

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

سمیه دلفانی^۱ ID، داوود کلانتر نیستانی^۲ ID، غلامرضا گودرزی^۱ ID، ستاره سروش^۱ ID، فرانک رضایی^{۱*} ID

۱-استادیار گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم‌آباد، ایران

۲-استادیار گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران

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

چکیده

دریافت مقاله: ۹۹/۴/۱۰ پذیرش مقاله: ۹۹/۵/۱۰

مقدمه: شیوع هم‌زمان بتالاكتامازهای وسیع‌الطیف، متالوبتالاكتامازها و بتالاكتامازهای AmpC در باکتری‌های اشریشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه مشکل جدی در درمان عفونت‌ها است. هدف این مطالعه تعیین شیوع انواع مختلف بتالاكتامازها در ایزوله‌های بالینی اشریشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه در شهر خرم‌آباد می‌باشد.

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 خرم‌آباد جمع‌آوری گردید. الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها به وسیله روش دیسک دیفیوژن تعیین شد. شناسایی باکتری‌های تولیدکننده بتالاكتامازهای وسیع‌الطیف، متالوبتالاكتامازها و بتالاكتامازهای AmpC با استفاده از روش دیسک دو تایی ترکیبی انجام گردید. برای شناسایی ژن‌های blaSHV، blaTEM و blaVIM واکنش PCR انجام گرفت.

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

بحث و نتیجه‌گیری: شیوع ایزوله‌های تولیدکننده بتالاكتامازهای وسیع‌الطیف، AmpC و متالوبتالاكتامازها در خرم‌آباد نسبت به سایر مناطق ایران پایین‌تر بود اما ظهور ایزوله‌های دارنده چندین آنزیم بتالاكتاماز در این شهر مشکلات جدی در درمان به وجود می‌آورد. واژه‌های کلیدی: اشریشیاکلی، کلبسیلا پنومونیه، بتالاكتاماز.

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

پست الکترونیک: frezaei59@gmail.com

مقدمه

آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام (پنی سیلین‌ها، سفالوسپورین‌ها، منوباکتام‌ها و کارباپنم‌ها)، فراوان‌ترین و پرمصرف‌ترین داروهای تجویزی علیه میکروارگانسیم‌ها هستند. در سال‌های اخیر، پیدایش میکروارگانسیم‌های مقاوم به این داروها نگرانی‌های زیادی را برای پزشکان برای انتخاب آنتی بیوتیک مناسب در فرآیند درمان ایجاد کرده است (۱). اشريشیاکلی 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، سفامایسین‌ها و مونوباکتام‌ها را هیدرولیز می‌کنند (۳). بتالاکتاماز AmpC یکی از انواع مهم کلاس C بتالاکتامازها است (بر اساس طبقه‌بندی Ambler) که به وسیله مهارکننده‌های بتالاکتامازی مانند کلاوونات، سولباکتام و تازوباکتام مهار نمی‌شود؛ اما به وسیله فنیل بورونیک اسید و کلوگزاسیلین مهار می‌شود (۴،۵). متالوبتالاکتامازها (MBLs) گروه مهمی از بتالاکتامازها هستند که کارباپنم‌ها را هیدرولیز می‌کنند. آنتی بیوتیک‌های کارباپنم در درمان عفونت‌های همراه با ارگانسیم‌های دارنده ژن‌های ESBLs و AmpC کاربرد دارند (۶).

در ایران تعداد زیادی از ایزوله‌های اشريشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه تولیدکننده AmpC و ESBLs هستند که عامل مقاومت به هر دو گروه سفالوسپورین‌های نسل سوم و چهارم هستند؛ در

حالی که به کارباپنم‌ها حساس باقی می‌مانند (۷-۱۱). 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 ارگانسیم‌های 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 خرم‌آباد گزارشات محدودی در مورد آنزیم‌های بتالاکتاماز و ژن‌های شایع آن نظیر SHV، TEM و VIM وجود دارد. هدف مطالعه حاضر بررسی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی و تعیین شیوع انواع مختلف بتالاکتامازها بین ایزوله‌های بالینی اشريشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه در بیمارستان‌های منتخب شهر خرم‌آباد می‌باشد.

مواد و روش‌ها

ایزوله‌های باکتری

در این مطالعه مقطعی - توصیفی در طول مدت ۱۲ ماه (بهمن ۱۳۸۹ - بهمن ۱۳۹۰) تعداد ۱۳۰ ایزوله که شامل اشريشیاکلی (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 خرم‌آباد بستری بودند جمع‌آوری گردید. این ایزوله‌ها به وسیله خصوصیات کشت و آزمایش‌های بیوشیمیایی تعیین هویت شدند.

آزمایش حساسیت آنتی بیوتیکی

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

سفتازیدیم، سفوتاکسیم، سفودوکسیم و سفپودوکسیم به تنهایی بود، آزمایش فنوتیپی مثبت گزارش می‌شد (۱۳).



شکل ۱. کلبسیلا پنومونیه تولیدکننده ESBL (A) = سفوتاکسیم، B = سفوتاکسیم + کلانولونیک اسید، C = سفوتازیدیم، D = سفوتازیدیم + کلانولونیک اسید (مهار کلانولونیک 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)، سفوتازیدیم (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 مولر هینتون 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، سفوتازیدیم با برونیک اسید، سفپیم با برونیک اسید و سفوتاکسیم با برونیک اسید) بیشتر یا مساوی ۵ میلی‌متر نسبت به قطر هاله مهار رشد در اطراف دیسک‌های سفوکسیتین، سفوتازیدیم، سفپیم و سفوتاکسیم به تنهایی بود، آزمایش فنوتیپی مثبت گزارش می‌شد (۱۴).

تشخیص فنوتیپی MBLs

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

سفتازیدیم (۳۰ میکروگرم)، سفالکسین (۳۰ میکروگرم)، آموکسی‌سیلین (۳۰ میکروگرم)، ایمپنم (۳۰ میکروگرم)، سفپیم (۳۰ میکروگرم)، سفوکسیتین (۳۰ میکروگرم)، جنتامیسین (۳۰ میکروگرم)، تتراسایکلین (۳۰ میکروگرم)، تری‌متوپریم - سولفامتو کسازول (۳۰ میکروگرم)، نالیدیکسیک اسید (۳۰ میکروگرم) و سیپروفلوکساسین (۳۰ میکروگرم) از شرکت MAST تهیه شدند. الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی 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 آنتی‌بیوتیکی استفاده شد.

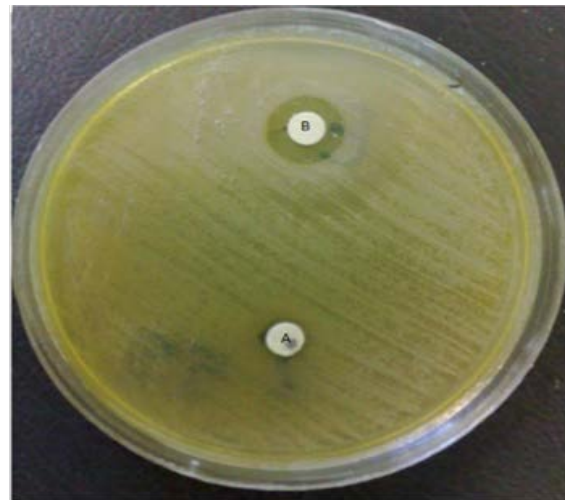
تشخیص فنوتیپی ESBLs

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 مولر هینتون آگار انجام گردید. دیسک‌های مورد استفاده شامل سفوتازیدیم (۳۰ μg) (CAZ)، سفوتازیدیم (۳۰ μg) با کلانولونیک اسید (۱۰ μg) (CA)، سفوتاکسیم (۳۰ μg) (CTX)، سفوتاکسیم با کلانولونیک اسید و سفپودوکسیم (۳۰ μg) (CPD) و سفپودوکسیم با کلانولونیک 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 کلانولونیک، سفوتازیدیم با کلانولونیک و سفپودوکسیم با کلانولونیک) بیشتر یا مساوی ۵ میلی‌متر نسبت به قطر هاله مهار رشد در اطراف دیسک‌های

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

استخراج DNA و شناسایی ژن‌های *bla_{TEM}* *bla_{SHV}* و *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.



شکل ۲. کلبسیلا پنومونیه تولیدکننده MBL (A - ایمی پنم، B -

ایمی پنم + EDTA (0.5M)

EDTA مهارکننده فعالیت متالوبتالاتاماز

جدول ۱. توالی پرایمرها و برنامه PCR برای تکثیر ژن‌های *bla_{TEM}* و *bla_{VIM}*

ژن‌های هدف	توالی پرایمر	شرایط تکثیر	اندازه محصول (جفت باز)
<i>bla_{TEM}</i>	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)	۶۳۶
		۹۵ درجه سانتی گراد (۳۰ ثانیه)	
		۵۸ درجه سانتی گراد (۳۰ ثانیه) ۳۵ سیکل	
		۷۲ درجه سانتی گراد (۱ دقیقه)	
<i>bla_{SHV}</i>	F-5'- TCA GCG AAA AAC ACC TTG-3' R-5'-TCC CGC AGA TAA ATC ACC-3'	۹۵ درجه سانتی گراد (۲ دقیقه)	۴۷۲
		۹۵ درجه سانتی گراد (۱ دقیقه)	
		۵۱ درجه سانتی گراد (۳۰ ثانیه) ۳۵ سیکل	
		۷۲ درجه سانتی گراد (۳۰ ثانیه)	
<i>bla_{VIM}</i>	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)	۵۷۰
		۹۴ درجه سانتی گراد (۱ دقیقه)	
		۵۵ درجه سانتی گراد (۳۰ ثانیه) ۳۵ سیکل	
		۷۲ درجه سانتی گراد (۱ دقیقه)	
		۷۲ درجه سانتی گراد (۵ دقیقه)	

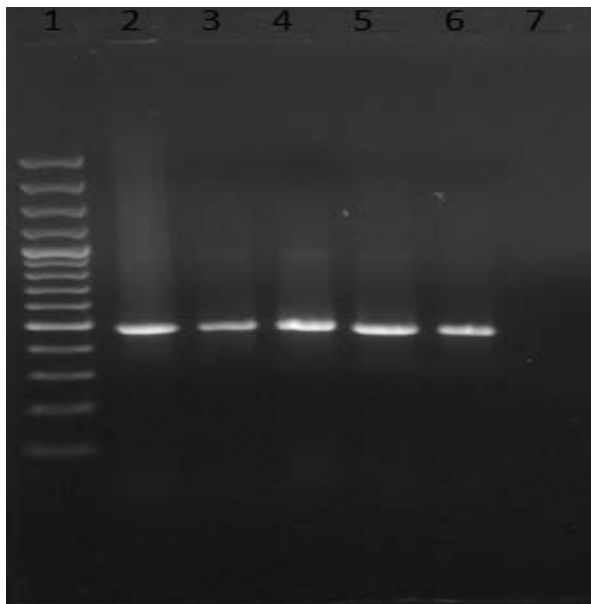
خون جدا شده بودند به ایمی پنم حساس بودند. مقاومت آنتی بیوتیکی ایزوله‌های باکتری در جدول شماره ۲ نشان داده شده است. از مجموع ۴۵ ایزوله اشریشیاکلی جمع آوری شده به ترتیب تعداد ۱۴ (۳۱/۱٪) و ۱۷ (۳۷/۸٪) ایزوله تولیدکننده ESBLs و بتالاتاماز AmpC بودند. از مجموع ۸۵ کلبسیلا پنومونیه جمع آوری شده، به ترتیب تعداد ۲۷ (۳۱/۸٪)، ۲۰

تحلیل آماری

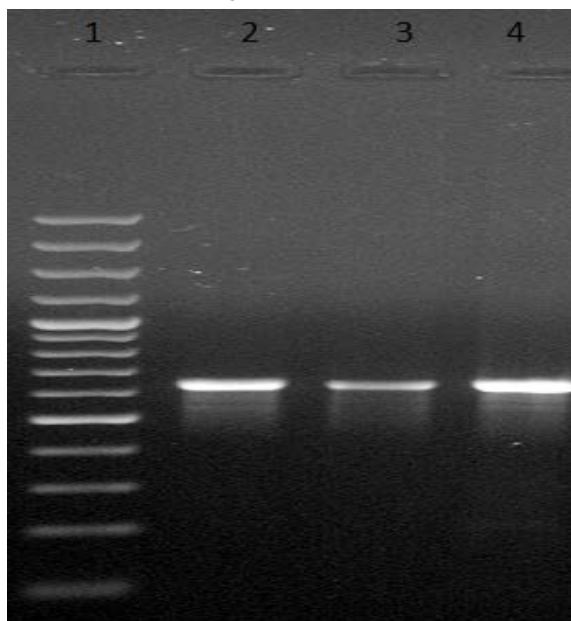
تحلیل نتایج با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ و به صورت درصد فراوانی گزارش گردید.

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



شکل ۳. الکتروفورز محصولات PCR تکثیر ژن blaSHV شماره ۱. مارکر DNA، شماره ۲: کنترل مثبت ژن blaSHV، شماره ۳: کنترل منفی، شماره‌های 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 ۳ و ۴ ایزوله‌های با ژن blaTEM (۶۳۶ جفت باز)

۱ (۱/۱۷٪) و ۲ (۲۳/۵٪) ایزوله از نظر تولید ESBLs و بتالاکتاماز AmpC و MBLs مثبت بودند.

جدول ۲. الگوی مقاومت ایزوله‌های اشریشیاکلی و کلبسیلا

پنومونیه به آنتی بیوتیک‌ها		آنتی بیوتیک
کلبسیلا پنومونیه (۶۵/۴)۸۵٪	اشریشیاکلی ۴۵ (۳۴/۶)٪	
۷ (۸/۲)	۰ (۰)	IMI
۲۹ (۳۴/۱)	۷ (۱۵/۵)	AUG
۲۴ (۲۸/۲)	۱۳ (۲۸/۹)	CTX
۱۰ (۱۱/۸)	۶ (۱۳/۳)	GM
۱۰ (۱۱/۸)	۲ (۴/۵)	CPM
۰ (۰)	۰ (۰)	MEM
۳۱ (۳۶/۵)	۱۴ (۳۱/۱)	CRO
۳۵ (۴۱/۲)	۱۸ (۴۰)	CFM
۳۳ (۳۸/۸)	۱۱ (۲۴/۵)	ATM
۱۰ (۱۱/۸)	۰ (۰)	AK
۱۵ (۱۷/۶)	۲ (۴/۵)	FOX
۲۴ (۲۸/۲)	۲ (۴/۵)	K
۲۱ (۲۴/۷)	۹ (۲۰)	CIP
۱۹ (۲۲/۳)	۳ (۶/۷)	CAZ
۲۷ (۳۱/۸)	۱ (۲/۲)	NI
۲۳ (۲۷)	۵ (۱۱/۱)	TN
۴۰ (۵۳)	۲۸ (۸۳/۷)	TET
۱۳ (۱۵/۳)	۱۹ (۴۲/۲)	CPD
۳۰ (۳۵/۳)	۳۰ (۶۶/۷)	SXT

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، blaTEM+blaSHV و MBLs در جدول ۳ نشان داده شده است. حضور هم‌زمان blaSHV و blaTEM در ۴ (۸/۹٪) و ۹ (۱۰/۵٪) ایزوله اشریشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه مشاهده گردید. blaVIM در ایزوله‌های مقاوم به کارباپنم تشخیص داده نشد.

جدول ۳. توزیع AmpC، blaSHV، blaTEM، MBLs در ایزوله‌های اشریشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه

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

بحث و نتیجه‌گیری

امروزه افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین انواع باکتری‌ها تهدیدی جدی در بحث درمان عفونت‌های ناشی از این میکروارگانیسم‌ها است. اشريشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه از عوامل مهم عفونت‌های بیمارستانی هستند (۱). متأسفانه استفاده بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها برای درمان عفونت‌ها علت مقاومت تعداد زیادی از آنتی‌بیوتیک‌ها 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 آنتی‌بیوتیک‌های 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 اشريشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه علیه چندین آنتی‌بیوتیک بررسی و ایزوله‌های تولیدکننده ESBLs، AmpC و MBLs با استفاده از روش دیسک دیفیوژن ترکیبی شناسایی شدند. مقاومت علیه آنتی‌بیوتیک‌های 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 کارباپنم‌هایی مانند ایمپنم 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 بی‌رویه 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 کارباپنم‌ها، از جمله مواردی هستند که باعث مقاومت سویه‌های کلبسیلا پنومونیه نسبت به کارباپنم‌ها در بخشی از مناطق جغرافیایی می‌شوند (۱۸).

یک یافته مهم در مطالعه ما حساسیت بیش از ۹۵٪ ایزوله‌ها به ایمپنم به دلیل استفاده کارباپنم‌ها برای درمان ایزوله‌های تولیدکننده ESBLs و بتالاکتاماز AmpC بود. پیدایش مقاومت به کارباپنم انتخاب دارویی برای درمان عفونت‌ها را محدود می‌کند (۵) قابل ذکر است که باکتری‌های مولد ESBLs به صورت قابل توجهی فقط به کارباپنم‌ها حساس باقی مانده‌اند (۱۲). در مطالعه ما شیوع ایزوله‌های ESBLs مثبت در اشريشیاکلی 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 خرم‌آباد کمتر از سایر نواحی ایران است. در این مطالعه شیوع بتالاکتامازهای TEM و SHV در ایزوله‌های بالینی اشريشیاکلی 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 اشريشیاکلی در مطالعه ما تقریباً مشابه با مطالعه میرزایی و همکاران در شهرستان بروجرد می‌باشد، در مطالعه آنها شیوع به ترتیب ۳۲/۱٪ و ۳۱/۶٪ گزارش شده است (۱۲).

شیوع بتالاکتاماز AmpC در ایزوله‌های بالینی اشريشیاکلی 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

مطالعه ممکن است به دلیل استفاده از چهار آنتی بیوتیک سفپییم، سفوکسیتین، سفنازیدیم و سفوتاکسیم برای شناسایی بتالاکتاماز AmpC در مطالعه ما در مقایسه با مطالعه کرمان باشد. هم‌چنین مطالعه حاضر توانایی 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 پایین تر 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 می‌آید. هم‌چنین از گروه میکروب شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران و سرکار خانم معصومه معتمدی تشکر می‌نماییم.

References

- 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.
- Denton M. Corrigendum to "Enterobacteriaceae"[*Int. J. Antimicrob. Agents* 29 (2007) S9–S22]. *International Journal Of Antimicrobial Agents*. 2007;6(30):568.
- Bush K, Jacoby GA. Updated functional classification of β -lactamases. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*. 2010;54(3):969-976.
- 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.
- Sundin DR. Hidden beta-lactamases in the enterobacteriaceae—dropping the extra disks for detection, part II. *Clinical Microbiology Newsletter*. 2009;31(7):47-52.
- Poole K. *Pseudomonas aeruginosa*: resistance to the max. *Frontiers In Microbiology*. 2011;2:65. doi: 10.3389/fmicb.2011.00065
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Wayne P. Clinical and laboratory standards institute. *Performance Standards For Antimicrobial Susceptibility Testing*. 2011.

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 Clinical Infectious Disease*. 2016;11(2):32816.

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

Delfani S¹, Kalantar-Neyestanaki D², Goudarzi Gh¹, Soroush S¹, 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.