

بررسی ارتباط مقاومت کینولونی و بتالاکتامی با قدرت کپسول‌زایی در بین سویه‌های سودوموناس آئروژینوزای جدا شده از ادرار

عباسعلی ایمانی فولادی^۱، مرتضی ستاری^۲، احمدعلی پور بابایی^۳، مرجان غلامی^۴

^۱ استادیار، مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)
^۲ دانشیار، گروه باکتری شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس
^۳ استادیار، گروه میکروب شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم
^۴ دانشجوی کارشناسی ارشد میکروب شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم

چکیده

سابقه و هدف: سودوموناس آئروژینوزا یکی از پاتوژن‌های فرصت‌طلب و مهم بیمارستانی است و مقاومت بالایی به اکثر آنتی‌بیوتیک‌های رایج دارد. در این مطالعه، مقاومت دارویی سودوموناس آئروژینوزاهای جدا شده از ادرار در برابر کینولون‌ها و بتالاکتام‌ها مورد بررسی قرار گرفت و ارتباط کپسول با مقاومت دارویی مورد ارزیابی قرار گرفت.

روش بررسی: در این تحقیق تجربی، ۱۰۰ سویه سودوموناس آئروژینوزا از بیمارستان امام‌خیمینی تهران جمع‌آوری شد و حساسیت سویه‌ها در مقابل برخی از کینولون‌ها و بتالاکتام‌ها به روش‌های تعیین حداقل غلظت مهارکننده (MIC) با روش رقت در آگار و لوله تعیین گردید. با رنگ‌آمیزی کپسول به روش مرکب چین و ترسیب آلژینات کپسولی با اتانل سرد، نمونه‌های موکوئیدی و غیرموکوئیدی از هم‌دیگر تفکیک شده و ارتباط آنها با مقاومت آنتی‌بیوتیکی مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: در روش MIC، سویه‌ها نسبت به افلوکسازین ۹۰ درصد، سیپروفلوکسازین ۸۹ درصد، نالیدیکسیک اسید ۵۹ درصد، سفتری‌زوکسیم ۴۳ درصد و سفتری‌اکسون ۳۹ درصد حساسیت داشتند. حساسیت این سویه‌ها با روش دیسک آگار دیفیوژن در محیط مولر هینتون نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های کوآموکسی‌کلاو صفر، سفتری‌زوکسیم ۲۷ درصد، سفتری‌اکسیون ۲۹ درصد، کرینی‌سیلین ۴۸ درصد، نالیدیکسیک اسید ۵۰ درصد، تیکارسیلین ۵۳ درصد، سیپروفلوکسازین ۳۶ درصد، افلوکسازین ۷۰ درصد و نوروفلوکسازین ۸۹ درصد بود. تمامی سویه‌های جدا شده از نظر وجود کپسول مثبت ارزیابی شدند و فقط قطر کپسول‌ها با هم فرق می‌کرد.

نتیجه‌گیری: مقایسه این دو روش در تعیین حساسیت نسبت آنتی‌بیوتیک نشان داد که روش دیسک دیفیوژن در مقایسه با روش MIC از دقت کمتری برخوردار است.

واژگان کلیدی: سودوموناس آئروژینوزا، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، کینولون‌ها، بتالاکتام‌ها، کپسول.

مقدمه

قبل از کشف سودوموناس آئروژینوزا، پزشکان مشاهده چرک متمایل به رنگ سبز را نشانه‌ای برای وخیم‌بودن عفونت تلقی

می‌کردند (۱). بتدریج خصوصیات این باکتری توسط محققین بررسی بیشتری شد و باکتری به نام‌های مختلفی اعلام شد تا بالاخره سودوموناس آئروژینوزا نامیده شد (۵-۲). سودوموناس آئروژینوزا یک پاتوژن فرصت‌طلب و یکی از مهم‌ترین عوامل عفونی است که به سختی درمان می‌شود. یکی از مهم‌ترین ویژگی‌های این باکتری، مقاومت بالای آن به اکثر آنتی‌بیوتیک‌های رایج می‌باشد. بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها از رشد

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده پزشکی، گروه باکتری شناسی،

دکترمرتضی ستاری (email: sattarim@modares.ac.ir)

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۷/۸/۲

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۸/۳/۲۰

مواد و روشها

در این تحقیق تجربی، ۱۰۰ سوبه بالینی سودوموناس آئروژینوزای جدا شده از ادرار از آزمایشگاه مرکزی بیمارستان امام‌خمینی جمع آوری شد. سوبه‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه با آزمایشات افتراقی بیوشیمیایی از قبیل رشد در محیط مک‌کانکی، ذوب ژلاتین، تست حرکت، اکسیداز، کاتالاز، اوره‌آز و رشد در ۴۲ درجه سانتی‌گراد، تولید رنگدانه پیوسیانین در محیط مولر هینتون آگار و آزمایش TSI از نظر جنس و گونه تایید شدند.

برای تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی در نمونه‌های بالینی به سوبه استاندارد نیاز است. به همین منظور از سوبه‌های استاندارد Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 و E. coli ATCC 25922 استفاده شد.

با توجه به اینکه باکتری‌های مورد استفاده در کارهای تحقیقاتی (ایزوله‌های بالینی و سوبه استاندارد) باید از نظر ژنتیکی پایدار باشند و در شرایط یکسان مورد آزمایش قرار گیرند، از مهم‌ترین کارها نگهداری صحیح باکتری‌ها می‌باشد. در این مطالعه، باکتری‌ها در محیط TSB حاوی ۱۰ درصد گلیسرول بصورت سوسپانسیون در آمده و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

روش انتشار در دیسک، از متداول‌ترین روش‌های تعیین حساسیت باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک است که بطور معمول در اغلب آزمایشگاه‌ها انجام می‌شود. در تحقیق حاضر نیز حساسیت سوبه‌های جدا شده و استاندارد با روش Kirby bauer بررسی شد (۱۷). دیسک‌های نالیدیکسیک اسید، نوروفلوکسازین، سیپروفلوکسازین، افلوکسازین، کوآموکسی‌کلاو، سفتریاکسون، سفتری‌زوکسیم، کاربنی‌سیلین و تیکارسیلین از شرکت پادتن طب تهیه گردید. قطر هاله عدم رشد به دقت اندازه‌گیری شد و با مراجعه به جدول رفرانس NCCLS نتایج آزمایش برای هر باکتری تفسیر شد.

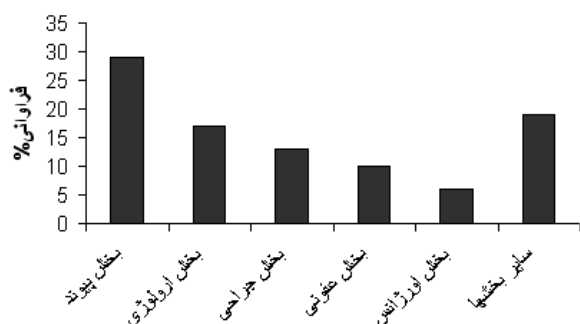
در تعیین حداقل غلظت مهار کننده رشد (MIC) به روش رقت در آگار، پودرهای آنتی‌بیوتیکی سیپروفلوکسازین از شرکت تماد، نالیدیکسیک اسید از شرکت روزایران، افلوکسازین از شرکت اکسیر و سفتری‌زوکسیم و سفتری‌اکسون از شرکت دارویی جابرن حیان تهیه گردید. با در نظر گرفتن فعالیت ضد میکروبی (Potency)، محلول‌های آنتی‌بیوتیکی ساخته شد (۱۷) و بصورت محلول ذخیره در ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. برای تعیین MIC این داروها بر روی باکتری از غلظت ۱/۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر تا ۱۲۸۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر (۱۰ رقت متوالی) آنتی‌بیوتیک در

این باکتری در شرایط *In vitro* تا حدود زیادی جلوگیری می‌کنند، اما تنها تعداد کمی از آنها فعالیت مفیدی را به لحاظ غلظت‌های قابل دسترس درمانی از خود نشان می‌دهند. علی‌رغم همه پیشرفت‌های بدست آمده در زمینه تهیه آنتی‌بیوتیک‌های ضد سودوموناس هنوز دوز لازم برای از بین بردن این باکتری در عفونت‌های وخیم بسیار بیشتر از میزان معمولی آن می‌باشد. مشکل دیگر اینکه بسیاری از سوبه‌های این باکتری در مقابل آنتی‌بیوتیک‌ها در شرایط *In vitro* حساسیت نشان می‌دهند، اما در داخل بدن نسبت به آنها مقاومت می‌کنند. این پدیده در مورد آنتی‌بیوتیک‌ها در بافت‌های بدن به این دلیل است که در مقابل کاتیون‌های دو ظرفیتی یونیزه می‌شوند و به راحتی قادر به نفوذ در بافت‌های بدن نیز نمی‌باشند (۶،۱). به علاوه لایه پلی‌ساکاریدی گلیکوکالیکس در اثر کاتیون‌های دو ظرفیتی موجود در بافت‌های بدن به سرعت به ژل تبدیل شده و میکروکلنی‌هایی از باکتری تشکیل می‌شود که اطراف این میکروکلنی‌ها را در بر می‌گیرد. این مواد همانند سدی در برابر ورود مولکول‌های باردار و برخی از آنتی‌بیوتیک‌ها به درون سلول باکتری عمل می‌کنند (۸،۷). این لایه گلیکوکالیکس به صورت کپسول آلژیناتی باکتری را در بر می‌گیرد. سوبه‌های موکوئیدی سودوموناس آئروژینوزا دارای آلژینات-د-استیله می‌باشند (۹، ۱۰). کپسول یکی از مهم‌ترین فاکتورهای بیماری‌زا محسوب می‌گردد و دارای اعمال زیادی نظیر افزایش مقاومت باکتری در مقابل شرایط فیزیکی و شیمیایی مختلف و جلوگیری از ورود و تجمع آنتی‌بیوتیک‌ها در درون سلول است. معمولاً سوبه‌های موکوئیدی در مقایسه با سوبه‌های غیرموکوئیدی در مقابل آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم‌ترند (۱۴-۱۱). از جمله آنتی‌بیوتیک‌های موثر بر این باکتری، آنتی‌بیوتیک‌های گروه کینولون‌ها و بتالاکتام‌ها می‌باشند. کینولون‌ها مثل نالیدیکسیک اسید، سیپروفلوکسازین، افلوکسازین و نوروفلوکسازین در سطح همانندسازی DNA از طریق اتصال به آنزیم DNA ژیراز از همانندسازی DNA جلوگیری می‌کنند. بتالاکتام‌ها با اختلال در بیوسنتز دیواره سلولی باکتری منجر به تغییر شکل دیواره سلولی و نفوذپذیری آن یا لیز سلولی می‌گردند (۱۵، ۱۶). لذا استفاده هم‌زمان این دو نوع آنتی‌بیوتیک می‌تواند اثر سینرژیسمی داشته باشد و از طرفی می‌توان عملکرد کپسول را در نفوذ یا عدم نفوذ دارو بداخل باکتری ارزیابی کرد. در این مطالعه مقاومت دارویی سودوموناس آئروژینوزاهای جدا شده از ادرار در برابر کینولون‌ها (داروهای اصلی در درمان عفونت ادراری) و بتالاکتام‌ها مورد بررسی قرار گرفت و ارتباط کپسول با مقاومت دارویی مورد ارزیابی قرار گرفت.

کپسول به میزان کمترین حد خود تولید شود. این سویه‌ها مجدداً آنتی بیوگرام شده و MIC آنها مورد ارزیابی قرار گرفت. (۲۱). داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۳ تحلیل شدند و ارتباط کپسول با مقاومت آنتی بیوتیکی در سویه‌های مقاوم، قبل و بعد از داشتن کپسول بررسی شد. $p < 0/05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

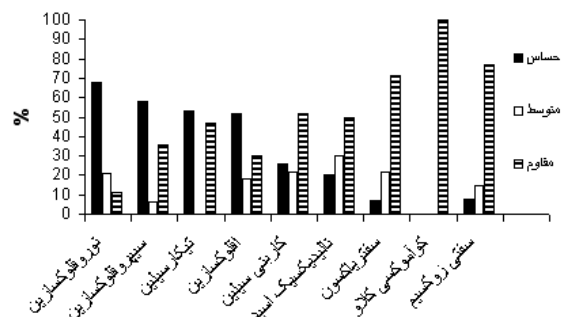
یافته‌ها

۱۰۰ نمونه بالینی سودوموناس آئروژینوزا از بیمارستان امام خمینی تهران جمع‌آوری شد که به تفکیک بخش‌ها در نمودار ۱ آمده است. در بخش‌های پیوند کلیه و اورولوژی بیشترین و در بخش اورژانس کمترین سویه جداسازی شدند.



نمودار ۱- توزیع فراوانی ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا به تفکیک بخش‌های بیمارستانی

در تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی به روش انتشار دیسک، بر اساس قطر حاله عدم رشد و طبق جدول استاندارد NCCLS سویه‌های جدا شده به سه دسته حساس، حد متوسط و مقاوم تقسیم شدند (نمودار ۲).



نمودار ۲- فراوانی ایزوله‌های حساس، متوسط و مقاوم نسبت به هر یک از آنتی بیوتیک‌ها به روش انتشار در دیسک

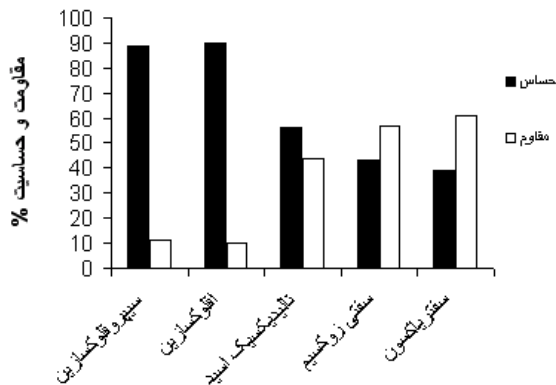
محیط کشت مولر هینتون تهیه گردید. پس از اینکه محیط کشت مولر هینتون حاوی رقت‌های مختلف آنتی بیوتیک آماده شد، سوسپانسیون میکروبی با غلظت $10^7 \times 1/5$ باکتری در میلی لیتر به میزان ۲ میکرولیتر سوسپانسیون 10^4 باکتری بصورت نقطه‌ای بر روی پلیت کشت داده شد و پس از جذب رطوبت در سطح محیط کشت، به مدت ۲۴ ساعت بصورت وارونه در انکوباتور قرار گرفت و نتیجه بصورت رشد یا عدم رشد باکتری در محیط کشت ارزیابی گردید (۱۸، ۱۹). برای صحت انجام تست و ارزیابی قدرت ضد میکروبی پودرهای آنتی بیوتیکی از سویه‌های استاندارد Psudomonas aeruginosa ATCC 27853 و E Coli ATCC 25922 استفاده شد و نتایج طبق جدول NCCLS ارزیابی گردید.

به منظور تعیین MBC (حداقل غلظت کشنده باکتری) آنتی بیوتیک‌های انتخابی از روش MIC لوله‌ای استفاده شد. سریال رقت از $1/25$ تا 1280 میکروگرم بر میلی لیتر تهیه گردید. از یک لوله بدون آنتی بیوتیک بعنوان کنترل منفی و از سویه‌های استاندارد Psudomonas aeruginosa ATCC 27853 و E Coli ATCC 25922 برای ارزیابی درستی آزمایش استفاده شد. در هر کدام از لوله‌ها، تعداد 5×10^5 باکتری در محیط BHI حاوی آنتی بیوتیک اضافه گردید و پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، رشد و عدم رشد باکتری در لوله‌ها بصورت کدورت‌سنجی مورد بررسی قرار گرفت. اولین لوله‌ای از محیط کشت که فاقد هرگونه کدورت میکروبی بود، بعنوان MIC در نظر گرفته شد. جهت بررسی MBC، از این لوله و دو لوله حاوی رقت‌های بعدی آنتی بیوتیک نمونه برداری شده و بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار بصورت خطی کشت داده شدند و به مدت ۲۴ ساعت در 37 درجه انکوبه شدند. پلیتی که فاقد هرگونه رشد باکتری یا $1-5$ باکتری بود، به عنوان آنتی بیوتیک که $99/8$ درصد ارگانیزم را کشته و تنها $0/1$ درصد از آنها زنده بمانند. البته گاهی اوقات MIC و MBC با هم برابر و گاهی متفاوت هستند و اگر بین MIC و MBC پنج رقت متوالی فاصله باشد، آن سویه تحمل پذیر است (۲۰).

کپسول پلی ساکاریدی باکتری (آلژینات) به روش‌های آنتونی، هیس و مرکبچین قابل مشاهده با میکروسکوپ نوری می‌باشد. در این مطالعه، سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا به روش مرکبچین رنگ آمیزی و مورد بررسی قرار گرفت (۹).

در این مطالعه، سویه‌هایی که دارای بیشترین مقاومت دارویی و نیز تولید کپسول بودند، در محیط کشت TSB حاوی 10 میلی گرم بر میلی لیتر سالیسیلات سدیم پاساژ داده شدند تا

ماکروسکوپی کلنی (موکوئیدی، براق، مخاطی بودن) مورد بررسی قرار گرفت. در این بررسی کپسول آلژیناتی بصورت شفاف در اطراف سلول باکتریایی دیده می‌شود. تمامی سویه‌های جدا شده از نظر وجود کپسول مثبت ارزیابی شدند و فقط قطر کپسول‌ها با هم فرق می‌کرد. نتایج حاصل از دید مستقیم میکروسکوپی، با آزمایش ترسیب آلژینات با اتانل سرد ۹۶ درجه تایید شد.



نمودار ۳- فراوانی ایزوله‌های حساس و مقاوم نسبت به هر یک از آنتی‌بیوتیک‌ها به روش سریال رقت در لوله

کاهش کپسول در سویه‌های مورد آزمایش موجب کاهش MIC به میزان ۴ تا ۸ برابر نسبت به حالتی شد که باکتری در محیط طبیعی‌اش کپسول را بطور کامل تولید می‌کرد ($p < 0.05$).

بحث

سودوموناس آئروژینوزا یک پاتوژن فرصت‌طلب و عامل اغلب عفونت‌های بیمارستانی بعد از E coli و Staphylococcus aureus می‌باشد (۲۲). این باکتری دارای مقاومت آنتی‌بیوتیکی بالایی است و این خصوصیت منجر به سختی درمان عفونت‌های ناشی از آن می‌شود. لذا بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی این باکتری نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها به خصوص گروه بتالاکتام‌ها و کینولون‌های تجویزی بسیار مهم است. در مطالعه حاضر، ۱۰۰ باکتری جدا شده از ادرار بیمار بستری در بیمارستان و تعیین الگوی مقاومت دارویی آنها مورد بررسی قرار گرفت. توزیع فراوانی ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا به تفکیک بخش‌های بیمارستانی نشان می‌دهد که بیشترین تعداد بیماران عفونی به این باکتری مربوط به بیماران بستری در بخش ارولوژی و کلیه هستند. از آنجایی که

جهت اطمینان از صحت انجام آزمایش و تایید آن، از سویه‌های استاندارد نیز استفاده شد. بیشترین مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک کوآموکسی‌کلاو (۱۰۰ درصد) و کمترین مقاومت نسبت به نوروفلوکسازین (۱۱) بود.

پس از غربالگری مقادیر MIC در سویه‌های بالینی سودوموناس آئروژینوزا به روش رقت در آگار مشخص گردید که حداقل غلظت مهار کننده رشد در سیپروفلوکسازین و افلوکسازین بود، به طوری که در بیشتر سویه‌ها کمتر از ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود، در حالی که برای آنتی‌بیوتیک‌های سفتی‌زوکسیم، سفتریاکسون و نالیدیکسیک اسید به بیش از ۱۲۸۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر رسید (جدول ۱).

جدول ۱- تعداد سویه‌های *Pseudomonas aeruginosa* با مقادیر MIC مختلف نسبت به پنج آنتی‌بیوتیک انتخابی به روش رقت در آگار.

تعداد سویه‌ها با MIC (میکروگرم بر میلی‌لیتر)

تعداد سویه‌ها	≤ ۱/۲۵	۲/۵	۵	۱۰	۲۰	۴۰	۸۰	۱۶۰	۳۲۰	۶۴۰	۱۲۸۰	> ۱۲۸۰
سیپروفلوکسازین	۷۹	۵	۳	۲	۹	۲	۰	۰	۰	۰	۰	۰
افلوکسازین	۶۵	۴	۱۵	۶	۷	۲	۱	۰	۰	۰	۰	۰
نالیدیکسیک اسید	۰	۰	۰	۸	۵	۱۷	۱۵	۱۱	۳	۵	۳	۳۳
سفتی‌زوکسیم	۰	۰	۰	۰	۰	۴	۱۱	۲۶	۲	۵	۵	۴۷
سفتریاکسون	۰	۰	۰	۰	۲	۱۴	۲۱	۲	۱۵	۱۹	۵	۲۲

لذا پنج آنتی‌بیوتیک مهم‌تر شامل سیپروفلوکسازین، سفتی‌زوکسیم، سفتریاکسون، نالیدیکسیک اسید و افلوکسازین برای مطالعه بیشتر و تعیین MBC، به روش رقت در لوله نیز MIC و MBC آنها تعیین گردیدند (نمودار ۳ و جدول ۲).

جدول ۲- تعداد سویه‌های *Pseudomonas aeruginosa* با مقادیر MBC مختلف نسبت به پنج آنتی‌بیوتیک انتخابی به روش رقت در لوله.

تعداد سویه‌ها با MBC (میکروگرم بر میلی‌لیتر)

تعداد سویه‌ها	≤ ۱/۲۵	۲/۵	۵	۱۰	۲۰	۴۰	۸۰	۱۶۰	۳۲۰	۶۴۰	۱۲۸۰	> ۱۲۸۰
سیپروفلوکسازین	۷۰	۸	۱۱	۵	۶	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
افلوکسازین	۵۶	۳	۴	۷	۱۵	۸	۵	۲	۰	۰	۰	۰
نالیدیکسیک اسید	۰	۰	۰	۱	۷	۱۲	۱۵	۱۲	۳	۲	۴۸	۰
سفتی‌زوکسیم	۰	۰	۰	۰	۰	۶	۱۸	۱۱	۶	۲	۵۷	۰
سفتریاکسون	۰	۰	۰	۰	۴	۱۵	۱۲	۸	۲۵	۳	۳۳	۰

تمام سویه‌های بالینی به همراه سویه استاندارد (کپسول دار و بدون کپسول) با مرکب چین رنگ‌آمیزی شد و خصوصیات میکروسکوپی آنها از نظر وجود کپسول و خصوصیات

ایمی پنم و از میان کینولون‌ها لووفلوکسازین بیشترین اثر ضد میکروبی را بر علیه سودوموناس آئروژینوزا دارند (۲۷). مطالعه‌ای در اسپانیا نشان داد که در این کشور حساسیت سودوموناس آئروژینوزا نسبت به بتالاکتام‌ها و کینولون‌ها خصوصا سیپروفلوکسازین و افلوکسازین بالاست (۲۸). این مطالعه و تحقیقی در ترکیه در سال ۲۰۰۲ تایید کننده یافته‌های ما است (۲۹).

سودوموناس آئروژینوزا در افراد با نقص سیستم ایمنی و یا در افرادی که سیستم ایمنی آنها تضعیف شده، مثل بیماران مبتلا به سیستمیک فیبروزیس، پاتوژن مهمی محسوب می‌شود. در این افراد، سویه‌های کپسول دار در مقایسه با سویه‌های غیرموکوئیدی از مقاومت بالاتری برخوردارند (۳۰). لذا مطالعه کپسول آلژیناتی و نقش آن در ایجاد مقاومت مورد بحث است. توماسن و همکارانش معتقدند که سویه‌های تولیدکننده آلژینات حساسیت بیشتری به کاربنی‌سیلین و تیکارسیلین دارند (۳۱). اما اکثر محققین نظری خلاف آن دارند، به طوری که گوان و فایف نشان دادند که سویه‌های موکوئیدی در مقایسه با سویه‌های غیر موکوئیدی مقاومت بیشتری به کاربنی‌سیلین و تویرامایسین نشان می‌دهند (۲۶). در مطالعه حاضر تمامی سویه‌های مورد آزمایش دارای کپسول آلژیناتی بودند و تنها قطر کپسول با هم فرق می‌کرد. به نظر می‌رسد که کپسول در میزان مقاومت آنتی بیوتیکی موثر است، به طوری که سویه‌های دارای کپسول از نظر مقاومت در مقایسه با سویه‌هایی که کپسول در آنها حذف شده بود، مقاومت بیشتری داشتند. با توجه به اینکه تمامی سویه‌های جدا شده از ادراار دارای کپسول بودند، احتمال ارتباط بین قدرت کپسول‌زایی و منبع باکتری وجود دارد که باید مطالعه بیشتری در این زمینه صورت گیرد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از کارشناسان محترم آزمایشگاه باکتری شناسی دانشگاه تربیت مدرس کمال تشکر را داریم.

نمونه‌ها از ادراار جمع‌آوری شده بودند، لذا این نتیجه منطقی به نظر می‌رسد.

در مطالعه آنتی‌بیوگرام به روش انتشار در دیسک مشخص شد که آنتی‌بیوتیک‌های نوروفلوکسازین موثرترین و کوآموکسی کلاو بی‌اثرترین داروی ضد سودوموناس آئروژینوزا هستند. نتایج MIC در مقایسه با روش انتشار در دیسک دقیق‌تر است، زیرا غلظت آنتی‌بیوتیک موجود در دیسک میزان انتشار آن در محیط کشت در مقایسه با روش سریال رقت از دقت کمتری برخوردار می‌باشد (۲۰). مشخص شده که نورفلوکسازین، سیپروفلوکسازین، تیکارسیلین و افلوکسازین داروهای موثر در شرایط آزمایشگاهی می‌باشند، در حالی که سفتریاکسون، سفتری‌زوکسیم و کوآموکسی کلاو کم‌اثرترین و بی‌اثرترین آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی بودند که با یافته‌های سایر محققین تقریبا مطابقت دارد (۲۳، ۲۴). ولی در مورد برخی از آنتی‌بیوتیک‌ها تفاوتی با یافته‌های سایرین مشاهده می‌شود. این تفاوت ممکن است مربوط به شرایط بهداشتی و اپیدمیولوژیکی، تجویز بیش از حد دارو، کیفیت پودر آنتی بیوتیک و نوع سویه‌های بومی کشورهای مختلف باشد (۱۵، ۲۵). نتایج حاصل از MIC نشان داد که بیشتر سویه‌های جدا شده با غلظت کمتر از ۱/۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر سیپروفلوکسازین و افلوکسازین مهار شدند. در حالی که در مورد سفتری‌زوکسیم و سفتریاکسون حدود دو سوم نمونه‌ها به غلظت‌های ۱۲۸۰ میکروگرم در میلی‌لیتر (بیش از حد تجویز شده در کاربرد بالینی) یا حتی به بیشتر از آن نیز مقاوم بودند. مطالعه‌ای که توسط کاوالو و همکارانش بر روی ایزوله بالینی سودوموناس آئروژینوزا در بیمارستان‌های فرانسه انجام شده با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. آنها دریافتند که بهترین آنتی‌بیوتیک بر ضد سویه‌های جدا شده از ادراار، سیپروفلوکسازین و سفنازیدیم می‌باشد (۲۶). در بررسی فعالیت ضد میکروبی سیپروفلوکسازین، افلوکسازین، سفنازیدیم، ایمی پنم، آمیکاسین، جنتامایسین و لووفلوکسازین بر روی ۳۳۴ ایزوله بالینی سودوموناس آئروژینوزا از ۱۳ بیمارستان ایتالیا توسط برنارد تاسگاتور و همکارانش مشخص شد که از میان بتالاکتام‌ها دو آنتی‌بیوتیک آمیکاسین و

REFERENCES

1. Doggett RG, editor. Microbiology of Pseudomonas aeruginosa. New York: Academic Press; 1979. p.1-20.
2. Buchanan RE, Gibbons NE, editors. Bergey's manual of determinative bacteriology. Baltimore: Williams and Wilkins; 1974. p.141-219.
3. Campa M, editor. Pseudomonas as an opprotunistic pathogen. New York: Plenum Press; 1993. p.12-15.
4. Collier L, Balows A, Sussman M, editors. Topley and Wilson's microbiology and microbial infections. 9th ed. Oxford: Oxford University Press; 1998. p 245-1138.

5. DeBell RM. production of exotoxin A by pseudomonas aeruginosa in a chemically defined medium. *Infect Immun* 1979;24:132-38.
6. Costerton JW, Brown MR, Trugess JM. The cell envelope: its role in infection. pp. 41-62. In: Dogget RG, editor. *Pseudomonas: clinical manifestations of infection and current therapy*. New York: Academic Press; 1979.
7. Gilardi GL. Medical microbiology. In: Sabbath LD, editor. *Pseudomonas aeruginosa: the organism, diseases it causes, and their treatment*. Bern, Switzerland: Hans Huber Publisher; 1980. p.25-30.
8. Govan JRW. Pseudomonas. In: Collee JG, Duguid JP, Fraser AG, Marmion BP. editors. *Mackie and McCartney Practical Medical Microbiology, Practical medical microbiology*. London: Churchill Livingstone 1990. p.491-504.
9. Govan JRW, Deretic V. Microbial pathogenesis in cystic fibrosis: mucoid Pseudomonas aeruginosa and Burkholderia cepacia. *Microbiol Rev* 1996;60:539-74.
10. May TB, Shinabarger D, Maharaj R, Kato J, Chu L, DeVault JD, et al. Alginate synthesis by Pseudomonas aeruginosa: a key pathogenic factor in chronic pulmonary infections of cystic fibrosis patients. *Clin Microbiol Rev* 1991;4:191-206.
11. Bayer AS, Speert DP, Park S, Tu J, Witt M, Nast CC, et al. Functional role of mucoid exopolysaccharide (alginate) in antibiotic induced and polymorphonuclear Leukocyte mediated killing of Pseudomonas aeruginosa. *Infect Immun* 1991;59:302-308.
12. Doig P, Smith NR, Todd T, Irving RT. Characterization of the binding of Pseudomonas aeruginosa alginate to human epithelia cells. *Infect Immun* 1987;55:1517-22.
13. Kidambi SP, Sundin GW, Palmer DA, Chakrabarty AM, Bender CL. Copper as a signal for alginate synthesis in Pseudomonas syringae pv. Syringae. *Appl Environ Microbiol* 1995;61:2172-79.
14. Yu J, Chakrabarty AM, Bender CL. Involvement of the exopolysaccharide alginate in the virulence and epiphytic fitness of Pseudomonas syringae Pv syringae. *Mol Microbiol* 1999;33:712-20.
15. Bonfiglio G, Laksai Y, Franchino L, Amicosante G, Nicoletti G. Mechanisms of B-lactam resistance amongst Pseudomonas aeruginosa isolated in an Italian survey. *J Antimicrob Chemother* 1998;42:697-702.
16. Minami S, Akama M, Araki H, Watanabe Y, Narita H, Iyobec S, et al. Minami S-et al. Imipenem and cephem resistant Pseudomonas aeruginosa carrying plasmids coding for class β -lactamase. *J Antimicrob Chemother* 1996;37:433-44.
17. von Graevenitz A. Clinical microbiology of unusual Pseudomonas species. *Prog Clin Pathol* 1973;5:185-218.
18. Garner CV, Pier GB, Desjardins D. Immunogenic properties of Pseudomonas aeruginosa mucoid exopolysaccharide. *Infect Immun* 1990;58:1835-42.
19. Washington JA, Anhatt JP, editors. Antimicrobial susceptibility tests of aerobic and facultatively anaerobic bacteria, In: *Laboratory Procedures in clinical microbiology*. 2th Edition. Washington, USA: Springer; 1985.
20. Baron EJ, Peterson LR, Finglod SM, editors. *Bailey & Scotts diagnostic microbiology*. 9th ed. Philadelphia: Mosby Inc. 1990. p.171-94.
21. Domenico P, Schwartz S, Cunha B. Reduction of Capsular Polysaccharide Production in Klebsiella pneumoniae by Sodium Salicylate. *Infect Immun* 1989;56:3778-82.
22. Segers P, Speekenbrink RGH, Dirk UT, Ogtrop MLV, Mol BA. Prevention of nosocomial infection in cardiac surgery by decontamination of the nasopharynx and oropharynx with chlorhexidine gluconate: a randomized controlled trial. *JAMA* 2006;296:2460-66.
23. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 6th ed. London: Churchill Livingstone; 2005. P.274-419.
24. Maleknejad P. Evaluation of resistance of Pseudomonas aeruginosa to penicillin, cephalosporin and aminoglycosides. *Journal of Tehran Medical Faculty* 1999;4:23-28. [In Persian]
25. DE Vos P, DE Lay J. Intra-and intergeneric similarities of Pseudomonas and Xanthomonas ribosomal ribonucleic acid cistrons. *Int J Syst Bacteriol* 1983;33:487-509.
26. Govan JRW, Fyfe JAM. Mucoid Pseudomonas aeruginosa and cystic fibrosis resistance of the mucoid form to carbenicillin, flucloxacillin and tobramycin and the isolation of mucoid variants in vitro. *J Antimicrob Chemother* 1978;4:233-40.

27. Segatore B, Setacci D, Perilli M, Franceschini N, De Santis A, Marchetti F, et al. Italian survey on comparative levofloxacin susceptibility in 334 clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:428-31.
28. Bousa E, Garcia-Garrote F. *Pseudomonas aeruginosa*: a survey of resistance in 136 hospitals in Spain. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:981-82.
29. Gençer S, Ak Ö, Benzonana N, Batrel A, Özer S. Susceptibility pattern and cross resistances of antibiotics against *Pseudomonas aeruginosa* in a teaching hospital of turkey. *Clin Microb Antimicrob* 2002;1:1-4.
30. Jain S, Ohman DE. Role of an alginate lyase for alginate transport in mucoid *Pseudomonas aeruginosa* *Infect Immun* 2005;73:6429-36.
31. Gale EF, Cundiffe E, Reynolds PE, Richmond MH, Waring M. The molecular basis of antibiotic action. New York: John Willey; 1974. p.1-50.