

## ارزیابی مقاومت کارباپنمازی در سودوموناس آئروژینوزا و باکتری های خانواده انتروباکتریاسه جدا شده از نمونه های بالینی با استفاده از روش های فنوتیپی

نویسندگان:

تهمینه ابراهیم زاده شیراز\*<sup>۱</sup>، هادی رضائی یزدی<sup>۲</sup>، مهدی علیجانیان زاده<sup>۳</sup>

۱- گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاداسلامی، ورامین، ایران

۲- گروه میکروب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی جهرم، جهرم، ایران

۳- گروه بیوفیزیک، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

Pars Journal of Medical Sciences, Vol. 14, No.4, Winter 2017

### چکیده:

**مقدمه:** کارباپنمها در خط دوم درمان عفونت های چند مقاومتی سودوموناس آئروژینوزا قرار گرفته اند و آخرین سد عفونت های وخیم با پاتوژن های خانواده انتروباکتریاسه می باشند اما مقاومت کارباپنمازی در حال افزایش است. بنابراین مقاومت روزافزون نسبت به کارباپنمها مشکلاتی را به وجود آورده است لذا بررسی های جدید در رابطه با مقاومت کارباپنمازی مشهود است.

**روش کار:** در این مطالعه ۱۹۶ نمونه بالینی شامل باکتری های خانواده انتروباکتریاسه و سودوموناس آئروژینوزا از مراجعه کنندگان به بیمارستان های شهر تهران جمع آوری شد و با روش های تشخیصی فنوتیپی و بیوشیمیایی مورد تایید قرار گرفتند و حساسیت آنتی بیوتیکی تمامی باکتری ها به روش دیسک دیفیوژن مطابق با استاندارد CLSI بررسی و گزارش گردید.

**یافته ها:** از مجموع ۱۹۶ باکتری جمع آوری شده، میزان مقاومت به مروپنم ۳۹/۷۹٪ و ایمپنم ۴۵/۹۱٪ بود و ۳۰/۱۰٪ نیز به مروپنم و ایمپنم مقاومت نشان دادند. میزان مقاومت به تفکیک باکتری ها بدین صورت بود، سودوموناس آئروژینوزا میزان مقاومت به مروپنم ۳۹/۶۲٪ و ایمپنم ۴۲/۳۹٪، در خانواده انتروباکتریاسه میزان مقاومت به مروپنم و ایمپنم به تفکیک بدین صورت بود، سالمونلا میزان مقاومت به مروپنم ۰٪ و ایمپنم ۵۰٪، سیتروباکتر کوسری میزان مقاومت به مروپنم ۰٪ و ایمپنم ۵۰٪، سیتروباکتر فروندی میزان مقاومت به مروپنم ۲۸/۵۷٪ و ایمپنم ۲۸/۵۷٪، اشیشیاکلی میزان مقاومت به مروپنم ۳۹/۷۰٪ و ایمپنم ۴۷/۰۵٪، کلیسیلاوکسی توکا میزان مقاومت به مروپنم ۴۶/۶٪ و ایمپنم ۴۰٪ و کلیسیلاپنومونیه میزان مقاومت به مروپنم ۳۴/۱۴٪ و ایمپنم ۵۳/۶۵٪ بود.

**نتیجه گیری:** مقاومت به کارباپنمها در درمان سودوموناس آئروژینوزا و خانواده انتروباکتریاسه در کشور ما در حال گسترش است از این رو بایستی در مصرف این آنتی بیوتیک ها به طرز صحیح و معقول عمل شود.

**واژگان کلیدی:** کارباپنم، سودوموناس آئروژینوزا، انتروباکتریاسه، فنوتیپی

Pars J Med Sci 2017;14 (4):8-15

### مقدمه:

مهم و با طیف اثر بسیار گسترده و پایدار نسبت به بتالاکتامازها هستند که در درمان مقاومت های دارویی به ویژه در گرم منفی ها کاربرد دارند که تا حدودی از دسترس مقاومت باکتریایی در امان مانده اند اما به تازگی مقاومت اکتسابی روزافزون نسبت به کارباپنمها مشکلاتی را به وجود آورده است [۱]. به طوری که مقاومت آنتی بیوتیکی در پاتوژن های باکتریایی یک تهدید جدی

کارباپنمها موفق ترین آنتی بیوتیک های بتالاکتامی هستند که در ساختمان شیمیایی آن ها حلقه بتالاکتام وجود دارد. این آنتی-بیوتیک ها باکتریوسید هستند و از طریق مهار سنتز پپتیدوگلیکان دیواره سلولی باکتری عمل می کنند و محل عملکرد آن ها مرحله آخر سنتز دیواره سلولی یعنی کراس لینکینگ بین زنجیره های پپتیدوگلیکان است. کارباپنمها مانند ایمپنم و مروپنم داروهایی

\* نویسنده مسئول، نشانی: ورامین، دانشگاه آزاداسلامی، واحد ورامین-پیشوا، دانشکده علوم، گروه میکروبیولوژی

تلفن تماس: ۰۹۱۵۱۷۰۵۴۵۶ پست الکترونیک: t.ebrahimzadeh.shiraz@gmail.com

پذیرش: ۹۵/۱۲/۸

اصلاح: ۹۵/۱۰/۸

دریافت: ۱۳۹۵/۵/۱۲

خطری در درمان عفونت‌های ناشی از ارگانیسیم‌های این خانواده باشد [۱۲].

از روش‌های قابل انجام برای شناسایی کاربایناماز می‌توان به آزمون هوچ اشاره کرد. حساسیت و ویژگی و صرف زمان کم می‌تواند در بررسی‌های اولیه‌ی سنجش کاربایناماز موثر باشد ولی لازم است هنگام استفاده از این آزمون نسبت به درصد احتمال موارد منفی کاذب آن هوشیار بود [۱۳].

با توجه به اهمیت کارباینامها در درمان عفونت‌های ناشی از سودوموناس آئروژینوزا و خانواده انتروباکتریاسه، مطالعه حاضر با هدف بررسی‌های جدید در رابطه با لزوم آگاهی از شیوع مقاومت کارباینامها در باکتری سودوموناس آئروژینوزا و خانواده انتروباکتریاسه جدا شده از نمونه‌های بالینی انجام گردید.

### روش کار:

مطالعه حاضر که به صورت توصیفی-مقطعی به منظور بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی کارباینامازی در خانواده انتروباکتریاسه و سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از ایزوله‌های بالینی بیماران مراجعه کننده به بیمارستان شریعتی و امام خمینی در شهر تهران انجام شد. در این تحقیق جمع‌آوری نمونه‌ها از اوایل اسفند سال ۱۳۹۳ تا پایان خرداد ۱۳۹۴ به طول انجامید و از بین نمونه‌های بالینی مختلف شامل زخم (۲۰/۴٪)، ادرار (۶۳/۲٪)، خون (۱۶/۴٪)، ۱۹۶ نمونه مشکوک به باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه و سودوموناس آئروژینوزا جمع‌آوری و سپس نمونه‌ها بر اساس جنسیت و سن افرادی که نمونه‌ها از آن‌ها گرفته شده بود دسته‌بندی گردید و به آزمایشگاه میکروبی‌شناسی انتقال داده شد. جهت تعیین هویت، کلنی‌ها به صورت ماکروسکوپی و میکروسکوپی بررسی شدند، بدین منظور نمونه‌های جمع‌آوری شده را در محیط‌های کشت آگار خون‌دار و مک کانکی آگار کشت داده شد و مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. شناسایی اولیه باکتری‌ها براساس بررسی کلنی‌ها از نظر اندازه، شکل، رنگ، داشتن یا نداشتن همولیز، پیگمان و سپس تست‌های تشخیصی سیمون‌سیتترات، TSI، MRVP، انجام شد و نمونه‌ها با توجه به جدول واکنش‌های بیوشیمیایی خانواده انتروباکتریاسه و سودوموناس آئروژینوزا تعیین هویت گردیدند و به منظور تأیید نهایی به بررسی نمونه‌ها با رنگ‌آمیزی گرم در زیر میکروسکوپ پرداخته شد.

۱۹۶ نمونه شامل سودوموناس آئروژینوزا و خانواده انتروباکتریاسه که توسط تست‌های بیوشیمیایی تعیین هویت شده بودند توسط تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن و بررسی اندازه دقیق قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر و مقایسه با جدول استانداردهای CLSI نسبت به ۱۱ آنتی‌بیوتیک شامل

برای انسان‌ها محسوب می‌شود که بیماران را در سرتاسر بیمارستان‌های جهان تحت تاثیر خود قرار داده است [۲ و ۳]. همچنین تغییر فلور میکروبی به وسیله‌ی آنتی‌بیوتیک‌ها باعث تهاجم باکتری‌های فرصت‌طلب و قارچ‌ها می‌شود و گسترش و انتشار سریع باکتری‌های مقاوم به چند دارو (MDR) به عنوان یک مشکل مهم سلامت عمومی ظهور یافته است [۴]. مکانیسم بروز مقاومت کارباینام به دو روش یعنی ایجاد آنزیم هیدرولیز کننده (بتالاکتامازها) و کاهش یافتن میل اتصال آنتی‌بیوتیک به جایگاه فعال PBPS که در اثر جهش ایجاد می‌شود ولی مهم‌ترین مکانیسمی که در باکتری‌های گرم منفی علیه آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتامام به کار گرفته می‌شود تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز است که با هیدرولیز کردن هسته مرکزی آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتامام باعث غیرفعال شدن آن‌ها می‌گردد و ژن‌های دخیل در بروز این مقاومت می‌توانند روی کروموزوم هسته‌ای یا کروموزوم پلاسمید وجود داشته باشند [۵].

آنزیم‌های بتالاکتاماز در طبقه‌بندی امبلر (Ambler) به چهار گروه اصلی A-D تقسیم می‌شوند که گروه‌های A و B و D سه خانواده هیدرولیز کننده کارباینامها می‌باشند، گروه A که سرین کارباینامها هستند، گروه B بتالاکتامازهای وابسته به روی، گروه D که همان سرین کارباینامها هستند [۶].

در نیمه دوم قرن اخیر سودوموناس آئروژینوزا یک پاتوژن بیمارستانی مهم تلقی می‌شود. این باکتری سومین علت عفونت بیمارستانی و دومین علت عفونت زخم سوختگی است [۷]. سودوموناس آئروژینوزا یک باکتری بیماری‌زای فرصت‌طلب گرم منفی است به طوری که میزان مرگ و میر برای کسانی که دچار باکتری سودوموناس آئروژینوزا شده‌اند نزدیک به ۵۰٪ گزارش شده است یکی از مشخصات سودوموناس آئروژینوزا مقاومت بالا نسبت به انواع آنتی‌بیوتیک‌ها است [۸ و ۹]، به طوری که مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک ای‌می‌پنم که در خط دوم درمان عفونت‌های ناشی از سویه‌های چند مقاومتی سودوموناس آئروژینوزا قرار گرفته، به نظر می‌رسد در حال افزایش است [۱۰]. خانواده انتروباکتریاسه در طبیعت بسیار فراوان هستند و در حیوانات (به خصوص پستانداران)، روده انسان و بعضی فراورده‌های غذایی و سبزیجات آلوده نیز وجود دارند. اهمیت خانواده انتروباکتریاسه در کثرت مبتلایان به این باکتری‌ها می‌باشد و به طوری که ۵٪ تا ۱۰٪ بیماران بستری در بیمارستان، ۳۰٪ تا ۴۰٪ سپتسمی‌ها و بیش از ۷۰٪ عفونت‌های ادراری به باکتری‌های این خانواده مبتلا هستند [۱۱] و کارباینامها آخرین سد دفاعی و تیکه‌گاه درمان عفونت‌های وخیم با این پاتوژن‌ها می‌باشد بنابراین مقاومت خانواده انتروباکتریاسه با آنتی‌بیوتیک‌های کارباینام می‌تواند زنگ

**یافته‌ها:**

۱۹۶ باکتری از نمونه بالینی جداسازی شد. نمونه‌ها برحسب جنسیت افرادی که نمونه از آن‌ها گرفته شد به صورت ۱۲۲ نفر مرد (۶۲٪) و ۷۴ نفر زن (۳۸٪) تعیین شد که نشان دهنده درصد بالای مراجعه کنندگان مرد نسبت به زنان بوده است. بیشتر افراد مبتلا در گروه سنی ۸۰-۷۰ سال (۳۳٪/۱۷) و سپس در گروه سنی ۳۰-۴۰ سال (۱۴٪/۳۰) و کمترین آن‌ها در گروه سنی ۹۰-۱۰۰ سال (۱٪/۵) قرار داشتند (نمودار ۱).

از بین ۱۹۶ نمونه به صورت کلیسیلاپنومونیه ۲۰/۹٪، سالمونلا ۲٪، سودوموناس آئروژینوزا ۲۸٪، پروتئوس میرابیلیس ۱٪، سیتروباکتر فروندی ۳/۵٪، سیتروباکتر کوسری ۳٪، اشریشیاکلی ۶۹/۳۴٪ و کلیسیلاوکسی‌توکا ۷٪ که بیشترین درصد فراوانی در بین نمونه‌ها به باکتری اشریشیاکولای از خانواده انتروباکتریاسه اختصاص گرفت و بعد از آن سودوموناس آئروژینوزا در جایگاه دوم قرار گرفت (جدول ۱).

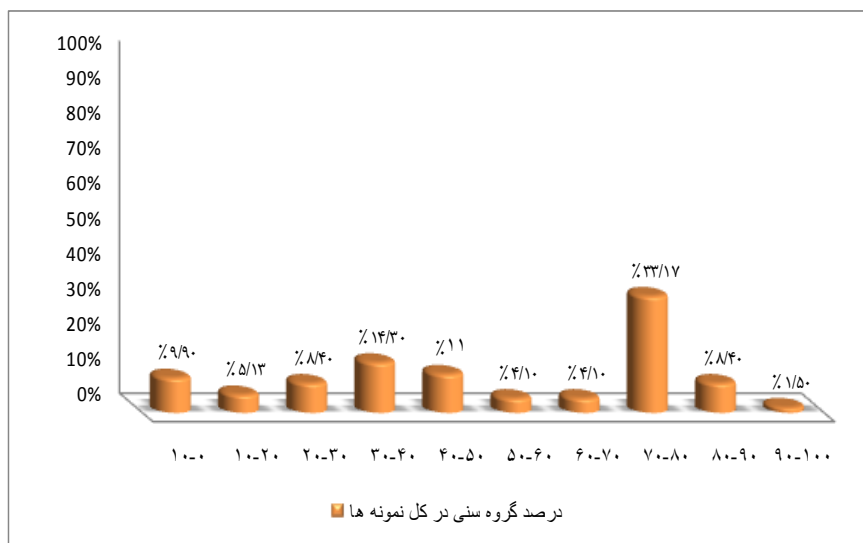
بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی، میزان مقاومت به مروپنم ۲۲/۳۶٪ و به ایمپنم ۹۱/۴۵٪ بود. همچنین از بین نمونه‌ها ۱۰/۳۰٪ هم به مروپنم و هم به ایمپنم مقاومت نشان داد (جدول ۲) - به طوری که در سودوموناس آئروژینوزا میزان مقاومت به مروپنم ۶۲/۳۹٪ و ایمپنم ۴۳/۳۹٪ بود و در خانواده انتروباکتریاسه میزان مقاومت به مروپنم و ایمپنم به تفکیک بدین صورت بود سالمونلا میزان مقاومت به مروپنم ۰٪ و ایمپنم ۵۰٪، سیتروباکتر کوسری میزان مقاومت به مروپنم ۰٪ و ایمپنم ۵۰٪، سیتروباکتر فروندی میزان مقاومت به مروپنم ۲۸/۵۷٪ و ایمپنم ۵۷/۲۸٪، اشریشیاکلی میزان مقاومت به مروپنم ۳۹/۷۰٪ و ایمپنم ۴۷/۰۵٪، کلیسیلاوکسی‌توکا میزان مقاومت به مروپنم ۶/۴۶٪ و ایمپنم ۴۰٪ و کلیسیلاپنومونیه میزان مقاومت به مروپنم ۱۴/۳۴٪ و ایمپنم ۵۳/۶۵٪ بود (جدول ۱). در تمامی نمونه‌ها و در بین سایر آنتی‌بیوتیک‌ها، آمیکاسین با ۹۴٪ و سپس جنتامایسین با ۹۲٪ و پیپراسیلین با ۹۱٪ میزان مقاومت بالایی را در بین نمونه‌های جمع‌آوری شده دارا بوده و آنتی‌بیوتیک لوفلوکسازین در جایگاه کم‌ترین میزان مقاومت (۶۸٪) قرار داشت (جدول ۳).

در آزمون هوچ رشد باکتری مورد سنجش (سودوموناس آئروژینوزا و خانواده انتروباکتریاسه) در برابر باکتری حساس (اشریشیاکلی) به دیسک آنتی‌بیوتیک (مروپنم و یا ارتاپنم) کشت داده شد و هاله عدم رشد برگ‌شبدری باکتری حساس (اشریشیاکلی) بررسی شد که نشانه مثبت بودن باکتری مورد سنجش از نظر تولید آنزیم کارباینماز بود (شکل ۱).

ایمی‌پنم (۱۰ میکروگرم)، سفنازیدیم (۳۰ میکروگرم)، مروپنم (۱۰ میکروگرم)، سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرم)، پیپراسیلین (۱۰۰ میکروگرم)، تیکارسلین (۷۵ میکروگرم)، آزترونام (۳۰ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، آمیکاسین (۳۰ میکروگرم)، افلوکسازین (۵ میکروگرم)، لوفلوکسازین (۵ میکروگرم) با استفاده از محیط مولر هیتون آگار بررسی شدند و میزان حساسیت باکتری نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها گزارش گردید. مراحل کار بدین صورت بود که سوسپانسیون باکتری با کدورت معادل کدورت لوله ۰/۵ مک‌فارلند ( $1 \times 10^8$  cfu/ml) تهیه شد و سپس به وسیله سوآپ استریل در سطح پلیت حاوی محیط مولر هیتون سه بار کشت چمنی انجام داده، سپس با استفاده از پنس، دیسک‌هایی که از یک ساعت قبل از فریزر بیرون آورده شده را در سطح محیط کشت قرار داده و با نوک پنس هر کدام از دیسک‌ها را در جای خود محکم کرده، سپس پلیت‌ها را به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه‌سانتی‌گراد انکوبه شد. برای خواندن نتایج با استفاده از یک خط‌کش دقیق قطر هاله‌ی عدم رشد را بر حسب میلی‌متر اندازه گرفته شد و با استفاده از جدول استانداردهای تفسیر قطر هاله مهار رشد به صورت حساس و نیمه‌حساس و مقاوم گزارش گردید.

**آزمون هوچ:**

این آزمون طبق دستور کار CLSI انجام شد بدین صورت که سوسپانسیون باکتری با رقت نیم‌مک‌فارلند از سوش استاندارد Ecoli ATCC 25922 تهیه شد، تهیه رقت  $\frac{1}{10}$  با محیط مولر هیتون برات از سوسپانسیون باکتری Ecoli ATCC 25922 با رقت نیم-مک‌فارلند و کشت چمنی با سوآپ استریل از سوسپانسیون باکتری Ecoli ATCC 25922 با رقت  $\frac{1}{10}$  بر روی محیط مولر هیتون آگار و انکوبه کردن به مدت ۳-۵ دقیقه در دمای اتاق به منظور خشک شدن کشت انجام شده سپس یک دیسک مروپنم (مروپنم ۱۰ میکروگرم) در مرکز پلیت قرار داده شده و سپس باکتری مورد بررسی از لحاظ داشتن آنزیم کارباینماز را از لبه دیسک مروپنم در مرکز به سمت لبه پلیت، کشت خطی داده شد و سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۵ درجه‌سانتی‌گراد انکوبه شد سپس مقایسه شکل هاله عدم رشد نمونه کنترل مثبت با نمونه‌های انجام شده برای تشخیص موارد مثبت در آزمون هوچ صورت گرفت به طوری که در آزمون هوچ به بررسی نمونه‌های مقاوم به مروپنم و ایمپنم از لحاظ تولید آنزیم کارباینماز پرداخته شد. نتایج حاصل از مطالعه به کمک نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و داده‌ها در سطح آمار توصیفی تجزیه و تحلیل شد. در این پژوهش کلیه موارد اخلاق در پژوهش و الزامات اخلاقی رعایت شده و محرمانگی اطلاعات حفظ شده است.



نمودار ۱: درصد گروه سنی در کل نمونه‌ها

جدول ۱: درصد انواع باکتری‌ها در کل نمونه‌ها و مقاومت به مروپنم و ایمی‌پنم به تفکیک باکتری‌ها

انواع باکتری‌ها	درصد انواع باکتری‌ها در کل نمونه‌ها	درصد مقاومت به مروپنم	درصد مقاومت به ایمی‌پنم
کلبسیلا	۲۰٪/۹	۳۴٪/۱۴	۵۳٪/۶۵
کلبسیلا پنومونیه	۷٪	۴۶٪/۱۶	۴۰٪
کلبسیلا اوکسی‌توکا	۳۴٪/۱۶	۳۹٪/۱۷	۴۷٪/۱۰۵
اشریشیا کلی	۳٪/۵	۲۸٪/۵۷	۲۸٪/۵۷
سیتروباکتر فروندی	۳٪	۰٪	۵۰٪
سیتروباکتر کوسری	۲٪	۰٪	۵۰٪
سالمونلا	۲۸٪	۳۹٪/۶۲	۴۳٪/۳۹
سودوموناس آئروژینوزا	۱٪	۰٪	۰٪
پروتئوس میرابلیس			

جدول ۲: مقاومت کل نمونه‌ها نسبت به کارباپنم‌ها به صورت حساس، مقاوم و نیمه حساس

درصد نمونه‌های مقاوم به کارباپنم		درصد نمونه‌های نیمه حساس به کارباپنم			درصد نمونه‌های حساس به کارباپنم	
مقاوم به مروپنم	مقاوم به ایمی‌پنم	مقاوم به مروپنم و ایمی‌پنم	نیمه حساس به مروپنم	نیمه حساس به ایمی‌پنم	حساس به مروپنم	حساس به ایمی‌پنم
۳۶٪/۲۲	۴۵٪/۹۱	۳۰٪/۱۰	۱۸٪/۸۷	۱۳٪/۷۷	۴۱٪/۳۲	۴۰٪/۳۰
						۲۷٪/۰۴

\* نویسنده مسئول، نشانی: ورامین، دانشگاه آزاداسلامی، واحد ورامین-پیشوا، دانشکده علوم، گروه میکروبیولوژی

تلفن تماس: ۰۹۱۵۱۷۰۵۴۵۶ پست الکترونیک: t.ebrahimzadeh.shiraz@gmail.com

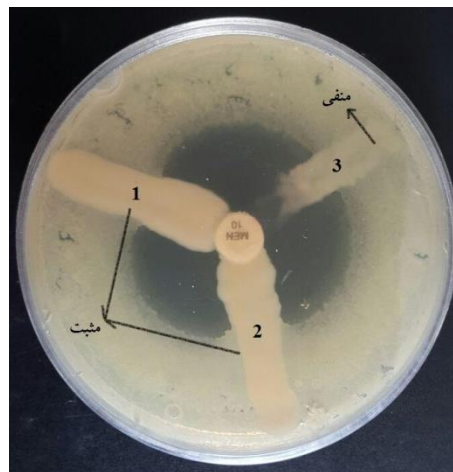
دریافت: ۱۳۹۵/۵/۱۲ پذیرش: ۹۵/۱۲/۸

اصلاح: ۹۵/۱۰/۸

۸

جدول ۳: مقاومت کل نمونه‌ها نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها به صورت حساس، نیمه حساس و مقاوم

نوع آنتی‌بیوتیک	درصد مقاوم	درصد نیمه‌حساس	درصد حساس
سفتازیدیم	۸۰٪	۱۱٪	۹٪
سفتوناکسیم	۷۱٪	۵٪	۲۴٪
پیپراسیلین	۹۱٪	۳٪	۶٪
تیکارسیلین	۷۶٪	۸٪	۱۶٪
آزترونام	۷۹٪	۱۶٪	۵٪
جتامایسین	۹۲٪	۸٪	۰
آمیکاسین	۹۴٪	۴٪	۲٪
افلوکساسین	۷۴٪	۱۴٪	۱۲٪
لووفلوکساسین	۶۸٪	۹٪	۲۳٪



شکل ۱: نمونه‌ای از آزمون هوچ انجام شده

## بحث:

و بروز مقاومت به کارباپنم‌ها می‌تواند تهدید جدی در درمان آنها باشد زیرا کارباپنم‌ها تکیه‌گاه درمان در برابر عفونت‌های باکتریایی گرم منفی هستند که بر آنتی‌بیوتیک‌هایی با طیف اثر وسیع مقاوم می‌شوند [۱۵].

در مطالعه حاضر از ۱۹۶ نمونه باکتری جمع‌آوری شده شامل خانواده انتروباکتریاسه و سودوموناس آئروژینوزا میزان مقاومت به مروپنم ۳۶/۲۲٪ و ایمپنم ۴۵/۹۱٪ بود و ۳۰/۱۰٪ هم به مروپنم و ایمپنم مقاومت نشان دادند. سودوموناس آئروژینوزا میزان مقاومت به مروپنم ۳۹/۶۲٪ و ایمپنم ۴۳/۳۹٪ بود و در خانواده انتروباکتریاسه میزان مقاومت به مروپنم و ایمپنم به تفکیک بدین صورت بود سالمونلا میزان مقاومت به مروپنم ۰٪ و ایمپنم ۵۰٪، سیتروباکترکوسری میزان مقاومت به مروپنم ۰٪ و ایمپنم ۵۰٪، سیتروباکترفروندی میزان مقاومت به مروپنم

از زمان عرضه آنتی‌بیوتیک‌ها، استفاده بی‌رویه آنها طی سال‌های گذشته موجب مشکلات فراوانی ناشی از پیدایش سویه‌های مقاوم با واسطه پلاسمید و انتشار آنها در میان باکتری‌های گرم منفی شده است. سودوموناس آئروژینوزا یک پاتوژن بیمارستانی مهم تلقی می‌شود که با توجه به اطلاعات مرکز کنترل بیماری‌های آمریکا سودوموناس آئروژینوزا پنجمین پاتوژن در میان میکروارگانیسم‌های بیمارستانی می‌باشد که ۱۰٪ عفونت‌های اکتسابی از بیمارستان را شامل می‌شود. طبق مطالعات باکتریولوژیک انجام شده بهترین آنتی‌بیوتیک برای درمان عفونت‌های سودوموناسی به خصوص در مواقع بحرانی، ایمپنم است که استفاده‌ی وسیع از آنها منجر به افزایش مقاومت به آن شده است [۱۴]. باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه به عنوان شایع‌ترین عفونت‌های انسانی در بین باکتری‌ها شناخته می‌شوند

نمونه بالینی انجام گرفت میزان مقاومت به داروهای کاربایم در باکتری‌های اش‌ریشیاکلی و انتروباکتر به ترتیب ۳/۳٪ و ۸/۹٪ بود [۲۴]. در این مطالعات که بر روی باکتری اش‌ریشیاکلی و انتروباکتر صورت گرفته درصد مقاومت پایینی را نسبت به مطالعه حاضر نشان داده به طوری که می‌توان افزایش شیوع مقاومت را در این باکتری‌ها گزارش کرد.

رستگارلاری و همکاران در سال ۲۰۱۱ در تهران ۳۵ نمونه کلیسیلا جدا شده از بیماران سوختگی را از لحاظ وجود مقاومت به کاربایم با روش فنوتیپی مورد بررسی قرار دادند و در نهایت مشخص گردید که ۱۹ ایزوله از ۳۵ ایزوله به ایمی‌پنم (۵۴٪/۲۸) مقاومت داشتند [۲۵] درصد مقاومت این مطالعه برای باکتری کلیسیلا را میتوان تقریباً مشابه مطالعه حاضر دانست. نکته قابل توجهی که در مورد مطالعه حاضر نسبت به سایر مطالعات انجام شده می‌توان به آن اشاره کرد تنوع باکتری‌های مورد بررسی شامل سودوموناس آئروژینوزا و خانواده انتروباکتریاسه (سالمونلا، سیتروباکتر کوسری، سیتروباکتر فروندی، اش‌ریشیاکلی، کلیسیلاکسی توکا، کلیسیلاپنومونیه) می‌باشد که بر این اساس می‌توان نتیجه بهتری نسبت به شیوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایمی‌پنم و مروپنم در منطقه بدست آورد.

#### نتیجه‌گیری:

با توجه به نتایج مطالعه‌ی حاضر و مطالعات مشابه می‌توان به این نتیجه رسید که مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های مروپنم و ایمی‌پنم در درمان سودوموناس آئروژینوزا و خانواده انتروباکتریاسه در کشور ما در حال گسترش است از این رو بایستی در مصرف این آنتی‌بیوتیک‌ها به طور صحیح و معقول عمل شود. مصرف محدود این آنتی‌بیوتیک‌ها می‌تواند منجر به کاهش مقاومت شود.

### تشکر و قدردانی:

از زحمات بی‌شائبه جناب آقای دکتر هادی رضائی یزدی استادیار دانشگاه علوم پزشکی جهرم و کلیه دانشجویان و دوستانی که در به نتیجه رسیدن این پژوهش همکاری داشته‌اند تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

### تعارض منافع:

هیچ گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

۲۸٪/۵۷ و ایمی‌پنم ۲۸/۵۷٪، اش‌ریشیاکلی میزان مقاومت به مروپنم ۳۹/۷۰٪ و ایمی‌پنم ۴۷/۰۵٪، کلیسیلاکسی توکا میزان مقاومت به مروپنم ۴۶/۶٪ و ایمی‌پنم ۴۰٪ و کلیسیلاپنومونیه میزان مقاومت به مروپنم ۳۴/۱۴٪ و ایمی‌پنم ۵۳/۶۵٪ بود.

در مطالعه آلتوپارلک و همکاران در سال ۲۰۰۵ در ترکیه از میان ۱۲۰ ایزوله‌ی سودوموناس آئروژینوزا جمع‌آوری شده از بیماران مبتلا به عفونت‌های سوختگی ۳۰/۸٪ تنها به ایمی‌پنم مقاوم بودند [۱۶]. همچنین در مطالعه‌ای که توسط یوو و همکاران در کشور کره جنوبی در سال ۲۰۱۲ روی سویه‌های سودوموناس- آئروژینوزا صورت گرفت از ۶۴۴ ایزوله، ۲۴۴ ایزوله مقاوم به ایمی‌پنم (۳۷٪/۸) بود [۱۷] که کمتر از درصد مقاومت مطالعه حاضر بر سودوموناس آئروژینوزا می‌باشد.

اما در مطالعات نهایی و همکاران که در سال ۱۳۸۵ در تبریز و شاهچراغی و همکاران که در سال ۱۳۸۷ در تهران انجام شد میزان مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک ایمی‌پنم در باکتری سودوموناس آئروژینوزا به ترتیب ۲٪ و ۶٪ گزارش شد [۱۸ و ۱۹] که در این مطالعات درصد مقاومت پایینی نسبت به مطالعه حاضر نشان داده به طوری که می‌توان آن را شروع مقاومت برای آنتی‌بیوتیک ایمی‌پنم دانست.

در مطالعه‌ای اخوان تفتی و همکاران در سال ۱۳۹۲ بر روی ۱۸۰ ایزوله‌ی سودوموناس آئروژینوزای جدا شده از زخم‌های سوختگی در شهر یزد انجام شد به ترتیب ۶۶٪ و ۷۴٪ به مروپنم و ایمپینم مقاوم بود [۲۰]. همچنین در مطالعه دوستی و همکاران در سال ۱۳۹۲ بر روی ۷۰ ایزوله بالینی سودوموناس آئروژینوزا در زنجان انجام شد، از این تعداد ۴۴ باکتری (۶۲٪/۸) مقاوم به ایمی‌پنم بودند [۲۱]. به نظر می‌رسد الگوی مقاومت به این آنتی‌بیوتیک بر حسب الگوی مصرف آن در شهرها و کشورهای مختلف متفاوت است.

در مطالعه‌ای که مهاجر و همکارانش جهت بررسی فروانی اش‌ریشیاکلی‌های نمونه‌های ادراری در سال ۲۰۱۱ در کرمانشاه انجام گرفت از ۲۰۰ نمونه اش‌ریشیاکلی جدا شده از عفونت ادراری، میزان حساسیت به ایمی‌پنم (۱۰۰٪) مشاهده شد [۲۲]. در مطالعه دیگر که عبدالهی خیرآبادی و همکارانش در شهرستان فسا انجام دادند از تعداد ۲۳۴ ایزوله از سویه‌های اش‌ریشیاکلی مقاومت ایمی‌پنم ۱۱/۱٪ بود [۲۳]. همچنین در مطالعه‌ای که توسط شکری و همکاران در سال ۱۳۹۴ بر روی باکتری‌های انتروباکتر و اش‌ریشیاکلی در شهر اصفهان نسبت به کاربایم‌ها بر روی ۳۰۰



## References:

- Dugal S, Fernandes A. Carbapenem hydrolysing metallo-beta-lactamase: a review, *Int J Curr Pharm Res* 2011;3:9-16
- Green VL, Verma A, Owens RJ, et al. Structure of new delhi metallo-beta-lactamase 1 (NDM-1). *Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun* 2011; 67(10):1160-4
- Fernandez A, Pereira MJ, Suarez JM, et al. Emergence in Spain of multidrug-resistant enterobacteriaceae clinical isolate producing SFO-1 extended-spectrum beta-lactamase. *J Clin Microbiol* 2011;49(3):822-8
- Diene SM, Bruder N, Raoult D, et al. Real-time PCR assay allows detection of the new delhi metallo-beta lactamase (NDM-1)-encoding gen in France. *Int J Antimicrob Agents* 2011; 37(6):544-6
- Livemore DM, Brown DF. Detection of beta-lactamase-mediated resistance. *J Antimicrob Chemother* 2001;48:59-64
- Ambler RP. The structure of beta-lactamases. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1980;289(1036):321-31
- Mirsalehian A, Nakhjavani F, Bahador A. Prevalence of MBL producing *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients. *Tehran Univ Med J* 2011; 68(10): 337-44
- Poole K. Efflux-mediated multiresistance in Gram-negative bacteria. *Clin Microbiol Infect* 2004 Jan;10(1):12-26
- Estahbanati HK, Kashani PP, Ghanaatpisheh F. Frequency of *Pseudomonas aeruginosa* serotypes in burn wound infections and their resistance to antibiotics. *Burns* 2002;28(4):340-8
- Livemore DM. Multiple mechanisms of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: our worst nightmare? *Clin Infect Dis* 2002;34(5):634-40
- Hawkey PM. Identification of Enterobacteriaceae. In: Stephen Gillespie, Peter M Hawkey. Principles and practice of clinical bacteriology. John Wiley & Sons, Chichester; 2006:341-443.
- Tato M, Morosini M, García L et al.. Carbapenem heteroresistance in VIM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates belonging to the same clone: consequences for routine susceptibility testing. *J Clin Microbiol* 2010; 48(11):4089-4093.
- Samra Z, Bahar J, Madar-Shapiro L, et al. Rapid detection of Carbapenem resistant Enterobacteriaceae. *J Clin Microbiol* 2008; 48(9):3110-11
- Gailiene G, Pavilonis A, Kareiviene V. The peculiarities of *Pseudomonas aeruginosa* resistance to antibiotics and prevalence of serogroups. *Medicina (Kaunas, Lithuania)* 2006; 43(1):36-42.
- Carvalhoes CG, Picao PC, Nicoletti AG, et al. Clover leaf test (modified Hodge test) for detecting carbapenemase production in *Klebsiella pneumoniae*: be aware of false positive result. *J Antimicrob Chemother* 2010; 65(2):249-51
- Altöparlak U, Aktas F, Celebi D et al.. Prevalence of metallo-β-lactamase among *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* isolated from burn wounds and in vitro activities of antibiotic combinations against these isolates. *Burns* 2005; 31(6):707-710.
- Yoo JS, Yang JW, Kim HM, et al. Dissemination of genetically related IMP-6-producing multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* ST235 in South Korea. *Int J Antimicrob Agents* 2012; 39(4):300-304.
- Nahaei M, Bohloli Khiavi R, Asgarzadeh M, et al. Antibiotic Resistance and Plasmid Profiles of *Pseudomonas Aeruginosa* Strains Isolated from In-Patients of Sina Hospital-Tabriz. *J Ardabil Univ Med Sci* 2007;7(1):90-98 (persian).
- Shahcheraghi F, Nikbin VS, Shooraj F, et al. Investigation of blaIMP-1, blaVIM-1 and blaSPM-1 MBL genes among clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from Imam Khomeini Hospital, Tehran, Iran. *Pejouhandeh* 2009; 14(2): 67-72.
- Akhavan-Tafti F, Eslami G, Zandi H, et al. Prevalence of blaVIM, blaIMP and blaNDM Metallo-Beta-Lactamases Enzymes in *Pseudomonas Aeruginosa* Isolated from Burn Wounds in Shahid Sadoughi Burn Hospital in Yazd. *J Isfahan Med Sch* 2014; 31(263): 1955-64 (persian).
- Doosti M, Ramazani A, Garshasbi M. Identification and characterization of metallo-β-lactamases producing *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates in University Hospital from Zanjan Province, Iran. *Iran Biomed J* 2013; 17(3):129.
- Mohajeri P, Izadi B, Rezai M, et al. Assessment of the frequency of Extended Spectrum Beta Lactamases Producing *Escherichia coli* Isolated from Urinary Tract Infections and its Antibiotic Resistance Pattern in Kermanshah. *J Ardabil Univ Med Sci* 2011; 11(1):86-94
- Abdollahi Kheirabadi S, Najafipour S, Kafilzadeh F, et al. Evaluation of Drug Resistance Pattern of *Escherichia coli* Strains Isolated from Fasa Vali-e-Asr Hospital Patients. *J Fasa Univ Med Sci* 2013; 2(4):273-278 (persian).
- Shokri D, Mobasherizadeh S, Norouzi Baruq M, et al. Isolation and Identification of Carbapenemase KPC Producing Strains of Enterobacteriaceae and Determination of Their Antibiotic Susceptibility Patterns. *J Isfahan Med Sch* 2013; 31(248):1247-1256 (persian).
- Lari AR, Azimi L, Rahbar M, et al. Phenotypic detection of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase among burns patients: first report from Iran. *Burns* 2013; 39(1):174-176.

## Evaluation of Carbapenemase resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and Enterobacteriaceae family isolated from clinical specimens by using phenotypic methods

Tahmineh Ebrahimzadeh Shiraz<sup>\*1</sup>, Hadi Rezaei Yazdi<sup>2</sup>, Mahdi Alijanianzadeh<sup>3</sup>

Received: 2016/2/08

Revised: 2016/28/12

Accepted: 2017/26/02

1. Dept of Microbiology, Faculty of Science, Varamin – Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Tehran, Iran
2. Dept of Microbiology, Jahrom University of Medical Sciences, Jahrom, Iran
3. Dept of Biophysic, Varamin – Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Tehran, Iran

Pars Journal of Medical Sciences, Vol. 14, No.4, Winter 2017

Pars J Med Sci 2017; 14(4):8-15

### Abstract

#### Introduction:

Carbapenems is on second line therapy of multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* infections and are the last defense line in critical infections Enterobacteriaceae family but Carbapenems resistance is increased so there are some problems when Carbapenems resistance is increased. Therefore, a new study about carbapenem resistance is necessary.

#### Materials and Methods:

This study collected 196 isolated bacteria of *Pseudomonas aeruginosa* and Enterobacteriaceae family from Hospitals patient of Tehran and evaluates them by phenotypic and biochemical methods. Also, the researcher studies the disk diffusion method and use it to determine antibiotic sensitivity of all bacteria according to the CLSI standard table.

#### Results:

From the total of 196 bacteria collected, the resistance to Meropenem is %39.79 and Imipenem is %45.91 and 30.10 percent to Meropenem and Imipenem resistance so that the percent resistance of bacteria is as follows: *Pseudomonas aeruginosa* resistance to Meropenem is %39.62 and Imipenem is %43.39. Meropenem and Imipenem resistance in Enterobacteriaceae family are as follows: *Salmonella* resistance to Imipenem and Meropenem is %0 and %50, *Citrobacter koseri* the resistance to Imipenem and Meropenem %0 and %50, *Citrobacter freundii* Meropenem resistance of %28.57 and Imipenem %28.57, *Escherichia coli* resistance to Meropenem %39.70 and Imipenem %47.05, *Klebsiella oxytoca* resistance to Meropenem %46.6 and %40 Imipenem and Meropenem resistance *Klebsiella pneumoniae* %34.14 and Imipenem %53.65, respectively.

#### Conclusion:

There is an increasing resistance to Meropenem and Imipenem antibiotics in treatment of *Pseudomonas aeruginosa* and Enterobacteriaceae family in our country. Hence, it should be properly and reasonably use these antibiotics.

**Keywords:** Carbapenem, *Pseudomonas Aeruginosa*, Enterobacteriaceae, Phenotypic

\* Corresponding author, Email: t.ebrahimzadeh.shiraz@gmail.com