بررسی میزان شیوع بتالاکتامازهای با طیف وسیع در ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان‌های امام رضا(ع) و امام خمینی (ره) کرمانشاه در سال ۱۳۹۲

فردین ذوقی ملکی[۱]، محمد رضا نهائی[۲]*، نصراله سهرابی[۳]، لعیا رضاوند[۴]

۱. دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر، اهر، ایران.

۲. گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران.

۳. گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران.

۴. دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه،کرمانشاه، ایران.

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

Email: nahaeimr@tbzmed.ac.ir

چکیده

زمینه: سودوموناس آئروژینوزا یکی از شایع‌ترین باکتری‌های گرم منفی عامل عفونت‌های بیمارستانی است. حضور ژن‌های بتالاکتاماز با طیف وسیع نقش مهمی در ایجاد مقاومت سویه‌های مولد این آنزیم‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های خانواده بتالاکتام دارد و میزان مقاومت به این آنتی‌بیوتیک‌ها به طور روزافزون در حال افزایش می‌باشد. در این مطالعه حساسیت آنتی‌بیوتیکی و فراوانی بتالاکتامازهای با طیف وسیع در سودوموناس آئروژینوزاهای جدا شده از نمونه‌های بالینی به روش فنوتیپی مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها: این مطالعه بر روی ۲۰۰ ایزوله سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از نمونه‌های مختلف بالینی بیمارستان‌های امام خمینی (ره) و امام رضا (ع) کرمانشاه در سال ۱۳۹۲ انجام پذیرفت. نمونه‌ها طبق روش‌های استاندارد، کشت و شناسایی شده و تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی نسبت به ۱۴ عامل ضد میکروبی طبق معیارهای CLSI انجام پذیرفت. فراوانی سویه‌های تولیدکننده بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف با روش‌های Combined Disk Test (CDT) و Double Disk Synergy (DDST) Test تعیین گردید.

یافته‌ها: بیشترین و کمترین مقاومت به ترتیب در مقابل آنتی‌بیوتیک‌های سفپودوکسیم (۱۰۰٪) و پیپراسیلین-تازوباکتام (۳۴٪) مشاهده شد. با استفاده از روش‌های CDT و DDST در مجموع ۴۱٪ سویه‌ها ESBL مثبت بودند.

نتیجه‌گیری: با توجه به مقاومت بالای سودوموناس آئروژینوزا نسبت به اکثر آنتی‌بیوتیک‌ها و شیوع رو به افزایش سویه‌های تولیدکننده بتالاکتامازهای با طیف وسیع ، به کارگیری معیارهای کنترل عفونت، پرهیز از مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها و استفاده از پروتکل‌های درمانی مناسب بر اساس تعیین الگوی آنتی‌بیوگرام، امری ضروری می‌باشد.

کلید واژه‌ها: سودوموناس آئروژینوزا، بتالاکتاماز با طیف وسیع ، مقاومت آنتی‌بیوتیکی

مقدمه:

یکی از مهمترین چالش های جدی در سیستم‌های بهداشتی و بخصوص بیمارستان‌ها، بروز عفونت‌های بیمارستانی و افزایش مقاومت‌های آنتی بیوتیکی در عوامل این عفونت‌ها است. سودوموناس آئروژینوزا از عوامل مهم عفونت بیمارستانی است که با مکانیسم‌های مختلفی مانند تجزیه دارو به وسیله آنزیم‌های هیدرولیزکننده، تغییرات در پروتئین‌های اتصالی پنی‌سیلین، تغییرات در ساختار و تعداد پروتئین‌های پورین و فعالیت پمپ‌های افلاکس، در مقابل آنتی بیوتیک‌های مختلف مقاوم می‌شود که تولید آنزیم‌های هیدرولیزکننده، مهمترین مکانیسم محسوب می‌شود. از جمله این آنزیم‌های هیدرولیزکننده، آنزیم‌های بتالاکتاماز است که از طریق هیدرولیز هسته مرکزی آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام باعث غیر فعال شدن آن‌ها می‌شوند[۱و۲]. آنزیم‌های بتالاکتاماز در باکتری‌ها بسیار متنوع هستند و در پاسخ به فشار انتخابی آنتی‌بیوتیک‌ها دائماً در حال موتاسیون و یا جایگزینی اسیدهای آمینه به ویژه در جایگاه فعال آنزیم‌ها هستند به طوری که باعث ظهور انواع جدید از بتالاکتامازهای با طیف وسیع تحت عنوان ESBLs (Extended-Spectrum Beta-lactamases) شده است[۳].

مطابق طبقه بندی Ambler که بتالاکتامازها را به چهار دسته از A, B, C و D طبقه بندی می کند، بتالاکتامازهای با طیف وسیع از کلاس A یا D می‌باشند که دارای سه خصوصیت مشترک هستند: ۱) قادر به هیدرولیز ایمینوسفالوسپورین‌ها در اندازه‌ای برابر یا ده درصد بیشتر از بنزیل پنی‌سیلین‌ها می‌باشند. ۲) در جایگاه فعالشان اسیدآمینه سرین دارند. ۳) به طور معمول به وسیله مهارکننده‌های بتالاکتامازها مثل کلاولانیک اسید و سولباکتام یا تازوباکتام مهار می‌شوند[۴]. یکی از مهم‌ترین استراتژی‌های موفق برای غلبه بر مقاومت بتالاکتامازها، استفاده از ممانعت‌کننده‌های بتالاکتاماز مانند تازوباکتام، سولباکتام و کلاولانیک اسید می‌باشد. این مهارکننده‌ها دارای قدرت اتصال بالا به طور برگشت‌ناپذیر به آنزیم بتالاکتاماز را دارند ولی توسط آنزیم هیدرولیز نمی‌شوند، لذا سبب مهار رقابتی آنزیم فوق می‌گردند[۵]. تعیین گونه‌های مولد ESBLs در بیمارستان‌ها به دو دلیل عمده اهمیت به سزایی دارد: شیوع این سویه‌ها بیش از آن میزانی است که با تست‌های روتین سنجش حساسیت به بتالاکتام‌های وسیع‌الطیف مشخص شودو با توجه به گسترش گونه‌های تولید کننده ESBLs در سرتاسر دنیا، تعیین شیوع این باکتری‌ها در هر مرکزی منطقی به نظر می‌رسد تا بتوان بر اساس آن سیاستی را برای درمان تجربی در موارد پرخطر که احتمال وجود این ارگانیسم بالاست مشخص نمود[۶]. مضافاً این که وجود ارگانیسم‌های تولید کننده ESBLs در یک عفونت بالینی می‌تواند منجر به شکست درمانی شود. بنابراین انتخاب عامل دارویی ضد میکروبی بسیار مهم است. لذا انستیتو استانداردهای بالینی و آزمایشگاهی یا CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) پیشنهاد کرده است که شناسایی درکنار آزمایش‌های آنتی‌بیوگرام، شناسایی ESBLs برای باکتری‌های جدا شده از بیماران صورت گیرد[۷]. برای شناسایی ایزوله های تولید کننده‌ی بتالاکتامازهای با طیف وسیع از روش‌های فنوتیپی و ژنوتیپی استفاده می‌شود. با انجام تست آنتی بیوگرام و تعیین میزان حساسیت به آنتی بیوتیک‌های انتخابی ایزوله های احتمالی تولید کننده‌ی بتالاکتامازهای با طیف وسیع، غربال گری می شوند. در مرحله بعد با استفاده از تست‌های تاییدی Combined Disk Test (CDT) و (DDST) Double Disk Synergy Test وجود این آنزیم‌ها تایید می‌شود. در روش ژنوتیپی با انجام آزمایش PCR ژن های عامل ایجاد این آنزیم‌ها شناسایی می گردد.

با توجه به اهمیت مقاومت آنتی بیوتیکی در عوامل عفونت‌های بیمارستانی و از جمله سودوموناس آئروژینوزا و همچنین ضرورت شناسایی الگوی مقاومت این باکتری، این مطالعه با هدف بررسی میزان شیوع بتالاکتامازهای با طیف وسیع در ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان‌های امام رضا(ع) و امام خمینی (ره) کرمانشاه در سال ۱۳۹۲ انجام شد.

مواد و روش‌ها:

در طی دوره یک ساله از اسفند ۱۳۹۱ تا اسفند ۱۳۹۲ تعداد ۲۰۰ ایزوله سودوموناس‌آئروژینوزا به صورت تصادفی از بیماران بستری در بیمارستان های امام رضا (ع) و امام خمینی(ره) شهر کرمانشاه جمع آوری و جهت تعیین هویت قطعی بر روی محیط کشت Cetremide Agar کشت و در دمای ۴۲ درجه سانتیگراد انکوبه گردیدند و سپس ایزوله ها از نظر تولید اکسیداز و تست OF و رشد در محیط های کشت TSI و سیمون سیترات آگار بررسی شدند. پس از تعیین هویت نهایی به صورت کشت ذخیره در محیط کشت Tripticase Soy Broth با ۲۰ درصد گلیسرول در فریزر ۲۰- درجه سانیگراد جهت انجام مراحل بعدی نگهداری شدند. برای تعیین الگوی حساسیت انتی بیوتیکی سوسپانسیونی معادل نیم مک فارلند از تمام ایزوله ها تهیه و در محیط کشت مولر هینتون آگار (Merck, Germany) کشت داده شد. سپس از دیسک های آنتی بیوتیکی تهیه شده از شرکت Mast شامل ایمیپنم (۱۰µg)، مروپنم(۱۰µg)، آزترونام(۳۰µg)، سفتریاکسون (۳۰µg)، سفپیم (۳۰µg)، سفتازیدیم (۳۰µg)، سفوتاکسیم (۳۰µg)، سفپودوکسیم (۱۰µg)، آمیکاسین (۳۰µg)، جنتامایسین (۱۰ µg)، سیپروفلوکساسین (۵µg)، پیپراسیلین/تازوباکتام (۱۰۰/۱۰ µg)،

نورفلوکساسین (۱۰µg) و لووفلوکساسین (۵µg) جهت آنتی بیوگرام روی محیط مزبور قرار داده و نتایج بعد از ۱۸ الی ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد با استفاده از دستورالعمل CLSI مورد بررسی قرار گرفت[۸]. کلیه ایزوله های مقاوم به یک یا بیشتر از یکی از ۵ آنتی بیوتیک بتالاکتام یعنی سفتریاکسون، سفتازیدیم، سفوتاکسیم، سفپودوکسیم و آزترونام به عنوان تست غربالی مثبت تولید ESBL در نظر گرفته می‌شوند. در مرحله بعد ایزوله های غربالی مثبت با استفاده از تست‌های تاییدی CDT و DDST مورد بررسی قرار گرفتند.

DDST: در این تست دیسک های سفالوسپورین های نسل سوم (آنتی‌بیوتیک‌های ۳۰ میکروگرمی سفتازیدیم، سفوتاکسیم، سفپیم و آزترونام) به فاصله ۲۰ میلی‌متر از یکدیگر و از دیسک آموکسی‌سیلین/کلاولانیک اسید یا کوآموکسی کلاو (آگمنتین) (۲۰µg/۱۰µg) قرار گرفته و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شدند. گسترش منطقه توقف رشد از قسمت سفالوسپورین ها/آزوترونام به طرف کوآموکسی کلاو به عنوان ESBL مثبت تلقی شد[۹]. (شکل ۱).

CDT: در این تست دیسک های سفتازیدیم (۳۰µg) به همراه سفتازیدیم/ کلاولانیک اسید (۳۰µg/۱۰µg) و سفوتاکسیم (۳۰µg) به همراه سفوتاکسیم/ کلاولانیک اسید (۳۰µg/۱۰µg) به فاصله ۲۰ الی ۳۰ میلیمتر از یکدیگر بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار قرار گرفته و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شدند. افزایش ۵ میلی‌متر و یا بیشتر از آن در اندازه قطر هاله عدم رشد در دیسک‌های حاوی مهار کننده نسبت به دیسک‌های بدون مهارکننده، بیانگر مثبت بودن تست تاییدی تولید ESBL بوده و به عنوان نتیجه مثبت ثبت گردید[۱۰]. (شکل ۲). از سویه استاندارد سودوموناس‌آئروژینوزا ATCC 27853 به عنوان کنترل مثبت در این تست‌ها استفاده شد.

یافته ها:

از ۲۰۰ ایزوله سودوموناس‌آئروژینوزا جمع اوری شده ۱۳۵ ایزوله از مرکز اموزشی و درمانی امام رضا (ع) و۶۵ ایزوله از مرکز آموزشی و درمانی امام خمینی(ره) جمع آوری شد که از نمونه های مختلف شامل ۵۱ مورد (۲۵/۵٪) نسج ، ۴۱ مورد (۲۰/۵٪) ادرار ، ۳۰ مورد (۱۵٪) لوله تراشه، ۲۴ مورد (۱۲٪) خلط، ۲۲ مورد (۱۱٪) خون، ۱۸ مورد (۹٪) زخم و ۱۴مورد (۷٪) مایع برونش جدا شده بودند. از مجموع بیماران مورد مطالعه ۹۴ نفر (۴۷٪) مؤنث و ۱۰۶ نفر (۵۳٪) مذکر بودند. نتایج تست آنتی بیوگرام نشان داد که بیشترین مقاومت مربوط به سفپودوکسیم (۱۰۰٪) و کمترین مقاومت مربوط به آنتی بیوتیک‌های پیپراسیلین/تازوباکتام، ایمی پنم و مروپنم به ترتیب با ۳۴٪، ۴۰٪ و ۴۱٪ بود (جدول۱). نتایج تست غربالی تولید ESBL نشان داد که همه‌ی ۲۰۰ ایزوله از نظر این تست مثبت هستند (جدول شماره ۱). ۶۴ ایزوله با استفاده از تست تاییدی CDT مثبت شدند که از این تعداد، ۳۱ایزوله (۴۸/۴٪) فنوتیپ سفتازیدیم و ۳۳ایزوله (۵۱/۶٪) فنوتیپ سفوتاکسیم و ۲۰ ایزوله (۳۱/۲٪) واجد هر دو فنوتیپ بودند. ۶۰ ایزوله با استفاده از تست تاییدی DDST مثبت شدند. در مجموع با استفاده از هر دو تست تاییدی، ۸۲ ایزوله (۴۱٪) از نظر تولید ESBL مثبت بودند.

بحث:

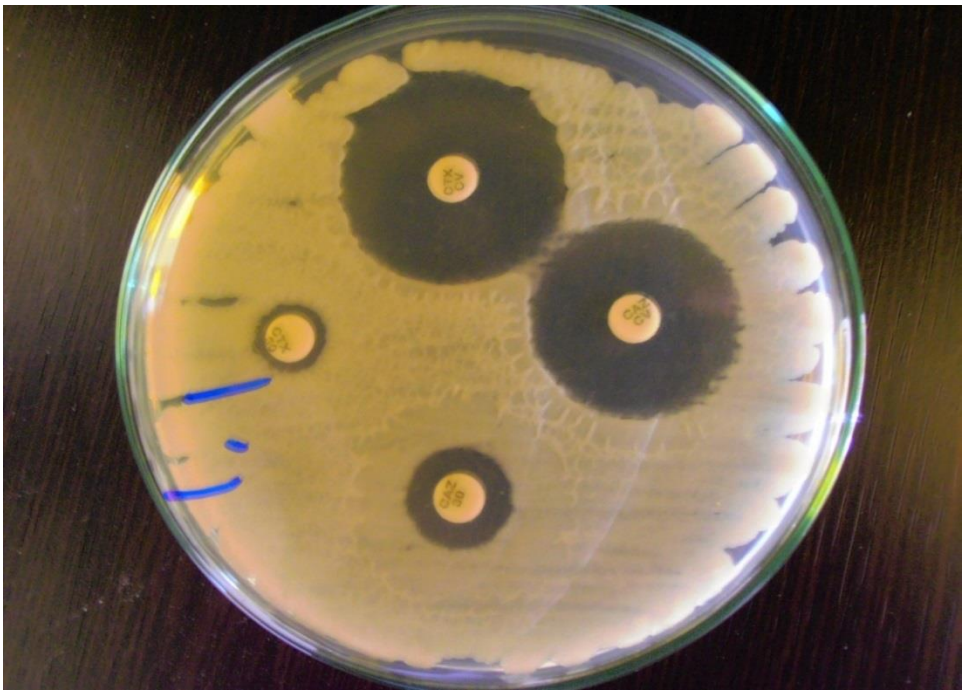
یکی از عوامل مهم در بقای بیماری‌های عفونی، ظرفیت بسیار بالای باکتری‌ها در غلبه بر عملکرد عوامل مهاری است. توانایی بسیاری از باکتری‌ها در بروز مقاومت در برابر عوامل متعدد ضد میکروبی یک تهدید جدی برای درمان‌های ضد میکروبی است که نیازمند اتخاذ تصمیمات منطقی جهت مقابله با این مشکل است [۱۱و۱۲].

سودوموناس آئروژینوزا از عوامل مهم عفونت بیمارستانی است که با مکانیسم های مختلفی مانند تجزیه دارو به وسیله آنزیم‌های هیدرولیزکننده، تغییرات در پروتئین‌های اتصالی پنی‌سیلین، تغییرات در ساختار و تعداد پروتئین‌های پورین و فعالیت پمپ‌های افلاکس ، در مقابل آنتی بیوتیک‌های مختلف مقاوم می‌شوند که تولید آنزیم‌های هیدرولیزکننده و به خصوص بتالاکتامازهای با طیف وسیع یا ESBLs از مهمترین مکانیسم-های مقاومت محسوب می‌شود [۱-۳].

جدول ۱. نتایج تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های جمع‌آوری شده نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های تحت مطالعه

آنتی‌بیوتیک	مقاوم تعداد (درصد)	نیمه حساس تعداد (درصد)	حساس تعداد (درصد)
سفپودوکسیم	۲۰۰ (٪۱۰۰)	۰ (٪۰)	۰ (٪۰)
سفتریاکسون	۱۴۱ (۷۰/۵٪)	۳۶ (٪۱۸)	۲۳ (۱۱/۵٪)
سفوتاکسیم	۱۳۱ (۶۵/۵٪)	۵۲ (٪۲۶)	۱۷ (۸/۵٪)
آزترونام	۱۲۶ (٪۶۳)	۲۹ (۱۴/۵٪)	۴۵ (۲۲/۵٪)
جنتامایسین	۱۲۱ (۶۰/۵٪)	۱۴ (٪۷)	۶۵ (۳۲/۵٪)
آمیکاسین	۱۱۷ (۵۸/۵٪)	۱۵ (۷/۵٪)	۶۸ (٪۳۴)
سفتازیدیم	۱۱۲ (٪۵۶)	۹ (۴/۵٪)	۷۹ (۳۹/۵٪)
نورفلوکساسین	۹۷ (۴۸/۵٪)	۹ (۴/۵٪)	۹۴ (٪۴۷)
سفپیم	۹۶ (۴۸٪)	۱۹ (۹/۵٪)	۸۵ (۴۲/۵٪)
لووفلوکساسین	۹۴ (۴۷٪)	۲۳ (۱۱/۵٪)	۸۳ (۴۱/۵٪)
سیپروفلوکساسین	۹۳ (۴۶/۵٪)	۱۹ (۹/۵٪)	۸۸ (٪۴۴)
مروپنم	۸۲ (۴۱٪)	۳ (۱/۵٪)	۱۱۵ (۵۷/۵٪)
ایمیپنم	۸۰ (۴۰٪)	۸ (٪۴)	۱۱۲ (٪۵۶)
پیپراسیلین-تازوباکتام	۶۸ (۳۴٪)	۰ (٪۰)	۱۳۲ (٪۶۶)

شکل ۱. تست DDST: در ایزوله شماره ۳۴ دیسک‌های سفوتاکسیم، سفپیم، آزترونام و سفتازیدیم با دیسک کوآموکسی کلاو (آگمنتین) حالت سینرژی ایجاد کرده است.



شکل ۲. تست CDT : استفاده از دیسک‌های سفتازیدیم، سفتازیدیم کلاولانیک اسید و سفوتاکسیم، سفوتاکسیم کلاولانیک اسید که اختلاف ۵ میلی متری هاله عدم رشد در دیسک‌های ترکیبی را نشان می‌دهد.

از آنجایی که تجویز آنتی‌بیوتیک‌ها به خصوص در بخش‌های ICU معمولاً به دلیل تعجیل در درمان به طور تجربی صورت می‌گیرد[۱۳] و با در نظر گرفتن این امر که آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام پایه اصلی درمان آنتی‌بیوتیکی را در مراکز درمانی به خوداختصاص می‌دهند، افزایش مقاومت سودوموناس آئروژینوزا نسبت به این داروها و مهارکنندگان بتالاکتاماز در حال افزایش است که فواید بالینی این داروها را به خطر انداخته است[۱۴]. مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها به خصوص سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف و استفاده از روش‌های درمانی تهاجمی مانند سوندهای ادراری و کاتترها از عوامل مؤثر در بروز سویه‌های ESBL هستند[۱۵]. در این مطالعه ما به بررسی میزان شیوع بتالاکتامازهای با طیف وسیع در ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان‌های امام رضا (ع) و امام خمینی (ره) کرمانشاه در سال ۱۳۹۲ پرداختیم.

بر اساس نتایج این مطالعه میزان مقاومت به سفتازیدیم ۵۶٪ بود که در مقایسه با مطالعاتی که در خارج از کشور و در سال‌های ۲۰۱۳ در بنگلادش ۴۶/۷٪ (۱۶)، ۲۰۰۹ در پاکستان ۴۲/۴۵٪ (۱۷) و در سال ۲۰۰۸ در انگلستان ۴۷٪ (۱۸) و همچنین مطالعه دیگری که درسال ۱۳۹۱ توسط توسط افتخار و همکاران (۴۱/۲٪) در ایران و در شهرکرد[۱۹] انجام شده است، مقاومت بالاتری را نشان می‌دهد. اما در مقایسه با مطالعه میرصالحیان در تهران در سال ۱۳۸۷ که میزان مقاومت به سفتازیدیم را ۸۵٪ گزارش کرده است، مقاومت پایین‌تری را نشان می دهد[۲۰]. وجود مقاومت به سفتازیدیم معمولاً همراه با مقاومت به سایر سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف و منوباکتام است. ۱۰۰٪ ایزوله‌های مقاوم به سفتازیدیم در مطالعه ما مقاوم به سفپودوکسیم، ۸۹٪ مقاوم به سفتریاکسون، ۸۵٪ مقاوم به سفوتاکسیم، ۸۱/۴٪ مقاوم به آزترونام و ۶۹/۷٪ مقاوم به سفپیم بودند. در مطالعه میرصالحیان و همکاران سال ۱۳۸۷ در تهران از

۱۰۰٪ ایزوله‌های مقاوم به سفتازیدیم، ۱۰۰٪ به سفپودوکسیم، ۹۰٪ به آزترونام، ۹۱٪ به سفتریاکسون، ۹۸٪ به سفوتاکسیم و ۸۸٪ به سفپیم مقاوم بودند[۲۰] که با مطالعه ما همخوانی دارد.

از نظر مقاومت به پیپراسیلین- تازوباکتام، ۳۴٪ از نمونه‌های مطالعه ما به این آنتی بیوتیک مقاوم بودند که این نتایج نسبت به نتایج مطالعه‌ای که توسط Tawfik و همکاران در سال ۲۰۱۲ در عربستان صورت گرفت و میزان مقاومت به این آنتی بیوتیک را ۲۱/۸٪ گزارش کردند[۲۱] بیشتر است. بر اساس مطالعات انجام شده، پیپراسیلین- تازوباکتام از داروهای موثر بر این باکتری بوده و میزان موارد ESBL را کاهش می‌دهد[۲۲].

از نظر مقاومت در مقابل سایر آنتی بیوتیک‌ها نتایج مطالعه‌ی ما با نتایج مطالعه‌ای که در سال ۱۳۸۹ توسط شجاع پور و همکاران انجام شده و مقاومت آنتی‌بیوتیکی سودوموناس آئروژینوزاهای جدا شده را به جنتامایسین، آمیکاسین، سفتازیدیم، ایمیپنم و سفپیم به ترتیب ۶۸/۶٪، ۶۷/۴٪، ۶۸/۶٪، ۴۸٪ و ۵۲٪ گزارش نموده است[۲۳]، همخوانی دارد اما با نتایج مطالعه مهاجری که در سال ۱۳۸۱ انجام شده و میزان مقاومت به سیپروفلوکساسین (۳۸٪)، جنتامایسین (۵۲٪) و آمیکاسین (۳۸٪) گزارش نموده است[۲۴]، مقاومت بالاتری را نشان می‌دهد که این نتایج نشان دهنده‌ی افزایش مقاومت در طی سال‌های اخیر است.

کارباپنم‌ها جزء داروهای انتخابی برای درمان عفونت ناشی از ایزوله‌های ESBL هستند ولی مقاومت به این موارد نیز در حال افزایش می‌باشد. در مطالعه‌ی ما ۴۰٪ ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا به ایمی پنم مقاوم بودند که نسبت به مطالعه‌ای که توسط Saha که در سال ۲۰۱۰ در کشور هندوستان انجام شده و میزان مقاومت به ایمی پنم را ۳۵/۶٪ گزارش کرده است[۲۵]، مقاومت بیشتری را نشان می‌دهد.

تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز با طیف وسیع یا ESBL، یکی از علل شایع مقاومت ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا به پنی‌سیلین‌ها ، سفالوسپورین‌های مختلف و منوباکتام است[۲۶]. میزان تولید ESBL در ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا مقاوم به سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف از جمله سفتازیدیم در سال‌های گذشته در حال افزایش بوده است. شیوع ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا تولید کننده‌ی بتالاکتاماز با طیف وسیع در مطالعه ما، ۴۱٪ بود که با نتایج مطالعه میرصالحیان در سال ۱۳۸۹ در تهران که میزان شیوع آین آنزیم‌ها را ۴۰٪ گزارش کرده[۲۷]، مشابه است. اما در مقایسه با نتایج مطالعات انجام شده در سال ۲۰۰۷ در بلغارستان (۲۸/۷٪)، ۲۰۱۳ در بنگلادش (۳۷/۸٪) و شکیبایی در ایران و در شهرکرمان (۳۴٪) مقادیر شیوع بالاتر ونسبت به مطالعه انجام شده در چین (۴۵/۳٪) مقادیر شیوع پایین‌تری را نشان داد [۳۰-۲۸و۱۶].

نتیجه‌گیری:

نتایج این مطالعه نشان دهنده‌ی افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی و همچنین افزایش شیوع ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا تولید کننده‌ی بتالاکتامازهای با طیف وسیع است که با توجه به این افزایش، پیشنهاد می‌شود که در زمان عفونت ناشی از این باکتری، از یک بتالاکتام در ترکیب با یک بازدارنده بتالاکتاماز با کمک متخصصین آزمایشگاه وپس از تعیین الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی، مورد استفاده قرار گیرد. بدین طریق از گسترش بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف در بین سویه‌های مختلف باکتریایی کاسته شده و از گسترش عفونت‌های مقاوم و افزایش مرگ و میر در مراکز درمانی پیشگیری می‌شود. از آنجا که روش‌های فنوتیپی CDT و DDST برای تشخیص آزمایشگاهی حضور ESBL ها، روش‌های بسیار کاربردی و مقرون به صرفه‌ای می‌باشند می‌توانند به عنوان یکی از تست‌های روتین در آزمایشگاه‌های میکروب شناسی همراه با تست آنتی بیوگرام مورد استفاده قرار گیرند.

تقدیر و تشکر:

بدین وسیله از همکاری و زحمات بی دریغ سرکار خانم ثریا طرلان، ازپرسنل محترم بیمارستان امام رضا (ع) و آقایان علی محمدی و فرزاد علی پور، از پرسنل محترم بیمارستان امام خمینی(ره) شهر کرمانشاه که جهت جمع آوری و انجام آزمایشات ما را یاری نمودند صمیمانه قدردانی می گردد.

References:

1. Jalalpoor SH, Kasra Kermanshahi R, Noohi AS, Zarkesh Isfahani H. Comparing the frequency of β-lactamase enzyme existence in isolated nosocomial infection bacteria. J Rafsanjan Uni Med Sci 2009; 8(3):203-214. [Persian]
2. Mesa RJ, Blanc V, Blanch AR, Cortes P, Gonzalez JJ, Lavilla S, et al. Extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in different environments (humans, food, animal farms and sewage). J Antimicrob Chemother 2006; 58(1):211-5.
3. Samaha-Kfoury JN, Araj GF. Recent developments in beta lactamases and extended spectrum beta lactamases BMJ 2003; 327(7425):1209-13.
4. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. Antimicrob Agents Chemother 1995; 39(6):1211-33.
5. Baron S. Medical Microbiology. 4rd Ed. New York: Churchill Livingstone; 1996.179-201.
6. Giamarellou H. Multidrug resistance in Gram-negative bacteria that produce extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs). Clin microbiol infec 2005; 11(l4):1-16.
7. Blondeau JM. Extended-spectrum beta-lactamases. Semin Respir Infect 2001; 16(3):169-76.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI): Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Twenty Second Information Supplement M100-S22. Wayne, PA: CLSI, 2012.
9. Köseoğlu O, Kocagöz S, Gür D, Akova M. Nosocomial bloodstream infections in a Turkish university hospital: study of Gram-negative bacilli and their sensitivity patterns. Int J Antimicrob Agents 2001; 17(6):477-81.
10. Medeiros AA. Evolution and dissemination of beta-lactamases accelerated by generations of beta-lactam antibiotics. Clin Infect Dis 1997; 24(1): 19-45.
11. Bradford PA. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. Clin Microbiol Rev 2001; 14(4):933-51.
12. Al-Jasser AM. Extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs): a global problem. Kuwait Med J 2006; 38(3):171-85.
13. Helfand MS, Bonomo RA. Beta-lactamase: A survey of protein diversity. Infect Disord Drug Targets 2003; 3(1):9-23.
14. Philippon A, Arlet G, Jacoby GA. Plasmid-determined AmpC-type beta-lactamases. Antimicrob Agents Chemother 2002; 46(1):1-11.
15. Rupp ME, Fey PD. Extended spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Enterobacteriaceae*: considerations for diagnosis, prevention and drug treatment. Drugs 2003; 63(4):353-65.
16. Begum S, Salam MA, Alam KhF, Begum N, Hassan P, Haq JA. Detection of extended spectrum β-lactamase in *Pseudomonas spp*. isolated from two tertiary care hospitals in Bangladesh. MC Res Notes 2013; 5(6):7.
17. Ullah F, Malik SA, Ahmed J. Antimicrobial susceptibility and ESBL prevalence in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients in the North West of Pakistan. Burns 2009; 35(7):1020-5.
18. Woodford N, Zhang J, Kaufmann ME, Yarde S, Tomas Mdel M, Faris C, et al. Detection of *Pseudomonas aeruginosa* isolates producing VEB-type extended-spectrum beta-lactamases in the United Kingdom. J Antimicrob Chemother 2008; 62(6):1265-8.
19. Eftekhar F, Rastegar M, Golalipoor M, Mansouri Samaei N. Detection of Extended Spectrum B-Lactamases in Urinary Isolates of *Klebsiella pneumoniae* in Relation to Bla, Bla and Bla Gene Carriage. Iranian J pub Health 2012; 41(3):127-32.
20. Mirsalehian A, Feizabadi M, Akbari Nakhjavani F, Jabalameli F, Goli H. Prevalence of extended spectrum beta lactamases among strains of *Pseudomonas aeroginosa* isolated from burn patients. Tehran uni Med J 2008; 66(5):333-37. [Persian]
21. Tawfik AF, Shibl AM, Aljohi MA, Altammami MA, Al-Agamy MH. Distribution of Ambler class A, B and D beta-lactamases among *Pseudomonas aeruginosa* isolates. Burns 2012; 38(6):855-60.
22. Thauvin-Eliopoulos C, Tripodi MF, Moellering RC, Jr., Eliopoulos GM. Efficacies of piperacillin-tazobactam and cefepime in rats with experimental intra-abdominal abscesses due to an extended-spectrum beta-lactamase-producing strain of *Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob Agents chemother 1997; 41(5):1053-7.
23. Shojapour M, Shariati L, Karimi A, Zamanzad B. Prevalence of TEM-1 type beta-lactamase genes in *Pseudomonas aeroginosa* strains isolated from burn infections using Duplex PCR in Shahrekord, 2008. Arak Med Uni J 2011; 14:55-61. [Persian]
24. Mohajeri P. Antibiotic susceptibility and resistance patterns of *pseudomonas aeruginosa* strains isolated from different clinical specimens in patients referred to the teaching hospitals in Kermanshah (2001-2). J Kermanshah Uni Med Sci 2003; 4:11-20. [Persian]
25. Saha R, Jain S, Kaur IR. Metallo beta-lactamase producing *pseudomonas* species--a major cause of

concern among hospital associated urinary tract infection. J Indian Med Assoc. 2010; 108(6):344-8.

26. Nordmann P, Guibert M. Extended-spectrum beta-lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*. J antimicrob chemother 1998; 42(2):128-31.

27. Mirsalehian A, Feizabadi M, Nakhjavani FA, Jabalameli F, Goli H, Kalantari N. Detection of VEB-1, OXA-10 and PER-1 genotypes in extended-spectrum beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from burn patients. Burns 2010; 36(1):70-4.

28. 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(7):956-63.

29. Shakibaie M, Shahcheraghi F, Hashemi A, Saeed AN. Detection of TEM, SHV and PER type extended-spectrum beta-lactamase gene among clinical strains of *Pseudomonas aeroginosa* isolated from burnt patient at Shafa-Hospital, Kerman, Iran. Iranian Journal of Basic Medical Sciences (IJBMS) 2008; 11(2):104-11.

30. Jiang X, Zhang Z, Li M, Zhou D, Ruan F, Lu Y. Detection of extended-spectrum beta lactamases in clinical isolates of *Pseudomonas aeroginosa*. Antimicrob Agents Chemother 2006; 50(9): 2990-95.

JCRPS Journal of Clinical Research in Paramedical Sciences, Vol 4, No 3, Autumn2015 Original Article

Prevalence of Extended-Spectrum Beta-lactamases (ESBLs) in *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from Hospitalized Patients in Imam Reza and Imam Khomeini hospitals in Kermanshah, 2013

Fardin Zoghi Maleki[1], Mohammad Reza Nahaei[*2], Nasrollah Sohrabi[3], Laya Rezavand[4]

1. Faculty of Basic Sciences, Ahar Islamic of Azad University, Ahar, Iran.
2. Department of Microbiology, School of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.
3. Department of Medical Laboratory Sciences, School of Paramedicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran.
4. Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran.

[*]**Corresponding Author:** Tabriz, Tabriz University of Medical Sciences, School of Medicine, Department of Microbiology.
Email: nahaeimr@tbzmed.ac.ir

Abstract

Background: *Pseudomonas aeruginosa* is one of the most common Gram negative bacteria involved in nosocomial infections. Presence of Extended-spectrum Beta-lactamases (ESBLs) genes, play an important role in induction of resistance in beta-lactamase producing species to beta lactam antibiotics. Frequency of resistance to these antibiotics is increasing. In this study, antibiotic sensitivity and frequency of ESBLs in *Pseudomonas aeruginosa* which had been isolated from clinical specimens, was assessed by phenotypic methods.

Methods: This study was performed on 200 isolated *Pseudomonas aeruginosa* from clinical specimens in Imam Khomeini and Imam Reza hospitals, Kermanshah during 2013. Specimens were determined and cultured by standard conventional methods. Antibiotic sensitivity test on 14 antibacterial agents was performed according to CLSI criteria. Then, frequency of ESBLs producing isolates was determined by Combined Disk Test (CDT) and Double Disk Synergy Test (DDST) methods.

Results: This study revealed that the highest and lowest resistance rate were against to cefpodoxime (100%) and piperacilin-tazobactam (34%), respectively. Using CDT and DDST methods, 41% of isolates were ESBL positive.

Conclusion: Considering high resistance rate of *Pseudomonas aeruginosa* to majority of antibiotics and increasing frequency of ESBLs producing isolates, we need for infection control criteria and use of appropriate therapeutic protocols according to antibiogram test patterns.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, Extended-Spectrum Beta-lactamases, Antibiotic resistance

How to cite this article

Zoghi Maleki F, Nahaei MR, Sohrabi N, Rezavand L. Prevalence of Extended-Spectrum Beta-lactamases (ESBLs) in *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from Hospitalized Patients in Imam Reza and Imam Khomeini hospitals in Kermanshah, 2013. J Clin Res Paramed Sci 2015; 4(3):179-187.