

بررسی فراوانی آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز bla_{VIM} ، bla_{IPM} و bla_{NDM} در ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزای جدا شده از زخم‌های سوختگی در بیمارستان سوانح سوختگی شهید صدوقی یزد

فاطمه اخوان تفتی^۱، دکتر گیلدا اسلامی^۲، دکتر هنگامه زندی^۳، سید مرتضی موسوی^۱، محدثه زارعی^۱

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: سودوموناس آئروژینوزا نقش عمده‌ای در ایجاد عفونت‌های فرصت طلب و شدید در بیماران سوختگی دارد. آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز توانایی غیر فعال سازی اغلب آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام از جمله کارباپنم را دارند و معضلی جدید در درمان بیماران می‌باشند. هدف مطالعه‌ی حاضر، بررسی شیوع آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز bla_{VIM} ، bla_{IPM} و bla_{NDM} در سویه‌های سودوموناس آئروژینوزای جدا شده از زخم‌های سوختگی در شهر یزد بود.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی توصیفی-مقطعی، تعداد ۱۸۰ نمونه زخم سوختگی از بیماران بستری در بیمارستان سوانح سوختگی اخذ شد و سپس در آزمایشگاه میکروب شناسی دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، کشت داده شد و کلنی‌های مشکوک با روش‌های بیوشیمیایی معمول به عنوان سودوموناس آئروژینوزا تعیین هویت گردید. سنجش حساسیت آنتی بیوتیکی از روش Kirby-Bauer مطابق با استانداردهای CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute)، برای تعیین MIC (Minimum inhibitory concentration) ایمپنم و مروپنم از روش Etest (Epsilonometer test)، برای تشخیص متالوبتالاکتاماز از روش فنوتیپی Etest MBL (Etest metallo-beta-lactamase) و جهت تعیین bla_{VIM} ، bla_{IPM} و bla_{NDM} از روش PCR (Polymerase chain reaction) با استفاده از پرایمرهای اختصاصی استفاده شد.

یافته‌ها: از ۱۸۰ نمونه زخم سوختگی کشت داده شده، ۵۴ ایزوله (۳۰ درصد) به عنوان سودوموناس آئروژینوزا تعیین هویت شد. به ترتیب ۷۰ درصد، ۶۶ درصد و ۷۴ درصد ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا به ارتاپنم، مروپنم و ایمپنم مقاوم بودند. همچنین ۳۵ ایزوله (۶۴ درصد) و ۴۰ ایزوله (۷۴ درصد) به ترتیب $MIC_6 > 16$ نسبت به مروپنم و ایمپنم داشتند و ۲۹/۵ درصد دارای آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز بودند. ۹ ایزوله (۱۶/۶ درصد) و ۵ ایزوله (۹/۲ درصد) از ۵۴ ایزوله‌ی مورد بررسی، دارای bla_{VIM} و bla_{IPM} بودند و ۲ ایزوله (۳/۷ درصد) همزمان دارای bla_{VIM} و bla_{IPM} بودند.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج، شیوع آنزیم‌های MBL (Metallo-beta-lactamase) و مقاومت آنتی بیوتیکی در بیماران بستری بالا است و نیاز است که مانند سنجش حساسیت آنتی بیوتیکی، مقاومت آنتی بیوتیکی نیز قبل از تجویز آنتی بیوتیک‌ها انجام شود.

واژگان کلیدی: متالوبتالاکتاماز، سودوموناس آئروژینوزا، مقاومت آنتی بیوتیکی

ارجاع: اخوان تفتی، فاطمه، اسلامی گیلدا، زندی هنگامه، موسوی سید مرتضی، زارعی محدثه. بررسی فراوانی آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز bla_{VIM} ، bla_{IPM} و bla_{NDM} در ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزای جدا شده از زخم‌های سوختگی در بیمارستان سوانح سوختگی شهید صدوقی یزد. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۲؛ ۳۱ (۲۶۳): ۱۹۶۴-۱۹۵۵

- ۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه میکروب شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی، یزد، ایران
- ۲- استادیار، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی، یزد، ایران
- ۳- استادیار، گروه میکروب شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی، یزد، ایران

Email: hengameh_zandi@yahoo.com

نویسنده‌ی مسؤول: دکتر هنگامه زندی

مقدمه

در اوایل مصرف آنتی بیوتیک‌ها به نظر می‌رسید که باکتری‌ها مهار شدند، در حالی که استفاده‌ی وسیع از آنتی بیوتیک‌ها باعث ایجاد مسأله‌ی نوپیدیدگی به نام مقاومت آنتی بیوتیکی شد (۱) و کمی بعد، در بیمارستان‌ها باکتری‌های مقاوم به چند دارو ظاهر شدند و سریع در بیمارستان‌ها و سپس در جوامع انتشار یافتند (۲-۳). سودوموناس آئروژینوزا، یک پاتوژن فرصت طلب بیمارستانی می‌باشد و می‌تواند در بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه، سوختگی و سایر بخش‌ها ایجاد عفونت نماید (۴-۵). مقاومت ذاتی سودوموناس آئروژینوزا از بسیاری از باکتری‌های گرم منفی بیشتر است؛ زیرا پورین‌های غشای خارجی آن‌ها نسبت به سایر باکتری‌های گرم منفی، نفوذ پذیری بسیار کمتری دارند و سرعت انتشار مواد از آن‌ها ۱۰۰ برابر کمتر است (۶-۸). در سال‌های اخیر، تعداد سویه‌های سودوموناس آئروژینوزای مقاوم، افزایش یافته است و در برخی مناطق، سویه‌هایی یافت شده است که به انواع آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام مقاومت نشان داده‌اند (۷-۹).

تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز، مکانیسم عمده‌ی مقاومت به آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام است. طبق طبقه‌بندی Ambler، بتالاکتامازها به چهار گروه تقسیم‌بندی می‌شوند؛ گروه‌های A، B، C و D که A، C و D از نوع سرین بتالاکتامازها هستند (۱۰). بتالاکتامازهای کلاس B طبقه‌بندی Ambler متالوبتالاکتاماز هستند (۱۱-۱۰). آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز به طور معمول بر روی ایتتگرونیایی حمل می‌شوند که آنزیم‌های تغییر دهنده‌ی آمینوگلیکوزیدها را هم دارند (۱۲-۱۴). آنزیم‌های

متالوبتالاکتاماز بر اساس ساختمان ملکولی به شش گروه تقسیم می‌شوند: IPM (Imipenem)، SPM (Sao Paulo metallo-beta-lactamase)، NDM (New Delhi metallo-beta-lactamase)، VIM (Verona integron-encoded metallo-beta-lactamase)، GIM (German imipenemase) و AIM (Adelaide imipenemase) (۱۵-۱۶) که نوع VIM از سایر انواع شایع‌تر است (۱۷). متالوبتالاکتامازهای کلاس NDM اولین بار در هند گزارش شد (۱۸) و امروزه از کشورهای مختلف مثل هند، پاکستان، سنگاپور، بنگلادش و ۱۳ کشور اروپایی گزارش می‌شود (۱۹). دیده شده است که حضور این کلاس از متالوبتالاکتامازها، علاوه بر مقاومت به کاربامپنم‌ها باعث مقاومت آمینوگلیکوزیدها، فلوروکینولون‌ها و سایر کلاس‌های آنتی بیوتیکی می‌شود (۲۰). ژن کد کننده‌ی آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز، پلاسمیدی است و بنابراین، به راحتی می‌تواند در بین باکتری‌ها منتشر شود (۱۷، ۱۴).

با توجه به اهمیت کاربامپنم‌ها در درمان عفونت‌های ناشی از سودوموناس آئروژینوزا و لزوم آگاهی از شیوع مقاومت و روش‌های ایجاد مقاومت به این گروه از آنتی بیوتیک‌ها، مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی شیوع آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز کلاس bla_{VIM}، bla_{IPM} و bla_{NDM} در سویه‌های سودوموناس آئروژینوزای جدا شده از زخم سوختگی در شهر یزد انجام شد.

روش‌ها

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

استخراج شده به ترتیب با روش‌های اسپکتروفتومتری و الکتروفورز مورد بررسی قرار گرفت. DNAهای استخراج شده، جهت انجام مراحل بعدی در فریزر ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند.

جهت تکثیر bla_{IPM}، bla_{VIM} و bla_{NDM} با استفاده از روش PCR (Polymerase chain reaction) از پرایمرهای اختصاصی ژن‌های پیش‌گفته که با استفاده از نرم‌افزار پرایمر ۳ طراحی شده بودند، استفاده شد. مواد و مقادیر مورد نیاز جهت انجام واکنش PCR برای هر کدام از ژن‌ها تهیه گردید. بدین صورت که برای تهیه‌ی مخلوط PCR با حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر، ۲ μl از DNA استخراج شده با ۲ μl پرایمر و ۱۰ μl از مستر میکس مخلوط شد و در نهایت، حجم واکنش با آب مقطر تزریقی به ۲۰ μl رسانده شد. برای انجام PCR از ترموسایکلر (Quant biotech، انگلیس) استفاده شد. واکنش PCR برای هر ژن به صورت جداگانه انجام گردید.

یافته‌ها

از مجموع ۱۸۰ ایزوله‌ی کشت داده شده، ۵۴ ایزوله که تولید کننده‌ی پیگمان بودند، نمای اکسیداتیو در محیط OF و توانایی رشد در ۴۲ درجه‌ی سانتی‌گراد داشتند، به عنوان سودوموناس آئروژینوزا مورد تأیید قرار گرفتند. از این تعداد، ۱۸ ایزوله (۳۳ درصد) از زخم افراد مؤنث و ۳۶ ایزوله (۶۷ درصد) مربوط به افراد مذکر بود.

با روش دیسک دیفیوژن، از ۵۴ ایزوله‌ی مورد بررسی به ترتیب ۳۸ ایزوله (۷۰ درصد) به ارتاپنم، ۳۶ ایزوله (۶۶ درصد) به مروپنم و ۴۰ ایزوله (۷۴ درصد) به ایمپنم مقاوم بودند.

غلظت‌های مختلف ایمپنم-EDTA (۲/۰۰۰-۰/۰۳۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای ایمپنم-EDTA) بود.

پس از تهیه‌ی سوسپانسیون باکتریایی با کدورت معادل لوله‌ی ۰/۵ مک فارلند و تلقیح در محیط آگار Mueller- Hinton (Merck، آلمان) نوار Etest روی محیط قرار داده شد. پلیت‌ها به مدت ۱۸-۲۴ ساعت در دمای ۳۵ درجه‌ی سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. جهت تعیین وجود آنزیم متالوبتالاکتاماز، نقطه‌ی تلاقی هاله‌های تشکیل شده در دو سوی نوار (ایمپنم و ایمپنم-EDTA) به عنوان رقت مهار (MIC) در نظر گرفته شد و با واحد میکروگرم بر میلی‌لیتر به صورت کمی گزارش گردید.

سپس طبق دستورالعمل کارخانه‌ی سازنده، چنانچه رقت مهار ایمپنم-EDTA نسبت به ایمپنم بیش از سه رقت کاهش داشت و یا نسبت رقت مهار ایمپنم به ایمپنم-EDTA، بزرگ‌تر و یا مساوی ۸ بود، به عنوان سویه‌ی تولید کننده‌ی متالوبتالاکتاماز در نظر گرفته شد.

جهت استخراج Genomic DNA از باکتری‌ها، از روش Salting out استفاده شد (۲۲)؛ بدین ترتیب که پس از کشت شبانه‌ی باکتری‌ها در ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد، ۱ سی‌سی از نمونه‌ها با PBS (Phosphate buffered saline) شستشو داده شد. سپس جهت تهیه‌ی لیز سلولی از NET buffer و SDS (Sodium dodecyl sulfate) استفاده شد.

جهت تخلیص و رسوب‌دهی به ترتیب از نمک اشباع (۵ نرمال) و الکل اتانول مطلق استفاده شد. در نهایت، پس از شستشوی DNA با الکل ۷۰ درصد، نمونه‌ها با آب مقطر محلول شدند و جهت بررسی‌های کمی و کیفی، ۵ میکرولیتر از DNA

۹ ایزوله (۱۶/۶ درصد) و ۵ ایزوله (۹/۲ درصد) مورد بررسی به ترتیب دارای bla_{IPM} و bla_{VIM} بودند و ۲ ایزوله (۳/۷ درصد) همزمان دارای bla_{VIM} و bla_{IPM} بودند (شکل ۳).



L P ۱ ۲ ۳ ۴ N ۵

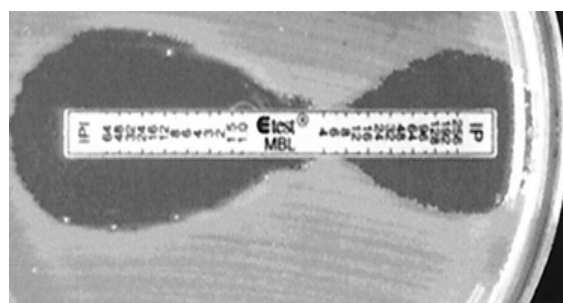
شکل ۳. الکتروفورز محصول Polymerase chain reaction

(PCR) برای ژن bla_{VIM}: (طول قطعه ۲۹۰)؛

P: کنترل مثبت؛ L: ladder 50bp؛ N: کنترل منفی

MIC ایزوله‌های مقاوم به مروپنم و ایمپنم به روش Etest بررسی شد. ۳۵ ایزوله (۶۴ درصد) مقاوم به مروپنم ۱۶ > MIC و ۴ ایزوله که با روش دیسک دیفیوژن به مروپنم مقاوم بودند، MIC < ۲ داشتند. ۴۰ ایزوله (۷۴ درصد) مقاوم به ایمپنم ۱۶ > MIC داشتند.

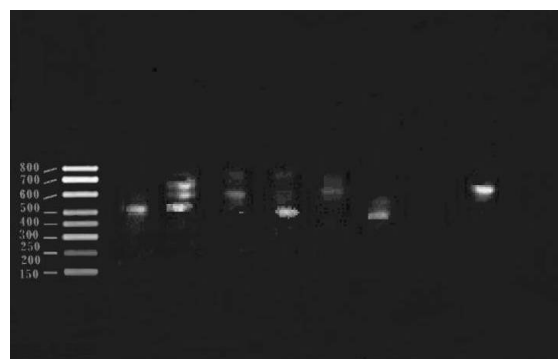
در سنجش متالوبتالاکتاماز به روش فنوتیپی، از نوارهای Etest ایمپنم و ایمپنم-EDTA استفاده شد و ۲۹/۵ درصد دارای آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز بودند (شکل‌های ۱ و ۲).



شکل ۱. تعیین متالوبتالاکتاماز به روش Etest

بحث

عفونت‌های سوختگی به عنوان یک عفونت بیمارستانی، عامل مهمی در مرگ و میر بیماران و ناتوانی‌های بعد از سوختگی محسوب می‌شود. سودوموناس آئروژینوزا یک بیماری‌زای فرصت طلب است که در محیط‌های مرطوب بیمارستانی به خوبی رشد می‌کند. حساسیت کم به آنتی بیوتیک‌ها از خصوصیات بارز این باکتری محسوب می‌شود که درمان را دشوار می‌سازد. قدرت بیماری‌زایی این باکتری هنگامی آشکار می‌شود که در معرض نقاطی از بدن که سد دفاعی طبیعی خود را از دست داده‌اند (مثل زخم‌های سوختگی، محل ورود کاتتر و ...) قرار بگیرد. سودوموناس آئروژینوزا یکی از مهم‌ترین عوامل عفونت‌های بیمارستانی و مسؤول مرگ و میر



I D ۱ ۲ ۳ ۴ ۵ N ۶

شکل ۲. الکتروفورز محصول Polymerase chain reaction

(PCR) برای ژن bla_{IPM}: (طول قطعه ۵۲۸)

P: کنترل مثبت؛ L: ladder 50bp؛ N: کنترل منفی

از روش PCR برای بررسی وجود یا عدم وجود ژن‌های bla_{VIM}، bla_{IPM} و bla_{NDM} استفاده شد.

بالا در بخش‌های سوختگی است.

کاربایتم‌ها از جمله مهم‌ترین آنتی بیوتیک‌های مورد استفاده در درمان عفونت‌های ناشی از سودوموناس آئروژینوزا هستند. پیدایش آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز که نه تنها باعث مقاومت به کاربایتم‌ها بلکه باعث ایجاد مقاومت به سایر آنتی بیوتیک‌ها از جمله آمینوگلیکوزیدها نیز می‌شوند، معضل جدیدی در درمان بیماران مبتلا ایجاد کرد. در مطالعه‌ی حاضر میزان شیوع متالوبتالاکتامازها و الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزای جدا شده از زخم سوختگی مورد بررسی قرار گرفت. به طور خلاصه، مقایسه‌ای بین نتایج این مطالعه با مطالعات مشابه صورت گرفته است.

در مجموع به ترتیب ۷۰، ۶۶ و ۷۴ درصد ایزوله‌ها به آنتی بیوتیک‌های ارتاپنم، مروپنم و ایمپنم مقاوم بودند. در مطالعه‌ی میر صالحیان و همکاران (۱۵) که بر روی ۱۷۰ ایزوله‌ی سودوموناس آئروژینوزای جدا شده از زخم سوختگی انجام شد، بیشترین مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک‌های کلاس آمینوگلیکوزیدها (آمیکاسین ۸۱ درصد، جنتامایسین ۸۸ درصد، توبرامایسین ۸۴ درصد) بود و ۵۲/۹ درصد ایزوله‌ها به ایمپنم مقاوم بودند؛ در حالی که در مطالعه‌ی حاضر، ۷۴ درصد ایزوله‌ها به ایمپنم و ۶۶ درصد به مروپنم مقاوم بودند که می‌تواند نشانگر افزایش روند مقاومت به این کلاس از آنتی بیوتیک باشد.

در چین مطالعه‌ی Wang و همکاران برای بررسی سیر مقاومت به ایمپنم و مروپنم در سال‌های ۲۰۰۳-۲۰۰۸ انجام شد و بیش از ۷۰ درصد ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا به این دو آنتی بیوتیک، حساس بودند (۲۳)؛ اما در مطالعه‌ی Gill و همکاران

گزارش شده است که تنها ۹/۷ درصد و ۱۴/۶ درصد ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا به آنتی بیوتیک‌های ایمپنم و مروپنم حساس بودند (۲۴). به نظر می‌رسد الگوی مقاومت به این گروه از آنتی بیوتیک‌ها، بر حسب الگوی مصرف آن در کشورهای مختلف، متفاوت است. وجود مقاومت به آنتی بیوتیک ارتاپنم با وجود این که این آنتی بیوتیک هنوز در کشور ما مورد مصرف قرار نگرفته است، مطلب قابل توجهی است که در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفت. پیشنهاد می‌شود که این مطلب در مورد این باکتری در سایر شهرها و سایر باکتری‌ها و با تعداد نمونه‌های بیشتر مورد بررسی قرار گیرد.

آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز در ۲۹/۵ درصد ایزوله‌ها مشاهده شد. گلشنی و همکاران در زاهدان در بررسی‌های خود نشان دادند که ۱۸ درصد ایزوله‌ها، مولد MBL بودند (۱۷). در مطالعه‌ی میر صالحیان و همکاران (۱۵) و نوروزی و همکاران (۲۵) بر روی ایزوله‌های اخذ شده از بیماران بستری در بخش سوختگی، به ترتیب ۱۱/۱ و ۸ درصد ایزوله‌ها دارای MBL بودند. ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا در مطالعه‌ی دوستی و همکاران در زنجان از ۷۰ ایزوله‌ی سودوموناس آئروژینوزای اخذ شده از بخش ICU (Intensive care unit)، ۷۸ درصد مولد MBL بودند (۲۶). در فرانسه، در مطالعه‌ی Walsh (۲۷) ۴۶ درصد ایزوله‌ها (که بیشتر آن‌ها از کشت خون جدا شده بودند) و در مطالعه‌ی Pitout و همکاران (۱۶) نیز از ۲۴۱ ایزوله، ۴۶ درصد دارای آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز بودند. خوشبختانه در مطالعات مختلف در کشور ما، شیوع آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز از دو مطالعه‌ی ذکر شده کمتر بوده است.

نیز bla_{NDM} در ایزوله‌ها مشاهده نشد (۳۰). در مطالعه‌ی Farzana و همکاران در بنگلادش ۳۵ ایزوله‌ی مقاوم به ایمپنم از نظر وجود آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز بررسی شدند. از این تعداد، ۱۶ ایزوله سودوموناس آئروژینوزا بودند. در مجموع، ۲۲ درصد ایزوله‌های مورد بررسی در این مطالعه، دارای bla_{NDM} بودند (۲۹).

البته در مطالعات مختلف مثل مطالعه‌ی Jovicic و همکاران (۱۹) عنوان شده است که این گروه از متالوبتالاکتامازها بیشتر در هند دیده شده‌اند و سویه‌های دارای این نوع متالوبتالاکتاماز که در کشورهای اروپایی موجود بوده‌اند، از اشخاصی ایزوله شده‌اند که مسافرت به این کشور داشته‌اند.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج مطالعه‌ی حاضر و مطالعات مشابه، مقاومت به آنتی بیوتیک‌های مورد استفاده در درمان بیماران مبتلا به عفونت‌های ناشی از سودوموناس آئروژینوزا در کشور ما در حال گسترش است و به علاوه، مقاومت کرباپنم‌ها که امروزه خط اول درمان عفونت‌های ناشی از سودوموناس آئروژینوزا هستند، به دلیل گسترش سویه‌های مولد MBL در حال افزایش است. همان‌طور که در نتایج مطالعه‌ی حاضر مشاهده شد، به دلیل تشابه ساختاری بین بعضی از آنتی بیوتیک‌ها (مثل ارتاپنم و مروپنم) قبل از مصرف، مقاومت نسبت به این آنتی بیوتیک‌ها ایجاد شده است. به دلایل پیش‌گفته، لازم است پزشکان قبل از دریافت نتایج آنتی بیوگرام، اقدام به درمان بیمار نکنند.

به ترتیب ۱۶/۶ و ۹/۲ درصد نمونه‌ها دارای ژن‌های bla_{VIM} و bla_{IPM} بودند. در مطالعه‌ی میر صالحیان و همکاران (۱۵) ۱۷۰ نمونه از بیماران مبتلا به عفونت سوختگی ایزوله شد که از این تعداد، ۵۲/۹ درصد نمونه‌ها به ایمپنم مقاوم بودند و با روش Etest MBL وجود متالوبتالاکتاماز بررسی شد که ۱۱/۱ درصد نمونه‌ها مثبت بودند. تمام این ایزوله‌ها دارای bla_{VIM} بودند و هیچ کدام دارای ژن bla_{IPM} نبودند (۱۵).

در مطالعه‌ی شاهچراغی و همکاران بر روی سویه‌های سودوموناس آئروژینوزای ایزوله شده، ۲۸ ایزوله دارای MIC > ۴ بودند که از این تعداد، ۱۵ ایزوله دارای آنزیم متالوبتالاکتاماز از کلاس bla_{VIM} بودند (۲۸). در مطالعه‌ی Pituot و همکاران ۴۳ درصد و ۲ درصد ایزوله‌ها به ترتیب دارای bla_{VIM} و bla_{IPM} بودند (۱۶). در مطالعه‌ی دوستی و همکاران در زنجان ۵۶ درصد و ۲۴/۳ درصد ایزوله‌ها به ترتیب دارای bla_{VIM} و bla_{IPM} بودند (۲۶).

همان‌طور که ملاحظه می‌شود، در بیشتر مطالعات، شیوع bla_{VIM} در جوامع مورد بررسی از bla_{IPM} بیشتر است. ۲ عدد از ایزوله‌ها در مطالعه‌ی حاضر همزمان دارای bla_{VIM} و bla_{IPM} بودند. در مطالعه‌ی Farzana و همکاران ۶۵/۷ درصد ایزوله‌ها مولد بیش از یک نوع MBL بودند (۲۹). همان‌طور که ملاحظه می‌شود، شیوع این دوکلاس از متالوبتالاکتامازها در مناطق مختلف کشور متفاوت است.

هیچ کدام از ایزوله‌های مورد بررسی، دارای bla_{NDM} نبودند. در مطالعه‌ی Al-Agamy و همکاران

References

1. Levy SB. The challenge of antibiotic resistance. *Sci Am* 1998; 278(3): 46-53.
2. Carmeli Y, Troillet N, Eliopoulos GM, Samore MH. Emergence of antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: comparison of risks associated with different antipseudomonal agents. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43(6): 1379-82.
3. Troillet N, Samore MH, Carmeli Y. Imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: risk factors and antibiotic susceptibility patterns. *Clin Infect Dis* 1997; 25(5): 1094-8.
4. 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.
5. 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.
6. Sung JY, Cho HH, Kwon KC, Koo SH. Chromosomal Mutations in *oprD*, *gyrA*, and *parC* in Carbapenem Resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Korean J Clin Microbiol* 2011; 14(4): 131-7.
7. Shojapour M, Shariati L, Karimi A, Zamanzad B. Prevalence of TEM-1 type beta-lactamase genes in *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from burn infections using Duplex PCR in Shahrekord. *Arak University of Medical Sciences Journal* 2011; 14(1): 55-61. [In Persian].
8. 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.
9. Aloush V, Navon-Venezia S, Seigman-Igra Y, Cabili S, Carmeli Y. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: risk factors and clinical impact. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50(1): 43-8.
10. Hall BG, Barlow M. Revised Ambler classification of {beta}-lactamases. *J Antimicrob Chemother* 2005; 55(6): 1050-1.
11. Kalantar D, Mansouri SH, Razavi M. Emergence of imipenem resistance and presence of metallo- β -lactamases enzymes in multi drug resistant gram negative bacilli isolated from clinical samples in Kerman, 2007-2008. *J Kerman Univ Med Sci* 2010; 17(3): 208-14. [In Persian].
12. Lolans K, Queenan AM, Bush K, Sahud A, Quinn JP. First nosocomial outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* producing an integron-borne metallo-beta-lactamase (VIM-2) in the United States. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49(8): 3538-40.
13. Walsh TR, Toleman MA, Poirel L, Nordmann P. Metallo-beta-lactamases: the quiet before the storm? *Clin Microbiol Rev* 2005; 18(2): 306-25.
14. Samuelsen O, Buaro L, Giske CG, Simonsen GS, Aasnaes B, Sundsfjord A. Evaluation of phenotypic tests for the detection of metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* in a low prevalence country. *J Antimicrob Chemother* 2008; 61(4): 827-30.
15. Mirsalehian A, Nakhjavani F, Bahador A, Jabal ameli F, Bigverdi R. Prevalence of MBL-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients. *Tehran University Medical Journal* 2011; 68(10): 563-9.
16. 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.
17. Golshani Z, Ahadi AM, Sharifzadeh A. Occurrence of Ambler Class B Metallo- β -Lactamase Gene in Imipenem-Resistant *Pseudomonas Aeruginosa* Strains Isolated from Clinical Samples. *Zahedan J Res Med Sci* 2014; 16(2): 6-9.
18. Hammerum AM, Toleman MA, Hansen F, Kristensen B, Lester CH, Walsh TR, et al. Global spread of New Delhi metallo- β -lactamase 1. *The Lancet Infectious Diseases* 2010; 10(12): 829-30.
19. Jovcic B, Lepsanovic Z, Suljagic V, Rackov G, Begovic J, Topisirovic L, et al. Emergence of NDM-1 metallo-beta-lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates from Serbia. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55(8): 3929-31.
20. Huang YT, Chang SC, Lauderdale TL, Yang AJ, Wang JT. Molecular epidemiology of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* carrying metallo-beta-lactamase genes in Taiwan. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007; 59(2): 211-6.
21. Wikler MA, Cockerill FR, Udley MN, Craig WA, Eliopoulos GM, Cht DW, et al. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. *Clinical and Laboratory Standards Institute* 2006; 26(2): 1-65.
22. Grody WW, Nakamura RM, Kiechle FL, Strom C. *Molecular Diagnostics: Techniques and*

- Applications for the Clinical Laboratory. New York, NY: Academic Press; 2009.
23. 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.
 24. 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.
 25. Norozi F, Kalantar D, Mansoori SH, Moradi M, Alipour E, Orangi M. Detection of Imipenem resistance and beta-lactamase enzymes MBL in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in Burn Hospital Center in Shiraz. *Iranian Journal of Infectious Diseases* 2010; 15(49): 37-42.
 26. 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. [In Persian].
 27. Walsh TR. The emergence and implications of metallo-beta-lactamases in Gram-negative bacteria. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11 (Suppl 6): 2-9.
 28. Shahcheraghi F, Nikbin VS, Shooraj F, Shafiei M. Investigation of blaIMP-1, blaVIM-1 and blaSPM-1 MBL Genes among Clinical Strains of *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from Imam Khomeini Hospital, Tehran, Iran. *Pajoohandeh Journal* 2009; 14(2): 67-72. [In Persian].
 29. Farzana R, Shamsuzzaman S, Mamun KZ. Isolation and molecular characterization of New Delhi metallo-beta-lactamase-1 producing superbug in Bangladesh. *J Infect Dev Ctries* 2013; 7(3): 161-8.
 30. Al-Agamy MH, Shibl AM, Zaki SA, Tawfik AF. Antimicrobial resistance pattern and prevalence of metallo-beta-lactamases in *Pseudomonas aeruginosa* from Saudi Arabia. *African Journal of Microbiology Research* 2011; 5(30): 5528-33.

Prevalence of *bla_{VIM}*, *bla_{IPM}* and *bla_{NDM}* Metallo-Beta-Lactamases Enzymes in *Pseudomonas Aeruginosa* Isolated from Burn Wounds in Shahid Sadoughi Burn Hospital, Yazd, Iran

Fatemeh Akhavan-Tafti¹, Gilda Eslami PhD², Hengameh Zandi PhD³,
Seyed-Morteza Mousavi¹, Mohadeseh Zarei¹

Original Article

Abstract

Background: *Pseudomonas aeruginosa* is a Gram-negative bacterium that plays a major role in development of opportunistic and severe infections in burn patients. Occurrence of enzymes capable of inactivating all beta-lactams including carbapenems is new problem in treatment of patients. The objective of this study was to investigate the prevalence of Metallo-Beta-Lactamases (MBL) enzymes *bla_{VIM}*, *bla_{IPM}* and *bla_{NDM}* in *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from burn wounds in Yazd city, Iran.

Methods: In this cross-sectional study, 180 burn wound-specimens were collected from burn-hospital belonged to Shahid Sadoughi University of Medical Sciences in Yazd during one year and were cultured at microbiology laboratory of School of Medicine of this university. Suspected colonies were identified by conventional biochemical methods such as utilization of sugars, motility, and oxidase production. Sugar utilization in the Oxidation-Fermentation medium (OF), growth at 42°C and pigment production tests were performed for oxidase positive and non-fermentative colonies on Triple Sugar Iron (TSI) test. Antibiotic susceptibility was determined by Kirby-Bauer methods according to the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) standards. Etest metallo-beta-lactamase (Etest MBL) method was used for phenotypic detection of MBL and *bla_{VIM}*, *bla_{IPM}* and *bla_{NDM}* were determined by polymerase chain reaction (PCR) method using specific primers.

Findings: Out of 180 burn wound specimens, 54 (30%) was identified as *Pseudomonas aeruginosa*. Out of 54 isolates, 70%, 66% and 74% were resistance to ertapenem, meropenem and imipenem respectively; 64% and 74% of isolates were resistant to meropenem and imipenem respectively. MBL enzymes were detected in 29.5% of isolates. Nine isolates (16.6%) and 5 isolates (9.2%) had *bla_{VIM}* and *bla_{IPM}* respectively and 2(3.7%) isolates had *bla_{VIM}* and *bla_{IPM}* simultaneously. None of the isolates had *bla_{NDM}*.

Conclusion: The results of this study show that the prevalence of MBL enzymes and antibiotic resistance in burn patients is high and it is necessary to determine susceptibility testing before treatment.

Keywords: Metallo-Beta-Lactamases (MBL) Enzymes, *Pseudomonas aeruginosa*, Antibiotic resistance

Citation: Akhavan-Tafti F, Eslami G, Zandi H, Mousavi SM, Zarei M. Prevalence of *bla_{VIM}*, *bla_{IPM}* and *bla_{NDM}* Metallo-Beta-Lactamases Enzymes in *Pseudomonas Aeruginosa* Isolated from Burn Wounds in Shahid Sadoughi Burn Hospital in Yazd. J Isfahan Med Sch 2014; 31(263): 1955-64

1- MSc Student, Department of Microbiology, School of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

2- Assistant Professor, Department of Parasitology and Mycology, School of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

3- Assistant Professor, Department of Microbiology, School of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

Corresponding Author: Hengameh Zandi PhD, Email: hengameh_zandi@yahoo.com