مجلـه‌ی علمـی، پژوهشـــی دانشـگاه علـوم پزشـکی زنجـــان
دوره‌ی ۲۱، شماره‌ی ۸۷، مهر و آبان ۱۳۹۲، صفحات ۷۳ تا ۸۲

تعیین فراوانی سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* مولد متالو- بتا-لاکتامازجدا شده از نمونه‌های بالینی به روش دیسک ترکیبی Imipenem-EDTA در اهواز

محمد رحیم زاده[۱]، دکتر سیدمجتبی موسویان[۲]، سعید شجاع[۳]

نویسنده‌ی مسول: اهواز، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، دانشکده‌ی پزشکی، گروه میکروب شناسی moosavian_m@yahoo.com

دریافت: ۹۱/۱۲/۲۶ پذیرش: ۹۲/۴/۲۴

چکیده

زمینه وهدف: *سودوموناس آئروژینوزا یک عامل سببی عفونت‌های بیمارستانی است. متالو- بتا -لاکتامازها (MBLs) یکی از مهم‌ترین عوامل ایجاد مقاومت به داروهای کارباپنم در سودوموناس آئروژینوزا است. با توجه به‌اهمیت داروهای کارباپنم در درمان عفونت‌های ناشی از سودوموناس، در این بررسی ایزوله‌های بالینی سودوموناس آئروژینوزای تولید کننده‌ی متالو- بتا- لاکتاماز مورد مطالعه قرار گرفتند.*

روش بررسی: *برای انجام این تحقیق ۲۳۶ ایزوله سودوموناس آئروژینوزا از نمونه‌های بالینی بیماران بستری در بیمارستان‌های آموزشی گلستان و امام خمینی اهواز مورد مطالعه قرار گرفتند. بعد از تعیین هویت این ایزوله‌ها با استفاده از تست‌های بیوشیمیایی استاندارد، نسبت به تعیین مقاومت آن‌ها در برابر ده آنتی‌بیوتیک رایج از طریق دیسک دیفیوژن و بر اساس پروتکل CLSI اقدام گردید. سپس سویه‌های مقاوم به ایمیپنم، تولید کننده‌ی MBLs با روش فنوتیپی دیسک ترکیبی IPM-EDTA، مورد شناسایی قرار گرفتند.*

یافته‌ها: *در بین ۲۳۶ ایزوله سودوموناس آئروژینوزای مورد بررسی، ۱۲۲ ایزوله (۵۱/۴ درصد) به ایمیپنم مقاوم بودند. نتایج حاصل از روش دیسک ترکیبی Imipenem-EDTA نشان داد که تعداد ۱۱۰/۱۲۲ ایزوله (۹۰ درصد) واجد متالو- بتا- لاکتاماز بودند.*

نتیجه‌گیری: *با توجه به‌اینکه سویه‌های سودوموناس آئروژینوزای تولیدکننده‌ی متالو- بتا- لاکتاماز به تمام آنتی‌بیوتیک‌های بتا-لاکتام مقاوم هستند، لذا تعیین سویه‌های مقاوم به ایمیپنم که خود تولیدکننده‌ی بتا- لاکتاماز می‌باشند، می‌تواند پزشک را در انتخاب آنتی‌بیوتیک مناسب کمک نموده، بهبودی بیماران مبتلا به عفونت ناشی از این باکتری‌ها را تسریع نماید.*

واژگان کلیدی: ***سودوموناس آئروژینوزا، روش دیسک ترکیبی Imipenem-EDTA، متالو- بتا- لاکتاماز***

مقدمه

سودوموناس‌ها باسیل‌های گرم منفی، هوازی و متحرک هستند. *سودوموناس آئروژینوزا* مسوول بروز عفونت‌های بیمارستانی هستند که از بخش‌های مختلف بیمارستانی در سرتاسر جهان جدا می‌گردند. همچنین این ایزوله‌ها مسوول عفونت‌های جدی از جمله سپتی سمی و پنومونی هستند. به دلیل توانایی‌های وسیع متابولیکی و ژنتیکی

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد میکروب شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، واحد بین الملل اروند، گروه میکروب شناسی

۲- دکترای تخصصی میکروب شناسی پزشکی، دانشیار دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز و مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری

۳- دانشجوی دکترای تخصصی میکروب شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، دانشکده‌ی پزشکی، گروه میکروب شناسی

سودوموناس آئروژینوزا از قبیل نفوذناپذیری نسبی غشای خارجی باکتری، پمپ‌های تراوشی، آنزیم‌های کروموزومی و پلاسمیدی تجزیه کننده‌ی آنتی‌بیوتیک‌ها، این باکتری یکی از مقاوم‌ترین میکروارگانیسم‌ها نسبت به داروها است. گزارشات اخیر نشان می‌دهند که انتشار سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* مقاوم به کارباپنم رو به افزایش بوده، مقاومت این باکتری‌ها به کارباپنم‌ها اغلب در ارتباط با تولید متالو-بتا-لاکتامازها مطرح می‌باشد (۱). عفونت‌های باکتریال زخم‌های سوختگی عامل اصلی بیماری و مرگ و میر در یک واحد سوختگی است و سخت‌ترین عفونت‌ها به‌وسیله‌ی ارگانیسم‌های گرم منفی و از جمله *سودوموناس آئروژینوزا* ایجاد می‌شوند که می‌توانند موجب افزایش مرگ و میر بیماران به میزان حداقل ۵۰ درصد گردند (۲). همچنین *سودوموناس آئروژینوزای* اکتسابی بیمارستانی به‌عنوان علت اصلی مرگ و میر به‌خصوص به علت پیدایش سویه‌های مقاوم به چند دارو معرفی شده است (۴و ۳). کاربا‌پنم‌ها به ویژه ایمیپنم یکی از موثرترین آنتی‌بیوتیک‌ها بر علیه *سودوموناس آئروژینوزا* است. *سودوموناس آئروژینوزا* در نتیجه‌ی کاهش جذب آنتی‌بیوتیک به علت فقدانoprD غشا خارجی یا دفع فعال دارو از طریق پمپ‌های efflux و نیز تولید متالو-بتا-لاکتامازها در برابر کاربا‌پنم‌ها مقاوم می‌شوند (۵). بتالاکتامازها متشکل از یک گروه آنزیمی هتروژن هستند. در سال ۱۹۹۵، جاکوبای، بوش، مدیروس بر اساس سوبسترا و نوع مهارکننده، بتالاکتامازها را به ۴ دسته طبقه بندی کردند. گروه ۱ سفالوسپورینازهایی هستند که توسط کلاوولانیک اسید به‌خوبی مهار نمی‌شوند. گروه ۲ پنی‌سیلینازها و بتالاکتامازهای وسیع الطیفی هستند که معمولا توسط مهارکننده‌هایی که سایت فعال آنتی‌بیوتیک را مورد هدف قرار می‌دهند، مهار می‌شوند. گروه ۳ متالوبتالاکتامازهایی هستند که پنی‌سیلین‌ها، سفالوسپورین‌ها و کاربا‌پنم‌ها را هیدرولیز می‌کنند و تقریبا توسط تمام مولکول‌هایی که حاوی بتالاکتام هستند، به‌طور ضعیف مهار می‌شوند. گروه ۴ بتالاکتامازهایی هستند که در حال حاضر ویژگی‌های آن‌ها به‌طور کامل شناخته نشده است. البته بر اساس میزان هیدرولیز کلوکساسیلین (اکساسیلین) توسط پنی‌سیلینازهای کلاس ۲، زیر گروه‌هایی نیز تعریف شده‌اند. بر طبق نظر Ambler بتالاکتامازها به ۴ دسته مولکولی متمایز A، B، C و D تقسیم می شوند (۶). این طبقه‌بندی ابتدا در سال ۱۹۸۰ توسط Ambler ارایه شد و بر اساس توالی آمینواسیدی ۴ کلاس از A تا D شناسایی گردید. کلاس‌های A، C و D به اتفاق از نظر تکاملی نشانگر گروه آنزیم‌های سرین است و کلاس B متالوبتالاکتامازهایی هستند که در بعضی از سودوموناس آئروژینوزاها شناسایی شده است (۷). گزارشات نشان می‌دهند که سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزای* تولیدکننده‌ی متالو-بتا-لاکتاماز می‌توانند موجب افزایش مرگ و میر بیماران شوند. در مطالعه‌ای که توسط بهار وهمکاران دربیمارستان سوختگی شهید مطهری تهران صورت گرفت، نشان داده شد که میزان مرگ ناشی از عفونت با سویه‌های سودوموناس تولید کننده‌ی MBLs (Metallo-Beta-Lactamases)، ۸۲/۶ درصد بوده است، درحالی که میزان مرگ و میر ناشی از سویه‌های فاقد MBLs، ۲۲/۷ درصد بوده است (۸). امروزه پیدایش سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا مقاوم به آنتی‌بیوتیک و مولد بتا-لاکتامازها به‌عنوان یکی از چالش‌های درمان بیماران دچار سوختگی مطرح می‌باشد (۸). اگر چه کلاوولانیک اسید، سولباکتام وتازوباکتام بازدارنده‌های بتالاکتام‌ها هستند، اما قادر به مهار متالو-بتا-لاکتامازها نمی‌باشند (۹). بنابراین در تشخیص آزمایشگاهی MBLs، از بازدارنده‌هایی نظیر اتیلن‌دی آمین تترااستیک اسید (EDTA)، سدیم مرکاپتواستیک اسید (SMA)، مرکاپتوپروپیونیک اسید (MPA) و دی‌پیکولینیک اسید (DPA) استفاده می‌شود که در این میان استفاده ازEDTA به علت غیرسمی بودن و قابلیت نگه‌داری دیسک‌های حاوی آن به مدت نسبتا طولانی، نسبت

به سایر بازدارنده‌ها مناسب‌تر می‌باشد (۹). روش‌های مختلفی برای شناسایی MBLs ارایه شده است اما روش آزمایشگاهی مناسب تستی است که اختصاصیت و حساسیت بالایی برای شناسایی این آنزیم داشته باشد. از جمله این روش‌ها، می‌توان از DDST (Double Disk Synergy Test)، Etest MBL (E-test Metallo-Beta-Lactamase)، MHT (Modified Hodge Test) و PFGE(Pulsed Field Gel Electrophoresis) نام برد (۱۰). با توجه به مطالعات فوق و نتایج متفاوتی که در مناطق جغرافیایی مختلف از نظر شیوع *سودوموناس آئروژینوزای* تولید کننده‌ی متالو-بتا-لاکتامازها حاصل می‌شود، بر آن شدیم که میزان وفور و نوع این آنزیم‌ها را در *سودوموناس آئروژینوزای* جدا شده از نمونه‌های بالینی بیماران در این منطقه، با روش فنوتیپی دیسک ترکیبی (CDDT) مورد شناسایی قرار دهیم.

روش بررسی

در این مطالعه که به صورت اپیدمیولوژیک توصیفی انجام گرفت، در فاصله‌ی زمانی فروردین تا آبان ماه ۱۳۹۱ با مراجعه به آزمایشگاه بیمارستان‌های آموزشی گلستان و امام‌خمینی اهواز، نسبت به جمع‌آوری پلیت حاوی سودوموناس‌های جدا شده از نمونه‌های بالینی و انتقال آن‌ها به آزمایشگاه میکروب شناسی دانشکده‌ی پزشکی اقدام گردید. سودوموناس‌های مورد بررسی از نمونه‌های مختلف بالینی نظیر ادرار، تراشه، زخم، خون، گوش، چشم و ترشحات چرکی بیماران بستری یا مراجعه کننده به بخش‌های مختلف بیمارستانی نظیر اورژانس، داخلی، بخش مراقبت های ویژه (ICU) و مغز و اعصاب، جدا گردیدند. در آزمایشگاه با تلقیح مجدد نمونه‌ها به محیط‌های بلادآگارو مک کانکی آگار، پلیت‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت در ۳۵ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه گردیدند (۱۱). سپس به منظور تعیین هویت قطعی کلنی‌های ایزوله شده، پس از رنگ‌آمیزی گرم نسبت به انجام تست‌های بیوشیمیایی استاندارد از جمله: تست اکسیداز (ساخت شرکت Merck)، تست کاتالاز، واکنش در محیط TSI (Triple Sugar Iron Agar) (ساخت شرکت Merck)، تست OF (Oxidation Fermentation Test-Merck)، کشت در محیط SIM (ساخت شرکت Merck) برای بررسی وجود تحرک و تولید اندول وگاز، رشد در ۴۲ درجه‌ی سانتی‌گراد و تولید پیگمان پیوسیانین در محیط مولرهینتون آگار (ساخت شرکت Merck) اقدام گردید (۱۲). سویه‌های خالص *سودوموناس آئروژینوزا* جهت انجام تست‌های بعدی به محیط کشت مایع حاوی ۲۰ درصد گلیسرول تلقیح گردیده و در دمای ۷۰- درجه‌ی سانتی‌گراد ذخیره شدند (۱۲).

به منظور بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی، سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* به محیط مولرهینتون آگار (شرکت Merck) تلقیح گردیده، با استفاده از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی ایمیپنم (۱۰ میکروگرم)، مروپنم (۱۰ میکروگرم)، سفتازیدیم (۳۰ میکروگرم)، کاربنی سیلین (۱۰۰ میکروگرم)، توبرامایسین (۱۰ میکروگرم)، آمیکاسین (۳۰ میکروگرم)، تیکارسیلین (۷۵ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرم)، سفتی زوکسیم (۳۰ میکروگرم) (تهیه شده از شرکت MAST انگلستان) به روش انتشاردرآگار (Kirby-Bauer)، میزان مقاومت یا حساسیت آن‌ها بر اساس پروتکل CLSI تعیین گردیدند (۱۳). از سویه‌ی *Pseudomonas aeruginosa ATCC27853* برای کنترل روش‌های آنتی‌بیوگرام استفاده شد.

شناسایی فنوتیپی سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزای* تولیدکننده‌ی MBLs مقاوم به ایمیپنم: ایزوله‌های *سودوموناس آئروژینوزا* به روش دیسک ترکیبی (CDDT) Combination Disk Diffusion Test، برروی پلیت حاوی مولر هینتون آگار وبر طبق توصیه CLSI تلقیح شدند(۱۳). سپس یک عدد دیسک ایمیپنم (۱۰ میکروگرم) در مجاورت دیسک ترکیبی ایمیپنم حاوی ۹۳۰ میکروگرم EDTA /5M با

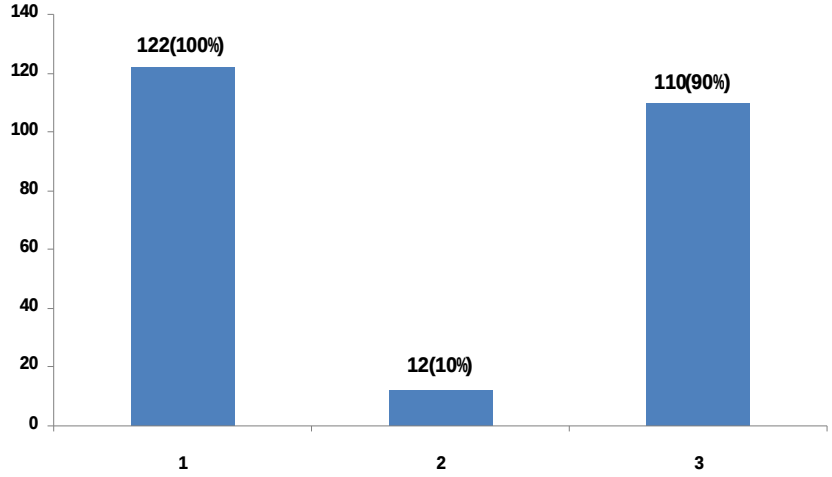
فاصله مناسب درسطح پلیت قرار داده شده، به مدت ۱۶ تا ۱۸ ساعت در دمای ۳۵ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه گردیدند. در صورتی که قطر هاله‌ی عدم رشد باکتری در اطراف دیسک ترکیبی EDTA-IMP، ۷ میلی‌متر بیشتر از قطر هاله‌ی عدم رشد در اطراف دیسک منفرد IMP بود، به‌عنوان مولد MBL از نظر فنوتیپی محسوب گردید (۱۴).

یافته‌ها

در این بررسی تعداد ۲۳۶ ایزوله‌ی بالینی با استفاده از تست‌های بیوشیمیایی استاندارد به عنوان *سودوموناس آئروژینوزا* تعیین هویت گردیدند. از ۲۳۶ ایزوله‌ی بالینی ۱۲۱ ایزوله (۵۱ درصد) متعلق به جنس مذکر و ۱۱۵ ایزوله (۴۹ درصد) متعلق به جنس مونث بودند و اکثر بیماران در سنین بین ۴۴ تا ۶۸ سال قرار داشتند. نتایج حاصل از آنتی بیوگرام به روش Kirby-Baur بر روی ایزوله های *سودوموناس آئروژینوزا* نشان داد که از ۲۳۶ ایزوله *سودوموناس آئروژینوز*، تعداد ۱۲۲ سویه (۵۱/۴ درصد) از نظر فنوتیپی به ایمیپنم مقاوم بودند و از این تعداد ۱۱۰ سویه (۹۰ درصد) مولد متالو-بتا-لاکتاماز بودند (نمودار ۱). جدول ۱ الگوی حساسیت و مقاومت ایزوله‌های *سودوموناس آئروژینوزا* را نسبت به ده آنتی‌بیوتیک رایج را نشان می‌دهد. همان که طور که در این جدول مشاهده می شود نتایج حاصل از آنتی‌بیوگرام به روش کربی- بائر بر اساس راهنمای CLSI و مراجعه به جدول مربوطه به صورت مقاوم (Resistant)، حدواسط (Intermediate) و حساس (Sensitive) گزارش گردید.

جدول ۱: الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از نمونه‌های بالینی

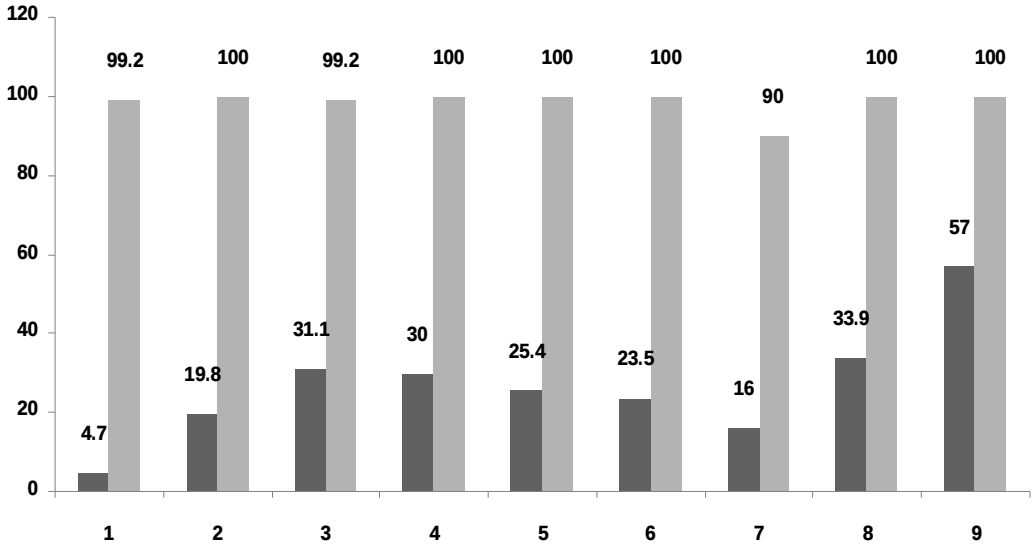
نتیجه	حساس		متوسط		مقاوم	
آنتی‌بیوتیک	درصد	تعداد	درصد	تعداد	تعداد	درصد
ایمیپنم (۱۰ میکروگرمی)	۱۰۷	۴۵/۳	۷	۳/۳	۱۲۲	۵۱/٤
مروپنم (۱۰ میکروگرمی)	۱۰۵	٤٤/٤	٤	۱/٦	۱۲۷	٥٤
سفتازیدیم (۳۰ میکروگرمی)	۸۵	۳٦/۱	۰	۰	۱۵۱	٦۳/۹
کاربنی سیلین (۱۰۰میکروگرمی)	۷۰	۲۹/۸	٦	۲/٥	۱٦۰	٦۷/۷
توبرامایسین (۱۰ میکروگرمی)	۷۹	۳۳/٥	۳	۱/۳	۱٥٤	٦٥/۲
آمیکاسین (۳۰ میکروگرمی)	۱۰٦	٤٥	۱۲	٥	۱۱۸	٥۰
تیکارسیلین (۷۵ میکروگرمی)	۷٦	۳۲/۳	۰	۰	۱٦۰	٦۷/۷
جنتامایسین (۱۰ میکروگرمی)	۸۱	۳٤/۳	٦	۲/٥	۱٤۹	٦۳/۲
سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرمی)	۱۷	۷/۳	٥۸	۲٤/٥	۱٦۱	٦۸/۲
سفتی زوکسیم (۳۰ میکروگرمی)	۹	۳/۹	٤۰	۱٦/۹	۱۸۷	۷۹/۲



۱: مقاوم به ایمیپنم ۲: متالوبتالاکتاماز منفی ۳: متالوبتالاکتاماز مثبت

نمودار ۱: فراوانی نسبی ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزای مولد متالوبتالاکتاماز با استفاده از روش دیسک ترکیبی EDTA - IMP

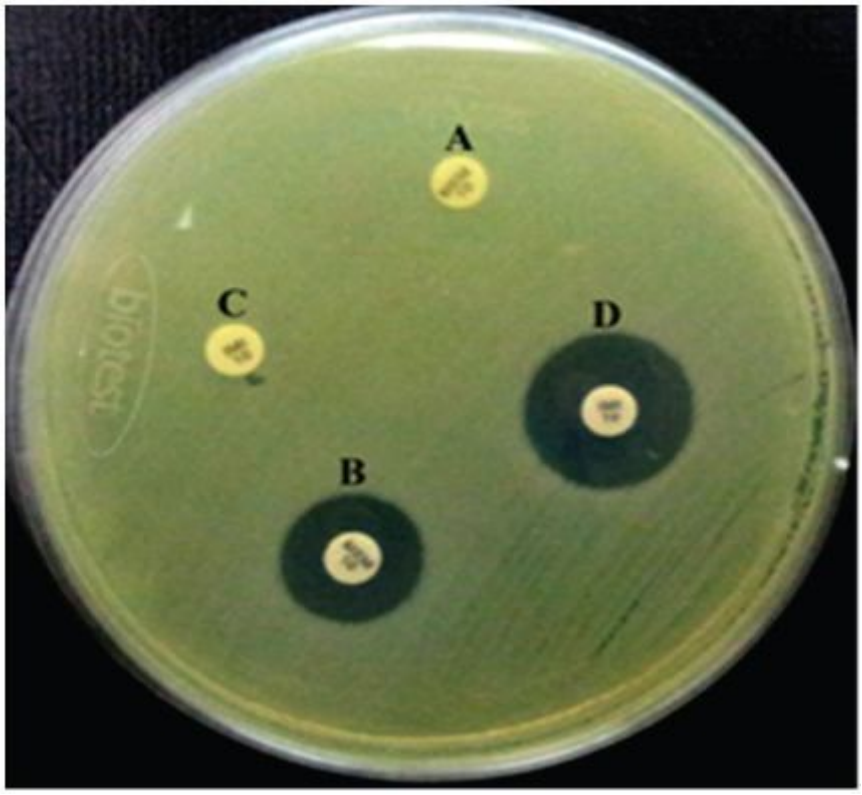
نتایج مقایسه‌ی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های حساس و مقاوم به ایمیپنم نسبت به ۹ آنتی‌بیوتیک مورد استفاده در این مطالعه نشان داد که ایزوله‌های مقاوم به ایمیپنم در مقایسه با ایزوله‌های حساس به این آنتی‌بیوتیک، مقاومت بسیار بالاتری را نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌های مطرح در درمان عفونت‌های ناشی از سودوموناس نشان می‌دهند (نمودار۲).



۱: مروپنم ۲: جنتامایسین ۳: کاربنی سیلین ۴: تیکارسیلین ۵: توبرامایسین ۶: سفتازیدیم ۷: آمیکاسین ۸: سفوتاکسیم ۹: سفتی زوکسیم

نمودار ۲: مقایسه‌ی میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های حساس و مقاوم به ایمیپنم نسبت به ۹ آنتی‌بیوتیک رایج در درمان عفونت‌های ناشی از سودوموناس آئروژینوزا

در این نمودار، ستون‌های طوسی کمرنگ نشان دهنده‌ی میزان مقاومت بالاتر سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزای* مقاوم به ایمیپنم در مقایسه با ایزوله‌های حساس (طوسی پررنگ) نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در درمان عفونت‌های ناشی از سودوموناس می‌باشد. نتایج بررسی فنوتیپی تولید متالو- بتا- لاکتامازدر سویه های سودوموناس آئروژینوزا با استفاده از روش دیسک ترکیبی IMP- EDTA نشان داد که اغلب سویه‌های مقاوم به ایمیپنم تولیدکننده‌ی متالوبتالاکتاماز بودند (شکل ۱).



A: دیسک مروپنم (۱۰ میکروگرمی) B: دیسک مروپنم (۱۰ میکروگرمی) +۱۰ میکرولیتر EDTA
C: دیسک ایمیپنم (۱۰ میکروگرمی) D: دیسک ایمیپنم (۱۰ میکروگرمی) +۱۰ میکرولیتر EDTA

شکل 1: تست فنوتیپی (IMP-EDTA disk method) برای بررسی تولید متالوبتالاکتاماز در سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا

بحث

کاربا‌پنم‌ها (مانند ایمیپنم، مروپنم، دوری پنم و ارتاپنم) کلاس مهمی از داروهای بتالاکتام می‌باشند که در برابر بتالاکتامازها مقاوم می‌باشند و در درمان حاصل از باکتری‌هایی که قادر به هیدرولیز پنی‌سیلین‌ها و سفالوسپورین‌ها می‌باشند به‌کار می‌روند. در نتیجه بروز مقاومت به این آنتی‌بیوتیک‌ها در بین باکتری‌ها خصوصا باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* که نقش مهمی در ایجاد عفونت‌های بیمارستانی دارد، یک تهدید جدی در درمان عفونت‌های حاصل از آن‌ها می‌باشد. ظهور و کسب متالوبتالاکتامازها در بین باکتری‌های گرم منفی به‌ویژه باکتری‌هایی که نقش مهمی در ایجاد عفونت‌های بیمارستانی دارند، از نظر اپیدمیولوژیک حداقل به دو دلیل دارای اهمیت

می‌باشند. شیوع یا افزایش متالوبتالاکتامازها نه تنها باعث مقاومت به کاربا‌پنم‌ها می‌شوند بلکه با مقاومت به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام و غیربتالاکتام همراه می‌باشد. ۲. ژن‌های کدکننده‌ی متالوبتالاکتامازها معمولا توسط عناصر ژنتیکی متحرک حمل و کد می‌شوند که در نتیجه به راحتی می‌توانند به سویه‌های حساس منتقل شوند (۱۵). عناصر ژنتیکی متحرک یا Mobile Genetic Elements (MGE)، قطعاتی از DNA هستند که می‌توانند وارد ژنوم شده و یا از آن خارج شوند که از مهم‌ترین انواع آن توالی‌های الحاقی (Insertion Sequence) و پلاسمیدها می‌باشند. بیشتر باکتری‌ها از جمله سودوموناس دارای پلاسمیدهایی می‌باشند که به آن‌ها ویژگی‌هایی مانند مقاومت به یک آنتی‌بیوتیک خاص را می‌دهند (۱۶). مطالعات اخیر نشان دهنده‌ی افزایش مقاومت به این آنتی‌بیوتیک‌ها به‌ویژه توسط متالوبتالاکتامازها در کشور می‌باشد. بررسی که در سال ۱۳۸۶ بر روی ۱۲۰ ایزوله *سودوموناس آئروژینوزا* جدا شده از بخش سوختگی بیمارستان شفای شهر کرمان انجام شد، هیچ ایزوله‌ی تولیدکننده‌ی متالوبتالاکتاماز گزارش نگردید (۱۷). همچنین در بررسی که توسط فاطمه میهنی و همکارانش بر روی ایزوله‌های *سودوموناس آئروژینوزا* جدا شده از بخش سوختگی بیمارستان طالقانی شهر اهواز انجام گردید، از بین ۱۰۰ نمونه بالینی جدا شده، ۴۲ نمونه (۴۲ درصد) دارای مقاومت به ایمیپنم بودند که از میان آن‌ها ۸ نمونه (۱۹/۰۴ درصد) به‌عنوان تولیدکننده‌ی متالوبتالاکتاماز گزارش شدند (۱۸). همچنین در مطالعه‌ای که توسط عبدالرحیم صادقی و همکاران در سال ۱۳۸۸ و ۱۳۸۹ در اراک انجام شد از بین ۱۰۸ ایزوله مورد بررسی، ۴۰ ایزوله (۳۷ درصد) به ایمیپنم مقاوم بودند که با روش دیسک ترکیبی IMP-EDTA، ۲۰ ایزوله (۵۰ درصد) از نظر تولید متالو-بتا-لاکتاماز مثبت شدند (۱۲). مقایسه‌ی بررسی حاضر با سایر بررسی‌های انجام شده در ایران نشان دهنده‌ی تفاوت در الگوی مقاوتی به ایمیپنم در کشور می‌باشد که شاید یکی از دلایل آن تفاوت در نحوه‌ی درمان و آنتی‌بیوتیک تجویز شده می‌باشد. در این مطالعه از بین ۲۳۶ ایزوله سودوموناسی مورد بررسی ۱۲۲ ایزوله (۵۱/۴ درصد) نسبت به ایمیپنم مقاوم بودند که از بین آن‌ها ۱۱۰ ایزوله (۹۰ درصد) به‌وسیله‌ی روش دیسک ترکیبی تولیدکننده‌ی متالوبتالاکتاماز بودند که این امر نشان دهنده‌ی شیوع بیشتر سویه‌های تولیدکننده‌ی متالو-بتا-لاکتاماز در منطقه‌ی مورد بررسی می‌باشد. در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۰ در بنگلادش انجام شد از میان ۴۴ ایزوله *سودوموناس آئروژینوزا* جمع‌آوری شده از بیماران، ۲۳ ایزوله (۵۲/۳ درصد) از آن‌ها به ایمیپنم مقاوم بودند که از میان آن‌ها ۱۰ ایزوله (۴۳ درصد) به‌عنوان تولیدکننده‌ی متالوبتالاکتاماز شناسایی شدند (۱۹). در بررسی که در سال ۲۰۱۲ در برزیل انجام شد از بین ۱۰۸ ایزوله *سودوموناس آئروژینوزا* ۴۰ ایزوله (۳۷ درصد) به ایمیپنم مقاوم بودند که با روش دیسک ترکیبی IMP-EDTA، ۲۰ ایزوله (۵۰ درصد) از نظرتولید متالو-بتا-لاکتاماز مثبت شدند (۲۰). خوشبختانه مقایسه‌ی بررسی‌های انجام شده در مورد شیوع متالوبتالاکتامازها در ایران با دیگر کشورها حاکی از پایین بودن شیوع این نوع از بتالاکتامازها در ایران نسبت به دیگر کشورها می‌باشد، اما در هر صورت به مرور استفاده از این دارو جهت درمان عفونت‌های حاصل از ایزوله‌های مقاوم و تولیدکننده‌ی بتالاکتاماز و نیز وجود فشار حاصل از مصرف این دارو افزایش شیوع ایزوله‌های تولیدکننده متالوبتالاکتامازها به خصوص در بیمارستان‌ها دور از انتظار نسیت.

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که میزان شیوع *سودوموناس آئروژینوزای* تولیدکننده‌ی متالو-بتا-لاکتاماز در بیماران مورد بررسی بالا است. از آنجا که ایزوله‌های تولیدکننده‌ی متالو-بتا-لاکتاماز می‌توانند به تمام

آنتی‌بیوتیک‌های بتا-لاکتام مقاوم شوند، لذا شناسایی سودوموناس‌های مقاوم به کاربایپنم که قادر به تولید متالو-بتا-لاکتاماز هستند، ضروری بوده، می‌تواند پزشک را در انتخاب آنتی‌بیوتیک مناسب جهت درمان سریع‌تر بیماران مبتلا به عفونت‌های ناشی از این باکتری‌ها کمک نماید.

تقدیر و تشکر

این مطالعه بخشی از طرح تحقیقاتی مصوب واحد بین‌الملل اروند دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز با شماره‌ی B-9102 می‌باشد، لذا بدین وسیله از معاونت پژوهشی واحد بین الملل اروند و دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز تشکر و سپاس‌گزاری می‌نماییم.

References

1- Manoharan A, Chatterjee S, Mathai D, SARI study group. Detection and characterization of metallo-beta-lactamases producing *Pseudomonas aeruginosa*. *Indian J Med Microbiol*. 2010; 28: 241-4.

2- Weber J, McManus A. Infection control in burn patients. *Burns*. 2004; 30: A16-24.

3- Tredget EE, Shankowsky HA, Rennie R, Burrell RE, Logsetty S. Pseudomonas infections in the thermally injured patient. *Burns*. 2004; 30: 3-26.

4- Aloush V, Navon-Venezia S, Seigman-Igra Y, Cabili S, Carmeli Y. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: risk factors and clinical impact. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006; 50: 43-8.

5- Bonomo RA, Szabo D. Mechanisms of multidrug resistance in *Acinetobacter* species and *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Infect Dis*. 2006; 43: S49-56.

6- Bush K, Jacoby GA. Updated functional classification of β- Lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010; 54: 969-976.

7- Drawz SM, Bonomo RA. Three decades of β-Lactamase inhibitors. *Clin Microbio Rev*. 2010; 23: 160-201.

8- Bahar MA, Jamali S, Samadi kuchaksaraei A. Imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains carry metallo-β-lactamase gene blaVIM in a level I Iranian burn hospital. *Burns*. 2010; 36: 826-30.

9- Shahcheraghi F, Nikbin VS, Feizabadi M. Identification and genetic characterization of metallo- beta-lactamase-producing strains of *Pseudomonas aeruginosa* in Tehran, Iran. *New Microbiol*. 2010; 33: 243-248.

10- Bogiel T, Deptula A, Gospodarek E. Evaluation of different methods for detection of metallo-beta- lactamases in *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate. *Pol J Microbiol*. 2010; 59: 45-48.

11- Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. 12th ed. London. Mosby Inc; 2007; pp: 340-350.

12- Sadeghi A, Rahimi B, Shojapour M. Molecular detection of metallo-β-lactamase genes blaVIM-1, blaVIM-2, blaIMP-1, blaIMP-2 and blaSPM-1 in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from hospitalized patients in Markazi province by

Duplex-PCR. *Afr J Microbiol Res.* 2012; 6: 2965-2969.

13- Clinical and Laboratory Standarad Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 18th informational supplement. M100-S18. Wayne, PA: CLSI; 2008.

14- 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: 3129-35.

15- Luzzaro F, Endimiani A, Docquier JD, et al. Prevalence and characterization of metallo-β-lactamases in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa. Diag Microbiol Infect Dis*. 2004; 48: 131-5.

16- Bigot Y. Mobile Genetic Elements: Protocols and genomic applications. 6 th edition. London. Humana Press. 2012: 1-319.

17- Shakibaie MR, Shahcheraghi F, Hashemi A, Adeli NS. Detection of TEM, SHV and PER type extended-spectrum β-lactamase genes among clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burnt patients at Shafa-Hospital, Kerman, Iran. *Iran J Basic Med Sci*. 2008; 11: 49-54.

18- Mihani F, Khosravi A. Isolation of *Pseudomonas aeruginosa* strains producing metallo-beta- lactamases from infections in burned patients and identification of blaIMP and blaVIM genes by PCR. *Iran J Microbiol*. 2007; 1: 31-33.

19- Nasrin T, Shariful Alam Jilani MD, Barai L, Ashraful Haq J. Metallo – beta – lactamase producing *Pseudomonas* species in a tertiary care hospital of Dhaka city. *Bangladesh J Med Microbiol*. 2010; 04: 43-45.

20- Jacome P, Alves L, Cabral A, Lopes AC, Maciel MA. Phenotypic and molecular characterization of antimicrobial resistance and virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates from Recife, State of Pernambuco, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2012; 45: 707-712.

Determination of *Pseudomonas Aeruginos* Producing Metallo-Beta-Lactamases Isolated from Clinical Specimens by Imipenem-EDTA Combined Disk Method in Ahwaz, Iran

Rahimzadeh M[1], Moosavian M[2], Shoja S[1]

[1]Dept. of Microbiology, School of Medicine, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.

[2]Dept. of Microbiology, School of Medicine, Infectious & Tropical Diseases Research Center, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.

Corresponding Author: Moosavian M, Dept. of Microbiology, Jundishapur University of Medical Science, Ahvaz, Iran.

Email: moosavian_m@yahoo.com

Received: 16 Mar 2013 **Accepted:** 15 Jul 2013

Background and Objective: *Pseudomonas aeruginosa* is a causative agent of nosocomial infections. Metallo-beta-lactamases (MBLs) are considered among the most crucial resistant agents of *Pseudomonas aeruginosa* to carbapenem. Because of the important role of carbapenemes in the treatment of *Pseudomonas* infections, in this study, the *Pseudomonas aeruginosa* producing metallo-beta-lactamases were investigated.

Materials and Methods: A total of 236 *Pseudomonas aeruginosa* were examined. These isolates were collected from hospitalized patients' clinical specimens in Imam Khomeini and Golestan hospitals of Ahvaz, Iran. After identification of the isolates by standard biochemical tests, their antimicrobial resistant patterns to 10 common antibiotics were determined based on CLSI protocol by disk diffusion agar method. Finally, the metallo-beta-lactamase production by *Pseudomonas aeruginosa* isolates was identified by Imipenem-EDTA combined disk method.

Results: Of 236 *Pseudomonas aeruginosa* isolates, 122 isolates (51.4%) were resistent to imipenem. Based on the results of Imipenem-EDTA combined disk method, production of metallo-beta-lactamases was known in 110/122 (90%) *Pseudomonas aeruginosa* isolates.

Conclusion: Since MBLs producing *Pseudomonas aeruginosa* are resistant to all other beta-lactam antibiotics, it is vital to screen imipenem non-susceptible isolates of *Pseudomonas aeruginosa* for MBLs production. This will be effective in the selection of suitable antibiotic and recovery pace of the patients.

Keywords: Pseudomon asaeruginosa, Imipenem-EDTA combined disk method, Metallo-beta-lactamase