Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 11:42 +0430 on Monday May 20th 2019

ORIGINAL ARTICLE

Evaluation of Carba NP Method for Rapid Detection of Pseudomonas aeruginosa Isolates Producing Carbapenemase Enzymes

Masoumeh Beig[1],
Mohammad Reza Arabestani[2,3]

[1] MSc in Medical Microbiology, Faculty of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran
[2] Associate professor, Department of Microbiology, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran
[3] Brucellosis Research Center, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

(Received November 11, 2018 ; Accepted January 9, 2018)

Abstract

Background and purpose: Recently, increased resistance to carbapenem antibiotics among *Pseudomonas aeruginosa* has raised concerns. The Carba NP test is used for detection of carbapenemase types. This study aimed at applying Carba NP method for rapid detection of *P. aeruginosa* isolates producing carbapenemase enzymes.

Materials and methods: A total of 97 clinical specimens was collected from patients in educational hospitals between November 2017 and May 2018 in Hamadan, Iran. Antibiotic susceptibility test was performed by disc diffusion method and MIC for imipenem was done by E-test. In order to detect carbapenemases enzymes, combined disk (CDT), CarbaNP, Modified Hodge (MHT), and Polymerase chain reaction (PCR) were performed. Statistical analysis was performed using SPSS V16.

Results: The highest and lowest levels of resistance were found to be to Ceftriaxone 65 (67%) and Piperacilin/Tazobactam 38 (39.2%), respectively. Among 97 clinical isolates of *P.aeruginosa*, 49 (50.51%) were positive for carbapenemase genes by PCR test from which 48 (97.95%) were positive for CarbaNP test. There were 48 (49.48%) PCR negative isolates of which all (100%) showed negative results for CarbaNP test. Compared to PCR, the sensitivity and specificity of this test was 98% and 100%, respectively.

Conclusion: This study showed that a high percentage of *P. aeruginosa* was resistant to Carbapenem antibiotics and the CarbaNP method was highly sensitive and specific for detection of carbapenemase enzymes.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, disk diffusion antibiotic test, PCR, CarbaNP

J Mazandaran Univ Med Sci 2019; 29 (172): 10-21 (Persian).

* **Corresponding Author: Mohammad Reza Arabestani -** Brucellosis Research Center, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran (E-mail: mohammad.arabestani@gmail.com)

Archive of SID
www.SID.ir

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و نهم شماره ۱۷۲ اردیبهشت سال ۱۳۹۸ (۲۱-۱۰)

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 11:42 +0430 on Monday May 20th 2019

ارزیابی روش CarbaNP برای شناسایی سریع ایزوله های *سودوموناس آئروژینوزا* مولد آنزیم های کارباپنماز

معصومه بیگ[1]

محمد رضا عربستانی[2و3]

چکیده

سابقه و هدف: اخیرا افزایش مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های کارباپنم در بین باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* موجب نگرانی‌هایی در بیمارستان‌ها شده است. روش CarbaNP (Cnpt) به منظور شناسایی آنزیم‌های کارباپنمازها مورد استفاده قرار می‌گیرد. بنابراین هدف از این مطالعه استفاده از روش CarbaNP برای شناسایی سریع ایزوله‌های *سودوموناس آئروژینوزای* مولد آنزیم‌های کارباپنماز می‌باشد.

مواد و روش‌ها: تعداد ۹۷ نمونه بالینی از بیمارستان‌های آموزشی شهر همدان از آبان ۱۳۹۶ تا اردیبهشت ۱۳۹۷ جمع‌آوری شد.آزمون حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله ها به روش دیسک دیفیوژن و حداقل غلظت مهاری نمونه‌ها نسبت به ایمیپنم، با استفاده از نوار E test انجام شد. جهت شناسایی آنزیم‌های کارباپنماز، از روش CDT (combined disc test)، MHT (Modified Hodge Test) و CarbaNP و روش PCR (Polymerase chain raection) استفاده شد. در نهایت آنالیز آماری تمامی داده‌ها با استفاده ازنرم‌افزار SPSS (Version 16) مورد بررسی قرارگرفت.

یافته‌ها: نتایج حاصل از آزمون حساسیت آنتی بیوتیکی نشان داد، بیشترین و کمترین میزان مقاومت به ترتیب نسبت به آنتی بیوتیک های سفتریاکسون ۶۵ (۶۷ درصد) و پیپراسیلین-تازوباکتام ۳۸ (۳۹/۲ درصد) مشاهده شد، از میان ۹۷ ایزوله بالینی سودوموناس آئروژینوزا، ۴۹ (۵۰/۵۱ درصد) ایزوله با تست PCR برای ژن‌های کارباپنماز، مثبت شدند که از این میان ۴۸ (۹۷/۹۵ درصد) ایزوله از نظر تست CarbaNP مثبت بودند.از میان ۴۸ (۴۹/۴۸ درصد) ایزوله‌ای که نتایج PCR منفی داشتند، ۴۸ (۱۰۰ درصد) ایزوله‌ها تست CarbaNP منفی داشتند. بنابراین حساسیت و اختصاصیت این تست در مقایسه با روش PCR به ترتیب ۱۰۰ درصد و ۹۸ درصد بود.

استنتاج: نتایج این مطالعه نشان داد که CarbaNP یک روش سریع،ارزان و دارای حساسیت و اختصاصیت بسیار بالایی جهت شناسایی ایزوله‌های مولد آنزیم‌های کارباپنماز می‌باشد.

واژه های کلیدی: *سودوموناس آئروژینوزا*، تست آنتی بیوگرام دیسک دیفیوژن،PCR،CarbaNP

مقدمه

سودوموناس آئروژینوزا باکتری گرم منفی متعلق به باکتری‌های غیر تخمیرکننده می‌باشد. این باکتری‌ها عامل عمده عفونت‌های بیمارستانی با درصد بالایی از مرگ‌ومیر می‌باشند(۱). مکانیسم‌های مقاومت این

مولف مسئول: محمدرضا عربستانی- همدان: دانشگاه علوم پزشکی همدان، دانشکده پزشکی E-mail:mohammad.arabestani@gmail.com

۱. کارشناس ارشد میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

۲. دانشیار، گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

۳. دانشیار، مرکز تحقیقات بروسلوز، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

تاریخ دریافت : ۱۳۹۷/۸/۲۰ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات :۱۳۹۷/۸/۲۲ تاریخ تصویب : ۱۳۹۷/۱۰/۱۹

Archive of SID
www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 11:42 +0430 on Monday May 20th 2019

باکتری‌ها به کاربانم‌ها شامل تولید آنزیم‌های کاربانماز،افزایش ترشح پمپ‌های تراوشی، موتاسیون در پورین‌های غشا خارجی و به دنبال آن کاهش نفوذپذیری غشا خارجی و افزایش تولید AmpC سفالوسپورینار کرومـوزومی می‌باشد(۲). ازجمله مهم‌ترین مکانیسم‌های مقاومتی تولید آنزیم‌های کاربانماز می‌باشد. هرچند کاربانم‌ها به‌عنوان آنتی‌بیوتیک‌های مؤثر برای درمان عفونت‌های شدید ناشی از سویه‌های Multi Drug Resistance (MDR) *سودوموناس آئروژینوزا* باقی‌مانده‌اند اما افزایش میزان مقاومت به این آنتی‌بیوتیک‌ها موجب شکست‌های درمانی شده است. به همین علت شناسایی سریع و دقیق سویه‌های تولیدکننده آنزیم‌های کاربانماز برای درمان مناسب و جلوگیری از گسترش سویه‌های مقاوم ضروری می‌باشد.CarbaNP تست ازجمله روش‌های سریع و مناسب جهت شناسایی سویه‌های مولد آنزیم‌های کاربانماز ازجمله *سودوموناس آئروژینوزا* می‌باشد(۳). نوعی از مقاومت به‌وسیله تولید آنزیم‌هایی به نام بتالاکتامازها صورت می‌گیرد که عامل مقاومت در برابر بتالاکتام‌ها می‌باشد. برای طبقه‌بندی بتالاکتامازها روش‌های متعددی وجود دارد که در بین آن‌ها طبقه‌بندی آمبلر و طبقه‌بندی بوش کاربرد بیشتری دارند. در طبقه‌بندی آمبلر بر اساس توالی آمینواسیدی آنزیم‌ها، 4 کلاس مختلف A, B, C, D وجود دارد. کلاس‌های D,C,A به‌وسیله مکانیسم سرین عمل می‌کنند، درصورتی‌که کلاس B برای فعالیت خود نیازمند عنصر روی می‌باشد. کاربانمازهای کلاس A یک سرین بتالاکتاماز هستند که در جایگاه فعال آن‌ها سرین وجود دارد. carbapenemase *Klebsiella pneumoniae* (KPC) رایج‌ترین کرباپنم‌آز کلاس A هست و دارای تنوعی از KPC_2 تا KPC_{13} است، که تنها در موتانت‌های آمینواسیدی تفاوت دارند(۴). ژن bla_{kpc} بر روی یک پلاسمید قرار دارد و توسط Tn_3 و Tn_{4401} در میان سویه‌های باکتریایی منتقل می‌شوند. وجود kpc در پلاسمیدهای قابل‌انتقال و ترانسپوزون‌ها موجب گسترش سریع میان باکتری‌ها شامل *کلبسیلا پنومونیه، انتروباکتر، اسینتوباکتربومانی وسودوموناس آئروژینوزا* می‌شود. کاربانم آزهای کلاس B به‌عنوان metallo-beta-lactamase (MBL) شناخته می‌شوند که در جایگاه فعالیت آن‌ها ZN وجود دارد(۵). متالو بتالاکتامازها به دلیل ایجاد مقاومت به کربانم ها که از مؤثرترین آنتی‌بیوتیک‌های مورداستفاده علیه عفونت‌های سودوموناسی هستند، بسیار قابل‌توجه می‌باشند. آنزیم‌های MBL داخل اینتگرون واقع‌شده و توانایی ادغام در پلاسمید یا کروموزوم رادارند و قابلیت انتقال به سایر ایزوله‌های *سودوموناس* و یا باکتری های دیگر از جمله انتروباکتریاسه ها را دارند. متالوبتالاکتامازها بر اساس ساختار مولکولی به انواع مختلفی تقسیم می‌شوند که عبارت‌اند از Imipenemase (IMP)، (VIM) Verona imipenemase، German Imipenemase (GIM)، Sao Paulo metallo-beta-lactamase (SPM)، (NDM) New Delhi metallo-beta-lactamase که از میان این آنزیم‌ها، IMP در *سودوموناس آئروژینوزا* بارزتر می‌باشد(۶). بعدها کلاس‌های دیگری از بتالاکتاماز های سرین (کلاسC) نیز یافت شدند که توالی آمینواسیدی آن‌ها مشابه کلاس A بود. اعضای این کلاس به آنزیم‌های AmpC نیز معروف هستند و قادر به هیدرولیز سفومایسین‌ها و سفالوسپورین‌ها می‌باشند. دسته‌ای از بتالاکتامازهای سرین نیز وجود دارند که تشابه اندکی با بتالاکتامازهای کلاس A و C دارند و تحت عنوان Oxacilin-hydrolyzine (OXA) یا اگزاسیلینازها نام‌گذاری می‌شوند. این بتالاکتامازها درکلاس D جای گرفته‌اند(۷). هرچند روش‌های مولکولی به‌عنوان روش‌های مرجع برای شناسایی ایزوله‌های مولد کاربانماز می‌باشند اما به دلایلی دارای معایب و محدودیت‌هایی جهت به‌کارگیری می‌باشند که شامل هزینه بالا، نیازمندی به افراد متخصص و وجود ژن‌های کاربانماز متنوع هست. تست‌های فنوتیپی متنوعی جهت

www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 11:42 +0430 on Monday May 20th 2019

شناسایی سریع و مقرون‌به‌صرفه کارباپنماز ها گسترش یافته‌انـد. جهـت تشـخیص اختصاصـی آنزیم‌هـای متالوبتالاکتامـاز از مهارکننـده‌ها اسـتفاده مـی‌شـود. از معمول‌ترین مهارکننده‌هایی که استفاده می‌شوند می‌توان بـه Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid (EDTA) و دیپیکولونیک اسید اشاره نمود(۸). EDTA به‌عنوان عامل شلاته کننده یون روی دو ظرفیتی عمل کرده و با جمع‌آوری کردن این یون از محیط عملکرد آنزیم مانع از فعالیت آن می‌شود. از این ماده شیمیایی به دو روش دیسک ترکیبی و استفاده از خاصیت سینرژیسم بین آن و دیسک ایمی پنم و یا سفتازیدیم جهت شناسایی متالوبتالاکتاماز استفاده می‌شود. براساس دستورالعمل CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) تست فنوتیپی جهت شناسایی سویه‌های تولیدکننده آنزیم کارباپنماز، MHT (Modified Hodge Test) معرفی‌شده است. البته مطالعات مختلفی جهت بررسی حساسیت و اختصاصیت این تست در شناسایی سویه‌های تولیدکننده کارباپنماز انجام‌گرفته است که حساسیت‌های متفاوتی را نشان می‌دهند. این تست با استفاده از سویه *اشرشیاکلی* با شماره ۲۵۹۲۲ ATCC ، دیسک ارتاپنم و محیط مولر هینتون آگار انجام می‌گیرد. البته باید به این نکته توجه نمود که این تست دارای اختصاصیت کامل نمی‌باشد، زیرا آنزیم AmpC باعث ایجاد پاسخ‌های مثبت کاذب می‌شود، از طرف دیگر تشخیص ضعیف NDM-1 باعث می‌شود که حساسیت این تست نیز صد درصد نباشد. ازجمله روش‌های فنوتیپی که بر پایه تست‌های رنگ سنجی است روش CarbaNP می‌باشد پایه این تست تشخیصی بر اساس تغییر pH محیط می‌باشد که این تغییر pH با استفاده از معرف رنگی(فنل رد) سنجیده و کنترل می‌شود. باکتری که دارای توانایی تولید آنزیم کارباپنماز باشد، آنتی‌بیوتیک کارباپنم را هیدرولیز نموده و باعث تغییر pH محلول می‌شود. در نتیجه معرف رنگ تغییرکرده و نتایج خوانده می‌شود(۹). لذا هدف از این مطالعه ارزیابی روش CarbaNP جهت شناسایی سریع ایزوله‌های *سودوموناس آئروژینوزای* مولد آنزیم‌های کارباپنماز هست.

مواد و روش ها

در طی دوره ۹ ماهه از آبان ۱۳۹۶ تا اردیبهشت ۱۳۹۷ کلنی‌های باکتریایی *سودوموناس آئروژینوزا* از بیماران بستری در بخش‌های مختلف بیمارستان‌های بعثت،بهشتی و سینای شهر همدان جمع‌آوری شد.سپس نمونه‌های باکتریایی به آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشکده پزشکی ،منتقل شدند. جهت تأیید ایزوله های *سودوموناس آئروژینوزای* جمع‌آوری شده، از تست‌های بیوشیمیایی مختلف شامل رشد در محیط مک کانکی آگار، تست اکسیداز، واکنش در محیط TSI، تست OF بررسی تحرک، رشد در محیط ستریماید آگا ،رشد در ۴۲ درجه سانتی‌گراد و تولید پیوسیانین در محیط مولر هینتون آگار استفاده شد(۱۰). برای سنجش مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌ها، از روش استاندارد دیسک دیفیوژن استفاده شد و مطابق با روش ۲۰۱۸ Clinical and Laboratory Standards Institute(CLSI) صورت گرفت. دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی استفاده شده از شرکت MAST انگلستان خریداری شدند و شامل پیپراسیلین (۱۰۰ µg)، پیپراسیلین + تازوباکتام (۱۰۰/۱۰ µg)، سفتازیدیم (۳۰ µg)، سفوتاکسیم (۳۰ µg)، سفتریاکسون (۳۰ µg)، آزترونام (۳۰ µg)، ایمی پنم (۱۰ µg)، مروپنم (۱۰ µg)، دوری پنم (۱۰ µg)، آمیکاسین (۳۰ µg)، سیپروفلوکساسین (۵ µg)، تتراسایکلین (۳۰ µg) بودند. جهت کنترل آزمایش‌ها از *سودوموناس آئروژینوزا* ATCC27853 استفاده شد. جهت تعیین حداقل غلظت مهاری (MIC) از نوار Etest ایمیپنم و بر اساس پروتکل CLSI ۲۰۱۸ استفاده شد. شناسایی ایزوله‌های مولد MBL با استفاده از مهارکننده Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid (EDTA). در این روش از باکتری‌هایی که نسبت به آنتی‌بیوتیک ایمیپنم مقاوم بودند سوسپانسیون نیم مک فارلند تهیه

www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 11:42 +0430 on Monday May 20th 2019

شد، سپس به‌صورت چمنی بر روی محیط مولر هینتون آگار کشت داده شد پس‌ازآن از دیسک ایمیپنم استفاده شد. به این صورت که دیسک ایمیپنم (µg ۱۰) به‌تنهایی و در مجاورت یک دیسک IMP-EDTA (ایمیپنم-EDTA) قرار داده شد، فاصله بین دیسک ایمیپنم تنها و دیسک ترکیبی IMP-EDTA ۲۰ میلی‌متر بود. سپس پلیت‌ها به‌مدت ۱۸-۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدندو افزایش ۷ میلی‌متری قطر هاله عدم رشد در اطراف دیسک IMP-EDTA نسبت به دیسک ایمی‌پنم تنها نشان‌دهنده حضور آنزیم متالوبتالاکتاماز بود(۱۱).

تست فنوتیپی جهت شناسایی آنزیم‌های کارباپنماز: Modified Hodge Test

تست MHT برای بررسی وجود آنزیم کارباپنماز مطابق با دستورالعمل CLSI ۲۰۱۳ انجام شد. بدین‌صورت که سوسپانسیون باکتری با رقت نیم مک فارلند از باکتری *E.coli* ATCC ۲۵۹۲۲ تهیه شد. تهیه رقت ۱/۱۰ با سرم فیزیولوژی از سوسپانسیون مرحله قبل با رقت نیم مک فارلند تهیه شد. سپس کشت چمنی با سواپ استریل از سوسپانسیون با رقت ۱/۱۰ *E.coli* ATCC ۲۵۹۲۲ بر روی محیط مولر هینتون آگار انجام شد، در ادامه پلیت در دمای اتاق به مدت ۳ الی ۵ دقیقه نگهداری شد تا جذب محیط شود. سپس یک دیسک ارتاپنم ۱۰ میکروگرمی در مرکز پلیت قرار داده شد. از سوسپانسیون‌های ایزوله‌های *سودوموناس آئروژینوزا* که به آنتی‌بیوتیک کارباپنم مقاوم یا نیمه حساس بودند برای بررسی تولید آنزیم کارباپنماز استفاده شد و بدین منظور از لبه دیسک قرار داده شده در مرکز پلیت به سمت لبه پلیت کشت خطی داده شد (سواب با دیسک برخورد نکند) پس‌ازآن پلیت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸ الی ۲۴ ساعت نگه‌داری شد. هاله‌ی عدم رشد به شکل برگ شبدری به‌عنوان سویه مولد آنزیم کارباپنماز معین شد(۱۲).

در این مطالعه از *کلبسیلا پنومونیه* استاندارد با شماره ۱۷۰۵ -ATCC BAA به عنوان کنترل مثبت و *کلبسیلا پنومونیه* استاندارد با شماره ۱۷۰۶ - ATCC BAA به عنوان کنترل منفی استفاده شد. در این مطالعه از *سودوموناس آئروژینوزا* ATCC۲۷۸۵۳ به‌عنوان کنترل منفی و از *سودوموناس آئروژینوزا* دارای ژن *IMP* که مورد تایید و سکانس شده بود به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

تست CarbaNP

تست CarbaNP برای بررسی وجود آنزیم کارباپنماز مطابق با دستورالعمل CLSI ۲۰۱۸ انجام شد ابتدا یک لوپ پر (۱ میکرو لیتر) از باکتری موردنظر که به مدت یک شبانه‌روز بر روی محیط بلاد آگار انکوبه شده بود برداشته و داخل یک میکرو تیوب که محتوی Tris-Hcl به‌عنوان محلول لیز کننده باکتری بود حل شد. سپس میکروتیوب به مدت ۵ ثانیه ورتکس شد، در مرحله بعد به مدت ۵ دقیقه محلول باکتریایی را با دور g ۱۰۰۰۰ سانتریفیوز و سپس ۳۰ میکرولیتر از محلول رویی را که حاوی آنزیم‌های باکتریایی بود، برداشته و به دو میکروتیوب جدید منتقل شد. در یک میکروتیوب ۱۰۰ میکرولیتر از محلول ۳ میلی‌گرم در میلی‌لیتر ایمیپنم مونو هیدرات، محلول فنل رد و هم‌چنین ZnSO4 و در میکروتیوب دوم که به‌عنوان کنترل بود، ۱۰۰ میکرولیتر از محلول فوق که فاقد ایمی‌پنم (شرکت سیگما آلدریچ، آمریکا) بود اضافه شد. در صورت مثبت شدن تست CarbaNP، میکروتیوب کنترل به رنگ قرمز و میکروتیوب دیگر به رنگ نارنجی/ زرد مشاهده می‌شود(۱۳).

شناسایی ژن‌های کارباپنماز به روش PCR

الف) استخراج DNA

در این مطالعه استخراج DNA به روش BOILING انجام شد(۱۴). پس‌ازاین مرحله لوله‌ها از بن ماری خارج و پس از چند دقیقه خنک شدن به میکروتیوب

www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 11:42 +0430 on Monday May 20th 2019

Tris 20 Mm اضافه و سپس به مدت ۵ دقیقه در سانتریفیوژ با دور ۱۰۰۰ rpm قرار داده شد و در نهایت قسمت رویی که حاوی DNA است جدا شد و در یک میکروتیوب جداگانه قرارداده شد. این مایع تا زمان آزمایش PCR در ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. روش PCR برای ژن‌های bla_{KPC},bla_{IMP}, bla_{VIM}, bla_{SPM},bla_{SIM},bla_{GIM} blaAmpC, bla_{OXA48}, $blaO_{XA10}$ در سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* ایزوله شده توسط پرایمرهای اختصاصی انجام گرفت (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱: مشخصات و توالی پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه

ژن	پرایمر	توالی	طول باند	رفرنس
KPC to *KPC*-۱	KPC-F KPC-R	GAT GGT GTT TGG TCG CAT A CGA ATG CGC AGC ACC AG	۵۳۸	(۱۵)
IMP	Imp-F Imp-R	GGA ATA GAG TGG CTT AAY TCT C CCA AAC YAC TAS GTT ATC T	۱۸۸	(۱۶)
VIM	Vim-F Vim-R	GAT GGT GTT TGG TCG CAT A CGA ATG CGC AGC ACC AG	۳۹۰	(۱۶)
AMPC	AMPC-F AMPC-R	ATA ACC ACC CAG TCA CGC CAG TAG CGA GAC TGC GCA	۶۳۰	(۱۷)
OXA48	OXA48-F OXA48-R	GCTTGATCGCCCTCGATT GATTTGCTCCGTGGCCGAAA	۲۸۱	(۱۵)

یافته ها

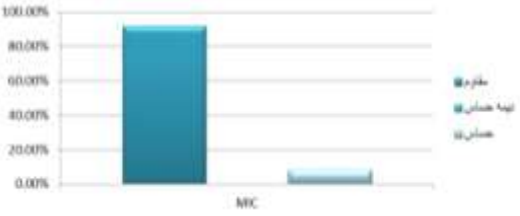
بر اساس تست‌های تشخیص آزمایشگاهی ۹۷ ایزوله *سودوموناس آئروژینوزا* از بیمارستان‌های شهر همدان جداسازی شدند. برای تمامی ۹۷ ایزوله *سودوموناس آئروژینوزا* تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی براساس دستورالعمل CLSI ۲۰۱۸ انجام شد. میزان مقاومت *سودوموناس آئروژینوزا* جداشده از بیماران بستری در بیمارستان نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های بررسی‌شده در جدول شماره ۲ ذکرشده است. باتوجه به نتایج بالا بیش‌ترین مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک سفوکسیتین و بیش‌ترین حساسیت نسبت به آنتی‌بیوتیک سفتازیدیم مشاهده شد.

با توجه به نتایج بیش‌ترین میزان مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک سفتریاکسون ۶۵ (۶۷ درصد) و کم‌ترین میزان مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک پیپراسیلین-تازوباکتام ۳۸ (۳۹/۲ درصد) بود. هم‌چنین بیش‌ترین میزان حساسیت نسبت به آنتی‌بیوتیک مروپنم ۵۲ (۵۳/۶ درصد) و کم‌ترین میزان حساسیت نسبت به آنتی‌بیوتیک سفتریاکسون ۱۳(۱۳/۴ درصد) بود (جدول شماره ۲).

از میان ۴۹ ایزوله *سودوموناس آئروژینوزا* مقاوم به آنتی‌بیوتیک ایمیپنم، ۴۵ (۹۱/۸ درصد) ایزوله MIC مقاوم و ۴ (۸/۱۶ درصد) ایزوله MIC حساس نسبت به ایمیپنم داشتند و هیچ ایزوله دارای MIC حد واسط وجود نداشت (نمودار شماره ۱، تصویر شماره ۱).

جدول شماره ۲: نتایج تست آنتی بیوگرام ایزوله‌های *سودوموناس آئروژینوزا*

آنتی‌بیوتیک	حساس تعداد (درصد)	حدواسط تعداد (درصد)	مقاوم تعداد (درصد)
پیپراسیلین	(۴۳/۳)۴۲	(۱۳/۴)۱۳	(۴۳/۳)۴۲
پیپراسیلین-تازوباکتام	(۴۹/۴۸)۴۸	(۱۱/۳)۱۱	(۳۹/۲)۳۸
سفتازیدیم	(۵۲/۶)۵۱	(۶/۲)۶	(۴۱/۲)۴۰
ایمیپنم	(۴۹/۴۸)۴۸	(۱/۰۳)۱	(۴۹/۴) ۴۸
آزترونام	(۲۸/۹)۲۸	(۱۹/۵)۱۹	(۵۱/۵)۵۰
آمیکاسین	(۴۸/۵) ۴۷	(۱۰/۳)۱۰	(۴۱/۲) ۴۰
سیپروفلوکساسین	(۴۳/۳)۴۲	(۲/۱)۲	(۵۴/۶)۵۳
مروپنم	(۵۳/۶)۵۲	(۵/۲)۵	(۴۱/۲)۴۰
دوری پنم	(۵۱/۵)۵۰	(۲/۱)۲	(۴۶/۴)۴۵
تتراسایکلین	(۴۰/۲)۳۹	(۵/۲)۵	(۵۴/۶)۵۳
سفتریاکسون	(۱۳/۴)۱۳	(۱۹/۵)۱۹	(۶۷)۶۵



نمودار شماره ۱: نتایج MIC نمونه‌های مقاوم به ایمیپنم

تصویر شماره ۱: MIC سویه *سودوموناس آئروژینوزا*

دیسک ترکیبی ایمیپنم /EDTA (CDT)

آزمون CDT برای ۴۹ ایزوله مقاوم به آنتی‌بیوتیک

www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 11:42 +0430 on Monday May 20th 2019

کاربـاپنم بـرای شناسـایی آنزیم‌هـای متالوبتالاکتامـاز (MBL) انجام شـد. در ایـن روش افـزایش ۷ میلی‌متـری قطر هاله عدم رشد در اطراف دیسک ایمیپـنم بـه همـراه EDTA نسبت به دیسک ایمیپنم تنها نشان‌دهنده حضـور آنـزیم متالوبتالاکتامـاز بـود. لـذا در ایـن بررسـی از ۴۹ ایزولـه *سـودوموناس آئروژینـوزا* مقـاوم بـه کاربـاپنم، (۵۳/۰۶ درصد) ۲۶ ایزوله دارای افزایش قطر هالـه عـدم رشد حداقل ۷ میلی‌متر و مولـد آنـزیم متالوبتالاکتامـاز و (۴۶/۹۳ درصد) ۲۳ ایزوله‌ها توسط ایـن آزمـودن دارای نتایج منفی بودند(۱۳)(تصویر شماره ۲).

آزمون Modified Hodge Test (MHT)

آزمـــون (MHT) بـــرای ۴۹ ایزولـــه مقـــاوم بـــه آنتی‌بیوتیک کاربـاپنم بـرای بررسـی وجـود کاربـاپنماز طبـق CLSI 2013 انجـام شـد. از ۴۹ ایزولـه مقـاوم بـه کاربـاپنم *سـودوموناس آئروژینـوزای* جمع‌آوری شـده (۵۱/۰۲ درصـد) ۲۵ ایزولـه دارای تسـت مثبـت بـوده و شـکل بـرگ شـبدری در آن‌هـا مشـاهده شـد و (۴۸/۹۷ درصد)۲۴ ایزوله دارای تست منفی بودند و هالـه بـرگ شبدری در آن‌ها مشاهده نشد (تصویر شماره ۳).

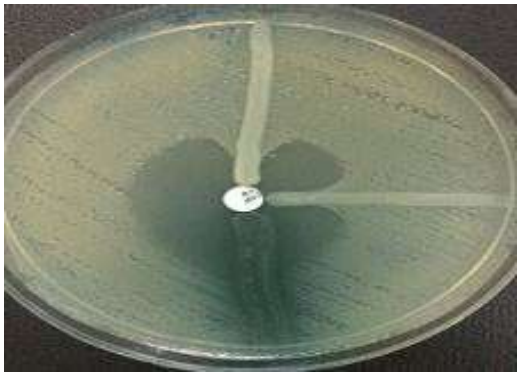
آزمون Carba NP

بـر اسـاس نتـایج، از میـان ۴۹ ایزولـه مقـاوم بـه آنتی‌بیوتیک‌های کاربـاپنم، (۹۷/۹۵ درصـد) ۴۸ ایزولـه تسـت Carba NP مثبـت و (۱۰۰ درصـد) ۴۹ ایزولـه دارای تست Carba NP منفی بودند (تصویر شماره ۴).

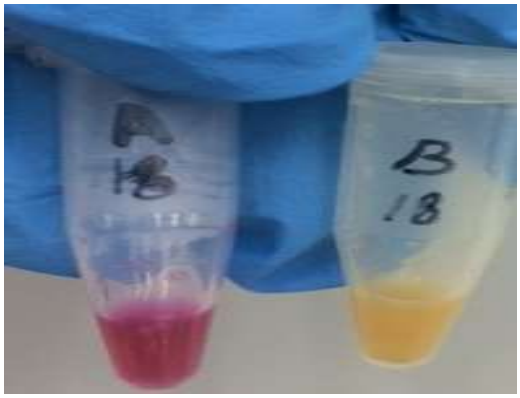
تعیـین ژنـوتیپی سـویه‌های مولـد آنزیم‌هـای کاربـاپنماز توسط PCR

از بین ۹۷ ایزوله *سودوموناس آئروژینوزا* جداشده از بیماران، ۴۹ (۵۰/۵۱ درصد) ایزوله نسبت به آنتی‌بیوتیک کاربـاپنم مقاوم بودند که از این میان، ۲۰ (۴۰/۸ درصـد) ایزولـــه دارای ژن *IMP*، ۱۹(۳۸/۷۷) ایزولـــه دارای ژن *VIM*، ۲۵ (۵۱/۰۲ درصـــد) ایزولـــه دارای ژن *AMPC*، ۳۵ (۷۱/۴ درصد) ایزولـه دارای ژن *OXA48* و ۱۱ (۲۲/۴۴ درصد) ایزوله دارای ژن *KPC* بودند (نمودار شـماره ۲، تصویر شماره ۵).

تصویر شماره ۲: اثر سینرژیسم بین EDTA و ایمیپنم



تصویر شماره ۳: سویه‌های MHT مثبت *سودوموناس آئروژینوا*

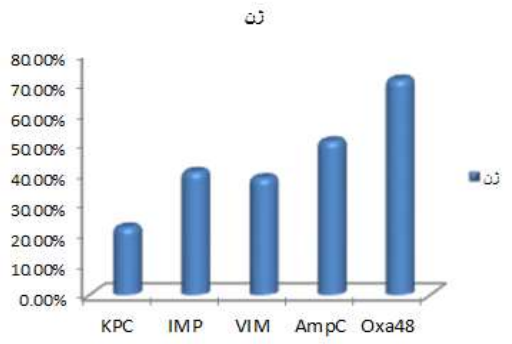


A B

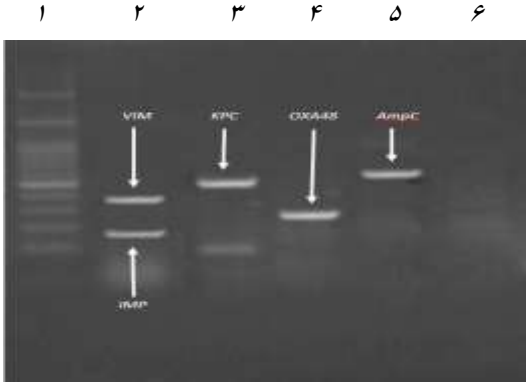
تصویرشماره ۴: نتایج تست CarbaNP A سویه carbaNP مثبت B سویه carbaNP منفی

www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 11:42 +0430 on Monday May 20th 2019



نمودار شماره ۲: فراوانی ژن‌های *IMP,VIM ,AMPC,OXA48* و *KPC*



تصویر شماره ۵: الکتروفورز محصول PCR ژن‌های *IMP,VIM,KPC,AMPC* و OXA48

جاهک شماره ۱ : مارکر bp ۱۰۰ (فرمنتاس)،

جاهک شماره ۲: IMP (۱۸۸ bp)، VIM (۳۹۰ bp) ،

جاهک شماره ۳ : KPC(۵۳۸ bp) ،

جاهک شماره ۴: OXA48(۲۸۱ bp) ،

جاهک شماره ۵:AmpC(۶۳۰ bp) ،

جاهک شماره ۶: کنترل منفی

نتایج مقایسه روش‌های فنوتیپی و ژنوتیپی مطابق با جداول ۳ و ۴ و ۵ گزارش شد.

نتایج آنالیز SPSS برای تعیین همبستگی و ارتباط بین روش فنوتیپی carbaNP با نتایج PCR (جدول شماره ۵).

بر اساس نتایج به دست آمده، p برای تمامی ژن‌ها کمتر از ۰/۰۵ می‌باشد که بیانگر این می‌باشد که بین نتایج مثبت carbaNP و نتایج مثبت PCR برای ژن‌های *IMP,VIM,SPM,SIM,GIM* و *KPC,AmpC,OXA48* ارتباط معناداری وجود دارد (جدول شماره ۵).

حساسیت، اختصاصیت، PPV و NPV برای تست carbaNP

بر اساس نتایج میزان حساسیت، اختصاصیت، PPV و NPV تست carbaNP به ترتیب ۹۸ درصد، ۱۰۰ درصد ،۱۰۰ درصد و ۹۷ درصد بود.

جدول شماره ۳: نتایج carba NP ,CDT,MHT,MIC و مقاومت آنتی‌بیوتیکی برای ایزوله‌های *سودوموناس آئروژینوزا*

کاربانپنماز	MIC range (mg/L) IMP	MHT	CDT	CarbaNP
KPC	> ۳۲	۵/۱۱	۶/۱۱	۱۱/۱۱
IMP	۳۲	۱۵/۲۰	۱۳/۲۰	۲۰/۲۰
VIM	> ۳۲	۱۴/۱۹	۱۰/۱۹	۱۹/۱۹
AMPC	۳۲> تا ۰	۱۴/۲۵	۱۶/۲۵	۲۵/۲۵
OXA48	> ۳۲	۱۸/۳۵	۲۰/۳۵	۳۴/۳۵
KPC+IMP+AMPC	۳۲> تا ۰	۲/۲	۲/۲	۲/۲
KPC+AMPC+OXA48	۱۶	۱/۳	۲/۳	۳/۳
IMP+VIM+OXA48	۸	۶/۶	۳/۶	۶/۶
IMP+AMPC+OXA48	> ۳۲	۴/۵	۳/۵	۵/۵
IMP+VIM+AMPC+OXA48	> ۳۲	۲/۲	۲/۲	۲/۲
AMPC+OXA48	۸	۱۲/۱۵	۱۰/۱۵	۱۴/۱۵
VIM+OXA48	> ۳۲	۱۵/۱۵	۱۱/۱۵	۱۵/۱۵
IMP+OXA48	۱۶	۱۴/۱۴	۱۱/۱۴	۱۴/۱۴
IMP+KPC+OXA48	> ۳۲	۱/۱	۱/۱	۱/۱
VIM+KPC+AMPC	> ۳۲	۳/۳	۳/۳	۳/۳
VIM+KPC+AMPC	۸	۱/۱	۱/۱	۱/۱
IMP+VIM+AMPC	۴-۸	۴/۴	۴/۴	۴/۴
KPC+OXA48+VIM	۸	۱/۱	۱/۱	۱/۱
IMP+AMPC	۸	۱۱/۱۱	۸/۱۱	۱۱/۱۱
VIM+KPC	۱۶	۴/۵	۳/۵	۵/۵
Not detecteed	۰/۲۵-۲ >	۴۵/۴۸	۴۱/۴۸	۴۸/۴۸

جدول شماره ۴: نتایج مقایسه ژنوتیپی و دیسک دیفیوژن

کاربانپنماز	IMI			DOR			MEM		
	حساس تعداد (درصد)	حد واسط تعداد (درصد)	مقاوم تعداد (درصد)	حساس تعداد (درصد)	حد واسط تعداد (درصد)	مقاوم تعداد (درصد)	حساس تعداد (درصد)	حد واسط تعداد (درصد)	مقاوم تعداد (درصد)
IMP (۲۰)	۰ (۰)	۱ (۵)	۱۹ (۹۵)	۰ (۰)	۰ (۰)	۲۰ (۱۰۰)	۱ (۵)	۱ (۵)	۱۸ (۹۰)
VIM (۱۹)	۰ (۰)	۱ (۵/۲)	۱۸ (۹۴/۷)	۱ (۵/۲)	۱ (۵/۲)	۱۷ (۸۹/۴)	۱ (۵/۲)	۲ (۱۰/۵۲)	۱۶ (۸۴/۲)
KPC (۱۱)	۱ (۹/۰۹)	۰ (۰)	۱۰ (۹۰/۹)	۱ (۹/۰۹)	۰ (۰)	۱ (۹/۰۹)	۱ (۹/۰۹)	۱ (۹/۰۹)	۹ (۸۱/۸)
AmpC (۲۵)	۰ (۰)	۰ (۰)	۲۵ (۱۰۰)	۱ (۵)	۰ (۰)	۲۴ (۹۶)	۱ (۴)	۳ (۱۲)	۲۱ (۸۴)
OXA48 (۳۵)	۰ (۰)	۱ (۲/۸)	۳۴ (۹۷/۱)	۲ (۵/۷)	۱ (۲/۸)	۳۲ (۹۱/۴)	۲ (۵/۷)	۴ (۱۱/۴)	۲۹ (۸۲/۸)

Archive
www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 11:42 +0430 on Monday May 20th 2019

جدول شماره ۵: نتایج آنالیز SPSS برای تعیین همبستگی و ارتباط بین روش فنوتیپی carbaNP با نتایج PCR برای ژن‌های *KPC,IMP,VIM,SPM,SIM,GIM,AmpC,OXA48:*

کارباپنماز	سطح معنی داری CarbaNP
IMP	۰/۰۰۱
VIM	۰/۰۰۱
SIM	۰/۰۳
SPM	۰/۰۰۰
GIM	۰/۰۰۰
AMPC	۰/۰۰۰
OXA-48	۰/۰۰۰
KPC	۰/۰۰۱

بحث

در مطالعه حاضر تمام سویه‌های تولیدکننده کارباپنماز carbaNP Test مثبت داشته به‌جز یک سویه که دارای آنزیم oxa48 بود اما تست CarbaNP آن منفی شد، این تست در تمام سویه‌هایی که توانایی تولید کارباپنماز را نداشتند، منفی گزارش شد. نتایج این مطالعه نشان دادکه حساسیت و اختصاصت CarbaNP Test در سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* جهت شناسایی آنزیم‌های کارباپنماز به ترتیب ۹۸ درصد و ۱۰۰ درصد بود.که نتایج مطالعه حاضر نیز همسو با مطالعات انجام‌شده، دارای حساسیت و اختصاصت بسیار بالایی جهت شناسایی ایزوله‌های *سودوموناس آئروژینوزای* مولد آنزیم‌های کارباپنماز بود.

با توجه به مطالعات صورت گرفته می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که بیش‌ترین مکانیسم مقاومت مورد انتظار در سودوموناس آئروژینوزا تولید آنزیم‌های کارباپنماز می‌باشد(۱۷). ژن تولیدکننده آنزیم‌های کارباپنماز به‌طور غالب بر روی عناصر ژنتیکی متحرک قرار دارد و درنتیجه انتقال آن‌ها در میان گونه‌های باکتریایی با سهولت و سرعت انجام و باعث ظهور و پیدایش گونه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها می‌شود. بدین منظور شناسایی سریع و به‌موقع سویه‌های مولد آنزیم‌های کارباپنماز برای درمان به‌موقع و کنترل چنین سویه‌های مقاومی ضروری می‌باشد. هرچند روش‌های مولکولی به‌عنوان Gold standard در سویه‌های مولد کارباپنماز باقی‌مانده‌اند اما به دلایلی هم‌چون هزینه بالا و ناتوانی این روش‌ها در شناسایی ژن‌های کارباپنماز جدید، روش‌های فنوتیپی متفاوت برای شناسایی این ایزوله‌ها گسترش‌یافته‌اند. روش‌های فنوتیپی ازجمله CarbaNP به تازگی توسط CLSI برای شناسایی چنین سویه‌هایی توصیه شده است. این تست دارای حساسیت و اختصاصیت ۱۰۰ درصد جهت شناسایی سویه‌های تولیدکننده آنزیم کارباپنماز می‌باشد و در مدت ۲ ساعت پس از کشت باکتری نتیجه را نشان می‌دهد. سرعت بالای این تست در مقایسه با سایر تست‌های تشخیصی کارباپنمازها، ۱۰۰ درصد بودن حساسیت و اختصاصیت آن، نیاز نداشتن به تکنسین و کارشناس کارآزموده و ماهر و نیاز نداشتن به دستگاه و وسیله خاص و گران، این تست را به‌عنوان یک گزینه مناسب جهت شناسایی سویه‌های باکتریایی تولیدکننده کارباپنماز در آزمایشگاه‌های بالینی و تحقیقاتی معرفی می‌نماید. در مطالعات مربوط به ارزیابی روش CarbaNP برای شناسایی حضور آنزیم‌های کارباپنماز در خانواده انتروباکتریاسه، اختصاصیت تست CarbaNP، ۱۰۰ درصد گزارش‌شده است درحالی که حساسیت این تست بین ۸۷-۱۰۰ درصد گزارش‌شده است. با این حال مطالعاتی وجود دارد که حساسیت کمتر از ۸۰ درصد را گزارش کرده‌اند. نتایج منفی کاذب در مورد شناسایی ژن *OXA48* توسط روش CarbaNP وجود دارد. مطابق با دستورالعمل CLSI روش CarbaNP دارای حساسیت بالای ۹۰ درصد برای شناسایی *KPC,VIM,IMP,SPM,SIM* می‌باشد(۳).

این تست برای اولین بار در سال ۲۰۱۲ در کشور فرانسه توسط پروفسور Nordmann و همکارانش انجام شد. در مطالعه Nordmann و همکاران حساسیت و اختصاصیت این تست جهت شناسایی انتروباکتریاسه‌های تولیدکننده آنزیم کارباپنماز ۱۰۰ درصد گزارش شد(۱۸). در مطالعه دیگری که توسط Nordmann و همکاران بر روی *سودوموناس آئروژینوزا* و انتروباکتریاسه های تولیدکننده کارباپنماز صورت گرفت مجدداً حساسیت و اختصاصیت Carba NP Test

www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 11:42 +0430 on Monday May 20th 2019

جهت شناسایی سویه‌های باکتریایی مولد کارباپنماز ۱۰۰ درصد گزارش شد(۱۸).

در مطالعه دیگری که توسط Michael Hombach و همکاران در سال ۲۰۱۵ بر روی ایزوله‌های *سودوموناس آئروژینوزا* برای شناسایی آنزیم‌های کارباپنماز توسط روش CarbaNP انجام شد، میزان حساسیت این تست ۹۰/۲ درصد و اختصاصیت این تست ۱۰۰ درصد بود(۱۸).

در مطالعه‌ای که توسط Banu Bayraktar و همکاران در سال ۲۰۱۸ در ترکیه بر روی خانواده انترو باکتریاسه برای مقایسه روش‌های فنوتیپی مختلف از جمله Carba NP-Direct, Carbapenem Inactivation blue-CARBA Tests برای شناسایی سویه‌های تولیدکننده آنزیم کارباپنماز انجام دادند به این نتیجه رسیدند که CarbaNP-direct, CIM, and b-CARBA روش‌های مفیدی برای شناسایی فعالیت تولید کارباپنماز در ایزوله‌های انتروباکتریاسه می‌باشد(۱۸).

در این مطالعه حساسیت و اختصاصیت روش carbaNP به ترتیب ۹۹ درصد و ۱۰۰ درصد گزارش شد. هم‌چنین گزارش کردند که CarbaNP روش آسان، سریع و کم‌هزینه برای شناسایی این آنزیم‌ها می‌باشد. در مطالعه دیگری که توسط Nathalie Tijeta و همکاران در سال ۲۰۱۳ در کانادا انجام شد و از روش carbaNP برای شناسایی سریع تولید کارباپنماز بر روی *سودوموناس آئروژینوزا* و انتروباکتریاسه استفاده کردند به این نتیجه دست یافتند که این روش‌های فنوتیپی مثل modified Hodge test یا combined disk tests. معمولاً نسبت به روش CarbaNP به زمان بیش‌تری نیاز دارند و دقت کم‌تری دارند. هم‌چنین در این مطالعه اختصاصت این تست را ۰۰ درصد و حساسیت آن را ۹۷ درصد گزارش کردند. در مطالعه‌ای که توسط Poirela و همکاران در سوئیس در سال ۲۰۱۵ برای شناسایی سریع سویه‌های تولیدکننده کارباپنماز توسط روش CarbaNP انجام شد نشان دادند که این روش به‌صورت روتین در آزمایشگاه‌های تشخیصی در سراسر دنیا به‌عنوان یک روش شناسایی سریع می‌تواند انجام شود. در مطالعه دیگری که توسط Shawn Vasooa و همکارانش در آمریکا در سال ۲۰۱۳ از روش CarbaNP و MHT برای شناسایی باکتری‌های گرم منفی تولیدکننده آنزیم کارباپنماز انجام دادند به این نتیجه رسیدند که حساسیت و اختصاصت روش ۱۰۰ درصد CarbaNP و حساسیت روش MHT، ۹۸ درصد و اختصاصت این روش، ۸۰ درصد هست(۱۹). در مطالعه‌ای که توسط Rainer harti و همکارانش در سال ۲۰۱۶ بر روی انتروباکتریاسه و *سودوموناس آئروژینوزا* به‌منظور بررسی اثر سیلاستاتین درترکیب با ایمیپنم برای انجام CarbaNP تست به منظور شناسایی ایزوله‌های تولیدکننده آنزیم کارباپنماز انجام شد نشان داد که سیلاستاتین اثر مهاری بر این تست نداشته و کارایی و عملکرد این تست را تغییر نمی‌دهد.

در مطالعه‌ای که توسط Bakour و همکاران در سال ۲۰۱۵ در فرانسه انجام شد، از روش carbaNP تست برای شناسایی سریع باکتری‌های انتروباکتریاسه، *سودوموناس آئروژینوزا* و *اسینتو باکتر بومانی* تولیدکننده آنزیم کارباپنماز استفاده کردند(۲۰).

در مطالعه‌ای که توسط Literacka و همکارانش در سال ۲۰۱۷ در لهستان برای شناسایی تولید آنزیم کارباپنماز در باکتری‌های انتروباکتریاسه، *سودوموناس آئروژینوزا* و *اسینتو باکتر بومانی* انجام دادند به این نتیجه رسیدند که حساسیت و اختصاصیت برای انتروباکتریاسه CarbaNP به ترتیب ۹۵/۸ درصد و ۹۳/۳ درصد و برای *سودوموناس آئروژینوزا* به ترتیب ۹۷/۵ درصد و ۹۹ درصد می‌باشد(۱۸).

در مطالعه‌ای که در ایران توسط عظیمی و همکاران در تبریز انجام شد از روش‌های فنوتیپی CarbaNP،MHT جهت شناسایی ایزوله‌های *کلبسیلا پنومونیه* مولد آنزیم *OXA-48* استفاده کردند که اولین گزارش از حضور آنزیم *OXA-48* در ایران بود،که این مطالعه تنها مطالعه‌ای بود که در ایران از روش CarbaNP استفاده کرده بود. با توجه به نتایج بالا

www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 11:42 +0430 on Monday May 20th 2019

بیش‌ترین مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک سفوکسیتین و بیش‌ترین حساسیت نسبت به آنتی‌بیوتیک سفتازیدیم بود هم‌چنین میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های ایمیپنم، مروپنم، دوری پنم به‌ترتیب ۴۶ (۴۷/۴ درصد)، ۴۰ (۴۱/۲ درصد)، ۴۵(۴۶/۴ درصد) بود که نشان‌دهنده مقاومت بالا نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های کاربا‌پنم بود.از مجموع ۹۷ ایزوله بالینی *سودوموناس آئروژینوزا*، ۴۹ (۵۰/۵۱ درصد) ایزوله مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های کاربا‌پنم و ۴۸ (۴۹/۴۸ درصد) ایزوله حساس به آنتی‌بیوتیک‌های کاربا‌پنم برای ارزیابی تست CarbaNP مورداستفاده قرار گرفتند، که از این تعداد ۴۸(۹۷/۹۵ درصد) ایزوله نتایج CarbaNP مثبت، و ۴۸ (۱۰۰ درصد) ایزوله نتایج CarbaNP منفی داشتند،که کاهش حساسیت این تست در مورد آنزیم‌های *OXA48* و *AMPC* در یک سویه‌ای که هم‌زمان ژن *OXA48+AMPC* را دارا می‌باشند را نشان می‌دهد.

با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه، به دلیل حساسیت و اختصاصیت بسیار بالای روش CarbaNP و سهولت انجام و سریع بودن این روش می‌توان آن را به‌عنوان روش بسیار مناسبی برای تشخیص ایزوله‌های تولیدکننده آنزیم کاربا‌پنماز در کم‌ترین زمان معرفی و در آزمایشگاه‌های بالینی و تشخیص طبی مورد استفاده قرار داد.

سپاسگزاری

مقاله حاضر حاصل طرح تحقیقاتی مصوب در معاونت پژوهشی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان با کد اخلاق IR.UMSHA.REC.1397.273 و شماره طرح ۹۷۰۴۲۶۲۳۹۹ می‌باشد، نویسندگان مراتب تشکر خود را از آن معاونت محترم ابراز می‌دارند.

References

1. Winkler ML, Papp-Wallace KM, Hujer AM, Domitrovic TN, Hujer KM, Hurless KN, et al. Unexpected challenges in treating multidrug-resistant Gram-negative bacteria: resistance to ceftazidime-avibactam in archived isolates of Pseudomonas aeruginosa. Antimicrob Agents Chemother 2015; 59(2): 1020-1029.
2. Blair JM, Webber MA, Baylay AJ, Ogbolu DO, Piddock LJ. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. Nat Rev Microbiol 2015; 13(1): 42-51.
3. Bir R, Mohapatra S, Kumar A, Tyagi S, Sood S, Das BK, et al. Comparative evaluation of in ouse Carba NP test with other phenotypic tests for rapid detection of carbapenem resistant Enterobacteriaceae. J Clin lab Anal 2018: e22652.
4. Öztürk H, Ozkirimli E, Özgür A. Classification of Beta-lactamases and penicillin binding proteins using ligand-centric network models. PloS One 2015; 10(2): e0117874.
5. Shaikh S, Fatima J, Shakil S, Rizvi SMD, Kamal MA. Antibiotic resistance and extended spectrum beta-lactamases: Types, epidemiology and treatment. Saudi J Biol Sci. 2015; 22(1): 90-101.
6. Pathak P, Jaishi N, Yadav BK, Shah PK. Prevalence of Extended Spectrum Beta Lactamases (ESBL) and Metallo Beta Lactamases (MBL) Mediated Resistance inGram Negative Bacterial Pathogens. Microbiologytribhuv 2017; 4(1): 49.
7. EL-Ganiny AM, EL-Mahdy AM, EL-Latif HKA, Ibrahem RH, Abdelsabour HI. Phenotypic and genotypic detection of-lactams resistance in Klebsiella species from Egyptian hospitals revealed carbapenem resistance by OXA and NDM genes. Afr J Microb Res 2016; 10(10): 339-347.
8. Galvani AA, Tukmechi A. Determination of the prevalence of metallo-β-lactamases producing Pseudomonas aeruginosa strains

www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 11:42 +0430 on Monday May 20th 2019

from clinical samples by imipenem-EDTA combination disk method in Mottahari and Emam Khomaini hospitals of Urmia. Rep Health Care J 2015; 1(2): 65-68 (Persian).

9. Walthall K, Anderson K, Reese N, Lonsway D, Kamile Rasheed J, Karlsson M. Evaluation of the RAPIDEC CARBA NP, Conventional CarbaNP, and the Modified Carbapenem Inactivation Method (mCIM) Tests for Phenotypic Detection of Carbapenemase-Producing Organisms. Am J Clin Pathol 2018; 150 (suppl_1): S123-S124.
10. Gaby WL, Hadley C. Practical laboratory test for the identification of Pseudomonas aeruginosa. J Bacteriol 1957; 74(3): 356-358.
11. Agarwal A, Mohan S, Maheshwari U, Jain S, Akulwar SL. Prevalence of New Delhi metallo-β-lactamase-1 in Pseudomonas aeruginosa and its antimicrobial resistance profile in hospitalized patients in a tertiary care hospital setup. Int J Health Allied Sci 2018; 7(4): 250-255.
12. Lee K, Lim YS, Yong D, Yum JH, Chong Y. Evaluation of the Hodge test and the imipenem-EDTA double-disk synergy test for differentiating metallo-beta-lactamase-producing isolates of Pseudomonas spp. and Acinetobacter spp. J Clin Microbiol 2003; 41(10): 4623-4629.
13. Shinde S, Gupta R, Raut SS, Nataraj G, Mehta PR. Carba NP as a simpler, rapid, cost-effective, and a more sensitive alternative to other phenotypic tests for detection of carbapenem resistance in routine diagnostic laboratories. J Lab Physicians 2017; 9(2): 100-103.
14. Honda K, Muramatsu H, Yano S, Ishizawa F, Iwabuchi Y, Sugano Y. Purification and concentration of DNA using l-fucose-specific lectin. Forensic Science International: Genetics Supplement Series 2017; 6: e177-e179.
15. Dallenne C, Da Costa A, Decre D, Favier C, Arlet G. Development of a set of multiplex PCR assays for the detection of genes encoding important beta-lactamases in Enterobacteriaceae. J Antimicrob Chemother 2010; 65(3): 490- 495.
16. Wang TH, Leu YS, Wang NY, Liu CP, Yan TR. Prevalence of different carbapenemase genes among carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii blood isolates in Taiwan. Antimicrob Resist Infect Control 2018; 7(1): 123.
17. Schill F, Abdulmawjood A, Klein G, Reich F. Prevalence and characterization of extended-spectrum β-lactamase (ESBL) and AmpC β-lactamase producing Enterobacteriaceae in fresh pork meat at processing level in Germany. Int J Food Microbiol 2017; 257: 58-66.
18. Nordmann P, Poirel L, Dortet L. Rapid detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Emerg Infect Dis 2012; 18(9): 1503-1507.
19. Vasoo S, Cunningham SA, Kohner PC, Simner PJ, Mandrekar JN, Lolans K, et al. Comparison of a novel, rapid chromogenic biochemical assay, the Carba NP test with the modified Hodge test for detection of carbapenemase producing gram-negative bacilli. J Clin Microb 2013; 51(9): 3097-3101.
20. Bakour S, Garcia V, Loucif L, Brunel J-M, Gharout-Sait A, Touati A, et al. Rapid identification of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae, Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii using a modified Carba NP test. New Microbes New Infect 2015; 7: 89-93.

Archive of SID

www.SID.ir