مجله میکروب شناسی پزشکی ایران

سال ۱ شماره ۱ بهار ۱۳۸۶، صفحات ۲۳ – ۳۱

جدا سازی سویه های سودوموناس آئروژینوزا تولید کننده متالوبتالاکتاماز از بیماران مبتلا به عفونتهای سوختگی و شناسایی ژنهای bla_{VIM} bla_{IMP} با روش PCR

فاطمه میهنی ،آذر دخت خسروی[×]

گروه میکروبشناسی و مرکز تحقیقات بیماریهای عفونی و گرمسیری ، دانشکده پزشکی ، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز

نویسنده رابط : آذردخت خسروی، گروه میکروبشناسی و مرکز تحقیقات بیماریهای عفونی و گرمسیری دانشگاه، دانشکده پزشکی ، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز تلفن: ۰۶۱۱-۳۳۳۰۰۷۴ فکس: ۰۶۱۱-۳۳۳۲۰۳۶ khosraviaz@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله : ۸۶/۳/۶ تاریخ پذیرش مقاله : ۸۶/۳/۲۲

چکیده:

زمینه و اهداف: سودوموناس آئروژینوزا یکی از عوامل مهم عفونت های بیمارستانی خصوصاً در بیماران مبتلا به نقص سیستم ایمنی می باشد. برای درمان عفونت های شدید ناشی از این میکروارگانیسم آنتی بیوتیکهای متعددی از جمله بتالاکتامها به کار می روند. شیوع بیمارستانی سویه‌های مقاوم به آنتی بیوتیک های بتالاکتام بسیار گزارش شده است که از مهمترین عوامل دخیل در این مقاومت ها، تولید آنزیم های بتالاکتاماز می‌باشد. از جمله این آنزیم ها می توان به متالوبتالاکتامازها اشاره نمود که این آنزیم ها طیف سوبسترای وسیعی داشته و همه بتالاکتامها را، به جز مونوباکتام آزترئونام، هیدرولیز می کنند. در تحقیق حاضر فراوانی تولید متالوبتالاکتاماز در ایزوله های سودوموناس آئروژینوزا مقاوم به ایمیپنم مورد ارزیابی قرار گرفت.

روش بررسی: در ابتدا الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی ۱۰۰ ایزوله بالینی سودوموناس آئروژینوزا، که از همین تعداد بیمار مبتلا به عفونت های سوختگی بستری در بیمارستان طالقانی اهواز جدا شده بودند، با تست دیسک دیفیوژن به روش کربی- بائر تعیین شد. تمام ایزوله های کلینیکی سودوموناس آئروژینوزا مقاوم به ایمیپنم توسطEtest ایمیپنم/ایمیپنم به اضافهEDTA (Etest Metallo-ß-Lactamase) برای تولید متالوبتالاکتاماز غربالگری شدند. استخراجDNA از کلنی های کشت خالص توسط روش جوشانیدن ساده انجام گرفت. DNAهای استخراج شده با استفاده از پرایمرهای اختصاصی برای ژن های VIMوIMP متالوبتالاکتاماز توسط روش PCR مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته ها : بر اساس نتایج حاصله درصد مقاومت ایزوله ها به شرح زیر بود: سفپیم۱۰۰٪ ، سفتازیدیم۸۱٪ ، تیکارسیلین۷۰٪، ایمیپنم۴۱٪ ، مروپنم۲۳٪ و پیپراسیلین۲۰٪ . در بررسی تولید متالوبتالاکتاماز با روش Etest MBL در ایزوله های مقاوم به ایمیپنم، مشخص شد که ۸ ایزوله از۴۱ ایزوله مقاوم (۱۹/۵۱٪) متالوبتالاکتاماز مثبت بودند. از ۴۱ ایزوله سودوموناس آئروژینوزامقاوم به ایمیپنم جدا شده در طول این دوره تحقیق ۸ ایزوله ای که با روشEtest MBL مثبت شده بودند دارای ژنVIM بودند و و ایزوله ای که ژنIMP را داشته باشد شناسایی نشد و ۳۳ ایزوله باقیمانده (۸۰/۴۹٪)برای هر دو ژنهای VIM وIMP منفی شدند.

نتیجه گیری: نتایج این تحقیق نشان می دهد که همانند سایر تحقیقات انجام شده در دیگر نقاط جهان میزان سویه‌های مقاوم به آنتی بیوتیک سودوموناس آئروژینوزا رو به افزایش است و تولید متالوبتالاکتاماز می تواند یکی از دلایل این امر باشد.

کلید واژه ها: سودوموناس آئروژینوزا، مقاومت آنتی بیوتیکی، متالوبتالاکتاماز

مقدمه :

سودوموناسها باسیلهای گرم منفی،هوازی و متحرک هستند. سودوموناس آئروژینوزا اغلب به تعداد کم فلورطبیعی روده و پوست انسان را تشکیل می دهد(۱) و پاتوژن فرصت طلب در بیماران دچار اختلال سیستم دفاعی می باشد(۲). معرفی کرباپنمها به دنیای پزشکی یک امتیاز بزرگ جهت درمان عفونت های جدی باکتریایی که توسط باکتریهای مقاوم به بتالاکتامها ایجاد شده اند محسوب می‌شود که این بدلیل طیف وسیع فعالیت آنها و پایداری شان در برابر اکثرآنزیمهای بتالاکتاماز می باشد(۳). مقاومت به کرباپنمها درگونه های غیر تخمیری مانند سودوموناس آئروژینوزا بیشتر مشاهده شده است که شایعترین مکانیسم های مقاومت به دلیل کاهش نفوذ دارو و تولید بتالاکتامازهای هیدرولیزکننده کرباپنمها می باشد(٤،٥). گزارشاتی حاکی ازتوانایی متالوبتالاکتامازها (MBLs)در هیدرولیز کرباپنمها دردست است و سوشهای سودوموناس آئروژینوزا حامل ژنهای متالوبتالاکتاماز یک تهدید کلینیکی جدی می‌باشند(٦). سودوموناس آئروژینوزا تولید کننده متالوبتالاکتاماز اولین بار از ژاپن در سال ۱۹۹۱ گزارش شد و پس از آن از نواحی مختلف دنیا شامل آسیا، اروپا، استرالیا، آمریکای شمالی و جنوبی شناسایی و گزارش گردیده است(۷،۸).متالوبتالاکتامازها در کلاس B طبقه بندی Ambler و گروه ۳ از طبقه بندی Bush و همکاران جای دارند که به کاتیونهای دو ظرفیتی (مانند فلز روی) بعنوان کوفاکتور برای فعالیت آنزیمی خود نیاز دارند(۴،۶). متالوبتالاکتامازهاآنزیمهایی هستند که توسط کروموزومها و یا پلاسمیدها کد می گردند و طیف سوبسترای وسیعی دارند به طوریکه همه بتالاکتامها، به جز مونوباکتام آزترئونام را هیدرولیز می کنند. متالوبتالاکتامازها در *In vitro* توسط شلاتورهای فلزی مانند اتیلن دی آمین تتراستیک اسید، سدیم مرکاپتواستیک اسید و ۲- مرکاپتوپروپیونیک اسید مهار می گردند اما توسط مهار کننده های بتالاکتاماز نظیر سولباکتام، تازوباکتام و یا کلاولانیک اسید مهار نمی شوند. آنزیم های متالوبتالاکتاماز بر اساس ساختمان مولکولی به چهار گروه با نام های IMP, VIM, SPM, GIM تقسیم می شوند. (۹،۱۰،۱۱). در تحقیق حاضر فراوانی تولید متالوبتالاکتاماز در سویه های سودوموناس آئروژینوزا مقاوم به ایمیپنم توسط روش Etest MBL ارزیابی شد. همچنین از روش مولکولی PCR برای تایید انواع VIMو IMP متالوبتالاکتاماز استفاده گردید و شیوع این آنزیمها در ایزوله های کلینیکی سودوموناس آئروژینوزا مقاوم به ایمیپنم در طول سالها ۱۳۸٤ تا ۱۳۸۵ مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها :

سوشهای باکتریایی: در این تحقیق از۱۰۰ ایزوله کلینیکی سودوموناس آئروژینوزا، به دست آمده از ۱۰۰ بیمار مبتلا به عفونتهای سوختگی بستری در بیمارستان سوانح وسوختگی طالقانی اهواز، که درآزمایشگاه تعیین هویت شده بودند استفاده شد. جهت تشخیص این ایزوله ها از سایر باکتری های گرم منفی و حصول اطمینان از جنس و گونه باکتری تستهای بیوشیمیایی استاندارد انجام گرفت. این تستها شامل رشد درمحیط مک کانکی آگار، تستهای اکسیداز و کاتالاز، واکنش در محیط (Triple Sugar Iron Agar) TSI، تست OF (Oxidative- Fermentative Medium)، بررسی تحرک ، تولید اندول و گاز، رشد در ۴۲ درجه سانتی گراد و تولید پیگمان پیوسیانین در محیط مولر هینتون آگار بودند (۱۲).

تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی:

الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی نمونه های کلینیکی جدا شده از بیماران سوختگی با تست دیسک دیفیوژن به روش کربی – بائر تعیین شد. آنتی بیوتیک های استفاده شده در این تحقیق شامل سفتازیدیم(CAZ)، ایمیپنم(IPM)، مروپنم(MEM)، تیکارسیلین(TIC)، پیپراسیلین(PIP) و سفپیم(FEP) بود که از کمپانی MAST از کشورانگلستان، خریداری شدند. قطر هاله‌های حاصل از این تست باید با جدول استاندارد ذکر شده که توسط شرکت MAST در اختیار قرار گرفته بود، مقایسه گردید.

Etest متالوبتالاکتاماز (Etest MBL):

در این قسمت از تحقیق سویه های تولید کننده متالوبتالاکتاماز، در ایزوله های سودوموناس آئروژینوزا مقاوم به ایمیپنم توسط نوارهای Etest متالوبتالاکتاماز(AB BIODISK, Sweden) مورد شناسائی قرار گرفتند.

جهت تهیه سوسپانسیون میکروبی ٤ تا ٥ کلنی خالص باکتری را به لوله حاوی محیط Tripticase Soy Broth (TSB) منتقل کرده و سپس آن را به مدت ۸-۲ ساعت در دمای ۳۷°C قرار دادیم تا باکتری ها رشد کرده و به فاز لگاریتمی برسند سپس کدورت محیط مایع میکروبی با استاندارد ۰/۵ مک فارلند مقایسه شد و توسط سواب استریل ازاین سوسپانسیون میکروبی استاندارد درسطح محیط مولر هینتون آگار به روش سفره ای کشت داده شد و پس ازحدود ۱۵ دقیقه و حصول اطمینان از خشک شدن سطح محیط کشت یک نوار Etest MBL در سطح آگار قرار داده و پلیتها در۳۷°C به مدت ١٦ تا ١٨ ساعت انکوبه گردیدند.

زمانیکه رشد باکتریایی به طور واضحی در روی پلیت نمایان گـردد، خواندن MIC(Minimum Inhibitory Concentration) IP و IPI ارزش دارد. در جائیکه هاله عدم رشـد مربوطـه اسـتریپ را قطع کرده است، عدد روبروی محل تقاطع منطقه عدم رشد بـا نـوار بعنوان MIC در نظر گرفته می‌شود. در تفسیر Etest MBL اگـر نسبت IP MIC به IPI بزرگتر یا مـساوی ۸ شـود بیـانگر تولیـد متالوبتالاکتاماز می‌باشد و هـمـچنـین اگـر یک ناحیه اضافی بـه نـام (phantom zone) بین قسمت های IPI وIP مشاهده شود و یا هاله عدم رشد IP یا IPI در انتهای باریـک شـونده بیـضی مهـاری دچار تغییر شکل گردند بدون در نظر گـرفتن نـسبت IP MIC بـه IPI تولید کننده متالوبتالاکتاماز تلقی می گردند (۵).

تعیین ژن متالوبتالاکتاماز:

جهـت اسـتخراج DNA بـاکتری (کرومـوزومی و پلاسـمیدی)، از روش جوشانیدن ساده(boiling) استفاده شد. ابتدا ۲ تـا ۳ کلنـی از محیط کشت برداشت نمـوده و در ۵۰۰µl آب مقطـر اسـتریل درون میکروتیوپهای اپندروف حل کرده و پس از ورتکس نمودن، محلول حاصل را به مدت ۱۰ دقیقه در بـن مـاری جـوش قـرار داده و در خاتمه میکروتیوپها را به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۱۲۰۰۰g میکروفیوژ نموده و از محلول رویـی آنهـا بـرای انجـام تـست PCR اسـتفاده گردیـد(۹).جهـت تکثیـر DNA اسـتخراج شـده بـا اسـتفاده از واکنش PCR ، ترکیب مخلوط اصـلی بـا حجـم ۲۵ میکرولیتـر بـه ترتیب زیر بود:

بافرPCR۲/۵ میکرولیتر، مخلـوطdNTP ۰/۶۲۵میکرولیتـر، کلریـد منیزیـوم ۵۰ میلـی مـولار ۰/۷۵میکرولیتـر، آنـزیمTaq پلیمـراز ۰/۴میکرولیتر، ۰/۵میکرولیتر از هر پرایمر، DNAالگو ۵ میکرولیتر و آب مقطر ۱۴/۷۳میکرولیتر.

برنامه PCR برای ۳۰ سیکل تکثیربه دستگاه ترموسیکلر (BioRad, Italy)داده شدکه شامل مراحل زیر بود(۱۰).

مرحله اولیه جداسازی یا باز شدن دو رشته به مدت ۵ دقیقـه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد، مرحله باز شدن دو رشته به مدت ۱ دقیقـه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد(Denaturing Step) ،مرحله اتصال پرایمرها بـه مـدت ۱ دقیقـه در ۵۴ درجـه سـانتی‌گـراد (Annealing Step)و مرحله طویل شدن یا ساخته شدن رشته هدف به مدت ۱/۵ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد(Extension Step). محصولاتPCR توسط الکتروفورز با ژل آگاروز۱/۵ درصد در بافرTBE بررسی گردیدنـد. ژلها با اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی شدندو سپس محصولاتPCR با نـورUV مـشاهده گردیدنـد. در ایـن تحقیـق از دو سـری پرایمـر اختـصاصی، مربـوط بـه دو ژن bla_{IMP} وbla_{VIM} متالوبتالاکتامـاز سودوموناس آئروژینوزا به شرح زیر استفاده گردید(۹). پرایمرها از شرکت Roche ،آلمان، خریداری شدند. لازم به ذکـر مـی‌باشـد در این تحقیق از سویه سودوموناس آئروژینوزا متالوبتالاکتاماز مثبت که از دانشگاه تربیت مدرس تهیه گردید به عنوان کنترل مثبت اسـتفاده شد و در قسمت PCR از آب مقطر به عنوان کنترل منفـی اسـتفاده گردید.

P. aeruginosa bla IMP primers (587bp)

1) 5´- GAAGGCGTTTATGTTCAT AC -3´
2) 5´- GTATGTTTCAAGAGTGAT GC -3´

P.aeruginosa bla VIM primers (382bp):

1)5´- GTTTGGTCGCATATCGCA AC -3´
2)5´- AATGCGCAGCACCAGGAT AG -3´

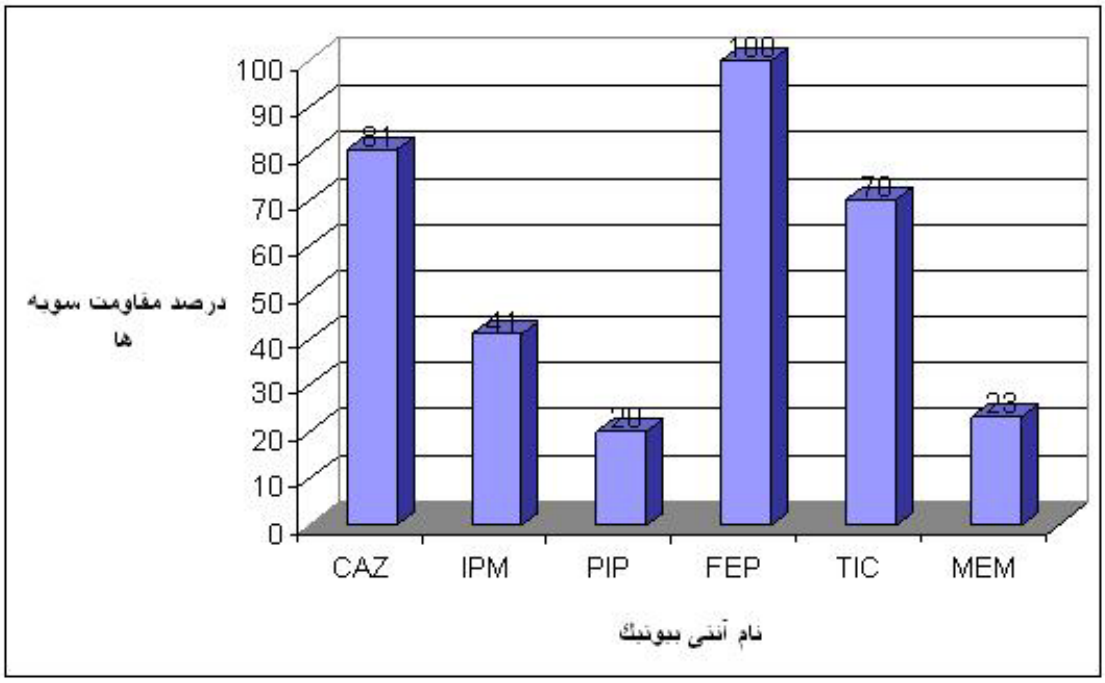
یافته ها:

نتایج حاصل از آنتی بیـوگرام بـه روش کربـی – بـائر بـرروی ۱۰۰ ایـزولـه سـودومـوناس آئروژینـوزا جـدا شـده از بیمـاران دارای عفونت های سوختگی از قرار زیر بـود:۲۰٪ ایزولـه هـا مقـاوم بـه پیپراسیلین (PIP)،۲۳٪ مقاوم به مـروپنم (MEM)، ۴۱٪مقـاوم بـه ایمیپنم(IPM)، ۷۰٪ مقاوم به تیکارسیلین (TIC)، ۸۱ ٪ مقـاوم بـه سـفتا زیـدیم (CAZ) و۱۰۰ ٪ مقـاوم بـه سـفپیم (FEP) بودنـد. (نمودار۱).

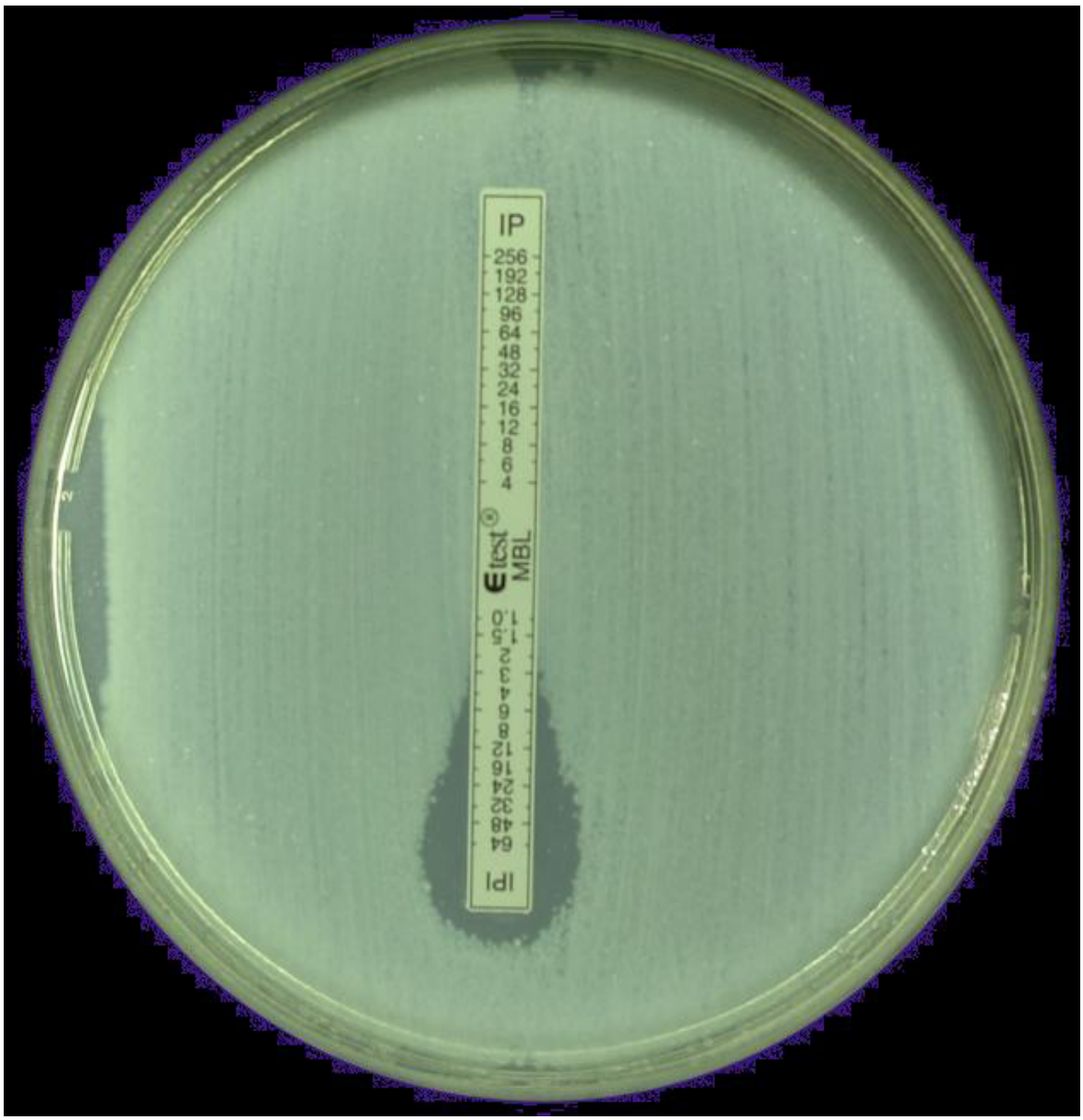
در غربالگری برای تولید متالوبتالاکتاماز درایزوله های سـودوموناس آئروژینـوزا مقـاوم بـه ایمیپـنم توسـط روش Etest MBL از ۴۱ ایـزولـه مـقـاوم، ۸ ایزوله(۱۹/۵۱٪) مثبت شـدند. بیـشترین تعـداد ایزوله های مقاوم به ایمیپـنم (۴۸/۷۸درصـد) دارای الگـوی مـشابه شش مقاومتی بودند(شکل ۱).

تمام ایزوله های کلینیکی سودوموناس آئروژینوزا مقاوم به ایمیپـنم توسط PCR، با اسـتفاده از پرایمرهـای اختـصاصی، بـرای وجـود ژنهـای VIMو IMP متالوبتالاکتامازتـست شـدند .از ۴۱ سـویه سودوموناس آئروژینوزا مقاوم بـه ایمیپـنم کـه در طـول ایـن دوره تحقیق جداسازی گردیدنـد ، ۸ ایزولـه ای (۱۹/۵۱٪) کـه بـا روش Etest MBL مثبت شدند با آزمایش PCR نیز بـرای ژن bla_{VIM} با استفاده از پرایمرهای اختصاصی آن مثبت بودند و ایزولـه ای کـه دارای ژن bla_{IMP} باشـد شناسـایی نـشد. ۳۳ ایزولـه باقیمانـده (۸۰/۴۹٪) برای هر دو ژنهای VIMو IMP متالوبتالاکتامـاز منفـی بودند(شکل ۲)

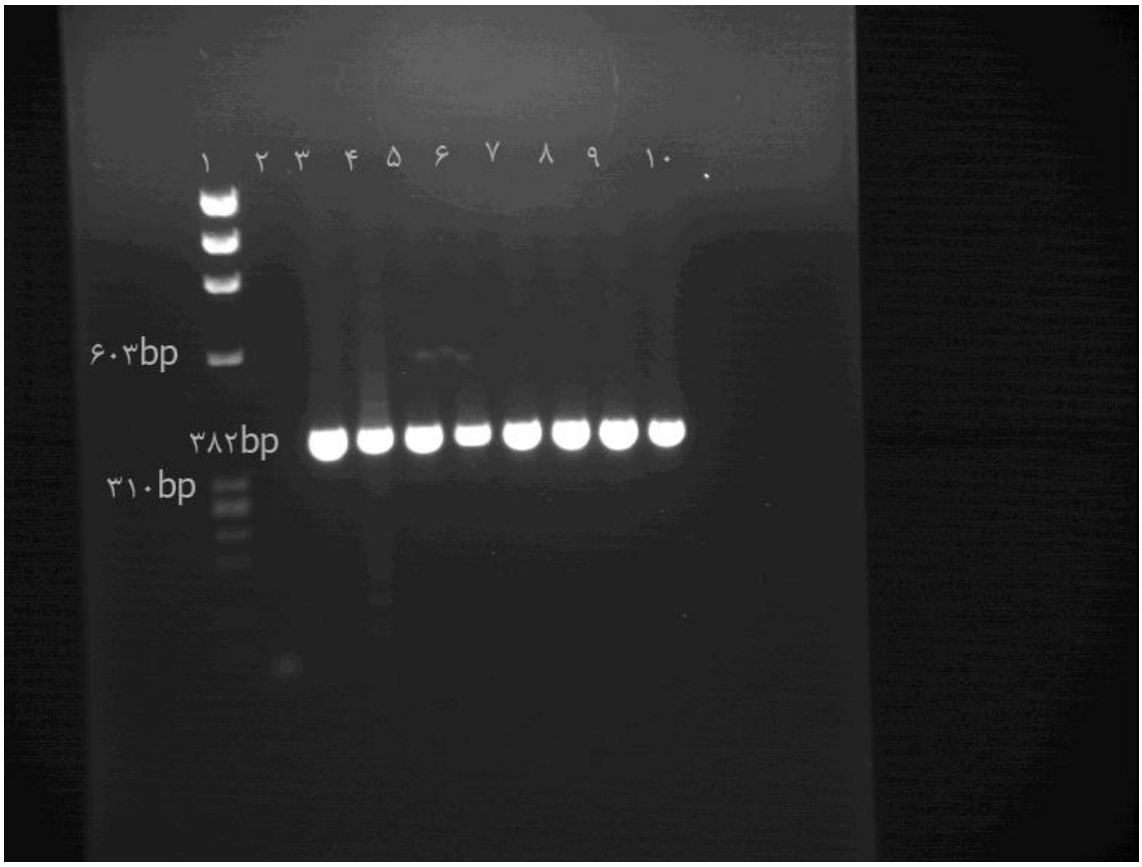
نمودار۱. درصد مقاومت سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا جدا شده ازعفونتهای سوختگی را نسبت به آنتی بیوتیکهای استفاده شده



شکل۱.نوار Etest MBL برای تعیین ایزوله های تولید کننده متالوبتالاکتاماز



شکل۲. ژل حاوی نمونه های PCR شده



بحث:

سوشهای سودوموناس آئروژینوزا تولید کننده متالوبتالاکتاماز یک تهدید کلینیکی جدی می‌باشند که موجب نگرانی پزشکان درمان کننده عفونتهای ایجادشده توسط این باکتریها گردیده است. IMP-1 اولین متالوبتالاکتاماز شناخته شده در سودوموناس آئروژینوزا می باشد و به دلیل خطر بالقوه گسترش سریع IMP به دیگر گونه های باکتریایی نگرانی بزرگی را به وجود آورده است. متالوبتالاکتامازها از ایزوله های کلینیکی، در نقاط مختلف جهان و با شیوع در حال افزایش، در طی سالهای گذشته شناسایی شده اند و سویه‌های تولید کننده این آنزیمها مسئول عفونتهای بیمارستانی طولانی مدت همراه با عواقب جدی هستند. یک ایزوله تولید کننده متالوبتالاکتاماز در محیط بیمارستان باعث مشکلاتی در درمان بیماران می گردد و به همین دلیل یک نگرانی جدی برای شخص کنترل کننده عفونت بخصوص در واحدهای سوختگی می باشد. در مطالعه ای که در ژاپن صورت گرفته، نشان داده شده است که بیماران عفونی شده با سودوموناس آئروژینوزا تولید کننده متالوبتالاکتاماز جهت درمان آنتی بیوتیکهای مختلف دریافت می کنند و همچنین مرگ و میر ناشی از عفونت توسط این نوع باکتریها بیشتر از آنچه توسط سودوموناس آئروژینوزا متالوبتالاکتاماز منفی رخ می دهد، می باشد(۹). با توجه به اینکه سودوموناس آئروژینوزا یک پاتوژن فرصت طلب در بیماران با نقص سیستم ایمنی می باشد و عامل مهم عفونتهای بیمارستانی و سوختگی محسوب می گردد، بنابراین تعیین دقیق وگزارش سریع چنین آنزیمهایی هم از لحاظ اپیدمیولوژیک وهم به منظور کمک به پزشک در انتخاب آنتی بیوتیک مناسب جهت درمان موفق بیماران، کنترل کردن گسترش ایزوله های مقاوم به چند دارو و جلوگیری از انتشار چنین

عفونتهایی در بیمارستانها، ارزشمند خواهد بود با شیوع در حال افزایش باسیلهای گرم منفی تولید کننده متالوبتالاکتاماز در بسیاری از کشورها، تستهای ساده و دقیق برای شناسایی سویه‌های تولید کننده این آنزیمها لازم هستند. نوارهای Etest MBL بر اساس ترکیبی از یک سوبسترا بتالاکتام و یک بتالاکتام با مهار کننده متالوبتالاکتاماز برای شناسایی و تعیین این آنزیمها، طراحی شده اند. این نوارها توانایی تعیین کردن متالوبتالاکتاماز، هم کروموزومی و هم پلاسمیدی، را در باکتریهای هوازی و بیهوازی دارا می‌باشند. همه آزمایشگاههای میکروبیولوژی باید به طور روتین تولید کننده های MBL را تعیین نمایند و روش Etest MBL می تواند به این منظور استفاده شود(۵).

در این مطالعه نیز سویه‌های تولید کننده متالوبتالاکتاماز با روشEtest MBL تعیین شدند. سویه‌های مثبت به سفتازیدیم، سفپیم وتیکارسیلین نیز مقاومت نشان دادند اما سطح مقاومتشان به مروپنم و پیپراسیلین متفاوت بود.

تایید با روش PCR برای وجود ژنهای متالوبتالاکتاماز یک مرحله مهم می باشد(۹). در این تحقیق ما همچنین از آزمون PCR برای تایید سودوموناس آئروژینوزا تولید کنندهMBL استفاده نمودیم. پرایمرهای طراحی شده برای تعیین ژنهای VIMوIMP متالوبتالاکتاماز، به منظور حساسیت و ویژگی آنها، با استفاده ازDNA الگو تهیه شده از سویه کنترل مثبت آزمایش شدند و آزمون PCR نتایج روش Etest MBL را تایید نمود

در مطالعه ای که توسط Park و همکاران در سال ۲۰۰۳ در کره انجام گرفت از ۹۹ ایزوله کلینیکی سودوموناس آئروژینوزا مقاوم به ایمیپنم، ۳۱ ایزوله با روشهای فنوتیپی متالوبتالاکتاماز مثبت بودند در حالیکه با روش PCR، ۲۹ ایزوله ژنVIM و ۲ ایزوله دیگر ژنIMP را داشتند. این محققین گزارش کردند کهVIM یک متالوبتالاکتاماز مهم در سودوموناس آئروژینوزا در بیمارستانهای کره می باشد(۱۳).

درمطالعه ای که توسطLuzzaro و همکاران در سال ۲۰۰۴ در ایتالیا انجام شد، نشان دادند که از ۸۲ سویه سودوموناس آئروژینوزا مقاوم به ایمیپنم ٤ سویه با روش Etest MBL و PCR متالوبتالاکتاماز مثبت بودند و نتایج PCR آشکار کرد که هر ٤ سویه ژن VIM را داشتند این محققین بیان کردند که سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا تولید کننده متالوبتالاکتاماز، موارد مهمی از سویه‌های مقاوم به ایمیپنم در بین گونه های جداشده از بیماران می‌باشند(١٤).

در مطالعه دیگری که توسط Kim و همکاران در طول سالهای۲۰۰۵ صورت گرفت از ۱۱٦ ایزوله کلینیکی سودوموناس آئروژینوزا مقاوم به ایمیپنم، ۲۲ ایزوله با روشEtest MBL متالوبتالاکتاماز مثبت بودند در حالیکه با روش PCR، ۲۱ ایزوله ژن VIM را داشتند و یک ایزوله باقیمانده از نظر ساختمان مولکولی کلاس بندی نشد(۱۵).

نتیجه گیری :

همه آزمایشگاههای میکروب‌شناسی باید قادر باشند سویه های سودوموناس آئروژینوزا تولید کننده متالوبتالاکتاماز را از سویه هایی که از مکانیزمهای دیگری برای مقاومت به کاربابنمها استفاده می کنند تشخیص دهند.شناسایی و تعیین اولیه سودوموناس آئروژینوزا تولید کنندهMBLs ممکن است از گسترش سویه‌های مقاوم به چند دارو جلوگیری نماید. در غیاب عوامل جدید برای درمان عفونتهای ایجاد شده توسط باکتریهای گرم منفی مقاوم به داروهای متعدد، در آینده نزدیک گسترش کنترل نشده تولید کننده های متالوبتالاکتاماز ممکن است به شکست درمان و در نتیجه افزایش عفونت و مرگ و میر منتهی گردد. بنابراین لازم است همه ایزوله های سودوموناس آئروژینوزای مقاوم یا غیر حساس به ایمیپنم، به طور روتین برای تولید متالوبتالاکتاماز با استفاده از روشهای موجود غربالگری شوند.

تقدیر و تشکر:

این تحقیق بااستفاده از بودجه طرح های تحقیقاتی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور انجام گرفته که مولفین مراتب سپاس خود را اعلام می دارند. با تشکر فراوان از پرسنل محترم آزمایشگاه بیمارستان طالقانی اهواز که در تهیه نمونه مارا یاری دادند.

فهرست مراجع:

1. Brooks GF, Butel JS, Morse SA. Jawetz, Melnick and Adelberg's Medical Microbiology. London: Lang Basic Science . 2004; pp: 262-267.
2. Aoki S, Hirakata Y, Kondoh A, Gondoh N, Yanagihara K, Miyazaki Y, *et al*. Virulence of metallo beta lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa In vitro*. Antimicrob. *Agents Chemother* 2004; **48**: 1876-1878.
3. 3.Lee K, Lim YS, Yong D, Yum JH, Chong Y. Evaluation of the hodge test and imipenem-EDTA double disk synergy test for differentiating metallo beta lactamase producing isolates of Pseudomonas spp and Acinetobacter spp. *J Clin Microbiol* 2003; **41**:4623-4629.
4. Senda K, Arakawa Y, Lchiyama S, Nakashima K, Ito H, Ohsuka S,*et al*.PCR detection of metallo beta lactamase gene(blaIMP) in gram negative rods resistant to broad spectrum beta lactams. *J Clin Microbiol* 1996; **34**: 2909-2913.
5. Walsh TR, Bolmstrom A, Qwarnstrom A, Gales A. Evaluation of a new Etest for detection metallo beta lactamases in routine clinical testing. *J Clin Microbiol* 2002; **40**: 2755-2759.
6. Senda K, Arakawa Y, Nakashima K, Ito H, Ichiyama S, Shimokata K, *et al*. Multifocal outbreaks of metallo beta lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa* resistant to broad spectrum beta lactams including carbapenems. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; **40**:349-353.
7. Mendiratta DK, Deotale V, Narang P. Metallo beta lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa* in a hospital from a rural area. *Indian J Med Res* 2005; **121**: 701-703.
8. Henrichfreise B, Wiegand L, Sherwood KJ, Wiedemann B. Detection of VIM-2 metallo beta lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* from Germany. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; **49**: 1668-1669.
9. Pitout JDD, Gregson DB, Poirel L, McClure JA, Le P, Church DL. Detection of *Pseudomonas aeruginosa* producing metallo beta lactamases in a large centralized labratory. *J Clin Microbiol* 2005; **43**: 3129-3135.
10. Helfand MS, Bonomo RA. Current challenges in antimicrobial chemotherapy: the impact of extended-spectrum beta lactamases and metallo beta lactamases on the treatment of resistant Gram-negative pathogens. *Curr Opin Pharmacology* 2005; **5**: 452-458.
11. Arakawa Y, Shibata N, Shibayama K, Yugi T, Fujiwara H, *et al*. Convenient test for screening metallo beta lactamases producing gram negative bacteria by using thiol compounds. *J Clin Microbiol* 2000; **38**: 40-43.
12. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Diagnostic Microbiology. 11th ed. Missouri: Mosby company. 2002; pp: 389-391.
13. Park JJ, Oh EJ, Lee S, Kim SI, Park YJ, Kang MW and *et al*. Prevalence of metallo beta lactamase among *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannnii* in a Korean university hospital and comparison of screening methods for detecting metallo beta

lactamase. *J Microbiol Methods* 2003; **54**:411-418.

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**:131-135.
15. Kim IS, Lee NY, Ki CS, Oh WS, Peck KR, Song JH. Increasing prevalence of imipenem-resistant Pseudomonas aeruginosa and molecular typing of metallo-beta-lactamase producers in a Korean hospital. *Microb Drug Resist* 2005; **11**: 355-359.