مجله دانشکده پزشکی اصفهان **مقاله پژوهشی**
سال بیست و نهم/شماره ۱۷۱/هفته سوم اسفند ماه ۱۳۹۰
تاریخ دریافت: ۹۰/۹/۱۱ **تاریخ پذیرش:** ۹۰/۱۱/۵

شناسایی خصوصیات مرفوتایپ پسودوموناس آئروژینوزاهای جدا شده از بیماران مبتلا به سیستیک فیبروزیس و تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها

دکتر حسین فاضلی[۱]، رضا اکبری[۲]، دکتر شراره مقیم[۱]، دکتر اسداله اسدیان[۳]، دکتر جمال فقیهی نیا[۴]، دکتر حسین صانعیان[۵]، تهمینه نریمانی[۶]

خلاصه

مقدمه: بیماری سیستیک فیبروزیس (Cystic fibrosis یا CF) از دسته‌ی بیماری‌های ژنتیکی اتوزومال است. بخش اعظم علایم بالینی این بیماری مربوط به فعالیت عوامل میکروبی فرصت طلب می‌باشد. پسودوموناس آئروژینوزا مهم‌ترین پاتوژن در بیماران مبتلا به CF است. این باکتری برای بقا و سازگار شدن با شرایط بدن بیمار به راحتی دچار موتاسیون ژنی می‌شود. هدف از انجام این مطالعه، بررسی مرفوتایپ کلنی و میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی در پسودوموناس آئروژینوزای جدا شده از بیماران مبتلا به CF بود.

روش‌ها: این مطالعه یک مطالعه‌ی مقطعی بود. در سال‌های ۸۷-۱۳۸۲ از ۵۹ بیمار مبتلا به CF، ۲۷ بیمار مبتلا به عفونت ادراری پسودوموناسی و ۱۲۳ نمونه از ۹۱ نفر از پرسنل (گلو، دست و روپوش) در بیمارستان الزهرای (س) اصفهان نمونه گرفته شد. ۱۱۳ نمونه نیز از محیط بیمارستان (دستگاه‌ها، راهروها، شیر آب، حمام، مایع دستشویی) جمع‌آوری گردید. پسودوموناس آئروژینوزاهای جدا شده از نمونه‌های فوق، بر اساس روش‌های استاندارد باکتری شناسی تشخیص داده شدند و از لحاظ مرفوتایپ کلنی و میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی بررسی گردیدند.

یافته‌ها: در مجموع ۵۹ بیمار مبتلا به CF در محدوده‌ی سنی ۲ تا ۲۴ ماه مورد بررسی قرار گرفتند. از این تعداد ۳۵ نفر مرد و ۲۴ نفر زن بودند. ۲۱ نفر از مبتلایان به CF (۳۵/۵ درصد) و ۲۵ نفر از مبتلایان به عفونت ادراری (۹۲/۵ درصد) به پسودوموناس آئروزینوزا آلوده بودند. ۱۱ ایزوله‌ی پسودوموناس آئروژینوزا از ۱۱۳ نمونه‌ی محیط بیمارستان و ۴ ایزوله از ۱۲۳ نمونه از پرسنل بیمارستان، جداسازی گردید. از ۲۱ ایزوله‌ی پسودوموناس آئروژینوزای جدا شده از بیماران مبتلا به CF ۹ ایزوله (۴۲/۹ درصد) شکل موکوییدی داشتند و میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها به جنتامایسین و آمیکاسین ۹/۵، سیپروفلوکساسین ۱۴/۲، پیپراسیلین ۱۹ و سفتازیدیم ۸۶ درصد بود. در بیماران مبتلا به عفونت ادراری، ۴ ایزوله (۱۶ درصد) شکل موکوییدی و ۲۱ ایزوله (۸۴ درصد) شکل غیر موکوییدی مشاهده شد. همچنین ۵۰ درصد ایزوله‌های پسودوموناس آئروژینوزای جدا شده از محیط بیمارستان و پرسنل بیمارستان شکل موکوییدی را نشان دادند. ۹۶ درصد ایزوله‌های جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری، ۹۱ درصد ایزوله‌های جدا شده از محیط بیمارستان و ۷۵ درصد ایزوله‌های جدا شده از پرسنل بیمارستان به سفتازیدیم مقاومت نشان دادند و کمترین مقاومت مربوط به آمیکاسین بود.

نتیجه‌گیری: اشکال موکوییدی پسودوموناس آئروژینوزا در مقایسه با ایزوله‌های جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری، محیط بیمارستان و پرسنل بیمارستان، بیشتر در بیماران مبتلا به CF دیده شد. بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی در هر چهار گروه مربوط به سفتازیدیم و بیشترین حساسیت آنتی‌بیوتیکی مربوط به آمیکاسین بود.

واژگان کلیدی: سیستیک فیبروزیس، پسودوموناس آئروژینوزا، PCR، ریبو تایپینگ

مقدمه

Fanconi اولین کسی بود که به مواردی از یک بیماری تحت عنوان سیستیک فیبروزیس (Cystic fibrosis یا CF) همراه با برونشکتازی اشاره کرد (۱) و پس از آن

[۱] استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
[۲] دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
[۳] استادیار گروه داخلی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
[۴] دانشیار، گروه اطفال، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
[۵] استادیار، گروه اطفال، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
[۶] کارشناس ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: تهمینه نریمانی
Email: narimani@med.mui.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir

بیماری CF توسط Andersen در بیمارستان اطفال نیویورک توصیف گردید (۳-۲). بعد از آن بیماری CF به عنوان یک ناهنجاری ژنتیکی مغلوب مطرح شد، اگر چه دلایل کافی برای این مدعا بیان نشده بود (۱).

در سال ۱۹۸۰ پیشرفت عمده در شناسایی بیماری CF صورت گرفت. دانشمندان متوجه شدند که بافت اپی‌تلیال افراد مبتلا به CF نسبت به یون کلراید نفوذپذیر نیست (۲). پس از آن بود که ژن اصلی بیماری CF توسط یک تیم تحقیقاتی به رهبری Collins، Lap-chee Tsui و Riordan شناسایی شد. این محققین ابراز داشتند که علت این بیماری حذف سه واحد نوکلئوتید روی بازوی بلند کروموزوم شماره‌ی ۷ است که منجر به حذف اسید آمینه‌ی فنیل آلانین شماره‌ی ۵۰۸ در ساختار پروتئین شده است. آن‌ها شناختی در مورد نوع پروتئین تحت تأثیر نداشتند، اما چون می‌دانستند پروتئین مورد نظر مربوط به کانال‌های یون کلراید است؛ از این‌رو این ژن را تنظیم کننده‌ی انتقال غشایی سیستیک فیبروزیس (Cystic fibrosis transmembrane regulator یا CFTR) نام‌گذاری کردند (۲-۱). همچنین حدود ۱ نفر از هر ۲۰ نفر از آمریکایی‌ها حامل یک ژن غیر معمول CF هستند و این تعداد (۱۲ میلیون نفر) از حامل بودن خود آگاهی ندارند. اگر دو فرد حامل ژن معیوب فرزندی را به دنیا بیاورند، احتمال ابتلای این کودک به CF ۱/۴ است. دو میلیون نفراز مردم انگلستان نیز حامل ژن معیوب CF می‌باشند که حدود ۱/۲۵ جمعیت را شامل می‌شود. میانگین زندگی مبتلایان به CF ۳۰ سال می‌باشد و امروزه با وجود اقدامات درمانی و نگهدارنده طول مدت زندگی این بیماران بیشتر نیز شده است (۴، ۱). در مورد میزان شیوع CF در ایران آمار دقیقی ارائه نشده است.

اتیولوژی بیماری نشان می‌دهد که ژن CFTR مرتبط با سیستیک فیبروزیس است و پروتئین تنظیم کننده‌ی انتقال غشایی سیستیک فیبروزیس را کد می‌کند. این ژن در سال ۱۹۸۹ شناسایی گردید و موقعیت آن در ۳۱/۲ بازوی بلند (q) کروموزوم شماره‌ی ۷ تشخیص داده شد. بیش از ۱۰۰۰ نوع جهش ژنی برای CFTR شناسایی کرده‌اند، اما حدود ۷۰ درصد بیماران CF، جهش در موقعیت فنیل آلانین ۵۰۸ (F 508) را نشان می‌دهند (۶-۵). این مقدار در ایران ۱۷/۸ درصد است (۷). در بیمارانی که حامل دو آلل معیوب هستند، جهش کامل ژنی اتفاق می‌افتد و فنیل آلانین به طور کامل از ساختمان پروتئین آن‌ها حذف می‌شود و این بیماران علایم بالینی شدیدی را نشان می‌دهند (سیستیک فیبروزیس کلاسیک). در بیماران حامل یک الل معیوب، حذف کامل ژنی صورت نمی‌گیرد و علایم بالینی در آن‌ها خفیف است (سیستیک فیبروزیس غیرکلاسیک). پروتئین CFTR یک کانال پروتئینی برای یون کلراید است که میزان فعالیت آن به وسیله‌ی cAMP تنظیم می‌شود. همچنین کانال یون کلراید نقش تنظیم کنندگی دیگر کانال‌های الکترولیتی را نیز انجام می‌دهد (۵).

آزمون عرق شایع‌ترین آزمون در تشخیص بیماران CF است. این آزمون میزان کلرید سدیم (نمک) عرق را اندازه‌گیری می‌کند. در بیماران CF میزان یون کلراید در عرق بیشتر از ۶۰ میلی‌مول در لیتر است (۸-۷). آزمون IRT (Immunoreactive trypsinogen test) در مورد نوزادان استفاده می‌شود. در این آزمون، ۲ الی ۳ روز بعد از تولد خون نوزاد گرفته می‌شود و از لحاظ پروتئین خاصی به نام تریپسینوژن (Trypsinogen) آنالیز می‌گردد. آزمون‌های دیگر در تشخیص CF شامل

www.SID.ir
Archive of SID

استفاده از اشعه‌ی X سینه، آزمون عملکرد ریه، کشت خلط (Phlegm) و آزمایشات مدفوعی، که می‌تواند در تشخیص اختلالات گوارشی کمک کننده باشد، هستند. آزمون‌های ژنتیکی شامل غربالگری حاملین و آنالیز مستقیم DNA می‌باشد. این آزمون‌ها تنها ۸۵–۸۰ درصد کارایی دارند و نمی‌توانند همه‌ی موارد جهش ژنی را که بیش از ۹۰۰ جهش می‌باشد، مشخص کنند (۱).

در بیماران CF به دلیل وجود ترشحات غلیظ در مجاری‌های هوا، عملکرد مژک‌ها مختل می‌شود و عوامل عفونی در مجاری های هوا به دام انداخته شده، کلونیزه می‌شوند و عفونت‌های سیستمیک در این بیماران نادر است (۶–۵). طیف ارگانیسم های عفونی همچون باکتری‌ها، ویروس‌ها و قارچ‌ها در بیماران CF محدود است. مهم‌ترین عوامل میکروبی در بیماران CF شامل استافیلوکوک آرئوس و هموفیلوس آنفلوانزا هستند که بیشتر در اوایل زندگی در بیمار کلونیزه می‌شوند. به دنبال آن‌ها باکتری‌هایی چون پسودوموناس آئروژینوزا، پسودوموناس سپاسیا، استنوتروفوموناس مالتوفیلیا، الکالیژنز گزایلواکسیدانس و میکوباکتریوم‌های غیر سلی که در سنین بلوغ و بالغین در بیماران CF کلونیزه می‌شوند و باکتری‌های ناشناخته‌ی دیگر (۹)، قارچ‌هایی چون آسپرژیلوس فومیگاتوس (۵) و کاندیدا (۶) از دیگر عوامل میکروبی و قارچی در بیماران CF می‌باشند. پسودوموناس آئروژینوزا مهم ترین پاتوژن بیماری‌زا در بیماران سیستیک فیبروزیس به شمار می‌رود. سویه‌هایی از پسودوموناس آئروژینوزا که الژینات موکوییدی تولید می‌کنند، به راحتی از بیماران CF ریشه کن نمی‌شوند (۶).

نتایج بررسی‌ها نشان می‌دهد رابطه‌ی نزدیکی بین سن بیماران CF و پسودوموناس آئروژینوزا وجود دارد. میزان موارد عفونت با پسودوموناس آئروژینوزا در بیماران CF در سنین بین ۱۰–۶ سال ۴۰ درصد، ۱۷–۱۰ سال ۶۰ درصد و ۳۴–۲۵ سال ۸۰ درصد است (۱۰)، ولی به طور کلی عنوان می‌شود که میزان گستردگی عفونت پسودوموناس آئروژینوزا در بین بیماران CF، بین ۸۵–۲۰ درصد می‌باشد که بالاترین شیوع مربوط به بالغین است (۹).

در ایران هنوز گزارش کاملی از میزان شیوع عفونت پسودوموناس آئروژینوزا در بین بیماران CF ارائه نشده است. تنها در یک مطالعه در دانشگاه شهید بهشتی تهران، میزان شیوع عفونت پسودوموناس آئروژینوزا در بین بیماران مبتلا به CF ۶۷/۴ درصد گزارش شد (۱۱).

پسودوموناس آئروژینوزا به طور ذاتی به انواع بی‌شماری از مواد آنتی‌باکتریال مقاوم است (۱۲). این مقاومت ناشی از لیپوپلی‌ساکاریدهای (LPS یا Lipopolysaccharide) غشای خارجی است که به عنوان یک سد محافظتی در برابر آنتی بیوتیک عمل می‌کند. پسودوموناس آئروژینوزا تمایل به کلونیزه شدن به شکل بیوفیلم جهت مقابله با غلظت های درمانی آنتی‌بیوتیک‌ها دارد؛ چرا که در زیستگاه طبیعی این باکتری در خاک، وجود انواع باسیل‌ها و آکتینومیست‌ها و کپک‌ها باعث مقاومت پسودوموناس آئروژینوزا به انواع آنتی بیوتیک های طبیعی حاصل از این ارگانیسم ها می‌گردد (۱۳). مطالعات وجود یک ارتباط نزدیک بین تشکیل بیوفیلم در پسودوموناس آئروژینوزا و بیان ژن‌های مقاومت را تأیید کرده‌اند (۱۴). پسودوموناس آئروژینوزا پلاسمیدهای مقاومت آنتی‌بیوتیکی، فاکتورهای R و RTFs را حفظ می‌کند و قادر است آن ها را با مکانیسم های انتقال ژنی ترانسداکشن و کونژوگاسیون ترانسفر نماید. تنها تعداد معدودی از

www.SID.ir
Archive of SID

آنتی‌بیوتیک‌ها علیه پسودوموناس مؤثرهستند که شامل فلوروکوئینولون، جنتامایسین و ایمی‌پنم می‌باشند. این آنتی‌بیوتیک‌ها هم علیه تمام سویه‌ها مؤثر نیستند. در این بیماران مقاومت دارویی نسبت به برخی از سویه‌ها بیشتر از آن است که بتوان با آنتی‌بیوتیک از پیشرفت عفونت جلوگیری کرد (۱۳).

همچنین لازم به ذکر است که پسودوموناس آئروژینوزاهای جدا شده در اوایل عفونت در بیماران CF، حساسیت بیشتری نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها دارند، ولی به واسطه‌ی درمان‌های مداوم آنتی‌بیوتیکی در این بیماران، مقاومت دارویی در سویه‌های پسودوموناس آئروژینوزا گسترش می‌یابد (۸). بنابراین هدف از این مطالعه، شناسایی خصوصیات مورفوتایپ کلنی پسودوموناس آئروژینوزاهای جدا شده از بیماران مبتلا به CF و تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی پسودوموناس آئروژینوزاهای جدا شده از این بیماران بود.

روش‌ها

این مطالعه یک مطالعه‌ی مقطعی بود که در گروه میکروب شناسی دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به اجرا در آمد.

تعداد بیماران مبتلا به سیستیک فیبروزیس ۱۱۴ نفر بودند که ۱۳ نفر از آن‌ها مرده بودند و ۴۲ بیمار حاضر به همکاری نشدند. مابقی تعداد ۵۹ نفر بیمار مبتلا به CF مربوط به سال‌های ۸۷-۱۳۸۲ بودند که به بیمارستان الزهرا (س) مراجعه کرده، زیر نظر پزشک متخصص شناسایی شده و تحت درمان بودند. از این تعداد ۳۵ نفر مرد و ۲۴ نفر زن و محدوده‌ی سنی از ۲ ماه تا ۲۴ سال داشتند. همچنین از ۲۷ نفر بیمار مبتلا به عفونت ادراری پسودوموناسی نمونه گرفته شد و تعداد ۱۱۳ نمونه نیز از محیط بیمارستان (دستگاه‌ها، راهروها، شیر آب، حمام و مایع دستشویی) و ۱۲۳ نمونه از ۹۱ نفر از پرسنل بیمارستان (گلو، دست و روپوش) گرفته شد.

دوره‌های نمونه‌گیری با هماهنگی‌های صورت گرفته از سوی پزشک متخصص با بیماران، در زمان‌های معین انجام گرفت. بیمارانی که توانایی خلط دادن داشتند، قبل از نمونه‌گیری فضای داخلی دهان را با آب شستشو دادند و سپس نمونه‌ی خلط در ظروف استریل مخصوص نمونه‌گیری جمع‌آوری شد. در بیمارانی که توانایی خلط دادن نداشتند، جهت نمونه‌گیری دو نمونه سواپ مرطوب استفاده شد. برای این منظور ابتدا سواپ استریل با آب مقطر استریل آغشته گردید و توسط پزشک متخصص، نمونه‌ی سواپ از انتهای گلوی بیمار گرفته و به طور مستقیم در محیط مکانکی اگار کشت داده شد. همزمان نمونه‌ی سواپ دیگری از بیمار گرفته شد و داخل لوله‌ی حاوی محیط TSB (Trypticase Soy Broth) قرار گرفت. لازم به ذکراست، قبل از نمونه‌گیری تکمیل پرسش‌نامه نیز انجام گرفت.از پرسنل بیمارستان نمونه به وسیله سواپ از گلو، دست و روپوش گرفته شد. در مورد محیط بیمارستان نمونه‌ی سواپ از تجهیزات، وسایل و قسمت‌های مختلف بخش‌ها گرفته شد و در بیماران مبتلا به عفونت‌های ادراری ناشی از پسودوموناسآائروژینوزا، نمونه‌ی ادرار به طور مستقیم در محیط‌های مکانکی اگار و TSB کشت داده شد.

نمونه‌ی کشت داده شده در محیط مکانکی اگار و نمونه‌ی سواپ داخل محیط TSB پس از ثبت مشخصات بیمار و تاریخ به سرعت به آزمایشگاه گروه

Archive of SID

www.SID.ir

میکروب شناسی منتقل گردید و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوباتور قرار گرفت.

باکتری پسودوموناس آئروژینوزا یک کوکوباسیل گرم منفی و لاکتوز منفی می‌باشد و در محیط مکانکی اگار، کلنی‌های متوسط بی‌رنگ و متمایل به قهوه‌ای ایجاد می‌کند (۱۵). برخی سویه های بالینی این باکتری، در محیط مکانکی اگار و همچنین در محیط های دیگر، کلنی‌های موکوییدی نیز ایجاد می‌کنند. از میان کلنی‌های رشد کرده در محیط مکانکی اگار، کلنی‌های مشکوک به پسودوموناس آئروژینوزا [کلنی‌های لاکتوز منفی و مشابه با کلنی‌های سوش استاندارد در محیط مکانکی اگار و کوکوباسیل (تأیید با رنگ‌آمیزی گرم)]، انتخاب و جهت تشخیص به محیط‌های کشت OF، TSI، ستریمید اگار، پسودوموناس اگار P و بلاد اگار ساب کالچر گردیدند. در صورت عدم رشد نمونه‌ی بیمار در محیط مکانکی اگار، نمونه‌ی گرفته شده داخل محیط TSB از همان بیمار ابتدا به محیط مکانکی اگار ساب کالچر گشت و پس از انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت، کلنی‌های با ویژگی‌های ذکر شده در مورد پسودوموناس آئروژینوزا، انتخاب و طبق دستور گفته شده جهت تشخیص به محیط‌های OF، TSI، ستریمید اگار، پسودوموناس اگار P و بلاد اگار ساب کالچر گردید (محیط TSB یک محیط غنی شده است و با افزایش غلظت باکتری، احتمال جداسازی بعدی ارگانیسم را در محیط مکانکی اگار افزایش می‌دهد). نمونه‌ی خلط نیز به طور مستقیم در محیط مکانکی اگار کشت داده شد و ادامه‌ی کار مشابه با نمونه‌ی سواپ بود که توضیح داده شد.

پسودوموناس آئروژینوزا در محیط بلاد اگار، کلنی‌های خاکستری متمایل به آبی، پیوسته و با همولیز B تولید می‌کند که بوی آروماتیک ویژه‌ای (بوی شبیه میوه) دارد. برخی از سویه‌های بالینی ضمن این ویژگی‌ها، اشکال موکوییدی تیپیک تولید می‌کنند (۱۵). با توجه به این که پسودوموناس آئروژینوزا قدرت تخمیر بی‌هوازی را ندارد، بنابراین در عمق محیط TSI تغییر رنگ اسیدی (زرد) مشاهده نشد و رنگ قلیایی (قرمز) پایدار می‌ماند و باکتری پسودوموناس آئروژینوزا در سطح شیب‌دار محیط به صورت کلنی‌های پیوسته، متمایل به سبز- آبی با بوی آروماتیک رشد می‌کند و در سطح محیط نیز تغییر رنگی مشاهده نمی‌شود. نتیجه‌ی رشد پسودوموناس آئروژینوزا در محیط TSI به صورت K/NG که مشخص کننده قلیا و غیر تخمیر کننده گلوکز می‌باشد، گزارش می‌گردد (۱۵). پسودوموناس آئروژینوزا یک باکتری با متابولیسم اکسیداتیو است که در محیط بی هوازی توانایی تخمیر هیچ قندی را ندارد؛ بنابراین با کشت پسودوموناس آئروژینوزا در محیط OF در حالت بی‌هوازی (لوله‌ی محیط حاوی پارافین مایع)، تغییر رنگ ناشی از تخمیر اسیدی مشاهده نمی‌شود، ولی در حالت هوازی (لوله‌ی محیط OF بدون پارافین مایع)، به واسطه‌ی مصرف شدن گلوکز با متابولیسم هوازی، رنگ محیط زرد خواهد شد (۱۵). محیط پسودوموناس اگار P با دارا بودن یون‌های منیزیم، پتاسیم و سولفات باعث تحریک تولید رنگدانه‌ی پیوسیانین در پسودوموناس آئروژینوزا خواهد شد و یک محیط انتخابی برای شناسایی پسودوموناس آئروژینوزا است. با تولید رنگدانه‌ی پیوسیانین در این محیط، تمام محیط به رنگ سبز فیروزه‌ای تبدیل خواهد شد (۱۶). محیط ستریمید اگار، محیط انتخابی برای جداسازی پسودوموناس آئروژینوزا می‌باشد و تولید رنگدانه‌ی پیوسیانین و فلورسئین را تقویت می‌کند. این

Archive of SID

www.SID.ir

محیط به دلیل دارا بودن ترکیبات آمونیوم چهار ظرفیتی با نام استریمتیک آمونیوم بروماید (Cetrimethyl–Ammonium Bromide)، رشد سایر ارگانیسم‌ها غیر از پسودوموناس آئروژینوزا در آن مهار می‌شود (۱۷). با تولید پیوسیانین در این محیط، رنگ محیط سبز فیروزه‌ای می‌شود. این محیط در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار می‌گیرد (۱۷). همزمان با کشت کلنی‌های مشکوک به پسودوموناس ائروژینوزا در محیط‌های تشخیصی، تست اکسیداز نیز در مورد آن‌ها انجام گرفت. برای انجام تست، یک قطره آب مقطر روی لام گذاشته، سپس یک دیسک اکسیداز روی قطره‌ی آب قرار داده شد. سپس با کمک پیپت پاستور استریل مقداری از کلنی‌های مشکوک بر روی دیسک گذاشته شد. تغییر رنگ کلنی از بی‌رنگ به ارغوانی نشانه‌ی مثبت بودن تست بود.

حساسیت ایزوله‌های پسودوموناس آئروژینوزا نسبت به سفتازیدیم، سیپروفلوکساسین، جنتامایسین، امیکاسین و پیپراسیلین بررسی گردید. در این تست از دیسک‌های آنتی‌بیوگرام پادتن طب و هایمدیا استفاده گردید. برای انجام این آزمایش از روش Kirby-Bauer disk diffusion استفاده شد (۱۹–۱۸). طبق دستور روش Kirby-Bauer برای انجام آزمایش به استاندارد ۰/۵ McFarland و سوسپانسیون نیاز داریم. برای تهیه‌ی سوسپانسیون میکروبی، به کمک لوپ از قله‌ی چند کلنی باکتری برداشت شد و داخل یک لوله‌ی سرم فیزیولوژی حل گردید تا کدورتی به اندازه‌ی استاندارد ۰/۵ McFarland ایجاد شود. محیط استفاده شده برای آنتی‌یوگرام مولرهینتون (هایمدیا) بود که pH آن بین ۷/۴–۷/۲ و قطر محیط حدود ۴ میلی‌متر تنظیم گردید. برای انجام آنتی‌بیوگرام از یک سواپ استریل استفاده شد. سواپ بعد از وارد شدن در سوسپانسیون میکروبی و فشار دادن آن به کنار لوله به منظور خروج سوسپانسیون اضافی، از لوله خارج شد. سپس در تمام سطح پلیت ۳ بار در حالت زاویه ی ۶۰ درجه نسبت به هم مالیده شد و در آخر سواپ دور قسمت داخلی پلیت چرخانده گردید تا به خوبی تمام سطح محیط با سوسپانسیون پوشانده شود. ۱۰ دقیقه بعد از کشت، دیسک‌های آنتی‌بیوتیک توسط یک پنس استریل با فواصل مشخص به نحوی که هاله‌ها با هم تداخل نکنند، بر روی محیط کشت قرار داده و با یک فشار مختصر در سطح اگار ثابت شدند. سپس پلیت‌ها در حرارت ۳۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۶ ساعت قرار داده شدند. پس از آن با استفاده از خط کش دقیق قطر هاله‌ی عدم رشد بر حسب میلی‌متر اندازه گرفته شد و با استفاده از جدول NCCLS میزان حساسیت باکتری نسبت به آنتی‌بیوتیک به صورت حساس، نیمه حساس و مقاوم گزارش گردید.

به منظور حفظ و نگهداری باکتری پسودوموناس آئروژینوزا جهت مطالعات بعدی، کلنی‌های اضافی باکتری در محیط اختصاصی (پسودوموناس آئروژینوزا P و ستریمید اگار) به محیط کشت TSB حاوی ۲۰ درصد گلیسرول منتقل گردید و در فریزر ۷۰– درجه‌ی سانتی‌گراد قرار گرفت. گلیسرول به عنوان منبع کربن باعث حفاظت باکتری در شرایط سرما می‌شود.

یافته‌ها

از ۲۱ ایزوله‌ی پسودوموناس آئروژینوزای جدا شده از بیماران مبتلا به CF، ۹ ایزوله (۴۲/۹ درصد) فرم موکوییدی را نشان دادند. میانگین سنی بیماران میزبان در این گروه ۹/۴ سال بود. ۱۲ ایزوله (۵۷/۱ درصد)

www.SID.ir
Archive of SID

فرم غیر موکوییدی را نشان دادند و میانگین سنی بیماران میزبان در این گروه ۴/۳ سال بود.

۸۶ درصد ایزوله‌های جدا شده از بیماران CF به سفتازیدیم مقاومت نشان دادند، اما فقط ۹/۵ درصد ایزوله‌ها به آمیکاسین و جنتامایسین مقاوم بودند. همچنین ۱۴/۲ درصد ایزوله‌ها به سیپروفلوکساسین و ۱۹ درصد ایزوله‌ها به پیپراسیلین مقاومت نشان دادند. تفاوت معنی داری بین مقاومت نسبت به سفتازیدیم و مقاومت نسبت به بقیه‌ی آنتی بیوتیک‌ها، آمیکاسین، جنتامایسین، سیپروفلوکساسین و پیپراسیلین وجود داشت. ۵۲/۳ درصد ایزوله‌ها حداقل به یکی از چهار آنتی‌بیوتیک آمیکاسین، جنتامایسین، سیپروفلوکساسین و پیپراسیلین مقاومت نشان دادند (جدول ۱ و نمودار ۱).

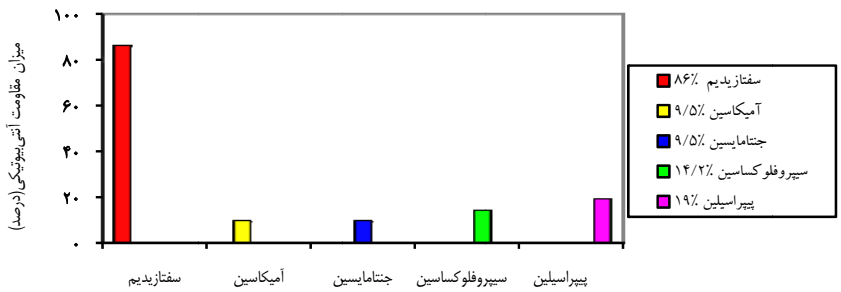
از ۲۵ ایزوله‌ی پسودوموناس آئروژینوزای جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری، ۴ ایزوله (۱۶ درصد) فرم موکوییدی و ۲۱ ایزوله (۸۴ درصد) فرم غیر موکوییدی را نشان دادند. به علاوه ۴ ایزوله (۳۶ درصد) پسودوموناس آئروژینوزای جدا شده از محیط بیمارستان، ۲ ایزوله (۵۰ درصد) پسودوموناس آئروژینوزای جدا شده از پرسنل بیمارستان فرم موکوییدی را نشان دادند.

۹۶ درصد ایزوله های جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری، ۹۱ درصد ایزوله‌های جدا شده از محیط بیمارستان و ۷۵ درصد ایزوله های جدا شده از پرسنل بیمارستان به سفتازیدیم مقاومت نشان دادند و کمترین مقاومت مربوط به آمیکاسین بود. در ایزوله های جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری، محیط بیمارستان و پرسنل بیمارستان نیز مشابه با بیماران مبتلا به CF، تفاوت معنی‌داری بین مقاومت نسبت به سفتازیدیم و مقاومت نسبت به بقیه آنتی‌بیوتیک‌ها، آمیکاسین، جنتامایسین، سیپروفلوکساسین و پیپراسیلین دیده شد (نمودار ۲).

جدول ۱. نتایج آنتی‌بیوگرام پسودوموناس آئروژینوزای جدا شده از بیماران CF (Cystic fibrosis)

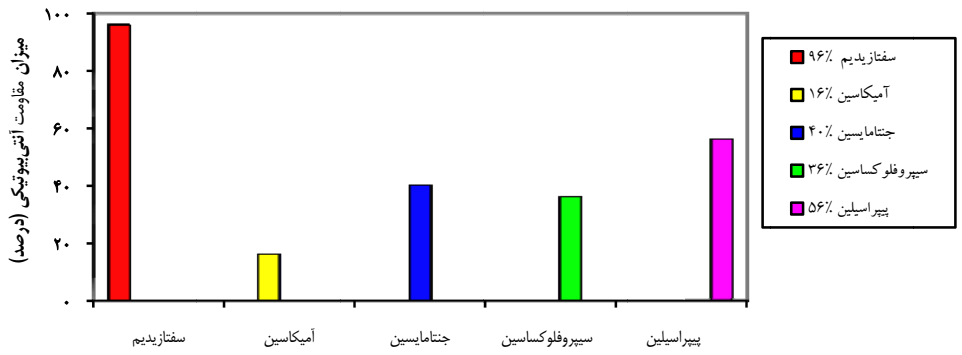
شماره‌ی بیمار	۲۱	۲۰	۱۹	۱۸	۱۷	۱۶	۱۵	۱۴	۱۳	۱۲	۱۱	۱۰	۹	۸	۷	۶	۵	۴	۳	۲	۱
آنتی‌بیوتیک																					
آمیکاسین	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
جنتامایسین	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
سیپروفلوکساسین	S	S	S	S	S	R	S	R	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S
پیپراسیلین	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	R	S	S
سفتازیدیم	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S	R	R	R

S: Sensitive R: Resistant



نمودار ۱. توزیع درصد مقاومت آنتی‌بیوتیکی پسودوموناس آئروژینوزاهای جدا شده از بیماران مبتلا به CF (Cystic fibrosis)

Archive of SID
www.SID.ir



نمودار ۲. توزیع درصد مقاومت آنتی‌بیوتیکی پسودوموناس آئروژینوزاهای جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری

بحث

بیماری CF شایع‌ترین بیماری ژنتیکی مغلوب کشنده است که موجب رنج و ناراحتی جمعیت‌ها (سفید پوست) می‌شود. اغلب در این بیماران به دنبال کلونیزاسیون و عفونت پاتوژن‌های باکتریایی، تخریب ریه و سرانجام در پی نارسایی سیستم تنفسی مرگ اتفاق می‌افتد (۲۰). میزان شیوع این بیماری در سال ۲۰۰۴ در بریتانیا ۱/۳۷ در ۱۰ هزار نفر بوده است (۲۱). این بیماران به دلیل وضعیت ضعیف سیستم ایمنی، همیشه در معرض تهاجم پاتوژن‌های فرصت طلب قرار دارند. باکتری‌هایی چون پسودوموناس آئروژینوزا و گونه‌های نزدیک به آن به ویژه بورخوردریا سپاسیا، استافیلوکوک آرئوس، هموفیلوس آنفلوانزا، اشرشیا کلی، آنتروباکتر، کلبسیلا و سیتروباکتر پاتوژن‌هایی هستند که در این بیماران ایجاد بیماری می‌کنند (۹). در میان عوامل میکروبی، پسودوموناس آئروژینوزا شایع‌ترین پاتوژن در رابطه با بیماران CF به شمار می‌رود (۹). میزان شیوع پسودوموناس آئروژینوزا در گروه‌های سنی مختلف بیماران CF، متفاوت گزارش شده است (۱۰)؛ ولی آن چه مهم است، این است که میزان شیوع این باکتری در بالغین مبتلا به CF بیشتر از کودکان دیده می‌شود. به عبارتی با افزایش سن در بیمار CF، شیوع پسودوموناس آئروژینوزا نیز بیشتر می‌شود (۲۱، ۹). Hart و Winstanley (۹)، گروه کنترل عفونت در بیماران مبتلا به CF انگلستان (۱۰) و Oliveira و همکاران (۲۲) میزان شیوع پسودوموناس ائروژینوزا را ۸۰–۲۰ درصد عنوان کرده‌اند. میزان شیوع در بالغین نیز ۸۰ درصد بوده است.

مطالعه‌ی ما نشان داد که از ۵۹ بیمار مبتلا به CF، ۲۱ مورد آلوده به پسودوموناس آئروژینوزا بودند. به عبارتی، ۳۵/۵ درصد بیماران CF مورد بررسی در اصفهان، پسودوموناس آئروژینوزا مثبت بودند. اما نکته‌ی قابل تأمل، ارتباط بسیار نزدیک این درصد با میانگین سنی افراد مورد مطالعه است. میانگین سنی افراد مبتلا به CF و آلوده به پسودوموناس آئروژینوزا، ۶/۲ سال بود. فاصله‌ی معنی‌دار شیوع پسودوموناس آئروژینوزا در افراد مبتلا به CF در مطالعه‌ی ما (۳۵ درصد) با نتایج آن در بالغین در مطالعه‌ی Hart و Winstanley (۸۰ درصد) (۹) ممکن است مربوط به میانگین سنی پایین افراد مورد مطالعه‌ی ما باشد. میزان پسودوموناس آئروژینوزای جدا شده با فرم موکوییدی ۴۲/۹ درصد بود. موکوییدیتی یکی از مکانیسم‌های

www.SID.ir
Archive of SID

سازشی پسودوموناس آئروژینوزا برای بقا در محیط است که به تولید یک شبکه‌ی پلی‌ساکاریدی با نام آلژینات مربوط می‌شود. سن متوسط افرادی که به فرم موکوییدی پسودوموناس آئروژینوزا مبتلا می‌شوند، ۱۳ سال و سن متوسط افراد برای ابتلا به انواع غیرموکوییدی ۱ سال است (۲۳). بنابراین گسترش فرم موکوییدی پسودوموناس آئروژینوزا، در افراد بزرگ‌سال مبتلا به CF، منجر به تبدیل شدن این بیماران به یک مخزن خواهد شد.

در گزارش ما سن متوسط افرادی که آلوده به شکل موکوییدی پسودوموناس آئروژینوزا بودند، ۹/۴ سال و در مورد شکل غیرموکوییدی ۴/۳ سال بود که با مطالعه‌ی Arroyo و همکاران (۲۴)و Agarwal و همکاران (۲۵) مطابقت می‌کند. ثابت شده است که سویه‌هایی از پسودوموناس آئروژینوزا که به تازگی بیماران مبتلا به CF را آلوده کرده‌اند، از لحاظ بسیاری از ویژگی‌ها مشابه سویه‌های محیطی پسودوموناس آئروزینوزا هستند. سویه های محیطی اغلب غیرموکوییدی، سریع رشد و حساس به آنتی‌بیوتیک هستند. پسودوموناس آئروژینوزا در ریه‌ی افراد CF بر اثر شرایط انتخابی حاکم در ریه، دچار تغییرات ژنتیکی و فنوتیپی شده، از سویه‌های محیطی متمایز خواهند شد (۲۶). آن چه از نتایج مطالعه‌ی ما و مطالعات Fegan و همکاران (۲۷)، Arroyo و همکاران (۲۴) به دست آمد، این بود که ایزوله‌های جدا شده از کودکان در مقایسه با ایزوله‌های جدا شده از بالغین، به دلیل مدت کلونیزاسیون کمتری که در میزبان سپری کرده‌اند، بیشتر شبیه سویه‌های محیطی هستند. برای اثبات این نکته، نتایج نشان داد که ۱۶ درصد از ایزوله‌های جدا شده از نمونه‌های ادراری و ۳۶ درصد ایزوله‌های جدا شده از محیط بیمارستان و ۵۰ درصد از ایزوله‌های جدا شده از پرسنل بیمارستان شکل موکوییدی داشتند که در مقایسه با ایزوله های جدا شده از بیماران مبتلا به CF، تعداد موارد موکوییدی در نمونه‌های محیطی کمتر است.

نتایج در مورد میزان مقاومت دارویی نشان می‌دهد که ۸۶ درصد ایزوله‌های جدا شده از بیماران CF، به سفتازیدیم مقاومت نشان دادند؛ اما فقط ۹/۵ درصد از ایزوله‌ها به آمیکاسین و جنتامایسین مقاوم بودند. در مورد تأثیر آنتی‌بیوتیک‌ها نتایج مختلفی ارائه شده است (۱). برآیند تمام این گزارش‌ها حاکی از آن است که ایزوله‌های جدا شده از کودکان یا به عبارت دیگر، سویه هایی که دوره ی کلونیزاسیون کوتاه‌تری در میزبان داشته‌اند، حساسیت بیشتری نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها دارند؛ ولی با افزایش سن بیمار و طولانی شدن دوره ی درمان، ظهور سویه‌های مقاوم پسودوموناس آئروژینوزا در مبتلایان به CF اتفاق می‌افتد. اما اختلاف معنی‌داری که گزارش ما با نتایج O'Carroll و همکاران (۲۸) و Leone و همکاران (۲۹) داشت، این بود که با توجه به پایین بودن میانگین سن افراد مورد بررسی در مطالعه‌ی ما، انتظار حساس بودن اکثریت ایزوله‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی را داشتیم، ولی مقاومت ۸۶ درصد ایزوله‌ها نسبت به سفتازیدیم دور از انتظار بود. علت این مقاومت ممکن است ناشی از تجویز و مصرف بیش از اندازه‌ی این دارو در بین بیماران مبتلا به CF باشد یا احتمال دارد آلودگی این افراد (بیماران مبتلا به CF) با سویه های مقاوم به سفتازیدیم منتشر در محیط، به ویژه در بیمارستان و در بین بالغین CF که بیشتر حامل سویه‌های مقاوم می‌باشند، صورت گرفته باشد. حتی ممکن است آلودگی با سویه‌های مقاوم به

www.SID.ir
Archive of SID

سفتازیدیم پسودوموناس آئروژینوزا که منشأ عفونت‌های دیگر در بیمارستان هستند، اتفاق افتاده باشد. نتایج میزان مقاومت دارویی در ایزوله‌های جدا شده از نمونه‌های ادراری، محیط بیمارستان و پرسنل بیمارستان نشان داد که مانند ایزوله‌های جدا شده از بیماران CF، بالاترین مقاومت دارویی با اختلاف معنی‌داری مربوط به سفتازیدیم و کمترین مقاومت مربوط به آمیکاسین بود. شاید نتیجه‌ی این شباهت آنتی‌بیوگرام بدان معنی باشد که افراد مبتلا به CF به خصوص بالغین که همواره در معرض آنتی‌بیوتیک‌ها قرار دارند، یکی از انواع بیمارانی باشند که در ایجاد سویه‌های مقاوم پسودوموناس آئروژینوزا و گسترش آن‌ها در محیط بیمارستان و اطراف، بر گسترش آلودگی‌های سخت درمان یا درمان‌ناپذیر کمک می‌کنند.

نتیجه‌گیری

ممکن است اشکال موکوییدی پسودوموناس آئروژینوزا در محیط بیمارستان، پرسنل بیمارستان و عفونت‌های ادراری دیده شود، اما بیماران CF از مهم‌ترین مخازن اشکال موکوییدی پسودوموناس آئروژینوزا می‌باشند. پسودوموناس آئروژینوزاهای مؤثر در بیماران مبتلا به CF همواره در معرض مقاومت دارویی قرار دارند. سرچشمه‌ی این مقاومت دارویی ممکن است خود بیماران CF که به طور مداوم تجویز آنتی‌بیوتیک در مورد آن‌ها اعمال می‌شود یا بیماران دیگری چون مبتلایان به عفونت‌های ادراری که پسودوموناس آئروژینوزا یکی از مهم‌ترین علت آن‌ها است و در معرض مداوم آنتی‌بیوتیک قرار دارند، باشند. مهم‌تر این که عوامل حامل چون پرسنل بیمارستان و تجهیزات بیمارستانی مورد استفاده برای بیماران در انتشار این سویه‌های مقاوم نقش مهمی دارند که نتایج مطالعه‌ی ما به خوبی گویای این مطلب است.

پیشنهاد می‌شود در بیماران مبتلا به CF قبل از تجویز هر گونه آنتی‌بیوتیک، تشخیص دقیق میکروبی انجام گیرد، به ویژه در مورد پسودوموناس آئروژینوزا، روش PCR در آزمایشگاهای بالینی مد نظر قرار گیرد. توصیه می‌شود بیماران مبتلا به CF به دلیل این که ممکن است حامل سویه‌های مقاوم پسودوموناس آئروژینوزا باشند، در بخش‌های جداگانه‌ای بستری شوند و سایر افراد در تماس با این بیماران به ویژه پرسنل بخش ها که در تماس با بیماران مختلف هستند، در برخورد با این بیماران نکات ایمنی را مد نظر قرار دهند؛ چرا که این افراد ممکن است بین بیماران مختلف نقش حامل را داشته باشند.

Archive of SID

References

1. Oak Ridge National Laboratory. Cystic Fibrosis Disease Profile [Online] 2002. [cited 2002 Nov 27]; Available from: URL: http://www.ornl.gov/sci/techresources/Human_Genome/posters/chromosome/cf.shtml.
2. Grossman S, Grossman LC. Pathophysiology of cystic fibrosis: implications for critical care nurses. Crit Care Nurse 2005; 25(4): 46-51.
3. Cystic Fibrosis Trust. History of Cystic Fibrosis [Online] 2011. Available from: URL: http://www.cftrust.org.uk/aboutcf/whatiscf/cfhistory.
4. Cystic Fibrosis Trust. What is Cystic Fibrosis? [Online] 2011. Available from: URL: http://www.cftrust.org.uk/aboutcf/whatiscf/.
5. Grossman S, Grossman LC. Pathophysiology of cystic fibrosis: implications for critical care nurses. Crit Care Nurse 2005; 25(4): 46-51.
6. Govan JR, Deretic V. Microbial pathogenesis in cystic fibrosis: mucoid Pseudomonas aeruginosa and Burkholderia cepacia. Microbiol Rev 1996; 60(3): 539-74.
7. Alibakhshi R, Zamani M. Mutation analysis of CFTR gene in 70 Iranian cystic fibrosis patients. Iran J Allergy Asthma Immunol 2006; 5(1): 3-8.
8. Lechtzin N, John M, Irizarry R, Merlo C, Diette GB, Boyle MP. Outcomes of adults with cystic

www.SID.ir

fibrosis infected with antibiotic-resistant Pseudomonas aeruginosa. Respiration 2006; 73(1): 27-33.
9. Hart CA, Winstanley C. Persistent and aggressive bacteria in the lungs of cystic fibrosis children. Br Med Bull 2002; 61: 81-96.
10. UK Cystic Fibrosis Trust Infection Control Group. Pseudomonas Aeruginosa Infection in People with Cystic Fibrosis. 2nd ed. Bromley: UK CF Trust; 2004. p. 1-21.
11. Eftekhar F, Hosseinkhan N, Asgharzadeh A, Tabatabaii A. Genetic profiling of Pseudomonas aeruginosa isolates from Iranian patients with cystic fibrosis using RAPD-PCR. Iran J Basic Med Sci 2009; 12 (3-4): 126-32.
12. Kobayashi H, Kobayashi O, Kawai S. Pathogenesis and clinical manifestations of chronic colonization by Pseudomonas aeruginosa and its biofilms in the airway tract. J Infect Chemother 2009; 15(3): 125-42.
13. T.J Clark and Company. Pseudomonas aeruginosa [Online] 2011. Available from: URL: http://www.tjclarkinc.com/bacterial_diseases/pseudomonas_aeruginosa.htm
14. Currie AJ, Speert DP, Davidson DJ. Pseudomonas aeruginosa: Role in the pathogenesis of the CF lung lesion. Semin Respir Crit Care Med. 2003;24(6) [Online]. Available from: URL: http://www.medscape.com/viewarticle/468194.
15. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. 12th ed. New York: Mosby; 2007. p. 216-50.
16. Becton Dickinson and Company. Pseudomonas Agars Pseudomonas Agar F • Flo Agar Pseudomonas Agar P • Tech Agar [Online] 2011. Available from: URL: http://www.bd.com/europe/regulatory/Assets/IFU/Difco_BBL/244820.pdf.
17. Sigma-Aldrich Chemie GmbH · Industriestrasse. 70887 Cetrimide Agar (Pseudomonas Selectice Agar Base) [Onlin] 2011.Available from: URL: http://www.sigmaaldrich.com/etc/medialib/docs/Fluka/Datasheet/70887dat.Par.0001.File.tmp/70887dat.pdf.
18. Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am J Clin Pathol 1966; 45(4): 493-6.
Clinical and Laboratory Standard Institue. Performance Standards For Antimicrobial Disk Susceptibility Tests [Online]. Available from: URL: http://www.clsi.org/source/orders/free/m02-a10.pdf.
19. Bidet P, Lalande V, Salauze B, Burghoffer B, Avesani V, Delmee M, et al. Comparison of PCR-ribotyping, arbitrarily primed PCR, and pulsed-field gel electrophoresis for typing Clostridium difficile. J Clin Microbiol 2000; 38(7): 2484-7.
20. Lopes AC, Rodrigues JF, Clementino MB, Miranda CA, Nascimento AP, de Morais Junior MA. Application of PCR ribotyping and tDNA-PCR for Klebsiella pneumoniae identification. Mem Inst Oswaldo Cruz 2007; 102(7): 827-32.
21. Oliveira FA, Frazzon APG, Brandelli A, Tondo EC. Use of PCR-ribotyping, RAPD, and antimicrobial resistance for typing of Salmonella enteritidis involved in food-borne outbreaks in Southern Brazil. J Infect Developing Countries 2007; 1(2): 170-6.
22. Li Z, Kosorok MR, Farrell PM, Laxova A, West SE, Green CG, et al. Longitudinal development of mucoid Pseudomonas aeruginosa infection and lung disease progression in children with cystic fibrosis. JAMA 2005; 293(5): 581-8.
23. Arroyo LG, Kruth SA, Willey BM, Staempfli HR, Low DE, Weese JS. PCR ribotyping of Clostridium difficile isolates originating from human and animal sources. J Med Microbiol 2005; 54(Pt 2): 163-6.
24. Agarwal G, Kapil A, Kabara SK, Das BK, Dwivedi SN. Characterization of Pseudomonas aeruginosa isolated from chronically infected children with cyctic fibrosis in India. BMC Microbial 2005; 5: 43.
25. **UC** Davis: Department of Microbiology. DNA Polyacrylamide Gel Electrophoresis [Online] 2011. Available from: URL: http://microbiology.ucdavis.edu/heyer/protocols/DNA%20PAGE.pdf.
26. Fegan M, Francis P, Hayward AC, Davis GH, Fuerst JA. Phenotypic conversion of Pseudomonas aeruginosa in cystic fibrosis. J Clin Microbiol 1990; 28(6): 1143-6.
27. O'Carroll MR, Syrmis MW, Wainwright CE, Greer RM, Mitchell P, Coulter C, Sloots TP, Nissen MD, Bell SC. Clonal strains of Pseudomonas aeruginosa in paediatric and adult cystic fibrosis units.Eur Respir J 2004; 24(1): 101-6.
28. Leone I, Chirillo MG, Raso T, Zucca M, Savoia D. Phenotypic and genotypic characterization of Pseudomonas aeruginosa from cystic fibrosis patients. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2008; 27(11): 1093-9.

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Isfahan Medical School Original Article

Vol 29. No 171. 3rd week. March 2012 Received: 2.12.2011 Accepted: 4.2.2012

Detection of Morphotyping Characteristics Identification Antibiotic Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from Patients with Cystic Fibrosis

Hossein Fazeli PhD[1], Reza Akbari[2], Sharaeh Moghim PhD[1], Asadollah Asadian MD[3], Jamal Faghihinia MD[4], Hossein Saneeyan MD[5], Tahmineh Narimani MSc[6]

Abstract

Background: Cystic fibrosis (CF) is an autosomal recessive disorder due to genetic defect resulting cilliary function impairment. So that these patients are inclined to recurrent infection with opportunistic microorganism such as *Pseudomonas aeruginosa*. This organism is most important pathogen in cystic fibrosis (CF) which intend to colonize and form biofilm to confront immunsystem and therapeutic dosage of antimicrobial drug. These bacteria can mutate to survive and adapted to new to new condition. Colony morphotyping and antimicrobial drug resistant detecting in *Pseudomonas aeruginosa* can help treat of CF patient and prevent patient form being resource of resistant strain bacteria. The aim of this assay is detection of colony morphotype, antimicrobial resistant in *Pseudomonas aeruginosa* isolated form CF and urinary tract infection (UTI) patient, hospital personnel and environment.

Methods: It is a cross sectional study. Samples wet were taken with swab in 59 CF patients (between 82-87 years), 27 UTI patient, 113 sample from hospital environment, 123 sample from 91 personnel (throat, hand, lab uniform) in Alzahra Hospital, Isfahan, Iran. Isolated *Pseudomonas aeruginosa* form these samples were identified bacteriologic standard method. The isolates were investigated for morphotyping and antimicrobial drug resistance.

Findings: 21 cases form 59 patients (35.5%), 25 cases 27 UTI patient (92.5%) were infected with *Pseudomonas aeruginosa*. *Pseudomonas aeruginosa* were isolated from 11 of 113 sample taken from hospital environment and 4 of the (123 sample) were taken 91 hospital personnel. From 21 *Pseudomonas aeruginosa* isolated from CF patient (35 male, 24 female and the ages between 2 month to 24 years), 9 isolates had mucoid form (42%) and the rate antibiotic resistance to Gentamicin, Amikacin, ciprofloxacin, piperacillin and ceftazidime were 9.5%, 9.5%, 14.2%, 19% and 86% respectively.

Conclusion: The mucoid form of *Pseudomonas aeruginosa* was seen most frequently in CF patients comparing with other samples. In all groups, antimicrobial resistance to Ceftazidime and antimicrobial sensitivity to Amikacin were most frequent.

Keywords: Cystic fibrosis**,** Pseudomonas aeruginosa, Morphotyping

[1] Assistant Professor, Department of Microbiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
[2] MSc Student, Department of Microbiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
[3] Assistant Professor, Department of Internal Medicine, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
[4] Associate Professor, Department of Pediatrics, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
[5], Assistant Professor, Department of Pediatrics, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
[6] Department of Microbiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Tahmineh Narimani MSc, Email: narimani@med.mui.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir