فراوانی سویه‌های تولیدکننده متالوبتالاکتامازدر *پسودوموناس آئروژینوزای* جداشده از بیماران سوختگی

اکبر میرصالحیان*
فرخ اکبری نخجوانی، عباس بهادر فرشته جبل عاملی، رضا بیگ‌وردی حمیدرضا گلی

گروه میکرب‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۹/۰۷/۰۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۰۸/۲۹

چکیده

زمینه و هدف: *پسودوموناس آئروژینوزا*، یک پاتوژن فرصت طلب و از عوامل اصلی ایجاد عفونت در بیماران دارای زخم‌های سوختگی می‌باشد. متالوبتالاکتامازها (MBLS) از مهمترین عوامل ایجاد مقاومت به داروهای کاربا‌پنم در *پسودوموناس آئروژینوزا* است. این مطالعه ضمن بررسی الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی، به بررسی فراوانی متالوبتالاکتاماز (MBL) در بین ایزوله‌های *پسودوموناس آئروژینوزا* به دو روش فنوتیپی (Etest MBL) و ژنوتیپی (PCR) می‌پردازد. ***روش بررسی:*** تعداد ۱۷۰ ایزوله *پسودوموناس آئروژینوزا* جدا شده از بیماران سوختگی به روش بیوشیمیایی تعیین هویت، سپس الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها به روش کایربی بوئر تعیین گردید. سویه‌های تولیدکننده متالوبتالاکتامازبه روش Etest MBL شناسایی شدند و برای تشخیص ژن blaVIM از روش PCR استفاده گردید. ***یافته‌ها:*** مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های ایمی‌پنم، کاربنی‌سیلین، آمیکاسین، توبرامایسین، تیکارسیلین، پلی‌میکسین B، کلیستین سولفات (۱۰µg) و کلیستین سولفات (۲۵µg) به‌ترتیب ۵۲/۹٪، ۷۴/۷٪، ۸۱/۷٪، ۸۸/۲٪، ۸۴/۷٪، ۱۰٪، ۳۴/۱٪، ۲۸/۳٪ بود. از بین این ایزوله‌ها ۱۰ ایزوله (۱۱/۱٪) (از ۹۰ ایزوله مقاوم به ایمی‌پنم) تولیدکننده آنزیم متالوبتالاکتاماز به روش Etest MBL بودند. تمام ۱۰ سویه نسبت به پلی‌میکسین B و کلیستین حساس بودند و نسبت به بقیه آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت نشان دادند. با انجام آزمون PCR تمام سویه‌هایی که توسط Etest MBL مثبت شدند توسط PCR تایید گردیدند و همگی حامل ژن blaVIM-1 بودند. ***نتیجه‌گیری:*** این مطالعه نشان‌دهنده افزایش روند مقاومت آنتی‌بیوتیکی *پسودوموناس آئروژینوزا* به سبب تولید آنزیم متالوبتالاکتاماز می‌باشد. لذا با توجه به اهمیت بالینی این سویه‌های مقاوم در بیمارستان مورد مطالعه، شناسایی سریع ارگانیسم‌های تولیدکننده این آنزیم‌ها و به‌کارگیری ابزارهای مناسب کنترل عفونت جهت جلوگیری از انتشار بیشتر این ارگانیسم‌ها ضروری است.

کلمات کلیدی: *پسودوموناس آئروژینوزا*، متالوبتالاکتاماز، VIM-1، VIM-2، PCR، مقاومت آنتی‌بیوتیکی.

* نویسنده مسئول: تهران خیابان پور سینا، ضلع شمالی دانشگاه تهران، دانشکده پزشکی، گروه میکرب‌شناسی
تلفن: ۸۸۹۵۵۸۱۰-۰۲۱
email: mirsaleh@sina.tums.ac.ir

مقدمه

پسودوموناس آئروژینوزا (Pseudomonas aeroginosa) یکی از پاتوژن‌های مهم بیمارستانی می‌باشد به‌طوری که در سال‌های اخیر شاهد سویه‌های با مقاومت چندگانه (Multidrug-resistant) هستیم. درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری به سبب مقاومت بالایی که به اکثر آنتی‌بیوتیک‌ها دارد مشکل است. این باکتری به عنوان دومین عامل عفونت‌های سوختگی و سومین عامل شایع عفونت‌های بیمارستانی می‌باشد.[۱و۲] سوختگی مکان مناسبی برای تکثیر باکتری فراهم می‌کند و سبب بستری شدن طولانی‌مدت بیمار می‌گردد. عفونت ناشی از *پسودوموناس آئروژینوزا* یکی از مهمترین عوارض جدی در بیماران سوختگی می‌باشد.[۳] کاربا‌پنم‌ها از جمله ایمی‌پنم و مروپنم از مهمترین آنتی‌بیوتیک‌های ضد میکروبی هستند که برای درمان عفونت‌های ناشی از سویه‌های چند مقاومتی *پسودوموناس آئروژینوزا* استفاده می‌شوند.[۴و۵] متالوبتالاکتاماز قادر به هیدرولیز طیف وسیعی از بتالاکتام‌ها از جمله پنی‌سیلین‌ها، سفالوسپورین‌ها و کاربا‌پنم‌ها هستند، اما توانایی هیدرولیز مونوباکتام‌ها (آزترونام)را ندارند. متالوبتالاکتاماز بر اساس ساختار مولکولی به شش نوع تقسیم می‌شوند که عبارتند از: AIM, SPM, SIM, GIM, IMP VIM که از این بین نوع VIM در *پسودوموناس آئروژینوزا* بارزتر و چشمگیرتر می‌باشد.[۴و۶] ژن‌های کد کننده متالوبتالاکتاماز غالباً بر روی اینتگرون‌ها

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-09]

به ویژه اینتگرون کلاس یک یافت می‌شود که ماهیت سیار بودن این عناصر ژنتیکی، مقدمات انتشار هر چه بیشتر این آنزیم‌ها را در بخش‌های مختلف بیمارستان فراهم می‌سازد. برای اولین بار ژن VIM در سال ۱۹۹۹ در ایتالیا جدا و گزارش گردید. علاوه بر *پسودوموناس آئروژینوزا* این ژن‌ها در باکتری‌هایی نظیر *اشیرشیاکلی*، *کلبسیلا پنومونیه* و *آسینتوباکتر بومانی* نیز دیده می‌شوند.[۸و۷] متالوبتالاکتامازها به مهارکننده‌های بتالاکتامازها مثل سولباکتام، تازوباکتام و کلاولانیک اسید مقاوم هستند و از آنجایی که این دسته از آنزیم‌ها برای فعالیت خود نیاز به یک کوفاکتور فلزی (اغلب Zn) دارند، توسط عوامل شلاته کننده مثل EDTA و ترکیبات تیول مهار می‌شوند.[۹] به طور خلاصه مشکلاتی که متالوبتالاکتامازها به وجود می‌آورند عبارتند از:

۱- متالوبتالاکتامازها نه تنها سبب مقاومت به کاربانپم‌ها می‌شوند بلکه سبب ایجاد مقاومت به آمینوگلیکوزیدها نیز می‌شوند ۲- ژن‌های کد کننده این آنزیم‌ها بر روی عناصر متحرک (پلاسمید) قرار دارند که به راحتی می‌توانند به سایر باکتری‌ها منتقل شوند ۳- نبود مهار کننده دارویی موثر باعث محدودیت مصرف کاربا پنم‌ها گردیده است ۴- افزایش انتقال این ژن‌ها از *پسودوموناس آئروژینوزا* به اعضای خانواده انتروباکتریاسیه سبب توسعه این گونه از مقاومت‌ها در سایر باکتری‌ها گردیده است.[۱۰و۷و۳]

این تحقیق با هدف تعیین میزان مقاومت سویه‌های *پسودوموناس آئروژینوزا* جدا شده از بیماران سوختگی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف و تعیین فراوانی ایزوله‌های تولید کننده متالوبتالاکتاماز در سویه‌های مقاوم به ایمی‌پنم انجام گرفت.

روش بررسی

تعداد ۱۷۰ ایزوله *پسودوموناس آئروژینوزا* از ۱۷۰ بیمار مبتلا به سوختگی بستری در بیمارستان شهید مطهری تهران ایزوله گردید. سپس ایزوله‌های جمع‌آوری شده با آزمایش‌های بیوشیمیایی در آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران مورد تایید قرار گرفت. الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های جدا شده به روش انتشار در دیسک (کایربی- بوئر) ارزیابی شد. در این روش ابتدا، سوسپانسیون میکروبی معادل نیم مک فارلند تهیه شد سپس به صورت چمنی بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت گردید. دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی مربوطه بر روی محیط مورد نظر به فاصله ۱cm از هم جای‌گذاری شده و پس از انکوباسیون به مدت ۲۴-۱۸ ساعت قطر هاله‌ی عدم رشد حاصل از آنتی‌بیوگرام طبق دستورالعمل CLSI اندازه‌گیری شد.[۱۱] آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده شامل دیسک‌های ایمی‌پنم (۱۰µg)، کاربنی‌سیلین (۱۰۰µg)، آمیکاسین (۳۰µg)، توبرامایسین (۱۰µg)، تیکارسیلین (۷۵µg)، پلی‌میکسین (unit B ۳۰۰)، کلیستین سولفات (۱۰µg) و کلیستین سولفات (۲۵µg) متعلق به شرکت MAST (انگلیس) بود. در این مطالعه از *پسودوموناس آئروژینوزای* ATCC ۲۷۸۵۳ به عنوان سویه کنترل، استفاده گردید.

ردیابی فنوتیپی متالوبتالاکتامازها (MBLs):

برای جداسازی و شناسایی سویه‌های تولیدکننده MBL از نوارهای Etest MBL (AB BioDisk, Solna, Sweden) طبق دستورالعمل شرکت سازنده استفاده گردید. این نوارها از دو نیمه تشکیل شده، در یک نیمه (IP) گرادیانی از غلظت‌های مختلف ایمی‌پنم (۲۵۶µg/ml-۴) و در نیمه دیگر (IPI) گرادیانی از غلظت‌های مختلف ایمی‌پنم همراه با غلظت ثابتی از EDTA (۶۴µg/ml-۱) قرار دارد. تفسیر Etest MBL به صورت کاهش سه رقت یا بیشتر، MIC ایمی‌پنم در حضور EDTA یا اگر نسبت IP MIC به IPI بزرگ‌تر یا مساوی هشت شود نشان‌دهنده تولید آنزیم متالوبتالاکتاماز می‌باشد. برای استخراج DNA و انجام آزمایش PCR از روش جوشاندن استفاده گردید. ابتدا ۵-۳ کلنی تازه از محیط کشت برداشته و در ۲۰۰µl آب مقطر تزریقی استریل به صورت سوسپانسیون در آورده و ۱۰ دقیقه در حرارت ۱۰۰°C جوشانده و سپس در دور ۱۲۰۰۰rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شدند، آنگاه محلول رویی که حاوی DNA است برای PCR استفاده شد.[۱۲]

در تکثیر ژن blaVIM از جفت پرایمرهای VIM-1L و VIM-1R و VIM-2L و VIM-2R استفاده شد.[۱۳] از *پسودوموناس ائروژینوزا* ۲۷۸۵۳ به عنوان کنترل منفی و یک سویه تولید کننده متالوبتالاکتاماز از تیپ VIM-1 و VIM-2 به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

یافته‌ها

نتایج حاصل از آنتی‌بیوگرام به روش کایربی- بوئر بر روی ۱۷۰ ایزوله *پسودوموناس آئروژینوزا* جدا شده از عفونت‌های سوختگی برای دیسک‌های آنتی‌بیوتیک ایمی‌پنم، کاربنی‌سیلین، آمیکاسین، توبرامایسین، تیکارسیلین، پلی‌میکسین B، کلیستین سولفات (۱۰) و

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-09]

جدول- ۱: جفت پرایمرهای مورد استفاده برای شناسایی ژن VIM

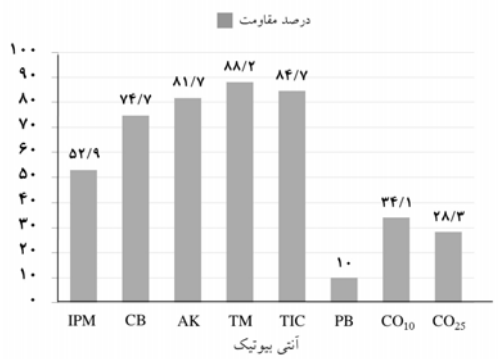
ژن	ردیف پرایمر (5' to 3')	اندازه محصول (bp)	رفرانس	کمپانی
VIM-1L **VIM-1R**	F- ATGTTAAAAGTTATTAGTAGT R- CTACTCGGCGACTGAGCGAT	۸۰۱	۱۳	TAG Copenhagen Denmark
VIM-2L **VIM-2R**	F- ATGTTCAAACTTTTGAGTAAG R- CTACTCAACGACTGAGCGAT	۸۰۱	۱۳	TAG Copenhagen Denmark

جدول- ۲: شرایط Setup واکنش PCR برای شناسایی ژن blaVIM-1 در *پسودوموناس آئروژینوزا*

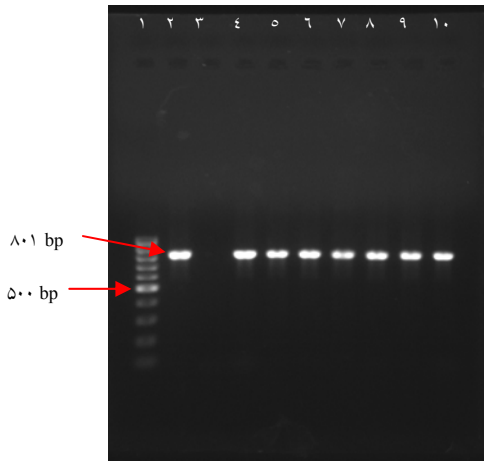
		زمان (s)	درجه حرارت (°c)
First Denaturation		۳۰۰	۹۵
Loop: ۳۰	Denaturation	۶۰	۹۵
	Annealing	۴۵	۵۲
	Extension	۴۵	۷۲
Extension Final		۳۰۰	۷۲

جدول- ۳: شرایط Setup واکنش PCR برای شناسایی ژن blaVIM-2 در *پسودوموناس آئروژینوزا*

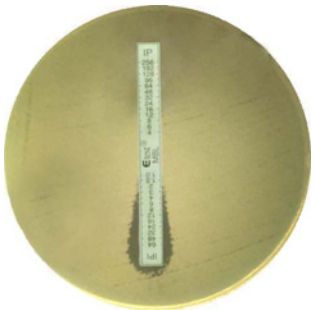
		زمان (s)	درجه حرارت (°c)
First Denaturation		۳۰۰	۹۵
Loop: ۳۰	Denaturation	۴۵	۹۵
	Annealing	۴۵	۵۸
	Extension	۴۵	۷۲
Extension Final		۳۰۰	۷۲



نمودار- ۱: درصد مقاومت سویه‌های *پسودوموناس آئروژینوزای* جدا شده از عفونت‌های سوختگی جدا شده از بیمارستان شهید مطهری تهران



شکل- ۲: نتیجه آزمون PCR ژن blaVIM-1 (طول محصول: PCR، ۸۰۱ bp). ۱- DNA Ladder، ۲- Positive Control، ۳- Negative Control، ۴- نمونه ۱۰-۴



شکل- ۱: نوار MBL Etest برای بررسی سویه‌های تولیدکننده آنزیم متالوبتالاکتاماز. کاهش MIC در حضور EDTA نشان‌دهنده تولید MBL می‌باشد که در این شکل MIC ایمی‌پنم از ۲۵۶< به ۴µg/ml کاهش پیدا کرده است.[۱۴]

کلیستین سولفات (۲۵) از قرار زیر است: ۵۲/۹٪ سویه‌ها به ایمی‌پنم، ۷۴/۷٪ به کاربنی‌سیلین، ۸۱/۷٪ به آمیکاسین، ۸۸/۲٪ به توبرامایسین، ۸۴/۷٪ به تیکارسیلین، ۱۰٪ به پلی‌میکسین B، ۳۴/۱٪ به کلیستین سولفات (۱۰µg)، ۲۸/۳٪ به کلیستین سولفات (۲۵µg) مقاوم بودند که در نمودار ۱ نشان داده شده است. از ۱۷۰ ایزوله *پسودوموناس آئروژینوزا*، ۹۰ ایزوله (۵۲/۹٪) به ایمی‌پنم مقاوم بودند که از این تعداد ایزوله ۱۰ ایزوله (۱۱/۱٪) تولید

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-09]

آنـزیم متالوبتالاکتامـاز را نـشان دادنـد (شـکل ۱). بـر روی تمـامی سویه‌های مقاوم به ایمی‌پنم PCR انجام گرفت و همان ۱۰ سویه‌ای که توسط Etest MBL مثبت شده بودند، توسط PCR با جفت پرایمرهـای VIM-1L و VIM-1R مثبت شدند.

بحث

درمان عفونت‌های ناشی از *پسودوموناس آئروژینوزا*، به‌دلیل تولید آنزیم متالوبتالاکتاماز با مشکل روبروست و در حدود ۴۵٪ مرگ و میر در بیماران سوخته ناشی از عفونت می‌باشد.[۱۶و۱۵] کارباپنم‌هـا از جملـه ایمی‌پنم و مروپنم از مهم‌ترین آنتی‌بیوتیک‌های ضد میکروبـی هـستند کـه بـرای درمـان عفونـت‌هـای سـوختگی ناشـی از *پـسودوموناس آئروژینوزا* اسـتفاده مـی‌شـوند. متالوبتالاکتامازهـا بـه عنـوان یکـی از مهمترین مکانیسم‌هـای دخیـل در ایجـاد مقاومـت بـه ایـن ترکیبـات دارویی می‌باشند.[۴]

بر اساس مطالعات اپیدمیولوژیکی انجـام شـده در سراسـر جهـان اثبات شده است که میزان شیوع الگوهای مختلف مقاومت دارویـی و به ویژه ژن‌های کد کننده متالوبتالاکتاماز در سویه‌هـای *پـسودوموناس آئروژینوزا* از یک کشور تا کشور دیگر، از یک منطقـه جغرافیـایی تـا منطقه جغرافیایی دیگر و حتی مابین بیمارستان‌های مختلف یک ناحیه جغرافیایی می‌تواند متفاوت باشـد. لـذا بـا توجـه بـه اهمیـت بـالینی ارگانیـسم‌هـای تولیـد کننـده متالوبتالاکتامـاز شناسـایی آنهـا در بیمارستان‌های مختلف جهت اهداف درمانی و کنترل انتـشار هـر چـه بیشتر آنها در بیمارستان‌ها ضـروری اسـت.[۷] اهمیـت تحقیـق حاضـر بررسی این سویه‌ها در بیماران سوختگی است کـه تـاکنون در کـشور انجام نگرفته است. در این تحقیق شاهد افـزایش چـشمگیر مقاومـت آنتی‌بیوتیکی هستیم، به طوری که میزان مقاومت به ایمی‌پنم در مطالعه Japoni و Khosravi در ایران در بیماران سوختگی به ترتیب ۳۲/۹٪ و ۴۱٪ و در این تحقیق ۵۲/۹٪ بوده است.[۱۸و۱۷] به نظر می‌رسد مـصرف بی‌رویه و تجویز نابه‌جـای آنتـی‌بیوتیـک از دلایـل افـزایش مقاومـت آنتی‌بیوتیکی مـی‌باشـد. *پـسودوموناس آئروژینـوزا* بـه سـبب ماهیـت ژنتیکی، پذیرنده انواع ژن‌ها از قبیل پلاسمید و ترانسپوزون‌ها می‌باشد و به همین سبب می‌تواند سریعاً نسبت به انواع آنتی‌بیوتیک‌هـا مقـاوم شود. بنابراین با توجه به قابلیت بالای این ارگانیسم در کسب مقاومت نسبت به آنتـی‌بیوتیـک‌هـای مختلـف، نظـارت مـستمر بـر تغییـرات حساسیت این باکتری ضروری است. استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها به خصوص فلوروکینولون‌ها و کارباپنم‌ها از عوامل خطر برای مقـاوم شدن این باکتری نسبت به این داروها محسوب می‌شود.[۱۹]

با انجام آزمون Etest MBL، فقط ۱۰ ایزوله (۱۱/۱٪) تولیـد MBL را نشان دادند و این ۱۰ ایزوله به تمامی آنتی‌بیوتیک‌ها به جز کلیستین و پلـی‌میکـسین B مقـاوم بودنـد هـر ۱۰ ایزولـه از نظـر وجـود ژن blaVIM-1 توسط PCR مثبت شدند و هیچ اختلافی بین روش فنوتیپی و ژنوتیپی در این مطالعه مـشاهده نـشد. در سـال ۲۰۰۴، Luzzaro در ایتالیـا بـا انجـام آزمایـشات Etest MBL و PCR روی ۵۰۶ سـویه *پسودوموناس آئروژینوزا* نشان داد که چهار سویه (۰/۷٪) تولیدکننـده متالوبتالاکتاماز حامل ژن VIM هستند.[۱۴]

در مطالعه انجام شـده توسـط Shahcheraghi در سـال ۱۳۸۶ بـر روی ۳۵۰ سویه *پسودوموناس آئروژینـوزا* جـدا شـده از نمونـه‌هـای بالینی بیماران غیر سوختگی در بیمارستان‌های امام‌خمینی و مرکز طبی کودکان نشان داد که ۳٪ از سویه‌ها، تولید کننده آنزیم متالوبتالاکتامـاز هستند.[۲۰] در سال ۲۰۰۷، Khosravi در اهواز با انجـام آزمـایش Etest MBL و PCR روی ۱۰۰ سویه *پسودوموناس آئروژینوزا* نـشان داد کـه هشت سـویه (۱۹/۵٪) از ۴۱ سـویه مقـاوم بـه ایمـی‌پـنم تولیدکننـده متالوبتالاکتاماز هستند و هر هشت سویه حامل ژن VIM مـی‌باشـند.[۱۷] در سال ۲۰۰۷، Behzadian Nejad در دانشگاه تربیت مدرس با انجـام آزمایش Etest MBL و PCR روی ۱۲۶ سویه *پسودوموناس آئروژینوزا* جدا شده از نمونه‌های بـالینی بیمـاران غیـر سـوختگی در بیمارسـتان بقیه‌الله و شریعتی نشان دادنـد کـه هـشت سـویه (۱۱٪) از ۷۰ سـویه مقاوم به ایمی‌پنم تولیدکننده متالوبتالاکتاماز هستند و هر هشت سـویه حامل ژن VIM بودند.[۲۱]

در سال ۲۰۰۸، شاه‌چراغـی بـا انجـام آزمـایش روی ۲۴۳ سـویه *پسودوموناس آئروژینوزای* جدا شده از نمونه‌های بالینی بیمـاران غیـر سوختگی در بیمارستان امـام‌خمینـی تهـران نـشان داد کـه ۱۵ سـویه تولیدکننده متالوبتالاکتاماز هـستند و هـر ۱۵ سـویه حامـل ژن VIM-1 بودند.[۲۲] استفاده از نوارهای E-test با توجـه بـه نتـایج ایـن تحقیـق و نتایج Behzadian Nejad، Khosravi و Luzzaro به دلیل حـساسیت و ویژگی بـالا و عـدم اخـتلاف بـین روش Etest MBL و PCR توصـیه می‌شود.[۲۱و۱۷و۱۴] به نظر می‌رسد ژن VIM در ایران از شـیوع بـالایی در سویه‌های *پسودوموناس آئروژینوزا* برخوردار است.[۲۲و۲۱و۱۷] نتایج ایـن

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-09]

تحقیق نشان داد VIM-1 ژن غالب در سویه‌های *پسودوموناس آئروژینوزای* جدا شده از بیماران سوختگی بستری در بیمارستان شهید مطهری تهران می‌باشد.

خوشبختانه میزان شیوع ژن VIM در ایران در مقایسه با سایر کشورها از جمله کره جنوبی، ژاپن و فرانسه کمتر بوده[۲۵-۲۳] و احتمالاً سایر مکانیسم‌های مقاومت از جمله ایفلاکس پمپ‌ها، نقص و فقدان پروتیین‌های غشاء خارجی از جمله OprD و کاربانمازهای کلاس D (OXA-23,OXA-40,OXA-48,OXA-58) در ایجاد مقاومت به کاربانم‌ها دخیل می‌باشند.[۲۶] در این تحقیق بیشترین میزان مقاومت نسبت توبرامایسین، تیکارسیلین، آمیکاسین و کاربنی‌سیلین بود و توصیه می‌شود از مصرف این چهار آنتی‌بیوتیک خودداری شود. همچنین شناسایی باکتری‌های تولید کننده MBL، گزارش دقیق و سریع چنین آنزیم‌هایی به منظور نظارت هر چه بهتر و دقیق‌تر در ردیابی مقاومت‌های چندگانه و همچنین انتخاب آنتی‌بیوتیک مناسب و جلوگیری از شیوع چنین آنزیم‌هایی می‌تواند از گسترش عفونت‌های بیمارستانی جلوگیری نماید. در ضمن لازم است اقدامات پیشگیرانه‌ای در جهت کاهش شیوع این ژن‌ها از طریق تغییر پروتکل‌های درمانی و اصلاح آنها به عمل آید.

References

1. Mirsalehian A, Feizabadi M, Nakhjavani FA, Jabalameli F, Goli H, Kalantari N. Detection of VEB-1, OXA-10 and PER-1 genotypes in extended-spectrum beta-lactamase-producing Pseudomonas aeruginosa strains isolated from burn patients. *Burns* 2010;36(1):70-4.
2. Aoki S, Hirakata Y, Kondoh A, Gotoh N, Yanagihara K, Miyazaki Y, et al. Virulence of metallo-beta-lactamase-producing Pseudomonas aeruginosa in vitro and in vivo. *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48(5):1876-8.
3. Altoparlak U, Aktas F, Celebi D, Ozkurt Z, Akcay MN. Prevalence of metallo-beta-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.
4. Huang YT, Chang SC, Lauderdale TL, Yang AJ, Wang JT. Molecular epidemiology of carbapenem-resistant Pseudomonas aeruginosa carrying metallo-beta-lactamase genes in Taiwan. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007;59(2):211-6.
5. Laupland KB, Parkins MD, Church DL, Gregson DB, Louie TJ, Conly JM, et al. Population-based epidemiological study of infections caused by carbapenem-resistant Pseudomonas aeruginosa in the Calgary Health Region: importance of metallo-beta-lactamase (MBL)-producing strains. *J Infect Dis* 2005;192(9):1606-12.
6. Pitout JD, Revathi G, Chow BL, Kabera B, Kariuki S, Nordmann P, et al. Metallo-beta-lactamase-producing Pseudomonas aeruginosa isolated from a large tertiary centre in Kenya. *Clin Microbiol Infect* 2008;14(8):755-9.
7. Walsh TR, Toleman MA, Poirel L, Nordmann P. Metallo-beta-lactamases: the quiet before the storm? *Clin Microbiol Rev* 2005;18(2):306-25.
8. Samuelsen O, Buarø L, Giske CG, Simonsen GS, Aasnaes B, Sundsfjord A. Evaluation of phenotypic tests for the detection of metallo-beta-lactamase-producing Pseudomonas aeruginosa in a low prevalence country. *J Antimicrob Chemother* 2008;61(4):827-30.
9. Tan J, Pitout JD, Guttman DS. New and sensitive assay for determining Pseudomonas aeruginosa metallo-beta-lactamase resistance to imipenem. *J Clin Microbiol* 2008;46(5):1870-2.
10. Walsh T. The emergence and implications of metallo-beta-lactamases in Gram-negative becteria. *Clin Microbiol Infect* 2007;13(1):113.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for Antimicrobial susceptibility Testing: Document M10-S15. USA: Wayne, PA; CLSI, 2005.
12. Rodríguez-Baño J, Navarro MD, Romero L, Martínez-Martínez L, Muniain MA, Perea EJ, 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(3):1089-94.
13. Fiett J, Baraniak A, Mrówka A, Fleischer M, Drulis-Kawa Z, Naumiuk Ł, et al. Molecular epidemiology of acquired-metallo-beta-lactamase-producing bacteria in Poland. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50(3):880-6.
14. Luzzaro F, Endimiani A, Docquier JD, 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.
15. Sacha P, Wieczorek P, Hauschild T, Zórawski M, Olszańska D, Tryniszewska E. Metallo-beta-lactamases of Pseudomonas aeruginosa: a novel mechanism resistance to beta-lactam antibiotics. *Folia Histochem Cytobiol* 2008;46(2):137-42.
16. Ullah F, Malik SA, Ahmed J. Antimicrobial susceptibility and ESBL prevalence in Pseudomonas aeruginosa isolated from burn patients in the North West of Pakistan. *Burns* 2009;35(7):1020-5.
17. 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.
18. 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(3):343-7.
19. Rossolini GM, Mantengoli E. Treatment and control of severe infections caused by multiresistant Pseudomonas aeruginosa. *Clin Microbiol Infect* 2005;11 Suppl 4:17-32.
20. Shahcheraghi F, Nikbin V. Metallo- β-Lactamase and Resistance rate of P.aeruginosa isolates to ceftazidim and imipenem. *Iran J Inf & Trop Dis* 2007;36:19-22. [Persian]
21. Rezaei Yazdi H, Behzadian Nejad G, Najar Peerayeh Sh, Mostafaei M. Prevalence and detection of metallo-β-lactamase (MBL)-producing Pseudomonas aeruginosa strains from clinical isolates in Iran. *Ann Microbiol* 2007;57(2):293-6.
22. Shahcheraghi F, Nikbin VS, Shooraj F, Bagheri A, Shafiee M, Arabestani MR. PCR Detection of VIM-1, VIM-2 and IMP-1

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-09]

Metalo-beta-lactamases in clinically multi-drug resistant P. aeruginosa isolated in Tehran, Iran. *Int J Infect Dis* 2008;12:118.
23. Shibata N, Doi Y, Yamane K, Yagi T, Kurokawa H, Shibayama K, et al. PCR typing of genetic determinants for metallo-beta-lactamases and integrases carried by gram-negative bacteria isolated in Japan, with focus on the class 3 integron. *J Clin Microbiol* 2003;41(12):5407-13.
24. Lee K, Park AJ, Kim MY, Lee HJ, Cho JH, Kang JO, et al. Metallo-beta-lactamase-producing Pseudomonas spp. in Korea: high prevalence of isolates with VIM-2 type and emergence of isolates with IMP-1 type. *Yonsei Med J* 2009;50(3):335-9.
25. 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(7):3129-35.
26. Rodríguez-Martínez JM, Poirel L, Nordmann P. Molecular epidemiology and mechanisms of carbapenem resistance in Pseudomonas aeruginosa. *Antimicrob Agents Chemother* 2009;53(11):4783-8.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-09]

Tehran University Medical Journal; Vol. 68, No. 10, Jan 2011: 563-569

Prevalence of MBL-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients

Akbar Mirsalehian PhD.*
Farrokhakbari Nakhjavani PhD.
Abbas Bahador PhD.
Fereshteh Jabal ameli MSc.
Reza Bigverdi MSc.
Hamidreza Goli MSc.

Department of Microbiology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Received: September 29, 2010 Accepted: November 20, 2010

Abstract

***Background*:** *Pseudomonas aeruginosa* is an important opportunistic pathogen causes clinical infections among burn patients. Metallo-β-lactamases (MBLs) are important mechanisms of Carbapenem (drug of choice) resistance among *Pseudomonas aeruginosa* isolates. The aims of this study were to determine the antibiotic susceptibility pattern and to detect the prevalence of MBLs among *Pseudomonas aeruginosa* isolates using two phenotypic and genotypic methods.

***Methods*:** Initially, the antibiotic resistance patterns of 170 clinical strains isolated from burn patients in Motahari Hospital in Tehran, Iran were determined by Kirby-Bauer disc diffusion method. All of the clinical *Pseudomonas aeruginosa* isolates resistant to Imipenem were screened for production of MBL by E test with Imipenem / Imipenem plus EDTA (E test MBL). PCR assay was performed for detection of blaVIM genes.

Results: Based on the study results, the percentage of resistance was as below: Imipenem (10 µg) 52.9%, Amikacin (30 µg) 81.7%, Carbenicilin (100 µg) 74.7%, Polymixine B (300 unit) 10%, Ticarcilin (75 µg) 84.7%, Tobramycin (10 µg) 88.2%, Colisitin (10 µg) 34.1, Colisitin (25 µg) 28.3%. Of 90 Carbapenem resistant isolates, 10(11/1%) isolates were positive by E test, all were sensitive to Colisitin and Polymixine B. All of the Imipenem resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates were examined by PCR for the presence of the blaVIM genes. All MBL-producing isolates carried blaVIM-1 genes.

Conclusion: Considering the high prevalence and clinical importance of MBL-producing isolates, rapid identification of them and use of the appropriate infection control measures are necessary to prevent further spread of infections by these organisms.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, metallo-β-lactamases, VIM-1, VIM-2, PCR, drug resistance.

*Corresponding author: Poursina ST., Tehran University of Medical Sciences School of Medicin, Tehran, Iran.
Tel: +98-21- 88955810
email: mirsaleh@sina.tums.ac.ir

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-09]