

## بررسی ژن های *bla-IMP-2* و *bla-IMP-1* در سویه های پseudomonas آئروژینوزا تولید کننده متالوبتالاکتاماز جدا شده از بیماران سوختگی در اصفهان

تاریخ دریافت مقاله: ۹۴/۵/۱۲ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۰/۵

### چکیده

**زمینه و هدف:** پseudomonas آئروژینوزا باکتری پاتوژن فرصت طلب ایجاد کننده عفونت به ویژه عامل عفونت در بیماران دچار زخم سوختگی می باشد. آنتی بیوتیک های خانواده کاربامپم به میزان بالایی در درمان عفونت های ناشی از ایزوله های پseudomonas آئروژینوزا دارای مقاومت چند گانه به کار می روند. جداسازی ایزوله های تولید کننده کاربامپماز یکی از نتایج تجویز و مصرف بی رویه کاربامپم ها می باشد. هدف از این مطالعه بررسی ژن های *bla-IMP-2* و *bla-IMP-1* در سویه های پseudomonas آئروژینوزا تولید کننده متالوبتالاکتاماز جدا شده از بیماران سوختگی در اصفهان می باشد.

**مواد و روش ها:** تعداد ۱۵۰ ایزوله پseudomonas آئروژینوزا از بیماران مبتلا به زخم سوختگی بستری در بخش سوختگی بیمارستان امام موسی کاظم اصفهان جداسازی گردید و در مطالعه حاضر وارد شد. باکتری با استفاده از تکنیک های بیوشیمیایی و میکروب شناسی شناسایی شد. تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی بر اساس دستورالعمل انستیتو استاندارد آزمایشگاه های بالینی (CLSI) انجام پذیرفت. آزمون دبل دیسک سینرژی تست جهت تعیین سویه های تولید کننده متالوبتالاکتاماز در ایزوله های پseudomonas آئروژینوزا مقاوم به ایمپینم استفاده گردید. از روش PCR جهت بررسی حضور ژن های *bla-IMP-2* و *bla-IMP-1* در سویه های پseudomonas آئروژینوزا تولید کننده متالوبتالاکتاماز استفاده شد و محصولات PCR تعیین توالی گردید.

**یافته ها:** از ۱۵۰ ایزوله پseudomonas آئروژینوزا تمامی آنها به عنوان سویه های دارای مقاومت چند گانه شناسایی شدند. بیشترین مقاومت در برابر آنتی بیوتیک های سیپروفلوکساسین، تویرامایسین، ایمپینم، مروپنم و آمیکاسین مشاهده گردید. تمامی ۱۴۴ سویه پseudomonas آئروژینوزا مقاوم به ایمپینم به عنوان سویه های تولید کننده متالوبتالاکتاماز شناسایی شدند. از میان سویه های تولید کننده متالوبتالاکتاماز، (۱۹/۳٪) ۲۹ و (۵/۳٪) ۸ سویه به ترتیب حامل ژن های *bla-IMP-1* و *bla-IMP-2* تشخیص داده شدند.

**بحث و نتیجه گیری:** براساس نتایج این تحقیق. مقاومت سطح بالا به ایمپینم همراه با تولید بالای متالوبتالاکتاماز در میان سویه های پseudomonas آئروژینوزا جدا شده از بیماران دچار عفونت زخم سوختگی در منطقه ما وجود دارد.

**کلمات کلیدی:** پseudomonas آئروژینوزا، عفونت سوختگی، متالوبتالاکتاماز، *bla-IMP-1*، *bla-IMP-2*

محمد پوربابایی<sup>۱</sup>، فرزانه فیروزه<sup>۱</sup>،  
محمود صفاری<sup>۱</sup>، محمد زیبایی<sup>۲</sup>، مجتبی  
صحت<sup>۳</sup>، محسن رادان<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup>گروه میکروب شناسی و ایمنی شناسی،  
دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی  
کاشان، ایران  
<sup>۲</sup>گروه اتکل شناسی و قارچ شناسی،  
دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی  
البرز، ایران  
<sup>۳</sup>مرکز تحقیقات تروما، دانشگاه علوم  
پزشکی کاشان، ایران

### \* نویسنده مسئول:

استادیار گروه میکروب شناسی و ایمنی  
شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم  
پزشکی کاشان، ایران

۰۳۱-۵۵۵۴۰۰۲۱  
E-mail: ffitoozeh@ut.ac.ir

## مقدمه

دخیل در گسترش سویه‌های مقاوم فوق بسیار کمک کننده باشد. بنابر این هدف از این مطالعه بررسی ژن های *bla*-IMP-2 و *bla*-IMP-1 در سویه‌های *پسودموناس آئروژینوزا* تولید کننده متالوبتالاکتاماز جدا شده از بیماران سوختگی در اصفهان می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

## جمع‌آوری نمونه‌ها

مطالعه حاضر یک مطالعه مقطعی- توصیفی می‌باشد. تعداد ۱۵۰ ایزوله *پسودموناس آئروژینوزا* از بیماران مبتلا به زخم سوختگی بستری در بخش سوختگی بیمارستان امام موسی کاظم اصفهان در طی یکسال جمع‌آوری گردید. بیماران شامل هر دو جنس مذکر و مونث بودند و از هر بیمار پس از شستشوی سطح زخم با نرمال سالین، یک نمونه‌گیری توسط سوآپ استریل از ترشحات زخم سوختگی، عمق و لبه ضایعات بعمل آمده و نمونه‌های بالینی در شرایط استریل به آزمایشگاه میکروبی شناسی منتقل شدند. سویه‌های باکتری *پسودموناس آئروژینوزا* با استفاده از روش‌های استاندارد و تست‌های بیوشیمیایی بر اساس منابع شناسایی و تایید گردیدند.<sup>۱۵</sup> تست‌های بیوشیمیایی تایید کننده جنس *پسودموناس* شامل کاتالاز، اکسیداز، تست‌های سری OF، IMViC (اکسیداسیون/ تخمیر)، تولید  $H_2S$ ، رشد در  $42^{\circ}C$ ، رشد در حضور ستریماید، تولید رنگدانه، تولید بوی انگور شیرین و همولیز بودند.<sup>۱۵</sup>

## تعیین الگوی مقاومت و حساسیت آنتی‌بیوتیکی

الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن بر اساس دستورالعمل انستیتو استاندارد آزمایشگاه‌های بالینی (CLSI) انجام پذیرفت.<sup>۴</sup> آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی شامل: کلیستین، پلی میکسین B، پپراسیلین/تازوباکتام، آزترونام، سفپیم، سفنازیدیم، آمیکاسین، مروپنم، ایمپینم، توبرامایسین و سیپروفلوکسازین بودند. دیسک‌های آنتی‌بیوتیک بر اساس جداول CLSI انتخاب و از شرکت MAST تهیه گردیدند. از سشوش *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 به عنوان کنترل کیفی استفاده شد. جهت انجام آزمون به کمک سوآپ استریل مقداری از

علی رغم پیشرفت در درمان آنتی‌بیوتیکی عفونت‌های باکتریایی یک مشکل عمده در مدیریت درمان بیماران سوختگی محسوب می‌شود به طوری که حدود سه چهارم موارد مرگ و میر ناشی از سوختگی ناشی از عفونت‌ها می‌باشد.<sup>۱۱</sup> *پسودموناس آئروژینوزا* یکی از عوامل معمول ایجادکننده عفونت بیمارستانی به ویژه در بخش‌های سوختگی می‌باشد و علی‌رغم درمان آنتی‌بیوتیکی گسترده، موارد مرگ و میر در عفونت‌های پیشرونده در این بیماران بسیار بالا می‌باشد.<sup>۱۸</sup> یک افزایش رو به رشد از سویه‌های *پسودموناس آئروژینوزا* مقاوم به چند آنتی‌بیوتیک (دارای مقاومت آنتی‌بیوتیکی چند گانه) در سراسر جهان گزارش گردیده است.<sup>۲۰</sup> مکانیسم‌های مختلف ایجاد مقاومت در سویه‌های *پسودموناس آئروژینوزا* وجود دارد. یکی از مکانیسم‌های مقاومت به کارباینم‌ها در *پسودموناس آئروژینوزا*، ایجاد آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز می‌باشد که موجب هیدرولیز تمامی کارباینم‌ها می‌گردد.<sup>۱۷</sup> از آنجایی که کارباینم‌ها به ویژه امی پنم داروی انتخابی درمان عفونت‌های ناشی از سویه‌های *پسودموناس آئروژینوزا* مقاوم به سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف می‌باشد، عدم موفقیت در درمان عفونت‌های ناشی از سویه‌های مقاوم به ایمپینم یکی از مشکلات بهداشتی پر اهمیت می‌باشد.<sup>۱۳،۹</sup> متالوبتالاکتامازها جزء کلاس B گروه بندی امبلر (class B Ambler) می‌باشند و توانایی هیدرولیز تمامی آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام به غیر از آزترونام را دارند.<sup>۱۲</sup> متالوبتالاکتامازهای تیپ‌های VIM و IMP به دلیل داشتن خاصیت انتقال ما بین گونه‌های ایجاد کننده عفونت‌های بیمارستانی به ویژه *پسودموناس آئروژینوزا* از اهمیت بسیار بالاتری برخوردارند.<sup>۱۲</sup> واریانت IMP-1 آنزیم اولین بار در ژاپن در سال ۱۹۹۱ در سویه‌های *پسودموناس آئروژینوزا* گزارش گردید، اما پس از آن تیپ‌های دیگر متالوبتالاکتاماز در باسیل‌های گرم منفی در نقاط مختلف دنیا گزارش گردید.<sup>۲۰</sup> شیوع سویه‌های *پسودموناس آئروژینوزا* تولید کننده متالوبتالاکتاماز از تیپ‌های VIM و IMP در مناطق مختلف جهان رو به افزایش است.<sup>۱۴،۳،۵،۱۰</sup> مطالعات فنوتیپی و ژنوتیپی سویه‌های تولید کننده آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز می‌تواند در درک بهتر مکانیسم‌های

نموده مایع رویی حاوی DNA است که به آرامی برداشته و در میکروتیوب جمع آوری گردید. با استفاده از اسپکتروفتومتر نانودراپ غلظت DNA استخراجی ۱/۵۵ میکروگرم بر میلی لیتر و نسبت جذب نوری (OD) در طول موج ۲۶۰ نانومتر به طول موج ۲۸۰ نانومتر، ۱/۸۲۴ بود که نشان داد کیفیت DNA استخراجی مطلوب بود.

### بررسی حضور ژن های *bla-IMP-1* و *bla-IMP-2* با روش PCR

جهت بررسی حضور ژن های *bla-IMP-1* و *bla-IMP-2* از روش PCR بر اساس مطالعات قبلی و با استفاده از پرایمرهای اختصاصی (جدول ۱) استفاده گردید.<sup>۱۶</sup> جهت تکثیر ژن های مورد مطالعه مخلوط PCR در حجم نهایی ۲۵ µl شامل ۵ میکرولیتر DNA استخراج شده، ۰/۲۵ میکرو لیتر آنزیم Taq DNA Polymerase، ۲/۵ میکرو لیتر بافر PCR، ۰/۷۵ میکرو لیتر MgCl<sub>2</sub>، ۰/۵ میکرو لیتر dNTP، ۱ میکرو لیتر از هر پرایمر (سیناژن، ایران) تهیه شد. واکنش PCR در دستگاه ترموسایکلر مدل (Eppendorf master cycler®, MA شامل: واسرشت اولیه در ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۵ سیکل متشکل از واسرشت در ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت یک دقیقه، اتصال در ۵۵ درجه سانتیگراد به مدت یک دقیقه، طولی شدن در ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۹۰ ثانیه و طولی شدن نهایی در ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۷ دقیقه بودند. محصولات PCR پس از الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۲ درصد و رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید (0.5 mg/ml) در زیر نور UV مشاهده گردید.

### تعیین توالی و ترادف ژن های *bla-IMP-1* و *bla-IMP-2*

یک نمونه از محصولات PCR با اندازه باند متفاوت جهت تعیین توالی به شرکت MacroGen Research, Seoul, Korea ارسال و نتایج با استفاده از نرم افزار Chromas Pro version 1.7.5 و Technelysium تجزیه تحلیل و با ترادف های مشابه ثبت شده در GenBank مقایسه گردید.

کشت خالص باکتری را درون لوله حاوی سرم فیزیولوژی استریل انتقال داده پس از تهیه سوسپانسیون یکنواخت و مقایسه با کدورت استاندارد نیم مک فارلند سوآپ استریل به سوسپانسیون میکروبی استاندارد آغشته و بر روی محیط کشت مولر هیتتون آگار (Merck) کشت چمنی داده شد. سپس به کمک پنس استریل دیسک ها روی محیط مولر هیتتون تلقیح شده قرار داده شد و به مدت ۱۸-۱۶ ساعت انکوبه گردید. سپس قطر هاله عدم رشد با خط کش و بر حسب میلی متر اندازه گرفته شد و پس از مقایسه باجداول CLSI نتایج به صورت حساس، میانه و مقاوم گزارش گردید.<sup>۴</sup>

### شناسایی فنوتیپی ایزوله های مولد متالوبتالاکتاماز به روش

#### دبل دیسک سینرژی تست

سویه های پseudomonas آئروژینوزا مقاوم به ایمپینم جهت شناسایی سویه های تولید کننده متالوبتالاکتاماز مورد آزمون (EDTA-IMP DDST) دبل دیسک سینرژی قرار گرفتند. در این روش دیسک های ایمپینم به تنهایی و دیسک حاوی ایمپینم و EDTA (اتیلن دی آمین تترا استیک اسید) در مرکز پلیت حاوی کشت چمنی از سوسپانسیون ۲۴ ساعته باکتری در فاصله ۲۵ میلی متر قرار گرفته و در ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۱۶-۲۴ ساعت انکوبه گردید و نتایج به صورت افزایش  $\geq 7$  میلی متر قطر هاله ممانعت از رشد در اطراف دیسک حاوی ممانعت کننده آنزیم نسبت به دیسک ایمپینم به تنهایی نشان دهنده تولید متالوبتالاکتاماز قرائت گردید.

### استخراج DNA در سویه های پseudomonas آئروژینوزا تولید

#### کننده متالوبتالاکتاماز

استخراج DNA در سویه های پseudomonas آئروژینوزا تولید کننده متالوبتالاکتاماز به روش جوشاندن انجام شد. در این روش ابتدا ۱ cc از سوسپانسیون ۲۴ ساعته باکتری در محیط نوترینت براث را در میکروتیوب ریخته و با دور ۱۰۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ کرده و مایع رویی را خالی نموده و ۳۰۰ میکرو لیتر آب دو بار تقطیر شده روی آن ریخته و کاملاً حل کرده، ۱۰ دقیقه در دمای جوش جوشانده و سپس در دور ۱۴۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ

جدول ۱: ژنهای مورد بررسی، پرایمرهای مورد مطالعه و سکانس آنها و سایز محصولات PCR

نام ژن	۵'→۳' توالی پرایمر	طول قطعه	منبع
<i>bla-IMP-1</i>	Forward: ACC GCA GCA GAG TCT TTG CC Reverse: ACA ACC AGT TTT GCC TTA CC	۵۸۷	۸
<i>bla-IMP-2</i>	Forward: GTT TTA TGT GTA TGC TTC C Reverse: AGC CTG TTC CCA TGT AC	۶۷۸	۸

جدول ۲: مقاومت و حساسیت سویه‌های *پسودموناس آئروژینوزا* جدا شده از بیماران مبتلا به زخم سوختگی بستری در بیمارستان امام موسی کاظم اصفهان

آنتی بیوتیک	سویه‌های باکتری تعداد (درصد)		
	مقاوم	حد وسط	حساس
کلیستین	(۰)۰	(۰)۰	(۱۰۰)۱۵۰
پلی میکسین B	(۰)۰	(۰)۰	(۱۰۰)۱۵۰
پیپراسیلین/تازوباکتام	(۷۰/۷)۱۰۶	(۱/۳)۲	(۲۸)۴۲
آزترونام	(۸۶)۱۲۹	(۲)۳	(۱۲)۱۸
سفپیم	(۹۲/۷)۱۳۹	-	(۷/۳)۱۱
سفتازیدیم	(۹۵/۳)۱۴۳	-	(۴/۷)۷
آمیکاسین	(۹۶)۱۴۴	-	(۴)۶
مروپنم	(۹۶)۱۴۴	-	(۴)۶
ایمی پنم	(۹۶)۱۴۴	-	(۴)۶
توبرامایسین	(۹۶/۷)۱۴۵	-	(۳/۳)۵
سیپروفلوکساسین	(۹۶/۷)۱۴۵	-	(۳/۳)۵

## یافته‌ها

آنتی بیوتیکی مقاومت نشان دادند. همچنین بیشترین سویه‌های MDR (۶۰/۷٪) در مطالعه حاضر سویه‌های دارای مقاومت به ۹ آنتی بیوتیک از ۱۱ آنتی بیوتیک مورد مطالعه بودند (جدول ۳). از میان سویه‌های *پسودموناس آئروژینوزا* مقاوم به ایمپینم، ۱۰۰ درصد آنها با روش تاییدی فنوتیپی دبل دیسک سینرژی تست تولید کننده متالوبیتالاکتاماز تشخیص داده شدند. با روش PCR (۱۹/۳٪) ۲۹ و (۵/۳٪) ۸ سویه‌های *پسودموناس آئروژینوزا* تولید کننده متالوبیتالاکتاماز به ترتیب دارای ژن های *bla-IMP-1* و *bla-IMP-2* بودند (شکل ۱) و توالی آنها پس از بررسی و مقایسه با ترادف‌های مشابه ثبت شده در GenBank مشابه بودند.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد از میان ۱۵۰ ایزوله *پسودموناس آئروژینوزا* جدا شده از بیماران مبتلا به زخم سوختگی بستری در بخش سوختگی بیمارستان امام موسی کاظم اصفهان، ۶۹ (۴۶٪) مورد از زنان و ۸۱ (۵۴٪) از مردان جداسازی گردید. بیشترین مقاومت آنتی بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن نسبت به آنتی بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین و توبرامایسین (۹۶/۷٪) مشاهده گردید و حساس‌ترین آنتی بیوتیک‌ها شامل کلیستین و پلی میکسین B بودند (جدول ۲). نتایج بررسی الگوی مقاومت سویه‌های *پسودموناس آئروژینوزا* نشان داد تمامی سویه‌های مورد مطالعه دارای فنوتیپ MDR بوده و به بیش از دو کلاس

جدول ۳: الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های MDR پseudomonas آئروژینوزا جدا شده از بیماران مبتلا به زخم سوختگی بستری در بیمارستان امام موسی کاظم اصفهان

الگوی فنوتیپی سویه های MDR	الگوی مقاومت	تعداد ایزوله	درصد
AMK, CIP, IMP, MEM, AZT, CAZ, CPM, PTZ, TOB	۹ مقاومتی	۹۱	۶۰/۷
AMK, CIP, IMP, MEM, AZT, CAZ, CPM, TOB AMK, CIP, IMP, MEM, CAZ, CPM, PTZ, TOB CIP, IMP, MEM, AZT, CAZ, CPM, PTZ, TOB	۸ مقاومتی	۳۱	۲۰/۶
AMK, CIP, IMP, MEM, CAZ, CPM, TOB AMK, CIP, IMP, AZT, CAZ, CPM, TOB AMK, CIP, IMP, AZT, CPM, PTZ, TOB	۷ مقاومتی	۱۳	۸/۷
AMK, CIP, IMP, MEM, CAZ, TOB AMK, IMP, MEM, CAZ, CPM, TOB AMK, CIP, IMP, MEM, CAZ, CPM AMK, CIP, MEM, CAZ, CPM, TOB IMP, MEM, AZT, CAZ, CPM, TOB	۶ مقاومتی	۱۰	۶/۷
AMK, CIP, CAZ, CPM, TOB	۵ مقاومتی	۲	۱/۳
CIP, CAZ, CPM, TOB AMK, CAZ, CPM, TOB	۴ مقاومتی	۲	۱/۳
AMK, CAZ, CPM	۳ مقاومتی	۱	۰/۷
جمع		۱۵۰	۱۰۰

AMK: آمیکاسین، CIP: سیپروفلوکساسین، IMP: ایمپینم، MEM: مروپنم، AZT: آزترونام، CAZ: سفنازیدیم، CPM: سفپیم،

PTZ: تازوباکتام / پپراسیلین، TOB: توبرامایسین

## بحث و نتیجه گیری

در سال های اخیر مقاومت به کاربامپنم ها ناشی از تولید آنزیم های متالوبتالاکتاماز به ویژه از تیپ IMP در سویه های پseudomonas آئروژینوزا در مناطق مختلف جهان رو به گسترش است.<sup>۲۰</sup> در مطالعه حاضر بیشترین مقاومت در سویه های پseudomonas آئروژینوزا نسبت به آنتی بیوتیک های سیپروفلوکساسین و توبرامایسین ایجاد شده همچنین مقاومت به آنتی بیوتیک های ایمپینم و مروپنم بسیار بالا مشاهده گردید.

در مطالعه انجام شده در زنجان در ۲۰۱۱-۲۰۱۲ بر روی سویه های پseudomonas آئروژینوزا جدا شده از نمونه های بالینی میزان مقاومت به سیپروفلوکساسین ۴۰/۶٪ و نیز مقاومت به آنتی بیوتیک های ایمپینم و مروپنم به ترتیب ۶۳/۸٪ و ۹۸/۶٪ گزارش گردید که در مورد مقاومت به مروپنم با مطالعه حاضر هماهنگ بوده اما در مورد مقاومت به سیپروفلوکساسین و ایمپینم مقاومت در میان سویه های مطالعه حاضر بسیار بالاتر می باشد.<sup>۶</sup> در سایر مطالعات در ایران و سایر مناطق مقاومت به ایمپینم از

۹۸/۱٪، در پseudomonas آئروژینوزا جدا شده در بیماران سوختگی تا ۳۴/۵٪ متغیر می باشد.<sup>۱۹</sup> با توجه به اهمیت ایمپینم در درمان عفونت های بیمارستانی ناشی از پseudomonas آئروژینوزا، وجود چنین مقاومت بالایی به ویژه در بیماران مبتلا به عفونت سوختگی ناشی از پseudomonas آئروژینوزا بسیار با اهمیت بوده و خطر جدی در درمان بیماران فوق می باشد. یافته های حاصل از بررسی سویه های با فنوتیپ MDR نشان داد که تمامی سویه های پseudomonas آئروژینوزای مورد مطالعه دارای مقاومت چندگانه بوده و بیشترین درصد را سویه های دارای مقاومت به ۹ آنتی بیوتیک از ۱۱ آنتی بیوتیک بررسی شده تشکیل می دهند که این نتیجه با نتیجه مطالعات انواری نژاد در شیراز هماهنگی دارد<sup>۱</sup> و می تواند به دلیل فشار انتخابی بالا ناشی از مصرف بالای آنتی بیوتیک در بخش سوختگی و یا انتخاب شدن و تکثیر یک کلون مقاوم در بخش سوختگی باشد اگر چه جهت اثبات نیاز به بررسی های بیشتر با روش های تایپینگ دقیق مانند پالس فیلد ژل الکتروفورزیس (PFGE) می باشد. در این مطالعه تولید متالوبتالاکتاماز در سویه های

متالوبتالاکتاماز در سایر سویه‌های *Pseudomonas aeruginosa* متالوبتالاکتاماز مثبت می‌تواند ناشی از سایر تیپ‌های آنزیم متالوبتالاکتاماز در آنها باشد. در نهایت بر اساس نتایج این تحقیق با توجه به عدم وجود مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌هایی مانند کلیستین و پلی میکسین B، استفاده از این آنتی‌بیوتیک‌ها در رژیم درمانی عفونت‌های سوختگی ناشی از *Pseudomonas aeruginosa* توصیه می‌گردد همچنین مشاهده گردید که مقاومت سطح بالا به ایمپنم همراه با تولید بالای آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز در میان سویه‌های *Pseudomonas aeruginosa* جدا شده از بیماران دچار عفونت زخم سوختگی در منطقه ما وجود دارد.

*Pseudomonas aeruginosa* مقاوم به ایمپنم، ۱۰۰ درصد برآورد گردید که در سایر مطالعات مانند مطالعه انجام شده در سایر مناطق ایران و برزیل نتایج مشابهی به دست آمده است.<sup>۱۶،۱۷</sup> یافته ارزشمند دیگر در مطالعه حاضر حضور ژن‌های *bla*-IMP-1 و *bla*-IMP-2 به ترتیب با فراوانی ۱۹/۳٪ و ۵/۳٪ در میان سویه‌های *Pseudomonas aeruginosa* تولید کننده متالوبتالاکتاماز می‌باشد. در مطالعه انجام شده در زنجان ۲۴/۴٪ از سویه‌های *Pseudomonas aeruginosa* مقاوم به ایمپنم حاوی ژن *bla*-IMP-1 بودند.<sup>۶</sup> همچنین در مطالعات انجام شده در ژاپن ۶۴/۴٪ و ۰/۶٪ سویه‌های *Pseudomonas aeruginosa* به ترتیب حامل ژن‌های *bla*-IMP-1 و *bla*-IMP-2 بودند که از لحاظ بالاتر بودن فراوانی ژن *bla*-IMP-1 با مطالعه حاضر هماهنگی دارد.<sup>۱۹</sup> تولید آنزیم‌های

## منابع

- Kalantar E, Torabi V, Salimizand H, et al. Incidence and susceptibility pattern of metallo-beta-lactamase producers among *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients at Kurdistan Province. Jundishapur J Microbiol 2012;5(3):507-510.
- Sepehriseresht S, Boroumand MA, Pourgholi L, et al. Detection of vim- and ipm-type metallo-beta-lactamases in *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. Arch Iran Med 2012;15(11):670-673.
- Behera B, Mathur P, Das A, et al. An evaluation of four different phenotypic techniques for detection of metallo-beta-lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa*. Indian J Med Microbiol 2008;26(3):233-237.
- 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. Iran Biomed J 2013;17(3):129-133.
- Rodrigues AC, Chang MR, Nobrega GD, et al. Metallo-beta-lactamase and genetic diversity of *Pseudomonas aeruginosa* in intensive care units in Campo Grande, MS, Brazil. Braz J Infect Dis 2011;15(3):195-199.
- Gómez MP, Baudrit JV, Corrales SN. Overview of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and novel therapeutic approaches. J Biomater Nanobio 2012;3:519-527.
- Lee K, Lim YS, YongD, et al. Evaluation of the hodge test and the imipenem-EDTA double-disk synergy test for differentiating metallo-β-lactamase-producing isolates of *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. J Clin Microbiol 2003;10(41):4623-4629.
- Koh TH, Wang GCY, Sng LH. IMP-1 and a novel metallo-β-lactamase, VIM-6, in fluorescent *Pseudomonads* isolated in Singapore. Antimicrob Agents Chemother 2004;48(6):2334-2336.
- Shin KS, Son BR, Koo SH, et al. Evaluation of dipicolinic acid-based mueller hinton agar biplate for detection of IMP-1 and VIM-2 type metallo-β-lactamase in imipenem non-susceptible gram negative bacilli. Korean J Lab Med 2009; 29:204-211.
- Chin BS, Han SH, Choi SH, et al. The characteristics of metallo-beta-lactamase producing gram-negative bacilli isolated from sputum and urine: a single center experience in Korea. Yonsei Med J 2011;52(2):351-357.
- Dong F, Xu XW, Song WQ, et al. Characterization of multidrug-resistant and metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolates from a paediatric clinic in China. Chin Med J (Engl) 2008;121(17):1611-1616.
- Juan C, Zamorano L, Mena A, et al. Metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas putida* as a reservoir of multidrug resistance elements that can be transferred to successful *Pseudomonas aeruginosa* clones. J Antimicrob Chemother 2010;65(3):474-478.
- Lepsanovic Z, Libisch B, Tomanovic B, et al. Characterization of the first VIM metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate in Serbia. Acta Microbiol Immunol Hung 2008;55(4):447-454.
- Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G. Textbook of Diagnostic Microbiology. 4th ed. editor & editors: Saunders Company; 2011.

16. Shibata N, Doi Y, Yamane K, et al. PCR typing of genetic determinants for metallo-β-lactamases and integrases carried by gram-negative bacteria isolated in Japan, with focus on the class 3 integron. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 5407–5413.
17. Anvarinejad M, Japoni A, Razaatpour N, et al. Burn patients infected with metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa*: multidrug-resistant strains. *Arch Trauma Res* 2014;3(2): e18182.
18. Franco MRG, Caiaffa-Filho HH, Burattini MN, et al. Metallo-beta-lactamases among imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in a Brazilian university hospital. *Clinics* 2010;65(9):825-829.
19. Farajzadeh Sheikh A, Rostami S, Jolodar A, et al. Detection of metallo-beta lactamases among carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Jundishapur J Microbiol* 2014;7(11): e12289.
20. Rizek C, Fu L, Dos Santos LC, et al. Characterization of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates, carrying multiple genes coding for this antibiotic resistance. *Clin Microbiol Antimicrob* 2014;13(43):1-5.