

بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سودوموناس آئروجینوزای جدانشده از بیماران در بیمارستان‌های شهر تهران در سال ۱۳۹۲

نویسندگان: الهام یوسفی^۱، حوریه صادری^{۲*}، فاطمه رضایی^۳، پرویز اولیاء^۴

۱. دانشجوی دکترای پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.
۲. مرکز تحقیقات میکروب‌شناسی مولکولی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.
۳. کارشناس ارشد میکروب‌شناسی، مرکز تحقیقات میکروب‌شناسی مولکولی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.
۴. مرکز تحقیقات میکروب‌شناسی مولکولی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

E-mail: saderih@yahoo.com

* نویسنده مسئول: حوریه صادری

چکیده

مقدمه و هدف: سودوموناس آئروجینوزا پاتوژن گرم منفی و از عوامل اصلی عفونت‌های بیمارستانی با مکانیسم‌های مقاومت چندگانه، به‌عنوان دومین عامل مهم بیماری‌زا شناخته می‌شود که علی‌رغم وجود آنتی‌بیوتیک‌های متعدد علیه آن، درمان آن اغلب دشوار است. این مطالعه به منظور تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی سودوموناس آئروجینوزا به دو روش دیسک دیفیوژن و میکرودايلوشن و مقایسه این دو روش صورت گرفته است.

مواد و روش‌ها: ۱۰۰ ایزوله بالینی سودوموناس آئروجینوزا از بیمارستان‌های منتخب تهران جمع‌آوری شده و پس از تأیید هویت، الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری به دو روش دیسک دیفیوژن (با دیسک شرکت HiMedia، هند) و میکرودايلوشن (با کیت Sensititre، انگلیس) برای آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین/سولباکتام، سفترایمید، سفتریاکسون، سفوپرازون، کاربنی‌سیلین، پپراسیلین، ایمپی‌پنم، تتراسایکلین، جنتامایسین، تویرامایسین، کلرآمفنیکل، سیپروفلوکساسین و آمیکاسین بررسی شده و نتایج حاصله مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

نتایج: میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های مذکور به روش دیسک دیفیوژن در محدوده ۲۸ تا ۱۰۰ درصد به ترتیب برای آنتی‌بیوتیک ایمپی‌پنم و تتراسایکلین و به روش میکرودايلوشن در محدوده ۳۰ تا ۹۷ درصد به ترتیب برای آنتی‌بیوتیک‌های ایمپی‌پنم و آمپی‌سیلین/سولباکتام به دست آمد. همچنین ضریب کاپا یا K value جهت بررسی همخوانی دو روش تعیین مقاومت، برای تتراسایکلین صفر و برای سایر آنتی‌بیوتیک‌ها بالاتر از صفر به دست آمد.

نتیجه‌گیری: در هر دو روش مورد مطالعه، بیشترین حساسیت در سودوموناس آئروجینوزا به آنتی‌بیوتیک ایمپی‌پنم دیده شد که به منظور کاربردهای درمانی به متخصصین مربوطه پیشنهاد می‌شود. همچنین روش دیسک دیفیوژن حساسیت مناسب در تشخیص مقاومت آنتی‌بیوتیکی، نظیر روش میکرودايلوشن را برای سودوموناس آئروجینوزا نشان می‌دهد.

واژگان کلیدی: سودوموناس آئروجینوزا، دیسک دیفیوژن، میکرودايلوشن

دوماهنامه علمی-پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال بیست‌وسوم-شماره ۱۲۱
اسفند ۱۳۹۴

دریافت: ۱۳۹۴/۱۰/۲۶
آخرین اصلاح‌ها: ۱۳۹۴/۱۲/۰۲
پذیرش: ۱۳۹۴/۱۲/۰۹

مقدمه

سودوموناس آئروجینوزا^۱ از پاتوژن‌های اصلی فرصت طلب مسئول عفونت‌های بیمارستانی به‌ویژه در افراد دارای نقص ایمنی، سالمندان و بیماران دچار سوختگی شدید بوده (۱) که در تعدادی از بیمارستان‌ها، سومین عامل شایع عفونت‌های بیمارستانی بعد از استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیا کلی می‌باشد (۲) و به‌طور کلی حدود ۱۰ درصد از عفونت‌های بیمارستانی را تشکیل می‌دهد (۳).

عفونت‌های ناشی از سودوموناس آئروجینوزا عبارت‌اند از: عفونت دستگاه تنفسی، باکتری‌می، آندوکاردیت، عفونت‌های دستگاه عصبی مرکزی، عفونت‌های گوش، عفونت چشم، عفونت‌های مفصل و استخوان، عفونت‌های دستگاه ادراری و عفونت‌های پوست و بافت نرم (۴، ۵).

علی‌رغم پیدایش طیف وسیعی از عوامل ضد میکروبی دارای فعالیت ضد سودوموناسی، عفونت‌های تهدیدکننده حیات به‌وسیله سودوموناس آئروجینوزا سبب مرگ‌ومیر بالایی در بیماران بستری می‌گردد (۶). این عفونت‌ها علاوه بر تشدید بیماری و مرگ بیماران مستعد، می‌توانند با افزایش مدت زمان بستری و در نتیجه افزایش هزینه‌های درمان، تأثیر زیادی بر اقتصاد درمان داشته باشند (۷). همچنین، با مصرف بالینی آنتی‌بیوتیک‌ها در گذر زمان، سویه‌های سودوموناس آئروجینوزای بیمارستانی دارای مقاومت چندگانه نسبت به آنتی‌بیوتیک (MDR) در سراسر جهان به‌طور فزاینده‌ای انتشار یافته است (۶). به‌همین دلیل، در درمان بیماری‌های عفونی و کاربرد داروی مؤثر و مناسب جهت سرکوب عامل اصلی بیماری، تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی پیش از شروع درمان ضروری است تا علاوه بر موفقیت درمان از پیدایش مقاومت در باکتری نیز جلوگیری به‌عمل آید. به‌این ترتیب، معرفی روشی ساده، در دسترس و دارای دقت بالا جهت تعیین

حساسیت آنتی‌بیوتیکی ضروری می‌باشد.

این موضوع تاکنون در مطالعات متعددی در ایران و سایر کشورها مورد بررسی قرار گرفته، لیکن باتوجه‌به اینکه مطالعاتی که در مورد این پدیده پیچیده در یک مقطع زمانی در منطقه‌ای انجام می‌شود، به زمان‌ها و مکان‌های دیگر قابل تعمیم نیست؛ از این رو، ضروریست به‌منظور دریافت مؤثرترین و سریعترین درمان جهت بیماران و پیشگیری از عوارض ناخواسته در ایشان و همچنین آگاهی پزشکان مربوطه از مقاومت دارویی در لحظه درمان و در نتیجه انتخاب مناسب‌ترین و بهترین درمان ضد میکروبی و پیشگیری از عفونت‌های مرتبط، مطالعات سالانه از مناطق مختلف کشور پیرامون میزان مقاومت دارویی انواع عفونت‌های باکتریال به‌خصوص باکتری سودوموناس آئروجینوزا که از عوامل اصلی و پرعارضه عفونت‌های بیمارستانی بوده و میزان مقاومت آن در ایران و جهان در حال افزایش است، صورت پذیرد. همچنین به‌منظور رسیدن به هدف دسترسی آسان‌تر به نتایج میزان مقاومت ضد میکروبی علیه داروهای موجود و در نتیجه انتخاب درمان بهتر، مؤثرتر و کم‌هزینه‌تر برای بیماران و البته پیشگیری از عوارض بیماری و در نهایت تحمیل بار اقتصادی کمتر به دولت و اجتماع، مطالعه بر روی روش‌های بررسی میزان مقاومت باکتری و انتخاب روشی دقیق و ارزان و در دسترس، ضروری به‌نظر می‌رسد.

در مطالعه حاضر، میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی سودوموناس آئروجینوزا به دو روش MIC و Disk-diffusion انجام شده و مقایسه بین این دو روش انجام می‌شود تا با استفاده از نتایج حاصله، مناسب‌ترین آنتی‌بیوتیک جهت مقابله با عفونت‌های ناشی از این باکتری به متخصصین مربوطه معرفی شده، همچنین دقت و حساسیت روش دیسک دیفیوژن در مقایسه با روش MIC و میزان همخوانی نتایج آن‌ها مورد بررسی قرار بگیرد تا بتوان روش دقیق‌تر، آسان‌تر و در دسترس‌تر به‌منظور بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی را به پزشکان و

^۱ Pseudomonas aeruginosa

متخصصین این امر معرفی نمود.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع تجربی و مقطعی توصیفی-تحلیلی می‌باشد. در این بررسی ابتدا ۱۰۰ ایزوله بالینی سودوموناس آئروجینوزا از نمونه‌های مختلف بالینی شامل خلط، ادرار، زخم، CSF و خون مربوط به بیماران زن و مرد با طیف سنی چند روزه تا ۹۴ ساله در بیمارستان‌های منتخب شهر تهران در سال ۱۳۹۲ جمع‌آوری شد.

شناسایی و تأیید هویت سودوموناس آئروجینوزا: ایزوله‌های جمع‌آوری شده، در آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد، به محیط نوترینت آگار منتقل شده و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. سپس با استفاده از تست‌های تأیید هویت مربوطه، سودوموناس آئروجینوزا شناسایی شد. براساس کتاب برگگی (۸)، سودوموناس آئروجینوزا باید اکسیداتیو مثبت، فرمانتیو منفی، اکسیداز مثبت بوده، روی محیط کشت مک کانگی کلنی‌های بی‌رنگ و روی محیط سیتريمید آگار کلنی با پیگمان زرد-سبز ایجاد کرده و قادر به رشد در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد باشد.

تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی

در این بررسی، حساسیت آنتی‌بیوتیکی سودوموناس آئروجینوزا با به‌کارگیری دو روش: ۱. دیسک دیفیوژن (Kirby-Bauer) با قراردادن دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی (شرکت HiMedia هند) بر روی محیط کشت مولر هیتون آگار و سپس اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد برحسب میلی‌متر؛ ۲. روش میکرودايلوشن و تعیین حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد (MIC) با استفاده از کیت تشخیص مقاومت باکتری گرم منفی تخمیری (Sensititre انگلیس) برای آنتی‌بیوتیک‌های گروه بتالاکتام: پنی‌سیلین‌ها شامل آمپی‌سیلین / سولباکتام، پیراسیلین، کاربنی‌سیلین، کارباپنم‌ها شامل ایمپی‌نم، سفالوسپورین‌های نسل سوم شامل سفتریاکسون، سفمتازیدیم، سفوپرازون و

آنتی‌بیوتیک‌های گروه غیر بتالاکتام: آمینوگلیکوزیدها شامل جنتامایسین، آمیکاسین، توبرامایسین و همچنین آنتی‌بیوتیک‌های کلرامفنیکل، تتراسایکلین و سیپروفلوکساسین، مورد بررسی قرار گرفت. همچنین به منظور کنترل کیفی و بررسی دقت و صحت انجام کار از سویه استاندارد P.aeruginosa ATCC27853 استفاده شد.

تجزیه و تحلیل آماری

نتایج به دست آمده با جدول استاندارد CLSI 2011 مقایسه شده و فنوتیپ‌های مقاوم، متوسط و حساس گزارش شد. بعد از ورود داده‌ها به نرم‌افزار Spss v.18، تجزیه و تحلیل آماری صورت گرفته و درصد فراوانی فنوتیپ‌ها به دست آمد. همچنین با استفاده از ضریب کاپا یا K value مقایسه بین دو روش و بررسی میزان همخوانی آن‌ها انجام شد.

نتایج

تعداد ۱۰۰ ایزوله بالینی سودوموناس آئروجینوزا از بیماران جمع‌آوری شد. این ایزوله‌ها از ۵۱ مرد و ۴۹ زن که در طیف سنی مختلف بودند، جدا شدند.

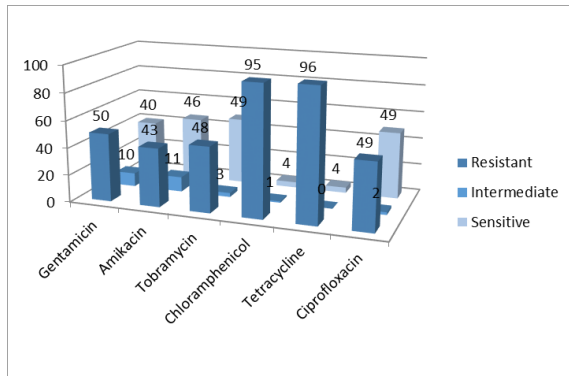
نتایج آزمایش تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن

در بررسی حساسیت آنتی‌بیوتیکی باکتری، قطر هاله عدم رشد به دست آمده برحسب میلی‌متر با جدول CLSI 2011 مقایسه شده و فنوتیپ مقاوم، متوسط و حساس گزارش شد. درصد فراوانی فنوتیپ‌ها نیز توسط نرم‌افزار آماری SPSS محاسبه شد که در نمودار ۱ و ۲ آمده است. براساس این نمودارها، بیشترین مقاومت مربوط به تتراسایکلین و کمترین مربوط به ایمپی‌نم می‌باشد.

نتایج آزمایش تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی با استفاده از کیت تشخیصی

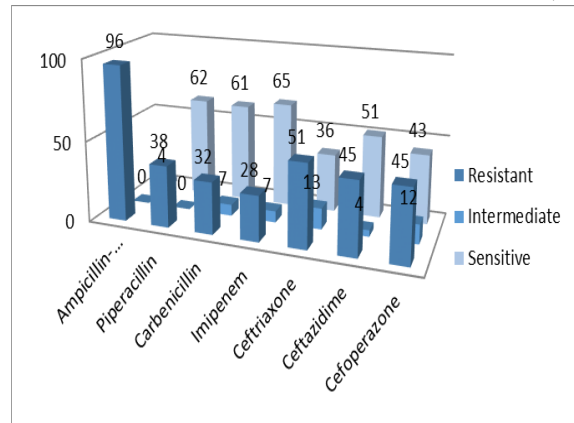
مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های سودوموناس آئروجینوزا با استفاده از کیت تشخیص مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های گرم منفی غیر تخمیری خارجی با تعیین حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد (MIC) به دست آمده و پس از مقایسه با جدول استاندارد CLSI

نمودار ۳. نتایج تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی سودوموناس آئروجینوزا به آنتی بیوتیک های بتالاکتام به روش کیت تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد.



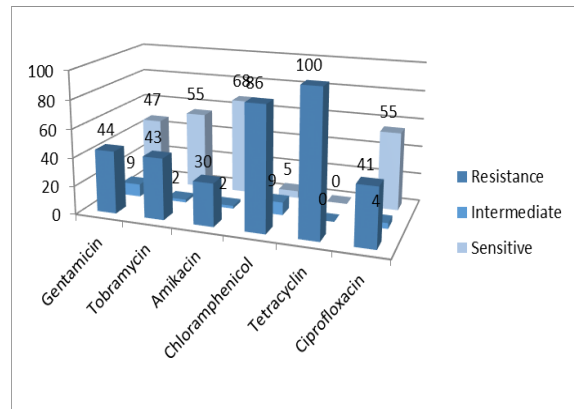
نمودار ۴. نتایج تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی سودوموناس آئروجینوزا به آنتی بیوتیک های غیر بتالاکتام به روش کیت تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد

2011 فتوتیپ مقاوم، متوسط و حساس گزارش شد. درصد فراوانی محاسبه شده توسط نرم افزار SPSS در نمودار ۳ و ۴ آمده است. به این ترتیب، بیشترین مقاومت مربوط به آمپی سیلین/سولباکتام و کمترین مربوط به ایمی پنم می باشد.



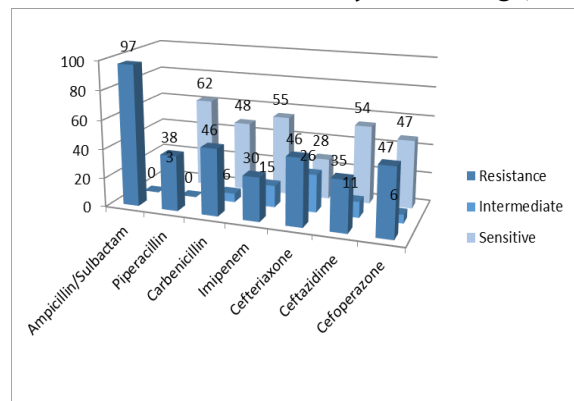
نمودار ۱. نتایج تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی سودوموناس آئروجینوزا به آنتی بیوتیک های بتالاکتام به روش دیسک دیفیوژن

مقایسه نتایج حاصل از دو روش دیسک دیفیوژن و کیت به منظور مقایسه دو روش و بررسی سؤال پژوهش مبنی بر اینکه آیا دو روش با یکدیگر همخوانی دارند یا خیر، از ضریب کاپا یا K value استفاده گردید که در صورت برابری ضریب کاپا با عدد صفر، همخوانی وجود نداشته و برای مقادیر بیشتر از صفر دو روش با یکدیگر همخوانی دارند. به این ترتیب، دو روش در تمامی آنتی بیوتیک های ذکر شده با یکدیگر همخوانی دارند؛ به جز آنتی بیوتیک تتراسایکلین که ضریب کاپا برای آن صفر به دست آمد.



نمودار ۲. نتایج تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی سودوموناس آئروجینوزا به آنتی بیوتیک های غیر بتالاکتام به روش دیسک دیفیوژن

بحث و نتیجه گیری
به علت اهمیت سودوموناس آئروجینوزا در عفونت های انسانی، مطالعات بسیاری در زمینه مقاومت به آنتی بیوتیک های مختلفی در ایزوله های بالینی این باکتری در جهان انجام گرفته است. گزارش های بسیاری در مورد میزان مقاومت به آنتی بیوتیک های مختلف در ایزوله های بالینی سودوموناس آئروجینوزا در ایران وجود دارد.



در مطالعه ما، فراوانی مقاومت نسبت به ایمی پنم به روش دیسک دیفیوژن ۲۸٪ و به روش میکروداپلوشن

۴۲٪ شباهت نزدیک تری دارد. مطالعه بورکار و همکاران (۱۳) نیز که در سال ۲۰۱۴ توسط پژوهشگران آمریکایی و در مرکز چشم کشور هند بر روی نمونه قرنیه بیماران مبتلا به کراتیت باکتریایی انجام شد، درصد مقاومت به سیپروفلوکساسین به روش دیسک دیفیوژن ۲۸٪ به دست آمد که اختلاف چندانی با عدد به دست آمده در مطالعه ما ندارد. فراوانی مقاومت به سیپروفلوکساسین در سایر مطالعات، طیف گسترده‌ای را شامل می‌شد. به عنوان مثال، در مطالعه اولیا و همکاران (۱۴) که در سال ۲۰۰۶ در تهران انجام شد، این مقدار به روش دیسک دیفیوژن ۹۹٪ محاسبه شد که نسبت به نتایج مطالعه ما میزان بالاتری می‌باشد. نمونه‌های مطالعه اولیا و همکارانش (۱۴) فقط زخم‌های سوختگی بوده‌اند؛ اما مطالعه ما شامل انواع مختلفی از نمونه‌های بالینی از جمله زخم‌های سوختگی می‌باشد و شاید این، علت تفاوت در فراوانی مقاومت آنتی‌بیوتیکی باشد.

در مطالعه ما فراوانی مقاومت نسبت به سفنازیدیم به روش دیسک دیفیوژن ۴۵٪ و به روش میکرودایلوشن ۳۵٪ به دست آمد که به نتایج حاصله از مطالعه تری پاتی و همکاران (۱۵) در روش دیسک دیفیوژن با فراوانی ۳۵/۳٪ و مطالعه بیانی و همکاران (۱۶) در روش میکرودایلوشن با فراوانی ۴۳/۳٪ شباهت نزدیک تری دارد. فراوانی مقاومت به سفنازیدیم در سایر مطالعات، طیف گسترده‌ای را شامل می‌شد. به عنوان مثال، در مطالعه بهار و همکاران (۱۷) که در سال ۲۰۱۰ در تهران انجام شد، مطالعه نوروژی و همکاران (۹) که در سال ۲۰۱۰ در شیراز انجام شد و نیز مطالعه فاضلی و همکاران (۱۱) که در سال ۲۰۰۹ در اصفهان انجام شد، این مقدار به روش دیسک دیفیوژن ۱۰۰٪ محاسبه شد که نسبت به نتایج مطالعه ما میزان بالاتری می‌باشد. در این مورد هم به نظر میرسد علت این تفاوت در نتیجه این باشد که نمونه‌های مورد بررسی در این مطالعات، برخلاف مطالعه ما تنها از زخم‌های سوختگی بوده‌اند.

در مطالعه ما، فراوانی مقاومت نسبت به آمیکاسین به روش دیسک دیفیوژن ۳۰٪ و به روش میکرودایلوشن

۳۰٪ به دست آمد که به نتایج حاصله از مطالعه نوروژی و همکاران (۹) در روش دیسک دیفیوژن با فراوانی ۳۰٪ و مطالعه فرناندز الموس و همکاران (۱۰) در روش میکرودایلوشن با فراوانی ۲۱٪ شباهت نزدیک تری دارد. فراوانی مقاومت به ایمی پنم در سایر مطالعات طیف گسترده‌ای را شامل می‌شد. به عنوان مثال، در مطالعه فاضلی و همکاران (۱۱) که در سال ۲۰۰۹ در اصفهان انجام شد، این مقدار به روش دیسک دیفیوژن ۹۴/۹٪ محاسبه شد که نسبت به نتایج مطالعه ما میزان بالاتری می‌باشد. شاید علت این تفاوت این باشد که نمونه‌های مطالعه فاضلی و همکارانش (۱۱) فقط زخم‌های سوختگی بوده‌اند؛ اما مطالعه ما شامل انواع مختلفی از نمونه‌های بالینی، از جمله زخم‌های سوختگی بود. همچنین در مطالعه مهاجری و همکاران (۱۲) فراوانی مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک ایمی پنم ۱۰٪ به دست آمد که در مقایسه ما مقدار پایین تری است. ممکن است علت این امر را بتوان در دو مسئله جست‌وجو کرد: اول اینکه نمونه‌های مطالعه مهاجری و همکارانش (۱۲) ۵۰ سویه بوده که نسبت به مطالعه ما به میزان ۵۰٪ کمتر است و دیگر اینکه مهاجری و همکارانش (۱۲) بررسی خود را در سال ۲۰۰۳ انجام داده‌اند که حدوداً ۱۰ سال قبل تر از شروع مطالعه ما می‌باشد و ممکن است در گذر این زمان طولانی مقاومت بیشتری نسبت به این آنتی‌بیوتیک در سودوموناس آئروجینوزا اتفاق افتاده باشد. البته مکان مطالعه هم اهمیت دارد. این دو مطالعه در دو شهر متفاوت انجام شده و میزان مقاومت می‌تواند در مکان‌های مختلف متفاوت باشد؛ کما اینکه این مسئله، خود یکی از دلایل و ضرورت‌های انجام مطالعه ما می‌باشد.

در مطالعه ما فراوانی مقاومت نسبت به سیپروفلوکساسین به روش دیسک دیفیوژن ۳۸٪ و به روش میکرودایلوشن ۴۹٪ به دست آمد که به نتایج حاصله از مطالعه مهاجری و همکاران (۱۲) در روش دیسک دیفیوژن با فراوانی ۳۸٪ و مطالعه فرناندز الموس و همکاران (۱۰) در روش میکرودایلوشن با فراوانی

در مطالعه ما فراوانی مقاومت نسبت به سفتریاکسون به روش دیسک دیفیوژن ۵۱٪ و به روش میکرودايلوشن ۴۶٪ به دست آمد. فراوانی مقاومت به این آنتی‌بیوتیک نیز طیف گسترده‌ای را از ۳۳/۳٪ در مطالعه حقی و همکاران (۲) تا ۹۲٪ در مطالعه اولیا و همکاران (۱۴) و همکاران (۲) تا ۹۲/۳٪ در مطالعه منیری و همکاران (۲۳) به روش دیسک دیفیوژن به خود اختصاص می‌دهد. در این بین، مطالعه شاهچراغی و همکاران (۲۴) با فراوانی ۵۷٪ به روش دیسک دیفیوژن به نتیجه حاصله از مطالعه ما نزدیک‌تر است.

در مطالعه ما فراوانی مقاومت نسبت به توبرامایسین به روش دیسک دیفیوژن ۴۸٪ و به روش میکرودايلوشن نیز ۴۸٪ به دست آمد. فراوانی مقاومت به این آنتی‌بیوتیک نیز طیف گسترده‌ای را از ۱/۸٪ در مطالعه آذری و همکاران (۷) به روش دیسک دیفیوژن و ۱۳٪ در مطالعه فرناندز و همکاران (۱۰) به روش میکرودايلوشن تا ۹۵٪ در مطالعه فاضلی و همکاران (۱۱) و ۹۶/۵٪ در مطالعه بهار و همکاران (۱۷) به روش دیسک دیفیوژن به خود اختصاص می‌دهد. در این بین، مطالعه مهاجری و همکاران (۱۲) با فراوانی ۴۶٪ و مطالعه توحیدپور و همکاران (۲۵) با فراوانی ۵۰٪ به روش دیسک دیفیوژن به نتیجه حاصله از مطالعه ما نزدیک‌تر است.

در مطالعه ما فراوانی مقاومت نسبت به کاربنی‌سیلین به روش دیسک دیفیوژن ۳۲٪ و به روش میکرودايلوشن ۴۶٪ به دست آمد. فراوانی مقاومت به این آنتی‌بیوتیک نیز طیف گسترده‌ای را از ۱/۸٪ در مطالعه آذری و همکاران (۷) و ۵۵٪ در مطالعه ایمانی و همکاران (۲۶) در سال ۱۳۸۸ تا ۹۷/۴٪ در مطالعه فاضلی و همکاران (۱۱) به روش دیسک دیفیوژن به خود اختصاص می‌دهد.

در مطالعه ما فراوانی مقاومت نسبت به پپراسیلین به روش دیسک دیفیوژن ۳۸٪ و به روش میکرودايلوشن نیز ۳۸٪ به دست آمد. فراوانی مقاومت به این آنتی‌بیوتیک نیز طیف گسترده‌ای را از ۲۰٪ در مطالعه میهنی و

۴۳٪ به دست آمد که به نتایج حاصله از مطالعه سلیمی و همکاران (۱۸) در روش دیسک دیفیوژن با فراوانی ۳۵/۱٪ و مطالعه بیانی و همکاران (۱۶) در روش میکرودايلوشن با فراوانی ۵۳/۳٪ شباهت نزدیک‌تری دارد. فراوانی مقاومت به آمیکاسین در سایر مطالعات، طیف گسترده‌ای را شامل می‌شد. به عنوان مثال، در مطالعه بهار و همکاران (۱۷) که در سال ۲۰۱۰ در تهران انجام شد و نیز مطالعه میرصالحیان و همکاران (۱۹) که در سال ۲۰۱۰ در تهران انجام شد، این مقدار به روش دیسک دیفیوژن ۸۱/۷٪ محاسبه شد که نسبت به نتایج مطالعه ما میزان بالاتری می‌باشد. در مطالعه حقی و همکاران (۲) میزان فراوانی مقاومت به آمیکاسین به روش دیسک دیفیوژن ۰٪ محاسبه شد که اختلاف بسیاری با نتایج مطالعه ما و سایر محققین دارد. در مقایسه با مطالعه ما، به نظر می‌رسد این اختلاف به دلیل تفاوت در نوع نمونه مورد بررسی که در مطالعه حقی تنها از نمونه مدفوع بوده، تفاوت در تعداد جامعه آماری مورد بررسی که ۶۶ سویه بوده و نسبت به مطالعه ما تعداد کمتری می‌باشد، متغیرهای زمانی و مکانی مطالعه و چه بسا خطاهای آماری یا غیر آن در انجام پژوهش باشد.

در مطالعه ما فراوانی مقاومت نسبت به جنتامایسین به روش دیسک دیفیوژن ۴۴٪ و به روش میکرودايلوشن ۵۰٪ به دست آمد. فراوانی مقاومت به این آنتی‌بیوتیک طیف گسترده‌ای را شامل می‌شد. به عنوان مثال، در مطالعه بهار و همکاران که در سال ۲۰۱۰ در تهران انجام شد (۱۷)، مطالعه ساتی و همکاران (۲۰) که در سال ۲۰۱۱ در پاکستان انجام شد و نیز مطالعه ماهفود و همکاران (۲۱) که در سال ۲۰۱۵ در سوریه انجام شد، این مقدار به روش دیسک دیفیوژن به ترتیب ۱۰۰٪، ۸۳٪ و ۷۳٪ محاسبه شد که نسبت به نتایج مطالعه ما میزان متفاوت و متغیری می‌باشد. در این بین، مطالعه اوزر و همکاران در ترکیه (۲۲) با فراوانی ۳۸٪ به روش دیسک دیفیوژن به نتیجه حاصله از مطالعه ما نزدیک‌تر است.

به دست آمد که به نتیجه مطالعه ما نزدیک است. براساس نتایج پژوهش، آنتی بیوتیک ایمی پنم بیشترین حساسیت را در هر دو روش دیسک دیفیوژن و کیت میکرودایلوشن نشان داد. تتراسایکلین در روش دیسک دیفیوژن و آمپی سیلین/ سولباکتام در روش کیت بیشترین مقاومت را در بین سایر آنتی بیوتیک ها دارا بودند. به این ترتیب، آنتی بیوتیک ایمی پنم با توجه به دارا بودن بیشترین حساسیت، برای مقابله با عفونت های ناشی از سودوموناس آئروجینوزا به متخصصین مربوطه پیشنهاد می گردد. همچنین در بررسی همخوانی و مقایسه دو روش با استفاده از ضریب کاپا، دو روش در تمامی آنتی بیوتیک ها به جز تتراسایکلین با یکدیگر همخوانی داشتند، به این معنی که روش دیسک دیفیوژن می تواند دقت بسیار نزدیکی به روش میکرودایلوشن داشته باشد؛ بنابراین روش دیسک دیفیوژن حساسیت مناسب در تشخیص مقاومت آنتی بیوتیکی نظیر روش میکرودایلوشن را برای سودوموناس آئروجینوزا نشان داده و می تواند به عنوان روش آسان و در دسترس تر به منظور تعیین مقاومت آنتی بیوتیکی مورد استفاده قرار بگیرد.

سپاس و قدردانی

این تحقیق با حمایت معاونت پژوهشی دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد در قالب پایان نامه دانشجویی خانم دکتر الهام یوسفی انجام شده است که بدین وسیله، نویسندگان این مقاله مراتب تقدیر و تشکر خود را نسبت به این معاونت ابراز می کنند.

منابع

1. Er H, Altındış M, Aşık G, Demir C. Molecular epidemiology of beta-lactamases in ceftazidime-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates. *Mikrobiyoloji Bulteni*. 2015 Apr; 49(2):156-65.
2. Haghı M, Maadi H, Delshad R, Hematyar Gh R, Zare A. Investigation on the Prevalence and antibiotic resistance pattern of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from stool specimens of Urmia hospitals, Iran. *Journal of Biology (Islamic Azad University, Garmsar)*. 2009; 4(3): 55-8.
3. Amini B, Kamali M, Zarei A, Bayat E, Javadi HR, Mansoori M and et al. Isolation and rapid

همکاران (۲۷) تا ۹۷/۴٪ در مطالعه فاضلی و همکاران (۱۱) به روش دیسک دیفیوژن به خود اختصاص می دهد. در این بین، مطالعه انجم و همکاران (۲۸) و مطالعه توحیدپور و همکاران (۲۵) با فراوانی ۳۵٪ به روش دیسک دیفیوژن به نتیجه حاصله از مطالعه ما نزدیک تر است.

در مطالعه ما فراوانی مقاومت نسبت به تتراسایکلین به روش دیسک دیفیوژن ۱۰۰٪ و به روش میکرودایلوشن ۹۶٪ به دست آمد. فراوانی مقاومت به این آنتی بیوتیک نیز طیف گسترده ای را از ۲۳٪ در مطالعه شاهچراغی و همکاران (۲۴) تا ۹۹٪ در مطالعه انجم و همکاران (۲۸) به روش دیسک دیفیوژن به خود اختصاص می دهد. در این بین، مطالعه انجم و همکاران (۲۸) که در سال ۲۰۰۹ در کشور پاکستان انجام شد مقاومت به تتراسایکلین به روش دیسک دیفیوژن با فراوانی ۹۹٪ به نتیجه حاصله از مطالعه ما نزدیک تر است.

در مطالعه ما فراوانی مقاومت نسبت به کلرآمفنیکل به روش دیسک دیفیوژن ۸۶٪ و به روش میکرودایلوشن ۹۵٪ به دست آمد. فراوانی مقاومت به این آنتی بیوتیک در مطالعه مامیشی و همکاران (۲۹) که در سال ۲۰۰۵ در تهران به روش دیسک دیفیوژن انجام شد، ۷۲٪ به دست آمد که نسبت به مطالعه ما میزان کمتری می باشد.

در مطالعه ما فراوانی مقاومت نسبت به سفوپرازون به روش دیسک دیفیوژن ۴۵٪ و به روش میکرودایلوشن ۴۷٪ به دست آمد. فراوانی مقاومت به این آنتی بیوتیک در مطالعه انجم و همکاران (۲۸) که در سال ۲۰۰۹ در کشور پاکستان به روش دیسک دیفیوژن انجام شد، ۴۰٪

detection *Pseudomonas aeruginosa* by PCR. *Journal of Biology (Islamic Azad University, Zanjan)*. 2009; 3(1): 59-65.

4. Frank D. Research topic on *Pseudomonas aeruginosa*, Biology, Genetics, and Host-Pathogen Interactions. *Frontiers in Microbiology*. 2012.
5. Govan JR, Deretic V. Microbial pathogenesis in cystic fibrosis: mucoid *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cepacia*. *Microbiology and*

- Molecular Biology Reviews. 1996 Sep 1;60 (3): 539-74.
6. Shojapour M, Validi M, Shariaty L, Karimi A, Zamanzad B. Determination of antimicrobial resistance pattern and Extended-Spectrum Beta Lactamases producing *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from clinical specimens of Hajar and Kashani Hospitals, Shahrekord 1387. Iranian South Medical Journal. 2011; 14 (2): 94-9.
 7. Ahani-Azari A, Danesh A. Prevalence and antibiotic susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from Taleghani hospital, Gorgan-Iran. Journal of Gorgan University of Medical Science. 2007; 9(3): 69-73.
 8. Forbes BA, Sahn DF, Weissfeld AS, Bailey WR. Bailey & Scott's diagnostic microbiology. Elsevier Mosby; 2007.
 9. Noroozi F, Kalantar D, Mansouri Sh, Moradi M, Alipoor E, Urangi M. Resistance to imipenem and metallo beta lactamase enzyme in clinical isolate of *Pseudomonas aeruginosa* in Ghotboddin burn hospital in Shiraz. Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine. 2010; 15(49): 37-41.
 10. Fernández-Olmos A, García-Castillo M, Maiz L, Lamas A, Baquero F, Cantón R. In vitro prevention of *Pseudomonas aeruginosa* early biofilm formation with antibiotics used in cystic fibrosis patients. International Journal of Antimicrobial Agents. 2012;40(2):173-6.
 11. Fazeli H, Moslehi Z, Irajian G, Salehi M. Determination of Drug resistance patterns and detection of bla-VIM gene in *Pseudomonas aeruginosa* strains Isolated from burned patients in the Emam Mosa Kazem hospital, Esfahan, Iran (2008-9). Iranian Journal of Medical Microbiology. 2010; 3(4): 1-8.
 12. Mohajeri P. Determination of antibiotic susceptibility and resistance of isolated strains of *Pseudomonas aeruginosa* from different clinical specimens of patients in educational and medical centers of Kermanshah (2001-2002). Journal of Kermanshah University of Medical Sciences. 2003; 7(4): 11-20.
 13. Borkar DS, Acharya NR, Leong C, Lalitha P, Srinivasan M, Oldenburg CE, et al. Cytotoxic clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* identified during the Steroids for Corneal Ulcers Trial show elevated resistance to fluoroquinolones. BMC Ophthalmology. 2014 Apr 24;14:54.
 14. Owlia P, Saderi H, Mansouri S, Salemi S, Ameli H. Drug resistance of isolated strains of *Pseudomonas aeruginosa* from burn wound infections to selected antibiotics and disinfectants. Iranian Journal of Pathology. 2006 Apr 1;1(2):61-4.
 15. Tripathi P, Banerjee G, Saxena S, Gupta MK, Ramteke PW. Antibiotic resistance pattern of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from patients of lower respiratory tract infection. African Journal of Microbiology Research. 2011;5(19):2955-9.
 16. Bayani M, Siadati S, Rajabnia R, Taher AA. Drug Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* and *Enterobacter cloacae* Isolated from ICU, Babol, Northern Iran. International Journal of Molecular and Cellular Medicine. 2013 Oct 21;2(4):204-9.
 17. Bahar MA, Jamali S, Samadikuchaksaraei A. Imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains carry metallo- b -lactamase gene bla (VIM) in a level I Iranian burn hospital. Burns. 2010;36(6): 826-30.
 18. Salimi H, Yakhchali B, Owlia P, Lari AR. Molecular Epidemiology and Drug Susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* Strains Isolated From Burn Patients. Lab Medicine. 2010 Sep 1;41 (9):540-4.
 19. Mirsalehian A, Akbari Nakhjavani F, Bahador A, Jabal ameli F, Bigverdi R, Goli HR. Prevalence of MBL-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients. Tehran University Medical Journal. 2011 Jan; 10(68): 563-9.
 20. Satti L, Abbasi S, Qumar TA, Khan MS, Hashmi ZA. In Vitro Efficacy of Cefepime Against Multi-Drug Resistant *Pseudomonas aeruginosa*-An Alarming Situation in our Setup. Open Drug Resistance Journal. 2011 Jul 8;1:12-6.
 21. Mahfoud M, Al Najjar M, Hamzeh AR. Multidrug resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from nosocomial respiratory and urinary infections in Aleppo, Syria. The Journal of Infection in Developing Countries. 2015 Feb 19; 9(2):210-3.
 22. Ozer B, Duran N, Onlen Y, Savas L. Efflux pump genes and antimicrobial resistance of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from lower respiratory tract infections acquired in an intensive care unit. The Journal of Antibiotics. 2012 Jan;65(1):9-13.
 23. Moniri R, Mosayebi Z, Movahedian AH, Mousavi GA. Emergence of Multi-Drug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Isolates in Neonatal Septicemia. Journal of Infectious Diseases and Antimicrobial Agents. 2005;22:39-44.
 24. Shahcheraghi F, Nikbin VS. Metallobetalactamase enzyme and detection the resistance to ceftazidime and imipenem antibiotics in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from clinical specimens in hospital of Imam khomeini and pediatrics medical center in 2005. Iranian Journal of Infectious Disease and Tropical Medicine. 2007; 12(36): 19-22.
 25. Tohidpour A, Najar Peerayeh S, Mehrabadi JF, Rezaei Yazdi H. Determination of the efflux pump-mediated resistance prevalence in *Pseudomonas aeruginosa*, using an efflux pump inhibitor. Current Microbiology. 2009 Sep;59(3): 352-5.
 26. Imani Foolad AA, Rostami Z, Shapouri R. Antimicrobial resistance and ESBL prevalence in *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from clinical specimen by phenotypic and genotypic methods. Journal of Ardabil University of Medical Sciences. 2010; 10(3): 189-98.
 27. Mihani F, Khosravi AD. Isolation of Metallo beta lactamase- producing *Pseudomonas aeruginosa* strains from patients with burn infections and detection of bla VIM bla IMP genes with PCR. Iranian Journal of Medical Microbiology. 2007; 1(1): 23-31.
 28. Anjum F, Mir A. Susceptibility pattern of *Pseudomonas aeruginosa* against various antibiotics. African Journal of Microbiology Research. 2010;4(10): 1005-12.
 29. Mamishi S, Pourakbari B, Ashtiani MH, Hashemi FB. Frequency of isolation and antimicrobial susceptibility of bacteria isolated from bloodstream infections at Children 's Medical Center, Tehran, Iran,1996-2000. International Journal of Antimicrobial Agents. 2005;26(5): 373-9.

Daneshvar
Medicine

*Scientific-Research
Journal of Shahed
University
23th Year, No.121
February-March
2016*

Received: 16/01/2016

Last revised: 21/02/2016

Accepted: 28/02/2016

Survey of antibiotic resistance of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from patients in hospitals of Tehran in 2013

Elham Yousefi¹, Horieh Saderi^{2*}, Fatemeh Rezaei², Parviz Owlia²

1. Medical Student, School of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran.
2. Molecular Microbiology Research Center, Shahed University, Tehran, Iran.

*Corresponding author e-mail: saderih@yahoo.com

Abstract

Background and Objective: *Pseudomonas aeruginosa* is a gram-negative pathogen and one of the main causes of nosocomial infections with its multi-resistance mechanisms, is known as the second important cause of infections that despite of existence of several antibiotics, the treatment against it is so difficult. This study has been done to detect the antibacterial sensitivity of *P.aeruginosa* with the use of two methods of disk-diffusion and microdilution and then to compare between them.

Materials and Methods: 100 clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* were collected from selected hospitals of Tehran and then after identification, the resistance pattern of the bacteria were studied with two methods of disk-diffusion and microdilution for these antibiotics: Ampicillin/Sulbactam, Piperacillin, Carbenicillin, Imipenem, Cefterioxone, Ceftazidime, Cefoperazone, Gentamicin, Tobramycin, Amikacin, Chloramphenicol, Tetracyclin, Ciprofloxacin; then the results were analyzed by statistical tests.

Results: The rate of resistance with the method of disk-diffusion was in the range of 28-100 percent for imipenem and tetracycline and with the method of microdilution was in the range of 30-97 percent for imipenem and ampicillin/sulbactam. Also, K-value which is used for survey of agreement between two methods used in this study, was 0.0 for tetracycline and more than 0.0 for other antibiotics.

Conclusion: *P.aeruginosa* has the maximum sensitivity to imipenem with both methods, so it is suggested to specialists for clinical use. The results have high agreement in all antibiotics except Tetracycline so the disk-diffusion method has a proper sensitivity for detection the antibacterial resistance of *P.aeruginosa* as well as microdilution method.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, Disk diffusion, Microdilution