

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

Akhavan Tafti F<sup>1</sup>, Zandi H<sup>1\*</sup>, Vakli M<sup>2</sup>, Mousavi M<sup>1</sup>, Zarei M<sup>1</sup>

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  $\beta$ -lactamase (ESBL) and metallo- $\beta$ -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  $\beta$ -lactamase and metallo- $\beta$ -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 متالوبتالاکتاماز سودوموناس آئروژینوزای جدا شده از زخم سوختگی در بیمارستان سوانح سوختگی یزد طی سال ۱۳۹۱

فاطمه اخوان تفتی<sup>۱</sup>، هنگامه زندی<sup>۲\*</sup>، محمود وکیلی<sup>۳</sup>، سید مرتضی موسوی<sup>۱</sup>، محدثه زارعی<sup>۱</sup>

## خلاصه:

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

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

**نتایج:** از ۱۸۰ نمونه کشت داده شده، ۵۴ (۳۰ درصد) ایزوله به‌عنوان سودوموناس آئروژینوزا تعیین هویت شد که ۲۲ درصد (۱۲ نمونه) دارای ESBL و ۲۹/۵ درصد (۱۶ نمونه) دارای MBL بودند. در مجموع ۴۲ (۷۹ درصد)، ۴۰ (۷۴ درصد)، ۴۰ (۷۴ درصد)، ۳۸ (۷۰ درصد)، ۳۵ (۶۶ درصد) و ۳۴ ایزوله (۶۲ درصد) به ترتیب نسبت به سفتریوکسیم، ایمینم، جنتامایسین، پیراسیلین، سفیم، مروپنم، و ارتاپنم 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، تجویز منطقی آنتی‌بیوتیک‌ها و کنترل عوامل مساعد کننده انجام شود. با توجه به اینکه آنزیم‌های ESBL و MBL کلاس‌های گوناگونی دارند و شیوع آنها در مناطق مختلف متفاوت است، لازم است بررسی‌های ملکولی در این زمینه انجام گردد.

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

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

## مقدمه

کنترل شیوع سودوموناس آئروژینوزا اغلب مشکل است، زیرا دارای مقاومت ذاتی نسبت به عوامل ضد میکروبی متعدد می‌باشد [۷، ۶]. مقاومت اکتسابی در سودوموناس آئروژینوزا از طریق مکانیسم‌های متعددی صورت می‌پذیرد که شامل تولید بتالاکتامازها، پمپ‌های ترشحی و تغییرات غشای خارجی می‌باشد [۹، ۸، ۶]. مقاومت به داروهای متعدد، معمولاً نتیجه ترکیبی از مکانیسم‌های متفاوت در یک سویه یا عملکرد یک مکانیسم خاص می‌باشد [۶]. مقاومت سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا به سفالوسپورین‌های نسل دوم و سوم (سوم) وسیع الطیف و مونوباکتام‌ها 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 A، C و D سرین بتالاکتاماز هستند و کلاس B متالو بتا-لاکتاماز است. بتالاکتامازهای وسیع الطیف (ESBLs) تایپ

سودوموناس آئروژینوزا یک باکتری بیماری‌زای فرصت طلب گرم منفی و هوازی است که دارای تاژک قطبی و پیلی، و اگزوتوکسین می‌باشد [۲، ۱]. این باکتری سومین علت عفونت بیمارستانی و دومین علت عفونت زخم سوختگی است [۳]. این باکتری یکی از عوامل مهم عفونت‌های مزمن ریوی و مرگ و میر در بچه‌ها و بزرگسالان مبتلا به بیماری سیستمیک فیبروزیس می‌باشد [۵، ۴].

<sup>۱</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی، یزد  
<sup>۲</sup> استادیار، گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی، یزد  
<sup>۳</sup> استادیار، گروه پزشکی اجتماعی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی، یزد

## \* نشانی نویسنده مسئول:

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

دوره نویسنده: ۰۳۵۱ ۸۲۰۳۴۱۴

تلفن: ۰۹۱۲ ۳۰۸۸۳۲۴

پست الکترونیک: hengameh\_zandi@yahoo.com

تاریخ پذیرش نهایی: ۹۲/۱۲/۱۷

تاریخ دریافت: ۹۲/۹/۲۰

بستری در بیمارستان سوانح و سوختگی شهید صدوقی یزد که دچار زخم سوختگی بوده و بیش از یک هفته آنتی‌بیوتیک استفاده نکرده بودند، حین تعویض پانسمان نمونه زخم سوختگی اخذ گردید. نمونه‌ها به آزمایشگاه میکروبی‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد منتقل شده و در محیط‌های کشت آگار خون‌دار (مرک، آلمان) غنی شده با ۵ درصد خون گوسفندی و محیط اتوزین 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 گلوکز و لاکتوز در محیط TSI (مرک - آلمان)، تولید اکسیداز، مصرف قندها از طریق اکسیداسیون در محیط OF (Oxidation-Fermentation) (مرک، آلمان)، رشد در ۴۲ درجه سانتی‌گراد، تولید پیگمان و حرکت استفاده شد.

سنجش حساسیت آنتی‌بیوتیکی: حساسیت ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های ایمپنیم، مروپنم و ارتاپنم (Mast انگلستان) و پپراسیلین، جنتامایسین، سفتریوکسیم و سفپیم (پادتن طب) به روش دیسک دیفیوژن (کری-بائر) و مطابق با استانداردهای (CLSI) [۲۲] سنجیده شد. مراحل کار بدین صورت بود که سوسپانسیون باکتریایی با کدورت معادل کدورت لوله ۰/۵ مک فارلند ( $1/5 \times 10^8$  باکتری) تهیه شده و سپس به وسیله سواپ استریل در محیط جامد مولر هیتتون (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: Resistant/Intermediate/Sensitive گزارش شد.

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

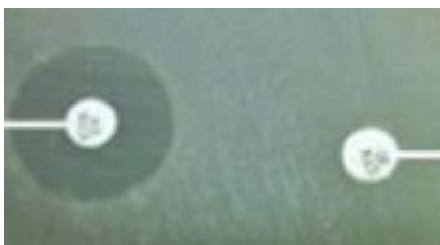
TEM و HSV بیشتر از بتالاکتامازهای کلاس A هستند [۱۳] که باعث مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام (پنی‌سیلین‌ها، سفالو-سپورین‌های نسل دوم و سوم که دارای زنجیره جانبی اکسی‌ایمینو هستند مانند سفنازیدیم، سفوتاکسیم، سفتریاکسون و سفپیم و مونوباکتام‌ها مانند آرترونام) می‌شود، اما در برابر سفامایسین‌ها، سفوکسیتین و سفوتتان و کارباپنم‌ها (مروپنم یا ایمپنیم) مؤثر نمی‌باشند [۱۶]. بتالاکتامازها توسط کلاولانیک اسید و سولباکتام و تازوباکتام مهار می‌شوند [۱۷]. تا به حال ۳۴۰ نوع ESBLs متفاوت شناسایی شده است [۱۳]. بیشتر انواع ESBLs در خانواده انتروباکتریاسه (شریشیکلی، کلبسیلا، انتروباکتر و غیر تخمیر کننده‌ها) یافت می‌شوند [۱۵]. بتالاکتامازهای کلاس B، متالوبتا-لاکتامازهایی هستند که وجود یک یا دو یون روی (Zn) در جایگاه فعال آنها ضروری است. متالوبتا-لاکتامازها توانایی غیر فعال سازی همه آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام به جز مونوباکتام 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 آئروژینوزای 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 آئروژینوزای مورد مطالعه و ۶۶/۶ درصد از ایزوله‌های جدا شده از کشت خون MDR بوده‌اند [۶]. در چین بیش از ۷۰ درصد ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا به این دو آنتی‌بیوتیک حساس هستند [۱۸]. در زنجان ۷۸ درصد سودوموناس آئروژینوزاهای اخذ شده از بخش ICU مولد MBL بودند [۱۹]. در فرانسه نیز ۴۶ 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 آئروژینوزای ایزوله شده از نمونه زخم سوختگی بیماران بستری در بیمارستان سوانح سوختگی یزد نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج در درمان و بررسی فنوتیپی وجود آنزیم‌های متالوبتا-لاکتاماز و بتالاکتاماز با طیف گسترش یافته می‌باشد.

#### مواد و روش‌ها

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

**نتایج**

از کشت ۱۸۰ نمونه زخم سوختگی مورد بررسی، تعداد ۵۴ ایزوله (۳۰ درصد) سودوموناس آئروژینوزا جدا شد. در مجموع ۴۲ (۷۹ درصد)، ۴۰ (۷۴ درصد)، ۴۰ (۷۴ درصد)، ۳۸ (۷۰ درصد)، ۳۵ (۶۶ درصد)، و ۳۴ ایزوله (۶۲ درصد) به ترتیب نسبت به سفتریزوکسیم، ایمپینم، جنتامایسین، پپراسیلین، سفپیم، مروپنم، و ارتاپنم مقاوم بودند (شکل شماره ۱، جدول شماره ۱). در سنجش متالوبتالاکتاماز به روش فنوتیپی از نوارهای E-test ایمپینم و ایمپینم-EDTA استفاده شد و از بین ۵۴ ایزوله، ۲۹/۵ درصد دارای آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز 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 آئروژینوزا مورد مطالعه

استریل در محیط مولر هیتون آگار تلقیح شد و دیسک‌های سفوتاکسیم و سفوتاکسیم-کلولانیک اسید و سفنازیدیم، سفنازیدیم-کلولانیک 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 سفنازیدیم-کلولانیک و یا سفوتاکسیم-کلولانیک بیش از پنج میلی‌متر نسبت به سفنازیدیم و سفوتاکسیم افزایش داشت، به-عنوان سویه تولیدکننده ESBL در نظر گرفته شد.

بررسی وجود آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز: آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز به روش فنوتیپی E.test MBL (bio merieux فرانسه) و با استفاده از نوارهای دو سویه E-test (ایمپینم/ایمپینم + EDTA) تعیین شد. در یک طرف نوار حاوی غلظت‌های مختلف ایمپینم (۸-۰/۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و در طرف دیگر غلظت‌های مختلف ایمپینم + EDTA (۲-۰/۳۲) میکروگرم بر میلی‌لیتر برای ایمپینم + EDTA وجود داشت. پس از تهیه سوسپانسیون باکتریایی با کدورت 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 متالوبتالاکتاماز، نقطه تلاقی هاله تشکیل شده در دو سوی نوار (ایمپینم و ایمپینم + EDTA) به‌عنوان رقت مهار (IC) در نظر گرفته شد و با واحد میکروگرم بر میلی‌لیتر به صورت کمی گزارش گردید. سپس، طبق دستورالعمل کارخانه سازنده چنانچه رقت مهار ایمپینم + EDTA نسبت به ایمپینم بیش از سه رقت کاهش داشت و یا نسبت رقت مهار ایمپینم به ایمپینم + EDTA، بزرگتر و یا مساوی ۸ بود، به‌عنوان سویه تولیدکننده متالوبتالاکتاماز در نظر گرفته شد.

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

| نوع آنتی‌بیوتیک | ارتاپنم      | مروپنم       | ایمپینم      | سفپیم        | پپراسیلین    | سفتریزوکسیم  | جنتامایسین   | اریترومایسین |
|-----------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|                 | تعداد (درصد) | تعداد (درصد) | تعداد (درصد) | تعداد (درصد) | تعداد (درصد) | تعداد (درصد) | تعداد (درصد) | تعداد (درصد) |
| مقاومت          | ۳۸ (۷۰)      | ۳۸ (۶۶)      | ۴۰ (۷۴)      | ۳۴ (۶۲)      | ۳۸ (۷۰)      | ۴۳ (۷۹)      | ۴۰ (۷۴)      | ۴۳ (۷۹)      |

**بحث**

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

جدول شماره ۲- بررسی ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا مورد مطالعه از نظر وجود آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز و آنزیم‌های بتالاکتاماز

| وسیع الطیف   |              |
|--------------|--------------|
| دارای MBL    | دارای ESBL   |
| تعداد (درصد) | تعداد (درصد) |
| ۱۶ (۲۹/۵)    | ۱۲ (۲۲/۱)    |
| مجموع        |              |

عامل ۱۰ تا ۱۵ درصد عفونت‌های بیمارستانی در جهان است [۲۳]. سودوموناس آئروژینوزا در محیط‌های مرطوب بیمارستانی به‌خوبی رشد می‌کند [۲۵، ۲۴]. 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، ۲۶، ۵]. هدف از مطالعه حاضر بررسی فراوانی آنزیم‌های بتالاکتاماز با طیف گسترش یافته (ESBL) و آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز (MBL) در سویه‌های سودوموناس آئروژینوزای جدا شده از زخم سوختگی بود. در مجموع ۴۲ (۷۹ درصد)، ۴۰ (۷۴ درصد)، ۴۰ (۷۴ درصد)، ۳۸ (۷۰ درصد)، ۳۵ (۶۶ درصد)، و ۳۴ (۶۲ درصد) به ترتیب نسبت به سفتریکسیم، ایمپین، جنتامایسین، پیراسیلین، سفپیم، مروپنم، و ارتاپنم مقاوم بودند و ۳۶ (۶۶ درصد) حداقل به ۳ آنتی‌بیوتیک مقاوم بودند. در مطالعه احادی و همکاران در سال ۱۳۹۱ که بر روی ۱۰۰ نمونه سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از نمونه‌های بالینی بیمارستان بستری در بیمارستان‌های استان اصفهان انجام شد، میزان مقاومت سویه‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین ۵۶ درصد، جنتامایسین ۵۹ درصد، تویرامایسین ۶۱ درصد، آمیکاسین ۶۵ درصد، ایمپین ۵۵ درصد، سفپیم ۵۵ درصد، سفنازیدیم ۵۷ درصد، سفتریاکسون ۶۰ درصد، سفوناکسیم ۶۲ درصد، اگزاسیلین ۱۰۰ درصد و پیراسیلین ۴۸ درصد بود [۴]. بنابراین، می‌توان گفت میزان مقاومت سودوموناس آئروژینوزا در نمونه‌های بالینی روند رو به رشدی داشته است. البته باید توجه داشت که در مطالعه احادی ایزوله‌ها از بخش‌های مختلف بیمارستان جمع‌آوری شده بودند، اما در مطالعه حاضر ایزوله تنها از بیمارستان بستری در بیمارستان سوختگی بوده است. در مطالعه فضلی و همکاران در سال ۱۳۹۱ در اصفهان از ۹۸ ایزوله سودوموناس از بخش‌های مختلف بیمارستان ۹۱، ۴۰/۸، ۵۰، ۴۱/۸، ۹۴/۹، ۶۶، ۷۷/۶، ۵۴، و ۸۵/۷ درصد به ترتیب به آنتی‌بیوتیک‌های سفپیم، آمیکاسین، جنتامایسین، سیپروفلوکساسین، سفوناکسیم، پیراسیلین، سفنازیدیم، ایمپین، سفتریکسیم مقاوم بودند. در این مطالعه ۷۳ ایزوله (۷۴ درصد) به بیش از ۳ آنتی‌بیوتیک مقاوم بودند. بیشترین تعداد نمونه در این مطالعه از بخش سوختگی بوده (۳۴ درصد ایزوله‌ها) 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 ایزوله سودوموناس آئروژینوزای جدا شده از زخم سوختگی انجام شد، بیشترین مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های کلاس آمینوگلیکوزید (آمیکاسین ۸۱ درصد، جنتامایسین ۸۸ درصد، تویرامایسین ۸۴ درصد) بود و ۵۲/۹ درصد ایزوله‌ها 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 به‌خصوص سفالوسپورین‌ها در کشور ما در حال گسترش است. در این مطالعه بیش از ۷۰ درصد ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا نسبت به سفتیزوکسیم، ایمینم، جنتامایسین، پیراسیلین 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 به‌نظر می‌رسد. با توجه به اینکه آنزیم‌های ESBL و MBL کلاس‌های گوناگونی دارند و شیوع آنها در مناطق مختلف متفاوت است، لازم است بررسی‌های ملکولی در این زمینه انجام گردد.

### تشکر و قدردانی

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

حاصل مویید این واقعیت است که در کشور ما به‌علت استفاده بی‌رویه از داروهای بتالاکتام به‌خصوص سفالوسپورین‌ها متأسفانه فراوانی آنزیم‌های ESBLs در بیماران بستری در بخش‌های سوختگی و ICU نسبت به بسیاری از مناطق به‌خصوص کشورهای توسعه یافته بیشتر است. در مطالعه حاضر ۲۹/۵ درصد از ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزای مورد بررسی دارای آنزیم‌های متالوبیتالاکتاماز بودند. در مطالعه گلشنی و همکاران در زاهدان در سال ۱۳۹۰، ۱۸ درصد ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزای مورد بررسی مولد MBL بودند [۳۱]. در مطالعه میر صالحیان و همکاران در تهران در سال ۱۳۸۹، ۱۱/۱ درصد و در مطالعه نوروزی در سال ۱۳۸۹ در شیراز، ۸ درصد ایزوله‌های اخذ شده از بیماران بستری در بخش سوختگی دارای MBL بودند [۳۲،۳]. در مطالعه دوستی و همکاران در زنجان در سال ۱۳۹۰، از ۷۰ ایزوله سودوموناس آئروژینوزای اخذ شده از بخش ICU، ۷۸ درصد مولد MBL بودند [۱۹]. با توجه به اینکه استان یزد قطب درمانی جنوب و شرق کشور است و بیماران بستری در بیمارستان‌های این استان از نقاط مختلف کشور می‌باشند، وجود تفاوت در نتایج حاصله با سایر استان‌ها منطقی به‌نظر می‌رسد. هم‌چنین، همان‌طور که قبلاً ذکر گردید، استفاده متداول کاربایتم‌ها جهت پیشگیری از عفونت پسودوموناسی در بخش سوانح سوختگی می‌تواند در گسترش فراوانی این آنزیم در این استان باشد. در فرانسه در مطالعه Walsh در سال ۲۰۰۵، ۶۶ درصد ایزوله‌ها که بیشتر آنها از کشت خون جدا شده بودند و در مطالعه Pitout هم در سال ۲۰۰۵ از ۲۴۱ ایزوله سودوموناس آئروژینوزا ۶۶ درصد، دارای آنزیم‌های متالوبیتالاکتاماز بودند [۳۴،۳۳]. خوشبختانه شیوع سویه‌های مولد MBL در بیشتر مطالعات مورد بررسی از کشور ما

### 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]

- [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  $\beta$ -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- $\beta$ -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  $\beta$ -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, Krebs 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, Puthuchery 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- $\beta$ -Lactamase Gene in Imipenem-Resistant Pseudomonas Aeruginosa Strains Isolated from Clinical Samples. *Zahedan J Res Med Sci* 2013; 12(7): 29-32.

[32] Norozi F, Kalantar D, Mansori Sh, Moradi M, Por Ebrahim A, Orangi M. detection of Imipenem resistance and beta-lactamase enzymes MBL in

clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa in Burn Hospital Center in Shiraz. *Iran J Infect Dis Trop Med* 2010; 15(49): 37-41.

[33] Walsh TR. The emergence and implications of metallo-betalactamases in Gram-negative 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.