

## شیوع بتالاکتامازهای وسیع الطیف در سویه های اشرشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه ایزوله از بیماران بستری و سرپایی مبتلا به عفونت های ادراری در مراکز منتخب شهر اصفهان (۱۳۸۸-۱۳۸۹)

\*شیلا جلال پور: کارشناس ارشد میکروب شناسی، مدرس و عضو باشگاه پژوهشگران جوان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرضا، اصفهان، ایران (\*مؤلف مسئول).

shilla.jalalpoor@yahoo.com

سینا مباشری زاده: کارشناس ارشد میکروب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران sina.mobasherizadeh@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۸۹/۸/۵

تاریخ پذیرش: ۸۹/۱۲/۱۴

### چکیده

**زمینه و هدف:** عفونت مجاری ادراری دومین عفونت شایع در انسان می باشد و عمده ترین باکتری های عامل عفونت ادراری اشرشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه می باشند؛ این باکتری ها از جمله پاتوژن های فرصت طلب و عامل عفونت بیمارستانی محسوب می گردند. شیوع ESBLs ( $\beta$ -لاکتامازهای وسیع الطیف) در باکتری های پاتوژن منجر به گسترش مقاومت های آنتی بیوتیکی و مرگ و میر در بیماران می گردد. مهم ترین راه کنترل سویه های مولد ESBLs، استفاده از روش های استاندارد شناسایی ESBLs می باشد. هدف از انجام این پژوهش بررسی و مقایسه شیوع ESBLs در سویه های اشرشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه جداسازی شده از بیماران بستری و سرپایی مبتلا به عفونت های ادراری در مراکز منتخب اصفهان بوده است.

**روش کار:** این مطالعه آزمایشگاهی و توصیفی در سال های ۸۹-۱۳۸۸ در بیمارستان های الزهراء، شریعتی، کاشانی و آزمایشگاه های رفرانس و مهدیه در اصفهان انجام گرفت. برای این منظور بر اساس فرمول حجم نمونه به طور تصادفی ۳۷۸ نمونه از عفونت های ادراری بررسی گردید، شناسایی باکتری ها بر اساس روش های میکروبیولوژیک و بررسی تولید ESBLs با آزمون های غربال گری و تاییدی انجام گرفت. داده های مطالعه پس از جمع آوری وارد نرم افزار Whonet 5.4 شده و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. از آزمون Chi Square جهت بررسی ارتباط بین متغیر های کیفی استفاده گردید.

**یافته ها:** از ۳۷۸ نمونه، ۱۶۷ باکتری از عفونت های ادراری بستری و ۲۱۱ باکتری از عفونت های ادراری سرپایی، مورد بررسی قرار گرفت. فراوانی سویه های اشرشیاکلی در نمونه های بستری و سرپایی به ترتیب ۵۲٪ و ۶۴٪، فراوانی سویه های کلبسیلا پنومونیه در نمونه های بستری و سرپایی به ترتیب ۶۴٪ و ۲۲٪، فراوانی ESBLs در سویه های اشرشیاکلی در نمونه های بستری و سرپایی به ترتیب ۵۸٪ و ۱۷٪ و در سویه های کلبسیلا پنومونیه در نمونه های بستری و سرپایی به ترتیب ۶۴٪ و ۲۲٪ بوده است.

**نتیجه گیری:** نتایج حاکی از فراوانی عفونت های ادراری، همچنین شیوع گسترده ESBLs در باکتری های جداسازی شده از بیماران بستری در مقایسه با بیماران سرپایی بوده است که این امر بیان گر انتشار گسترده سویه های مقاوم در برابر آنتی بیوتیک ها در بیمارستان ها می باشد.

**کلید واژه ها:** عفونت ادراری، بیماران بستری، بیماران سرپایی،  $\beta$ -لاکتامازهای وسیع الطیف، اشرشیاکلی، کلبسیلا پنومونیه

### مقدمه

عفونت بیمارستانی عبارت است از عفونت کسب شده در بیمارستان توسط بیماری که به دلیلی به جزء مشکل عفونت بستری گردیده است، یا عفونت ایجاد شده در بیماری که در بیمارستان یا سایر مراکز بهداشتی-درمانی بستری گردیده که در زمان پذیرش مبتلا به عفونت نبوده یا در دوره کمون آن قرار نداشته است. البته ممکن است عفونت پس از

ترخیص بیمار نیز ظاهر گردد و همچنین عفونت های شغلی که در میان پرسنل مراکز بهداشتی-درمانی اتفاق می افتد نیز عفونت بیمارستانی محسوب می گردد. طبق بررسی های سازمان بهداشت جهانی فراوانی عفونت بیمارستانی در میان بیماران بستری به طور متوسط ۸/۷٪ گزارش گردیده که این میزان در کشورهای اروپایی بین ۷/۷ الی ۹٪ و در کشورهای شرق مدیترانه و

سویه‌های کلبسیلا پنومونیه، پسودوموناس آئروژینوزا و گونه‌های پروتئوس نیز از جمله دیگر باکتری‌های عامل عفونت مجاری ادراری محسوب می‌گردند.<sup>(۵۴)</sup>

برخی از ارگانسیم‌ها به طور ذاتی به تعدادی یا حتی تمامی عوامل ضد میکروبی مقاوم هستند، اما برخی از ارگانسیم‌ها مقاومت به عوامل ضد میکروبی را با مکانیسم‌های موتاسیون و انتشار ژن‌های مقاومت از ارگانسیم‌های مقاوم به سایر ارگانسیم‌ها اکتساب می‌نمایند. مهم‌ترین مکانیسم مقاومت باکتری‌ها عبارت است از تولید آنزیم‌های غیر فعال‌کننده آنتی‌بیوتیک‌ها و مهم‌ترین روش مقاومت باکتری‌ها در برابر آنتی‌بیوتیک‌های خانواده  $\beta$ -لاکتام، تولید  $\beta$ -لاکتاماز می‌باشد.<sup>(۳)</sup>

$\beta$ -لاکتاماز آنزیم غیرفعال‌کننده آنتی‌بیوتیک‌های خانواده  $\beta$ -لاکتام است. پنی‌سیلیناز اولین  $\beta$ -لاکتامازی است که شناسایی شد. این آنزیم اولین بار در سال ۱۹۴۰ از اشرشیاکلی جداسازی گردید.<sup>(۶)</sup>  $\beta$ -لاکتامازهای وسیع‌الطیف به دنبال مصرف فراوان آنتی‌بیوتیک‌های گسترده طیف، در اوایل دهه ۱۹۸۰ در اروپا شناسایی شدند و اولین  $\beta$ -لاکتامازهای وسیع‌الطیف در سال ۱۹۸۳ در آلمان شناسایی گردید.  $\beta$ -لاکتامازهای وسیع‌الطیف  $\beta$ -لاکتامازهایی هستند که سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف را هیدرولیز می‌کنند؛ از جمله سفوتاکسیم، سفتریاکسون و سفتازیدیم. این آنزیم‌ها فاقد توانایی هیدرولیز سفامایسین‌ها و کارباپنم‌ها هستند.<sup>(۸)</sup>

$\beta$ -لاکتامازهای وسیع‌الطیف در برخی از اعضای خانواده انتروباکتریاسه و پسودوموناس آئروژینوزا یافت می‌شود. عمده‌ترین باکتری‌های مولد  $\beta$ -لاکتامازهای وسیع‌الطیف عبارتند از اشرشیاکلی، کلبسیلا پنومونیه و سایر گونه‌های کلبسیلا.<sup>(۹-۱۱)</sup> سایر باکتری‌های مولد  $\beta$ -لاکتامازهای وسیع‌الطیف عبارتند از سراشیا مارسنس، گونه‌های سالمونلا، انتروباکتر و موراگزلا، پروتئوس میرابیلیس و پسودوموناس آئروژینوزا.<sup>(۹-۱۱)</sup>

شناسایی سویه‌های مولد بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف با روش‌های گوناگونی انجام می‌گیرد؛ از جمله آزمون حساسیت میکروبی، MIC، E test،

آسیای جنوب شرقی ۱۰ الی ۱۱/۸٪ گزارش شده است.<sup>(۱۰)</sup>

عفونت‌های بیمارستانی در تمام کشورهای دنیا اعم از فقیر و غنی تاثیرگذار بوده و یکی از معضلات اساسی مراکز بهداشتی درمانی می‌باشد. این عفونت‌ها از عوامل عمده مرگ و میر بیماران در مراکز درمانی بوده و هزینه‌های قابل توجه‌ای را بر بیمار و سیستم بهداشت و درمان تحمیل می‌نماید. با وجود پیشرفت در بهداشت عمومی و مراقبت‌های پزشکی، عفونت‌های بیمارستانی همچنان در بیماران بستری شده ایجاد می‌شوند و حتی ممکن است پرسنل بیمارستان‌ها را نیز گرفتار نمایند.<sup>(۳)</sup> فاکتورهای متعددی عفونت را در میان بیماران بستری شده ترویج می‌نمایند؛ برای مثال افزایش انواع روش‌های پزشکی و تکنیک‌های تهاجمی که خود بالقوه ایجادکننده عفونت می‌باشند و همچنین انتشار باکتری‌های مقاوم به دارو در میان جمعیت ساکن در بیمارستان‌ها و عدم رعایت صحیح اصول بهداشتی را می‌توان از عوامل عمده این موضوع دانست.<sup>(۳)</sup>

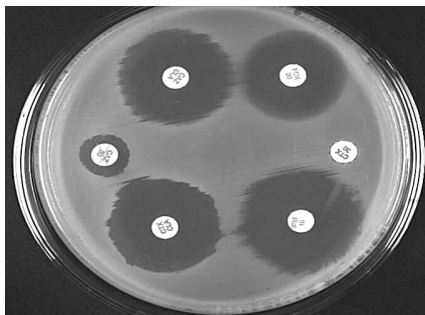
عفونت‌های ادراری شایع‌ترین نوع عفونت‌های بیمارستانی می‌باشد و عفونت مجاری ادراری دومین عفونت شایع در انسان است. ۸۰٪ از عفونت‌ها در ارتباط با استفاده از کاتترهای ادراری می‌باشد. عفونت‌های ادراری نسبت به سایر عفونت‌های بیمارستانی عوارض کمتری ایجاد می‌نمایند، اما گاه می‌توانند باعث ایجاد باکتری‌می و مرگ شوند. عفونت ادراری معمولاً توسط خصوصیات میکروبیولوژیک مشخص می‌شوند که عبارت است از کشت مثبت با بیش از  $10^5$  میکروارگانسیم در هر میلی لیتر ادرار همراه با حداکثر دو گونه باکتریال.<sup>(۵۴)</sup>

از جمله باکتری‌های شایع عفونت‌های ادراری اشرشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه می‌باشد. عمده‌ترین عفونت مجاری ادراری به وسیله باکتری‌هایی ایجاد می‌شوند که به طور طبیعی در کولون ساکن هستند. تقریباً ۸۰ تا ۹۰٪ عفونت مجاری ادراری کسب شده در اجتماع (عفونت‌های غیربیمارستانی) به وسیله اشرشیاکلی ایجاد می‌شوند و سایر ارگانسیم‌های گرم منفی از جمله

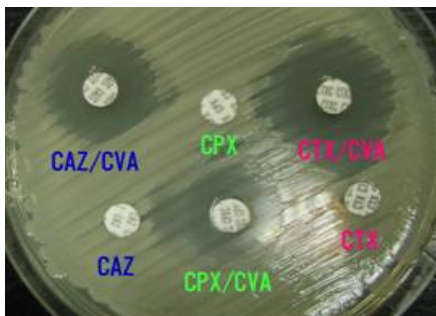
مثبتی که شامل موارد فوق نمی شدند از گروه حذف می شدند و در گروه بیمارستانی ملاک بستری شدن بیمار در یکی از بخش‌های بیمارستان و داشتن علائم مربوط به عفونت های ادراری بیمارستانی بوده است.

**کشت و شناسایی باکتری ها:** جهت کشت نمونه‌های ادراری از محیط های Sheep Blood Agar و EMB agar استفاده گردید. نمونه های کشت داده شده به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت در دمای ۳۵ °C اینکوبه شدند. شناسایی سویه های کلبسیلا پنومونیه و اشرشیاکلی بر اساس روش های میکروبیولوژیک از جمله رنگ آمیزی گرم، انجام آزمون های شیمیایی، استفاده از محیط های افتراقی و اختصاصی انجام گردید.<sup>(۱۲)</sup>

**شناسایی  $\beta$ -لاکتامازهای وسیع الطیف:** برای شناسایی  $\beta$ -لاکتامازهای وسیع الطیف در سویه های اشرشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه، از روش های پیشنهادی CLSI یعنی روش غربال گری و آزمون تاییدی استفاده گردید. در آزمون غربال گری



تصویر ۱- آزمون غربال گری و تاییدی برای بررسی سویه‌های مولد ESBL



تصویر ۲- آزمون تاییدی فنوتیپی برای تایید سویه‌های مولد ESBL

آزمون های مولکولی از جمله PCR, LCR و تعیین توالی ژن های  $\beta$ -لاکتامازهای وسیع الطیف.<sup>(۱۲)</sup> روش های اختصاصی پیشنهاد شده توسط CLSI برای شناسایی باکتری های مولد  $\beta$ -لاکتامازهای وسیع الطیف، به ۲ دسته تقسیم می شوند: آزمون های غربال گری و آزمون های تاییدی.<sup>(۱۲)</sup>

شیوع سویه های اشرشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه تولید کننده بتالاکتاماز وسیع الطیف در عفونت های ادراری در حال افزایش است و نگرانی جامعه پزشکی را در پی دارد؛ به همین دلیل این مطالعه با هدف بررسی و مقایسه فراوانی نسبی سویه های اشرشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه تولید کننده بتالاکتاماز وسیع الطیف در عفونت های ادراری بیمارستانی و غیر بیمارستانی در مراکز درمانی منتخب شهر اصفهان، انجام گردید.

## روش کار

مطالعه حاضر یک تحقیق توصیفی بوده و به مدت ۹ ماه در اصفهان به طول انجامید. جمعیت مورد مطالعه: در گروه غیر بیمارستانی باکتری های جدا شده از عفونت های ادراری متعلق به بیماران سرپایی مراجعه کننده به ۵ آزمایشگاه مرکز درمانی یا تشخیصی بودند که شامل مرکز آموزشی درمانی الزهرا، مرکز آموزشی درمانی کاشانی، بیمارستان شریعتی، آزمایشگاه مهدیه و آزمایشگاه فرانس دانشگاه علوم پزشکی اصفهان می شدند که به دلیل علائم عفونت ادراری و جهت انجام کشت به مراکز مربوطه مراجعه کرده بودند.

در گروه بیمارستانی باکتری های جدا شده متعلق به بیماران بستری در بخش های مراکز آموزشی درمانی الزهرا، کاشانی و بیمارستان شریعتی بودند که غالباً به دلیل استفاده از سوند ادراری یا یک عمل تهاجمی در دستگاه ادراری تناسلی، آن ها مبتلا به عفونت ادراری بیمارستانی شده بودند.

**معیارهای ورود و خروج داده‌ها:** ملاک انتخاب نمونه های مثبت در گروه غیر بیمارستانی نحوه صحیح جداسازی باکتری، خالص بودن باکتری جدا شده و داشتن حداقل ۵ گلبول سفید در گزارش کامل ادرار بیمار بوده. بدیهی است کشت های

*Escherichia coli*، به این ترتیب که برای سویه اشرشیاکلی هاله عدم رشد برای آنتی بیوتیک-کلاولانیک اسید  $\geq 2$  mm و برای سویه کلبسیلا پنومونیه، در مورد سفزازیدیم-کلاولانیک اسید mm  $\geq 5$ ، در مقایسه با سفزازیدیم و برای سفوتاکسیم-کلاولانیک اسید  $\geq 3$  mm در مقایسه با سفوتاکسیم در نظر گرفته می شود.<sup>(۱۴)</sup>

**روش نمونه گیری در این پژوهش:** از نوع نمونه گیری آسان بوده و این امر تا رسیدن به حجم نمونه مورد نظر ادامه یافت. حجم نمونه مورد نیاز این مطالعه با استفاده از فرمول برآورد حجم نمونه جهت مطالعات شیوع که در زیر ذکر گردیده و با در نظر گرفتن سطح اطمینان ۹۵٪ ( $1-a/2 = 1/96$ )، میزان خطای ۱۰٪ ( $d=0/1$ ) و میزان شیوع بتالاکتامازهای وسیع الطیف که بررسی های به عمل آمده در دیگر مطالعات از ۵٪ تا ۳۵٪ (میانگین ۲۰٪) به دست آمده است، به تعداد ۶۲ نمونه محاسبه گردید. بدیهی است تعداد نمونه لازم شامل ۶۲ نمونه از بیماران بستری و ۶۲ نمونه از بیماران سرپایی خواهد بود.

از طرف دیگر باتوجه به اینکه سویه باکتری نیز در این مطالعه مد نظر بوده است و جزء اهداف مطالعه می باشد، لازم است که از هر کدام از سویه های اشرشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه ۱۲۴ نمونه اخذ شود. بنابراین حجم کل نمونه مورد نیاز ۳۷۲ نمونه خواهد بود که در نهایت ۳۷۸ نمونه بررسی گردید. داده های مطالعه پس از جمع آوری وارد نرم افزار Whonet 5.4 شده و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. از آزمون Chi Square جهت بررسی ارتباط بین متغیر های کیفی استفاده گردید.

$$N = Z^2 pq / d^2 : (1.96)^2 \times 0.2 \times 0.8 / (0.1)^2 = 62 \times 2 = 124 \times 3 = 372$$

#### یافته ها

در این مطالعه ۳۷۸ نمونه جدا شده از عفونت های ادراری مورد بررسی قرار گرفت؛ به این ترتیب که ۲۱۱ نمونه از عفونت های ادراری غیر بیمارستانی (افراد سرپایی) و ۱۶۷ نمونه از عفونت های ادراری بیمارستانی، بررسی گردید. ۲۱٪ از باکتری های جدا شده از گروه غیر

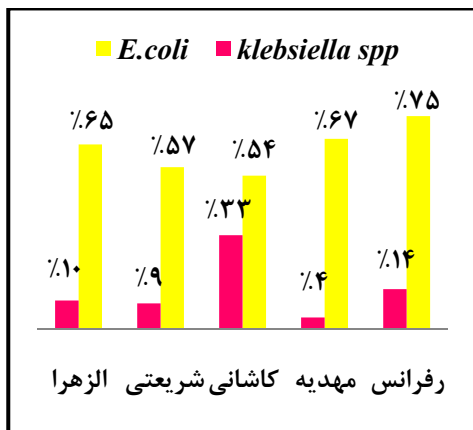
حضور بتالاکتامازهای وسیع الطیف در باکتری، بر اساس میزان هاله عدم رشد باکتری در اطراف دیسک های آنتی بیوتیکی شناسایی گردید. در این آزمون از محیط MHA (ساخت شرکت Merck) و برای تلقیح نمونه روی محیط از روش انتقال مستقیم کلنی باکتری استفاده گردید. زمان و دمای انکوباسیون به ترتیب ۱۶-۱۸ ساعت و  $35 \pm 2^\circ C$  در نظر گرفته شد (تصویر ۱).<sup>(۱۴)</sup>

به این ترتیب اگر هاله عدم رشد باکتری، اطراف دیسک های سفزازیدیم  $30 \mu g$  (ساخت شرکت Mast)  $22 \text{ mm} \leq$ ، سفتری آکسون  $30 \mu g$  (ساخت شرکت Mast)  $25 \text{ mm} \leq$  و سفوتاکسیم  $30 \mu g$  (ساخت شرکت Mast)  $27 \text{ mm} \leq$  باشد، باکتری به عنوان سویه بالقوه واجد بتالاکتامازهای وسیع الطیف گزارش داده می شود که در نهایت تایید نهایی تولید بتالاکتاماز وسیع الطیف توسط آزمون های تاییدی مورد آزمایش قرار گرفت.<sup>(۱۴)</sup>

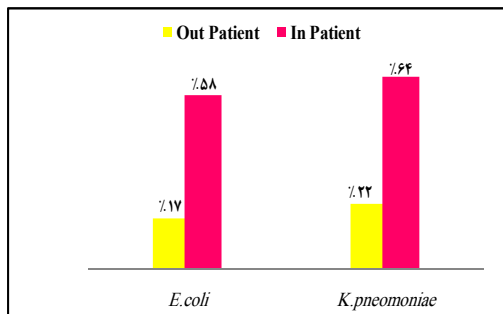
برای آزمون کنترل کیفی از سویه ATCC *Klebsiella pneumoniae* 700603 استفاده گردید؛ به این ترتیب هاله عدم رشد برای سفزازیدیم (ساخت شرکت Mast)  $18-10 \text{ mm}$ ، برای سفتری آکسون (ساخت شرکت Mast)  $24-16 \text{ mm}$  و برای سفوتاکسیم (ساخت شرکت Mast)  $25-17 \text{ mm}$  می باشد.<sup>(۱۴)</sup>

برای انجام آزمون های تاییدی (آزمون فنوتیپی) از دیسک های سفزازیدیم  $30 \mu g$  (ساخت شرکت Mast) و سفزازیدیم-کلاولانیک اسید  $30/10 \mu g$  (ساخت شرکت Mast) و سفوتاکسیم  $30 \mu g$  و سفوتاکسیم (ساخت شرکت Mast)  $30/10 \mu g$  (ساخت شرکت Mast) استفاده گردید؛ برای انجام این آزمون فاصله مرکز-مرکز دو دیسک محیط MHA باید حداقل  $25 \text{ mm}$  در نظر گرفته شود (تصاویر ۱ و ۲).<sup>(۱۴)</sup> در صورتی که هاله عدم رشد دیسک همراه با کلاولانیک اسید، حداقل  $5 \text{ mm} \geq$  بیشتر از قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک فاقد کلاولانیک اسید باشد، این امر موید حضور آنزیم بتالاکتامازهای وسیع الطیف در باکتری می باشد.<sup>(۱۴)</sup>

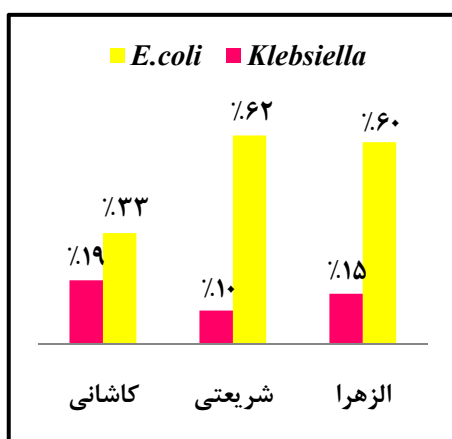
برای آزمون کنترل کیفی، هم زمان از دو سویه استفاده می شود: سویه ATCC 700603 *Klebsiella pneumoniae* و ATCC 25922



نمودار ۱- فراوانی نسبی سویه‌های اشرشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه در عفونت‌های اداری غیر بیمارستانی به تفکیک مراکز منتخب



نمودار ۲- مقایسه فراوانی نسبی ESBLs در سویه‌های اشرشیاکلی و کلبسیلا ایزوله از نمونه‌های بستری و سرپایی



نمودار ۳- فراوانی نسبی سویه‌های اشرشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه در عفونت‌های اداری بیمارستانی به تفکیک مراکز درمانی منتخب

بیمارستانی متعلق به بیماران مرد و ۷۹٪ متعلق به بیماران زن بوده است. بیشترین کشت مثبت جدا شده در این گروه از بیمارستان شریعتی (۴۴٪) و کمترین آن از بیمارستان کاشانی (۲٪) بوده است؛ به این ترتیب که در بیمارستان شریعتی ۴۶٪، بیمارستان الزهرا ۲۴٪، آزمایشگاه مهدیه ۲۰٪، آزمایشگاه رفرانس ۸٪ و بیمارستان کاشانی ۲٪ از کشت‌ها مثبت بوده است.

در گروه غیر بیمارستانی ۱۸۱ سویه اشرشیاکلی و ۳۰ سویه کلبسیلا پنومونیه مورد بررسی قرار گرفت. فراوانی نسبی سویه‌های اشرشیاکلی در میان عوامل ایجاد کننده عفونت اداری غیر بیمارستانی در مراکز منتخب ۶۴٪ و فراوانی نسبی سویه‌های کلبسیلا پنومونیه ۱۴٪ بوده است. در گروه بیمارستانی ۱۳۱ سویه اشرشیاکلی و ۳۶ سویه کلبسیلا پنومونیه مورد بررسی قرار گرفت. فراوانی نسبی سویه‌های اشرشیاکلی در میان عوامل ایجاد کننده عفونت اداری بیمارستانی در مراکز منتخب ۵۲٪ و فراوانی نسبی سویه‌های کلبسیلا پنومونیه ۱۵٪ بوده است.

در مطالعه حاضر بیشترین فراوانی نسبی سویه‌های اشرشیاکلی جدا شده از عفونت‌های اداری غیر بیمارستانی در آزمایشگاه رفرانس با ۷۵٪ و سویه‌های کلبسیلا پنومونیه با ۳۳٪ در بیمارستان کاشانی مشاهده گردید (نمودار ۱).

فراوانی نسبی سویه‌های تولید کننده بتالاکتاماز وسیع الطیف در سویه‌های اشرشیاکلی جدا شده از عفونت‌های اداری غیر بیمارستانی ۱۷٪ و در سویه‌های کلبسیلا پنومونیه ۲۲٪ تعیین گردید. فراوانی نسبی سویه‌های تولید کننده بتالاکتاماز وسیع الطیف در سویه‌های اشرشیاکلی جدا شده از عفونت‌های اداری بیمارستانی ۵۸٪ و در سویه‌های کلبسیلا پنومونیه ۶۴٪ تعیین گردید (نمودار ۲).

در مطالعه حاضر بیشترین فراوانی نسبی سویه‌های اشرشیاکلی جدا شده از عفونت‌های غیر بیمارستانی با ۲۸.۶٪ در بیمارستان الزهرا مشاهده گردید و کمترین فراوانی نسبی در بیمارستان شریعتی با ۱۱.۱٪ مشاهده گردید. همچنین بیشترین فراوانی نسبی سویه‌های کلبسیلا

گزارش گردیده است.<sup>(۲۰۱۹)</sup> در یک مطالعه توصیفی بر روی ۴۰۰ خانم، ۱۱ نفر به طور واضح علامت عفونت ادراری داشتند و در آزمایش ادرار هم باکتریوری مثبت بودند و ۱۹ نفر بدون علامت اما باکتریوری مثبت بودند. بر اساس این مطالعه فراوانی باکتریوری علامت دار، ۲/۷۵٪ و باکتریوری بدون علامت ۴/۷۵٪ و در کل ۷/۵٪ خانم های مورد این مطالعه واجد باکتریوری بودند.<sup>(۲۱)</sup> براساس مطالعه مشابه دیگری از ۲۵۵ خانم، ۲۷ نفر (۱۰/۵۸٪) واجد عفونت ادراری بودند.<sup>(۲۲)</sup> نتایج این مطالعه و سایر مطالعات انجام گرفته در این راستا، بیانگر فراوانی بیشتر عفونت های ادراری در خانم ها در مقایسه با آقایان بوده است که این نتایج به وضعیت فیزیولوژیک دستگاه ادراری در خانم ها و آقایان ارتباط دارد.

فراوانی بالای عفونت های بیمارستانی نشان دهنده کیفیت ضعیف ارائه خدمات بهداشتی-درمانی می باشد. عوامل زیادی در فراوانی عفونت های بیمارستانی تاثیر گذار می باشند؛ بیماران بستری اغلب دارای ضعف سیستم ایمنی می باشند، آن ها اغلب تحت درمان ها و آزمایش های تهاجمی قرار می گیرند. نحوه کار پرسنل بیمارستان و همچنین محیط بیمارستان نیز در این امر دخیل می باشند.

در تحقیق حاضر، فراوانی نسبی سویه های اشرشیاکلی تولید کننده بتالاکتاماز وسیع الطیف جدا شده از عفونت های ادراری بیمارستانی در مراکز درمانی منتخب ۵۸٪ بوده که این میزان به طور قابل ملاحظه ای ( $p < 0/001$ ) بیشتر از فراوانی سویه های اشرشیاکلی جدا شده از عفونت های ادراری غیربیمارستانی (۱۷٪) بوده است.

همچنین در این مطالعه فراوانی نسبی سویه های تولید کننده بتالاکتاماز وسیع الطیف در سویه های کلبسیلا پنومونیه جدا شده از عفونت های ادراری بیمارستانی در مراکز درمانی منتخب ۶۴٪ بوده که این میزان به طور قابل ملاحظه ای ( $p < 0/001$ ) بیشتر از فراوانی سویه های کلبسیلا پنومونیه جدا شده از عفونت های ادراری غیر بیمارستانی (۲۲٪) بوده است.

در پژوهش حاضر بیشترین فراوانی نسبی

پنومونیه جدا شده از عفونت های ادراری غیر بیمارستانی ۲۷٪ در بیمارستان الزهرا و کمترین آن در آزمایشگاه رفرانس با ۷/۷٪ گزارش گردید.

در گروه بیمارستانی ۲۶٪ از باکتری های جدا شده متعلق بیماران مرد و ۷۴٪ متعلق به زنان بوده است. بیشترین کشت مثبت جدا شده در این گروه از بیمارستان شریعتی (۵۸٪) و کمترین آن از بیمارستان کاشانی (۷٪) بوده است؛ به این ترتیب که در بیمارستان شریعتی ۵۸٪، بیمارستان الزهرا ۳۵٪ و بیمارستان کاشانی ۷٪ از کشت ها مثبت بوده اند. در گروه بیمارستانی فراوانی نسبی سویه های اشرشیاکلی در مرکز درمانی شریعتی در میان عوامل ایجاد کننده عفونت ادراری بیمارستانی با ۶۲٪ بیشتر از سایرین بوده است. همچنین بیشترین فراوانی نسبی سویه های کلبسیلا پنومونیه جدا شده از عفونت ادراری بیمارستانی در بیمارستان کاشانی با ۱۹٪ بیشتر از سایرین بوده است (نمودار ۳).

در این گروه فراوانی سویه های اشرشیاکلی تولید کننده بتالاکتاماز وسیع الطیف در مرکز آموزشی درمانی الزهرا ۶۴٪ و شریعتی ۵۶٪ و فراوانی نسبی سویه های کلبسیلا پنومونیه تولید کننده بتالاکتاماز وسیع الطیف در بیمارستان الزهرا ۷۴٪ مشخص گردید.

### بحث و نتیجه گیری

بر اساس نتایج این پژوهش فراوانی عفونت ادراری ۳۳/۴۶٪ برآورد گردید؛ به این ترتیب که شیوع عفونت های ادراری در بیماران بستری ۳۲/۶٪ و در بیماران سرپایی ۳۳/۳٪ بوده است. در دنیا سالانه ۱۵۰ میلیون نفر دچار عفونت ادراری می شوند و شیوع آن در خانم ها ۱۰ برابر آقایان می باشد. در ایالات متحده سالانه بیش از ۱۰ میلیون مورد عفونت ادراری بدون علامت و حدود ۱۰ میلیون مورد عفونت ادراری علامت دار گزارش می شود.<sup>(۱۵-۱۸)</sup>

در کشور ایران طبق نتایج تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی مازندران در سال ۱۳۷۶ که روی ۹۰۹ نمونه انجام شده است، شیوع آلودگی مجرای ادراری ۱۳/۳۲ (در خانم ها ۱۴/۹۲٪ و در آقایان ۱۱/۷۳٪)



در روسیه و ترکیه و یونان در رنج ۳۹٪ تا ۴۷٪ گزارش شده است.<sup>(۲۳)</sup> بیشترین شیوع ESBL در سویه‌های کلبسیلا پنومونیه جداسازی شده از آمریکای لاتین با شیوع ۴۵٪ و کمترین میزان با شیوع ۵٪ در کانادا گزارش شده است.<sup>(۹)</sup>

با توجه به این مطالعه و سایر مطالعات انجام گرفته در ایران و کشورهای دیگر و همچنین در این پژوهش مشخص گردید که سویه‌های کلبسیلا پنومونیه در مقایسه با اشرشیاکلی از توان بیشتری در تولید ESBL برخوردار می‌باشند.<sup>(۹)</sup> همچنین مشاهده گردید که تشابهات و اختلافاتی در فراوانی نسبی سویه‌های اشرشیاکلی و کلبسیلا تولید کننده بتا لاکتاماز وسیع الطیف وجود دارد که این مسئله بیشتر به شرایط منطقه ای و جغرافیایی مکان مورد مطالعه، همچنین سلیق انتخاب دارو، و مصرف بی رویه داروهای وسیع الطیف بستگی دارد. با توجه به نتایج این مطالعه که بیانگر انتشار قابل ملاحظه ESBL در سویه‌های اشرشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه بوده است، بسیار مقتضی است آزمایشگاه‌ها برای نمونه‌های فوق الذکر قبل از انجام آزمون روتین آنتی بیوگرام، با انجام آزمون‌های غربالگری و تاییدی به بررسی توان تولید ESBL پرداخته و بر اساس نتایج حاصله، آزمون روتین آنتی بیوگرام با استفاده از آنتی بیوتیک‌های مناسب را انجام دهند.

کنترل تراکم باکتری‌ها در بیمارستان‌ها منجر به کنترل ایجاد سویه‌های مقاوم در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها می‌گردد. حفظ بهداشت شخصی در میان پرسنل به عنوان مهم‌ترین عوامل انتقال و انتشار باکتری‌ها در بیمارستان و همچنین بهداشت عمومی بیمارستان‌ها در کنترل تراکم میکروارگانیسم‌ها نقش به‌سزایی دارد.

درمان تجربی عفونت‌های مقاوم در برابر دارو باعث افزایش هزینه‌ها، عوارض جانبی برای بیمار و به خطر افتادن جان بیمار می‌گردد. انتخاب آنتی‌بیوتیک باید براساس نوع پاتوژن، الگوهای حساسیت آنتی‌بیوتیکی، مکانیسم‌های مقاومت آنتی‌بیوتیک، مدل فارماکوکینتیک دارو، میزان تحمل به دارو و ایمنی بیمار انجام گردد. به همین دلیل تمامی مراکز درمانی باید دارای سیاست‌های

اشرشیاکلی تولید کننده بتا لاکتاماز وسیع الطیف در عفونت‌های ادراری بیمارستانی در مرکز آموزشی درمانی الزهرا با ۶۴٪ و بعد از آن شریعتی ۵۶٪ گزارش گردید. همچنین بیشترین فراوانی نسبی گونه‌های کلبسیلا تولید کننده بتالاکتاماز وسیع الطیف در بیمارستان الزهرا با ۷۴٪ مشخص گردید.

بر اساس نتایج حاصل از پژوهش‌های قبلی انجام شده در این راستا در ایران مشخص گردید که به ترتیب ۷۶/۷۴٪ و ۶۰/۶۰٪ از گونه‌های کلبسیلا و اشرشیاکولی جداسازی شده از بخش‌های مراقبت ویژه، مولد بتالاکتامازهای وسیع الطیف بوده‌اند.<sup>(۲۳)</sup> بر اساس مطالعات انجام شده مشخص گردید ۳۰/۸٪ باکتری‌های عامل عفونت‌های بیمارستانی و ۴۳/۵٪ از باکتری‌های مولد عفونت در بخش‌های مراقبت ویژه، مولد ESBL بوده‌اند.<sup>(۲۴و۹)</sup>

در سال ۲۰۰۰ بر اساس گزارشی منتشره از SENTRY Antimicrobial Surveillance شیوع بتالاکتامازهای وسیع الطیف در گونه‌های کلبسیلا در مقایسه با اشرشیاکلی به ترتیب ۱۹٪ و ۴٪ گزارش شده است.<sup>(۲۵و۹)</sup>

در یک بررسی که در سال‌های ۹۸-۱۹۹۳ در بیمارستان‌های سئول انجام گرفت مشخص شد که به ترتیب ۱۷/۹٪ و ۵۲/۹٪ از سویه‌های اشرشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه جداسازی شده از کشت‌های خون در کودکان، مولد ESBL بوده‌اند.<sup>(۱۲)</sup> در یک بررسی در سال ۲۰۰۳ روی سویه‌های اشرشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه جداسازی شده از نمونه‌های ادراری بیماران بستری در بخش‌های مراقبت‌های ویژه بیمارستان، مشخص گردید ۲۵/۶٪ سویه‌ها مولد ESBLs بوده‌اند.<sup>(۹)</sup> شیوع ESBLs در هندوستان از ۶٪ تا ۸۷٪ گزارش داده شده است.<sup>(۲۵-۲۸و۱۰)</sup>

در کشورهای اروپایی نیز شاهد تنوع شیوع این آنزیم‌ها می‌باشیم، به طوری که در برخی از بیمارستان‌های کشور فرانسه شیوع این آنزیم‌ها بیش از ۴۰٪ گزارش شده است.<sup>(۹)</sup> در سال‌های اخیر شیوع ESBL در آمریکا، کانادا، چین و ایتالیا افزایش چشم‌گیری داشته است.<sup>(۱۰-۳۲)</sup> در یکی از مطالعات اخیر شیوع این آنزیم‌ها در آلمان ۱/۵٪ و

- Filamentation by *Escherichia coli* subverts innate defenses during urinary tract infection. *Proc Natl Acad Sci USA*; 2006. 103(52): 19884-89.
6. Agrawal P, Ghosh AN, Kumar S, Basu B, Kapila K. Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase among *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in isolates in a tertiary care hospital. *Indian J Path Microbiol*; 2008. 51(1): 137-42.
  7. Paterson DL, Bonomo R. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev*; 2005. 18(4): 657-86.
  8. Livermore DM.  $\beta$ -lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev*; 1995. 8: 557-84.
  9. Mendelson GV, Hait J, Ben-Israel D, Gronich E, Granot R. Prevalence and risk factors of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in an Israeli long-term care facility. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*; 2005. 24: 17-22.
  10. Agrawal P, Ghosh A, Agrawal P, Ghosh AN, Kumar S, Basu B, et al. Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase among *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Isolates in a tertiary care hospital. *Indian J Path Microbiol*; 2008. 51(1): 137-42.
  11. Bush K. Is it important to identify extended spectrum beta-lactamase producing isolates? *Eur J Clin Microb Infect Dis*; 1996. 15: 361-64.
  12. Kim YK, Pai H, Lee HJ, Park SE, Choi EH. Bloodstream infections by extended-spectrum beta-Lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in children: epidemiology and clinical outcome. *Anti Microb Agent Chemother*; 2002. 46(5): 1481-91.
  13. Washington C, Stephen A, Janda W, Koneman E, Procop G, Schreckenberger P, Woods G. *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 6 ed .USA: Lippincott Williams & Wilkins; 2006.p. 775-79.
  14. Wikler MA, Cockerill FR, Craig WA,

مدون و برنامه های مناسب جهت استفاده از آنتی بیوتیک ها باشند که هدف از این کار اطمینان از تجویز مناسب، موثر و اقتصادی آنتی بیوتیک ها جهت پیشگیری از ایجاد میکروارگانیسم های مقاوم و کاهش انتشار آن ها باشد.

### تقدیر و تشکر

بدین وسیله کمال تشکر و قدردانی خود را از مدیریت بیمارستان فوق تخصصی الزهراء، مدیریت بیمارستان شریعتی، مدیریت بیمارستان کاشانی، مدیریت آزمایشگاه فرانس، مدیریت آزمایشگاه مهدیه، دکتر کامیار مصطفوی زاده، دکتر سیدامین ابن شهیدی، مهدی سجادی، دکتر ناصر الماسی، حسن قجاوند، عبدالرسول محمدی، نسرين احمدی، منیژه نباتی، پیام کبیری، زهرا بم زاده، ژینا وزیرزاده و مریم خیرخواه اعلام می نمایم.

### فهرست منابع

1. Kim JM, Park ES, Teong TS, Kim KM, Kim TM, Ohir S. Multicentre surveillance study for nosocomial infections in major hospitals in Korea. *Nosocomial Infection Surveillance Committee of the Corean Society for Nosocomial Infection Control. Am J Infect Control*; 2000. 28(5): 454-58.
2. Emmerson AM, Enstone JE, Griffin M, Kelsey MC, Smyth ET. The second national prevalence survey of infections in hospitals-overview of the results. *J Hosp Infect*; 1996. 32(3): 175-90.
3. Jalalpoor Sh, Kasra Kermanshahi R, Nouhi AS, Zarkesh Isfahani H. Comparing the frequency of  $\beta$ -lactamase enzyme in isolated nosocomial infectious bacteria. *JRMS*; 2009. 8(3): 203-14.
4. Gould CV, Umscheid CA, Agarwal RK, Kuntz G, Pegues DA. Guideline for prevention of catheter-associated urinary tract infections 2009. *Infect Control Hosp Epidemiol*; 2010. 31(4): 319-26.
5. Justice S, Hunstad D, Seed P, Hultgren S.



- implications of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase production in nosocomial infections. *Ann Intern Med*; 2004. 140: 26-32.
25. Gordon KA, Jones RN, and the SENTRY Participant Groups (Europe, Latin America, North America). Susceptibility patterns of orally administered antimicrobials among urinary tract infection pathogens from hospitalized patients in North America: comparison report to Europe and Latin America. Results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Diagn Microbiol Infect Dis*; 2003. 45: 295-301.
  26. Tankhiwale SS. Evaluation of extended spectrum  $\beta$ -lactamase in urinary Isolates. *Indian J Med Res*; 2004. 120: 553-56.
  27. Manchanda V. Phenotypic characteristic of clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* evaluation of available techniques for detection of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase. *Indian J Med Res*; 2005. 122: 303-07.
  28. Mathur P. Prevalence of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase producing gram negative bacteria in a tertiary care hospital. *Indian J Med Res*; 2002. 115: 153-57.
  29. Luzzaro F,. Trends in production of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase among Enterobacteria of medical interest. *J Clin Microbiol*; 2006. 44: 1659-64.
  30. Xiong Z. Extended-spectrum beta-lactamase in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* isolates. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*; 2002. 82: 1476-79.
  31. Saurina G. Antimicrobial resistance in Enterobacteriaceae in Brooklyn New York. *J Antimicrobial Chemother*; 2000. 45: 895-98.
  32. Cordero L. Enteric gram negative bacilli blood stream infections. *Am J Infect Control*; 2004. 32: 189-95.
  33. Goosens H. MISTIC program. Summary of a European data from 1997-2000. *Diag Microb Infect Dis*; 2001. 41: 183-89.
  - Dudley MN, Eliopoulos GM, Hecht DW, et al. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. *Clin Lab St Inst*; 2006. 26(3): 20-28.
  15. Stanton SL, Dwyer PL. Urinary tract infection in female. 1st ed. London: Marlin Duntize; 2000.p. 304.
  16. Kunin M. Urinary tract infections. 1st ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1997.p. 2.
  17. Habash MB, Vander M, Busscher HJ, Reid G. The effect of water, ascorbic acid and cranberry derived supplementation on human urine and uropathogen adhesion to siliconoruber. *Can J Microbiol*; 1999. 45: 691-94.
  18. Perinatal group B streptococcal disease after universal screening recommendations. United States. CDC. 2003-2005; July 20, 2007;56(28):701-705.
  19. Myrmobiny M, Haghshenas M. Comparison of bacterial pollution in ureteral men and women referred to health centers of Sari. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences*; 1376. 7(15): 6-9. (Persian)
  20. Nikpour S, Tabrizian L, Masroor Roodsari D, Haghani H. Study of predisposing factors of urinary tract infections among married women referred to selected hospitals in Tehran city (2003). *IUMSJ* 1383. 11(41): 489-98. (Persian)
  21. Jain A. Prevalence of extended spectrum beta-lactamases producing gram negative bacteria in septicemic neonates in a tertiary care hospital. *J Med Microbiol*; 2003. 52: 421-25.
  22. Zeighami H. Etiology of UTI in pregnant women. The 9<sup>th</sup> National Congress of Microbiology. Iran-Kerman. 2007; 34.
  23. Mirsalehian A, Nakhjavani F. Prevalence of ESBLs producing Enterobacteria in intensive care units. The 8<sup>th</sup> National Congress of Microbiology.Iran-Isfahan. 2006; 15.
  24. Paterson DL, Ko WC, Von Gottberg A. International prospective study of *Klebsiella pneumoniae* bacteremia:

## 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)

\*Shila Jalalpoor, MSc in Microbiology, Instructor of Microbiology, Islamic Azad University Shahreza Branch, Member of Young Researchers Club, Isfahan Iran (\*Corresponding author). shilla.jalalpoor@yahoo.com

Sina Mobasherizadeh, MSc in Microbiology, Treatment Administration, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.sina.mobasherizadeh@yahoo.com

### Abstract

**Background:** Urinary Tract Infection (UTI) is the second most common infection in human. Most of UTIs are due to *Escherichia coli* (*E.coli*) and *Klebsiella pneumoniae* (*K.pneumoniae*). These bacteria are relevant opportunistic pathogens that account for nosocomial infections. Prevalence of Extended-Spectrum Beta-lactamase (ESBLs) in pathogenic bacteria leads to antibiotic resistance and mortality and morbidity in patients. The best method for controlling strains that produce ESBLs is use of standard method for recognizing ESBLs producer strains. The objective of this study was to evaluate and compare the frequency of ESBLs in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from hospitalized and out-patient with urinary tract infection in selective centers from Esfahan.

**Methods:** The research was of descriptive type and performed in Al-zahra, Shariaty, and Kashany hospitals and Reference and Mahdiah laboratories during 2009-2010 in Isfahan. According to statistical formula 378 UTI samples were randomly selected. Bacterial identification was performed with microbiological methods and ESBLs production was performed with screening and confirmatory test. For data analysis, Chi square test and Whonet 5.4 software was used.

**Results:** From 378 samples, 167 bacteria were from hospitalized cases and 211 bacteria were from out-patient samples. Frequency of *E.coli* in hospitalized and out-patients was respectively 52% and 64% and frequency of *K.pneumoniae* in hospitalized and out-patient was respectively 64% and 22%. Frequency of ESBLs in *E.coli* strains in hospitalized and out-patient was respectively 58% and 17% and frequency of ESBLs in *K.pneumoniae* strains in hospitalized and out-patient was respectively 64% and 22%.

**Conclusion:** The results showed high rate of nosocomial UTI and high frequency of ESBLs in isolated bacteria from hospitalized cases as compared to out-patients that represent high incidence of antibiotic resistant strains in hospitals.

**Keywords:** Urinary infection, Hospitalized patients, Out-patients, ESBLs, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*