blaTEM and blaCTX-M genes in Enterobacteriaceae. APMIS. 2007; 115(12):1400-8. [DOI:10.1111/j.1600-0463.2007.00722.x] [PMID]

[11] Weldhagen GF, Poirel L, Nordmann P. Ambler class A extended-spectrum beta-lactamases in Pseudomonas aeruginosa: novel developments and clinical impact. Antimicrob Agents Chemother. 2003; 47(8):2385-92. [DOI:10.1128/AAC.47.8.2385-2392.2003] [PMID] [PMCID]

[12] Jabrodini A, Heidari F, Taghavi SF, Shokouh MR. [The investigation of frequency and antibiotic resistance pattern of Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae Isolated from urinary tract infection in outpatients referred to Amiralmomenin Ali hospital in Gerash city in 2017: A short Report (Persian)]. J Rafsanjan Univ Med Sci. 2018; 17:(1)75-84.

[13] Mohammadi S, Ramazanzade R, Zandi S, Rouhi S, Mohammadi B. [Determination of prevalence of isolated bacteria from urinary tracts and antibiotic resistant pattern of them in Tohid hospital of Sanandaj (2013-2014) (Persian)]. Zanko J Med Sci. 2015; 50(16):55-62.

[14] Shakya P, Shrestha D, Maharjan E, Sharma VK, Paudyal R. ESBL production among E. coli and Klebsiella spp. causing urinary tract infection: A hospital based study. Open Microbiol J. 2017; 11:23-30. [DOI:10.2174/1874285801711010023] [PMID] [PMCID]

[15] Khawcharoenporn T, Vasoo S, Singh K. Urinary tract infections due to multidrug-resistant enterobacteriaceae: Prevalence and risk factors in a Chicago emergency department. Emerg Med Int. 2013; 2013:258517. [DOI:10.1155/2013/258517] [PMID] [PMCID]

[16] Molazade A, Gholami MS , Shahi A, Najafipour S, Mobasheri F, Ashraf Mansuri JA. et al. [Evaluation of antibiotic resistance pattern of isolated gram-negative bacteria from urine culture of hospitalized patients in different wards of vali asr hospital in Fasa during the years 2012 and 2013 (Persian)]. J Fasa Univ Med Sci. 2014; 4(2):275-83.

[17] Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. 12th ed. Maryland Heights: Mosby Elsevier; 2007.

[18] Baziboroun M, Bayani M, Poormontaseri Z, Shokri M, Tahmineh Biazar T. Prevalence and antibiotic susceptibility pattern of extended spectrum beta lactamases producing Escherichia coli isolated from outpatients with urinary tract infections in Babol, northern of Iran. Curr Issues Pharm Med Sci. 2018; 31(2):61-4. [DOI:10.1515/cipms-2018-0013]

[19] Singh N, Pattnaik D, Neogi DK, Jena J, Mallick B. Prevalence of ESBL in Escherichia coli isolates among ICU patients in a tertiary care hospital. J Clin Diagn Res. 2016; 10(9):19-22. [DOI:10.7860/JCDR/2016/21260.8544] [PMID] [PMCID]

[20] 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. [PMID] [PMCID]

[21] Eslami G, Rezaie MS, Salehifar E, Rafiei A, Langaie T, Rafati M, et al. [Epidemiology of extended spectrum beta lactamases producing E. coli genes in strains isolated from children with urinary tract infection in north of Iran (Persian)]. J Mazandaran Univ Med Sci. 2016; 25(132):270-9.

[22] Martin D, Fougnot S, Grobost F, Thibaut-Jovelin S, Ballereau F, Gueudet T, et al. Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase producing Escherichia coli in community-onset urinary tract infections in France in 2013. J Infect. 2016; 72(2):201-6. [DOI:10.1016/j.jinf.2015.11.009] [PMID]

[23] Doosti Mohajer M, Pajavand H, Abiri R, Alvand A. [Phenotypic and Genotypic Efflux pumps in resistance to Fluoroquinolonesin E.coli isolated from inpatientsin Kermanshah hospitals in 2013 (Persian)]. Arak Med Uni J. 2017; 20(126):22-32.

[24] Azap OK, Arslan H, Serefhanoğlu K, Colakoğlu S, Erdoğan H, Timurkaynak F, et al. Risk factors for extended-spectrum beta-lactamase positivity in uropathogenic Escherichia coli isolated from community-acquired urinary tract infections. Clin Microbiol Infect. 2010; 16(2):147-51. [DOI:10.1111/j.1469-0691.2009.02941.x] [PMID]

[25] Hashemi S, Nasrollah A, Rajabi M. Irrational antibiotic prescribing: A local issue or global concern? EXCLI J. 2013; 12:384-95. [PMID] [PMCID]

[26] Babaei Hemmati T, Mehdipour Moghaddam MJ, Salehi Z, Habibzadeh SM. Prevalence of CTX-M-Type β-lactamases in multi-drug resistant Escherichia coli isolates from north of Iran, Rasht. Biol J Microorg. 2015; 3:69-78.

[27] Mehdipour Moghaddam MJ, Mirbagheri AA, Salehi Z, Habibzade SM. Prevalence of class 1 integrons and extended spectrum beta lactamases among multi-drug resistant Escherichia coli isolates from north of Iran. Iran Biomed J. 2015; 19(4):233-9. [DOI:10.7508/ibj.2015.04.007] [PMID] [PMCID]

www.SID.ir

[28] 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 Res Int. 2015; 2015:309478 [DOI:10.1155/2015/309478] [PMID] [PMCID]

[29] Jena J, Sahoo RK, Debata NK, Subudhi E. Prevalence of TEM, SHV, and CTX-M genes of extended-spectrum β-lactamase-producing Escherichia coli strains isolated from urinary tract infections in adults. 3 Biotech. 2017; 7(4):244. [DOI:10.1007/s13205-017-0879-2] [PMID] [PMCID]

[30] Bubpamala J, Khuntayaporn P, Thirapanmethee K, Montakantikul P, Santanirand P, Chomnawang MT. Phenotypic and genotypic characterizations of extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli in Thailand. Infect Drug Resist. 2018; 11: 2151-7. [DOI:10.2147/IDR.S174506] [PMID] [PMCID]

www.SID.ir