

تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و فراوانی متالوبتالاکتامازها در ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا

فاطمه همتی^۱، دکتر رحیم سروری زنجانی^۲، دکتر فخری حقی^۳، دکتر حبیب ضیغمی^۳

نویسنده‌ی مسول: تهران، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا...، گروه میکروب شناسی r_sorouri@yahoo.com

دریافت: ۹۲/۷/۷ پذیرش: ۹۲/۱۲/۱۱

چکیده

زمینه و هدف: سودوموناس آئروژینوزا پاتوژنی فرصت طلب و یکی از عوامل مهم عفونت‌های بیمارستانی است. با توجه به مقاومت روز افزون سودوموناس آئروژینوزا به داروهای ضد میکروبی و به خصوص نسبت به ترکیبات بتالاکتام اهمیت مقاومت این باکتری دو چندان می‌شود. هدف از این مطالعه تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و فراوانی متالوبتالاکتامازهای *IMP*, *SPM*, *SIM* در ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزای جدا شده از نمونه‌های بالینی بیمارستان‌های شهر زنجان با دو روش فنوتیپی و ژنوتیپی بود.

روش بررسی: در این مطالعه‌ی توصیفی مقطعی، ۱۲۰ ایزوله سودوموناس آئروژینوزا از نمونه‌های بالینی مختلف از بیمارستان‌های شهر زنجان طی سال‌های ۹۲-۱۳۹۱ جمع‌آوری گردید. پس از تایید ایزوله‌ها با تست‌های بیوشیمیایی، حساسیت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها با روش دیسک دیفیوژن (Kirby-Baur) طبق توصیه‌ی *CLSI* نسبت به ۷ آنتی‌بیوتیک تعیین گردید. برای بررسی وجود *MBLs* در سویه‌های جدا شده، از روش دیسک ترکیبی (*Combined Disk*) استفاده و حضور ژن‌های *bla_{IMP}*, *bla_{SPM}*, *bla_{SIM}* با استفاده از روش *PCR* شناسایی گردید.

یافته‌ها: در این مطالعه به ترتیب بیشترین و کمترین میزان مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سفوناکسیم (۴۳/۳ درصد) و آمیکاسین (۲۱/۶ درصد) مشاهده شد. از ۱۲۰ ایزوله سودوموناس آئروژینوزا، ۳۵ ایزوله (۲۹/۲ درصد) مقاوم به ایمی‌پنم بودند. نتایج حاصل از دیسک ترکیبی نشان داد که ۱۰۰ درصد ایزوله‌های مقاوم به ایمی‌پنم، مولد متالوبتالاکتاماز بودند. از ۳۵ ایزوله مولد *MBL*، ۲۸ ایزوله (۸۰ درصد) حامل ژن *bla_{IMP}*، ۲۰ ایزوله (۵۷/۱ درصد) حامل ژن *bla_{SPM}*، ۵ ایزوله (۱۴/۳ درصد) حامل ژن *bla_{SIM}* و ۱ ایزوله (۲/۸ درصد) حامل هر سه ژن *bla_{IMP}*, *bla_{SPM}*, *bla_{SIM}* بودند.

نتیجه‌گیری: افزایش مقاومت نسبت به آزرئونام و ایمی‌پنم، می‌تواند به‌عنوان یک هشدار برای گسترش مقاومت آنتی‌بیوتیک در ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا و شکست درمانی عفونت‌های ناشی از این باکتری به شمار آید.

واژگان کلیدی: سودوموناس آئروژینوزا، متالوبتالاکتاماز، مقاومت آنتی‌بیوتیکی

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد میکروب شناسی، گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان

۲- دکترای تخصصی میکروب شناسی، دانشیار دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌اله (عج)

۳- دکترای تخصصی باکتری شناسی، استادیار باکتری شناسی دانشگاه علوم پزشکی زنجان

مقدمه

سودوموناس آئروژینوزا به‌عنوان یک پاتوژن متداول بیمارستانی، در طیف وسیعی از عفونت‌ها، از عفونت دستگاه ادراری گرفته تا باکتری، نقش دارد. مقاومت ذاتی به مواد ضد میکروبی در این باکتری سبب وخیم‌تر شدن وضعیت درمان عفونت‌های ناشی از آن می‌گردد (۱). نوعی از مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سودوموناس آئروژینوزا به واسطه‌ی تولید آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز صورت می‌گیرد، که عامل مقاومت در برابر بتالاکتام‌ها هستند (۲). متالوبتالاکتامازها از جمله آنزیم‌های بتالاکتامازی هستند که در گروه ۳ از طبقه‌بندی Bush و کلاس B از طبقه‌بندی Ambler قرار دارند (۳). در سایت فعال این آنزیم‌ها فلز روی وجود دارد که برای تخریب حلقه‌ی بتالاکتام مورد استفاده قرار می‌گیرد. این آنزیم‌ها طیف سوبسترای وسیعی دارند و قادر به هیدرولیز تمام بتالاکتام‌ها به جز منوباکتام‌ها (آزترئونام) هستند (۴). آنزیم‌های MBL داخل ایتنگرون واقع شده و توانایی ادغام در پلاسمید یا کروموزوم را دارند، لذا قابلیت انتقال به سایر ایزوله‌های سودوموناس و باکتری‌های دیگر از جمله انتروباکتریاسه‌ها را دارند (۵). آنزیم‌های MBL، اولین بار سال ۱۹۹۱ در ژاپن از باکتری سودوموناس آئروژینوزا و پس از آن در مناطق دیگر جهان از جمله آسیا، اروپا، استرالیا، امریکای شمالی و جنوبی نیز گزارش شد. در حال حاضر ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا مولد MBL از سراسر دنیا گزارش می‌شود (۶). متالوبتالاکتامازها بر اساس ساختار مولکولی به انواع مختلف تقسیم می‌شوند که عبارتند از (۷): IMP, VIM, SPM, GIM, SIM, NDM, DIM, KHM. که از بین این آنزیم‌ها، آنزیم IMP در سودوموناس آئروژینوزا بارزتر و چشمگیرتر می‌باشد. SIM و SPM آنزیم‌هایی هستند که باکتری‌ها را در برابر بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم می‌کنند. به‌همین علت، به‌عنوان یک تهدید و معضل بهداشت جهانی در بیمارستان‌ها مطرح هستند. مطالعه‌ی این آنزیم‌ها

جهت تشخیص سریع، شناسایی منبع و میزان شیوع آن‌ها در بین نمونه‌های بالینی، برای جلوگیری از گسترش آن‌ها بسیار ضروریست. لذا بر آن شدیم تا با بررسی نمونه‌های بالینی شهر زنجان میزان فراوانی این آنزیم‌ها را در ایزوله‌های بالینی سودوموناس آئروژینوزا مورد مطالعه قرار دهیم.

روش بررسی

در این مطالعه‌ی توصیفی مقطعی، ۱۲۰ ایزوله سودوموناس آئروژینوزا از نمونه‌های بالینی مختلف شامل ادرار، خون، ترشحات تنفسی، مدفوع، تراشه، بافت و ترشحات گوش طی سال‌های ۹۲-۱۳۹۱ از چهار بیمارستان شهر زنجان جمع‌آوری گردید. جهت تایید ایزوله‌ها از تست‌های بیوشیمیایی مرسوم استفاده شد. تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن (کربی-بائر) انجام شد. دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی مورد استفاده محصول شرکت MAST انگلستان و به شرح زیر بودند: آمیکاسین (۳۰ میکروگرم)، آزترئونام (۳۰ میکروگرم)، ایمپی‌پنم (۱۰ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، سفتازیدیم (۳۰ میکروگرم)، سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرم) و سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم). پس از انجام دیسک دیفیوژن، قطر هاله‌ی عدم رشد در اطراف هر دیسک اندازه‌گیری و نتایج آن با توجه به استانداردهای CLSI به‌صورت حساس، مقاوم و میانه (Intermediat) گزارش گردید (۸).

جهت بررسی فنوتیپی ایزوله‌های مولد MBLs از روش دیسک ترکیبی (Combined Disk) استفاده شد. ایزوله‌های مقاوم به ایمپی‌پنم با استفاده از دیسک‌های ایمپی‌پنم (۱۰ میکروگرم) و ایمپی‌پنم + اتیلن‌دی‌آمین تترا استیک اسید (EDTA) (۱۰ و ۳۰ میکروگرم) مورد مطالعه قرار گرفتند. پس از انکوباسیون به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد، تولید MBLs از طریق افزایش قطر هاله عدم رشد به اندازه‌ی ۷ میلی‌متر یا بیشتر در اطراف دیسک ایمپی‌پنم

مورد استفاده به صورت جدول ۱ می باشد (۱۳): واکنش PCR به صورت Multiplex و در حجم نهایی ۳۰ میکرولیتر حاوی ۱۰^۸X بافر ۳μl، ۱/۵μl dNTP، ۱ میلی مولار، ۰/۸ μl پرایمر ۱۰ پیکومول از هر کدام، ۲μl آنزیم Taq DNA polymerase ۱unit، ۲μl DNA الگو با غلظت ۵۰ μg در طی ۳۰ سیکل، تحت برنامه زمانی ترموسایکلر (ASTEC, Gene Atlas ۳۲۲ system, Japan) زیر انجام شد.

EDTA + در مقایسه با دیسک ایمی پنم مشخص گردید. از سویه‌ی استاندارد سودوموناس آئروژینوزا ATCC ۲۷۸۵۳ جهت کنترل روش‌های آنتی‌بیوگرام و دیسک ترکیبی استفاده شد. به منظور شناسایی ژن‌های *bla*_{IMP}, *bla*_{SPM}, *bla*_{SIM} ابتدا DNA پلاسمیدی سویه‌های مولد MBL، با استفاده از کیت استخراج پلاسمید (Bioneer, Korea) استخراج گردید. سویه‌های حامل ژن‌های *bla*_{IMP}, *bla*_{SPM}, *bla*_{SIM} به عنوان کنترل مثبت (تهیه شده از بخش میکروب شناسی انستیتو پاستور ایران) استفاده شد. توالی پرایمرهای

جدول ۱: توالی پرایمرهای مورد استفاده (۱۳)

ژن	توالی نوکلئوتیدی	اندازه محصول
<i>bla</i> _{IMP-F}	5'-GGAATAGAGTGGCTTAATTCTC-3'	188 bp
<i>bla</i> _{IMP-R}	5'-CCAAACCACTACGTTATCT-3'	
<i>bla</i> _{SPM-F}	5'-AAAATCTGGGTACGCAAACG-3'	271 bp
<i>bla</i> _{SPM-R}	5'-ACATTATCCGCTGGTACAGG-3'	
<i>bla</i> _{SIM-F}	5'-TACAAGGGATTCGGCATCG-3'	570 bp
<i>bla</i> _{SIM-R}	5'-TAATGGCCTGTTCCCATGTG-3'	

یافته‌ها

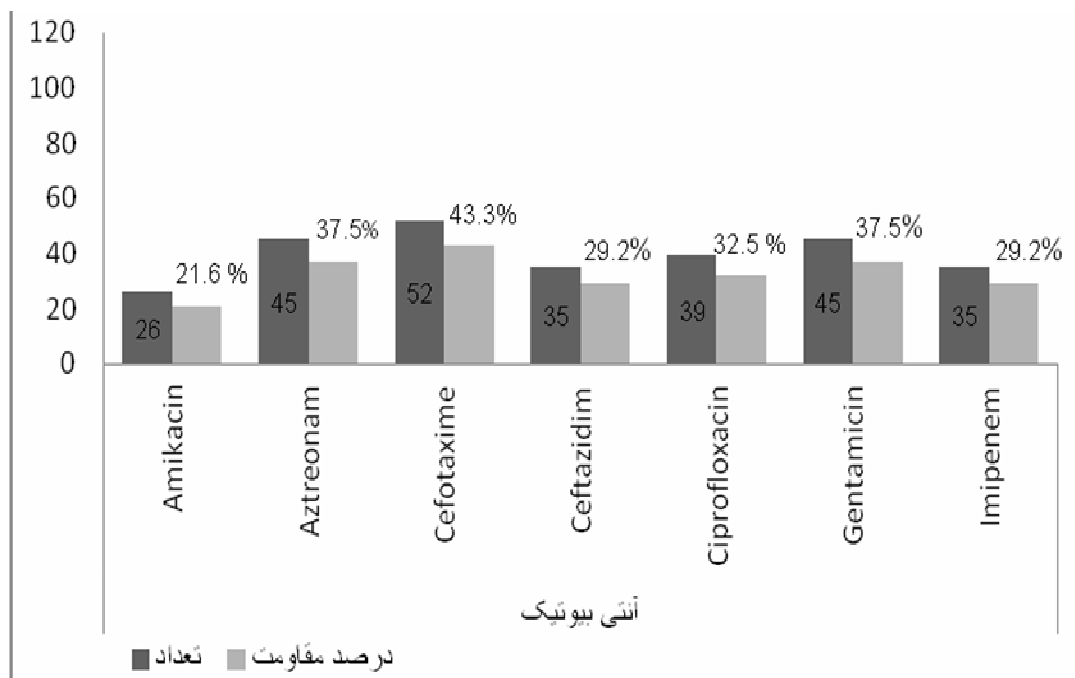
از ۱۲۰ ایزوله سودوموناس آئروژینوزای جمع‌آوری شده از نمونه‌های بالینی، ۳۹ (۳۲/۵ درصد) ایزوله مربوط به نمونه‌های ادرار، ۳۳ (۲۷/۵ درصد) ایزوله مربوط به خون، ۲۱ (۱۷/۵ درصد) ایزوله مربوط به ترشحات تنفسی، ۱۰ (۸/۳ درصد) ایزوله مربوط به مدفوع و ۱۷ (۱۴/۲ درصد) ایزوله مربوط به ترشحات به‌تراشه، بافت و ترشحات گوش بود. از نمونه‌های بالینی مورد بررسی، ۵۱ (۴۲/۵ درصد) نمونه مربوط به جنس مذکر و ۶۹ (۵۷/۵ درصد) نمونه مربوط به جنس مونث بودند. نتایج حاصل از این تحقیق، بیشترین و کمترین میزان مقاومت را به ترتیب مربوط به سفوتاکسیم در ۵۲ ایزوله (۴۳/۳ درصد) و آمیکاسین در ۲۶ ایزوله (۲۱/۶ درصد) نشان داد. میزان مقاومت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها به شرح ذیل بود:

مرحله‌ی اولیه جداسازی دو رشته در ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، مرحله‌ی باز شدن دو رشته (Denaturing Step) در ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، مرحله‌ی اتصال پرایمرها (Annealing Step) در ۵۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه، مرحله‌ی طویل شدن رشته‌ی هدف (Extension Step) در ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۵۰ ثانیه و مرحله‌ی طویل شدن نهایی (Final Extension Step) در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۸ دقیقه.

پس از انجام PCR، ژل آگارز ۱/۵ درصد جهت الکتروفورز محصولات PCR مورد استفاده قرار گرفت و قطعات ژنی مورد نظر با استفاده از مارکر ۱۰۰bp Ladder Fermentase ارزیابی شد.

آمینوگلیکوزید، به طور میانگین ۳۴/۴ درصد و ۲۹/۵ درصد بود. ۶۵ درصد ایزوله‌ها نسبت به سه خانواده از آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده مقاوم بودند و به عنوان ایزوله‌هایی با مقاومت چند دارویی (Multi Drug Resistance) در نظر گرفته شدند (۹).

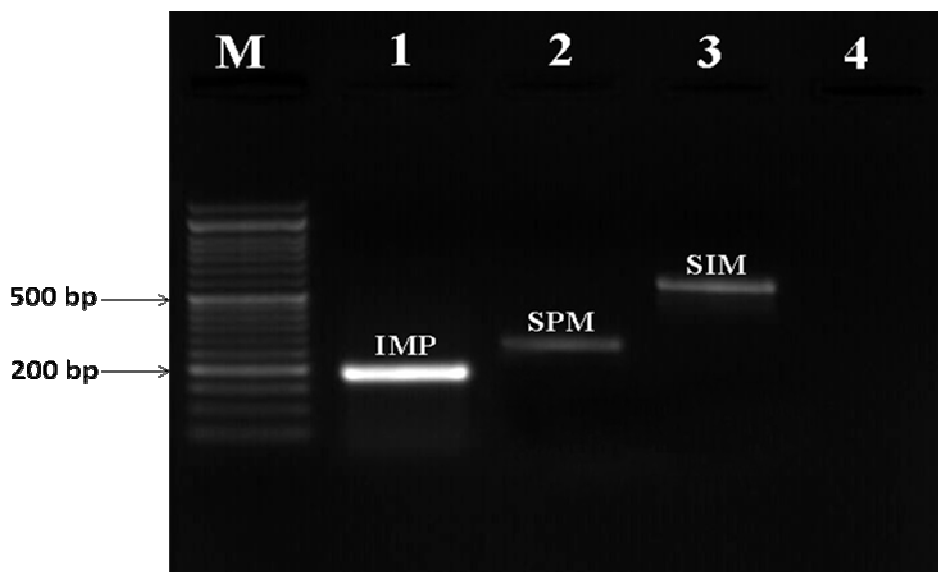
مقاومت به ای‌می‌پنم در ۳۵ ایزوله (۲۹/۲ درصد)، آزترئونام در ۴۵ ایزوله (۳۷/۵ درصد)، جتتامایسین در ۴۵ ایزوله (۳۷/۵ درصد)، سفتازیدیم در ۳۵ ایزوله (۲۹/۲ درصد)، سیپروفلوکساسین در ۳۹ ایزوله (۳۲/۵ درصد)، (نمودار ۱). میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های خانواده بتالاکتام و



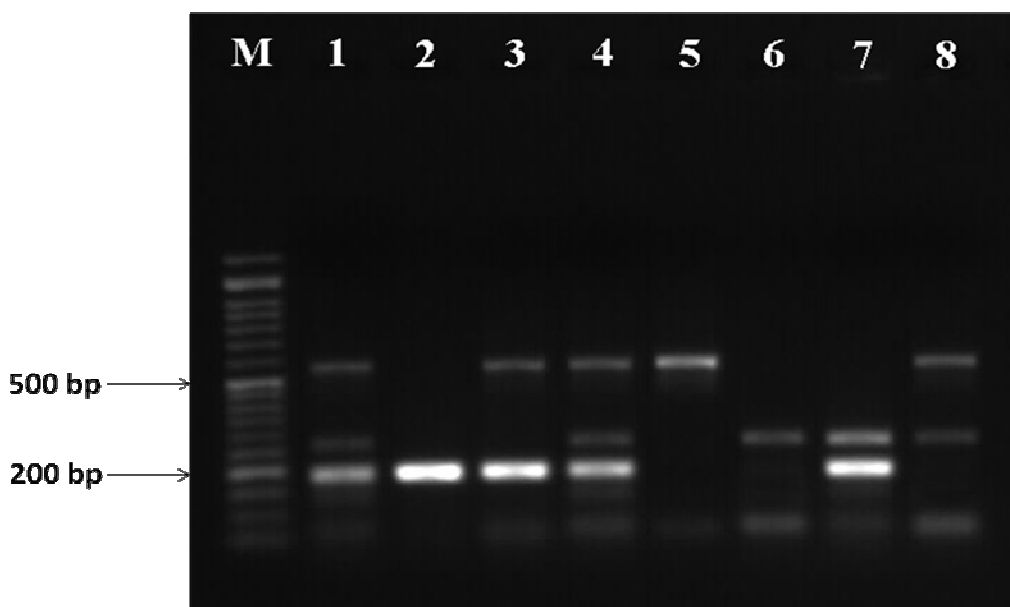
نمودار ۱: درصد مقاومت ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از نمونه‌های بالینی

متالوبتالاکتاماز، ۲۸ ایزوله (۸۰ درصد) حامل ژن *bla*_{IMP}، ۲۰ ایزوله (۵۷/۱ درصد) حامل ژن *bla*_{SPM}، ۵ (۱۴/۳ درصد) ایزوله حامل ژن *bla*_{SIM} و ۱ (۲/۸ درصد) ایزوله حامل هر سه ژن *bla*_{IMP}، *bla*_{SPM}، *bla*_{SIM} بودند. همچنین ۱۲ ایزوله (۳۴/۳ درصد) حامل دو ژن *bla*_{IMP}، *bla*_{SPM} و ۲ ایزوله (۵/۸ درصد) حامل ژن‌های *bla*_{IMP}، *bla*_{SIM} و ۲ ایزوله (۵/۸ درصد) حامل ژن‌های *bla*_{SPM}، *bla*_{SIM} بودند (شکل ۲ و ۱).

نتایج بررسی فنوتیپی به روش دیسک ترکیبی نشان داد که از ۱۲۰ ایزوله سودوموناس آئروژینوزا، ۳۵ (۲۹/۲ درصد) ایزوله مولد متالوبتالاکتاماز بودند. در بین ایزوله‌های مولد متالوبتالاکتاماز، ۳۴/۳ درصد مربوط به نمونه‌های ادرار، ۲۸/۶ درصد مربوط به نمونه‌های خون، ۱۷/۱ درصد مربوط به نمونه‌های تنفسی، ۸/۶ درصد مربوط به نمونه‌های مدفوع و ۱۱/۴ درصد مربوط به تراشه، بافت و ترشحات گوش بودند. از ۳۵ ایزوله سودوموناس آئروژینوزای مولد



شکل ۱: الکتروفورز محصولات PCR سویه‌های کنترل مثبت حامل ژن‌های *bla_{SPM}*, *bla_{IMP}* و *bla_{SIM}* بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد. *M*: ماکر وزن مولکولی (۱۰۰ bp)، چاهک ۱: نمونه‌ی کنترل مثبت واجد ژن *bla_{IMP}* چاهک ۲: نمونه‌ی کنترل مثبت واجد ژن *bla_{SPM}* چاهک ۳: نمونه‌ی کنترل مثبت واجد ژن *bla_{SIM}*.



شکل ۲: الکتروفورز محصول Multiplex PCR ژن‌های *bla_{SPM}*, *bla_{IMP}* و *bla_{SIM}* بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد. *M*: ماکر وزن مولکولی (۱۰۰ bp)، چاهک ۱: نمونه‌ی کنترل مثبت واجد ژن‌های *bla_{SPM}*, *bla_{IMP}* و *bla_{SIM}* چاهک ۲: نمونه‌ی بالینی واجد ژن *bla_{IMP}*. چاهک ۳: نمونه‌ی بالینی واجد ژن‌های *bla_{IMP}* و *bla_{SIM}* چاهک ۴: نمونه‌ی بالینی واجد ژن‌های *bla_{SPM}*, *bla_{IMP}* و *bla_{SIM}* چاهک ۵: نمونه‌ی بالینی واجد ژن *bla_{SIM}* چاهک ۶: نمونه‌ی بالینی واجد ژن *bla_{SPM}* چاهک ۷: نمونه‌ی بالینی واجد ژن‌های *bla_{IMP}* و *bla_{SPM}* چاهک ۸: نمونه‌ی بالینی واجد ژن‌های *bla_{SIM}* و *bla_{SPM}*.

بحث

متالوبتالاکتامازها به دلیل ایجاد مقاومت به کاربامپنم‌ها که از موثرترین آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده علیه عفونت‌های سودوموناسی هستند، بسیار قابل توجه می‌باشند. افزایش مصرف داروهای بتالاکتام و بستری طولانی مدت بیماران، باعث انتشار باکتری‌های مولد MBL بین سویه‌های مختلف باکتری‌ها شده است. نکته‌ی قابل توجه در مورد نوع نمونه و فراوانی ژن‌های مورد مطالعه در این تحقیق، این است که سویه‌های جدا شده از نمونه‌های ادرار حامل ژن‌های مقاومتی بیشتری بودند، با توجه به اینکه آنزیم‌های MBL داخل اینتگرون واقع شده و توانایی ادغام در پلاسمید یا کروموزوم را دارند، لذا قابلیت انتقال به سایر پاتوژن‌های ادراری از جمله اشریشیاکلی را دارند.

نتایج آنتی‌بیوگرام به دست آمده از مطالعات قبلی انجام گرفته در ایران، حاکی از افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سال‌های اخیر می‌باشد. طی مطالعه‌ای که صادری و همکاران در سال ۲۰۱۰ در تهران انجام دادند، درصد مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به آمیکاسین، جنتامیسین، سفنازیدیم و سیپروفلوکساسین به ترتیب ۷۳، ۸۶، ۷۳، ۵۵ درصد گزارش گردید. در مطالعه‌ی ما میزان مقاومت نسبت به این آنتی‌بیوتیک‌ها پایین بود که احتمالاً به دلیل تفاوت در نحوه‌ی درمان و آنتی‌بیوتیک‌های تجویز شده باشد (۱۰). در مطالعه‌ی دیگری که توسط فولادی در سال ۸۹ در تهران انجام گرفت، میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های آمیکاسین، سفوناکسیم، جنتامیسین، سیپروفلوکساسین و سفنازیدیم به ترتیب ۸۶/۴، ۴۳/۶، ۲۵/۵، ۲۰/۹، ۲۰/۹ درصد بود، که در مقایسه با مطالعه‌ی ما تفاوت برای جنتامیسین و سفنازیدیم قابل توجه می‌باشد (۱۱). در تحقیق حاضر ۸۰ درصد از باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزا دارای ژن *blaIMP* ۵۷/۱ درصد از باکتری‌ها دارای ژن *blaSPM* ۱۴/۳ درصد از باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزا دارای ژن *blaSIM* بودند. همه‌ی

باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزا جداسازی شده که از لحاظ فنوتیپی دارای MBL مثبت بودند، حداقل دارای یک ژن MBL مورد مطالعه، و برخی هر سه ژن مورد بررسی را دارا بودند. در مطالعه‌ای که گومز و همکاران در سال ۲۰۱۰ برای شناسایی متالوبتالاکتامازها در سودوموناس‌های مقاوم به ای‌می‌پنم انجام دادند، نشان داده شد که ۳۴/۵ درصد از نمونه‌های خون مقاوم به ای‌می‌پنم بودند. از بین نمونه‌های واجد آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز ۸۱ درصد حامل ژن *blaSPM* گزارش شد، در حالی که این میزان در مطالعه‌ی حاضر ۵۷/۱ درصد است، که به این ترتیب نسبت به مطالعه‌ی برزیل ۲۳/۹ درصد کمتر است، دلیل این تفاوت می‌تواند در ارتباط با منطقه‌ی خاص جغرافیایی باشد (۱۲). طی مطالعه‌ای که توسط الینگتون و همکاران بر روی ۶۰ ایزوله‌ی سودوموناس، کلبسیلا و اسیتوباکتر انجام گرفت، ۱۱ ایزوله مولد ژن *blaIMP* بودند در حالی که در مطالعه‌ی اخیر ۸۰ درصد سویه‌های مولد متالوبتالاکتاماز حامل ژن *blaIMP* بود. همچنین در مطالعه‌ی آن‌ها ایزوله‌ای که حامل ژن‌های *blaSPM* و *blaSIM* باشد، شناسایی نشد. در حالی که در مطالعه‌ی ما فراوانی این ژن‌ها به ترتیب ۵۷/۱ و ۱۴/۳ درصد بود، این میزان نشان‌دهنده‌ی افزایش فراوانی نمونه‌های *SPM* و *SIM* مثبت در سال‌های اخیر، در این منطقه می‌باشد (۱۳). در سال ۲۰۰۸ در تایوان مطالعه‌ای در مورد آنزیم‌های متالوبتالاکتامازها انجام شد که در این مطالعه ژن‌های *blaVIM*، *blaIMP*، *blaSIM*، *blaSPM* و *blaGIM* مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که ژن‌های *blaVIM*_{۲،۳،۱۱} در میان ایزوله‌ها دارای بیشترین میزان می‌باشند. ژن‌های *blaGIM*، *blaSPM*، *blaSIM* وجود نداشتند (۱۴). در بررسی که در سال ۲۰۰۸ در هند انجام شد ۲۰/۸ درصد از ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا مولد MBL بودند، که با مطالعه‌ی ما مطابقت داشت (۱۵). در مطالعه‌ی صادر و همکاران میزان شیوع ژن *blaSPM* ۵۵/۶ درصد گزارش شد که مشابه

۲ (۳ درصد) ایزوله حامل ژن *bla*_{IMP} گزارش شد، که این میزان در مقایسه با مطالعه‌ی ما بسیار پایین بود (۱۹). در مطالعه‌ی حاضر فراوانی ژن‌های متالوبتالاکتامازی بیشتر از مطالعات قبلی انجام گرفته در ایران است، که نشان دهنده‌ی افزایش شیوع سویه‌های مولد متالوبتالاکتامازها می‌باشد.

نتیجه‌گیری

با توجه به مقاومت روز افزون سودوموناس آئروژینوزا به داروهای ضد میکروبی بخصوص نسبت به ترکیبات بتالاکتام، امروزه شاهد سویه‌هایی با مقاومت چندگانه هستیم. یکی از دلایل این مقاومت به سبب تولید آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز می‌باشد، ژن‌های کد کننده متالوبتالاکتامازها اغلب بر روی اینتگرئون‌ها به‌ویژه اینتگرئون کلاس I قرار دارد، به علت سیار بودن این عناصر ژنتیکی انتشار این آنزیم‌ها در بخش‌های مختلف بیمارستان به وفور دیده می‌شود. به منظور جلوگیری از گسترش این سویه‌ها، شناسایی روتین این نوع مقاومت‌ها در آزمایشگاه‌های میکروبی‌شناسی باید مورد توجه قرار گیرد.

References

- 1- Sacha P, Wieczorek P, Hauschild T, Zórawski M, Olszańska D, Trynieszewska E. Metallo-beta-lactamases of *Pseudomonas aeruginosa*: a novel mechanism resistance to beta-lactam antibiotics. *Folia Histochem Cytobiol*. 2008; 46: 137-42.
- 2- Flalagas ME, Karageorgopoulos DE. Extended-spectrum β -lactamase-producing Organisms. *J Hospital Infection*. 2009; 73: 345-54.
- 3- Wilke MS, Lovering AL, Strynadka NCJ. B-lactam antibiotic resistance: a current structural perspective. *Curr Opin Microbiol*. 2005; 8: 525-33.

مطالعه‌ی ما بود و میزان شیوع *bla*_{IMP} ۸/۳ درصد مشاهده گردید. فراوانی *IMP* در مطالعه‌ی حاضر نسبت به مطالعه‌ی انجام گرفته در برزیل بسیار بالا بود، این بررسی نشان‌دهنده‌ی میزان شیوع بالای این ژن، در این ناحیه می‌باشد (۱۶). در بررسی که میهنی و همکاران انجام دادند ایزوله‌ای که حامل ژن *bla*_{IMP} باشد، شناسایی نشد، لیکن در مطالعه‌ی ما فراوانی این ژن ۸۰ درصد بود، این آمار بالا به نظر می‌رسد به دلیل ظهور باکتری‌های مقاوم و مولد MBL و الگوی درمانی وابسته به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام در مواجهه با بیماری‌ها، منجر به افزایش باکتری‌های مولد متالوبتالاکتاماز گردیده است (۱۷). در بررسی که سال ۲۰۰۷ توسط شکیبایی در کرمان، بر روی ۱۲۰ ایزوله سودوموناس آئروژینوزا انجام گرفت، هیچ ایزوله‌ای مولد MBL گزارش نگردید. مطالعات اخیر نشان دهنده‌ی افزایش مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها توسط متالوبتالاکتامازها در ایران می‌باشد (۱۸). در مطالعه‌ی آران‌گیری از ۱۶۷ ایزوله سودوموناس آئروژینوزا، ۷۰/۱ درصد ایزوله‌ها مولد MBL بودند، از بین این ایزوله‌ها،

- 4- Tsakris A, Ikonomidis A, Poulou A, et al. Clusters of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* clones producing different carbapenemases in an intensive care unit. *Clin Microbiol Infect*. 2008; 14: 588-94.
- 5- Pitout JDD, 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: 3129-35.
- 6- Mendiratta DK, Deotale V, Narang P. Metallo-beta-lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa* in a hospital from a rural area. *Indian J Med Res*. 2005; 121: 701-03.

- 7- Gupta V. Metallo-beta-lactamases in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* species. *Investing Drugs*. 2008; 17: 131-43.
- 8- Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 21th informational supplement. *CLSI document M100-S21*. 2011.
- 9- Elizabeth BH, Vincent HT. Impact of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infection on patient outcomes. *Expert Rev Pharmacoecon Outcomes Res*. 2010; 10: 441-51.
- 10- Saderi H, Lotfalipour H, Owlia P, Salimi H. Detection of metallo- β -lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients in Tehran, Iran. *Science*. 2010; 41: 10.
- 11- Imani Foolad AA, Rostami Z, Shapouri R. Antimicrobial resistance and ESBL prevalence in *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from clinical specimen by phenotypic and genotypic methods, Zanjan, Iran. *Iranian J Med Microbiol*. 2011; 10: 189-98.
- 12- Gomes FMR, Caiaffa-Filho HH, Burattin MN, Rossi F. Metallo-beta-lactamases among imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in a brazilian university Hospital. *Clin Sci*. 2010; 65: 825-29.
- 13- Ellington MJ, Kistler J, Livermore DM, Woodford N. Multiplex PCR for rapid detection of genes encoding acquired metallo-b-lactamases. *J Antimicrob Chemother*. 2007; 59: 321-22.
- 14- Lee MF, Peng CF, Hsu HJ, Chen YH. Molecular characterization of the metallo- β -lactamase genes in imipenem-resistant gram-negative bacteria from a university hospital in Southern Taiwan. *Int J Antimicrob Agents*. 2008; 32: 475-80.
- 15- Varaiya A, Kulkarni N, Kulkarni M, Bhalekar P, Dogra J. Incidence of metallo-beta-lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa* in ICU patients. *Indian J Med Res*. 2008; 127: 398-402.
- 16- Sader HS, Reis AO, Silbert S, Gales AC. IMPS, VIMs and SPMs: the diversity of metallo- β -lactamases produces by carbapenem-resitant *Pseudomonas aeruginosa* in a Brazillian hospital. *Clin Microbiol Infect*. 2005; 11: 73-6.
- 17- Mihani F, Khosravi A. Isolation of *Pseudomonas aeruginosa* strains producing metallo-beta -lactamases from infections in burned patients and identification of *bla_{IMP}* and *bla_{VIM}* genes by PCR. *Iranian J Med Microbiol*. 2007; 1: 23-31.
- 18- Shakibaie MR, Shahcheraghi F, Hashemi A, Adeli NS. Detection of TEM, SHV and PER type extended-spectrum- lactamase genes among clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burnt patients at shafa-Hospital, Kerman, Iran. *Iranian J Med Sci*. 2008; 11: 49-54.
- 19- Arunagiri K, Sekar B, Sangeetha G, John J. Detection and characterization of metallo- β -lactamases in *Pseudomonas aeruginosa* by phenotypic and molecular methods from clinical samples in a tertiary care hospital. *West Indian Med J*. 2012; 61: 778.

Determination of Antibiotic Resistance Profile and Frequency of Metallo-Beta- Lactamases in *Pseudomonas Aeruginosa* Isolates

Hemmati F¹, Sourouri Zanjani R², Haghi F¹, Zeighami H¹

¹Dept. of Microbiology, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran

²Dept. of Microbiology, School of Medicine, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Corresponding Author: Sourouri Zanjani R, Dept. of Microbiology, School of Medicine, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

E-mail: r_sorouri@yahoo.com

Received: 29 Sep 2013 **Accepted:** 2 Mar 2014

Background and Objective: *Pseudomonas aeruginosa* is an opportunistic pathogen and one of the most frequent pathogens in nosocomial infections. This bacterium shows high resistance to majority of antibiotics including β -lactams. The aim of this study was to investigate the pattern of antimicrobial resistance and evaluation of IMP, SPM and SIM Metallo- Beta- Lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa*, in clinical samples isolated from Zanjan hospitals, by phenotypic and PCR methods.

Materials and Methods: In this cross-sectional study, 120 *Pseudomonas aeruginosa* isolates were collected from the various clinical specimens in Zanjan hospitals from 2013 to 2014. After identification of isolates using biochemical tests, the antibiotic susceptibility test (Kirby-Baur method) was done according to CLSI advice against 7 antibiotics. The Combined Disk method was then carried out for detection of MBLs and the *bla*_{IMP}, *bla*_{SPM} and *bla*_{SIM} genes were determined by a PCR method.

Results: In this study, Cefotaxime and Amikacin with 43.3% and 21.6% showed the highest and lowest resistance against isolates, respectively. From a total of 120 isolates, 35 (29.2%) strains were imipenem resistant and metallo- beta-lactamase producer. From 35 MBL producing isolates, 28 (80%) strains, 20 (57.1%) strains and 5 (14.3%) strains carried *bla*_{IMP}, *bla*_{SPM} and *bla*_{SIM} genes, respectively and 1 (2.8%) isolate carried all *bla*_{IMP}, *bla*_{SPM} and *bla*_{SIM} genes.

Conclusion: According to the results, high prevalence of resistance to aztreonam and imipenem can be a warning against treatment process and distribution of resistance to other strains.

Keywords: Antibiotic resistance, Metallo-Beta-Lactamase, *Pseudomonas aeruginosa*