مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان /دوره هجدهم/تابستان ۱۳۹۲-۱۰۵/۹۷

# جداسازی و بررسی خصوصیات فنوتیپی و مولکولی ژنهای متالوبتالاکتاماز گونه‌های سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از نمونه های بالینی بیمارستان ولیعصر زنجان

**معصومه دوستی[۱]، علی رمضانی[۲]،مهدی حاج اجاق فقیهی[۳]**

۱. کارشناس ارشد میکروبیولوژی، مرکز بهداشت استان زنجان، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان، ایران.

۲. استادیار گروه بیوتکنولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان، ایران. (مولف مسئول)، تلفن ثابت: ۴۲۷۳۶۳۹-۰۲۴۱،
ramazania@zums.ac.ir

۳. کارشناس ارشد باکتریولوژی، بیمارستان ولی عصر، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان، ایران.

## چکیده

**زمینه و هدف :** عفونت توسط *سودوموناس آیروژینوزا* درتمام جهان گسترش یافته است و گزارشات مکرر انتشار متالوبتالاکتامازها نشان از سرعت رو به رشد آن دارد. هدف از این مطالعه تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی و تشخیص ژن‌های متالوبتالاکتاماز (MBLs) از نوع IMP و VIM در *سودوموناس آئروژینوزای* ایزوله شده ازانواع نمونه‌های بالینی استان زنجان می باشد.

**روش بررسی :** تعداد ۷۰ ایزوله‌ی *سودوموناس آیروژینوزا* از بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه، پس از انجام آزمایشات میکروبی و بیوشیمیائی تعیین هویت شدند. الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی نمونه‌های تائید شده به روش کایربی‌بوئر تعیین گردید. سپس سویه‌های تولید کننده‌ی متالوبتالاکتاماز به روش فنوتیپی( DDST) شناسائی شدند. از نظر ژنوتیپی ژن های متالوبتالاکتاماز $IMP_1$،VIM وIMP در سویه‌های فوق باروش PCR بررسی گردیدند و ایزوله‌های MBL مثبت از نظر وجود ژن حمل کننده‌ی اینتگرون کلاس ۱ ($INI_1$) مورد بررسی قرار گرفتند.

**یافته ها :** از ۷۰ سویه‌ی یافت شده *سودوموناس آیروژینوزا* به روش فنوتیپی بیشترین مقاومت آنتی بیوتیکی در ایزوله‌ها به ترتیب: مروپنم، سفوتاکسیم، سفتازیدیم، ایمی‌پنم، جنتامایسین، پیپراسیلین و سیپروفلوکساسین بود. در آزمون DDS مشخص گردید که از ۴۴ ایزوله مقاوم به ایمی‌پنم تنها ۳۶ ایزوله تولید کننده‌ی آنزیم متالوبتالاکتاماز هستند. با انجام آزمون PCR ۳۳ سویه‌ی تولید کننده‌ی $MBL_S$ فنوتیپ مثبت، تأیید شدندکه ۲۳ ایزوله حاوی ژن VIM(۵۲/۲٪) و ۱۰ ایزوله حاوی ژن IMP (۲۲/۳٪) بودند که ۸ سویه ازآن، از نوع $IMP_1$ (۱۸/۲٪) بودند.همچنین مشخص گردیدکه از ۴۴ سویه‌ی مقاوم به ایمی‌پنم تنها ۳۱ ایزوله (۷۰/۵٪) دارای کلاس 1 اینتگرون بودند.

**نتیجه گیری :**نتایج نشان می دهدکه مقاومت آنتی بیوتیکی به سبب تولیدآنزیم متالوبتالاکتامازها روند رو به رشدی در منطقه مورد مطالعه داشته و در میان سویه‌های تولیدکننده $MBL_S$، فراوانی ژن‌های VIM بیشتر ازIMP گزارش‌شد.

**واژگان کلیدی:** سودوموناس آئروژینوزا،ژن‌های متالوبتالاکتاماز، اینتگرون کلاس ۱، PCR

وصول مقاله: ۹۱/۱/۱۵ اصلاحیه نهایی: ۹۱/۸/۶ پذیرش:۹۲/۱/۱۸

## مقدمه

سودوموناس آئروژینوزا (Pseudomonas aeroginosa) یک پاتوژن گرم منفی فرصت طلب بیمارستانی، متحرک و هوازی اجباری است که گاهی منجر به ایجاد عفونت‌های کشنده در میزبان خود می شود و از مهمترین عوامل ایجاد عفونت‌های ثانویه اکتسابی از

[ Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-06-24 ]

بیمارستان در بیماران دچار سوختگی و ICU است (۱). سودوموناس آیروژینوزا جزء عوامل ایجاد سیستیک فیبروزیس بوده و می‌تواند ایجاد سرطان و بیماری‌های دیگر نماید (۴-۲). درمان عفونت‌های ایجاد شده توسط این باکتری به علت مقاومت بالائی که به اکثر آنتی‌بیوتیک‌ها دارد مشکل است. مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سودوموناس آیروژینوزا می‌تواند با منشاء کروموزومی و یا اکتسابی با منشاء پلاسمیدی باشد که در این حالت به سهولت می‌تواند بین سویه‌ها و گونه‌های مختلف حتی بین جنس‌های مرتبط باکتری‌ها منتقل شود. اخیراً سویه‌هائی با مقاومت چندگانه (Multidrug-resistant) در آن دیده شده‌اند. کاربا‌پنم‌ها (دارای دو حلقهٔ بتالاکتام و کاربا‌پنم) از جمله ایمی‌پنم ( IPM) و مروپنم (MEM) از مهمترین آنتی‌بیوتیک‌های ضد میکروبی هستند که برای درمان سویه‌های مقاوم سودوموناس آیروژینوزا استفاده می‌شود (۵).

متالوبتالاکتامازها طیف وسیعی از بتالاکتام‌ها (آنتی بیوتیک‌های ضد دیواره‌ی سلولی) از جمله سفالوسپورین‌ها (نسل سوم و پنجم) کاربا‌پنم‌ها و پنی‌سیلین‌ها را هیدرولیز می‌کنند (۶و۱). همچنین باعث ایجاد مقاومت در آمینوگلیکوزیدها می‌شوند، اما توانائی هیدرولیز مونوباکتام‌ها (فقط دارای یک حلقهٔ بتالاکتام) مثل‌آزترونم را ندارد (۱).

MBLs ها برای انجام فعالیت‌های کاتالتیکی خود نیاز به کوفاکتور فلزی روی دارند که توسط EDTA و ترکیبات تیول مهار می‌شود (۳). کاربا‌پنمازهای کلاس B از متالوبتالاکتامازها طراحی شده‌اند، که براساس ساختار مولکولی به ۶ نوع تقسیم می شوند: AIM، SPM، GIM، SIM، IMP و UIM،که متداولترین آنها IMP و VIM هستند (۸ و۷).

سودوموناس آیروژینوزا به علت دارا بودن ماهیت سیار ژنتیکی، می تواند باعث انتشار این آنزیم شده و انواع ژن و ترانسپوزون‌ها را وارد خود نموده و ایجاد سویه‌های مقاوم نماید (۶). ژن‌های رمزکننده‌ی MBL روی اینتگرون کلاس ۱، روی پلاسمیدی که قادر است آنرا انتقال دهد قرار گرفته و در ارتباط با عناصر ژن‌های حرکتی (ترانسپوزون و اینتگرون ) بوده و گاه می‌توانند قسمتی از یک کروموزوم باشند (۸ و۷). برای تشخیص و ایزوله MBLsها چندین روش فنوتیپی در دسترس است، اما هیچ پروتکل استانداردی توسط مؤسسه استانداردسازی آزمایشگاه بالینی (CLSI) پیشنهاد نشده ولی برای تأئید آن در حال حاضر PCR به عنوان یک روش حساس و قابل اطمینان بکار می‌رود. از PCR برای تشخیص سودوموناس آیروژینوزا و بررسی شیوع آن استفاده می شود (۱۰و۹).

هدف از این تحقیق مقایسه‌ی روش فنوتیپی و ژنوتیپی تشخیص سودوموناس آیروژینوزا و بررسی خصوصیات مولکولی ژن‌های اصلی ایجاد کننده‌ی مقاومت درآنزیم متالوبتاکتاماز ($bla_{IMP}$, $bla_{IMP-1}$, $bla_{VIM}$) و ارتباط آن‌ها با ژن اینتگرون کلاس ۱ در ایزوله های سودوموناس آیروژینوزای بالینی و نزدیک شدن به اطلاعات اپیدمیولوژی برای دانستن توزیع مقاومت این باکتری در بیمارستان‌ها و کمک به تشخیص سریع مکانیسم‌های مقاومت است که به کمک PCR، درصد و فراوانی ژن‌های مقاومت ذکر شده در یکی از بیمارستان‌های زنجان به دست آمد.

## مواد و روش‌ها

مطالعه از نوع توصیفی بود که درطی یک سال (دی ماه سال ۱۳۸۹ تا دی ماه ۱۳۹۰) ۳۰۰ نمونه مختلف بالینی مانند ادرار، خون، زخم و ترشحات ریه از بخش‌های مراقبت‌های ویژه و سایر بخش‌های بیمارستان ولیعصر زنجان جمع‌آوری و نمونه‌ها جهت جداسازی سودوموناس آئروژینوزا به بخش میکروب‌شناسی آزمایشگاه انتقال و مورد شناسائی قرار گرفتندکه از آن‌ها، تعدادی سوش به روش بیوشیمیایی و میکروبی به عنوان سودوموناس آئروژینوزا معرفی شدند. تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن (کایربی‌بوئر) و بر اساس استانداردهای CLSI ارزیابی



[ Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-06-24 ]

شدند. دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی مورداستفاده که از شرکت پادتن طب تهیه شده بودند بدین قرارند: سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، ایمی‌پنم (۶ میکروگرم)، پیپراسیلین (۱۰۰ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، مروپنم (۱۰ میکروگرم)، سفتازیدیم (۳۰ میکروگرم)، سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرم)، بودند که به فاصله ۲/۴ سانتیمتر از یکدیگر (مرکز تا مرکز دیسک دیگر) روی محیط مورد نظر جاگذاری شده و بعد از ۲۴–۱۸ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه، قطر هاله عدم رشد اطراف هر دیسک اندازه‌گیری و نتایج آن ثبت گردید. از سویه سودوموناس آئروژینوزا ATCC ۲۷۸۵۳ به عنوان کنترل مثبت و از آب مقطر به عنوان کنترل منفی استفاده گردید.

جهت تأئید فنوتیپی MBLs، جداسازی و شناسائی سویه‌های تولیدکننده‌ی متالوبتالاکتاماز از تست DDST (double-disk synergy test) استفاده شد که در آن مهارکننده‌های متالوبتالاکتاماز به کمک $FeCl_2$، EDTA، $CuCl_2$، ترکیبات تیول مانند مرکاپتواستیک اسید، ۲ مرکاپتو پروپیونیک اسید یا مرکاپتواتانول مورد ارزیابی قرار می‌گیرند. سوسپانسیون رقیق شده از باکتری با رقت (۱۰۰ کلنی در میلی‌لیتر) با سوآپ روی محیط مولرهنیتون پخش شد (طبق سفارش CLSI). سپس دیسک حاوی مهارکننده‌ی متالوبتالاکتاماز که در اینجا از ۶-۴ میکرولیتر EDTA با غلظت ۰/۵ مولار در لیتر استفاده شده به فاصله ۲۰ میلی‌متر مرکز به مرکز دیسک IPM با غلظت ۱۰ میکروگرم قرار گرفت. بعد از ۲۴ ساعت انکوبه در ۳۷ درجه مشاهده‌ی هاله‌ی عدم رشد در اطراف دیسک ایمی‌پنم نزدیک EDTA نشان دهنده‌ی تولید آنزیم متالوبتالاکتاماز در باکتری و خنثی شدن آن توسط EDTA می باشد (۱۱) (شکل ۱).

شکل ۱. آزمون DDST در حضور دیسک حاوی EDTA و دیسک IPM

برای استخراج DNA و انجام آزمایش PCR از روش جوشاندن (Boilling) استفاده گردید. بدین صورت که ابتدا چند کلنی تازه از محیط کشت حاوی *سودوموناس آئروژینوزای* خالص را در ۱۰۰ میکرولیتر آب دیونیزه یا آب مقطر استریل به شکل سوسپانسیون درآورده و به مدت ۱۵ دقیقه درحرارت ۱۰۰ درجه سانتیگراد جوشانده و سپس با دور 10000×g به مدت ۱۲ دقیقه سانتریفوژ گردید. محلول روئی که حاوی DNA باکتری است برای PCR استفاده شد و رسوب کنار گذاشته شد (۱۲).

جهت تأئید درجه خلوص DNA در نمونه‌های استخراج شده از دستگاه بیوفتومتر (Bio-Rad, USA) استفاده شد.

برای انجام PCR، ۱۲/۵ میکرولیتر از Master Mix، که حاوی ۲/۵ میلی مولار $MgCl_2$، ۲/۵میلی مولار dNTPs، ۵ واحد آنزیم Tag پلیمراز به همراه ۱ میکرولیتر از هر پرایمر (۱۰ پیکو مول) و DNA الگو با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر آماده نموده و با دستگاه PCR (i-cycler, Bio-Rad, USA) ژن هدف تکثیر شد.

در تکثیر ژن‌ها با PCR ابتدا نمونه‌های تأئید شده‌ی *سودوموناس* آئروژینوزا با تست فنوتیپی DDS، جهت تکثیر ژن های MBL از جفت پرایمرهای اختصاصی که در جدول ۱ آورده شده است، استفاده گردید. از سویه‌های تولیدکننده‌ی ژن‌های VIMو IMP



[ Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-06-24 ]

( *Acinetobacter baumannii* AC54/97 و *P. aeruginosa* COL-1) اخذ شده از انستیتو پاستور ایران استفاده شد (۱۳). سپس نمونه‌ها درکنار مارکر bp ۱۰۰ برروی ژل آگاروز ۱/۵٪ الکتروفورز شده و باندها پس از رنگ آمیزی ژل با استفاده از اتیدیوم بروماید مشاهده شدند. در جدول ۲، شرایط *setup* واکنش *PCR* برای شناسایی ژن‌ها در سودوموناس آئروژینورا ارائه شده است.

جدول ۱ : پروتکل مورد استفاده در ***PCR*** ژنهای *blaIMP 1*، *blaVIM*، *blaIMP* و $INT_1$

| ژن هدف | پرایمر | اندازه محصول bp | توالی پرایمر (۵′ ⟵ ۳′) | رفرانس |
|---|---|---|---|---|
| $bla_{IMP}$ | IMP-S<br>IMP-AS | ۴۴۶ | 5′-AAA GAT ACT GAA AAG TTA GT-3'<br>5' -TCY CCA AYT TCA CTR TGA CT-3' | ۴ |
| $bla_{IMP1}$ | IMP-F<br>IMP-R | ۵۸۷ | 5' -CTACCGCAGCAGAGTCTTTG-3 '<br>5'-AACCAGTTTTGCCTTACCAT-3 ' | ۷ |
| $bla_{VIM}$ | VIM-S<br>VIM-AS | ۳۹۱ | 5' -CCGATGGTGTTTGGTCGCAT-3'<br>5' -GAATGCGLAGCACCAGGAT-3' | ۴ |
| $INT_1$ | $INT_1$-F<br>$INT_1$-R | ۹۲۳ | 5' -GTTCGGTCAAGGTTCTG-3 '<br>5' -GCCAACTTTCAGCACATG-3 ' | ۷ |

جدول ۲: شرایط *Setup* واکنش *PCR* برای شناسائی ژن‌های *blaIMP 1*، *bla VIM*، *blaIMP* و *INT1* درسودوموناس آئروژینوزا

| ژن هدف (Target gene) | دناتوراسیون اولیه (First Denaturation) | ۳۰سیکل ( Loop : 30) | | | توسعه واکنش انتهایی (Extention final) |
|---|---|---|---|---|---|
| | | دناتوراسیون (Denaturation) | دمای‌اتصال پرایمر (Annealing) | توسعه واکنش ( Extention) | |
| $bla_{VIM}$ | ۹۵ ° C<br>۵ دقیقه | ۹۵ ° C<br>۱ دقیقه | ۵۸ ° C<br>۱ دقیقه | ۷۲ ° C<br>۱ دقیقه | ۷۲ ° C<br>۷ دقیقه |
| $bla_{IMP}$ | ۹۵ ° C<br>۵ دقیقه | ۹۵ ° C<br>۱ دقیقه | ۵۴ ° C<br>۴۰ ثانیه | ۷۲ ° C<br>۱ دقیقه | ۷۲ ° C<br>۱۰ دقیقه |
| $bla_{IMP1}$ | ۹۴ ° C<br>۵ دقیقه | ۹۴ ° C<br>۱ دقیقه | ۵۷ ° C<br>۴۰ ثانیه | ۷۲ ° C<br>۴۵ ثانیه | ۷۲ ° C<br>۷ دقیقه |
| $INT_1$ | ۹۴ ° C<br>۵ دقیقه | ۹۴ ° C<br>۱ دقیقه | ۵۲ ° C<br>۱ دقیقه | ۷۲ ° C<br>۲ دقیقه | ۷۲ ° C<br>۷ دقیقه |

نتایج به دست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS و با کمک آزمون‌های آمار توصیفی تجزیه و تحلیل شد.

**یافته ها**

با رجوع به جدول ۳ مشاهده می‌شودکه بیشترین تعداد سویه‌های جدا شده از بیماران بستری در بخش مراقبت‌های



[ Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-06-24 ]

ویژه (ICU)، مربوط به ترشحات ریه بوده که درآن تعداد و درصد نمونه های بالینی بیماران نیز نشان داده شده است.

نتایج حاصل از آنتی بیوگرام به روش کایربی بوئر بر روی ۷۰ نمونه ایزوله سودوموناس آیروژینوزا بدین قرار بود: ۹۸/۶٪ از سویه ها به مروپنم، ۹۱/۷٪ به سفوتاکسیم، ۷۸/۹٪ به سفتازیدیم، ۶۳/۸٪ به ایمی‌پنم، ۵۵/۱٪ به جنتامایسین و ۴۰/۹٪ به سیپروفلوکساسین و ۴۴/۹٪ به پیپراسیلین مقاوم بودند که در جدول شماره ۴ نشان داده شده است.

درآزمون کایربی بوئر مشاهده شد که ۴۴ ایزوله از ۷۰ ایزوله (۶۳/۸٪) مقاوم به ایمی‌پنم هستند. در آزمون DDST تعداد ۳۶ نمونه تولید آنزیم متالوبتالاکتاماز را نشان دادند.

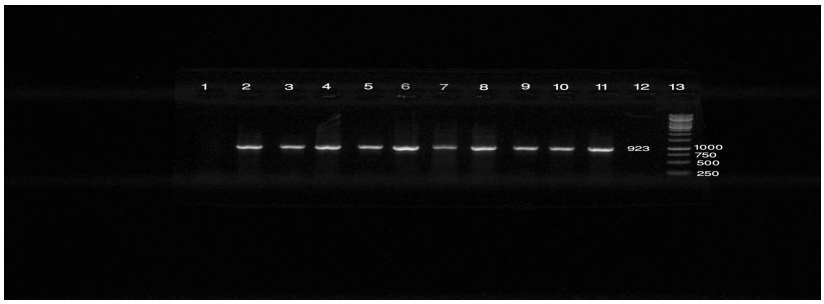
PCR بر روی تمام ایزوله‌های مقاوم به ایمی‌پنم (۴۴ ایزوله) انجام گرفت و ۳۳ ایزوله از سویه‌هائی که توسط DDST و از نظر فنوتیپی مثبت شده بودند و وجود متالوبتالاکتاماز در آنها ثابت شده بود، توسط PCR با جفت پرایمرهای IMPS و IMPAS و جفت پرایمرهای VIMS و VIMAS تأییدگردیدند (شکل‌های ۲، ۳ و ۴) .

۲۳ (۵۲/۳٪) ایزوله از ایزوله‌های مقاوم به ایمی‌پنم حامل ژن VIM و ۱۰ (۲۲/۸٪) ایزوله حامل ژن IMP ( ۴۹۹ bp) بودند که ۸ ایزوله از آن (۱۸/۲٪) از نوع $IMP_1$ (۳۸۷bp) بودند.

روی ۴۴ سویه‌ی مقاوم به ایمی‌پنم PCR با جفت پرایمرهای $INT_1F$ و $INT_1R$ انجام شد و مشاهده گردید که ۳۱ عدد از نمونه‌های حاوی ژن متالوبتالاکتاماز، شامل اینتگرون کلاس ۱ بودند. از ۳۳ نمونه دارای ژن‌های VIM و IMP تنها ۵ نمونه به طور مشترک دارای هردو ژن بودند و ۴ نمونه از این‌ها روی اینتگرون کلاس ۱ واقع شده بودند.

جدول ۳: انواع، تعداد و درصد ایزوله های جدا شده از بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه (**ICU**)

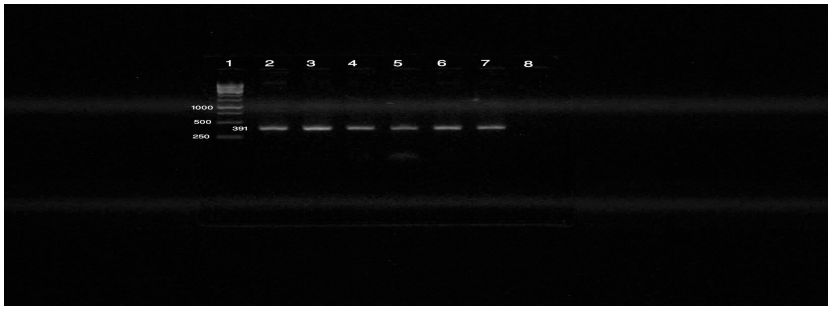
| نوع نمونه | تعداد سوشهای ایزوله شده | تعداد |
|---|---|---|
| ترشحات ریه | ٪۷۷/۱ | ۵۴ |
| ادرار | ٪ ۱۰ | ۷ |
| مدفوع | ٪۵/۷ | ۴ |
| زخم | ٪۲/۸ | ۲ |
| خلط | ٪۲/۸ | ۲ |
| چشم | ٪۱/۴ | ۱ |



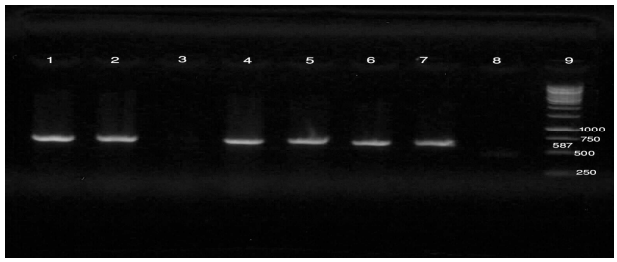

شکل۲: نتیجه آزمون *PCR* ژن *INT1* (طول محصول:*bp* ۹۲۳).۱- *Negative Control*
۲- *Posetiv Control* ۳-۱۱نمونه ۱۲- نمونه*E.coli* ۱۳- *DNA Lader*



[ Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-06-24 ]




شکل۳: نتیجه آزمون *PCR* ژن *bla VIM* (طول محصول:*bp* ۳۹۱).۱- *DNA Lader*
۲- *Posetiv Control* ۳-۷نمونه ۸-*Negative Control*




*شکل۴ : نتیجه آزمون* PCR ژن bla IMP1 *(طول محصول:*bp ۵۸۷*).*۱-Posetiv Control
۲-۴-۵-۶-۷-*نمونه مثبت* ۳-*نمونه منفی* ۸-Negative Control ۹-DNA Lader

جدول ۴: درصد حساسیت و مقاومت سویه های سودوموناس آیروژینوزا جدا شده از نمونه های بیماران بستری در بیمارستان ولیعصر زنجان.

| *آنتی بیوتیک* *Antibiotic* | مقاوم *Resistant* | *نیمه حساس* *Intermediate* | حساس *susceptible* |
|---|---|---|---|
| ایمی پنم | ٪۶۳/۸ | ٪۰ | ٪۳۶/۲ |
| پیپراسیلین | ٪۴۴/۹ | ٪۴/۳ | ٪۵۰/۷ |
| سیپروفلوکساسین | ٪۴۰/۶ | ٪۱/۴ | ٪۵۸ |
| جنتامایسین | ٪۵۵/۱ | ٪۲/۹ | ٪۴۲ |
| مروپنم | ٪۹۸/۶ | ٪۰ | ٪۱/۴ |
| سفتازیدیم | ٪۷۸/۹ | ٪۳/۵ | ٪۱۷/۵ |
| سفوتاکسیم | ٪۹۱/۷ | ٪۰ | ٪۸/۳ |

## بحث

متالوبتالاکتامازها به عنوان یکی از مهمترین مکانیسم‌های دخیل در ایجاد مقاومت به ترکیبات داروئی مانند کاربا‌پنم‌ها از جمله ایمی‌پنم و مروپنم که از مهمترین آنتی‌بیوتیک‌های ضد میکروبی در درمان *سودوموناس آئروژینوزا* هستند، به شمار می‌آیند. با توجه به اهمیت بالینی ارگانیسم‌های تولیدکننده‌ی متالوبتالاکتاماز و ایجاد مقاومت در درمان عفونت‌های ناشی از *سودوموناس آیروژینوزا* کنترل انتشار آن ضروری است.



[ Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-06-24 ]

در این مطالعه، فراوانی درصد مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها در سویه های تولید کننده‌ی متالوبتاکتاماز بر روی نمونه‌های بالینی بیمارستان ولی عصر زنجان انجام گرفت که نتیجه تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی و میزان مقاومت به ایمی‌پنم ۴۴ ایزوله (۶۳/۸٪) بود که در مقایسه با گزارش *Japoni* و *Khosravi* به ترتیب ۳۲/۹٪ و ۴۱٪ روند رو به رشدی داشته که تجویز گسترده و نابجای آنتی‌بیوتیک‌ها خصوصاً فلوروکینولون‌ها و کارباپنم ها سبب افزایش نمونه‌های مقاوم می‌شود (۱۴و ۵).

ضمن بررسی الگوی مقاومت، مشاهده شد که ۲۹/۵٪ از ایزوله‌های مقاوم به ایمی‌پنم نسبت به سیپروفلوکساسین یا پیپراسیلین حساس هستند و این دو دارو مؤثرترین آنتی‌بیوتیک در درمان *سودوموناس آیروژینوزا* بوده و میزان مقاومت به آن‌ها از سایر آنتی‌بیوتیک‌ها کمتر است.

نتیجه آزمون فنوتیپی تشخیص متالوبتالاکتامازها که در این تحقیق از روش DDST استفاده شد، مشاهده گردید که از ۴۴ سویه مقاوم به ایمی‌پنم تنها ۳۶ ایزوله دارای MBLs بودند که از این تعداد ۳۳ ایزوله با روش PCR تأیید گردیدند و از آن ۲۳ (۵۲/۳٪) ایزوله دارای ژن VIM و ۱۰ سویه (۲۲/۷٪) دارای ژن IMP بودند. ۸ مورد (۱۸/۲٪) از IMPها از نوع $IMP_1$ بودند. *Luzzaro* در ایتالیا از ۵۰۶ ایزولهٔ *سودوموناس آیروژینوزا* ۰/۷٪ محصول MBL گزارش نمود که تمام آن‌ها حامل ژن VIM بودند (۱۵). در ژاپن *Yatsuyanagi* بر روی ۴۲ ایزوله‌ی تولید کننده MBL که از آزمون DDS جدا شده بودند PCR انجام داد که نتیجه آن وجود ۸ سویه‌ی حامل ژن VIM و ۲۴ سویه حامل ژن IMP بودند (۱۶).

*خسروی* از اهواز در سال ۲۰۰۷ با انجام E.test و PCR روی ۱۰۰ ایزوله‌ی *سودوموناس آیروژینوزا* نشان داد که ۸ سویه (۱۹/۵۱٪) از ۴۱ سویه مقاوم به ایمی‌پنم تولید کننده متالوبتالاکتاماز و حامل ژن VIM بودند (۵).

*رضایی* از تهران بیان نمود که ۶۱/۴۳٪ از ایزوله ها حامل ژن VIM هستند (۱۱). در سال ۱۳۸۶ شاهچراغی با انجام‌آزمون E.test روی ۳۵۰ ایزوله‌ی *سودوموناس آیروژینوزا* دریافت که ۱۵ ایزوله (۳٪) حامل ژن‌های متالوبتالاکتاماز هستند (۱۳).

در سال ۲۰۰۸ در کشور پرتغال از۴۰ ایزوله‌ی مثبت درDDS تنها ۲۶ ایزوله ( ۱۹/۴٪) با PCR تأیید شدند که همه از نوع VIMبودند (۱۷). یوسفی در سال ۲۰۱۰ بر روی ایزوله‌های جدا شده از شمال غرب ایران آزمون DDS انجام داد که از ۱۳۹ سویه تنها (۳۷/۵٪) دارای MBLs بودند. از این تعداد ۲۴ ایزوله (۲۳/۱٪) با PCR مثبت شدند که از آن ۱۸ ایزوله دارای ژن VIM و ۶ ایزوله دارای ژن IMP بودند (۱۱). در این مطالعه حضور اینتگرون کلاس ۱ در ۳۱ (۷۰/۵٪) سویه از سویه‌های مقاوم به ایمی‌پنم توسط PCR تأیید شد و مشخص گردید که ۱۸ ایزوله از ۳۳ سویه‌ای که حامل ژن‌های متالوبتالاکتاماز VIM و IMP بودند (۱۱ ایزوله VIM و ۹ ایزوله IMP) توسط کلاس ۱ اینتگرون حمل می‌شوند.

در مطالعه‌ای که توسط *Cheng* در چین در سال ۲۰۰۸ انجام گرفت مشاهده شد که ژن اینتگرون کلاس ۱ در ۴۳/۵٪ از سویه‌های VIM و در یک ایزوله IMP مثبت وجود دارد (۷). در سال ۲۰۱۰ یوسفی روی ایزوله‌های شمال غرب ایران نشان داد که ۹۲/۵٪ از ایزوله‌های مقاوم به ایمی‌پنم توسط اینتگرون کلاس۱ حمل می شوند (۱۱).

## نتیجه گیری

نتایج کلی تحقیق نشان از افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی دارد. این مطالعه برای اولین بار بیشترین تعداد سویه‌های سودوموناس تولید کننده‌ی آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز از نوع IMP را در ایران گزارش نمود و وجود همزمان ژن‌های IMP از نوع IMP-1 و VIM بر روی اینتگرون‌کلاس ۱ مشاهده گردید .

با توجه به اهمیت بالینی ارگانیسم‌های تولیدکننده‌ی متالوبتالاکتاماز همچنین گزارش دقیق و سریع آنزیم های تولید کننده‌MBL، ایجاد مقاومت های چندگانه به داروها



[ Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-06-24 ]

در درمان عفونت‌های ناشی از *سودوموناس آیروژینوزا* ،معضل جدی رو به پیشرفتی است که کنترل انتشار آن ضروری بوده و جهت جایگزینی آنتی بیوتیک‌های مناسب در جهت کاهش شیوع این ژن‌ها، خصوصاً در سال‌های اخیر که مقاومت میکروبی در اکثر گونه های باکتری‌ها رو به تزاید است، الزاماً به آنتی‌بیوتیک‌های جدید و مناسب نیاز خواهد بود.

همچنین نزدیک شدن به اطلاعات اپیدمیولوژی برای دانستن توزیع مقاومت این باکتری در بیمارستان‌ها و کمک به تشخیص سریع مکانیسم‌های مقاومت که با بهره گیری از PCR ، درصد و فراوانی ژن‌های مقاومت ذکر شده در یکی از بیمارستان‌های زنجان به دست آمد.

## تشکر و قدردانی

در پایان لازم است از همکاران بخش میکروب شناسی بیمارستان حضرت ولی عصر (عج) و همکاران بخش بیوتکنولوژی دانشکده داروسازی زنجان که با همکاری خود ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند، تشکر و قدردانی نماییم.

## Reference

1. Rodrigues AC, Chang MR, Nobrega GD, Rodrigues MS, Carvalho NC, Gomes BG,and 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 ;15:195-9.

2. Woods D E & Iglewski B. HToxins of Pseudomonas aeruginosa: new perspectives. Reviews of Infectious Disease 1983; 5:714–22.

3. Lyczak JB, Cannon CL, Pier GB. Establishment of Pseudomonas aeruginosa infection: lessons from a versatile opportunist. Microbes Infect 2000; 2:1051–1060.

4. Rowe SM, Miller S, Sorscher EJ. Cystic fibrosis. N Engl J Med 2005;352: 1992–2001.

5. 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;60:125-8.

6. Pitout JD, Gregson DB, Poirel L, McClure JA, Le P, Church DL .Detection of Pseudomonas aeruginosa producing metallo-beta-lactamases in a large centralized laboratory. J Clin Microbiol 2005 ;43:3129-35.

7. Cheng X, Wang P, Wang Y, Zhang H, Tao C, Yang W,and et al. Identification and distribution of the clinical isolates of imipenem-resistant Pseudomonas aeruginosa carrying metallo-beta-lactamase and/or class 1 integron genes. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci 2008;28:235-8.

8. Bahar MA, Jamali S, Samadikuchaksaraei A. Imipenem-resistant Pseudomonas aeruginosa strains carry metallo-beta-lactamase gene bla(VIM) in a level I Iranian burn hospital. Burns 2010;36:826-30.

9. Khan AA, Cerniglia CE. Detection of Pseudomonas aeruginosa from clinical and environmental samples by amplification of exotoxin A gene using PCR. Appl Environ Microbiol 1994;60:3739–3745.

10. De Vos D, Lim Jr A, Pirnay JP, Struelens M, Vandenvelde C, Duinslaeger L, and et al. Direct detection and identification of Pseudomonas aeruginosa in clinical samples such as skin biopsy specimens and expectorations by multiplex PCR based on two outer membrane lipoprotein genes, oprI and oprL. J Clin Microbiol 1997;35:1295–1299.



[ Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-06-24 ]

11. Yousefi S, Farajnia S, Nahaei MR, Akhi MT, Ghotaslou R, Soroush MH, and et al. Detection of metallo-beta-lactamase-encoding genes among clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa in northwest of Iran. Diagn Microbiol Infect Dis 2010;68:322-5.
12. Rodríguez-Baño J, Navarro MD, Romero L, Martínez-Martínez L,Muniain MA, Perea EJ, and et al. Epidemiology and clinical features of infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli in nonhospitalized patients. J Clin Microbiol 2004;42:1089-94.
13. Shahcheraghi F, Nikbin VS, Feizabadi MM. Identification and genetic characterization of metallo-beta-lactamase-producing strains of Pseudomonas aeruginosa in Tehran, Iran. New Microbiol 2010;33:243-8.
14. Japoni A, Alborzi A, Kalani M, Nasiri J, Hayati M, Farshad S. Susceptibility patterns and cross-resistance of antibiotics against Pseudomonas aeruginosa isolated from burn patients in the South of Iran. Burns 2006;32:343-7.
15. Luzzaro F, Endimiani A, Docquier JD, Mugnaioli C, Bonsignori M, Amicosante G, and et al. Prevalence and characterization of metallo-beta-lactamases in clinical isolates of pseudomonas aeruginosa. Diagn Microbiol Infect Dis 2004;48:131-5.
16. Yatsuyanagi J, Saito S, Harata S, Suzuki N, Ito Y, Amano K, and et al. Class 1 integron containing metallo-beta-lactamase gene blaVIM-2 in Pseudomonas aeruginosa clinical strains isolated in Japan. Antimicrob Agents Chemother 2004;48:626-8.
17. Pena A, Donato AM, Alves AF, Leitao R, Cardoso OM. Detection of Pseudomonas aeruginosa producing metallo-beta-lactamase VIM-2 in a central hospital from Portugal. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2008;27:1269-71.
18. Rezaei YH, Behzadian NG, Peerayeh SN, Mostsfaei M. Prevalence and detection of metallo-β-lactamase (MBL) producing Pseudomonas aeruginosa strains from clinical isolates in Iran. Ann Microbiol 2007;57:293–6.

[ Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-06-24 ]