Original Article

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 Alami[1], Robab Rahimi[1], Hossein Meghdadi[1*]

[1]*Department 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

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 4:21 IRDT on Friday June 22nd 2018

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.

مجله دانشگاه علوم پزشکی قم
دوره یازدهم، شماره ششم، شهریور ۹۶
صفحه ۱۰۲ الی ۱۱۰

مقاله پژوهشی
(Original Article)

تعیین فراوانی ژن *CTX-M* در ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزای تولیدکننده بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف (ESBLs)، در نمونه‌های بالینی بیمارستان طالقانی اهواز، سال ۱۳۹٤

آمنه عالمی[1]، رباب رحیمی[1]، حسین مقدادی[1*]

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٪ 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 پلیمراز؛ پروتئین *اشرشیاکلی*.

[1]گروه میکروب‌شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور، اهواز، ایران.

[*]نویسنده مسئول مکاتبات:
حسین مقدادی، گروه میکروب‌شناسی 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]

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 4:21 IRDT on Friday June 22nd 2018

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 4:21 IRDT on Friday June 22nd 2018

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 ازجمله می‌توان به عفونت‌های دستگاه ادراری، سوختگی‌ها، زخم‌ها، سپتی‌سمی و عفونت ریه مزمن در بیماران سیستیک فیبروز اشاره کرد (۳). درمان عفونت‌های ناشی از این ارگانیسم دشوار است؛ زیرا این باکتری مقاومت ذاتی به عوامل ضدمیکروبی و آنتی‌بیوتیک‌های مؤثر نشان می‌دهد (۴). این مقاومت ذاتی به عوامل ضدمیکروبی 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 ضدمیکروبی شناخته شده و یا حتی چند آنتی‌بیوتیک مختلف ازجمله: پنی‌سیلین، سفالوسپورین، فلوروکینولون، کارباپنم‌ها و آمینوگلیکوزیدها می‌باشد (۲،۴،۶).

سودوموناس آئروژینوزا دارای مکانیسم‌های مختلف مقاومت در برابر عوامل ضدمیکروبی 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 متالوبتالاکتامازها (MBLs) اشاره کرد (۲). بتالاکتام‌ها داروهای مناسبی جهت درمان سودوموناس آئروژینوزاها بودند، اما بعد از مدتی برخی از باکتری‌ها با تولید بتالاکتاماز به این آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت نشان دادند. بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف، آنزیمی است که برای اولین‌بار در سال ۱۹۸۳ از *کلبسیلا پنومونیه* در آلمان جدا شد. این آنزیم توسط انتروباکتریاسه‌ها ازجمله گونه‌های *کلبسیلا*، *اشرشیاکلی* و *سودوموناس آئروژینوزا* که شرح داده شد، تولید می‌گردد (۷). تاکنون آنزیم‌های زیادی مرتبط با ESBLs شناخته شده که ازجمله 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 همان‌طورکه 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 بتالاکتامازهای 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: سفتازیدیم (۳۰ میلی‌گرم)، جنتامایسین (۱۰ میلی‌گرم)، پیپراسیلین (۷۵ میلی‌گرم)، پیپراسیلین + تازوباکتام (۱۱۰ میلی‌گرم)، آمیکاسین (۳۰ میلی‌گرم)، سیپروفلوکساسین (۵ میلی‌گرم)، ایمی‌پنم (۱۰ میلی‌گرم) و مروپنم (۱۰ میلی‌گرم) بودند این دیسک‌ها به فاصله ۲/۴ سانتی‌متر از

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 4:21 IRDT on Friday June 22nd 2018

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 سفتازیدیم (۳۰ میکروگرم) و یک دیسک ترکیبی سفتازیدیم/کلاولانیک (۱۰/۳۰ میکروگرم) استفاده شد. یک افزایش ≤۵ میلی‌متر در قطر هاله عدم رشد به‌عنوان ESBL، تفسیر گردید (۱۲).

برای استخراج DNA از روش Boilling 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 DNAباکتری)، جهت PCR استفاده گردید. برای تأیید درجه خلوص DNA در نمونه‌های استخراج‌شده، از دستگاه بیوفتومتر (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 [TTTGCGATGTGCAGTACCAGTAA] و CTX-M/R [CGATATCGTTGGTGGTGCCATA] با طول محصول ۵۹۰bp استفاده شد (۱۴). این واکنش در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر حاوی 2/5µl PCR buffer 10x، 10mM dNTPs، 1/5µl Mgcl2، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر، ۱/۵ واحد Taq DNA polymerase و ۵ میکرولیتر از DNA الگو انجام شد. دناتوراسیون اولیه با ۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد آغاز شد، سپس ۳۶ سیکل با ۱ دقیقه دناتوراسیون در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد، اتصال پرایمرها ۱ دقیقه در دمای ۵۵ درجه سانتیگراد و گسترش پرایمرها ۱ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد انجام گرفت. در نهایت، واکنش بعد از ۷ دقیقه گسترش نهایی پایان یافت. سپس محصول PCR بر روی ژل آگارز ۲٪ الکتروفورز گردید.

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 نرم‌افزارSPSS نسخه ۱۸ و آزمون مجذور کای از نظر آماری بررسی شدند.

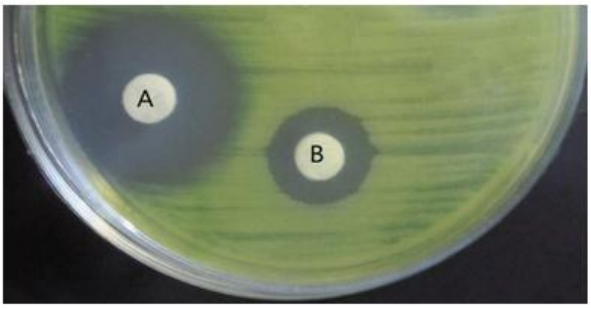
یافته‌ها

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 کولیستین سولفات (۱۰۰٪) و پس از آن ایمی‌پنم (۴۳/۶٪) و بیشترین درصد مقاومت آنتی‌بیوتیکی مربوط به آنتی‌بیوتیک‌های سفتازیدیم (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 نظرگرفته 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).

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 4:21 IRDT on Friday June 22nd 2018

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

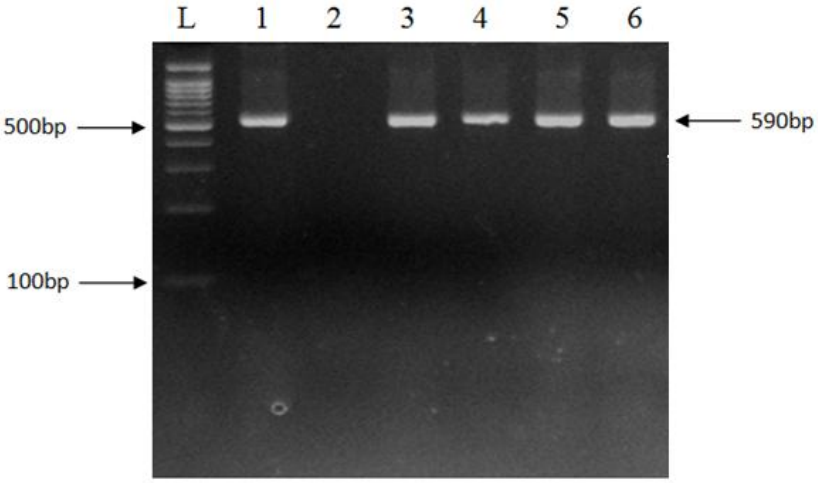
آنتی‌بیوتیک	مقاوم		نیمه‌حساس		حساس	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
کولیستین سولفات	۰	۰	۰	۰	۱۱۰	۱۰۰
ایمی‌پنم	۶۰	۵۴/۵	۲	۱/۸	۴۸	۴۳/۶
مروپنم	۵۷	۴۷/۳	۲۳	۲۰/۹	۵۰	۴۰/۹
پیپراسیلین	۸۵	۷۷/۳	۱	۰/۹	۲۴	۲۱/۸
پیپراسیلین/ تازوباکتام	۶۴	۵۸/۲	۱	۰/۹	۴۵	۴۰/۹
جنتامایسین	۸۸	۸۰	۱	۰/۹	۲۱	۱۹/۱
آمیکاسین	۸۶	۷۸/۲	۴	۳/۶۴	۲۰	۱۸/۲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



شکل ۱: دیسک B سفتازیدیم (۳۰ میکروگرم) و دیسک A یک دیسک ترکیبی سفتازیدیم/کلاولانیک (۱۰/۳۰ میکروگرم) می باشد. افزایش ≤۵ میلی متر در قطر هاله عدم رشد وجود ESBL را تایید می کند.

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

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



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 ۳تا ۶ : نمونه های مثبت *سودوموناس آئروژینوزا* می باشد.

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

نوع نمونه	میزان مقاومت	ایمی‌پنم و مروپنم	آمیکاسین و جنتامایسین	سیپروفلوکسازین	سفتازیدیم	ESBLs	*CTX-M* مثبت
		تعداد(درصد)	تعداد(درصد)	تعداد(درصد)	تعداد(درصد)		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 فرصت‌طلب و جدی در عفونت‌های بیمارستانی مانند سوختگی‌های شدید و بیماران دچار سیستیک فیبروزیس می‌باشد. *سودوموناس آئروژینوزا* به‌علت 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 ارگانیسمی 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 جمع‌آوری‌شده، 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 ضدمیکروبی، 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 وسفتازیدیم بوده و به‌طورعمده توسط مهارکننده‌های بتالاکتاماز ازجمله کلاولانیک 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 آئروژینوز*، ESBLs مثبت بود (۲۰). همچنین در مطالعه‌ای‌که 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 آئروژینوز*، 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 به‌ترتیب 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 (ازجمله کارباپنم‌ها، آمینوگلیکوزیدها و فلوروکوئینولون‌ها) مقاوم بودند که به‌عنوان ایزوله مقاوم به چندین دارو یا MDR در نظرگرفته شدند، درحالی‌که 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.

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 4:21 IRDT on Friday June 22nd 2018

در مطالعه حاضر از ۱۱۰ ایزوله *سودوموناس آئروژینوزا* که به‌وسیله روش PCR مورد بررسی قرار گرفت؛ ۴ نمونه (۲۱/۱٪) 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 به‌دست‌آمده 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 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 باکتریمی و سپتی‌سمی 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 به‌دست‌آمده 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 میکروب‌شناسی پزشکی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم‌پزشکی جندی‌شاپور اهواز، همچنین همکاران محترم بیمارستان طالقانی اهواز که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌نماییم.

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 4:21 IRDT on Friday June 22nd 2018

References:

1. Peshattiwar 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-Eleuoon 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, CooperT, 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 Aznaveh 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.

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 4:21 IRDT on Friday June 22nd 2018

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 -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, Stratchounski 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(l4):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, Khanbabaei 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 idetify the strains harboring the *blaCTX* Gene. Armaghane-Danesh 2015;20(8):689-705. [Full Text in Persian]

27. Bokaeian Mohmmad, 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.

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 4:21 IRDT on Friday June 22nd 2018