مجله علوم پزشکی زانکو/ دانشگاه علوم پزشکی کردستان/ بهار ۱۳۹۳/ ۵۳-۴۸

شناسایی سویه‌های سودوموناس آئروژینوزای تولید کننده متالوبتالاکتاماز از بیماران بستری در بیمارستان شهدای عشایر خرم آباد

فاطمه صالح[۱]، حسین عزیزی[۱]، سهیلا سلیمان نژاد[۲]، مریم عزیزی[۳]، پگاه شکیب[۴]

۱- کارشناس ارشد میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران

۲- کارشناس آزمایشگاه بیمارستان شهدای عشایر، خرم آباد، ایران

۳- دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد یزد

۴- دانشجوی دکترای میکروب شناسی مرکز تحقیقات سلولی- مولکولی و عضو کمیته تحقیقات دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی کردستان

ایمیل : shakib.pegah@yahoo.com - شماره موبایل ۰۹۱۶۶۶۱۳۸۰۶

چکیده

زمینه و هدف: سودوموناس آئروژینوزا یکی از پاتوژن‌های فرصت‌طلب بیمارستانی است. این باکتری در عفونت‌های سوختگی، تنفسی، افراد مبتلا به بیماری وراثتی فیبروز سیستیک، باکتریمی، سپتی سمی و عفونت‌های دیگر دخیل می-باشد. سودوموناس آئروژینوزا با تولید متالوبتالاکتامازها، که می‌توانند اکثر آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام را هیدرولیز کنند، به عوامل ضدمیکروبی مختلف مقاومت نشان می‌دهند. بنابراین با توجه به گزارش‌های فراوان از وجود این مقاومت در سودوموناس آئروژینوزا، هدف از این تحقیق شناسایی سویه‌های سودوموناس آئروژینوزای مقاوم به متالوبتالاکتاماز بود.

روش بررسی: تعداد ۴۷ نمونه سودوموناس آئروژینوزا، از بیماران بستری در بیمارستان شهدای عشایر خرم‌آباد جداسازی و سپس بوسیله تست‌های روتین شناسایی شدند. تست حساسیت آنتی‌بیوتیک، بوسیله روش دیسک-دیفیوژن (Disk diffusion)، انجام گرفت. همه ایزوله‌ها، برای شناسایی تولید متالوبتالاکتاماز، بوسیله روش (double-disk synergy test)DDST غربالگری شدند.

یافته‌ها: در این بررسی ۵۱/۷، ۶/۸، ۵۸/۶، ۶۵/۵، ۵۱/۰۶ و ۵۱/۷ درصد از سویه‌ها بترتیب در تست حساسیت آنتی-بیوتیکی مقاوم به سفتازیدیم، سفوتاکسیم، جنتامایسین، سیپروفلوکساسین، ایمی پنم و مروپنم بودند. از ۴۷ سودوموناس آئروژینوزا ۲۴ سویه (۵۱/۰۶٪)، مقاوم به ایمی پنم مشاهده شد، که از این میان ۱۹ سویه، به روش DDS test متالوبتالاکتاماز مثبت بودند.

بحث و نتیجه‌گیری: شیوع بالای سویه‌های تولید کننده متالوبتالاکتاماز نشان می‌دهد که انجام تست شناسایی تولید متالوبتالاکتاماز در کنار تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی در مراکز بهداشتی درمانی امری ضروری است.

واژه‌های کلیدی: سودوموناس آئروژینوزا، متالوبتالاکتاماز، بیماران بستری

[Downloaded from zanko.muk.ac.ir on 2026-06-15]

مقدمه

سودوموناس آئروژینوزا، باسیل گرم منفی از خانواده سودوموناسه است. سودوموناس آئروژینوزا یک پاتوژن فرصت طلب بوده که بعنوان یکی از مهمترین عوامل عفونت‌های سوختگی و بیمارستانی شناخته می‌شود [۱]. امروزه شیوع سودوموناس آئروژینوزا با مقاومت دارویی چندگانه (MDR, Multi Drug Resistant) رو به افزایش است که در درمان عفونت، بدلیل افزایش مدت بستری شدن، هزینه‌های درمانی و مرگ و میر باعث نگرانی شده است [۲].

از جمله آنتی بیوتیک‌هایی که جهت درمان سودوموناس آئروژینوزا بکار می‌رود، کارباپنم‌ها مانند مروپنم و ایمی پنم می‌باشند. اما وجود آنزیم متالوبتالاکتاماز، که قادر به هیدرولیز آنتی‌بیوتیک‌های کارباپنم است، باعث بروز مقاومت به این دسته از آنتی بیوتیک‌ها شده است [۳].

سودوموناس آئروژینوزا با مکانیسم‌های متنوعی به انواع آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم می‌شوند. یکی از این مکانیسم‌های مقاومت به آنتی بیوتیک‌ها، کسب پلاسمید حاوی آنزیم‌های بتالاکتاماز است که باعث مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک‌های سفالوسپورین و پنی‌سیلین می‌شود. آمبلر (Ambler)، این آنزیم‌ها را براساس تشابه، توالی و مکانیسم‌های کاتالیتیک به چهار گروه اصلی تقسیم بندی کرد، شامل: کلاس‌های A و B و C و D [۴].

از جمله بتالاکتامازهای کلاس A می‌توان آنزیمهای TEM و SHV را نام برد. بیش از ۱۵۰ TEM و SHV گزارش شده که بیشتر در اشریشیاکلی و کلبسیلا دیده می‌شوند و منبع اصلی مقاومت در باکتری‌های گرم منفی است. بتالاکتاماز کلاس B، شامل متالوبتالاکتامازها می‌باشند که می‌توانند پنی-سیلین‌ها، سفالوسپورین‌ها و کارباپنم‌ها را هیدرولیز کنند. بتالاکتامازهای کلاس C، تحت عنوان سفالوسپورینازها معرفی می شوند، آن‌ها نسبت به آنتی بیوتیک‌های دارای حلقه بتالاکتام متنوع از قبیل: آمپی سیلین‌ها، سفامایسین‌ها و سفالوسپورین-های نسل سوم مقاومند. و بتالاکتامازهای کلاس D، شامل OXA می‌باشند. نام OXA از توانایی این آنزیم‌ها برای کارایی هیدرولیز اگزاسیلین گرفته شده است، بعلاوه انواع OXA قادر به هیدرولیز آموکسی سیلین هستند[۴،۵].

هدف از این تحقیق، تعیین فراوانی سویه‌های تولید کننده متالوبتالاکتاماز در بیماران بستری در بیمارستان شهدای عشایر خرم آباد می‌باشد.

روش بررسی

جداسازی و تشخیص باکتری

در این مطالعه، در یک دوره ۶ ماهه در سال ۱۳۹۲، تعداد ۴۷ سویه سودوموناس آئروژینوزا در بیمارستان شهدای عشایر خرم آباد جمع‌آوری شد. سویه‌های جمع‌آوری شده با تست‌های تأییدی بیوشیمیایی ازجمله آزمون‌های اکسیداز، آرژنین دهیدرولاز، بررسی حرکت، اکسیداسیون گلوکز در محیط OF، رشد در دمای ۴۲ درجه و تولید رنگدانه، ۴۷ نمونه سودوموناس آئروژینوزا تأیید شد.

تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی باکتری‌ها

حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌های سفتازیدیم (۳۰-میکروگرم)، سفوتاکسیم (۳۰میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، ایمی پنم (۶ میکروگرم) و مروپنم (۱۰

[Downloaded from zanko.muk.ac.ir on 2026-06-15]

میکروگرم) (تهیه شده از شرکت HIMEDIA)، با روش دیسک دیفیوژن کربی- بوئر و بر اساس دستورالعمل (CLS, Clinical and Laboratory Standards Institute) انجام گرفت [۶].

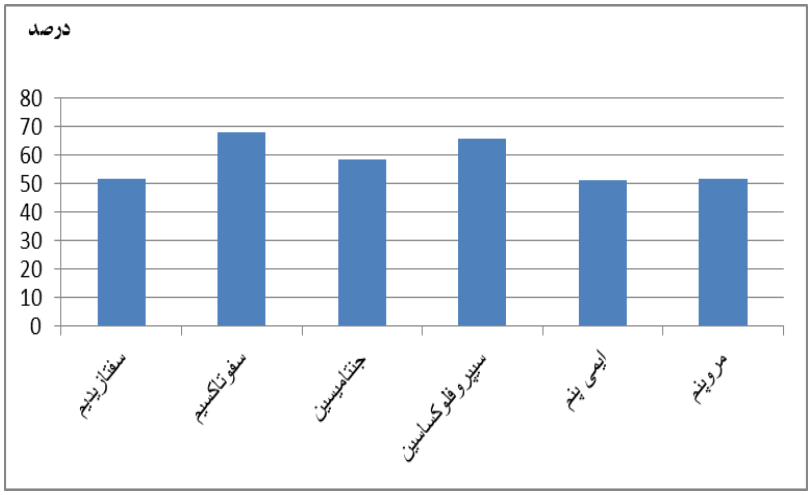
تعیین فنوتیپ متالوبتالاکتاماز با روش (DDST, Double-Disk Synergy Test)

در این روش، از دیسک ایمی پنم به‌تنهایی و دیسک ایمی پنم همراه با ۱۰ میکرولیتر محلول ۰/۵ مولار EDTA، استفاده شد. بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد اگر اختلاف قطر هاله عدم رشد در اطراف دیسک ایمی پنم همراه با EDTA از قطر هاله عدم رشد دیسک ایمی پنم بتنهایی ۷≤ باشد آنزیم متالوبتالاکتاماز وجود دارد [۷].

یافته‌ها

در این بررسی، ۵۱/۷، ۶،۶/۸ /۵۸، ۶۵/۵، ۵۱/۰۶ و ۵۱/۷٪ از سویه‌ها بترتیب در تست حساسیت آنتی بیوتیکی، مقاوم به سفتازیدیم، سفوتاکسیم، جنتامایسین، سیپروفلوکساسین، ایمی پنم و مروپنم بودند.

در تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی، به‌روش دیسک دیفیوژن، ۲۴ عدد (۵۱/۰۶٪) از سویه‌ها به ایمی پنم مقاوم بودند، که از این تعداد، ۱۹ سویه در آزمون DDST، تولید کننده آنزیم متالوبتالاکتاماز بودند.



نمودار ۱: فراوانی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا

بحث

کاربا پنم‌ها از جمله ایمی پنم و مروپنم، از آنتی-بیوتیک‌های اصلی برای درمان عفونت‌های سودوموناس آئروژینوزا محسوب می‌شوند. اما با وجود آنزیم متالوبتالاکتاماز در این سویه‌ها، درمان عفونت ناشی از آن با شکست مواجه می‌شود. بر اساس نتایج این مطالعه و مطالعات گذشته، میزان شیوع آنزیم متالوبتالاکتاماز در سودوموناس آئروژینوزا افزایش یافته است [۸]. طوری که در مطالعه حاضر، از ۲۴ سویه مقاوم به ایمی پنم، ۱۹ سویه تولید کننده متالوبتالاکتاماز بود. در مطالعه‌ی میهنی در اهواز، از ۴۱ سویه مقاوم به ایمی پنم، ۸ سویه متالوبتالاکتاماز مثبت گزارش شد [۹]. در مطالعه‌ی دیگری که میر صالحیان درتهران انجام داد؛ از ۹۰ سویه مقاوم به ایمی پنم، ۱۰ سویه متالوبتالاکتاماز مثبت

[Downloaded from zanko.muk.ac.ir on 2026-06-15]

مشاهده شد[۱۰]. همچنین در یک بررسی در هند در سال ۲۰۰۸، ۲۰/۸٪ از سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا، تولید کننده متالوبتالاکتاماز بودند[۱۱]. در ترکیه نیز در سال ۲۰۰۷، ۵۶/۸٪ از سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا، تولیدکننده متالوبتالاکتاماز بود[۱۲].

بدین ترتیب، با افزایش روز افزون میزان شیوع سویه‌های تولید کننده متالوبتالاکتاماز، نگرانی‌ها برای شکست درمان با آنتی بیوتیک‌های کارباپنم افزایش یافته است؛ که سبب مشکلات اقتصادی، افزایش بار مالی در درمان، افزایش مدت بستری شدن در بیمارستان و افزایش مرگ و میر می‌شود. بنابراین، با در نظر گرفتن هزینه پایین وسهولت تست فنوتیپی جهت جداسازی سویه‌های تولید کننده متالوبتالاکتاماز، انجام این آزمون به آزمایشگاه‌های درمانی توصیه می‌شود.

References

1. Doosti M, Ramazani A, Garshasbi M. Identification and Characterization of Metallo-β-Lactamases Producing Pseudomonas aeruginosa Clinical Isolates in University Hospital from Zanjan Province, Iran. Iranian biomedical journal, 2013;17(3):129.

2. Fard MF,Irajian G, Takantape ZM, Fazeli H, Salehi M, Rezania S. Drug resistance pattern of Pseudomonas aeruginosa strains isolated from cystic fibrosis patients at Isfahan AL Zahra hospital, Iran (2009-2010). Iranian Journal of Microbiology, 2012;4(2).

3. Yan JJ, Hsueh PR, Ko WC, Luh KT, Tsai SH, Wu HM, et al. Metallo-β-Lactamases in ClinicalPseudomonas Isolates in Taiwan and Identification of VIM-3, a Novel Variant of the VIM-2 Enzyme. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2001;45(8):2224-8.

4. Bradford PA. Extended-spectrum β-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. Clinical microbiology reviews, 2001;14(4):933-51.

5. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum β-lactamases: a clinical update. Clinical microbiology reviews, 2005;18(4):657-86.

6. Kalantar E, Torabi V, Salimizand H, Soheili F, Beiranvand S, Dallal MMS. First Survey of Metallo-β–Lactamase Producers in Clinical Isolates of Pseudomonas aeruginosa From a Referral Burn Center in Kurdistan Province. Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products. 2012;7(1):23.

7. Yong D, Toleman MA, Giske CG, Cho HS, Sundman K, Lee K, et al. Characterization of a new metallo-β-lactamase gene, blaNDM-1, and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in Klebsiella pneumoniae sequence type 14 from India. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2009;53(12):5046-54.

8. 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. Kerman University Medical Journal, 2011;17(3):208-214.

9. Mihani F, Khosravi A. Isolation of Pseudomonas aeruginosa strains producing metallo beta lactamases from infections in burned patients and identification of blaIMP and blaVIM genes by PCR. Iranian J Med Microbiol, 2007; 1(1): 23-31.

[Downloaded from zanko.muk.ac.ir on 2026-06-15]

10. Mirsalehian A, Nakhjavani F, Bahador A, Bigverdi R, Goli H. Prevalence of MBL-producing Pseudomonas aeruginosa isolated from burn patients. Tehran University Medical Journal, 2011;68(10).

11. Varaiya A, Kulkarni N, Kulkarni M, Bhalekar P, Dogra J. Incidence of metallo beta lactamase producing Pseudomonas aeruginosa in ICU patients. Indian Journal of Medical Research, 2008;127(4).

12. Altoparlak U, Aktas F, Celebi D, Ozkurt Z, Akcay M.N. 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.

[Downloaded from zanko.muk.ac.ir on 2026-06-15]

Detection of *Pseudomonas aeruginosa* producing Metallo-β-Lactamases from patients in Shohadaye- Ashayer hospital, Khorramabad

Fatemeh Saleh[1], Hossein Azizi [1], Soheila Soleiman nejad[2], Maryam Azizi[3], Pegah Shakib[4]
1- MSc of Microbiology, Razi Herbal Medicines Research Center, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran
2- Expert Laboratory KhorramAbad, ShohadayeAshayer hospital, Khorramabad, Iran
3- Department of Microbiology, Yazd Branch, Islamic Azad University, Yazd, Iran
4- PhD Student, Cellular and Molecular Research Center and Member of Student Research Committee, Kurdistan University of Medical Sciences, Kurdistan, Iran; E-mail: shakib.pegah@yahoo.com; Mobile: 09166613806

ABSTRACT

Background and Aim: *Pseudomonas aeruginosa* is one of the opportunistic pathogen that causes nosocomial infections in hospitals. It involves in burn wound, respiratory, people with genetic disease cystic fibrosis, bacterimia, septicemia and other infections. *Pseudomonas aeruginosa* by producing metallo-β-lactamase, can hydrolyze most of β-lactam antibiotics, showing resistance to various antimicrobial agents.Thus, according to numerous reports of existence of this resistance in *Pseudomonas aeruginosa*, the purpose of this study was to detect the strains of *Pseudomonas aeruginosa* that are resistant to metallo–β- lactamase.

Material and Methods: 47 strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from patients admitted to Shohadaye Ashayer hospital, Khorramabad. Then isolates were identified with routine tests. Antibiotic susceptibility test was done by Disk-Diffusion method. All isolates were screened for metallo- β-lactamase production by double disk synergy test (DDST).

Results: In this study, 51.7, 6.8, 58.6, 65.5, 51.06 and 51.7% of the strains were resistant to ceftazidime, cefotaxime, gentamicin, ciprofloxacin, imipenem and meropenem, respectively. Out of the 47 *Pseudomonas aeruginosa* isolates 24 (51.06%) strains were resistant to imipenem. Among which 19 strains were positive for metallo-β-lactamase by DDST method.

Conclusion: High prevalence of metallo-β-lactamase producing strains showed that testing to detect metallo-β-lactamase production is essential along with antibiotic susceptibility testing in health centers.

Keywords: Metallo-β lactamase, *Pseudomonas aeruginosa*, Inpatients

[Downloaded from zanko.muk.ac.ir on 2026-06-15]