Archive of SID

بررسی فراوانی بتالاکتامازهای تیپ TEM، SHV، AmpC و MBLs در ایزوله‌های بالینی اشریشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه جدا شده از بیمارستان‌های منتخب شهر خرم‌آباد

سمیه دلفانی[1]، داوود کلانتر نیستانکی[2]، غلامرضا گودرزی[1]، ستاره سروش[1]، فرانک رضایی[1]*

۱-استادیارگروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران

۲-استادیارگروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان،کرمان، ایران

یافته / دوره ۲۲ / شماره ۳ / پاییز ۹۹ / مسلسل ۸۵

چکیده

دریافت مقاله: ۹۹/۴/۲ پذیرش مقاله: ۹۹/۵/۲۰

مقدمه: شیوع هم زمان بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف، متالوبتالاکتامازها و بتالاکتامازهای **AmpC** در باکتری‌های اشریشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه مشکل جدی در درمان عفونت‌ها است. هدف این مطالعه تعیین شیوع انواع مختلف بتالاکتامازها در ایزوله‌های بالینی اشریشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه در شهر خرم آباد می باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مقطعی- توصیفی تعداد ۱۳۰ ایزوله بالینی شامل اشریشیاکلی(تعداد:۴۵) و کلبسیلا پنومونیه(تعداد:۸۵) از بیمارستان‌های آموزشی منتخب شهر خرم آباد جمع آوری گردید. الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی ایزوله‌ها به وسیله روش دیسک دیفیوژن تعیین شد. شناسایی باکتری‌های تولیدکننده بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف، متالوبتالاکتامازها و بتالاکتامازهای **AmpC** با استفاده از روش دیسک دوتایی ترکیبی انجام گردید. برای شناسایی ژن‌های **blaSHV**، **blaTEM** و **blaVIM** واکنش **PCR** انجام گرفت.

یافته ها: از مجموع ۱۳۰ ایزوله بالینی، ۴۱ (۳۱/۵ ٪) و ۳۷ (۲۸/۴ ٪) ایزوله تولیدکننده بتالاکتاماز وسیع‌الطیف و **AmpC** به ترتیب جدا گردید . ژن‌های **blaTEM** و **blaSHV** در ۲۴ (۱۸/۴ ٪) و ۲۳ (۱۷/۶ ٪) ایزوله بالینی به ترتیب شناسایی شدند.

بحث و نتیجه‌گیری: شیوع ایزوله‌های تولیدکننده بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف، **AmpC** و متالوبتالاکتامازها در خرم آباد نسبت به سایر مناطق ایران پایین‌تر بود اما ظهور ایزوله‌های دارنده چندین آنزیم بتالاکتاماز در این شهر مشکلات جدی در درمان به وجود می‌آورد.

واژه‌های کلیدی: اشریشیاکلی ، کلبسیلا پنومونیه، بتالاکتاماز.

*آدرس مکاتبه: خرم آباد، دانشگاه علوم پزشکی ، دانشکده پزشکی، گروه میکروب شناسی.

پست الکترونیک: frezaei59@gmail.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام (پنی سیلین‌ها، سفالوسپورین‌ها، منوباکتام‌ها و کارباپنم‌ها)، فراوان‌ترین و پرمصرف‌ترین داروهای تجویزی علیه میکروارگانیسم-ها هستند. در سال‌های اخیر، پیدایش میکروارگانیسم-های مقاوم به این داروها نگرانی‌های زیادی را برای پزشکان برای انتخاب آنتی بیوتیک مناسب در فرآیند درمان ایجاد کرده است (۱). اشریشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه در خانواده انتروباکتریاسه از مهم‌ترین عوامل عفونت‌های بیمارستانی هستند. در سال‌های اخیر مقاومت به آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام در خانواده انتروباکتریاسه در حال افزایش است؛ شایع‌ترین مکانیسم مقاومت به آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام ظهور آنزیم‌های بتالاکتاماز است (۲).

بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف ESBLs (Extended Spectrum β-lactamases) و AmpC بتالاکتامازهایی هستند که سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف، سفامایسین ها و مونوباکتام‌ها را هیدرولیز می‌کنند (۳). بتالاکتامازAmpC یکی از انواع مهم کلاس C بتالاکتامازها است (بر اساس طبقه‌بندیAmbler) که به وسیله مهارکننده‌های بتالاکتامازی مانند کلاوونات، سولباکتام و تازوباکتام مهار نمی‌شود؛ اما به وسیله فنیل بورونیک اسید و کلوگزاسیلین مهار می‌شود (۵،۴). متالوبتالاکتامازها (MBLs) گروه مهمی از بتالاکتامازها هستند که کاربا‌پنم‌ها را هیدرولیز می کنند. آنتی بیوتیک‌های کارباپنم در درمان عفونت‌های همراه با ارگانیسم‌های دارنده ژن‌های ESBLs و AmpC کاربرد دارند (۶).

در ایران تعداد زیادی از ایزوله‌های اشریشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه تولیدکننده ESBLs و AmpC هستند که عامل مقاومت به هر دو گروه سفالوسپورین‌های نسل سوم و چهارم هستند؛ در حالی که به کارباپنم‌ها حساس باقی می‌مانند (۱۱-۷). تشخیص وجود هم‌زمان انواع مختلف بتالاکتامازها مانند ESBLs ، AmpC و MBLs در این ایزوله‌ها مشکل است زیرا آنها با همدیگر هم‌پوشانی دارند و باعث افزایش حداقل غلظت مهارکننده (MIC) آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام می‌گردند (۵).

بنابراین زمانی که ارگانیسم‌های تولیدکننده چندین بتالاکتاماز در یک عفونت وجود داشته باشند بتالاکتام درمانی شکست خواهد خورد. مطالعات انجام شده در ایران نشان دهنده شیوع بالای مقاومت به آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام به دلیل آنزیم‌های بتالاکتاماز هستند (۱۲). در شهر خرم آباد گزارشات محدودی در مورد آنزیم‌های بتالاکتاماز و ژن‌های شایع آن نظیر SHV ، TEM وVIM وجود دارد. هدف مطالعه حاضر بررسی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی و تعیین شیوع انواع مختلف بتالاکتامازها بین ایزوله‌های بالینی اشریشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه در بیمارستان‌های منتخب شهر خرم آباد می باشد.

مواد و روش‌ها

ایزوله‌های باکتری

در این مطالعه مقطعی- توصیفی در طول مدت ۱۲ ماه (بهمن ۱۳۸۹ – بهمن ۱۳۹۰) تعداد ۱۳۰ ایزوله که شامل اشریشیاکلی (۴۵ ایزوله) و کلبسیلا پنومونیه (۸۵ ایزوله) بود از نمونه‌های بالینی شامل خون، ادرار، خلط، زخم، ترشحات گلو و سایر مایعات بدن از بیمارانی که در سه بیمارستان آموزشی شهدای عشایر، شهید رحیمی و شهید مدنی شهر خرم آباد بستری بودند جمع آوری گردید. این ایزوله‌ها به وسیله خصوصیات کشت و آزمایش‌های بیوشیمیایی تعیین هویت شدند.

آزمایش حساسیت آنتی بیوتیکی

دیسک‌های آنتی بیوتیک سفتی‌زوکسیم (۳۰میکروگرم)، سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرم)،

www.SID.ir

Archive of SID

سفتازیدیم (۳۰ میکروگرم)، سفالکسین (۳۰ میکروگرم)، آموکسی‌سیلین (۳۰ میکروگرم)، ایمی‌پنم (۳۰ میکروگرم)، سفپیم (۳۰ میکروگرم)، سفوکسیتین (۳۰ میکروگرم)، جنتامیسین (۳۰ میکروگرم)، تتراسایکلین (۳۰ میکروگرم)، تری‌متوپریم – سولفامتوکسازول (۳۰ میکروگرم)، نالیدیکسیک اسید (۳۰ میکروگرم) و سیپروفلوکساسین (۳۰ میکروگرم) از شرکت MAST تهیه شدند. الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی ایزوله‌ها با روش دیسک دیفیوژن بر طبق دستورالعمل مؤسسه استانداردهای آزمایشگاهی و بالینی CLSI تعیین شد (۱۳). از اشریشیاکلی ATCC 25922 و کلبسیلا پنومونیه 700603 به عنوان ایزوله‌های کنترل کیفیت آزمایش حساسیت آنتی بیوتیکی استفاده شد.

تشخیص فنوتیپی ESBLs

به منظور شناسایی باکتری‌های تولیدکننده ESBLs آزمون غربالگری طبق دستورالعمل CLSI با استفاده از روش دیسک دوتایی ترکیبی (combination double CDDT disk test) به عنوان روش دیسک دیفیوژن استاندارد روی محیط مولرهینتون آگار انجام گردید. دیسک‌های مورد استفاده شامل سفتازیدیم (۳۰µg) (CAZ)، سفتازیدیم (۳۰µg) با کلاولونیک اسید (۱۰µg) (CA)، سفوتاکسیم (۳۰µg) (CTX)، سفوتاکسیم با کلاولونیک اسید و سفپودوکسیم (۳۰µg) (CPD) و سفپودوکسیم با کلاولونیک اسید بودند. پلیت‌ها در انکوباتور با دمای ۳۷ °C به مدت یک شبانه روز انکوبه شدند. چنانچه قطر هاله مهار رشد در پیرامون حداقل یکی از دیسک‌های ترکیبی (سفوتاکسیم با کلاولونیک، سفتازیدیم با کلاولونیک وسفپودوکسیم با کلاولونیک) بیشتر یا مساوی ۵ میلی متر نسبت به قطر هاله مهار رشد در اطراف دیسک‌های سفوتاکسیم، سفتازیدیم و سفپودوکسیم به تنهایی بود، آزمایش فنوتیپی مثبت گزارش می‌شد (۱۳).

شکل۱. کلبسیلا پنومونیه تولیدکننده ESBL(A= سفوتاکسیم، B = سفوتاکسیم+کلاولانیک اسید،C =سفتازیدیم، D=سفتازیدیم+کلاولونیک اسید) مهار کلاولونیک اسید از بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف با تولید هاله مهار رشد

تشخیص فنوتیپی AmpC

فنوتیپ AmpC به کمک دیسک‌های ترکیبی با استفاده از سفوکسیتین (FOX)، سفپیم (CPM)، سفتازیدیم (CAZ) و سفوتاکسیم (CTX) به تنهایی و در ترکیب با ۴۰۰ میکروگرم فنیل برونیک اسید (BA) ارزیابی شد. دیسک‌های حاوی برونیک اسید و بدون برونیک اسید روی سطح مولرهینتون آگار قرار داده شدند؛ سپس پلیت‌ها به مدت ۱۸ ساعت در دمای ۳۷°C انکوبه شدند. چنانچه قطر هاله مهار رشد در پیرامون حداقل یکی از دیسک‌های ترکیبی (سفوکسیتین با برونیک اسید، سفتازیدیم با برونیک اسید، سفپیم با برونیک اسید و سفوتاکسیم با برونیک اسید) بیشتر یا مساوی ۵ میلی متر نسبت به قطر هاله مهار رشد در اطراف دیسک‌های سفوکسیتین، سفتازیدیم، سفپیم و سفوتاکسیم به تنهایی بود، آزمایش فنوتیپی مثبت گزارش می‌شد (۱۴).

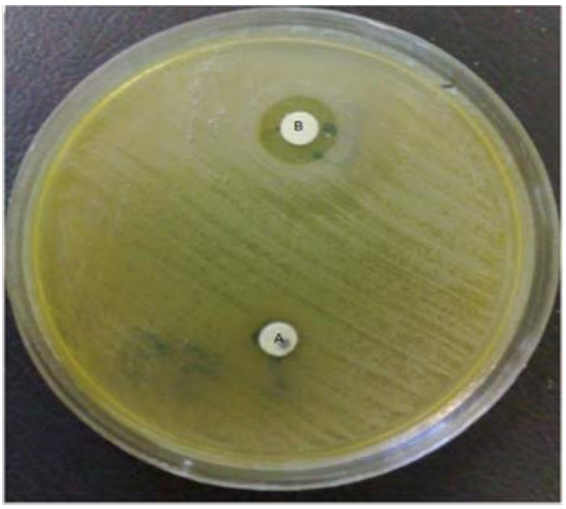
تشخیص فنوتیپی MBLs

دیسک‌های حاوی ایمی‌پنم و ایمی‌پنم با EDTA به منظور تشخیص حضور متالوبتالاکتامازها استفاده شد. افزایش قطر هاله مساوی یا بیشتر از ۷ میلی متر ایمی‌پنم

www.SID.ir

Archive of SID

با EDTA در مقایسه با ایمی‌پنم به تنهایی به عنوان مثبت در نظر گرفته شد (۱۵).



شکل۲. کلبسیلا پنومونیه تولیدکننده MBL (A – ایمی‌پنم، B – ایمی‌پنم+ (EDTA(.0.5M)
EDTA مهارکننده فعالیت متالوبتالاکتاماز

استخراج DNA و شناسایی ژن‌های bla_{TEM}، bla_{SHV}، bla_{VIM}

DNA با روش جوشاندن که قبلاً توضیح داده شده است استخراج گردید (۱۵). واکنش PCR با استفاده از دستگاه ترموسایکلر Bio-Rad و مستر میکس شرکت سیناکلون انجام گرفت. فهرست پرایمرهای مورد استفاده و شرایط PCR برای هر یک از ژن‌های مورد مطالعه در جدول ۱ ذکر شده است (۱۶،۸). از ژل آگارز ۱/۵ درصد برای الکتروفورز محصولات PCR و از اندازه مارکر ۱۰۰ bp استفاده شد.

جدول۱. توالی پرایمرها و برنامه PCR برای تکثیر ژن‌های bla_{SHV}، bla_{TEM} و bla_{VIM}

ژن‌های هدف	توالی پرایمر	شرایط تکثیر	اندازه محصول (جفت باز)
blaTEM	F-5'-CTT CCT GTT TTT GCT CAC C-3' R-5'-AGC AAT AAA CCA GCC AGC-3'	۹۵ درجه سانتی گراد (۳ دقیقه) ۹۵ درجه سانتی گراد (۳۰ ثانیه) ۵۸ درجه سانتی گراد (۳۰ ثانیه) ۳۵ سیکل ۷۲ درجه سانتی گراد (۱ دقیقه) ۷۲ درجه سانتی گراد (۵ دقیقه)	۶۳۶
blaSHV	F-5'- TCA GCG AAA AAC ACC TTG-3' R-5'-TCC CGC AGA TAA ATC ACC-3'	۹۵ درجه سانتی گراد (۲ دقیقه) ۹۵ درجه سانتی گراد (۱دقیقه) ۵۱ درجه سانتی گراد (۳۰ ثانیه) ۳۵ سیکل ۷۲ درجه سانتی گراد (۳۰ ثانیه) ۷۲ درجه سانتی گراد (۵ دقیقه)	۴۷۲
blaVIM	F-5'- F-ATG TTA AAA GTT ATT AGT AGT-3' R-5'-CTA CTC GGC GAC TGA GCG AT-3'	۹۴ درجه سانتی گراد (۳ دقیقه) ۹۴ درجه سانتی گراد (۱دقیقه) ۵۵ درجه سانتی گراد (۳۰ ثانیه) ۳۵ سیکل ۷۲ درجه سانتی گراد (۱ دقیقه) ۷۲ درجه سانتی گراد (۵ دقیقه)	۵۷۰

تحلیل آماری

تحلیل نتایج با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۱۶) و به صورت درصد فراوانی گزارش گردید.

یافته ها

در مجموع ۴۵ (۳۴/۶٪) ایزوله اشریشیاکلی و ۸۵ (۶۵/۴٪) ایزوله کلبسیلا پنومونیه از بیمارستان‌های شهر خرم آباد جدا گردید. همه ایزوله‌ها به جز ۷ ایزوله کلبسیلا پنومونیه که از خون جدا شده بودند به ایمی‌پنم حساس بودند. مقاومت آنتی بیوتیکی ایزوله‌های باکتری در جدول شماره ۲ نشان داده شده است. از مجموع ۴۵ ایزوله اشریشیاکلی جمع آوری شده به ترتیب تعداد ۱۴ (۳۱/۱٪) و ۱۷ (۳۷/۸٪) ایزوله تولیدکننده ESBLs و بتالاکتاماز AmpC بودند. از مجموع ۸۵ کلبسیلا پنومونیه جمع آوری شده، به ترتیب تعداد ۲۷ (۳۱/۸٪) ، ۲۰

www.SID.ir

Archive of SID

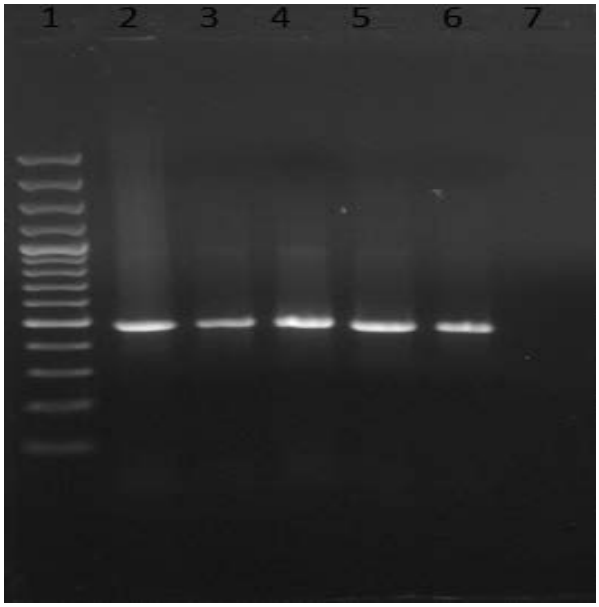
(۲۳/۵ ٪) و ۱ (۱/۱۷ ٪) ایزولـــه از نظـــر تولیـــد ESBLs و بتالاکتاماز AmpC و MBLs مثبت بودند.

جدول ۲. الگوی مقاومت ایزوله‌های اشریشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه به آنتی بیوتیک‌ها

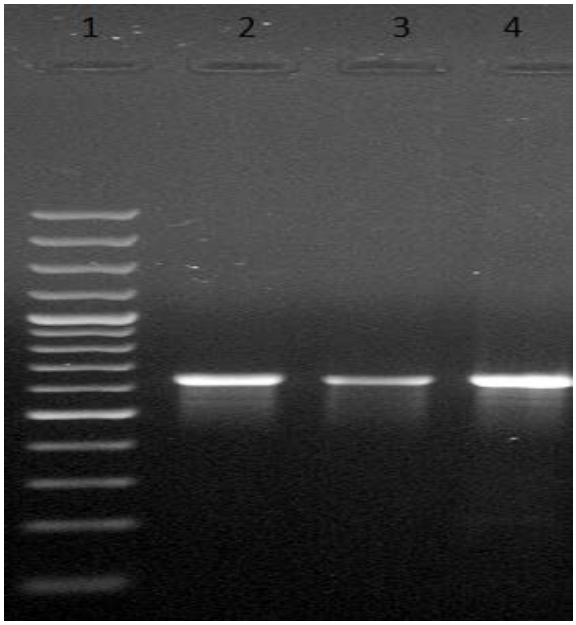
آنتی بیوتیک	اشریشیاکلی۴۵ (۳۴/۶٪)	کلبسیلا پنومونیه ۸۵ (۶۵/۴٪)
IMI	۰ (۰)	۷ (۸/۲)
AUG	۷ (۱۵/۵)	۲۹ (۳۴/۱)
CTX	۱۳ (۲۸/۹)	۲۴ (۲۸/۲)
GM	۶ (۱۳/۳)	۱۰ (۱۱/۸)
CPM	۲ (۴/۵)	۱۰ (۱۱/۸)
MEM	۰ (۰)	۰ (۰)
CRO	۱۴ (۳۱/۱)	۳۱ (۳۶/۵)
CFM	۱۸ (۴۰)	۳۵ (۴۱/۲)
ATM	۱۱ (۲۴/۵)	۳۳ (۳۸/۸)
AK	(۰)	۱۰ (۱۱/۸)
FOX	۲ (۴/۵)	۱۵ (۱۷/۶)
K	۲ (۴/۵)	۲۴ (۲۸/۲)
CIP	۹ (۲۰)	۲۱ (۲۴/۷)
CAZ	۳ (۶/۷)	۱۹ (۲۲/۳)
NI	۱ (۲/۲)	۲۷ (۳۱/۸)
TN	۵ (۱۱/۱)	۲۳ (۲۷)
TET	۲۸ (۸۳/۷)	۴۰ (۵۳)
CPD	۱۹ (۴۲/۲)	۱۳ (۱۵/۳)
SXT	۳۰ (۶۶/۷)	۳۰ (۳۵/۳)

CAZ, ceftazidime; GM, gentamicin; TET, tetracycline; STX, trimethoprim/ sulfamethoxazole; FOX, cefoxitin; CPM, cefepime; CTX, cefotaxime; CP, ciprofloxacin; IMI, imipenem; ATM, aztreonam; MEM, meropenem; TN, tobramycin; K, kanamycin; NI, nitrofurantoin; CRO, ceftriaxone; AK, amikacin; CPD, cefpodoxime; AUG, Co-amoxiclav; CFM, cefixime.

تولید هم زمان ESBLs و بتالاکتاماز AmpC به ترتیب در ۱۴ (۳۱٪/۱) و ۱۵ (۱۷/۶٪) ایزوله اشریشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه مشاهده گردید. یک ایزوله از کلبسیلا پنومونیه AmpC و MBLs مثبت بود. توزیع ESBLs، بتالاکتاماز AmpC، bla_{SHV}، bla_{TEM} و MBLs در جدول ۳ نشان داده شده است. حضور هم‌زمان bla_{TEM} و bla_{SHV} در ۴ (۸/۹ ٪) و ۹ (۱۰/۵٪) ایزوله اشریشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه مشاهده گردید. *bla* $_{VIM}$ در ایزوله‌های مقاوم به کارباپنم تشخیص داده نشد.



شکل ۳. الکتروفورز محصولات PCR تکثیر ژن blaSHV شماره ۱. مارکر DNA، شماره ۲: کنترل مثبت ژن blaSHV، شماره ۷:کنترل منفی، شماره‌های۳، ۴، ۵ و ۶ ایزوله‌های با ژن blaSHV (۴۷۲ جفت باز)



شکل ۴.الکتروفورز محصولات PCR تکثیر ژن blaTEM شماره ۱. مارکر DNA، شماره ۲: کنترل مثبت ژن blaTEM، شماره-های ۳ و۴ ایزوله‌های با ژن blaTEM (۶۳۶جفت باز)

جدول۳. توزیع AmpC، blaSHV، blaTEM، MBLs در ایزوله‌های اشریشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه

ایزوله ها	ESBLs	AmpC	MBLs	ESBLs و AmpC	AmpC و MBLs	blaTEM	blaSHV	blaTEM و blaSHV
اشریشیاکلی	(۳۱/۱)۱۴	(۳۷/۸)۱۷	(۰)۰	(۳۱/۱)۱۴	(۰)۰	(۲۴/۵)۱۱	(۱۱)۵	(۸/۹)۴
کلبسیلا پنومونیه	(۳۱/۸)۲۷	(۲۳/۵)۲۰	(۱/۱۷)۱	(۱۷/۶)۱۵	(۱/۱۷)۱	(۱۵/۳)۱۳	(۲۱/۲)۱۸	(۱۰/۵)۹

www.SID.ir

Archive of SID

بحث و نتیجه‌گیری

امروزه افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی در بین انواع باکتری‌ها تهدیدی جدی در بحث درمان عفونت‌های ناشی از این میکروارگانیسم‌ها است. اشریشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه از عوامل مهم عفونت‌های بیمارستانی هستند (۱). متأسفانه استفاده بی رویه آنتی بیوتیک‌ها برای درمان عفونت‌ها علت مقاومت تعداد زیادی از آنتی بیوتیک‌ها می‌باشد. ظهور و کسب آنزیم‌های بتالاکتاماز در بین باکتری‌های گرم منفی از نظر اپیدمیولوژیکی اهمیت بالایی دارد به دو علت: ۱) شیوع و افزایش بتالاکتامازها نه تنها عامل مقاومت به آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام است هم‌چنین با تعداد زیادی از مقاومت‌های غیر بتالاکتام هم همراه است ۲) ژن کدکننده بتالاکتامازها معمولاً به وسیله عناصر ژنتیکی متحرک کد شده و حمل می‌شوند بنابراین به ایزوله‌های حساس قابل انتقال هستند (۱۷). در این مطالعه حساسیت دارویی در ایزوله‌های بالینی اشریشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه علیه چندین آنتی بیوتیک بررسی و ایزوله‌های تولیدکننده ESBLs، AmpC و MBLs با استفاده از روش دیسک دیفیوژن ترکیبی شناسایی شدند. مقاومت علیه آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام به علت آنزیم‌های بتالاکتاماز در خانواده انتروباکتریاسه به مشکل جهانی تبدیل می‌شود. شیوع ایزوله‌های تولیدکننده چندین نوع آنزیم‌های بتالاکتاماز به یکی از عوامل خطرناک در درمان عفونت‌ها تبدیل شده است (۵). در واقع کاربانپم‌هایی مانند ایمی‌پنم و مروپنم به عنوان اولین خط درمانی برای عفونت‌های شدید سویه‌های کلبسیلا پنومونیه تولیدکننده ESBLs مطرح می‌شوند. اگر چه اثربخشی این داروها در برابر ارگانیسم‌های مولد بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف به اثبات رسیده است، ولی مصرف بی رویه و اصرار بر تجویز مداوم این داروها چه به صورت تک دارو و یا همراه با داروهای دیگر، هم‌چنین تولید مقادیر زیادی از AmpC در برخی از مواقع، کاهش تراوایی غشای خارجی به واسطه از دست رفتن پورین‌ها و تولید کاربانپم آز، از جمله مواردی هستند که باعث مقاومت سویه‌های کلبسیلا پنومونیه نسبت به کاربانپم‌ها در بخشی از مناطق جغرافیایی می شوند (۱۸).

یک یافته مهم در مطالعه ما حساسیت بیش از ۹۵٪ ایزوله‌ها به ایمی‌پنم به دلیل استفاده کاربانپم‌ها برای درمان ایزوله‌های تولیدکننده ESBLs و بتالاکتاماز AmpC بود. پیدایش مقاومت به کاربانپم انتخاب دارویی برای درمان عفونت‌ها را محدود می‌کند (۵) قابل ذکر است که باکتری‌های مولد ESBLs به صورت قابل توجهی فقط به کاربانپم‌ها حساس باقی مانده‌اند (۱۲). در مطالعه ما شیوع ایزوله‌های ESBLs مثبت در اشریشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه به ترتیب ۳۱/۱٪ و ۲۷٪ بود. شیوع ESBLs در کلبسیلا پنومونیه در مطالعه ما متفاوت با سایر مناطق ایران مانند تهران و کرمان بود، در این دو شهر شیوع ESBLs در کلبسیلا پنومونیه به ترتیب ۴۸٪ و ۴۴٪ گزارش شده است (۸،۷). نتایج مطالعه ما نشان داده است که ایزوله‌های تولیدکننده ESBLs در خرم آباد کمتر از سایر نواحی ایران است. در این مطالعه شیوع بتالاکتامازهای TEM و SHV در ایزوله‌های بالینی اشریشیاکلی به ترتیب ۲۴/۵٪ و ۱۱٪ بود که بر خلاف سایر مطالعاتی است که شیوع بتالاکتامازهای TEM و SHV در آنها بالاتر از مطالعه ما گزارش شده است (۷، ۹، ۱۰). شیوع بتالاکتامازهای TEM و SHV در اشریشیاکلی در مطالعه ما تقریباً مشابه با مطالعه میرزایی و همکاران در شهرستان بروجرد می باشد، در مطالعه آنها شیوع به ترتیب ۳۲/۱٪ و ۳۱/۶٪ گزارش شده است (۱۲).

شیوع بتالاکتاماز AmpC در ایزوله‌های بالینی اشریشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه در کرمان به ترتیب ۹/۶٪ و ۱۴/۶٪ در سال‌های ۲۰۱۰ و ۲۰۱۲ گزارش شده است (۹،۸) که در مقایسه با مطالعه ما تعداد بتالاکتاماز AmpC کمتر شناسایی شده است این تفاوت در نتایج این دو

www.SID.ir

Archive of SID

مطالعه ممکن است به دلیل استفاده از چهار آنتی بیوتیک سفپیم، سفوکسیتین، سفتازیدیم و سفوتاکسیم برای شناسایی بتالاکتاماز AmpC در مطالعه ما در مقایسه با مطالعه کرمان باشد. هم‌چنین مطالعه حاضرتوانایی بتالاکتاماز AmpC در مقاومت به سفالوسپورین‌ها در این ناحیه از کشور را نشان داد.

شیوع ایزوله‌های تولیدکننده ESBLs، AmpC و MBLs در برخی باکتری‌های گرم منفی در خرم آباد نسبت به سایر مناطق ایران پایین‌تر بود. ظهور ایزوله‌های دارنده چندین آنزیم بتالاکتاماز مشکلات جدی در درمان به وجود می‌آورد.

تشکر و قدردانی

این طرح تحقیقاتی به شماره ۱۱۸۷ با حمایت مالی معاونت تحقیقاتی دانشگاه علوم پزشکی لرستان انجام گردید. بدین وسیله از زحمات این معاونت تشکر و قدردانی به عمل می آید. هم‌چنین از گروه میکروب شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران و سرکار خانم معصومه معتمدی تشکر می نماییم.

www.SID.ir

Archive of SID

References

1. Müller S, Oesterlein A, Frosch M, Abele-Horn M, Valenza G. Characterization of extended-spectrum beta-lactamases and qnr plasmid-mediated quinolone resistance in German isolates of Enterobacter species. Microbial Drug Resistance. 2011;17(1):99-103.
2. Denton M. Corrigendum to "Enterobacteriaceae"[Int. J. Antimicrob. Agents 29 (2007) S9–S22]. International Journal Of Antimicrobial Agents. 2007;6(30):568.
3. Bush K, Jacoby GA. Updated functional classification of β-lactamases. Antimicrobial Agents And Chemotherapy. 2010;54(3):969-976.
4. Shahid M, Sobia F, Singh A, Khan HM, Hawkey PM, Huq A, et al. AmpC β-lactamases and bacterial resistance: an updated mini review. Reviews In Medical Microbiology. 2009;20(3):41-55.
5. Sundin DR. Hidden beta-lactamases in the enterobacteriaceae–dropping the extra disks for detection, part II. Clinical Microbiology Newsletter. 2009;31(7):47-52.
6. Poole K. Pseudomonas aeruginosa: resistance to the max. Frontiers In Microbiology. 2011;2:65. doi: 10.3389/fmicb.2011.00065
7. Feizabadi MM, Delfani S, Raji N, Majnooni A, Aligholi M, Shahcheraghi F, et al. Distribution of bla TEM, bla SHV, bla CTX-M genes among clinical isolates of Klebsiella pneumoniae at Labbafinejad Hospital, Tehran, Iran. Microbial Drug Resistance. 2010;16(1):49-53.
8. Kalantar D, Mansouri S. Emergence of multiple β-lactamases produced by Escherichia coli clinical isolates from hospitalized patient in Kerman, Iran. Jundishapur Journal Of Microbiology (JJM). 2010 : 3(4) : 137-145.
9. Mansouri S, Kalantar D, Asadollahi P, Taherikalani M, Emaneini M. Characterization of Klebsiella pneumoniae strains producing extended spectrum beta-lactamases and AMPC type beta-lactamases isolated from hospitalized patients in Kerman, Iran. Roumanian Archives Of Microbiology And Immunology. 2012;71(2):81-86.
10. Mansouri M, Ramazanzadeh R. Spread of extended-spectrum beta-lactamase producing Escherichia coli clinical isolates in Sanandaj Hospitals. Journal Of Biological Sciences. 2009;9(4):362-366.
11. Shahcheraghi F, Nasiri S, Noveiri H. The survey of genes encoding Beta-Lactamases, in Escherichia Coli resistant to beta-Lactam and non-Beta-Lactam antibiotics. Iranian Journal of Basic Medical Sciences. 2010;13(1):230-237.
12. Mirzaee M, Eftekhari R, Taghizadeh N, Mehrabi MR. Relationship between presence of genes encoding ESBLs and antimicrobial susceptibility pattern in Escherichia coli clinical isolates. Iranian Journal Of Medical Microbiology. 2016;10(1):8-15.
13. Wayne P. Clinical and laboratory standards institute. Performance Standards For Antimicrobial SusceptibilityTesting. 2011.

www.SID.ir

Archive of SID

14. Song W, Jeong SH, Kim J-S, Kim H-S, Shin DH, Roh KH, et al. Use of boronic acid disk methods to detect the combined expression of plasmid-mediated AmpC β-lactamases and extended-spectrum β-lactamases in clinical isolates of Klebsiella spp., Salmonella spp., and Proteus mirabilis. Diagnostic Microbiology and Infectious disease. 2007;57(3):315-318.
15. Pitout JD, Gregson DB, Poirel L, McClure J-A, Le P, Church DL. Detection of Pseudomonas aeruginosa producing metallo-β-lactamases in a large centralized laboratory. Journal of Clinical Microbiology. 2005;43(7):3129-3135.
16. Fiett J, Baraniak A, Mrówka A, Fleischer M, Drulis-Kawa Z, Naumiuk Ł, et al. Molecular epidemiology of acquired-metallo-β-lactamase-producing bacteria in Poland. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2006;50(3):880-886.
17. Altoparlak U, Aktas F, Celebi D, Ozkurt Z, Akcay MN. Prevalence of metallo-β-lactamase among Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii isolated from burn wounds and in vitro activities of antibiotic combinations against these isolates. Burns. 2005;31(6):707-710.
18. Goudarzi H, Taherpour A, Fallah F, Pourkaveh B, Erfanimanesh S, Hashemi A. Laboratory detection of carbapenemases in gram-negative bacteria. Archive Clinincal Infectious Disease. 2016;11(2):32816.

www.SID.ir

Archive of SID

Characterization co-existence of ESBLs, AmpC and MBLs in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from Khorramabad Hospitals

Delfani S[1], Kalantar-Neyestanaki D[2], Goudarzi Gh[1], Soroush S[1], Rezaei F[1*]
1. Assistant Professor, Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran, frezaei59@gmail.com
2. Assistant Professor, Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

Received: *22 Jun 2020* Accepted: *10 Aug 2020*

Abstract

***Background*:** Prevalence of co-existence of extended-spectrum β-lactamases (ESBLs), metallo-beta-lactamase (MBLs) and AmpC-β-lactamases producing isolates in these bacteria is a serious problem in treatment of infections. The aim of this study was to characterization co-existence of ESBLs, AmpC and MBLs in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from Khorramabad hospitals.

Materials and Methods: In this descriptive cross-sectional study, totally 130 clinical isolates including *E. coli* (n=45) and *K. pneumoniae* (n=85) were collected from hospitals of Khorramabad. Disk diffusion method used for determination of susceptibility of isolates to antibiotics. ESBLs, MBLs and AmpC-β-lactamases producing isolates detected by combined disk methods. Polymerase chain reaction (PCR) was used to detection of *bla*$_{TEM}$, *bla*$_{SHV}$ and *bla*$_{VIM}$ genes.

Results: Out of the 130 clinical isolates, 41(31.5%) and 37 (28.4%) of them considered as ESBLs and AmpC producing, respectively. The *bla*$_{TEM}$ *and bla*$_{SHV}$ detected in 24 (18.4%) and 23 (17.6%) of isolates, respectively.

Conclusion: Prevalence of ESBLs, AmpC and MBLs in Khorramabad is lower than from other regions of Iran. Outbreak of co-producer ESBLs, AmpC and MBLs isolates in Khorramabad can cause serious problems in treatment of infections.

Keywords: *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, β-lactamases

Citation: Delfani S, Kalantar-Neyestanaki D, Goudarzi Gh, Soroush S, Rezaei F. Characterization co-existence of ESBLs, AmpC and MBLs in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from Khorramabad hospitals. Yafte. 2020; 22(3):58-67.

www.SID.ir