بررسی فنوتیپی آنزیم‌های بتالاکتاماز و متالوبتالاکتاماز *سودوموناس آئروژینوزای* جدا شده از زخم سوختگی در بیمارستان سوانح سوختگی یزد طی سال ۱۳۹۱

فاطمه اخوان تفتی [۱]، هنگامه زندی [۲*]، محمود وکیلی [۳]، سید مرتضی موسوی [۱]، محدثه زارعی [۱]

خلاصه:

سابقه و هدف: *سودوموناس آئروژینوزا* یک باکتری گرم منفی غیرتخمیری و فرصت طلب است که عامل ۱۰ تا ۱۵ درصد عفونت‌های بیمارستانی و زخم سوختگی در جهان است. این باکتری با مکانیسم‌های مختلف به انواع آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم می‌شود. هدف از مطالعه حاضر بررسی فراوانی آنزیم‌های بتالاکتاماز با طیف گسترش‌یافته (ESBL) و آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز (MBL) در سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزای* جدا شده از زخم سوختگی است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه توصیفی-مقطعی تعداد ۱۸۰ نمونه زخم سوختگی از بیماران بستری در بیمارستان سوانح سوختگی اخذ شده و کشت داده شد. کلونی‌های مشکوک به *سودوموناس آئروژینوزا* با روش‌های بیوشیمیایی معمول تعیین هویت شدند. برای سنجش حساسیت آنتی‌بیوتیکی از روش کربی بائر، آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع الطیف از روش Combination Disk و آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز از روش Etest MBL استفاده شد.

نتایج: از ۱۸۰ نمونه کشت داده شده، ٥٤ (۳۰ درصد) ایزوله به‌عنوان *سودوموناس آئروژینوزا* تعیین هویت شد که ۲۲ درصد (۱۲ نمونه) دارای ESBL و ۲۹/۵ درصد (١٦ نمونه) دارای MBL بودند. در مجموع ٤۲ (۷۹ درصد)، ٤۰ (٧٤ درصد)، ٤۰ (٧٤ درصد)، ۳۸ (۷۰ درصد)، ۳۵ (٦٦ درصد)، و ۳٤ ایزوله (٦۲ درصد) به‌ترتیب نسبت به سفتیزوکسیم، ایمیپنم، جنتامایسین، پیپراسیلین، سفپیم، مروپنم، و ارتاپنم مقاوم بودند.

نتیجه‌گیری: شیوع آنزیم‌های ESBL وMBL و مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بیمارستان سوانح سوختگی بالا است و نیاز است که اقداماتی مانند سنجش حساسیت آنتی‌بیوتیکی، تجویز منطقی آنتی‌بیوتیک‌ها و کنترل عوامل مساعد کننده انجام شود. با توجه به اینکه آنزیم‌های ESBL و MBL کلاس‌های گوناگونی دارند و شیوع آنها در مناطق مختلف متفاوت است، لازم است بررسی‌های ملکولی در این زمینه انجام گردد.

واژگان کلیدی: متالوبتالاکتاماز، بتالاکتاماز، *سودوموناس آئروژینوزا*، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، سوختگی

دو ماه‌نامه علمی- پژوهشی فیض، دوره هجدهم، شماره ۲، خرداد و تیر ۱۳۹۳، صفحات ۱۷٤-۱٦۷

مقدمه

سودوموناس آئروژینوزا یک باکتری بیماری‌زای فرصت طلب گرم منفی و هوازی است که دارای تاژک قطبی و پیلی، و اگزوتوکسین می‌باشد [۲،۱]، این باکتری سومین علت عفونت بیمارستانی و دومین علت عفونت زخم سوختگی است [۳]. این باکتری یکی از عوامل مهم عفونت‌های مزمن ریوی و مرگ و میر در بچه‌ها و بزرگسالان مبتلا به بیماری سیستیک فیبروزیس می‌باشد [٥،٤].

کنترل شیوع *سودوموناس آئروژینوزا* اغلب مشکل است، زیرا دارای مقاومت ذاتی نسبت به عوامل ضد میکروبی متعدد می‌باشد [۷،٦]. مقاومت اکتسابی در *سودوموناس آئروژینوزا* از طریق مکانیسم‌های متعددی صورت می‌پذیرد که شامل تولید بتالاکتامازها، پمپ‌های ترشحی و تغییرات غشای خارجی می‌باشد [۹،۸،٦]. مقاومت به داروهای متعدد، معمولا نتیجه ترکیبی از مکانیسم‌های متفاوت در یک سویه یا عملکرد یک مکانیسم خاص می‌باشد [٦]. مقاومت سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* به سفالوسپورین‌های نسل دوم و سوم) وسیع الطیف و مونوباکتام‌ها ممکن است به‌وسیله ESBLs صورت پذیرد [۱۰]. این آنزیم‌ها به‌وسیله ژن‌های متفاوتی که روی کروموزوم و یا پلاسمید قرار دارند، رمزدهی می‌شوند [۱۱]، و حلقه بتالاکتام را باز کرده و آنتی‌بیوتیک را غیر فعال می‌کنند [۱۲،٦]. بتالاکتامازها بر طبق تقسیم‌بندی Ambler بر اساس ساختار اولیه‌شان به ٤ کلاس A تا D تقسیم می‌شوند [۱٥-۱۳،٦]. کلاس D و C، A سرین بتالاکتاماز هستند و کلاس B متالو بتا-لاکتاماز است. بتالاکتامازهای وسیع الطیف (ESBLs) تایپ

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی، یزد

[۲] استادیار، گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی، یزد

[۳] استادیار، گروه پزشکی اجتماعی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی، یزد

*** نشانی نویسنده مسئول:**

یزد، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی، دانشکده پزشکی، گروه میکروب شناسی

تلفن: ۰۹۱۲ ۳۰۸۸۳۲۴ **دورنویس:** ۰۳۵۱ ۸۲۰۳۴۱۴

پست الکترونیک: hengameh_zandi@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۲/۹/۲۰ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۹۲/۱۲/۱۷

www.SID.ir

HSV و TEM بیشتر از بتالاکتامازهای کلاس A هستند [۱۳] که باعث مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام (پنی‌سیلین‌ها، سفالو-سپورین‌های نسل دوم و سوم که دارای زنجیره جانبی اکسی ایمینو هستند مانند سفتازیدیم، سفوتاکسیم، سفتریاکسون و سفپیم و مونوباکتام‌ها مانند آزترونام) می‌شود، اما در برابر سفامایسین‌ها، سفوکسیتین و سفوتتان و کارباپنم‌ها (مروپنم یا ایمیپنم) مؤثر نمی-باشند [۱۶]. بتالاکتامازها توسط کلاوولانیک اسید و سولباکتام و تازوباکتام مهار می‌شوند [۱۷]. تا به‌حال ۳٤۰ نوع ESBLs متفاوت شناسایی شده است [۱۳]. بیشتر انواع ESBLs در خانواده انتروباکتریاسه (*اشریشیاکلی*، *کلبسیلا*، *انتروباکتر* و غیر تخمیر کننده‌ها) یافت می‌شوند [۱۵]. بتالاکتامازهای کلاس B، متالوبتا-لاکتامازهایی هستند که وجود یک یا دو یون روی (Zn) در جایگاه فعال آنها ضروری است. متالوبتالاکتامازها توانایی غیر فعال سازی همه آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام به‌جز مونوباکتام را دارند [۱۵]. امروزه به‌دلیل مصرف بیش از حد آنتی‌بیوتیک‌ها سویه‌های مقاوم به چند دارو (Multi drug resistant) رو به افزایش است [۱۶،۱۱]. فراوانی سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزای* MDR از ٤ درصد در ۱۹۹۳ به ۱٤ درصد در سال ۲۰۰۲ افزایش یافته است و در کشور ما نیز شیوع سویه‌های MDR به‌نسبت بالا است. به‌عنوان مثال در کاشان ۲۷ درصد نمونه‌های *سودوموناس آئروژینوزای* مورد مطالعه و ٦٦/٦ درصد از ایزوله‌های جدا شده از کشت خون MDR بوده‌اند [٦]. در چین بیش از ۷۰ درصد ایزوله‌های *سودوموناس آئروژینوزا* به این دو آنتی‌بیوتیک حساس هستند [۱۸]. در زنجان ۷۸ درصد *سودوموناس آئروژینوزا*های اخذ شده از بخش ICU مولد MBL بودند [۱۹]. در فرانسه نیز ٤٦ درصد ایزوله‌ها مولد MBL بودند [۲۰]. درمان بیماران مبتلا و انتخاب آنتی‌بیوتیک مناسب برای آنها کار دشواری است؛ چون این باکتری با مکانیسم‌های مختلف اکتسابی به انواع آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم می-شود و علاوه بر آن به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت ذاتی دارد. بنابراین، می‌تواند منجر به مرگ و میر بیماران شود [۲۱]. هدف از این مطالعه تعیین الگوی مقاومت سویه‌های *سودوموناس آئرو-ژینوزای* ایزوله شده از نمونه زخم سوختگی بیماران بستری در بیمارستان سوانح سوختگی یزد نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج در درمان و بررسی فنوتیپی وجود آنزیم‌های متالوبتالاکتامازو بتالاکتاماز با طیف گسترش یافته می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه: در این مطالعه توصیفی- مقطعی، در طول یک سال (از فروردین تا پایان اسفند ۱۳۹۱، از ۱۸۰ بیمار بستری در بیمارستان سوانح و سوختگی شهید صدوقی یزد که دچار زخم سوختگی بوده و بیش از یک هفته آنتی‌بیوتیک استفاده نکرده بودند، حین تعویض پانسمان نمونه زخم سوختگی اخذ گردید. نمونه‌ها به آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد منتقل شده و در محیط-های کشت آگار خون‌دار (مرک، آلمان) غنی شده با ۵ درصد خون گوسفندی و محیط ائوزین متیلن بلو (EMB) (مرک، آلمان) کشت داده شده و در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲٤ ساعت انکوبه گردید.

تعیین هویت کلونی‌ها: برای تعیین هویت کلونی‌های مشکوک، از آزمایشات بیوشیمیایی مانند عدم تخمیر گلوکز و لاکتوز در محیط TSI (مرک – آلمان)، تولید اکسیداز، مصرف قندها از طریق اکسیداسیون در محیط OF (Oxidation-Fermentation (مرک، آلمان)، رشد در ٤۲ درجه سانتی‌گراد، تولید پیگمان و حرکت استفاده شد.

سنجش حساسیت آنتی‌بیوتیکی: حساسیت ایزوله‌های *سودوموناس آئروژینوزا* نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های ایمیپنم، مروپنم و ارتاپنم (Mast انگلستان) و پیپراسیلین، جنتامایسین، سفتیزوکسیم و سفپیم (پادتن طب) به‌روش دیسک دیفیوژن (کربی- بائر) و مطابق با استانداردهای CLSI) [۲۲] سنجیده شد. مراحل کار بدین صورت بود که سوسپانسیون باکتریایی با کدورت معادل کدورت لوله ۰/۵ مک فارلند ($۱/۵\times۱۰^{۸}$ باکتری) تهیه شده و سپس به‌وسیله سواپ استریل در محیط جامد مولر هینتون (Merk، آلمان) تلقیح گردید. با استفاده از یک پنس استریل دیسک‌ها در سطح محیط کشت قرار داد شد. پلیت در حرارت ۳۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۸ الی ۲٤ ساعت گرمخانه گذاری شد. برای قرائت نتایج با استفاده از یک خط کش دقیق، قطر هاله عدم رشد باکتری در اطراف دیسک بر حسب میلی‌متر اندازه گرفته شده و با استفاده از جدول میزان حساسیت باکتری نسبت به آنتی‌بیوتیک به‌صورت: Resistant/Intermediate/Sensitive گزارش شد.

بررسی وجود آنزیم‌های بتا لاکتاماز طیف گسترده: بررسی شیوع آنزیم‌های بتالاکتاماز طیف گسترده با روش‌های فنوتیپی Combination Disk Test و Double Disk Synergy Test انجام می‌شود. در این مطالعه از روش Combination Disk و با استفاده از دیسک‌های سفوتاکسیم (CTX: 30µg)، سفوتاکسیم-کلاولانیک اسید (CTX: 30µg/CV) 10µg و سفتازیدیم، سفتازیدیم-کلاولانیک اسید (محصول شرکت Mast انگلستان) استفاده شد. سوسپانسیون باکتریایی (کدورت معادل لوله ۰/۵ مک فارلند)، با سواپ

Archive of SID

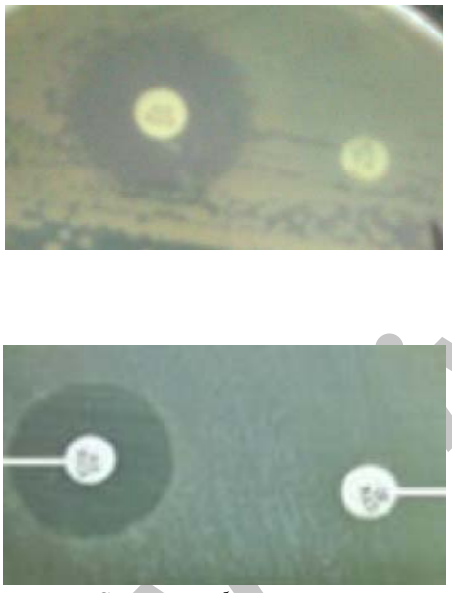
www.SID.ir

استریل در محیط مولر هینتون آگار تلقیح شد و دیسک‌های سفوتاکسیم و سفوتاکسیم-کلاولانیک اسید و سفتازیدیم، سفتازیدیم-کلاولانیک در محیط قرار داده شد. نتایج بعد از ۱۸-۲٤ ساعت گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه قرائت شد؛ به این ترتیب که مواردی که قطر هاله عدم رشد در اطراف دیسک سفتازیدیم-کلاولانیک و یا سفوتاکسیم-کلاولانیک بیش از پنج میلی‌متر نسبت به سفتازیدیم و سفوتاکسیم افزایش داشت، به‌عنوان سویه تولیدکننده ESBL در نظر گرفته شد.

بررسی وجود آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز: آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز به‌روش فنوتیپی E.testMBL (bio merieux فرانسه) و با استفاده از نوارهای دو سویه E-test (ایمیپنم/ایمیپنم + EDTA) تعیین شد. در یک طرف نوار حاوی غلظت‌های مختلف ایمیپنم (۸-۰/۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و در طرف دیگر غلظت‌های مختلف ایمی‌پنم + EDTA (۲-۰/۰۳۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای ایمیپنم + EDTA) وجود داشت. پس از تهیه سوسپانسیون باکتریایی با کدورت معادل لوله ۰/۵ مک فارلند و تلقیح در محیط مولر هینتون آگار (Merk) نوار E-test روی محیط قرار داده شد. پلیت‌ها به‌مدت ۲٤-۱۸ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری شدند. جهت تعیین وجود آنزیم متالوبتالاکتاماز، نقطه تلاقی هاله تشکیل شده در دو سوی نوار (ایمیپنم و ایمیپنم + EDTA) به‌عنوان رقت مهاری (IC) در نظر گرفته شد و با واحد میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌صورت کمی گزارش گردید. سپس، طبق دستورالعمل کارخانه سازنده چنانچه رقت مهاری ایمیپنم + EDTA نسبت به ایمیپنم بیش از سه رقت کاهش داشت و یا نسبت رقت مهاری ایمیپنم به ایمیپنم+EDTA، بزرگتر و یا مساوی ۸ بود، به‌عنوان سویه تولیدکننده متالوبتالاکتاماز در نظر گرفته شد.

نتایج

از کشت ۱۸۰ نمونه زخم سوختگی مورد بررسی، تعداد ٥٤ ایزوله (۳۰ درصد) *سودوموناس آئروژینوزا* جدا شد. در مجموع ٤۲ (۷۹ درصد)، ٤۲ (۷۹ درصد)، ٤۰ (۷٤ درصد)، ٤۰ (۷٤ درصد)، ۳۸ (۷۰ درصد)، ۳۵ (٦٦ درصد)، و ۳٤ ایزوله (٦۲ درصد) به‌ترتیب نسبت به سفتیزوکسیم، ایمیپنم، جنتامایسین، پیپراسیلین، سفپیم، مروپنم، و ارتاپنم مقاوم بودند (شکل شماره۱، جدول شماره ۱). در سنجش متالوبتالاکتاماز به‌روش فنوتیپی از نوارهای E-test ایمیپنم و ایمیپنم-EDTA استفاده شد و از بین ٥٤ ایزوله، ۲۹/۵ درصد دارای آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز بودند. در مجموع ۱۲ ایزوله (۲۲/۱ درصد) دارای آنزیم‌هایESBL بودند (جدول شماره ۲).



شکل شماره ۱- بررسی وجود آنزیم‌های ESBL در ایزوله‌های *سودوموناس آئروژینوزا* مورد مطالعه

جدول شماره ۱- حساسیت ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی بروش دیسک دیفیوژن

نوع آنتی‌بیوتیک	ارتاپنم	مروپنم	ایمیپنم	سفپیم	پیپراسیلین	سفتیزوکسیم	جنتامایسین	اریترومایسین
	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)
مقاومت	۳۸(۷۰)	۳۸(٦٦)	٤۰(۷٤)	۳٤(٦۲)	۳۸(۷۰)	٤۳(۷۹)	٤۰(۷۳)	٤۳(۷۹)

جدول شماره ۲- بررسی ایزوله‌های *سودوموناس آئروژینوزا* مورد مطالعه از نظر وجود آنزیم‌های متالوبتالاکتامازو آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع الطیف

جنسیت	دارای MBL	دارای ESBL
	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)
مجموع	۱٦(۲۹/۵)	۱۲(۲۲/۱)

بحث

عفونت‌های سوختگی به‌عنوان یک عفونت بیمارستانی، عامل مهمی در مرگ و میر بیماران و ناتوانی‌های بعد از سوختگی محسوب می‌شوند. *سودوموناس آئروژینوزا* یک باکتری گرم منفی غیر تخمیری است که نقش عمده‌ای در ایجاد عفونت‌های فرصت طلب و عفونت‌های شدید در بیماران سوختگی دارد و هم‌چنین

Archive of SID

www.SID.ir

عامل ۱۰ تا۱۵ درصد عفونت‌های بیمارستانی در جهان است [۲۳]. *سودوموناس آئروژینوزا* در محیط‌های مرطوب بیمارستانی به‌خوبی رشد می‌کند [۲۵،۲٤]. حساسیت کم نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها از خصوصیات بارز این باکتری محسوب می‌شود که درمان را دشوار می‌سازد. این باکتری با مکانیسم‌های مختلف به انواع آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم می‌شود [۲۷،۲٦،۵]. هدف از مطالعه حاضر بررسی فراوانی آنزیم‌های بتالاکتاماز با طیف گسترش یافته (ESBL) و آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز (MBL) در سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزای* جدا شده از زخم سوختگی بود. در مجموع ٤۲ (۷۹ درصد)، ٤۰ (۷٤ درصد)، ٤۰ (۷٤ درصد)، ۳۸ (۷۰ درصد)، ۳۵ (٦٦ درصد)، و ۳٤ ایزوله (٦۲ درصد) به‌ترتیب نسبت به سفتیزوکسیم، ایمیپنم، جنتامایسین، پیپراسیلین، سفپیم، مروپنم، و ارتاپنم مقاوم بودند و ۳٦ ایزوله (٦٦ درصد) حداقل به ۳ آنتی‌بیوتیک مقاوم بودند. در مطالعه احدی و همکاران در سال ۱۳۹۱ که بر روی ۱۰۰ نمونه *سودوموناس آئروزینوزا* جدا شده از نمونه‌های بالینی بیماران بستری در بیمارستان‌های استان اصفهان انجام شد، میزان مقاومت سویه‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین ٥٦ درصد، جنتامایسین ۵۹ درصد، توبرامایسین ٦۱ درصد، آمیکاسین ٦۵ درصد، ایمیپنم ۵۵ درصد، سفپیم ۵۵ درصد، سفتازیدیم ۵۷ درصد، سفتریاکسون ٦۰ درصد، سفوتاکسیم ٦۲ درصد، اگزاسیلین ۱۰۰ درصد و پیپراسیلین ٤۸ درصد بود [٤]. بنابراین، می‌توان گفت میزان مقاومت *سودوموناس آئروژینوزا* در نمونه‌های بالینی روند رو به رشدی داشته است. البته باید توجه داشت که در مطالعه احدی ایزوله‌ها از بخش‌های مختلف بیمارستان جمع آوری شده بودند، اما در مطالعه حاضر ایزوله تنها از بیماران بستری در بیمارستان سوختگی بوده است. در مطالعه فضلی و همکاران در سال ۱۳۹۱ در اصفهان از ۹۸ ایزوله سودوموناس از بخش‌های مختلف بیمارستان ۹۱، ٤۰/۸، ۵۰، ٤۱/۸، ۹٤/۹، ٦٦، ۷۷/٦، ۵٤، و ۸۵/۷ درصد به‌ترتیب به آنتی‌بیوتیک‌های سفپیم، آمیکاسین، جنتا-مایسین، سیپروفلوکساسین، سفوتاکسیم، پیپراسیلین، سفتازیدیم، ایمیپنم، سفتیزوکسیم مقاوم بودند. در این مطالعه ۷۳ ایزوله (۷٤ درصد) به بیش ۳ آنتی‌بیوتیک مقاوم بودند. بیشترین تعداد نمونه در این مطالعه از بخش سوختگی بوده (۳٤ درصد ایزوله‌ها) و به‌نظر می‌رسد به‌همین دلیل نتایج آن به مطالعه حاضر نزدیک‌تر است [۲]. در مطالعه میر صالحیان و همکاران در تهران در سال ۱۳۸۹ [۳] که بر روی ۱۷۰ ایزوله *سودوموناس آئروژینوزای* جدا شده از زخم سوختگی انجام شد، بیشترین مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های کلاس آمینوگلیکوزید (آمیکاسین ۸۱ درصد، جنتامایسین ۸۸ درصد، توبرامایسین ۸٤ درصد) بود و ۵۲/۹ درصد ایزوله‌ها به ایمیپنم بوده در حالی که در مطالعه حاضر ۷٤ درصد ایزوله‌ها به ایمیپنم و ٦٦ درصد به مروپنم مقاوم بودند که می‌تواند نشان‌گر افزایش روند مقاومت افزایش روند مقاومت به کاریاپنم‌ها باشد. البته روند مصرف آنتی‌بیوتیک برای درمان بیماران در امر مقاومت آنتی‌بیوتیکی بسیار موثر است و با توجه به اینکه در بیمارستان سوانح سوختگی یزد ایمیپنم یکی از پر مصرف‌ترین داروها برای درمان بیماران بستری است، شیوع گسترده مقاومت به این دارو می‌تواند به‌همین علت باشد. از آنجائی‌که در بخش‌های سوانح سوختگی جهت جلوگیری از عفونت زخم سوختگی و به‌عنوان پروفلاکسی ایمیپنم تجویز می‌گردد، لذا افزایش میزان مقاومت اجتناب ناپذیر است. مطلب دیگری که در این مطالعه مورد توجه قرار گرفت، بررسی میزان فراوانی مقاومت به ارتاپنم بود. این موضوع از این نظر اهمیت دارد که این آنتی‌بیوتیک هنوز در کشور ما مورد استفاده قرار نگرفته است. با توجه به اینکه در ساختار مروپنم و ارتاپنم زنجیره‌های جانبی هیدروفوب وجود دارند، این دو آنتی‌بیوتیک می‌توانند از طریق پمپ‌های افلاکس به خارج از باکتری پمپ شوند و همین تشابه ساختمانی و توانایی باکتری در پمپ کردن این دو آنتی‌بیوتیک به خارج از باکتری می‌تواند از عوامل ایجاد مقاومت نسبت به این آنتی‌بیوتیک باشد. البته برای بررسی جامع‌تر این موضوع لازم است مطالعاتی از این دسته بر روی سایر باکتری‌ها در سایر مناطق کشور انجام شود و نتایج بررسی‌ها با انجام آزمایشات ملکولی مناسب نیز تایید گردد. در این مطالعه آنزیم های بتالاکتاماز با طیف گسترش یافته در ۲۲/۱ درصد ایزوله‌ها مشاهده شد. در مطالعه شجاع‌پور و همکاران در شهرکرد در سال ۱۳۸۷ که بروی ایزوله‌های جدا شده بیماران سوختگی انجام شده بود، ۳۷ درصد نمونه‌ها مولد ESBLs بودند [۱۳] در حالی که در مطالعه توجهی و همکاران در بیمارستان شهید بهشتی کاشان در سال ۱۳۸۹، ۹/۲ درصد ایزوله‌ها ESBL مثبت بودند، دلیل این اختلاف می‌تواند به این علت باشد که ایزوله‌های مورد بررسی در این مطالعه از بخش‌های مختلف بیمارستان جمع‌آوری شده بودند [٦]. در مطالعه Okesola در سال ۲۰۱۲ تعداد ۹۰ ایزوله *سودوموناس آئروژینوزا* که از بخش‌های مختلف بیمارستان در نیجریه به‌دست آمده بودند، مورد بررسی قرار گرفتند. ۲۲/۲ درصد ایزوله‌ها تولیدکننده ESBLs بودند [۷]. در هند در سال۲۰۱۱، ٤۲/۳ درصد ایزوله‌های *سودوموناس آئروژینوزای* جدا شده از بیماران مولد ESBLs بودند [۲۸]. در مطالعه Lim و همکاران در سال ۲۰۰۹ در مالزی ٤/۷ درصد [۲۹] و در مطالعه Wodford و همکاران در انگلستان در سال ۲۰۰۸، ۳/۷ درصد ایزوله‌های مورد بررسی مولد ESBLs گزارش شدند [۳۰]. نتایج

Archive of SID

www.SID.ir

حاصل موید این واقعیت است که در کشور ما به‌علت استفاده بی-رویه از داروهای بتالاکتام به‌خصوص سفالوسپورین‌ها متاسفانه فراوانی آنزیم‌های ESBLs در بیماران بستری در بخش‌های سوختگی و ICU نسبت به بسیاری از مناطق به‌خصوص کشورهای توسعه یافته بیشتر است. در مطالعه حاضر ۲۹/۵ درصد از ایزوله‌های *سودوموناس آئروژینوزای* مورد بررسی دارای آنزیم-های متالوبتالاکتاماز بودند. در مطالعه گلشنی و همکاران در زاهدان در سال ۱۳۹۰، ۱۸ درصد ایزوله‌های *سودوموناس آئروژینوزای* مورد بررسی مولد MBL بودند [۳۱]. در مطالعه میر صالحیان و همکاران در تهران در سال ۱۳۸۹، ۱۱/۱ درصد و در مطالعه نوروزی در سال ۱۳۸۹ در شیراز، ۸ درصد ایزوله‌های اخذ شده از بیماران بستری در بخش سوختگی دارای MBL بودند [۳۲،۳]. در مطالعه دوستی و همکاران در زنجان در سال ۱۳۹۰، از ۷۰ ایزوله سودوموناس آئروژینوزای اخذ شده از بخش ICU، ۷۸ درصد مولد MBL بودند [۱۹]. با توجه به اینکه استان یزد قطب درمانی جنوب و شرق کشور است و بیماران بستری در بیمارستان-های این استان از نقاط مختلف کشور می‌باشند، وجود تفاوت در نتایج حاصله با سایر استان‌ها منطقی به‌نظر می‌رسد. هم‌چنین، همان‌طور که قبلا ذکر گردید، استفاده متداول کارباپنم‌ها جهت پیشگیری از عفونت پسودوموناسی در بخش سوانح سوختگی می-تواند در گسترش فراوانی این آنزیم در این استان باشد. در فرانسه در مطالعه Walsh در سال ۲۰۰۵، ٤٦ درصد ایزوله‌ها که بیشتر آنها از کشت خون جدا شده بودند و در مطالعه Pitout هم در سال ۲۰۰۵ از ۲٤۱ ایزوله *سودوموناس آئروژینوزا* ٤٦ درصد، دارای آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز بودند [۳٤،۳۳]. خوشبختانه شیوع سویه‌های مولد MBL در بیشتر مطالعات مورد بررسی از کشور ما پایین‌تر بوده است، اما لازم است اقدامات لازم جهت پیشگیری از گسترش سویه مولد MBL در بیمارستان‌ها انجام شود.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج مطالعه حاضر و سایر مطالعات، مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در درمان بیماران مبتلا به عفونت-های ناشی از *سودوموناس آئروژینوزا* به‌خصوص سفالوسپورین‌ها در کشور ما در حال گسترش است. در این مطالعه بیش از ۷۰ درصد ایزوله‌های *سودوموناس آئروژینوزا* نسبت به سفتیزوکسیم، ایمیپنم، جنتامایسین، پیپراسیلین مقاوم بوده و فراوانی *سودوموناس آئروژینوزای* مولد ESBLs و MBL به‌ترتیب ۲۲/۱ و ۲۹/۵ درصد بود که این نتیجه نشان‌دهنده افزایش گسترش شیوع این آنزیم‌های مقاومت می‌باشد. لذا، در بخش‌های سوختگی انجام سنجش حساسیت آنتی‌بیوتیکی و بررسی تولید سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزای* مولد ESBLs و MBL قبل از تجویز دارو ضروری به‌نظر می‌رسد. با توجه به اینکه آنزیم‌های ESBL و MBL کلاس‌های گوناگونی دارند و شیوع آنها در مناطق مختلف متفاوت است، لازم است بررسی‌های ملکولی در این زمینه انجام گردد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از پایان‌نامه خانم فاطمه اخوان تفتی است و بدین‌وسیله از مسئولین دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد و کارشناس آزمایشگاه میکروب شناسی این دانشگاه سرکار خانم مریم نیری که در انجام مراحل مختلف این پایان‌نامه همراهی و همکاری کردند، تشکر و قدردانی شود.

References:

[1] Doosti M, Haj Ojagh Faghihi M, Ramazani A, Saini MR. Comparison of culture and PCR for the diagnosis of Pseudomonas aeruginosa and prevalence antibiotic resistance in clinical samples. ***J Isfahan Med Sch*** 2011; 30(192): 780-86.

[2] Fazli H, Fatahi Bafghi M, Faghri M, All E. Molecular Study of PER and VEB Genes is Multidrug Resistant Pseudomonas aeroginosa Isolated From Clinical Specimens in Isfahan/Iran and their Antibiotic Resistance Patterns. ***J Kerman Univ Med Sci*** 2012; 19(4): 337-44.

[3] Mirsalehian A, Nakhjavani F, Bahador A. Prevalence of MBL-producing Pseudomonas aeruginosa isolated from burn patients. ***Tehran Univ Med J*** 2011; 68(10): 337-44.

[4] Ahadi A, Sharif Zadeh A, Golshani Z. Identification of antibiotic resistance patterns of Pseudomonas aeruginosa isolated from patients admitted with multiple resistance. ***J Veterinary Lab Res*** 2012; 4(1): 119-22.

[5] Lister PD, Wolter DJ, Hanson ND. Antibacterial-resistant Pseudomonas aeruginosa: clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms. ***Clin Microbiol Rev*** 2009; 22(4): 582-610.

[6] Tavajjohi Z, Moniri R, Khoeshidi A. Frequency of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) multidrug-resistance produced by Pseudomonas aeruginosa isolated from clinical and environmental specimens in Kashan Shahid Beheshti hospital during 2010-11. ***Feyz*** 2011; 15(2): 139-45. [in Persian]

Archive of SID

www.SID.ir

[7] Okesola A, Oni A. Occurrence of Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing Pseudomonas aeruginosa Strains in South-West Nigeria. ***Res J Med Sci*** 2012; 6(3): 93-6.
[8] Nagarpirai S, Esmaili D. Active efflux pomp. ***J Army Univ Med Sci I.R. Iran*** 2011; 2(1): 301-6.
[9] Shahcheraghi F, Nikbin V. determination of antibiotic resistance and MBL enzyme in P. aeruginosa strains were resistant to ceftazidime and imipenem isolated from clinical samples of Imam Khomeini Hospital and Children's Medical Center in 1384. ***Iran J Infect Dis Trop Med*** 2005; 12(36): 19-22.
[10] Shakibaie MR, Adeli S, Salehi MH. Antibiotic resistance patterns and extended-spectrum β-lactamase production among Acinetobacter spp. isolated from an intensive care Unit of a hospital in Kerman, Iran. ***Antimicrob Resist Infect Control*** 2012; 1(1): 1.
[11] Akingbade O, Balogun S, Ojo D, Afolabi R, Motayo B, Okerentugba P, et al. Plasmid Profile Analysis of Multidrug Resistant Pseudomonas aeruginosa Isolated from Wound Infections in South West, Nigeria. ***World Applied Sci J*** 2012; 20(6): 766-75.
[12] Kalantar D, Mansouri Sh, Razavi M. Emergence of Imipenem Resistance and Presence of Metallo-β-Lactamases Enzymes in Multi Drug Resistant Gram Negative Bacilli Isolated from Clinical Samples in Kerman, 2007-2008. ***J Kerman Univ Med Sci*** 2010; 17(3): 208-14. [in Persian]
[13] Shojapour M, Shariati L, Karimi A. Prevalence of TEM-1 type beta-lactmase genes in Pseudomonas aeruginosa strains isolated from burn infections using Duplex PCR in Shahrekord. ***J Arak Univ Med Sci*** 2011; 14(1): 55-61. [in Persian]
[14] Yazdi M, Nazemi A, Mir inargasi M, Khataminejad MR, Sharifi S, Babai Kochkaksaraei M. Prevalence of SHV/CTX-M/TEM (ESBL) Beta-lactamase Resistance Genes in Escherichia Coli Isolated from Urinary Tract Infections in Tehran, Iran. ***Med Laboratory J*** 2010;4(1): 48-51.
[15] Souha S, Kanj M, Zeina A, Kanafani M, editors. Current Concepts in Antimicrobial Therapy Against Resistant Gram-Negative Organisms: Extended-Spectrum ß-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae, Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae, and Multidrug-Resistant Pseudomonas aeruginosa. ***Mayo Clin Proc*** 2011; 86(3): 250-59.
[16] Gill MM, Usman J, Kaleem F, Hassan A, Khalid A, Anjum R, et al. Frequency and antibiogram of multi-drug resistant Pseudomonas aeruginosa. ***J Coll Physicians Surg Pak*** 2011; 21(9): 531-4.
[17] Shahcheraghi F, Sadat Nikbin V, Shooraj F. Investigation of blaIMP-1, blaVIM-1 and blaSPM-1 MBL Genes among Clinical Strains of Pseudomonas aeruginosa Isolated from Imam Khomeini Hospital, Tehran, Iran. ***Pejouhandeh*** 2009; 14(2): 67-72. [in Persian]
[18] Wang H, Chen M, Ni Y, Liu Y, Sun H, Yu Y, et al. Antimicrobial resistance among clinical isolates from the Chinese Meropenem Surveillance Study (CMSS), 2003-2008. I***nt J Antimicrob Agents*** 2010; 35(3): 227-34.
[19] Doosti M, Ramazani A, Garshasbi M. Identification and characterization of metallo-beta-lactamases producing Pseudomonas aeruginosa clinical isolates in University Hospital from Zanjan Province, Iran. ***Iran Biomed J*** 2013; 17(3): 129-33.
[20] Walsh TR, Toleman MA, Poirel L, Nordmann P. Metallo-beta-lactamases: the quiet before the storm. ***Clin Microbiol Rev*** 2005; 18(2): 306-25.
[21] Wang H, Tu F, Gui Z, Lu X, Chu W. Antibiotic resistance profiles and quorum sensing-dependent virulence factors in clinical isolates of Pseudomonas Aeruginosa. ***Indian J Microbiol*** 2013; 53(2): 163-7
[22] Wikler M, Cockerill F, Bush K. Method for antibacteril suseptibility test for bacteria that grow aerobicaly ***Clin Lab Standards Inst*** 2009; 29(2): 1-65.
[23] Sadeghifard N, Valizadeh A, Zolfaghary MR, Maleki MH, Maleki A, Mohebi R, et al. Relationship between the Presence of the nalC Mutation and Multidrug Resistance in Pseudomonas aeruginosa. ***Int J Microbiol*** 2012; 2012: 575193.
[24] Estahbanati HK, Kashani PP, Ghanaatpisheh F. Frequency of Pseudomonas aeruginosa serotypes in burn wound infections and their resistance to antibiotics. ***Burns*** 2002; 28(4): 340-8.
[25] Poole K, Krebes K, McNally C, Neshat S. Multiple antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa: evidence for involvement of an efflux operon. ***J Bacteriol*** 1993; 175(22): 7363-72.
[26] Quale J, Bratu S, Gupta J, Landman D. Interplay of efflux system, ampC, and oprD expression in carbapenem resistance of Pseudomonas aeruginosa clinical isolates. ***Antimicrob Agents Chemother*** 2006; 50(5): 1633-41.
[27] Rodriguez-Martinez JM, Poirel L, Nordmann P. Molecular epidemiology and mechanisms of carbapenem resistance in Pseudomonas aeruginosa. ***Antimicrob Agents Chemother*** 2009; 53(11): 4783-8.
[28] Goel V, Hogade SA, Karadesai S. Prevalence of extended-spectrum beta-lactamases, AmpC beta-lactamase, and metallo-beta-lactamase producing Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii in an intensive care unit in a tertiary care hospital. ***J Sci Soc*** 2013; 40(1): 28.
[29] Lim KT, Yasin RM, Yeo CC, Puthucheary SD, Balan G, Maning N, et al. Genetic fingerprinting and antimicrobial susceptibility profiles of Pseudomonas aeruginosa hospital isolates in Malaysia. ***J Microbiol Immunol Infect*** 2009; 42(3): 197-209.
[30] Woodford N, Zhang J, Kaufmann ME, Yarde S, Tomas Mdel M, Faris C, et al. Detection of Pseudomonas aeruginosa isolates producing VEB-

Archive of SID

www.SID.ir

type extended-spectrum beta-lactamases in the United Kingdom. ***J Antimicrob Chemother*** 2008; 62(6): 1265-8.
[31] Golshani Z, Ahadi AM, Sharifzadeh A. Occurrence of Ambler Class B Metallo-β-Lactamase Gene in Imipenem-Resistant Pseudomonas Aeruginosa Strains Isolated from Clinical Samples. ***Zahedan J Res Med Sci*** 2013; 12(7): 29-32.
[32] Norozi F, Kalantar D, Mansori Sh, Moradi M, Por Ebrahim A, Orangi M. detection of Imipenem resistance and beta-lactamase enzymes MBL in clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa in Burn Hospital Center in Shiraz. ***Iran J Infect Dis Trop Med*** 2010; 15(49): 37-41.
[33] Walsh TR. The emergence and implications of metallo-betalactamases in Gram-negative becteria. ***Clin Microbiol Infect*** 2005; 11 Suppl 6: 2-9.
[34] 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.

Archive of SID

www.SID.ir