جدا سازی سویه های سودوموناس آئروژینوزا تولید کننده متالوبتالاکتاماز از بیماران مبتلا به عفونتهای سوختگی و شناسایی ژنهای bla_{IMP} bla_{VIM} با روش PCR

فاطمه میهنی، آذر دخت خسروی*

گروه میکروبشناسی و مرکز تحقیقات بیماریهای عفونی و گرمسیری، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز
نویسنده رابط: آذردخت خسروی، گروه میکروبشناسی و مرکز تحقیقات بیماریهای عفونی و گرمسیری، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز تلفن: ۰۶۱۱-۳۳۳۰۰۷۴ فکس: ۰۶۱۱-۳۳۳۲۰۳۶ khosraviaz@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله: ۸۶/۳/۶ تاریخ پذیرش مقاله: ۸۶/۳/۲۲

چکیده

زمینه و اهداف: سودوموناس آئروژینوزا یکی از عوامل مهم عفونتهای بیمارستانی خصوصاً در بیماران مبتلا به نقص سیستم ایمنی می باشد. برای درمان عفونتهای شدید ناشی از این میکروارگانیسم آنتی بیوتیکهای متعددی از جمله بتالاکتامها به کار می روند. شیوع بیمارستانی سویه‌های مقاوم به آنتی بیوتیکهای بتالاکتام بسیار گزارش شده است که از مهمترین عوامل دخیل در این مقاومتها، تولید آنزیم های بتالاکتاماز می‌باشد. از جمله این آنزیم ها میتوان به متالوبتالاکتامازها اشاره نمود که این آنزیم ها طیف سوبسترای وسیعی داشته و همه بتالاکتامها را، به جز مونوباکتام آزترئونام، هیدرولیز می کنند. در تحقیق حاضر فراوانی تولید متالوبتالاکتاماز در ایزوله های سودوموناس آئروژینوزا مقاوم به ایمیپنم مورد ارزیابی قرار گرفت.

روش بررسی: در ابتدا الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی ۱۰۰ ایزوله بالینی سودوموناس آئروژینوزا، که از همین تعداد بیمار مبتلا به عفونتهای سوختگی بستری در بیمارستان طالقانی اهواز جدا شده بودند، با تست دیسک دیفیوژن به روش کربی- بائر تعیین شد. تمام ایزوله های کلینیکی سودوموناس آئروژینوزا مقاوم به ایمیپنم توسطEtest ایمیپنم/ایمیپنم به اضافهEDTA (Etest Metallo-ß-Lactamase)برای تولید متالوبتالاکتاماز غربالگری شدند.استخراجDNA از کلنی های کشت خالص توسط روش جوشانیدن ساده انجام گرفت.DNAهای استخراج شده با استفاده از پرایمرهای اختصاصی برای ژنهای VIMوIMP متالوبتالاکتاماز توسط روش PCR مورد بررسی قرار گرفتند

یافته ها: بر اساس نتایج حاصله درصد مقاومت ایزوله ها به شرح زیر بود:سفپیم۱۰۰٪ ، سفتازیدیم۸۱٪ ، تیکارسیلین۷۰٪ ، ایمیپنم۴۱٪ ، مروپنم۲۳٪ و پیپراسیلین۲۰٪ . در بررسی تولید متالوبتالاکتاماز با روش Etest MBL در ایزوله های مقاوم به ایمیپنم، مشخص شد که ۸ ایزوله از۴۱ ایزوله مقاوم (۱۹/۵۱٪) متالوبتالاکتاماز مثبت بودند. از ۴۱ ایزوله سودوموناس آئروژینوزامقاوم به ایمیپنم جدا شده در طول این دوره تحقیق ۸ ایزوله ای که با روشEtest MBL مثبت شده بودند دارای ژنVIM بودند و و ایزوله ای که ژنIMP را داشته باشد شناسایی نشد و ۳۳ ایزوله باقیمانده (۸۰/۴۹٪)برای هر دو ژنهای VIM وIMP منفی شدند.

نتیجه گیری: نتایج این تحقیق نشان می دهد که همانند سایر تحقیقات انجام شده در دیگر نقاط جهان میزان سویه‌های مقاوم به آنتی بیوتیک سودوموناس آئروژینوزا رو به افزایش است و تولید متالوبتالاکتاماز می تواند یکی از دلایل این امر باشد.

کلید واژه ها: سودوموناس آئروژینوزا، مقاومت آنتی بیوتیکی، متالوبتالاکتاماز

مقدمه

سودوموناسها باسیلهای گرم منفی،هوازی و متحرک هستند. سودوموناس آئروژینوزا اغلب به تعداد کم فلورطبیعی روده و پوست انسان را تشکیل می دهد(۱) و پاتوژن فرصت طلب در بیماران دچار اختلال سیستم دفاعی می باشد(۲). معرفی کرباپنمها به دنیای پزشکی یک امتیاز بزرگ جهت درمان عفونتهای جدی باکتریایی که توسط باکتریهای مقاوم به

Archive of SID
www.SID.ir

بتالاکتامها ایجاد شده اند محسوب می‌شود کـه ایـن بـدلیل طیـف وسـیع فعالیت آنها و پایداری شان در برابر اکثرآنزیمهای بتالاکتاماز می باشد(۳). مقاومت به کرباپنمهـا درگونـه هـای غیـر تخمیـری ماننـد سـودوموناس آئروژینوزا بیشتر مشاهده شده است که شایعترین مکانیسم های مقاومـت به دلیل کاهش نفوذ دارو و تولید بتالاکتامازهای هیدرولیزکننده کرباپنمهـا مـــی باشـــد(٤،٥). گزارشـــاتی حـــاکی ازتوانـــایی متالوبتالاکتامازها(MBLs)در هیدرولیز کرباپنمها دردست اسـت و سوشهای سودوموناس آئروژینوزا حامل ژنهای متالوبتالاکتاماز یک تهدید کلینیکی جدی مـی‌باشـند(٦). سـودوموناس آئروژینـوزا تولیـد کننده متالوبتالاکتاماز اولین بار از ژاپن در سال ۱۹۹۱ گزارش شد و پـس از آن از نواحی مختلف دنیا شامل آسیا، اروپا، استرالیا، آمریکای شمالی و جنوبی شناسایی و گزارش گردیده است(۷،۸).متالوبتالاکتامازها در کلاس B طبقه بندی Ambler و گروه ۳ از طبقه بندی Bush و همکاران جای دارند که به کاتیونهای دو ظرفیتی (مانند فلز روی) بعنوان کوفاکتور برای فعالیت آنزیمی خود نیاز دارند(۴،۶). متالوبتالاکتامازهاآنزیمهـایی هسـتند که توسط کروموزومها و یا پلاسمیدها کد می گردند و طیف سوبسـترای وسیعی دارند به طوریکه همه بتالاکتامها، به جـز مونوباکتـام آزترئونـام را هیدرولیز می کننـد. متالوبتالاکتامازهـا در ***In vitro*** توسـط شـلاتورهای فلزی مانند اتیلن دی آمین تترااستیک اسید، سدیم مرکاپتواستیک اسـید و ۲- مرکاپتوپروپیونیک اسید مهار می گردند اما توسـط مهـار کننـده هـای بتالاکتاماز نظیر سولباکتام، تازوباکتام و یـا کلاولانیـک اسـید مهـار نمـی شوند. آنزیم های متالوبتالاکتاماز بر اساس ساختمان مولکـولی بـه چهـار گـــروه بـــا نامهـــای IMP, VIM, SPM, GIM تقســـیم مـــی شوند(۹،۱۰،۱۱). در تحقیق حاضر فراوانی تولید متالوبتالاکتاماز در سـویه های سودوموناس آئروژینوزا مقاوم به ایمیپنم توسط روش Etest MBL ارزیابی شد. همچنین از روش مولکولی PCR برای تایید انواع VIM و IMP متالوبتالاکتاماز استفاده گردید و شیوع این آنزیمها در ایزوله هـای کلینیکی سودوموناس آئروژینوزا مقاوم به ایمیپنم در طول سالها ۱۳۸٤ تـا ۱۳۸۵ مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها:

سوشهای باکتریایی: در این تحقیق از۱۰۰ ایزوله کلینیکـی سـودوموناس آئروژینوزا، به دست آمـده از ۱۰۰ بیمـار مبـتلا بـه عفونتهـای سـوختگی بستری در بیمارستان سوانح وسوختگی طالقانی اهـواز، کـه درآزمایشـگاه تعیین هویت شده بودند استفاده شد. جهت تشـخیص ایـن ایزولـه هـا از سایر باکتری های گرم منفی و حصول اطمینان از جنس و گونـه بـاکتری تستهای بیوشـیمیایی اسـتاندارد انجـام گرفـت. ایـن تسـتها شـامل رشـد درمحیط مک کانکی آگار، تستهای اکسیداز و کاتالاز، واکـنش در محـیط TSI (Triple Sugar Iron Agar)، تسـت (Oxidative-Fermentative Medium) OF، بررسی تحرک ، تولید اندول و گـاز، رشد در ۴۲ درجه سانتی گراد و تولید پیگمان پیوسیانین در محـیط مـولر هینتون آگار بودند (۱۲).

تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی:

الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی نمونه هـای کلینیکـی جـدا شـده از بیمـاران سوختگی با تست دیسک دیفیوژن به روش کربی – بائر تعیین شد. آنتـی بیوتیکهـای اسـتفاده شـده در ایـن تحقیـق شـامل سـفتازیدیم(CAZ)، ایمیپنم(IPM)، مروپنم(MEM)، تیکارسیلین(TIC)، پیپراسیلین(PIP)و سفپیم(FEP)بود کـه از کمپـانی MAST از کشورانگلسـتان، خریـداری شدند. قطر هاله‌های حاصل از این تست باید با جدول استاندارد ذکر شده که توسط شرکت MAST در اختیار قرار گرفته بود، مقایسه گردید.

Etest متالوبتالاکتاماز (Etest MBL):

در این قسمت از تحقیق سویه های تولید کننده متالوبتالاکتاماز، در ایزوله های سودوموناس آئروژینوزا مقاوم بـه ایمیپـنم توسـط نوارهـای Etest متالوبتالاکتامـاز(AB BIODISK, Sweden) مـورد شناسـائی قـرار گرفتند.

جهت تهیه سوسپانسیون میکروبی ٤ تا ٥ کلنی خالص باکتری را بـه لولـه حاوی محیط Tripticase Soy Broth (TSB) منتقل کرده و سـپس آن را به مدت ۸-۲ ساعت در دمای ۳۷°C قرار دادیم تـا بـاکتری هـا رشـد کرده و به فاز لگاریتمی برسند سپس کدورت محـیط مـایع میکروبـی بـا استاندارد ۰/۵ مک فارلند مقایسـه شـد و توسـط سـواب اسـتریل ازایـن سوسپانسیون میکروبی استاندارد درسطح محـیط مـولر هینتـون آگـار بـه روش سـفره ای کشـت داده شـد و پـس ازحـدود ۱۵ دقیقـه و حصـول اطمینان از خشک شدن سطح محیط کشـت یـک نـوار Etest MBL در سطح آگار قرار داده و پلیتها در۳۷°C به مدت ۱٦ تـا ۱۸ سـاعت انکوبـه گردیدند.

زمانیکه رشد باکتریایی بـه طـور واضـحی در روی پلیـت نمایـان گـردد، خوانـدن MIC(Minimum Inhibitory Concentration) IP و IPI ارزش دارد. در جائیکه هاله عدم رشد مربوطه استریپ را قطع کرده است، عدد روبروی محل تقاطع منطقه عدم رشد با نـوار بعنـوان MIC در نظر گرفته می‌شود. در تفسیر Etest MBL اگر نسبت IP MIC بـه IPI بزرگتر یا مساوی ۸ شود بیـانگر تولیـد متالوبتالاکتامـاز مـی‌باشـد و همچنین اگر یک ناحیه اضافی به نام (phantom zone) بین قسمتهای IPI وIP مشاهده شود و یا هاله عدم رشد IP یا IPI در انتهای باریـک

Archive of SID

www.SID.ir

شونده بیضی مهاری دچار تغییر شکل گردند بدون در نظر گرفتن نسبت IP MIC به IPI تولید کننده متالوبتالاکتاماز تلقی می گردند (۵).

تعیین ژن متالوبتالاکتاماز:

جهت استخراج DNA باکتری (کروموزومی و پلاسمیدی)، از روش جوشانیدن ساده(boiling) استفاده شد. ابتدا ۲ تا ۳ کلنی از محیط کشت برداشت نموده و در ۵۰۰µl آب مقطر استریل درون میکروتیوپهای اپندروف حل کرده و پس از ورتکس نمودن، محلول حاصل را به مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری جوش قرار داده و در خاتمه میکروتیوپها را به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۱۲۰۰۰g میکروفیوژ نموده و از محلول رویی آنها برای انجام تست PCR استفاده گردید(۹).جهت تکثیر DNAاستخراج شده با استفاده از واکنش PCR ، ترکیب مخلوط اصلی با حجم ۲۵ میکرولیتر به ترتیب زیر بود:

بافرPCR ۲/۵ میکرولیتر، مخلوطdNTP ۰/۶۲۵میکرولیتر، کلرید منیزیوم ۵۰ میلی مولار ۰/۷۵میکرولیتر، آنزیمTaq پلیمراز ۰/۴میکرولیتر، ، ۰/۵میکرولیتر از هر پرایمر، DNAالگو ۵ میکرولیتر و آب مقطر ۱۴/۷۳میکرولیتر.

برنامه PCR برای ۳۰ سیکل تکثیربه دستگاه ترموسیکلر (BioRad, Italy)داده شدکه شامل مراحل زیر بود(۱۰).

مرحله اولیه جداسازی یا باز شدن دو رشته به مدت ۵ دقیقه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد، مرحله باز شدن دو رشته به مدت ۱ دقیقه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد(Denaturing Step) ،مرحله اتصال پرایمرها به مدت ۱ دقیقه در ۵۴ درجه سانتی‌گراد(Annealing Step)و مرحله طویل شدن یا ساخته شدن رشته هدف به مدت ۱/۵ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد (Extension Step).محصولاتPCR توسط الکتروفورز با ژل آگاروز۱/۵ درصد در بافرTBE بررسی گردیدند. ژلها با اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی شدندو سپس محصولاتPCR با نورUV مشاهده گردیدند. در این تحقیق از دو سری پرایمر اختصاصی، مربوط به دو ژن bla_{IMP} وbla_{VIM} متالوبتالاکتاماز سودوموناس آئروژینوزا به شرح زیر استفاده گردید(۹). پرایمرها از شرکت Roche ،آلمان، خریداری شدند.لازم به ذکر می‌باشد در این تحقیق از سویه سودوموناس آئروژینوزا متالوبتالاکتاماز مثبت که از دانشگاه تربیت مدرس تهیه گردید به عنوان کنترل مثبت استفاده شد و در قسمت PCR از آب مقطر به عنوان کنترل منفی استفاده گردید.

P. aeruginosa bla IMP primers (587bp)

1) 5´- GAAGGCGTTTATGTTCAT AC -3´
2) 5´- GTATGTTTCAAGAGTGAT GC -3´

P.aeruginosa bla VIM primers (382bp):

1)5´- GTTTGGTCGCATATCGCA AC -3´
2)5´- AATGCGCAGCACCAGGAT AG -3´

یافته ها:

نتایج حاصل از آنتی بیوگرام به روش کربی –بائر برروی ۱۰۰ ایزوله سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از بیماران دارای عفونتهای سوختگی از قرار زیر بود:۲۰٪ ایزوله ها مقاوم به پیپراسیلین (PIP)،۲۳٪ مقاوم به مروپنم (MEM)، ۴۱٪مقاوم به ایمیپنم(IPM)، ۷۰٪ مقاوم به تیکارسیلین (TIC)، ۸۱ ٪ مقاوم به سفتا زیدیم (CAZ)و۱۰۰ ٪ مقاوم به سفپیم (FEP)بودند(نمودار۱).

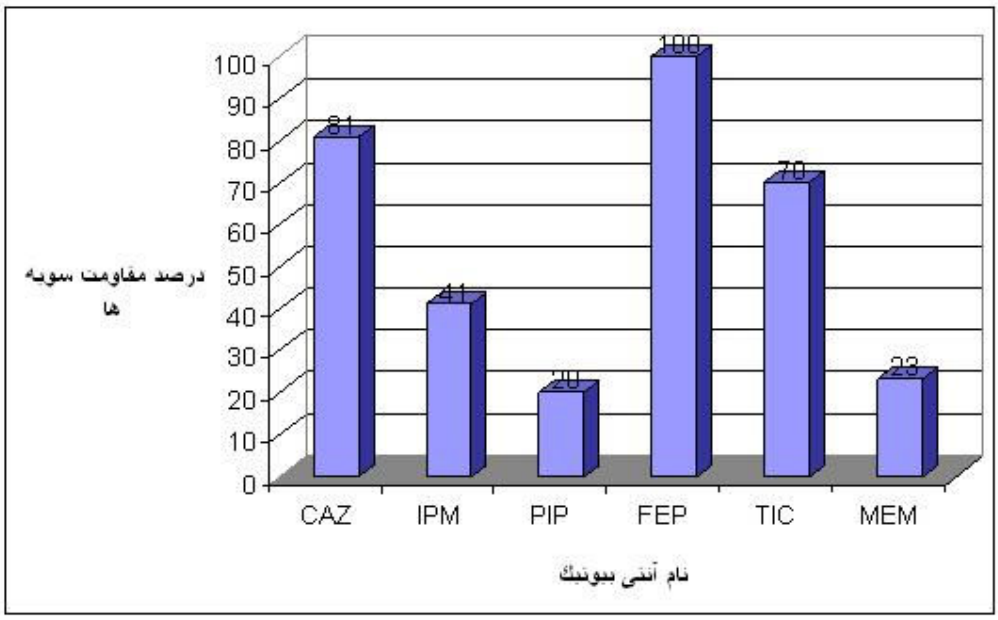
در غربالگری برای تولید متالوبتالاکتاماز درایزوله های سودوموناس آئروژینوزا مقاوم به ایمیپنم توسط روش Etest MBL از ۴۱ ایزوله مقاوم، ۸ ایزوله(۱۹/۵۱٪) مثبت شدند. بیشترین تعداد ایزوله های مقاوم به ایمیپنم (۴۸/۷۸درصد) دارای الگوی مشابه شش مقاومتی بودند(شکل ۱).

تمام ایزوله های کلینیکی سودوموناس آئروژینوزا مقاوم به ایمیپنم توسط PCR، با استفاده از پرایمرهای اختصاصی، برای وجود ژنهای VIMو IMP متالوبتالاکتامازتست شدند .از ۴۱ سویه سودوموناس آئروژینوزا مقاوم به ایمیپنم که در طول این دوره تحقیق جداسازی گردیدند ، ۸ ایزوله ای (۱۹/۵۱٪) که با روش Etest MBL مثبت شدند با آزمایش PCR نیز برای ژن bla_{VIM} با استفاده از پرایمرهای اختصاصی آن مثبت بودند و ایزوله ای که دارای ژن bla_{IMP} باشد شناسایی نشد. ۳۳ ایزوله باقیمانده (۸۰/۴۹٪) برای هر دو ژنهای VIMو IMP متالوبتالاکتاماز منفی بودند(شکل ۲)

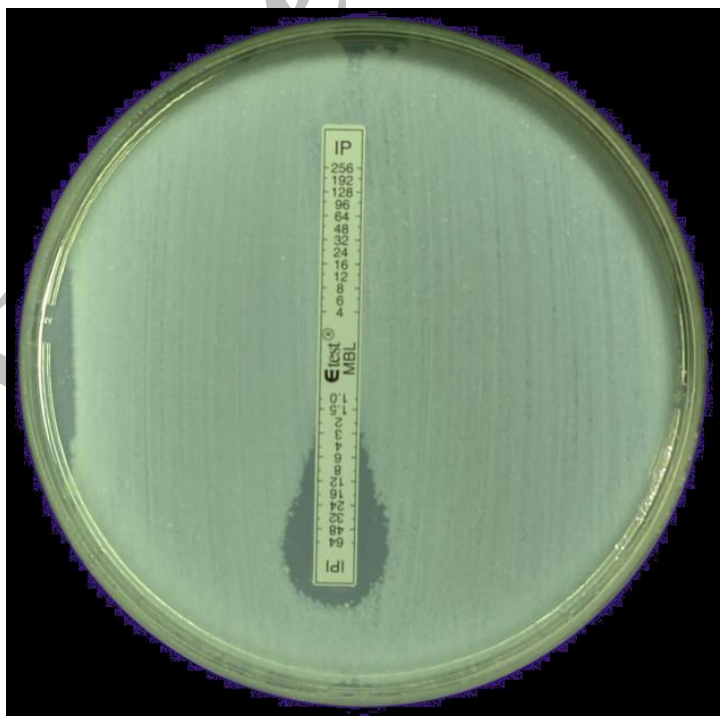
Archive of SID

www.SID.ir

نمودار۱. درصد مقاومت سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا جدا شده ازعفونتهای سوختگی را نسبت به آنتی بیوتیکهای استفاده شده

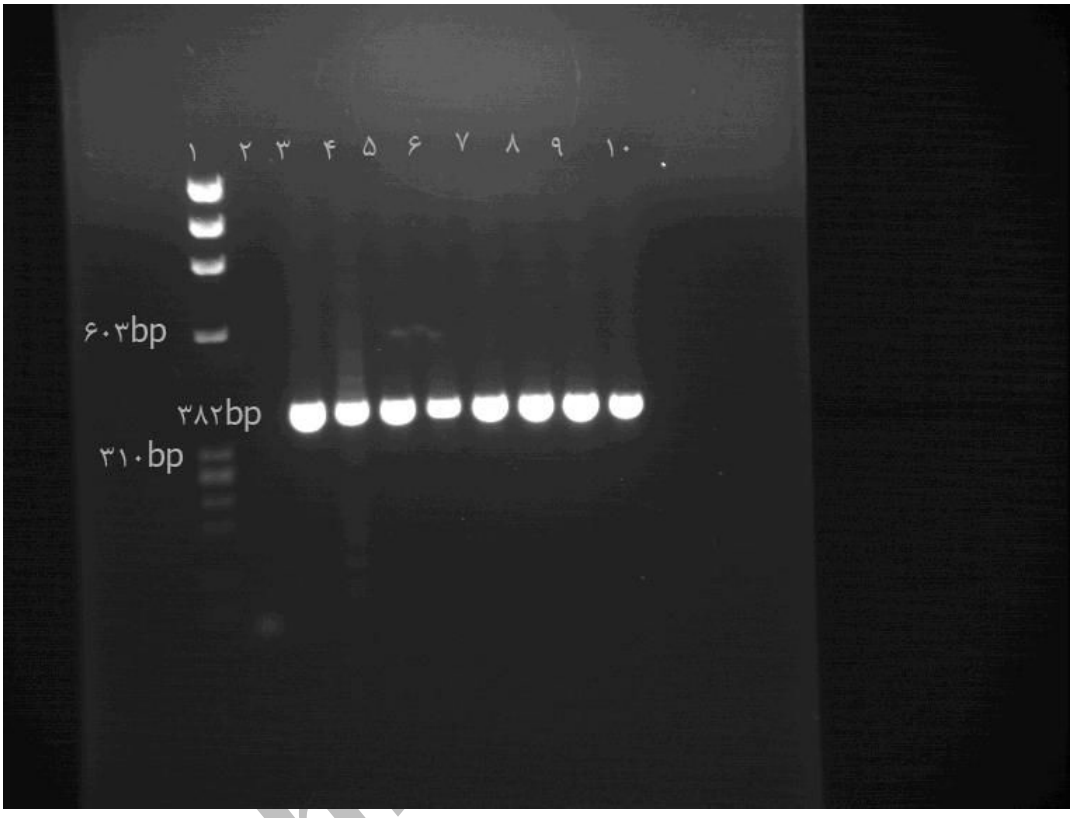


شکل۱.نوار Etest MBL برای تعیین ایزوله های تولید کننده متالوبتالاکتاماز



www.SID.ir

شکل۲. ژل حاوی نمونه های PCR شده



۱- DNA ladder (Hae III)
۲- کنترل منفی(آب مقطر)
۳- کنترل مثبت(سویه تهیه شده از دانشگاه تربیت مدرس)
۴- ۱۰-۴ نمونه های بیماران

Archive

بحث:

سوشهای سودوموناس آئروژینوزا تولید کننده متالوبتالاکتاماز یک تهدید کلینیکی جدی می‌باشند که موجب نگرانی پزشکان درمان کننده عفونتهای ایجادشده توسط این باکتریها گردیده است. IMP-1 اولین متالوبتالاکتاماز شناخته شده در سودوموناس آئروژینوزا می باشد و به دلیل خطر بالقوه گسترش سریع IMP به دیگر گونه های باکتریایی نگرانی بزرگی را به وجود آورده است. متالوبتالاکتامازها از ایزوله های کلینیکی، در نقاط مختلف جهان و با شیوع در حال افزایش، در طی سالهای گذشته شناسایی شده اند و سویه‌های تولید کننده این آنزیمها مسئول عفونتهای بیمارستانی طولانی مدت همراه با عواقب جدی هستند. یک ایزوله تولید کننده متالوبتالاکتاماز در محیط بیمارستان باعث مشکلاتی در درمان بیماران می گردد و به همین دلیل یک نگرانی جدی برای شخص کنترل کننده عفونت بخصوص در واحدهای سوختگی می باشد. در مطالعه ای که در ژاپن صورت گرفته، نشان داده شده است که بیماران عفونی شده با سودوموناس آئروژینوزا تولید کننده متالوبتالاکتاماز جهت درمان آنتی بیوتیکهای مختلف دریافت می کنند و همچنین مرگ و میر

www.SID.ir

ناشی از عفونت توسط این نوع باکتریها بیشتر از آنچه توسط سودوموناس آئروژینوزا متالوبتالاکتاماز منفی رخ می دهد، می باشد(۹) با توجه به اینکه سودوموناس آئروژینوزا یک پاتوژن فرصت طلب در بیماران با نقص سیستم ایمنی می باشد و عامل مهم عفونتهای بیمارستانی و سوختگی محسوب می گردد، بنابراین تعیین دقیق وگزارش سریع چنین آنزیمهایی هم از لحاظ اپیدمیولوژیک وهم به منظور کمک به پزشک در انتخاب آنتی بیوتیک مناسب جهت درمان موفق بیماران، کنترل کردن گسترش ایزوله های مقاوم به چند دارو و جلوگیری از انتشار چنین عفونتهایی در بیمارستانها، ارزشمند خواهد بود با شیوع در حال افزایش باسیلهای گرم منفی تولید کننده متالوبتالاکتاماز در بسیاری از کشورها، تستهای ساده و دقیق برای شناسایی سویه‌های تولید کننده این آنزیمها لازم هستند. نوارهای Etest MBL بر اساس ترکیبی از یک سوبسترا بتالاکتام و یک بتالاکتام با مهار کننده متالوبتالاکتاماز برای شناسایی و تعیین این آنزیمها، طراحی شده اند. این نوارها توانایی تعیین کردن متالوبتالاکتاماز، هم کروموزومی و هم پلاسمیدی، را در باکتریهای هوازی و بیهوازی دارا می‌باشند. همه آزمایشگاههای میکروبیولوژی باید به طور روتین تولید کننده های MBL را تعیین نمایند و روش Etest MBL می تواند به این منظور استفاده شود(۵).

در این مطالعه نیز سویه‌های تولید کننده متالوبتالاکتاماز با روشEtest MBL تعیین شدند. سویه‌های مثبت به سفتازیدیم ، سفپیم وتیکارسیلین نیز مقاومت نشان دادند اما سطح مقاومتشان به مروپنم و پیپراسیلین متفاوت بود.

تایید با روش PCR برای وجود ژنهای متالوبتالاکتاماز یک مرحله مهم می باشد(۹). در این تحقیق ما همچنین از آزمون PCR برای تایید سودوموناس آئروژینوزا تولید کنندهMBL استفاده نمودیم. پرایمرهای طراحی شده برای تعیین ژنهای VIMوIMP متالوبتالاکتاماز، به منظور حساسیت و ویژگی آنها، با استفاده ازDNA الگو تهیه شده از سویه کنترل مثبت آزمایش شدند و آزمون PCR نتایج روش Etest MBL را تایید نمود

در مطالعه ای که توسط Park و همکاران در سال ۲۰۰۳ در کره انجام گرفت از ۹۹ ایزوله کلینیکی سودوموناس آئروژینوزا مقاوم به ایمیپنم، ۳۱ ایزوله با روشهای فنوتیپی متالوبتالاکتاماز مثبت بودند در حالیکه با روش PCR،۲۹ ایزوله ژنVIM و ۲ ایزوله دیگر ژنIMP را داشتند. این محققین گزارش کردند کهVIM یک متالوبتالاکتاماز مهم در سودوموناس آئروژینوزا در بیمارستانهای کره می باشد(۱۳).

درمطالعه ای که توسطLuzzaro و همکاران در سال ۲۰۰٤ در ایتالیا انجام شد، نشان دادند که از ۸۲ سویه سودوموناس آئروژینوزا مقاوم به ایمیپنم ٤ سویه با روش Etest MBL و PCR متالوبتالاکتاماز مثبت بودند و نتایج PCR آشکار کرد که هر ٤ سویه ژن VIM را داشتند این محققین بیان کردند که سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا تولید کننده متالوبتالاکتاماز، موارد مهمی از سویه‌های مقاوم به ایمیپنم در بین گونه های جداشده از بیماران می‌باشند(١٤)

در مطالعه دیگری که توسط Kim و همکاران در طول سالهای۲۰۰۵ صورت گرفت از ١١٦ ایزوله کلینیکی سودوموناس آئروژینوزا مقاوم به ایمیپنم، ۲۲ ایزوله با روشEtest MBL متالوبتالاکتاماز مثبت بودند در حالیکه با روش PCR،۲۱ ایزوله ژن VIM را داشتند و یک ایزوله باقیمانده از نظر ساختمان مولکولی کلاس بندی نشد(۱۵).

نتیجه گیری :

همه آزمایشگاههای میکروب‌شناسی باید قادر باشند سویه های سودوموناس آئروژینوزا تولید کننده متالوبتالاکتاماز را از سویه هایی که از مکانیزمهای دیگری برای مقاومت به کرباپنمها استفاده می کنند تشخیص دهند.شناسایی و تعیین اولیه سودوموناس آئروژینوزا تولید کنندهMBLs ممکن است از گسترش سویه‌های مقاوم به چند دارو جلوگیری نماید. در غیاب عوامل جدید برای درمان عفونتهای ایجاد شده توسط باکتریهای گرم منفی مقاوم به داروهای متعدد، در آینده نزدیک گسترش کنترل نشده تولید کننده های متالوبتالاکتاماز ممکن است به شکست درمان و در نتیجه افزایش عفونت و مرگ و میر منتهی گردد. بنابراین لازم است همه ایزوله های سودوموناس آئروژینوزای مقاوم یا غیر حساس به ایمیپنم، به طور روتین برای تولید متالوبتالاکتاماز با استفاده از روشهای موجود غربالگری شوند.

تقدیر و تشکر:

این تحقیق بااستفاده از بودجه طرح های تحقیقاتی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور انجام گرفته که مولفین مراتب سپاس خود را اعلام می دارند. با تشکر فراوان از پرسنل محترم آزمایشگاه بیمارستان طالقانی اهواز که در تهیه نمونه مارا یاری دادند.

Archive of SID

www.SID.ir

فهرست مراجع:

1. Brooks GF, Butel JS, Morse SA. Jawetz, Melnick and Adelberg's Medical Microbiology. London: Lang Basic Science . 2004; pp: 262-267.

2. Aoki S, Hirakata Y, Kondoh A, Gondoh N, Yanagihara K, Miyazaki Y, *et al*. Virulence of metallo beta lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa In vitro*. Antimicrob. *Agents Chemother* 2004; **48**: 1876-1878.

3.Lee K, Lim YS, Yong D, Yum JH, Chong Y. Evaluation of the hodge test and imipenem-EDTA double disk synergy test for differentiating metallo beta lactamase producing isolates of Pseudomonas spp and Acinetobacter spp. *J Clin Microbiol* 2003; **41**:4623-4629.

4. Senda K, Arakawa Y, Lchiyama S, Nakashima K, Ito H, Ohsuka S,*et al*.PCR detection of metallo beta lactamase gene(blaIMP) in gram negative rods resistant to broad spectrum beta lactams. *J Clin Microbiol* 1996; **34**: 2909-2913.

5. Walsh TR, Bolmstrom A, Qwarnstrom A, Gales A. Evaluation of a new Etest for detection metallo beta lactamases in routine clinical testing. *J Clin Microbiol* 2002; **40**: 2755-2759.

6. Senda K, Arakawa Y, Nakashima K, Ito H, Ichiyama S, Shimokata K, *et al*. Multifocal outbreaks of metallo beta lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa* resistant to broad spectrum beta lactams including carbapenems. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; **40**:349-353.

7. Mendiratta DK, Deotale V, Narang P. Metallo beta lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa* in a hospital from a rural area. *Indian J Med Res* 2005; **121**: 701-703.

8. Henrichfreise B, Wiegand L, Sherwood KJ, Wiedemann B. Detection of VIM-2 metallo beta lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* from Germany. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; **49**: 1668-1669.

9. Pitout JDD, Gregson DB, Poirel L, McClure JA, Le P, Church DL. Detection of *Pseudomonas aeruginosa* producing metallo beta lactamases in a large centralized labratory. *J Clin Microbiol* 2005; **43**: 3129-3135.

10. Helfand MS, Bonomo RA. Current challenges in antimicrobial chemotherapy: the impact of extended-spectrum beta lactamases and metallo beta lactamases on the treatment of resistant Gram-negative pathogens. *Curr Opin Pharmacology* 2005; **5**: 452-458.

11. Arakawa Y, Shibata N, Shibayama K, Yugi T, Fujiwara H, *et al*. Convenient test for screening metallo beta lactamases producing gram negative bacteria by using thiol compounds. *J Clin Microbiol* 2000; **38**: 40-43.

12. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Diagnostic Microbiology. 11th ed. Missouri: Mosby company. 2002; pp: 389-391.

13. Park JJ, Oh EJ, Lee S, Kim SI, Park YJ, Kang MW and *et al*. Prevalence of metallo beta lactamase among *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannnii* in a Korean university hospital and comparison of screening methods for detecting metallo beta lactamase. *J Microbiol Methods* 2003; **54**:411-418.

14. Luzzaro F, Endimiani A, Docquier JD, Mugnaioli C, Bonsignori M, Amicosante G, *et al*. Prevalence and characterization of metallo-beta-Lactamases in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. Diagn. *Microbiol Infect Dis* 2004; **48**:131-135.

15. Kim IS, Lee NY, Ki CS, Oh WS, Peck KR, Song JH. Increasing prevalence of imipenem-resistant Pseudomonas aeruginosa and molecular typing of metallo-beta-lactamase producers in a Korean hospital. *Microb Drug Resist* 2005; **11**: 355-359.

Archive of SID

www.SID.ir