مقاله پژوهشی

مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
دوره ۳۳ شماره ۴ مهر و آبان ۱۳۹۰ صفحات ۲۸-۲۳

شیوع مقاومت آنتی بیوتیکی و بتالاکتاماز طیف گسترده تیپ VEB-1 در ایزوله های سودوموناس آئروجینوزا جدا شده ازبیماران بستری در بخش مراقبت های ویژه

یونس خلیلی: گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
محمد تقی اخی: گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران، نویسنده رابط: **E-mail:**M_T_Akhi@yahoo.com
رضا قوطاسلو: گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
محمد آقا زاده: گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
بهروز نقیلی: مرکز تحقیقات بیماری های عفونی و گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
مجید پرنور: گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

دریافت: ۸۹/۱/ ۲۱ ، پذیرش: ۸۹/۱۰/۱۵

چکیده

زمینه و اهداف: تولید آنزیمهای بتالاکتاماز وسیع الطیف یکی از دلایل بروز مقاومت دارویی در ایزوله های سودوموناس آئروجینوزا است. این مطالعه جهت بررسی الگوهای حساسیت آنتی بیوتیکی و حضور ژن *bla* $_{VEB-1}$ در ایزوله های بیمارستان امام رضا (ع) و شهید مدنی شهر تبریز انجام شد.

مواد و روش ها: در طول یکسال (۱۳۸۷-۱۳۸۸) ۸۵ ایزوله سودوموناس آئروجینوزا از بیماران بستری در بخش ICU مرکزآموزشی درمانی امام رضا(ع) و شهید مدنی تبریز جدا گردیده و توسط تست‌های روتین باکتریولوژیک تعیین هویت شدند. سپس الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی آنها با دیسک‌های مختلف تعیین گردید. ایزوله های مقاوم به سفتازیدیم توسط تست تاییدی برای تولید ESBL با روش CDT تحت مطالعه قرار گرفته و نیز وجود ژن *bla* $_{VEB-1}$ با روش PCR بررسی گردید. از سویه‌های استاندارد سودوموناس آئروجینوزا 10.2 به عنوان کنترل مثبت ژن *bla* $_{VEB-1}$ استفاده شد.

یافته‌ها: چهل وسه ایزوله(۵۰/۵٪) مقاوم به سفتازیدیم بودند. هفتاد و نیم درصد مقاوم به سفوتاکسیم و۱۷/۶٪ مقاوم به ایمی پنم بودند که به ترتیب بیشترین و کمترین مقاومت را داشتند. هفتاد و نه درصد ایزوله ها تولیدکننده آنزیم‌های ESBL بودند. از ایزوله های مقاوم به سفتازیدیم ۱۳/۹٪ حاوی ژن *bla*$_{VEB-1}$ بودند.

نتیجه گیری: با در نظر گرفتن مقاومت بالا نسبت به سفالوسپورین های نسل سوم و چهارم در ایزوله های سودوموناس آئروجینوزا، پرهیز از مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان بیماریها با عوامل باکتریائی تولید کننده ESBLs اجتناب ناپذیراست.

کلید واژه ها: مقاومت آنتی بیوتیکی، سودوموناس آئروجینوزا، ESBL، *bla* $_{VEB-1}$

مقدمه

سودوموناس آئروجینوزا (*Pseudomonas aeruginosa*) یک باکتری گرم منفی، اکسیداز مثبت، غیر تخمیر کننده و هوازی است که معمولاً در محیطهای مرطوب زندگی می‌کند. این باکتری نیازهای تغذیه‌ای کمی دارد و می‌تواند به راحتی در اکثر محیطهای کشت باکتریولوژیک رشد کند (۱). کلونیزاسیون باکتری در بدن از نظر سلامتی معمولاً مشکلی ایجاد نمی‌کند اما افزایش سطح کلونیزاسیون در صورت وجود کاهش سطح ایمنی، بیماری‌های زمینه‌ای (دیابت، سوختگی، سرطان، کیستیک فیبروزیس و ...)، بستری طولانی مدت در بیمارستان و استفاده از آنتی‌بیوتیک های وسیع الطیف می‌تواند تهدید کننده باشد (۲). سودوموناس آئروجینوزا بر طبق گزارش CDC دومین عامل شایع پنومونی بیمارستانی، سومین عامل شایع عفونت ادراری بیمارستانی و هفتمین عامل شایع باکتریمی در بیمارستان می‌باشد. در سراسر دنیا بخش مراقبت های ویژه (ICU) دارای بیشترین و شدیدترین عفونت های بیمارستانی است. میزان مقاومت آنتی بیوتیکی نیز در این بخش بالا است. سودوموناس آئروجینوزا یکی از شایع‌ترین پاتوژن های جدا شده از ICU است (۳). چندین ریسک فاکتور در عفونت اکتسابی ناشی از این باکتری در بخش ICU دخیل است

Archive of SID
www.SID.ir

نظیر بستری طولانی مدت، وجود بیماری‌های زمینه‌ای شدید و استفاده از روش‌های تهاجمی از یک طرف و از طرف دیگر استفاده زیاد از آنتی بیوتیک‌های وسیع الطیف و وجود مقاومت آنتی‌بیوتیکی با این باکتری مشکلات زیادی را به وجود آورده است (۴). این باکتری با داشتن سیستم Efflux قوی، جذب کم دارو از غشای خارجی و تولید آنزیم‌های مختلف برای از بین بردن فعالیت آنتی‌بیوتیک های مختلف نظیر آمینوگلیکوزیدها و فلوروکینولونها و نیز تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز مختلف باعث هیدرولیز آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام می‌شود. آنزیم های بتالاکتاماز پیوند آمیدی حلقه بتالاکتام را نابود می‌کنند (۵و۶). آنزیم‌های بتالاکتاماز سودوموناس آئروجینوزا هر یک باعث هیدرولیز دسته خاصی از این آنتی‌بیوتیک‌ها می‌شود. برطبق طبقه‌بندی Amber ۴ نوع بتالاکتاماز وجود دارد. بتالاکتاماز کلاس A یا بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف (ESBLs) باعث هیدرولیز سفالوسپورین‌های وسیع-الطیف، خانواده پنی سیلین‌ها و منوباکتام می‌شود. کلاس B شامل آنزیم‌های متالو بتالاکتاماز می‌باشد که باعث هیدرولیز تمام آنتی-بیوتیک‌های بتالاکتام به غیر از منوباکتام می‌شود. کلاس C شامل سفالوسپورینازهای Amp C می‌باشد که باعث هیدرولیز انواع پنی‌سیلین‌ها، آمینو پنی سیلین‌ها و سفالوسپورین های اولیه می-گردد. کلاس D یا OXA-type بتالاکتامازها باعث هیدرولیز اگزاسیلین‌ها و سایر پنی‌سیلین‌های سنتیتک و نیمه سنتیتک می‌گردد (۷). ژن bla_{VEB-1} جزو کلاس A بتالاکتامازها می‌باشد. آنزیم VEB-1 اولین با در سال ۱۹۹۹ از یک بیمار ویتنامی مبتلا به عفونت ادراری با *E. coli* گزارش گردید (۸). این ژن در بسیاری از کشورهای آسیایی و اروپایی گزارش شده است ولی شایع ترین محل آن جنوب شرقی آسیا است (۹). هدف این مطالعه بررسی شیوع آنزیم VEB-1 در ایزوله های سودوموناس آئروجینوزا از بخش مراقبت های ویژه بیمارستان‌های آموزشی- درمانی امام رضا (ع) و شهید مدنی شهر تبریز و میزان تولید ESBL و نیز تعیین الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی آنها است.

مواد و روش‌ها

در طی دوره یکساله از تیر ماه ۱۳۸۷ تا تیر ۱۳۸۸ تعداد ۸۵ ایزوله سودوموناس آئروجینوزا بصورت تصادفی از بیماران بستری در بخش های ICU مرکز آموزشی و درمانی امام رضا (ع) و شهید مدنی تبریز جداسازی و با روشهای معمول باکتریولوژیک شناسایی شده و جهت تعیین هویت قطعی در محیط کشت Cetrimide agar (Liofilchem, Italy) کشت و در دمای ۴۲ درجه سانتیگراد انکوبه گردیدند و سپس ایزوله ها از نظر تولید اکسیداز و تست OF (Merck, Germany) بررسی شدند (۱۰).

جهت تعیین الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی از تمام ایزوله ها سوسپانسیونی معادل نیم مک فارلند تهیه و در محیط کشت مولر هینتون آگار (Merck, Germany) کشت داده شد. از دیسک های سفتازیدیم (30µg)، سفوتاکسیم (30µg)، سفتریاکسون (30µg)، سفپیم (30µg)، پیپراسیلین- تازوباکتام (100µg/10µg) جنتامایسین (10µg)، سیپروفلوکساسین (5µg)، آزترونام (30µg)، مروپنم (10µg) و ایمی پنم (10µg)(MAST group Ltd,UK) جهت آنتی بیوگرام استفاده شد و نتایج بعد از ۱۸تا ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد با استفاده از دستورالعمل CLSI مورد بررسی قرار گرفت (۱۱).

کلیه ایزوله های مقاوم به سفتازیدیم برای تائید تولید ESBL با روش Combined Disk Test (CDT) مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای انجام CDT از دیسک های سفتازیدیم و سفتازیدیم- کلاوولانیک اسید (30µg/10µg)، سفوتاکسیم و سفوتاکسیم- کلاوولانیک اسید (30µg/10µg)، سفپیم و سفپیم- کلاوولانیک اسید (30µg/10µg)(MAST,UK) استفاده شد. از ایزوله ها مانند روش آنتی بیوگرام سوسپانسیونی معادل نیم مک فارلند تهیه و روی محیط مولر هینتون آگار کشت داده و دیسک ها در فاصله مناسب (مثلا ۲۰ میلی‌متر) از هم قرارداده شدند. ایزوله ها زمانی ESBL مثبت گزارش شدند که قطر هاله عدم رشد ایجاد شده توسط دیسک های حاوی اسید کلاوولانیک پنج یا بیشتر از پنج میلی متر از دیسک های بدون مهار کننده بزرگتر باشد (۱۲). از سویه *P. aeruginosa* ATCC 27853 برای ارزیابی کیفیت دیسک های مورد مطالعه و نیز به عنوان کنترل منفی در روش فنوتیپی و PCR استفاده شد.

DNA ایزوله های مقاوم به سفتازیدیم به روش SDS پروتئیناز K اصلاح شده با (CTAB) استخراج شد (۱۳). سپس واکنش PCR جهت بررسی حضور ژن bla_{VEB-1} انجام گرفت، بدین صورت که 1µl از DNA استخراج شده را به Master mix با حجم نهایی 50µl اضافه کرده ونیز به ازای هر واکنش ۲/۲ میکرو-لیتر ($Mgcl_2$ (50 mM، ۵ میکرو لیتر بافر 10X، ۱ میکرولیتر dNTPs mix (10mM)، ۱ واحد از آنزیم Taq DNA (5U/µl) polymerase (Fermentase, Litvania) ۰/۵ میکرولیتر از هر پرایمر(25µM)(Bioneer,Germany) اضافه گردید.

F: 5'CGACTTCCATTTCCCGATGC3'
R: 5'GGACTCTGCAACAAATACGC 3'

(۹و۱۱). برای تولید محصول (642bp) برنامه دستگاه ترموسایکلر با ۳۵ سیکل بدین ترتیب تنظیم شد. First Denaturation ۹۴ درجه سانتیگراد ۵ دقیقه، Denaturation بعدی ۹۴ درجه سانتیگراد ۱ دقیقه، Annealing در ۵۲ درجه سانتیگراد بمدت ۵۰ ثانیه، Extension ۷۲ درجه سانتیگراد ۱ دقیقه و Last Extension ۷۲ درجه سانتیگراد ۴ دقیقه و محصول PCR تولیدی را در آگاروز ۱٫۱٪ (Sigma,USA) الکتروفورز کرده پس از رنگ آمیزی با اتیدیم بروماید (Fermentase) زیر نور UV بررسی گردید. از سویه سودوموناس آئروجینوزا 10.2 به عنوان کنترل مثبت ژن bla_{VEB-1} استفاده شد. از روش های آمار توصیفی (فراوانی – درصد) و با استفاده از نرم افزار آماری SPSS جهت بررسی آماری استفاده شد.

Archive of SID

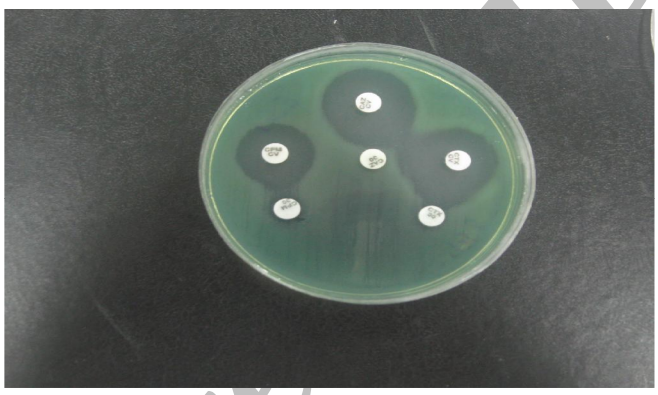
www.SID.ir

جدول شماره ۱: الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سودوموناس آئروجینوزا جداشده از بخش های مراقبت های ویژه مراکز آموزشی- درمانی امام رضا (ع) و شهید مدنی. برحسب تعداد (٪)

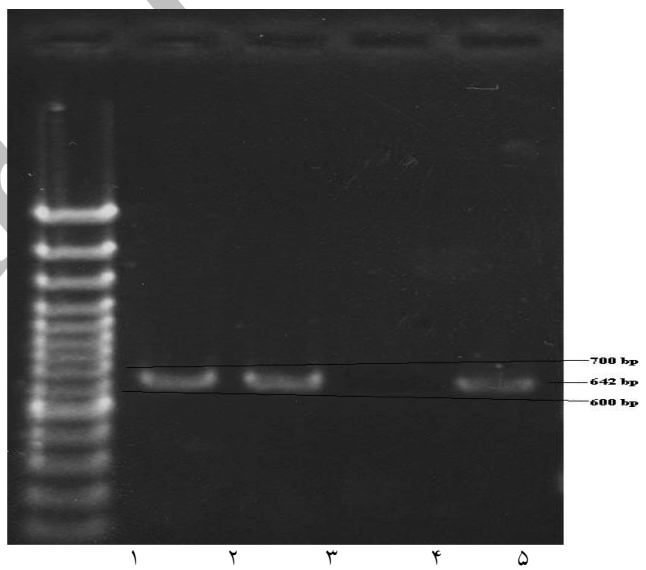
آنتی بیوتیک	ایمی پنم	مروپنم	پیپراسیلین- تازوباکتام	سفتازیدیم	جنتامایسین	سفپیم	سیپروفلوکساسین	آزترونام	سفتریاکسون	سفوتاکسیم
مقاوم	۱۵ (۱۷/۶)	۱۶ (۱۸/۸)	۲۱ (۲۴/۷)	۴۳ (۵۰/۵)	۴۴ (۵۱/۸)	۴۵ (۵۲/۹)	۴۷ (۵۵/۲)	۴۸ (۵۶/۴)	۵۶ (۶۵/۸)	۶۰ (۷۰/۵)
نیمه حساس	۲ (۲/۳)	۴ (۴/۷)	–	–	۲ (۲/۳)	۴ (۴/۷)	۱۱ (۱۲/۹)	۱۳ (۱۵/۲)	۱۴ (۱۶/۴)	۲۲ (۲۵/۸)
حساس	۶۸ (۸۰/۱)	۶۵ (۷۶/۵)	۶۴ (۷۵/۳)	۴۲ (۴۹/۵)	۳۹ (۴۵/۹)	۳۶ (۴۲/۴)	۲۷ (۳۱/۹)	۲۴ (۲۸/۴)	۱۷/۸(۱۵)	۳ (۳/۷)

جدول شماره ۲: الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سودوموناس آئروجینوزا جداشده مولد ژن bla_{VEB-1} از بخش های مراقبت های ویژه مراکز آموزشی- درمانی امام رضا (ع) و شهید مدنی. برحسب تعداد (٪)

آنتی بیوتیک	ایمی پنم	مروپنم	پیپراسیلین- تازوباکتام	سفتازیدیم	جنتامایسین	سفپیم	سیپروفلوکساسین	آزترونام	سفتریاکسون	سفوتاکسیم
مقاوم	۱ (۱۷)	۱ (۱۷)	۲ (۳۳)	۶ (۱۰۰)	۴ (۶۷)	۵ (۸۳)	۶ (۱۰۰)	۶ (۱۰۰)	۶ (۱۰۰)	۶ (۱۰۰)
نیمه حساس	–	–	–	–	–	۱ (۱۷)	–	–	–	–
حساس	۵ (۸۳)	۵ (۸۳)	۴ (۶۷)	–	۲ (۳۳)	–	–	–	–	–



شکل شماره ۱ CDT: ایزوله سودوموناس ائروجینوزا با هر سه دیسک واکنش مثبت نشان داده است. قطر هاله عدم رشد در اطراف دیسک های حاوی مهار کننده اسید کلاوولانیک (CV) ۵≥ از دیسک های بدون مهار کننده سفپیم (CPM)، سفتازیدیم (CAZ) و سفوتاکسیم (CTX) است.



شکل شماره ۲: الکتروفورز ژن VEB-1 در ایزوله های *P. aerugionsa*

ستون ۱: سایزمارکر 100bp
ستون ۵: کنترل مثبت:*P. aerugionsa* 10.2
ستون ۳،۲: ایزوله های واجد ژن VEB-1
ستون۴: ایزوله بدون ژنVEB-1

Archive of SID

www.SID.ir

یافته ها

از ۸۵ ایزوله ۵۶ ایزوله از مرکز آموزشی و درمانی امام رضا و ۲۹ ایزوله از مرکز آموزشی و درمانی شهید مدنی جمع آوری شد. ۲۵ ایزوله از نمونه های لوله تراشه، ۳۵ از ادرار، ۸ از مایع برونش، ۵ از کشت خون، ۳ از خلط، ۶ از زخم، یک از مایع مغزی نخاعی (CSF) و ۲ ایزوله از نمونه مایع جنب بودند. نتایج الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی حاکی از آن است که ۷۰/۵٪ ایزوله ها مقاوم به سفوتاکسیم و ۱۷/۶٪ مقاوم به ایمی پنم بودند که به ترتیب بیشترین و کمترین مقاومت را نشان می دهند (جدول ۱). از ۴۳ ایزوله مقاوم به سفتازیدیم ۳۴ ایزوله (۷۹٪) با روش CDT تولید کننده ESBL تشخیص داده شدند (شکل ۱). با انجام واکنش PCR روی ایزوله های مقاوم به سفتازیدیم ۶ ایزوله (۱۳/۹٪) واجد ژن bla_{VEB-1} مشخص گردید (شکل ۲) که همه از نمونه‌های ادرار به دست آمده بودند. الگوی مقاومت این ایزوله ها در جدول شماره ۲ آورده شده است.

بحث

در سراسر دنیا بخش مراقبت های ویژه دارای بیشترین و شدیدترین عفونت های بیمارستانی است. میزان مقاومت آنتی بیوتیکی نیز در این بخش بالا است. سودوموناس آئروجینوزا یکی از شایع ترین پاتوژن های جدا شده از ICU است (۳). اغلب مقاومت های آنتی بیوتیکی در سودوموناس آئروجینوزا بصورت مقاومت به چند دارو (MDR) بروز می کند. از آنجائیکه این مطالعه در بخش ICU انجام شده است و تعداد سودوموناس آئروجینوزا های MDR نسبت به بخش های دیگر بیشتر است لذا نتایج بدست آمده برای الگوی مقاومت و نیز ژن VEB1 از اعتبار بیشتری برخوردار می باشد. از طرف دیگر در این باکتری معمولا تست DDST (Double Disc Synergy Test) برای جستجوی ایزوله های تولید کننده ESBL بعلت وجود روش های گوناگون مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های بتا لاکتام دار از نتایج ضعیف تری بر خوردار است و به همین دلیل بیشتر بر روی نتایج حاصل از CDT تکیه می‌شود (۱۲۰). در مطالعه حاضر ۴۳/۵٪ از ایزوله های جدا شده به حداقل ۳ یا بیشر از ۳ نوع آنتی بیوتیک مختلف مقاوم بودند. سودوموناس آئروجینوزا مقاوم چند دارو به علت استفاده فراوان از آنتی بیوتیک های وسیع الطیف در بخش ICU به وفور دیده می شود. در یونان میزان MDR در بخش ICU ۱۰/۵٪ گزارش شده است (۱۴). ونیز در امریکا طی دوره ۱۰ ساله میزان MDR در سودوموناس آئروجینوزا از ۴٪ در سال ۱۹۹۳ تا ۱۴٪ در سال ۲۰۰۲ افزایش نشان می دهد (۱۵). در سال ۲۰۰۴ در آمریکا میزان MDR ۲۹/۵٪ در ایزوله های سودوموناس آئروجینوزا بخش مراقبت های ویژه گزارش شده است (۱۶). تولید آنزیم های ESBL یکی از علل شایع مقاومت به پنی سیلین های ضد سودومونائی، سفالوسپورین های مختلف و منوباکتام می باشد (۱۷). میزان تولید ESBL در ایزوله های سودوموناس آئروجینوزا مقاوم به سفتازیدیم در سال های گذشته در حال افزایش می باشد. در سال ۲۰۰۳ در تایلند ۲۰/۶٪ (۱۸)، در سال ۲۰۰۵ در کره ۲۵/۴٪ (۱۹)، در سال ۲۰۰۶ در بولیوی ۲۳/۴٪ (۲۰) و در سال ۲۰۰۷ در بلغارستان ۲۸/۷٪ (۲۱) در سال ۲۰۰۶ در چین ۴۵/۳٪ بود (۱۲). در مطالعه میرصالحیان و همکاران در سال ۱۳۸۷ میزان تولید ESBL در ایزوله های جداشده از افراد دچار سوختگی در تهران ۴۰٪ بود (۲۲). این میزان در مطالعه ما ۷۹٪ بود. ژن های گوناگونی بجز VEB-1 که باعث هیدرولیز سفالوسپورین های وسیع الطیف می شوند، در این باکتری بسیار زیاد است. احتمالا علت میزان بالای تولید آنزیم های ESBL در این مطالعه شیوع بالای سایر ژن ها در این منطقه از کشور و نیز محل جمع آوری نمونه است. چون در بخش ICU میزان مقاومت به آنتی بیوتیک های وسیع الطیف بیشتر از سایر بخش های بیمارستان است. ژن های مختلف موجود در سودوموناس ها به راحتی بین سایر سویه ها منتقل می شوند (۲و۵). آنزیم VEB-1 یک بتالاکتاماز وسیع الطیف می باشد که بصورت پلاسمیدی – اینتگرونی منتقل می-شود. ایزوله های واجد این ژن نیز مقاومت بالائی نسبت به سفالوسپورین های وسیع الطیف و منوباکتام ایجاد می کنند (جدول ۲). البته قدرت هیدرولیز کننده‌گی این ژن نسبت به سفوتاکسیم بیشتر از سفتازیدیم است (۲۳). مطالعات اپیدمیولوژی حاکی از آن است که این ژن در جنوب شرقی آسیا شایع است طوری که ۴۰-۸۰٪ ایزوله های سودوموناس آئروجینوزا مقاوم به سفتازیدیم در کشورهای نظیر تایلند، ویتنام و بنگلادش حاوی ژن bla_{VEB-1} هستند (۹و۲۴). میزان شیوع این ژن در کشور های مختلف متفاوت است. این میزان در سال ۲۰۰۸ در انگلستان از۸۰٪ ایزوله های مقاوم به دست آمده (۲۵) در ۲۰۰۷ در بلغارستان ۳۳/۱٪ (۲۱) در چین در ۲۰۰۶، ۳۸/۶٪ بود (۱۲). در یک مطالعه در سال ۲۰۰۱ در تایلند از ۳۳ ایزوله مقاوم به سفتازیدیم ۳۱ ایزوله حاوی این ژن بودند (۹). میزان این ژن در مطالعه در سال ۱۳۸۶ در تهران از ۱۱٪ ایزوله های مقاوم به سفتازیدیم گزارش شده است (۲۶). این میزان همچنین در این مطالعه ۱۳/۹٪ می باشد که همتراز سایر نقاط کشور نظیر تهران می باشد.

نتیجه گیری

با توجه به افزایش موارد ESBLs مثبت و تاثیر آن در افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی سودوموناس آئروجینوزا بخصوص در افراد بستری در بخش ICU، لزوم تشخیص موارد مثبت و تعیین دقیق الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی این ایزوله توصیه می شود. جهت جلوگیری از گسترش کلون‌های ESBL مثبت که معمولا به راحتی بین بخش های یک بیمارستان گسترش می یابند باید مکان های احتمالی آلود به سودوموناس آئروجینوزا شناسایی و با مواد ضدعفونی کننده مناسب تمیز شوند. در موارد استفاده از دستگاههای تنفس مصنوعی و استفاده از مواد مختلف برای

Archive of SID

www.SID.ir

شستشوی ریه یا زخم باید توجه شود که آلوده به سودوموناس آئروجینوزا نباشند چون این باکتری بسیار مقاوم است. در صورت مشاهده مقاومت به سفالوسپورین های وسیع الطیف استفاده از یک کارباپنم به جای سفالوسپورین همراه با یک آنتی بیوتیک غیر بتالاکتام نظیر آمیکاسین توصیه می شود (۲۷).

تشکر و قدردانی

این تحقیق با حمایت مالی معاونت محترم پژوهشی و مرکز تحقیقات بیماری های عفونی و گرمسیری دانشگاه علوم پزشکی تبریز به انجام رسیده است که بدین وسیله از مراکز فوق تشکر و قدردانی می گردد. ما همچنین از کلیه کارکنان بیمارستان های امام رضا (ع) و شهید مدنی بابت مساعدت در جمع آوری ایزوله های مورد مطالعه کمال تشکر و قدردانی داریم و نیز از کلیه افرادی که در انجام این مطالعه ما را یاری کردند از جمله اساتید محترم گروه میکروب شناسی تشکر می کنیم.

References:

1. Goldberg JB. Pseudomonas: global bacteria. *Trends Microbiol* 2000; **8**: 55-57.
2. Morrison Aj, Wenzel RP. Epidemiology of infections due to *Pseudomonas aerugionsa*. *Rev Infect Dis* 1984; **6**: 627-642.
3. Vincent JL, Bihari DJ, Suter PM. The prevalence of Nosocomial infection in intensive care units in Europe. Results of (EPIC) study. EPIC International Advisory committee. *JAMA* 1995; **274**: 639-644.
4. Agodi A, Barchitta M, Cipresso R. *Pseudomonas aeruginosa* carriage, colonization, and infection in ICU patients. *Intensive Care Med* 2007; **33**: 1155-1161.
5. Livermore DM. Penicillin – binding proteins, porins and outer- membrance permeability of carbenicillin – resistant and susceptible strains of *Pseudomonas aerugionsa*. *J Med Microbiol* 1984; **18**: 261-270.
6. Sykes RB, Mattew M. The Beta-lactamses of gram negative bacteria and their role in resistance to Beta–lactam antibiotics. *J Antimicrob Chemother* 1976; **2**: 140-145.
7. Amber RP. The structure of β-lactamase. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1980; **289**: 321-331.
8. Poirel L, Naas T, Guibert M, chaibi EB, Labia R, Nordmann P. Molecular and biochemical characterization of VEB-1 a novel class A extended spectrum Beta- lactamase encoded by an *Escherichia coli* integron gene. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; **43**: 573- 581.
9. Givlich D, Nass T, Leelaporn A, Poirel L, Fennewald M, Nordmann P. Nosocomisl spread of the intergron located Veb- 1 like cassette encoding an extended spectrum Beta- lactamase in *Pseudomonas aerugionsa* in Thailand. *Clin infect Dis* 2002; **34**: 603-611.
10. Clinical and Laboratory Standards Institute performance standards for Antimicrobial susceptibility Testing: Document M10 – S15.CLSI. Wayne, PA, USA, 2005.
11. Jiang X, Zhang Z, Li M, Zhou D, Ruan F, Ku Y. Detection of extended spectrum beta lactamases in clinical isolates of *Pseudomouas aerugionsa*. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; **50**: 2990-2995.
12. Van soolingen D, De Haas PEW, Hermans PWM, Van Embden JDA. DNA Fingerprinting of *Mycobacterium Tuberculosis*. *Methods Enzymol* 1994; **236**: 196-205.
13. Paramythiotou E, Lucet JC, Timsit JF. Acquisition of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in patients in intensive care units: role of antibiotics with antipseudomonal activity. *Clin Infect Dis* 2004; **38**: 670-677.
14. Marilee D, Obritsch M, Douglas N, MacLaren R, Jung R. National Surveillance of Antimicrobial Resistance in *Pseudomonas aeruginosa* Isolates Obtained from Intensive Care Unit Patients from 1993 to 2002. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; **48**: 4606-4610.
15. Flamm RK, Weaver MK, Thornsberry C, Jones ME., Karlowsky JA, Sahm DF. Factors associated with relative rates of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolates tested in clinical laboratories in the United States from 1999 to 2002. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; **48**: 2431-2436.
16. Nordmann P, Guibert M. Extended spectrum Beta-lactamases in *Pseudomonas aerugionsa*. *J Antimicrob Chemother* 1998; **42**: 128-131.
17. Chayakulkeeree M, Junsriwong P, Keerasuntonpong A, Tribuddharat C, Thamlikitkul V. Epidemiology of extended-spectrum beta-lactamase producing gram-negative bacilli at Siriraj Hospital, Thailand, 2003. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2005; **36**: 1503-1509.
18. Lee S, Park YJ, kim M, Lee HK, Han K. Prevalence of Ambler class A and D beta - lactamases among clinical isolates of *Pseudomonas aerugionsa* in Korea. *J Antimicrob Chemother* 2005; **56**: 122-127.

Archive of SID

www.SID.ir

19. Celenza G, Pellegrini C, Caccamo M. Spread of bla (CTX-M-type) and bla(PER-2) beta-lactamase genes in clinical isolates from Bolivian hospitals. *J Antimicrob Chemother* 2006; **57**: 975-978.
20. Strateva T, Ouzounova-Raykova V, Markova B, Todorova A, Marteva-Proevska Y, Mitov I. Problematic clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* from the university hospitals in Sofia, Bulgaria: current status of antimicrobial resistance and prevailing resistance mechanisms. *J Med Microbiol* 2007; **56**: 956-963.
21. Mirsalehian A. Broad-spectrum Of beta-lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* isolates in burn patient. *Journal of Tehran University of Medical Sciences* 2008; **66**(5): 333-337.
22. Weld Hagen GF, Poirel L, Norman P. Ambler class a extended spectrum Beta-lactamases in *Pseudomonas aeruginosa* novel developments and clinical impact. *Antimicrobial Agents Chemotherapy* 2003; **47**: 2385-2392.
23. Cao V, Lambert T, Nhu DQ. Distribution of extended-spectrum β-lactamases in clinical isolates of Enterobacteriaceae in Vietnam. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; **46**: 3739–3743.
24. Woodford N, Zhang J, Kaufmann ME, Yarde S, Tomas MM. Detection of *Pseudomonas aerugionsa* isolates producing VEB-type extended spectrum Beta- lactamases in the United Kingdom. *J Antimicrob Chemother* 2008; **62**: 1265-1268.
25. Shahcheraghi F, Nikbin S, Shorj F. Molecular studies of PER, VEB, TEM, SHV beta Lactamase· *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from wound specimens in two hospitals of Tehran. *Iranian Journal of Medical Microbiology* 2008; **1**(4): 21-27.
26. Mimoz O, Elhelali N, Leotaed S, Jacolot A, Laurent F, Nordmann P. Treatment of experimental Pneumonia in rats caused by a PER-1 extended spectrum Beta- lactamase producing strain of *Pseudomonas aerugionsa*. *J Antimicrob Chemother* 1999; **44**: 91-97.
27. Luzzaro F, Mantengoli E, Perill M, Lombardic G, Rosollini GM. Dynamics of a nosocomial outbreak of Multidrug resistant *Pseudomonas aerugionsa* producing the PER-1 extended spectrum Beta-lactamase. *J Clin Microbiol* 2001; **39**(5): 1865-1870.

Archive of SID

www.SID.ir