

Determination of the Frequency of CTX-M Gene in Extended Spectrum β Lactamases (ESBLs) Producing *Pseudomonas aeruginosa* in Clinical Samples in Ahvaz Taleghani Hospital, 2015 (Iran)

Ameneh Alami¹, Robab Rahimi¹, Hossein Meghdadi^{1*}

¹Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.

*Corresponding Author:
Hossein Meghdadi,
Department of Microbiology,
Faculty of Medicine,
Jundishapur University of
Medical Sciences, Ahvaz,
Iran.

Email:
h.meghdadi20@gmail.com

Received: 12 Jun, 2016

Accepted: 7 Aug, 2016

Abstract

Background and Objectives: *Pseudomonas aeruginosa* is an important pathogen in clinical infections, which has different mechanisms of antibiotic resistance. Extended spectrum β lactamases (ESBLs) are a very important mechanism of antibiotic resistance in this bacterium. The objective of this study was to determine the prevalence of CTX-M gene in ESBL-producing *P. aeruginosa* isolates in clinical samples.

Methods: This study was a cross-sectional study. A total of 110 isolates of *P. aeruginosa* were collected from clinical samples, and after verification by biochemical tests, antibiotic susceptibility testing was performed using disk diffusion method. ESBLs were combined by combined disk method, and then CTX-M gene was identified using PCR method.

Results: All the isolates were sensitive to colistin sulphate and the highest resistance was to ceftazidime and gentamicin, 80.9% and 80%, respectively. Ninety-three isolates (84.5%) were resistant to three different classes of antibiotics. Also, 19 samples (17.3%) were producing ESBLs and 4 samples (21.1%) had CTX-M gene.

Conclusion: The results of this study showed high levels of antibiotic resistance in *P. aeruginosa* isolates, which more than ever emphasizes the need for comprehensive programs for control and treatment of this resistant pathogen.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*; beta-lactamases; Polymerase chain reaction; *Escherichia coli* protein.

تعیین فراوانی ژن CTX-M در ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزای تولیدکننده بتالاکتامازهای وسیع الطیف (ESBLs)، در نمونه‌های بالینی بیمارستان طالقانی اهواز، سال

۱۳۹۴

آمنه عالمی^۱، رباب رحیمی^۱، حسین مقدادی^{۱*}

چکیده

زمینه و هدف: سودوموناس آئروژینوزا یک پاتوژن بسیار مهم در عفونت‌های بالینی بوده که دارای مکانیسم‌های گوناگون مقاومت به آنتی‌بیوتیک است. بتالاکتام‌های وسیع‌الطیف (ESBLs) نیز یک مکانیسم ضدآنتی‌بیوتیکی بسیار مهم در این باکتری می‌باشند. این مطالعه با هدف تعیین فراوانی ژن CTX-M در ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزای تولیدکننده بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف در نمونه‌های بالینی انجام شد.

روش بررسی: این مطالعه از نوع مقطعی - توصیفی بود. ۱۱۰ سودوموناس آئروژینوزا از نمونه‌های بالینی، جمع‌آوری و بعد از تأیید به‌وسیله تست‌های بیوشیمیایی و تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی، به روش دیسک دیفیوژن انجام شد. برای تأیید بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف، روش دیسک ترکیبی برای آنها انجام شد و سپس ژن CTX-M به روش PCR مورد شناسایی قرار گرفت.

یافته‌ها: تمام ایزوله‌ها به کولیسیتین سولفات حساس بودند و بیشترین مقاومت مربوط به آنتی‌بیوتیک‌های سفتازیدیم و جنتامایسین با ۸۰/۹٪ و ۸۰/۸٪ بود. ۹۳ ایزوله (۸۴/۵٪)، به سه کلاس مختلف آنتی‌بیوتیکی مقاوم بودند. همچنین ۱۹ نمونه (۱۷/۳٪)، بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف (ESBL) تولید می‌کرد و ۴ نمونه (۲۱/۱٪) دارای ژن CTX-M بود.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه، گستردگی زیاد مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا را نشان داد، که نیاز به ایجاد برنامه‌های مدون در کنترل و درمان این پاتوژن قدرتمند را بیش از پیش تأکید می‌کند.

کلیدواژه‌ها: سودوموناس آئروژینوزا؛ بتالاکتامازهای؛ واکنش زنجیره‌ای پلیمرز؛ پروتئین /شرشیاکلی.

گروه میکروبی‌شناسی پزشکی،
دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی
جندی‌شاپور، اهواز، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات:

حسین مقدادی، گروه میکروبی‌شناسی
پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم
پزشکی جندی‌شاپور، اهواز، ایران.

آدرس پست الکترونیکی:
h.meghdadi20@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۵/۳/۲۲

تاریخ پذیرش: ۹۵/۵/۱۶

لطفاً به این مقاله به‌صورت زیر استناد نمایید:

Alami A, Rahimi R, Meghdadi H. Determination of the frequency of CTX-M Gene in Extended Spectrum β Lactamases (ESBLs) producing pseudomonas aeruginosa in clinical samples in Ahvaz taleghani hospital, 2015 (Iran). Qom Univ Med Sci J 2017;11(6):102-110. [Full Text in Persian]

مقدمه

سودوموناس آئروژینوزا یک پاتوژن فرصت‌طلب و یکی از عوامل عفونت بیمارستانی است که در بیماران دارای ضعف سیستم ایمنی همراه با بروز مرگ‌ومیر می‌باشد (۱). این پاتوژن مهم، عامل حدود ۱۰٪ از عفونت‌های بیمارستانی در سرتاسر جهان است (۲). سودوموناس آئروژینوزا باعث عفونت در ارگان‌های زیادی می‌شود که از جمله می‌توان به عفونت‌های دستگاه ادراری، سوختگی‌ها، زخم‌ها، سپتیسمی و عفونت ریه مزمن در بیماران سیستمیک فیبروز اشاره کرد (۳). درمان عفونت‌های ناشی از این ارگانیسم دشوار است؛ زیرا این باکتری مقاومت ذاتی به عوامل ضد میکروبی و آنتی‌بیوتیک‌های مؤثر نشان می‌دهد (۴). این مقاومت ذاتی به عوامل ضد میکروبی و مقاومت‌های چندگانه به دارو (MDR)، یک مشکل مهم و یک معضل بزرگ در درمان عفونت سودوموناس به‌شمار می‌رود که سبب وخیم‌تر شدن وضعیت درمان عفونت‌های سودوموناس آئروژینوزا در مراکز درمانی می‌گردد (۵). اصطلاح مقاومت در برابر چند دارو در سودوموناس آئروژینوزا (MDRPA)، به‌عنوان مقاومت به سه داروی ضد میکروبی شناخته شده و یا حتی چند آنتی‌بیوتیک مختلف از جمله: پنی‌سیلین، سفالوسپورین، فلوروکینولون، کارباپنم‌ها و آمینوگلیکوزیدها می‌باشد (۲، ۴، ۶).

سودوموناس آئروژینوزا دارای مکانیسم‌های مختلف مقاومت در برابر عوامل ضد میکروبی است که این مکانیسم‌ها شامل: کاهش نفوذپذیری غشای خارجی، سیستم افلاکس که آنتی‌بیوتیک را به‌طور فعال به خارج از سلول پمپ می‌کند و تولید آنزیم غیرفعال‌کننده آنتی‌بیوتیک می‌باشد (۶).

از مکانیسم‌های مقاومت در سودوموناس‌های مقاوم به چند دارو (MDRPA) می‌توان به تولید چندین آنزیم غیرفعال‌کننده بتالاکتام‌های وسیع‌الطیف (ESBLs) و متالوبتالاکتام‌ها (MBLs) اشاره کرد (۲). بتالاکتام‌ها داروهای مناسبی جهت درمان سودوموناس آئروژینوزا بودند، اما بعد از مدتی برخی از باکتری‌ها با تولید بتالاکتام‌ها به این آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت نشان دادند. بتالاکتام‌های وسیع‌الطیف، آنزیمی است که برای اولین بار در سال ۱۹۸۳ از کلبسیلا پنومونیه در آلمان جدا شد. این آنزیم توسط انتروباکتریاسه‌ها از جمله گونه‌های کلبسیلا، اشرشیاکلی و

سودوموناس آئروژینوزا که شرح داده شد، تولید می‌گردد (۷). تاکنون آنزیم‌های زیادی مرتبط با ESBLs شناخته شده که از جمله می‌توان به CTX-M، OXA، TEM و CAZ اشاره کرد (۹، ۸). یکی از مهم‌ترین آنزیم‌ها CTX-M می‌باشد که نام آن مخفف Cefotaximase است و همان‌طور که از نامش پیداست، آنتی‌بیوتیک سفوتاکسیم را غیرفعال می‌کند.

به‌علت نقش مهم سودوموناس آئروژینوزا در عفونت‌های بالینی و ضرورت شناسایی تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی این پاتوژن مهم، در این مطالعه باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزای دخیل در عفونت‌های بالینی از بیماران، ایزوله و تعیین مقاومت دارویی شدند، همچنین بعد از تعیین ایزوله‌های دارای بتالاکتام‌های وسیع‌الطیف (ESBLs)، ژن CTX-M به روش PCR شناسایی گردید.

روش بررسی

در این مطالعه توصیفی - مقطعی، تعداد ۱۱۰ نمونه سودوموناس آئروژینوزا از اوایل فروردین‌ماه ۱۳۹۴ تا اواخر اسفندماه سال ۱۳۹۴ از نمونه‌های بالینی شامل: خون، ادرار و زخم سوختگی از بیماران بستری در بیمارستان سوختگی طالقانی اهواز جمع‌آوری شد. نمونه‌ها جهت جداسازی سودوموناس آئروژینوزا روی محیط‌های بلاد آگار و مکانکی آگار کشت داده شدند. کلنی‌های مشکوک، مجدد کشت داده و خالص شدند. شناسایی اولیه براساس آزمون‌های اکسیداز، کاتالاز، TSI، تخمیر انواع قندها، آزمون سیترات، اندول، MR/VP، رشد در ۴۴ درجه سانتیگراد، تولید پیگمان و بررسی حرکت روی محیط SIM انجام شد (۱۰). نمونه‌های سودوموناس آئروژینوزا به‌وسیله روش دیسک دیفیوژن (Kirby-Bauer) و طبق استانداردهای CLSI، تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی گردید. در این روش، سوسپانسیون میکروبی معادل ۰/۵ مک‌فارلند، روی محیط مولر هینتون آگار کشت داده شد و از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی (شرکت Mast انگلستان) استفاده گردید که این دیسک‌ها شامل: سفنازیدیم (۳۰ میلی‌گرم)، جنتامایسین (۱۰ میلی‌گرم)، پیراسیلین (۷۵ میلی‌گرم)، پیراسیلین + تازوباکتام (۱۱۰ میلی‌گرم)، آمیکاسین (۳۰ میلی‌گرم)، سیپروفلوکساسین (۵ میلی‌گرم)، ایمپنم (۱۰ میلی‌گرم) و مروپنم (۱۰ میلی‌گرم) بودند این دیسک‌ها به فاصله ۲/۴ سانتی‌متر از

یکدیگر روی محیط مورد نظر جاگذاری شدند. بعد از ۲۴-۱۸ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد، قطر هاله عدم رشد اطراف هر دیسک، اندازه‌گیری و نتایج آن ثبت گردید. نتایج به‌عنوان حساس و یا مقاوم با توجه به معیارهای توصیه‌شده توسط CLSI و پروتکل‌های شرکت سازنده (شرکت Mast انگلستان) تفسیر شد.

در طول مطالعه از سویه استاندارد *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853)، به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد (۱۱). تولید بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف (ESBL)، به‌وسیله آزمون فنوتیپی دیسک دیفیوژن تأییدی (روش دیسک ترکیبی) مشاهده گردید (شکل شماره ۱).

در این روش از یک دیسک سفنازیدیم (۳۰ میکروگرم) و یک دیسک ترکیبی سفنازیدیم/کلولانیک (۱۰/۳۰ میکروگرم) استفاده شد. یک افزایش ≤ 5 میلی‌متر در قطر هاله عدم رشد به‌عنوان ESBL، تفسیر گردید (۱۲).

برای استخراج DNA از روش Boiling استفاده شد. ابتدا چند کلنی تازه از محیط کشت حاوی سودوموناس آئروژینوزای خالص در ۱۰۰ میکرولیتر آب دیونیزه یا آب مقطر استریل به‌شکل سوسپانسیون درآورده شد و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد جوشانده، سپس با دور ۱۴۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. از محلول رویی (حاوی DNA باکتری)، جهت PCR استفاده گردید. برای تأیید درجه خلوص DNA در

نمونه‌های استخراج‌شده، از دستگاه بیوفومتر (شرکت Eppendorf، آلمان) استفاده گردید. میزان خلوص DNA با نسبت ۲۶۰/۲۸۰ به دست آمد (۱۳). برای انجام PCR از جفت پرایمرهای CTX-M/F [TTGCGATGTGCAGTACCAGTAA] و CTX-M/R [CGATATCGTTGGTGGTGCCATA] با طول محصول ۵۹۰bp استفاده شد (۱۴). این واکنش در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر حاوی 10x PCR buffer 2/5µl، 10mM dNTPs، 1/5µl Mgcl2، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر، ۱/۵ واحد

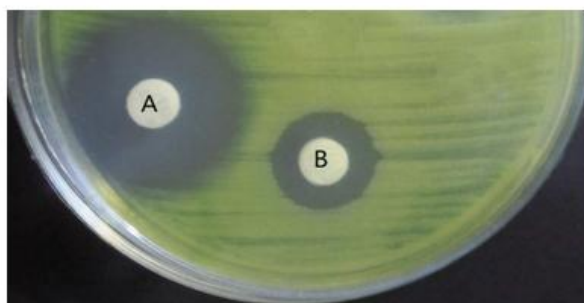
در این مطالعه از سویه استاندارد *K.pneumoniae* ATCC 7881 به‌عنوان کنترل مثبت و از مستر میکس بدون DNA به‌عنوان کنترل منفی استفاده گردید. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸ و آزمون مجذور کای از نظر آماری بررسی شدند.

یافته‌ها

در این مطالعه، ۱۱۰ باکتری سودوموناس آئروژینوزا از نمونه‌های بالینی شامل: نمونه خون ۱۳ (۱۱/۸٪)، نمونه ادرار ۹ (۸/۲٪) و نمونه زخم سوختگی ۸۸ (۸۰٪) ایزوله گردید. این تعداد نمونه از ۴۴٪ مرد و ۵۶٪ زن با متوسط سن ۴۶ سال جدا شد. در آزمون تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی، بیشترین حساسیت مربوط به آنتی‌بیوتیک‌های کولیسیتین سولفات (۱۰۰٪) و پس از آن ایمپنم (۴۳/۶٪) و بیشترین درصد مقاومت آنتی‌بیوتیکی مربوط به آنتی‌بیوتیک‌های سفنازیدیم (۸۰/۹٪) و پس از آن جنتامایسین (۸۰٪) بود. تعداد ۹۳ ایزوله (۸۴/۵٪) که به سه کلاس از کلاس‌های مختلف آنتی‌بیوتیکی و یا بیشتر از سه کلاس (کارباپنم‌ها، آمینوگلیکوزیدها و فلوروکوئینولون‌ها) مقاوم بودند، به‌عنوان ایزوله مقاوم به چندین دارو یا MDR در نظر گرفته شدند (جدول شماره ۱). (۱۷/۳٪) ۱۹ نمونه از ۱۱۰ نمونه، بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف (ESBL) تولید می‌کرد و آزمون فنوتیپی دیسک دیفیوژن، مثبت بود (شکل شماره ۱).

جدول شماره ۱: درصد مقاومت آنتی‌بیوتیکی ۱۱۰ ایزوله سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از نمونه‌های بالینی به روش دیسک دیفیوژن آگار

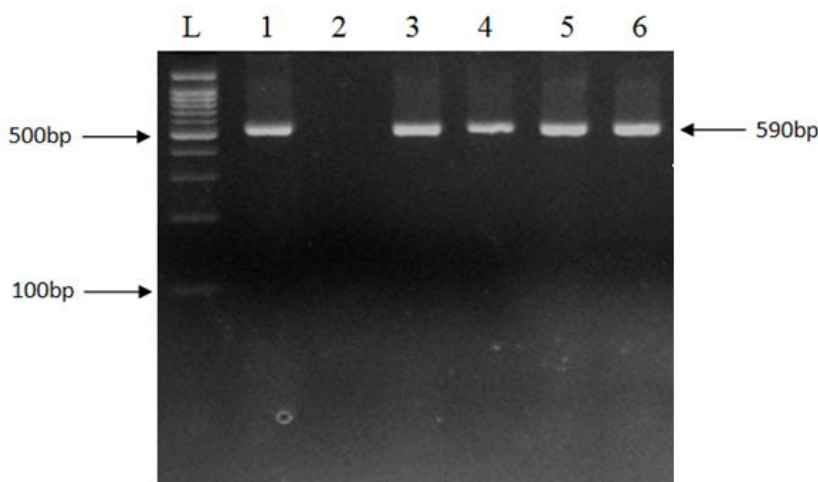
حساس		نیمه‌حساس		مقاوم		آنتی‌بیوتیک
درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	
۱۰۰	۱۱۰	۰	۰	۰	۰	کولیسیتین سولفات
۴۳/۶	۴۸	۱/۸	۲	۵۴/۵	۶۰	ایمی‌پنم
۴۰/۹	۵۰	۲۰/۹	۲۳	۴۷/۳	۵۷	مروپنم
۲۱/۸	۲۴	۰/۹	۱	۷۷/۳	۸۵	پیراسیلین
۴۰/۹	۴۵	۰/۹	۱	۵۸/۲	۶۴	پیراسیلین / تازوباکتام
۱۹/۱	۲۱	۰/۹	۱	۸۰	۸۸	جتناماسین
۱۸/۲	۲۰	۳/۶۴	۴	۷۸/۲	۸۶	آمیکاسین
۲۹/۱	۳۲	۰/۹	۱	۷۰	۷۷	سیپروفلوکساسین
۱۴/۵	۱۶	۴/۵	۵	۸۰/۹	۸۹	سفتازیدیم
۲۳/۶	۲۶	۰	۰	۷۶/۴	۸۴	سفتوتاکسیم



شکل ۱: دیسک B سفتازیدیم (۳۰ میکروگرم) و دیسک A یک ترکیبی سفتازیدیم/کلولانیک (۱۰/۳۰ میکروگرم) می‌باشد. افزایش ≤ 5 میلی‌متر در قطر هاله عدم رشد وجود ESBL را تایید می‌کند.

نوع نمونه و درصد مقاومت‌ها و میزان وجود ژن CTX-M در جدول شماره ۲ آورده شده است.

از ۱۱۰ ایزوله سودوموناس آئروژینوزا که به وسیله روش PCR مورد بررسی قرار گرفت. ۴ نمونه (۲۱/۱٪) دارای ژن CTX-M بود (شکل شماره ۲).



شکل ۲: L: Ladder 100bp، شماره ۱: سویه استاندارد K.pneumoniae ATCC 7881 به عنوان کنترل مثبت، شماره ۲: مستر میکس بدون DNA به عنوان کنترل منفی، شماره ۳ تا ۶: نمونه‌های مثبت سودوموناس آئروژینوزا می‌باشد.

جدول شماره ۲: نوع نمونه و درصد مقاومت‌ها و میزان وجود ژن CTX-M

نوع نمونه	میزان مقاومت	ایمی‌پنم و مروپنم تعداد(درصد)	آمیکاسین و جنتامایسین تعداد(درصد)	سیپروفلوکسازین تعداد(درصد)	سفتازیدیم تعداد(درصد)	ESBLs تعداد(درصد)	CTX-M مثبت تعداد(درصد)
زخم	۸۸ (۸۰٪)	۶۱ (۵۵/۵٪)	۶۷ (۶۰/۹٪)	۶۵ (۵۹/۱٪)	۷۶ (۶۹/۱٪)	۱۴ (۱۲/۷٪)	۳ (۲/۷٪)
خون	۱۳ (۱۱/۸٪)	۸ (۷/۳٪)	۱۰ (۹/۱٪)	۸ (۷/۳٪)	۹ (۸/۲٪)	۳ (۲/۷٪)	-
ادرار	۹ (۸/۲٪)	۵ (۴/۵٪)	۷ (۶/۴٪)	۴ (۳/۶٪)	۴ (۳/۶٪)	۲ (۱/۸٪)	۱ (۰/۹٪)

بحث

سودوموناس آئروژینوزا یکی از عوامل فرصت طلب و جدی در عفونت‌های بیمارستانی مانند سوختگی‌های شدید و بیماران دچار سیستمیک فیبروزیس می‌باشد. سودوموناس آئروژینوزا به علت مقاومت آنتی‌بیوتیکی توانسته به تنهایی ۳۰٪ عفونت‌های بیمارستانی را به خود اختصاص دهد (۱۶، ۱۵) در بسیاری از مراکز سوختگی در سراسر دنیا سودوموناس آئروژینوزا، شایع‌ترین ارگانسمی است که از زخم سوختگی عفونی جدا می‌شود (۱۷). یکی از مهم‌ترین عوارض مطرح در سوختگی‌ها، عفونت زخم بوده که عامل بیش از ۷۵٪ مرگ‌ومیرهای پس از سوختگی است. در این مطالعه از ۱۱۰ ایزوله جمع‌آوری شده، تعداد ۸۸ نمونه (۸۰٪) از زخم سوختگی به دست آمد که نشان‌دهنده فراوانی این باکتری در عفونت زخم می‌باشد. طی چنددهه اخیر، الگوی عفونت زخم‌های سوختگی تغییر یافته که این مسئله شاید به دلیل ازدیاد مصرف آنتی‌بیوتیک‌های با طیف وسیع باشد. مقاومت سودوموناس آئروژینوزا به اکثریت داروهای ضد میکروبی، بیشتر در نتیجه همراهی بین Outer Membrane Permeability سیستم پمپ چنددارویی، تیپ ۱ بتالاکتاماز می‌باشد (۱۸). بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف گروهی از آنزیم‌های ناشی از پلاسمید هستند که قادر به تخریب سفالوسپورین‌های با طیف اثر وسیع مانند سفوتاکسیم، سفتریاکسون و سفتازیدیم بوده و به‌طور عمده توسط مهارکننده‌های بتالاکتاماز از جمله کلوانیک اسید، سولباکتام و تازوباکتام مهار می‌شوند (۲). در مطالعه حاضر، ۱۹ نمونه (۱۷/۳٪) از کل نمونه‌ها، بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف (ESBLs) تولید می‌کرد. در مطالعه فاضلی و همکاران (سال ۱۳۹۰) در شهر اصفهان از ۳۰ نمونه که از بیماران مربوط به سوختگی جدا شد، ۲۳/۳٪ نمونه‌ها، ESBLs مثبت بودند (۱۹)، که نسبت به مطالعه حاضر دارای فراوانی بالاتری بود.

در مطالعه Ramalingam و همکاران (سال ۲۰۱۵) در هندوستان، ۱۳/۶٪ ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا، ESBLs مثبت بود (۲۰). همچنین در مطالعه‌ای که Zafer و همکاران (سال ۲۰۱۴) در مصر انجام دادند میزان فراوانی ESBLs، ۷/۴٪ گزارش شد (۲۱). هر دو مطالعه فوق نسبت به پژوهش حاضر، فراوانی پایین‌تری داشتند (۲۲). ۷۴ ایزوله (۶۷/۳٪) سودوموناس آئروژینوزا به هر دو آنتی‌بیوتیک ایمی‌پنم و مروپنم، و ۸۴ ایزوله (۷۶/۴٪) به هر دو آنتی‌بیوتیک آمیکاسین و جنتامایسین مقاوم بودند. همچنین ۷۷ ایزوله (۷۰٪) سودوموناس آئروژینوزا به سیپروفلوکسازین مقاوم بود. در مورد مقاومت دارویی سودوموناس آئروژینوزا، مطالعات بسیار زیادی در دنیا صورت گرفته که برحسب زمان و مکان متفاوت بوده است. در مطالعه آذرگون و همکاران (سال ۱۳۹۲) در تهران، مقاومت به سیپروفلوکسازین، ایمی‌پنم و سفتازیدیم به ترتیب ۱۵/۷٪، ۱۳/۷٪ و ۹/۸٪ گزارش گردید که نسبت به مطالعه حاضر متفاوت بود (۲۳). در مطالعه Hassuna و همکاران (سال ۲۰۱۵) بر روی نمونه‌های سوختگی در کشور مصر، بیشترین مقاومت نسبت به سفتازیدیم (۸۶٪) و سفوتاکسیم (۷۲٪) گزارش شد (۲)، که فراوانی به‌دست‌آمده به نتایج این مطالعه نزدیک بود. تعداد ۴۵ ایزوله (۴۰/۹٪) به سه کلاس (از جمله کارباپنم‌ها، آمینوگلیکوزیدها و فلوروکوئینولون‌ها) مقاوم بودند که به‌عنوان ایزوله مقاوم به چندین دارو یا MDR در نظر گرفته شدند، در حالی که در مطالعه Hassuna و همکاران (سال ۲۰۱۵) در مصر، ۵۶٪ بود (۲). در مطالعه آذرگون و همکاران در تهران نیز مقاومت همزمان به چند دارو، ۱۳/۷٪ گزارش گردید (۲۳). CTX-M به همراه shv و tem از مهم‌ترین آنزیم‌های مرتبط با ESBLs هستند که تاکنون شناخته شده‌اند (۲۴). آنزیم CTX-M، آنتی‌بیوتیک سفوتاکسیم را غیرفعال می‌کند.

کلونیزه شدن زخم سوخته با سودوموناس، فقدان پاسخ نوتروفیلیک مناسب به تهاجم بافتی و مقاومت ذاتی این باکتری به طیف بسیار زیاد آنتی‌بیوتیک‌ها؛ این میکروارگانیسم می‌تواند بیمار را به فاز باکتری می و سپی‌سمی ببرد که نتیجه آن مرگ بیمار است. با در نظر گرفتن مکانیسم‌های گسترده سودوموناس آئروژینوزا در مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها، بحث ژن‌های اصلی کدکننده آنزیم بتالاکتاماز وسیع‌الطیف ESBLs و گسترش افقی (Horizontal) ژن‌های بتالاکتاماز؛ کسب آگاهی بیشتر از میزان شیوع ژن‌های مختلف این آنزیم‌ها در هر منطقه بسیار ضروری است. همچنین با توجه به نتایج به‌دست آمده در مطالعه حاضر و درصد مقاومت بالای ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا، لازم است برنامه‌هایی بسیار جامع در کنترل و درمان این باکتری ایجاد شود و اهتمام جدی و مناسب در اجرای این برنامه‌ها به‌وجود آید.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همکاران محترم گروه میکروبی‌شناسی پزشکی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، همچنین همکاران محترم بیمارستان طالقانی اهواز که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌نمایم.

در مطالعه حاضر از ۱۱۰ ایزوله سودوموناس آئروژینوزا که به‌وسیله روش PCR مورد بررسی قرار گرفت؛ ۴ نمونه (۳/۶٪) از ۱۹ نمونه دارای بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف، ژن CTX-M داشتند، که به‌علت وجود این ژن و تولید آنزیم بتالاکتاماز CTX-M به سفوتاکسیم، مقاوم بودند. این درحالی است که در بررسی فنوتیپی، ۷۶/۴٪ ایزوله‌ها به سفوتاکسیم مقاوم بودند. با توجه به این اختلاف می‌توان نتیجه گرفت مقاومت به سفوتاکسیم علاوه بر وجود ژن CTX-M، ناشی از سایر مکانیسم‌های مقاومت نیز می‌باشد. در بررسی Chen و همکاران (سال ۲۰۱۵) بر روی ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا، ۱۴/۳٪ دارای ژن CTX-M بودند (۲۵). در مطالعه ربانی و همکاران نیز که در شیراز بر روی ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا ایجادکننده عفونت صورت گرفت، ۱۵/۵٪ دارای ژن CTX-M بودند (۲۶) ولی در مطالعه بکائیان و همکاران (سال ۲۰۱۵) در زاهدان، ۲۲/۴٪ حاوی ژن CTX-M بودند (۲۷)، که این نتایج با یافته‌های به‌دست آمده در مطالعه حاضر همخوانی داشت.

نتیجه‌گیری

اگرچه امروزه می‌توان سودوموناس آئروژینوزا را با استفاده از چند تست در آزمایشگاه تشخیص داد، ولی گاهی به دلایلی مانند

References:

1. Peshattiwari PD, Peerapur BV. ESBL and MBL mediated resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: An emerging threat to clinical therapeutics. *J Clin Diagn Res* 2011;5(8):1552-4.
2. Hassuna NA, Mohamed AH, Abo-Eluoon SM, Rizk HA. High prevalence of multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* recovered from infected burn wounds in children. *Arch Clin Microbiol* 2015;6(4):1.
3. Jefferies JMC, Cooper T, Yam T, Clarke SC. *Pseudomonas aeruginosa* outbreaks in the neonatal intensive care unit – a systematic review of risk factors and environmental sources. *J Med Microbiol* 2012;61(Pt 8):1052-61.
4. Ghanbarzadeh Corehtash Z, Khorshidi A, Firoozeh F, Akbari H, Mahmoudi Aznavah A. Biofilm formation and virulence factors among *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from burn patients. *Jundishapur J Microbiol* 2015;8(10):e22345.
5. Pagani L, Mantengoli E, Migliavacca R, Nucleo E, Pollini S, Spalla M, et al. Multifocal detection of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing the PER-1 extended-spectrum -lactamase in northern Italy. *J Clin Microbiol* 2004;4(6):2523-9.

6. Mahmoud AB, Zahran WA, Hindawi GR, Labib AZ, Galal R. Prevalence of Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* in patients with nosocomial infections at a university hospital in Egypt, with special reference to typing methods. J Virol Microbiol 2013;2013:ID 290047.
7. Basak S, Attal RO, Rajurkar MN. *Pseudomonas Aeruginosa* and Newer β -Lactamases: An emerging resistance threat. Infection Control Updates 2012. InTech.
8. Jiang X, Zhang Z, Li M, Zhou D, Ruan F, Lu Y. Detection of extended-spectrum β -lactamases in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother 2006;50(9):2990-95.
9. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-Spectrum β -Lactamases: A clinical update. Clin Microbiol Rev 2005;18(4):657-86.
10. Tramper-Stranders GA, van der Ent CK, Wolfs TF. Detection of *Pseudomonas aeruginosa* in patients with cystic fibrosis. J Cyst Fibros 2005;4(2):37-43.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-First Informational Supplement. M100-S21 2011;31(1):1-172.
12. Ahmed OI, El-Hady SA, Ahmed TM, Ahmed IZ. Detection of bla SHV and bla CTX-M genes in ESBL producing *Klebsiella pneumoniae* isolated from Egyptian patients with suspected nosocomial infections. Egypt J Med Hum Genet 2013;14(3):277-83.
13. Lodish H, Berk A, Kaiser CA, Matsudaira P, Baltimore D, Darnell J. Molecular Cell Biology. 6th ed. New York: W.H. Freeman Pub; 2008. p. 351-403.
14. Edelstein M, Pimkin M, Palagin I, Edelstein I, Strachounski L. Prevalence and Molecular Epidemiology of CTX-M Extended-Spectrum-Lactamase-Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumonia* in Russian Hospitals. Antimicrob Agents Chemother 2003;47(12):3724-32.
15. Kolak J, van Saene HK, de la Cal MA, Silvestre L, Peric M. Control of bacterial pneumonia during mechanical ventilation. Croat Med J 2005;46(2):183-96.
16. Rossolini GM, Mantegoli E. Treatment and control of severe infections caused by multiresistant *Pseudomonas aeruginosa*. Clin Microbiol Infect 2005;11(14):17-32.
17. Sadikot RT, Blackwell TS, Christman JW, Prince AS. Pathogen-host interactions in *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia. Am J Respir Crit Care Med 2005;171(11):1209-23.
18. Hancock REW. Resistance mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa* and other nonfermentative gram negative bacteria. Clin Infect Dis 1998;27 Suppl 1:S93-9.
19. Fazzeli H, Faghri J, Kabiri P, Fatahibafghi M, Arabestani MR. Identification of beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* with multiple antibiotic resistances. J Isfahan Med Sch 2011;29(154):1365-74. [Full Text in Persian]
20. Ramalingam AJ, Santhanam L, Saikumar C, Illamani V. Detection of extended spectrum beta-lactamases in *Pseudomonas aeruginosa* isolates in a tertiary care hospital. J App Pharm Sci 2015;5(5):80-2.
21. Zafer M, Al-Agamy MH, El-Mahallawy HA, Amin MA, El-Din Ashour MS. Antimicrobial resistance pattern and their beta-lactamase encoding genes among *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from cancer patients. Biomed Res Int 2014;2014:101635.

22. Tavajjohi Z, Moniri R, Khorshidi 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. *Fyze* 2011;15(2):139-45. [Full Text in Persian]
23. Azargoon R, Doustdar F, Khanbabaie G, Ghazi M, Mehrnejad F, Goudarzi H. Type III secretion system characterization of *Pseudomonas aeruginosa* isolates associated with cystic fibrosis. *Res Med* 2013;37(3):189-93. [Full Text in Persian]
24. Paterson DL. Extended-spectrum beta-lactamases: The European experience. *Curr Opin Infect Dis* 2001;14(6):697-701.
25. Chen Z, Niu H, Chen G, Li M, Li M, Zhou Y. Prevalence of ESBLs-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolates from different wards in a Chinese teaching hospital. *Int J Clin Exp Med* 2015;8(10):19400-5.
26. Rabani Z, Mardaneh J. The antibiotics susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* isolates causing infections in Shahid Faghihi (Shiraz) hospital and identify the strains harboring the *blaCTX* Gene. *Armaghane-Danesh* 2015;20(8):689-705. [Full Text in Persian]
27. Bokaeian Mohammad, Shahraki Zahedani S, Soltanian Bajgiran M, Ansari Moghaddam A. Frequency of *PER*, *VEB*, *SHV*, *TEM* and *CTX-M* Genes in resistant strains of *pseudomonas aeruginosa* producing extended spectrum β -Lactamases. *Jundishapur J Microbiol* 2015;8(1):e13783.