مجله دانشگاه علوم پزشکی قم
دوره هفتم، شماره پنجم، آذر ـ دی ۹۲
صفحه ۲۱ الی ۲۷

مقاله پژوهشی
(Original Article)

# تشخیص ژن‌های متالوبتالاکتامازی *blaIMP* و *blaVIM* در سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* ایزوله‌شده از زخم بیماران بستری در بیمارستان سوانح و سوختگی شهید مطهری تهران، سال ۱۳۹۰

**فاطمه فلاح[۱]، ریبوار شمس برهان[۲]، زری قلی‌نژاد[۳]، زهرا ظهیرنیا[۲]، سعادت آدابیان[۴]، محبوبه ستارزاده تبریزی[۵]، علی هاشمی[۶*]**

## چکیده

**زمینه و هدف:** در طی سالهای اخیر، *سودوموناس آئروژینوزا* تولیدکننده متالوبتالاکتاماز، به‌عنوان یک عامل مهم عفونت‌های بیمارستانی گزارش شده است. همچنین عفونت با این باکتری، افزایش میزان مرگ و میر و هزینه‌های درمانی را در پی داشته است. این مطالعه، با هدف تعیین الگوی مقاومت دارویی و شناسایی ژن‌های متالوبتالاکتامازی *blaVIM* و *blaIMP* *سودوموناس آئروژینوزا* ایزوله‌شده از بیماران بستری در بخش سوختگی صورت گرفت.

**روش بررسی:** این مطالعه به روش توصیفی، از مهرماه تا بهمن‌ماه سال ۱۳۹۰ بر روی سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* ایزوله‌شده از بیماران بستری در بخش سوختگی بیمارستان شهید مطهری تهران انجام شد. برای همه سویه‌های تولیدکننده متالوبتالاکتاماز، الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی با استفاده از روش دیسک دیفیوژن، طبق پروتکل CLSI به کار برده شد. جهت تشخیص متالوبتالاکتاماز از روش CDDT (ایمی‌پنم-ایمی‌پنم+EDTA) و برای شناسایی ژن‌های متالوبتالاکتامازی *blaVIM* و *blaIMP* از روش‌های PCR و Sequencing استفاده شد.

**یافته‌ها:** از ۱۰۰ سویه *سودوموناس آئروژینوزا* جداشده، ۸۳ ایزوله مقاوم به ایمی‌پنم بودند. با استفاده از روش CDDT، ۴۸ ایزوله دارای متالوبتالاکتاماز تشخیص داده شدند، که از این تعداد، ۶ ایزوله حاوی ژن *blaIMP-1* و همگی فاقد ژن *blaVIM* بودند. در ضمن، ۴ بیمار (۸/۳٪) آلوده‌شده به *سودوموناس آئروژینوزا* تولیدکننده متالوبتالاکتاماز، در این بیمارستان فوت کردند.

**نتیجه‌گیری:** نتایج این مطالعه نشان داد درصد زیادی از سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزا*، تولیدکننده متالوبتالاکتاماز هستند. بنابراین، برای کنترل و درمان بهتر بیماران سوختگی، شناسایی سویه‌های حاوی متالوبتالاکتاماز ضروری است.

**کلید واژه‌ها:** *سودوموناس آئروژینوزا*؛ مقاومت باکتری به دارو؛ بتالاکتاماز؛ سوختگی؛ VIM-7-metallB-beta-lactomase.

[۱]استاد میکروب‌شناسی، مرکز تحقیقات عفونی اطفال بیمارستان مفید، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

[۲]کارشناس ارشد میکروب‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

[۳]کارشناس علوم آزمایشگاهی، مرکز تحقیقات عفونی اطفال بیمارستان مفید، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

[۴]کارشناس علوم آزمایشگاهی، مرکز تحقیقات مقاومت آنتی‌بیوتیکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.

[۵]کارشناس علوم آزمایشگاهی، بیمارستان سوانح و سوختگی شهید مطهری، تهران، ایران.

[۶]دکتری تخصصی باکتری‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

[*]نویسنده مسئول مکاتبات:
علی هاشمی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران؛

آدرس پست الکترونیکی:
hashemi1388@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۱/۵/۱۵

تاریخ پذیرش: ۹۱/۷/۲

لطفاً به این مقاله به‌صورت زیر استناد نمایید:

**Fallah F, Shams Borhan R, Gholinejad Z, Zahirnia Z, Adabiyan S, Sattarzadeh Tabrizi M, Hashemi A. Detection of *blaIMP* and *blaVIM* Metallo-beta-lactamases genes in *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from wound of burnt patients in Tehran Shahid Motahari hospital during 2011, Iran. Qom Univ Med Sci J 2013;7(5):21-27. [Full Text in Persian]**

## مقدمه

مقاومت آنتی‌بیوتیکی در پاتوژن‌های باکتریایی، یک تهدید جدی برای انسانها محسوب می‌شود، که بیماران را در سرتاسر بیمارستان‌های جهان تحت تأثیر خود قرار داده است (۳،۱). گسترش و انتشار سریع باکتری‌های مقاوم به چند دارو (Multi Drug Resistant) MDR)، به‌عنوان یک مشکل مهم سلامت عمومی ظهور یافته است (۴). ازاین‌رو سازمان بهداشت جهانی (WHO) سال ۲۰۱۱ را به‌عنوان سال مقاومت آنتی‌بیوتیکی نامید (۶،۵).

*سودوموناس آئروژینوزا* یک پاتوژن فرصت‌طلب بوده که قادر به تولید مواد خارج سلولی از قبیل الاستاز، آلکالین پروتئاز، همولیزین، اگزوتوکسین A، اگزوآنزیم S و پیوسیانین است. همچنین این باکتری عامل عفونت‌های مختلفی از قبیل سپتی‌سمی، پنومونی، عفونت‌های دستگاه ادراری، باکتریمی، اندوکاردیت، عفونت‌های پوستی، عفونت‌های گوش و عفونت‌های چشمی می‌باشد (۸،۷). این باکتری به‌عنوان یکی از عوامل عفونت‌های بیمارستانی نیز عامل اصلی مرگ و میر در افراد مبتلا به سیستیک فیبروزیس، نوتروپنی، افراد دچار سوختگی شدید و مبتلا به ایدز شناخته شده است (۹). زمانی‌که عفونت به‌وسیله این باکتری در افراد دچار سوختگی ایجاد می‌شود، درمان این بیماران بسیار مشکل خواهد بود؛ زیرا باکتری قادر است به‌طور قابل‌توجهی به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌های رایج مقاوم شود که به‌عنوان یک تهدید جدی برای بیماران بستری در بیمارستان‌های سراسر دنیا مطرح است (۱۰). آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده، به‌ویژه در درمان بیماران بستری در بخش سوختگی، گروه کاربا‌پنم‌ها هستند، که مقاومت به این آنتی‌بیوتیک‌ها بیشتر به دلیل تولید متالوبتالاکتامازها IMP، VIM می‌باشد (۱۲،۱۱). آنزیم‌های متالوبتالاکتامازهای (MBL) موجود بر روی عناصر ژنتیکی (ترانسپوزون و پلاسمید)، در گروه B طبقه‌بندی Ambler قرار دارند و قادر به هیدرولیز آنتی‌بیوتیک‌های کاربا‌پنم (ایمی‌پنم، مروپنم، ارتاپنم و دوریپنم) و تقریباً همه عوامل دارویی بتالاکتام با طیف وسیع هستند. متالوبتالاکتامازها در جایگاه فعال خود، دارای فلز روی بوده و توسط شلاته‌کننده‌های فلزی از قبیل دی آمین تترا استیک اسید (EDTA) مهار می‌شوند و مهارکننده‌های بتالاکتاماز مانند سولباکتام، تازوباکتام و یا کلاولانیک اسید قادر به مهار آن نیستند (۱۳). *سودوموناس آئروژینوزا* تولیدکننده متالوبتالاکتاماز، اولین بار در سال ۱۳۹۱ در کشور ژاپن گزارش شد و پس از آن در آمریکا، اروپا و افریقا مشاهده گردید (۱۴). در مطالعه فاضلی و همکاران، ۵۵/۸٪ سویه‌های مقاوم به ایمی‌پنم تولیدکننده متالوبتالاکتاماز بودند (۱۵) و در مطالعه خسروی و همکاران نیز این میزان ۱۹/۵۱٪ (۱۶) گزارش شد. همچنین در تحقیقی که شکیبایی و همکاران در سال ۱۳۸۷ در شهر کرمان انجام دادند برای شناسایی متالوبتالاکتامازها از نوارهای E-Test MBL استفاده شد که نتایج نشان داد هیچ‌کدام از سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* حاوی متالوبتالاکتاماز نبوده‌اند (۱۷). در حال حاضر، سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* تولیدکننده متالوبتالاکتاماز از سرتاسر دنیا گزارش می‌شوند. بنابراین، این پژوهش با هدف تعیین تشخیص ژن‌های متالوبتالاکتامازهای *blaVIM* و *blaIMP* در سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* ایزوله‌شده از بیماران بستری در بخش بیمارستان شهید مطهری تهران صورت گرفت.

## روش بررسی

این مطالعه توصیفی، از مهرماه تا بهمن‌ماه سال ۱۳۹۰ بر روی سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* ایزوله‌شده از بیماران بستری در بخش سوختگی بیمارستان شهید مطهری تهران صورت شد. ابتدا محل زخم بیماران با سرم فیزیولوژی شستشو داده شد، سپس به‌وسیله یک سواب استریل، نمونه‌گیری انجام گرفت. سپس سواب‌ها داخل محیط انتقالی استوارت قرار گرفته و سریعاً به آزمایشگاه میکروب‌شناسی مرکز تحقیقات عفونی بیمارستان مفید انتقال یافتند و بر روی محیط‌های سیتریماید آگار و مک‌کانکی آگار کشت داده شدند. محیط‌های کشت در داخل انکوباتور ۳۷°c به مدت ۲۴ ساعت نگهداری و بعد از این مدت، کلنی‌های رشدیافته جهت انجام تست‌های تشخیصی و افتراقی از قبیل رنگ‌آمیزی گرم، اکسیداز، کاتالاز، محیط OF، تولید اندول، تولید پیگمان، و رشد در دمای ۴۲°c مورد آزمایش و ارزیابی قرار گرفتند. مقاومت دارویی ایزوله‌های تولیدکننده متالوبتالاکتاماز جداشده نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های (جنتامایسین (GM)، آمیکاسین (AK)، کاربنی‌سیلین (Car)، مروپنم (MEM)، توبرامایسین (TN)،

سیپروفلوکساسین (CIP)، سفتازیدیم (CAZ)، ایمیپنم (IMI)، سفوتاکسیم (CTX) و آزترونام (ATM)) (خریداری‌شده از شرکت MAST انگلستان) به روش انتشار دیسک در آگار (Disk diffusion) براساس پروتکل CLSI تعیین گردید. از سویه *P. aeruginosa* ATCC 27853 برای کنترل استفاده شد. جهت جداسازی سویه‌های تولیدکننده متالوبتالاکتاماز، از روش CDDT با استفاده از دیسک ایمی‌پنم و ایمی‌پنم EDTA استفاده شد. برای انجام این آزمایش ابتدا محلول EDTA ۰/۵M با حل کردن ۱۸۶/۱g پودر EDTA در ۱۰۰۰ml آب مقطر تهیه و pH آن با استفاده از NAOH روی ۸ تنظیم و توسط اتوکلاو استریل شد و حجمی از محلول که حاوی EDTA ۷۵۰µg بود، به دیسک‌های ایمی‌پنم اضافه و سپس در انکوباتور خشک شد. در مرحله بعد، سویه‌های مقاوم به ایمی‌پنم بر روی پلیت حاوی مولر هینتون تلقیح شد و در ادامه، یک عدد دیسک ایمی‌پنم ۱۰µg و یک عدد دیسک ایمی‌پنم ۱۰µg حاوی EDTA ۷۵۰µg با فاصله مناسب در سطح پلیت قرار گرفت و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۵°c انکوبه گردید.

افزایش قطر هاله عدم رشد به میزان بیشتر یا مساوی ۷mm در اطراف دیسک ایمی‌پنم حاوی EDTA نسبت به دیسک ایمی‌پنم به تنهایی نشان‌دهنده تولید متالوبتالاکتاماز می‌باشد. برای استخراج DNA سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* از روش Boiling استفاده گردید، بدین صورت‌که مقدار ۲۰۰µl از آب مقطر استریل داخل میکروتیوب ریخته شد، سپس ۴-۳ کلنی از کلنی‌های تازه کشت‌شده، در داخل آن حل گردید. در ادامه، خوب ورتکس شده و به مدت ۱۰ دقیقه در داخل آب جوش ریخته شد. سوسپانسیون فوق به مدت ۵ دقیقه با دور ۱۰۰۰۰ سانتریفوژ و مایع رویی آن جدا شد و به یک میکروتیوب جدید انتقال یافت، مایع رویی حاوی DNA باکتری بود. روش PCR برای شناسایی ژن‌های *blaVIM* و *blaIMP* در سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* ایزوله‌شده با استفاده از دما و پرایمرهای اختصاصی این ژن‌ها انجام گرفت (جدول شماره ۱ و ۲).

**جدول شماره۱: دماهای مورد استفاده برای شناسایی ژن‌های *blaVIM* و *blaIMP***

| PCR Steps | دما برحسب سانتی‌گراد | |
|---|---|---|
| | *blaIMP* | *blaVIM* |
| Initial denaturation | ۹٤ | ۹٤ |
| Denaturation | ۹٤ | ۹٤ |
| Annealing | ۵۵ | ۵۷ |
| Extension | ۷۲ | ۷۲ |
| Final extension | ۷۲ | ۷۲ |
| Cycle | ۳٦ | ۳٦ |

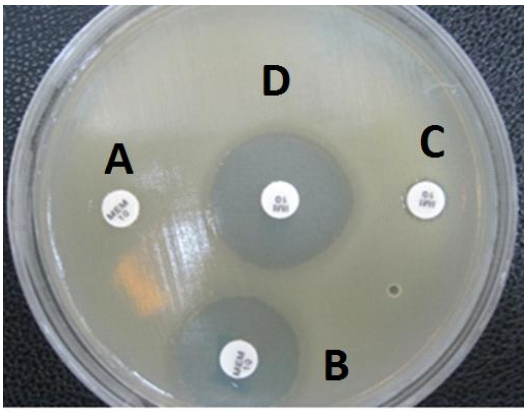
**جدول شماره ۲: پرایمرهای مورد استفاده در انجام PCR**

| ژن شناسایی‌شده | سکانس ژن |
|---|---|
| VIM2004A | ( 5′ - GTT TGG TCG CAT ATC GCA AC - 3′) |
| VIM2004B | 5′ - AAT GCG CAG CAC CAG GAT AG- 3′) |
| IMP-A | ( 5′ - GAA GGC GTT TAT GTT CAT AC - 3′) |
| IMP-B | ( 5′ - GTA TGT TTC AAG AGT GAT GC - 3′ ) |

۰/۵µl از DNA استخراج‌شده و ۰/۵µl از هر پرایمر، به کیت PCR Master (شرکت Bioneer کشور کره‌جنوبی) با حجم نهایی ۲۰µl اضافه گردید. از سویه *سودوموناس آئروژینوزا* حاوی ژن‌های IMP و VIM به‌عنوان کنترل مثبت و از مارکر bp100 برای تأیید وزن مولکولی استفاده شد. الکتروفورز نمونه‌ها در ژل ۱٪ انجام و پس از رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید، نتایج با دستگاه Gel doc (Bio-RAD) با نور UV مشاهد گردید. محصول PCR با استفاده از کیت شرکت Bionner ساخت کشور کره جنوبی خالص‌سازی و برای تعیین توالی به شرکت ذکرشده فرستاده شد.

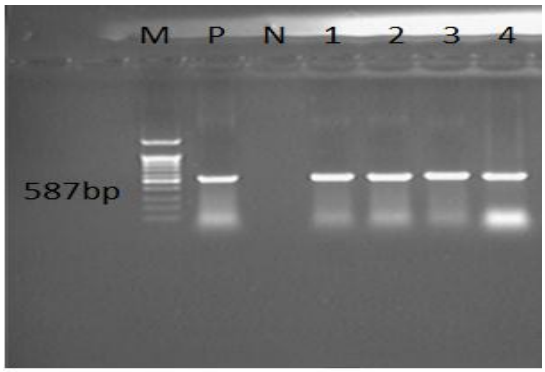
## یافته‌ها

از مهرماه تا بهمن‌ماه سال ۱۳۹۰ از بیماران بستری در بخش سوختگی بیمارستان شهید مطهری تهران، ۱۰۰ سویه *سودوموناس آئروژینوزا* جدا شد. ۷۲ ایزوله (۷۲٪) مربوط به جمعیت مردان و ۲۸ ایزوله (۲۸٪) مربوط به جمعیت زنان بود. از ۱۰۰ سویه *سودوموناس آئروژینوزا* ایزوله‌شده، ۸۳ مورد مقاوم به ایمی‌پنم گزارش شد که در این میان، ۴۸ ایزوله دارای آنزیم متالوبتالاکتاماز بودند (شکل شماره ۱) و ۴ بیمار نیز در اثر عفونت فوت کردند.



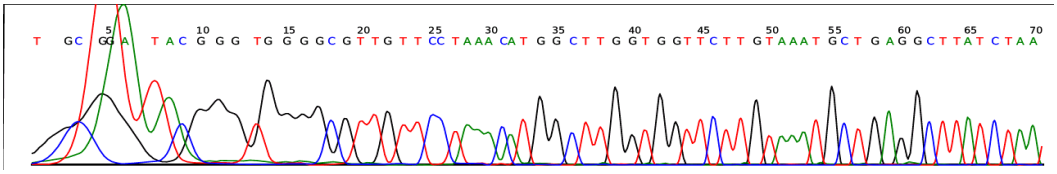

**شکل شماره ۱:تست فنوتیپی (CDDT) برای شناسایی *سودوموناس آئروژینوزا* حاوی متالوبتالاکتاماز A: دیسک مروپنم؛ B: دیسک مروپنم+EDTA؛ C:دیسک ایمی‌پنم؛ D :دیسک ایمی‌پنم+EDTA**

همه سویه‌های تولیدکننده متالوبتالاکتاماز به آنتی‌بیوتیک‌های ایمی‌پنم، مروپنم، سفوتاکسیم، سفتازیدیم، آمیکاسین، سیپروفلوکساسین،کاربنی‌سیلین و آزترونام ۱۰۰٪ مقاوم بودند و به آنتی‌بیوتیک جنتامایسین ۲۳ (۴۹٪) ایزوله تولیدکننده متالوبتالاکتاماز مقاومت نشان دادند. با استفاده از روش PCR مشخص گردید از ۴۸ سویه حاوی متالوبتالاکتاماز، ۶ سویه *سودوموناس آئروژینوزا* حاوی ژن *blaIMP* و تمامی سویه‌ها فاقد ژن *blaVIM* می‌باشند (شکل شماره ۲). توالی‌های ارسالی با استفاده از نرم‌افزار مگا-۴ و کوروماس مورد بررسی و با سیستم BLAST چک گردید که مشخص شد ۶ ایزوله حاوی ژن IMP-1 می‌باشد (شکل شماره ۳).




**شکل شماره ۲: الکتروفورز ژل آگارز محصول PCR ژن *blaIMP*: M مارکر، p کنترل مثبت ۳،۲،۱ و ٤ نمونه‌های مثبت برای ژن *blaIMP* (587bp) و N کنترل منفی .**

**TGCGGATACGGGTGGGGCGTTGTTCCTAAACATGGCTTGGTGGTTCTTGTAAATGCTGAGGC TTATCTAATTGACACTCCATTTACGGCTAAAGATACTGAAAAGTTAGTCACTTGGTTTGTGGA GCGTGGCTATAAAATAAAAGGCAGTATTTCCTCTCATTTTCATAGCGACAGCACGGGCGGTA TAGAGTGGCTTAATTCTCGATCTATCCCCACGTATGCATCTGAATTAACAAATGAACTGCTTA AAAAAGACGGTAAGGTTCAAGCCACAAATTCATTTAGCGGAGTTAACTATTGGCTAGTTAAA AATAAAATTGAAGTTTTTTATCCAGGCCCGGGACACACTCCAGATAACGTAGTGGTTTGGCT GCCTGAAAGGAAAATATTATTCGGCGGTTGTTTTATTAAACCGTACGGTTTAGGCAATTTGG GTGACGCAAATATAGAAGCTTGGCCAAAGTCCGCCAAATTATTAAAGTCCAAATATGGTAAG GCAAAACTGGTTGTTCCAAGTCACAGTGAAGTTGGAGACGCATCACTTGAAAAAACCATAAA CAA.**



**شکل شماره۳: توالی و کروماتوگرام ژن IMP-1 *سودوموناس آئروژینوزا* ایزوله‌شده از بیمار بستری در بیمارستان شهید مطهری تهران. توالی ژن مورد نظر با نرم‌افزارهای کوروماس و مگا-٤ ارزیابی و با BLAST چک شده است.**

## بحث

افزایش مقاومت نسبت به کاربانم (ایمی‌پنم، مروپنم، ارتاپنم و دوریپنم) به‌وسیله باکتری‌های تولیدکننده متالوبتالاکتاماز (MBL)، به‌ویژه در *سودوموناس آئروژینوزا* دیده شده است (۱۸). *سودوموناس آئروژینوزا* تولیدکننده متالوبتالاکتاماز (MBL)، به‌عنوان عامل مهمی در عفونت‌های بیمارستانی مطرح است (۱۹). به دلیل مقاومت بالای باکتری‌های مولد این آنزیم‌ها و ایجاد عفونت‌های شدید از قبیل سپتی‌سمی و پنومونی، خطر مرگ و میر ناشی از حضور این سویه‌ها نسبت به سایر باکتری‌های مقاوم به ایمی‌پنم در عفونت‌ها بیشتر است. شناسایی و تشخیص به‌موقع متالوبتالاکتامازها در باکتری‌های مقاوم به کاربانم، هم از لحاظ اپیدمیولوژیک و هم به‌منظور کمک به پزشکان، در انتخاب داروی مناسب برای درمان موفق بیماران و نیز کنترل سویه‌های مقاوم به داروها و جلوگیری از انتشار چنین عفونت‌هایی در بیمارستان، ضروری به‌نظر می‌رسد. از آنجایی که ژن‌های متالوبتالاکتاماز بر روی عناصر ژنتیکی از قبیل اینتگرین و پلاسمید قرار دارند، لذا می‌توانند از یک باکتری به باکتری دیگر، از یک انسان به انسان دیگر و حتی از یک کشور به کشور دیگر منتقل شوند. باکتری‌های حاوی متالوبتالاکتاماز به طیف وسیعی از داروهای کلینیکی از قبیل آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام، آمینوگلیکوزیدها، فلوروکینولون‌ها، ماکرولیدها، سفالوسپورین‌ها، کاربانم‌ها و دیگر داروهای ضدمیکروبی که به‌صورت بالینی استفاده می‌شوند، مقاوم هستند (۱۲،۱۱). نتایج حاصل از این بررسی نشان داد ۸۳ سویه، مقاوم به ایمی‌پنم بوده که در این میان مشخص گردید ۴۸ سویه با انجام تست CDDT، حاوی متالوبتالاکتاماز می‌باشند.

در مطالعه حاضر همه سویه‌های تولیدکننده متالوبتالاکتاماز به آنتی‌بیوتیک‌های ایمی‌پنم، مروپنم، سفوتاکسیم، سفتازیدیم، آمیکاسین، سیپروفلوکساسین، کاربنی‌سیلین و آزترونام، ۱۰۰٪ مقاومت نشان دادند و به آنتی‌بیوتیک جنتامایسین ۲۳ (۴۹٪) ایزوله تولیدکننده متالوبتالاکتاماز مقاوم بودند. در مطالعه‌ای که فاضلی و همکاران (سال ۱۳۸۷) در شهر اصفهان انجام دادند ۹۴٪ از ایزوله‌های *سودوموناس آئروژینوزا* به آنتی‌بیوتیک‌های ایمی‌پنم، پیپراسیلین و سیپروفلوکساسین مقاوم بودند و تمامی سویه‌ها نیز به آنتی‌بیوتیک‌های سفتازیدیم و تیکارسیلین مقاومت ۱۰۰٪ نشان دادند (۱۵). در مطالعه حاضر، از مهارکننده EDTA برای مهار متالوبتالاکتاماز استفاده شد که به دلیل ارزان بودن، استفاده و تفسیر آسان؛ مناسب‌تر از روش‌های دیگر بود. در مطالعه خسروی و همکاران (سال ۲۰۰۸)، با روش E-Test این میزان ۱۹/۵۱٪ گزارش شد (۱۶). همچنین در تحقیقی که توسط شکیبایی و همکاران (سال ۱۳۸۷) در شهر کرمان انجام شد برای شناسایی متالوبتالاکتامازها از نوارهای E-Test MBL استفاده گردید که در نتیجه هیچ‌کدام از سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* حاوی متالوبتالاکتاماز نبودند (۱۷). تفاوت میزان متالوبتالاکتامازها می‌تواند ناشی از تفاوت مقاومت در مناطق مختلف، نوع عفونت و یا نوع روش استفاده‌شده باشد. از آنجایی که علاوه بر متالوبتالاکتامازها، مکانیسم‌های دیگری نیز در مقاومت به کاربانم‌ها نقش دارند، لذا به‌نظر می‌رسد انجام روش‌های مولکولی از قبیل PCR برای شناسایی این ژن‌ها ضروری است. در مطالعه‌ای که توسط شاهچراغی و همکاران در سال ۱۳۸۷ در سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* ایزوله‌شده از بیمارستان امام‌خمینی انجام شد از ۱۵ ایزوله حاوی متالوبتالاکتاماز، ۱۳ سویه حاوی ژن VIM بودند (۲۰)، که این امر نشان می‌دهد پراکندگی ژن‌های متالوبتالاکتامازی در شهر تهران از یک بیمارستان به بیمارستان دیگر متفاوت است؛ به‌طوری‌که در مطالعه حاضر در بیمارستان شهید مطهری، ۶ سویه حاوی ژن *blaIMP*-1 و تمامی سویه‌ها فاقد ژن *blaVIM* بودند. در بررسی که Tewfik و همکاران (سال ۲۰۱۲) در کشور عربستان بر روی ۱۵۶ سویه *سودوموناس آئروژینوزا* انجام دادند، هر ۱۵ ایزوله حاوی متالوبتالاکتاماز حاوی ژن VIM بود (۲۱). همچنین در تحقیقی دیگر توسط Nelly و همکاران (سال ۲۰۱۱) در کشور مصر بر روی سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزا*، از روش DDST برای شناسایی متالوبتالاکتاماز و از روش PCR برای شناسایی ژن‌های *VIM* و *SPM* استفاده شد که از ۵۲٪ سویه‌های حاوی متالوبتالاکتاماز، ۲۷٪ حاوی ژن *VIM* بود (۲۲). همچنین در مطالعه‌ای که توسط Yoo و همکاران در کشور کره جنوبی (سال ۲۰۱۲) بر روی سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* انجام گرفت از ۶۴۴ ایزوله، ۲۴۴ ایزوله مقاوم به ایمی‌پنم بود که از این

تعداد با روش PCR، ۴۱ سویه حاوی متالوبتالاکتاماز و ۳۵ ایزوله حاوی ژن *IMP-6* تشخیص داده شد (۲۳). در مطالعه حاضر میزان سویه‌های متالوبتالاکتاماز مثبت در ایران بیشتر از مطالعات نام‌برده بود که نشان‌دهنده افزایش سویه‌های تولیدکننده متالوبتالاکتاماز می‌باشد.

## نتیجه‌گیری

با توجه به مقاومت بالای سویه‌های سودوموناس آئروژینوزاهای جداشده از بیماران بستری در بیمارستان مطهری، به‌نظر می‌رسد که این سویه‌ها از چندین مکانیسم مقاومت دیگر از قبیل Efflux Pump، آنزیم‌های بتالاکتاماز با طیف وسیع، مکانیسم‌های مقاومت به فلوروکینولون‌ها و آمینوگلیکوزیدها برخوردار هستند. از آنجایی که متالوبتالاکتامازها بر روی عناصر ژنتیکی متحرک از قبیل اینتگرین و پلاسمید قرار دارند، می‌توانند به بیماران دیگر نیز منتقل شوند. بنابراین، ضروری به‌نظر می‌رسد که این بیماران از دیگر بیماران جدا شده و تحت مراقبت ویژه قرار گیرند. متأسفانه ۴ بیمار آلوده به *سودوموناس آئروژینوزا* حاوی متالوبتالاکتاماز فوت کردند. از این‌رو شناسایی به‌موقع باکتری‌های تولیدکننده متالوبتالاکتاماز، به‌ویژه در سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزا*، برای کنترل و درمان مناسب بیماران ضروری است. همچنین باید نظارت کافی در تجویز آنتی‌بیوتیک‌ها در نظر گرفته شود و بخش‌های مختلف بیمارستان از نظر آلودگی مورد بررسی قرار گیرند تا در صورن لزوم، با به‌کار بردن تدابیر لازم، آلودگی برطرف و از انتقال آن به بخش‌ها و بیماران دیگر جلوگیری شود.

## تشکر و قدردانی

بدین وسیله از کارکنان مرکز تحقیقات اطفال بیمارستان مفید، همکاران بخش میکروب‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی و کارکنان بخش سوختگی بیمارستان مطهری شهر تهران کمال تشکر را داریم.

## References:

1. Green VL, Verma A, Owens RJ, Phillips SE, Carr SB. Structure of new delhi metallo-β-lactamase 1 (ndm-1). Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun 2011 Oct 1; 67(Pt 10):1160-4.

2. Jean SS, Hsueh PR. High burden of antimicrobial resistance in Asia. Int J Antimicrob Agents 2011;37(4):291-5.

3. Fernández A, Pereira MJ, Suárez JM, Poza M, Treviño M, et al. Emergence in spain of a multidrug-resistant Enterobactercloacae clinical isolate producing sfo-1 extended-spectrum beta-lactamase. J Clin Microbiol 2011 Mar; 49(3):822-8.

4. Diene SM, Bruder N, Raoult D, Rolain JM. Real-time pcr assay allows detection of the new delhi metallo-β-lactamase (ndm-1)-encoding gene in France. Int J Antimicrob Agents 2011 Jun; 37(6):544-6.

5. Tseng SH, Lee CM, Lin TY, Chang SC, Chang FY. Emergence and spread of multi-drug resistant organisms: Think globally and act locally. J Microbiol Immunol Infect 2011 Jun; 44(3):157-65.

6. Lye DC, Kwa AL, Chlebicki P. World Health Day 2011: Antimicrobial resistance and practical solutions. Ann Acad Med Singapore 2011 Apr; 40(4):156-2.

7. Lee S, Park YJ, Kim M, Lee HK, Han K, Kang CS, et al. Prevalence of ambler class a and d β-lactamases among clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa in Korea. J Antimicrob Chemother 2005;56:122-7.

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

9. Shahcheraghi F, Feizabadi MM, Yamin V, Abiri R, Abedian Z. Serovar determination, drug resistance patterns and plasmid profiles of Pseudomonas aeruginosa isolated from burn patients at two hospitals of Tehran (IRAN). Burns 2003;29:547-51.

10. Karmi Estahbanati H, Pour Kashani P, Ghanaatpisheh F. Frequency of Pseudomonas aaeruginosa serotypes in burn wound infections and their resistance to antibiotics. Burns 2002;28:340-48.

11. Roy S, Singh AK, Viswanathan R, Nandy RK, Basu S. Transmission of imipenem resistance determinants during the course of an outbreak of ndm-1 Escherichia coli in a sick newborn care unit. J Antimicrob Chemother 2011 Dec; 66(12):2773-80.

12. Drawz SM, Bonomo RA. Three decades of beta-lactamase inhibitors. Clin Microbiol Rev 2010 Jan; 23(1):160-201.

13. Pasteran F, Faccone D, Petroni A, Rapoport M, Galas M. Novel variant(blavim-11) of the metallo-β-lactamase blavim family in a ges-1 extended spectrum-β-lactamase-producing Pseudomonas aeruginosa clinical isolate in argentina. Antimicrob Agents Chemother 2005;49(1):474-75.

14. Lascols C, Hackel M, Marshall SH, Hujer AM, Bouchillon S, Badal R, et al. Increasing prevalence and dissemination of ndm-1 metallo-β-lactamase in India: Data from the smart study (2009). J Antimicrob Chemother 2011 Sep; 66(9):1992-7.

15. Fazeli H, Moslehi Tekantapeh Z, Irajian GHR, Salehi M. Determination of drug resistance patterns and detection of blavim gene in Pseudomonas aeruginosa strains isolated from burned patients in the Imam Mosa Kazem hospital, Isfahan, Isfehan, Iran (2008-9). Iran J Med Microbiol 2010;3(4):1-8. [Full Text in persian]

16. Khosravi AD, Mihani F. Detection of metallo-beta-lactamase-producing Pseudomonas aeruginosa strains isolated from burn patients in Ahwaz, Iran. Diagn Microbiol Infect Dis 2008;60(1):125-8.

17. Shakibaie MR, Shahcheraghi F, HashemiA, Adeli NS. Detection of tem, shv and per type extended-spectrum ß-lactamase genes among clinical strains of Pseudomonas aeruginosa isolated from burnt patients at Shafa-hospital, Kerman, Iran. Iran J Basic Med Sci 2008;2(11):104-111.

18. Altoparlak U, Aktas F, Celebi D, Ozkurt Z, Akcay MN. Prevalence of metallo-β- lactamase among Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii isolated from burn wounds and invitro activites of antibiotic combinations against these isolates. Burns 2005;31:707-10.

19. Marra AR, Pereira CAP, Gales AC, Menezes LC, Cal RGR, de Souza JMA, et al. Bloodstream infections with metallo-β-lactamase producing Pseudomonas aruginosa: Epidemiology, microbiology, and clinical outcomes. Antimicrob Agents Chemother 2006;50(1):388-90.

20. Shahcheraghi F, Nikbin VS, Shooraj F, Shafiei M. The study of blaspm, bla vim, bla imp metallo-beta lactamase genes among Pseudomonas aeruginosa isolated from Imam Khomeini hospital of Tehran. J Shahid Beheshti Univ (Pejouhandeh) 2009;2:68-72.

21. Tewfik AF, Shibl AM, Aljohi MA, Altammami MA, Al-Agamy MH. Distribution of ambler class a, b and d β-lactamases among Pseudomonas aeruginosa isolates. Burns 2012 Sep; 38(6):855-60.

22. Nelly M, Raafat D. Phenotypic and genotypic detection of metallo-beta-lactamases in imipenem-resistant Acinetobacter baumannii isolated from a Tertiary Hospital in Alexandria, Egypt. Res J Microbio 2011;6(10):750-760.

23. Yoo JS, Yang J, Kim HM, Byeon J, Kim HS, Yoo JI, et al. Dissemination of genetically related imp-6-roducing multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa st235 in South Korea. Int J Antimicrob Agents 2012 Apr; 39(4):300-4.