● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دورهٔ بیست‌ودوم، شمارهٔ ۵، ص ۴۹۸-۴۹۱، ۱۳۹۴

مقالهٔ پژوهشی

فراوانی آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز در جدایه‌های بالینی پسودوموناس ائروژینوزا به روش E-test و تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها در کرمانشاه

حسین فاضلی[۱]، فرزانه نظری[۲*]، محسن میرزایی[۳]

خلاصه

مقدمه: یکی از عوامل مهم ایجاد کننده عفونت‌های بیمارستانی، باکتری پسودوموناس آئروژینوزا می‌باشد و از مهم‌ترین آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری، کاربا‌پنم‌ها است. تولید متالوبتالاکتامازها از جمله مکانیسم‌های مقاومت به کارباپنم‌ها و افزایش فراوانی آن تهدیدی جدی در درمان عفونت‌های حاصل از پسودوموناس ائروژینوزا می‌باشد. هدف از انجام مطالعه حاضر، تعیین فراوانی آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز در میان جدایه‌های بالینی پسودوموناس ائروژینوزا مقاوم به ایمی‌پنم (Imipenem) بود.

روش: در این مطالعه الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی پسودوموناس آئروژینوزاهای جداسازی شده از عفونت‌های مختلف بالینی بیماران مراجعه کننده به بیمارستان‌های امام رضا (ع) و امام خمینی (ره) شهر کرمانشاه به وسیله روش دیسک دیفیوژن مطابق دستورالعمل استانداردهای آزمایشگاه‌های بالینی (Clinical Laboratory Standards Institute یا CLSI) تعیین شد. جدایه‌هایی که به بیش از سه آنتی‌بیوتیک مختلف مقاوم بودند، به عنوان جدایه‌های با مقاومت چندگانه (Multi-drug resistance یا MDR) در نظر گرفته شدند. سپس تولید آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز به روش E-test (Epsilometer test) در میان جدایه‌های مقاوم به ایمی‌پنم تعیین گردید.

یافته‌ها: از ۱۸۶ پسودوموناس آئروژینوزای جدا شده از دو بیمارستان کرمانشاه، ۱۶۵ جدایه (۸۸/۷ درصد) دارای مقاومت چند دارویی بودند که ۶۷ جدایه (۴۰/۶ درصد) آن به ایمی‌پنم مقاومت داشتند. با استفاده از روش E-test، ۳۳ جدایه (۴۹/۲ درصد) به عنوان تولید کننده متالوبتالاکتاماز شناخته شد.

نتیجه‌گیری: با توجه به افزایش شیوع پسودوموناس آئروژینوزاهای دارای مقاومت چند دارویی و تولید کننده متالوبتالاکتاماز در بیمارستان‌ها، به کارگیری روش‌های فنوتیپی جهت شناسایی سویه‌های تولید کننده متالوبتالاکتاماز در آزمایشگاه‌های بیمارستان‌ها ضروری به نظر می‌رسد.

واژه‌های کلیدی: پسودوموناس آئروژینوزا، متالوبتالاکتاماز، مقاومت چند دارویی

۱- دانشیار، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران ۲- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده تحصیلات تکمیلی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بروجرد، بروجرد، ایران ۳- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده تحصیلات تکمیلی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بروجرد، بروجرد، ایران

* نویسنده مسؤول، آدرس پست الکترونیک: farzanehnazari1385@yahoo.com

دریافت مقاله: ۱۳۹۳/۳/۱۹ دریافت مقاله اصلاح شده: ۱۳۹۳/۹/۱۵ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۹/۱۹

مقدمه

پسودوموناس آئروژینوزا به عنوان یک پاتوژن فرصت‌طلب، مسؤول ایجاد طیف وسیعی از عفونت‌های بیمارستانی مانند پنومونی، عفونت دستگاه ادراری، باکتریمی، سپتی‌سمی (مسمومیت خونی)، اندوکاردیت، عفونت گوش، چشم و زخم می‌باشد. درمان عفونت‌های حاصل از این باکتری به علت مقاومت دارویی بالا با مرگ و میر فراوانی همراه است (۲، ۱). کارباپنم‌ها مانند ایمی‌پنم (Imipenem) و مروپنم (Meropenem) به عنوان عوامل ضد میکروبی با طیف اثر وسیع به منظور درمان عفونت‌های ناشی از باسیل‌های گرم منفی دارای مقاومت چند دارویی مورد توجه قرار گرفته‌اند (۳). مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های کارباپنم در سراسر دنیا در حال افزایش است (۴). یکی از مهم‌ترین و شایع‌ترین مکانیسم‌های مقاومت به کارباپنم‌ها در پسودوموناس آئروژینوزا، تولید متالوبتالاکتاماز می‌باشد (۳).

آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز، بتالاکتامازهای وسیع‌الطیفی هستند که بیشتر آنتی‌بیوتیک‌های دسته بتالاکتام‌ها به جز مونوباکتام‌ها را هیدرولیز می‌کنند. متالوبتالاکتامازها بر اساس عملکرد و ساختار مولکولی در گروه سوم از طبقه‌بندی Bush و در کلاس B از طبقه‌بندی Ambler قرار می‌گیرند (۵). این آنزیم‌ها به وسیله مهار کننده‌های متداول بتالاکتام مانند کلاولانیک اسید یا سولباکتام مهار نمی‌شوند (۵)، جهت فعالیت خود نیاز به عنصر روی (Zn) دارند و توسط شلاته کننده‌های فلزی همچون اتیلن دی‌آمین تترا استیک اسید (Ethylenediaminetetraacetic acid یا EDTA) و ترکیبات تیولی مثل ۲- مرکاپتو پروپیونیک اسید (Mercaptopropionic acid-2) مهار می‌گردند (۵). ژن‌های کد کننده این آنزیم‌ها بر روی عناصر ژنتیکی متحرک قرار دارند که باعث انتقال افقی ژن‌های متالوبتالاکتامازها به دیگر باکتری‌ها می‌شوند (۴).

باکتری‌های تولید کننده متالوبتالاکتامازها برای اولین بار در سال ۱۹۹۰ در ژاپن شناسایی و پس از آن در بسیاری از کشورهای دنیا گزارش شد (۲). ظهور آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز و گستردگی آن‌ها در جدایه‌های پسودوموناس آئروژینوزا موضوع مهم و نگران کننده‌ای در درمان عفونت‌های حاصل از این باکتری است (۳). در سال‌های اخیر به علت وجود آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز، مقاومت به آنتی‌بیوتیک ایمی‌پنم در پسودوموناس آئروژینوزا در کشورهای مختلف در حال افزایش می‌باشد (۶). با توجه به اهمیت بالینی جدایه‌های پسودوموناس آئروژینوزای تولید کننده متالوبتالاکتاماز، هدف از مطالعه حاضر بررسی شیوع آنزیمی متالوبتالاکتامازها به روش E-test در جدایه‌های بالینی پسودوموناس آئروژینوزای مقاوم به ایمی‌پنم جدا شده از بخش‌های بیمارستان‌های امام خمینی (ره) و امام رضا (ع) کرمانشاه بود.

روش بررسی

جمع‌آوری جدایه‌ها: در این مطالعه طی یک دوره ۹ ماهه (شهریور سال ۱۳۹۲ تا خرداد سال ۱۳۹۳)، ۱۸۶ جدایه پسودوموناس آئروژینوزا به روش نمونه‌گیری تصادفی از آزمایشگاه بیمارستان‌های امام رضا (ع) و امام خمینی (ره) کرمانشاه جمع‌آوری شد که نمونه‌ها مربوط به عفونت‌های مختلف بالینی (زخم‌های سوختگی، عفونت زخم، عفونت ادراری، خون، عفونت دستگاه تنفسی، عفونت چشم، عفونت گوش، مایع پریتوئن، کاتتر و عفونت جراحی) مراجعه کنندگان به این دو بیمارستان بود. جدایه‌ها با استفاده از رنگ‌آمیزی گرم، رشد در محیط Macconkey، کشت در محیط‌های TSI (Triple sugar iron)، SIM (Sulfide indole motility)، OF (Oxidative fermentative)، سیمون سیترات آگار، ستریمید آگار و پسودوموناس آگار، تست کاتالاز و اکسیداز و رشد در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد تشخیص داده شدند (۷).

تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی: پس از تهیه کشت خالص از جدایه‌های پسودوموناس آئروژینوزا، سوسپانسیونی با کدورت نیم McFarland تهیه گردید و بر روی محیط Mueller-Hinton agar (Merck, Germany) به روش چمنی کشت داده شد. الگوی مقاومت دارویی جدایه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)،

سفکسیم (۳۰ میکروگرم)، ایمی‌پنم (۱۰ میکروگرم)، سفتازیدیم (۳۰ میکروگرم)، سفتریاکسون (۳۰ میکروگرم) و سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرم) (England MAST) به روش دیسک دیفیوژن مطابق با استاندارد CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute) انجام شد. سویه پسودوموناس آئروژینوزا ATCC 27853 به عنوان سویه شاهد مورد استفاده قرار گرفت.

شناسایی متالوبتالاکتامازها در جدایه‌های مقاوم به ایمی‌پنم: جهت تعیین حضور متالوبتالاکتامازها از نوار E-test (AB Bio Disk, Solna, Sweden) استفاده شد. از کشت ۲۴ ساعته ایزوله بالینی پسودوموناس آئروژینوزای مقاوم به ایمی‌پنم، کدورت استاندارد نیم McFarland تهیه و به صورت چمنی بر روی محیط Mueller-Hinton agar کشت گردید. سپس نوار E-test توسط پنس استریل روی محیط (طبق دستورالعمل شرکت سازنده) قرار داده شد و پلیت به مدت ۱۸-۱۶ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. این نوارها از دو نیمه تشکیل شده است: در یک نیمه گرادیانی از غلظت‌های مختلف ایمی‌پنم (۲۵۶-۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و در نیمه دیگر گرادیانی از غلظت‌های مختلف ایمی‌پنم همراه با غلظت ثابتی از EDTA (۶۴-۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر) قرار دارد. تفسیر کاهش سه رقت یا بیشتر و حداقل غلظت مهار کنندگی (Minimum inhibitory concentration یا MIC) نسبت به ایمی‌پنم در حضور EDTA، نشان دهنده تولید آنزیم متالوبتالاکتاماز می‌باشد (۳).

نتایج

در مطالعه حاضر ۱۸۶ جدایه پسودوموناس آئروژینوزا از بیماران بیمارستان‌های امام خمینی (ره) (۹۳ جدایه) و امام رضا (ع) (۹۳ جدایه) کرمانشاه جمع‌آوری شد. از ۹۳ جدایه به دست آمده از این دو بیمارستان، ۹۲ جدایه (۹۸/۹ درصد) به عنوان جدایه‌های دارای مقاومت چند دارویی و ۳۸ جدایه (۴۰/۹ درصد) دارای مقاومت به ایمی‌پنم بودند. همچنین از ۹۳ جدایه جمع‌آوری شده از بیمارستان امام رضا (ع)، ۷۳ جدایه (۷۸/۵ درصد) به عنوان جدایه‌های دارای مقاومت چند دارویی شناخته شدند و ۲۹ جدایه (۳۱/۱ درصد) به ایمی‌پنم مقاوم بودند.

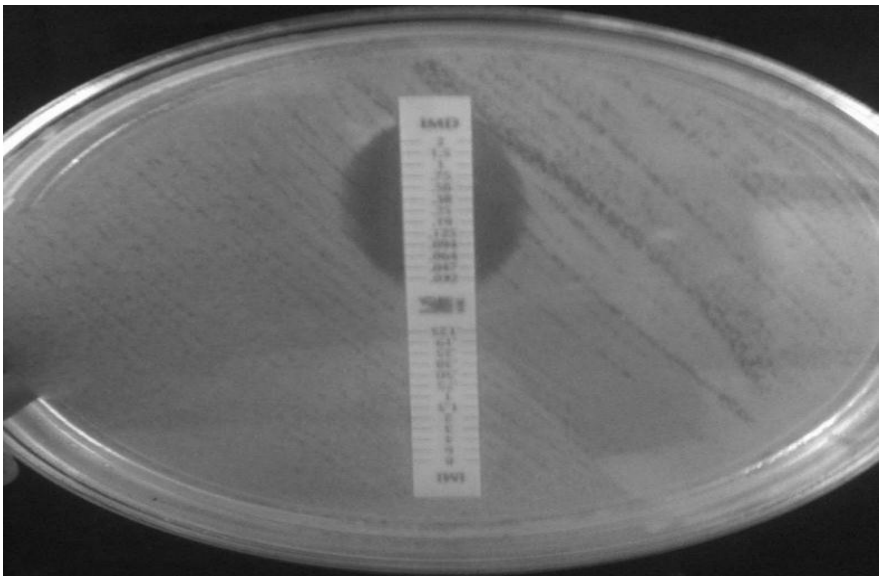
شیوع مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های سفکسیم، سفتریاکسون، سفتازیدیم، سفوتاکسیم، جنتامایسین و ایمی‌پنم به ترتیب ۹۷/۳، ۸۲/۲، ۸۱/۰، ۸۰/۶، ۵۱/۶ و ۳۶/۰ درصد بود. در مجموع ۱۶۵ جدایه پسودوموناس آئروژینوزا (۸۸/۷ درصد) دارای مقاومت چند دارویی بودند (جدول ۱).

جدول ۱. *فراوانی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در پسودوموناس ائروژینوزای جدا شده از نمونه‌های بالینی دو بیمارستان امام خمینی (ره) و امام رضا (ع) شهر کرمانشاه (۱۸۶ نمونه)*

نام آنتی‌بیوتیک	حساس (S)	نیمه حساس (I)	مقاوم (R)
	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)
سفکسیم	۱۸۴ (۹۹/۰)	۱ (۰/۵)	۱ (۰/۵)
سفتریاکسون	۱۶۴ (۸۸/۲)	۱۴ (۷/۵)	۸ (۴/۳)
سفتازیدیم	۱۶۱ (۸۶/۵)	۱۵ (۸/۱)	۱۰ (۵/۴)
سفوتاکسیم	۱۶۰ (۸۶/۰)	۱۸ (۹/۷)	۸ (۴/۳)
جنتامایسین	۱۱۳ (۶۰/۷۵)	۲۸ (۱۵/۰۵)	۴۵ (۲۴/۲)
ایمی‌پنم	۶۳ (۳۳/۹)	۳۲ (۱۷/۲)	۹۱ (۴۸/۹)

S: Sensitive; I: Intermediate ; R: Resistant

تمام جدایه‌هایی مقاوم به ایمی‌پنم دارای مقاومت چند دارویی بودند. از ۶۷ جدایه مقاوم به ایمی‌پنم به وسیله روش فنوتیپی و طبق روش E-test، ۳۳ جدایه (۴۹/۲ درصد) ۳۲ ≤ MIC میکروگرم بر میلی‌لیتر داشتند و میزان MIC در نوار ایمی‌پنم EDTA، ≤ ۸ برابر ایمی‌پنم مشاهده گردید که به عنوان متالوبتالاکتاماز مثبت شناخته شد (شکل ۱).



شکل ۱. *روش تعیین MIC (Minimum inhibitory concentration) و تولید آنزیم متالوبتالاکتاماز با استفاده از نوار E-test (Epsilometer test) دو طرفه*

بحث

۴۹/۲ درصد جدایه‌های مطالعه حاضر تولید کننده آنزیم متالوبتالاکتاماز بودند. خسروی و میهنی با مطالعه بر روی ۱۰۰ جدایه پسودوموناس آئروژینوزا نشان دادند که ۱۹/۵ درصد از جدایه‌های مقاوم به ایمی‌پنم، تولید کننده آنزیم متالوبتالاکتاماز هستند (۸). همچنین رضایی یزدی و همکاران با انجام آزمایش متالوبتالاکتاماز E-test بر روی پسودوموناس آئروژینوزاهای جدا شده از نمونه‌های بالینی بیماران غیر سوختگی بیمارستان‌های بقیه‌اله و شریعتی بیان کردند که ۱۱/۰ درصد از ۷۰ جدایه مقاوم به ایمی‌پنم، تولید کننده آنزیم متالوبتالاکتاماز بودند (۹). مقایسه مطالعه حاضر با دو مطالعه فوق (۹، ۸) نشان دهنده افزایش سویه‌های تولید کننده آنزیم متالوبتالاکتاماز می‌باشد.

در دیگر مطالعات انجام شده مشخص گردید که شیوع متالوبتالاکتامازها در جدایه‌های پسودوموناس آئروژینوزا می‌تواند از یک منطقه جغرافیایی به منطقه جغرافیایی دیگر و حتی در میان بیمارستان‌های مختلف یک منطقه جغرافیایی متفاوت باشد (۱۰). در تبیین این یافته، شاهچراغی و نیک‌بین با انجام آزمایش بر روی ۲۴۳ جدایه پسودوموناس آئروژینوزا از نمونه‌های بالینی بیماران غیر سوختگی بیمارستان امام خمینی (ره) تهران نشان دادند که تنها ۱۵ جدایه (حدود ۶/۲ درصد نمونه‌ها) تولید کننده آنزیم متالوبتالاکتاماز هستند (۱۱). صدری و همکاران در مطالعه خود بر روی ۱۰۰ جدایه پسودوموناس آئروژینوزا از بیمارستان شهید مطهری تهران گزارش کردند که از ۶۹ جدایه مقاوم به ایمی‌پنم، ۶۵ جدایه (۹۴/۲ درصد) آنزیم متالوبتالاکتاماز تولید می‌کنند (۱۲). نتایج مطالعات فلاح و همکاران (۵۷/۹ درصد) (۲)، سرهنگی و همکاران (۲۳/۳ درصد) (۷) و کلانتر و همکاران (۲۲/۰ درصد) (۱۳) نیز تأیید کننده آن بود که میزان شیوع این نوع مقاومت بسته به میزان مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها و سیاست‌های نظارتی کنترل مصرف می‌تواند متفاوت باشد.

بر اساس نتایج مطالعه حاضر، از ۱۸۶ جدایه پسودوموناس آئروژینوزا، ۱۶۵ جدایه (۸۸/۷ درصد) دارای مقاومت چند دارویی بودند. در مطالعه انجام شده توسط فاضلی و همکاران در بیمارستان‌های شهر اصفهان از ۹۸ جدایه جدا شده، (٪۷۳) دارای مقاومت چند دارویی بودند (۱۴) و همچنین در پژوهش سلیمی و همکاران در بیمارستان شهید مطهری تهران گزارش گردید که از ۱۲۷ جدایه جدا شده از زخم‌های سوختگی، ۲۵ جدایه (۱۹/۷ درصد) دارای مقاومت چند دارویی بودند (۱۵). توجهی و همکاران در پژوهش خود شیوع جدایه‌های دارای مقاومت چند دارویی را ۷۵/۰ درصد به دست آوردند (۱۶). نتایج مطالعات مذکور (۱۶، ۱۵) نشان می‌دهد که در سال‌های اخیر جدایه‌های دارای مقاومت چند گانه پسودوموناس آئروژینوزا در حال افزایش است.

کارباپنم‌ها مانند مروپنم، ایمیپنم، دوریپنم و ارتاپنم دسته مهمی از داروهای بتالاکتام هستند که در برابر آنزیم‌های بتالاکتاماز مقاوم می‌باشند و در درمان عفونت‌های ناشی از باکتری‌های تولید کننده آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع‌الطیف و Amp C (Ampicilin C) که قادر به هیدرولیز پنی‌سیلین‌ها و سفالوسپورین‌ها می‌باشند، به کار برده می‌شوند (۱۷). بروز مقاومت به این آنتی‌بیوتیک‌ها در بین باکتری‌ها به خصوص باکتری پسودوموناس آئروژینوزا (که نقش مؤثری در ایجاد عفونت‌های بیمارستانی دارد)، تهدیدی در درمان عفونت‌های حاصل از آن‌ها است (۱۸). این افزایش مقاومت با بررسی افزایش میزان MIC نسبت به ایمی‌پنم در پسودوموناس آئروژینوزا ثابت شده است (۱۹).

در مطالعه حاضر میزان MIC برای آنتی‌بیوتیک ایمی‌پنم در ۳۳ جدایه مورد بررسی، ۳۲ ≤ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود و مقایسه آن با نتایج دیگر مطالعات (۲۲-۲۰، ۷) نشان دهنده افزایش آن در جدایه‌های مقاوم به ایمی‌پنم پسودوموناس آئروژینوزا و گسترش این جدایه‌ها است. میزان MIC جدایه‌ها در مطالعه صادقی و همکاران، ۱۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش شد (۲۰) که در مقایسه با مطالعه حاضر کمتر می‌باشد. سرهنگی و همکاران در مطالعه خود نشان دادند که ۳۴/۱ درصد جدایه‌های مقاوم به ایمی‌پنم دارای میزان MIC برابر با ۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر بودند (۷). Cornaglia و همکاران (۲۱) و Elmasry و همکاران میزان MIC را ۱۶ ≤ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش کردند (۲۲). استفاده زیاد از کارباپنم‌ها و همچنین تجویز اشتباه آنتی‌بیوتیک‌ها در محیط بیمارستان بر روی میکروارگانیسم‌ها تأثیر گذاشته، باعث افزایش جمعیت باکتری‌های مقاوم و کاهش حساسیت آن‌ها در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها خواهد شد (۲۳).

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از مطالعه نشان می‌دهد که مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله کارباپنم‌ها روزانه در حال افزایش است که این امر ناشی از مصرف غیر صحیح این داروها می‌باشد. بنابراین پزشکان و دست‌اندرکاران جامعه پزشکی باید با برنامه‌ریزی‌های مشخص و انجام آزمون‌های آنتی‌بیوگرام قبل از تجویز آنتی‌بیوتیک، از افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی جلوگیری نمایند.

سپاسگزاری

مطالعه حاضر حاصل پایان‌نامه کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد بود که با همکاری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان صورت گرفت. بدین وسیله از زحمات کارکنان محترم بیمارستان‌های امام خمینی (ره) و امام رضا (ع) کرمانشاه و آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان صمیمانه تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

References

1. Polotto M, Casella T, de Lucca Oliveira MG, Rúbio FG, Nogueira ML, de Almeida MTG, et al. Detection of P. aeruginosa harboring bla CTX-M-2, bla GES-1 and bla GES-5, bla IMP-1 and bla SPM-1 causing infections in Brazilian tertiary-care hospital. *BMC Infectious Diseases* 2012; 12: 176.
2. Fallah F, Shams Borhan R, Hashemi A. Detection of bla(IMP) and bla(VIM) metallo-β-lactamases genes among Pseudomonas aeruginosa strains. *Int J Burns Trauma* 2013; 3(2): 122-4.
3. Kumar SH, De AS, Baveja SM, Gore MA. Prevalence and risk factors of Metallo beta-lactamase producing Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter species in burns and surgical wards in a tertiary care hospital. *J Lab Physicians* 2012; 4(1): 39-42.
4. Khosravi Y, Loke MF, Chua EG, Tay ST, Vadivelu J. Phenotypic detection of metallo-beta-lactamase in imipenem-resistant Pseudomonas aeruginosa. *Scientific World Journal* 2012; 2012: 654939.
5. Wan Nor Amilah WA, Noor Izani NJ, Ng WK, Ashraful HJ. A simple screening test for the detection of metallo-beta-lactamase-producing Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter in a tertiary care hospital. *Trop Biomed* 2012; 29(4): 588-97.
6. Irina Mereuta A, Corina Badescu A, Simona Dorneanu O, Smaranda Iancu L, Gabriela Tuchilus C. Spread of VIM-2 metallo-beta-lactamase in Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii clinical isolates from Iaşi, Romania. *Romanian Review of Laboratory Medicine* 2013; 21(4): 423-30.
7. Sarhangi M, Motamedifar M, Sarvari J. Dissemination of Pseudomonas aeruginosa producing blaIMP1, blaVIM2, blaSIM1, blaSPM1 in Shiraz, Iran. *Jundishapur J Microbiol* 2013; 6(7): e6920.
8. Khosravi AD, Mihani F. Detection of metallo-beta-lactamase-producing Pseudomonas aeruginosa strains isolated from burn patients in Ahwaz, Iran. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2008; 60(1): 125-8.
9. Rezaei Yazdi H, Behzadian Nejad G, Najar Peerayeh S, Mostafaei M. Prevalence and detection of metallo-β-lactamase (MBL)-producing Pseudomonas aeruginosa strains from clinical isolates in Iran. *Annals of Microbiology* 2007; 57(2): 293-5.
10. Mirsalehian A, Akbari Nakhjavani F, Bahador A, Jabalameli F, Bigverdi R, Goli H. prevalence of MBL-producing Pseudomonas aeruginosa isolated from burn patients. *Tehran Univ Med J* 2011; 68(10): 563-9. [In Persian].
11. Shahcheraghi F, Nikbin V. Metallo- -Lactamase and resistance rate of P.aeruginosa isolates to ceftazidim and imipenem. *Iran J Inf and Trop Dis* 2007; 36: 19-22.
12. Saderi H, Lotfalipour H, Owlia P, Salimi H. Detection of metallo-β-lactamase producing pseudomonas aeruginosa

isolated from burn patients in Tehran, Iran. *Lab Medicine* 2010; 41: 609-12.

13. Kalantar E, Torabi V, Salimizand H, Soheili F, Beiranvand S, Soltan Dallal MM. First survey of metallo-β-lactamase producers in clinical isolates of pseudomonas aeruginosa from a referral burn center in Kurdistan province. *Jundishapur J Nat Pharm Prod* 2012; 7(1): 23-6.

14. Fazeli H, Fatahi Bafghi M., Faghri M, Akbari R. Molecular Study of PER and VEB Genes is Multidrug Resistant Pseudomonas aeroginosa Isolated from Clinical Specimens in Isfahan/Iran and their Antibiotic Resistance Patterns. *J Kerman Univ Med Sci* 2012; 19(4): 345-53. [In Persian].

15. Salimi H, Owlia P, Yakhchali B, Rastegar Lari A. Drug Susceptibility and Molecular Epidemiology of Pseudomonas aeruginosa Isolated in a Burn Unit. *American Journal of Infectious Diseases* 2009; 5(4): 301-6.

16. 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. *Feyz* 2011; 15(2): 139-45. [In Persian].

17. Amudhan MS, Sekar U, Kamalanathan A, Balaraman S. bla(IMP) and bla(VIM) mediated carbapenem resistance in Pseudomonas and Acinetobacter species in India. *J Infect Dev Ctries* 2012; 6(11): 757-62.

18. Lagatolla C, Edalucci E, Dolzani L, Riccio ML, De LF, Medessi E, et al. Molecular evolution of metallo-beta-lactamase-producing Pseudomonas aeruginosa in a nosocomial setting of high-level endemicity. *J Clin Microbiol* 2006; 44(7): 2348-53.

19. Varaiya A, Kulkarni M, Bhalekar P, Dogra J. Incidence of metallo-beta-lactamase-producing Pseudomonas aeruginosa in diabetes and cancer patients. *Indian J Pathol Microbiol* 2008; 51(2): 200-3.

20. Sadeghi A, Rahimi B, Shojapour M. Molecular detection of metallo-?-lactamase genes blaVIM-1, blaVIM-2, blaIMP-1, blaIMP-2 and blaSPM-1 in Pseudomonas aeruginosa isolated from hospitalized patients in Markazi province by Duplex-PCR. *African Journal of Microbiology Research* 2012; 6(12): 2965-9.

21. Cornaglia G, Mazzariol A, Lauretti L, Rossolini GM, Fontana R. Hospital outbreak of carbapenem-resistant Pseudomonas aeruginosa producing VIM-1, a novel transferable metallo-beta-lactamase. *Clin Infect Dis* 2000; 31(5): 1119-25.

22. ElMasry SAS, Ammar RA, Saber SM. Phenotypic and molecular characterization of imipenem resistant pseudomonas isolates. *Life Sci J* 2012; 9(2): 377-83.

23. Chakraborty D, Basu S, Das S. A study on infections caused by metallo beta lactamase producing gram negative bacteria in intensive care unit patients. *Am J Infect Dis* 2010; 6(2): 34-9.

The Determination of Metallo-Beta-Lactamase Enzymes Prevalence in Pseudomonas Aeruginosa using Etest and their Antibiogram Patterns in Kermanshah, Iran

Hossein Fazeli, Ph.D.[1], Farzaneh Nazari, B.Sc.[2*], Mohsen Mirzaie, Ph.D.[3]

1. Associate Professor, Department of Microbiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2. MSc Student, Department of Biology, School of Postgraduates, Islamic Azad University, Boroujerd Branch, Boroujerd, Iran
3. Assistant Professor, Department of Biology, School of Postgraduates, Isalamic Azad University, Boroujerd Branch, Boroujerd, Iran

* Corresponding author; e-mail: farzanehnazari1385@yahoo.com

(Received: 9 June 2014 Accepted: 10 Dec. 2014)

Abstract

Background & Aims: One of the main causes of nosocomial infection is *pseudomonas aeruginosa* and carbapenems is one of the most important classes of antibiotics used in the treatment of infections caused by this bacteria. Metallo-beta-lactamase (MBL) production is one of the most important mechanisms of resistance to carbapenems and their increased prevalence is a serious threat to treatment of infections caused by *Pseudomonas aeruginosa*. The goal of this study was the determination of MBL enzyme prevalence among clinical isolates of imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*.

Methods: Antibiogram pattern of *Pseudomonas aeruginosa* isolates from different clinical infections of patients referred to Emam Reza and Emam Khomini Hospitals of Kermansha, Iran, was determined through disk diffusion method according to the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Isolates that were resistant to more than 3 different antibiotics were identified as multi-drug-resistant organisms (MDROs). Then, MBL enzymes production rate was determined among imipenem-resistant isolates using Epsilometer test (Etest).

Results: From among the 186 isolated strains from the two hospitals in Kermanshah, 165 (88.7%) isolates were MDROs, of which 67 (40.6%) isolates were imipenem-resistant. Through Etest, 33 (49.2%) strains were identified as MBL producing strains.

Conclusion: Due to the increased prevalence of MDROs and MBL-producing *Pseudomonas aeruginosa* in hospitals, the use of phenotypic methods to detect MBL-producing isolates in hospital labs seems necessary.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, Metallo-beta-lactamases (MBL), Multi-drug resistance (MDR)

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2015; 22(5): 491-498