بررسی فعالیت متالوبتالاکتامازی و کارباپنمازی درسویه سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از نمونه های بالینی در تهران

سمیه مشایخی، فاطمه نوربخش*، سحر هنرمند جهرمی

چکیده

سودوموناس آئروژینوزا یک پاتوژن فرصت طلب و از عوامل اصلی ایجاد عفونت های بیمارستانی می باشد. متالوبتالاکتامازها و کارباپنمازها از مهمترین عوامل ایجاد کننده مقاومت به داروهای کارباپنم در سویه های سودوموناس آئروژینوزا هستند. هدف از این مطالعه بررسی فعالیت متالوبتالاکتامازی و کارباپنمازی درسویه سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از نمونه های بالینی است. تعداد ٤٩ سویه سودوموناس آئروژینوزا جداشده از بیماران بستری در بخش مراقبت های ویژه مورد مطالعه قرار گرفت. سویه های مولد متالوبتالاکتاماز به روش دیسک ترکیبی و سویه های مولد کارباپنماز به روش اصلاح شده هاج مورد ارزیابی قرار گرفتند. همچنین برای تشخیص سویه های حامل ژن های VIM، SIM، GIM، SPM و IMP از روش PCR استفاده گردید. مقاومت آنتی بیوتیکی نسبت به آنتی بیوتیک های تیکارسیلین، مروپنم، جنتامیسین، سیپروفلوکساسین، سفپیم و سفتازیدیم به ترتیب ۸۹/۸٪، ۵۱٪، ٤٤٪/٩، ٦٧٪/٤، ٩٣٪/٩، ٩٥٪/٩ مشاهده شد. با بررسی فنوتیپی دیسک ترکیبی ۵۵٪/۱ سویه ها مولد متالوبتالاکتاماز و ۳۸/۸٪ سویه ها نیز به روش MHT مولد کارباپنماز مشاهده شدند. فراوانی هر یک از ژن ها VIM، SIM، GIM، به ترتیب ۶۳/۳٪، ۳۸/۸٪، ۳٤/۷٪ و ژن های SPM و IMP در هیچ یک از سویه ها مشاهده نشد.در این مطالعه ژن VIM در سویه های سودوموناس آئروژینوزا با فراوانی بیشتری نسبت به سایر ژن های مولد آنزیم های متالوبتالاکتامازی و کارباپنمازی مشاهده شد، همچنین فعالیت متالوبتلاکتامازی در سویه های مورد مطالعه بالاتر از فعالیت کارباپنمازی بود. لذا با توجه به اهمیت این سویه ها در عفونت های بیمارستانی، به کار گیری تکنیک های مناسب برای تشخیص این سویه ها جهت پیشگیری از انتشار این مقاومت ها امری ضروری است.

واژگان کلیدی: سودوموناس آئروژینوزا، متالوبتالاکتاماز، کارباپنماز، دیسک ترکیبی، تست اصلاح شده هاج

تاریخ دریافت: ۱٤۰۱/۹/٦ تاریخ پذیرش: ۱٤۰۱/۱۲/۱۸

مقدمه

سودوموناس آئروژینوزا یک پاتوژن فرصت طلب در انسان‌ها محسوب می گردد. همچنین این ارگانیسم یکی از مرسوم‌ترین عوامل عفونت های بیمارستانی به شمار می‌آید. عمده عفونت های این باکتری در بیماران بستری یا افرادی که دارای نقص سیستم ایمنی هستند دیده می شود(۱). این باکتری به طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک ها از جمله پنی سیلین ها، سفالوسپورین‌های با طیف وسیع و کارباپنم‌ها مقاوم اند(۲). مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سودوموناس آئروژینوزا می‌تواند با منشأ کروموزومی و یا اکتسابی با منشأ پلاسمیدی باشد که در این حالت به سهولت می‌تواند بین سویه‌ها و گونه‌های مختلف منتقل شود(۳, ٤).

باکتری های بیماری‌زا مانند سودوموناس آئروژینوزا فادر به کسب ژن های بتالاکتاماز با طیف بسیار وسیع Extended ESBL (Spectrum βLactamase) است که توسط ترانسپوزون ها، پلاسمیدها و یا موتاسیون در باکتری سودوموناس ایجاد می‌شود(۵). بتالاکتامازها آنزیم‌هایی هستند که باعث تخریب حلقه بتالاکتام موجود در آنتی‌بیوتیک‌های گروه بتالاکتام می شوند. الگوهای متفاوتی برای طبقه‌بندی آنزیم‌های بتالاکتاماز وجود دارد. یکی از این روش‌ها که به وسیله Bush- Jacoby- Medeiros ابداع گردیده است بر این اساس بتالاکتامازها به چهار گروه تقسیم می شوند. کلاس اول: سبب هیدرولیز پنی سیلین‌ها و سفالوسپورین‌ها با طیف وسیع می شود. کلاس دوم: متالوبتالاکتامازهای وابسته به روی می باشد که قادر به هیدرولیز کارباپنم‌ها بوده، کلاس سوم: که از آن‌ها می‌توان

گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران
niloofar_noorbakhsh@yahoo.com

به Ampc بتالاکتامازها اشاره نمود که توانایی هیدرولیز سفالوسپورین‌ها و سفومایسین‌ها را دارند. کلاس چهارم: بتالاکتامازهایی با قدرت هیدرولیز فراوان مثل اگزاسیلیناز علیه کلوکساسیلین ها و اکساسیلین‌ها هستند(٦،٧).

بتالاکتامازهای کلاس B یا متالوبتالاکتامازها بر طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌ها ازجمله پنی سیلین‌ها و سفالوسپورین‌ها وسیع الطیف و کاربانم‌ها (به‌جز مونوباکتام‌ها) مؤثرند و مشکل عمده بالینی بشمار می روند. در طی دهه‌های اخیر انواع متالوبتالاکتامازها ازجمله GIM ، SPM، VIM نیز شناسایی شده اند. (٨،٩). کاربانمازها به عنوان آخرین انتخاب در درمان عفونت‌های ناشی از سویه-های مقاوم چند دارویی باسیل‌های گرم منفی استفاده می شوند. به دلیل ارتباط کاربانمازها در ایجاد مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام و سایر کلاس‌های آنتی‌بیوتیک‌ها، مانند فلوروکینولون‌ها، کوتریموکسازول و آمینوگلیکوزیدها، این موضوع به یک نگرانی در مراکز بهداشتی درمانی سراسر جهان تبدیل شده است(١٠-١٢). بر اساس طبقه-بندی آمبلر (Ambler)، آنزیم‌های هیدرولیز کننده‌ی کاربانم به سه گروه مجزا A، B و D تقسیم می شوند. از انواع مهم کلاس A، نوع KPC که بیشتر در سودوموناس آئروژینوزا و گروه انتروباکتریاسه و نوع GES که بیشتر در اسینتوباکتر بومانی مشاهده می شود می باشد. این کلاس عمدتاً به صورت کروموزومی کدگذاری می شود ژن‌های کاربانمازها عمدتاً بر روی عناصر ژنتیکی متحرک مانند پلاسمیدهای قابل انتقال قرار دارند (١٣, ١٤). در مطالعه احمد و همکاران از ایزوله بالینی سودوموناس آئروژینوزا مقاوم به ایمی پنم ٦٦ درصد سویه ها دارای آنزیم کاربانماز بودند(١٥). بیگ و همکاران فراوانی فعالیت کاربانمازی در سویه های بالینی سودوموناس آئروژینوزا را ٥١ درصد ارزیابی کردند(١٦). به دلیل اهمیت مقاومت آنتی بیوتیکی و نوع آنزیم موثر در ایجاد مقاومت در سویه های باکتریایی عامل عفونت هدف از این تحقیق بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های سودوموناس آئروژینوزا جداشده از بیماران بستری در بخش های بیمارستان میلاد تهران، بررسی فنوتیپی و ژنوتیپی مقاومت متالوبتالاکتامازی و کاربانمازی و همچنین بررسی ارتباط مقاومت آنتی بیوتیکی و این آنزیم ها می باشد.

مواد و روش‌کار

حیوانات مورد مطالعه و گروه‌بندی

این طرح در تحقیق ١٠٥ موش سوری نر با میانگین سنی ١٠- این مطالعه بر روی ٤٩ سویه *سودوموناس آئروژینوزا* ایزوله شده از نمونه های بالینی بیماران بستری در بخش های بیمارستان میلاد تهران انجام شد. نمونه های بالینی مورد مطالعه مربوط به نمونه های ادرار بیماران، در بخش های مراقبت ویژه و بستری بود.. در ابتدا نمونه ها بر روی محیط بر روی محیط های کشت بلاد آگار و EMB آگار و مک کانکی آگار (merck-آلمان) کشت داده شدند. سپس برای تشخیص و خالص سازی سودوموناس ائروژینوزا از تست های رنگ آمیزی گرم، کاتالاز، اکسیداز، تخمیر قند ها و TSI استفاده شد(١٧).

بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی به روش انتشار در آگار

جهت انجام این تست بر طبق دستورالعمل(١٨) CLSI2020 از روش کربی-بائر استفاده شد. برای انجام این آزمون ابتدا از سویه های سودوموناس آئروژینوزا سوسپانسیونی معادل کدورت نیم مک فارلند (1.5×10^8 cfu/ml) تهیه و با استفاده از سواپ تحت شرایط استریل بصورت چمنی بر روی سطح محیط کشت مولر هینتون آگار (merck-آلمان) کشت داده شد. در نهایت دیسک های مختلف آنتی بیوتیکی شامل سیپروفلوکساسین ٥ug، جنتامایسین ١٠ug، مروپنم ١٠ug، تیکارسیلین ٧٥ug، سفپیم ٣٠ug، سفتازیدیم ٣٠ug (پادتن طب-ایران) با فاصله مناسب روی سطح محیط قرار داده شدند و بعداز ١٦-١٨

ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قطر هاله عدم رشد مورد بررسی قرار گرفت. همچنین در این مطالعه جهت کنترل داخلی از سویه ی *سودوموناس آئروژینوزا* استاندارد (*ATCC 27853*) به عنوان صحت انجام آزمون دیسک دیفیوژن استفاده گردید.

تشخیص فنوتیپی MBLs

جهت تشخیص سویه های متالوبتالاکتاماز روش دیسک ترکیبی استفاده شد. بر اساس پروتکل CLSI 2020 جهت جداسازی سویه های تولید کننده آنزیم های MBLs از دیسک آنتی بیوتیکی مروپنم به تنهایی و آنتی بیوتیک مروپنم آغشته به EDTA 0.5M استفاده شد. برای این منظور بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار از غلظت نیم مک فارلند باکتری مورد نظر با استفاده از سوآپ استریل کشت چمنی داده شد. سپس یک دیسک آنتی بیوتیکی مروپنم به تنهایی و آنتی بیوتیک مروپنم آغشته به EDTA 0.5M بر روی محیط قرار داده شد. پس از ۲٤ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی گراد، نمونه از نظر تشکیل هاله عدم رشد مورد بررسی قرار گرفت. اگر اختلاف هاله عدم رشد اطراف دیسک ها*mm* ۵ ≥ باشد سویه تولید کننده این آنزیم ها می باشد(۱۹).

تشخیص فنوتیپی کارباپنماز با استفاده از روش هاج اصلاح شده (MHT(Modified Hodge Test

طبق دستور پروتکل CLSI در ابتدا سوسپانسیون باکتریایی با غلظت نیم مک فارلند از سویه Ecoli ATCC۲۵۹۲۲ تهیه شد. سوسپانسیون تهیه شده به میزان ۱:۱۰ رقیق شد و سپس به صورت یکنواخت بر روی محیط مولر هینتون آگار (merck–آلمان) کشت داده شد. یک دیسک مروپنم در مرکز پلیت قرار گرفت، سپس سویه های مورد مطالعه به صورت خط مستقیم از لبه دیسک تا کناره های پلیت کشیده شد. سپس پلیت ها به مدت ۱۸–۱٦ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شد. سویه های تولید کننده کارباپنماز، بعد از ۲٤ ساعت، یک بریدگی برگ شبدری شکل در ناحیه مهار رشد دیسک ایجاد می کند.

بخش مولکولی

DNA سویه های مورد مطالعه با استفاده از کیت استخراج DNA شرکت سیناکلون و طبق دستور شرکت استخراج گردید. واکنش PCR با استفاده از دستگاه ترموسایکلر Q-SAT ساخت کشور انگلستان و مستر میکس شرکت سیناکلون انجام گرفت. برای انجام واکنش PCR، ۹ میکرولیتر اب مقطر استریل، ۲۰ نانوگرم DNA الگو، ۱۰ پیکومول از هر پرایمر و ۱۲/۵ میکرولیتر از مسترمیکس PCR استفاده شد. همچنین برنامه دمایی دستگاه ترموسایکلر برای انجام واکنش به این صورت بود، دمای ۹۵ درجه برای مدت ۱۰ دقیقه جهت واسرشتی اولیه، ۹۵ درجه ۱ دقیقه جهت واسرشتی، ۵۸ درجه ۱ دقیقه جهت اتصال پرایمرها، ۷۲ درجه ۱ دقیقه جهت طویل سازیی در قالب ۳۰ سیکل و در اخر ۷۲ درجه ۱۰ دقیقه جهت طویل سازی ثانویه استفاده شد. فهرست پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۱ ذکر شده است(۲۰).

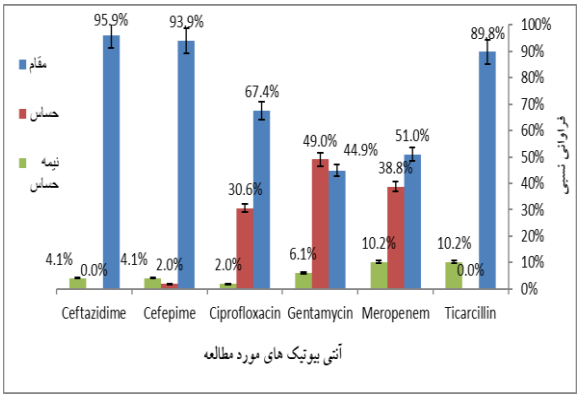
جدول ۱ پرایمرهای مورد استفاده در مطالعه

پرایمر	توالی پرایمر ('3–'5)	طول طعه
VIM	GAT GGT GTT TGG TCG CAT A CGA ATG CGC AGC ACC AG	۳۹۰
SIM	TAC AAG GGA TTC GGC ATC G TAA TGG CCT GTT CCC ATG TG	۵۷۰
SPM	AAA ATC TGG GTA CGC AAA CG ACA TTA TCC GCT GGA ACA GG	۲۷۱
GIM	TAATGGCCTGTTCCCATGTG TCG ACACACCTTGGTCTGAA	٤۷۷
IMP	GGA ATA GAG TGG CTT AAY TCT C AAC AAC CAC TAC GTT ATC T	۱۸۸

در این مطالعه نرم افزار SPSS ver-22 برای آنالیز آماری اطلاعات به دست آمده مورد استفاده قرار گرفت. ارتباط اطلاعات با استفاده از آزمون فیشر بررسی و مقدار P-value کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

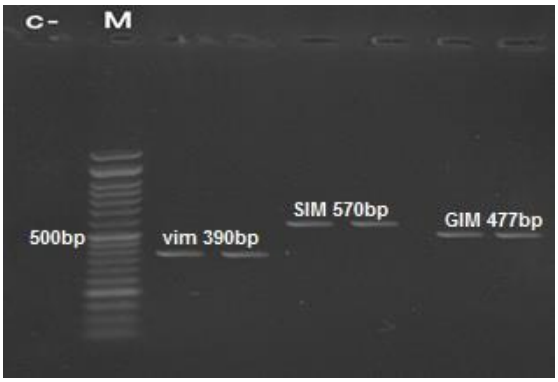
مقاومت آنتی بیوتیکی سویه ها در نمودار۱ نشان داده شده است. با توجه به نمودار کمترین مقاومت سویه های مورد مطالعه نسبت به آنتی بیوتیک جنتامایسین (٤٤/٩٪) و بیشترین مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک سفتازیدیم (٩٥/٩٪) مشاهده شد (نمودار۱).



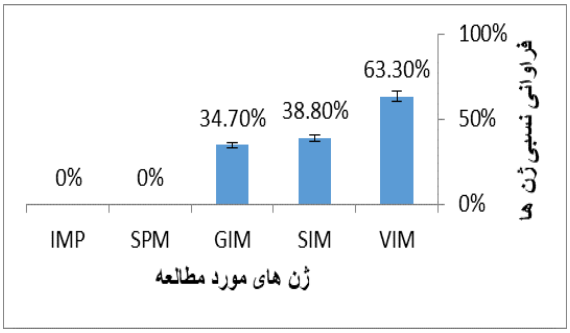
نمودار ۱- درصد فراوانی مقاومت آنتی بیوتیکی در سویه های *سودوموناس آئروژینوزا*

براساس انجام آزمون دیسک ترکیبی و با توجه به شکل۱، ٥٥/١٪ (٢٧ سویه) از سویه ها تولید کننده آنزیم متالوبتالاکتاماز، و همچنین از ۲۵ سویه مقاوم به دیسک آنتی بیوتیکی مروپنم، طبق روش اصلاح شده MHT، ٣٨/٨٪ سویه ها (۱۹سویه) تولید کننده آنزیم های کارباپنماز شناسایی شدند بودند.

با بررسی های مولکولی ژن ها VIM، SIM، GIM، به ترتیب ٦٣/٣٪، ٣٨/٨٪، ٣٤/٧٪ و ژن های SPM و IMP در این مطالعه در هیچ یک از سویه ها مشاهده نشد (شکل ۱- نمودار۲).



شکل ۱- تصویر الکتروفورز از ژن های مورد بررسی



نمودار۲- فراوانی نسبی ژن ها در بین سویه های مورد بررسی

در مطالعه حاضر بیشترین هم زمانی ژنی در بین سویه مربوط به ژن های SIM و VIM (٣٦/٧٪)و کمترین هم زمانی ژنی مربوط به ژن های SIM و GIM (٢٢/٥٪) مشاهده شد. همچنین در این مطالعه ٢٢/٤٥٪ سویه ها به صورت همزمان حامل سه ژن VIM، SIM و GIM بودند.

در تمامی سویه های مقاوم به آنتی بیوتیک، بیشترین فراوانی مربوط به ژن VIM و کمترین فراوانی مربوط به ژن GIM بود. در این میان سویه های مقاوم به آنتی بیوتیک های تیکارسیلین و سفتازیدیم بیشترین فراوانی(٦٣/٢٧٪ سویه ها) را در ژن VIM داشتند. همچنین کمترین فراوانی ژن VIM (٣٨/٧٨٪ سویه ها)در سویه های مقاوم به آنتی بیوتیک جنتامایسین و مروپنم مشاهده شد. با بررسی آنالیز آماری مشخص شد که بین مقاومت به آنتی بیوتیک های تیکارسیلین، جنتامایسین و سیپروفلوکساسین و ژن VIM، همچنین بین مقاومت به آنتی بیوتیک های مروپنم،

جنتامایسین و سیپروفلوکساسین و ژن های SIM و GIM ارتباط معناداری وجود دارد($P<0.05$). بیشترین فراوانی ژن ها در سویه های مولد بتالاکتاماز مربوط به ژن VIM (۳۸/۸٪) و کمترین فراوانی مربوط به ژن GIM (۲۶/۶٪) مشاهده شدند.

بحث

امروزه افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی در بین انواع باکتری ها تهدیدی جدی در بحث درمان عفونت های ناشی از این میکروارگانیسم ها است (۲۱). باکتری های بیماری‌زا مانند سودوموناس آئروژینوزا به علت اکتساب ژن¬های مقاومت به آنتی-بیوتیک های بتالاکتام برای جامعه بشری خطرناک هستند. این مقاومت به علت ژن های بتالاکتاماز با طیف بسیار وسیع ESBLs است. پیدایش و کسب آنزیم های متالوبتالاکتاماز و کارباپنمازی در بین باکتری های گرم منفی از نظر اپیدمیولوژیکی اهمیت بالایی دارد(۲۱و۲۲). باکتری های تولید کننده بتالاکتامازهای با طیف وسیع به واسطه هیدرولیز بسیاری از آنتی بیوتیک‌های گروه بتالاکتام مانند پنی سیلین‌ها، سفالوسپورین ها و آزترونام، معضلات عدیده‌ای را در درمان عفونت های خطرناک ناشی از این باکتری ها به وجود آورده‌اند(۲۲). به دلیل توانایی های وسیع متابولیکی و ژنتیکی سودوموناس آئروژینوزا از قبیل نفوذ ناپذیری نسبی غشای خارجی باکتری، وجود پمپ های تراوشی، تولید آنزیم های کروموزومی و پلاسمیدی تجزیه کننده ی آنتی بیوتیک ها، این باکتری یکی از مقاوم ترین میکروارگانیسم ها نسبت به داروها می باشد(۲۳). به همین دلیل شناسایی سریع و دقیق سویه های تولید کننده آنزیم های کارباپنماز برای درمان مناسب و جلوگیری از گسترش سویه های مقاوم ضروری می باشد(۲٤).

طی مطالعه Sameni از مجموع ۱۰۱ سویه سودوموناس آئروژینوزا، مقاومت آنتی بیوتیکی را به ترتیب برای آمیکاسین، مروپنم، سفتی زوکسیم، توبرامایسین، سیپروفلوکساسین، پیپراسیلین، کلیستین، کاربنی سیلین، جنتامایسین و سفتازیدیم، ۱٦/۲٪، ۱۸/۹٪، ۹۱/۹٪، ۲۹/۷٪، ۳۲/٤٪، ۱٦/۲٪، ۲/۷٪، ۳۷/۸٪، ۲۹/۷٪ و ۳۷/۸٪، گزارش نمودند(۲۵). مقاومت آنتی بیوتیکی در مطالعه حاضر نسبت به مطالعه Sameni در آنتی بیوتیک های مشابه، بیشتر مشاهده شد. دلیل این امر میتواند به خاطر منبع نمونه ها باشد زیرا در این منبع نمونه ها ادرار و در مطالعه ثامنی سوختگی است. در تحقیق انجام شده توسط Ruiz و همکاران در سال ۲۰۱۸ مقاومت آنتی بیوتیکی پایینی مشاهده شد، سفتازیدیم ۸٪، سفپیم و آزترونام۷ ٪، جنتامایسین ۳٪، سیپروفلوکساسین و مروپنم ۱٪(۲٦). همانطور که مشاهده می شود مقاومت آنتی بیوتیکی در مطالعه حاضر و سایر مطالعات انجام شده در ایران بالاتر از گزارش سایر کشور هاست این امر احتمالا نشان از استفاده بی رویه از آنتی بیوتیک در کشور ایران است. در مطالعه Faghri و همکاران در سال ۲۰۱۸ بر روی ۷۲ سویه سودوموناس آئروژینوزا جداشده از بیماران، بیشترین مقاومت نسبت به سفتازیدیم ۷٦/٤٪ و موثرترین آنتی بیوتیک کلیستین با۱۰۰٪ تاثیر به دست آمد(۲۷). در این مطالعه نیز همانند مطالعه حاضر بیشترین مقاومت سویه های سودوموناس آئروژینوزا نسبت به آنتی بیوتیک سفتازیدیم گزارش شده است. در مجموع تحقیقات مختلف بر روی سویه های پاتوژن سودوموناس آئروژینوزا نشان داد که میزان مقاومت این سویه ها نسبت به اغلب آنتی بیوتیک ها به خصوص آنتی بیوتیک های خط مقدم همانند آنتی بیوتیک های گروه کارباپنم و کلیستین به صورت نگران کننده ای در حال افزایش است(۲۸, ۲۹). طی مطالعه .Vaez و همکاران ۳۵ ایزوله (۲۹/۲ درصد) مورد مطالعه به روش دیسک ترکیبی مولد MBL بودند(۳۰). در مطالعه Kalantar و همکاران بر روی ٦۹ سویه سودوموناس آئروژینوزا، یک

سویه سودوموناس آئروژینوزا با روش فنوتیپی تولید کننده آنزیم متالوبتالاکتاماز شناسایی شدند(۳۱). در مطالعه حاضر از ٤٩ سویه مورد بررسی ۲۷ سویه(۵۵/۱ درصد) مولد MBL شناسایی شدند که نسبت به مطالعه Kalantar و همکاران اختلاف بالایی دارد. دلیل این امر نیز می تواند بخاطر فاصله زمانی دو مطالعه و کسب ژن های مقاومت توسط سویه ها باشد. در مطالعه حاضر سویه های مولد آنزیم های کارباپنمازی به روش MHT مورد بررسی قرار گرفتند که ۱۹ سویه (۳۸/۸٪) مولد کارباپنماز شناسایی شدند. طی مطالعه ی .Ahmed و همکاران(۱۵) در مصر، از میان ۵۰ ایزوله بالینی سودوموناس آئروژینوزای مقام به ایمی پنم، ٦٦ درصد به روش MHT کارباپنماز مثبت بودند که از میان آنها، ۲٦ درصد حامل ژن IMP و ۳۰ درصد حامل ژن KPC بودند. طی مطالعه .Haghi و همکاران، از میان ۸۰ سویه سودوموناس آئروژینوزا، ٦ سویه(۹/۱٪) به روش MHT و ۲۳ سویه به روش (۲۹/۲ ٪) CDDT کارباپنماز مثبت شناسایی شدند. همچنین ٦/۳٪ دارای ژن VIM و ۱٪ دارای ژن KPC بودند(۳۲). دلیل تفاوت در نتایج مطالعه.Haghi و مطالعه حاضر می تواند به دلیل فاصله زمانی دو مطالعه باشد. طی مطالعه .Vahdani و همکاران از میان ۲٤۱ ایزوله بالینی سودوموناس آئروژینوزا، ۸٦ ایزوله نسبت به آنتی بیوتیک های کارباپنم مقاوم بودند که از این میان، ۷۵ ایزوله به روش MHT مثبت داشتند و تنها ۲ ایزوله با استفاده از روش PCR مولد ژن کارباپنماز بودند(۳۳). در مطالعه Vaez و همکاران نیز از ۳۵ سویه (۲۹/۲٪) سودوموناس آئروژینوزای مولد متالوبتالاکتاماز ۲۸ سویه (۸۰٪) دارای ژن IMP، ۲۰سویه (۵۷٪) دارای ژن SPM و ۵ سویه (۱٤/۳٪) حامل ژنSIM بودند(۲۸). در مطالعه حاضر برخلاف مطالعه Vaez و همکاران سویه های حامل ژن های IMP و SPM مشاهده نشدند همچنین فراوانی ژن SIM در مطالعه حاضر بیشتر از این مطالعه مشاهده شد. در مطالعه Lee و همکاران، ژن های blaVIM2-3-11 با ۳۸٪ و ژن blaIMP با ۱۲٪ دارای بیشترین فراوانی و همچنین ژن های blaSPMو blaSIM در هیچ یک از سویه های مورد بررسی مشاهده نشد. در این مطالعه ٤۷/۳٪ سویه ها مولد MBL گزارش شدند(۳٤). دلیل تفاوت می تواند به خاطر اختلاف در موقعیت جغرافیایی این دو مطالعه باشد. طی مطالعه.Beig و همکاران از ۱۱۵ سویه سودوموناس آئروژینوزا، فراوانی ژن های IMP، VIM، SPM، SIM و GIM به ترتیب ٤۰/۸٪، ۳۸/۷۷٪، ۳٤/٦۹٪، ۱٦/۳۲٪ و ۱۲/۲٤٪ گزارش شد(۱٦). برخلاف این مطالعه در مطالعه حاضر هیچ یک از سویه های مورد بررسی حامل ژن های IMP و SPM مشاهده نشدند.

در مطالعه حاضر بیشترین میزان مقاومت آنتی بیوتیکی نسبت به آنتی بیوتیک های سفتازیدیم، سفپیم و تیکارسیلین مشاهده شد. همچنین بیش از نیمی از سویه های مورد مطالعه مولد آنزیم های متالوبتالاکتامازی و کاباپنمازی بودند. عفونت های ناشی از سودوموناس ائروژینوزا به دلیل تولید آنزیم های متالوبتالاکتاماز و کارباپنماز با مشکل روبروست. باتوجه به مطالعه ژنوتیپی سویه ها برای بررسی حضور ژن های دخیل در تولید آنزیم های مذکور و همچنین بررسی ارتباط این ژن ها با مقاومت آنتی بیوتیکی سویه ها، مشخص گردید که اتباط معناداری میان سویه های حامل ژن های VIM، SIM و GIM و تولید آنزیم های متالوبتالاکتاماز و کارباپنماز و در نتیجه مقاومت سویه ها نسبت به آنتی بیوتیک ها در مطالعه وجود دارد. لذا با توجه به اهمیت بالینی ارگانیسم های تولید کننده آنزیم های متالوبتالاکتاماز و کارباپنماز، شناسایی آن ها به روش های فنوتیپی و ژنوتیپی در بیمارستان های مختلف جهت تشخیص سویه های مولد آنزیم ها و ژن های کد کننده این آنزیم ها به منظور درمان صحیح بیماران و کنترل انتشار

میکروارگانیسم های دارای مقاومت آنتی بیوتیکی در کنار روش های تعیین حساسیت به روش دیسک دیفیوژن

ضروری است.

فهرست منابع

1. 1.Moradali MF, Ghods S, Rehm BH. Pseudomonas aeruginosa lifestyle: a paradigm for adaptation, survival, and persistence. Frontiers in cellular and infection microbiology. 2017;36(4):36-50.
2. Mohsen M. Study Phenotype and genotype bla (IMP) and bla (VIM) metallo-β-lactamases genes and pattern antibiotic resistance Pseudomonas aeruginosa isolates from clinical samples Beheshti Hospital in the city of Qom. Yafte. 2018;97(5):36-22
3. Jurado-Martín I, Sainz-Mejías M, McClean S. Pseudomonas aeruginosa: An audacious pathogen with an adaptable arsenal of virulence factors. International Journal of Molecular Sciences. 2021;22(6):3128.
4. Langendonk RF, Neill DR, Fothergill JL. The building blocks of antimicrobial resistance in Pseudomonas aeruginosa: implications for current resistance-breaking therapies. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. 2021;11:665759.
5. Lomovskaya O, Rubio-Aparicio D, Nelson K, Sun D, Tsivkovski R, Castanheira M, et al. In Vitro Activity of the Ultrabroad-Spectrum Beta-Lactamase Inhibitor QPX7728 in Combination with Multiple Beta-Lactam Antibiotics against Pseudomonas Aeruginosa. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2021;65(6):e00210-21.
6. Safarirad S, Arzanlou M, Mohammadshahi J, Vaez H, Sahebkar A, Khademi F. Prevalence and characteristics of metallo-beta-lactamase-positive and high-risk clone ST235 Pseudomonas aeruginosa at Ardabil hospitals. Jundishapur Journal of Microbiology. 2021;74(63):874-256
7. Kouhsari E, Fakhre Yaseri H, Samadi Kafil H, Mohamadzade R, Rahbar M. A review on common laboratory methods for detection of carbapenemase Gram-negative bacilli. Razi Journal of Medical Sciences. 2018;24(165):47-65.
8. Bogiel T, Prażyńska M, Kwiecińska-Piróg J, Mikucka A, Gospodarek-Komkowska E. Carbapenem-resistant Pseudomonas aeruginosa strains-distribution of the essential enzymatic virulence factors genes. Antibiotics. 2020;10(1):8.
9. Lee M, Abbey T, Biagi M, Wenzler E. Activity of aztreonam in combination with ceftazidime–avibactam against serine-and metallo-β-lactamase–producing Pseudomonas aeruginosa. Diagnostic microbiology and infectious disease. 2021;99(1):115227.
10. Dahiya S, Singla P, Chaudhary U, Singh B. Carbapenemases: a review. Int J Adv Health Sci. 2015;2(4):11-7.
11. Rodloff A, Goldstein E, Torres A. Two decades of imipenem therapy. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2006;58(5):916-29.
12. Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the versatile β-lactamases. Clinical microbiology reviews. 2007;20(3):440-58.
13. Dortet L, Poirel L, Nordmann P. Worldwide dissemination of the NDM-type carbapenemases in Gram-negative bacteria. BioMed research international. 2014; ;96(5):36-22.
14. Bialvaei AZ, Kafil HS, Asgharzadeh M, Yousef Memar M, Yousefi M. Current methods for the identification of carbapenemases. Journal of Chemotherapy. 2016;87(3):36-22.
15. Ahmed OM, Manal A, Samia A. Evaluation of a new phenotypic method to screen for OprD-deficient mutant strains of Pseudomonas aeruginosa. Int J Curr Microbiol App Sci. 2017;6(2):1894-901.

16.Beig M, Taheri M, Arabestani MR. Frequency of Metallo-β-Lactamases and Carbapenemase Enzymes in Clinical Isolates of Pseudomonas aeruginosa. 2020. ;6(2):845-901.
17 .Sandle, T. Microbial identification. Pharmaceutical Microbiology. 2016; pp.103-113.
18 .Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). CLSI M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing .2020.
19.Pitout JD, Gregson DB, Poirel L, McClure J-A, Le P, Church DL. Detection of Pseudomonas aeruginosa producing metallo-β-lactamases in a large centralized laboratory. Journal of Clinical Microbiology. 2005;43(7):3129-35.
20.Picao RC, Andrade SS, Nicoletti AG, Campana EH, Moraes GC, Mendes RE, et al. Metallo-β-lactamase detection: comparative evaluation of double-disk synergy versus combined disk tests for IMP-, GIM-, SIM-, SPM-, or VIM-producing isolates. Journal of clinical microbiology. 2008;74(36):45-22
21.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 in vitro activities of antibiotic combinations against these isolates. Burns. 2005;31(6):707-10.
22.MacPherson P, Valentine K, Chadderton V, Dardamissis E, Doig I, Fox A, et al. An outbreak of Pseudomonas aeruginosa infection linked to a “Black Friday” piercing event. PLoS Currents. 2017;14(8):412-22
23.Douglas MW, Mulholland K, Denyer V, Gottlieb T. Multi-drug resistant Pseudomonas aeruginosa outbreak in a burns unit—an infection control study. Burns. 2001;27(2):131-5.
24.Driscoll JA, Brody SL, Kollef MH. The epidemiology, pathogenesis and treatment of Pseudomonas aeruginosa infections. Drugs. 2007;67(3):351-68.
25.Sameni F, Esmaeili A, Dabiri H, Azargun R, Goudarzi H, Mohammadzadeh A. Distribution of Integron Class I in Drug Resistant Pseudomonas aeruginosa Isolated from Clinical Samples. Research in Medicine. 2020;21(8):765-22
26.Ruiz-Roldán L, Bellés A, Bueno J, Azcona-Gutiérrez JM, Rojo-Bezares B, Torres C, et al. Pseudomonas aeruginosa isolates from Spanish children: occurrence in faecal samples, antimicrobial resistance, virulence, and molecular typing. BioMed research international. 2018;24(10):874-22
27.Faghri J, Nouri S, Jalalifar S, Zalipoor M, Halaji M. Investigation of antimicrobial susceptibility, class I and II integrons among Pseudomonas aeruginosa isolates from hospitalized patients in Isfahan, Iran. BMC research notes. 2018;11(1):1-5.
28.Kainuma A, Momiyama K, Kimura T, Akiyama K, Inoue K, Naito Y, et al. An outbreak of fluoroquinolone-resistant Pseudomonas aeruginosa ST357 harboring the exoU gene. Journal of infection and chemotherapy. 2018;24(8):615-22.
29.Ohara M, Kouda S, Onodera M, Fujiue Y, Sasaki M, Kohara T, et al. Molecular characterization of Imipenem-resistant Pseudomonas aeruginosa in Hiroshima, Japan. Microbiology and immunology. 2007;51(3):271-7.
30.Vaez H KF, Salehi-Abargouei A, Sahebkar A. Metallo-beta-Lactamase-producing Pseudomonas aeruginosa in Iran: a systematic review and meta-analysis. Infez med. 2018;26(3):216-25.
31.Kalantar D, Mansori S, Razavi M. Emergence of Imipenem Resistance and Presence of Metallo--Lactamases Enzymes in Multi Drug Resistant Gram Negative Bacilli Isolated from Clinical Samples in Kerman, 2007-2008. Journal of Kerman University of Medical Sciences. 2010;17(3):208-14.

32.Haghi F, Keramati N, Hemmati F, Zeighami H. Distribution of integrons and gene cassettes among metallo-β-lactamase producing Pseudomonas aeruginosa clinical isolates. Infection Epidemiology and Microbiology. 2017;3(2):36-40.
33.Vahdani M, Azimi L, Asghari B, Bazmi F, Lari AR. Phenotypic screening of extended-spectrum ß-lactamase and metallo-ß-lactamase in multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa from infected burns. Annals of burns and fire disasters. 2012;25(2):78.
34.Lee M-F, Peng C-F, Hsu H-J, Chen Y-H. Molecular characterisation of the metallo-β-lactamase genes in imipenem-resistant Gram-negative bacteria from a university hospital in southern Taiwan. International journal of antimicrobial agents. 2008;32(6):475-80.