

## **Evaluation of antibiotic resistance of gram-negative bacteria isolated from patients of an academic and a non-academic hospital in Arak, Iran:2011-12**

Zarinfar N<sup>1</sup>, Akbari M<sup>2</sup>, Sharafkhah M<sup>3\*</sup>

1- Department of Infectious Diseases, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran

2- Department of Microbiology, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran

3- Medical Student, Students Research Committee, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran

Received:23 Sep 2013, Accepted: 4 Dec 2013

### **Abstract**

**Background:** According to the studies, Iran's per capita antibiotic consumption is remarkable. Since the emergence of Antibiotic Resistant Organisms (AROs) is considered a global problem in community and hospitals, this study aimed to investigate the pattern of antibiotic resistance in gram-negative bacteria isolated from patients in an academic and a non-academic hospital in Arak, Iran.

**Material and Methods:** This descriptive, cross-sectional study included all specimens referred to the microbiology laboratory of Amir Al-Momenin Hospital (academic hospital) and Imam Khomeini Hospital (non- academic hospital) in a one-year period from June 2012 to June 2013. The susceptibility of the isolated gram-negative bacteria against the important antibiotics used in clinical practice was determined using the disk diffusion method.

**Results:** A total of 846 specimens were collected from patients in the two hospitals where 520 (61.5%) were gram-negative bacteria, of which 63.3% were *E. coli*. The prevalence of gram-negative organisms in the academic and the non-academic hospital was obtained 79.8% and 20.2%, respectively (P=0.097). There was significant difference between the two hospitals in the prevalence of Extended-Spectrum Beta-Lactamase (ESBL) gram-negative bacteria (P=0.003).

**Conclusion:** There was a significant difference between the two hospitals in the prevalence of ESBL gram-negative bacteria. Therefore, conducting regional surveillance programs to evaluate the patterns of antibiotic resistance is recommended.

**Keywords:** Anti-Bacterial Agents, beta-lactamases, Gram-Negative Bacteria

\* *Corresponding author:*

address: Arak University of Medical Sciences, Sardasht, Basij Square, Arak/Iran.

Email: sharafkhah@arakmu.ac.ir

## بررسی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری‌های گرم منفی جدا شده از نمونه بیماران بستری در دو بیمارستان آموزشی و غیر آموزشی شهر اراک 1391-1392

نادر زرین فر<sup>1</sup>، مجید اکبری<sup>2</sup>، مجتبی شرفخواه<sup>3\*</sup>

1. استادیار، گروه بیماری‌های عفونی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران

2. استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران

3. دانشجوی پزشکی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران

تاریخ دریافت: 92/7/1 تاریخ پذیرش: 92/9/13

### چکیده

**زمینه و هدف:** براساس مطالعات، سرانه مصرف آنتی بیوتیکی در ایران، قابل توجه می‌باشد. از آنجا که ظهور ارگانیسم‌های مقاوم به درمان آنتی بیوتیکی یک مشکل جهانی در جامعه و بیمارستان محسوب می‌شود، هدف از این مطالعه بررسی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری‌های گرم منفی جدا شده از بیماران بستری در دو بیمارستان آموزشی و غیر آموزشی شهر اراک می‌باشد.

**مواد و روش‌ها:** این مطالعه توصیفی - مقطعی، به مدت یک سال (خرداد 91 - خرداد 92)، شامل تمام نمونه‌های ارجاعی به آزمایشگاه میکروب شناسی بیمارستان‌های امیرالمومنین (ع) (بیمارستان آموزشی) و امام خمینی (ره) (بیمارستان خصوصی) بود. باکتری‌های گرم منفی جدا شده، برای آنتی بیوتیک‌های با اهمیت مورد استفاده در بالین با استفاده از روش دیسک دیفیوژن مورد تست حساسیت قرار گرفتند.

**یافته‌ها:** از مجموع 846 نمونه تهیه شده از بیماران هر دو بیمارستان، 520 (61/5 درصد) نمونه مربوط به باکتری‌های گرم منفی بود، که از این تعداد 63/3 درصد نمونه‌ها مربوط به اشرشیاکلی بود. شیوع ارگانیسم‌های گرم منفی در بیمارستان آموزشی، 79/8 درصد و در بیمارستان غیر آموزشی 20/2 درصد به دست آمد ( $p=0/097$ ). بین شیوع باکتری‌های گرم منفی یا بتا لاکتاماز وسیع الطیف، بین دو بیمارستان تفاوت معناداری وجود داشت ( $p=0/003$ ).

**نتیجه‌گیری:** بین شیوع باکتری‌های گرم منفی با بتا لاکتاماز وسیع الطیف در دو بیمارستان تفاوت معناداری وجود داشت، در نتیجه اجرای برنامه مراقبت برای بررسی الگوهای مقاومت آنتی بیوتیکی به طور منطقه‌ای توصیه می‌شود.

**واژگان کلیدی:** آنتی بیوتیک، بتا لاکتاماز، باکتری‌های گرم منفی

\* نویسنده مسئول: اراک، میدان بسیج، سردشت، دانشگاه علوم پزشکی اراک

## مقدمه

می‌تواند به طور مجزا تعریف گردد (13-15) که مورد اخیر، لزوم بررسی الگوهای مقاومت آنتی بیوتیکی در هر بیمارستان یا منطقه را به طور مجزا، مشخص می‌کند. در بین باکتری‌های گرم منفی با اهمیت، ارگانسیم‌های گرم منفی (Extended-Spectrum Beta-lactamase -ESBL) یا ارگانسیم‌های تولید کننده بتا-لاکتاماز قرار دارند که به دلیل مقاومتی که نسبت به آنتی بیوتیک‌های مورد استفاده در بالین از خود نشان می‌دهند (16) بررسی و شناسایی آنها و هم‌چنین اجرای برنامه‌ی مراقبت جهت جلوگیری از افزایش شیوع آنها در میان عفونت‌های بیمارستانی از اهمیت بالایی برخوردار است. با توجه به موارد گفته شده، هدف از این مطالعه، بررسی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری‌های گرم منفی جدا شده از نمونه بیماران بستری در دو بیمارستان آموزشی و غیر آموزشی شهر اراک می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

این مطالعه‌ی توصیفی - مقطعی در دو بیمارستان امیرالمومنین (ع) (بیمارستان آموزشی و تحت نظر دانشگاه علوم پزشکی اراک) و امام خمینی (ره) (بیمارستان غیر آموزشی و تحت نظر تامین اجتماعی) به مدت 1 سال (خرداد 1391- خرداد 1392)، انجام گرفت.

در این مطالعه تمام نمونه‌های به دست آمده از بیماران بستری از بخش‌های مختلف دو بیمارستان، در مدت زمان مطالعه به همراه فرم اطلاعات بالینی بیماران به آزمایشگاه‌های میکروب شناسی هر کدام از بیمارستان‌ها منتقل شد. قبل از شروع مطالعه آموزش‌های لازم به پرستاران کنترل عفونت بیمارستان و کمیته کنترل عفونت در خصوص اجرای طرح و هماهنگی‌های لازم با آزمایشگاه انجام گرفت به طوری که در زمان مطالعه، نمونه‌های مختلف با رعایت اصول و استانداردهای تعریف شده موجود و از محل اصلی عفونت و با روش‌های مناسب (با استفاده از سواب، آسپیراسیون سرنگ، بیوپسی و غیره و در صورت نیاز با استفاده از محیط‌های ترانسپورت) به آزمایشگاه بیمارستان

ظهور ارگانسیم‌های مقاوم به درمان آنتی بیوتیکی یک مشکل جهانی در جامعه و بیمارستان محسوب می‌شود (1). در حال حاضر روند پاسخ عفونت‌های بیمارستانی به درمان استاندارد آنتی بیوتیکی تغییر کرده است و شیوع مقاومت آنتی بیوتیکی در بسیاری از مراکز بیمارستانی به میزان خطرناکی رسیده است (2). با توجه به مطالعات صورت گرفته حدود 50 تا 60 درصد عفونت‌های بیمارستانی به علت سویه‌های مقاوم به درمان آنتی بیوتیکی ایجاد می‌شود (2). از فاکتورهای مهمی که در بروز مقاومت آنتی بیوتیکی نقش دارند می‌توان به سابقه مصرف آنتی بیوتیکی (3-6)، مصرف کورتیکواستروئیدها (7)، تهویه مکانیکی (5، 7) طول مدت بستری (8) و استفاده اقدامات مداخله‌ای پزشکی مانند استفاده از کاترها (9، 10)، اشاره کرد. مقاومت آنتی بیوتیکی موجب افزایش بروز عوارض، مرگ و میر و هزینه‌های درمانی فراوان در بیماران می‌شود (1).

یکی از عوامل مهم و تعیین کننده شیوع مقاومت آنتی بیوتیکی در بیمارستان و جامعه، سابقه مصرف آنتی بیوتیکی در بیماران بستری و سرپایی است (11). براساس مطالعات، سرانه مصرف آنتی بیوتیکی در ایران طی سالیان اخیر افزایش قابل توجهی داشته است (12) که این افزایش مصرف، هم می‌تواند به علت، عدم رعایت اصول استاندارد تجویز آنتی بیوتیک به بیماران بستری و سرپایی در بیمارستان‌ها توسط پزشکان باشد و هم می‌تواند ناشی از مصرف خود سرانه آنتی بیوتیک توسط بیماران در جامعه باشد (12، 13). در هر حال موارد گفته شده موجب شده است که الگوی مقاومت میکروبی دست خوش تغییر شده و سویه‌های مقاوم به داروهای خط اول و حتی خط دوم درمانی افزایش یابند (12، 13). آنتی بیوتیک‌های تجویز شده براساس دستورالعمل‌های پزشکی برای بیماران یا مصرف خود سرانه آنتی بیوتیک توسط افراد، در بیمارستان‌ها و مناطق مختلف متفاوت است. در نتیجه، الگوی مقاومت میکروبی در هر بیمارستان و هر منطقه نیز

ارسال و در اسرع وقت مورد آزمایش و بررسی قرار گرفتند (1). نمونه‌های مورد بررسی در این مطالعه شامل نمونه‌های ادرار، خون، ترشحات بینی، ترشحات زخم، خلط، کاتتر، تراشه، آبه، آسیت، سینوویال، پلور و مایع مغزی - نخاعی بودند. از آنجا که هدف این مطالعه بررسی باکتری‌های گرم منفی ایزوله شده از نمونه بیماران بستری بود، تنها نمونه‌هایی که با بررسی‌های آزمایشگاهی، حاوی باکتری‌های گرم منفی مسئول عفونت بیمارستانی بودند و هم‌چنین با علائم بالینی بیماران مطابقت داشتند وارد مطالعه شدند و نمونه‌هایی که حاوی ارگانسیم‌های دیگر بوده یا نمونه‌هایی که صرفاً دچار آلودگی محیط کشت شده بودند از مطالعه خارج شدند.

جهت تشخیص ایزوله‌های گرم منفی و حصول اطمینان از جنس و گونه باکتری، آزمون‌های بیوشیمیایی استاندارد بر روی نمونه‌ها انجام گرفت. ابتدا رنگ آمیزی گرم، تست اکسیداز و کاتالاز بر روی ایزوله‌های خالص شده انجام شد، سپس با تست‌های بیوشیمیایی و کشت بر روی محیط‌های سیمون سترات آگار، اوره آگار، تریپل شوگر آبیرون آگار، فیل آلانین دامیناز اسلنت آگار، بلاد آگار، ائوزین متیلن بلو آگار، محیط اکسیداتیو فرماتاتیو، مک کانگی آگار، تست تحرک، آزمون اندول و تولید گاز و تولید پیگمان پیوسیانین، آزمون وگس - پروسکوئر، آزمون سترات و آزمون متیل رد، ایزوله‌ها تعیین هویت شدند. کنترل ترکیبات و واکنش‌های بیوشیمیایی با استفاده از سویه‌های کنترل سودومونا آئروژینوزا ATCC 27853 و سویه اشرشیاکلی ATCC 2599 انجام شد (17).

الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی نمونه‌های بالینی جدا شده از مبتلایان به عفونت بیمارستانی با آزمون انتشار دیسک به روش کربی - بوئر (Kirby-Bauer) براساس پروتکل (CLSI M100-S22 Clinical Laboratory Standards Institute M100-S20) سال 2010 (5) مشخص شد، بدین صورت که باکتری‌های تعیین هویت شده ابتدا به صورت ایزوله تک کلنی تهیه شدند و پس از کشت 18-24 ساعته ایزوله‌های میکروبی به کمک آنس

استریل تک کلنی‌ها به سرم فیزیولوژی منتقل و پس از ورتکس برای هم زدن محلول، کدورت حاصله در مقابل چراغ مطالعه با کدورت محلول نیم مک فارلند که توسط ورتکس هم زده می‌شد، مقایسه گردید. به محض رسیدن نمونه به این کدورت، توسط سوپ استریل به روش کشت چمنی در سطح محیط مولر هیتون آگار با شرایط استاندارد پخش و بعد از چند دقیقه دیسک گذاری با فاصله مناسب انجام شد و پلیت‌ها به انکوباتور 37 درجه سانتی‌گراد منتقل شدند، نتایج این تست بعد از 18 ساعت با اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد و با مقایسه با جدول NCCLS که شرکت سازنده دیسک‌ها (شرکت پادتن طب) ارائه کرده بود، قرائت و ثبت شد. آنتی بیوتیک‌های مورد استفاده در این تحقیق شامل آمپی سیلین، آزترونام، سفوتاکسیم، سفنازیدیم، سپیروفلوکساسین، جنتامایسین، ایمی پنم، افلوکساسین، آمیکاسین و تتراسایکلین بودند. جهت شناسایی باکتری‌های گرم منفی تولید کننده بتالاکتاماز وسیع الطیف از روش دیسک ترکیبی استفاده شد، بدین صورت که دیسک‌های سفنازیدیم 30 میکروگرم + کلولانیک اسید 10 میکروگرم و دیسک‌های سفوتاکسیم 30 میکروگرم + کلولانیک اسید 10 میکروگرم در محیط کشت باکتری قرار داده شد و بعد از انکوباسیون به مدت 18 ساعت در 37 درجه سانتی‌گراد، تولید بتالاکتامازهای وسیع الطیف از طریق افزایش قطر هاله عدم رشد به اندازه بزرگ‌تر یا مساوی 5 میلی‌متر نسبت به سفنازیدیم و سفوتاکسیم در ترکیب هر کدام از آنها با کلولانیک اسید، مشخص شد. همان‌طور که در بالا نیز ذکر شده بود، در این قسمت نیز از سویه اشرشیاکلی ATCC 2599 جهت کنترل روش‌های آنتی بیوگرام و دیسک ترکیبی استفاده شد.

شاخص‌های آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه 19 محاسبه شد و از تست آماری کای دو، کولوگراف اسمیرنوف و مان ویتنی برای تجزیه و تحلیل یافته‌ها استفاده شد. سطح معنی داری نیز کمتر از 0/05 در نظر گرفته شد. لازم به ذکر است که در این مطالعه از آنالیز بقای

توصیفی (روش کاپلان مایر) برای ارزیابی تغییرات روند مقاومت یا حساسیت میکروبی در طول زمان با فاصله اطمینان 95 درصد استفاده گردید. در کلیه مراحل مطالعه، ملاحظات اخلاقی و حفظ محرمانه بودن اطلاعات اخذ شده، رعایت گردید و مصوبات کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اراک در کلیه مراحل تحقیق در نظر گرفته شد. این تحقیق براساس تایید کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اراک با کد 9-75-88 انجام گرفت.

### یافته ها

از مجموع 846 نمونه تهیه شده از بیماران هر دو بیمارستان، 326 نمونه (38/5 درصد) حاوی باکتری های گرم مثبت و 520 نمونه (61/5 درصد) حاوی باکتری های گرم منفی بودند. از 520 نمونه گرم منفی، 415 نمونه (79/8 درصد) مربوط به بیمارستان امیرالمومنین و 105 (20/2 درصد) نمونه مربوط به بیمارستان امام خمینی بود. بر اساس این مطالعه بیشترین ارگانسیم های گرم منفی جدا شده از نمونه ها در هر دو بیمارستان به ترتیب شیوع، اشرشیاکلی با

324 مورد (63/3 درصد)، کلبسیلا پنومونیه با 65 مورد (12/5 درصد) و سودومونا آئروژینوزا با 39 مورد (7/5 درصد) قرار گرفت. از مجموع 415 سویه باکتری گرم منفی ایزوله شده از بیمارستان امیرالمومنین بیشترین شیوع به ترتیب متعلق به اشرشیاکلی با 251 مورد (60/4 درصد)، کلبسیلا با 56 مورد (13/4 درصد) و سودومونا آئروژینوزا با 31 مورد (7/4 درصد) بود و این میزان شیوع نیز در میان باکتری های گرم منفی ایزوله شده از بیمارستان امام خمینی به همان ترتیب نمونه های بیمارستان امیرالمومنین بود، به طوری که در این بیمارستان اشرشیاکلی با 73 مورد (69/5 درصد)، کلبسیلا با 9 مورد (8/5 درصد) و سودومونا آئروژینوزا با 8 مورد (7/6 درصد) به ترتیب در رده های اول تا سوم شیوع در بیمارستان امام خمینی قرار گرفتند. با مقایسه آماری میان شیوع ارگانسیم های گرم منفی جدا شده از هر دو بیمارستان، مشخص شد که میان شیوع این ارگانسیم ها در دو بیمارستان آموزشی و غیر آموزشی تفاوت معناداری وجود ندارد (جدول 1) ( $p=0/097$ )

جدول 1. شیوع باکتری های گرم منفی جدا شده در مجموع دو بیمارستان

بیمارستان	تعداد نمونه ها	اشرشیاکلی تعداد (درصد)	کلبسیلا پنومونیه تعداد (درصد)	سودومونا آئروژینوزا تعداد (درصد)	سایر گرم منفی ها تعداد (درصد)
امیرالمومنین	415	251 (60/4)	56 (13/4)	31 (7/4)	77 (18/5)
امام خمینی	105	73 (69/5)	9 (8/5)	8 (7/6)	15 (14/2)
مجموع	520	324 (63/3)	65 (12/5)	39 (7/5)	92 (17/6)

در خصوص تعیین شیوع ارگانسیم های گرم منفی براساس نمونه اخذ شده در این مطالعه از 415 سویه جدا شده از نمونه های بیماران بیمارستان امیرالمومنین، بیشترین سویه های گرم منفی جدا شده از نمونه ادرار و پس از آن از

نمونه های خون، زخم و خلط بود. هم چنین از 105 سویه گرم منفی جدا شده از بیماران بیمارستان امام خمینی، بیشترین سویه از نمونه ادرار و پس از آن از نمونه خون و زخم بود (جدول 2).

جدول 2. شیوع باکتری های گرم منفی ایزوله شده از دو بیمارستان بر حسب نمونه

بیمارستان امام خمینی تعداد (درصد)	بیمارستان امیرالمومنین تعداد (درصد)	محل نمونه	تعداد نمونه ها
79(2/75)	303(73)	ادرار	
13(4/12)	50(12)	خون	
0	4(1)	ترشحات بینی	
6(7/5)	19(6/4)	زخم	
2(9/1)	19(6/4)	خلط	
3(9/2)	6(4/1)	کاتتر	
1(1)	6(4/1)	تراشه	
0(0)	1(2/0)	آبسه	
0(0)	3(7/0)	آسیت	
0(0)	4(1)	پلور	
1(1)	0(0)	مایع مغزی-نخاعی	
105(100)	415(100)	مجموع	

بیمارستان یافت نشد، البته براساس یافته های مطالعه مشخص شد که مقاومت باکتری های گرم منفی نسبت به سفوتاکسیم با 54/4، سفنازیدیم با 41/6، سیپروفلوکساسین با 49/6، افلوکساسین با 51/1 و ایمپنم با 42/8 درصد در بیمارستان امیرالمومنین و مقاومت این ارگانسیم ها نسبت به سفوتاکسیم با 43/5، سفنازیدیم با 40/4، افلوکساسین با 50 و تتراسایکلین با 66/6 درصد در بیمارستان امام خمینی قابل توجه می باشد. سایر اطلاعات مربوط به مقاومت آنتی بیوتیکی در میان باکتری های گرم منفی در دو بیمارستان در جداول 3 و 4 قابل مشاهده می باشد.

به طور کل با مقایسه مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری های گرم منفی در دو بیمارستان نسبت به آنتی بیوتیک های پرکاربرد در بالین مشخص شد که مقاومت باکتری های گرم منفی نسبت به دو آنتی بیوتیک آمپی سیلین (p=0/011) و جنتامایسین (p=0/049) بین دو بیمارستان آموزشی و غیر آموزشی تفاوت معناداری دارد. به طوری که مقاومت باکتری های گرم منفی نسبت به آمپی سیلین در بیمارستان غیر آموزشی و مقاومت این ارگانسیم ها نسبت به جنتامایسین در بیمارستان آموزشی به شکل معناداری بیشتر از بیمارستان دیگر بود. در رابطه با مقاومت آنتی بیوتیکی نسبت به سایر آنتی بیوتیک ها تفاوت معناداری میان دو

جدول 3. الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری‌های گرم منفی ایزوله شده از بیمارستان امیرالمومنین

آنتی بیوتیک	اشرشیاکلی			کلپسیلا				سودو مونا آئروژینوزا				سایر گرم منفی ها			
	*	حساس	مقاوم	*	حساس	مقاوم	متوسط	*	حساس	مقاوم	متوسط	*	حساس	مقاوم	متوسط
آمپی سیلین	1	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0
آزترونام	73	33	22	18	16	7	4	9	4	5	7	4	7	4	4
سفتوتاکسیم	22	90	122	8	49	20	4	27	4	25	20	7	18	32	10
سفتازیدیم	20	81	90	32	52	20	10	24	22	22	20	0	26	21	10
سپروفلوکساسین	10	43	55	3	9	7	0	4	2	2	7	0	10	5	0
جنتامایسین	60	21	29	10	7	1	2	3	4	4	1	0	3	3	2
ایمی پنم	18	5	13	0	10	7	0	13	3	3	7	0	7	11	1
افلوکساسین	27	10	16	1	8	5	0	2	3	3	5	1	21	26	6
آمیکاسین	14	9	3	2	10	6	1	12	3	3	6	0	8	4	5
تتراسایکلین	21	1	17	3	12	4	4	14	4	4	4	5	10	6	5

کلید\*. موارد تست شده از هر ارگانیزم برای هر آنتی بیوتیک

جدول 4. الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری های گرم منفی ایزوله شده از بیمارستان امام خمینی

آنتی بیوتیک	اشرشیاکلی			کلبسیلا			سودو مونا آتروژینوزا			سایر گرم منفی ها		
	* 1	حساس 0	مقاوم 0	* 0	حساس 0	مقاوم 0	* 2	حساس 2	مقاوم 0	* 1	حساس 0	مقاوم 1
آمپی سیلین	1	0	0	0	0	0	2	2	0	0	0	1
آزترونام	73	33	22	18	16	7	9	4	5	4	0	0
سفتوتاکسیم	220	90	122	8	49	20	27	4	25	4	1	0
سفتازیدیم	203	81	90	32	52	20	24	10	22	7	6	1
سیپروفلوکسا سین	101	43	55	3	9	7	4	0	2	2	5	0
جنتامایسین	60	21	29	10	7	1	3	2	4	0	2	3
ایمی پنم	18	5	13	0	10	7	13	0	3	13	0	0
افلوکساسین	27	10	16	1	8	5	2	0	3	0	1	0
آمیکاسین	14	9	3	2	10	6	12	1	3	11	1	0
تتراسایکلین	21	1	17	3	12	4	14	4	4	8	1	0

کلید\*. موارد تست شده از هر ارگانسیم برای هر آنتی بیوتیک

باکتری های گرم منفی ESBL مشخص شد که شیوع اشرشیاکلی، ESBL در بیمارستان امیر المومنین (بیمارستان آموزشی) با 56 مورد (22/3 درصد) نسبت به بیمارستان امام خمینی (بیمارستان غیر آموزشی) با 3 مورد (4/1 درصد) دارای فراوانی بیشتری است (p=0/001). در رابطه با شیوع سایر ارگانسیم های گرم منفی ESBL بین دو بیمارستان تفاوت معناداری یافت نشد (جدول 5).

نتایج مطالعه نشان داد که، شیوع ارگانسیم های گرم منفی ESBL بین دو بیمارستان تفاوت معناداری داشت (p=0/003) به طوری که شیوع باکتری های گرم منفی ESBL در بیمارستان امیر المومنین (بیمارستان آموزشی) با 60 مورد (14/5 درصد) نسبت به بیمارستان امام خمینی (بیمارستان غیر آموزشی) با 4 مورد (3/8 درصد) از فراوانی بالاتری برخوردار بود. هم چنین در رابطه با نوع



جدول 5. شیوع ارگانسیم های گرم منفی ESBL در دو بیمارستان

بیمارستان	ESBL					مجموع باکترهای گرم منفی
	اشرشیاکلی *	کلبسیلا پنومونیه *	سودومونا آئروزیوزا *	سایر گرم منفی ها *	مجموع ESBL در هر بیمارستان	
امیرالمومنین (آموزشی)	56 (93/3)	2 (3/3)	0 (0)	31 (3/3)2	77	415
امام خمینی (غیر آموزشی)	3 (75)	0 (0)	0 (0)	1 (25)	23	105
مجموع	59 (92/1)	2 (3/1)	0 (0)	3 (4/6)	100	520

کلید \*. تعداد کل هر ارگانسیم در هر بیمارستان. اعداد داخل پرانتز نشان دهنده درصد مقادیر ذکر شده می باشد. ESBL: Extended-Spectrum Beta-lactamase یا بتا لاکتاماز وسیع الطیف

نتایج مطالعه نشان داد که، شیوع ارگانسیم های گرم منفی ESBL بر حسب محل نمونه بین دو بیمارستان تفاوت معناداری دارد (p=0/007) به طوری که مشخص شد، نمونه های ادرار بیمارستان امیرالمومنین (بیمارستان) می باشد (جدول 6). (p=0/003)

جدول 6. شیوع ارگانسیم های گرم منفی از لحاظ ESBL و محل نمونه گیری در دو بیمارستان

محل نمونه ادرار	بیمارستان امیرالمومنین			بیمارستان امام خمینی		
	ESBL تعداد (درصد)	ESBL منفی تعداد (درصد)	مجموع تعداد (درصد)	ESBL تعداد (درصد)	ESBL منفی تعداد (درصد)	مجموع تعداد (درصد)
ادرار	51 (16/8)	252 (83/1)	303 (100)	76 (96/2)	79 (100)	155 (100)
خون	4 (8)	46 (92)	50 (100)	13 (100)	13 (100)	26 (100)
ترشحات بینی	0	4 (100)	4 (100)	0	0	4 (100)
زخم	3 (15/7)	16 (84/2)	19 (100)	5 (83/3)	6 (100)	11 (100)
خلط	1 (5/2)	18 (94/7)	19 (100)	2 (100)	2 (100)	4 (100)
کاتتر	0	6 (100)	6 (100)	3 (100)	3 (100)	6 (100)
تراشه	1 (16/6)	5 (83/3)	6 (100)	1 (100)	1 (100)	2 (100)
آبسه	0	1 (100)	1 (100)	0	0	1 (100)
آسیت	0	3 (100)	3 (100)	0	0	3 (100)
پلور	0	4 (100)	4 (100)	0	0	4 (100)
مایع مغزی - نخاعی	0	0	0	1 (100)	1 (100)	2 (100)
مجموع	415	105	520	415	105	520

کلید: ESBL=Extended-Spectrum Beta-lactamase، یا بتا لاکتاماز وسیع الطیف

## بحث

از مجموع 846 نمونه به دست آمده در این مطالعه 520 نمونه (61/5 درصد) مربوط به باکتری های گرم منفی و 326 نمونه (38/5 درصد) مربوط به باکتری های گرم مثبت بود. گونجال و همکاران در مطالعه ای با هدف بررسی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در باسیل های گرم منفی مشخص کردند که از 105 نمونه به دست آمده، 61/9 درصد مربوط به باکتری های گرم منفی و 38/09 درصد مربوط به باکتری های گرم مثبت است (18). جین و همکاران نیز در مطالعه ای مشابه، باکتری های گرم منفی را به عنوان ارگانیزم های غالب جدا شده از بیماران بستری معرفی کردند (19). ولی در مطالعه ای که توسط محمدی مهر و همکاران با موضوعی مشابه با مطالعه ما انجام گرفت مشخص شد که از 904 نمونه به دست آمده از بیماران بیمارستان ارتش ایران، تنها 187 نمونه (20/6 درصد) مربوط به باکتری های گرم منفی بود (20)، که نتیجه مطالعه اخیر با مطالعه ما متفاوت بود. به طور کلی با توجه به مطالعه حاضر و مقایسه آن با مطالعات مشابه به نظر می رسد که اکثریت ارگانیزم های دخیل در عفونت بیماران بستری در بیمارستان مربوط به باکتری های گرم منفی می باشد.

بر اساس مطالعه حاضر، از مجموع 520 نمونه حاوی باکتری های گرم منفی جدا شده از دو بیمارستان از لحاظ شیوع اشرشیاکلی، کلبسیلا پنومونیه و سودومونا آئروژینوزا، به ترتیب رده های اول تا سوم شیوع را به خود اختصاص دادند که البته شیوع باکتری های گرم منفی در دو بیمارستان آموزشی و غیر آموزشی به شکل مجزا نیز به همین ترتیب به دست آمد ولی آنالیز آماری در این زمینه مشخص کرد که میان شیوع باکتری های گرم منفی بین دو بیمارستان تفاوت معناداری وجود ندارد. گونجال در مطالعه خود نشان داد که از میان باکتری های گرم منفی جدا شده از بیماران بستری، بیشترین شیوع به ترتیب متعلق به اشرشیاکلی با 46/6 درصد، کلبسیلا پنومونیه با 15/38 درصد و سودومونا آئروژینوزا با 7/69 درصد می باشد (18). حدادی و همکاران در مطالعه ای با موضوع بررسی الگوی مقاومت

آنتی بیوتیکی در بیماران بستری در دو بیمارستان دانشگاهی ایران، برخلاف مطالعه ما و گونجال، شایع ترین ارگانیزم گرم منفی را از میان 200 نمونه مورد بررسی به کلبسیلا پنومونیه با 38/5 درصد و کمترین شیوع را به اشرشیاکلی با 12/5 درصد نسبت دادند (21) از طرفی در مطالعات دیگر که توسط خلیلی (1)، جین (19)، محمدی مهر (20) و مورفین اتر (22) با موضوعی مشابه با مطالعه ما انجام گرفت بیشترین شیوع باکتری های گرم منفی مربوط به اشرشیاکلی بود و ترتیب شیوع ارگانیزم های گرم منفی در میان بیماران بستری به همان ترتیب مطالعه ما به دست آمده بود. به طور کل با توجه به مطالعات مختلف در زمینه شیوع ارگانیزم های گرم منفی در بین بیماران بستری به نظر می رسد که بیشترین شیوع بین باکتری های گرم منفی در بیماران بستری در بیمارستان مربوط به اشرشیاکلی، کلبسیلا پنومونیه و سودومونا آئروژینوزا می باشد.

در مطالعه ما بیشترین باکتری های گرم منفی در مجموع دو بیمارستان به ترتیب از نمونه های ادرار، خون و زخم جدا شده بودند که در سایر مطالعات نیز عمده نمونه های اخذ شده در عفونت های بیمارستانی از همین نمونه ها بودند که، درصدهای آن تفاوت چندانی با مطالعه ما، نداشت (1، 19).

بر اساس نتایج مطالعه حاضر، اگرچه مقاومت باکتری های گرم منفی نسبت به آنتی بیوتیک های مختلف مانند سفوتاکسیم، سفنازیدیم، سپروفلوکساسین، افلوکساسین، ایمی پنم و تراسایکلین در دو بیمارستان قابل توجه بود ولی از لحاظ آماری میان مقاومت های ذکر شده بین دو بیمارستان آموزشی و غیر آموزشی تفاوت معناداری یافت نشد. در مطالعه ای که توسط جین و همکاران با موضوع بررسی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در میان باسیل های گرم منفی انجام شد، مشخص شد که مقاومت آنتی بیوتیکی نسبت به پاتوژن های گرم منفی و به خصوص در محیط بیمارستان در حال افزایش است (19). محمدی مهر و همکاران نیز در مطالعه ای خود نشان دادند که مقاومت آنتی بیوتیکی در میان باکتری های گرم منفی و به ویژه

لاکتاماز با 35/8 تا 46/7 درصد فراوانی، یکی از فراوان‌ترین ارگانسیم‌های مقاوم در آمریکای شمالی می‌باشد (23). با توجه به اهمیت باکتری‌های گرم منفی تولیدکننده بتا-لاکتاماز در بالین و این که در مطالعه ما نیز همانند مطالعات مشابه شیوع این ارگانسیم قابل توجه و در بیمارستان آموزشی نسبت به بیمارستان غیر آموزشی بیشتر بود، توجه بیشتر و اقدامات لازم جهت کاهش این ارگانسیم‌های مقاوم به درمان‌های آنتی بیوتیکی استاندارد، توصیه می‌شود.

با توجه به بررسی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در مجموع دو بیمارستان در این مطالعه مشخص شد که آمیکاسین و در درجات بعدی جنتامایسین و ایمی پنم هم‌چنان می‌توانند آنتی بیوتیک‌های مناسبی برای پوشش دادن گرم منفی‌های جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان باشند. در این زمینه، گونجال و همکاران نشان دادند که آمیکاسین و جنتامایسین کماکان می‌توانند به عنوان آنتی بیوتیک‌های مناسب و موثر بر گرم منفی‌های جدا شده از عفونت بیمارستانی مطرح باشند (18). جین و همکاران خاطر نشان کردند که آنتی بیوتیک‌های ایمی پنم و آمیکاسین هم‌چنان اثر بخشی خود را بر باسیل‌های گرم منفی جدا شده از بیماران بستری حفظ کرده‌اند (19). خلیلی و همکاران در مطالعه خود، جنتامایسین و سیپروفلوکساسین را به عنوان آنتی بیوتیک‌های موثر بر روی اشرشیاکلی و سایر گرم منفی‌ها معرفی کردند (1). حدادی و همکاران نشان دادند که ایمی پنم، سیپروفلوکساسین و سفتازیدیم می‌توانند آنتی بیوتیک‌های مناسبی برای عفونت‌های گرم منفی بیمارستانی باشند (21). ولی برخلاف این مطالعات محمدی مهر و همکاران در مطالعه‌ای در بیمارستان ارتش ایران نشان دادند که مقاومت آنتی بیوتیکی باسیل‌های گرم منفی نسبت به ایمی پنم در مقایسه با بیمارستان‌های دیگر به محدوده خطر رسیده است (20). با توجه به مطالعات انجام گرفته، اگرچه نتایج مطالعه ما در زمینه آنتی بیوتیک‌های موثر بر باکتری‌های گرم منفی با مطالعه گونجال (18) و جین (19) هم‌خوانی داشت ولی با توجه به این که در مطالعه ما، سیپروفلوکساسین و سفتازیدیم از آنتی بیوتیک‌های غیر موثر

اشرشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه نسبت به سفالوسپورین‌های نسل 3 در میان بیماران بستری در بیمارستان نسبت به گذشته افزایش قابل توجهی داشته است (20). هم‌چنین حدادی و همکاران نیز مانند دو مطالعه قبل، افزایش بروز مقاومت آنتی بیوتیکی میان باکتری‌های گرم منفی را گزارش کردند (21).

مطالعه ما نشان داد که، مقاومت باکتری‌های گرم منفی نسبت به دو آنتی بیوتیک آمپی سیلین و جنتامایسین بین دو بیمارستان آموزشی و غیر آموزشی تفاوت معناداری دارد، به طوری که مقاومت باکتری‌های گرم منفی نسبت به آمپی سیلین در بیمارستان غیر آموزشی و مقاومت این ارگانسیم‌ها نسبت به جنتامایسین در بیمارستان آموزشی به شکل معناداری بیشتر از بیمارستان دیگر می‌باشد. اگرچه در مطالعه ما میان مقاومت‌های آنتی بیوتیکی میان دو بیمارستان غیر از دو مورد فوق، تفاوت معناداری یافت نشد، اما آن‌چه با مطالعات مشابه هم‌خوانی داشته و به مراتب نیز از اهمیت بالاتری برخوردار است بروز بالای مقاومت باکتری‌های گرم منفی نسبت به اکثر آنتی بیوتیک‌های مورد مطالعه در این پژوهش بود که این مورد می‌تواند به عنوان زنگ خطری برای افزایش بروز مقاومت به آنتی بیوتیک‌های پر کاربرد در بالین محسوب شود.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که شیوع باکتری‌های گرم منفی ESBL در بیمارستان امیرالمومنین (بیمارستان آموزشی) قابل توجه بوده و نسبت به بیمارستان امام خمینی (بیمارستان غیر آموزشی) نیز از فراوانی بالاتری برخوردار است، که این تفاوت در شیوع اشرشیاکلی تولیدکننده بتا-لاکتاماز در بین دو بیمارستان قابل توجه بود. جین و همکاران نشان دادند که میکروارگانسیم‌های تولیدکننده بتا-لاکتاماز به عنوان نقطه عطفی برای افزایش مقاومت چند دارویی در برابر باکتری‌های گرم منفی به ویژه اشرشیاکلی، کلبسیلا پنومونیه و آسینتوباکتر محسوب می‌شوند (19). بیدنباخ و همکاران در مطالعه‌ای با هدف بررسی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در میان پاتوژن‌های عفونت خونی در میان سال‌های 1997 تا 2000 در میان 81213 بیمار مبتلا به عفونت خونی نشان دادند که کلبسیلای تولیدکننده بتا-

Society for Healthcare Epidemiology of America and Infectious Diseases Society of America Joint Committee on the Prevention of Antimicrobial Resistance: guidelines for the prevention of antimicrobial resistance in hospitals. *Clinical infectious diseases*. 1997;25(3):584-99.

3- Fagon J-Y, Chastre J, Domart Y, Trouillet J-L, Pierre J, Darne C, et al. Nosocomial pneumonia in patients receiving continuous mechanical ventilation: prospective analysis of 52 episodes with use of a protected specimen brush and quantitative culture techniques. *American Review of Respiratory Disease*. 1989;139(4):877-84.

4- Husni RN, Goldstein LS, Arroliga AC, Hall GS, Fatica C, Stoller JK, et al. Risk factors for an outbreak of multi-drug-resistant *Acinetobacter* nosocomial pneumonia among intubated patients. *CHEST Journal*. 1999;115(5):1378-82.

5- Rello J, Ausina V, Ricart M, Puzo C, Quintana E, Net A, et al. Risk factors for infection by *Pseudomonas aeruginosa* in patients with ventilator-associated pneumonia. *Intensive care medicine*. 1994;20(3):193-8.

6- Trouillet J-L, Chastre J, Vuagnat A, Joly-Guillou M-L, Combiaux D, Dombret M-C, et al. Ventilator-associated pneumonia caused by potentially drug-resistant bacteria. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 1998;157(2):531-9.

7- Ibelings M, Bruining HA.

Methicillin-resistant *Staphylococcus*

*aureus*: acquisition and risk of death in patients in the intensive care unit. *European Journal of Surgery*. 1998;164(6):411-8.

8- Bonten MJ, Slaughter S, Hayden MK, Nathan C, van Voorhis J, Weinstein RA. External sources of vancomycin-resistant enterococci for intensive care units.

بر باکتری‌های گرم منفی معرفی شدند و ایمی پنم نیز به عنوان آنتی بیوتیکی موثر بر گرم منفی‌ها در نظر گرفته شده بود، نتایج مطالعه ما با برخی مطالعات دیگر متفاوت به دست آمد، که از آنجا که الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی می‌تواند تحت تاثیر فاکتورهای محیطی و بیمارستانی هر منطقه باشد، به نظر می‌رسد توصیف الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی بهتر است برای هر منطقه به شکل مجزا تعریف گردد.

### نتیجه گیری

بین شیوع ارگانسیم‌های گرم منفی جدا شده از دو بیمارستان آموزشی و غیر آموزشی تفاوت معناداری وجود نداشت، اما مشخص شد بین شیوع باکتری‌های گرم منفی ESBL در دو بیمارستان تفاوت معناداری وجود دارد، بنابر این پیشنهاد می‌شود برنامه مراقبت در کنترل عفونت‌های بیمارستانی بایستی به طور منظم و دقیق اجرا و پایش گردد و بازخورد آن به خصوص، الگوهای مقاومت هر میکرو ارگانسیم نسبت به عوامل آنتی میکروبیال در جامعه و بیمارستان برای بازنگری مداوم پروتکل‌های درمان آنتی میکروبیال در نواحی مختلف جغرافیایی در اختیار متخصصین واجد صلاحیت قرار بگیرد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از طرح تحقیقاتی مصوب شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک به شماره طرح 428 می‌باشد که نویسندگان مقاله از همکاری شورای پژوهشی دانشگاه به عنوان تأمین کننده مالی و تدارکاتی کار و به ویژه داوطلبین شرکت کننده در طرح صمیمانه تقدیر و سپاس به عمل می‌آورد.

### منابع

1- Khalili H, Soltani R, Afhami S, Dashti-Khavidaki S, Alijani B. Antimicrobial resistance pattern of gram-negative bacteria of nosocomial origin at a teaching hospital in the Islamic Republic of Iran. *EMHJ*. 2012;18(2):172-7.

2- Shlaes DM, Gerding DN, John JF, Craig WA, Bornstein DL, Duncan RA, et al.

- and Humans in Chile. *PloS one*. 2013;8(9):e76150-1.
- 17- Cockerill FR, Wikler MA, Alder J, Dudly MN, Eliopoulos GM, Ferraro MJ, et al. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, Twenty informational supplement. [Cited 2012 Janu 19]. Available from:<http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2012/11/M100S22E.pdf>
- 18- Gunjal PN, Gunjal S, Kher S. A Cross-Sectional Study to determine the profile and antibiotic resistance pattern of gram negative bacilli isolated from intensive care unit patients in a tertiary care hospital in Ahmednagar, Maharashtra. *International Journal of Biomedical and Advance Research*. 2012;3(5):281-4.
- 19- Jain S, Khety Z. Changing antimicrobial resistance pattern of isolates from an ICU over a 2 year period. *J Assoc Physicians India*. 2012;60:27-8.
- 20- Mohammadi-mehr M, Feizabadi M. Antimicrobial resistance pattern of Gram-negative bacilli isolated from patients at ICUs of Army hospitals in Iran. *Iranian journal of microbiology*. 2011;3(1):26-30.
- 21- Hadadi A, Rasoulinejad M, Maleki Z, Yonesian M, Shirani A, Kourorian Z. Antimicrobial resistance pattern of Gram-negative bacilli of nosocomial origin at 2 university hospitals in Iran. *Diagnostic microbiology and infectious disease*. 2008;60(3):301-5.
- 22- Morfin-Otero R, Tinoco-Favila JC, Sader HS, Salcido-Gutierrez L, Perez-Gomez HR, Gonzalez-Diaz E, et al. Resistance trends in gram-negative bacteria: surveillance results from two Mexican hospitals, 2005–2010. *BMC research notes*. 2012;5(1):277-8.
- 23- Biedenbach DJ, Moet GJ, Jones RN. Occurrence and antimicrobial resistance pattern comparisons among bloodstream infection isolates from the Sentry Antimicrobial Surveillance Program (1997–2002). *Diagnostic microbiology and infectious disease*. 2004;50(1):59-69.
- Critical care medicine. 1998;26(12):2001-4.
- 9- Richards MJ, Edwards JR, Culver DH, Gaynes RP. Nosocomial infections in medical intensive care units in the United States. *Critical care medicine*. 1999;27(5):887-92.
- 10- Kollef MH, Sharpless L, Vlasnik J, Pasque C, Murphy D, Fraser VJ. The impact of nosocomial infections on patient outcomes following cardiac surgery. *CHEST Journal*. 1997;112(3):666-75.
- 11- Dagneu M, Yismaw G, Gizachew M, Gadisa A, Abebe T, Tadesse T, et al. Bacterial profile and antimicrobial susceptibility pattern in septicemia suspected patients attending Gondar University Hospital, Northwest Ethiopia. *BMC research notes*. 2013;6(1):283-4.
- 12- Ebrahimzadeh MA, Shokrzadeh M, Ramezani A. Utilization Pattern of Antibiotics in Different Wards of Specialized Sari Emani University Hospital in Iran. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 2008;11(2):275-9.
- 13- Aslsoleymani H, Afhami SH. Prevention and control of nosocomial infections. 2<sup>th</sup>ed. Tehran: Institute publications Teymorzade. 2001.[Persian]
- 14- Mandell GL. Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases. 7<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Churchill Livingstone. 2009
- 15- Fiebelkorn K, Crawford S, McElmeel M, Jorgensen J. Practical disk diffusion method for detection of inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci. *Journal of clinical microbiology*. 2003;41(10):4740-4.
- 16- Hernandez J, Johansson A, Stedt J, Bengtsson S, Porczak A, Granholm S, et al. Characterization and Comparison of Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase (ESBL) Resistance Genotypes and Population Structure of *Escherichia coli* Isolated from Franklin's Gulls (*Leucophaeus pipixcan*)