Paramedical Sciences and Military Health
Volume 14, Number 4, 2020

**Original Article**

# Molecular Study of BlaIMP and BlaVIM Genes in Pseudomonas Aeruginosa Strains, Producer of Metallo Beta Lactamases Isolated from Clinical Samples in Hospitals and Medical Centers of Tabriz

Abolfazl Jafari-Sales[1]*, Homeira Khaneshpour[2]

[1] *Department of Microbiology School of Basic Sciences, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran*
[2] *Department of Microbiology, Ahar Branch, Islamic Azad University, Ahar, Iran*

## Abstract

**Introduction:** Pseudomonas aeruginosa is an inpatient opportunistic pathogen that uses a variety of antibiotics, including beta-lactam, to treat infections. The aim of this study was to investigate the abundance of blaIMP and blaVIM genes in P. aeruginosa strains, a producer of metallo beta lactamases isolated from clinical samples in hospitals and medical centers in Tabriz.

**Materials and Methods:** In this cross-sectional descriptive study, 100 isolates P. aeruginosa isolated from different clinical samples of patients referred to hospitals and medical centers in Tabriz, collected and after determining phenotypic identity and antibiogram testing, phenotype metallo beta lactamases by CDDT method using imipenem and EDTA/Imipenem disk was evaluated for the bacterium P. aeruginosa.

**Results:** Out of a total of 100 isolates of P. aeruginosa, 87 samples resistant to imipenem were observed, of which 51 samples were produced by metallo beta lactamases. All metallo beta lactamases had 100% resistance to the antibiotic carbenicillin, meropenem, imipenem, ciprofloxacin, cefotaxime, tobramycin, ceftazidime, amikacin, aztronam. Using the PCR method, it was found that out of 51 samples producing metallo beta lactamases, 12 samples contained blaIMP gene and no positive sample was observed for blaVIM gene.

**Discussion and Conclusion:** The results show that most of the samples are drug-resistant, although the blaIMP gene did not have a significant frequency, but the abundance of metallo beta lactamases indicates that more care should be taken in prescribing antibiotics for treatment to increase antibiotic-resistant strains.

**Keywords:** Metallo beta lactamases, P. aeruginosa, Antibiotic resistance, BlaIMP gene, BlaVIM gene

(*Corresponding Author) Abolfazl Jafari-Sales, Department of Microbiology, School of Basic Sciences, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran. Email: A.jafari_1392@yahoo.com, Tell: +989147611841, Fax: +984142274746

مجله علوم پیراپزشکی و بهداشت نظامی
سال چهاردهم، شماره چهارم، ۱۳۹۸

مقاله تحقیقاتی

# بررسی مولکولی ژنهای blaIMP و blaVIM در سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* تولید کننده متالوبتالاکتاماز جدا شده از نمونه‌های بالینی در بیمارستانها و مراکز درمانی شهر تبریز

ابوالفضل جعفری ثالث[۱*]، حمیرا خانشپور[۲]

[۱] گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران
[۲] گروه میکروبیولوژی، واحد اهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اهر، ایران

## چکیده

**مقدمه:** *سودوموناس آئروژینوزا* یک پاتوژن فرصت طلب بیمارستانی میباشد که برای درمان عفونت‌های ناشی از آن از آنتی بیوتیک‌های مختلفی از جمله بتالاکتام‌ها استفاده می‌شود. با استفاده از این آنتی بیوتیک‌ها، باکتری با مکانیسم‌های مختلف به این آنتی بیوتیک‌ها مقاوم می‌شود. هدف از این مطالعه بررسی فراوانی ژنهای blaIMP و blaVIM در سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* تولید کننده متالوبتالاکتاماز جدا شده از نمونه‌های بالینی در بیمارستانها و مراکز درمانی شهر تبریز می‌باشد.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه مقطعی-توصیفی، ۱۰۰ ایزوله *سودوموناس آئروژینوزا* جدا شده از نمونه‌های بالینی مختلف بیماران مراجعه کننده به بیمارستان‌ها و مراکز درمانی شهر تبریز، جمع‌آوری و پس از تعیین هویت فنوتیپی و تست آنتی بیوگرام، به روش CDDT با استفاده از دیسک ایمی پنم و EDTA /ایمی پنم فنوتیپ متالوبتالاکتامازها در باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* مورد ارزیابی قرار گرفت، سپس DNA باکتریایی استخراج و به روش PCR و با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن‌ها مورد مطالعه و ارزیابی قرار گرفت.

**یافته‌ها:** از مجموع ۱۰۰ ایزوله سودوموناس آئروژینوزا ۸۷ نمونه مقاوم به ایمی پنم مشاهده شد که از این تعداد ۵۱ نمونه تولید کننده متالو بتالاکتاماز بودند. همه سویه‌های متالو بتالاکتاماز مقاومت ۱۰۰ درصدی به آنتی بیوتیک‌های کاربنی سیلین، آزترونام، مروپنم، سیپروفلوکساسین، سفوتاکسیم، ایمی پنم، توبرامایسین، سفتازیدیم، آمیکاسین داشتند. با استفاده از روش PCR مشخص شد که از ۵۱ نمونه تولید کننده متالوبتالاکتاماز، ۱۲ نمونه حاوی ژن blaIMP بوده و هیچ نمونه مثبتی برای ژن blaVIM مشاهده نشد.

**بحث و نتیجه‌گیری:** نتایج نشان می‌دهد که اغلب نمونه‌ها مقاوم به دارو هستند هرچند ژن blaIMP فراوانی چشمگیری نداشت اما فراوانی متالو بتالاکتاماز بیانگر آن است که در تجویز آنتی بیوتیک‌ها برای درمان، دقت بیشتری صورت گیرد تا سویه‌های مقاوم به آنتی بیوتیک‌ها افزایش نیابد.

**کلمات کلیدی:** متالوبتالاکتاماز، *سودوموناس آئروژینوزا*، مقاومت آنتی بیوتیکی، ژن blaIMP، ژن blaVIM

## مقدمه

در بین جنس سودوموناس، *سودوموناس آئروژینوزا* شایع‌ترین عامل عفونت بیمارستانی به ویژه در زخم‌های سوختگی درانسان می‌باشد (۱، ۲). سودوموناس آئرژینوزا باکتری‌های گرم منفی، هوازی و باسیلی می‌باشند. که دارای پیلی و تاژک قطبی هستند که عامل حرکت و اتصال باکتری به سلول میزبان می‌شوند (۳).

(*نویسنده مسئول) ابوالفضل جعفری ثالث، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران
تلفن: ۹۱۴۷۶۱۱۸۴۱، نمابر: ۰۴۱۴۲۲۷۴۷۴۶، آدرس الکترونیکی: A.jafari_1392@yahoo.com

این باکتری هوازی اجباری است و به خوبی روی مجیط‌های معمول باکتری شناسی رشد می‌کند.شناسایی این باکتری بر پایه مورفولوژی گرم منفی، کاتالاز و اکسیداز مثبت، بدون اسپور و تاژک دار است و به دلیل تولید O–آمینواستوفنن از تریپتوفان بوی مطبوع میوه می‌دهد. توانایی رشد در دمای ۵–۴۲ درجه سانتی گراد را دارد، اما بهترین دما ۳۵ تا ۳۷ درجه است (۲). کنترل شیوع *سودوموناس آئروژینوزا* اغلب مشکل است به این دلیل که دارای مقاومت آنتی بیوتیکی می‌باشد و می‌تواند عاملی عمده در بروز مرگ و میر بیمارانی شود که دچار اختلال در سیستم دفاعی هستند (۳). *سودوموناس آئروژینوزا* از جمله باکتری‌هایی است که دارای مقاومت ذاتی نسبت به مواد ضد میکروبی و ضد عفونی کننده‌ی متعدد می‌باشد (۴). محققان طی مطالعاتی که انجام دادن به این نتیجه رسیدند که علت این مقاومت ذاتی می‌تواند غیر قابل نفوذ بودن غشای خارجی این باکتری نسبت به آنتی بیوتیک‌ها باشد، به‌طوری که هیچ آنتی بیوتیکی از طریق انتقال فعال نتوانسته از غشای خارجی این باکتری رد شود (۲). مقاومت اکتسابی در *سودوموناس آئروژینوزا* از طریق مکانیسم‌های متعددی که شامل تولید آنزیم‌های بتالاکتامازها و کرباپنامازها (به دلیل وجود ژن Ampc)، افزایش بیان پمپ‌های ترشحی (pumps efflux) و تغییرات در غشای خارجی (کاهش نفوذ پذیری غشا) می‌باشد (۱، ۳، ۴). آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام گروه گسترده‌ای از آنتی بیوتیک‌ها هستند که در ساختمان مولکولی آنها حلقه بتالاکتام وجود دارد. از آنتی‌بیوتیک‌های به کاربرنده این ترکیب می‌توان به پنی سیلین‌ها، سفالوسپورین‌ها، مونوباکتام‌ها و کارباپنم‌ها اشاره نمود (۵). بتالاکتامازها خانواده‌ای از پروتئین‌ها می‌باشند که توسط بعضی باکتری‌ها تولید شده و باعث تخریب حلقه بتالاکتام موجود در آنتی‌بیوتیکهای گروه می‌شوند (۶، ۷). طرح Ambler بتا لاکتامازها را به چهار طبقه (A to D) اصلی تقسیم می‌کند (۸).

طبقه B شامل متالوبتالاکتامازها هستند که برای فعالیت نیامند فلز روی می‌باشند.این آنزیم‌ها طیف سوبسترائی وسیعی دارند و قادر به هیدرولیز تمام بتالاکتام‌ها به جز منوباکتام (آزترئونام) هستند (۹). متالوبتالاکتامازها توسط مهارکننده‌های بتالاکتامازی مهار نمی‌شوند. بلکه توسط شلاته کننده‌های فلزی از قبیل اتیلن دی آمین ترا استیک اسید (EDTA) و گروه تیول مهار می‌شوند (۱۰). متالوبتالاکتامازها بر اساس ساختمان مولکولی به چند خانواده تقسیم می‌شوند که عبارتند از: خانواده DIM، AIM، SIM، GIM، IMP، SPM، VIM. تا کنون ۱۴ نوع VIM و ۲۳ نوع IMP متفاوت شناسایی شده‌اند (۳). در سودوموناس آئرزینوزا چهار نوع آنزیم متالوبتالاکتامازی IMP، VIM، GIM، SPM شناسایی شده‌اند (۱۰). این آنزیم‌ها داخل اینتگرون کلاس ۱ قرار گرفته و می‌توانند در پلاسمیدها یا کروموزوم ادغام شوند. لذا قابلیت انتقال به سایر سویه‌های سودوموناس دارند (۳). این آنزیم‌ها پیوند آمیدی حلقه بتالاکتام آنتی بیوتیک را شکسته و آنتی‌بیوتیک را برای باکتری بی‌اثر می‌کنند، در نتیجه درمان آنتی‌بیوتیکی را با شکست مواجه می‌کنند (۱۱). هدف از این مطالعه، جداسازی باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* و شناسایی سویه‌های واجد ژن کد کننده متالوبتالاکتاماز blaIMP و blaVIM در نمونه‌های بالینی بیمارستان‌ها و مراکز درمانی شهر تبریز با استفاده از تکنیک واکنش زنجیره‌ای پلیمراز است.

## مواد و روش‌ها

در این مطالعه مقطعی–توصیفی، در طی یک سال از مهر ۱۳۹۷تا مهر ۱۳۹۸ تعداد ۱۰۰ ایزوله سودوموناس آیروزینوزا از نمونه بالینی مختلف از جمله زخم، ترشحات، ادرار، خلط و خون از افراد مراجعه کننده به بیمارستان‌ها و مراکز درمانی شهر تبریز، همراه با اطلاعات بیمار شامل جنس، سن و بستری و سرپایی بودن با روش Random sampling جمع‌آوری و سپس با گرفتن رضایت نامه از هر یک از بیماران وپرکردن فرم مشخصات فردی و بالینی آنها نمونه‌گیری انجام شد و براساس کمیته‌ی تعهد اخلاقی نسبت به مخفی بودن نام و مشخصات هر یک از افراد مورد آزمایش نمونه‌ها به آزمایشگاه تخصصی میکروبیولوژی منتقل و اقدام به تایید تعیین هویت باکتری‌های عامل عفونت نمودیم. جهت تعیین هویت فنوتیپی با استفاده از رنگ‌آمیزی گرم، تعیین شکل میکروسکوپی میکروارگانیسم، تستهای کاتالاز و اکسیداز و سایرتستهای بیوشیمیایی شامل تست سیمون سیترات، تولید $H_2S$، تولید ایندول و تحرک، احیای نیترات، اوره آز، تریپل شوگرآیرون آگار، دکربوکسیلاسیون اورنیتین ولیزین، DNAse وتست اکسیداتیوفرمنتاتیوانجام گرفت سپس جهت ذخیره سازی کلیه نمونه‌ها از محیط انتقالی تریپتیک سوی براث TSB (Trypticsoybroth)

استفاده شد. جهت بررسی مقاومت دارویی ایزوله‌های تولید کننده متالوبتالاکتاماز با روش استاندارد Kirby Baur و از طریق استاندارد CLSI و تهیه‌ی غلظت نیم مک فارلند از باکتری و کشت بر روی محیط مولر هینتون آگار، مقاومت سویه‌های جداسازی شده نسبت به آنتی بیوتیک‌های آزترونام، سفتریاکسون، آمیکاسین، سفپیم، جنتامایسین، سیپروفلوکساسین، ایمی پنم، پیپراسیلین تازوباکتام، کاربنی سیلین، مروپنم، سفوتاکسیم، توبرامایسین و سفتازیدیم تهیه شده از شرکت پادتن طب درسطح پلیت با رعایت استاندارد، تست آنتی بیوگرام انجام گردید. از سویه سودوموناس آیروزینوزا ATCC ۲۷۸۵۳ به عنوان کنترل استفاده شد. جهت جداسازی سویه‌های تولید کننده متالوبتالاکتاماز، از روش CDDT با استفاده از دیسک ایمی پنم و EDTA /ایمی پنم استفاده شد. برای انجام این آزمایش ابتدا محلول EDTA نیم مولار با حل کردن ۱,۱۸۶ گرم پودر EDTA در ۱۰۰۰میلی لیتر آب مقطرتهیه و PH آن را با استفاده از NaOH روی ۸ تنظیم وتوسط اتوکلاو استریل شد. سپس حجمی از محلول که حاوی۷۵۰ میکروگرم EDTA بود به دیسک‌های ایمی پنم اضافه ودر انکوباتور خشک و در مرحله بعد سویه‌های مقاوم به ایمی پنم بر روی پلیت حاوی مولر هینتون تلقیح گردید.درادامه یک عدد دیسک ایمی پنم ۱۰ میکروگرمی که حاوی۷۵۰ میکروگرم EDTA بود با فاصله مناسب درسطح پلیت قرار گرفت وبه مدت ۲۴ساعت در ۳۵ درجه انکوبه شد. افزایش قطر هاله عدم رشد به میزان بیشتر یا مساوی ۷ میلی متردر اطراف دیسک ایمی پنم حاوی EDTA نسبت به دیسک ایمی پنم به تنهایی نشان دهنده تولید آنزیم متالوبتالاکتاماز توسط باکتری مورد نظر می‌باشد. در این بررسی استخراج DNA باکتری با استفاده از کیت استخراج (Invitek Stratec Business ساخت کشور کانادا) انجام شد. سپس روی DNA استخراج شده آزمایش PCR برای ژن‌های blaIMP و blaVIM انجام شد. در این تحقیق از دو جفت پرایمر آغازگر برای ژنهای blaIMP و blaVIM استفاده شد (جدول۱) که هر کدام به صورت جداگانه در یک واکنش PCR به کار برده شدند.

واکنش PCR با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۲/۵ پیکومول از هر پرایمر، ۰/۷۵ میلی مول dNTP، ۳ میکرولیتر DNA الگو، ۱/۵ میلی مول $MgCl_2$، ۲/۵ میکرولیتر بافر، ۱۸/۱ میکرولیتر آب مقطر و ۰/۲ واحد آنزیم Taq Polymerase انجام گردید (کلیه مواد مصرفی

**جدول ۱- آغازگرهای استفاده شده در این مطالعه**

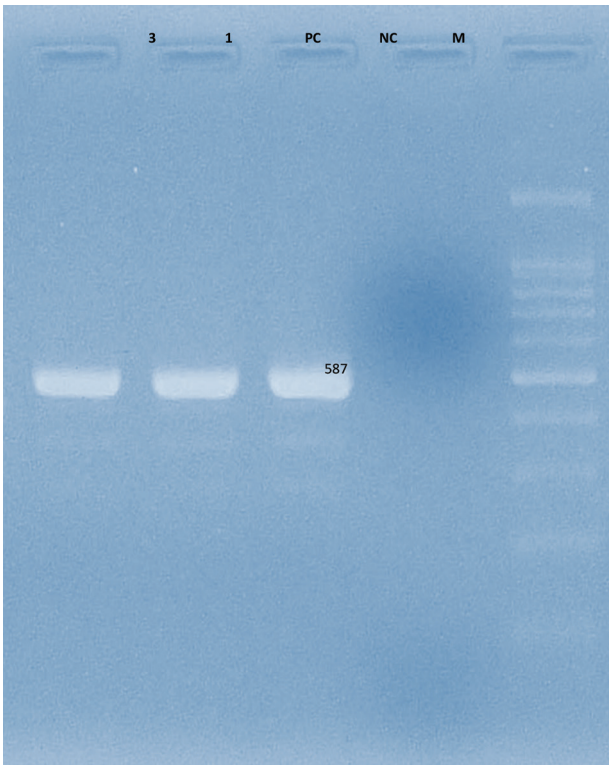
| منبع | توالی پرایمر'۳ - '۵ | طول ژن (bp) | نام ژن |
|---|---|---|---|
| (۱۲) | F- GAAGGCGTTTATGTTCAT AC<br>R- GTATGTTTCAAGAGTGAT GC | ۵۸۷ | IMP |
| (۱۲) | F- GTTTGGTCGCATATCGCA AC<br>R- AATGCGCAGCACCAGGAT AG | ۳۸۲ | VIM |

ساخت شرکت سیناژن ایران بود). برنامه دستگاه ترمال سایکلر حاوی ۵ دقیقه واسرشت شدن ابتدایی در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد و ۳۰ سیکل با شرایط دمایی ۳۰ثانیه واسرشت شدن در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد، اتصال در دمای ۵۶ درجه سانتی گراد برای VIM و ۴۵ درجه سانتی گراد برای IMP به مدت ۴۵ ثانیه، طویل شدن در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۵۰ ثانیه و در نهایت طویل شدن نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۶ دقیقه انجام شد. سپس محصول PCR در روی ژل آگارز ۱ درصد با الکتروفورز ارزیابی و ژل حاوی محصولات PCR را پس از اتمام مدت زمان الکتروفورز به مدت ۱۵ الی ۲۰ دقیقه در تانک حاوی اتیدیوم بروماید قرار داده و سپس زیر نور U.V باندها مشاهده و در نهایت عکس برداری و پرینت شد. از سویه سودوموناس آیروژینوزای تولید کننده متالوبتالاکتاماز دارای ژن VIM و IMP به عنوان کنترل مثبت (اهدایی دانشگاه علوم پزشکی تبریز) استفاده شد. به منظور تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از نسخه بیستم نرم‌افزار SPSS و آزمون مجذور کای استفاده شد. مرز معنی‌داری روی P<۰/۰۵ قرار داده شد.

## یافته‌ها

از مجموع ۱۰۰ ایزوله *سودوموناس آئروژینوزا*، ۴۲ نمونه از زخم، ۲۱ نمونه از ترشحات، ۱۹ نمونه از ادرار، ۱۱ نمونه از خلط، ۷ نمونه از خون جداسازی شدند. ۶۲ ایزوله از بخش بستری و ۳۸ ایزوله از بخش سرپایی جداسازی شدند.۵۱ درصد از نمونه مربوط به مردان و ۴۹ درصد مربوط به زنان می‌باشد. میانگین سنی بیماران۲۸±۴۴/۷ از حداقل یک سال تا حداکثر ۶۸ سال متغییر بود. اختلاف آماری معنی‌دار از نظر توزیع ایزوله سودوموناس آئروژنوزا

بین گروه‌های سنی مشاهده نشد (P>۰/۰۵).اختلاف آماری معنی‌دار از نظر توزیع سودوموناس آئروژنوزا بین دو گروه مرد و زن مشاهده نشد (P>۰/۰۵). نتایج مقاومت آنتی بیوتیکی نمونه‌ها با روش دیسک دیفیوژن نشان داد که ۸۷ سویه به ایمی پنم، ۸۲ سویه به پیپراسیلین تازوباکتام، ۸۲ سویه به آمیکاسین، ۷۵ سویه به سفتریاکسون، ۷۳ سویه به سفپیم، ۷۲ سویه به سفتازیدیم، ۶۷ سویه به مروپنم، ۶۵ سویه به سیپروفلوکساسین، ۶۲ سویه سفوتاکسیم، ۵۸ سویه به آزترونام، ۵۰ سویه به جنتامایسین، ۴۹ سویه به کاربنی سیلین و ۴۱ سویه به توبرامایسین مقاوم هستند. از ۱۰۰ ایزوله سودوموناس آئروژینوزا ۸۷ نمونه مقاوم به ایمی پنم مشاهده شد که از این تعداد ۵۱ نمونه تولید کننده متالوبتالاکتاماز بودند. همه سویه‌های متالوبتالاکتاماز مقاومت ۱۰۰ درصدی به آنتی بیوتیک‌های کاربنی سیلین، مروپنم، ایمی پنم، سیپروفلوکساسین، سفوتاکسیم، توبرامایسین، سفتازیدیم، آمیکاسین، آزترونام و مقاومت ۳۳/۳ درصدی به جنتامایسین داشتند. با استفاده از روش PCR مشخص شد که از ۵۱ نمونه تولید کننده متالوبتالاکتاماز، ۱۲ نمونه حاوی ژن blaIMP بوده ولی هیچ نمونه مثبتی برای ژن blaVIM مشاهده نشد (شکل ۱).




**شکل ۱- الکتروفورز محصولات PCR برای ژن blaIMP، M: DNA Ladder، NC: کنترل منفی، PC: کنترل مثبت، ۱-۲: نمونه‌های دارای ژن blaIMP**

## بحث

مبارزه با سودوموناس آئرژینوزا به دلیل مقاومت ذاتی آن نسبت به عوامل ضد میکروبی متعدد مشکل است. این مقاومت از طریق مکانیسم‌های متعددی صورت می‌گیرد (۳). باکتری‌ها با تولید آنزیم‌های بتالاکتامازی نسبت به آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام مقاوم می‌شوند (۵). از جمله آنزیم‌های بتالاکتامازی، متالوبتالاکتامازها هستند که باعث مقاومت به اکثر آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام به جز منوباکتام‌ها می‌شود. انتقال و انتشار سریع باکتری‌هایی که قادر به تولید این آنزیم‌ها هستند، باعث بالا رفتن میزان عفونت‌های بیمارستانی مربوط در سراسر دنیا شده‌است که سودوموناس آئرزینوزا از جمله این باکتری‌ها است (۱۳). *سودوموناس آئروژینوزا* در عفونت‌های بیمارستانی بعد از *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیاکلی* به عنوان سومین عامل به شمار می‌رود (۲، ۱۴). در مطالعه حاضر تعداد ۱۰۰ سویه *سودوموناس آئروژینوزا* جدا شده از زخم، ترشحات، ادرار، خلط و خون بیماران، ۸۷ نمونه مقاوم به ایمی پنم مشاهده شد که از این تعداد ۵۱ نمونه تولید کننده متالوبتالاکتاماز بودند. همه سویه‌های متالو بتالاکتاماز مقاومت ۱۰۰ درصدی به آنتی بیوتیک‌های کاربنی سیلین، مروپنم، ایمی پنم، سیپروفلوکساسین، سفوتاکسیم، توبرامایسین، سفتازیدیم، آمیکاسین، آزترونام داشتند. کم‌ترین مقاومت نسبت به جنتامایسین با مقاومت ۳۳/۳ درصدی بود. از ۵۱ نمونه تولید کننده متالوبتالاکتاماز، ۱۲ نمونه حاوی ژن blaIMP بوده ولی هیچ نمونه مثبتی برای ژن blaVIM مشاهده نشد. در مطالعه‌ای که فاضلی و همکارانش در سال ۲۰۱۰ در شهر اصفهان انجام دادند ۹۴٪ از ایزوله‌های *سودوموناس آئروژینوزا* به آنتی بیوتیک‌های ایمی پنم، پیپراسیلین و سیپروفلوکساسین مقاوم بودند و تمامی سویه‌ها نیز به آنتی بیوتیک‌های سفتازیدیم و تیکارسیلین مقاومت ۱۰۰٪ نشان دادند (۱۵). طی مطالعه‌ای که رنجبر و همکاران در سال ۲۰۱۱ بر روی سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* جدا شده از بیماران مرکز سوختگی تهران انجام دادند به این نتیجه رسیدند که همه سویه‌ها به چند دارو مقاوم بودند. درصد مقاومت به آنتی بیوتیک‌های آزمایش شده بصورت ایمی پنم ۹۷/۵٪، آمیکاسین ۹۰٪، پیپراسیلین ۸۷/۵٪، سفتیزوکسیم ۷۲/۷٪، جنتامایسین ۶۸/۵٪، سیپروفلوکساسین ۶۵٪، سفریاکسون ۶۰٪ و سفتازیدیم ۵۷/۵٪ می‌باشد (۱۶). نتایج پژوهش‌ها نشان داده که بین مصرف داروهای

ضد سودوموناسی (آمیکاسین، سیپروفلوکساسین، سفتازیدیم و ایمیپنم و...) وگسترش سویه‌های مقاوم *سودوموناس آئروژینوزا* رابطه معناداری وجود داشته است (۱۷). صالحی و همکارانش در سال ۱۳۹۲ میزان مقاومت *سودوموناس آئروژینوزا* را به نالیدیسکیک اسید و سفتازیدیم به ترتیب ۸۶/۵۴٪ و ۷۹/۸۱٪ گزارش دادند (۱۸). میهنی و همکارانش بیشترین مقاومت را به سفتازیدیم ۷۱٪ گزارش دادند (۱۹). صدرالدین امین و همکارانش در سال ۲۰۱۶، ۱۰۰ ایزوله *سودوموناس آئروژینوزا*، ۹۵ سویه مقاوم به ایمی پنم و مروپنم شناسایی کردند که در این میان، ۸۱ سویه تولیدکننده متالوبتالاکتاماز بودند. ۱۳ سویه *سودوموناس آئروژینوزا* دارای ژن blaIMP بودند ولی هیچ‌یک از ایزوله‌ها ژن blaVIM را نداشتند (۲۰). فلاح و همکارانش در سال ۲۰۱۳، نشان دادند که از ۱۰۰ سویه *سودوموناس آئروژینوزا* جداشده، ۸۳ایزوله 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 و همگی فاقد ژن blaVIM بودند (۲۱). که با یافته‌های مطالعه حاضر مطابقت دارد. ماسپی و همکارانش با بررسی فراوانی ژن های متالوبتالاکتاماز blaIMP و blaVIM در سویه‌های ادراری سودوموناس آئروژینوزا جدا شده در ایلام نشان دادند که ۱۷ سویه به روش دیسک دیفیوژن به سفتازیدیم مقاوم بودند که با روش ترکیبی تمامی این سویه ها به عنوان تولیدکننده MBL تشخیص داده شدند. از این تعداد ۶ سویه با روش PCR، حاوی ژن blaVIM بود و هیچ کدام از سویه ها دارای ژن blaIMP نبودند. تمامی سویه ها دارای ژن VIM به آنتی بیوتیک های مورد مطالعه جز پیپراسیلین تازوباکتام مقاوم بودند (۲۲). این نتایج با یافته‌های مطالعه حاضر مغایرت داشت. Pitout و همکارانش طی مطالعه‌ای در سال‌های ۲۰۰۲ تا ۲۰۰۶ نشان دادند که ۳۹ ٪ از ایزوله‌های *سودوموناس آئروژینوزای* مولد متالوبتالاکتاماز بودند و از این تعداد ۵۶٪ ژن VIM و ۴٪ ژن IMP مشاهده شد (۲۳). رضایی یزدی و همکاران طی مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۷ تحت عنوان به این نتیجه رسیدند که تعداد ژن VIM نسبت به سایر ژنها غالب است که نتایج مغایر با مطالعه‌ی حاضر می‌باشد (۲۴). شاه چراغی و همکارانش در سال ۲۰۰۷ نشاندادند که که مشکل باکتری‌های مقاوم به آنتی بیوتیک‌های جدید از جمله سفازیدیم و کرباپنم در کشور یک مشکل جدی و عمده در بیماران مبتلا به عفونت‌های ناشی از *سودوموناس آئروژینوزا* می‌باشد و بایستی در مصرف این آنتی بیوتیک‌ها دقت کافی صورت پذیرد همچنین میزان شیوع ژن blaVIM را ۳ ٪گزارش کردند (۲۵). Luzzaro و همکارانش در سال ۲۰۰۴ (۲۶) و خسروی و همکارانش در سال ۲۰۰۷ میزان حضور ژن متالوبتالاکتامازی blaVIM در نمونه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* را به ترتیب ۷ ٪ و ۸ ٪گزارش کردند (۲۷). طی مطالعه‌ای که فرج زاده و همکاران در سال ۲۰۱۳ تا ۲۰۱۴ تحت عنوان « شناسایی ژن‌های blaNDM، blaDIM، blaIMP، blaVIM و blaCTX-M-۱۵ در بین ژنهای *سودوموناس آئروژینوزا* و اسینتوباکتر بومانی از دو بیمارستان تهران، ایران » انجام دادند به این نتیجه رسیدند که ۴ مورد (۱۶/۶ درصد) از ایزوله‌های *سودوموناس آئروژینوزا* برای تولید MBLها مثبت بودند.در میان ۲۴ ایزوله *سودوموناس آئروژینوزا* شیوع ژن blaCTX-M-۱۵ ۱۱ (۴۵/۸۳٪) و برای IMP-۱، ۳ (۱۲/۵٪) بود. ژن blaNDM، blaVIM، blaDIM در جدایه‌ها مشاهده نشد (۲۸). اختلافات نتایج با یافته‌های حاضر را می‌توان در حجم نمونه و نحوه نمونه‌گیری و فصول سال توجیه نمود. *سودوموناس آئروژینوزا* به سبب ماهیت ژنتیکی، پذیرنده انواع ژنها از طریق پلاسمید و ترانسپوزونها است، شاید به همین دلیل این باکتری می‌تواند به سرعت نسبت به انواع آنتی بیوتیک‌ها مقاوم شود (۲۹).

## نتیجه‌گیری

با بررسی حساسیت باکتری نسبت به آنتی بیوتیک‌های مختلف می‌توان متوجه شد که به سختی می‌توان آنتی بیوتیکی را بدون دغدغه مقاومت پیدا کرد. اگرچه بعضی از آنتی بیوتیک‌ها هنوز تاثیر نسبتاً خوبی بر *سودوموناس آئروژینوزا* دارند؛ ولی برخی دیگر عملاً بی‌تاثیر هستند یا تاثیر خیلی کم دارند. تولید متالوبتالاکتاماز یکی از مکانیسم‌های مهم در مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک‌های کارباپنم است.و با توجه به افزایش روز افزون سویه‌های مولد متالوبالاکتاماز نگرانی‌های شکست درمانی برای این سویه‌ها افزایش یافته است. هرچند قسمتی از مقاومت دارویی باکتری‌ها مربوط به تغییرات ژنتیکی خود باکتری‌ها در طول زمان است ولی استفاده‌ی گسترده و بی‌رویه از آنتی بیوتیک‌ها باعث ایجاد این مقاومت دارویی شده است.بنابراین جهت جلوگیری از گسترش این گونه‌ها باید از مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها خودداری نمود. پس با توجه به این

که فراوانی سویه‌های بیمارستانی تولیدکننده متالوبتالاکتاماز رو به افزایش است علاوه بر دقت در تجویز آنتی بیوتیک و جلوگیری از مصرف بی‌رویه‌ی آن، شناسایی و بررسی سویه‌های مقاوم به آنتی بیوتیک‌ها و سویه‌های مولد متالوبتالاکتاماز در میان ایزوله‌های *سودوموناس آئروژینوزا* ضرورت دارد.

## References

1- Tafti A, Zandi H, Vakli M, Mousavi SM, Zarei M. Frequency of β-lactamase and metallo-β-lactamase in Pseudomonas aeruginosa strains isolated from burn wounds in Yazd burn hospital during 2011-2012. KAUMS Journal (FEYZ). 2014 Apr 10;18(2):167-74.

2- Taghinejad J, Hosseinzadeh M, Molayi Kohneshahri S, Javan Jasor V. Pseudomonas aeruginosa: A biological review. Laboratory & Diagnosis. 2017;8(34):67-82.

3- Rahimzadeh Torabi L, Doudi M, Golshani Z. The frequency of blaIMP and blaVIM carbapenemase genes in clinical Isolates of pseudomonas aeruginosa in Isfahan medical centers. medical journal of mashhad university of medical sciences. 2016;59(3):139-47.

4- Tavajjohi Z, Moniri R, Khoeshidi A. Frequency of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) multidrug-resistance produced by Pseudomonas aeruginosa isolated from clinical and environmental specimens in Kashan Shahid Beheshti hospital during 2010-11. Feyz Journal of Kashan University of Medical Sciences. 2011;15(2):139-45.

5- Drawz SM, Bonomo RA. Three decades of beta-lactamase inhibitors. Clinical microbiology reviews. 2010;23(1):160-201.

6- Fallah F, Noori M, Hashemi A, Goudarzi H, Karimi A, Erfanimanesh S, Alimehr S. Prevalence of blaNDM, blaPER, blaVEB, blaIMP, and blaVIM genes among Acinetobacter baumannii isolated from two hospitals of Tehran, Iran. Scientifica. 2014 Jan 1;2014.

7- Hashemi A, Fallah F, Taherpour A, Goudarzi H, Tarashi S, Erfanimanesh S, et al. Detection of Metallo-beta-Lactamases, Extended-spectrum Beta-lactamases (ESBLs), Outer Membrane Porins among Klebsiella Pneumoniae Strains Isolated from Hospitalized Patients in Tehran %J Journal of Advances in Medical and Biomedical Research. 2015;23(98):89-102.

8- Ambler RP, Coulson AF, Frère JM, Ghuysen JM, Joris B, Forsman M, Levesque RC, Tiraby G, Waley SG. A standard numbering scheme for the class A β-lactamases. Biochemical Journal. 1991 May 15;276(1):269-70.

9- Rasmussen BA, Bush K. Carbapenem-hydrolyzing beta-lactamases. Antimicrobial agents and chemotherapy. 1997;41(2):223-32.

10- Maspi M, Ghanbari F, Darboie M, Sadeghifard N. Prevalence of metallo-β-lactamase blaIMP and blaVIM genes in urinary isolates of Pseudomonas aeruginosa in Ilam. journal of ilam university of medical sciences. 2015;23(2):141-8.

11- Galliard T, Phillips DR, Matthew JA. Enzymic reactions of fatty acid hydroperoxides in extracts of potato tuber II. Conversion of 9- and 13-hydroperoxy-octadecadienoic acids to monohydroxydienoic acid, epoxyhydroxy- and trihydroxymonoenoic acid derivatives. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Lipids and Lipid Metabolism. 1975;409(2):157-71.

12- Mihani F, Khosravi A. Isolation Of Pseudomonas Aeruginosa Strains Producing Metallo Beta Lactamases From Infections In Burned Patients And Identification Of Bla<Sub>Imp</Sub> And Bla<Sub>Vim</Sub> Genes By PCR. Iranian Journal Of Medical Microbiology. 2007;1(1):23-31.

13- Buchunde S, Mendiratta DK, Deotale V, Narang P. Comparison of disc and MIC reduction methods with polymerase chain reaction for the detection of metallo-beta-lactamase in Pseudomonas aeruginosa. Indian journal of medical microbiology. 2012;30(2):170-4.

14- Rajabpour M, Arabestani mR, Yousefi mashof R, Alikhani MY. MIC determination of Pseudomonas aeruginosa strains were isolated from clinical specimens of patients admitted to educational hospitals in Hamedan (90-91). Iranian Journal of Medical Microbiology. 2013;7(3):18-25.

15- Fazeli H, Moslehi Z, Irajian G, Salehi M. Determination of Drug resistance patterns and detection of bla-VIM gene in Pseudomonas aeruginosastrains Isolated from burned patients in the Emam Mosa Kazem hospital, Esfahan, Iran (2008-9). Iranian Journal of Medical Microbiology. 2010;3(4):1-8.

16- Ranjbar R, Owlia P, Saderi H, Mansouri S, Jonaidi Jafari N, Izadi M, et al. Characterization of Pseudomonas Aeruginosa Strains Isolated from Burned Patients Hospitalized in A Major Burn Center in Tehran, Iran. Acta medica Iranica. 2011;49(10):675-9.

17- Neves MTd, Lorenzo MEPd, Almeida RAMB, Fortaleza CMCB. Antimicrobial use and incidence of multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa in a teaching hospital: an ecological approach. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 2010;43(6):629-32.

18- Salehi M, Hekmatdoost M, Hosseini F. Quinolone resistance associated with efllux pumps mexAB-oprM in clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa. Journal of Microbial World. 2014;6(4):290-8.

19- Mihani F, Khosravi A. MBL-producing Pseudomonas

aeruginosa strains isolated from patients with burn wound infections and PCR methods to identify blaVIM, blaIMP genes. Iran J Microbiol. 2007;1(1):23-31.

20- Sadredinamin M, Hashemi A, Goudarzi H, Tarashi S, Yousefi Nojookambari N, Taki E. Detection of blaIMP, blaVIM and OprD genes among Pseudomonas aeruginosa isolated from burn patients. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences. 2016;26(138):181-6.

21- Fallah F, Shams Borhan R, Gholinejad Z, Zahirnia Z, Adabiyan S, Sattarzadeh Tabrizi M, et al. 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 University of Medical Sciences Journal. 2013;7(5):21-7.

22- Maspi M, Ghanbari F, Darboie M, Sadeghifard N. Prevalence of metallo-β-lactamase blaIMP and blaVIM genes in urinary isolates of Pseudomonas aeruginosa in Ilam. scientific journal of ilam university of medical sciences. 2015;23(2):141-8.

23- Pitout JD, Chow BL, Gregson DB, Laupland KB, Elsayed S, Church DL. Molecular epidemiology of metallo-beta-lactamase-producing Pseudomonas aeruginosa in the Calgary Health Region: emergence of VIM-2-producing isolates. Journal of clinical microbiology. 2007;45(2):294-8.

24- Rezaei Yazdi H, Nejad G, Peerayeh S, Mostafaei M. Prevalence and detection of metallo-β-lactamase (MBL)-producingPseudomonas aeruginosa strains from clinical isolates in Iran. Annals of Microbiology. 2007;57(2):293-5.

25- Shah Cheraghi F, Nikbin VAS. Investigation Of Metalo -Beta-Lactamase And Determination Of Antibiotic Resistance To Ceftazidime And Imipenem To P.Aeruginosa Isolated From Clinical Specimens In Emam Khomeine And Markaze Tebi-Kodakan Hospitals In 1384. Iranian Journal Of Infectious Diseases And Tropical Medicine. 2007;12(36):19-22.

26- Luzzaro F, Endimiani A, Docquier J-D, Mugnaioli C, Bonsignori M, Amicosante G, et al. Prevalence and characterization of metallo-beta-lactamases in clinical isolates of pseudomonas aeruginosa. Diagn Microbiol Infect Dis. 2004;48(2):131-5.

27- 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.

28- Alan TF, Goudarzi H, Fallah F, Hashemi A, Doustdar F, Bostan H. Detection of blaNDM, blaDIM, blaIMP, blaVIM and blaCTX-M-15 beta-lactamase Genes among Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii Strains Isolated from Two Hospitals of Tehran, Iran. Novelty in Biomedicine. 2016;4(4):153-8.

29- 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.