

## تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های بالینی سودوموناس آئروژینوزای تولیدکننده بتالاکتامازهای با طیف وسیع در سال ۱۳۹۴ در شهر زاهدان

نویسندگان:

جواد ادبی<sup>۱</sup>، شهرام شهرکی زاهدانی<sup>۱</sup>، محمد بکائیان<sup>۱</sup>، حامد طهماسبی<sup>۱\*</sup>

۱- گروه میکروبی‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، ایران

Pars Journal of Medical Sciences, Vol. 15, No.1, Spring 2017

### چکیده:

**مقدمه:** سودوموناس آئروژینوزا یکی از عوامل مهم و خطرناک در ایجاد عفونت‌های فرصت‌طلب است و بروز مقاومت در این باکتری با توجه به شیوع آن دارای اهمیت ویژه‌ای است. هدف از این مطالعه، تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های سودوموناس آئروژینوزای تولیدکننده بتالاکتامازها بود.

**روش کار:** ۸۸ ایزوله سودوموناس آئروژینوزا از مجموع ۴۹۹ نمونه شامل ادرار، خون، زخم، ترشحات ریه و موارد دیگر از بیمارستان‌های آموزشی شهر زاهدان در سال ۹۴ جمع‌آوری شدند. سویه‌های تولیدکننده بتالاکتاماز با طیف وسیع و مقاومت این سویه‌ها با توجه به استاندارد CLSI شناسایی و با کمک آزمون دیسک دیفیوژن بررسی شدند.

**یافته‌ها:** در این مطالعه از مجموع ۸۸ ایزوله سودوموناس آئروژینوزا، ۵۱ ایزوله (۶۲٪/۹۶) تولیدکننده آنزیم بتالاکتاماز بودند. از این میان بیشترین مقاومت مربوط به سفوکسیتین و کمترین مقاومت مربوط به آزتروثونام بود. بیشترین میزان سویه‌های بتالاکتاماز با طیف گسترده (ESBL=Extended-spectrum beta-lactamases) از زنان جدا شد و بین حضور سویه‌های مقاوم و جنسیت بیماران بستری در بیمارستان ارتباط معناداری مشاهده شد. همچنین ارتباط معناداری بین مقاومت به برخی آنتی‌بیوتیک‌ها و سویه‌های مختلف سودوموناس آئروژینوزا دیده شد، اما بین ایزوله‌های گرفته‌شده از بیماران بخش‌های مختلف، نوع نمونه اخذشده و باکتری جداسازی شده ارتباط معناداری مشاهده نشد.

**نتیجه‌گیری:** بالا بودن فراوانی سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا مقاوم به بتالاکتامازها، دقت بیشتر در امر تجویز دارو و درمان عفونت‌های وابسته به این باکتری را طلب می‌کند.

**واژگان کلیدی:** سودوموناس آئروژینوزا، بتالاکتاماز، ESBL، مقاومت آنتی‌بیوتیکی

Pars J Med Sci 2017;15(1):7-15

### مقدمه:

در حالی است که بیشتر این باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های متنوعی مقاومت پیدا کرده‌اند که باعث می‌شود در گروه مقاوم به چندداروها (MDR) جای بگیرند [۶، ۷]. آنتی‌بیوتیک‌هایی که برای درمان عفونت سودوموناسی به کار می‌روند شامل پنی‌سیلین‌های با طیف وسیع (کاربنسیلین، تیکارسیلین و پپراسیلین)، سفالوسپورین‌های با طیف وسیع (سفتازیدیم و سفپیم)، کارباپنم‌ها، آمینوگلیکوزیدها، فلوروکینولون‌ها و آزتروثونام هستند؛ اما ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا که به این عوامل مقاومت نشان می‌دهند در حال افزایش است [۵ و ۶]. در بین این مقاومت‌های دارویی، مقاومت نسبت به بتالاکتامازها نگرانی جدی

برخی از باکتری‌های بیمارستانی همواره مخاطراتی را برای بیماران بستری در بیمارستان‌ها ایجاد می‌کنند و با ایجاد عفونت‌های ثانویه، روند بهبودی را با مشکل روبرو می‌کنند [۱]. ایجاد مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در بین باکتری‌های بیمارستانی و گسترش این مقاومت، روند درمان را با سختی‌های زیادی مواجه کرده است [۲]. سودوموناس آئروژینوزا از جمله باسیل‌های گرم منفی غیر تخمیری است که فراوانی زیادی در محیط‌های بهداشتی - درمانی دارد [۳]. میزان استقرار این باکتری در افراد بستری‌شده در بیمارستان، به‌ویژه در بیمارانی که مدت بستری شدن آن‌ها به درازا کشیده شده، در حال افزایش است [۴، ۵]. این

\* نویسنده مسئول، نشانی: زاهدان، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، دانشکده پزشکی، گروه میکروبی‌شناسی.

پست الکترونیک: h.tahmasebi87@yahoo.com

تلفن تماس: ۰۹۱۸۳۱۹۵۶۴۵

پذیرش: ۱۳۹۶/۹/۱۳

اصلاح: ۱۳۹۵/۱۲/۲۱

دریافت: ۱۳۹۵/۵/۱

افزایش را نشان داد [۱۸]. همچنین، در سال ۱۳۹۵ در مطالعات ترابی و همکاران در شهر اصفهان، این میزان به ۷۰٪ رسیده است [۱۹]. بالا بودن شیوع سودوموناس آئروژینوزای تولیدکننده آنزیم ESBL همواره یکی از خطراتی است که بیماران بستری در بیمارستان‌ها را با خطر آلودگی مواجه می‌کند، از این رو بررسی و ارائه یک آمار کلی از شیوع مقاومت‌های بتالاکتامی با طیف وسیع در ایزوله‌های بالینی سودوموناس آئروژینوزا امری مهم و ضروری است. از این رو هدف مطالعه حاضر بررسی شناسایی سودوموناس آئروژینوزای تولیدکننده بتالاکتامازهای با طیف وسیع و همچنین تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در این ایزوله‌ها است.

## روش کار:

### جمع‌آوری نمونه

در این مطالعه توصیفی-مقطعی، طی یک دوره ۹ ماهه، ۴۹۹ نمونه شامل نمونه‌های ادرار، خون، ترشحات زخم، خلط، لوله تراشه، لوله سینه، سر سوند از بیماران بستری در بخش‌های مختلف و بیماران سرپایی بیمارستان‌های آموزشی شهر زاهدان در بازه زمانی دی ۱۳۹۳ تا مهر ۱۳۹۴ بر اساس نمونه‌گیری آسان و در دسترس جمع‌آوری شد. معیار ورود و خروج در این مطالعه بیمارانی بودند که مشکوک به عفونت‌های باکتریایی مختلف بودند. در تمامی مراحل مطالعه، مشخصات بیماران به صورت محرمانه ثبت شد و هیچ کدام در گزارش‌های اصلی وارد نشد. سپس نمونه‌های جمع‌آوری شده داخل میکروتیوب‌های پلاستیکی درب دار حاوی محیط ترانسپورت BHI (Merck آلمان) با ۱۰٪ گلیسرول تلقیح و برای انجام آزمایش‌های تکمیلی و تشخیصی دقیق‌تر به آزمایشگاه میکروبی‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی زاهدان منتقل شدند. نمونه‌ها در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایش‌ها نگهداری شدند.

### جداسازی، شناسایی و کشت باکتری‌ها:

همه نمونه‌های به‌دست‌آمده برای تعیین هویت قطعی، روی محیط کشت آگار Cetemide (Merck آلمان) کشت و در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. سپس ایزوله‌های به‌دست‌آمده از نظر تولید اکسیداز و آزمون OF و رشد در محیط‌های کشت TSI و سیمون سیترات آگار (همگی Merck آلمان) بررسی شدند. به علاوه، روی ایزوله‌ها آزمون‌های کاتالاز، تولید SH2 و گاز، تولید رنگ‌دانه، ایندول و متیل رد و داشتن حرکت در محیط SIM انجام شد. پس از تعیین هویت نهایی جنس و گونه باکتری به‌صورت کشت ذخیره در محیط کشت Trypticase Soy Broth (Merck آلمان) با ۱۵٪ گلیسرول در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد برای انجام مراحل بعدی نگهداری شدند [۲۰].

در زمینه درمان عفونت‌های باکتریایی به وجود آورده است. در خصوص باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزا، ژن‌های مختلفی در بروز این مقاومت‌ها نقش دارند که هم روی کروموزوم و هم روی پلاسمید حمل می‌شوند [۸]. این ژن‌ها در باسیل‌های گرم منفی با تأثیر بر قسمت‌های مختلف باعث بروز مقاومت‌های متنوعی می‌شوند. یکی از این موارد بیان آنزیم‌های بتالاکتاماز است که به‌طور مستقیم روی آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتامی اثر می‌گذارد [۹]. ژن‌های با منشأ پلاسمیدی معمولاً روی پلاسمیدهایی قرار دارند که می‌توانند به‌راحتی بین گونه‌ها، سویه‌ها و حتی جنس‌های مختلف انتقال پیدا کند که این امر بررسی وابستگی ژن‌ها را با اهمیت بیشتری روبرو می‌کند [۱۰]. بتالاکتامازها آنزیم‌های باکتریایی هستند که قادرند آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام را هیدرولیز کرده و باعث بی‌اثر شدن این ترکیبات شوند [۱۱، ۱۲]. در طول ۲۰ سال گذشته تعداد زیادی از آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام تولیدشده، ولی با این وجود باکتری‌ها نیز بتالاکتامازهای جدید تولید کرده‌اند که باعث بی‌اثر شدن این آنتی‌بیوتیک‌ها شده است. تصور بر این است که استفاده بیش از اندازه این آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان بیماران باعث تولید انواع بتالاکتامازهای با طیف وسیع توسط باکتری‌ها می‌شوند [۱۳، ۱۴]. در مورد این آنزیم‌ها هیچ تعریف دقیق و جامعی وجود ندارد، ولی به‌طور خلاصه بتالاکتامازهای با طیف وسیع گروهی از آنزیم‌ها هستند که سویه‌های مولد، آن‌ها را در برابر پنی‌سلین‌ها، سفالوسپورین‌ها (نسل اول، دوم، سوم) و آزترئونام محافظت نموده ولی قادر به هیدرولیز سفامایسین‌ها و کرباپنم‌ها نمی‌باشند. در واقع این آنزیم‌ها جهش‌یافته‌هایی هستند که از جایگزینی یک یا تعداد بیشتری اسیدآمینو در توالی آمینواسیدی بتالاکتامازهای اولیه (SHV-1، TEM-1، TEM-2) حاصل شده‌اند. با این که میزان جایگزینی اسیدآمینو کمتر از ۲٪ است، ولی همین تغییر اندک برای متحول کردن جایگاه فعال آنزیم کافی است [۱۵]. اولین ژن بتالاکتاماز با طیف وسیع که به نام SHV-2 معروف است از یک ایزوله *Klebsiella ozaenae* به دست آمد (آلمان ۱۹۸۳) که در حقیقت مشتقی از SHV-1 بود [۱۶]. گسترش مصرف آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتامی و شیوع مقاومت‌های وسیع به این آنتی‌بیوتیک‌ها در ایران به یکی از مهم‌ترین نگرانی‌های بهداشتی در سال‌های اخیر مبدل شده است. در مطالعات مختلفی که در سال‌های مختلف انجام گرفته، مشخص شده است که مقاومت‌های بتالاکتامی سیر صعودی داشته‌اند، به‌طوری‌که در مطالعات فولادی و همکاران در سال ۱۳۸۹ در تهران، شیوع مقاومت‌های بتالاکتامی در سویه‌های مختلف سودوموناس آئروژینوزا و تولیدکننده آنزیم ESBL زیر ۴۰٪ اعلام شده است [۱۷]. این در حالی است که در سال ۱۳۹۲ این میزان در مطالعات تقوایی و همکاران در اراک بیش از ۵۰٪

## تعیین سویه‌های تولیدکننده بتالاکتام‌های با طیف

## وسیع:

برای تعیین سویه‌های سودوموناس آئروژینوزای تولیدکننده آنزیم‌های بتالاکتام‌های با طیف وسیع از روش دیسک ترکیبی با کلانولانیک اسید بر اساس دستورالعمل CLSI عمل شد. ابتدا از ایزوله‌های تعیین هویت شده، رقت ۰/۵ مک فارلند تهیه و به‌صورت چمنی روی سطح پلیت حاوی محیط آگار Mueller-Hinton (Merck آلمان) با ضخامت ۴ میلی‌متر کشت داده شد. سپس دیسک‌های سفت‌زیدیم ۳۰ میکروگرم به فاصله ۳۰ میلی‌متر از دیسک سفت‌زیدیم ۳۰ میکروگرم/کلانولانیک اسید ۱۰ میکروگرم و دیسک سفپودوکسیم ۳۰ میکروگرم به فاصله ۳۰ میلی‌متر از دیسک سفپودوکسیم/کلانولانیک اسید ۱۰ میکروگرم روی محیط قرار گرفته (تمامی دیسک‌ها MAST انگلستان). مطابق استاندارد CLSI قطر هاله‌ها بررسی و قطر هاله عدم رشد در اطراف هر یک از دیسک‌های کلانولانیک اسید بیشتر یا مساوی ۵ میلی‌متر در مقابل دیسک‌های فاقد کلانولانیک اسید نشان‌دهنده حضور ESBL در ایزوله‌های به‌دست‌آمده بود. از کلبسیلاپنومونیه ATCC700603 به‌عنوان نمونه کنترل مثبت و از سودوموناس آئروژینوزا ATCC27853 به‌عنوان کنترل منفی استفاده شد.

## بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های ESBL

## سودوموناس آئروژینوزا:

برای تعیین الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌ها، بعد از تهیه سوسپانسیون اولیه، از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی ایمپینم (۱۲ میکروگرم)، مروپنم (۱۲ میکروگرم)، آزترئونام (۳۲ میکروگرم)، سفتریاکسون (۳۲ میکروگرم)، سفپیم (۳۲ میکروگرم)، سفت‌زیدیم (۳۲ میکروگرم)، سفوناکسیم (۳۲ میکروگرم) سفپودوکسیم (۱۲ میکروگرم)، جنتامایسین (۳۲ میکروگرم)، آمیکاسین (۱۲ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، نورفلوکساسین (۱۲ میکروگرم) و لووفلوکساسین (۵ میکروگرم) که همگی ساخت شرکت MAST انگلستان بودند برای آنتی‌بیوگرام روی محیط مزبور قرار داده و نتایج بعد از ۱۸ الی ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد با استفاده از دستورالعمل CLSI بررسی شدند.

## آنالیز و بررسی‌های آماری:

در این مطالعه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ تحلیل شدند. وجود ارتباط بین ایزوله‌های تولیدکننده بتالاکتام‌های با طیف وسیع بر اساس نوع نمونه و جنسیت بیماران با استفاده از آزمون کای مربع مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین با کمک روش‌های آمار توصیفی (فراوانی مطلق، فراوانی نسبی و میانگین) داده‌های به‌دست‌آمده تجزیه و تحلیل شدند.  $P \leq 0.05$  به‌عنوان سطح معناداری آماری در نظر گرفته شد.

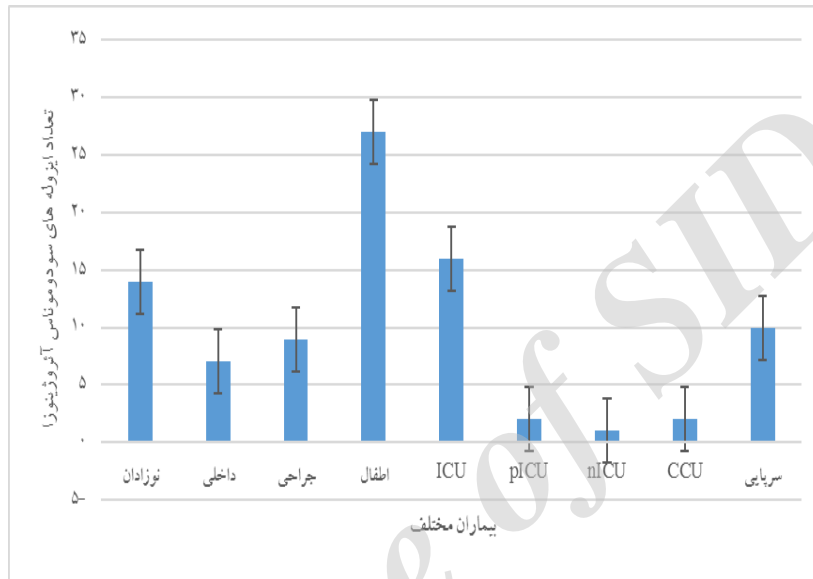
## یافته‌ها:

در این مطالعه، ۴۹۹ نمونه بالینی از بیمارستان علی ابن ابی‌طالب در طی ۹ ماه جمع‌آوری شدند. بعد از انجام آزمایش‌های اولیه و آزمون‌های بیوشیمیایی، ۸۸ ایزوله به‌عنوان سودوموناس آئروژینوزا شناسایی شدند. از مجموع ۸۸ نمونه بالینی سودوموناس آئروژینوزا که از بیمارستان‌های آموزشی شهر زاهدان جداسازی شد، ۶۱ نمونه مربوط به بیمارستان علی ابن ابی‌طالب، ۲۳ نمونه مربوط به بیمارستان خاتم‌الانبیا و ۴ نمونه مربوط به بیمارستان بوعلی بود. در مجموع ۶۱ ایزوله (۶۹٪/۳۱) از زنان و ۲۷ ایزوله (۳۰٪/۶۸) از مردان به دست آمد. (جدول ۱، تصویر ۱). از مجموع ایزوله‌های جداسازی شده از بیماران بخش‌های مختلف، بیشترین فراوانی مربوط به بیماران بخش‌های اطفال و مراقبت ویژه بودند که به ترتیب ۲۷ ایزوله (۳۰٪/۶۸) و ۲۵ ایزوله (۲۸٪/۴) را به خود اختصاص داده بودند. بخش نوزادان با ۱۴ نمونه (۱۵٪/۹) در رتبه سوم قرار داشت (نمودار ۱).

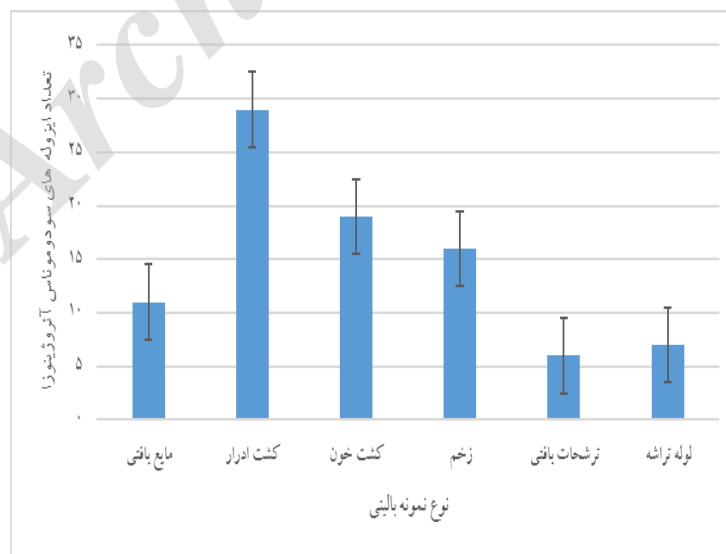
بیشترین نمونه‌هایی که از نظر آلودگی به باکتری سودوموناس آئروژینوزا مورد جداسازی باکتریایی قرار گرفته بودند، از کشت ادرار و کشت خون بودند (نمودار ۲). از نظر الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی بیش از ۹۰٪ ایزوله‌ها به سفوکسیتین و سفپودوکسیم مقاوم بودند. ایزوله‌ها از نظر آنتی‌بیوتیک‌های آزترئونام و سیپروفلوکساسین هم دارای کمترین مقاومت بودند (جدول ۲). همچنین از مجموع ۸۸ ایزوله مورد بررسی ۵۱ ایزوله (۵۷٪) توانایی تولید آنزیم‌های بتالاکتام‌های با طیف وسیع را دارا بودند (جدول ۲). بر اساس آزمون آماری کای مربع، ارتباط معناداری بین جنسیت بیماران و پراکنش آنزیم‌های بتالاکتام‌های با طیف وسیع مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). همه آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی در این مطالعه به‌نوعی با حضور آنزیم‌های بتالاکتام‌های با طیف وسیع مرتبط بودند (جدول ۲).

جدول ۱: فراوانی ایزوله‌های بالینی سودوموناس آئروژینوزا بر اساس جنسیت بیمار

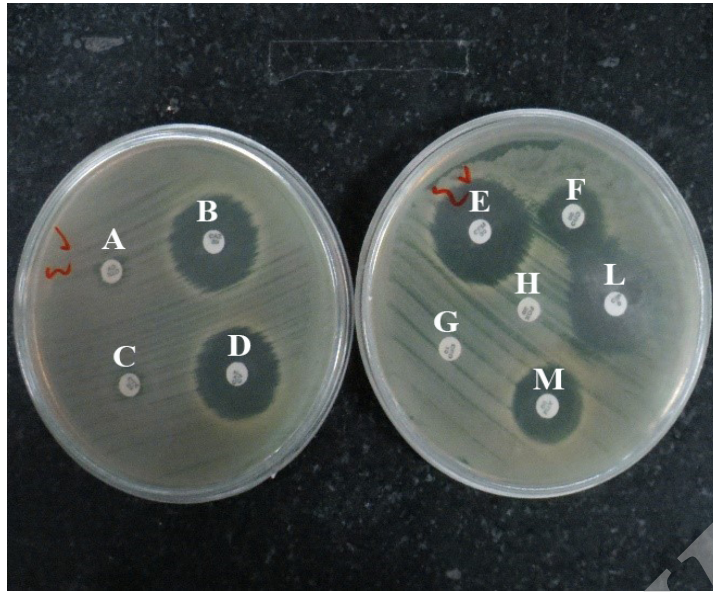
P value	سودوموناس آئروژینوزا (n=88)		جنس
	ایزوله‌های غیر ESBL تعداد (درصد)	ایزوله‌های ESBL تعداد (درصد)	
۰,۰۱۹	۱۳ (۴۸,۱۵)	۱۴ (۵۱,۸۵)	مرد
	۲۴ (۳۹,۳۵)	۳۷ (۶۰,۶۵)	زن



نمودار ۱: فراوانی ایزوله‌های بالینی سودوموناس آئروژینوزا بر اساس بخش‌های مختلف بیمارستانی



نمودار ۲: فراوانی ایزوله‌های بالینی سودوموناس آئروژینوزا بر اساس نوع نمونه بالینی



تصویر ۱: آزمون دیسک ترکیبی به روش دیسک دیفیوژن برای جداسازی سویه‌های مولد ESBL در ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا. کلبسیلا پنومونیه ATCC700603 کنترل مثبت و سودوموناس آئروژینوزا ATCC27853 کنترل منفی. A: سفنازیدیم، B: سفنازیدیم-کلاولانیک اسید، C: سفپودوکسیم، D: سفپودوکسیم-کلاولانیک اسید، E: سفوتان، F: آزتروانوم، G: سفوتاکسیم، H: سفوکسیتین، L: سفتریاکسون، M: سیپروفلوکساسین.

جدول ۲: طیف مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های مولد ESBL و غیر ESBL در نمونه‌های بالینی سودوموناس آئروژینوزا

P. Value	سودوموناس آئروژینوزا (n=88)						آنتی‌بیوتیک
	غیر ESBL (n=27)			ESBL (n=51)			
	حساس تعداد (درصد)	نیمه حساس تعداد (درصد)	مقاوم تعداد (درصد)	حساس تعداد (درصد)	نیمه حساس تعداد (درصد)	مقاوم تعداد (درصد)	
۰/۰۳۲	۲۴ (۸۸)	۳ (۱۴)	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	۲ (۴)	۴۹ (۹۶)	سفوکسیتین
۰/۰۴۱	۲۵ (۹۲)	۲ (۸)	۰ (۰/۰)	۴۳ (۸۵)	۰ (۰/۰)	۸ (۱۵)	سفنازیدیم
۰/۰۱۲	۲۵ (۹۲)	۱ (۴)	۱ (۴)	۹ (۱۷)	۱۶ (۳۱)	۲۷ (۵۲)	سفتریاکسون
۰/۰۱۹	۲۵ (۹۲)	۲ (۸)	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	۲ (۴)	۴۹ (۹۶)	سفوتاکسیم
۰/۰۳۹	۲۱ (۷۷)	۶ (۲۳)	۰ (۰/۰)	۳۴ (۶۷)	۲ (۳)	۱۵ (۳۰)	سفوتان
۰/۰۵	۲۵ (۹۲)	۲ (۸٪)	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	۱ (۱)	۵۰ (۹۹)	سفپودوکسیم
۰/۰۲۹	۲۷ (۱۰۰)	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	۴۲ (۸۳)	۵ (۹)	۴ (۸)	آزتروانوم
۰/۰۳۸	۲۳ (۸۵)	۴ (۱۵)	۰ (۰/۰)	۴۳ (۸۴)	۳ (۷)	۴ (۸)	سیپروفلوکساسین

## بحث:

بوتیک‌ها در باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت مشاهده شد. حضور فعال سودوموناس آئروژینوزا در طیف گسترده‌ای از بیماران بستری در بیمارستان‌ها را می‌توان به ویژگی منحصر به فرد این باکتری نسبت داد. در بررسی حاضر نیز حضور این باکتری در بیماران بستری در بخش‌های مختلف نیز دیده شد، به طوری که در نمونه‌های کشت خون و کشت ادرار نیز دیده شد. این امر نشان‌دهنده نقش سودوموناس آئروژینوزا در بیماری‌های دستگاه

بتالاکتامازها سیستم دفاعی مهمی برای باکتری‌ها در برابر آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتامی محسوب می‌شوند. این سیستم مقاومتی هم در باکتری‌های گرم منفی و هم در باکتری‌های گرم مثبت به‌وفور دیده می‌شود. از زمانی که آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام در درمان عفونت‌هایی که با باکتری عامل آن بودند، گسترش یافت، مقاومت به این آنتی‌بیوتیک ظهور کرد و بعد از گذشت مدت‌زمان کوتاهی مقاومت‌های گسترده‌ای نسبت به این گروه از آنتی

میزان مقاومت به سفوکسیتین و فراوانی سویه‌های ESBL % ۱۰۰ گزارش شده است [۳۱]. از نظر مقاومت به سفتریاکسون نتایج پژوهش حاضر با نتایج بررسی‌های فاضلی و همکاران تقریباً یکسان است [۳۲]؛ اما تحقیقات رابین و همکاران این مقدار را % ۳۹ گزارش کرده‌اند که کمتر از میزان به‌دست‌آمده در مطالعه حاضر است [۳۳]. در بررسی حاضر، سفوتاکسیم مقاومتی % ۹۶ را از خود نشان داد که در مقایسه با میزان % ۲۶ دیگر گزارش‌ها بیشتر است [۳۴]. همچنین در مطالعه ربانی و همکاران روی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سودوموناس آئروژینوزا، مقاومت به سفوتاکسیم حدود % ۱۰ گزارش شده است که این مقدار از نتیجه این مطالعه بسیار کمتر است [۳۴]. مقاومت % ۳۰ و % ۸ به آنتی‌بیوتیک‌های سفوتتان و آزترئونام در این بررسی نسبت به مطالعه لی و همکاران در کره یعنی بیش از % ۶۰ بسیار کمتر است [۳۵].

### نتیجه‌گیری:

با توجه به شیوع نسبی آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتامازی با طیف وسیع در سویه‌های بالینی سودوموناس آئروژینوزا و شیوع بسیار بالای برخی مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی بررسی‌شده، نظارت هدفمند و متمرکزتری در بحث مصرف آنتی‌بیوتیک در بیمارستان‌ها نیاز است. از سوی دیگر، چرخش مقاومت‌های بتالاکتامی در بین سویه‌ها و حتی گونه‌های دیگر می‌تواند درمان عفونت‌های ساده و کنترل‌پذیر را نیز با مشکلات زیادی مواجه کند. به علاوه شیوع سویه‌های مقاوم به چند آنتی‌بیوتیک و نقش این سویه‌ها در بروز برخی عفونت‌های مهم را نیز باید مد نظر قرار داد. به دلیل مقطعی بودن این مطالعه و برخی محدودیت‌ها از جمله تعداد و نوع نمونه‌ها و همچنین حساسیت موضوع، مطالعات گسترده‌تر با بازه زمانی بیشتر ضروری است.

### تشکر و قدردانی:

این مقاله حاصل بخشی از پایان‌نامه مقطع کارشناسی ارشد میکروبی‌شناسی آقای جواد ادبی است که با کد کمیته اخلاق ۱۵۳۳ در سال ۹۳ به تصویب معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی زاهدان رسیده است.

### تعارض منافع:

نویسندگان هیچ تعارض منافع با توجه به تألیف و یا انتشار این مقاله اعلام نکرده‌اند.

ادرازی است. نتایج به‌دست‌آمده بر اساس طیف گستردگی این باکتری با مطالعات توجیحی و همکاران در سال ۱۳۸۹ در کاشان و هاشمی و همکاران در سال ۱۳۹۴ همخوانی دارد. در هر دو مطالعه شیوع سودوموناس آئروژینوزا در نمونه‌های کشت ادرار و خون بیشترین فراوانی را به خود اختصاص داده بود [۲۱، ۲۲]. شیوع سودوموناس آئروژینوزا و همچنین سویه‌های تولیدکننده آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتاماز با طیف وسیع در زنان نشان‌دهنده نقش فعال این باکتری در عفونت‌های ادراری زنان است. مقاومت به سفوکسیتین یکی از معیارهای اصلی در تعیین سویه‌های سودوموناس آئروژینوزای جای گرفته در گروه ESBL می‌باشند. در مطالعه حاضر که فراوانی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ۸۸ ایزوله سودوموناس آئروژینوزا بررسی شد، شیوع مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های سفنازیدیم % ۱۵، سیپروفلوکساسین % ۸، سفوتتان % ۳۰، سفوکسیتین % ۹۶، سفودوکسین % ۹۹، سفتریاکسون % ۵۲ و آزترئونام % ۸ به دست آمد. مقاومت‌های بسیار بالا در آنتی‌بیوتیک‌های سفوکسیتین و سفودوکسین در این مطالعه به دلیل تعیین سویه‌های ESBL حائز اهمیت است. میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های سفنازیدیم و سیپروفلوکساسین در این مطالعه به ترتیب % ۱۵ و % ۹ را به خود اختصاص داد، درحالی‌که در مطالعه ایبینو و همکاران روی سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا به ترتیب % ۲۰/۶ و % ۵۹/۸ گزارش شده است که نشان‌دهنده کمتر بودن مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در مطالعه حاضر است. [۲۳]. مطالعات انجام‌گرفته در کشورهای مختلف نشان‌دهنده افزایش میزان مقاومت به سفنازیدیم از % ۹ تا % ۱۵ و % ۳۲ در بازه‌های زمانی مختلف بوده است که از این نظر با مطالعه حاضر همخوانی دارد [۲۴-۲۷]. سیر مقاومت به سیپروفلوکساسین نیز در کشورها و بازه‌های زمانی مختلف % ۹ و % ۲۳ و % ۹۷ بوده است که در برخی موارد می‌توان نزدیکی گزارش‌های ارائه‌شده را با مطالعه حاضر مشاهده کرد [۲۸، ۲۹]. البته میزان مقاومت به سیپروفلوکساسین در برخی از مطالعه‌ها در مقایسه با مقدار مقاله حاضر بیشتر است. برای نمونه در بررسی انجام‌شده توسط بهاریا و همکاران، مقاومت به این آنتی‌بیوتیک بیش از % ۷۵ گزارش شده است [۳۰].

مقاومت به بتالاکتام در بسیاری از مطالعات با شیوع بسیار بالایی در سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا گزارش شده است. این در حالی است که حضور سویه‌های ESBL نیز شیوعی فزاینده را نشان می‌دهد. در این مطالعه، مقاومت‌های % ۹۶ و % ۹۹ آنتی‌بیوتیک‌های سفوکسیتین و سفودوکسیم با گزارش‌های آپادیا و همکاران در سال ۲۰۰۹ که بیان‌کننده شیوع بالای سویه‌های ESBL سودوموناس آئروژینوزا است، مطابقت دارد. در این مطالعه

## References:

1. Wong, YP, Chua KH, Thong KL. One-step species-specific high resolution melting analysis for nosocomial bacteria detection. *J Microbiol Methods* 2014; 10711 (0): 133-137.
2. Lye DC, Earnest A, Ling ML, et al. The impact of multidrug resistance in healthcare-associated and nosocomial Gram-negative bacteraemia on mortality and length of stay: cohort study. *Clin Microbiol Infect* 2012;189 (5): 502-508.
3. Ghajavand H, Havaei A, Nasr Esfahani B, et al. Frequency of MDR *Acinetobacter baumannii* Isolates in Intensive Care Units (ICU) of Isfahan Hospitals by molecular method and their Antimicrobial Resistance Patterns. *J Isfahan Med Sch* 2014; 32 (295):199-213.
4. Akhavan Tafti F, Zandi H, Vakli M, et al. Frequency of  $\beta$ -lactamase and metallo- $\beta$ -lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from burn wounds in Yazd burn hospital during 2011-2012. *Feyz* 2014; 18(2): 167-74.
5. Rezaee MA, Pajand O, Nahaei MR, et al. Prevalence of Ambler class A beta-lactamases and ampC expression in cephalosporin-resistant isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2013;76(3):330-4.
6. Rumbo C, Gato E, López M, et al. Contribution of efflux pumps, porins, and beta-lactamases to multidrug resistance in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2013;57(11): 5247-57.
7. Rezaee MA, Pajand O, Nahaei MR, et al. Prevalence of Ambler class A beta-lactamases and ampC expression in cephalosporin-resistant isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2013;76(3): 330-4.
8. Tsutsumi Y, Tomita H, Tanimoto K. Identification of novel genes responsible for overexpression of ampC in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Antimicrob Agents Chemother* 2013;57(12): 5987-93.
9. Willard K.E, Moody JA, Peterson LR. A general ampC active site oligonucleotide probe for gram-negative rods. *Mol Cell Probes* 1991;5(2):97-102.
10. Hosseini Jazani N, Omrani MD, Yekta Z, et al. Plasmid Profile of *Pseudomonas aeruginosa* and its Relation with Antibiotic Resistance in Hospital Isolates. *J Kerman Univ Med Sci* 2008;15(1): 9-17.
11. Cholley P, Ka R, Guyeux C, et al. Population structure of clinical *Pseudomonas aeruginosa* from West and Central African countries. *PLoS One* 2014;9(9): 1070-08.
12. Lahiri SD, Johnstone MR, Ross PL, et al. Avibactam and class C beta-lactamases: mechanism of inhibition, conservation of the binding pocket, and implications for resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 2014;58(10):5704-13.
13. Francisco Toval, Anel Guzmán-Martel, Vivian Madriz, et al. Predominance of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates carrying blaIMP and blaVIM metallo-beta-lactamases in a major hospital in Costa Rica. *J Med Microbiol* 2015;64(1):37-43.
14. Rafiee R, Eftekhari F, Tabatabaei SA, et al. Prevalence of Extended-Spectrum and Metallo Beta-Lactamase Production in AmpC Beta-Lactamase Producing *Pseudomonas aeruginosa* Isolates from Burns. *Jundishapur J Microbiol* 2014;7(9):16436.
15. Liu PYF, Tung JC, Ke SC, et al. Molecular epidemiology of plasmid spread among extended broad-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates in a pediatric hospital. *J Clin Microbiol* 1993;31(2):179-184.
16. Lye DC, Earnest A, Ling ML, Lee TE, Yong HC, Fisher DA, et al. The impact of multidrug resistance in healthcare-associated and nosocomial Gram-negative bacteraemia on mortality and length of stay: cohort study. *Clin Microbiol Infect* 2012;18(5):502-8.
17. Imani Foolad A, Rostami Z, Shapouri R. Antimicrobial resistance and ESBL prevalence in *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from clinical specimen by phenotypic and genotypic methods. *J Ardabil Univ Med Sci* 2010;10(3): 189-198.
18. Taghvaei R, Shojapour M, Sadeghi A, et al. The Study of Antibiotic Resistance Pattern and the Frequency of Extended-Spectrum Beta-Lactamases (ESBL) in *Pseudomonas aeruginosa* Strains Isolated from Medical Centers in Arak City, Iran. *Qom Univ Med Sci J* 2013;7(4):36-41.
19. Rahimzadeh Torabi L, Doudi M, Golshani Z. The frequency of blaIMP and blaVIM carbapenemase genes in clinical Isolates of *pseudomonas aeruginosa* in Isfahan medical centers. *Med J Mashhad Univ Med Sci* 2016;59(3): p. 139-147.
20. Tahmasebi H, Bokaeian M, Adabi J, et al. Comparison of Two Methods of Direct PCR and PCR with DNA extracted by Kit for Detection of OPR<sub>L</sub>, ExoA, and algD genes in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Qom Univ Med Sci J* 2017;11 (3) :11-21
21. Tavajjohi Z, Moniri R, Khoeshidi A. Frequency of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) multidrug-resistance produced by *Pseudomonas aeruginosa* isolated from clinical and environmental specimens in Kashan Shahid Beheshti hospital during 2010-11. *KAUMS J (FEYZ)* 2011;15(2):139-145.
22. Hashemi A, Fallah F, Taherpour A, et al. Determination of Antibiotic Resistance Profile and Frequency of Metallo-Beta- Lactamases in *Pseudomonas Aeruginosa* Isolates. *ZUMS J* 2014;22(93):77-85.
23. Aibinu I, Nwanneka T, Odugbemi T. Occurrence of ESBL and MBL in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* from Lagos, Nigeria. *J Am Sci* 2007; 3(4):81-85.
24. Shawar RM, Macleod DL, Garber RL, et al. Activities of Tobramycin and six other antibiotics against *Pseudomonas aeruginosa* isolated from patients with cystic fibrosis. *Antimicrob Agent Chemother* 1999; 43(12): 2877-80
25. Kato K, Iwai S, Kumasaka K, et al. Survey of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* by the Tokyo johoku association of *Pseudomonas* studies. *J Infect Chemother* 2001; 7(4): 258-262
26. Karakoc B, Gereceker AA. In vitro activities of various antibiotics alone and in combination with amikacin against *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother* 1995; 36(4): 707-11

27. Rastegar LA, Bahrami HH, Alaghebandan R. Pseudomonas infections in Tohid Burn Center, Iran. *Burns* 1998; 24(7): 637-41.
28. Shahcheraghi F, Nikbin V, Shoraj F. Molecular characterization of extended spectrum betalactamases from clinical specimen isolated at two hospitals of Tehran. *Iran J Microbiol* 2008; 4(11): 21-27.
29. Mohajeri P. Determination susceptibility and antibiotic resistance from clinical different specimen at Kermanshah therapeutic. *Kermanshah Univ Med J* 2003; 4(39): 11-20.
30. Behera B, Mathur P, Das A, Kapil A, Sharma V. An evaluation of four different phenotypic techniques for detection of metallo- $\beta$ -lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa*. *Indian J Med Microbiol* 2008; 26(12): 233-7
31. Upadhyay S, Sen MR, Bhattacharjee A. Presence of different beta-lactamase classes among clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* expressing AmpC beta-lactamase enzyme. *J Infect Dev Ctries* 2010; 4(9): 20-10.
32. Fazeli H, Nazari F, Mirzaie M. The Determination of Metallo-Beta-Lactamase Enzymes Prevalence in *Pseudomonas Aeruginosa* using Etest and their Antibigram Patterns in Kermanshah, Iran. *J Med Bacteriol* 2015; 4(3): 129-39.
33. Rubin J, Walker RD, Blickenstaff K, et al. Antimicrobial resistance and genetic characterization of fluoroquinolone resistance of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from canine infections. *Vet Microbiol* 2008; 131(1-2): 164-172.
34. Rabani Z, Mardaneh J. The Antibiotics Susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* Isolates Causing Infections in Shahid Faghihi (Shiraz) Hospital and Identify the Strains Harboring the blaCTX Gene. *Armaghane-danesh* 2015; 20 (8): 689-705.
35. Livermore DM, Winstanley TG, Shannon KP. Interpretative reading: recognizing the unusual and inferring resistance mechanisms from resistance phenotypes. *J Antimicrobial Chemother* 2001; 48(1): 87-102.

Archive of SID



## Antibiotic resistance patterns in *Pseudomonas aeruginosa* isolates producing ESBL in Zahedan 2014

Javad Adabi<sup>1</sup>, Shahraki Zahedani<sup>1</sup>, Mohammad Bokaeian<sup>1</sup>, Hamed Tahmasebi\*<sup>1</sup>

Received: 2016/22/07

Revised: 2017/11/03

Accepted: 2017/3/05

1. Dept of Microbiology, School of Medicine, Zahedan University of medical sciences, Zahedan, Iran

Pars Journal of Medical Sciences, Vol. 15, No.1, Spring 2017

Pars J Med Sci 2017; 15(1):7-15

### Abstract

#### Introduction:

*Pseudomonas aeruginosa* is one of the most important causes of opportunistic infections. As *Pseudomonas aeruginosa* is prevalent, its resistance to antibiotics is especially significant. This study aimed to determine the prevalence of antibiotic resistance in extended spectrum of beta lactamase (ESBL) strains.

#### Material and Method:

From a total of 499 samples of urine cultures, blood cultures, wounds, pulmonary secretions and other samples, 88 isolates of *P. aeruginosa* were collected in hospitals of Zahedan in 2014. Initially, ESBL-producing strains were identified and their antibiotic resistance was determined using disk diffusion method according to CLSI standards.

#### Results:

Of the 88 isolates of *Pseudomonas aeruginosa*, 51 isolates (96.62%) were beta-lactamase producing, with the highest resistance to Cefoxitin (30µg) and the least resistance to Aztreoname (30µg). Most ESBL strains were separated from women, that is, a significant relationship was observed between the presence of resistant strains and gender of patients admitted to hospital. Furthermore, a significant relationship was observed between resistance to some antibiotics and strains of *Pseudomonas aeruginosa*. However, no relationship was found between isolates taken from patients in various wards, types of sample and the isolated bacterium ( $P \leq 0.05$ ).

#### Conclusion:

Because the prevalence of resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa* is high, it is necessary to prescribe medication for and treat infections with greater care.

**Keywords:** *Pseudomonas Aeruginosa*, Beta Lactamase, ESBL, Antibiotic Resistance

\* Corresponding author, Email: h.tahmasebi87@yahoo.com