Archive of SID

شیوع ژن‌های بتالاکتاماز IMP, SHV, PER در ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزای جدا شده از بیمارستان‌های کرمانشاه

افسانه سلیمی[1]، دکتر علیشا اکیا[2]*، عرفان حیدری[3]

۱. کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران.

۲. مرکز تحقیقات عفونت‌های بیمارستانی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران.

۳. گروه میکروب شناسی، دانشگاه آزاد سنندج، سنندج، ایران.

* **عهده دار مکاتبات:** کرمانشاه، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، دانشکده پزشکی، گروه میکروب شناسی.

Email: akya359@yahoo.com

چکیده

زمینه: سودوموناس آئروژینوزا (*Pseudomonas aeruginosa*) یکی از پاتوژن‌های فرصت طلب در ایجاد عفونت‌های بیمارستانی است. ظهور و انتشار آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز (MBLs) و بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف (ESBLs) در میان ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا باعث افزایش میزان مقاومت در این باکتری می‌شود. این مطالعه جهت بررسی شیوع ژن‌های IMP, SHV, PER در ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا انجام شد.

روش‌ها: میزان حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا نسبت به پیپراسیلین، ایمی‌پنم، سفتازیدیم و سفپایم با روش MIC (Minimum inhibitory concentration) تعیین شد. سپس PCR جهت تشخیص ژن‌های IMP, SHV, PER انجام شد.

یافته‌ها: از ۶۰ ایزوله‌ی مورد بررسی، میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به پیپراسیلین ۳۸ ایزوله (۶۳/۳٪)، سفتازیدیم ۴۲ ایزوله (۷۰٪)، ایمی‌پنم ۴۴ ایزوله (۷۳/۳٪) و سفپایم ۴۵ ایزوله (۷۵٪) بود. تعداد ۵ (۸/۳٪) ایزوله دارای ژن PER و ۸ (۱۳/۳٪) ایزوله بر حسب نتایج بدست آمده از PCR دارای ژن SHV بود. در این تحقیق ژن IMP یافت نشد.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج این مطالعه، درصد مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا بالا بود و بنابراین سنجش حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها قبل از تجویز درمان اهمیت زیادی دارد. از میان ۳ ژن بتالاکتاماز مورد بررسی بیشترین شیوع مربوط به ژن SHV بود. با توجه به اهمیت بالینی ایزوله‌های مولد MBLs و ESBLs تشخیص این ارگانیسم‌ها در بیمارستان به منظور پاسخ درمانی بهتر و کنترل انتشار آن‌ها ضروری می‌باشد.

کلید واژه‌ها: سودوموناس آئروژینوزا ، بتالاکتاماز، IMP, SHV, PER

مقدمه:

سودوموناس آئروژینوزا (*Pseudomonas aeruginosa*) یکی از مهم‌ترین باکتری‌های بیماریزا در ایجاد عفونت‌های بیمارستانی نظیر پنومونی، باکتریمی و عفونت‌های مجاری ادراری است[1 و 2]. بیماریزایی سودوموناس آئروژینوزا بیشتر بوسیله‌ی فاکتورهای ویرولانس فراوان باکتری و توانایی تغییر ژنتیکی ایجاد می‌شود و زنده ماندن باکتری در انواع محیط‌ها را امکان پذیر می‌کند. بعضی از این فاکتورها به کلونیزه شدن باکتری کمک می‌کنند و بعضی دیگر باعث تسهیل تهاجم می‌شوند[3]. عفونت ایجاد شده بوسیله‌ی سودوموناس آئروژینوزا اغلب شدید و تهدید کننده است و درمان آن به دلیل حساسیت محدود به عوامل ضد میکروبی و مقاومت بالای آنتی بیوتیکی در حین درمان، مشکل می‌باشد[4-6]. مکانیسم مقاومت سودوموناس شامل تولید بتالاکتامازها، پمپ‌های ترشحی و تغییرات غشای خارجی است و مقاومت به داروهای متعدد معمولا نتیجه ترکیبی از مکانیسم‌های متفاوت در یک سویه یا عملکرد یک مکانیسم خاص می‌باشد[7].

یکی از مهم‌ترین مشکلات درمان عفونت‌های سودوموناس آئروژینوزا، کسب مقاومت نسبت به داروهای بتالاکتام است. بتالاکتامازهای کلاس B در طبقه‌بندی Ambler metallo-beta-lactamases=(MBLs) و کلاس A در طبقه بندی extended spectrum beta

www.SID.ir

Archive of SID

lactamases=(ESBLs) که معمولا توسط ژن‌های مرتبط با عناصر ژنتیکی خارج کروموزومی کد می‌شوند، به دلیل قابلیت انتشار بالا به عنوان یکی از مهم‌ترین نگرانی‌های آینده‌ی درمان ضد میکروبی محسوب می‌شوند[۱۰-۸]. ژن‌های تولید کننده‌ی متالوبتالاکتاماز VIM, SPM, GIM, IMP و SIM منجر به مقاومت باکتری در برابر داروهای بتالاکتام می‌شوند. این آنزیم‌ها بر طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله پنی‌سیلین‌ها، سفالوسپورین‌های وسیع الطیف و کاربانم‌ها به جز مونوباکتام موثرند و برای فعالیت آنزیمی خود به کاتیون‌های دو ظرفیتی مانند فلز روی به عنوان کوفاکتور نیاز دارند. سودوموناس آئروژینوزای مولد MBLs اولین بار در ژاپن در سال ۱۹۹۱ گزارش شد و پس از آن در آسیا، اروپا، استرالیا و آمریکا نیز مشاهده شد[۱۱و۱۲]. ژن-های شایع ESBL شامل SHV, TEM, VEB, PER, BEL, GES, CTX-M, PME, OXA می‌باشند که باعث هیدرولیز سفالوسپورین‌های نسل سوم از جمله سفتازیدیم و مونوباکتام می-شوند[۱۳]. این آنزیم‌ها اکثرا مشتقات بتالاکتامازی SHV, TEM هستند که در توالی آمینواسیدی آن‌ها تغییراتی بوجود آمده است. آنزیم PER در سودوموناس آئروژینوزا نیز شیوع بالایی دارد[۱۴]. اولین سودوموناس آئروژینوزای تولید کننده‌ی آنزیم PER در سال ۱۹۹۱ در یک بیمار ترکیه‌ای که در بیمارستان پاریس بستری بود، جدا شد[۱۵]. ایزوله‌های مولد بتالاکتاماز به دلیل توانایی انتقال ژن‌های مقاومت و همچنین کلونیزه شدن طولانی مدت در محیط بیمارستان، تهدید مهمی برای مراکز درمانی به شمار می‌روند. تشخیص مولکولی و نظارت بر ژن‌های مقاومت جهت درمان مناسب و کنترل گسترش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در عفونت‌های سودومونایی دارای اهمیت بالایی می‌باشد[۱۶]. این مطالعه جهت بررسی فراوانی ژن های بتالاکتاماز PER، IMP و SHV در ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا انجام شد.

مواد و روش‌ها:

در این مطالعه ۶۰ ایزوله‌ی پاتوژن سودوموناس آئروژینوزا از نمونه‌های مختلف بالینی سه بیمارستان در شهر کرمانشاه شامل بیمارستان امام خمینی (۴۷ نمونه)، بیمارستان امام رضا (۱۱ نمونه) و بیمارستان طالقانی (۲ نمونه) جدا شد. پس از انجام تست‌های تشخیصی افتراقی از جمله تستهای کاتالاز، اکسیداز، خصوصیات رشد در محیط TSI، تولید SH2 و گاز، تولید رنگدانه، ایندول و متیل رد همچنین داشتن حرکت در محیط SIM و رشد در ۴۲ درجه سانتیگراد در محیط ستریمید آگار تعیین جنس و گونه شدند.

الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا نسبت به پیپراسیلین (PC)، ایمی‌پنم (IMP)، سفتازیدیم (CAZ) و سفپایم (CFP) (تهیه شده از شرکت MAST انگلستان) طبق استاندارد CLSI ۲۰۱۱ و با روش (Minimum inhibitory concentration) MIC بررسی شد. مقاومت ایزوله‌های MIC≥۱۲۸ µg/ml برای پیپراسیلین، MIC≥ ۳۲ µg/ml برای سفتازیدیم، µg/ml MIC≥۳۲ برای سفپایم و MIC≥۱۶ µg/ml برای ایمی‌پنم تعیین شد.

برای استخراج DNA باکتری‌ها جهت انجام آزمایش PCR از روش جوشاندن استفاده شد. برای این کار ابتدا ایزوله‌ها را روی محیط نوترینت آگار کشت داده و بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای $^{\circ}C$ ۳۷، ۵-۳ کلونی را در ۵۰۰ میکرولیتر آب مقطر استریل حل کرده و ۱۰-۵ دقیقه در بن‌ماری ۱۰۰ درجه گذاشته شد، سپس با دور ۸۰۰۰rpm به مدت ۳ دقیقه سانتریفوژ شد و محلول رویی که حاوی DNA باکتری بود، جهت انجام PCR استفاده شد. آزمون PCR برای شناسایی ژن‌های PER، SHV و IMP با استفاده از پرایمرهای اختصاصی و برنامه‌ای که در جدول ۱ آمده، انجام شد. برای انجام واکنش PCR از Master mix (سیناکلون، ایران) ۱۲/۵ میکرولیتر، DNA باکتری ۴ میکرولیتر و ۱ میکرولیتر از هر کدام پرایمرها (سیناکلون، ایران) استفاده شد و با آب مقطر استریل حجم نهایی به ۲۵ میکرولیتر رسید.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱. توالی پرایمرها و مشخصات PCR ژن‌های PER، SHV و IMP

Primer	توالی از('3-'5)	سیکل PCR			محصولات PCR	رفرنس
		دناچوره	آنیلینگ	گسترش		
PER-F PER-R	TGGGCTTAGGGCAGAAAG GAATACCTGGGCTCCGATAA	۹۴°c ۴۰ ثانیه	۵۰°c ۴۰ ثانیه	۷۲°c ۱دقیقه	۶۰۷bp	۳۵
SHV-F SHV-R	TCAGCGAAAAACACCTTG TCCCGCAGATAAATCACC	۹۴°c ۴۰ ثانیه	۵۰°c ۴۰ ثانیه	۷۲°c ۱دقیقه	۴۷۱bp	۳۴
IMP-F IMP-R	GAAGGCGTTTATGTTCATAC GTACGTTTCAAGAGTGATGC	۹۴°c ۴۰ ثانیه	۵۲°c ۴۰ ثانیه	۷۲°c ۱دقیقه	۵۸۷bp	۱۲

از مارکر ۱۰۰bp ladder جهت تشخیص وزن مولکولی محصول PCR استفاده شد. الکتروفورز محصولات در ژل اگارز ۱٪ انجام شد و پس از رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید، به مدت ۵ دقیقه داخل آب مقطر گذاشته و با دستگاه Gel Doc (BioRad, USA) از ژل عکس گرفته شد.

نتایج:

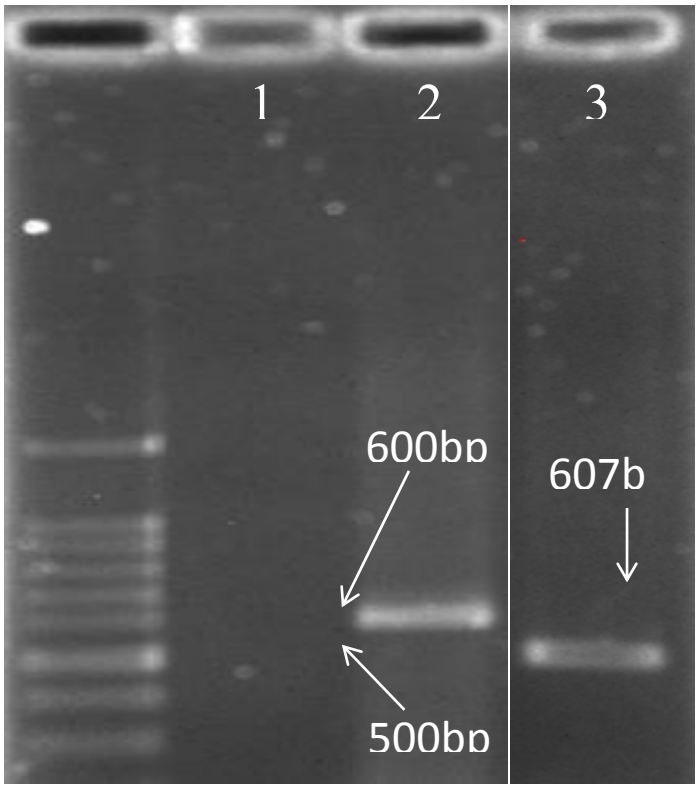
از ۶۰ نمونه مورد مطالعه ۳۱ نمونه مربوط به مردان و ۲۹ نمونه مربوط به زنان بود. میانگین سنی بیماران مرد ۲۳/۹۷±۳۱/۶۴ بود. میانگین سنی بیماران زن ۱۹/۹۰±۲۸/۶۶ و حداکثر سن ۷۶ سال و حداقل ۲ ماه بود. در بین این ۶۰ ایزوله، ۳۲ (۵۳/۳ ٪) ایزوله از نمونه‌های سوختگی، ۱۰(۱۶/۷ ٪) ایزوله از ترشحات ریه، ۹ (۱۵٪) ایزوله از نمونه‌های ادرار و ۹ (۱۵٪) ایزوله از دیگر نمونه‌ها (شامل زخم، خون، گوش، چشم، کاتاتر، واژینال و سایر موارد) بودند. میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی در این ایزوله‌ها نسبت به پیپراسیلین، سفتازیدیم، ایمی‌پنم و سفپایم به ترتیب ۶۳/۳، ۷۰، ۷۳/۳ و ۷۵ درصد بود. از نتایج بدست آمده از PCR، ۵ (۸/۳ ٪) ایزوله دارای ژن PER و ۸ (۱۳/۳ ٪) ایزوله دارای ژن SHV بود(شکل ۱). در هیچکدام از ایزوله‌ها ژن IMP یافت نشد. از بین ۵ سویه‌ای که دارای ژن PER بودند، ۳ سویه از نمونه‌ی سوختگی، ۱ سویه از نمونه‌ی ادرار و ۱ سویه از نمونه‌ی ریه بود. همچنین از بین سویه‌هایی که دارای ژن SHV بودند، ۴ سویه از نمونه سوختگی، ۱ سویه از نمونه ادرار، ۱ سویه از نمونه ریه و ۲ سویه از دیگر نمونه‌ها بود. یک سویه دارای هر دو ژن SHV و PER بود و هچنین به آنتی‌بیوتیک‌های پیپراسیلین، سفپایم، ایمی-پنم و سفتازیدیم مقاومت نشان داد.

بحث:

از زمان عرضه و مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان بیماری‌های عفونی، باکتری‌هایی همچون سودوموناس آئروژینوزا از راه‌های مختلف نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم شده‌اند. در این مطالعه مقاومت بالایی نسبت به آنتی بیوتیک‌ها دیده شد که بیشترین میزان مربوط به سفپایم و در ایزوله‌های جدا شده از نمونه‌های سوختگی بود که نشان دهنده شیوع بالای مقاومت در این پاتوژن فرصت طلب است. افزایش تنوع بتالاکتامازها در ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا باعث محدودیت و شکست درمان عفونت‌های ناشی از این سویه‌ها گردیده و منجر به افزایش مرگ و میر شده است[۱۷].سودوموناس آئروژینوزای تولیدکننده‌ی متالوبتالاکتاماز مسئول ایجاد عفونت‌های بیمارستانی طولانی مدت و شدید می‌باشد[۱۲]. بر اساس مطالعاتی که در ایران و سایر کشورهای جهان انجام شده است، درصد فراوانی ژن‌های متالوبتالاکتاماز در مناطق جغرافیایی مختلف، تفاوت چشمگیری دارد. در این مطالعه ژن IMP در ایزوله‌ها یافت نشد که با نتایج بیشتر مطالعات قبلی همخوانی دارد. در مطالعه‌ای که در تهران انجام شده است نیز فراوانی IMP را صفر گزارش کردند[۱۸].

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱. الکتروفورز محصولات PCR

شماره ۱. ladder DNA۱۰۰bp , شماره ۲. نمونه منفی, شماره ۳. نمونه مثبت ژن PER , شماره ۴. نمونه مثبت ژن SHV.

اما در مطالعه‌ای که در زنجان انجام شد، درصد فراوانی ژن IMP را بالا (۲۴/۳ ٪) گزارش کردند[19]. مطالعاتی که در کشورهای آسیایی، آفریقایی و آمریکای شمالی همچون کره، هند، مصر و کانادا انجام شده، درصد شیوع ژن IMP را به ترتیب ۷/۸ ٪، ۳٪، ۲/۱ ٪ و ۲٪ اعلام کردند[12و22-20] که نشان دهنده شیوع پایین این ژن است و با نتایج مطالعه ما سازگار است. در مطالعات دیگر از جمله در برزیل شیوع بالاتری برای ژن IMP (۲۹٪) در سودوموناس آئروژینوزا گزارش کرده‌اند[23]. این تفاوت‌ها می‌تواند به دلیل عواملی از جمله میزان و روش تجویز آنتی‌بیوتیک‌ها به خصوص داروهای کارباپنم و همچنین نوع و تعداد نمونه مورد مطالعه باشد. آنزیم PER به دلیل فعالیت ESBL بالایی که بر بتالاکتام‌های ضد سودومونایی دارد، اهمیت کلینیکی بالایی دارد و در اروپا و آسیا انتشار یافته است[15]. آنزیم PER بیشتر کروموزومی است و شباهت کمی از لحاظ توالی آمینواسیدی با آنزیم SHV دارد. ژن PER قابلیت انتشار در بین انواع باکتری‌های گرم منفی را دارد و سویه‌هایی که ژن PER را به همراه ژن‌های متالوبتالاکتاماز و ESBL از نوع OXA حمل می‌کنند، مشاهده شده‌اند[24]. مطالعاتی که در ایران انجام شده، میزان شیوع ژن PER را در تهران ۱۳٪ و در تبریز ۲۶/۶ ٪گزارش کرده‌اند که از نتیجه‌ی مطالعه‌ی ما کمی بالاتر است[25]. میزان درصد شیوع ژن PER در ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا در کشورهای مختلف جهان بسیار متفاوت است. طوریکه میزان شیوع آن در کشورهایی همچون ترکیه و بلژیک بالای ۵۰٪ بوده است[26 و 27]. در صورتی که مطالعات انجام شده در کشورهای بلغارستان و کره درصد فراوانی ژن PER را صفر گزارش کرده‌اند[28 و 29]. همچنین مطالعاتی که در ایتالیا و یونان روی ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا انجام دادند، درصد فراوانی ژن PER را به ترتیب ۳۴/۶ ٪ و ۱/۷ ٪ گزارش کردند[30و 31]. این

www.SID.ir

Archive of SID

اختلافات در میزان شیوع PER ممکن است به دلیل میزان و روش تجویز دارو، میزان مراقبت‌های بهداشتی و کنترل انتشار سویه‌های مقاوم در مناطق مختلف باشد. از دیگر ژن‌های مهم ESBL در سودوموناس آئروژینوزا، ژن SHV می‌باشد که در این مطالعه درصد فراوانی آن ۱۳/۳ ٪ بود. درصد فراوانی آنزیم SHV در باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه بیشتر از سودوموناس آئروژینوزا است. در مطالعه‌ای در کشور یونان نشان دادند که ژن SHV در سودوموناس روی کروموزوم قرار دارد و ممکن است که این ژن از طریق پلاسمید از باکترهای انتروباکتریاسه به سودوموناس منتقل و داخل کروموزوم آن ادغام شده باشد[۳۲]. فراوانی این ژن نیز در کشورهای مختلف جهان متفاوت بوده است. چنانکه فراوانی SHV در کره صفر و در هند ۲۶٪ گزارش شده است[۲۸ و ۳۳]. در مطالعه ما میزان فراوانی ژن SHV بیشتر از PER بود که احتمالا به دلیل قابلیت بالای انتشار این ژن بین باکتری‌ها باشد.

نتیجه‌گیری:

ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا به عنوان یکی از عوامل عفونت‌های بیمارستانی مقاومت بالایی به بتالاکتام‌ها به خصوص کارباپنم‌ها و سفالوسپورین‌های نسل سوم و چهارم نشان داده‌اند و در نتیجه قبل از تجویز درمان آنتی‌بیوتیکی، سنجش میزان حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها مورد نیاز می‌باشد. بیشترین میزان مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها مربوط به ایزوله‌های جدا شده از نمونه سوختگی بود و بنابراین لزوم رعایت شرایط بهداشت و ایزوله بودن بیماران در بخش‌ها را نشان می‌دهد. با توجه به اهمیت بالای ایزوله‌های مولد آنزیم‌های بتالاکتاماز در افزایش و انتشار مقاومت آنتی‌بیوتیکی، تشخیص به هنگام آنها در مراکز درمانی پیشنهاد می‌شود.

References:

1. Jiang X, Zhang Z, Li M, Zhou D, Ruan F, Lu Y. Detection of extended-spectrum beta-lactamases in clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa. Antimicrob Agents Chemother. 2006; 50(9): 2990-5.

2. Slama TG. Gram-negative antibiotic resistance: there is a price to pay. Crit Care. 2008; 12(4):1–7.2.

3. Ruxana T, Timothy S, John W, Aice S. Pathogen Host interactions in Pseudomonas aeruginosa pneumonia. American J. Resp. Cri. Car. 2005; 171:129-1223.

4. Carmeli Y, Troillet N, Eliopoulos G, Samore MH. Emergence of antibiotic-resistant Pseudomonas aeruginosa: comparison of risks associated with different antipseudomonal agents. Antimicrob Agents Chemother. 1999; 43:1379–1382.

5. Garner JS, Jarvis WR, Emori TG, Horan TC, Hughes JM. CDC definitions for nosocomial infections. Am J Infect Control. 1988; 16:128–140.

6. Valerie A, Shiri N, Yardena S, Shaltiel C, Yehuda C. Multidrug-Resistant Pseudomonas aeruginosa: Risk Factors and Clinical Impact. Antimicrob Agents Chemother. 2006; 50(1): 43–48.

7. Zavascki AP, Carvalhaes CG, Picao RC, Gales AC. Multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii: resistance mechanisms and implications for therapy. Expert Rev Anti Infect Ther. 2010; 8(1): 71-93.

8. Glupczynski Y, Bogaerts P, Deplano A, Berhin C, Huang TD, Van Eldere J,et al. Detection and characterization of class A extended-spectrum-beta-lactamase-producing Pseudomonas aeruginosa isolates in Belgian hospitals. J Antimicrob Chemother. 2010; 65(5):866–871.

9. Lin SP, Liu MF, Lin CF, Shi ZY. Phenotypic detection and polymerase chain reaction screening of extended-spectrum ß-lactamases produced by Pseudomonas aeruginosa isolates. J Microbiol Immunol Infect. 2012; 45(3):200–207.

10. Bush K. New beta-lactamases in gram-negative bacteria: diversity and impact on the selection of antimicrobial therapy. Clin Infect Dis. 2001; 32 (7):1085–1089.

11. Zhao WH, Hu ZQ. Beta-lactamases identified in clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa. Crit Rev Microbiol. 2010; 36(3):245–258.

12. Pitout JD, Chow BL, Gregson DB, Laupland KB, Elsayed S, Church DL. Molecular epidemiology of metallo-beta-lactamase-producing Pseudomonas aeruginosa in the Calgary Health Region: emergence of VIM-2-producing isolates. JCM. 2007; 45(2):294-8.

13. Nordman P, Naas T. Sequence analysis of PER-1 extended spectrum ß-lactamase from Pseudomonas aeruginosa and comparison with class a ß-lactamases. Antimicrob Agents Chemother. 1994; 38:104-114.

www.SID.ir

Archive of SID

14. Bonnet R. Growing group of extendedspectrum beta-lactamases: the CTX-M enzymes. Antimicrob Agents Chemother. 2004; 48:1–14.

15. Nordmann P, Ronco E, Naas T, Duport C, Michel-Briand Y, Labia R. Characterization of a novel extended-spectrum beta-lactamase from Pseudomonas aeruginosa. Antimicrob Agents Chemother. 1993; 37:962–969.

16. Zhao WH, Chen G, Ito R, Hu ZQ. Relevance of resistance levels to carbapenems and integron-borne blaIMP-1, blaIMP-7, blaIMP-10 and blaVIM-2 in clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa. J Med Microbiol. 2009; 58(8):1080–1085.

17. Polotto M, Casella T, de Lucca Oliveira MG, Rúbio FG, Nogueira ML, de Almeida MT, et al. Detection of P. aeruginosa harboring bla CTX-M-2, bla GES-1 and bla GES-5, bla IMP-1 and bla SPM-1 causing infections in Brazilian tertiary-care hospital. BMC Infect Dis. 2012; 12:176.

18. Shahcheraghi F, Nikbin VS, Shooraj F, Shafiei M. Investigation of bla IMP-1, bla VIM-1 and bla SPM-1 MBL Genes among Clinical Strains of Pseudomonas aeruginosa Isolated from Imam Khomeini Hospital, Tehran, Iran. Pajoohandeh J. 2009; 14 (2):67-72

19. Doosti M, Ramazani A and Garshasbi M. Identification and Characterization of Metallo-ß-Lactamases Producing Pseudomonas aeruginosa Clinical Isolates in University Hospital from Zanjan Province, Iran. Iranian Biomed J. 2013; 17(3): 129-133

20. Seok Y, Bae IK, Jeong SH, *Kim SH, Lee H, Lee K*. Dissemination of IMP-6 metallo-b-lactamase-producing Pseudomonas aeruginosa sequence type 235 in Korea. J Antimicrob Chemother. 2011; 66: 2791–2796

21. Arunagiri K, Sekar B, Sangeetha G, John J. Detection and Characterization of Metallo-ß-lactamases in Pseudomonas aeruginosa by Phenotypic and Molecular Methods from Clinical Samples in a Tertiary Care Hospital. West Indian Med J. 2012; 61(8): 778.

22. Zafer MM, Amin M A, Al-Agamy MH, El-Mahallawy HA, Ashour M*S*. Antimicrobial Resistance Pattern and Their Beta-Lactamase Encoding Genes among Pseudomonas aeruginosa Strains Isolated from Cancer Patients. BioMed Res Int. 2014*; 2014:101635*.

23. Camargo H, Nascimento A, Mondelli A L, Montelli A C, Sadatsune T. Detection of SPM and IMP metallo-ß-lactamases in clinical specimens of Pseudomonas aeruginosa from a Brazilian public tertiary hospital. Braz J Infect Dis. 2011; 15(5):478-481.

24. Docquier JD, Luzzaro F, Amicosante G, Toniolo A, Rossolini GM. Multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa producing PER-1 extended-spectrum serineblactamase and VIM-2 metallob-lactamase. Emerg Infect Dis. 2001; 7: 910–911.

25. Alikhani MY, Karimi Tabar Z, Mihani F, Kalantar E, Karami P, Sadeghi M, et al. Genes Among ESBL-producing Pseudomonas aeruginosa Isolates in West of Iran. Jundishapur J Microbiol. 2014; 7(1): e8888.

26. Kolayli F, Gacar G, Karadenizli A, Sanic A, Vahaboglu H. PER-1 is still widespread in Turkish hospitals among Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter spp. FEMS Microbiology Letters. 2005; 249:241.

27. Claeys G, Verschraegen G, Baere T, Vaneechoutte. PER-1 ß-lactamase-producing Pseudomonas aeruginosa in an intensive care unit. J Antimicrob Chemother. 2000; 45:919931.

28. Lee S, Park Y, Kim M, Lee HK, Han K, Kang CS, et al. Prevalence of Ambler class A and D ß-lactamases among clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa in Korea. J Antimicrob Chemother. 2005; 56:122-127.

29. Strateva T, Ouzounova-Raykova V, Markova B, Todorova A, Marteva-Proevska Y, Mitov I. Problematic clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa from the university hospitals in Sofia, Bulgaria: current status of antimicrobial resistance and prevailing resistance mechanisms. J Med Microbiol. 2007; 56:956963.

30. Endimiani A, Luzzaro F, Pini B, Amicosante G, Rossolini GM, Toniolo AQ. Pseudomonas aeruginosa bloodstream infections: risk factors and treatment outcome related to expression of PER-1 extended-spectrum ß-lactamase. BMC Infect Dis. 2006; 6: 52-61

31. Ranellou K, Kadlec K, Poulou A, Voulgari E, Tsakris A. Detection of Pseudomonas aeruginosa isolates of the international clonal complex 11 carrying the bla PER-1 extended-spectrum b-lactamase gene in Greece. J Antimicrob Chemother. 2011.

32. Poirel L, Lebessi E, Castro M, F e`vre C, Foustoukou M, Nordmann P. Nosocomial Outbreak of Extended-Spectrum-beta-Lactamase SHV-5-Producing Isolates of Pseudomonas aeruginosa in Athens, Greece. AAC. 2004; 48(6) p. 2277–2279.

33. Chaudhary M, Payasi A. Rising Antimicrobial Resistance of Pseudomonas aeruginosa Isolated from Clinical Specimens in India. J Proteomics Bioinform. 2013; 6:1.

34. Lal *P*, Kapil *A*, *Das B*K, *Sood S*. Occurrence of TEM & SHV gene in extended spectrum b-lactamases (ESBLs) producing Klebsiella sp. Isolated from a

www.SID.ir

Archive of SID

tertiary care hospital. Indian J Med Res. 2007: 173-178.

35. Leonardo A, Karadenizli A, Deriu A, Zanetti S, Kolayli F, Balikci E. PER-1 type beta-lactamase production in Acinetobacter baumannii is related to cell adhesion. Med Sci Monit. 2004; 10(6): 180-184.

www.SID.ir

Archive of SID

JCRPS Journal of Clinical Research in Paramedical Sciences, Vol 4, No 2, Summer 2015 Original Article

Prevalence of β-lactamases genes of IMP, SHV and PER in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from hospitals in Kermanshah

Afsaneh Salimi[1], Alisha Akya[2*], Erfan Haidari[3]

1. Student Research Committee, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran.

2. Nosocomial Infection Research Center, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran.

3. Department of Microbiology, Azad Univerisy of Sanandaj, Sanandaj, Iran.

*__Corresponding Author:__ Kermanshah, Kermanshah University of Medical Sciences, School of Medicine, Department of Microbiology.

Email: akya359@yahoo.com

Abstract

Background: *Pseudomonas aeruginosa* is an opportunistic pathogen associated with nosocomial infections. The emergence and dissemination of metallo-β-lactamases (MBLs) and extended-spectrum-β-lactamases (ESBLs) have contributed to the high rate of resistance among the p. aeruginosa isolates. This study investigated the prevalence of IMP, SHV and PER genes in p. aeruginosa isolates.

Methods: Antibiotic susceptibility testing was performed using the minimal inhibitory concentrations (MIC). Then the polymerase chain reaction (PCR) was used for the detection of 3 genes encoding IMP, SHV and PER.

Results: Of the 60 isolates tested, 38 (63.3%) were resistant to piperacilin, 42 (70%) to ceftazidime, 44(73.3%) to imipenem and 45 (75%) to cefepime. Five (8.3%) and 8(13.3%) of the isolates had PER and SHV genes by PCR results. In this study IMP gene was not found.

Conclusion: According to this study, P. aeruginosa isolates were highly resistant to antibiotics. Therefore the susceptibility of isolates should be tested before treatment. Among the three β-lactamases genes studied the highest prevalence was related to SHV gene. Given the clinical significance of MBLs and ESBLs producing isolates, identification of these organisms is essential in the hospitals in order to get a better therapeutic response and control of bacterial dissemination.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, β-lactamases, PER, SHV, IMP

How to cite this article

Salimi A, Akya A, Haidari E. Prevalence of β-lactamases genes of IMP, SHV and PER in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from hospitals in Kermanshah. J Clin Res Paramed Sci 2015; 4(2):152-159.

www.SID.ir