

Frequency of β -lactamase and metallo- β -lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from burn wounds in Yazd burn hospital during 2011-2012

Akhavan Tafti F¹, Zandi H^{1*}, Vakli M², Mousavi M¹, Zarei M¹

1- Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, I. R. Iran.

2- Department of Social Medicine, Faculty of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, I. R. Iran.

Received December 11, 2013; Accepted March 8, 2014

Abstract:

Background: *Pseudomonas aeruginosa* is a gram-negative, non-fermentative *bacillus* and one of the most common opportunistic human pathogen causing 10-15% of nosocomial and burn wound infections worldwide. These bacteria are resistant to most of the antibiotics. This study aimed to investigate the frequency of extended spectrum β -lactamase (ESBL) and metallo- β -lactamase (MBL) enzymes in *P.aeruginosa* strains isolated from burn wounds.

Materials and Methods: In this descriptive cross-sectional study, 180 wound specimens were collected from patients hospitalized in burn hospital and then cultured. The suspected colonies were identified using the conventional biochemical methods. Susceptibility testing was performed using the Kirby-Bauer method. Moreover, the Combination Disk and E.test methods were used for the determination of ESBLs and MBL, respectively.

Results: Fifty-four (30%) out of 180 cultured samples were identified as *p.aeruginosa*; 12 (22%) and 16 (29.5%) isolates were ESBLs and MBL producer, respectively. Overall, 42 (79%), 40 (74%), 40 (74%), 38 (70%), 35 (66%) and 34 (62%) isolates were resistant to ceftizoxime, imipenem, gentamycin, piperacillin, cefepime, meropenem and ertapenem, respectively.

Conclusion: Results reveal that the antimicrobial resistance and prevalence of ESBLs and MBL producing *P.aeruginosa* strains is increasing in our hospital and it is necessary to perform susceptibility testing, control risk factors and reasonably prescribe the appropriate antibiotics. Considering the diversity of ESBL and MBL classes and their prevalence in different areas, performing molecular research is needed.

Keywords: MBL, ESBL, *Pseudomonas aeruginosa*, Antibiotic resistance, Burn

* Corresponding Author.

Email: hengameh_zandi@yahoo.com

Tel: 0098 912 308 8324

Fax: 0098 351 820 3414

Conflict of Interests: No

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences June, 2014; Vol. 18, No 2, Pages 167-174

Please cite this article as: Akhavan Tafti F, Zandi H, Vakli M, Mousavi M, Zarei M. Frequency of β -lactamase and metallo- β -lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from burn wounds in Yazd burn hospital during 2011-2012. Feyz 2014; 18(2): 167-74.

بررسی فنوتیپی آنزیم‌های بتالاکتاماز و متالوبتاالاکتاماز سودوموناس آنروژینوزای 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 آنروژینوزا 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 متالوبتاالاکتاماز (MBL) در سویه‌های سودوموناس آنروژینوزای جدا شده از زخم سوختگی است.

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

نتایج: از ۱۸۰ نمونه کشت داده شده، ۵۴ (۳۰ درصد) ایزوله به عنوان سودوموناس آنروژینوزا تعیین هویت شد که ۲۲ (۱۲ نمونه) دارای ESBL و ۲۹/۵ (۱۶ نمونه) دارای MBL بودند. در مجموع ۴۲ (۷۹ درصد)، ۴۰ (۷۴ درصد)، ۳۸ (۳۵ درصد)، ۶۶ (۳۴ درصد)، و ۳۴ (۶۶ درصد) به ترتیب نسبت به سفتیز و کسیم، ایمپین، جنتامایسین، پیپراسیلین، سفپیم، مروپن، و ارتاپن مقاوم بودند.

نتیجه‌گیری: شیوع آنزیم‌های ESBL و MBL و مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بیمارستان سوانح سوختگی بالا است و نیاز است که اقداماتی مانند سنجش حساسیت آنتی‌بیوتیکی، تعویز منطقی آنتی‌بیوتیک‌ها و کترول 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.

وازگان کلیدی: متالوبتاالاکتاماز، بتالاکتاماز، سودوموناس آنروژینوزا، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، سوختگی

دو ماهنامه علمی-پژوهشی فیض، دوره هجدهم، شماره ۲، خرداد و تیر ۱۳۹۳، صفحات ۱۷۴-۱۶۷

کترول شیوع سودوموناس آنروژینوزا / اغلب مشکل است، زیرا دارای مقاومت ذاتی نسبت به عوامل ضد میکروبی متعدد می‌باشد [۷،۶]. مقاومت اکتسابی در سودوموناس آنروژینوزا از طریق مکانیسم‌های متعددی صورت می‌پذیرد که شامل تولید بتالاکتامازها، پمپ‌های ترشحی و تغییرات غشاء خارجی می‌باشد [۹،۸،۷]. مقاومت به داروهای متعدد، معمولاً نتیجه ترکیبی از مکانیسم‌های متفاوت در یک سویه یا عملکرد یک مکانیسم خاص می‌باشد [۶]. مقاومت سویه‌های سودوموناس آنروژینوزا به سفالوسپورین‌های نسل دوم و سوم) وسیع الطیف و مونوباکتم‌ها ممکن است به وسیله ESBLs صورت پذیرد [۱۰]. این آنزیم‌ها به وسیله 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،۶]. بتالاکتامازها بر طبق تقسیم‌بندی Ambler بر اساس ساختار اولیه‌شان به ۴ کلاس A تا D تقسیم می‌شوند [۱۳-۱۵،۶]. کلاس D و C، A سرین بتالاکتاماز هستند و کلاس B متالو بتا-لاکتاماز است. بتالاکتامازهای وسیع الطیف (ESBLs) تایپ

مقدمه

سودوموناس آنروژینوزا یک باکتری بیماری‌زا فرست طلب گرم منفی و هوایی است که دارای تازک قطبی و پلی، و اگزوتوكسین 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 بجه‌ها و بزرگسالان مبتلا به بیماری سبیستک فیروزیس می‌باشد [۵،۴].

^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

* **نشان نویسنده مسئول**، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی، دانشکده پزشکی، گروه میکروب شناسی

تلفن: ۰۹۱۲ ۳۰۸۸۳۲۴، ۰۳۵۱ ۸۲۰۳۴۱۴ دوبلوپس: hengameh_zandi@yahoo.com پست الکترونیک: تاریخ پذیرش نهایی: ۹۲/۱۲/۱۷ تاریخ دریافت: ۹۲/۹/۲۰

بستری در بیمارستان سوانح و سوختگی شهید صدوqi بزد 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 صدوqi بزد منتقل شده و در محیط‌های کشت آگار خون‌دار (مرک، آلمان) غنی شده با ۵ درصد خون گوسفندي و محیط ائوزین متیلن بلو (EMB) (مرک، آلمان) کشت داده شده و در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه گردید.

تعیین هویت کلونی‌ها: برای تعیین هویت کلونی‌های مشکوک، از آزمایشات بیوشیمیایی مانند عدم تخمیر گلوكز و لاکتوز در محیط TSI (مرک - آلمان)، تولید اکسیداز، مصرف OF (Oxidation- فردها از طریق اکسیداسیون در محیط Fermentation (مرک، آلمان)، رشد در ۴۲ درجه سانتی‌گراد، تولید پیگمان و حرکت استفاده شد.

سنجهش حساسیت آنتی‌بیوتیکی: حساسیت ایزوله‌های سودوموناس آنروژنیوزا نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های ایمپین، مروپین و ارتاپن (Mast) انگلستان و پیپراسیلین، جنتامایسین، سفینیزوکسیم و سفپیم (پادتن طب) بهروش دیسک دیفیوژن (کربی - باثر) و مطابق با استانداردهای [CLSI] [۲۲] سنجهده شد. مراحل کار بدین صورت بود که سوسپانسیون باکتریایی با کدورت معادل کدورت لوله ۰/۵ مک فارلن (۱/۵×۱۰^۸) باکتری) تهیه شده و سپس به وسیله سواپ استریل در محیط جامد مولر هیتون (Merk، آلمان) تلقیح گردید. با استفاده از یک پنس استریل دیسک‌ها در سطح محیط کشت قرار داد شد. پلیت در حرارت ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸ الی ۲۴ 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 به صورت: جدول میزان حساسیت باکتری نسبت به آنتی‌بیوتیک به صورت: Resistant/Intermediate/Sensitive

بررسی وجود آنژیم‌های بتا لاکتماز طیف گستره: بررسی شیوع آنژیم‌های بتالاکتماز طیف گستره با روش‌های Double Disk و Combination Disk Test و Synergy Test انجام می‌شود. در این مطالعه از روشن Combination Disk و با استفاده از دیسک‌های سفوتاکسیم (CTX: 30µg) (CTX: 30µg/CV) 10µg و سفتازیدیم، سفتازیدیم-کلاولانیک اسید (محصول شرکت Mast انگلستان) استفاده شد. سوسپانسیون باکتریایی (کدورت معادل لوله ۰/۵ مک فارلن)، با سواپ

و HSV و TEM بیشتر از بتالاکتمازهای کلاس A هستند [۱۳] که باعث مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتم (پنی‌سیلین‌ها، سفالو-سپورین‌های نسل دوم و سوم که دارای زنجیره جانبی اکسی ایمینو هستند مانند سفتازیدیم، سفوتاکسیم، سفتریاکسون و سفپیم و مونوباکتم‌ها مانند آزترونام) می‌شود، اما در برابر سفاماپین‌ها، سفوکسیتین و سفوتان و کارباپین‌ها (مروپین یا ایمپین) مؤثر نمی‌باشند [۱۶]. بتالاکتمازهای توسط کلاولانیک اسید و سولباکتم و تازوباکتم مهار می‌شوند [۱۷]. تا به حال ۳۴۰ نوع ESBLs متفاوت شناسایی شده است [۱۳]. بیشتر انواع ESBLs در خانواده انتروباکتریا (انتریشیاکلی، کلیبسیلا، انتروباکتر و غیر تخمیر کننده‌ها) یافت می‌شوند [۱۵]. بتالاکتمازهای کلاس B، متابولوتا-لاکتمازهای هستند که وجود یک یا دو یون روی (Zn) در جایگاه فعال آنها ضروری است. متابولوتا-لاکتمازهای توانایی غیر فعال سازی همه آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتم به جز مونوباکتم را دارند [۱۵]. امروزه به دلیل مصرف بیش از حد آنتی‌بیوتیک‌ها سویه‌های مقاوم به چند دارو (Multi drug resistant) رو به افزایش است [۱۶، ۱۱]. فراوانی سویه‌های سودوموناس آنروژنیوزای MDR از ۴ درصد در ۱۹۹۳ به ۱۴ درصد در سال ۲۰۰۲ افزایش یافته است و در کشور ما نیز شیوع سویه‌های MDR به نسبت بالا است. به عنوان مثال در کاشان ۲۷ درصد نمونه‌های سودوموناس آنروژنیوزای مورد مطالعه و ۶۶/۶ درصد از ایزوله‌های جدا شده از کشت خون MDR بوده‌اند [۶]. در چین بیش از ۷۰ درصد ایزوله‌های سودوموناس آنروژنیوزا/ به این دو آنتی‌بیوتیک حساس هستند [۱۸]. در زنجان ۷۸ درصد سودوموناس آنروژنیوزاهای اخذ شده از بخش ICU مولد MBL بودند [۱۹]. در فرانسه نیز ۶۶ 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 می‌شود 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 آنرو-ژنیوزای ایزوله شده از نمونه زخم سوختگی بیماران بستری در بیمارستان سوانح سوختگی بزد نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج در درمان و بررسی فنتیپی وجود آنژیم‌های متابولوتا-لاکتماز بتالاکتماز با طیف گسترش یافته می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه: در این مطالعه توصیفی - مقطعي، در طول یک سال (از فروردین تا پایان اسفند ۱۳۹۱، از ۱۸۰ بیمار

نتایج

از کشت ۱۸۰ نمونه زخم سوختگی مورد بررسی، تعداد ۵۴ ایزوله (۳۰ درصد) سودوموناس آنروژینوزا جدا شد. در مجموع ۴۲ (۷۹ درصد)، ۴۲ (۷۹ درصد)، ۴۰ (۷۶ درصد)، ۴۰ (۷۶ درصد)، ۳۵ (۶۶ درصد)، و ۳۴ ایزوله (۶۲ درصد) به ترتیب نسبت به سفتازیدیم-کلاؤلانیک ایمپین، جنتامایسین، پیپراسیلین، سفپیم، مروپن، و ارتاپن مقاوم بودند (شکل شماره ۱). در سنجش متالوبالتاکتاماز به روش فتوتیپی از نوارهای E-test ایمپین و ایمپین-EDTA استفاده شد و از بین ۵۴ ایزوله ۲۹/۵ درصد دارای آنزیم‌های متالوبالتاکتاماز بودند. در مجموع ۱۲ ایزوله (۲۲/۱ درصد) دارای آنزیم‌های ESBL بودند (جدول شماره ۲).



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

استریل در محیط مولر هیتون آگار تلقیح شد و دیسک‌های سفوتابکسیم و سفوتابکسیم-کلاؤلانیک اسید و سفتازیدیم، سفتازیدیم-کلاؤلانیک در محیط قرار داده شد. نتایج بعد از ۱۸-۲۴ ساعت گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه قرائت شد؛ به این ترتیب که مواردی که قطر هاله عدم رشد در اطراف دیسک سفتازیدیم-کلاؤلانیک و یا سفوتابکسیم-کلاؤلانیک بیش از پنج میلی‌متر نسبت به سفتازیدیم و سفوتابکسیم افزایش داشت، به عنوان سویه تولیدکننده ESBL در نظر گرفته شد.

بررسی وجود آنزیم‌های متالوبالتاکتاماز آنزیم‌های bio merieux E-testMBL (ایمپین/ایمپین فرانسه) و با استفاده از نوارهای دو سویه E-test (ایمپین/ایمپین + EDTA) تعیین شد. در یک طرف نوار حاوی غلظت‌های مختلف ایمپین (۰/۱۲۵-۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و در طرف دیگر غلظت‌های مختلف ایمپین + EDTA (۰/۰۳۲-۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای ایمپین + EDTA) وجود داشت. پس از تهیه سوسپانسیون باکتریایی با دورت معادل لوله ۰/۵ مک فارلند و تلقیح در محیط مولر هیتون آگار (Merk) نوار E-test روی محیط قرار داده شد. پلیت‌ها به مدت ۱۸-۲۴ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری شدند. جهت تعیین وجود آنزیم متالوبالتاکتاماز، نقطه تلاقی هاله تشکیل شده در دو سوی نوار (ایمپین و ایمپین + EDTA) به عنوان رقت مهاری (IC) در نظر گرفته شد و با واحد میکروگرم بر میلی‌لیتر به صورت کمی گزارش گردید. سپس، طبق دستورالعمل کارخانه سازنده چنانچه رقت مهاری ایمپین + EDTA نسبت به ایمپین بیش از سه رقت کاهش داشت و یا نسبت رقت مهاری ایمپین به ایمپین + EDTA، بزرگتر و یا مساوی ۸ بود، به عنوان سویه تولیدکننده متالوبالتاکتاماز در نظر گرفته شد.

جدول شماره ۱- حساسیت ایزوله‌های سودوموناس آنروژینوزا نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی به روش دیسک دیفیوژن

نوع آنتی‌بیوتیک	ارتاپن	مرپن	ایمپین	سفپیم	پیپراسیلین	سفپیز-کسیم	جنتامایسین	اریتروماسین
تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)
(۷۹)۴۳	(۷۳)۴۰	(۷۹)۴۳	(۷۰)۳۸	(۶۲)۳۴	(۷۰)۴۰	(۷۴)۴۰	(۷۶)۳۸	(۷۰)۳۸
مقاومت								

بحث

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

جدول شماره ۲- بررسی ایزوله‌های سودوموناس آنروژینوزا مورد مطالعه از نظر وجود آنزیم‌های متالوبالتاکتاماز آنزیم‌های بتالاکتاماز

وسیع الطیف	جدول شماره ۲	
ESBL	دارای MBL	دارای
جنیست	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)
مجموع	(۲۹/۵)۱۶	(۲۲/۱)۱۲

ایمپینم بوده در حالی که در مطالعه حاضر ۷۴ درصد ایزووله‌ها به ایمپینم و ۶۶ درصد به مروپینم مقاوم بودند که می‌تواند نشان‌گر افزایش روند مقاومت افزایش روند مقاومت به کاریاپنمه‌ها باشد. البته روند مصرف آنتی‌بیوتیک برای درمان بیماران در امر مقاومت آنتی‌بیوتیکی بسیار موثر است و با توجه به اینکه در بیمارستان سوانح سوختگی بزد ایمپینم یکی از پر مصرف‌ترین داروها برای درمان بیماران بستری است، شیوع گستره مقاومت به این دارو می‌تواند به همین علت باشد. از آنجاتی که در بخش‌های سوانح سوختگی جهت جلوگیری از عفونت زخم سوختگی و به عنوان پروفلاکسی ایمپینم تعویز 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 مروپینم و ارتاپنم زنجیره‌های جانبی هیدرووفوب 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 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 آنژیم‌های بتالاکتاماز با طیف گسترش یافته در ۲۲/۱ درصد ایزووله‌ها مشاهده شد. در مطالعه شجاع‌پور و همکاران در شهرکرد در سال ۱۳۸۷ که بر روی ایزووله‌های 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 ایزووله‌ها ESBL مثبت بودند، دلیل این اختلاف می‌تواند به این علت باشد که ایزووله‌های مورد بررسی در این مطالعه از بخش‌های مختلف بیمارستان جمع آوری شده بودند [۶]. در مطالعه Okesola در سال ۲۰۱۲ تعداد ۹۰ ایزووله سودوموناس آنژوژنوز/ که از بخش‌های مختلف بیمارستان در نیجریه به دست آمده بودند، مورد بررسی قرار گرفتند. ۲۲/۲ درصد ایزووله‌ها تولیدکننده ESBLs بودند [۷]. در هند در سال ۲۰۱۱، ۴۲/۳ درصد ایزووله‌های سودوموناس آنژوژنوز/ ایزووله‌ها از بیماران مولد ESBLs بودند [۲۸]. در مطالعه Lim و همکاران در سال ۲۰۰۹ در مالزی ۴/۷ درصد [۲۹] و در مطالعه Wodford و همکاران در انگلستان در سال ۲۰۰۸، ۳/۷ درصد ایزووله‌های مورد بررسی مولد ESBLs گزارش شدند [۳۰]. نتایج

عامل ۱۰ تا ۱۵ درصد عفونت‌های بیمارستانی در جهان است [۲۳]. سودوموناس آنژوژنوز/ در محیط‌های مرطوب بیمارستانی به خوبی رشد می‌کند [۲۵، ۲۶]. 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، ۲۸، ۲۹]. هدف از مطالعه حاضر بررسی فراوانی آنژیم‌های بتالاکتاماز با طیف گسترش یافته (ESBL) و آنژیم‌های متالوبتاکتاماز (MBL) در سویه‌های سودوموناس آنژوژنوز/ای جدا شده از زخم سوختگی بود. در مجموع ۴۲ (۷۹ درصد)، ۴۰ (۷۴ درصد)، ۴۰ (۷۴ درصد)، ۳۸ (۷۰ درصد)، ۳۵ (۶۶ درصد)، و ۳۴ ایزووله (۶۲ درصد) به ترتیب نسبت به سفتیز و کسیم، ایمپینم، جنتامایسین، پیپراسیلین، سفپیم، مروپینم، و ارتاپنم مقاوم بودند و ۳۶ ایزووله (۶۶ درصد) حداقل به ۳ آنتی‌بیوتیک مقاوم بودند. در مطالعه احمدی و همکاران در سال ۱۳۹۱ که بر روی ۱۰۰ نمونه سودوموناس آنژوژنوز/ جدا شده از نمونه‌های بالینی بیماران بستری در بیمارستان‌های استان اصفهان انجام شد، میزان مقاومت سویه‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های سپروفلوکسازین ۵۶ درصد، جنتامایسین ۵۹ درصد، تویراما مایسین ۶۱ درصد، آمیکاسین ۶۵ درصد، ایمپینم ۵۵ درصد، سفپیم ۵۵ درصد، سفتازیدیم ۵۷ درصد، سفتیزیکسون ۶۰ درصد، سفوتابکسیم ۶۲ درصد، اگزاسیلین ۱۰۰ درصد و پیپراسیلین ۴۸ درصد بود [۴]. بنابراین، می‌توان گفت میزان مقاومت سودوموناس آنژوژنوز/ در نمونه‌های بالینی روند رو به رشدی داشته است. البته باید توجه داشت که در مطالعه احمدی ایزووله‌ها از بخش‌های مختلف بیمارستان جمع آوری شده بودند، اما در مطالعه حاضر ایزووله تنها از بیماران بستری در بیمارستان سوختگی بوده است. در مطالعه فضلی و همکاران در سال ۱۳۹۱ در اصفهان از ۹۸ ایزووله سودوموناس از بخش‌های مختلف بیمارستان ۹۱، ۹۰/۸، ۴۰/۸، ۵۰، ۶۶، ۹۴/۹، ۴۱/۸، ۵۴، ۷۷/۶، و ۸۵/۷ درصد به ترتیب به آنتی‌بیوتیک‌های سفپیم، آمیکاسین، جنتامایسین، سپروفلوکسازین، سفوتابکسیم، پیپراسیلین، سفتازیدیم، ایمپینم، سفتیز و کسیم مقاوم بودند. در این مطالعه ۷۳ ایزووله (۷۴ درصد) به بیش ۳ آنتی‌بیوتیک مقاوم بودند. بیشترین تعداد نمونه در این مطالعه از بخش سوختگی بوده (۳۶ درصد ایزووله‌ها) و به نظر می‌رسد به همین 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 ایزووله سودوموناس آنژوژنوز/ای جدا شده از زخم سوختگی انجام شد، بیشترین مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های کلاس آمینوگلیکوزید (آمیکاسین ۸۱ درصد، جنتامایسین ۸۸ درصد، تویراما مایسین ۸۴ درصد) بود و ۵۲/۹ درصد ایزووله‌ها به

پایین تر 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 عفونت‌های ناشی از سودوموناس آئروژینوزا به خصوص سفالوسپورین‌ها در کشور ما در حال گسترش است. در این مطالعه بیش از ۷۰ درصد ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا نسبت به سفتیزوکسیم، ایمپنیم، جنتامایسین، پیپراسیلین مقاوم بوده و فراوانی سودوموناس آئروژینوزای مولد ESBLs و MBL به ترتیب 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 به نظر 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 aeruginosa* 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]

حاصل موید این واقعیت است که در کشور ما به علت استفاده بی‌رویه از داروهای بتالاکتام به خصوص سفالوسپورین‌ها متسافنه فراوانی آنزیم‌های ESBLs در بیماران بستری در بخش‌های سوختگی و ICU نسبت به بسیاری از مناطق به خصوص کشورهای توسعه یافته بیشتر است. در مطالعه حاضر ۲۹/۵ درصد از ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزای مورد بررسی دارای آنزیم‌های متالوبتاالاکتماز 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 در شیراز، ۸ درصد ایزوله‌های اخذ شده از بخش سوختگی دارای MBL بودند [۳۲]. در مطالعه دوستی و همکاران در زنجان در سال ۱۳۹۰، از ۷۸ ایزوله سودوموناس آئروژینوزای اخذ شده از بخش ICU در صد مولد MBL بودند [۱۹]. با توجه به اینکه استان یزد قطب درمانی جنوب و شرق کشور است و بیماران بستری در بیمارستان‌های این استان از نقاط مختلف کشور می‌باشند، وجود تفاوت در نتایج حاصله با سایر استان‌ها منطقی به نظر می‌رسد. هم‌چنین، همان‌طور که قبل از گردید، استفاده متداول کارپانم‌ها جهت پیشگیری از عفونت پسودوموناسی در بخش سوختگی می‌تواند در گسترش فراوانی این آنزیم در این استان باشد. در فرانسه در مطالعه Walsh در سال ۲۰۰۵، ۴۶ درصد ایزوله‌ها که بیشتر آنها از کشت خون جدا شده بودند و در مطالعه Pitout هم در سال ۲۰۰۵ از ۲۴۱ ایزوله سودوموناس آئروژینوزا ۴۶ درصد، دارای آنزیم‌های متالوبتاالاکتماز بودند [۳۳]. خوشبختانه شیوع سویه‌های مولد MBL در بیشتر مطالعات مورد بررسی از کشور ما

- [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 pump. *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-lactamase 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 β-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. *Int 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 aerobically *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-

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-beta-lactamases in Gram-negative bacteria. *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.