

## تعیین الگوی مقاومت دارویی و شناسایی ژن متالو بتالاکتاماز bla-VIM در سویه‌های *پسودوموناس آئروژینوزا* جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان سوانح و سوختگی امام موسی کاظم (ع) اصفهان (۸۸-۱۳۷۸)

حسین فاضلی<sup>۱</sup>، زهرا مصلحی تکانتپه<sup>۲</sup>، غلامرضا ایراجیان<sup>۳\*</sup>، منصور صالحی<sup>۳</sup>

۱) گروه میکروبی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

۲) گروه میکروبی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران

۳) گروه ژنتیک دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

نویسنده رابط: دکتر غلامرضا ایراجیان، گروه میکروبی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران

دورنگار: ۰۲۱ - ۸۸۰۵۸۶۴۹ girajian @ yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله: ۸۸/۶/۱ تاریخ پذیرش مقاله: ۸۸/۱۲/۱۹

### چکیده:

**زمینه و اهداف:** *پسودوموناس آئروژینوزا (Pseudomonas aeruginosa)* عامل اصلی عفونت زخم‌های سوختگی است. با توجه به مقاومت روز افزون این باکتری به داروهای ضد باکتریایی و به‌خصوص نسبت به ترکیبات بتالاکتام اهمیت مقاومت آن دو چندان می‌شود. به‌علاوه، سویه‌های تولید کننده آنزیم متالو بتالاکتامازها در جهان رو به افزایش است. هدف از این مطالعه تعیین الگوی حساسیت دارویی و میزان شیوع سویه‌های *پسودوموناس آئروژینوزا* تولید کننده متالو بتالاکتاماز در بیمارستان سوانح و سوختگی امام موسی کاظم (ع) اصفهان بود (۸۸-۱۳۷۸).

**روش بررسی:** از ۱۱۱ بیمار دچار سوختگی و بستری در بیمارستان امام موسی کاظم (ع) اصفهان در طی سال‌های ۸۸-۱۳۷۸، ۷۹ سویه *پسودوموناس آئروژینوزا* جدا شد. تست حساسیت دارویی با روش کربی-بائر انجام شد. در سویه‌های مقاوم به ایمپینم تولید متالو بتالاکتاماز به روش فنوتیپی (IPM-EDTA) تشخیص داده شد. با استفاده از فناوری PCR وجود ژن VIM بررسی گردید.

**یافته‌ها:** درصد مقاومت به داروهای ضد باکتریایی به شرح ذیل بود: ایمپینم ۹۴/۹٪، پیپراسیلین ۹۷/۴٪، سیپروفلوکساسین ۹۸/۷٪، تویرامایسین ۹۵٪، سفتازیدیم و تیکارسیلین هر یک ۱۰۰٪. با روش IPM-EDTA، ۴۱ (۵۵/۸٪) سویه مقاوم به ایمپینم، تولید کننده متالو بتالاکتاماز بودند. ۳۴ سویه (۴۳٪) حاوی ژن VIM بودند.

**نتیجه گیری:** نتایج نشان داد سویه‌های *P. aeruginosa* به سفتازیدیم و تیکارسیلین کاملاً مقاوم و بیش از ۹۴٪ آنها به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم هستند. شیوع تولید متالو بتالاکتاماز در سویه‌های جدا شده بیش از انتظار است. بنابراین، تشخیص الگوی مقاومت دارویی این باکتری به‌خصوص تشخیص سویه‌های تولید کننده متالو بتالاکتاماز در پیشگیری و کنترل عفونت‌های ناشی از آن اهمیت زیادی دارد.

**کلید واژه‌ها:** متالو بتالاکتاماز، *P. aeruginosa*، آزمایش حساسیت دارویی، ژن VIM، زخم سوختگی

## مقدمه:

یکی از مهم‌ترین مشکلات بهداشتی و درمانی در بسیاری از نقاط دنیا ضایعات سوختگی می‌باشد. بیماران مبتلا به این ضایعات در معرض خطر عفونت‌های بیمارستانی هستند. زیرا، زخم‌های سوختگی مکان استقرار باکتری‌های فرصت طلب از جمله *Pseudomonas aeruginosa* می‌باشد. استفاده از روش‌های مراقبتی جدید موارد عفونت زخم‌های سوختگی را کاهش داده است. اما، هنوز امکان بروز عفونت‌های مرگبار در سوختگی‌های شدید به‌خصوص در کشورهای در حال توسعه وجود دارد که عموماً باعث افزایش بیماری و مرگ و میر در سراسر دنیا می‌گردد (۱). به‌عنوان مثال، در ایالات متحده آمریکا سالیانه حدود ۱۰۰،۰۰۰ مورد ضایعه سوختگی شدید اتفاق می‌افتد که منجر به مرگ حدود ۵،۰۰۰ نفر می‌گردد (۲).

در بیماران با ضایعات سوختگی شدید عوامل اصلی دخیل در عفونت، تخریب پوست و همراه شدن آن با کاهش سطح دفاعی (سلولی و هومورال) به‌صورت موضعی و سیستمیک می‌باشد (۸-۳). محل سوختگی (سطحی یا عمقی)، به‌علت نکروز بافتی، محیط غنی از پروتئین است که جایگاه ویژه‌ای برای استقرار و تکثیر باکتری‌ها فراهم می‌کند (۱۳-۹). نکروز بافتی و تخریب عروق خونی محل، از حضور عوامل دفاعی و ترکیبات ضد میکروبی ممانعت به‌عمل می‌آورد (۱۰ و ۱۴).

*P. aeruginosa* و *Staphylococcus aureus* مهم‌ترین و شایع‌ترین عواملی هستند که از عفونت زخم‌های سوختگی جدا می‌شوند. در مطالعه سال‌های ۲۰۰۳ تا ۲۰۰۵ در هلند مشخص گردید که این دو باکتری به ترتیب ۳۷-۲۷ درصد و ۳۰-۲۷ درصد عامل عفونت زخم بوده‌اند (۳) منبع *P. aeruginosa* عامل عفونت زخم‌های سوختگی ممکن است منشاء داخلی (دستگاه گوارش) یا محیطی داشته باشد (۱۵). در محیط بیمارستان سویه‌هایی از *P. aeruginosa* وجود دارند که دارای مقاومت چند گانه (Multi. Drug- resistant) هستند. این سویه‌ها از محیط و دست پرسنل جدا شده‌اند.

در مطالعات انجام شده در ایران مشخص شده که مقاومت چندگانه سویه‌های *P. aeruginosa* جدا شده از عفونت‌های بیمارستانی به مرحله نگران کننده‌ای رسیده است. در مطالعاتی که در مرکز سوختگی توحید انجام شد مشخص گردید که فراوانی *P. aeruginosa*، ۷۳/۹٪ می‌باشد. بیش از ۹۵٪ این

سویه‌ها به جنتامایسین، کاربنی سیلین، تری متوپریم سولفامتوکسازول، سفتری زوکسیم و تتراسیکلین و بیش از ۹۰٪ به آمیکایسین و ۸۲٪ به سیپروفلوکساسین مقاوم بودند (۱۶) در مطالعه دیگر در ایران ۸۶/۶٪ سویه‌های *P. aeruginosa* جدا شده از بیماران سوختگی به سفتری زوکسیم، ۸۶٪ به آزترونام، ۷۹/۸٪ به کاناماسین و ۱۵/۵٪ به ایمپی پنم مقاوم بودند. به‌علاوه، از ۱۲۷ سویه مورد بررسی، ۲۴ سویه جدا شده از بیماران و یک سویه جدا شده از محیط MDR بودند (۱۷).

در بسیاری از کشورها مقاومت سویه‌های *P. aeruginosa* به ترکیبات بتالاکتاماز رو به افزایش است (۲ و ۱۸). برای درمان عفونت‌های ناشی از سویه‌های مقاوم به ترکیبات بتالاکتاماز، از کرباپنم‌ها (ایمپنم - مروپنم) که نسبت به اثر اکثر بتالاکتامازها مقاوم می‌باشند، استفاده می‌شود (۱۹). اما، در سال‌های اخیر مقاومت به کرباپنم‌ها به‌ویژه در سویه‌های جدا شده از موارد بالینی گزارش شده است. این مقاومت به‌علت کاهش نفوذ دارو و تولید آنزیم‌های هیدرولیزکننده کرباپنم‌ها مثل متالو بتالاکتامازها (MBL) است (۲۰). متالو بتالاکتامازها از جمله آنزیم‌های بتالاکتاماز هستند که در گروه ۳ از طبقه بندی Bush و کلاس B از طبقه بندی Ambler قرار دارند. اعضاء کلاس B به سه زیر کلاس BI و BII و BIII تقسیم می‌شوند. در زیر کلاس BI، بر اساس ساختمان مولکولی، چهار گروه IMP و SPM و VIM و GIM وجود دارد. متالو بتالاکتامازها در جایگاه فعال خود دارای روی (Zn) می‌باشند و توسط شلاته کننده‌های فلزی از قبیل دی آمین تتراسیتیک اسید (EDTA) مهار می‌شوند. ولی توسط مهار کننده‌های بتالاکتاماز مثل سولباکتام، تازوباکتام و یا کلاولانیک اسید مهار نمی‌شوند.

آنزیم‌های متالو بتالاکتاماز اولین بار در سال ۱۹۸۸ از ژاپن گزارش شد. در حال حاضر سویه‌های *P. aeruginosa* تولید کننده متالو بتالاکتاماز از سراسر دنیا گزارش می‌شوند. این آنزیم‌ها طیف سوسترانی وسیعی دارند و قادر به هیدرولیز تمام بتالاکتام‌ها به جز مونوباکتام (آزترونام) هستند. این آنزیم‌ها داخل اینتگرون‌ها قرار گرفته و می‌توانند در پلاسمید یا کروموزوم ادغام شوند. لذا قابلیت انتقال به سایر سویه‌های پسودوموناس و باکتری‌ها دیگر از جمله انتروباکتریاسه را دارند (۲۱ و ۲۲ و ۲۴)

*P. aeruginosa* یکی از عوامل اصلی عفونت‌های بیمارستانی از جمله زخم‌های سوختگی است. از سوی دیگر تا کنون

ایمپینم  $10 \mu\text{g}$  تلقیح شد تا دیسک IPM-EDTA به دست آمد (۲۳).

چند کلنی خالص پseudomonas آئروژینوزا به لوله حاوی محیط TSB (Trypticase Soy Broth) تلقیح شد و به مدت ۳ ساعت در  $37^\circ\text{C}$  درجه سانتی گراد قرار داده شد. سپس کدورت محیط معادل استاندارد نیم مک فارلند ( $1 \times 10^8$ ) تنظیم شد. این محلول توسط سوآب استریل در سطح محیط مولر هیتون آگارکشت داده شد و دیسک‌های IPM-EDTA و IPM در سطح آگار قرار داده شد. افزایش منطقه ممانعت از رشد دیسک IPM-EDTA به مقدار  $\geq 7 \text{ mm}$  نسبت به دیسک ایمپینم به تنهایی به عنوان متالوبتالاکتاماز مثبت در نظر گرفته شد (۲۳).

تعیین ژن متالوبتالاکتاماز: جهت استخراج DNA باکتری از روش جوشاندن (Boiling) استفاده شد. به این منظور چندین کلنی خالص باکتری در ۵ml محیط TSB تلقیح و به مدت ۲۰ ساعت در انکوباتور شیکر در  $37^\circ\text{C}$  درجه سانتی گراد قرار گرفت. از ۱/۵ml از محیط TSB در لوله‌های اپندورف ریخته شد و در دور  $18000 \times \text{g}$  به مدت ۵ دقیقه میکروفیوژ شد. مایع رویی کاملاً تخلیه و رسوب با حدود  $500 \mu\text{l}$  آب مقطر دیونیزه به خوبی ورتکس گردید. محلول حاصل حدود ۱۰ دقیقه در بن ماری جوش قرار گرفت. در پایان ۱۰ دقیقه در دور  $18000 \times \text{g}$  میکروفیوژ شد. محلول رویی جهت انجام واکنش PCR به لوله‌های اپندورف جدید منتقل شد (۲۲).

PCR: واکنش PCR به منظور تکثیر DNA استخراج شده در حجم نهایی  $25 \mu\text{l}$  به ترتیب زیر انجام شد: بافر PCR  $2/5 \mu\text{l}$ ، کلرید منیزوم  $2/5 \text{ mM}$ ، مخلوط الیگونوکلوئوتیدها  $0/2 \text{ mM}$ ،  $25 \text{ mM}$  / ازهر پرایمر،  $100 \text{ ng}$  DNA الگو، آنزیم Taq polymerase 2U و تا حجم نهایی ( $25 \mu\text{l}$ ) آب مقطر. برنامه PCR در ۳۰ سیکل تکثیر در دستگاه ترموسایکلر به قرار ذیل انجام شد:

مرحله اولیه جدا سازی دو رشته در  $94^\circ\text{C}$  سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه، مرحله باز شدن دو رشته (Denaturing Step) در  $94^\circ\text{C}$  سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه، مرحله اتصال پرایمرها (Annealing Step) در  $56/5^\circ\text{C}$  سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه، مرحله طویل شدن رشته هدف (Extension Step) در  $72^\circ\text{C}$  سانتی گراد به مدت ۲۰ ثانیه و مرحله طویل شدن نهایی (Final Extension Step) در دمای  $72^\circ\text{C}$  سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه.

ممانعت کننده‌ای برای این آنزیم شناخته نشده است و میزان شیوع سویه‌های *P. aeruginosa* حاوی ژن متالوبتالاکتامازها هم در حال افزایش است. لذا، تعیین الگوی مقاومت دارویی *P. aeruginosa* جدا شده از بیماران و تعیین تولید متالوبتالاکتامازها جهت کنترل و درمان عفونت‌های بیمارستانی ضروری به نظر می‌رسد. در مطالعه حاضر علاوه بر تعیین الگوی حساسیت دارویی سویه‌های *P. aeruginosa* جدا شده از بیماران دچار سوختگی، تولید آنزیم متالوبتالاکتاماز و حضور ژن VIM هم با روش فنوتیپی و ژنوتیپی بررسی شد.

### مواد و روش‌ها:

سویه‌های باکتری: ۱۱۱ نمونه از زخم بیماران مبتلا به عفونت‌های سوختگی، بستری در بیمارستان سوانح و سوختگی امام موسی کاظم (ع) اصفهان، طی سال‌های ۸۸-۱۳۸۷ جمع آوری شد. نمونه‌ها روی محیط‌های آگار خوندار و EMB (Merck) کشت داده شد و با استفاده از روش‌های استاندارد میکروب شناسی، سویه پseudomonas آئروژینوزا تعیین هویت گردید. سویه‌ها جهت آزمایشات بعدی در محیط مایع (Merck) Luria-Bertani حاوی ۳۰٪ گلیسرول در  $80^\circ\text{C}$  نگاهداری شد. آزمایش حساسیت دارویی: برای تعیین الگوی مقاومت دارویی از روش دیسک دیفیوژن (Kirby-baure) بر روی محیط مولر هیتون آگار استفاده شد. آنتی بیوتیک‌های مورد استفاده عبارت بودند از: ایمپینم (I) (هایمدیا- هند) سفتازیدیم (CAZ)، پپراسیلین (PIP)، سیپروفلوکساسین (CIP)، تیکارسیلین (TIC) و توبرامایسین (NN) (پادتن طب- ایران). از سویه پseudomonas آئروژینوزای ATCC:27853 به عنوان شاهد استفاده شد.

تولید متالوبتالاکتاماز: سویه‌های مقاوم به ایمپینم (منطقه ممانعت  $< 16 \text{ mm}$ ) جهت بررسی تولید متالوبتالاکتاماز (MBL) انتخاب شدند.

روش فنوتیپی IPM-EDTA: در این روش محلول نیم مولار EDTA (۱۸۶/۱) گرم  $\text{disodium EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  در  $1000 \mu\text{l}$  میلی لیتر آب مقطر (تهیه و pH محلول به وسیله NaOH در ۸ تنظیم گردید. محلول به وسیله اتوکلاو (در دمای  $121^\circ\text{C}$  درجه سانتی گراد، فشار ۱۵ پاومد براینچ مربع و به مدت ۱۵ دقیقه) استریل شد.  $750 \mu\text{l}$  از محلول EDTA روی دیسک

### یافته‌ها:

از ۱۱۰ بیمار سوختگی ۴۸ نفر (۴۴٪) مرد و ۶۲ نفر (۵۶٪) زن بودند، که در بیمارستان بستری و درجه سوختگی آنها دو یا سه بود. دامنه سنی بیماران از یک تا ۶۰ سال متغیر بود. بیشترین بیماران در گروه سنی ۴۰-۲۱ سال (۵۸/۵٪) و کمترین آنها در گروه ۱-۱۰ سال (۱۰٪) قرار داشتند.

۱۱۱ نمونه زخم برداشت شد. از ۷۹ (۷۱/۱٪) نمونه پseudomonas آئروژینوزا جدا شد که شایع‌ترین ارگانیسم جدا شده از بیماران با عفونت سوختگی بود. از ۳۲ (۳۸/۹٪) نمونه دیگر، باکتری‌های دیگر جدا شدند.

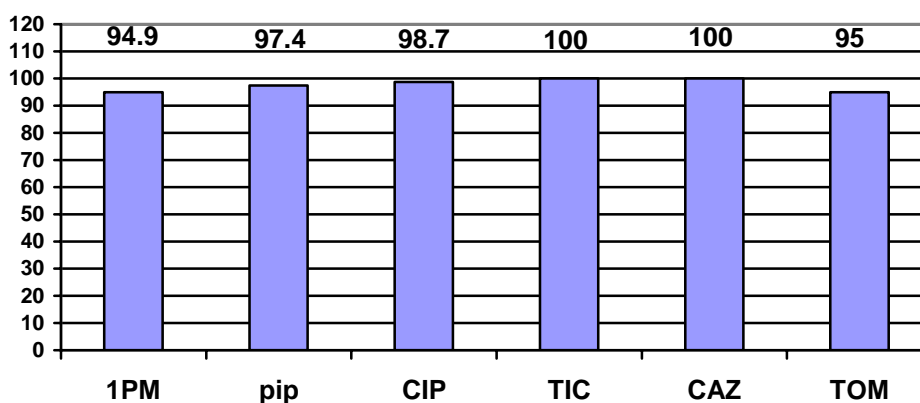
درصد مقاومت دارویی سویه‌های پseudomonas آئروژینوزا در نمودار ۱ نمایش داده شده است؛ بالاترین میزان مقاومت مربوط به سفنازیدیم و تیکارسیلین (۱۰۰٪) و کمترین آن مربوط به ایمپینم (۹۴/۹٪) بود.

از آب مقطر به عنوان شاهد منفی و از سویه پseudomonas آئروژینوزا VIM مثبت (P. aeruginosa PO510 producing bla<sub>VIM-1</sub>) به عنوان شاهد مثبت استفاده شد. (سویه شاهد از بخش میکروبی شناسی انستیتو پاستور ایران دریافت گردید).

در این روش از یک جفت پرایمر اختصاصی مربوط به ژن bla<sub>VIM</sub> که محصول آن بانندی به طول ۳۸۲bp می‌باشد (Metabion آلمان) استفاده گردید. (۲۳)

1) 5'-GTT TGG TCG CAT ATC GCA AC-3'  
2) 5'-AAT GCG CAG CAC CAG GAT AG-3'  
محصولات PCR توسط ژل آگارز ۱/۵ درصد حاوی اتیدیموم بروماید در بافر TBE الکتروفورز شد و سپس محصولات توسط نور UV مشاهده گردید. (۲۲)

جهت پردازش اطلاعات از نرم افزار spss10 استفاده شد.



نمودار ۱: درصد مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های پseudomonas آئروژینوزا

IPM: ایمپینم

TIC: تیکارسیلین

PIP: پیراسیلین

CAZ: سفنازیدیم

CIP: سپروفلوکساسین

TOM: توبرامایسین

تمام سویه‌های پseudomonas آئروژینوزا (بدون در نظر گرفتن مقاومت به ایمپینم) به منظور شناسایی ژن bla<sub>Vim</sub>، PCR شدند. ۳۴ سویه (۴۳/۳٪) از نظر ژن VIM مثبت بود.

از ۷۴ سویه پseudomonas آئروژینوزای مقاوم به ایمپینم، ۴۱ سویه (۵۵/۴٪) به روش IPM-EDTA، متالوبتالاکتاماز مثبت بودند.

## بحث:

در مطالعه حاضر ۷۱/۱ درصد نمونه‌ها واجد *P. aeruginosa* هستند. تمام سویه‌ها به سفنازیدیم و تیکارسلین و بیش از ۹۴ درصد به ایمپینم، پیراسیلین و سیپروفلوکساسین مقاوم می‌باشند، که ۵۵/۴ درصد از آنها تولیدکننده متالو بتالاکتاماز هستند. در روش PCR، ۴۳ درصد از تمام سویه‌ها حاوی ژن VIM می‌باشند.

سویه‌های *P. aeruginosa* تولید کننده متالو بتالاکتاماز (معمولا" دارای مقاومت چندگانه) عامل عفونت‌هایی می‌باشند که درمان آنها مشکل‌زا است و منجر به افزایش مرگ و میر می‌گردد. افزایش در طیف و تنوع متالو بتالاکتامازها در سویه‌های *P. aeruginosa* باعث محدودیت درمانی، حداقل در سه قاره (آسیا، اروپا و آمریکای جنوبی) گردیده است. این امر منجر به استفاده از رژیم‌های داروئی ترکیبی (استفاده از چند ترکیب ضد میکروبی) شده است. با توجه به اینکه سویه‌های تولیدکننده متالو بتالاکتاماز به بسیاری از ترکیبات ضد میکروبی

مورد استفاده مقاوم می‌باشند. لذا یا باید به فکر سنتز ترکیبات ضد میکروبی قوی‌تر با مکانیسم عمل جدید بود و یا از داروهای قدیمی با سمیت زیاد مثل Polymyxin B یا Colistine استفاده نمود (۲۴) سویه‌های تولید کننده متالو بتالاکتاماز مسئول بروز عفونت‌های بیمارستانی طولانی مدت و شدید می‌باشند (۲۵). در یک مطالعه مورد - شاهدی در ژاپن (۲۰۰۳)، مشخص شد میزان مرگ و میر در بیمارانی که با سویه‌های *P. aeruginosa* تولید کننده متالو بتالاکتاماز عفونی شده‌اند، نسبت به بیمارانی که با سویه‌های متالو بتالاکتاماز منفی عفونی شده‌اند، بیشتر است (۲۶)

در مطالعه حاضر تمام سویه‌ها به سفنازیدیم و تیکارسلین و بیش از ۹۴ درصد به ایمپینم، پیراسیلین و سیپروفلوکساسین مقاوم می‌باشند. الگوی مقاومت سویه‌های *P. aeruginosa* در مطالعه حاضر و مطالعات دیگر در ایران در جدول ۱ خلاصه شده است.

جدول ۱: مقایسه مقاومت سویه‌های *P. aeruginosa* به آنتی‌بیوتیک‌ها در مطالعه حاضر و مطالعات انجام شده در ایران از سال ۱۳۸۲ تا

۱۳۸۸ (۲۰۰۳-۲۰۰۹)

محققین	سال تحقیق	ایمپینم	پیراسیلین	سیپروفلوکساسین	سفنازیدیم	سفتی زوکسیم
عزیز ژاپنی و همکاران (۲۲)	۲۰۰۳	۶۷/۱	۱۴/۳	۲۷/۱	۱۵/۷	
خسروی و همکاران (۲۸)	۲۰۰۶	۴۱	۶۸		۸۳	
صادری و همکاران (۲۵)	۲۰۰۷	۳۸/۲		۴۹/۲۲	۷۴/۲	۸۵/۱۶
شاهچراغی و همکاران (در دست چاپ)	۲۰۰۵-۲۰۰۷	۱۲/۴				
میر صالحیان و همکاران (۲۸)	۲۰۰۸	۶۳	۷۰	۸۳	۸۵	
سلیمی و همکاران (۱۷)	۲۰۰۸	۳۰/۲	۳۴/۱		۷۵/۲	۸۶/۸
مطالعه حاضر	۲۰۰۹	۹۴/۹	۹۷/۴	۹۸/۷	۱۰۰	

می‌تواند؛ تفاوت مقاومت در مناطق مختلف، نوع عفونت، و یا نوع دیسک‌های مورد استفاده باشد. اما در کل این موضوع تأمل برانگیز است و بیشتر باید مورد بررسی و تعمق قرار گیرد.

روند این مطالعات در کل افزایش میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها را نشان می‌دهد. ولی این افزایش دارای نوساناتی، از جمله در مورد ایمپینم است. با توجه به اینکه در همه مطالعات از روش انتشار دیسک استفاده شده است. علت این نوسانات

متالو بتالاکتاماز می‌باشند (۲۹). در مطالعه حاضر میزان سویه‌های متالو بتالاکتاماز مثبت (فوتوتیپی و ژنوتیپی) بیشتر از دو مطالعه فوق می‌باشد، که نشان دهنده افزایش میزان سویه‌های تولید کننده متالو بتالاکتاماز است.

### نتیجه‌گیری:

مطالعه نشان داد سویه‌های *P. aeruginosa* مقاومت بالایی به آنتی‌بیوتیک‌ها دارند. تولید متالو بتالاکتاماز در سویه‌های جدا شده از بیماران سوختگی پیش از انتظار شایع است. به دلیل افزایش شیوع بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف در باکتری‌های گرم منفی به‌ویژه *پسودوموناس آئروژینوزا* در بیمارستان‌ها و با توجه به اینکه باکتری‌های مقاوم می‌توانند ژن‌های مقاومت را به سایر باسیل‌های گرم منفی، از جمله اتروباکتریاسه، انتقال دهند (۱۸)، طرحی نو جهت مبارزه با گسترش سویه‌های تولید کننده متالو بتالاکتاماز اهمیت فوری دارد. از این بین می‌توان به اقدامات تشخیصی در آزمایشگاه‌های بیمارستان‌ها جهت جداسازی و تشخیص این سویه‌ها اشاره کرد.

### تقدیر و تشکر:

از کارکنان محترم گروه‌های میکروبی‌شناسی، ژنتیک و آزمایشگاه بیمارستان سوانح و سوختگی امام موسی کاظم (ع) دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به خصوص آقای دکتر بهرام نصر اصفهانی، آقای دکتر سروش نیا و خانم گیلا امینی سپاسگذاری می‌گردد. از کارکنان محترم گروه میکروبی‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی ایران تشکر و قدردانی می‌شود.

در مطالعه حاضر میزان مقاومت افزایش چشمگیری را نشان می‌دهد که علت آن می‌تواند؛ بستری شدن بیماران در مرکز سوختگی در یک منطقه خاص (اصفهان) باشد که بیماران از سایر شهرهای استان نیز به آن ارجاع شوند و نیز می‌تواند نشان دهنده شیوع مقاومت در میان سویه‌های *P. aeruginosa* بیمارستانی باشد.

در مطالعه حاضر جهت غربالگری سویه‌های تولیدکننده متالو بتالاکتاماز از روش IPM-EDTA استفاده شد. مشخص گردید که ۵۵/۴ درصد سویه‌های مقاوم به ایمپنم، تولید کننده متالو بتالاکتاماز می‌باشند. در مطالعه خسروی و همکاران با روش E-test در سال ۲۰۰۷ این میزان ۱۹/۵۱ درصد (۲۹) و در مطالعه صادری و همکاران که با روش CAZ-EDTA انجام شد ۶۳/۳ درصد می‌باشد (۲۵). در مطالعه شاهچراغی و همکاران (۳۱) این میزان ۷۲ درصد است. در فرانسه (۲۰۰۴) با روش IPM-EDTA میزان ۴۶ درصد (۳۰) و در کشور کره ۳۱ درصد گزارش گردیده است (۳۰). نتایج مطالعه حاضر با مطالعه صادری و همکاران در تهران (۲۵) تقریباً مشابه می‌باشد، ولی با مطالعه شاهچراغی (۳۱) متفاوت است. علت آن می‌تواند استفاده از روش E-test یا Micro dilution باشد. نتایج این مطالعه با کشورهای دیگر نیز متفاوت است که علت آن می‌تواند استفاده از روش‌های متفاوت و تفاوت در میزان مقاومت در سایر نقاط جهان باشد.

فناوری PCR و استفاده از پرایمرهای اختصاصی برای تشخیص ژن blaVIM نشان داد صرفنظر از مقاومت سویه‌ها به ایمپنم، ۴۳ درصد حاوی ژن VIM هستند. از این تعداد ۶ سویه در روش فوتوتیپی منفی بودند و ۱۴ سویه که با روش فوتوتیپی تولید کننده متالو بتالاکتاماز بودند با روش PCR منفی بودند. در مورد اول شاید روش فوتوتیپی بکار گرفته شده حساسیت کافی ندارد و در مورد دوم نیز شاید باکتری‌ها دارای ژنهایی غیر از VIM هستند و یا از مکانیسم‌های مقاومت دیگری استفاده می‌کنند.

در مطالعه شاهچراغی (۳۱) ۱۶ سویه (۲۳/۵ درصد) با روش PCR متالو بتالاکتاماز مثبت بودند (حاوی ژن VIM) که ۱۲ سویه با روش فوتوتیپی مثبت و ۴ سویه با روش فوتوتیپی منفی بودند. این مطالعه بر روی سویه‌های جدا شده از عفونت‌های مختلف انجام شده است. در مطالعه خسروی ۸ سویه (۱۹/۵۱٪) از سویه‌های *P. aeruginosa* جدا شده از زخم‌های سوختگی حاوی ژن VIM هستند. تمام سویه‌ها با E-text نیز تولید کننده

## فهرست مراجع:

1. Rastegar Lari A, laghehbandan A, Nosocomial infections in a Iranian burn care center. *Burns* 2000; **26**: 737-740.
2. Church D, Elsayed S, Reid O, Winston B, Lindsay R, Burn wound infections *Clin Microbiol Rev* 2006; **19**(2):403-34.
3. Bielecki A, Glik J, kawewski M, Martinsdos santos, VAP. Towards understanding *pseudomonas aeruginosa* burn wound infections by profiling gene expression. *Biotechnol lett* 2008; **30**: 777-790.
4. Alexander JW, Mechanism of immunologic suppression in burn injury. *J Trauma* 1990;**30**(12 Suppl): 70-5.
5. Griswold JA. White blood cell response to burn injury. *Semin Nephrol* 1993;**13**(4):409-15.
6. Hansbrough J. F, Field, Jr. T O, Gadd M A, Soderberg C. Immune response modulation after burn injury: T cells and antibodies. *J. Burn Care Rehabil* 1987; **8**:509-512.
7. Heideman M, Bengtsson A. The immunologic response to thermal injury. *World J Surg* 1992;**16**(1):53-6.
8. Lederer J. A, Rodrick M. L, Mannick J A. The effects of injury on the adaptive immune response. *Shock*. 1999;**11**:153-159.
9. Barret JP, Herndon DN. Effects of burn wound excision on bacterial colonization and invasion. *Plast Reconstr Surg* 2003;**111**(2):744-50.
10. Erol S, Altoparlak U, Akcay MN, Celebi F, Parlak M. Changes of microbial flora and wound colonization in burned patients. *Burns* 2004;**30**(4):357-61.
11. Manson WL, Klasen HJ, Sauer EW, Olieman A. Selective intestinal decontamination for prevention of wound colonization in severely burned patients: a retrospective analysis. *Burns* 1992;**18**(2):98-102.
12. Manson WL, Pernot PC, Fidler V, Sauer EW, Klasen HJ. Colonization of burns and the duration of hospital stay of severely burned patients. *J Hosp Infect*. 1992;**22**(1):55-63.
13. Nasser S, Mabrouk A, Maher A. Colonization of burn wounds in Ain Shams University Burn Unit. *Burns* 2003;**29**(3):229-33.
14. Wysocki AB. Evaluating and managing open skin wounds: colonization versus infection. *AACN Clin Issues* 2002;**13**(3):382-97.
15. Altoparlaku, Erols, Akcay MN, Celebi F, Kadanali A. The time-related changes of antimicrobial ressitance patterns and predominant bacterial profiles of burn woundsawski, and body flora of burned patients. *Burns* 2004; **30**(7): 660-664.
16. Rastegar LA, Bahrami, H H, and Alaghehbandan, R. Pseudomonas infection in Tohid Burn center, Iran. *Burns*.1998;**24**: 637-641.
17. Salami H, owlia P, Yakhchali B, Rastegar lari A. Drug susceptibility and molecular epidemiology of *pseudomonas aeruginosa* isolated in a burn unit. *J infect Dis* 2009;**5**(4): 308-313.
18. Japoni A, Alborzi A, Kalani M, Nasiri J, Hayati M, Farshad SH. Susceptibility patterns and cross-resistance of antibiotics against *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients in the south of Iran. *Burns* 2006; **32**: 343-7.
19. Lee K, Lim YS, Yong D, Yum JH, Chong Y. Evaluation of the Hodge test and the imipenem-EDTA double-disk synergy test for Differentiating metallo-beta-lactamase-producing isolates of *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. *J Clin Microbiol* 2003;**41**(10):4623-9.
20. Senda K, Arakawa Y, Ichiyama S, Nakashima K, Ito H, Ohsuka S, and 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**(12):2909-13.
21. Anne merie Queenan and Karen Bush. carbapenemases: the versatile B-lactamases. *Clin Microbiol Rev*. 2007; **20**(3): 440 – 458.
22. Pitout JD, Gregson DB, Poirel L, McClure JA, Le P, Church DL. Detection of *Pseudomonas aeruginosa* producing metallo-beta-lactamases in a large centralized laboratory. *J Clin Microbiol* 2005;**43**(7):3129-35.
23. Yong D, Lee K, Yum JH, Shin HB, Rossolini GM, Chong Y. Imipenem-EDTA disk method for differentiation of metallo-beta-lactamase-producing clinical isolates of *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. *J Clin Microbiol* 2002;**40**(10):3798-3801.
24. Sacha P, Wiczorek P, Hauschild T, Zorawski M, Olszanska D, Trynieszewska E. Metall0- B-Lactamases of *psoudomonas aeruginosa* a novel mechanism resistance to B-lactam antibiotics. *Folia Histochemica et cytobiologica* 2008;**46**(2): 137-142.
25. Saderi H, Karimi Z, Owlia P, Bahar A A, Akhavi Rad S M B. Phenotypic Detection of Metallo- beta- lactamase producing

- pseudomonas aeruginosa* strain Isolated from Burned patients. *Iran J pathol* 2008;**3**(1): 20-24.
26. Hirajata Y, Yamaguchi T, Nakano M, Izumikawa K, Mine M, Aoki S, et al. Clinical and bacteriological characteristics of IMP-type metallo- B-lactamase producing *pseudomonas aeruginosa*. *Clin infect Dis*. 2003;**37**: 26-32.
۲۷. میر صالحیان ا, فیض آبادی م, اکبری نخبجوانی ف, جبل عاملی ف, گلی ح. فراوانی بتالاکتامازهای وسیع الطیف در ایزوله‌های *پسودوموناس آئروژینوزا* در بیماران سوختگی. *مجله دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران*. مرداد ۱۳۸۷ دوره ۶۶ شماره ۵: صص ۳۳۳ تا ۳۳۷.
28. Khosravi AD, Mihani F. Detection of metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from burn patients in Ahwaz, Iran. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2008;**60**(1):125-8.
29. 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.
30. Walsh TR, Toleman MA, Poirel L, Nordmann P. Metallo-beta-lactamases: the quiet before the storm?. *Clin Microbiol Rev* 2005;**18**(2):306-25.
31. Shahcheraghi F, Nikbin VS, Feizabadi MM. Identification and genetic characterization Of metallo – beta- lactamase producing strains of *pseudomonas aeruginosa* in Teharan. Iran. *New microbiologica* (in press).