مقاله پژوهشی

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

نویسندگان:

جواد ادبی[۱]، شهرام شهرکی زاهدانی[۱]، محمد بکائیان[۱]، حامد طهماسبی[۱*]

۱- گروه میکروب‌شناسی، 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 خطرساز 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 آئروژینوای 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 آزترئونام 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 مقامت 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 بتالاکتام ها، دقت بیشتر در امر تجویز دارو و درمان عفونت‌های وابسته به این باکتری را طلب می‌کند.

واژگان کلیدی: سودوموناس آئروزینوزا، بتالاکتاماز، ESBL، مقاومت آنتی‌بیوتیکی

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

مقدمه:

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 [۵،۴]. این در حالی است که بیشتر این باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های متنوعی مقاومت پیداکرده‌اند که باعث می‌شود در گروه مقاوم به چنداروها (MDR) جای بگیرند [۶ , ۷]. آنتی‌بیوتیک‌هایی که برای درمان عفونت سودوموناسی به کار می‌روند شامل پنی‌سیلین‌های با طیف وسیع (کاربنیسیلین، تیکارسیلین و پیپراسیلین)، سفالوسپورین های با طیف وسیع (سفتازیدیم و سفپیم)، کارباپنم‌ها، آمینوگلیکوزیدها، فلوروکینولون‌ها و آزترئونام هستند؛ اما ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا که به این عوامل مقاومت نشان می‌دهند در حال افزایش است [۵ و۶]. در بین این مقاومت‌های دارویی، مقاومت نسبت به بتالاکتام ها نگرانی جدی

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

تلفن تماس: ۰۹۱۸۳۱۹۵۶۴۵ پست الکترونیک:h.tahmasebi87@yahoo.com

دریافت: ۱۳۹۵/۵/۱ اصلاح: ۱۳۹۵/۱۲/۲۱ پذیرش: ۱۳۹۶/۹/۱۳

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 بااین‌وجود 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 پنی‌سیلین‌ها، سفالوسپورین‌ها (نسل اول، دوم، سوم) و آزترئونام محافظت نموده ولی قادر به هیدرولیز سفامایسین ها و کرباپنم ها نمی‌باشند. در واقع این آنزیم‌ها جهش‌یافته‌هایی هستند که از جایگزینی یک یا تعداد بیشتری اسیدآمینه در توالی آمینواسیدی بتالاکتامازهای اولیه (SHV-1, TEM-1, TEM-2) حاصل‌شده‌اند. با این که میزان جایگزینی اسیدآمینه 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، مشخص‌شده 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٪ 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 این‌رو 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 به‌صورت محرمانه ثبت شد و هیچ کدام در گزارش‌های اصلی وارد نشد. سپس نمونه‌های جمع‌آوری‌شده 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 میکروب‌شناسی 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 Cetremide (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 TSIو 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 Tripticase Soy Broth (Merck آلمان) با ۱۵٪ گلیسرول در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد برای انجام مراحل بعدی نگهداری شدند[۲۰].

تعیین سویه‌های تولیدکننده بتالاکتامازهای با طیف وسیع:

برای تعیین سویه‌های سودوموناس آئروژینوزای تولیدکننده آنزیم‌های بتالاکتامازهای با طیف وسیع از روش دیسک ترکیبی با کلاولانیک 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 سفتازیدیم ۳۰ میکروگرم به فاصله ۳۰ میلی‌متر از دیسک سفتازیدیم ۳۰ میکروگرم/کلاولانیک اسید ۱۰ میکروگرم و دیسک سفپودوکسیم ۳۰ میکروگرم به فاصله ۳۰ میلی‌متر از دیسک سفپودوکسیم/کلاولانیک اسید ۱۰ میکروگرم روی محیط قرارگرفته (تمامی دیسک‌ها MAST انگلستان). مطابق استاندارد CLSI قطر هاله‌ها بررسی و قطر هاله عدم رشد در اطراف هر یک از دیسک‌های کلاولانیک اسید بیشتر یا مساوی با ۵ میلی‌متر در مقابل دیسک‌های فاقد کلاولانیک 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 ایمیپنم (۱۲ میکروگرم)، مروپنم (۱۲ میکروگرم)، آزترئونام (۳۲ میکروگرم)، سفتریاکسون (۳۲ میکروگرم)، سفپیم (۳۲ میکروگرم)، سفتازیدیم (۳۲ میکروگرم)، سفوتاکسیم (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 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 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 بتالاکتامازهای 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 تجزیه‌وتحلیل شدند. $P\leq ۰/۰۵$ به‌عنوان سطح معناداری آماری در نظر گرفته شد.

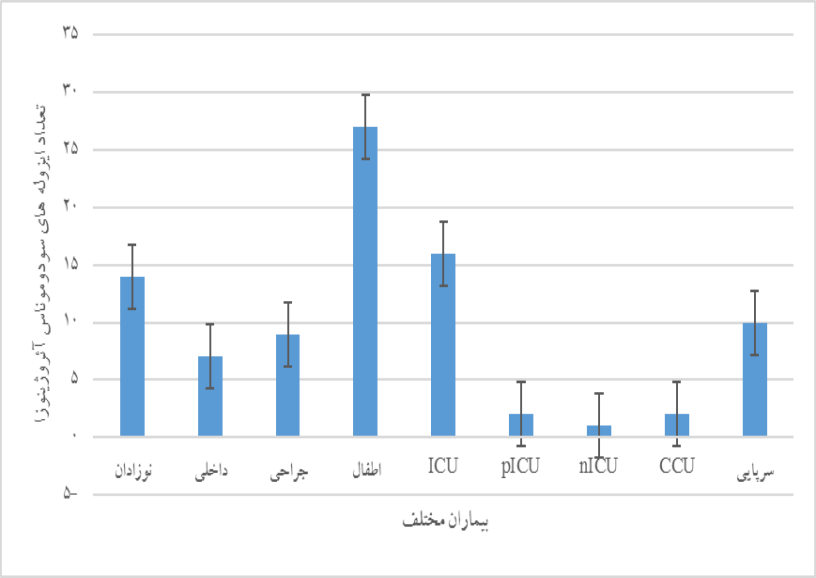
یافته‌ها:

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).

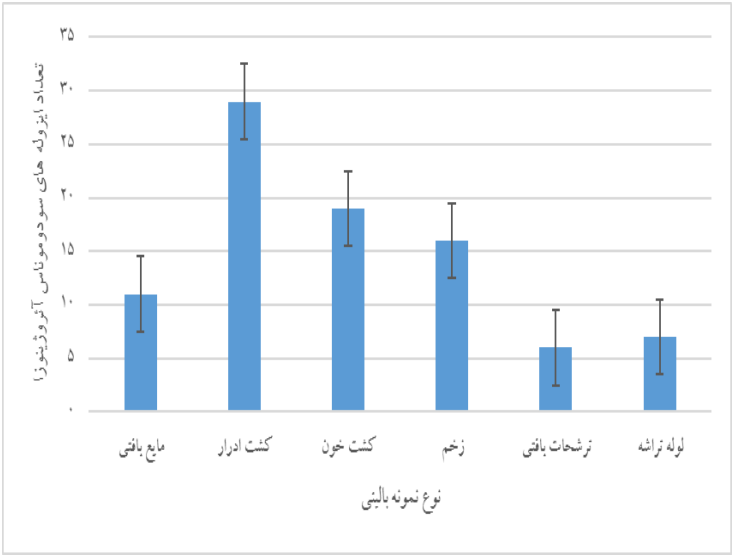
بیشترین نمونه‌هایی که از نظر آلودگی به باکتری سودوموناس آئروژینوزا مورد جداسازی باکتریایی قرار گرفته بودند، از کشت ادرار و کشت خون بودند (نمودار ۲). از نظر الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی بیش از ۹۰٪ ایزوله‌ها به سفوکسیتین و سفپودوکسین مقاوم بودند. ایزوله‌ها از نظر آنتی‌بیوتیک‌های آزترئونام و سیپروفلوکساسین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

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

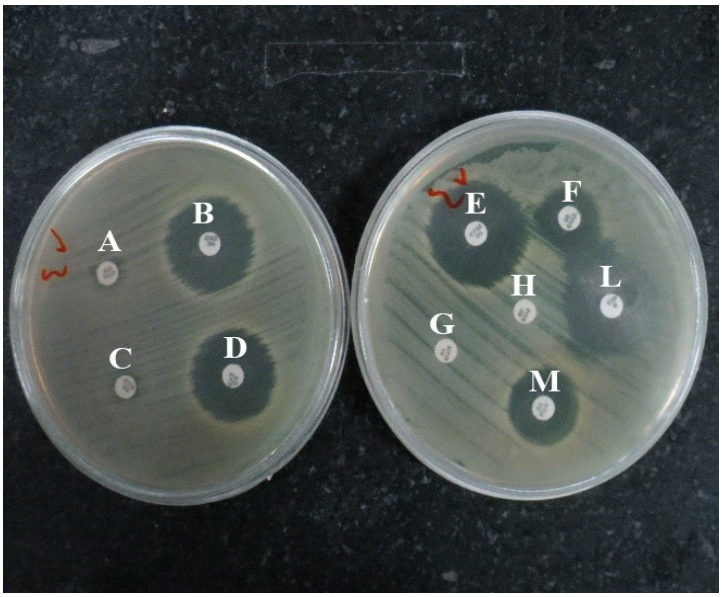
جنس	سودوموناس آئروژینوزا (n=۸۸)		P value
	ایزوله‌های ESBL تعداد (درصد)	ایزوله‌های غیر ESBL تعداد (درصد)	
مرد	۱۴ (۵۱/۸۵)	۱۳ (۴۸/۱۵)	۰/۰۱۹
زن	۳۷ (۶۰/۶۵)	۲۴ (۳۹/۳۵)	



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



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



تصویر۱: 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: سفتازیدیم، B: سفتازیدیم-کلاولانیک اسید، C: سفپودوکسیم، D: سفپودوکسیم-کلاولانیک اسید، E: سفوتتان، F: آزترئانوم، G: سفوتاکسیم، H: سفوکسیتین، L: سفتریاکسون، M: سیپروفلوکساسین.

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

آنتی‌بیوتیک	سودوموناس آئروژینوزا (n=۸۸)						P.Value
	ESBL (n=۵۱)			غیر ESBL (n=۲۷)			
	مقاوم تعداد (درصد)	نیمه حساس تعداد (درصد)	حساس تعداد (درصد)	مقاوم تعداد (درصد)	نیمه حساس تعداد (درصد)	حساس تعداد (درصد)	
سفوکسیتین	۴۹ (۹۶)	۲ (۴)	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	۳ (۱۴)	۲۴ (۸۸)	۰/۰۳۲
سفتازیدیم	۸ (۱۵)	۰ (۰/۰)	۴۳ (۸۵)	۰ (۰/۰)	۲ (۸)	۲۵ (۹۲)	۰/۰۴۱
سفتریاکسون	۲۷ (۵۲)	۱۶ (۳۱)	۹ (۱۷)	۱ (۴)	۱ (۴)	۲۵ (۹۲)	۰/۰۱۲
سفوتاکسیم	۴۹ (۹۶)	۲ (۴)	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	۲ (۸)	۲۵ (۹۲)	۰/۰۱۹
سفوتتان	۱۵ (۳۰)	۲ (۳)	۳۴ (۶۷)	۰ (۰/۰)	۶ (۲۳)	۲۱ (۷۷)	۰/۰۳۹
سفپودوکسین	۵۰ (۹۹)	۱ (۱)	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	۲ (۸٪)	۲۵ (۹۲)	۰/۰۵
آزترئونام	۴ (۸)	۵ (۹)	۴۲ (۸۳)	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	۲۷ (۱۰۰)	۰/۰۲۹
سیپروفلوکساسین	۴ (۸)	۳ (۷)	۴۳ (۸۴)	۰ (۰/۰)	۴ (۱۵)	۲۳ (۸۵)	۰/۰۳۸

بحث:

بتالاکتامازها سیستم دفاعی مهمی برای باکتری‌ها در برابر آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتامی محسوب می‌شوند. این سیستم مقاومتی هم در باکتری‌های گرم منفی و هم در باکتری 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 گسترده ایی نسبت به این گروه از آنتی 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 منحصربه‌فرد این باکتری نسبت داد. در بررسی حاضر نیز حضور این باکتری در بیماران بستری در بخش‌های مختلف نیز دیده شد، به‌طوری‌که در نمونه‌های کشت خون و کشت ادرار نیز دیده شد. این امر نشان‌دهنده نقش سودوموناس آئروژینوزا در بیماری‌های دستگاه

ادراری است. نتایج به‌دست‌آمده بر اساس طیف گستردگی این باکتری با مطالعات توجهی 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 آنزیم‌های 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 ها می‌باشند. در مطالعه حاضر که فراوانی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ۸۸ ایزوله سودوموناس آئروژینوزا بررسی شد، شیوع مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های سفتازیدیم ۱۵٪، سیپروفلوکساسین ۸٪، سفوتتان ۳۰٪، سفوکسیتین ۹۶٪، سفپودوکسین ۹۹٪، سفتریاکسون ۵۲٪ و آزترئونام ۸٪ به دست آمد. مقاومت‌های بسیار بالا در آنتی‌بیوتیک‌های سفوکسیتین و سفپودوکسین در این مطالعه به دلیل تعیین سویه‌های ESBL حائز اهمیت است. میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های سفتازیدیم 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٪ گزارش‌شده است که نشان‌دهنده کمتر بودن مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در مطالعه حاضر است. [۲۳]. مطالعات انجام‌گرفته در کشورهای مختلف نشان‌دهنده افزایش میزان مقاومت به سفتازیدیم 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٪ گزارش‌شده است [۳۰].

مقاومت به بتالاکتام در بسیاری از مطالعات با شیوع بسیار بالایی در سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا گزارش‌شده 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 سفپودوکسیم با گزارش‌های آپادیا و همکاران در سال ۲۰۰۹ که بیان‌کننده شیوع بالای سویه‌های ESBL سودوموناس آئروژینوزا است، مطابقت دارد. در این مطالعه میزان مقاومت به سفوکسیتین و فراوانی سویه‌های ESBL ۱۰۰٪ گزارش‌شده 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٪ گزارش‌شده 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 آنزیم‌های 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 میکروب‌شناسی 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.

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 β-lactamase and metallo-β-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-Marte, 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, Eftekhar 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. Taghvaee 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 OPrL, 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 otherantibiotics 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, Alaghehbandan 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 suspceptibility and antibiotic resistance from clinical different spciemen 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-β-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 Antibiogram 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 Idetify 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.

Original Article

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

Javad Adabi[1], Shahraki Zahedani[1], Mohammad Bokaeian[1], Hamed Tahmasebi[*1]

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