مقاله پژوهشی

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۱۹، شماره۳، خرداد ۱۳۹۳(شماره پی در پی۸٦)

ارزیابی فراوانی *اشرشیا کلی‌های* تولیدکننده بتالاکتاماز وسیع‌الطیف در کودکان بستری و سرپایی شهر یاسوج

محمد کارگر[1*]، محسن غلامی[1]، عباس دوستی[2]، اکرم نجفی[3]، وحید آیین[1]

[1] گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، جهرم، ایران، [2]مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران، [3] گروه میکروبیولوژی دریا، مرکز تحقیقات زیست فن‌آوری دریایی خلیج فارس، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران

تاریخ وصول: ۱۳۹۲/٦/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۹/۱٦

چکیده

زمینه و هدف: *اشرشیاکلی* تولید کننده بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف به دلیل مقاومت گسترده به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌های رایج مشکلات درمانی زیادی را ایجاد نموده‌اند. هدف این مطالعه ارزیابی فراوانی *اشرشیاکلی‌های* تولید کننده بتالاکتاماز وسیع‌الطیف در کودکان بستری و سرپایی شهر یاسوج بود.

روش بررسی: این مطالعه مقطعی- توصیفی بر روی ۳۰۰ نمونه *اشرشیاکلی* جداسازی شده از کودکان مبتلا به اسهال مراجعه کننده و یا بستری شده در بیمارستان امام سجاد (ع) و آزمایشگاه های خصوصی شهر یاسوج انجام شد. به منظور تأیید سویه‌های *اشریشیاکلی* از محیط‌های کشت انتخابی و آزمون‌های بیوشیمیایی استفاده گردید. غربالگری فنوتیپی سویه‌های بتالاکتاماز وسیع‌الطیف با استفاده از روش دابل دیسک سینرژیسم و حساسیت سویه‌ها به ۱۳ آنتی‌بیوتیک با روش دیسک دیفیوژن مورد ارزیابی قرار گرفت. داده‌ها با آزمون آماری مجذور کای آنالیز شدند.

یافته‌ها: ۲٦ درصد از *اشریشیاکلی* جداسازی شده، قادر به تولید بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف بودند. کودکان کمتر از ۲ سال (۸۵/۹ درصد) بالاترین میزان ابتلا به سویه‌های اشیرشیاکلی تولید کننده را داشتند. ٦۱/۵ درصد از موارد مثبت *اشریشیاکلی* تولید کننده بتالاکتاماز وسیع‌الطیف در بیماران سرپایی و ۳۸/۵ درصد در بیماران بستری شناسایی گردید. سویه‌های بتالاکتاماز وسیع‌الطیف بیشترین مقاومت را به ترتیب نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سفتی زوکسیم (۵۰ درصد)، سفکسیم (٤۷/٤ درصد) و نالیدیکسیک اسید (۳۸/۵ درصد) و نیز کمترین مقاومت را نسبت به سیپروفلوکساسین (۳/۸ درصد) و ایمی‌پنم (۲/٦ درصد) نشان دادند.

نتیجه‌گیری: نتایج این پژوهش شیوع قابل توجه *اشریشیاکلی* تولید کننده بتالاکتاماز وسیع‌الطیف را در بیماران نشان داد. بنابراین پایش مستمر و شناسایی سریع این سویه‌ها می‌تواند نقش مهمی‌در جلوگیری از گسترش ژن های بتالاکتاماز وسیع‌الطیف داشته باشد.

واژه های کلیدی: *اشریشیاکلی*، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، بتالاکتاماز وسیع‌الطیف، کودکان

[*] **نویسنده مسئول: دکتر محمد کارگر**، جهرم، دانشگاه آزاد اسلامی، گروه میکروبیولوژی

Email: mkargar@jia.ac.ir

Archive of SID

SID.ir

مقدمه

امروزه به دلیل استفاده بی رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها و به دنبال آن مقاومت عوامل بیماری‌زا به این داروها، مشکلات عمده‌ای در درمان عفونت‌های باکتریایی در انسان به وجود آمده است. در این میان مصرف آنتی‌بیوتیک‌های گروه بتالاکتام که جهت درمان عفونت‌های ناشی از *اشریشیاکلی*(*E.coli*) استفاده می‌شوند، عامل ایجاد برخی از این مقاومت‌ها می‌باشند(۱). بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف[1](ESBL) گروهی از آنزیم‌ها هستند که قادر به هیدرولیز و غیرفعال نمودن تعداد زیادی از آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام مانند انواع پنی سیلین‌ها، سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف و آزترئونام می‌باشند(۲)، اما به مهار کننده‌های بتالاکتامازی مانند کلاوولانات، سولباکتام و تازوباکتام حساس می‌باشند(۳). این آنزیم‌ها برای اولین بار در سال ۱۹۸۳ در آلمان و در باکتری *کلبسیلا پنومونیه* (*Klebsiella pneumoniae*) شناسایی گردیدند(٤). سپس به تدریج در گونه‌های مختلف انتروباکتریاسه یافت شدند، اما در این میان باکتری *اشریشیاکلی* بیشترین شیوع را در سراسر جهان داشته است(٥). به طوری که انجمن بیماری‌های عفونی آمریکا در گزارشی سویه‌های *اشرشیاکلی* تولید کننده ESBL را به عنوان مهم‌ترین باکتری مقاوم به آنتی‌بیوتیک معرفی نموده است(٦). در سال‌های اخیر، سویه‌های تولید کننده ESBL مورد توجه بسیاری از محققین قرار گرفته است. زیرا این سویه‌ها به دلیل الگوی مقاومت دارویی گسترده توانسته‌اند موجب افزایش شیوع عفونت باکتریایی و حتی مرگ و میر در بیماران سرپایی و بستری در بیمارستان به ویژه کودکان گردند(۷). مطالعات انجام شده در سراسر جهان نشان می‌دهد که سویه‌های *اشرشیاکلی* تولید کننده ESBL موجب بروز ۳/۳ تا ٤۱/٤ درصد از عفونت‌های باکتریایی در کودکان می‌شوند(۱۰-۷).

ژن تولید کننده بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف بر روی پلاسمید یا کروموزوم باکتری قرار گرفته اند و با سازوکارهای انتقال ژنتیکی به سویه‌های غیر مقاوم (فاقدESBL) همین گونه‌ها و سایر انتروباکتریاسه منتقل شده و مقاومت آنتی‌بیوتیکی را گسترش می‌دهند(۱۱). آزمون‌های تعیین حساسیت معمول که در آزمایشگاه‌های بالینی انجام می‌شوند قادر به تشخیص سویه‌های ESBL نبوده و حتی گاهی سویه‌های مقاوم به سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف را حساس گزارش می‌کنند (۱۲). بنابراین با توجه به نکات ذکر شده ارزیابی شیوع باکتری های تولید کننده ESBL در نقاط مختلف، به منظور درمان صحیح عفونت‌های ایجاد شده به وسیله این ارگانیسم‌های مقاوم ضروری می‌باشد. این مطالعه با هدف بررسی دموگرافیک *اشرشیاکلی* تولید کننده ESBL در کودکان کمتر از ٦ سال مبتلا به اسهال و نیز تعیین الگوی

1-Extended- spectrum β-lactamase(ESBL)

Archive of SID

www.SID.ir

مقاومت آنتی‌بیوتیکی این سویه‌ها در شهر یاسوج انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه مقطعی ــ توصیفی از بهمن ماه ۱۳۹۰ تا تیر ماه ۱۳۹۱ بر روی ۳۰۰ نمونه *اشرشیاکلی* جداسازی شده از کودکان کمتر از ٦ سال مبتلا به اسهال مراجعه کننده و یا بستری شده در بیمارستان امام سجاد (ع) و آزمایشگاه‌های خصوصی شهر یاسوج انجام شد. در تمام موارد اطلاعات مربوط به سن، جنس، محل سکونت، علایم بالینی در پرسشنامه تنظیمی ثبت گردید. در این مطالعه تمامی نمونه‌ها مطابق با اصول اخلاقی ارایه شده به وسیله دانشگاه علوم پزشکی یاسوج جمع‌آوری شدند. تمامی‌نمونه‌های مدفوعی با رعایت شرایط استریل به آزمایشگاه میکروب‌شناسی بیمارستان امام سجاد(ع) منتقل شده و بر روی محیط‌های بلاد آگار، مک کانکی و ائوزین متیلن بلو (مرک، آلمان) کشت داده شدند. به منظور تأیید سویه‌های *اشریشیاکلی* از آزمون‌های بیوشیمیایی تخمیر گلوکز، لاکتوز، تولید گاز، تولید اندول از تریپتوفان، واکنش ووگس ـ پروسکوئر (تولید استیل متیل کاربینول از دکستروز)، بر روی محیط‌های TSI، SIM و MR – VP (مرک، آلمان) استفاده گردید(۱۳).

حساسیت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های *اشریشیاکلی* با روش انتشار دیسک طبق توصیه مؤسسه استاندارد آزمایشگاهی و بالینی(CLSI)(١٤) نسبت به ۱۳ آنتی‌بیوتیک شامل؛ آمیکاسین (۳۰میکروگرم)، ایمی‌پنم (۱۰ میکروگرم)، سفتازیدیم (۳۰ میکروگرم)، سفتریاکسون (۳۰ میکروگرم)، سفیکسیم (۵ میکروگرم)، سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرم)، سفتیزوکسیم (۳۰ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، مروپنم (۱۰ میکروگرم)، تریمتوپریم- سولفومتاکسازول (۲۳/۷۵ + ۱/۲۵ میکروگرم)، نالیدیکسیک اسید (۳۰ میکروگرم)، افلوکساسین (۵ میکروگرم) و نورفلوکساسین (۱۰ میکروگرم) (شرکت رسکو، دانمارک) مورد ارزیابی قرار گرفت. در این پژوهش از سویه استاندارد *اشریشیاکلی* (ATCC25922) به عنوان کنترل استفاده گردید.

فعالیت ESBL سویه‌های *اشریشیاکلی* نیز با استفاده از روش دابل دیسک سینرژیسم (DDST) مورد بررسی قرار گرفت. در این تست ابتدا دیسک حاوی آموکسی‌سیلین/ کلاونیک اسید (۲۰+۱۰ µg) در مرکز محیط مولر هینتون آگار (مرک، آلمان) قرار داده شد. سپس دیسک‌های حاوی سفتازیدیم (۳۰ میکروگرم) و سفوتاکسیم(۳۰ میکروگرم) با فاصله ۱۵ میلی‌متری از دیسک اولیه قرار داده شدند. در ادامه انکوباسیون به مدت ٢٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت. تولید بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف به وسیله سویه‌های *اشریشیاکلی* از طریق افزایش قطر هاله عدم رشد به اندازه بزرگتر یا مساوی ۵

Archive of SID

www.SID.ir

میلی‌متر نسبت به سفتازیدیم و سفوتاکسیم در ترکیب هر کدام از آنها با کلاولانیک اسید تأیید گردید.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون آماری مجذور کای تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

در این پژوهش از ۳۰۰ باکتری *اشریشیاکلی* جداسازی شده، ۷۸ سویه (۲٦ درصد) قادر به تولید بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف(ESBL) بودند. ٦۱/۵ درصد (٤۸ مورد) از موارد مثبت *اشریشیاکلی* تولید کننده ESBL در بیماران سرپایی و ۳۸/۵ درصد (۳۰ مورد) در بیماران بستری شده در بیمارستان شناسایی گردید. از ۱٦۲ دختر مورد مطالعه، ۳٤ نفر (٤۳/٦ درصد) و از ۱۳۸ پسر مورد بررسی ٤٤ نفر (٥٦/٤٪) به عفونت باکتریایی با سویه‌های مبتلا بودند.

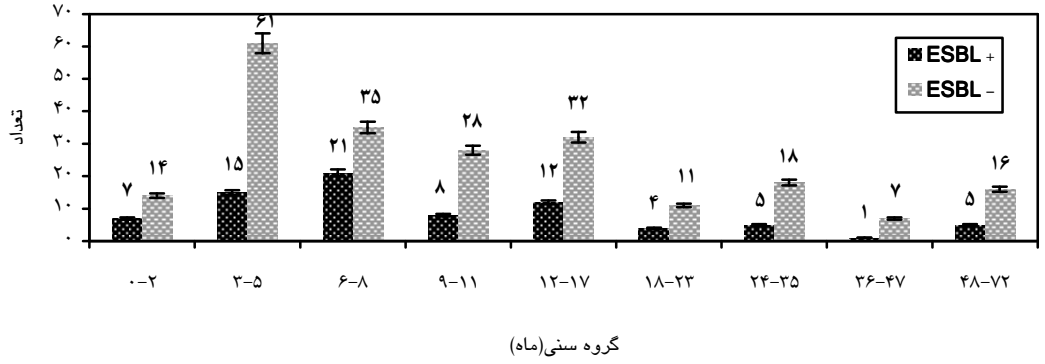
در این مطالعه کودکان کمتر از ۲ سال (۸٥/۹ درصد) بالاترین میزان ابتلا به سویه‌های ESBL را نشان دادند. هم‌چنین بر اساس گروه سنی بیشترین شیوع *اشریشیاکلی* تولید کننده بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف مربوط به گروه سنی ۸ـ٦ ماه (۲٦/۹ درصد) و کمترین میزان شیوع مربوط به گروه سنی ٤۷ـ۳٦ ماه (۱/۳ درصد) بود. بر اساس این نتایج، بین گروه سنی و نوع سویه‌های جداسازی شده (دارای ESBLو فاقد ESBL) رابطه معنی‌دار وجود نداشت(۰/۰٥ <p)(نمودار۱).

در پژوهش حاضر بیشترین فراوانی سویه‌های ESBL در اسفندماه(۲٥/٦ درصد) و کمترین آن در تیر ماه (٥/۱ درصد) مشاهده گردید. در جدول ۱ مهم‌ترین علایم بالینی شناسایی شده در کودکان کمتر از ٦ سال مبتلا به اسهال ایجاد شده به وسیله سویه‌های *اشریشیاکلی* نشان داده شده است. همان گونه که مشخص است بیشترین شیوع سویه‌های ESBL (۲۱/۸ درصد) در بیمارانی مشاهده گردید که به طور هم زمان دارای علایم تب، استفراغ و اسهال حاد بوده‌اند.

نتایج به دست آمده از آزمون دیسک دیفیوژن نشان می‌دهد که سویه‌های ESBL بیشترین مقاومت را به ترتیب نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سفتی زوکسیم (٥۰ درصد)، سفکسیم (٤۷/٤ درصد) و نالیدیکسیک اسید (۳۸/٥درصد) داشتند، در حالی که این سویه‌ها کمترین مقاومت را نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین(۳/۸ درصد) و ایمی‌پنم(۲/٦ درصد) نشان دادند. در مقایسه مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین سویه‌های *اشریشیاکلی* تولید کننده ESBL و سویه‌های که آن را تولید نمی‌کنند(فاقدESBL)، ارتباط معنی‌داری برای آنتی‌بیوتیک‌های سفتازیدیم، سفتریاکسون، سفکسیم، سفوتاکسیم، سفتیزوکسیم، مروپنم، نالیدیکسیک اسید و نورفلوکساسین مشاهده گردید(p<۰/۰٥)(جدول ۲).

Archive of SID

www.SID.ir



نمودار ۱: مقایسه فراوانی سویه‌های *اشریشیاکلی* تولید کننده ESBL و سویه‌های غیر ESBL در گروه های سنی مورد بررسی

جدول ۱: مقایسه فراوانی نسبی مهم‌ترین علایم بالینی شناسایی شده در کودکان مبتلا به اسهال ایجاد شده به وسیله سویه‌های *اشریشیاکلی* تولید کننده ESBL و سویه‌های غیر ESBL

علایم بالینی	دارای ESBL (تعداد=۷۸) تعداد(در صد)	فاقدESBL(تعداد=۲۲۲) تعداد(در صد)
اسهال حاد	۵(٦/٤)	۹(٤/۱)
اسهال خفیف	٦(۷/۷)	۱٤(٦/۳)
تب + اسهال حاد	٦(۷/۷)	۱۳(٥/۹)
تب + اسهال خفیف	۸(۱۰/۳)	۱٤(٦/۳)
استفراغ + اسهال حاد	۸(۱۰/۳)	۲۹(۱۳/۱)
استفراغ + اسهال خفیف	۱۰(۱۲/۸)	۲٥(۱۱/۳)
تب + استفراغ + اسهال حاد	۱۷(۲۱/۸)	٦٦(۲۹/۷)
تب + استفراغ + اسهال خفیف	۱٦(۲۰/٥)	٤۲(۱۸/۹)
تب + اسهال حاد + اسهال خفیف	۱(۱/۳)	٦(۲/۷)
استفراغ + اسهال حاد + اسهال خفیف	۱(۱/۳)	٤(۱/۸)

جدول ۲: مقایسه فراوانی نسبی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های *اشریشیاکلی* تولید کننده ESBL و سویه‌های غیر ESBL

آنتی‌بیوتیک‌ها	دارای بتالاکتاماز (تعداد=۷۸) تعداد(در صد)	فاقد بتالاکتاماز (تعداد=۲۲۲) تعداد(در صد)
سفوتاکسیم	۱٥(۱۹/۲)	۱۳۳(٥۹/۹)
سفتازیدیم	۹(۱۱/٥)	۸۲(۳٦/۹)
نورفلوکساسین	۱۰(۱۲/۸)	٤٥(۲۰/۳)
آفلوکساسین	۱۱(۱٤/۱)	٥٤(۲٤/۳)
نالیدیکسیک اسید	۳۰(۳۸/٥)	۱۲۱(٥٤/٥)
تریمتوپریم- سولفومتاکسازول	۱۸(۲۳/۱)	۱۳٥(٦۰/۸)
مروپنم	۷(۹)	٥۲(۲۳/٤)
ایمی‌پنم	۲(۲/٦)	۱٤(٦/۳)
آمیکاسین	٦(۷/۷)	۲۰(۹)
سیپروفلوکساسین	۳(۳/۸)	۲۱(۹/٥)
سفتیزوکسیم	۳۹(٥۰)	۱۷۱(۷۷)
سفیکسیم	۳۷(٤۷/٤)	۱٤۹(٦۷/۱)
سفتریاکسون	٦(۷/۷)	۸۳(۳۷/٤)

Archive of SID

www.SID.ir

بحث

باکتری *اشریشیاکلی* مهم‌ترین عضو خانواده انتروباکتریاسه و عامل اصلی بسیاری از عفونت‌ها مانند؛ سپسیس، منتژیت، گاستروانتریت و عفونت‌های ادراری می‌باشد(۱۳). یکی از دلایل مهمی که امروزه این باکتری بیشتر مورد توجه قرار گرفته است، توانایی تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع‌الطیف و به دنبال آن افزایش چشمگیر مقاومت در برابر گروه های مختلف آنتی‌بیوتیکی می‌باشد (۱۵). پژوهش حاضر با هدف بررسی فراوانی *اشرشیاکلی* تولید کننده ESBL در کودکان مبتلا به اسهال و نیز تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی این سویه‌ها در شهر یاسوج انجام گردید.

در این مطالعه ۲٦ درصد از سویه‌های *اشریشیاکلی* جداسازی شده، قادر به تولید بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف بودند. بررسی‌های انجام شده در لبنان و تایلند نشان می‌دهد که میزان شیوع سویه‌های ESBL در کودکان به ترتیب ۲۸/۱ و ۲۷ درصد بوده است(۱٦ و۱۷). این یافته ها از نظر فراوانی با نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر هم خوانی دارد. هاوسر و همکاران(۲۰۱۱) با بررسی ۱۳ کشور اروپایی دریافتند که میزان شیوع سویه‌های *اشرشیاکلی* تولید کننده ESBL، ۱۱ درصد بوده است(۱۸). در بررسی دیگری که در سال ۲۰۰۵ در اسپانیا انجام گرفت مشخص گردید که ۳/۳ درصد از ایزوله های *اشریشیاکلی*، تولید کننده ESBL هستند(۱۹). هم‌چنین یافته های وارایوا و همکاران(۲۰۰۸) و نیز اولا و همکاران(۲۰۰۹) به ترتیب حاکی از شیوع ٤٦/٥١ و ٥٦/۹ درصد سویه‌هایESBL بوده است.

مطالعات اپیدمیولوژیک انجام شده در ایران نیز نشان می‌دهد که میزان شیوع سویه‌های ESBL از ۱٥/٦۲ تا ٦٤ درصد در حال تغییر بوده است(۱۳ و ۲٥-۲۲). در مجموع مقایسه این نتایج نشان می‌دهد که فراوانی سویه‌های ESBL از کشورها و هم‌چنین در یک کشور از یک بیمارستان با بیمارستان دیگر متفاوت می‌باشد. شاید بتوان علت این امر را تفاوت در سیستم کنترل عفونت و رژیم درمانی در هر کشور، منطقه و یا شهر دانست. ریسک فاکتورهای مختلفی در افزایش میزان باکتری های تولید کننده ESBL دخالت دارند. از این میان می‌توان به طولانی بودن مدت زمان بستری در بیمارستان، مصرف بیش از اندازه آنتی‌بیوتیک‌ها (از جمله سفالوسپورین های نسل سوم)، استفاده از کاتترهای عروقی و ادراری، سابقه جراحی و کاربرد غیر اصولی و ناکافی درمان های ضد میکروبی اشاره نمود (۲٦).

در پژوهش حاضر ٥ مورد مثبت *اشریشیاکلی* تولید کننده ESBL در بیماران سرپایی بسیار بیشتر از بیماران بستری شده در بیمارستان بوده است. ریاحی زنیانی و همکاران (۲۰۱۱) در مشهد نشان دادند که میزان شیوع سویه‌های ESBL در بیماران سرپایی و بستری به ترتیب به میزان ٤۲/۱ و ٥۷/۹ درصد بوده است(۲۳). هم‌چنین جلال پور و همکاران (۲۰۱۲) در مطالعه دیگری در اصفهان دریافتند که بیماران

Archive of SID

www.SID.ir

سرپایی و بستری به ترتیب ۱۷ و ۵۸ درصد از موارد مثبت *اشریشیاکلی* تولید کننده ESBL را به خود اختصاص داده‌اند(۲۷). این یافته‌ها با نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر مطابقت ندارد. شاید بتوان علت این امر را تفاوت در تعداد جمعیت مورد بررسی در بیمارستان و موارد سرپایی دانست.

مقایسه نتایج الگوهای حساسیت آنتی‌بیوتیکی در سویه‌های *اشریشیاکلی* تولید کننده ESBL به دست آمده از این مطالعه و نتایج حاصل از تحقیق یزدی و همکاران(۲٤) و بارگوگوا و همکاران (۲۰۱۳) بیان کننده افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سوش‌های بالینی *اشریشیاکلی* تولید کننده بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف می‌باشد. این امر به ویژه در مورد آنتی‌بیوتیک‌های سفتازیدیم، سفوتاکسیم، نالیدیکسیک اسید و سفتی زوکسیم چشمگیر می‌باشد(۲۸ و ۲٤).

در این مطالعه مقایسه الگوی مقاومت *اشریشیاکلی* تولید کننده ESBL و *اشریشیاکلی* که ESBL تولید نمی‌کند، نشان داد که میزان مقاومت سویه‌های ESBL نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های گروه سفالوسپورین و کینولون‌ها بسیار بالا می‌باشد. این یافته با نتایج به دست آمده در مطالعه هاوسر و همکاران و نیز حسن و همکاران مطابقت دارد(۱۸ و ۲۹). این نتیجه را می‌توان چنین توجیه نمود که پلاسمیدهای حامل ژن بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف ممکن است ژن‌های مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های غیربتالاکتام را به باکتری‌های دیگر نیز انتقال دهند. شریف زاده و همکاران (۲۰۰٤) در مطالعه ای در شهرکرد دریافتند که ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی توانایی انتقال به سایر اعضای خانواده انتروباکتریاسه را نیز دارد. به طوری که این امر می‌تواند منجر به افزایش روزافزون مقاومت دارویی این خانواده گردد(۳۰). ایمی‌پنم یکی از آنتی‌بیوتیک‌های گروه کرباپنم می‌باشد که دارای اثر مهاری چشمگیری بر روی انتروباکتریاسه‌های مولد ESBL می‌باشد(۳۱). در پژوهش حاضر تنها ۲/٦ درصد از سویه‌های *اشریشیاکلی* تولید کننده ESBL به این آنتی‌بیوتیک مقاوم بوده اند. این یافته با نتایج به دست آمده در ایران و سایر نقاط جهان از جمله ۱۳ کشور اروپایی، موراکو، پاکستان و ماداگاسکار(۳۲ و۲۹، ۲۸، ۱۸، ۸) مطابقت دارد. به نظر می‌رسد که این کاهش مقاومت به دلیل تجویز محدودتر این آنتی‌بیوتیک در مراکز درمانی می‌باشد. با وجود آسان و سریع بودن روش فنوتیپی جهت شناسایی سویه‌های ESBL، اما این روش به تنهایی برای تشخیص قطعی سویه‌های ESBL کافی نیست. بنابراین پیشنهاد می‌گردد که در کنار این روش از تکنیک‌های مولکولی نظیر PCR نیز استفاده نمود.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش شیوع قابل توجه *اشریشیاکلی* تولید کننده ESBL را در بیماران سرپایی و بستری نشان می‌دهد. بنابراین پایش مستمر و شناسایی سریع این سویه‌ها می‌تواند نقش مهمی در جلوگیری از گسترش ژن های بتالاکتاماز

Archive of SID

www.SID.ir

وسیع‌الطیف داشته باشد. با توجه به شیوع بالای سویه‌های *اشریشیاکلی* مولد ESBL و مقاوم به سفالوسپورین‌ها و کینولون‌ها، پیشنهاد می‌گردد که شناسایی دقیق‌تر این سویه‌ها در دستور کار آزمایشگاه‌های تشخیص طبی قرار گیرد. از طرفی تجویز آنتی‌بیوتیک‌های گروه سفالوسپورین به سویه‌های حساس محدود گردد.

تقدیر و تشکر

این مطالعه بخشی از نتایج پایان نامه کارشناسی ارشد میکروب شناسی مصوب دانشگاه آزاد اسلامی‌واحد جهرم به شماره ۸۸۳۲۵ بود. نویسندگان مقاله مراتب قدردانی و تشکر خود را از معاون پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی‌واحد جهرم و همچنین پرسنل مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد اسلامی‌واحد شهرکرد به‌دلیل حمایت‌های اجرایی اعلام می‌دارند.

Archive of SID

www.SID.ir

REFERENCES

1.Bin C, Hui W, Renyuan Z, Yongzhong N, Xiuli X, Yingchun X, et al. Outcome of cephalosporin treatment of bacteremia due to CTX-M–type extended-spectrum b-lactamase producing *Escherichia coli*. Diagn Microbiol Infect Dis 2006; 56: 351–7.

2.Gona F, Mezzatesta ML, Scriffignano V, Stefani S, Corona D, Veroux P. *Klebsiella pneumoniae* ESBL producers responsible for severe UTIs in a renal transplant unit. Infection 2011; 39: 83-5. D

3.Ndugulile F, Jureen R, Harthug S, Urassa W, Langeland N. Extended spectrum β- lactamases among Gram-negative bacteria of nosocomial origin from an Intensive Care Unit of a tertiary health facility in Tanzania. BMC Infect Dis 2005; 5: 86.

4.Knothe H, Shah P, Kreméry V, Antal M, Mitsuhashi S. Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. Infection 1983; 11: 315-7.

5.Galas M, Decousser JW, Breton N, Godard T, Allouch PY, Pina P. College de Bacteriology Virology hygiene (ColBVH) study group. Nationwide study of the prevalence, characteristics, and molecular epidemiology of extended spectrum beta- lactamase producing Enterobacteriaceae in France. Antimicrob Agents Chemother 2008; 52: 786-9.

6.Peirano G, Sang JHK, Pitondo–Silva A, Pitout JDD, Laupland KB. Molecular epidemiology of extended spectrum b- lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* over a 10 year period in Calgary, Canada. J Antimicrob Chemother 2012; 67: 1114-20.

7.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: 1481-91.

8.Rakotonirina HC, Garin B, Randrianirina F, Richard V, Talarmin A, Arlet G. Molecular characterization of multidrug-resistant extended spectrum ß –lactamase producing Enterobacteriaceae isolated in Antananarivo, Madagascar. BMC Microbiol 2013; 13: 85

9.Kizilca O, Siraneci R, Yilmaz A, Hatipoglu N, Ozturk E, Kiyak A, et al. Risk factors for community-acquired urinary tract infection caused by ESBL-producing bacteria in children. Pediatr Int 2012; 54: 858-62.

10.Villegas MV, Correa A, Perez F, Miranda MC, Zuluaga T, Quinn JP, et al. Prevalence and characterization of extended-spectrum beta- lactamases in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* isolates from Colombian hospitals. Diagn Microbiol Infect Dis 2004; 49: 217-22.

11.Apisarnthanarak A, Kiratisin P, Saifon P, Kitphati R, Dejsirilert S, Mundy LM. Clinical and molecular epidemiology of community-onset, extended spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli* infections in Thailand: a case-case-control study. Am J Infect Control 2007; 35: 606-12.

12.Mathur P, Kapil A, Das B, Dhawan B. Prevalence of extended spectrum beta- lactamase producing Gram negative bacteria in a tertiary care hospital. Indian J Med Res 2002; 115: 153-7.

13.Fazeli H, Hosseini MM, Mohammadi-Ghalaei P. The frequency and drug resistance profile of extended spectrum β-Lactamase producing *Escherichia coli* in clinical samples of Alzahra Hospital, Isfahan. J Shahrekord Uni Med Sic 2009; 10(4): 58-64.

14.Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twentieth Informational Supplement. M100S222012. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2012.

15.Emilia H, Marion T, Linda T, Procop GW, Washington AJ, et al. Screening and confirmatory testing for extended spectrum beta-lactamase (ESBL) in *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Klebsiella oxymora* clinical isolates. Diagn Microbiol Infect Dis 2000; 15: 113-7.

16.Daoud Z, Hakime N. Prevalence and susceptibility patterns of extended spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in a general university hospital in Beirut, Lebanon. Rev Esp Quimioter 2003; 16: 233-8.

17.Chaikittisuk N, Munsrichoom A. Extended spectrum ß- Lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in children at Queen Sirikit National Institute of Child Health. J Infect Dis Antimicrob Agents 2007; 24: 107-15.

18.Hawser SP, Bouchillon SK, Lascols C, Hackel M, Hoban DJ, Badal RE, et al. Susceptibility of European *Escherichia coli* clinical isolates from intra-abdominal infections, extended-spectrum b-lactamase occurrence, resistance distribution, and molecular characterization of ertapenem-resistant isolates (SMART 2008–2009). Clin Microbiol Infect 2012; 18: 253-9.

Archive of SID

www.SID.ir

19.Miró E, Mirelis B, Navarro F, Rivera A, Mesa RJ, Roig MC, et al. Surveillance of extended-spectrum b-lactamase from clinical samples and faecal carriers in Barcelona, Spain. J Antimicrob Chemother 2005; 56: 1152-5.
20.Varaiya A, Dogra J, Kulkarni M, Bhalekar P. Extended spectrum beta lactamase (ESBL) producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in diabetic foot infection. Indian J Med Microbiol 2008; 26: 281-2.
21.Ullah F, Malik SA, Ahmed J. Antibiotic susceptibility pattern and ESBLS prevalence in nosocomial *Escherichia coli* from urinary tract infections in Pakistan. Afr J Biotechnol 2009; 8: 3921-6.
22.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: 5433-9.
23.Riyahi Zaniani F, Ghazvini K, Meshkat Z, Rezaee A, Naderi Nasab M, Esmaily H, et al. The prevalence of *TEM* and *SHV* genes among extended spectrum beta-lactamases producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. Iran J Basic Med Sci 2012; 15: 654-60.
24.Yazdi M, Nazemi A, Mirinargasi M, Khatami Nejad MR, Sharifi Sh, Babaei Kochaksaraei M. Prevalence of CTX beta-lactamase resistance gene among *Escherichia coli*, isolated from urinary tract in Tehran. Lab Sci J 2011; 4: 48-54.
25.Soltan-Dallal MM, Molla-Aghamirzaei H, Sabbaghi A, Eshraghian MR. Molecular detection of TEM and AmpC (Dha, mox) broad spectrum ß-lactamase in clinical isolates of *Escherichia coli*.Tehran Uni Med J 2010; 68: 315-20.
26.Shah AA, Hasan F, Ahmed S, Hameed A. Characteristics, epidemiology and clinical importance of emerging strains of Gram-negative bacilli producing extended-spectrum beta-lactamases. Res Microbial 2004; 155: 409-21.
27.Jalalpoor Sh, Mobasherizadeh S. Frequency of ESBLs in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from hospitalized and out-patients with urinary tract infection in selective centers in Esfahan (2009-2010). Razi J Med Sci 2011; 18: 7-16.
28.Barguigua A, El Otmani F, Talmi M, Zerouali Kh, Timinouni M. Prevalence and types of extended spectrum b-lactamases among urinary *Escherichia coli* isolates in Moroccan community. Microbial Pathogenesis 2013; 61-62: 16-22.
29.Hassan SA, Jamal SJ, Kamal M. Occurrence of multidrug resistant and ESBL producing *E.coli* causing urinary tract infections. J Basic Appl Sci 2011; 7: 39-43.
30.Sharif Zadeh A, Hemmat Zadeh F, Namjou AR, Danesh A. Antibiotic susceptibility among antibiotic resistant *Salmonellae* isolated from children (0-2 years) affected by diarrhea in Shahrekord and resistance factor transmissibility to *E. coli* K12. Shahrekord Uni Med Sci J 2004; 1: 1-6.
31.Ko KS, Suh JY, Peck KR, Lee MY, Oh WS, Kwon KT. In vitro activity of *fosfomycin* against ciprofloxacin-resistant or extanded spectrum ß –lactamase producing *Escherichia coli* isolated from urine and blood. Diagn Microbiol Infect Dis 2007; 58: 111-5.
32.Sharifi Yazdi MK, Soltan Dallal MM, Agha Mirzaei HM, Sabbaghi A, Mehrabadi J, Rastegar Lari A, et al. Molecular detection of *TEM* broad spectrum β-lactamase in clinical isolates of *Escherichia coli*. Afr J Biotechnol 2011; 10: 9454-8.

Archive of SID

www.SID.ir

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ) **Original Articl**

Frequency of Extended Spectrum β-Lactamase Producing *Escherichia coli* in Hospitalized and out Patient Children, Yasouj

Kargar M[1*], Gholami M[1], Doosti A[2], Najafi A[3], Aeein V[1]

[1]Department of Microbiology, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom, Iran, [2]Biotechnology Research Center, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran, [3]Department of Marine Microbiology, The Persian Gulf Marine Biotechnology Research Center. Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

Received: 02 Sep 2013 Accepted: 08 Dec 2013

Abstract

Background and aim: *Escherichia coli* producing broad-spectrum beta-lactamase due to widespread resistance to many common antibiotics have led to numerous health problems. The aim of this study was to evaluate the frequency of *E. coli* producing broad-spectrum beta-lactamase in pediatric inpatients and outpatients in Yasuj, Iran.

Methods: The present cross-sectional study was carried out on 300 samples of *E. coli* isolated from children with diarrhea admitted or hospitalized in Imam Sajjad and private laboratories in Yasuj. Selective media and biochemical tests were applied to confirm the *E. coli* strains. Phenotypic screening of broad-spectrum beta-lactamase strains using the double-disc synergistic and sensitivity of the strains to 13 antibiotics by disk diffusion method was determined. The obtained data was analyzed by chi-square test.

Results: Twenty-six percent of E. coli isolates were able to produce broad-spectrum Beta-Lactamase whereas children younger than 2 years of age (9.85%) had the highest incidence of strains producing broad-spectrum beta-lactamase. 61.5% of positive cases of broad-spectrum beta-lactamase were identified in outpatients followed by 38.5% of hospitalized patients. ESBL strains were most resistant to the broad-spectrum antibiotics of ceftizoxim (50%), Cefixime (47.4%) and nalidixic acid (38.5%) and the least resistant to ciprofloxacin (8/3%) and imipenem (6/2 percent) respectively.

Conclusion: Results of the present study revealed that the high prevalence of ESBL in patients. Therefore, continuous monitoring and early detection can play an important role in preventing the spread of these broad-spectrum beta-lactamase genes.

Key Words: *Escherichia coli*, Antibiotic resistant, extended spectrum Beta-lactamase, Children

***Corresponding author: Kargar M,** Department of Microbiology, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom, Iran
Email: mkargar@jia.ac.ir

Archive of SID
D.ir