Archive of SID

نشریه علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی البرز، دوره ۵، شماره ۱، زمستان ۱۳۹۴، صفحات ۷-۱

بررسی ژن های *bla*-IMP-1 و*bla*-IMP-2 در سویه‌های *پسودموناس آئروژینوزا* تولید کننده متالوبتالاکتاماز جدا شده از بیماران سوختگی در اصفهان

محمد پوربابایی[1]، فرزانه فیروزه[1*]، محمود صفاری[1]، محمد زیبائی[2]، مجتبی صحت[3]، محسن رادان[1]

[1] گروه میکروب شناسی و ایمنی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، ایران
[2] گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی البرز، ایران
۳ مرکز تحقیقات تروما، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۹۴/۵/۱۲ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۰/۵

چکیده

زمینه و هدف: *پسودموناس آئروژینوزا* باکتری پاتوژن فرصت طلب ایجاد کننده عفونت به ویژه عامل عفونت در بیماران دچار زخم سوختگی می‌باشد. آنتی‌بیوتیک‌های خانواده کارباپنم به میزان بالایی در درمان عفونت‌های ناشی از ایزوله‌های *پسودموناس آئروژینوزا* دارای مقاومت چند گانه به کار می‌روند. جداسازی ایزوله‌های تولید کننده کارباپنماز یکی از نتایج تجویز و مصرف بی رویه کارباپنم‌ها می‌باشد. هدف از این مطالعه بررسی ژن های *bla*-IMP-1 و*bla*-IMP-2 در سویه‌های *پسودموناس آئروژینوزا* تولید کننده متالوبتالاکتاماز جدا شده از بیماران سوختگی در اصفهان می‌باشد.

مواد و روش‌ها: تعداد ۱۵۰ ایزوله *پسودموناس آئروژینوزا* از بیماران مبتلا به زخم سوختگی بستری در بخش سوختگی بیمارستان امام موسی کاظم اصفهان جداسازی گردید و در مطالعه حاضر وارد شد. باکتری با استفاده از تکنیک‌های بیوشیمیایی و میکروب شناسی شناسایی شد. تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی بر اساس دستورالعمل انستیتو استاندارد آزمایشگاه های بالینی(CLSI) انجام پذیرفت. آزمون دبل دیسک سینرژی تست جهت تعیین سویه‌های تولید کننده متالوبتالاکتاماز در ایزوله‌های *پسودموناس آئروژینوزا* مقاوم به ایمیپنم استفاده گردید. از روش PCR جهت بررسی حضور ژن‌های *bla*-IMP-1 و *bla*-IMP-2 در سویه‌های *پسودموناس آئروژینوزا* تولید کننده متالوبتالاکتاماز استفاده شد و محصولات PCR تعیین توالی گردید.

یافته ها: از ۱۵۰ ایزوله *پسودموناس آئروژینوزا* تمامی آنها به عنوان سویه‌های دارای مقاومت چند گانه شناسایی شدند. بیشترین مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین، توبرامایسین، ایمیپنم، مروپنم و آمیکاسین مشاهده گردید. تمامی ۱۴۴ سویه *پسودموناس آئروژینوزا* مقاوم به ایمیپنم به عنوان سویه‌های تولید کننده متالوبتالاکتاماز شناسایی شدند. از میان سویه‌های تولید کننده متالوبتالاکتاماز، (۱۹/۳٪) ۲۹ و (۵/۳٪) ۸ سویه به ترتیب حامل ژن‌های *bla*-IMP-1 و *bla*-IMP-2 تشخیص داده شدند.

بحث ونتیجه‌گیری: براساس نتایج این تحقیق. مقاومت سطح بالا به ایمیپنم همراه با تولید بالای متالوبتالاکتاماز در میان سویه *های پسودموناس آئروژینوزا* جدا شده از بیماران دچار عفونت زخم سوختگی در منطقه ما وجود دارد.

کلمات کلیدی: *پسودموناس آئروژینوزا*، عفونت سوختگی، متالوبتالاکتاماز، *bla*-IMP-1، *bla*-IMP-2

[*] **نویسنده مسئول:**
استادیار گروه میکروب شناسی و ایمنی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، ایران

۰۳۱-۵۵۵۴۰۰۲۱
E-mail: ffiroozeh@ ut.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

علی رغم پیشرفت در درمان آنتی‌بیوتیکی عفونت‌های باکتریایی یک مشکل عمده در مدیریت درمـان بیمـاران سـوختگی محسـوب می‌شود به طوری که حدود سه چهارم موارد مـرگ و میـر ناشـی از سوختگی ناشی از عفونت‌ها می‌باشد.[۱۱] *پسودموناس آئروژینوزا* یکی از عوامـل معمـول ایجادکننـده عفونـت بیمارسـتانی بـه ویـژه در بخش‌های سوختگی مـی‌باشـد و علـی رغـم درمـان آنتـی‌بیـوتیکی گسترده، موارد مرگ و میر در عفونت‌های پیشرونده در این بیماران بسـیار بـالا مـی‌باشـد.[۱۸] یـک افـزایش رو بـه رشـد از سـویه‌هـای *پسودموناس آئروژینوزا* مقاوم به چند آنتی‌بیوتیـک (دارای مقاومـت آنتی‌بیوتیکی چند گانه) در سراسر جهان گزارش گردیـده اسـت.[۲و۶] مکانیسم‌های مختلف ایجـاد مقاومـت در سـویه‌هـای *پسـودموناس آئروژینوزا* وجود دارد. یکی از مکانیسم‌های مقاومت، ایجاد مقاومت بـه کاربـاپنم‌هـا در *پسـودموناس آئروژینـوزا* ، ایجـاد آنـزیم‌هـای متالوبتالاکتاماز می‌باشـد کـه موجـب هیـدرولیز تمـامی کاربـاپنم‌هـا می‌گردد.[۱۷] از آنجایی که کارباپنم‌ها به ویژه ایمی پنم داروی انتخابی درمان عفونت‌های ناشی از سویه‌های *پسودموناس آئروژینوزا* مقـاوم به سفالوسپورین‌های وسیع الطیف می‌باشد، عدم موفقیت در درمـان عفونت‌های ناشی از سویه‌های مقاوم به ایمیپنم یکـی از مشـکلات بهداشتی پر اهمیت می‌باشـد.[۹و۱۳] متالوبتالاکتامازهـا جـزء کـلاس B گروه بندی امبلر (class B Ambler) می‌باشـند و توانـایی هیـدرولیز تمامی آنتی‌بیوتیـک‌هـای بتالاکتـام بـه غیـر از آزترونـام را دارنـد.[۱۲] متالوبتالاکتامازهای تیپ‌های VIM و IMP به دلیل داشتن خاصـیت انتقال ما بین گونه‌های ایجاد کننده عفونت‌های بیمارستانی به ویـژه *پسودموناس آئروژینوزا* از اهمیـت بسـیار بـالاتری برخوردارنـد.[۱۲] واریانت IMP-1 آنزیم اولین بار در ژاپن در سال ۱۹۹۱ در سویه‌های *پسودموناس آئروژینوزا* گزارش گردید، اما پس از آن تیپ‌های دیگر متالوبتالاکتاماز در باسیل‌های گرم منفی در نقاط مختلف دنیا گزارش گردید.[۲۰] شـیوع سـویه‌هـای *پسـودموناس آئروژینـوزا* تولیـد کننـده متالوبتالاکتاماز از تیپ‌های VIMو IMP در مناطق مختلف جهان رو به افزایش است.[۳،۵،۱۰و۱۴] مطالعات فنوتیپی و ژنوتیپی سویه‌های تولید کننده آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز می‌تواند در درک بهتر مکانیسـم‌هـای دخیل در گسترش سویه‌های مقاوم فوق بسیار کمـک کننـده باشـد. بنابر این هدف از این مطالعه بررسی ژن هـای *bla*-IMP-1 و *bla*-IMP-2 در سویه‌های *پسودموناس آئروژینوزا* تولیـد کننـده متالوبتالاکتامـاز جدا شده از بیماران سوختگی در اصفهان می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه‌ها

مطالعه حاضر یک مطالعه مقطعی- توصیفی می‌باشد. تعداد ۱۵۰ ایزوله *پسودموناس آئروژینوزا* از بیماران مبـتلا بـه زخـم سـوختگی بستری در بخش سوختگی بیمارستان امام موسی کاظم اصـفهان در طی یکسال جمع آوری گردید. بیماران شامل هردو جـنس مـذکر و مونث بودند و از هر بیمار پس از شستشوی سـطح زخـم بـا نرمـال سالین، یک نمونه گیری توسط سـواپ اسـتریل از ترشـحات زخـم سوختگی، عمق و لبه ضایعات بعمل آمده و نمونـه هـای بـالینی در شـرایط اسـتریل بـه آزمایشـگاه میکـروب شناسـی منتقـل شـدند. سویه‌های باکتری *پسودموناس آئروژینوزا* بـا اسـتفاده از روش‌هـای استاندارد و تست‌های بیوشیمیایی بر اساس منابع معتبـر شناسـایی و تاییـد گردیدنـد.[۱۵] تسـت‌هـای بیوشـیمیایی تاییـد کننـده جـنس *پسودموناس* شامل کاتالاز، اکسیداز، تست‌های سری IMViC، OF (اکسیداسیون/ تخمیر)، تولید H_2S، رشد در ۴۲°C، رشـد در حضـور ستریماید، تولید رنگدانه، تولید بوی انگور شیرین و همولیز بودند.[۱۵]

تعیین الگوی مقاومت و حساسیت آنتی‌بیوتیکی

الگوی مقاومت آنتـی‌بیـوتیکی بـه روش دیسـک دیفیـوژن بـر اساس دستورالعمل انستیتو استاندارد آزمایشگاه های بـالینی(CLSI) انجام پذیرفت.[۴] آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی شامل: کلیستین، پلـی میکسـین B، پیپراسـیلین/تازوباکتـام، آزترونـام، سـفپیم، سـفتازیدیم، آمیکاسین، مروپنم، ایمیپنم، توبرامایسین و سیپروفلوکساسین بودنـد. دیسـک‌هـای آنتـی‌بیوتیـک بـر اسـاس جـداول CLSI انتخـاب و از شـــــرکت MAST تهیـــــه گردیدنـــــد. از ســـــوش *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 به عنـوان کنتـرل کیفـی استفاده شد. جهت انجام آزمون به کمک سوآپ استریل مقـداری از

www.SID.ir

Archive of SID

کشت خالص باکتری را درون لوله حاوی سرم فیزیولوژی استریل انتقال داده پس از تهیه سوسپانسیون یکنواخت و مقایسه با کدورت استاندارد نیم مک فارلند سوآپ استریل به سوسپانسیون میکروبی استاندارد آغشته و بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار (Merck) کشت چمنی داده شد.سپس به کمک پنس استریل دیسک‌ها روی محیط مولر هینتون تلقیح شده قرار داده شد و به مدت ۱۸-۱۶ساعت انکوبه گردید. سپس قطر هاله عدم رشد با خط کش و بر حسب میلی متر اندازه گرفته شد و پس از مقایسه باجداول CLSI نتایج به صورت حساس، میانه و مقاوم گزارش گردید.[۴]

شناسایی فنوتیپی ایزوله‌های مولد متالوبتالاکتاماز به روش دبل دیسک سینرژی تست

سویه‌های *پسودموناس آئروژینوزا* مقاوم به ایمیپنم جهت شناسایی سویه‌های تولید کننده متالوبتالاکتاماز مورد آزمون (EDTA-IMP DDST) دبل دیسک سینرژی قرار گرفتند. در این روش دیسک‌های ایمیپنم به تنهایی و دیسک حاوی ایمیپنم و EDTA (اتیلن دی آمین ترا استیک اسید) در مرکز پلیت حاوی کشت چمنی از سوسپانسیون ۲۴ ساعته باکتری در فاصله ۲۵ میلیمتر قرارگرفته و در ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۱۶-۲۴ ساعت انکوبه گردید و نتایج به صورت افزایش ≥۷ میلیمتر قطر هاله ممانعت از رشد در اطراف دیسک حاوی ممانعت کننده آنزیم نسبت به دیسک ایمیپنم به تنهایی نشان دهنده تولید متالوبتالاکتاماز قرائت گردید.

استخراج DNA در سویه‌های *پسودموناس آئروژینوزا* تولید کننده متالوبتالاکتاماز

استخراج DNA در سویه‌های *پسودموناس آئروژینوزا* تولید کننده متالوبتالاکتاماز به روش جوشاندن انجام شد. در این روش ابتدا ۱ cc از سوسپانسیون ۲۴ ساعته باکتری در محیط نوترینت براث را در میکروتیوب ریخته و با دور ۱۰۰۰۰به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ کرده و مایع رویی را خالی نموده و۳۰۰ میکرولیتر آب دو بار تقطیر شده روی آن ریخته وکاملا" حل کرده، ۱۰ دقیقه در دمای جوش جوشانده و سپس در دور ۱۴۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ نموده مایع رویی حاوی DNA است که به آرامی برداشته و در میکروتیوب جمع آوری گردید. با استفاده از اسپکتروفتومتر نانودراپ غلظت DNA استخراجی ۱/۵۵ میکروگرم بر میلی لیتر و نسبت جذب نوری (OD) در طول موج ۲۶۰ نانومتر به طول موج ۲۸۰ نانومتر، ۱/۸۲۴ بود که نشان داد کیفیت DNA استخراجی مطلوب بود.

بررسی حضور ژن‌های *bla*-IMP-1 و *bla*-IMP-2 با روش PCR

جهت بررسی حضور ژن‌های *bla*-IMP-1 و *bla*-IMP-2 از روش PCR بر اساس مطالعات قبلی و با استفاده از پرایمرهای اختصاصی(جدول ۱) استفاده گردید.[۱۶] جهت تکثیر ژن‌های مورد مطالعه مخلوط PCR در حجم نهایی ۲۵ µl شامل : ۵ میکرولیتر DNA استخراج شده ، ۰/۲۵ میکرو لیتر آنزیم Taq DNA Polymerase، ۲/۵ میکرو لیتر بافر PCR ، ۰/۷۵ میکرولیتر MgCl2 ، ۰/۵ میکرولیتر dNTP ، ۱میکرولیتر از هر پرایمر (سیناژن، ایران) تهیه شد. واکنش PCR در دستگاه ترموسایکلر مدل (Eppendorf master cycler®, MA) انجام و چرخه‌های دمایی واکنش شامل: واسرشت اولیه در ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۵ سیکل متشکل از واسرشت در ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت یک دقیقه، اتصال در ۵۵ درجه سانتیگراد به مدت یک دقیقه، طویل شدن در ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۹۰ ثانیه و طویل شدن نهایی در ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۷ دقیقه بودند. محصولات PCR پس از الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۲ درصد و رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید (0.5 mg/ml) در زیر نور UV مشاهده گردید.

تعیین توالی و ترادف ژن‌های *bla*-IMP-1 و *bla*-IMP-2

یک نمونه از محصولات PCR با اندازه باند متفاوت جهت تعیین توالی به شرکت Macrogen Research, Seoul, Korea ارسال و نتایج با استفاده از نرم افزار Chromas Pro version1.7.5 Technelysium تجزیه تحلیل و با ترادف‌های مشابه ثبت شده در GenBank مقایسه گردید.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱: ژنهای مورد بررسی ،پرایمرهای مورد مطالعه و سکانس آنها و سایز محصولات PCR

نام ژن	′۳→′۵ توالی پرایمر	طول قطعه	منبع
bla-IMP-1	Forward: ACC GCA GCA GAG TCT TTG CC Reverse: ACA ACC AGT TTT GCC TTA CC	۵۸۷	۸
bla-IMP-2	Forward: GTT TTA TGT GTA TGC TTC C Reverse: AGC CTG TTC CCA TGT AC	۶۷۸	۸

جدول ۲: مقاومت و حساسیت سویه‌های *پسودموناس آئروژینوزا* جدا شده از بیماران مبتلا به زخم سوختگی بستری در بیمارستان امام موسی کاظم اصفهان

آنتی‌بیوتیک	سویه‌های باکتری تعداد (درصد)		
	حساس	حد وسط	مقاوم
کلیستین	۱۵۰(۱۰۰)	۰(۰)	۰(۰)
پلی میکسین B	۱۵۰(۱۰۰)	۰(۰)	۰(۰)
پیپراسیلین/تازوباکتام	۴۲(۲۸)	۲(۱/۳)	۱۰۶(۷۰/۷)
آزترونام	۱۸(۱۲)	۳(۲)	۱۲۹(۸۶)
سفپیم	۱۱(۷/۳)	–	۱۳۹(۹۲/۷)
سفتازیدیم	۷(۴/۷)	-	۱۴۳(۹۵/۳)
آمیکاسین	۶(۴)	-	۱۴۴(۹۶)
مروپنم	۶(۴)	-	۱۴۴(۹۶)
ایمی پنم	۶(۴)	-	۱۴۴(۹۶)
توبرامایسین	۵(۳/۳)	-	۱۴۵(۹۶/۷)
سیپروفلوکساسین	۵(۳/۳)	-	۱۴۵(۹۶/۷)

یافته‌ها

نتایج مطالعه حاضر نشان داد از میان ۱۵۰ ایزوله *پسودموناس آئروژینوزا* جدا شده از بیماران مبتلا به زخم سوختگی بستری در بخش سوختگی بیمارستان امام موسی کاظم اصفهان،۶۹ (۴۶٪) مورد از زنان و ۸۱(۵۴٪) از مردان جداسازی گردید. بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین و توبرامایسین (۹۶/۷٪) مشاهده گردید و حساس‌ترین آنتی‌بیوتیک‌ها شامل کلیستین و پلی میکسین B بودند (جدول ۲). نتایج بررسی الگوی مقاومت سویه‌های *پسودموناس آئروژینوزا* نشان داد تمامی سویه‌های مورد مطالعه دارای فنوتیپ MDR بوده و به بیش از دو کلاس آنتی‌بیوتیکی مقاومت نشان دادند. همچنین بیشترین سویه‌های MDR (۶۰/۷٪) در مطالعه حاضر سویه‌های دارای مقاومت به ۹ آنتی‌بیوتیک از ۱۱ آنتی‌بیوتیک مورد مطالعه بودند (جدول ۳). از میان سویه‌های *پسودموناس آئروژینوزا* مقاوم به ایمیپنم، ۱۰۰ درصد آنها با روش تاییدی فنوتیپی دبل دیسک سینرژی تست تولید کننده متالوبتالاکتاماز تشخیص داده شدند. با روش PCR (۱۹/۳٪) ۲۹ و (۵/۳٪) ۸ سویه‌های *پسودموناس آئروژینوزا* تولید کننده متالوبتالاکتاماز به ترتیب دارای ژن های *bla*-IMP-1 و *bla*-IMP-2 بودند (شکل ۱) و توالی آنها پس از بررسی و مقایسه با ترادف‌های مشابه ثبت شده در GenBank مشابه بودند.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳: الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های MDR *پسودموناس آئروژینوزا* جدا شده از بیماران مبتلا به زخم سوختگی بستری در بیمارستان امام موسی کاظم اصفهان

الگوی فنوتیپی سویه‌های MDR	الگوی مقاومت	تعداد ایزوله	درصد
AMK ,CIP, IMP, MEM, AZT,CAZ, CPM, PTZ,TOB	۹ مقاومتی	۹۱	۶۰/۷
AMK ,CIP, IMP, MEM, AZT,CAZ, CPM, TOB AMK ,CIP, IMP, MEM, CAZ, CPM, PTZ,TOB CIP, IMP, MEM, AZT,CAZ, CPM, PTZ,TOB	۸ مقاومتی	۳۱	۲۰/۶
AMK ,CIP, IMP, MEM, CAZ, CPM, TOB AMK ,CIP, IMP, AZT,CAZ, CPM, TOB AMK ,CIP, IMP, AZT, CPM, PTZ, TOB	۷ مقاومتی	۱۳	۸/۷
AMK ,CIP, IMP, MEM, CAZ, TOB AMK , IMP, MEM, CAZ, CPM, TOB AMK ,CIP, IMP, MEM, CAZ, CPM AMK ,CIP, MEM, CAZ, CPM, ,TOB IMP, MEM, AZT,CAZ, CPM, TOB	۶ مقاومتی	۱۰	۶/۷
AMK ,CIP, CAZ, CPM, TOB	۵ مقاومتی	۲	۱/۳
CIP, CAZ, CPM, TOB AMK, CAZ, CPM,TOB	۴ مقاومتی	۲	۱/۳
AMK, CAZ, CPM	۳ مقاومتی	۱	۰/۷
جمع		۱۵۰	۱۰۰

AMK: آمیکاسین،CIP: سیپروفلوکساسین،IMP: ایمیپنم، MEM: مروپنم،AZT: آزترونام، CAZ: سفتازیدیم، CPM: سفپیم، PTZ: تازوباکتام/ پیپراسیلین،TOB: توبرامایسین

بحث و نتیجه‌گیری

در سال‌های اخیر مقاومت به کاربانم‌ها ناشی از تولید آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز به ویژه از تیپ IMP در سویه‌های *پسودموناس آئروژینوزا* در مناطق مختلف جهان رو به گسترش است.[۲۰] در مطالعه حاضر بیشترین مقاومت در سویه‌های *پسودموناس آئروژینوزا* نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین و توبرامایسین ایجاد شده همچنین مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های ایمیپنم و مروپنم بسیار بالا مشاهده گردید.

در مطالعه انجام شده در زنجان در ۲۰۱۱-۲۰۱۲ بر روی سویه‌های *پسودموناس آئروژینوزا* جدا شده از نمونه‌های بالینی میزان مقاومت به سیپروفلوکساسین ۴۰/۶٪ و نیز مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های ایمیپنم و مروپنم به ترتیب ۶۳/۸٪ و ۹۸/۶٪ گزارش گردید که در مورد مقاومت به مروپنم با مطالعه حاضر هماهنگ بوده اما در مورد مقاومت به سیپروفلوکساسین و ایمیپنم مقاومت در میان سویه‌های مطالعه حاضر بسیار بالاتر می‌باشد.[۶]

در سایر مطالعات در ایران و سایر مناطق مقاومت به ایمیپنم از ۹۸/۱٪ در *پسودموناس آئروژینوزا* جدا شده در بیماران سوختگی تا ۳۴/۵٪ متغیر می‌باشد.[۱و۸] با توجه به اهمیت ایمیپنم در درمان عفونت‌های بیمارستانی ناشی از *پسودموناس آئروژینوزا*، وجود چنین مقاومت بالایی به ویژه در بیماران مبتلا به عفونت سوختگی ناشی از *پسودموناس آئروژینوزا* بسیار با اهمیت بوده و خطر جدی در درمان بیماران فوق می‌باشد. یافته‌های حاصل از بررسی سویه‌های با فنوتیپ MDR نشان داد که تمامی سویه های*پسودموناس آئروژینوزای* مورد مطالعه دارای مقاومت چندگانه بوده و بیشترین درصد را سویه‌های دارای مقاومت به ۹ آنتی‌بیوتیک از ۱۱ آنتی‌بیوتیک بررسی شده تشکیل می‌دادند که این نتیجه با نتیجه مطالعات انواری نژاد در شیراز هماهنگی دارد[۱] و می‌تواند به دلیل فشار انتخابی بالا ناشی از مصرف بالای آنتی‌بیوتیک در بخش سوختگی و یا انتخاب شدن و تکثیر یک کلون مقاوم در بخش سوختگی باشد اگر چه جهت اثبات نیاز به بررسی‌های بیشتر با روش‌های تایپینگ دقیق مانند پالس فیلد ژل الکتروفورزیس (PFGE) می‌باشد. در این مطالعه تولید متالوبتالاکتاماز در سویه‌های

www.SID.ir

Archive of SID

پسودموناس آئروژینوزا مقاوم به ایمیپنم، ۱۰۰ درصد برآورد گردید که در سایر مطالعات مانند مطالعه انجام شده در سایر مناطق ایران و برزیل نتایج مشابهی به دست آمده است.[۷و۱۶] یافته ارزشمند دیگر در مطالعه حاضر حضور ژن‌های *bla*-IMP-1 و *bla*-IMP-2 به ترتیب با فراوانی ۱۹/۳٪ و ۵/۳٪ در میان سویه‌های *پسودموناس آئروژینوزا* تولید کننده متالوبتالاکتاماز می‌باشد. در مطالعه انجام شده در زنجان ۲۴/۴٪ از سویه‌های *پسودموناس آئروژینوزا* مقاوم به ایمیپنم حاوی ژن *bla*-IMP-1 بودند.[۶] همچنین در مطالعات انجام شده در ژاپن ۶۴/۴٪ و ۰/۶٪ سویه‌های *پسودموناس آئروژینوزا* به ترتیب حامل ژن‌های *bla*-IMP-1 و *bla*-IMP-2 بودند که از لحاظ بالاتر بودن فراوانی ژن *bla*-IMP-1 با مطالعه حاضر هماهنگی دارد.[۱۹] تولید آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز در سایر سویه‌های *پسودموناس آئروژینوزا* متالوبتالاکتاماز مثبت می‌تواند ناشی از سایر تیپ‌های آنزیم متالوبتالاکتاماز در آنها باشد. در نهایت بر اساس نتایج این تحقیق با توجه به عدم وجود مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌هایی مانند کلیستین و پلی میکسین B، استفاده از این آنتی‌بیوتیک‌ها در رژیم درمانی عفونت‌های سوختگی ناشی از *پسودموناس آئروژینوزا* توصیه می‌گردد همچنین مشاهده گردید که مقاومت سطح بالا به ایمیپنم همراه با تولید بالای آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز در میان سویه‌های *پسودموناس آئروژینوزا* جدا شده از بیماران دچار عفونت زخم سوختگی در منطقه ما وجود دارد.

منابع

1. Kalantar E, Torabi V, Salimizand H, et al. Incidence and susceptibility pattern of metallo-beta-lactamase producers among *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients at Kurdistan Province. Jundishapur J Microbiol 2012;5(3):507-510.
2. Sepehriseresht S, Boroumand MA, Pourgholi L, et al. Detection of vim- and ipm-type metallo-beta-lactamases in *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. Arch Iran Med 2012;15(11):670-673.
3. Behera B, Mathur P, Das A, et al. An evaluation of four different phenotypic techniques for detection of metallo-beta-lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa*. Indian J Med Microbiol 2008;26(3):233-237.
4. Doosti M, Ramazani A, Garshasbi M. Identification and characterization of metallo-β- lactamases producing *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates in University Hospital from Zanjan Province, Iran. Iran Biomed J 2013;17(3):129-133.
5. Rodrigues AC, Chang MR, Nobrega GD, et al. Metallo-betalactamase and genetic diversity of *Pseudomonas aeruginosa* in intensive care units in Campo Grande, MS, Brazil. Braz J Infect Dis 2011;15(3):195-199.
6. Gómez MP, Baudrit JV, Corrales SN. Overview of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and novel therapeutic approaches . J Biomater Nanobio 2012;3:519-527.
7. Lee K, Lim YS, YongD, et al. Evaluation of the hodge test and the imipenem-EDTA double-disk synergy test for differentiating metallo-β-lactamase-producing isolates of *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. J Clin Microbiol 2003;10(41):4623-4629.
8. Koh TH, Wang GCY, Sng LH. IMP-1 and a novel metallo-β-lactamase, VIM-6, in fluorescent *Pseudomonads* isolated in Singapore. Antimicrob Agents Chemother 2004;48(6):2334–2336.
9. Shin KS, Son BR, Koo SH, et al. Evaluation of dipicolinic acid-based mueller hinton agar biplate for detection of IMP-1 and VIM-2 type metallo-β-lactamase in imipenem non-susceptible gram negative bacilli. Korean J Lab Med 2009; 29:204-211.
10. Chin BS, Han SH, Choi SH, et al. The characteristics of metallo-beta-lactamase producing gram-negative bacilli isolated from sputum and urine: a single center experience in Korea. Yonsei Med J 2011;52(2):351-357.
11. Dong F, Xu XW, Song WQ, et al. Characterization of multidrug-resistant and metallobeta- lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolates from a paediatric clinic in China. Chin Med J (Engl) 2008;121(17):1611-1616.
12. Juan C, Zamorano L, Mena A, et al. Metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas putida* as a reservoir of multidrug resistance elements that can be transferred to successful Pseudomonas aeruginosa clones. J Antimicrob Chemother 2010;65(3):474-478.
13. Lepsanovic Z, Libisch B, Tomanovic B, et al. Characterization of the first VIM metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate in Serbia. Acta Microbiol Immunol Hung 2008;55(4):447-454.
15. Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G. Textbook of Diagnostic Microbiology. 4th ed. editor & editors: Saunders Company; 2011.

www.SID.ir

Archive of SID

16. Shibata N, Doi Y, Yamane K, et al. PCR typing of genetic determinants for metallo-β-lactamases and integrases carried by gram-negative bacteria isolated in Japan, with focus on the class 3 integron. J Clin Microbiol 2003; 41: 5407 –5413.

17. Anvarinejad M, Japoni A, Rafaatpour N, et al. Burn patients infected with metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa*: multidrug-resistant strains. Arch Trauma Res 2014;3(2): e18182.

18. Franco MRG, Caiaffa-Filho HH, Burattini MN, et al. Metallo-beta-lactamases among imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in a Brazilian university hospital.Clinics 2010;65(9):825-829.

19. Farajzadeh Sheikh A, Rostami S, Jolodar A, et al. Detection of metallo-beta lactamases among carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. Jundishapur J Microbiol 2014;**7**(11): e12289.

20. Rizek C, Fu L, Dos Santos LC, et al. Characterization of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates, carrying multiple genes coding for this antibiotic resistance. Clin Microbiol Antimicrob 2014;13(43):1-5.

www.SID.ir