



Determination of antibiotic susceptibility pattern of *Pseudomonas aeruginosa* and the prevalence of bla OXA-23 gene in isolates from a Hospital in North Khorasan

Mohadeseh Radmehr¹, Majid Moghbeli^{2*}, Hamed Ghasemzadeh Moghadam³

¹Department of Microbiology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran. ²Department of Microbiology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran. ³ Bacteriologist Department of Pathology and Laboratory Sciences, School of Medicine North Khorasan University of Medical Sciences, Khorasan, Iran.

Abstract

Background & Objectives: *Pseudomonas aeruginosa* is one of the most important pathogens of opportunistic infections, which is considered as one of the main causes of nosocomial infections. The aim of this study was to isolate *pseudomonas aeruginosa* and identify strains with bla OXA-23 gene using polymerase chain reaction (PCR) technique.

Materials & Methods: In this study, 70 isolates of *pseudomonas aeruginosa* from various infections including lung, urine, blood, wound and sputum were collected in north khorasan hospital, after phenotypic and genotypic confirmation of the isolates, antibiotic discs of doripenem and imipenem (Rosco), meropenem and ciprofloxacin, colistin and amikacin (Mast) were used to perform antibiotic susceptibility testing of bacteria by disk diffusion method.

Results: Isolates showed 32.8% resistance to amikacin, 47.1% to doripenem, 37.1% to imipenem, 40% to ciprofloxacin, and 10% to colistin. The highest resistance of the strains was related to meropenem 61.4% and the lowest was colistin with 10% resistance.

Conclusion: In this study, the resistance of *pseudomonas aeruginosa* to the antibiotic meropenem was 61.4% and compared to other studies, including in ethiopia, showed a higher level of antibiotic resistance, this level of carbapenem resistance indicates an increase in resistance of *pseudomonas aeruginosa* strains to carbapenems.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, antibiotic susceptibility, bla OXA-23 gene, gyrB gene.

Received: 2 October 2021

Revised: 26 December 2021

Accepted: 17 February 2022

Correspondence to: Majid Moghbeli

Tel: +98 9122218612

E-mail: moghbeli552@gmail.com

Journal of Microbial World 2022, 14(4): 59-68

DOI:10.30495/jmw.2021.690460



Copyright © 2019, This article is published in Journal of Microbial World as an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License. Non-commercial, unrestricted use, distribution, and reproduction of this article is permitted in any medium, provided the original work is properly cited.



تعیین الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی باکتری سودوموناس آئروژینوزا و میزان شیوع ژن bla OXA-23 در جدایه‌های جدا شده از بیمارستان خراسان شمالی

محدثه رادمهر^۱، مجید مقبلی^{۲*}، حامد قاسم زاده مقدم^۳

^۱ گروه میکروبیولوژی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران. ^۲ گروه میکروبیولوژی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران. ^۳ باکتری شناسی، گروه پاتوبیولوژی و علوم آزمایشگاهی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، خراسان، ایران.

چکیده

سابقه و هدف: سودوموناس آئروژینوزا یکی از مهم‌ترین پاتوژن‌های فرصت است که به‌عنوان یکی از عوامل اصلی عفونت‌های بیمارستانی محسوب می‌شود. هدف از این مطالعه جداسازی سودوموناس آئروژینوزا و شناسایی سویه‌های دارای ژن bla OXA-23 با استفاده از تکنیک واکنش زنجیره‌ای پلیمرز بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه ۷۰ جدایه سودوموناس آئروژینوزا از عفونت‌های مختلف از جمله ریه، ادرار، خون، زخم و خلط در بیمارستان خراسان شمالی جمع‌آوری شد، که پس از تایید فنوتیپی و ژنوتیپی جدایه‌ها برای انجام تست حساسیت آنتی بیوتیکی باکتری به روش دیسک دیفیوژن، از دیسک‌های آنتی بیوتیکی دوریپنم، ایمپنم، مروپنم، سیپروفلوکساسین، کولیستین و آمیکاسین استفاده گردید.

یافته‌ها: در نمونه‌های جمع‌آوری شده، میزان مقاومت آنتی بیوتیک‌های آمیکاسین ۳۲/۸٪، دوریپنم ۴۷/۱٪، ایمپنم ۳۷/۱٪، سیپروفلوکساسین ۴۰٪، کولیستین ۱۰٪ بود. بیشترین مقاومت سویه‌ها مربوط به مروپنم با ۶۱/۴٪ و کمترین آن کولیستین با ۱۰٪ درصد مقاومت مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: در این تحقیق مقاومت سودوموناس آئروژینوزا نسبت به آنتی بیوتیک مروپنم ۶۱/۴ درصد به‌دست آمد که در مقایسه با سایر بررسی‌های انجام شده از جمله در کشور اتیوپی، میزان مقاومت آنتی بیوتیکی بالاتری را نشان می‌دهد. این میزان مقاومت کارباپنم‌ها نشان دهنده افزایش مقاومت سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا به کارباپنم‌ها می‌باشد. **واژگان کلیدی:** سودوموناس آئروژینوزا، حساسیت آنتی بیوتیکی، ژن bla OXA-23، ژن gyrB.

پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۱۱/۲۸

ویرایش مقاله: ۱۴۰۰/۱۰/۵

دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۷/۱۰

مقدمه

در جهان می‌باشد (۲۰۱). عواملی مانند استفاده بیش از حد از آنتی بیوتیک‌ها، تجویز داروها بدون تست حساسیت، خود درمانی، مدت طولانی بستری شدن در بیمارستان منجر به وقوع MDR می‌شود (۳ و ۴). باکتری‌هایی که منجر به بهبودی دیر هنگام می‌شود و می‌توانند تهدید کننده زندگی باشد، از جمله می‌توان به باکتری سودوموناس آئروژینوزا اشاره کرد. باکتری

مقاومت در برابر چند دارو (MDR) در عفونت باکتری‌های گرم منفی از نظر سازمان بهداشت جهانی به عنوان یک تهدید اصلی شناخته شده و یکی از مهمترین علل عفونت‌های بیمارستانی

* آدرس برای مکاتبه: گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران.
تلفن: ۰۹۱۲۲۲۱۸۶۱۲
پست الکترونیک: moghbeli552@gmail.com



لاکتاماز رمز کننده اینتگرون ورونا یا VIM، متالوبتالاکتاماز دهلی نو یا NDM، ایمپنم یا IMP و اوکسالیپینازها یا OXA-48 می‌باشد و توانایی بالایی در هیدرولیز کردن اکسیسیلین‌ها با سرعت نسبتاً بالا را دارند (۱۴). عناصر متحرک مانند: پلاسمیدها، ترانسپوزون‌ها و اینتگرون‌ها موثرترین عناصر ژنتیکی هستند که در کسب و گسترش مقاومت باکتری‌های گرم منفی نقش دارند. در این رابطه مطالعات متعددی نشان می‌دهد که مقاومت چنددارویی در این باکتری‌ها به طور قابل توجهی با اینتگرون‌ها و کاست‌های ژنی مرتبط است (۹). Rampioni و همکارانش در سال ۲۰۱۷ دریافتند که سودوموناس آئروژینوزا می‌تواند اهداف عملکرد آنتی‌بیوتیکی‌ها را تغییر دهد، به عنوان مثال بانجام متیلاسیون در 16s rRNA می‌تواند از اتصال آمینوگلیکوزید و اصلاح DNA یا توپوایزومراز برای محافظت از آن، از عمل کینولون‌ها جلوگیری کند. همچنین گزارش شده است که سودوموناس آئروژینوزا دارای سیستم‌های پمپی چند منظوره است که مقاومت در برابر تعدادی از کلاس‌های آنتی‌بیوتیکی را به وجود می‌آورد و mex AB - OprM که از خانواده RND محسوب می‌شوند، به عنوان مهم‌ترین آن‌ها در نظر گرفته می‌شوند (۱۵). عامل مهمی که با مقاومت آنتی‌بیوتیکی همراه است کاهش در قابلیت بیماری‌زایی در سویه مقاوم است. چنین یافته‌هایی در مورد سویه‌های مقاوم سودوموناس آئروژینوزا به ریفامپین و کولیسیتین گزارش شده است که در آن‌ها توانایی عفونت‌زایی کاهش یافته و است (۱۶). Wong و همکارانش در سال ۲۰۱۲ دریافتند جهش در آنزیم DNA ژیراز معمولاً با مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سودوموناس آئروژینوزا همراه است. این جهش‌ها، وقتی با دیگر جهش‌ها ترکیب می‌شوند، بدون اینکه مانع بقا شوند، مقاومت بالایی را در باکتری ایجاد می‌کنند. علاوه بر این، ژن‌های درگیر در مسیر سیگنالینگ cyclic-di-GMP ممکن است در مقاومت نقش داشته باشد. این ژن‌ها در شرایط آزمایشگاهی در ریه‌ی بیمار مبتلا به سیستمیک فیبروزیس به طور مکرر جهش می‌یابند (۱۷). از آنجا که امروزه، بیشتر باکتری‌های عفونت‌زا در برابر داروهای متعدد

سودوموناس آئروژینوزا یکی از باکتری‌های فرصت طلب جدا شده از زخم‌ها که ممکن است منجر به مرگ و میر بالا شود (۵). این باکتری یک باسیل گرم منفی هوازی است، کاتالاز مثبت، بدون اسپور، تاژک دار، که در بسیاری از محیط‌های اکولوژیکی می‌تواند رشد کند، اما محیط‌های مرطوب را ترجیح می‌دهد. در محیط‌های آبی با مواد مغذی کم یا الیگوتروفیک و محیط‌های مغذی مانند: فاضلاب و بدن انسان یافت می‌شود و یک پاتوژن شایع مجاری ادراری و دستگاه تناسلی در بیمارستان است. همچنین در محیط‌های بیمارستانی به خصوص در بخش مراقبت‌های ویژه intensive care unit (ICU) حدود ۱۵٪ از عفونت‌های مربوطه را تشکیل می‌دهد و در مجموع جزو شایع‌ترین پاتوژن‌های باکتریایی عفونت‌های بیمارستانی و غیر بیمارستانی است (۶).

برخی از عفونت‌های ناشی از این باکتری ذات‌الریه، عفونت‌های دستگاه ادراری UTI و سپسیس می‌باشد (۷). عفونت‌های بیمارستانی باارگان‌سیم‌های MDR از عمده مسائل بهداشت جهانی هستند (۲۰۱) که علل اصلی پیامدهای بالینی و مرگ و میر، بیماری، بستری شدن طولانی مدت در بیمارستان، افزایش هزینه‌های مراقبت‌های بهداشتی می‌باشد (۸ و ۳). کارباپنم‌ها، یک گروه قوی از آنتی‌بیوتیک‌هاست و برای درمان عفونت‌های ناشی از مقاومت به چند دارو استفاده می‌شود. ظهور باکتری‌های مقاوم به کارباپنم در حال حاضر یک تهدید است (۹). کارباپنماز، مکانیسم اصلی ایجاد مقاومت به کارباپنم‌ها است (۱۱ و ۹) که متعلق به ۳ تا ۴ کلاس A، B، D، بتا لاکتاماز است (۱۱ و ۹) مقاومت به کارباپنم می‌تواند به خاطر کاهش نفوذپذیری غشای بیرونی به علت تولید بیش از حد بتالاکتاماز یا AmpC که توسط باکتری‌های گرم منفی جدا شده از طیف بتالاکتاماز یا ESBL یا به علت بیان آنزیم‌های کارباپنماز باشد. با این حال، توانایی تولید کارباپنمازهای کلاس A، B، D تاکنون مهم‌ترین مکانیسم مقاومت به کارباپنم بوده است (۱۲ و ۱۳). در حال حاضر، ۵ آنزیم اصلی کارباپنماز وجود دارد که به طور گسترده در شیوع عفونت بیمارستانی دخالت دارند که شامل کلسیلا پنومونیا کاباپنماز یا KPC، متالوبتا

شرکت پویا ژن آزما انجام گردید. به طور خلاصه، کشت میکروبی ۲۴ ساعته در محیط کشت بلاد آگار انجام شد. بعد از اضافه کردن بافر ۱ و ۲، ۱۵۰ میکرولیتر بافر ۳ به میکروتیوب اضافه کرده و سه بار میکروتیوب را Invert (وارونه) کرده تا مخلوط شوند. سپس ۱۸۰ میکرولیتر بافر X را اضافه و ده بار میکروتیوب را Invert کرده و پس از آن میکروسانتریفیوژ در ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه انجام شده و مایع رویی (سوپرناتانت) به میکروتیوب جدید منتقل شده و به آن اتانول ۹۶٪ سرد اضافه و مجدداً Invert انجام شد و میکروسانتریفیوژ ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه و مرحله بعد به رسوب باقی مانده اتانول ۷۰٪ سرد اضافه کرده و ۲-۳ بار Invert شده و مجدداً میکروسانتریفیوژ در ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱ دقیقه انجام شد سپس اتانول را دور ریخته رسوب باقی مانده ۱-۲ دقیقه در دمای محیط خشک شده و در انتها ۵۰ میکرولیتر بافر حلال به لوله اضافه شد و آن‌ها را در دمای ۲۰- سلسیوس برای بررسی‌های بعدی نگهداری شدند. در مرحله بعد پرایمرهای اختصاصی مربوط به ژن *bla OXA-23* و *gyrB* (20) به شرکت سینا کلون برای سنتز سفارش داده شد، که توالی پرایمرهای استفاده شده در جدول زیر آورده شده است (جدول ۱).

جدول ۱: توالی پرایمرهای اختصاصی مربوط به ژن *bla OXA-23* و *gyrB*.

NO	Oligo Name	Seq(5-3)	OD	GC %
1	<i>Bla OXA-23</i> F	GATCGGATTGGAGAACCAGA	4	50
2	<i>bla OXA-23</i> R	ATTTCTGACCGCATTTCCAT	3.5	40
3	<i>gyrB</i> F	CCTGACCATCCGTCGCCACAAC	4.4	63.64
4	<i>gyrB</i> R	CGCAGCAGGATGCCGACGCC	3.5	75

ب) واکنش زنجیره‌ای پلیمراز: برای ردیابی ژن‌های مورد نظر در تکنیک واکنش زنجیره پلیمراز اقدامات لازم به شرح زیر انجام شد: حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر در نظر گرفته شد. ۶/۵ میکرولیتر آب دیونیزه، ۲ میکرولیتر DNA نمونه، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر F و R، ۹/۵ میکرولیتر مسترمیکس (Master Mix) و برنامه واکنش زنجیره‌ای پلیمراز به شرح زیر تنظیم شد: سیکل اول،

مقاوم هستند مشخص کردن این که سویه مورد نظر به چه چیز حساسیت نشان می‌دهد در مسیر درمان بسیار ضروری است. بنابراین هدف از این مطالعه، جداسازی سودوموناس آئروژینوزا و شناسایی سویه‌های دارای ژن *bla OXA-23* با استفاده از تکنیک واکنش زنجیره‌ای پلیمراز است.

مواد و روش‌ها

این مطالعه روی ۷۰ جدایه بالینی جمع‌آوری شده در بیمارستان خراسان شمالی از خرداد سال ۱۳۹۹ تا اردیبهشت سال ۱۴۰۰ انجام شد. سویه‌ها از محل عفونت ریه، ادرار، خون، زخم، خلط و همچنین جدایه‌ها از بخش‌های ICU1، ICU2، ICU3 و اورژانس، بخش عفونی، بخش قلب و نورولوژی جمع‌آوری و در آزمایشگاه بررسی گردیدند. برای تایید فنوتیپ جدایه‌ها آزمایشات استاندارد میکروبی شامل: اکسیداز، بررسی میکروسکوپی به روش قطره معلق و توانایی رشد در دمای ۴۲ درجه سلسیوس و واکنش زنجیره‌ای پلیمراز برای تایید ژنوتیپی جدایه‌ها و با ژن *gyrB* طبق (جدول ۱) انجام شد. سپس جدایه‌های تایید شده فنوتیپی و ژنوتیپی برای آزمایشات بعدی در محیط BHI براث حاوی گلیسرول ۲۰ درصد در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند (۱۸). برای بررسی مقاومت باکتری‌های جدا شده از روش استاندارد کربی بوئر (دیسک دیفیوژن) استفاده گردید. پس از تهیه سوسپانسیون میکروبی معادل کدورت نیم مک فارلند، سوسپانسیون تهیه شده به محیط کشت مولر هینتون آگار تلقیح و دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی روی محیط کشت با رعایت فاصله مناسب (۱/۵ سانتی‌متر) از یکدیگر قرار داده شدند و پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت انکوبه گردیدند. قطر هاله عدم رشد باکتری اندازه‌گیری و طبق جدول CLSI 2019 ثبت شد. دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی مورد استفاده شامل: دوریپنم و ایمپنم (Rosco)، مروپنم و سیپروفلوکساسین و کولیستین و آمیکاسین (Mast) بود (۱۹).

الف) استخراج DNA سویه‌ها: استخراج DNA سویه‌ها طبق دستورالعمل کیت استخراج DNA باکتری‌های گرم منفی

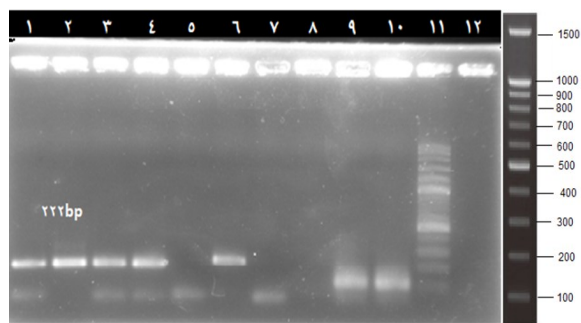
مقاومت آنتی‌بیوتیک‌های آمیکاسین ۳۲/۸٪، دوریپنم ۴۷/۱٪، ای‌می‌پنم ۳۷/۱٪، سیپروفلوکساسین ۴۰٪، کولیستین ۱۰٪ است (جدول ۴). همچنین در این مطالعه تمامی سویه‌ها از لحاظ ژنوتیپی طبق (جدول ۱) و (شکل ۱) بررسی شدند.

جدول ۴: مقاومت‌های سودوموناس آئروژینوزا.

نام دیسک آنتی‌بیوتیک	R	I	S
آمیکاسین	۳۲/۸	۵/۷	۶۱/۴
مروپنم	۶۱/۴	۲۷/۱	۱۱/۴
ای‌می‌پنم	۳۷/۱	۱۰	۵۲/۸
دوریپنم	۴۷/۱	۷/۱	۴۵/۷
سیپروفلوکساسین	۴۰	۱۱/۴	۴۸/۵
کولیستین	۱۰	۳۷/۱	۵۲/۸

Doripenem(DOR)(10mg)
Meropenem(MEM)(10mg)
Colistin(COL)(10mg)
Imipenem(IMI)(10mg)
Amikacin(AMI)(30mg)
Ciprofloxacin(CIPR5)

در بررسی انجام شده تمام جدایه‌ها دارای ژن *gyrB* و همچنین تعداد ۴۳ (۶۱/۴۲٪) از جدایه‌ها دارای ژن *bla OXA-23* بودند (شکل ۲).



شکل ۱: الکتروفورز محصول واکنش زنجیره پلیمرز بر روی DNAهای استخراج شده سودوموناس آئروژینوزا با پرایمرهای اختصاصی ژن *gyrB* ردیف ۱ تا ۱۰: مربوط به الکتروفورز محصول واکنش زنجیره پلیمرز بر روی DNA استخراج شده‌ی نمونه‌های شماره ۱ تا ۱۸ سودوموناس آئروژینوزا می‌باشد و همان طور که در شکل مشاهده می‌شود بعضی از این نمونه‌ها ژن *gyrB* حضور دارد و دارای باند مورد انتظار ۲۲۲ bp می‌باشد. ردیف ۷ تا ۱۰ و ردیف ۵: مربوط به الکتروفورز محصول واکنش زنجیره پلیمرز بر روی DNA استخراج شده‌ی نمونه‌های ۱ تا ۵ سودوموناس آئروژینوزا می‌باشد که فاقد باند مورد انتظار می‌باشد بنابراین این شماره نمونه‌ها حذف شدند. ردیف ۱۲: کنترل منفی. ردیف ۱۱: 100 bp ladder.

مرحله اولیه جداسازی دو رشته در ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه، ۳۵ سیکل دمای ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۴۵ ثانیه، مرحله اتصال پرایمرها ۶۶ درجه سلسیوس به مدت ۴۵ ثانیه، مرحله طویل شدن رشته الگو در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه و مرحله طویل شدن نهایی یک سیکل در ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه، از آب مقطر به عنوان کنترل منفی و از سویه سودوموناس آئروژینوزای حاوی ژن‌های *gyrB*، *bla OXA-23* به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید (۲۰). محصول واکنش زنجیره پلیمرز توسط ژل آگاروز یک در صد الکتروفورز شد و سپس محصولات توسط ژل داک بررسی شدند.

یافته‌ها

تعداد ۷۰ سویه سودوموناس آئروژینوزا از جدایه‌های بالینی بیماران بستری در بیمارستان جمع‌آوری شد. بیشترین جدایه‌های بدست آمده از محل عفونت ریه و سپس ادرار بود که در جدول شماره ۳ آورده شده است. طبق جدول ۲ بیشترین تعداد جدایه‌های جدا شده مربوط به بخش ICU1 می‌باشد.

جدول ۲: درصد جدایه‌های جدا شده از هر بخش بیمارستان.

نام بخش	بخش جدایه‌های جدا شده						
	نورولوژی	بخش قلب	بخش عفونی	اورژانس	ICU3	ICU2	ICU1
سودوموناس آئروژینوزا	۱۲/۸۵	۷/۱۴	۲/۸۵	۱۱/۴۲	۸/۵۷	۲۵/۷۱	۲۷/۱۴

جدول ۳: محل عفونت جدایه‌ها.

نام باکتری	محل عفونت جدایه‌های جدا شده					
	خلط	مایع پلور	آسیت	زخم	خون	ادرار
سودوموناس آئروژینوزا (درصد)	۲/۸۵	۱/۴۲	۱/۴۲	۸/۵۷	۵/۷۱	۱۴/۲۸

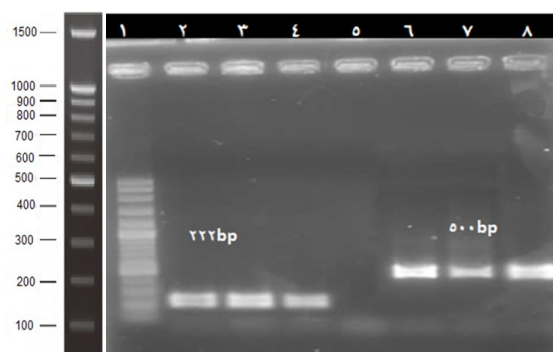
نمونه‌های جمع‌آوری شده ۴۱ مرد و ۲۹ زن که در مجموع ۷۰ نمونه سودوموناس آئروژینوزا از بیماران بستری در بیمارستان جمع‌آوری شد. بیشترین مقاومت سویه‌ها مربوط به مروپنم با ۶۱/۴٪ و کمترین آن کولیستین ۱۰٪ مشاهده شد. میزان

جدول ۵: مقایسه مقاومت آنتی‌بیوتیکی و حضور ژن *bla OXA-23*.

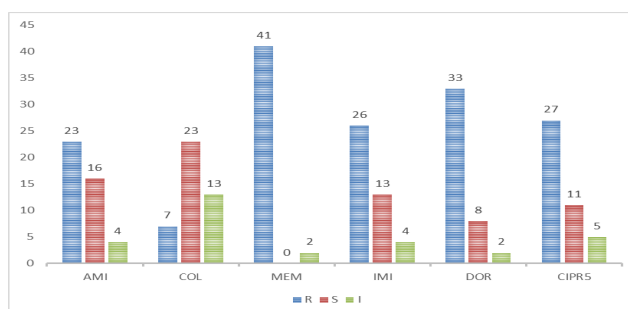
سودوموناس آئروژینوزا	AMI	COL	MEM	IMI	DOR	CIPRS
R	۲۳	۷	۴۱	۲۶	۳۳	۲۷
S	۱۶	۲۳	۰	۱۳	۸	۱۱
I	۴	۱۳	۲	۴	۲	۵

بحث

عفونت‌های بیمارستانی مقاوم به آنتی‌بیوتیک در حال تبدیل شدن به مشکل جدی در ICU و سایر بخش‌های بیمارستان، افزایش عوارض و مرگ و میر، افزایش طول مدت بستری در بیمارستان و افزایش هزینه‌های مراقبت‌های بهداشتی هستند (۲۱ و ۲۲). این امر ممکن است ناشی از فقدان اطلاعات کافی در مورد فلور غالب بیمارستانی و ناشناخته ماندن منشأ مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بیماران بستری باشد. اخیراً پلی‌میکسین‌ها از جمله کولیستین به عنوان آخرین راه حل درمانی باکتری‌های مقاوم به چنددارو به کار می‌رود. از این رو مطالعه مقاومت در برابر پلی‌میکسین‌ها و همچنین کارباینم‌ها و شناسایی سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها برای جلوگیری از انتشار ژن‌های مقاوم امری مهم به نظر می‌رسد (۲۳). مقاومت سودوموناس آئروژینوزا نسبت به آنتی‌بیوتیک مروپنم ۶۱/۴ درصد می‌باشد که در مقایسه با بررسی‌های انجام شده در اتیوپی (۴۵/۵) (۲۴)، آسیا ۳۶/۶-۵۴٪ (۲۵ و ۲۶). میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی بالاتر است. در حالی که میزان مقاومت نسب به مروپنم در تایوان ۷۳/۲٪ و همچنین در عربستان ۸۱/۸٪ (۲۷) می‌باشد که میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک مروپنم نسبت به تایوان و عربستان کمتر می‌باشد. در این بررسی میزان مقاومت نسبت به کولیستین ۱۰٪ است که نسبت به سایر بررسی‌های انجام شده (۲۸) کمتر می‌باشد که این نشان می‌دهد که میزان مقاومت کارباینم‌ها بیشتر و آنتی‌بیوتیک‌های پلی‌میکسین (کولیستین) کمتر است. تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی این سویه‌ها نشان می‌دهد که مقاومت نسبت به کارباینم‌ها رو به افزایش است.

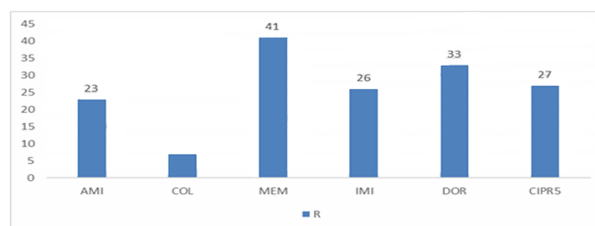


شکل ۲: الکتروفورز محصول واکنش زنجیره پلیمرز بر روی DNA استخراج شده سودوموناس آئروژینوزا با پرایمرهای اختصاصی ژن‌های *blaOXA-23* و *gyrB* ردیف‌های ۲ تا ۸: مربوط به الکتروفورز محصول واکنش زنجیره پلیمرز بر روی DNA استخراج شده‌ی نمونه‌های شماره ۶ تا ۱۰ سودوموناس آئروژینوزا با پرایمر اختصاصی ژن *gyrB* که دارای باند مورد انتظار ۲۲۲ bp می‌باشد. ردیف‌های ۶ و ۷ و ۸: مربوط به الکتروفورز محصول واکنش زنجیره پلیمرز بر روی DNA استخراج شده‌ی نمونه‌های شماره ۶ تا ۱۰ سودوموناس آئروژینوزا با پرایمر اختصاصی ژن *bla OXA-23* می‌باشد که دارای باند مورد انتظار ۵۰۰ bp می‌باشد. ردیف ۵: کنترل منفی. ردیف ۱: ۱۰۰ bp ladder.



نمودار ۱: مقاومت آنتی‌بیوتیکی سودوموناس آئروژینوزا و حضور ژن *bla OXA-23*.

مطابق (نمودار ۲) جدایه‌های سودوموناس آئروژینوزایی که مقاوم هستند و دارای ژن *bla OXA-23* می‌باشند آورده شده است. همچنین مقاومت آنتی‌بیوتیکی مروپنم و حضور ژن *bla OXA-23* بیشتر می‌باشد (جدول ۵).



نمودار ۲: فراوانی ژن *bla OXA-23* و مقاومت آنتی‌بیوتیکی.

در این مطالعه بررسی روی ۷۰ جدایه بالینی و بررسی فنوتیپی و همچنین تایید ژنوتیپی سودوموناس آئروژینوزا توسط تکنیک واکنش زنجیره پلیمرز و با استفاده از ژن *gytB* انجام شده است. بر اساس نتایج واکنش زنجیره پلیمرز تمام جدایه‌ها برای ژن *gytB* ۲۲۲bp و ژن *bla OXA-23* ۵۰۰bp می‌باشد. واکنش زنجیره پلیمرز یک تکنیک سریع و با حساسیت بالا برای شناسایی عوامل بیماری‌زای میکروبی است (۲۹ و ۳۰). بر اساس طبقه بندی Ambler بتالاکتامازها به چهار گروه A، B، C و D تقسیم می‌شوند. کاربایتم هیدرولاز بتالاکتامازهای کلاس D مانند: OXA-23، OXA-24 و OXA-40 باعث ایجاد مقاومت به کاربایتم‌ها مانند: ایمپنم، دوریپنم و مروپنم می‌شود، که از طریق پل آبگریز توسط Tyr 112 و Met 223 تشکیل شده و نقش مهمی در فعالیت آنزیم کاربایتم‌ناز دارد (۳۱). در این بررسی میزان مقاومت به ایمپنم، مروپنم، دوریپنم به ترتیب ۳۷/۱٪، ۶۱/۴٪، ۴۷/۱٪ بود. میزان بالای مقاومت به مروپنم به علت وجود میزان بالای ژن OXA-23 است و تعداد جدایه‌هایی که مقاوم و دارای ژن *bla OXA-23* می‌باشند، مروپنم ۴۱ (۵۸/۵۷٪)، دوریپنم ۳۳ (۴۷/۱۴٪) و سیپروفلوکساسین ۲۷ (۳۸/۵۷٪) است و موثرترین آنتی‌بیوتیک نسبت به جدایه‌های سودوموناس آئروژینوزا کولیستین می‌باشد. مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۹ در مورد عفونت‌های بیمارستانی و غیر بیمارستانی انجام شده است (۳۲) که نتایج کارشان با بررسی‌هایی که محمدزاده و همکارانش در سال ۲۰۱۷ انجام داده بودند و میزان حساسیت به آمیکاسین ۹۹/۴٪ گزارش داده‌اند مطابقت داشت در حالی که در این بررسی میزان حساسیت به آمیکاسین ۴/۶۱٪ و میزان مقاومت ۳۲/۸٪ می‌باشد که نشان دهنده‌ی کاهش میزان حساسیت به آمیکاسین می‌باشد. میزان مقاومت به آمیکاسین در بررسی انجام شده توسط گلشنی همکاران در سال ۹۳ در بیمارستان‌های استان اصفهان میزان مقاومت به آمیکاسین را ۶۵٪ گزارش دادند. در این مطالعه میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین ۴۰٪ است و مطالعه‌ی انجام شده در سال ۲۰۱۹ میزان مقاومت به سیپروفلوکساسین ۱۱٪ بوده و بادامچی و همکاران در سال

۲۰۱۷ میزان مقاومت به سیپروفلوکساسین را ۲۷/۱٪ گزارش داده‌اند که نشان دهنده افزایش مقاومت به سیپروفلوکساسین می‌باشد. در این بررسی موثرترین آنتی‌بیوتیک آمیکاسین با حساسیت ۶۱/۴٪ و بعد از آن ایمپنم و کولیستین با حساسیت ۵۲/۸٪ بوده است. چندین بررسی استفاده غیر منطقی از آنتی‌بیوتیک‌ها و ظهور سویه‌های مقاوم تحت فشار انتخابی را تایید کردند. برای کاهش این مشکل اقدامات کنترل عفونت مانند: بهداشت خوب دست، تجویز و استفاده صحیح از آنتی‌بیوتیک‌ها می‌تواند موثر باشد (۳۳ و ۳۴). اخیراً سازمان بهداشت جهانی (WHO) سودوموناس آئروژینوزا مقاوم به کاربایتم را جز لیست اولویت عوامل بیماری‌زای مقاوم به آنتی‌بیوتیک به منظور هدایت و تشویق تحقیقات به کشف آنتی‌بیوتیک‌های جدید و موثر قرار داده است (۳۵).

نتیجه‌گیری

درمان ناشی از عفونت سودوموناس آئروژینوزا دارای ژن *bla OXA-23* با توجه به افزایش مقاومت و عدم موفقیت آنتی‌بیوتیک‌ها بسیار مشکل است بنابراین نتایج مطالعه انجام شده در مراکز مراقبت‌های بهداشتی و کمیته مشورتی کنترل عفونت بیمارستان به منظور تصمیم‌گیری بهتر در مورد کنترل و پیشگیری از بیماری‌های عفونی ایجاد شده توسط این باکتری، به نوبه خود می‌تواند کمک کننده باشد.

ملاحظات اخلاقی

نویسندگان تمام نکات اخلاقی شامل عدم سرقت ادبی، انتشار دوگانه، تحریف داده‌ها و داده‌سازی را در این مقاله رعایت کرده‌اند.

تشکر و قدردانی

از تمام کسانی که من را در تمام مراحل انجام این مقاله یاری کردند کمال تشکر را دارم.

تعارض در منافع

وجود ندارد.

References

1. Poza M, Gayoso C, Gomez MJ, Rumbo-Feal S, Tomas M, Aranda J, et al. Exploring bacterial diversity in hospital environments by GS-FLX Titanium pyrosequencing. 2012.
2. Pritsch M, Zeynudin A, Messerer M, Baumer S, Liegl G, Schubert S, et al. First report on bla_{NDM-1}-producing *Acinetobacter baumannii* in three clinical isolates from Ethiopia. BMC infectious diseases. 2017;17(1):1-7.
3. Morales E, Cots F, Sala M, Comas M, Belvis F, Riu M, et al. Hospital costs of nosocomial multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* acquisition. BMC Health Services Research. 2012;12(1):1-8.
4. Rods GP. UK standards for microbiology investigations. Public Health England. 2014.
5. Salman M, Ali A, Haque A. A novel multiplex PCR for detection of *Pseudomonas aeruginosa*: A major cause of wound infections. Pakistan journal of medical sciences. 2013;29(4):957.
6. Slekovec C, Plantin J, Cholley P, Thouverez M, Talon D, Bertrand X, et al. Tracking down antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates in a wastewater network. PloS one. 2012;7(12):e49300.
7. Aghazadeh M, Samadi Kafil H, Ghotaslou R, Asgharzadeh M, Moghadami M, Akhi MT, et al. Prevalence of oxacillinase groups i, ii and iii in *Pseudomonas aeruginosa* isolates by polymerase chain reaction and genotyping by ERIC-PCR methods. Jundishapur Journal of Microbiology. 2016:1-6.
8. Huang H, Chen B, Liu G, Ran J, Lian X, Huang X, et al. A multi-center study on the risk factors of infection caused by multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii*. BMC infectious diseases. 2018; 6-1(1): 18.
9. Kateete DP, Nakanjako R, Namugenyi J, Erume J, Joloba ML, Najjuka CF. Carbapenem resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* at Mulago Hospital in Kampala, Uganda (2007–2009). Springerplus. 2016;5(1):1-11.
10. Amudhan MS, Sekar U, Kamalanathan A, Balaraman S. bla_{IMP} and bla_{VIM} mediated carbapenem resistance in *Pseudomonas* and *Acinetobacter* species in India. The Journal of Infection in Developing Countries. 2012;6(11):757-62.
11. Poirel L, Pitout JD, Nordmann P. Carbapenemases: molecular diversity and clinical consequences. 2007.
12. Nordmann P, Gniadkowski M, Giske C, Poirel L, Woodford N, Miriagou V, et al. Identification and screening of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Clinical Microbiology and Infection. 2012; 8-432(5): 18.
13. Sherry N, Howden B. Emerging Gram negative resistance to last-line antimicrobial agents fosfomycin, colistin and ceftazidime-avibactam—epidemiology, laboratory detection and treatment implications. Expert review of anti-infective therapy. 2018; 306-289(4): 16.

14. Dortet L, Cuzon G, Ponties V, Nordmann P. Trends in carbapenemase-producing Enterobacteriaceae, France, 2012 to 2014. *Eurosurveillance*. 2017; 22(6):30461.
15. Rampioni G, Pillai CR, Longo F, Bondi R, Baldelli V, Messina M, et al. Effect of efflux pump inhibition on *Pseudomonas aeruginosa* transcriptome and virulence. *Scientific reports*. 2017;7(1):1-14.
16. Aghapour Z, Gholizadeh P, Ganbarov K, Bialvaei AZ, Mahmood SS, Tanomand A, et al. Molecular mechanisms related to colistin resistance in Enterobacteriaceae. *Infection and drug resistance*. 2019;12:965.
17. Wong A, Rodrigue N, Kassen R. Genomics of adaptation during experimental evolution of the opportunistic pathogen *Pseudomonas aeruginosa*. 2012.
18. Shacheraghi F, Shakibaie MR, Noveiri H. Molecular Identification of ESBL Genes bla GES-1, bla VEB-1, bla CTX-M bla OXA-1, bla OXA-4, bla OXA-10 and bla PER-1 in *Pseudomonas aeruginosa* Strains Isolated from Burn Patients by PCR, RFLP and Sequencing Techniques. *International Journal of Bioengineering and Life Sciences*. 2010;4(1):114-8.
19. Piewngam P, Kiratisin P. Comparative assessment of antimicrobial susceptibility testing for tigecycline and colistin against *Acinetobacter baumannii* clinical isolates, including multidrug-resistant isolates. *International journal of antimicrobial agents*. 2014;44(5):396-401.
20. Rouhi S, Ramazanzadeh R. Prevalence of blaOxacillinase-23 and blaOxacillinase-24/40-type Carbapenemases in *Pseudomonas aeruginosa* Species Isolated From Patients With Nosocomial and Non-nosocomial Infections in the West of Iran. *Iranian journal of pathology*. 2018;13(3):348.
21. Johnson AP, Ashiru-Oredope D, Beech E. Antibiotic stewardship initiatives as part of the UK 5-year antimicrobial resistance strategy. *Antibiotics*. 2015;4(4):467-79.
22. Johnson AP. Surveillance of antibiotic resistance. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2015;370(1670):20140080.
23. Abd El-Baky RM, Masoud SM, Mohamed DS, Waly NG, Shafik EA, Mohareb DA, et al. Prevalence and some possible mechanisms of colistin resistance among multidrug-resistant and extensively drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Infection and drug resistance*. 2020;13:323.
24. Solomon FB, Wadilo F, Tufa EG, Mitiku M. Extended spectrum and metallo beta-lactamase producing airborne *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* in restricted settings of a referral hospital: a neglected condition. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*. 2017;6(1):1-7.
25. Shanthi M, Sekar U. Multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* infections among hospitalized patients: risk factors and outcomes. *The Journal of the Association of Physicians of India*. 2009;57:636, 8-40, 45.

26. Bhatt P, Rathi KR, Hazra S, Sharma A, Shete V. Prevalence of multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* infection in burn patients at a tertiary care centre. Indian Journal of Burns. 2015;23(1):56.
27. Somily AM, Absar MM, Arshad MZ, Al Aska AI, Shakoor ZA, Fatani AJ, et al. Antimicrobial susceptibility patterns of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* against carbapenems, colistin, and tigecycline. Saudi Med J. 2012;33(7):750-5.
28. Khalifa HO, Ahmed AM, Oreiby AF, Eid AM, Shimamoto T, Shimamoto T. Characterisation of the plasmid-mediated colistin resistance gene *mcr-1* in *Escherichia coli* isolated from animals in Egypt. International journal of antimicrobial agents. 2016;47(5):413-4.
29. Sheikh AF, Rostami S, Jolodar A, Tabatabaiefar MA, Khorvash F, Saki A, et al. Detection of metallo-beta lactamases among carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. Jundishapur journal of microbiology. 2014;7(11).
30. Gabar AM, Al-Daraghi WA. Use of PCR to Detection *Pseudomonas aeruginosa* from Clinical Samples in Hilla Teaching Hospital. Journal of University of Babylon. 2016;24(5).
31. June CM, Vallier BC, Bonomo RA, Leonard DA, Powers RA. Structural origins of oxacillinase specificity in class D β -lactamases. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2014;58(1):333-41.
32. Elmouaden C, Laglaoui A, Ennane L, Bakkali M, Abid M. Virulence genes and antibiotic resistance of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from patients in the Northwestern of Morocco. The Journal of Infection in Developing Countries. 2019;13(10):892-8.
33. Badamchi A, Masoumi H, Javadinia S, Asgarian R, Tabatabaee A. Molecular detection of six virulence genes in *Pseudomonas aeruginosa* isolates detected in children with urinary tract infection. Microbial pathogenesis. 2017;107:44-7.
34. Djordjevic ZM, Folic MM, Jankovic SM. Correlation between cefepime utilisation and *Pseudomonas aeruginosa* resistance rates to β -lactams and carbapenems in patients with healthcare-associated infections. Journal of global antimicrobial resistance. 2018;13:60-4.
35. Tacconelli E, Carrara E, Savoldi A, Harbarth S, Mendelson M, Monnet DL, et al. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. The Lancet Infectious Diseases. 2018;18(3):318-27.