

## BRIEF REPORT

# ***Prevalence of $\beta$ -lactamase Enzyme in Isolated Bacteria in Patients with Nosocomial Infections, Skin and Wound infections from Imam Khomeini Hospital of Sari Province, 2010***

Maryam Pourhajibagher<sup>1</sup>,  
Mohtaram Nasrollahi<sup>2</sup>,  
Mohamad Iman Eini<sup>3</sup>,  
Bahman Rahimi Esboei<sup>4</sup>

<sup>1</sup> PhD Student in Medical Bacteriology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>2</sup> Biologic Cellular and Molecular Research Center, Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

<sup>3</sup> Associate Professor, Department of Microbiology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>4</sup> PhD Student in Parasitology and Mycology, School of Public health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received May 14, 2013 ; Accepted January 14, 2013)

### **Abstract**

**Background and purpose:** Hospital infections are common throughout the world. Antibiotic resistance is caused after infectious diseases and hospital infections. Considering the importance of hospital infection and bacteria resistant to antibiotics, this study aimed at investigating the prevalence of  $\beta$ -lactamase enzymes in bacteria isolated from nosocomial infections.

**Material and Methods:** Fifty samples of skin infections and 50 samples from wounds were collected from Imam Khomeini Hospital in Sari and were studied using biochemical tests and identification of beta-lactamase.

**Results:** In this study, 180 organisms were isolated from 100 samples of skin infections and wound. The production of  $\beta$ -lactamase enzymes by acidimetric method in these samples showed that 26 samples (14.4%) were  $\beta$ -lactamase positive and 154 samples (85.6%) were  $\beta$ -lactamase negative and gram positive cocci and bacilli.

**Conclusion:**  $\beta$ -lactamase positive bacteria not only increase the risk of nosocomial infections, especially skin infections in people with weakened immune systems but also make them resistant to  $\beta$ -lactam group of antibiotics.

**Keywords:** Skin Infections, Ulcers infection,  $\beta$ -lactamase, antibiotics

J Mazand Univ Med Sci 2014; 24(Supple 1): 261-265 (Persian).

## بررسی فراوانی وجود آنزیم $\beta$ -لاکتاماز در باکتری های جدا شده از عفونت های پوستی و زخم های عفونی بیمارستانی در بیمارستان فوق تخصصی امام خمینی شهرستان ساری در سال ۱۳۹۰

مریم پور حاجی باقر<sup>۱</sup>

محترم نصرالهی<sup>۲</sup>

محمد ایمان عینی<sup>۳</sup>

بهمن رحیمی اسبوئی<sup>۴</sup>

### چکیده

**سابقه و هدف:** عفونت های بیمارستانی در سراسر دنیا رایج است. به دنبال بیماری های عفونی و عفونت های بیمارستانی، مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری های عامل عفونت پدیدار می شود. نظر به اهمیت عفونت های بیمارستانی و باکتری های مقاوم در برابر آنتی بیوتیک ها و به خصوص باکتری های مولد آنزیم  $\beta$ -لاکتاماز، هدف از این مطالعه بررسی مقایسه شیوع آنزیم  $\beta$ -لاکتاماز در باکتری های جدا شده از عفونت های بیمارستانی بود.

**مواد و روش ها:** ۵۰ نمونه از عفونت های پوستی و ۵۰ نمونه از زخم های بیمارستانی جمع آوری شده از بیمارستان امام خمینی، شهرستان ساری با استفاده از آزمایشات بیوشیمیایی و شناسایی آنزیم های بتا لاکتاماز با استفاده از روش اسیدومتری مورد بررسی قرار گرفتند.

**یافته ها:** در این مطالعه ۱۸۰ میکرووار گانیسم از ۱۰۰ نمونه عفونت پوستی و زخم ها جداسازی شد. بررسی تولید آنزیم  $\beta$ -لاکتاماز با استفاده از روش اسیدومتری در این نمونه ها نشان داد که فراوانی آنزیم بتا لاکتاماز در بین باکتری های پاتوژن و غیر پاتوژن در حال افزایش است.

**استنتاج:** بنابراین وجود باکتری های بتا لاکتاماز مثبت نه تنها خطر ابتلا به انواع عفونت ها به خصوص عفونت های پوستی بیمارستانی را به ویژه در افرادی که به دلایل مختلف چار ضعف سیستم ایمنی هستند افزایش می دهد بلکه سبب مقاومت آن ها به آنتی بیوتیک های گروه بتا لاکتام نیز می شود.

**واژه های کلیدی:** عفونت های پوستی، زخم های عفونی، بتا لاکتاماز، آنتی بیوتیک

### مقدمه

عفونت های بیمارستانی، مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری های عامل عفونت نیز پدیدار می شود(۱، ۲). در حال حاضر مهم ترین باکتری های بیماری زای مقاوم به

عفونت های بیمارستانی در سراسر دنیا رایج است و این عفونت ها حداقل پس از ۴۸ ساعت بستری شدن آشکار می شوند(۱، ۲). به دنبال بیماری های عفونی و

E-mail: bahman5164@yahoo.com

مؤلف مسئول: بهمن رحیمی اسبوئی - تهران: دانشگاه علوم پزشکی تهران

۱. دانشجوی Ph.D باکری شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۲. مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، گروه میکروب شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۳. دانشیار، گروه میکروب شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۴. دانشجوی Ph.D انجک شناسی و فارج شناسی پزشکی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۲/۲۴ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۲/۴/۵ تاریخ تصویب: ۱۳۹۲/۱۰/۲۸

خمينی شهرستان ساری به آزمایشگاه میکروب شناسی ارسال می شد، جمع آوری شد.

شناسایی باکتری ها براساس روش های میکروپولوژیک از جمله: رنگ آمیزی گرم، رنگ آمیزی اسپور، تست های بیوشیمیایی نظری، IMViC، DNase، کاتالاز، اکسیداز و استفاده از محیط های پایه، افتراقی و اختصاصی (Merck آلمان) از جمله محیط های بلاد آگار، ائوزین متیلن بلو انجام گرفت. ابتدا هر نمونه تحت شرایط آسپتیک هم زمان روی محیط بلاد آگار و ائوزین متیلن بلو به مدت ۲۴ ساعت تحت دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و شرایط هوایی انکوبه شد. پس از طی دوران انکوباسیون و رنگ آمیزی گرم و مشخص شدن شکل و آرایش باکتری، با انجام تست های بیوشیمیایی و استفاده از محیط های افتراقی و اختصاصی، در نهایت جنس و گونه باکتری مشخص گردید.

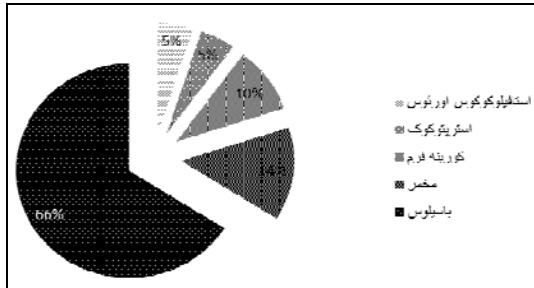
در این مطالعه برای بررسی وجود آنزیم  $\beta$ -لاکتاماز در باکتری های مورد بررسی، از روش اسیدومتریک استفاده شد<sup>(۸)</sup>. در این روش ۵٪ میلی لیتر از محلول فنل رد ۰/۵ درصد به ۴/۵ میلی لیتر آب مقطر استریل اضافه شد. سپس این محلول به یک ویال حاوی پودر پنی سیلین جی پنج میلیون واحدی افزوده شد. پس از حل شدن پنی سیلین، به آرامی و قطره قطره محلول سود یک مولار به ویال اضافه شد. این عمل تا تولید رنگ بنفش در محلول ادامه پیدا کرد. در این مرحله یک لوله موئینه به قطر ۱-۲۰ میلی لیتر را در ویال فرو برده و فرصت داده شد تا محلول یک تا دو سانتی متر در لوله بالا رود. سپس لوله موئینه روی سطح کلی باکتری کشیده شد تا انتهای لوله کاملاً توسط باکتری پر شد و در نهایت نوک خالی لوله را در چوب پنبه وارد کرده و پس از گذشت ۱۵-۵ دقیقه نتیجه خوانده شد. بدین ترتیب میکرووار گانیسم های تولید کننده آنزیم بتالاکتاماز با استفاده از تست های بیوشیمیایی رایج در آزمایشگاه میکروب شناسی مورد شناسایی قرار گرفتند.

آنٹی بیوتیک ها شامل انتروکوکسی مقاوم به ونکومایسین، استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم متی سیلین، سودوموناس آژوژینوزا، کلبسیلا و انتروباکتر می باشد<sup>(۴)</sup>. درصد سویه های مولد بتالاکتاماز وسیع الطیف در ایران و اکثر کشورهای آسیایی مشخص نیست. به صورت تخمینی ۷-۱۹ درصد اشرشیاکلی و ۲۷-۳۸ درصد گونه های کلبسیلا در کشور مالزی مولد بتالاکتاماز طیف وسیع هستند<sup>(۵)</sup> در حالی که در کشور ما آمار دقیقی در این مورد در دست نیست و نیاز به تحقیقات بیشتر در این زمینه وجود دارد. یکی از متداول ترین و مهم ترین روش های مقاومت آنتی بیوتیکی در برابر باکتری ها، تولید آنزیم های غیرفعال کننده آنتی بیوتیک ها است. مهم ترین عامل مقاومت باکتری ها در برابر آنتی بیوتیک های خانواده  $\beta$  لاکتام، تولید آنزیم بتالاکتاماز می باشد<sup>(۶، ۷)</sup>.

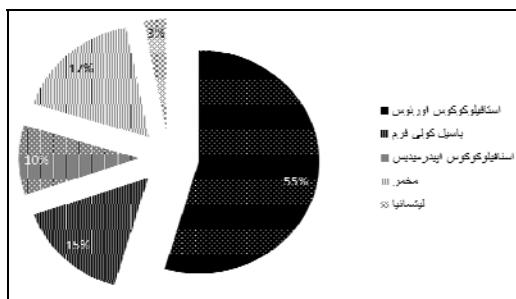
نظر به اهمیت عفونت های بیمارستانی و باکتری های مقاوم در برابر آنتی بیوتیک ها و به تبع آن شیوع و افزایش میزان مرگ و میر و خدمات روحی و اقتصادی در بیماران مبتلا به عفونت های بیمارستانی مقاوم در برابر آنتی بیوتیک ها و به خصوص باکتری های مولد آنزیم  $\beta$  لاکتاماز و همچنین با توجه به این که اطلاعات جامع و کاملی در خصوص مقاومت های باکتریابی در کشور ما به خصوص در استان مازندران در دسترس نیست، مطالعه حاضر با هدف بررسی عفونت های پوستی، ارزیابی میزان شیوع و انتشار عفونت های بیمارستانی و همچنین بررسی میزان آنزیم بتا لاکتاماز در باکتری های جدا شده از عفونت های بیمارستانی، طراحی و انجام پذیرفت.

## مواد و روش ها

در این مطالعه توصیفی - مقطعي، در طي يك دوره يك ساله ۱۰۰ نمونه به صورت تصادفي از نمونه های عفونت های پوستی و زخم های که از بخش هایي جراحی، عفونی و داخلی بیمارستان فوق تخصصی امام



نمودار شماره ۱: توزیع فراوانی انواع میکرووارگانیسم های جدا شده از عفونت های پوستی



نمودار شماره ۲: توزیع فراوانی انواع میکرووارگانیسم های جدا شده از زخم های عفونی

بررسی تولید آنزیم بتا لاکتاماز با استفاده از روش اسیدومتری در این نمونه ها نشان داد که ۱۵ نمونه (۱۵ درصد) بتا لاکتاماز مثبت و ۸۵ نمونه (۸۵ درصد)  $\beta$  لاکتاماز منفی بودند. بیشترین گونه باکتری که از لحاظ تولید آنزیم بتا لاکتاماز مثبت بودند، استافیلکوک و باشیلوس ها می باشند که نتایج حاصل با مطالعات دیگر مطابقت دارد (۱۱) و کمترین گونه باکتری، باسیل های کولی فرم هستند. در مطالعه حاضر نتایج آنزیم بتا لاکتاماز بودند. این نتایج با نتایج حاصل از مطالعه جلال پور و همکاران که درصد از باشیلوس ها را در مطالعه خود واجد آنزیم بتا لاکتاماز گزارش کردند، مطابقت داشت (۱۰).

بر اساس نتایج پژوهش جلال پور و همکاران که در استان اصفهان انجام داده بودند، گونه های

اطلاعات توصیفی به دست آمده توسط نرم افزار SPSS18 و آزمون های آماری کای دو و فیشر مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. لازم به ذکر است در این مطالعه ملاحظات اخلاقی خاصی وجود نداشت.

## یافته ها و بحث

در این مطالعه از مجموع ۱۰۰ کشت انجام شده از نمونه های جدا شده از عفونت پوستی و زخم های عفونی، ۱۰۰ درصد نمونه ها آلدود به حداقل یک نوع میکرووارگانیسم بودند. از میان افراد مورد مطالعه در این تحقیق ۴۸/۶ درصد زن و ۵۱/۴ درصد مرد بودند که از لحاظ آماری اختلاف معنی داری بین جنس و نوع آلدودگی مشاهده نشده است ( $p > 0.05$ ). میانگین سنی افراد مورد مطالعه  $11/41 \pm 30/05$  سال بود که کمترین سن یک و بیشترین آن ۶۵ سال بود. میانگین مدت بستری  $9/56 \pm 12/14$  روز بود که از لحاظ میانگین سنی، طول مدت بستری شدن و نوع آلدودگی اختلاف معنی داری مشاهده نشده است ( $p > 0.05$ ). عوامل آلدودگی در عفونت های پوستی و زخم های عفونی به ترتیب در نمودارهای شماره ۱ و ۲ نشان داده شده است.

شایع ترین عامل باکتریال رشد کرده در زنان استافیلکوکوس اورئوس (۶۸/۶۱ درصد) و در مردان استافیلکوکوس اپیدرمیدیس (۱۷/۲۱ درصد) بوده است که این اختلاف از لحاظ آماری معنی دار بود ( $p < 0.05$ ). استافیلکوکوس اورئوس عمده ترین باکتری گرم مثبت عامل عفونت های بیمارستانی است (۱۰، ۹). براساس نتایج این مطالعه، استافیلکوکوس اورئوس با ۵۵ درصد شیوع، بیشترین گونه باکتری جدا شده از زخم های عفونی می باشد و ۳۴/۸۷ درصد از استافیلکوک های جدا شده واجد آنزیم بتا لاکتاماز بودند. براساس منابع مختلف شیوع این باکتری نسبت به سایر میکروب های عامل عفونت های بیمارستانی ۱۱/۱ درصد تا ۱۷/۲ درصد گزارش شده است (۱۰-۸).

خور توجه می‌باشد. آنتی‌بیوتیک‌های خانواده بتالاکتام، آنتی‌بیوتیک‌های انتخابی در درمان عفونت‌های ناشی از گونه استافیلوکوکوس، باسیلوس و آنتروباکتریا سه می‌باشد و انتشار آنزیم بتا لاکتاماز در این باکتری‌ها یکی از دلایل عدمه مقاومت آنتی‌بیوتیکی و کندی درمان در بیماران مبتلا است (۱۱). نتایج حاصل از این مطالعه و سایر پژوهش‌های انجام گرفته در ارتباط با آنتی‌بیوگرام باکتری‌ها، حاکی از شیوع مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌های خانواده بتا لاکتاماز در باکتری‌های جداسازی شده از نمونه‌های بالینی، محیطی و دست پرسنل بیمارستان بوده است (۸، ۱۰، ۱۱). بنابراین حفظ بهداشت محیط بیمارستان در کنترل تراکم میکروارگانیسم‌ها و به تبع آن کنترل عفونت‌های بیمارستانی مقاوم در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها بسیار حائز اهمیت و کمک کننده می‌باشد.

استافیلوکوکوس ۳۵ درصد، گونه‌های باسیلوس ۶۰ درصد و اعضاء خانواده آنتروباکتریا سه پنج درصد از باکتری‌های ایزوله از دست پرسنل بیمارستان را به خود اختصاص داده بودند و ۶۱/۸۵ درصد از باکتری‌های جدا شده دارای آنزیم بتا لاکتاماز بودند (۱۰). در مجموع از بین باکتری‌های جدا شده در این مطالعه، فقط ۷/۶ درصد از نظر رنگ آمیزی گرم منفی و بقیه موارد گرم مثبت بوده است. از میان بخش‌های بیمارستانی مورد مطالعه، بیشترین موارد آلودگی مربوط به بخش عفونی و کمترین موارد آلودگی مربوط به بخش جراحی بوده است که این اختلاف از نظر آماری معنی دار نبوده است ( $p > 0.05$ ). انتشار آنزیم بتا لاکتاماز در گونه‌های استافیلوکوکوس، باسیلوس و آنتروباکتریا سه، به دلیل نقش و اهمیت این باکتری‌ها در ایجاد عفونت‌های بیمارستانی بسیار قابل ملاحظه و در

## References

- Emmerson AM, Enstone JE, Griffin M, Kesey MC, Smyth ET. The second national prevalence survey of infections in hospitals—overview of the results. *J Hosp Infect* 1996; 32(3): 175-190.
- Keith S. Multidrug resistant bacteria: mechanism of resistance, epidemiology and prevention. Virgo Publishing, Infection Control Education Institute 2005;6(3): 1-10
- Weinstein RA. Nosocomial infection update. *Emerging Infectious Diseases* 1998; 4(3): 416-420.
- Bonten MJ, Hayden MK, Nathan C, Voorhis J, Matushek M, Slaghter S, et al. Epidemiology of colonization of patients and environment with vancomycin-resistant enterococci. *Lancet* 2008; 348(9042): 1615-1619.
- Cheong YM, Lim VK, Jegathesan M, Suleiman AB. Antimicrobial resistance in 6 Malaysian general hospitals. *Med J Malaysia* 1994; 49(4): 317-326.
- Paterson DL, Bonomo R. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev* 2005; 18(4): 657-686.
- Hopley L, Schalkwyk JV. Mechanisms of resistance to antimicrobials. Date of last update: 2006/10/24. Available at <http://anaesthetist.com/icu/infect/findex.htm#resist.htm>. Accessed July 16, 2005.
- Jalalpoor Sh, Kasra Kermanshahi R, Noohi AS, Zarkesh Isfahani H. Study of  $\beta$ -lactamase and surfacelayer nano structure in some of isolated pathogen bacteria from clinical and environmental hospital samples. MSc thesis, Tehran, Islamic Azad University Sciences and Research Branch, Tehran, 2007; 4: 169-207.
- Kampf G, Ostermeyer C. Inter-laboratory reproducibility of the EN 1500 reference

- hand disinfection. *J Hosp Infect* 2003; 53(23): 304-306.
10. Jalalpoor Sh, Kasra Kermanshahi R, Noohi AS, Zarkesh Isfahani H, Abusaidi H. Comparing the frequency of  $\beta$ -lactamase enzyme existence in isolated nosocomial infection bacteria. Magazine of University of medical science Rafsanjan 2009; 8(3): 203-214.
11. Jalalpoor S, Kasra-Kermanshahi R, Nouhi AS, Zarkesh- Esfahani H. Survey frequence of  $\beta$ -lactamase enzyme and antibiotic sensitivity pattern in isolated pathogen bacteria from low and high hospital contact surfaces. Pajuhandeh 2010; 15(2): 77-82.