Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences and Health Services
Vol. 38, No. 1, Apr. – May. 2016, Pages: 56-61

Study of *IMP* Type Β-Lactamase Gene's Frequency in Escherichia Coli Isolates Collected from Patients at Educational Hospital (Imam Reza and Shohada), Tabriz, 2013

Seed Saeid Agilzadeh[1], Haedeh Mobaiyen[2]*

[1]Department of Microbiology, Uremia Branch, Islamic Azad University, Uremia, IRAN
[2]Department of Microbiology, School of Medicine, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, IRAN

Received: 30 Jun, 2014 Accepted: 8 Oct, 2014

Abstract

Background & Objectives: Antibiotic resistance is one of the most problems in microbial infection control. Production of β-lactamases can lead to resistance against the third generation cephalosporins and carbapenems. This study was conducted to evaluate the antibiotic sensitivity profiles and the presence of bla_{IMP} gene in *Escherichia coli* isolates, collected from clinical specimens in educational hospitals of Imam Reza and Shohada in Tabriz.

Materials and Methods: In this study 100 *Escherichia coli* were isolated. These isolates collected from patients in educational hospital (Imam Reza and Shohada). They were identified by using conventional bacteriologic tests. Antimicrobial susceptibility test was performed according to Kirby-Bauer method. Confirmatory test for production of metallo- β-lactamase was also performed by using Modified Hodge test (MHT). bla_{IMP} gene was detected by using PCR technique.

Results: Results of antibiotic susceptibility tests revealed that the resistance rate against imipenem, meropenem, ertapenem, gentamycin, ciprofloxacin, ceftazidime, nalidixic acid, ceftriaxone and cefepime were 3%, 3%,4%, 44%, 69%, 64%, 79%, 68% and 53%, respectively. Result of MHT test revealed that 3% (3) isolates were metallo-β-lactamase producers. PCR amplification revealed that 5% (5) of isolates carried bla_{IMP} gene.

Conclusion: According to the more than 60% resistance of isolates from medical educational centers to the third generation cephalosporins and fluoroquinolone. In this study, we pose a consumption of carbapenemes as an alternative for serious bacterial infections. Even limited carbapenemase inducing resistance must raise awareness among hospital infectious control staff.

Keyword: *Escherichia coli*, Modified Hodge test (MHT), bla_{IMP}, Polymerase chain reaction (PCR)

*Corresponding author:
E-mail: drhmobaiyen@iaut.ac.ir

Citation: Agilzadeh SS, Mobaiyen H. Study of *IMP* Type Β-Lactamase Gene's Frequency in Escherichia Coli Isolates Collected from Patients at Educational Hospital (Imam Reza and Shohada), Tabriz, 2013. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2016;38(1):56-61.

مقاله پژوهشی

فراوانی ژن بتالاکتامازی تیپ bla_{IMP} در ایزوله های اشریشیاکلی جدا شده از بیماران، در مرکز آموزشی درمانی امام رضا(ع) و شهداء تبریز، سال ۱۳۹۲

سید سعید عقیل زاده[۱]، هایده مبین[۲*]

[۱] گروه میکروبیولوژی، واحد اورمیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران
[۲] گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

دریافت: ۹۳/۴/۹ پذیرش: ۹۳/۷/۱۶

چکیده

زمینه و اهداف: یکی از مشکلات عمده در کنترل عفونت‌های میکروبی بروز مقاومت دارویی می‌باشد. تولید متالوبتالاکتامازها سبب ایجاد مقاومت نسبت به سفالوسپورین‌های نسل سوم و کارباپنم‌ها می‌گردد. این مطالعه جهت بررسی الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی و بررسی حضور ژن bla_{IMP} در ایزوله‌های *اشریشیاکلی* جداسازی شده از مراکز آموزشی و درمانی شهر تبریز (امام رضا و شهداء) انجام شد.

مواد و روش‌ها: برای انجام این تحقیق ۱۰۰ ایزوله اشریشیاکلی از بیماران مرکز آموزشی درمانی امام رضا (ع) و شهداء تبریز جمع‌آوری شد و برای تعیین مقاومت ایزوله‌ها، تست آنتی‌بیوگرام با روش کربی – باوئر انجام گرفت. ایزوله‌های تولید کننده متالوبتالاکتاماز با روش فنوتیپی Modified Hodge test (MHT) شناسایی گردیدند. با روش PCR وجود ژن bla_{IMP} در ایزوله‌ها مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: الگوی‌های حساسیت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها نشان داد که میزان مقاومت نسبت به ایمی‌پنم، مروپنم، ارتاپنم، جنتامایسین، سیپروفلوکساسین، سفتازیدیم، نالیدیکسیک اسید، سفتریاکسون و سفیپم به ترتیب ۳٪، ۳٪، ۴٪، ۴۴٪، ۶۹٪، ۶۴٪، ۷۹٪، ۶۸٪، و ۵۳٪ بود. نتایج MHT نشان داد که ۳ ایزوله (۳٪) متا لوبتالاکتاماز مثبت هستند. براساس نتایج PCR که بر روی تمام ایزوله‌ها صورت گرفت در ۵ ایزوله (۵٪) ژن IMP مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: بروز مقاومت بیش از ۶۰٪ در مقابل سفالوسپورین‌های نسل سوم و فلوئورکینولون‌ها، در ایزوله‌های جدا شده از مراکز آموزشی درمانی مورد مطالعه، مصرف کارباپنم‌ها بعنوان جایگزین برای عفونت‌های جدی باکتریایی را مطرح می‌کند که بروز مقاومت بدلیل تولید کارباپنمازها، هر چند در سطح پایین، هشداری بر مسئولین کنترل عفونت این بیمارستان‌ها می‌باشد.

کلید واژه‌ها: *اشریشیاکلی*، تست تغییر یافته Hodge، بتا لاکتاماز IMP، واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR)

* ایمیل نویسنده رابط: drhmobaiyen@iaut.ac.ir

مقدمه

حضور آنزیم‌های بتالاکتاماز در باکتری‌ها باعث پیدایش مقاومت در بسیاری از آنها به ویژه باکتری‌های ایجاد کننده عفونت‌های مرکز بیمارستانی شده و در نتیجه درمان عفونت های حاصل از آنها را با مشکلات جدی روبه رو ساخته است (۱). این آنزیم‌ها که بسیاری از آنها بتالاکتاماز با طیف اثر گسترده (ESBLs) نامیده می‌شوند، به چهار گروه اصلی A تا D تقسیم می‌شوند. گروه A سبب هیدرولیز پنی‌سیلین و سفالوسپورین‌های با طیف اثر کم و وسیع می‌شوند، شامل *TEM-1*، ۲ *TEM*، *SHV-1* و غیره ... بوده و تاکنون در باکتری‌هایی مانند *اشریشیاکلی* و *کلبسیلاپنومونیه* شناسایی شده‌اند. گروه B، شامل متالوبتالاکتامازهای وابسته به روی (Zn) می‌باشند که قادر به هیدرولیز کارباپنم‌ها بوده

و در باکتری‌هایی مانند *سودوموناس آئروجینوزوا* و *سراشیا مارسی سنس* گزارش شده است. گروه C، که از آنها می‌توان *AmpC* ها را نام برد، قادر به تجزیه سفومایسین‌ها می باشند و گروه D، بتالاکتامازهای با قدرت هیدرولیز زیاد مانند *OXA* علیه اکساسیلین و کلوکساسین بوده و اسید کلاولانیک به طور ضعیف از فعالیت آنها جلوگیری می‌کند (۲). ایمی‌پنم متعلق به داروهای بتالاکتام به نام کاربا‌پنم‌ها می‌باشد، که به آنزیم‌های بتالاکتاماز مقاوم بوده و در درمان عفونت های حاصل از باکتری‌های تولید کننده ESBLs و *AmpC* به کار می‌رود، اما ظهور آنزیم‌های بتالاکتاماز که گروهی از آنها متالوبتالاکتاماز نامیده می‌شود و در گروه B از آنزیم‌های بتالاکتاماز قرار دارد، باعث بروز مقاومت به این آنتی‌بیوتیک‌ها شده است (۳،۴).

متالوبتالاکتامازها آنزیم‌هایی هستند که توسط کروموزوم و یا پلاسمیدها کد می‌شوند و روی طیف وسیعی از داروهای بتالاکتام به ویژه کاربا‌پنم‌ها اثر گذاشته و باعث هیدرولیز آنها می‌شوند. این آنزیم‌ها در شرایط *in-vitro* توسط شلاتورهای فلزی مانند EDTA (اتیلن دی آمین تراسیداستیک) و سدیم مرکاپتواستیک اسید مهار می‌گردند، اما توسط مهارکننده‌هایی مانند اسید برونیک و اسید کلاولانیک مهار نمی‌شوند (۵). معرفی کاربا‌پنم‌ها به دنیای پزشکی به دلیل طیف وسیع فعالیت و پایداری آنها در برابر اکثر آنزیم‌های بتالاکتاماز یک موفقیت بزرگ در درمان عفونت‌های جدی باکتریایی مقاوم به بتالاکتام‌ها محسوب می‌شود (۶). مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های این کلاس از داروهای بتالاکتام توسط آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز یکی از عوامل اصلی مقاومت به کاربا‌پنم‌ها می‌باشد. لذا بررسی شیوع مقاومت نسبت به این آنتی‌بیوتیک‌ها توسط متالوبتالاکتامازها در سویه‌های *اشریشیاکلی*، *کلبسیلاپنومونیه* و *سودوموناس آئروجینوزوا* که جزئی از فلور طبیعی بدن بوده و نقش مهمی در ایجاد عفونت‌ها به ویژه عفونت‌های بیمارستانی دارند، اهمیت دارد. بنابراین این مطالعه در نظر دارد مقاومت نسبت به کاربا‌پنم‌ها را با روش دیسک آگار دیفیوژن، تست تغییر یافته Hogde و PCR بررسی نماید.

مواد و روش ها

جمع آوری نمونه ها و اطلاعات دموگرافیک

در این مطالعه تعداد ۱۰۰ ایزوله اشریشیاکلی از بیماران در مرکز آموزشی درمانی امام رضا (ع) و شهداء تبریز در یک دوره ۶ ماهه جمع‌آوری شد، نمونه‌های بالینی مختلف شامل ادرار، خون، کاتتر، زخم، مایعات بدن و ترشحات تنفسی بود سپس اطلاعات بیماران با تهیه چک لیستی که شامل نام، جنسیت، سن و علت بستری بود گردآوری گردید. در آزمایشگاه با استفاده از روش‌های روتین آزمایشگاهی، باکتری‌ها با خصوصیات بیوشیمیایی شناسایی و جهت انجام تست‌های بعدی در محیط کشت مایع Tryptic Soy Broth حاوی گلیسرول به مقدار ۲۰٪ در دمای ۷۰- نگهداری شدند.

تست حساسیت آنتی بیوتیکی

سنجش مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها با روش استاندارد دیسک آگار دیفیوژن (Kirby- Baur) طبق دستور العمل CLSI صورت گرفت (۷). دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی مورد استفاده در این تحقیق شامل: ایمی‌پنم (۱۰µ)، مروپنم (۱۰µ)، ارتاپنم (۱۰µ) از شرکت MAST، جنتامایسین (۱۰µ)، نالیدیکسیک اسید (۳۰µ)، سفتازیدیم (۳۰µ)، سیپروفلوکساسیلین (۵µ)، سفتریاکسون (۳۰µ) و سفیپیم (۳۰µ) از شرکت پادتن طب خریداری شدند.

شناسایی فنوتیپی ایزوله های مولد بتالاکتاماز

جهت شناسایی ایزوله‌های تولید کننده متالوبتالاکتامازها از تست تغییر یافته Hodge استفاده شد. برای انجام این تست ابتدا از سویه *E.coli ATCC 25922* که سویه حساس به ایمی‌پنم می‌باشد، سوسپانسیونی معادل با استاندارد نیم مک فارلند تهیه شد و سپس بر روی محیط مولر هینتون آگار پخش شد. بعد از چند دقیقه یک دیسک ایمیپنم ۱۰µg در وسط پلیت قرار داده شد، سپس از ایزوله‌های مورد آزمایش سوسپانسیونی معادل نیم مک فارلند تهیه و از لبه پلیت تا نزدیکی دیسک در سه قسمت پلیت کشت داده شد و به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷° C قرار داده شد. پیدایش ساختار برگ شبدری نشان دهنده مثبت بودن تولید آنزیم‌های هیدرولیز کننده کاربا‌پنم شامل متالوبتالاکتاماز و کاربا‌پنماز بود (۸، ۹ و ۱۰).

شناسایی ژنوتیپی ایزوله‌های مولد متالوبتالاکتاماز

ابتدا با استفاده از روش فنل کلروفرم از نمونه‌های باکتریایی استخراج DNA به عمل آمد. تست PCR جهت شناسایی ژن بتالاکتامازی bla_{IMP} (۵۸۷bp) توسط پرایمرهای IMP با توالی نوکلئوتیدی و مراحل ارائه شده در جدول ۱ انجام شد (۱۱). ضمناً از سویه *Pseudomonas aeruginosa* JX 648311 ثبت شده در NCBI به عنوان سویه کنترل مثبت استفاده کردیم.

جدول ۱: مراحل **PCR**

مراحل	دما (C°)	زمان(s)
واسرشته سازی آغازی	۹۴	۳۰۰
واسرشته سازی در هر چرخه	۹۴	۶۰
اتصال آغازگر	۴۹/۷	۶۰
پلیمریزه شدن آغازگر	۷۲	۶۰
پلیمریزه شدن نهایی	۷۲	۳۰۰

روشهای آماری

جمع‌آوری نمونه‌ها به طور تصادفی در مدت شش ماه انجام گرفت، تجزیه و تحلیل نتایج با استفاده از آزمون کای- اسکوئر با استفاده از نرم‌افزار Spss.19 انجام گرفت و فراوانی ایزوله‌های مقاوم بصورت درصد تعیین شد.

یافته‌ها

از ۱۰۰بیمار بستری و سرپایی تحت مطالعه ۵۷٪ زن و ۴۳٪مرد بودند. نمونه‌های مورد بررسی از ادرار (۶۰٪)، خون (۱۰٪)، کاتتر (۳٪)، زخم (۸٪)، مایعات بدن (۷٪)، ترشحات تنفسی (۱۰٪) و سایر نمونه‌ها (۲٪) بود. همچنین نمونه‌ها از بخش-های مختلف مرکز آموزشی درمانی شامل داخلی کلیه (۱۵٪)، اورولوژی (۱۵٪)، عفونی (۱۷٪)، پیوندکلیه (۵ ٪)، داخلی ریه (۴٪)، داخلی گوارش (۲٪)، اعصاب (۲٪)، اتاق عمل (۴٪) و ICU (۱۲٪) و بیماران سرپایی مراجعه کننده به آزمایشگاه (۲۴٪) بود. براساس نتایج دیسک دیفیوژن آگار ۹۷ ایزوله حساس به ایمی‌پنم و ۳ ایزوله (نمونه‌های ۴۵، ۵۴ و ۶۲) مقاوم به ایمی‌پنم بودند که نمونه ۴۵ از بیمار ۶۰ ساله بستری در بخش عفونی و جدا شده از نمونه خون بود، نمونه ۵۴ از بیمار ۷۰ ساله بستری در بخش ICU عمومی و از مایعات بدن و همچنین نمونه ۶۲ از ادرار بیمار ۶۳ ساله بستری در بخش داخلی کلیه بدست آمد.

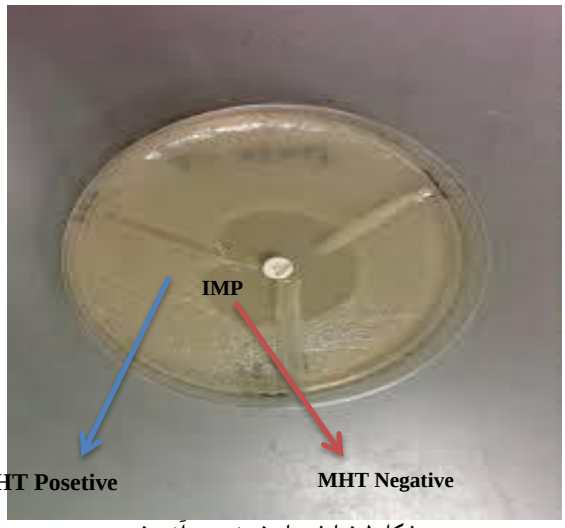
مقاومت آنتی بیوتیکی

نتایج تست حساسیت به آنتی‌بیوتیک های آزمایشی در جدول ۲ نشان داده شده است. آزمون Hodge بر روی ۱۰۰ ایزوله صورت گرفت، در ۳ نمونه ساختار برگ شبدری مشاهده شد که بیانگر متالوبتالاکتاماز در نمونه‌ها است که در شکل ۱ نشان داده شده است.

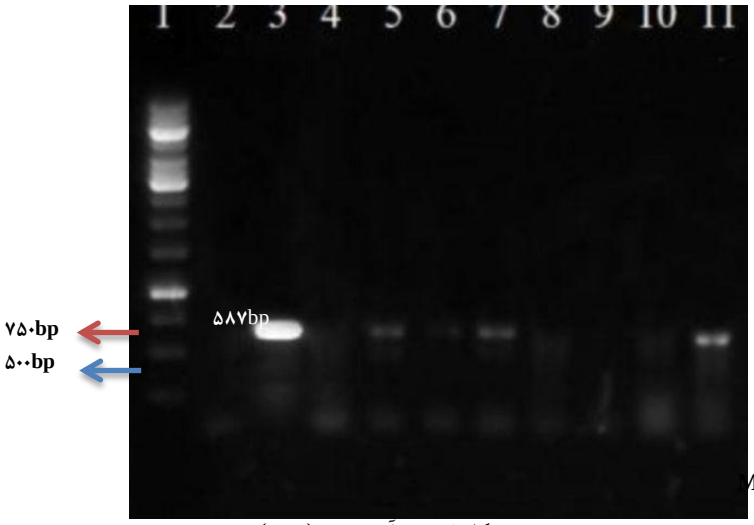
بر روی تمامی ایزوله‌ها PCR انجام شد. که در۵ ایزوله (۵٪) (نمونه‌های ۲، ۴، ۹، ۴۳ و ۴۵) ژن *IMP* شناسایی شد. نمونه ۲ از ادرار فرد ۳۲ ساله بستری در بخش اورولوژی، نمونه ۴ از ادرار فرد ۸۱ ساله مراجعه به آزمایشگاه، نمونه ۹ از کشت زخم فرد ۷۳ ساله بستری در بخش پیوند کلیه، نمونه ۴۳ از کشت زخم فرد ۷۵ ساله بستری در بخش عفونی و نمونه ۴۵ از کشت خون فرد ۶۰ ساله بستری در بخش عفونی بودند. در این تحقیق از سویه *Pseudomonas aeruginosoa JX 648311* به عنوان کنترل مثبت ژن *IMP* استفاده شد (شکل ۲). مقایسه نتایج دیسک ایمی‌پنم با نتایج MHT نشان داد که در ۹۷ ایزوله‌ای که به ایمی‌پنم حساس بودند MHT ایزوله‌ها منفی مشاهده شد، همچنین از ۱۰۰ ایزوله مورد آزمایش در MHT، ۳ ایزوله و در PCR، ۵ ایزوله مثبت مشاهده شد. با توجه به این که تست فنوتیپی یک تست ساده و کم هزینه است، ولی روش کافی و دقیقی برای شناسایی متالوبتالاکتامازها نمی‌باشد، باید از روش‌های مولکولی استفاده کرد.

جدول ۲: فراوانی (درصد) ایزوله‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف

فراوانی	ایمی پنم	مروپنم	ارتاپنم	جنتامایسین	سیپروفلوکساسین	نالیدیکسیک	سفتریاکسون	سفپیم	سفتازیدیم
مقاوم	۳	۳	۴	۴۴	۶۹	۷۹	۶۸	۵۳	۶۴
حد وسط	۰	۰	۵	۱۶	۲۰	۱۴	۲۰	۱۹	۱۸
حساس	۹۷	۹۷	۹۱	۴۰	۱۱	۷	۱۲	۲۸	۱۸



شکل ۱: نمایش پاسخ مثبت درآزمون



شکل۲: نتیجه آزمون ژن(۵۸۷)

چاهک شماره ۱- ؛ ۲- کنترل منفی؛ ۳- کنترل مثبت،
۴- چاهک‌های شماره ۴و۶ و ۸ و ۱۰ ایزوله‌های فاقدژن
۵- چاهک‌های شماره ۵ و۷ و ۱۱ ایزوله‌های دارای ژن

بحث

کارباپنم‌ها (ایمی‌پنم، مروپنم، بیاپنم و ارتاپنم) کلاس مهمی از داروهای بتالاکتام می‌باشند که در برابر بتالاکتامازها مقاوم هستند. این داروها، در درمان عفونت‌های حاصل از باکتری‌های تولید کننده آنزیم‌های ESBLs و AmpC که قادر به هیدرولیز پنی‌سیلین-ها و سفالوسپورین‌ها می‌باشند، بکار می‌رود. بروز مقاومت به این آنتی‌بیوتیک‌ها در بین باکتری‌ها یک تهدید جدی در درمان عفونت‌های حاصل از آنها می‌باشند.

درتحقیق حاضر از ۱۰۰ ایزوله اشرشیاکلی مورد بررسی، به ترتیب ۳٪ و ۶۴٪ ایزوله‌ها نسبت به ایمی‌پنم و سفتازیدیم مقاومت نشان دادند. در تحقیقی که Mirsalehian و همکاران در سال ۸۷ انجام دادند ۹۱٪/۲ ایزوله‌ها مقاوم به ایمی‌پنم و ۶۴٪ مقاوم به سفتازیدیم بود. نتایج بدست آمده از این تحقیق، با نتایج تحقیق ایشان مطابقت دارد. در ارتباط با دلایل این امر می‌توان به شباهت نمونه‌های اخذ شده و پروتکل درمانی به کار رفته در مرکز آموزشی درمانی اشاره کرد. همچنین در مطالعه Mirsalehian مقاومت نسبت به سیپروفلوکساسین و جنتامایسین به ترتیب ۸۰٪ و۶۳٪ بود که با نتایج حاصل از این تحقیق که در مورد مقاومت نسبت به سیپروفلوکساسین و جنتامایسین به ترتیب ۶۹٪ و ۴۴٪ بود مطابقت ندارد (۱۲).

در تحقیق Yazdi و همکاران در سال ۸۹، مقاومت نسبت به ایمی‌پنم، سفتازیدیم و نالیدیکسیک اسید به ترتیب ۸٪، ٪ و۵۰٪ گزارش شده است (۱۳)، که با نتایج تحقیق حاصل در مورد مقاومت نسبت به ایمی‌پنم، سفتازیدیم و نالیدیکسیک اسید به ترتیب ۳٪، ۶۴٪ و ۷۹ ٪ بود مطابقت ندارد که علت آن را می‌توان به فشار انتخابی ناشی از مصرف داروهای فوق نسبت داد.

Hadadi و همکاران در سال ۸۶ مقاومت نسبت به ایمی‌پنم و سفتازیدیم را به ترتیب ۸/۵٪ و ۷۰٪ گزارش کردند (۱۴)، که با نتایج حاصل از این تحقیق اختلاف کمی داشت. همچنین نتایج حاصل از این تحقیق در مورد مقاومت نسبت به ایمی‌پنم با نتایج حاصل از تحقیق Najarpeerayeh و همکاران در سال ۹۱ که مقاومت نسبت به ایمی‌پنم را ۱/۵٪ گزارش کرده بودند همخوانی نزدیکی دارد که علت آن را می‌توان به مشابهت ایزوله‌های به کار گرفته شده از بخش‌های مربوط استناد داد (۱۵).

در تحقیقی که Khorshidi و همکاران در سال ۲۰۰۹ انجام دادند، ۹۶/۱٪ ایزوله‌ها حساس به ایمی‌پنم بودند که با نتایج بدست آمده از این تحقیق همخوانی داشت (۱۶).

جهت شناسایی متالوبتالاکتامازها به صورت فنوتیپی از Hodge test که یک تست ساده و کم هزینه است استفاده می‌شود. در بررسی روش فنوتیپی MHT که در این تحقیق بر روی ۱۰۰ ایزوله مورد استفاده قرار گرفت فقط در ۳٪ از ایزوله‌ها، متالوبتالاکتاماز مثبت مشاهده شد که این نتیجه با نتایج حاصل از تحقیق Amjad و همکاران که در سال ۲۰۱۱ در پاکستان ۳۸ ٪ گزارش شده بود همخوانی ندارد و علت آن را می‌توان به متفاوت بودن مناطق جغرافیایی و همچنین استفاده وسیع از آنتی‌بیوتیک‌های گروه کارباپنم‌ها در مرکز مورد مطالعه آنها نسبت داد (۸).

در تحقیق حاضر از ۱۰۰ ایزوله اشریشیا کلی مورد بررسی ٪ ۵ایزوله‌ها (۵ ایزوله) حاوی ژن *IMP* بود. در تحقیقی که Khosravi و همکاران در سال ۲۰۰۸ در مالزی بر روی ایزوله‌های *سودو موناس آئروجینوزا* انجام دادند ۱۴ ایزوله دارای ژن *IMP* بود (۱۷). همچنین در تحقیق دیگری Doosti و همکاران در سال ۲۰۱۲ انجام دادند ژن*IMP* در ۱۰ ایزوله *سودوموناس آئروجینوزوا* مشاهده شد (۱۸). در تحقیقی که Shanthi Amudhan و همکاران در سال ۲۰۱۱ بر روی ایزوله‌های *آسیتوباکتر* انجام دادند ۲ مورد از ایزوله-ها دارای ژن *IMP* گزارش شد (۱۹). نتایج بدست آمده از این سه تحقیق با نتایج تحقیق حاضر همخوانی ندارد که علت آن را می‌توان به متفاوت بودن ایزوله‌ها و تفاوت در بخش‌های مربوط به نمونه‌برداری بیان کرد.

در تحقیق Fallah و همکاران ۶ ایزوله *سودوموناس* دارای ژن *IMP* مشاهده شد که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد (۲۰).

نتیجه‌گیری

به طور کلی ایمی‌پنم فعالیت وسیعی علیه ارگانیسم‌های گرم منفی دارد و هنوز مقاومت کمتری نسبت به آن در مقایسه با سایر آنتی‌بیوتیک‌ها وجود دارد. بهتر است در تصمیم‌گیری برای شروع درمان با این آنتی‌بیوتیک دقت بیشتری شود و از مصرف بی رویه آن بخصوص در عفونت‌های غیرجدی جلوگیری شود.

تقدیر و تشکر

بدین وسیله از جناب آقای دکتر علی هاشمی به علت در اختیار گذاشتن سویه مثبت، از پرسنل محترم آزمایشگاه دانشکده پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، سرکار خانم صنم صادقی به دلیل همکاری در مراحل اجرایی این مطالعه و همچنین از سرکار خانم حاجی زاده و خانم مونسی به دلیل کمک در جمع-آوری نمونه‌ها صمیمانه قدردانی می‌گردد.

References

1. Paterson LD. Resistance in Gram-negative *Bacteria*: *Entrobacteriaceae*. *Am J Med* 2006; **119**(6A): 20-28.
2. Jacoby AG, Munoz-price LS. Mechanisms of disease the new β-lactamase. *N Engl J Med* 2005; **325**: 380-391.
3. Jesudason MV, Kandathil AJ, Balaji V. Comparison of two methods to detect carbapenemase & metallo-β-lactamase production in clinical isolates. *Indian J Med* Res 2005; **121**: 780-789.
4. Poole K. Resistance to β-lactam antibiotics. *CMLS, Cell Mol Life Sci* 2004; **61**: 2200-2223.

5. Bush K, Jacoby G.A, Medeiros A.A. A functional classification scheme for beta – lactamases and its correlation with molecular structure, *Jour. Antimicrobial Agent and Chemothrapy* 1995; **39**(6): 1211-1233.
6. Palzkill T. Metallo-β-lactamase structure and function. Annals of the New York Academy of sciences, 2013: 91-104.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for Antimicrobial susceptibility Testing: Twenty- Third Informational Supplement. M100-S23. *CLSI* 2013; **33**(1): 875-890.
8. Amjad A, Mirza IA, Abbasi SA. Modified Hodge test: Asimple and effective test for detection of carbapenemse production. *Iranian Journal of Microbiology* 2011; **3**(4): 189-193.
9. Fam N, Diab M, Helmi H. Phenotypic Detection of Metallo-β-lactamases and Extended Spectrum β-lactamses Among Gram Negative Bacterial clinical Isolates, *Egyptian Journal of Medical Microbiology* 2006; **15**(4): 719-730.
10. Girlich D¸ Poirel L¸ Nordman P**.** value of the modified hodge test for detection of emerging carbapenemases in Entrobacteriaceae. *Journal of Clinical Microbiology* 2011; **50**(2): 477-479.
11. Wei H, Glin C. Relevance of Resistance levels to carbapenems and integron- borne blaIMP$_{-1}$, *bla*$_{IMP-7}$, *bla*$_{IMP-10}$ and *bla*$_{VIM-2}$, in clinical isolate of *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of medical Microbiology* 2009*;* **58**: 1080-1085.
12. Mirsalehian A, Jabalameli F, Mirafshar S.A, Gorjipor A, Goli H.R. Determination of antimicrobial resistance patterns and extended spectrum β lactamases in clinical isolates of E. coli. *Tehran University Medical Journal* 2008; **66**(6): 373-378.
13. Yazdi M, Nasemi A, Miry M.S. The prevalence of beta-lactamase resistance genes *SHV / CTX-M / TEM* in *E. coli* isolated from urinary tract infections. *Journal of Laboratory Medicine* 2010; **4**(1): 48-54.
14. Hadadi A, Rasoulinejad M, Maleki Z, Mojtahedzadeh M, Younesian M, Ahmadian S.A, et.al. Antimicrobial resistance patterns among Gram-negative bacilli isolated from patients with nosocomial infections by E-test versus Disk diffusion test. *Tehran University Medical Journal* 2007; **65**(4): 1-10.
15. Najarpeerayeh SH, Eslami M. Phenotypic and molecular detection of *TEM*, *PER*, and *VEB* beta lactamases in clinical strains of *Escherichia coli. Arak Medical University Journal* 2012; **15**(60): 1-9.
16. Khorshidi A, Sharif A.R. Imipenem resistance among gram- negative and gram- positive bacteria in hospitalized patients**.** *Iranian Journal Pub Health* 2010; **39**(2):110-113.
17. Khosravi Y, Tay S, Vadivelu J. Analysis of integrons and associated gene cassettes of metallo-b-lactamase-positive *Pseudomonas aeruginosa* in Malaysia, *Journal of Medical Microbiology* 2011; **60**: 988-994.
18. 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 **,** *Iranian Biomedical Journal* 2012; **17**(3): 129-133.
19. Shanthi Amudhan M, Sekar U, Kamalanthan A, Balaraman S. *bla*$_{IMP}$ and *bla*$_{VIM}$ mediated carbapenem resistance in *Pseudomonas* and *Acinetobacter* species in India. *Journal Infect Dev Ctries* 2011; **6**(11): 757-762.
20. Fallah F, Hashemi A, Shams R. Detection of *bla*$_{IMP}$ and blaVIM metallo-β- lactamases genes among *Pseudomonas aeruginosa* strains. *Int J Burn Trauma* 2013; **3**(2): 122-124.