جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مجله علمی- پژوهشی زیست فناوری میکروبی دانشگاه آزاد اسلامی
پاییز 1391، دوره چهارم، شماره چهاردهم، صفحه 28-21

بررسی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی و بررسی تولید متالوبتالاکتاماز در ایزوله *های پسودوموناس آئروژینوزا* جدا شده از نمونه های بالینی بیمارستان دکتر گنجویان دزفول

بهناز دیهم [1]، مهدی بسی خواسته [2]

1- کارشناس ارشد میکروب شناسی پزشکی، مربی گروه پرستاری و مامایی، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دزفول، ایران
2- کارشناس ارشد آمار، هیات علمی گروه ریاضی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دزفول، ایران.

نویسنده مسئول: بهناز دیهم، گروه پرستاری و مامایی، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دزفول، ایران.
B.daiham@yahoo.com

دریافت: 91/7/3 پذیرش: 91/9/29

چکیده

زمینه و هدف: مقاومت آنتی بیوتیکی در باکتری های گرم منفی متفاوت بوده و بطور فزاینده ای در حال افزایش است. *پسودوموناس آئروژینوزا* عامل مهمی در ایجاد عفونت های شدید باکتریال است. آنزیم متالوبتالاکتاماز نقش مهمی در ایجاد مقاومت به عوامل آنتی بیوتیکی مختلف بالاخص بتالاکتام ها و کارباپنم ها دارد. در این مطالعه الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی ایزوله های *سودوموناس ائروژینوزا* در بیمارستان آموزشی دزفول تعیین و فراوانی فنوتیپ متالوبتالاکتامازی مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی: 150 ایزوله *پسودوموناس آئروژینوزا* از نمونه های بالینی شامل 72 نمونه کشت ادرار، 55 نمونه ترشحات ریوی، 12 نمونه کشت خون و 11 کشت زخم بدست آمد. تست تعیین حساسیت میکروبی آنها به روش دیسک دیفیوژن کربی بائر(Kirby-Bauer method) و بر اساس دستورالعمل CLSI انجام و ایزوله های مولد متالوبتالاکتاماز به روش E-Test تشخیص داده شدند. آنالیز آماری یافته های پژوهش در نرم افزار آماری SPSS-18 ، با آزمون کای دو (Chi-square) انجام شد.

یافته ها: از 150 ایزوله، 27 و 22 مورد(18 و 14/7 درصد) بترتیب نسبت به ایمی پنم و مروپنم حساس نبودند. بیشترین مقاومت آنتی بیوتیکی ایزوله ها نسبت به سفتریاکسون با 41/3 درصد و سفتازیدیم با 28/7 درصد بود. 21 ایزوله (14 درصد) مولد آنزیم متالوبتالاکتاماز تشخیص داده شدند. بیشترین فراوانی ایزوله های فنوتیپ مثبت درترشحات ریوی با 23/6 درصد مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: با توجه به مقاومت بالای ایزوله های *پسودوموناس آئروژینوزای* مولد آنزیم متالوبتالاکتاماز نسبت به آنتی بیوتیک های متعدد، گسترش چنین مقاومتی در بیمارستان نگران کننده است لذا تشخیص متالوبتالاکتامازها در بیماری های عفونی بمنظور جلوگیری از انتشار ایزوله های مولد متالوبتالاکتاماز توصیه می شود.

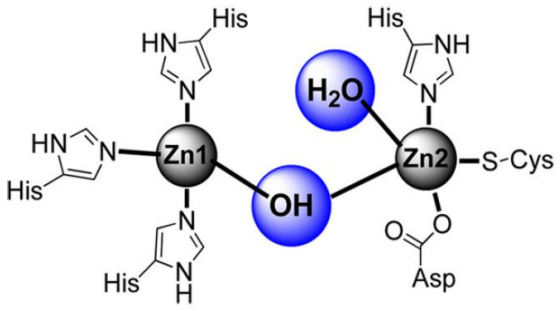
واژه‌های کلیدی: *پسودوموناس آئروژینوزا*، متالوبتالاکتاماز، E-Test، کارباپنم.

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

پسودوموناس *آئروژینوزا* بطور وسیعی در طبیعت انتشار داشته و پاتوژن فرصت طلبی است که در بیماران دچار نقص سیستم ایمنی، نوتروپنیک، سوختگی و بیماران دارای کاتتر عامل ایجاد بیماری است. وجود عوامل ویرولانس متعدد مثل آنزیم ها و توکسین ها (اگزوتوکسینA ، اگزوآنزیم S، لکوسیدین، الاستاز، فسفولیپاز، رامنولیپید و پیوسیانین) است که در ایجاد عفونت های دستگاه تنفسی، دستگاه ادراری تناسلی، گوارشی، اعصاب مرکزی، بافت استخوان و مفاصل، پوست و بافت نرم، باکتریمی، سپتی سمی، عفونت های چشم و گوش و ... نقش دارند. پسودوموناس *آئروژینوزا* دارای مقاومت ذاتی به بسیاری از آنتی بیوتیک ها است، از این رو ابتلا به عفونت ها با مرگ و میر بالایی همراه است(1). در پی درمان های تجربی نامناسب ارگانیسم های حساس نیز مقاوم می شوند که این امر بوسیله القائ تشکیل آنزیم های غیر فعال کننده آنتی بیوتیک ها و یا موتاسیون در ژن های کد کننده، پورین های غشای خارجی و یا از طریق انتقال پلاسمیدی صورت می گیرد. تولید بتالاکتاماز یکی از مهمترین مکانیسم های مقاومت باکتری ها است، آنزیمی که با برقراری اتصال کووالان و هیدرولیز پیوند آمیدی در حلقه بتالاکتام موجب تجزیه و غیر فعال سازی آنتی بیوتیک می شود. باکتری های مولد بتالاکتاماز با ایجاد موتان های جدید رو به افزایش می باشند (2و3).

از این رو کاربپنم ها(ایمی پنم و مروپنم) در درمان عفونت با باسیل های گرم منفی مقاوم به پنی سیلین ها و سفالوسپورین ها مورد استفاده قرار گرفتند(4). امروزه در ایزوله هایی از پسودوموناس *آئروژینوزا* ، تولید متالوبتالاکتامازها MBL :Metallobetalactamase ، منجر به شکست درمان های کاربپنمی شده است. در تقسیم بندی املر، متالوبتالاکتامازها در کلاس B بتالاکتامازها قرار دارند. در این گروه از بتالاکتامازها یون های روی در جایگاه فعال کاتالیتیک آنزیم قرار دارند و بعنوان بتالاکتامازهای وابسته به روی نامیده می شوند، که در واکنش با گروه کربونیل باندهای آمیدی پنی سیلین ها، سفالوسپورین ها و کاربپنم ها عمل می کنند (شکل 1) و کلیه آنتی بیوتیک های بتالاکتام را بجز منوباکتام ها را تجزیه می کند و دارای فعالیت اختصاصی کارباپنمازی هستند، از همین رو به ترکیبات درمانی مهارکننده بتالاکتامازها مانند کلاوولانیک اسید، تازوباکتام و سولباکتام نیز مقاومند(5).



شکل1. محل اتصال یون های Zn در متالوبتالاکتاماز

با گسترش روز افزون گونه های پاتوژن مقاوم خصوصاً در پسودوموناس *آئروژینوزا* و *انتروباکتریاسه ها*، شاهد انتقال ژن های تولیدکننده این آنزیم ها بوده و با کمبود رژیم های درمانی موثر علیه بیماری های عفونی خواهیم بود(6و7). لذا تشخیص ایزوله های تولیدکننده متالوبتالاکتامازها در بخش میکروب شناسی ضروریست.

متالوبتالاکتامازهای پسودوموناس *آئروژینوزا*، *کلبسیلا پنومونیه* و *اسینتوباکتر بومانی* بوسیله عناصر ژنتیکی متحرک کد می شوند(8-10). در بسیاری از مطالعات ژن های متالوبتالاکتامازی مورد شناسایی قرار گرفته اند که در توالی اینتگرون کلاس 1 و 3 جای می گیرند(11و12) این گروه اینتگرون ها مسئول انتقال ژن های بتالاکتاماز در باکتری های گرم منفی است. پسودوموناس *ائروژینوزا* بعلت داشتن پلاسمید کنژوگه ای ، فاکتور مقاومت و همچنین ترانسپوزون های مختلف، توانایی انتقال ژن مقاومت خود از یک ایزوله به ایزوله دیگر را داراست که منبع مهمی در انتشار مقاومت بوده و مشکلات فراوانی را در روند درمان بیماران ایجاد کرده است(13). اولین متالوبتالاکتاماز بنام IMI-1 در سال 1988 در ژاپن شناسایی شد و امروزه انواع متنوعی از آنزیم ها در ایزوله های زیادی از پسودوموناس *آئروژینوزا* در بسیاری از کشورها شناسایی شده است(14و15).

این تحقیق با هدف تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی و بررسی میزان تولید متالوبتالاکتاماز در ایزوله های

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

پسودوموناس *آئروژینوزا* جدا شده از نمونه های بالینی بیماران مراجعه کننده به بیمارستان دکتر گنجویان دزفول انجام گرفت.

روش بررسی

مطالعه حاضر از نوع توصیفی تحلیلی است. نمونه ها با روش نمونه گیری سرشماری از بیمارستان 425 تختخوابه گنجویان جمع آوری شدند. از فروردین ماه 1389 تا مرداد ماه 1390 کلیه نمونه های بالینی بیماران مراجعه کننده به آزمایشگاه بیمارستان اعم از بیماران بستری و سرپایی(خون، ادرار، زخم و ترشحات ریوی) در محیط های کشت بلاد آگار و مک کانکی آگار (مرک- آلمان) کشت داده شدند، پس از انکوباسیون 24 ساعته در 37 درجه سانتی گراد، کلونی های رشد یافته مورد بررسی قرار گرفتند. با استفاده از واکنش گرم، تست اکسیداز(دیسک پادتن طب- ایران)، کاتالاز، پیگمانتاسیون، تست OF ، سیترات، واکنش در محیط TSI، SIM (مرک -آلمان) رشد در 42 درجه سانتیگراد تائید نهایی ایزوله ها انجام شد. در مجموع 150 ایزوله پسودوموناس *آئروژینوزا* تشخیص داده شدند(16).

چند کلنی خالص پسودوموناس *آئروژینوزا* به لوله حاوی TSB (مرک- آلمان) تلقیح و به انکوباتور 37 درجه سانتی گراد منتقل شد. بر اساس استاندارد CLSI (The Clinical and Laboratory Standards Institute) از کدورت نیم مک فارلند نمونه ها (10^8 ×1/5) با سواب روی سطح محیط مولر هینتون آگار (پارانادیزا- اسپانیا) کشت داده شد.

با استفاده از روش دیسک دیفیوژن آگار (Kirby-Bauer) حساسیت باکتریها به آنتی بیوتیک پیپراسیلین 100 میکروگرم، سیپروفلوکسازین 5 میکروگرم، آمیکاسین 30 میکروگرم، سفتازیدیم 30 میکروگرم، سفتریاکسون 30 میکروگرم، سفپیم 30 میکروگرم، ایمی پنم 10 میکروگرم و مروپنم 10 میکروگرم (Mast – انگلستان) انجام گردید و از ایزوله پسودوموناس *آئروژینوزای* ATCC 27853 بعنوان کنترل استفاده شد(17).

سپس با استفاده از استریپ های E-Test MBL (AB BioDiskSweden) که روش دقیق و حساسی است، مقاومت متالوبتالاکتامازی در ایزوله های غیر حساس به ایمی پنم و مروپنم بررسی شد. تحقیقات نشان داده که صحت و دقت متد E test نسبت به سایر روش های ارزیابی متالوبتالاکتامازها بالاتر است. در روش E test نواری پلاستیکی که بر روی یک طرف آن غلظت افزایش یافته یک ماده ضد میکروبی و در طرف دیگر آن درجه بندی تفسیری MIC (Minimum Inhibitory Concentration) پیوسته را دارد، استفاده می شود. بعبارتی شیبی از غلظت آنتی بیوتیک بر سطح نوار تعبیه شده بطوریکه می توان میزان موثر آنتی بیوتیک را علیه باکتری بدست آورد. پس از تلقیح باکتری در سطح محیط مولر هینتون آگار، نوار روی محیط قرار می گیرد و آنتی بیوتیک به داخل آگار با گرادیانی که مرتبط با گرادیان نوار است، انتشار می یابد. اگر ایزوله حساس باشد، مهار رشد بصورت یک بیضی در محل رشد باکتری در آگار دیده می شود، نقطه ای روی درجه MIC در روی نوار که بیضی مهار رشد را قطع می کند، MIC است. در نوارهای MBL در نیمی از استریپ گرادیانی از ایمی پنم و در نیمی دیگر گرادیانی از ایمی پنم و EDTA قرار داده می شود.در مواردی که میزان MIC ایمی پنم بیشتر از 8 برابر MIC ایمی پنم و EDTA گردد، موید تولید MBL است(11و 18).

یافته های پژوهش در نرم افزار آماری SPSS-18 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و به لحاظ آماری $P < 0/05$ معنی دار تلقی شد.

یافته ها

در تحقیق حاضر 150 ایزوله پسودوموناس *آئروژینوزا* از نمونه های بالینی 110 بیمار مرد (73/3 درصد) با میانگین سنی 45 سال و 40 بیمار زن (26/7 درصد) با میانگین سنی 40 سال مورد بررسی قرار گرفت. 88 درصد نمونه ها (132 مورد) از بیماران بستری در بیمارستان گنجویان بودند که شامل 82 نمونه از بخش ICU (54/6 درصد) و 38 نمونه از بخش داخلی و بقیه نمونه ها از بخش های جراحی، اطفال و ارتوپد بودند و 18 ایزوله نیز از کشت نمونه های بیماران سرپایی جدا شد. ایزوله های بدست آمده از نمونه های کشت

پسودوموناس *آئروژینوزا* جدا شده از نمونه های بالینی بیماران مراجعه کننده به بیمارستان دکتر گنجویان دزفول انجام گرفت.

روش بررسی

مطالعه حاضر از نوع توصیفی تحلیلی است. نمونه ها با روش نمونه گیری سرشماری از بیمارستان 425 تختخوابه گنجویان جمع آوری شدند. از فروردین ماه 1389 تا مرداد ماه 1390 کلیه نمونه های بالینی بیماران مراجعه کننده به آزمایشگاه بیمارستان اعم از بیماران بستری و سرپایی(خون، ادرار، زخم و ترشحات ریوی) در محیط های کشت بلاد آگار و مک کانکی آگار (مرک- آلمان) کشت داده شدند، پس از انکوباسیون 24 ساعته در 37 درجه سانتی گراد، کلونی های رشد یافته مورد بررسی قرار گرفتند. با استفاده از واکنش گرم، تست اکسیداز(دیسک پادتن طب- ایران)، کاتالاز، پیگمانتاسیون، تست OF ، سیترات، واکنش در محیط TSI، SIM (مرک -آلمان) رشد در 42 درجه سانتیگراد تائید نهایی ایزوله ها انجام شد. در مجموع 150 ایزوله پسودوموناس *آئروژینوزا* تشخیص داده شدند(16).

چند کلنی خالص پسودوموناس *آئروژینوزا* به لوله حاوی TSB (مرک- آلمان) تلقیح و به انکوباتور 37 درجه سانتی گراد منتقل شد. بر اساس استاندارد CLSI (The Clinical and Laboratory Standards Institute) از کدورت نیم مک فارلند نمونه ها (10^8 ×1/5) با سواب روی سطح محیط مولر هینتون آگار (پارانادیزا- اسپانیا) کشت داده شد.

با استفاده از روش دیسک دیفیوژن آگار (Kirby-Bauer) حساسیت باکتریها به آنتی بیوتیک پیپراسیلین 100 میکروگرم، سیپروفلوکسازین 5 میکروگرم، آمیکاسین 30 میکروگرم، سفتازیدیم 30 میکروگرم، سفتریاکسون 30 میکروگرم، سفپیم 30 میکروگرم، ایمی پنم 10 میکروگرم و مروپنم 10 میکروگرم (Mast – انگلستان) انجام گردید و از ایزوله پسودوموناس *آئروژینوزای* ATCC 27853 بعنوان کنترل استفاده شد(17).

سپس با استفاده از استریپ هایE-Test MBL (AB BioDiskSweden) که روش دقیق و حساسی است، مقاومت متالوبتالاکتامازی در ایزوله های غیر حساس به ایمی پنم و مروپنم بررسی شد. تحقیقات نشان داده که صحت و دقت متد E test نسبت به سایر روش های ارزیابی متالوبتالاکتامازها بالاتر است. در روش E test نواری پلاستیکی که بر روی یک طرف آن غلظت افزایش یافته یک ماده ضد میکروبی و در طرف دیگر آن درجه بندی تفسیری MIC (Minimum Inhibitory Concentration) پیوسته را دارد، استفاده می شود. بعبارتی شیبی از غلظت آنتی بیوتیک بر سطح نوار تعبیه شده بطوریکه می توان میزان موثر آنتی بیوتیک را علیه باکتری بدست آورد. پس از تلقیح باکتری در سطح محیط مولر هینتون آگار، نوار روی محیط قرار می گیرد و آنتی بیوتیک به داخل آگار با گرادیانی که مرتبط با گرادیان نوار است، انتشار می یابد. اگر ایزوله حساس باشد، مهار رشد بصورت یک بیضی در محل رشد باکتری در آگار دیده می شود، نقطه ای روی درجه MIC در روی نوار که بیضی مهار رشد را قطع می کند، MIC است. در نوارهای MBL در نیمی از استریپ گرادیانی از ایمی پنم و در نیمی دیگر گرادیانی از ایمی پنم و EDTA قرار داده می شود.در مواردی که میزان MIC ایمی پنم بیشتر از 8 برابر MIC ایمی پنم و EDTA گردد، موید تولید MBL است(11و 18).

یافته های پژوهش در نرم افزار آماری SPSS-18 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و به لحاظ آماری $P < 0/05$ معنی دار تلقی شد.

یافته ها

در تحقیق حاضر 150 ایزوله پسودوموناس *آئروژینوزا* از نمونه های بالینی 110 بیمار مرد (73/3 درصد) با میانگین سنی 45 سال و 40 بیمار زن (26/7 درصد) با میانگین سنی 40 سال مورد بررسی قرار گرفت. 88 درصد نمونه ها (132 مورد) از بیماران بستری در بیمارستان گنجویان بودند که شامل 82 نمونه از بخش ICU (54/6 درصد) و 38 نمونه از بخش داخلی و بقیه نمونه ها از بخش های جراحی، اطفال و ارتوپد بودند و 18 ایزوله نیز از کشت نمونه های بیماران سرپایی جدا شد. ایزوله های بدست آمده از نمونه های کشت

آزمون آماری کای دو (Chi-square) و تجزیه و تحلیل داده ها مشخص شدکه در ایزوله های واجد آنزیم متالوبتالاکتاماز، بین مقاومت به ایمی پنم و نوع نمونه بالینی و بخش بستری بیماران ارتباط معنی دار آماری (P=0.01) وجود دارد. بطوریکه بیشترین ایزوله های مقاوم و واجد آنزیم در نمونه های ترشحات ریوی بیمارانی بدست آمد که در بخش ICU اینتوبه بودند. در مورد آنتی بیوتیک های دیگر (P>0.05) چنین ارتباطی برقرار نبود.

جدول 3. الگوی فراوانی مقاومت آنتی بیوتیکی در دو گروه *پسودوموناس آئروژینوزای* مولد آنزیم متالوبتالاکتاماز و گروه فاقد آنزیم

مقاومت / آنتی بیوتیک	واجد آنزیم		فاقد آنزیم	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد
آمیکاسین	8	38/1	7	5/4
سیپروفلوکسازین	4	19	0	0
پیپراسیلین	6	28/6	6	4/7
سفتریاکسون	19	90/5	43	33/3
سفتازیدیم	18	85/7	25	19/4
سفپیم	17	81	21	16/3
ایمی پنم	19	90/5	1	0/8
مروپنم	17	81	1	0/8

در مقایسه فراوانی همزمان مقاومت آنتی بیوتیکی در باکتری های مولد آنزیم و فاقد آنزیم با آزمون کای دو مشخص شد که توانایی تولید آنزیم با سطح معنی داری P<0/05 باعث افزایش مقاومت به آنتی بیوتیک های تست شده در مطالعه شده است.

بحث

پسودوموناس *آئروژینوزا* از شایعترین عوامل در ایجاد عفونتهای ریوی، مجاری ادراری، باکتریمی، سوختگی و عفونت های بیمارستانی است. در چند دهه اخیر، با مصرف بالینی نامناسب آنتی بیوتیک ها در سراسر جهان، مقاومت میکروبی گسترش روز افزونی یافته، بطوریکه درمان بیماریهای عفونی را مشکل ساخته است. تست تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی باکتریها درتعیین راهکار درمانی موثر در بیماریها حائز اهمیت است. آنتی بیوتیک های بتالاکتام از متداولترین ترکیبات مصرفی بیماران محسوب می شوند. امروزه ثابت شده که پسودوموناس *آئروژینوزا* به اکثر آنتی بیوتیک های بتالاکتام مقاومت نشان می دهد(2و3). در درمان عفونت های ناشی از ایزوله های مقاوم به بتالاکتام ها از کارباپنم ها که نسبت به اثر اکثر بتالاکتامازها مقاوم هستند، استفاده می شود، اما در سالهای اخیر مقاومت به کارباپنم ها بویژه در ایزوله های جدا شده از نمونه های بالینی گزارش شده است که در اثر کاهش نفوذ دارو و تولیدآنزیم های هیدرولیز کننده کارباپنم ها مانند متالوبتالاکتاماز است(19).

در تعیین الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی باکتری ها به روش دیسک دیفیوژن، بیشترین مقاومت را به سفتریاکسون با 62 ایزوله (41/3%) نشان داد و 18 ایزوله به مروپنم (12%) و 20 ایزوله به ایمی پنم (13/3%) کاملاً مقاوم بودند(جدول1) و بیشترین حساسیت آنتی بیوتیکی در کلیه ایزوله ها نسبت به سیپروفلوکسازین با 97/3 درصد مشاهده شد.

مطالعه حاضر به لحاظ فراوانی ایزوله های مقاوم به ایمی پنم با مطالعه نوربخش در بیمارستان حضرت رسول تهران با مقاومت 14/7 درصدی همخوانی داشت(20)، در مطالعاتی که در شمال غرب کشور، توسط نهایی و همکارانش (21) در بیمارستان امام خمینی ارومیه و همچنین مطالعه فرج نیا و همکارانش (22) به انجام رسیده مشخص گردید که 32 درصد ایزوله ها به ایمی پنم مقاومند که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. در مطالعه شجاع پور و همکارانش در شهرکرد با 175 ایزوله انجام شده نیز مقاومت به آنتی بیوتیک های آمیکاسین، سیپروفلوکسازین، سفتازیدیم، سفپیم و ایمی پنم به ترتیب 67/4، 77/7، 68/6، 52/2 و 48 درصد گزارش شده که در مقایسه با مطالعه حاضر نشان از فراوانی بالای مقاومت آنتی بیوتیکی در بیمارستان های آموزشی شهرکرد دارد(23)، این در حالیست که شاهچراغی و همکارانش (24)در بیمارستان امام خمینی تهران فراوانی مقاومت های آنتی بیوتیکی نسبت به سیپروفلوکسازین، آمیکاسین و سفتازیدیم را بالاتر و نسبت به مطالعه ما متفاوت بودند ولی مقاومت به ایمی پنم تنها در 9 درصد ایزوله ها گزارش شد. در مطالعه حاضر ایزوله های پسودوموناس *آئروژینوزا* اوروپاتوژن 48 درصد موارد را به خود اختصاص داد که بترتیب 34/7 و 20/8 درصد مقاومت به سفتریاکسون و سفتازیدیم مشاهده شد و مقاومت به سفپیم در این ایزوله ها 16/7 درصد بدست آمد(جدول 2). در مطالعه اخابو و همکارانش در بیمارستانی در پنسیلوانیای ایالات متحده، از 2529 نمونه، 30/2 درصد ایزوله ها از نمونه های کشت ادرار جدا شدند و 213 مورد (8/4 درصد) مقاوم به

سفپیم نشان داده شدند که موید مقاومت پائین تر نسبت به مطالعه حاضر بود و در ایزوله های کشت خون بیماران مبتلا به سپسیس پسودوموناس *آئروژینوزا* 9/8 درصد مقاومت به سفپیم گزارش شد(1).

در فرانسه هوگت و همکارانش (25) 10/8 درصد ایزوله ها را مقاوم به ایمی پنم گزارش دادند که با مطالعه حاضر همخوانی داشت ولی از نظر مقاومت به آنتی بیوتیک های سفپیم و سفتازیدیم پائین تر و نسبت به آمیکاسین و سیپروفلوکسازین مقاومت بالاتری را گزارش داد. در مطالعه شارم و همکارانش در سال 2011 در هند نیز فراوانی مقاومت های دارویی بالاتر و نسبت به ایمی پنم 37/9 درصد گزارش شد و 69/5 درصد ایزوله های مقاوم به ایمی پنم واجد متالوبتالاکتاماز بودند(26). در مطالعه حاضر 55 ایزوله(36/7 درصد) پسودوموناس *آئروژینوزا* از ترشحات ریوی بیماران بخش مراقبت های ویژه ICU جدا شد که در 23/6 درصد ایزوله ها مقاومت به ایمی پنم و 20 درصد مقاوم به مروپنم بودند(جدول 1).

بیشترین موارد مقاومت متالوبتالاکتامازی نیز با 23/6 درصد در نمونه های ترشحات تنفسی بیماران بخش ICU بدست آمد(جدول 2)، که با توجه به فاکتورهای خطری از جمله بستری طولانی در بخش مراقبت های ویژه، استفاده از تجهیزات تنفس مصنوعی و مصرف آنتی بیوتیک های وسیع الطیف بالاخص ایمی پنم و مروپنم در این بیماران زمینه ظهور و گسترش انواع مقاومت های دارویی و مقاومت متالوبتالاکتامازی را فراهم آورده است و در مطالعه صادقی و همکارانش(27) نیز نمود دارد.

در برخی مطالعات از جمله اخابو و همکارانش که طی سال های 2001 تا 2006 به انجام رسیده، مقاومت به سفپیم بطور قابل ملاحظه ای پائین تر و تنها در8/4 درصد ایزوله های بدست آمده از کشت ترشحات ریوی است(1)، در مطالعات داخل کشور مطالعه صادقی و همکارانش در بخش مراقبتهای ویژه ICU بیمارستان یحیی نژاد بابل نیز نشان داد که تمام ایزوله ها به سفپیم، پیپراسیلین، آمیکاسین و سیپروفلوکسازین مقاوم بودند که در مقایسه با مطالعه حاضر فراوانی مقاومت بالاتر بود ولی به لحاظ مقاومت به ایمیپنم و سفتازیدیم بترتیب با 8/3 و25 درصد در مقام پائین تری قرار داشت که با یافته های ما در تضاد بود(27). این درحالیست که بررسی قریشی و همکارانش در بخش های مراقبت های ویژه بیمارستانهای تبریز طی سالهای 2007 تا 2009، مقاومت به سفتازیدیم(5 درصد)، با مطالعه ما همخوانی داشت ولی به لحاظ الگوی مقاومت به سایر آنتی بیوتیکها از مقاومت بالاتری برخوردار بودند(28).

در بررسی 11 ایزوله پسودوموناس *آئروژینوزای* بدست آمده از نمونه های زخم، بیشترین مقاومت نسبت به سفتریاکسون 27/3 درصد بدست آمد و سیپروفلوکسازین با 100 درصد و ایمی پنم با 90/9 درصد حساسیت، موثرترین آنتی بیوتیک ها در درمان بودند. که در این مورد یافته های ما با نتایج تحقیق حوایی در بیمارستان الزهرا اصفهان (29) که مقاومت دارویی سیپروفلوکسازین و ایمیپنم بترتیب 42/8 و 14/28 درصد بود همخوانی نداشت. در مطالعه اخابو و همکارانش نیز مقاومت به سفپیم 18/5 درصد بود(1).

در نمونه های کشت زخم در مطالعه شاهچراغی و همکارانش بیشترین مقاومت به سفالوسپورین های نسل سوم و کمترین مقاومت به ایمی پنم با 6 درصد مقاومت گزارش شد(30). در مطالعه حاضر از 150 ایزوله پسودوموناس *آئروژینوزا* به لحاظ تولید متالوبتالاکتاماز 21 ایزوله (14% موارد) فنوتیپ متالوبتالاکتامازی داشتند(جدول2) به عبارتی از مجموع 27 ایزوله غیر حساس به ایمی پنم، 21 ایزوله (77/8%) مولد متالوبتالاکتاماز بودند. در بررسی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در ایزوله های مولد آنزیم و فاقد آن نیز مشخص شد که وجود ایزوله های متالوبتالاکتاماز مثبت در ایجاد مقاومت به سایر آنتی بیوتیک ها نقش مهمی دارد (جدول 3). در مطالعه ای در بیمارستان امام خمینی تهران 9 درصد ایزوله ها به ایمی پنم مقاوم بودند و با استفاده از روش دابل دیسک سینرژی تست 78 درصد موارد مولد متالوبتالاکتاماز تشخیص داده شد(24) و در مطالعه نهایی و همکارانش در ارومیه 70/15 درصد به روش MBL E Test فنوتیپ مثبت گزارش شد(21)، که با یافته های ما در این تحقیق همخوانی دارد.

همچنین در سال 2002 ناوانس و همکارانش در هند، شیوع ایزوله های تولیدکننده متالوبتالاکتاماز را در پسودوموناس *آئروژینوزا* 12 درصد گزارش داد(31). این در حالیست که در کانادا، پیتوت و همکاران در سال 2005، با بررسی 241 ایزوله پسودوموناس *آئروژینوزا* مقاوم به ایمیپنم، 110 ایزوله را با روش غربالگری دیسک EDTA و E-test MBL، متالوبتالاکتاماز مثبت یافتند(32). در مطالعه ژوزف و همکارانش در هند، بررسی پنومونی در بیماران بخش ICU نشان داد که 2 درصد ایزوله های پسودوموناس *آئروژینوزا* واجد فنوتیپ متالوبتالاکتاماز بودند(33).

در مطالعه حاضر مقاومت به سفالوسپورین های نسل سوم بالاخص سفتریاکسون و سفتازیدیم در رتبه اول قرار داشت که از پر مصرف ترین آنتی بیوتیک های درمانی در بیماران بستری و سرپایی هستند، از سویی 27 ایزوله غیر حساس به ایمی پنم (18 درصد) بدست آمد که با روش E-test در 21 ایزوله (77/8 درصد) مشخص شد که توانایی تولید متالوبتالاکتاماز، عامل بروز مقاومت به کارباپنم بوده است و در سایر ایزوله ها، مقاومت بواسطه سایر مکانیسم های مقاومت از جمله افلوکس پمپ ها و نقص یا فقدان پروتئین های غشای خارجی Opr D، تغییر نفوذ پذیری غشایی و یا وجود بتالاکتامازهای کلاس D است(34). بررسی ها موید این نکته است که اگر چه اولین ایزوله های مولد متالوبتالاکتاماز از مناطق محدودی از جهان گزارش شده، ولی مطالعات اخیر حاکی از گسترش ایزوله های *پسودوموناس آئروژینوزای* مولد متالوبتالاکتاماز از سراسر جهان می باشد. بررسی یافته های مطالعات مختلف بیانگر بروز نوساناتی در مقاومت های دارویی در ایزوله های مختلف باکتریال می باشد که علت را می توان در تفاوت روش های تشخیصی اعم از دیسک دیفیوژن، MIC یا E-test و سایر روش های ارزیابی فنوتیپی مقاومت جستجو کرد. مطمئناً الگوی انتشار جغرافیایی ایزوله های مقاوم و الگوی درمانی بیماری های عفونی در منطقه و بیمارستان در بروز چنین اختلافاتی نقش بسزایی دارند. نکته حائز اهمیت این است که یکی از علل اصلی ایجاد مقاومت آنتی بیوتیکی در باکتری ها مصرف بیش از حد این داروهاست که به مرور زمان منجر به پیدایش ایزوله های مقاوم می شود.

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که بسیاری از ایزوله های *پسودوموناس آئروژینوزا* با توانایی تولید آنزیم متالوبتالاکتاماز نسبت به کارباپنم ها مقاومت یافته و همین امر در بروز مقاومت همزمان به سایر آنتی بیوتیک ها از جمله سفالوسپورین های نسل سوم که از عمده ترین آنتی بیوتیک های تجویزی در بیمارستان هستند، نقش بسزایی دارد. وجود مقاومت متالوبتالاکتامازی می تواند هشداری در جهت پروتوکل های درمانی حاضر باشد لذا انجام آزمونهای فنوتیپی در تشخیص ایزوله های مولد متالوبتالاکتاماز در بیماری های عفونی، پزشکان را در تجویز رژیم صحیح آنتی بیوتیکی یاری داده و در کنترل انتشار مقاومت موثر است.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد دزفول به دلیل حمایت های مالی از این طرح تحقیقاتی تقدیر و تشکر می گردد.

Refrences

1- Akhabue E, Synnestvedt M, Weiner MG, Bilker WB, Lautebach E. *Cefepime-Resistant Pseudomonasaeruginosa.* Emerg Infect Dis. 2011; 17(6):1037-43.
2- Church D, Essayed S, Reid O, Winston B, Lindsay R. *Burn wound infections*. Clin Microbiol Rev. 2006 Apr; 19(2):403-34.
3- Japoni A, Alborzi A, Kalani M, Nasiri J, Hayati M, Farshad SH. *Susceptibility patterns and cross-resistance of antibiotics against Pseudomonas aeruginosa isolated from burn patients in the south of Iran.* Burns. 2006; 32(3):343-7.
4- Weinstein RA. *Nosocomial infection update.* Emerg Infect Dis. 1998; 4(3):416-20.
5- Bush K, Jacoby GA, Medeiros A. *A functional classification scheme for β-lactamases and its correlation with molecular structure.* Antimicrob Agents Chemother. 1995; 39(6):1211–1233.
6- Davis B, Dulbecco R, Eisen HN. *Chemotherapy. In: Davis B. Microbiology*. 4th ed. Philadelphia: Lippincott. 1990;pp: 220-224.
7- Mims C, Playfair J, Roitt I, Wakelin D, Williams R. *Hospital infections, Sterilization and Disinfection. In: Mims C*. Medical Microbiology .2 th ed. London: Mosby. 1999; pp: 480-500.
8- Corvec S, Poirel L, Espaze E, Giraudeau C, Drugeon H , Nordmann P. *Long-term evolution of a nosocomial outbreak of Pseudomonas aeruginosa producing VIM-2 metallo.enzyme*. J Hosp Infect. 2008; 68(1):73–82.
9- Hujer KM, Hujer AM, Hulten EA, Bajaksouzian S, Adams JM, Donskey CJ. *Analysis of antibiotic resistance genes in multidrug-resistant Acinetobacter sp. isolates from military and civilian patients treated at the Walter Reed Army Medical Center*. Antimicrob. Agents Chemother. 2006; 50(12):4114–23.
10- Ikonomidis A, Tokatlidou D, Kristo I, Sofianou D, Tsakris A, Mantzana P. *Outbreaks in distinct regions due to a single Klebsiella pneumoniae clone carrying a bla VIM-1 metallo-beta-lactamase gene.* J Clin Microbiol. 2005; 43(10):5344–47.
11- Boschi L, Mercuri PS, Riccio ML, Riccio ML, Amicosante G, Galleni M. *The Legionella (Fluoribacter) gormanii metallo-beta-lactamase: a new member of the highly divergent lineage of molecular subclass B3 metallo-beta-lactamases.* Antimicrob Agents Chemother. 2000; 44(6):1538-43.
12- Pournaras S, Tsakris A, Maniati M, Tzouvelekis LS, Maniatis AN. *Novel variant (blaVIM-4) of the metallobetalactamase gene blaVIM-1 in a clinical strain of Pseudomonas aeruginosa.* Antimicrob Agents Chemother. 2002; 46(12):4026-28.
13- Bennett PM. *Integrons and gene cassettes: a genetic construction kit for bacteria.* J Antimicrob Chemother. 1999; 43(1):1-4.

14- Hirakata Y, Izumikawa K, Yamaguchi T, Takemura H, Tanaka H, Yoshida R. *Rapid detection and evaluation of clinical characteristics of emerging multiple-drug-resistant gram-negative rods carrying the metallo-beta-lactamase gene blaIMP*. Antimicrob Agents Chemother. 1998; 42(8):2006-11.

15- Senda K, Arakawa Y, Nakashima K, Ito H, Ichiyama S, Shimokata K. *Multifocal outbreaks of metallo-β-lactamase producing Pseudomonas aeruginosa resistant to broad-spectrum β-lactams, including carbapenems.* Antimicrob Agents Chemother. 1996; 40(2):349–353.

16- Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Bailey & Scott's *Diagnostic Microbiology*. 12th ed. Missouri. Mosby; 2007, 340-50.

17- Washington JA, Anhatt JP. *Antimicrobial susceptibility tests of aerobic and facultatively anaerobic bacteria*. In: Laboratory procedures in Clinical Microbiology. 2nd ed. USA. Spinger. 1985: 67-85.

18- Quale JM, Landman PA, Bradford M, Visalli J, Ravishankar C, Flores D. *Molecular epidemiology of a citywide outbreak of extended-spectrum beta-lactamase-producing Klebsiella pneumoniae infection.* Clin Infect Dis. 2002; 35(7):834–41.

19- Senda K, Arakawa Y, Ichiyama S, Nakashima K, Ito H, Ohsuka S. *PCR detection of metallo-beta-lactamase gene (blaIMP) in gram-negative rods resistant to broad-spectrum beta-lactams*. J Clin Microbiol. 1996; 34(12):2909-13.

20- Noorbakhsh S, Farhadi M, Tabatabaei A. *Determination of the MIC of antibiotics for gram negative microorganisms isolated from the sterile sites of children hospitalized in Rasool Akram hospital.* Iran J Pediatr. 2006;16(4):419-25

21- Nahaei MR. *Detaction of metalloβ-lactamases producing Pseudomonas by phenotypic methods isolated in Orumieh Iran*. Proceedings of the 4th Iranian Congress of Clinical Microbiology. 2010 Nov 9-11; Isfahan. Iran.

22- Farajnia S. *Detection of bla VIM and bla IMP type metalloβ-lactamases genes in clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa in North-West of Iran.* Proceedings of the 4 th Iranian Congress of Clinical Microbiology. 2010 Nov 9-11; Isfahan. Iran.

23- Shojapour M, Shariati L, Karimi A , Zamanzad B. *Prevalence of TEM-1 type β-lactamases genes in Pseudomonas aeruginosa strains isolated from burn infections using Duplex PCR in Shahrekord-2008.* Arak Medical University Journal. 2011; 14(54): 55-61.

24- 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.

25- Hocquet D, Berthelot P, Roussel-Delvallez M, Favre R, Jeannot K, Bajolet O. *Pseudomonas aeruginosa may accumulate drug resistance mechanisms without losing Its ability to couse bloodstream infections.* Antimicrob Agents Chemotherapy. 2007; 51(10): 3531-36.

26- Sharma M, Yadav S, Chaudhary Uma. *Metalloβ-lactamases producing Pseudomonas aeruginosa in Neonatal Septicemia.* J Lab Physicians. 2010; 2(1): 14-16.

27- Sadeghi M, Asghaizadeh SA, Bratlu AR, Montazeri MO, Montazeri MA. *Antibiotic resistance patherns of gram negative isolated in respiratory secretions the special attention of hospital.* 2008: 14(44); 39-44.

28- Ghorashi Z, Nezami N, Ghostalou R and Ghorashi S. *Pattern of Pseudomonas aeruginosa drug resistance in Tabriz Children Hospital.* Pak J Bio Sci. 2010; 13(8): 400-404.

29- Havaei SV. *Evaluation of Pseudomonas aeruginosa isolated from cutaneous infections and determination of drug resistance pattern in patients of Alzahra hospital in Esfahan.* Proceedings of the 4 th Iranian Congress of Clinical Microbiology. 2010 Nov 9-11; Isfahan. Iran

30- Shahcheraghi F , Nikbin VS , Shooraj F. *Molecular analysis betalactamases PER, VEB, SHV, TEM isolates of Pseudomonase aeruginosa isolated from wound specimens by PCR in two hospitals in Tehran.* Iranian Journal of Microbiology. 2007:1(4); 21-27.

31- Navaneeth BV, Sridaran D, Sahay D, Belwadi MR. *A preliminary study on metallo- β-lactamases producing Pseudomonas asaeruginosa in hospitalized patients*. Indian J Med Res. 2002; 116:264-267.

32- Pitout JD, Gregson DB, Poirel L, McClure JA, Le P, Church DL. *Detection of Pseudomonasas aeruginosa produsing metalloβ-lactamases in a large centralized laboratory*. J Clin Microbiol. 2005; 43(7):3129-35.

33- Joseph NM, Sistla S, Dutta TK, Badhe AS, Rasitha D, Pariji SC. *Ventilator- associated pneumonia in a tertiary care hospital in India: role of multi-drug resistant pathogens.* J Infect Dev Ctries. 2010; 4(4):218-25.

34- Ridrguez-Martinez JM, Poirel L, Nordmann P. *Molecular epidemiology and mechanisms of carbapenem Pseudomonas aeruginosa.* Antimicrob Agents Chemother. 2009; 53(11)4783-8.