مجله علوم زیست پزشکی پیشرفته | سال دهم | شماره ٤ | زمستان ۱۳۹۹

مقاله پژوهشی

بررسی فراوانی ژن‌های متالوبتالاکتاماز bla_{VIM1} و bla_{IMP1} در سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزای* جداشده از بیماران بستری در بیمارستان‌های شهر ارومیه به روش ژنوتیپی

مهسا عابدی، مریم پروینی کهنه شهری*

گروه زیست‌شناسی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۹/۰۷/۲۹ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۹/۱۰/۱۳

چکیده

زمینه و هدف: *سودوموناس آئروژینوزا* یکی از پاتوژن‌های گرم منفی، فرصت‌طلب، کاتالاز مثبت است که باعث عفونت‌های مهم بیمارستانی نظیر عفونت مجاری ادراری، پنومونی، سپتی‌سمی می‌گردد. این باکتری نسبت به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها ازجمله سفالوسپورین‌های نسل سوم، پنی‌سیلین‌ها و سفومایسین‌ها مقاوم می‌باشند. تاکنون شیوع ژن‌های bla_{VIM1} و bla_{IMP1} در بیماران بستری در بیمارستان‌های شهر ارومیه بررسی نشده است. هدف از این مطالعه بررسی شیوع ژن‌های متالو بتالاکتاماز bla_{VIM1} و bla_{IMP1} در ایزوله‌های بالینی *سودوموناس آئروژینوزا* از بیماران بستری در بیمارستان‌های شهر ارومیه است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه توصیفی– مقطعی، از اردیبهشت تا مردادماه سال ۱۳۹۸ درمجموع تعداد ۷۵ نمونه *سودوموناس آئروژینوزا* از بخش‌های مختلف (ادرار، زخم و ترشحات ریه) در مراکز درمانی شهرستان ارومیه جمع‌آوری شدند. بعد از تأیید باکتری با تست‌های بیوشیمیایی، تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی با استفاده از روش انتشار دیسک انجام شد. شناسایی ژن‌های bla_{VIM1} و bla_{IMP1} در نمونه‌ها با استفاده از روش PCR انجام شد.

نتایج: نتایج حاصل از تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی، شیوع مقاومت نسبت به داروهای بتالاکتام موردبررسی در جدایه ها را ۸۶/۶ درصد نشان داد. در این مطالعه، بیشترین میزان مقاومت در بین جدایه‌ها نسبت به سفوتاکسیم (۸۶/۶ درصد) و کمترین میزان مقاومت نسبت به جنتامایسین ۱۶ درصد مشاهده گردید و بر اساس نتایج PCR، ۵۵/۳۸ درصد جدایه‌ها، حاوی ژن bla_{IMP1} و صفر درصد حاوی bla_{VIM1} بودند.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که درصد زیادی از سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های کاربابنم مقاوم بودند و هم‌چنین bla_{IMP1} ژن غالب در میان سویه‌های مقاوم به کاربابنم بود. با توجه به اهمیت سویه‌های مولد متالوبتالاکتاماز در بیمارستان‌ها، شناسایی سریع این سویه‌ها می‌تواند گامی مهم و اساسی در درمان و کنترل عفونت‌های ناشی از این سویه‌ها باشد.

کلمات کلیدی: *سودوموناس آئروژینوزا*، متالوبتالاکتاماز، عفونت‌های بیمارستانی، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، PCR

مقدمه

سودوموناس آئروژینوزا پاتوژن فرصت‌طلب در بیماران دچار نقص سیستم ایمنی مانند مبتلایان به سرطان، سوختگی و فیبروزکیستیک است (۱). کنترل شیوع *سودوموناس آئروژینوزا* اغلب مشکل است، زیرا دارای مقاومت ذاتی نسبت به عوامل ضد-میکروبی متعدد است. به همین دلیل، عفونت‌های حاصل از سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* می‌تواند تهدیدکننده حیات باشد (۲). کاربابنم‌ها ازجمله مروپنم و ایمی‌پنم آنتی‌بیوتیک‌های مؤثری علیه این ارگانیسم هستند (۳). درمان عفونت‌های ناشی از سودوموناس آئروژینوزا بسیار مشکل است، زیرا ژن‌های مقاومت نسبت به ایمی‌پنم و آنتی‌بیوتیک‌های دیگر قابلیت انتقال توسط پلاسمیدها و اینتگرون‌ها را دارند (۴). مقاومت اکتسابی در *سودوموناس آئروژینوزا* از طریق مکانیسم‌های متعددی صورت می‌پذیرد که شامل تولید بتالاکتامازها، تغییر در سیستم‌های تراوشی، دفع کردن دارو از طریق پمپ‌های آفلاکس، کاهش دادن جذب آنتی‌بیوتیک از طریق فقدان پورین غشای خارجی تحت عنوان OprD است. . هم‌چنین تولید آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز در باکتری‌های *سودوموناس آئروژینوزا* عامل اصلی مقاومت این

***نویسنده مسئول: مریم پروینی کهنه شهری**، گروه زیست‌شناسی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران

Email: m.parvini@iaurmia.ac.ir.com

https://orcid.org/0000-0002-8285-5699

باکتری به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام است. متالوبتالاکتامازها علاوه بر ایجاد مقاومت نسبت به کاربانپم‌ها باعث مقاومت در برابر آمینوگلیکوزیدها نیز می‌گردند. به‌طورکلی متالوبتالاکتاماز آنزیم-های مؤثری در هیدرولیز کردن بتالاکتام‌ها به‌جز آزترونام هستند (۵). مقاومت سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* به سفالوسپورین-های نسل دوم و سوم (وسیع الطیف) و مونوباکتام‌ها ممکن است به‌وسیله ESBLs(Extended –spectrumβ- lactamases) صورت پذیرد (۶). تاکنون بیش از ۳۴۰ آنزیم بتالاکتاماز شناسایی‌شده است که در چهار کلاس قرارگرفته‌اند. کلاس‌های A, C, D بر پایه سرین عمل می‌کنند، درحالی‌که کلاس B یا متالوبتالاکتامازها برای انجام فعالیتشان به فلز روی احتیاج دارند (۷). شش نوع از متالوبتالاکتامازهایی که در *سودوموناس آئروژینوزا* شناسایی‌شده‌اند شامل IMP, VIM, GIM, SPM, SIM, AIM می‌باشند (۸). متالوبتالاکتاماز نوع IMP اولین بار در سال ۱۹۹۰ در ژاپن شناسایی شد، همچنین متالوبتالاکتاماز نوع VIM در سال ۱۹۹۹ در ایتالیا شناسایی شد که امروزه در اروپا، آمریکای جنوبی و آسیا توزیع‌شده است (۹). ژن‌های کد کننده متالوبتالاکتاماز هم کروموزومی و هم پلاسمیدی هستند، به‌طوری‌که در *سودوموناس آئروژینوزا* مهم‌ترین ژن‌های کد کننده متالوبتالاکتاماز bla_{VIM} و bla_{IMP} می‌باشند که به روش انتقال افقی و از طریق پلاسمید به سایر باکتری‌ها منتقل می-شوند (۱۰). ازآنجاکه شیوع مقاومت میکروبی در حال افزایش است درمان عفونت‌های ناشی از *سودوموناس آئروژینوزا* مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها در بیماران بستری‌شده اهمیت ویژه‌ای دارد، بنابراین شناسایی سریع باکتری‌های تولیدکننده متالوبتالاکتاماز برای مهار مؤثر انتشار آن‌ها ضروری است، زیرا ژن‌های مهم بالینی متالوبتالاکتاماز درکاست‌های ژنی متحرک مستقر در اینتگرون‌ها قرار دارند و می‌توانند در سایر باسیل‌های گرم منفی گسترش یابند. این تحقیق به‌منظور تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و شیوع ژن‌های bla_{VIM1} و bla_{IMP1} در ایزوله‌های *سودوموناس آئروژینوزای* جداشده از بیماران بستری در بیمارستان‌های مختلف ارومیه (طالقانی، امام رضا (ع) و عارفیان) انجام شد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه‌های بالینی و انجام تست‌های تأییدی

در این مطالعه‌ی مقطعی- توصیفی، تعداد ۷۵ نمونه مختلف بالینی شامل ادرار، زخم، ترشحات ریه از بیمارستان‌های مختلف شهر ارومیه از اردیبهشت تا مردادماه ۱۳۹۸ جمع‌آوری شدند. نمونه‌های جمع‌آوری‌شده برای جداسازی باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* به بخش میکروب‌شناسی و بیوشیمیایی منتقل‌شده و بر روی محیط‌های بلاد آگار و EMB کشت داده شدند و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه گردیدند. سپس از باکتری‌هایی که در محیط‌های کشت رشد کرده اسمیر تهیه نموده و رنگ‌آمیزی بر روی کشت‌های ۲۴ ساعته انجام شد. باکتری گرم منفی (*سودوموناس آئروژینوزا*) در زیر میکروسکوپ به رنگ صورتی دیده می‌شود. تعیین هویت و شناسایی گونه‌ی *سودوموناس آئروژینوزا* توسط تست‌های مختلف شامل رشد باکتری در محیط‌های مک‌کانکی آگار و آگار خون‌دار و تست‌های اکسیداز، کاتالاز، OF (Oxidative Fermentative Medium), TSI (Triple Sugar IronAgar) و بررسی رشد در محیط ستریمید انجام شد. برای انجام تست کاتالاز از آب‌اکسیژنه استفاده گردید و هم‌چنین برای انجام تست اکسیداز از کاغذ صافی و یک قطره محلول اکسیداز استفاده شد.

آزمون تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های باکتریایی

تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های جداسازی شده با استفاده از ۷ دیسک آنتی‌بیوتیکی رایج (شرکت پادتن طب) انجام گرفت. دیسک‌های مورداستفاده عبارت بودند از: جنتامایسین، سفتریاکسون، آمیکاسین، ایمی‌پنم، سفوتاکسیم، سفتازیدیم و سیپروفلاکساسین. تعیین الگوی مقاومت آنتی-بیوتیکی، با روش انتشار دیسک (Disk diffusion) به روش Kirby-Bauer و بر اساس دستورالعمل ۲۰۱۸ موسسه‌ی استانداردهای بین‌المللی CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) انجام شد (۱۱).

استخراج DNA و انجام PCR برای تعیین هویت مولکولی ایزوله‌های *سودوموناس آئروژینوزا*

برای اثبات وجود ژن‌های IMP و VIM از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) استفاده گردید. ابتدا استخراج DNA از باکتری به روش جوشانیدن (Boiling) انجام شد. برای این کار ابتدا نمونه‌هایی که در آزمون تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی به هر یک از آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام مقاوم بودند، در محیط نوترینت براث به مدت ۲۴ ساعت کشت داده شدند. سپس چند کلنی از محیط کشت برداشت نموده و در آب مقطر حل و سپس ورتکس شد. محلول حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه‌ی

سانتی‌گراد قرار داده شد و سپس با دور ۵۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. پس از سانتریوفیوژ، محلول رویی دور ریخته شد و رسوب باقی‌مانده حاوی DNA، با آب دیونیزه حل شد.

پرایمرهای مورداستفاده در این تحقیق (جدول ۱) برای تأیید

جدول ۱- توالی و مشخصات پرایمرهای رفت‌وبرگشت ژن bla_{IMP1} و bla_{VIM1}

NO.	ژن هدف	Seq. (5′-…-3′)	منبع	دمای اتصال	طول محصول (bp)
۱	VIM1	(F):AGTGGTGAGTATCCGACAG (R): ATGAAAGTGCGTGGAGAC	۸ و ۱۵	C۵۳/۳°	**۲۶۱**
۲	IMP1	(F): TGAGCAAGTTATCTGTATTC (R): TTAGTTGCTTGGTTTTGATG	۱۲ و ۲۲	C۵۱/۱°	**۷۴۰**

توالی بلاست شدند. برای انجام PCR واکنش در حجم استاندارد ۲۵ میکرولیتر شامل مخلوطی از ۵ میکرولیتر نمونه DNA استخراج‌شده، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر رفت‌وبرگشت، ۱۲/۵ میکرولیتر Master Mix و ۵/۵ میکرولیتر آب مقطر دیونیزه انجام شد و سپس نمونه‌ها به دستگاه ترموسایکلر با سیکل زمانی و حرارتی اختصاصی برای تکثیر هر ژن به شرح زیر انتقال داده شدند:

برای ژن bla_{VIM1}، بازه دمایی اول شامل یک سیکل واسرشت اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت دو دقیقه، تکرار ۳۵ سیکل برای واسرشت در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، دمای اتصال ۵۳/۳ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، دمای گسترش ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه و یک سیکل گسترش با دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه انجام شد.

برای ژن bla_{IMP1} نیز برنامه دمایی به‌صورت یک سیکل واسرشت اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت دو دقیقه، تکرار ۳۵ سیکل برای واسرشت در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، دمای اتصال ۵۱/۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، دمای گسترش ۷۲ درجه سانتی‌گراد به ترتیب به مدت ۲۰ ثانیه و یک سیکل گسترش نهایی با دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت هفت دقیقه انجام شد. به‌منظور بررسی محصول PCR، ۱۰ میکرولیتر ازآن‌جهت الکتروفورز روی ژل آگاروز ۱/۵ درصد انتقال داده شد و درنهایت با اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی و مورد ارزیابی قرار گرفت. از سویه ATCC 27853 *سودوموناس آئروژینوزا* به‌عنوان کنترل مثبت و از آب مقطر به‌عنوان کنترل منفی استفاده شد.

بررسی نتایج و رسم نمودارهای نتایج به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام شد. سپس با استفاده از Chi-square test در این نرم‌افزار نتایج آماری با محاسبه درصد فراوانی موردبررسی قرار گرفت.

نتایج

جمع‌آوری ایزوله‌ها و آزمون حساسیت آنتی‌بیوتیکی

در این مطالعه توصیفی– مقطعی، در یک بازه‌ی زمانی ۴ ماهه، تعداد ۷۵ ایزوله‌ی *سودوموناس آئروژینوزا* از بیماران بستری با دامنه سنی ۸۳-۱۹ سال (با میانگین سنی ۵۱) در بیمارستان-های مختلف شهر ارومیه جمع‌آوری و سپس با تست‌های بیوشیمیایی شناسایی و تأیید شدند. ۲۳ نمونه از بیماران زن (۳۰/۷۰ درصد) و ۵۲ نمونه از بیماران مرد (۶۹/۳ درصد) جمع‌آوری‌شده بودند.

نمونه‌های بالینی تهیه‌شده از بیماران شامل ۱۳/۴ درصد زخم، ۲۴ درصد ترشحات ریه و ۶۲/۶ درصد ادرار بود که با استفاده از آزمون‌های رایج بیوشیمیایی تعیین هویت گردید (جدول ۲). باکتری‌های ایزوله شده به ترتیب در بیمارستان‌های مطهری، امام رضا و عارفیان ۷۰/۶، ۲۶/۷، ۲/۷ درصد بودند که می‌توان این‌گونه نتیجه‌گیری کرد که بیمارستان مطهری نسبت به سایر

مراکز درمانی درصد بالایی از نمونه‌های بالینی و نمونه‌های مقاوم به دارو را به خود اختصاص داده است و *سودوموناس آئروژینوزا* بالاترین درصد فراوانی را در این بیمارستان داشته است.

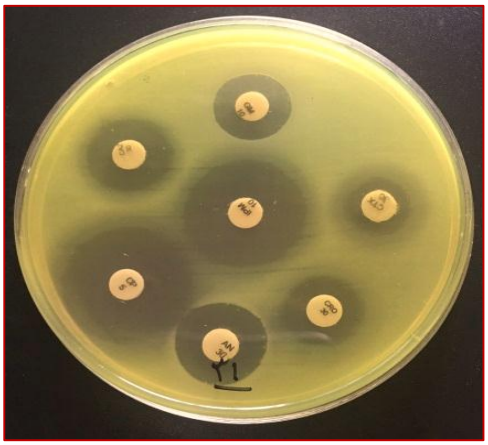
طبق نتایج آنتی‌بیوگرام و اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد (شکل ۱)، از ۷۵ ایزوله *سودوموناس آئروژینوزا* ۶۵ ایزوله (۸۶/۶ درصد) توانایی تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز را داشتند؛ که از این ۶۵ ایزوله، ۱۷ ایزوله نمونه‌ی ترشحات ریه (۲۴ درصد)، ۱۰ ایزوله نمونه‌ی زخم (۱۳/۴ درصد)، ۳۸ ایزوله نمونه‌ی ادرار (۶۲/۶ درصد) بود. بیشترین میزان مقاومت، مربوط به آنتی-بیوتیک سفوتاکسیم (۸۶/۶ درصد) و کمترین درصد مقاومت مربوط به آنتی‌بیوتیک جنتامایسین (۱۶ درصد) بود. مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های دیگر نیز به ترتیب سفتریاکسون (۷۴/۶ درصد)، آمیکاسین (۱۸/۶ درصد)، سفتازیدیم (۲۵/۳ درصد)، سیپروفلوکساسین (۲۲/۶ درصد) و ایمی‌پنم (۲۸ درصد) بود (جدول ۳).

جدول ۲- نتایج حاصل از تست‌های بیوشیمیایی برای شناسایی و جداسازی *سودوموناس آئروژینوزا*

OF		TSI	سیتریمید آگار	اکسیداز	کاتالاز	تست‌های بیوشیمیایی
هوازی	بی‌هوازی					
+	–	alk/alk	کلنی سبز	+	+	**نتایج**



(الف)



(ب)

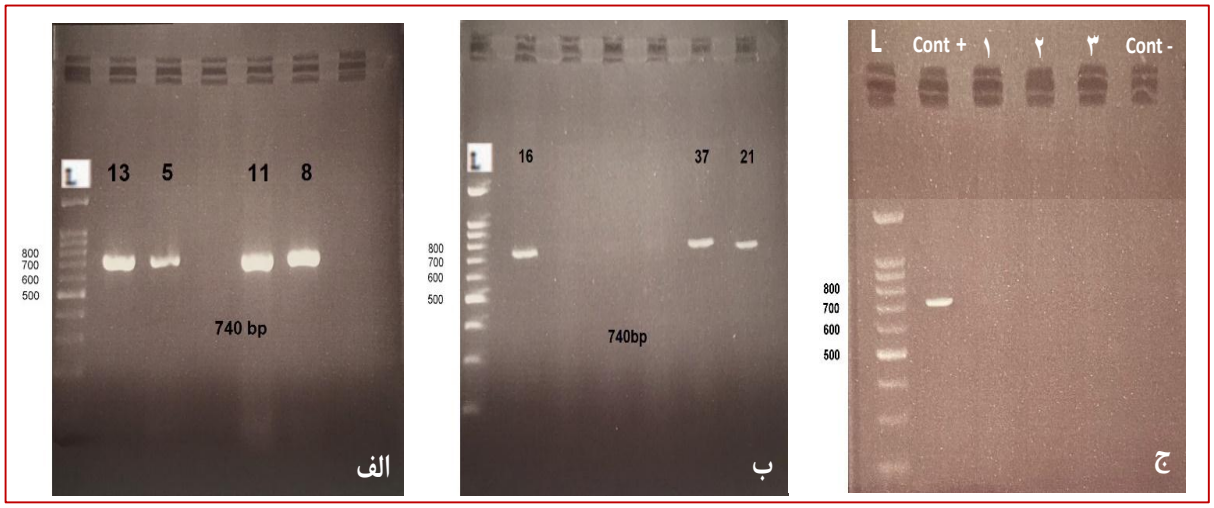
شکل ۱- کشت خطی در محیط مولر هینتون آگار (الف)، هاله عدم رشد (ب)

جدول ۳- الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های *سودوموناس آئروژینوزا*

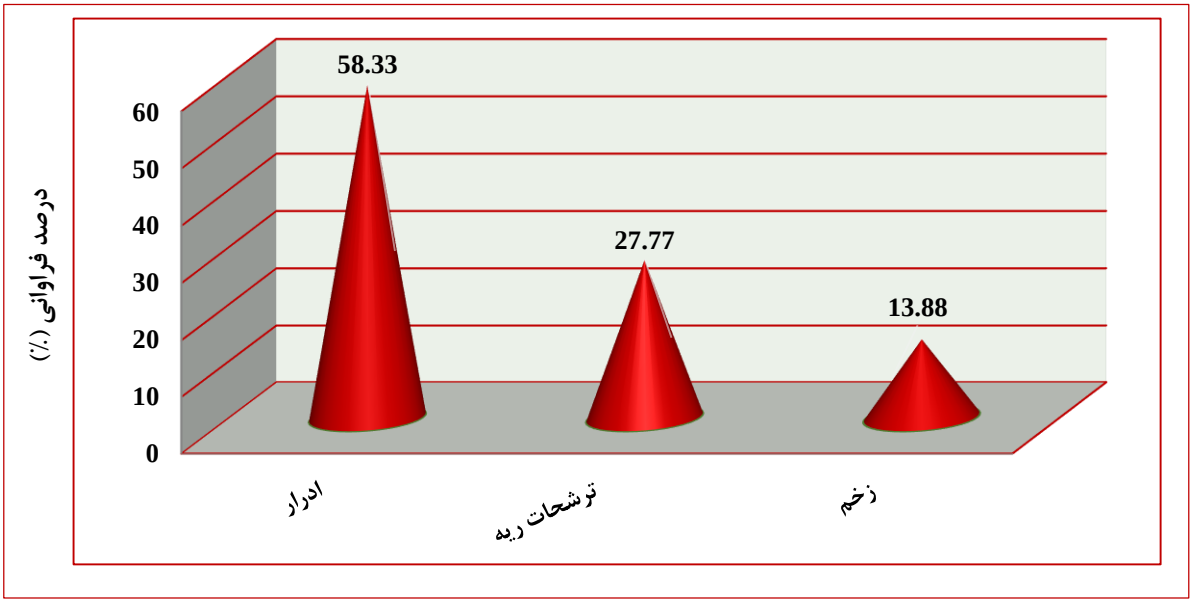
نوع آنتی‌بیوتیک	سویه‌های مقاوم (R)	سویه‌های نیمه حساس I	سویه‌های حساس (S)
جنتامایسین (۱۰µg)	۱۲(٪۱۶)	۳(٪۴)	۶۰ (٪۸۰)
سفتریاکسون (۳۰µg)	۵۶ (٪۷۴/۶)	۹(٪۱۲)	۱۱ (٪۱۳/۴)
آمیکاسین (۳۰µg)	۱۴ (٪۱۸ /۶)	۳(٪۴)	۵۸ (٪۷۷/۴)
سفوتاکسیم (۳۰µg)	۶۵ (٪۸۶/۶)	۵ (٪۶/۷)	۵ (٪۶/۷)
سفتازیدیم (۳۰µg)	۱۹ (٪۲۵/۳)	۱۰(٪۱۳/۴)	۴۶ (٪۶۱/۳)
سیپروفلاکساسین (۵µg)	۱۷ (٪۲۲/۶)	۱(٪۱/۴)	۵۷(٪۷۶)
ایمی‌پنم (۱۰µg)	۲۱(٪۲۸)	۱۲(٪۱۶)	۴۳(٪۵۶)

تعیین هویت ایزوله‌های *سودوموناس آئروژینوزا* به روش مولکولی

نتایج مولکولی بررسی شیوع ژن‌ها bla_{IMP1} نشان داد که از بین ۶۷ نمونه‌ی *سودوموناس آئروژینوزا* مقاوم به چند دارو تعداد ۳۶ نمونه (۸۹/۳ درصد) مثبت به ژن bla_{IMP1} مشاهده شد (شکل ۲). درصد فراوانی ژن bla_{IMP1} در نمونه‌های بالینی ادرار ۵۸/۳۳ درصد، در ترشحات ریه ۲۷/۷۷ درصد و در نمونه‌های زخم ۱۳/۸۸ درصد است (نمودار ۱). هم‌چنین رابطه بین حضور ژن IMP و حساسیت ضدمیکروبی در سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* در جدول ۴ گزارش‌شده است. با بررسی نتایج حاصل می‌توان چنین عنوان کرد که با افزایش فراوانی ژن IMP در سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزا*، مقاومت آن سویه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک افزایش‌یافته و حساسیت ضدمیکروبی آن کاهش می‌یابد.



شکل ۲– نتیجه آزمون PCR ژن IMP باند ۷۴۰ جفت بازی مربوط به bla_{IMP1}؛ L – مارکر نمونه ۱۳ ترشحات ریه، نمونه ۵ و ۱۱ ادرار، نمونه ۸ ادرار (الف)، نمونه ۱۶ زخم، نمونه ۳۷ ادرار، نمونه ۲۱ ادرار (ب)، L – مارکر، + cont- کنترل مثبت، نمونه‌های ۱، ۲ و ۳ – نمونه‌های منفی برای ژن bla_{IMP1}، - cont- کنترل منفی (ج).



نمودار ۱– فراوانی ژن bla_{IMP1} در نمونه‌های بالینی

از بین ۶۵ نمونه‌ی *سودوموناس آئروژینوزا* مقاوم به چند دارو هیچ نمونه‌ای حامل ژن bla_{VIM1} نبود.

جدول ۴- رابطه بین حضور ژن IMP و حساسیت ضدمیکروبی در سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزا*

نام آنتی‌بیوتیک	سفتریاکسون	سیپروفلاکساسین	سفتازیدیم	جنتامایسین	ایمی‌پنم	سفوتاکسیم	آمیکاسین
فراوانی مقاومت در سویه‌هایی با حضور ژن IMP	۳۴	۸	۱۳	۶	۱۵	۳۳	۳
درصد فراوانی (برای ژن IMP)	٪۹۴/۴	٪۲۲/۲۲	٪۳۶/۱۸	٪۱۶/۶۶	٪۴۱/۶۶	٪۹۱/۶۶	٪۸/۳۳

بحث

سودوموناس آئروژینوزا یکی از عوامل شایع عفونت‌های بیمارستانی است. این باکتری نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها حساسیت بسیار کمی دارد و این ویژگی درمان عفونت‌های ایجادشده توسط *سودوموناس آئروژینوزا* را مشکل می‌سازد (۱۲). کاربانپم‌ها ازجمله مروپنم و ایمی‌پنم داروهای انتخابی برای درمان عفونت‌های ایجادشده به‌وسیله *سودوموناس آئروژینوزا* هستند، اما مقاومت این باکتری به کاربانپم‌ها توسط کاربپنمازها به‌خصوص متالوبتالاکتاماز موجب گسترش و ظهور عفونت‌های شدید مانند سپتی‌سمی و پنومونی می‌گردد (۱۳). انتشار ژن‌های متالوبتالاکتاماز با مصرف آنتی‌بیوتیک‌هایی نظیر کاربانپنم افزایش می‌یابد و به‌طورکلی انتشار این ژن‌ها در میان باکتری‌های گرم منفی در حال افزایش است (۱۴).

در تحقیقاتی که توسط قاسمیان و همکاران در سال ۲۰۱۸ بر روی ۳۶ ایزوله انجام گرفت، مشخص شد که ۳۷/۷۲ درصد آن‌ها متالوبتالاکتاماز تولید می‌کنند و ژن‌های bla_{IMP}، bla_{VIM1} از مهم‌ترین آن‌ها می‌باشند، اما گزارشی از بررسی ژن‌های bla_{SPM1} و bla_{NDM1} در سودوموناس آئروژینوزا یافت نشده است (۱۵).

در مطالعه‌ای که توسط ساچدوا و همکاران در سال ۲۰۱۷ انجام گرفت، از میان ۲۵۰ سویه مقاوم به ایمی‌پنم، ۱۴۷ سویه متالوبتالاکتاماز مثبت گزارش‌شده است (۱۶)؛ اما در بررسی دیگری که در سال ۲۰۰۸ توسط شکیبایی و همکاران بر روی ۱۲۰ ایزوله *سودوموناس آئروژینوزا* انجام گرفت، هیچ ایزوله‌ای مولد متالو بتالاکتاماز گزارش نگردیده است (۱۷). همچنین در تحقیق دیگری که توسط تاپا و همکاران در سال ۲۰۱۷ بر روی باکتری‌های گرم منفی (*سودوموناس آئروژینوزا*، آسینتوباکتر) انجام گردید، بیان کردند که باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* متالوبتالاکتاماز تولید می‌کند و مقاومت چندگانه نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها نشان می‌دهد؛ اما نسبت به آنتی‌بیوتیک سفتازیدیم مقاومتی ندارند (۱۸). در تحقیق حاضر میزان مقاومت *سودوموناس آئروژینوزا* نسبت به سفتازیدیم ۲۵/۳ است. در مطالعه دیگری که در سال ۲۰۱۸ توسط آدام و همکاران انجام‌گرفته است در مورد ژن‌های متالوبتالاکتاماز bla_{IMP} و bla_{VIM}وbla_{NDM} در باکتری‌های گرم منفی (سودوموناس، اشرشیا کلی، سیتروباکتر) تحقیقاتی انجام‌شده است که از میان ۲۰۰ نمونه باکتری‌های گرم منفی، ۳۶/۱ درصد حاوی ژن متالوبتالاکتاماز می‌باشند (۱۹). در تحقیق حاضر نیز از ۷۵ ایزوله *سودوموناس آئروژینوزا* ۸۶/۶ درصد توانایی تولید آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز را داشتند. اگرچه این نمونه‌ها در پروسه تحقیقات در آزمایشگاه‌ها آلوده می‌شدند و باید برای ادامه کار دوباره نمونه تهیه می‌شد. بر اساس نتایج این مطالعه و مطالعات گذشته میزان شیوع آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز در *سودوموناس آئروژینوزا* افزایش‌یافته است.

در این تحقیق، از میان ۶۵ ایزوله *سودوموناس آئروژینوزای* مولد متالوبتالاکتاماز، ۱۷ ایزوله از ترشحات ریه، ۱۰ ایزوله از زخم و ۳۸ ایزوله از ادرار جداسازی شده‌اند که بالاترین میزان عفونت (۶۲/۶ درصد) مربوط به نمونه ادرار بودند. از طرفی در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۶ توسط رحیم‌زاده و همکاران انجام شد در بین عفونت‌های موردبررسی بالاترین میزان از عفونت‌ها مربوط به نمونه زخم در *سودوموناس آئروژینوزا* (۳۳/۳۳ درصد) بوده است (۲۰).

مطابق نتایج به‌دست‌آمده از این مطالعه، بیشترین مقاومت مربوط به آنتی‌بیوتیک سفوتاکسیم با ۸۶/۶ درصد و سفتریاکسون

با ۷۴/۶ درصد و کمترین مقاومت مربوط به آنتی‌بیوتیک جنتامایسین با ۱۶ درصد و میزان مقاومت سفتازیدیم، سیپروفلوکساسین، آمیکامایسین و ایمی‌پنم نیز ۲۵/۳ درصد، ۲۲/۶ درصد، ۱۸/۶ درصد و ۲۸ درصد است. بر اساس تحقیق انجام‌شده در سال ۲۰۱۸ توسط یاقوپ و همکاران بر روی ۱۵۰ نمونه جداسازی شده از زخم، ادرار و خلط، نتایج حاصل نشان داد که سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* بیشترین مقاومت را نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های پیپرامایسین (۷۸/۴ درصد) و کمترین میزان مقاومت را نسبت به آنتی‌بیوتیک ایمی‌پنم (۸ درصد) نشان می‌دهند و هم‌چنین بیان کردند که ۴۰/۵ درصد از سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* مقاومت چندگانه دارند (۲۱). در تحقیق دیگری که توسط صالح و همکاران در سال ۲۰۱۴ انجام شد، ۵۱/۷، ۶/۸، ۸/۶، ۶۵/۵ و ۵۱/۰۶ درصد از سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا در تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی به ترتیب نسبت به سفتازیدیم، سفوتاکسیم، جنتامایسین، سیپروفلوکساسین و ایمی‌پنم مقاوم بودند (۲۲). در تحقیق حاضر درصد مقاومت آنتی‌بیوتیک جنتامایسین به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای پایین بوده است.

در تحقیق دیگری که توسط آکیا و همکاران انجام شد، میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های سفتازیدیم، جنتامایسین به ترتیب ۷۰ درصد و ۵۰ درصد گزارش شد (۲۳). هم‌چنین در مطالعه دیگری که در سال ۲۰۱۴ توسط شیخ و همکاران بر روی ۲۲۳ ایزوله *سودوموناس آئروژینوزا* جداشده از بیماران سوختگی در اهواز انجام گرفت، بیشترین درصد مقاومت نسبت به ایمی‌پنم ۵۸/۷ درصد بوده است (۲۴). اسماعیلی و همکاران در سال ۲۰۱۹ بر روی ۱۵۰ نمونه زخم و خلط جداسازی شده از بیماران بستری در بیمارستان بقیه‌الله آزمایش‌هایی انجام دادند و چنین بیان کردند که ۹۴/۶۶ درصد از سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* نسبت به آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین مقاوم هستند؛ اما هیچ مقاومتی نسبت به آنتی‌بیوتیک پلی‌میکسین B ندارند، بنابراین پلی‌میکسین B آنتی‌بیوتیک مناسبی برای درمان عفونت‌های ایجادشده توسط *سودوموناس آئروژینوزا* است (۲۵).

در تحقیق دیگری که توسط فلاح و همکاران در سال ۲۰۱۳ بر روی سویه *سودوموناس آئروژینوزا* انجام‌گرفته است، بر اساس آن، ۴/۹ درصد سویه‌ها حاوی ژن bla_{IMP1} بودند درحالی‌که ژن bla_{VIM} در هیچ‌کدام از سویه‌ها مشاهده نشد (۲۶). در تحقیق حاضر نیز بر اساس نتایج PCR، ۸۹/۳ درصد جدایه‌ها، حاوی ژن bla_{IMP1} و صفر درصد حاوی ژن bla_{VIM1} هستند. می‌توان نتیجه گرفت که اکثر ایزوله‌های جمع‌آوری‌شده از بیماران بستری‌شده در بیمارستان‌های شهر ارومیه ژن bla_{IMP1} را دارند و فراوانی ژن‌های متالوبتالاکتاماز bla_{IMP1} بیشتر از ژن‌های bla_{VIM1} است.

در مطالعه دیگری که توسط خوروش و همکاران بر روی ۴۸ ایزوله *سودوموناس آئروژینوزای* نمونه‌های مختلف، آزمایش‌هایی انجام دادند و در طی این آزمایش از روش دیسک ترکیبی استفاده کردند و چنین عنوان کردند که ۷۵ درصد این ایزوله‌ها تولیدکننده متالوبتالاکتاماز می‌باشند که ۳۱/۳ درصد حامل bla_{IMP} و ۱۴/۶ درصد حامل ژن bla_{VIM} می‌باشند (۲۷). نتایج تحقیقات تراشی و همکاران در سال ۲۰۱۶ چنین نشان داد که از میان سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* ۶۴/۰۲ درصد آن‌ها تولیدکننده متالوبتالاکتاماز هستند و ۱۶/۸ درصد آن‌ها حاوی bla_{IMP1}و ۲۹/۲ درصد آن‌ها حاوی ژن bla_{VIM1} می‌باشند (۲۸). هم‌چنین در مطالعه دیگری که در سال ۲۰۱۹ توسط جوجی و همکاران بر روی ۵۰ نمونه سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا انجام گرفت، نشان داد که ۸۰ درصد این سویه‌ها نسبت به ایمی‌پنم مقاوم هستند و از میان ۴۰ نمونه مقاوم به ایمی‌پنم ۵۲ درصد نمونه‌ها حاوی ژن‌های متالوبتالاکتاماز می‌باشند، به‌طوری‌که ۴۷/۵ درصد حاوی ژن bla_{VIM} و ۲/۵ درصد حاوی ژن bla_{NDM1} و ۱ درصد حاوی هر دو ژن bla_{VIM} و bla_{NDM1} می‌باشند، درحالی‌که نمونه‌های حساس به ایمی‌پنم هیچ‌کدام از ژن‌های bla_{VIM} و bla_{NDM1} را نداشتند (۲۹).

در مطالعه‌ای که توسط سرهنگی و همکاران بر روی نمونه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* انجام دادند، ۲۴ درصد از نمونه‌ها تنها ژن bla_{IMP1} را داشتند (۳۰). هم‌چنین شاهی و همکاران در سال ۲۰۱۷ میزان شیوع ژن‌های bla_{IMP} و bla_{VIM} را در *سودوموناس آئروژینوزا* موردتحقیق و بررسی قرار دادند. نتایج حاصل نشان داد که ۵۷/۹ درصد نمونه‌ها مقاوم به ایمی‌پنم می‌باشند و سویه‌های تولیدکننده متالوبتالاکتاماز دارای ژن bla_{IMP} هستند و هیچ‌یک از نمونه‌ها ژن bla_{VIM} را ندارند (۳۱)؛ که با نتایج تحقیق ما تطابق دارد.

چایرات و همکاران در سال ۲۰۱۹ بر روی ۶۷ نمونه که از بیماران بستری در بخش سوختگی جداسازی شده بود، تحقیقاتی انجام دادند و بیان کردند که ۳۸/۸ درصد از نمونه‌ها متالوبتالاکتاماز تولید می‌کنند و هم‌چنین حامل ژن bla_{VIM2} می‌باشند (۳۲).

به‌طورکلی در روند این مطالعات مقاومت نسبت به آنتی

-بیوتیک‌ها به‌وضوح نشان داده‌شده است. بااینکه در تمامی این تحقیقات از روش انتشار دیسک استفاده‌شده است، اما تفاوت‌های چشمگیری در مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها دیده می‌شود. عامل اصلی این نوسانات و تفاوت‌های چشمگیر نتایج حاصل از مطالعه‌ی حاضر با مطالعاتی که در نقاط مختلف انجام‌شده است می‌تواند به دلیل سطح بهداشت افراد منطقه، تفاوت درروش نمونه‌گیری، تفاوت منطقه‌ی جغرافیایی و رژیم غذایی باشد. لذا اختلاف در فراوانی ژن‌های مقاومت را باید در حضور سایر ژن‌های مولد مقاومت جستجو کرد که در مناطق مختلف از فراوانی متفاوتی برخوردارند که باعث تفاوت ژنوتیپی و فنوتیپی در سطح سویه‌های مقاوم این باکتری می‌گردد. این تنوع ژن‌های مقاومت در تمام باکتری‌های خانواده‌ی *سودوموناس آئروژینوزا* نیز صدق می‌کند و باعث تفاوت نتایج فنوتیپی و ژنوتیپی در سطح ایزوله-های مقاوم این باکتری‌ها می‌گردد.

نتیجه‌گیری

به‌طورکلی نتایج این تحقیق بیانگر این است که سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزای* مقاوم به آنتی‌بیوتیک در حال افزایش است و تولید متالوبتالاکتاماز یکی از دلایل این امر است. هم‌چنین وجود ژن bla_{IMP} در ۵۵/۳۸ درصد سویه‌های مولد متالوبتالاکتاماز ردیابی شده است. بررسی و تشخیص سریع این آنزیم‌ها در باکتری‌های مقاوم به کاربانپم‌ها به‌ویژه ایمی‌پنم هم ازلحاظ اپیدمیولوژیک و هم به‌منظور 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. در پژوهش حاضر طبق نتایج به‌دست‌آمده بیشترین میزان مقاومت در باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* مربوط به آنتی‌بیوتیک سفوتاکسیم (۸۶/۶ درصد) و کمترین میزان مقاومت مربوط به آنتی‌بیوتیک جنتامایسین (۱۶ درصد) بود.

ازجمله محدودیت‌هایی که پیشبرد بهتر تحقیق حاضر را دچار مشکل می‌نماید، عدم همکاری بیمارستان‌ها برای دسترسی به نمونه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* بود. هم‌چنین در مطالعه حاضر به دلیل وجود تحریم‌ها، مهارکننده‌ای که برای انجام تست فنوتیپی متالوبتالاکتاماز خریداری‌شده بود، از کیفیت مناسبی برخوردار نبود، به همین دلیل نتایج حاصل از تست‌های MBL متالوبتالاکتاماز جهت ارائه در مقاله غیرقابل استناد بودند، بنابراین از ارائه آن‌ها در مقاله امتناع شد.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه دوره کارشناسی ارشد زیست‌فناوری گرایش میکروبی مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه با شماره ۱۰۳۳۰۵۰۷۹۷۲۰۰۶ است. بدین‌وسیله نویسندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را از معاونت محترم تحقیقات و فناوری و کارکنان آزمایشگاه میکروب‌شناسی و ژنتیک دانشگاه به دلیل همکاری در مسیر انجام این مطالعه ابراز می‌نمایند.

تعارض منافع

بین نتایج مطالعه و منافع نویسندگان هیچ‌گونه تعارضی وجود ندارد.

References

1. Pang Z, Raudonis R, Glick BR, Lin TJ, Cheng Z. Antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa: mechanisms and alternative therapeutic strategies. Biotechnology advances. 2019; 37(1):177-192.
2. Ghamgosha M, Shahrekizahedani S, Kafilzadeh F, Bameri Z, Taheri RA, Farnoosh G. Metallo-beta-lactamase VIM-1, SPM-1, and IMP-1 genes among clinical Pseudomonas aeruginosa species isolated in Zahedan, Iran. JJM. 2015; 8(4): 1-5.
3. Luyt CE, Aubry A, Lu Q, Micaelo M, Bréchot N, Brossier F, et al. Imipenem, meropenem, or doripenem to treat patients with Pseudomonas aeruginosa ventilator-associated pneumonia. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2014; 58(3):1372-1380.
4. Vaez H, Salehi-Abargouei A, Khademi F. Systematic review and meta-analysis of imipenem-resistant Pseudomonas aeruginosa prevalence in Iran. Germs. 2017; 7(2):86-97.

5. Kao CY, Chen SS, Hung KH, Wu HM, Hsueh PR, Yan JJ, et al. Overproduction of active efflux pump and variations of OprD dominate in imipenem-resistant Pseudomonas aeruginosa isolated from patients with bloodstream infections in Taiwan. BMC microbiology. 2016; 16(1):1-8.
6. Laudy AE, Róg P, Smolińska-Król K, Ćmiel M, Słoczyńska A, Patzer J, et al. Prevalence of ESBL-producing Pseudomonas aeruginosa isolates in Warsaw, Poland, detected by various phenotypic and genotypic methods. PloS one. 2017; 12(6): 1-15.
7. Öztürk H, Ozkirimli E, Özgür A. Classification of beta-lactamases and penicillin binding proteins using ligand-centric network models. PloS one. 2015; 10(2): 1-23.
8. Pathak P, Jaishi N, Yadav BK, Shah PK. Prevalence of extended spectrum beta lactamases (ESBL) and metallo beta lactamases (MBL) mediated resistance in gram negative bacterial pathogens. Tribhuvan UJM. 2017; 4:49-54.
9. Davoodi S, Boroumand MA, Sepehriseresht S, Pourgholi L. Detection of VIM-and IMP-type metallo-beta-lactamase genes in Acinetobacter baumannii isolates from patients in two hospitals in Tehran. IJB. 2015; 13(1): 63-67.
10. Abaza AF, El Shazly SA, Selim HS, Aly GS. Metallo-beta-lactamase producing Pseudomonas aeruginosa in a healthcare setting in Alexandria, Egypt. Pol J Microbiol. 2017; 66(3): 297-308.
11. Humphries RM, Ambler J, Mitchell SL, Castanheira M, Dingle T, Hindler JA, et al. CLSI methods development and standardization working group best practices for evaluation of antimicrobial susceptibility tests. Journal of clinical microbiology. 2018 Apr 1; 56(4): 1-10.
12. Nathwani D, Raman G, Sulham K, Gavaghan M, Menon V. Clinical and economic consequences of hospital-acquired resistant and multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa infections: a systematic review and meta-analysis. Antimicrobial resistance and infection control. 2014; 3(1): 1-16.
13. Zhanel GG, Lawrence CK, Adam H, Schweizer F, Zelenitsky S, Zhanel M, et al. Imipenem–relebactam and meropenem–vaborbactam: two novel carbapenem-β-lactamase inhibitor combinations. Drugs. 2018; 78(1): 65-98.
14. Gonçalves IR, Dantas RC, Ferreira ML, Batistão DW, Gontijo-Filho PP, Ribas RM. Carbapenem-resistant Pseudomonas aeruginosa: association with virulence genes and biofilm formation. BJM. 2017; 48(2): 211-217.
15. Ghasemian A, Rizi KS, Vardanjani HR, Nojoomi F. Prevalence of clinically isolated metallo-beta-lactamase-producing Pseudomonas aeruginosa, coding genes, and possible risk factors in Iran. IJP. 2018; 13(1): 1-9.
16. Sachdeva R, Sharma B, Sharma R. Evaluation of different phenotypic tests for detection of metallo-β-lactamases in imipenem-resistant Pseudomonas aeruginosa. JLP. 2017; 9(4): 249-253.
17. Shakibaie MR, Shahcheraghi F, Hashemi A. Detection of TEM, SHV and PER Type Extended-Spectrum ß-Lactamase Genes among Clinical Strains of Pseudomonas aeruginosa Isolated from Burnt Patients at Shafa-Hospital, Kerman, Iran. IJBMS. 2008; 11(2):104-111.
18. Thapa P, Bhandari D, Shrestha D, Parajuli H, Chaudhary P, Amatya J, et al. A hospital based surveillance of metallo-beta-lactamase producing gram negative bacteria in Nepal by imipenem-EDTA disk method. BMC research notes. 2017; 10(1):1-6.
19. Adam MA, Elhag WI. Prevalence of metallo-β-lactamase acquired genes among carbapenems susceptible and resistant Gram-negative clinical isolates using multiplex PCR, Khartoum hospitals, Khartoum Sudan. BMC infectious diseases. 2018; 18(1): 1-6.
20. Rahimzadeh Torabi L, Doudi M, Golshani Z. The frequency of blaIMP and blaVIM carbapenemase genes in clinical Isolates of pseudomonas aeruginosa in Isfahan medical centers. MJMUMS. 2016; 59(3):139-147. [In Persian]
21. Yagoup, MA, Taha, AA, Mubarak, AK, Elgalli, A, Alammen HE. Drugs-Resistant Pseudomonas aeruginosa Isolated from Various Clinical Specimens in Khartoum, Sudan. *Children*. 2019; 8(22):441-444.
22. Saleh F, Azizi H, Azizi M, Shakib P. Detection of Pseudomonas aeruginosa producing Metallo-β-Lactamases from patients in Shohadaye-Ashayer hospital, Khorramabad. Zanko Journal of Medical Sciences. 2014;15(44):48-53. [In Persian]
23. Akya A, Salimi A, Nomanpour B, Ahmadi K. Prevalence and clonal dissemination of metallo-beta-lactamase-producing Pseudomonas aeruginosa in Kermanshah. JJM. 2015; 8(7): 1-5.

24. Sheikh AF, Rostami S, Jolodar A, Tabatabaiefar MA, Khorvash F, Saki A, et al. Detection of metallo-beta lactamases among carbapenem-resistant Pseudomonas aeruginosa. Jundishapur journal of microbiology. 2014; 7(11): 1-6.
25. Esmaeili D, Daymad SF, Neshani A, Rashki S, Marzhoseyni Z, Khaledi A. Alerting prevalence of MBLs producing Pseudomonas aeruginosa isolates. Gene Reports. 2019; 16:1-5.
26. Fallah F, Borhan RS, Hashemi A. Detection of bla (IMP) and bla (VIM) metallo-β-lactamases genes among Pseudomonas aeruginosa strains. IJBT. 2013;3(2):122-124.
27. Khorvash F, Yazdani M, Shabani S, Soudi A. Pseudomonas aeruginosa-producing metallo-β-lactamases (VIM, IMP, SME, and AIM) in the clinical isolates of intensive care units, a university hospital in Isfahan, Iran. Advanced Biomedical Research. 2017; 6: 1-6.
28. Tarashi S, Goudarzi H, Erfanimanesh S, Pormohammad A, Hashemi A. Phenotypic and molecular detection of metallo-beta-lactamase genes among imipenem resistant Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii strains isolated from patients with burn injuries. Arch Clin Infect Dis. 2016; 11(4): 1-6.
29. Joji RM, Al-Rashed N, Saeed NK, Bindayna KM. Detection of VIM and NDM-1 metallo-beta-lactamase genes in carbapenem-resistant Pseudomonas aeruginosa clinical strains in Bahrain. Journal of laboratory physicians. 2019; 11(2):138-143.
30. Sarhangi M, Motamedifar M, Sarvari J. Dissemination of Pseudomonas aeruginosa producing blaIMP1, blaVIM2, blaSIM1, blaSPM1 in Shiraz, Iran. JJM. 2013 Sep 1;6(7): 1-5.
31. Shahi F, Hashemi A, Abdolmaleki K, Shahi Z, Amraei S, Goudarzi H, et al. Antibacterial effects of Quercus Brantii fruits and Stachys lavandulifolia methanol extracts on imipenemase-type metallo-beta lactamase-producing Pseudomonas aeruginosa. Research Journal of Pharmacognosy. 2017; 4(3): 59-66.
32. Chairat S, Ben Yahia H, Rojo-Bezares B, Sáenz Y, Torres C, Ben Slama K. High prevalence of imipenem-resistant and metallo-beta-lactamase-producing Pseudomonas aeruginosa in the Burns Hospital in Tunisia: detection of a novel class 1 integron. Journal of Chemotherapy. 2019; 31(3): 120-126.

Original Article

Prevalence of the Metallo-β-Lactamase, Bla$_{IMP1}$ and Bla$_{VIM1}$ Genes in *Pseudomonas Aeruginosa* Isolated from Hospitalized Patients in Urmia Hospitals

Abedi M, Parvini Kohneh Shahri M*

Department of Biology, Urmia Branch, Islamic Azad University, Urmia, Iran

Received: 20 Oct 2020 Accepted: 02 Jan 2021

Abstract

Background & Objective: *Pseudomonas aeruginosa* is one of the gram-negative, opportunistic, catalase-positive pathogens that causes important opportunistic infections such as urinary tract infection, pneumonia, and septicemia. It is resistant to many antibiotics, including third-generation cephalosporins, penicillin and cephamycin. The prevalence of the Metallo-β-lactamase, bla$_{IMP1}$ and bla$_{VIM1}$ genes in *Pseudomonas Aeruginosa* isolated from hospitalized patients in Urmia hospitals has not been investigated yet. The aim of this study was to determine the prevalence of bla$_{VIM1}$ and bla$_{IMP1}$ metallo-β-lactamase genes in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa f*rom hospitalized patients in Urmia.

Materials & Methods: In this descriptive cross-sectional study, from May to August 2019, a total of 75 P. aeruginosa from different sections (urine, wound and lung secretions) were collected from Urmia medical centers. After bacterial confirmation by biochemical tests, antibiotic susceptibility tests were performed using the disc release method. Identification of blaVIM1 and blaIMP1 genes in the samples was performed using PCR method.

Results: The results of the antibiotic susceptibility test showed 86.6% of resistance to beta-lactam drugs in the isolates. In this study, the highest resistance to cefotaxime (86.6%) and the lowest resistance to gentamicin was observed (16%). Based on the PCR results, 55.38% of isolates contained bla$_{IMP1}$ gene and 0% contained bla$_{VIM1}$.

Conclusion: The result of this study showed a large percentage of *Pseudomonas aeruginosa* strains were resistant to carbapenem antibiotics, and bla$_{IMP1}$ was dominant gene among carbapenem-resistant strains. Since the importance of Metallo-β-lactamase generating strains in the hospitals, rapid identification of these strains can be an important step in the treatment and control of infections caused by these strains.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, Metallo-β-lactamase, Hospital infections, Antibiotic resistance, PCR

***Corresponding Author: Parvini Kohneh Shahri Maryam**, Department of Biology, Urmia Branch, Islamic Azad University, Urmia, Iran
Email: m.parvini@iaurmia.ac.ir.com
https://orcid.org/0000-0002-8285-5699