پژوهنده (مجله پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی)
سال چهاردهم، شماره ۲، پی در پی ۶۸، صفحات ۶۷ تا ۷۲
خرداد و تیر ۱۳۸۸

تاریخ دریافت مقاله: ۸۷/۸/۸
تاریخ پذیرش مقاله: ۸۸/۱/۲۲

# بررسی ژن‌های متالوبتالاکتامازی $bla_{IMP-1}$، $bla_{VIM-1}$ و $bla_{SPM-1}$ در سویه‌های *پسودوموناس آئروژینوزای* ایزوله‌شده از بیمارستان امام خمینی تهران

دکتر فرشته شاهچراغی[1*]، وجیهه‌سادات نیک‌بین[2]، فهیمه شورج[3]، مروارید شفیعی[2]

۱. استادیار، بخش میکروب‌شناسی، انستیتو پاستور ایران
۲. کارشناس ارشد میکروبیولوژی، بخش میکروب‌شناسی، انستیتو پاستور ایران
۳. کارشناس میکروبیولوژی، بخش میکروب‌شناسی، انستیتو پاستور ایران

## چکیده

**سابقه و هدف:** بتالاکتامازهای کلاس B از جمله IMP، VIM و SPM، که متالوبتالاکتاماز (MBL) خوانده می‌شوند، به دلیل اثر بر طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله پنی‌سیلین‌ها، سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف و کرباپنم‌ها (به استثنای مونوباکتام‌ها مانند آزترونام) از مشکلات عمده درمان بیماری‌های عفونی به‌شمار می‌روند. در این مطالعه، شیوع ژن‌های متالوبتالاکتامازی $bla_{IMP-1}$، $bla_{VIM-1}$ و $bla_{SPM-1}$ در سویه‌های *پسودوموناس آئروژینوزای* مقاوم به ایمی‌پنم جدا شده از نمونه‌های کلینیکی بیمارستان امام خمینی تهران بررسی شد.

**مواد و روش‌ها:** مجموع ۲۴۳ سویه *پسودوموناس آئروژینوزا* از بیمارستان امام خمینی تهران، جمع‌آوری‌شده و پس از تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (minimum Inhibitory Concentration; MIC) ایمی‌پنم، سویه‌های دارای MIC≥4 µg/ml به روش DDST با استفاده از EDTA برای تشخیص سویه‌های مولد MBL بررسی شدند. آزمون PCR این سویه‌ها نیز با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن‌های $bla_{VIM-1}$، $bla_{IMP-1}$ و $bla_{SPM-1}$ انجام شد.

**یافته‌ها:** در مجموع، ۲۸ سویه دارای MIC≥4 µ g/ml نسبت به ایمی‌پنم بودند. از این تعداد، ۲۲ سویه به روش DDST مولد MBL بوده و ۱۵ سویه به روش PCR، حاوی ژن $bla_{VIM-1}$ بودند. سایر ژن‌های مورد بررسی در این سویه‌ها یافت نشد. تمامی این سویه‌ها به کلیستین و پلی‌میکسین B حساس بودند.

**نتیجه‌گیری:** در این مطالعه، $bla_{VIM-1}$، ژن غالب در سویه‌های *پسودوموناس آئروژینوزای* مقاوم به ایمی‌پنم جداشده از نمونه‌های کلینیکی مورد بررسی بود. با توجه به اهمیت سویه‌های مولد متالوبتالابتالاکتاماز در بیمارستان‌ها، شناسایی سریع و ردیابی این سویه‌ها می‌تواند گامی مهم و اساسی در درمان و کنترل عفونت‌های ناشی از این سویه‌ها به‌شمار رود.

**واژگان کلیدی:** متالوبتالاکتاماز VIM-1، متالوبتالاکتاماز IMP-1، متالوبتالاکتاماز SPM-1، *پسودوموناس آئروژینوزا*، ژن‌های متالوبتالاکتاماز

## مقدمه

کرباپنم‌ها از جمله آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتامی وسیع‌الطیف، مؤثر بر باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت به شمار می‌روند. این آنتی‌بیوتیک‌ها، نسبت به سفالوسپورینازها و پنی‌سیلینازها مقاوم هستند. با این وجود، بعضی از بتالاکتامازهای گروه‌های B، A و D گروه‌بندی‌شده توسط Ambler می‌توانند کرباپنم‌ها را هیدرولیز نمایند (۱). در این میان، بتالاکتامازهای کلاس B که متالوبتالاکتاماز (MBL) خوانده می‌شوند، از آنجا که بر طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله پنی‌سیلین‌ها، سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف و کرباپنم‌ها (به استثنای مونوباکتام‌ها) مؤثرند، مشکل عمده بالینی به‌شمار می‌روند. این آنزیم‌ها به کاتیون‌های دو ظرفیتی مانند فلز روی به عنوان کوفاکتور برای فعالیت آنزیمی خود نیاز دارند (۲و۳). اولین آنزیم متالوبتالاکتاماز شناسایی‌شده، IMP-1 در *سراشیا مارسسنس* در سال ۱۹۹۱ بود. در طی دهه اخیر، انواع MBLها از جمله VIM، SPM، GIM نیز شناسایی شده‌اند (۱). *پسودوموناس آئروژینوزای* مولد MBL نیز اولین بار در ژاپن درسال ۱۹۹۱ گزارش گردید و پس از آن، در آسیا، اروپا،

*نویسنده مسئول مکاتبات: دکتر فرشته شاهچراغی؛ تهران، خیابان پاستور، انستیتو پاستور ایران، بخش میکروب‌شناسی؛ پست الکترونیک:
shahcheraghifereshteh@yahoo.com

استرالیا و آمریکا نیز مشاهده شد (۴و۵). اولین سویه حاوی ژن $bla_{VIM-1}$ نیز در ایتالیا در سال ۱۹۹۷ مشاهده شد (۶). سومین عضو این گروه، یعنی SPM-1 در برزیل در سال ۱۹۹۷ و عضو دیگر این گروه تحت عنوان آنزیم GIM در سال ۲۰۰۲ از یک نمونه کلینیکی در آلمان جداسازی شد (۱و۷).

متالوبتالاکتامازها توسط کلاوولانیک‌اسید و سولباکتام و تازوباکتام که بازدارنده‌های بتالاکتامازها هستند، مهار نمی‌شوند. بازدارنده‌های متالوبتالاکتامازها در محیط آزمایشگاه، شامل اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (EDTA)، سدیم مرکاپتو استیک اسید (SMA)، ۲ مرکاپتو پروپیونیک اسید (MPA) و دی پیکولینیک اسید (DPA) هستند. چند روش مختلف برای تشخیص آزمایشگاهی سویه‌های مولد MBL گزارش‌شده‌است. از جمله این روش‌ها، استفاده از این بازدارنده‌ها است. در این میان، استفاده از EDTA که ماده‌ای غیر سمی بوده و به راحتی قابل دسترسی است و دیسک‌های حاوی آن تا ۱۶ هفته در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد قابل نگهداری هستند، نسبت به سایر بازدارنده‌ها مناسب‌تر است (۸). استفاده از نوار Etest روش دیگر شناسایی باکتری‌های مولد MBL است که هزینه زیادی دارد و نتایج حاصل از آن نیز از تکرارپذیری کمتری برخوردار است (۹و۱۰).

*پسودوموناس آئروژینوزا* از جمله باکتری‌های مقاوم بیمارستانی است که به دلیل کاهش نفوذپذیری دارو و تولید آنزیم‌های Amp C کروموزومی دارای مقاومت بالایی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌هاست. استفاده از کرباپنم‌ها در درمان عفونت‌های ناشی از باکتری‌های مقاوم به بتالاکتام‌ها، بسیار مفید و مؤثر بوده‌است. با این وجود، مقاومت به کرباپنم‌ها در بین باکتری‌هایی چون *پسودوموناس آئروژینوزا* مشاهده شده است و به دلیل اینکه ژن‌های آنزیم‌های MBL اکثراً روی اینتگرون کلاس ۱ واقع شده‌اند، به‌راحتی بین سویه‌های مختلف انتقال می‌یابند (۱۱و۱۲)، سویه‌های مولد MBL به دلیل توانایی انتقال ژن‌ها به سایر باکتری‌ها و کلونیزه شدن طولانی‌مدت در بیمارستان‌ها تهدیدی جدی در مراکز درمانی به‌شمار می‌روند. تشخیص سریع این سویه‌ها و گزارش دقیق حضور این باکتری‌ها در بیمارستان‌ها می‌تواند باعث کنترل بهتر و مؤثرتر انتشار این سویه‌ها گردد. لذا هدف از این پژوهش، بررسی حضور آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز در سویه‌های *پسودوموناس آئروژینوزای* مقاوم به ایمی‌پنم جمع‌آوری‌شده از بیمارستان امام خمینی تهران و بررسی فراوانی ژن‌های متالوبتالاکتاماز $bla_{IMP-1}$، $bla_{VIM-1}$ و $bla_{SPM-1}$ در این ایزوله‌ها بود.

## مواد و روش‌ها

در طی سال‌های ۱۳۸۴ و ۱۳۸۵، ۲۴۳ سویه *پسودوموناس آئروژینوزا* از بیمارستان امام خمینی تهران، جمع‌آوری شده و بر اساس استانداردهای CLSI، با استفاده از روش‌های بیوشیمیایی از جمله رشد در محیط ستریمایدآگار، واکنش در محیط TSI، تست اکسیداز، کاتالاز، بررسی حرکت و تولید اندول در محیط SIM، رشد در ۴۲ درجه سانتی‌گراد، شناسایی و تأیید شدند (۱۳).

الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سفتیزوکسیم (ZOX)، آمیکاسین (AN)، جنتامایسین (GM)، سیپروفلوکساسین (CIP)، پیپراسیلین (PC)، پیپراسیلین-تازوباکتام (Pt)، سفتریاکسون (CRO)، سفوتاکسیم (CTX)، سفتازیدیم (CAZ) و ایمی‌پنم (IMP) (تهیه شده از شرکت MAST, Merseyside, UK) به روش انتشار در آگار (Kirby-Bauer) بررسی شد. سپس، MIC سویه‌های غیرحساس به سفتازیدیم و ایمی‌پنم، با استفاده از روش Microbroth dilution با توجه به پروتکل CLSI تعیین گردید. از سویه *P. aeruginosa* ATCC 27853 برای کنترل روش‌های آنتی‌بیوگرام و MIC استفاده شد. در نهایت، حساسیت سویه‌های دارای MIC≥4 µg/ml نسبت به ایمی‌پنم، کلیستین و پلی‌میکسین B تعیین گردید.

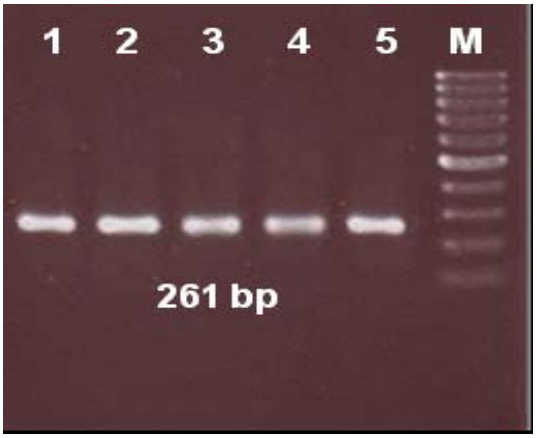
سویه‌های دارای MIC≥4 µg/ml نسبت به ایمی‌پنم با روش Double Disk Synergy Test (DDST) با استفاده از EDTA به عنوان مهارکننده آنزیم‌های MBL به منظور بررسی تولید این آنزیم‌ها مورد بررسی قرارگرفتند. به این صورت که دو دیسک ایمی‌پنم و ایمی‌پنم حاوی ۹۳۰ میکروگرم EDTA ۰/۵ M در پلیت حاوی مولر هینتون آگار کشت داده شده با باکتری با کدورت McFarland ۰/۵ قرار داده شد و پس از انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، قطر هاله عدم رشد اطراف دو دیسک اندازه‌گیری شد. تفاوت هاله عدم رشد در اطراف دو دیسک اگر برابر یا بیشتر از ۷ میلیمتر بود، باکتری مولد MBL گزارش می‌شد (۸). از آنجا که ژن‌های MBL بیشتر پلازمیدی هستند (۱۴) جهت استخراج DNA پلازمیدی سویه‌ها از کیت استخراج پلازمید (تهیه شده از شرکت (Fermentas, Vilnius, Lithuania) استفاده شد.

آزمون PCR نیز برای بررسی فراوانی ژن‌های متالوبتالاکتاماز $bla_{VIM-1}$، $bla_{IMP-1}$ و $bla_{SPM-1}$ در سویه‌های دارای MIC≥4 µg/ml نسبت به ایمی‌پنم با استفاده از پرایمرهای اختصاصی این ژن‌ها و برنامه PCR که در جدول ۱ آورده شده‌است، انجام شد (۷و۱۵). یک میکرولیتر از DNA

پلازمیدی استخراج شده به PCR master mix با حجم نهایی ۲۵ µl (هر ویال محتوی ۱/۵ میلی‌مول از $MgCl_2$ و ۲۴٪ میلی‌مول از dNTPs و ۵ پیکومول از هر پرایمر و یک واحد آنزیم Taq polymerase) اضافه گردید. از سویه *P. aeruginosa* Po510 مولد VIM-1 (۱۶) و سویه *P. aeruginosa* 16 مولد SPM-1 (۱۷) برای کنترل در آزمون PCR استفاده گردید. از مارکر 100 bp ladder (Fermentase) نیز برای تأیید وزن مولکولی محصولات تکثیرشده استفاده شد. الکتروفورز نمونه‌ها در ژل ۱٪ آگارز انجام شده و پس از رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید، نتایج، با دستگاه Gel Documentation (Vilber Lourmat, France) با نور ماورای بنفش (UV) مشاهده شد.

## یافته‌ها

از ۲۴۳ سویه *پسودوموناس آئروژینوزای* جمع‌آوری و تأییدشده به روش‌های بیوشیمیایی در این مطالعه، ۶۴ سویه مربوط به نمونه‌های تنفس، ۹۰ سویه مربوط به زخم، ۳۲ سویه مربوط به ادرار، ۱۹ سویه مربوط به خون، ۳ سویه مربوط به مدفوع، ۱ سویه مربوط به گوش، ۳ سویه مربوط به چشم و ۳۱ سویه مربوط به سایر موارد بود. کمترین و بیشترین مقاومت به ترتیب مربوط به ایمی‌پنم (۹٪) و سفتیزوکسیم (۹۷٪) بود. مقاومت به سفتازیدیم نیز در ۴۲٪ سویه‌ها مشاهده شد. میزان مقاومت به آمیکاسین (۳۵٪)، پیپراسیلین- تازوباکتام (۳۴/۵٪)، سیپروفلوکساسین (۴۱٪)، جنتاماسین (۴۲٪)، سفتازیدیم (۴۲٪)، پیپراسیلین (۵۵٪)، سفتریاکسون (۶۶/۵٪) و سفوتاکسیم (۷۰٪) بود. از مجموع نمونه‌های مورد مطالعه، ۳۴ سویه با روش انتشار در آگار نسبت به ایمی‌پنم غیرحساس (مقاوم و حد واسط) بودند که از این میان، ۲۸ سویه، MIC≥4 µg/ml نسبت به این آنتی‌بیوتیک نشان دادند. از این تعداد، ۱۶ نمونه تنفسی و ۷ نمونه از عفونت‌های زخمی و بقیه از سایر عفونت‌ها مانند ادرار و نمونه‌های بافتی جدا شده بود. تمامی این ۲۸ سویه به منظور تشخیص سویه‌های مولد MBL به روش DDST بررسی شدند که ۷۸٪ (۲۲ سویه) از آنها MBL مثبت بودند. نتایج حاصل از آزمون PCR نیز نشان داد که ۱۵ سویه از ۲۸ سویه مورد بررسی (۵۴٪)، حاوی ژن $bla_{VIM-1}$ بودند (شکل۱) که ۱۰ سویه از آنها از نمونه‌های تنفسی و ۵ سویه از عفونت‌های زخم بودند.




**شکل ۱- الکتروفورز ژل آگارز محصول PCR ژن $bla_{VIM-1}$**

MIC ایمی‌پنم یک سویه، ۸؛ ۱۰ سویه، ۱۶؛ و ۴ سویه، ۳۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. از این ۱۵ سویه، ۱۲ سویه به روش DDST مولد آنزیم MBL بوده که با نتایج PCR مطابقت داشت. تنها ۳ سویه با این روش منفی شدند. این ۱۵ سویه نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه مقاومت نشان‌دادند. اما تمامی سویه‌ها نسبت به کلیستین و پلی میکسین B حساسیت نشان دادند. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده ژن‌های $bla_{IMP-1}$ و $bla_{SPM-1}$ در هیچکدام از سویه‌های مورد بررسی، مشاهده نشد.

**جدول ۱- توالی پرایمرها و دماهای مورد استفاده در آزمون PCR ژن‌های $bla_{VIM-1}$، $bla_{IMP-1}$، $bla_{SPM-1}$**

| Primer Name | Sequence (5' to 3') | PCR | | | Cycles | Gene (Product Size) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Denaturation | Annealing | Extension | | |
| **VIM-1** | AGTGGTGAGTATCCGACAG<br>ATGAAAGTGCGTGGAGAC | | | | | $bla_{VIM-1}$ (261 bp) |
| **IMP-1** | ACC GCA GCA GAG TCT TTG CC<br>ACA ACC AGT TTT GCC TTA CC | 94˚C<br>1 min | 55˚C<br>1 min | 72˚C<br>1.5 min | 30 | $bla_{IMP-1}$ (587 bp) |
| **SPM-1** | GCG TTT TGT TTG TTG CTC<br>TTG GGG ATG TGA GAC TAC | | | | | $bla_{SPM-1}$ (786 bp) |

## بحث

متالوبتالاکتامازها به دلیل ایجاد مقاومت به کرباپنم‌ها که از مؤثرترین آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده علیه عفونت‌های پسودوموناییی هستند، بسیار حائز اهمیت می‌باشند. به دلیل مقاومت بالای باکتری‌های مولد این آنزیم‌ها و شکست آنتی‌بیوتیک‌درمانی و ایجاد عفونت‌های شدید مانند سپتی‌سمی و پنومونی، خطر مرگ و میر ناشی از حضور این سویه‌ها نسبت به سایر باکتری‌های مقاوم به ایمی‌پنم در عفونت‌های بیمارستانی بیشتر است (۱۱). بررسی و تشخیص سریع این آنزیم‌ها در باکتری‌های مقاوم به کرباپنم‌ها به ویژه ایمی‌پنم هم از لحاظ اپیدمیولوژیک و هم به منظور کمک به پزشکان معالج در انتخاب آنتی‌بیوتیک مناسب برای درمان موفق بیماران و نیز برای کنترل سویه‌های مقاوم به داروها و جلوگیری از انتشار چنین عفونت‌هایی در بیمارستان‌ها لازم به نظر می‌رسد. از آنجا که ژن‌های این آنزیم‌ها در عناصر قابل انتقال از جمله پلازمیدها و اینتگرون‌ها واقع شده‌اند، به راحتی می‌توانند بین سویه‌های مختلف یک باکتری و حتی باکتری‌های مختلف انتقال یابند؛ به‌طوری‌که در مطالعه‌ای که در بیمارستان‌های ژاپن، ایتالیا و کلمبیا انجام شده است، بدون مصرف قبلی کرباپنم‌ها نیز *پسودوموناس‌های* مولد IMP و VIM مشاهده شده است که بیانگر انتقال این ژن بین سویه‌های مختلف است (۱۱و۱۲و۱۷). سویه‌های دارای این ژن‌ها به دلیل پیوستگی ژنتیکی، به خانواده مختلف آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله سولفانامیدها، کینولون‌ها و آمینوگلیکوزیدها نیز مقاومت نشان می‌دهند (۱). از طرف دیگر مکانیزم‌های دیگر شایع در *پسودوموناس آئروژینوزا* مانند efflux pumps و AmpC کروموزومی نیز می‌تواند به طور هم‌زمان در ایجاد مقاومت این باکتری به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف نقش داشته باشد. نتایج حاصل از این بررسی نیز نشان می‌دهند که ۱۳ سویه از ۱۵ سویه VIM مثبت به روش PCR مقاومت ۱۰۰٪ به آنتی بیوتیک‌های مورد مطالعه، نشان دادند. اما خوشبختانه تمامی این سویه‌ها به کلیستین و پلی‌میکسین B حساسیت نشان دادند.

تاکنون روش‌های مختلفی برای شناسایی سویه‌های مولد آنزیم‌های MBL به کار رفته است. در این بررسی نیز از EDTA که یک بازدارنده متالوبتالاکتامازی است، برای تشخیص به روش DDST استفاده شد. استفاده از این روش، ساده بوده، به راحتی قابل تفسیر است و مشکلات سایر بازدارنده‌های MBL مانند سمی‌بودن ۲- مرکاپتو پروپیونیک اسید، گران بودن قیمت و تغییرپذیربودن Etest را ندارد و از حساسیت بالایی نیز برخوردار است (۸). با این حال، به دلیل سطوح متفاوت وجود پروتئین غشای خارجی Opr D که منجر به نتایج مثبت کاذب در این تست می‌شود و نیز به دلیل وجود ژن‌های متفاوت MBL در سویه‌ها، همزمان با آزمون فنوتیپی DDST، انجام PCR این ژن‌ها نیز لازم به نظر می‌رسد.

در مطالعه‌ای که در کشور کره در سال‌های ۲۰۰۳ و ۲۰۰۵، و در ایتالیا در سال ۲۰۰۴ انجام شد، متالوبتالاکتاماز VIM از جمله متالوبتالاکتامازهای مهم در باکتری *پسودوموناس آئروژینوزا* بوده و نسبت به سایر MBLها نیز از فراوانی بیشتری برخوردار بوده است (۲۰-۱۸). در این مطالعه نیز از میان ژن‌های مورد بررسی، تنها ژن $bla_{VIM-1}$ در سویه‌های *پسودوموناس آئروژینوزای* مورد مطالعه یافت شد؛ به طوری‌که ۱۵ نمونه از ۲۸ نمونه دارای MIC≥4 µg/ml نسبت به ایمی‌پنم حاوی این ژن بودند. این نتایج همچنین با نتایجی که توسط خسروی و همکاران در اهواز بر روی سویه‌های *پسودوموناس آئروژینوزای* جداشده از عفونت‌های سوختگی صورت گرفته است، مطابقت دارد (۲۱). بنابراین به نظر می‌رسد از میان متالوبتالاکتامازها، VIM-1، آنزیم غالب در سویه‌های ایزوله‌شده در ایران باشد. همچنین در بررسی که توسط شاهچراغی و همکارانش بر روی سویه‌های *پسودوموناس آئروژینوزای* جداشده از بیمارستان سوانح و سوختگی کرمان صورت گرفت، هیچ سویه مولد MBL مشاهده نشد (۲۲). از این ۲۸ سویه، ۳ سویه (۱۰٪) نیز با هر دو روش DDST و PCR ژن VIM-1 منفی بودند؛ که می‌تواند بیانگر مقاومت از طریق سایر ژن‌های MBL و یا در سویه‌هایی که مولد MBL نیستند، وجود efflux pumps و تغییر در نفوذپذیری غشا مانند فقدان Opr D و یا وجود بتالاکتاماز Amp C کروموزومی باشد (۲۳). ۳ نمونه از ۱۵ نمونه حاوی ژن $bla_{VIM-1}$ نیز با روش DDST منفی بود که نشان‌دهنده نتایج منفی کاذب در این روش است. در سال ۲۰۰۷ در ژاپن نیز تعداد سویه‌هایی که به روش DDST جزو سویه‌های مولد MBL شناسایی شدند، با تعداد نمونه‌های مثبت به روش PCR ژن متالوبتالاکتاماز IMP یکسان نبودند؛ به طوری که ۴ سویه به روش DDST، منفی ولی به روش PCR، مثبت گزارش شدند (۲۴).

## نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج این مطالعه، میزان سویه‌های مقاوم به پیپراسیلین نسبت به پیپراسیلین همراه با تازوباکتام که مهارکننده بتالاکتامازها است، بیشتر می‌باشد که دلیل بر حضور آنزیم ESBL در سویه‌های مقاوم است. در مطالعه‌ای که در کلمبیا صورت گرفته، نشان داده شد که استفاده کلینیکی از آزترونام به همراه پیپراسیلین- تازوباکتام موجب درمان بسیاری از بیماران عفونی شده است (۱۸). همانطور که اشاره شد، از آنجا که بیشتر اینتگرون‌های حاوی ژن‌های متالوبتالاکتاماز VIM و IMP، آنزیم‌های تغییردهنده آمینوگلیکوزیدها را نیز کد می‌کنند، درمان عفونت‌های ناشی از باکتری‌های حاوی این ژن‌ها به دلیل فقدان آنتی‌میکروب جدیدی که طیف درمان وسیعی را داشته باشد، مشکلات عمده‌ای را ایجاد می‌کند. لذا شناسایی سریع و ردیابی سویه‌های مولد این آنزیم‌ها می‌تواند گامی مهم و اساسی در درمان عفونت‌های ناشی از این سویه‌ها به شمار رود.

## تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از جناب آقای پروفسور Patrice Nordmann (بیمارستان Bicetre، پاریس) که در تهیه سویه‌های استاندارد با ما همکاری نمودند کمال تشکر و قدردانی می‌شود.

## *REFERENCES*

1. Nordmann P, Poirel L. Emerging carbapenemases in gram negative aerobes. Clin Microbiol Infect 2002;8(6):321-31.

2. Senda K, Arakawa Y, Lchiyama S, Nakashima K, Ito H, Ohsuka S, et al. PCR detection of metallo-beta-lactamase gene ($bla_{IMP}$) in gram-negative rods resistant to broad-spectrum beta-lactams. J Clin Microbiol 1996;34(12):2909-13.

3. 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(2):349-53.

4. 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(5):701-3.

5. Henrichfreise B, Wiegand I, Sherwood KJ, Wiedemann B. Detection of VIM-2 metallo-beta-lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* from Germany. Antimicrob Agents Chemother 2005;49(4):1668-9.

6. Lauretti L, Riccio ML, Mazzariol A, Cornaglia G, Amicosante G, Fontana R, et al. Cloning and characterization of *bla*VIM, a new integron-borne metallo-beta-lactamase gene from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate. Antimicrob. Agents Chemother 1999;43(7):1584–90.

7. Poirel L, Magalhaes M, Lopes M, Nordmann P. Molecular analysis of metallo-beta-lactamase gene *bla*(SPM-1)-surrounding sequences from disseminated *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Recife, Brazil. Antimicrob Agents Chemother 2004;48(4):1406-9.

8. 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.

9. Walsh TR, Bolmström A, Qwärnström A, Gales A. Evaluation of a new Etest for detecting metallo-beta-lactamases in routine clinical testing. J Clin Microbiol 2002;40(8):2755-9.

10. Yan JJ, Wu JJ, Tsai SH, Chuang CL. Comparison of the double-disk, combined disk, and Etest methods for detecting metallo-beta-lactamases in gram-negative bacilli. Diagn Microbiol Infect Dis 2004;49(1):5-11.

11. Cornaglia G, Mazzariol A, Lauretti L, Rossolini GM, Fontana R. Hospital outbreak of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing VIM-1, a novel transferable metallo-beta-lactamase. Clin Infect Dis 2000;31(5):1119-25.

12. Yatsuyanagi J, Saito S, Harata S, Suzuki N, Ito Y, Amano K, et al. Class 1 integron containing metallo-beta-lactamase gene *bla*VIM-2 in *Pseudomonas aeruginosa* clinical strains isolated in Japan. Antimicrob Agents Chemother 2004;48(2):626-8.

13. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. 11th ed. Missouri: Mosby Company; 2002; p.389-91.

14. Yan JJ, Hsueh PR, Ko WC, Luh KT, Tsai SH, Wu HM, et al. Metallo-beta-lactamases in clinical Pseudomonas isolates in Taiwan and identification of VIM-3, a novel variant of the VIM-2 enzyme. Antimicrob Agents Chemother 2001;45(8):2224-8.

15. 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.

16. Corvec S, Poirel L, Decousser JW, Allouch PY, Drugeon H, Nordmann P. Emergence of carbapenem-hydrolysing metallo-beta-lactamase VIM-1 in *Pseudomonas aeruginosa* isolates in France**.** Clin Microbiol Infect 2006;12(9):941-2.

17. Crespo MP, Woodford N, Sinclair A, Kaufmann ME, Turton J, Glover J, et al. Outbreak of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing VIM-8, a novel metallo-beta-lactamase, in a tertiary care center in Cali, Colombia. J Clin Microbiol 2004;42(11):5094-101.

18. 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.

19. 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(4):355-9.

20. Lee K, Lee WG, Uh Y, Ha GY, Cho J, Chong Y,et al. VIM- and IMP-type metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas spp.* and *Acinetobacter spp.* in Korean hospitals. Emerg Infect Dis 2003;9(7):868–71.

21. Mihani F, Khosravi A. Isolation of *Pseudomonas aeruginosa* strains producing metallo beta lactamases from infections in burned patients and identification of $bla_{\mathrm{IMP}}$ and $bla_{\mathrm{VIM}}$ genes by PCR. Iranian J Med Microbiol 2007;1(1):23-31. (Full Text in Persian)

22. Shakibaie MR, Shahcheraghi F, Hashemi A, Adeli S. Detection of TEM, SHV and PER type extended-spectrum clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burnt patients at Shafa hospital, Kerman, Iran. Iranian J Basic Medical Sciences 2008;11(2):104-111.

23. Pai H, Kim J, Kim J, Lee JH, Choe KW, Gotoh N. Carbapenem resistance mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. Antimicrob Agents Chemother 2001;45(2): 480-4.

24. Ohara M, Kouda S, Onodera M, Fujiue Y, Sasaki M, Kohara T, et al. Molecular characterization of imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in Hiroshima, Japan. Microbiol Immunol 2007;51(3):271-7.