مقاله پژوهشی

ارزیابی مقاومت کارباپنمازی در سودوموناس‌آئروژینوزا و باکتری های خانواده انتروباکتریاسه جدا شده از نمونه‌های بالینی با استفاده از روش‌های فنوتیپی

نویسندگان:

تهمینه ابراهیم زاده شیراز*[1]، هادی رضائی یزدی[2]، مهدی علیجانیان‌زاده[3]

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 عفونت‌های چند مقاومتی سودوموناس‌آئروژینوزا قرار گرفته‌اند و آخرین سد عفونت‌های وخیم با پاتوژن‌های خانواده انتروباکتریاسه می‌باشند اما مقاومت کارباپنمازی در حال افزایش است. بنابراین مقاومت روزافزون نسبت به کارباپنم‌ها مشکلاتی را به وجود آورده است لذا بررسی‌های جدید در رابطه با مقاومت کارباپنمازی مشهود است.

روش‌کار: در این مطالعه ۱۹۶ نمونه بالینی شامل باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه و سودوموناس‌آئروژینوزا از مراجعه‌کنندگان به بیمارستان‌های شهر تهران جمع‌آوری شد و با روش‌های تشخیصی فنوتیپی و بیوشیمیایی مورد تایید قرار گرفتند و حساسیت آنتی‌بیوتیکی تمامی باکتری‌ها به روش دیسک دیفیوژن مطابق با استاندارد CLSI بررسی و گزارش گردید.

یافته‌ها: از مجموع ۱۹۶ باکتری جمع‌آوری شده، میزان مقاومت به مروپنم ۳۹/۷۹٪ و ایمی‌پنم ۴۵/۹۱٪ بود و ۳۰/۱۰٪ نیز به مروپنم و ایمی‌پنم مقاومت نشان دادند. میزان مقاومت به تفکیک باکتری‌ها بدین صورت بود، سودوموناس‌آئروژینوزا میزان مقاومت به مروپنم ۳۹/۶۲٪ و ایمی‌پنم ۴۳/۳۹٪، در خانواده انتروباکتریاسه میزان مقاومت به مروپنم و ایمی‌پنم به تفکیک بدین صورت بود، سالمونلا میزان مقاومت به مروپنم ۰٪ و ایمی‌پنم ۵۰٪، سیتروباکترکوسری میزان مقاومت به مروپنم ۰٪ و ایمی‌پنم ۵۰٪، سیتروباکترفروندی میزان مقاومت به مروپنم ۲۸/۵۷٪ و ایمی‌پنم ۲۸/۵۷٪، اشریشیاکلی میزان مقاومت به مروپنم ۳۹/۷۰٪ و ایمی‌پنم ۴۷/۰۵٪، کلیبسیلااوکسی‌توکا میزان مقاومت به مروپنم ۴۶/۶٪ و ایمی‌پنم ۴۰٪ و کلیبسیلاپنومونیه میزان مقاومت به مروپنم ۳۴/۱۴٪ و ایمی‌پنم ۵۳/۶۵٪ بود.

نتیجه‌گیری: مقاومت به کارباپنم‌ها در درمان سودوموناس‌آئروژینوزا و خانواده انتروباکتریاسه در کشور ما در حال گسترش است از این رو بایستی در مصرف این آنتی‌بیوتیک‌ها به طرز صحیح و معقول عمل شود.

واژگان کلیدی: کاربانپم، سودوموناس‌آئروژینوزا، انتروباکتریاسه، فنوتیپی

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

مقدمه:

کاربانپم‌ها موفق‌ترین آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتامی هستند که در ساختمان شیمیایی آن‌ها حلقه‌ی بتالاکتام وجود دارد. این آنتی-بیوتیک‌ها باکتریوسید هستند و از طریق مهار سنتز پپتیدوگلیکان دیواره سلولی باکتری عمل می‌کنند و محل عملکرد آن‌ها مرحله آخر سنتز دیواره سلولی یعنی کراس لینکینگ بین زنجیره‌های پپتیدوگلیکان است. کاربانپم‌ها مانند ایمی‌پنم و مروپنم داروهایی مهم و با طیف اثر بسیار گسترده و پایدار نسبت به بتالاکتامازها هستند که در درمان مقاومت‌های دارویی به ویژه در گرم منفی‌ها کاربرد دارند که تا حدودی از دسترس مقاومت باکتریایی در امان مانده‌اند اما به تازگی مقاومت اکتسابی روزافزون نسبت به کاربانپم‌ها مشکلاتی را به وجود آورده است[۱]. به‌طوری‌که مقاومت آنتی‌بیوتیکی در پاتوژن‌های باکتریایی یک تهدید جدی

* 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 اصلاح: ۹۵/۱۰/۸ پذیرش: ۹۵/۱۲/۸

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 کاربانم به دو روش یعنی ایجاد آنزیم هیدرولیز کننده (بتالاکتامازها) و کاهش یافتن میل اتصال آنتی-بیوتیک به جایگاه فعال PBPS که در اثر جهش ایجاد می‌شود ولی مهم‌ترین مکانیسمی که در باکتری‌های گرم منفی علیه آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام به‌کار گرفته می‌شود تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز است که با هیدرولیز کردن هسته مرکزی آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام 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 کاربانم‌ها می‌باشند، گروه A که سرین کاربانمازها هستند، گروه B بتالاکتامازهای وابسته به روی، گروه D که همان سرین کاربانمازها هستند[۶].

در نیمه دوم قرن اخیر سودوموناس‌آئروژینوزا یک پاتوژن بیمارستانی مهم تلقی می‌شود. این باکتری سومین علت عفونت بیمارستانی و دومین علت عفونت زخم سوختگی است[۷]. سودوموناس‌آئروژینوزا یک باکتری بیماری‌زای فرصت‌طلب گرم منفی است به طوری که میزان مرگ و میر برای کسانی که دچار باکتری سودوموناس‌آئروژینوزا شده‌اند نزدیک به ۵۰٪ گزارش شده است یکی از مشخصات سودوموناس‌آئروژینوزا مقاومت بالا نسبت به انواع آنتی‌بیوتیک‌ها است[۸ و ۹]، به‌طوری‌که مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک ایمی‌پنم که در خط دوم درمان عفونت‌های ناشی از سویه‌های چند مقاومتی سودوموناس‌آئروژینوزا 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 طوری‌که 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 کاربانم‌ها آخرین سد دفاعی و تیکه‌گاه درمان عفونت‌های وخیم با این پاتوژن‌ها می‌باشد بنابراین مقاومت خانواده انتروباکتریاسه با آنتی‌بیوتیک‌های کاربانم می‌تواند زنگ خطری در درمان عفونت‌های ناشی از ارگانیسم‌های این خانواده باشد[۱۲].

از روش‌های قابل انجام برای شناسایی کاربانماز می‌توان به آزمون هوچ اشاره کرد. حساسیت و ویژگی و صرف زمان کم می‌تواند در بررسی‌های اولیه‌ی سنجش کاربانماز 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 کاربانم‌ها در درمان عفونت‌های ناشی از سودوموناس‌آئروژینوزا و خانواده انتروباکتریاسه، مطالعه حاضر با هدف بررسی‌های جدید در رابطه با لزوم آگاهی از شیوع مقاومت کاربانم‌ها در باکتری سودوموناس‌آئروژینوزا و خانواده انتروباکتریاسه جدا شده از نمونه‌های بالینی انجام گردید.

روش‌کار:

مطالعه حاضر که به صورت توصیفی- مقطعی به منظور بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی کاربانمازی در خانواده انتروباکتریاسه و سودوموناس‌آئروژینوزا 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 سودوموناس‌آئروژینوزا جمع‌آوری و سپس نمونه‌ها بر اساس جنسیت و سن افرادی که نمونه‌ها از آن‌ها گرفته شده بود دسته‌بندی گردید و به آزمایشگاه میکروب‌شناسی 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 مک‌کانکی 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 سیمون‌سیترات، MRVP، TSI، SIM انجام شد و نمونه‌ها با توجه به جدول واکنش‌های بیوشیمیایی خانواده انتروباکتریاسه و سودوموناس‌آئروژینوزا تعیین هویت گردیدند و به منظور تائید نهایی به بررسی نمونه‌ها با رنگ‌آمیزی گرم در زیر میکروسکوپ پرداخته شد.

۱۹۶ نمونه شامل سودوموناس‌آئروژینوزا 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

ایمی‌پنم (۱۰ میکروگرم)، سفتازیدیم (۳۰ میکروگرم)، مروپنم (۱۰ میکروگرم)، سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرم)، پیپراسیلین (۱۰۰ میکروگرم)، تیکارسیلین (۷۵ میکروگرم)، آزترونام (۳۰ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، آمیکاسین (۳۰ میکروگرم)، افلوکساسین(۵ میکروگرم)، لووفلوکساسین (۵ میکروگرم) با استفاده از محیط مولرهینتون 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 (۱/۵ ×۱۰۸ cfu/ml) تهیه شد و سپس به وسیله سواپ استریل در سطح پلیت حاوی محیط مولرهینتون 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 مولرهینتون براث از سوسپانسیون باکتری Ecoli ATCC 25922 با رقت نیم-مک‌فارلند و کشت چمنی با سواپ استریل از سوسپاسیون باکتری Ecoli ATCC 25922 با رقت $\frac{1}{10}$ بر روی محیط مولرهینتون آگار و انکوبه کردن به مدت ۵-۳ دقیقه در دمای اتاق به منظور خشک شدن کشت انجام شده سپس یک دیسک مروپنم (مروپنم ۱۰میکروگرم) در مرکز پلیت قرار داده شده و سپس باکتری مورد بررسی از لحاظ داشتن آنزیم کارباپنماز 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 ایمی‌پنم از لحاظ تولید آنزیم کارباپنماز 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.

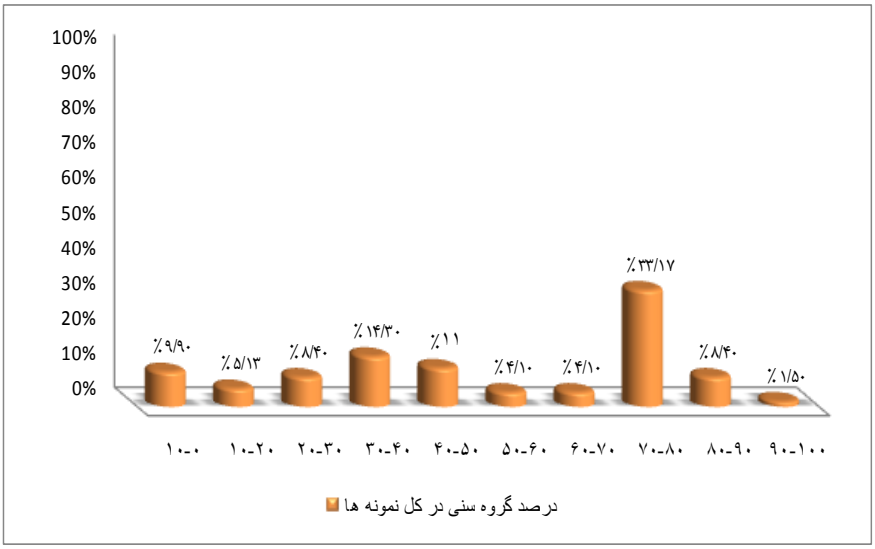
یافته‌ها:

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 (۱۷/۳۳٪) و سپس در گروه سنی ۴۰-۳۰ سال (۳۰/۱۴٪) و کمترین آن‌ها در گروه سنی ۹۰-۱۰۰ سال (۵/۱٪)قرار داشتند (نمودار ۱).

از بین ۱۹۶ نمونه به صورت کلیبسیلاپنومونیه ۲۰/۹٪، سالمونلا ۲٪، سودوموناس‌آئروژینوزا ۲۸٪، پروتئوس میرابیلیس ۱٪، سیتروباکترفروندی ۳/۵٪، سیتروباکترکوسری ۳٪، اشریشیاکلی ۶۹/۳۴٪ و کلبسیلااوکسی‌توکا ۷٪ که بیشترین درصد فراوانی در بین نمونه‌ها به باکتری اشریشیاکولای از خانواده انتروباکتریاسه اختصاص گرفت و بعد از آن سودوموناس‌آئروژینوزا در جایگاه دوم قرار گرفت (جدول۱).

بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی، میزان مقاومت به مروپنم ۲۲/۳۶٪ و به ایمی‌پنم ۴۵/۹۱٪ بود. همچنین از بین نمونه‌ها ۱۰/۳۰٪ هم به مروپنم و هم به ایمی‌پنم مقاومت نشان داد (جدول ۲) به-طوری‌که در سودوموناس‌آئروژینوزا میزان مقاومت به مروپنم ۶۲/۳۹٪ و ایمی‌پنم ۴۳/۳۹٪ بود و در خانواده انتروباکتریاسه میزان مقاومت به مروپنم و ایمی‌پنم به تفکیک بدین صورت بود سالمونلا میزان مقاومت به مروپنم ۰٪ و ایمی‌پنم ۵۰٪، سیتروباکترکوسری میزان مقاومت به مروپنم ۰٪ و ایمی‌پنم ۵۰٪، سیتروباکترفروندی میزان مقاومت به مروپنم ۲۸/۵۷٪ و ایمی‌پنم ۲۸/۵۷٪، اشریشیاکلی میزان مقاومت به مروپنم ۳۹/۷۰٪ و ایمی‌پنم ۴۷/۰۵٪، کلیبسیلااوکسی‌توکا میزان مقاومت به مروپنم ۴۶/۶٪ و ایمی‌پنم ۴۰٪ و کلیبسیلاپنومونیه میزان مقاومت به مروپنم ۳۴/۱۴٪ و ایمی‌پنم 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 لووفلوکساسین در جایگاه کم‌ترین میزان مقاومت (۶۸٪) قرار داشت (جدول ۳).

در آزمون هوچ رشد باکتری مورد سنجش (سودوموناس‌آئروژینوزا و خانواده انتروباکتریاسه) در برابر باکتری حساس (اشریشیاکلی)به دیسک آنتی‌بیوتیک (مروپنم و یا ارتاپنم) کشت داده شد وهاله عدم رشد برگ شبدری باکتری حساس (اشریشیاکلی) بررسی شد که نشانه مثبت بودن باکتری مورد سنجش از نظر تولید آنزیم کارباپنماز بود (شکل ۱).



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	کلبسیلا پنومونیه	٪۲۰/۹	٪۳۴/۱۴	٪۵۳/۶۵
	کلبسیلااوکسی‌توکا	٪۷	٪۴۶/۱۶	٪۴۰
اشریشیا کلی		٪۳۴/۶	٪۳۹/۷۰	٪۴۷/۰۵
سیتروباکتر	سیتروباکتر فروندی	٪۳/۵	٪۲۸/۵۷	٪۲۸/۵۷
	سیتروباکتر کوسری	٪۳	٪۰	٪۵۰
سالمونلا		٪۲	٪۰	٪۵۰
سودوموناس‌آئروژینوزا		٪۲۸	٪۳۹/۶۲	٪۴۳/۳۹
پروتئوس میرابلیس		٪۱	٪۰	٪۰

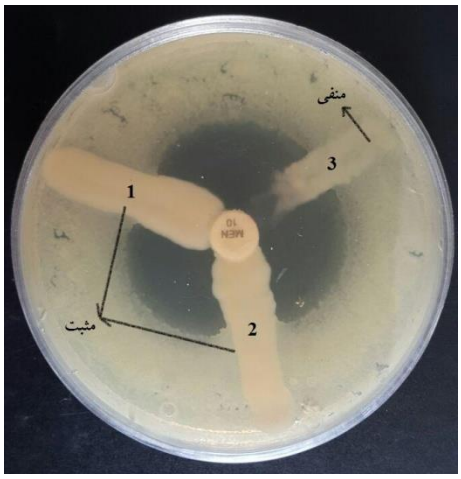
جدول ۲: مقاومت کل نمونه‌ها نسبت به کارباپنم‌ها به صورت حساس، مقاوم و نیمه حساس

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	نیمه‌حساس به مروپنم	نیمه‌حساس به ایمی‌پنم	حساس به مروپنم	حساس به ایمی‌پنم	حساس به ایمی‌پنم و مروپنم
٪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 اصلاح: ۹۵/۱۰/۸ پذیرش: ۹۵/۱۲/۸

جدول۳: 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٪
سفوتاکسیم	۷۱٪	۵٪	۲۴٪
پیپراسیلین	۹۱٪	۳٪	۶٪
تیکارسیلین	۷۶٪	۸٪	۱۶٪
آزترونام	۷۹٪	۱۶٪	۵٪
جنتامایسین	۹۲٪	۸٪	۰
آمیکاسین	۹۴٪	۴٪	۲٪
افلوکساسین	۷۴٪	۱۴٪	۱۲٪
لووفلوکساسین	۶۸٪	۹٪	۲۳٪



شکل ۱: نمونه‌ای از آزمون هوچ انجام شده

بحث:

از زمان عرضه آنتی‌بیوتیک‌ها، استفاده بی‌رویه آن‌ها طی سال‌های گذشته موجب مشکلات فراوانی ناشی از پیدایش سویه-های مقاوم با واسطه پلاسمید و انتشار آن‌ها در میان باکتری‌های گرم منفی شده است. سودوموناس‌آئروژینوزا یک پاتوژن بیمارستانی مهم تلقی می‌شود که با توجه به اطلاعات مرکز کنترل بیماری‌های آمریکا سودوموناس‌آئروژینوزا پنجمین پاتوژن در میان میکروارگانیسم‌های بیمارستانی می‌باشد که ۱۰٪ عفونت-های اکتسابی از بیمارستان را شامل می‌شود. طبق مطالعات باکتریولوژیک انجام شده بهترین آنتی‌بیوتیک برای درمان عفونت‌های سودوموناسی به خصوص در مواقع بحرانی، ایمی پنم 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 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 سودوموناس‌آئروژینوزا میزان مقاومت به مروپنم ۳۶/۲۲٪ و ایمی‌پنم ۴۵/۹۱٪ بود و ۳۰/۱۰٪ هم به مروپنم و ایمی‌پنم مقاومت نشان دادند. سودوموناس‌آئروژینوزا میزان مقاومت به مروپنم ۳۹/۶۲ ٪ و ایمی‌پنم ۴۳/۳۹ ٪ بود و در خانواده انتروباکتریاسه میزان مقاومت به مروپنم و ایمی‌پنم به تفکیک بدین صورت بود سالمونلا میزان مقاومت به مروپنم ۰٪ و ایمی‌پنم ۵۰٪، سیتروباکترکوسری میزان مقاومت به مروپنم ۰٪ و ایمی‌پنم ۵۰٪، سیتروباکترفروندی میزان مقاومت به مروپنم

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

در مطالعه آلتوپارلک و همکاران در سال ۲۰۰۵ در ترکیه از میان۱۲۰ ایزوله‌ی سودوموناس‌آئروژینوزا 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 کره‌جنوبی 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 سودوموناس‌آئروژینوزا 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 آنتی بیوتیک ایمی‌پنم در باکتری سودوموناس آئروژینوزا به ترتیب ۲٪ و ۶٪ گزارش شد [۱۸و۱۹] که در این مطالعات درصد مقاومت پایینی نسبت به مطالعه حاضر نشان داده به طوری که می‌توان آن را شروع مقاومت برای آنتی-بیوتیک ایمی‌پنم دانست.

در مطالعه‌ای اخوان‌تفتی و همکاران در سال ۱۳۹۲ بر روی ۱۸۰ ایزوله‌ی سودوموناس‌آئروژینوزای جدا شده از زخم‌های سوختگی در شهر یزد انجام شد به ترتیب ۶۶٪ و ۷۴٪ به مروپنم و ایمیپنم مقاوم بود[۲۰]. همچنین در مطالعه دوستی و همکاران در سال ۱۳۹۲ بر روی ۷۰ ایزوله بالینی سودوموناس‌آئروژینوزا 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 مهاجری 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 ایمی پنم (۱۰۰٪) مشاهده شد[۲۲]. در مطالعه دیگر که عبدالهی‌خیرآبادی و همکارانش در شهرستان فسا انجام دادند از تعداد ۲۳۴ ایزوله از سویه‌های اشریشیاکلی مقاومت ایمی-پنم ۱۱/۱٪ بود[۲۳]. همچنین در مطالعه‌ای که توسط شکری و همکاران در سال ۱۳۹۴ بر روی باکتری‌های انتروباکتر واشریشیاکلی در شهر اصفهان نسبت به کاربانپنم‌ها بر روی ۳۰۰ نمونه بالینی انجام گرفت میزان مقاومت به داروهای کاربانپنم 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 کلبسیلا جدا شده از بیماران سوختگی را از لحاظ وجود مقاومت به کاربانپنم 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 کلبسیلا را میتوان تقریبا 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 سودوموناس‌آئروژینوزا و خانواده انتروباکتریاسه(سالمونلا، سیتروباکترکوسری، سیتروباکترفروندی، اشریشیاکلی، کلیبسیلااکسی‌توکا، کلیبسیلاپنومونیه) 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 سودوموناس‌آئروژینوزا و خانواده انتروباکتریاسه در کشور ما در حال گسترش است از این رو بایستی در مصرف این آنتی-بیوتیک‌ها به طور صحیح و معقول عمل شود. مصرف محدود این آنتی بیوتیک‌ها 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 وتشکر به عمل می‌آید.

تعارض منافع:

هیچ گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

References:

1. Dugal S, Fernandes A. Carbapenem hydrolysing metallo-beta-lactamase:a review, Int J Curr Pharm Res 2011;3:9-16
2. 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
3. Fernandez A, Pereira MJ, Suarez JM, et al. Emergence in spain of multidrug-resistant enterobactercloacae clinica isolate producing SFO-1 extended-spectrum beta-lactamase. J Clin Microbiol 2011;49(3):822-8
4. 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
5. Livemore DM, Brown DF. Detection of beta-lactamase-mediated resistance. J Antimicrob Chemother 2001;48:59-64
6. Ambler RP. The structure of beta-lactamases. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 1980;289(1036):321-31
7. 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
8. Poole K. Efflux-mediated multiresistance in Gram-negative bacteria. Clin Microbiol Infect 2004 Jan;10(1):12-26
9. Estahbanati HK, Kashani PP, Ghanaaatpisheh F. frequency of Pseudomonas aeruginosa serotypes in burn wound infections and their resistance to antibiotics. Burns 2002;28(4):340-8
10. Livemore DM. Multiple mechanisms of antimicrobial resistance in Pseudomonas aeruginosa: our worst nightmare? Clin Infect Dis 2002;34(5):634-40
11. Hawkey PM. Identification of Enterobacteriaceae. In: Stephen Gillespie, Peter M Hawkey. Principles and practice of clinical bacteriology. John Wiley & Sons, Chichester; 2006:341–443.
12. 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.
13. Samra Z, Bahar J, Madar-Shapiro L, et al. Rapid detection of Carbapenem resistant Entrobacteriaceae. J Clin Microbial 2008; 48(9):3110-11
14. 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.
15. Carvalhaes 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
16. Altoparlak 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.
17. Yoo JS, Yang JW, Kim H M, 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.
18. 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).
19. Shahcheraghi F, Nikbin VS, Shooraj F, et al. Investigation of blaIMP-1, blaVIM-1 and bla SPM-1 MBL genes among clinical strains of Pseudomonas aeruginosa isolated from Imam Khomeini Hospital, Tehran, Iran. Pejouhandeh 2009; 14(2): 67–72.
20. Akhavan-Tafti F, Eslami G, Zandi H, et al. Prevalence of bla_{VIM}, bla_{IPM} and bla_{NDM} 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).
21. 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.
22. 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
23. 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).
24. 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).
25. 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.

Original Article

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

Tahmineh Ebrahimzadeh Shiraz*[1], Hadi Rezaei Yazdi[2], Mahdi Alijanianzadeh[3]

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