مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۲۷۸/هفته سوم اردیبهشت ماه ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۰/۲۹
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱/۱۸

شناسایی آنزیم‌های کارباپنماز در ایزوله‌های بالینی خانواده‌ی انتروباکتریاسیه با روش فنوتیپی Modified Hodge Test

رضا کمالی کاخکی[۱]، دکتر فرشته شاهچراغی[۲]، دکتر محمد مهدی اصلانی[۲]، دکتر محمد یوسف علیخانی[۳]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: کرباپنم‌ها از آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام محسوب می‌شوند که می‌توانند نقش مهمی در درمان عفونت‌هایی با مقاومت چندگانه و شدید ایفا کنند. تولید آنزیم‌های کرباپنماز مهم‌ترین مکانیسم مقاومت نسبت به کرباپنم‌ها محسوب می‌شود؛ چرا که این آنزیم‌ها بر روی عناصر ژنتیکی متحرک نظیر پلاسمیدها قرار گرفته‌اند که می‌توانند به سرعت در بین باکتری‌های گرم منفی توزیع گردند.

روش‌ها: از مهرماه ۱۳۹۱ تا خرداد ۱۳۹۲ تعداد ۵۰۰ سویه‌ی انتروباکتریاسیه از نمونه‌های مختلف بیماران جداسازی گردید. ایزوله‌ها با استفاده از روش‌های بیوشیمیایی شناسایی و با PCR (Polymerase chain reaction) تأیید شدند. حساسیت آنتی بیوتیکی ایزوله‌ها با استفاده از روش دیسک دیفیوژن آگار برای ۱۴ آنتی بیوتیک مختلف تعیین شد. در سویه‌هایی که با روش دیسک دیفیوژن آگار نسبت به آنتی بیوتیک‌های کارباپنم غیر حساس بودند، تولید کرباپنماز با روش Modified Hodge test مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: اشریشیاکلی، گونه های کلبسیلا و پروتئوس به ترتیب بیشترین ایزوله از نمونه‌های بالینی بودند. مقاومت نسبت به سفوتاکسیم (۶۴/۲ درصد)، آزترئونام (۵۹/۳ درصد) و کوتریموکسازول (۵۸/۶ درصد) بالا بود. از ۴۰ سویه‌ی غیر حساس نسبت به کرباپنم‌ها، (۷۲/۵ درصد) ۲۹ سویه با روش MHT (Modified Hodge test) از نظر وجود آنزیم کرباپنماز مثبت شدند.

نتیجه‌گیری: گسترش ایزوله‌های مقاوم به کرباپنم نگرانی فزاینده‌ای را در سال‌های اخیر ایجاد کرده است؛ چرا که این آنتی بیوتیک‌ها به عنوان آخرین خط دارویی برای درمان عفونت‌های ناشی از باسیل‌های گرم منفی از جمله اعضای خانواده‌ی انتروباکتریاسیه استفاده می‌شوند. MHT می‌تواند به عنوان یک روش ساده برای شناسایی تولید کارباپنمازها در باکتری‌های گرم منفی استفاده شود.

واژگان کلیدی: انتروباکتریاسیه، مقاومت آنتی بیوتیکی، Modified Hodge test، کارباپنماز

ارجاع: کمالی کاخکی رضا، شاهچراغی فرشته، اصلانی محمد مهدی، علیخانی محمد یوسف. **شناسایی آنزیم‌های کارباپنماز در ایزوله‌های بالینی خانواده‌ی انتروباکتریاسیه با روش فنوتیپی Modified Hodge Test.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۷۸): ۳۲۰-۳۰۸

مقدمه

اعضای خانواده‌ی انتروباکتریاسیه، باسیل‌های گرم منفی می‌باشند که به طور طبیعی جزء فلور طبیعی روده و یکی از پاتوژن‌های شایع انسانی محسوب می‌شوند و باعث ایجاد عفونت‌های خطرناکی نظیر سپتی سمی، پنومونی، پری سیستیت، پیلونفریت، تونیت، مننژیت و عفونت‌های مرتبط با وسایل پزشکی می‌شوند. در بین این خانواده، اشریشیاکلی

۱- کارشناس ارشد، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران
۲- استاد، بخش میکروب‌شناسی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران
۳- دانشیار، مرکز تحقیقات بروسلوز و گروه میکروب‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی و دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر محمد یوسف علیخانی
Email: alikhani@umsha.ac.ir

(Ecoli) شایع‌ترین عامل عفونت‌های ادراری و گونه‌های کلبسیلا و انتروباکتر جزء مهم‌ترین عوامل ایجاد کننده‌ی پنومونی محسوب می‌شوند. اعضای این خانواده به راحتی می‌توانند از طریق دست، غذا و آب آلوده در بین انسان‌ها انتقال یابند و تمایل زیادی به کسب عناصر ژنتیکی متحرک نظیر پلاسمیدها و ترانسپوزون‌ها از طریق مکانیسم‌های انتقال افقی ژن دارند (۴-۱).

افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی ممکن است در ارگانیسم هایی ایجاد شده باشد که دوز غیر کشنده‌ای از آنتی بیوتیک‌ها را تحمل کرده‌اند و تحت شرایط فشار انتخابی، سازگاری پیدا کرده‌اند و یا در اثر گسترش عناصر ژنتیکی متحرک نسبت به آنتی بیوتیک‌ها مقاوم شده‌اند. به نظر می‌رسد که محتمل‌ترین فرضیه این است که هر دو مکانیسم برای پایداری و مقاومت جمعیت باکتری‌ها مسؤول هستند (۶-۵).

آنتی بیوتیک‌های کرباپنم زیر مجموعه‌ای از آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام محسوب می‌شوند که می‌توانند نقش مهمی در درمان عفونت‌هایی با مقاومت چندگانه و شدید ایفا کنند. همچنین وسیع‌الطیف بودن این آنتی بیوتیک‌ها باعث شده است تا در درمان عفونت‌های تهدید کننده‌ی حیات نظیر سپسیس، به طور رایج استفاده شوند (۱۰-۷). با توجه به استفاده‌ی نامناسب و بیش از حد این داروها، افزایش مقاومت باکتری‌ها نسبت به کرباپنم‌ها مشاهده می‌شود (۱۲-۱۱).

تولید کرباپنماز مهم‌ترین مکانیسم مقاومت نسبت به کرباپنم‌ها محسوب می‌شود؛ چرا که ژن کد کننده‌ی این آنزیم‌ها بر روی عناصر ژنتیکی متحرک نظیر پلاسمیدها قرار گرفته است که می‌تواند به سرعت در بین باکتری‌های گرم منفی توزیع گردد (۱۵-۱۳).

شناسایی آنزیم‌های کرباپنماز با استفاده از روش‌های معمول آزمایشگاهی نظیر دیسک دیفیوژن آگار مشکل می‌باشد، اما می‌توان این آنزیم‌ها را به روش فنوتیپی نیز شناسایی نمود. از روش‌های فنوتیپی، MHT (Modified Hodge test) به نسبت آسان و قابل اعتماد است و امکان انجام آن در هر آزمایشگاهی وجود دارد (۱۶).

از آن جایی که شیوع باکتری‌ها و فراوانی مقاومت آنتی بیوتیکی آن‌ها با توجه به سیاست‌های مراکز درمانی و کنترل عفونت در مناطق مختلف می‌تواند متفاوت باشد؛ بنابراین مطالعه‌ی حاضر طراحی شد تا علاوه بر تعیین میزان مقاومت ایزوله‌های بالینی خانواده‌ی انتروباکتریاسیه نسبت به کرباپنم‌ها، فراوانی سویه‌های تولید کننده‌ی آنزیم های کرباپنماز را با استفاده از روش فنوتیپی MHT مورد بررسی قرار گیرد.

روش‌ها

جمع‌آوری نمونه

در این مطالعه در فاصله‌ی زمانی ۹ ماه از مهر ماه ۱۳۹۱ تا خرداد ماه ۱۳۹۲، ۵۰۰ سویه‌ی انتروباکتریاسیه از نمونه‌های مختلف بیماران در ۳ بیمارستان آموزشی بعثت، فرشچیان و شهید بهشتی شهر همدان جداسازی گردید. تمامی نمونه‌های انتقالی از بیمارستان‌ها ابتدا بر روی محیط Blood agar و MacConkey agar کشت داده شدند و سویه‌ها به صورت کامل خالص گردید. سپس با استفاده از آزمایش‌های افتراقی نظیر TSI (Triple sugar iron)، KIA (Kliger's iron agar)، SIM (Sulfur indole motility)، سیمون سیترات، MR-VP (Methyl red- voges-proskauer)،

باکتری‌های ایزوله شده تعیین هویت شدند (۱۷). کلونی‌های مربوط به اعضای خانواده‌ی انتروباکتریاسیه در محیط TSA (Tryptic soy agar) حاوی ۱۵ درصد گلیسرول کشت و در دمای ۷۰°C- ذخیره شدند تا در مراحل بعدی، وارد مطالعه شوند.

تأیید سویه‌های ایزوله شده با روش PCR

پس از استخراج DNA با روش جوشاندن (Boiling) سویه‌هایی که به عنوان اعضای خانواده‌ی انتروباکتریاسیه شناسایی شده بودند، با استفاده از تکنیک PCR (Polymerase chain reaction) و پرایمرهای اختصاصی برای تکثیر ژن rpoB مورد بررسی قرار گرفتند و تأیید شدند (۱۸). ژن rpoB به عنوان هدف برای شناسایی اعضای خانواده‌ی انتروباکتریاسیه از طریق تکنیک PCR مستقیم بر روی نمونه‌های سپسیس محسوب می‌گردد؛ به طوری که اختصاصیت و حساسیت این تکنیک ۱۰۰ درصد گزارش شده است (۱۸). پرایمرها به صورت لیوفیلیزه از شرکت BIONEER با واسطه‌ی شرکت تکاپو زیست تهیه گردید و طبق دستورالعمل شرکت سازنده، با آب مقطر استریل رقیق گردید که غلظت ۱۰۰ Pmol به دست آمد (محلول استوک). از محلول استوک، غلظت ۱۰ Pmol محلول کار تهیه گردید و جهت انجام PCR از آن استفاده شد. در این مطالعه، از ۱۰ µl مستر میکس ۲X Taq premix (تهیه شده از شرکت آریا توس)، ۱ µl از هر کدام از پرایمرها، ۷ µl آب دوبار تقطیر و ۱ µl از DNA مورد نظر تهیه و با حجم نهایی ۲۰ µl فرایند PCR انجام شد.

تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی

از ۵۰۰ نمونه‌ی جمع‌آوری شده از بیمارستان‌ها، تعداد ۳۰۷ ایزوله به طور کامل آنتی بیوگرام شدند و تعداد ۱۹۳ ایزوله‌ی دیگر تنها از نظر مقاومت نسبت به کرباپنم‌ها (ایمی پنم، مروپنم و ارتاپنم) مورد بررسی قرار گرفتند. ابتدا از باکتری‌های خالص شده، کشت ۲۴ ساعته بر روی محیط BHI agar (Brain heart infusion agar) انجام گرفت. چند کلونی از کشت تازه را به سرم فیزیولوژی استریل اضافه نمودیم تا کدورتی معادل ۰/۵ مک فارلند تهیه شود. سپس از سوسپانسیون تهیه شده برای انجام آزمایش آنتی بیوگرام استفاده شد.

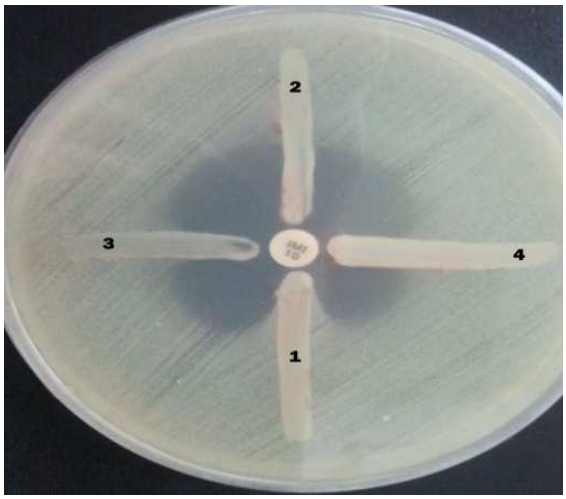
آزمایش حساسیت آنتی بیوتیکی نسبت به کلاس‌های مختلف آنتی بیوتیکی از جمله ایمی پنم (۱۰ µg)، مروپنم (۱۰ µg)، ارتاپنم (۱۰ µg)، سفتازیدیم (۳۰ µg)، سفوتاکسیم (۳۰ µg)، سفپیم (۳۰ µg)، آزترونام (۳۰ µg)، سیپروفلوکساسین (۵ µg)، لووفلوکساسین (۵ µg)، امیکاسین (۳۰ µg)، کانامایسین (۳۰ µg)، داکسی سیکلین (۳۰ µg)، تایجی سیکلین (۱۵ µg) و تریمتوپریم سولفامتوکسازول (۲۵ µg) تهیه شده از شرکت MAST انگلستان، با استفاده از روش دیسک دیفیوژن آگار انجام شد.

نتایج آنتی بیوگرام بعد از ۱۸ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷°C بررسی شد. سپس با توجه به قطر هاله‌ی ممانعت از رشد و اندازه‌گیری آن به وسیله‌ی خط‌کش و با استفاده از جدول استاندارد CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) مقاومت یا حساسیت باکتری‌ها نسبت به آنتی بیوتیک‌های مورد نظر مشخص گردید (۱۹). در این تحقیق از اشریشیاکلی ATCC ۲۵۹۲۲ به عنوان ارگانیسم کنترل در انجام آزمایش استفاده شد.

تولید کارباپنماز با روش فنوتیپی MHT

در ابتدا رقت ۰/۵ مک فارلند از ۲۵۹۲۲ Ecoli ATCC را در ۵ ml از براث یا سالین تهیه نمودیم. سوسپانسیون تهیه شده به میزان ۱:۱۰ رقیق شد و سپس به صورت یکنواخت بر روی محیط Mueller Hinton agar، کشت گردید. یک دیسک کارباپنم در مرکز پلیت قرار گرفت. سپس ارگانیسم مورد آزمایش به صورت یک خط مستقیم از لبه‌ی دیسک تا کناره‌های پلیت کشیده شد. سپس پلیت به مدت ۲۴-۱۶ ساعت در دمای ۳۷ °C انکوبه شد (۲۱-۲۰).

ایزوله‌ی MHT مثبت، بعد از ۲۴ ساعت، یک بریدگی برگ شبدری شکل از Ecoli ۲۵۹۲۲ را در امتداد ارگانیسم مورد آزمایش در ناحیه‌ی مهار رشد دیسک ایجاد می‌کند. آزمایش MHT منفی، هیچ گونه رشدی از Ecoli ۲۵۹۲۲ در امتداد ارگانیسم مورد آزمایش در ناحیه‌ی مهار رشد ایجاد نمی‌کند (شکل ۱).



شکل ۱. آزمایش MHT (Modified Hodge test) با استفاده از دیسک ایمی پنم. ۱) MHT مثبت قوی، ۲) MHT منفی، ۳ و ۴) MHT مثبت ضعیف

یافته‌ها

جمع‌آوری نمونه

در این بررسی، باکتری‌ها از نمونه‌های مختلفی نظیر آسیت، خون، زخم بستر، کاتتر، CSF (Cerebrospinal fluid)، چرک، خلط، مدفوع، ادرار و ... ایزوله شدند که نتایج کامل فراوانی ایزوله‌های انتروباکتریاسیه از نمونه‌های جمع‌آوری شده در جدول ۱ آمده است.

تأیید سویه‌ها با PCR

پس از استخراج DNA، به منظور تأیید ایزوله‌ها، از ژن rpoB و تکنیک PCR استفاده شد. پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه، باندهایی با اندازه‌ی ۵۱۲ bp ایجاد می‌کنند (شکل ۲).

آنتی بیوگرام

مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک‌های سفوتاکسیم (۶۴/۲ درصد)، آزترئونام (۵۹/۳ درصد) و کوتریموکسازول (۵۸/۶ درصد) بالا بود. بیشترین حساسیت مربوط به آنتی بیوتیک‌های مروپنم (۹۸/۷ درصد)، تایجی سایکلین (۹۵/۱ درصد)، ایمی پنم (۹۴/۸ درصد) و ارتاپنم (۹۰/۶ درصد) بود. نتایج کامل آنتی بیوگرام در جداول ۲ و ۳ آمده است.

روش فنوتیپی MHT

از ۵۰۰ ایزوله‌ی جمع‌آوری شده، ۴۰ سویه‌ی مقاوم و نیمه حساس نسبت به هر یک از کرباپنم‌ها (ایمی پنم، مروپنم و ارتاپنم) به دست آمد. این ۴۰ سویه، به روش فنوتیپی MHT و برای ۳ دیسک آنتی بیوتیکی ایمی پنم، مروپنم و ارتاپنم، از نظر وجود آنزیم‌های کرباپنماز مورد بررسی قرار گرفتند؛ به طوری که ۲۹ سویه (۷۲/۵ درصد) از نظر وجود آنزیم کرباپنماز مثبت شدند. ایزوله‌های تولید کننده‌ی کرباپنماز شامل

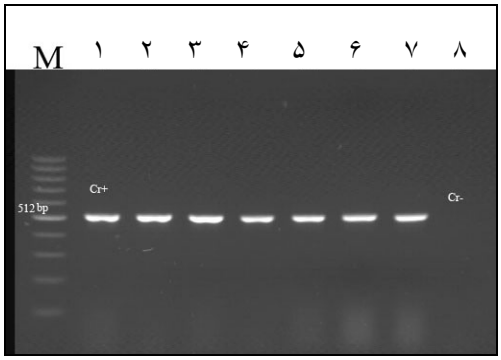
جدول ۱. فراوانی ایزوله‌های انتروباکتریاسیه در نمونه‌های جمع‌آوری شده

	اشریشیا	کلبسیلا	پروتئوس	انتروباکتر	سیتروباکتر	شیگلا	سالمونلا	مجموع
	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)
آسیت	۱ (۱۰۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۱ (۱۰۰)
خون	۱۵ (۷۵/۰)	۲ (۱۰/۰)	۱ (۵/۰)	۲ (۱۰/۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۲۰ (۱۰۰)
زخم بستر	۱ (۵۰/۰)	۱ (۵۰/۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۲ (۱۰۰)
کاتتر	۰ (۰)	۲ (۱۰۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۲ (۱۰۰)
CSF	۰ (۰)	۱ (۱۰۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۱ (۱۰۰)
مایعات	۲ (۶۶/۷)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۱ (۳۳/۳)	۰ (۰)	۰ (۰)	۳ (۱۰۰)
چرک	۱ (۱۰۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۱ (۱۰۰)
مدفوع	۲ (۴۰/۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۱ (۲۰/۰)	۲ (۴۰/۰)	۰ (۰)	۵ (۱۰۰)
خلط	۰ (۰)	۱ (۳۳/۳)	۰ (۰)	۲ (۶۶/۷)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۳ (۱۰۰)
تراشه	۱۵ (۲۷/۳)	۳۱ (۵۶/۴)	۶ (۱۰/۹)	۱ (۱/۸)	۱ (۱/۸)	۰ (۰)	۱ (۱/۸)	۵۵ (۱۰۰)
کشت گلو	۱ (۱۰۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۱ (۱۰۰)
ادرار	۱۶۱ (۷۹/۳)	۲۶ (۱۲/۸)	۱۲ (۵/۹)	۰ (۰)	۱ (۰/۵)	۱ (۰/۵)	۲ (۱/۰)	۲۰۳ (۱۰۰)
زخم	۶ (۶۰/۰)	۱ (۱۰/۰)	۲ (۲۰/۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۱ (۱۰)	۰ (۰)	۱۰ (۱۰۰)
مجموع	۲۰۵ (۶۶/۸)	۶۵ (۲۱/۲)	۲۱ (۶/۸)	۵ (۱/۶)	۴ (۱/۳)	۴ (۱/۳)	۳ (۱/۰)	۳۰۷ (۱۰۰)

CSF: Cerebrospinal fluid

۱۴ اشریشیاکلی (۴۸/۳ درصد)، ۶ پروتئوس میرابیلیس (۲۰/۷ درصد)، ۳ کلبسیلا پنومونیه (۱۰/۳ درصد)، ۲ سالمونلا تایفی (۶/۹ درصد)، ۱ اشریشیا فرگوسونی (۳/۴ درصد)، ۱ پروتئوس وولگاریس (۳/۴ درصد)، ۱ سیتروباکتر فرندلی (۳/۴ درصد) و ۱ انتروباکتر آئروژنز (۳/۴ درصد) بودند. نتایج کامل MHT در جدول ۴ آمده است.

در این مطالعه، ۴۴/۸ درصد از ایزوله‌های MHT مثبت (۱۳ مورد) از نمونه‌ی ادرار جدا شدند. نمونه‌های تراشه با ۲۷/۶ درصد (۸ مورد) بعد از ادرار، بیشترین نمونه‌ی حاوی ایزوله‌های تولید کننده‌ی کرباپنماز بودند. باکتری‌های ایزوله شده از نمونه‌های زخم، خون و ترشحات ریه به ترتیب ۱۳/۸ درصد (۴ مورد)، ۱۰/۳ درصد (۳ مورد) و ۳/۴ درصد (۱ مورد) از این سویه‌ها را شامل می‌شد.



شکل ۲. PCR (Polymerase chain reaction) ژن M.rpoB نشانگر bp ۱۰۰، ردیف ۱) شاهد مثبت ۲۵ Ecoli ATCC۹۲۲، ردیف ۲) اشریشیاکلی، ردیف ۵-۳) کلبسیلا پنومونیه، ردیف ۷-۶) سالمونلا تایفی و ردیف ۸) شاهد منفی

جدول ۲. حساسیت و مقاومت ۳۰۷ ایزوله‌ی بالینی انتروباکتریاسیه

آنتی بیوتیک‌ها	مقاوم تعداد (درصد)	نیمه حساس تعداد (درصد)	حساس تعداد (درصد)
آزترئونام	۱۸۲ (۵۹/۳)	۹ (۲/۹)	۱۱۶ (۳۷/۸)
آمیکاسین	۸۷ (۲۸/۳)	۱۴ (۴/۶)	۲۰۶ (۶۷/۱)
سفتازیدیم	۱۷۵ (۵۷/۰)	۱۰ (۳/۳)	۱۲۲ (۳۹/۷)
سفوتاکسیم	۱۹۷ (۶۴/۲)	۱ (۰/۳)	۱۰۹ (۳۵/۵)
سیپروفلوکساسین	۱۵۸ (۵۱/۵)	۸ (۲/۶)	۱۴۱ (۴۵/۹)
سفپیروم	۱۱۴ (۳۷/۱)	۳۴ (۱۱/۱)	۱۵۹ (۵۱/۸)
داکسی سیکلین	۱۵۵ (۵۰/۵)	۱۶ (۵/۲)	۱۳۶ (۴۴/۳)
کانامایسین	۱۴۹ (۴۸/۵)	۱۱ (۳/۶)	۱۴۷ (۴۷/۹)
کوتریموکسازول	۱۸۰ (۵۸/۶)	۰ (۰)	۱۲۷ (۴۱/۴)
لووفلوکساسین	۱۴۱ (۴۵/۹)	۸ (۲/۶)	۱۵۸ (۵۱/۵)
تایجی سایکلین	۰ (۰)	۱۵ (۴/۹)	۲۹۲ (۹۵/۱)

جدول ۳. حساسیت و مقاومت ۵۰۰ ایزوله‌ی بالینی انتروباکتریاسیه نسبت به آنتی بیوتیک‌های کارباپنم

آنتی بیوتیک‌ها	مقاوم تعداد (درصد)	نیمه حساس تعداد (درصد)	حساس تعداد (درصد)
ایمی پنم	۴ (۰/۸)	۱۲ (۲/۴)	۴۸۴ (۹۶/۸)
مروپنم	۴ (۰/۸)	۰ (۰)	۴۹۶ (۹۹/۲)
ارتاپنم	۱۲ (۲/۴)	۱۷ (۳/۴)	۴۷۱ (۹۴/۲)

از ۵۰۰ باکتری ایزوله شده از بیمارستان‌های آموزشی شهر همدان، بیشترین نمونه‌های MHT مثبت به ترتیب از بیمارستان‌های فرشچیان (۴۸/۳ درصد)، بعثت (۳۴/۵ درصد) و بهشتی (۱۷/۲ درصد) به دست آمد.

بحث

مقاومت آنتی بیوتیکی از درمان مؤثر بیماران عفونی به خصوص بیماران بستری در بیمارستان‌ها جلوگیری می‌کند. شیوع و اهمیت انتروباکتریاسیه به عنوان پاتوژن‌هایی در بیماران بستری شده، تمایل برای انتقال ارگانیسم‌های مقاوم از یک بیمار به بیمار دیگر و انتقال عوامل مقاومت (نظیر پلاسمید و ترانسپوزون) در بین ایزوله‌های مختلف باعث شده است تا نظارت و بازبینی مداوم و معمول حساسیت آنتی بیوتیکی در باکتری‌های پاتوژن، نسبت به همه‌ی کلاس‌های آنتی بیوتیکی ضروری و مهم قلمداد شود (۲۲).

در این مطالعه سعی شد فراوانی ایزوله‌های انتروباکتریاسیه از نمونه‌های مختلف بالینی، تعیین و حساسیت آن‌ها نسبت به کلاس‌های مهم آنتی بیوتیکی به خصوص کرباپنم‌ها و شیوع آنزیم‌های کرباپنماز به صورت فنوتیپی مورد بررسی قرار

گیرد. در این مطالعه، بیشترین ارگانیسم جدا شده از نمونه‌های بالینی مربوط به اشریشیاکلی با ۲۰۵ مورد (۶۶/۸ درصد) بود؛ به طوری که بیشترین موارد جدا شده از کشت‌های ادراری (۱۶۱ مورد)، نمونه‌های خون (۱۵ مورد) و تراشه (۱۵ مورد) بوده است.

در مطالعات صورت گرفته در نقاط مختلف جهان نیز اشریشیاکلی به عنوان شایع ترین عامل عفونت های

جدول ۴. حساسیت و مقاومت ایزوله‌های MHT (Modified Hodge test) مثبت نسبت به آنتی بیوتیک‌های کارباپنم

شماره	ایزوله	شماره‌ی ایزوله	نمونه	بیمارستان	آزمایش MHT با استفاده از		
					ایمی پنم	مروپنم	ارتاپنم
۱	اشریشیاکلی	۲۶	خون	بهشتی	−	+	−
۲	اشریشیافرگوسونی	۲۷	ادرار	بهشتی	+	+	−
۳	اشریشیاکلی	۶۱	ادرار	بهشتی	+	−	−
۴	پروتئوس میرابیلیس	۸۶	ادرار	بهشتی	+	+	+
۵	اشریشیاکلی	۹۴	ادرار	بهشتی	+	+	−
۶	سالمونلا تایفی	۱۱۵	ادرار	بعثت	+	+	−
۷	سالمونلا تایفی	۱۱۹	ادرار	بعثت	+	−	+
۸	پروتئوس میرابیلیس	۱۴۱	زخم	بعثت	+	+	+
۹	اشریشیاکلی	۱۴۵	ادرار	بعثت	+	+	−
۱۰	اشریشیاکلی	۱۵۲	خون	بعثت	+	+	−
۱۱	پروتئوس وولگاریس	۱۵۵	ادرار	بعثت	+	+	+
۱۲	اشریشیاکلی	۱۶۳	تراشه	بعثت	−	+	−
۱۳	اشریشیاکلی	۱۶۹	زخم	بعثت	+	+	−
۱۴	انتروباکتر آئروژنز	۱۹۸	زخم	بعثت	+	−	+
۱۵	پروتئوس میرابیلیس	۲۲۸	تراشه	فرشچیان	+	+	+
۱۶	پروتئوس میرابیلیس	۲۳۲	تراشه	فرشچیان	+	+	+
۱۷	پروتئوس میرابیلیس	۲۴۱	تراشه	فرشچیان	+	+	+
۱۸	پروتئوس میرابیلیس	۲۴۴	زخم	فرشچیان	+	+	+
۱۹	اشریشیاکلی	۲۷۱	تراشه	فرشچیان	+	+	−
۲۰	اشریشیاکلی	۲۷۸	تراشه	فرشچیان	+	−	−
۲۱	سیتروباکتر فرندلی	۲۸۰	ترشحات ریه	فرشچیان	+	+	−
۲۲	اشریشیاکلی	۲۸۳	ادرار	بعثت	+	+	−
۲۳	اشریشیاکلی	۲۸۴	تراشه	فرشچیان	+	+	−
۲۴	کلبسیلا پنومونیه	۴۱۲	ادرار	فرشچیان	+	+	+
۲۵	کلبسیلا پنومونیه	۵۰۰	ادرار	فرشچیان	+	+	+
۲۶	کلبسیلا پنومونیه	۵۰۱	خون	فرشچیان	+	+	+
۲۷	اشریشیاکلی	۵۰۲	ادرار	فرشچیان	+	+	+
۲۸	اشریشیاکلی	۶۰۳	ادرار	فرشچیان	+	+	−
۲۹	اشریشیاکلی	۶۸۰	تراشه	فرشچیان	+	−	+

بیمارستانی و عامل اصلی عفونت‌های اداری معرفی شده است (۲۳). بعد از اشریشیاکلی، دومین ارگانیسم شایع جدا شده از نمونه‌ها، مربوط به کلبسیلا (۲۱/۲ درصد) می‌باشد. در مطالعات صورت گرفته در جهان، کلبسیلا پنومونیه به عنوان یکی از عوامل اصلی عفونت‌های تنفسی در کودکان مطرح است که می‌تواند عفونت‌های شدیدی را ایجاد کند (۲۴). در این مطالعه نیز بیشترین موارد جمع‌آوری شده از کلبسیلا مربوط به نمونه‌های تراشه (۳۱ مورد) و کشت ادرار (۲۶ مورد) بود که به عنوان دومین عامل ایجاد کننده‌ی عفونت‌های اداری در این مطالعه محسوب می‌شود. سومین ارگانیسم شایع جدا شده از نمونه‌های مختلف (۶/۸ درصد) مربوط به گونه‌های پروتئوس می‌باشد که بیشترین سهم را در عفونت‌های اداری (۱۲ مورد) و کشت تراشه (۶ مورد) دارد. عفونت‌های ناشی از گونه‌های پروتئوس، به عنوان سومین عامل عفونت‌های اداری (به ترتیب بعد از اشریشیاکلی و کلبسیلا) و سومین عامل عفونت‌های ناشی از کشت تراشه محسوب می‌شود.

در بین اعضای خانواده‌ی انتروباکتریاسیه، سه ارگانیسم اشریشیاکلی، کلبسیلا و پروتئوس به ترتیب بیشترین نقش را در عفونت‌ها دارند. دیگر اعضای خانواده‌ی انتروباکتریاسیه، از جمله گونه‌های انتروباکتر با ۱/۶ درصد (۵ مورد)، گونه‌های سیتروباکتر با ۱/۳ درصد (۴ مورد)، گونه‌های شیگلا با ۱/۳ درصد (۴ مورد) و گونه‌های سالمونلا با ۱ درصد (۳ مورد) کمترین نقش را در ایجاد عفونت‌ها در شهر همدان داشته‌اند. در مطالعه‌ای در فرانسه که بر روی عفونت‌های بیمارستانی و غیر بیمارستانی (عفونت‌های اکتسابی از جامعه) صورت گرفت، نتایج نشان داد مسؤول ۴۱ درصد از عفونت‌های کسب شده از جامعه و ۴۳ درصد از عفونت‌های بیمارستانی، باسیل‌های گرم منفی می‌باشند؛ به طوری که از این تعداد، در بین اعضای خانواده‌ی انتروباکتریاسیه، ۷۲ درصد از عفونت‌های کسب شده از جامعه و ۵۲ درصد از عفونت‌های بیمارستانی مربوط به اشریشیاکلی، ۱۳ درصد از عفونت‌های کسب شده از جامعه و ۱۹ درصد از عفونت‌های بیمارستانی مربوط به گونه‌های انتروباکتر، ۷ درصد از عفونت‌های کسب شده از جامعه و ۱۰ درصد از عفونت‌های بیمارستانی مربوط به گونه‌های کلبسیلا و ۴ درصد از عفونت‌های کسب شده از جامعه و ۶ درصد از عفونت‌های بیمارستانی مرتبط با گونه‌های پروتئوس می‌باشد (۲۵).

نتایج آنتی بیوگرام ایزوله‌های جمع‌آوری شده نشان می‌دهد که مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک‌های سفوتاکسیم (۶۴/۲ درصد)، آزترئونام (۵۹/۳ درصد)، کوتریموکسازول (۵۸/۶ درصد) و سفتازیدیم (۵۷ درصد) بالا می‌باشد. متأسفانه امروزه شیوع بالای بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف در بین باسیل‌های گرم منفی، باعث شده است تا ارگانیسم‌های بسیاری نسبت به سفالوسپورین‌ها مقاوم شوند (۲۶). در بین سفالوسپورین‌های مورد مطالعه، سفپیروم کمترین مقاومت (۳۷/۱ درصد) را نشان می‌دهد. از آن جایی که سفپیروم جزء سفالوسپورین‌های نسل چهارم تلقی می‌شود، استفاده‌ی کمتری در درمان بالینی بیماران عفونی نسبت به سفالوسپورین‌های نسل سوم دارد و به همین دلیل، در این آنتی بیوتیک در مقایسه با سفالوسپورین‌های دیگر، مقاومت کمتری مشاهده می‌شود.

در بین آنتی بیوتیک‌های خانواده‌ی

آمینوگلیکوزیدها، آمیکاسین کمترین مقاومت (۲۸/۳ درصد) را نسبت به دیگر آنتی بیوتیک‌های آمینو گلیکوزیدی از جمله کانامایسین نشان می‌دهد و گزینه‌ی مناسبی برای تجویز این دارو در بین داروهای آمینو گلیکوزیدی می‌باشد. در این بررسی، ارگانیسم‌های جدا شده، مقاومت بالایی را نسبت به داروهای کینولونی (سیپروفلوکساسین و لووفلوکساسین) نشان می‌دهند؛ به طوری که بیشترین موارد مقاومت این داروها مربوط به عفونت‌های ادراری با ۴۳/۳ درصد نسبت به سیپروفلوکساسین و ۴۲/۹ درصد نسبت به لووفلوکساسین می‌باشد. ممکن است استفاده‌ی بیش از حد این داروها در درمان عفونت‌های ادراری باعث بروز این گونه مقاومت‌ها شده باشد. مطالعات گذشته نشان می‌دهد که اعضای خانواده‌ی انتروباکتریاسیه‌ی جدا شده از عفونت‌های ادراری و خون، تمایل زیادی به ایجاد مقاومت نسبت به کینولون‌ها دارند (۲۷).

در مطالعه‌ی حاضر، یکی از آنتی بیوتیک‌های مؤثر نسبت به ایزوله‌های مورد آزمایش، مربوط به تایجی سایکلین می‌باشد که فعالیت بالایی علیه خانواده‌ی انتروباکتریاسیه دارد؛ با این وجود، این دارو تأثیر زیادی علیه گونه‌های پروتئوس، مورگانلا و پرووویدنسیا ندارد (۲۸). در مطالعه‌ی Teo و همکاران در سنگاپور، نتایج نشان می‌دهد ۱۰۰ درصد سویه‌ها نسبت به تایجی سایکلین حساس‌اند (۲۹). به نظر می‌رسد با توجه به این که آنتی بیوتیک تایجی سایکلین فعالیت زیادی علیه باکتری‌های گرم مثبت دارد، استفاده از این دارو برای درمان عفونت‌های ناشی از باسیل‌های گرم منفی پایین است و حساسیت بسیار بالایی (۹۵/۱ درصد) نسبت به این دارو در بین اعضای خانواده‌ی انتروباکتریاسیه در شهر همدان مشاهده شده است.

نتایج به دست آمده نشان می‌دهد در شهر همدان، مقاومت آنتی بیوتیکی ایزوله‌ها نسبت به آنتی بیوتیک‌های کرباپنم از جمله ایمی پنم (۹۶/۸ درصد)، مروپنم (۹۹/۲ درصد) و ارتاپنم (۹۴/۲ درصد) بسیار پایین می‌باشد. با توجه به این که بتالاکتامازهای هیدرولیز کننده‌ی کرباپنم‌ها نادر هستند، در حال حاضر نگرانی زیادی را ایجاد نکرده است؛ اما مقاومت ناچیز باکتری‌ها نسبت به این دسته از آنتی بیوتیک‌ها می‌تواند حائز اهمیت باشد؛ چرا که در بیشتر مناطق دنیا حتی در ایران، بروز بتالاکتامازهای غیر فعال کننده‌ی کرباپنم‌ها (کرباپنماز) در بعضی از باکتری‌های پاتوژن به ویژه اعضای خانواده‌ی انتروباکتریاسیه تجربه شده است (۳۲-۳۰).

MBLها (Metallo-beta-Lactamases) و KPC (Klebsiella pneumoniae carbapenemases) شایع‌ترین آنزیم‌های کرباپنماز می‌باشند که شیوع بالایی در سراسر جهان دارند (۳۳). بنابراین شناسایی آزمایشگاهی این آنزیم‌ها می‌تواند نقش بسیار مهمی در درمان بیماران داشته باشد. روش MHT روش بسیار ساده و آسانی است که انجام آن در هر آزمایشگاهی امکان پذیر است. از مزیت‌های این روش می‌توان به فرایند انجام کاری ساده، امکان آزمایش چندین سویه بر روی یک پلیت و امکان شناسایی هر دو آنزیم MBL و KPC اشاره نمود (۳۴).

در مطالعه‌ی انجام شده، از ۴۰ ایزوله‌ای که نسبت به کرباپنم‌ها مقاوم یا نیمه حساس بودند، ۲۹ ایزوله (۷۲/۵ درصد) با استفاده از روش MHT نسبت به آنتی بیوتیک‌های ایمی پنم، مروپنم و ارتاپنم مثبت

شدند که احتمال وجود ژن‌های کرباپنماز در این ایزوله‌ها وجود دارد. با این وجود، این روش قادر نیست آنزیم‌های KPC و MBLها را افتراق دهد. البته دیسک آنتی بیوتیکی ارتاپنم دارای بالاترین حساسیت برای یافتن آنزیم KPC می‌باشد؛ چرا که سویه‌های حاوی آنزیم KPC دارای بیشترین فعالیت (مقاومت) نسبت به دیسک آنتی بیوتیکی ارتاپنم می‌باشند (۳۵). در این مطالعه، ۱۴ ایزوله نسبت به دیسک آنتی بیوتیکی ارتاپنم مقاوم گزارش شد که احتمال وجود آنزیم KPC در این سویه‌ها وجود دارد. با این وجود، اختصاصیت ارتاپنم هنوز مشخص نشده است؛ چرا که انتروباکتریاسیه‌های تولید کننده‌ی ESBL (Extended-spectrum beta-lactamas) و موتاسیون‌های پورینی نیز ممکن است باعث ایجاد مقاومت نسبت به ارتاپنم شود (۳۶).

در مطالعه‌ای که در سال‌های اخیر در اروپا صورت گرفت، تنها ۲ مورد از ۱۷۱ ایزوله‌ی مقاوم به ارتاپنم، آنزیم کرباپنماز را تولید کردند که البته هیچ کدام از آن‌ها KPC نبودند (۳۷). نتایج MHT در مطالعه‌ی حاضر، نشان می‌دهد که ۱۱ ایزوله نسبت به هر ۳ دیسک آنتی بیوتیکی ایمی پنم، مروپنم و ارتاپنم مثبت می‌باشد و احتمال وجود ژن‌های کرباپنماز در این ۱۱ ایزوله بالا است.

نتیجه‌گیری کلی این که MHT روشی ساده و آسان برای شناسایی تولید آنزیم‌های کاربابنماز در اعضای خانواده‌ی انتروباکتریاسیه می‌باشد که در آزمایشگاه‌ها می‌تواند به صورت معمول انجام گیرد. همچنین پیشنهاد می‌شود که تمامی سویه‌های ایزوله شده که با روش دیسک دیفیوژن نسبت به آنتی بیوتیک‌های کاربابنم مقاوم و یا نیمه حساس هستند، باید از نظر تولید کاربابنمازها با روش فنوتیپی Modified Hodge test مورد ارزیابی قرار گیرند تا بتوان از شکست درمان و ایجاد مقاومت آنتی بیوتیکی ناشی از استفاده‌ی غیر ضروری کاربابنم‌ها جلوگیری نمود.

تشکر و قدردانی

این مقاله قسمتی از پایان‌نامه‌ی دانشجویی کارشناسی ارشد با شماره‌ی ۹۱۱۰۰۵۳۶۳۴ می‌باشد. از معاونت تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی همدان به خاطر تأمین هزینه‌های مالی اجرای مطالعه و از کارکنان بیمارستان‌ها، بخش میکروب‌شناسی انستیتو پاستور ایران و بخش میکروب‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی همدان بابت همکاری در انجام این پژوهش سپاسگزاری می‌گردد.

References

1. Partridge SR. Analysis of antibiotic resistance regions in Gram-negative bacteria. FEMS Microbiol Rev 2011; 35(5): 820-55.
2. Stokes HW, Gillings MR. Gene flow, mobile genetic elements and the recruitment of antibiotic resistance genes into Gram-negative pathogens. FEMS Microbiol Rev 2011; 35(5): 790-819.
3. Toleman MA, Walsh TR. Combinatorial events of insertion sequences and ICE in Gram-negative bacteria. FEMS Microbiol Rev 2011; 35(5): 912-35.
4. Paterson DL. Resistance in gram-negative bacteria: enterobacteriaceae. Am J Med 2006; 119(6 Suppl 1): S20-S28.
5. Ferreira da SM, Vaz-Moreira I, Gonzalez-Pajuelo M, Nunes OC, Manaia CM. Antimicrobial resistance patterns in

Enterobacteriaceae isolated from an urban wastewater treatment plant. FEMS Microbiol Ecol 2007; 60(1): 166-76.
6. Gaynes R, Edwards JR. Overview of nosocomial infections caused by gram-negative bacilli. Clin Infect Dis 2005; 41(6): 848-54.
7. Nordmann P, Cuzon G, Naas T. The real threat of Klebsiella pneumoniae carbapenemase-producing bacteria. Lancet Infect Dis 2009; 9(4): 228-36.
8. Nordmann P, Naas T, Poirel L. Global spread of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Emerg Infect Dis 2011; 17(10): 1791-8.
9. Anthony KB, Fishman NO, Linkin DR, Gasink LB, Edelstein PH, Lautenbach E. Clinical and microbiological outcomes of serious infections with multidrug-resistant gram-negative organisms treated with tigecycline. Clin Infect Dis 2008; 46(4): 567-70.
10. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. Clin Microbiol Rev 2005; 18(4): 657-86.
11. Kollef M. Appropriate empirical antibacterial therapy for nosocomial infections: getting it right the first time. Drugs 2003; 63(20): 2157-68.
12. Apisarnthanarak A, Mundy LM. Inappropriate use of carbapenems in Thailand: a need for better education on de-escalation therapy. Clin Infect Dis 2008; 47(6): 858-9.
13. Walsh TR, Toleman MA, Poirel L, Nordmann P. Metallo-beta-lactamases: the quiet before the storm? Clin Microbiol Rev 2005; 18(2): 306-25.
14. Zhao WH, Hu ZQ. Epidemiology and genetics of VIM-type metallo-beta-lactamases in Gram-negative bacilli. Future Microbiol 2011; 6(3): 317-33.
15. Xia Y, Liang Z, Su X, Xiong Y. Characterization of carbapenemase genes in Enterobacteriaceae species exhibiting decreased susceptibility to carbapenems in a university hospital in Chongqing, China. Ann Lab Med 2012; 32(4): 270-5.
16. Tenover FC. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. Am J Med 2006; 119(6 Suppl 1): S3-10.
17. Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G. Textbook of diagnostic microbiology. 4th ed. Philadelphia, PA: Saunders; 2010. p. 427-61.
18. Fazzeli H, Arabestani MR, Esfahani BN, Khorvash F, Pourshafie MR, Moghim S, et al. Development of PCR-based method for detection of Enterobacteriaceae in septicemia. J Res Med Sci 2012; 17(7): 671-5.
19. Clinical and Laboratory Standards Institute. CLSI M100-S23 Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-thirdinformational supplement. Wayne, PA: CLSI; 2013.
20. Girlich D, Poirel L, Nordmann P. Value of the modified Hodge test for detection of emerging carbapenemases in Enterobacteriaceae. J Clin Microbiol 2012; 50(2): 477-9.
21. Amjad A, Mirza I, Abbasi S, Farwa U, Malik N, Zia F. Modified Hodge test: A simple and effective test for detection of carbapenemase production. Iran J Microbiol 2011; 3(4): 189-93.
22. Karlowsky JA, Jones ME, Thornsberry C, Friedland IR, Sahm DF. Trends in antimicrobial susceptibilities among Enterobacteriaceae isolated from hospitalized patients in the United States from 1998 to 2001. Antimicrob Agents Chemother 2003; 47(5): 1672-80.
23. Farajnia S, Alikhani MY, Ghotaslou R, Naghili B, Nakhlband A. Causative agents and antimicrobial susceptibilities of urinary tract infections in the northwest of Iran. Int J Infect Dis 2009; 13(2): 140-4.
24. Praveen S, Prema A, Routray A. Prevalence and antibiotic susceptibility pattern of bacterial agents causing respiratory tract infection in children. Journal of Pharmacy Research 2013; 6(6): 596.
25. Montravers P, Lepape A, Dubreuil L, Gauzit R, Pean Y, Benchimol D, et al. Clinical and microbiological profiles of community-acquired and nosocomial intra-abdominal infections: results of the French prospective, observational EBIIA study. J Antimicrob Chemother 2009; 63(4): 785-94.
26. Cornaglia G, Akova M, Amicosante G, Canton R, Cauda R, Docquier JD, et al. Metallo-beta-lactamases as emerging resistance determinants in Gram-negative pathogens: open issues. Int J Antimicrob Agents 2007; 29(4): 380-8.
27. Livermore DM, James D, Reacher M, Graham C, Nichols T, Stephens P, et al. Trends in fluoroquinolone (ciprofloxacin) resistance in enterobacteriaceae from bacteremias, England and Wales, 1990-1999. Emerg Infect Dis 2002; 8(5): 473-8.
28. Brink AJ, Bizos D, Boffard KD, Feldman C, Grolman DC, Pretorius J, et al. Guideline: appropriate use of tigecycline. S Afr Med J 2010; 100(6 Pt 2): 388-94.
29. Teo J, Ngan G, Balm M, Jureen R, Krishnan P, Lin R. Molecular characterization of NDM-1 producing Enterobacteriaceae isolates in Singapore hospitals. Western Pac Surveill Response J 2012; 3(1): 19-24.
30. Shahcheraghi F, Nobari S, Rahmati GF, Nasiri S, Owlia P, Nikbin VS, et al. First report of New Delhi metallo-beta-lactamase-1-producing

Klebsiella pneumoniae in Iran. Microb Drug Resist 2013; 19(1): 30-6.
31. Dortet L, Cuzon G, Nordmann P. Dissemination of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in France, 2012. J Antimicrob Chemother 2014; 69(3): 623-7.
32. Glupczynski Y, Huang TD, Bouchahrouf W, Rezende de CR, Bauraing C, Gerard M, et al. Rapid emergence and spread of OXA-48-producing carbapenem-resistant Enterobacteriaceae isolates in Belgian hospitals. Int J Antimicrob Agents 2012; 39(2): 168-72.
33. Monteiro J, Henriques APC, Santos AF, Matos DGC, Perano G, Asensi MD, et al. Carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae outbreak: Emergence of KPC-2-producing strains in Brazil[Abstr C2-1929]. Proceedings of the 47th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC); 2007 Sep 17-20; Chicago, IL, USA.
34. Seah C, Low DE, Patel SN, Melano RG. Comparative evaluation of a chromogenic agar medium, the modified Hodge test, and a battery of meropenem-inhibitor discs for detection of carbapenemase activity in Enterobacteriaceae. J Clin Microbiol 2011; 49(5): 1965-9.
35. Anderson KF, Lonsway DR, Rasheed JK, Biddle J, Jensen B, McDougal LK, et al. Evaluation of methods to identify the Klebsiella pneumoniae carbapenemase in Enterobacteriaceae. J Clin Microbiol 2007; 45(8): 2723-5.
36. McGettigan SE, Andreacchio K, Edelstein PH. Specificity of ertapenem susceptibility screening for detection of Klebsiella pneumoniae carbapenemases. J Clin Microbiol 2009; 47(3): 785-6.
37. Woodford N, Dallow JW, Hill RL, Palepou MF, Pike R, Ward ME, et al. Ertapenem resistance among Klebsiella and Enterobacter submitted in the UK to a reference laboratory. Int J Antimicrob Agents 2007; 29(4): 456-9.

Journal of Isfahan Medical School Received: 19.01.2014

Vol. 32, No. 278, 3rd Week, May 2014 Accepted: 07.04.2014

Identification of Carbapenemase Enzymes in Clinical Isolates of Enterobacteriaceae Using Modified Hodge Test

Reza Kamali Kakhki MSc[1], Fereshteh Shahcheraghi PhD[2], Mohamad Mehdi Aslani PhD[2], Mohammad Yousef Alikhani PhD[3]

Original Article

Abstract

Background: Carbapenem antibiotics are a subtype of beta-lactam antibiotics, which can play an important role in the treatment of severe infections and multi-drug resistant bacteria. The most important mechanism of resistance to carbapenems is carbapenemase production. Since these enzymes are located on mobile genetic elements such as plasmids, they can rapidly spread among gram-negative bacteria.

Methods: A total of 500 Enterobacteriaceae clinical isolates were collected in Hamadan city, Iran, during October 2012 to June 2013. The isolates detected by biochemical tests and confirmed by polymerase chain reaction (PCR) method. Antimicrobial susceptibility patterns were determined using the agar diffusion method for 14 antibiotics. Modified Hodge test (MHT) was used for carbapenemase production in the resistant isolates to carbapenem antibiotics.

Findings: Among the family members of Enterobacteriaceae, *Escherichia coli* (66.8%), *Klebsiella* spp. (21.2%) and *Proteus* spp. (6.8%) showed the highest role in infections, respectively. These organisms showed the highest resistance to cefotaxime (64.2%), aztreonam (59.3%) and cotrimoxazole (58.6%). Out of 40 isolates which were intermediate or non-susceptible for carbapenems, 29 (72.5%) were positive for carbapenemase production by Modified Hodge test.

Conclusion: Over the past decade, carbapenem-resistant Enterobacteriaceae have emerged and spread throughout the world. Widespread emergence of carbapenem-resistant isolates has been increasing concerned in recent years; because the Carbapenem antibiotics are often used as the last line of treatment for severe infections caused by resistant Gram-negative bacilli including Enterobacteriaceae family. Modified Hodge test can be used as a simple method for the identification of carbapenemase-producing strains in gram-negative strains.

Keywords: Enterobacteriaceae, Antibiotic resistance, Modified Hodge test, Carbapenemase

Citation: Kamali Kakhki R, Shahcheraghi F, Aslani MM, Alikhani MY. **Identification of Carbapenemase Enzymes in Clinical Isolates of Enterobacteriaceae Using Modified Hodge Test.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(278): 308-20

1- Department of Microbiology, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran
2- Professor, Department of Microbiology, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran
3- Associate Professor, Brucellosis Research Center AND Department of Microbiology, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran
Corresponding Author: Mohammad Yousef Alikhani PhD, Email: alikhani@umsha.ac.ir