



مقاله پژوهشی

بررسی فراوانی ژن‌های متالوبتالاکتاماز bla_{VIM1} و bla_{IMP1} در سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا 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 پذیرش مقاله: ۱۳۹۹/۱۰/۱۳

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۹/۰۷/۲۹

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 از جمله سفالوسپورین‌های نسل سوم، پنی‌سیلین‌ها و سفومايسين‌ها 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 متالوبتالاکتاماز 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 در مجموع 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 جدایه‌ها 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 کارباپنم مقاوم بودند و هم‌چنین bla_{IMP1} ژن غالب در میان سویه‌های مقاوم به کارباپنم 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

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

سودوموناس آئروژینوزا پاتوژن فرصت‌طلب در بیماران دچار نقص سیستم ایمنی مانند مبتلایان به سرطان، سوختگی و فیبروز کیستیک 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). کارباپنم‌ها از جمله مروپنم و ای‌می‌پنم آنتی‌بیوتیک‌های

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

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

آزاد اسلامی، ارومیه، ایران

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

شهر ارومیه از اردیبهشت تا مردادماه ۱۳۹۸ جمع‌آوری شدند. نمونه‌های جمع‌آوری‌شده برای جداسازی باکتری سودوموناس آئروژینوزا به بخش میکروب‌شناسی و بیوشیمیایی منتقل شده 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 Iron Agar) و بررسی رشد در محیط ستریمرید 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 مورد استفاده عبارت بودند از: جنتامایسین، سفتریاکسون، آمیکاسین، ایمپنم، سفوتاکسیم، سفنازیدیم و سیپروفلوکساسین. 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 پلیمرز (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 برات 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

باکتری به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام است. متالوبتالاکتامازها علاوه بر ایجاد مقاومت نسبت به کاربام‌ها باعث مقاومت در برابر آمینوگلیکوزیدها نیز می‌گردند. به‌طور کلی متالوبتالاکتاماز آنزیم‌های 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-spectrum β -lactamases) صورت پذیرد (۶). تاکنون بیش از ۳۴۰ آنزیم بتالاکتاماز شناسایی شده است که در چهار کلاس قرار گرفته‌اند. 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 شناسایی شده‌اند 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 توزیع شده 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 می‌شوند (۱۰). از آنجاکه شیوع مقاومت میکروبی در حال افزایش است درمان عفونت‌های ناشی از سودوموناس آئروژینوزا مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها در بیماران بستری شده اهمیت ویژه‌ای دارد، بنابراین شناسایی سریع باکتری‌های تولیدکننده متالوبتالاکتاماز برای مهار مؤثر انتشار آن‌ها ضروری است، زیرا ژن‌های مهم بالینی متالوبتالاکتاماز در کاست‌های 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 جداسازی شده 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



۱۰ میکرولیتر از آن جهت الکتروفورز روی ژل آگاروز ۱/۵ درصد انتقال داده شد و در نهایت با اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی و مورد ارزیابی قرار گرفت. از سویه ATCC 27853 سودوموناس آئروژینوزا به عنوان کنترل مثبت و از آب مقطر به عنوان کنترل

سنتی گراد قرار داده شد و سپس با دور ۵۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتیریفوژ گردید. پس از سانتیریفوژ، محلول رویی دور ریخته شد و رسوب باقی مانده حاوی DNA، با آب دیونیزه حل شد. پرایمرهای مورد استفاده در این تحقیق (جدول ۱) برای تأیید

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

NO.	ژن هدف	Seq. (5'...3')	منبع	دمای اتصال	طول محصول (bp)
۱	VIM1	(F): AGTGGTGAGTATCCGACAG (R): ATGAAAGTGCCTGGAGAC	۱۵ و ۸	۵۳/۳°	۲۶۱
۲	IMP1	(F): TGAGCAAGTTATCTGTATTC (R): TTAGTTGCTTGGTTTTGATG	۲۲ و ۱۲	۵۱/۱°	۷۴۰

منفی استفاده شد.

بررسی نتایج و رسم نمودارهای نتایج به دست آمده با استفاده از نرم افزار Excel انجام شد. سپس با استفاده از Chi-square test در این نرم افزار نتایج آماری با محاسبه درصد فراوانی مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج

جمع آوری ایزوله ها و آزمون حساسیت آنتی بیوتیکی

در این مطالعه توصیفی - مقطعی، در یک بازه زمانی ۴ ماهه، تعداد ۷۵ ایزوله ی سودوموناس آئروژینوزا از بیماران بستری با دامنه سنی ۸۳-۱۹ سال (با میانگین سنی ۵۱) در بیمارستان های مختلف شهر ارومیه جمع آوری و سپس با تست های بیوشیمیایی شناسایی و تأیید شدند. ۲۳ نمونه از بیماران زن (۳۰/۷۰ درصد) و ۵۲ نمونه از بیماران مرد (۶۹/۳ درصد) جمع آوری شده بودند.

نمونه های بالینی تهیه شده از بیماران شامل ۱۳/۴ درصد زخم، ۲۴ درصد ترشحات ریه و ۶۲/۶ درصد ادرار بود که با استفاده از آزمون های رایج بیوشیمیایی تعیین هویت گردید (جدول ۲). باکتری های ایزوله شده به ترتیب در بیمارستان های مطهری، امام رضا و عارفیان ۷۰/۶، ۲۶/۷، ۲/۷ درصد بودند که می توان این گونه نتیجه گیری کرد که بیمارستان مطهری نسبت به سایر

توالی بلاست شدند. برای انجام PCR واکنش در حجم استاندارد ۲۵ میکرولیتر شامل مخلوطی از ۵ میکرولیتر نمونه DNA استخراج شده، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر رفت و برگشت، ۱۲/۵ میکرولیتر Master Mix و ۵/۵ میکرولیتر آب مقطر دیونیزه انجام شد و سپس نمونه ها 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 سانتی گراد به مدت دو دقیقه، تکرار ۳۵ سیکل برای واسرشت در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه، دمای اتصال ۵۳/۳ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه، دمای گسترش ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۴۰ ثانیه و یک سیکل گسترش با دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه انجام شد.

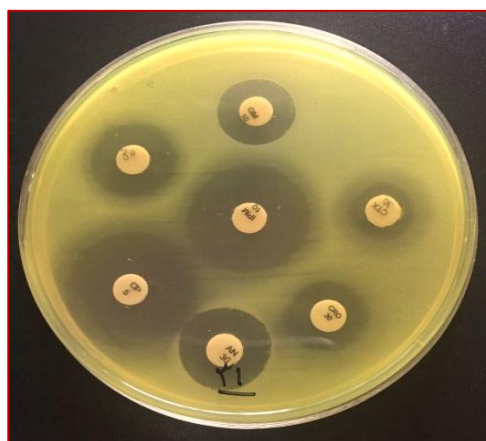
برای ژن bla_{IMP1} نیز برنامه دمایی به صورت یک سیکل واسرشت اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت دو دقیقه، تکرار ۳۵ سیکل برای واسرشت در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه، دمای اتصال ۵۱/۱ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ ثانیه، دمای گسترش ۷۲ درجه سانتی گراد به ترتیب به مدت ۲۰ ثانیه و یک سیکل گسترش نهایی با دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت هفت دقیقه انجام شد. به منظور بررسی محصول PCR،

(۶/۶۲ درصد) بود. بیشترین میزان مقاومت، مربوط به آنتی-بیوتیک سفوتاکسیم (۸۶/۶ درصد) و کمترین درصد مقاومت مربوط به آنتی-بیوتیک جنتامایسین (۱۶ درصد) بود. مقاومت به آنتی-بیوتیک‌های دیگر نیز به ترتیب سفتریاکسون (۷۴/۶ درصد)، آمیکاسین (۱۸/۶ درصد)، سفتازیدیم (۲۵/۳ درصد)، سیپروفلوکساسین (۲۲/۶ درصد) و ایمپنم (۲۸ درصد) بود (جدول ۳).

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 آنتی-بیوگرام 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

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

OF	TSI	سیتریمید آگار	اکسیداز	کاتالاز	تست‌های بیوشیمیایی
هوای +	بی‌هوای -	alk/alk	کلنی سبز	+	نتایج



(ب)



(الف)

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

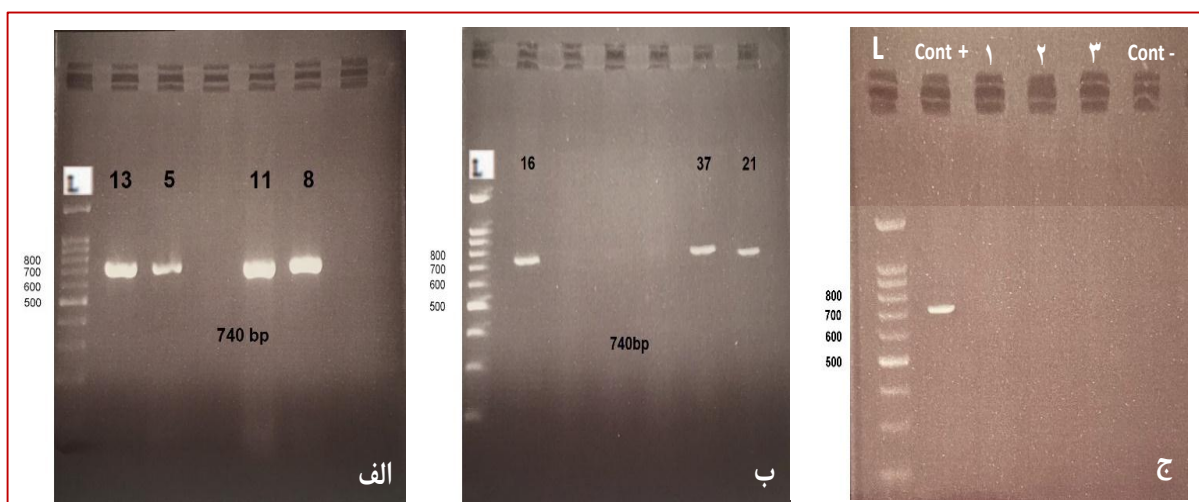
جدول ۳- الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا

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

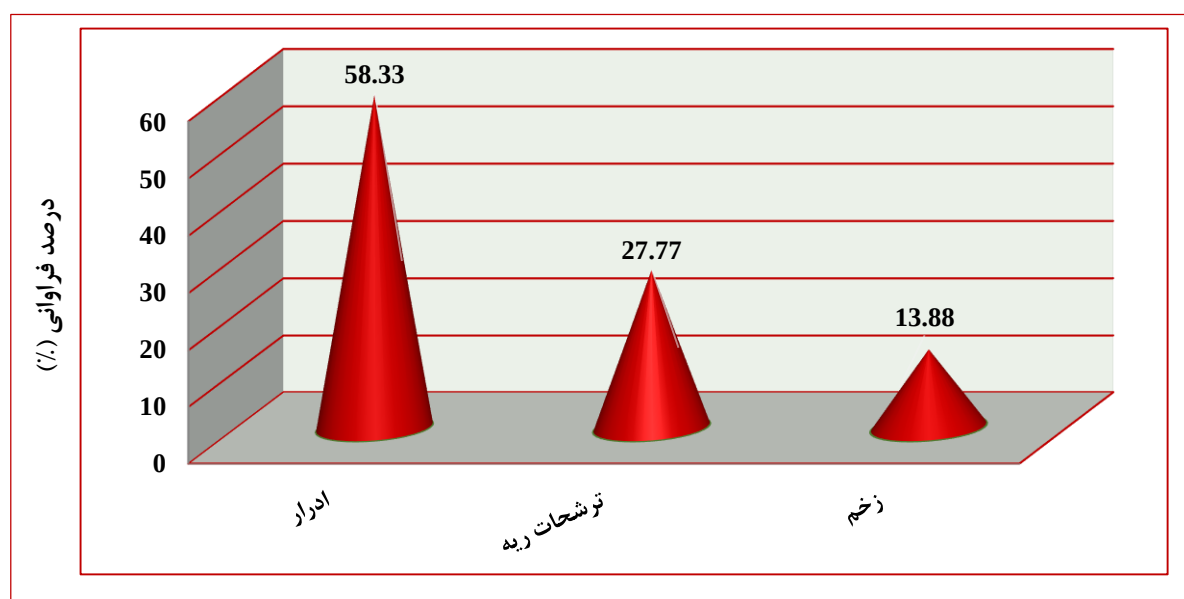
۱۳/۸۸ درصد است (نمودار ۱). همچنین رابطه بین حضور ژن IMP و حساسیت ضد میکروبی در سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا در جدول ۴ گزارش شده است. با بررسی نتایج حاصل می‌توان چنین عنوان کرد که با افزایش فراوانی ژن IMP در سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا، مقاومت آن سویه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک افزایش یافته و حساسیت ضد میکروبی آن کاهش می‌یابد.

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



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.

انجام گردید، بیان کردند که باکتری سودوموناس آئروژینوزا

جدول ۴- رابطه بین حضور ژن IMP و حساسیت ضد میکروبی در سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا

نام آنتی‌بیوتیک	سفترایاکسون	سیپروفلاکساسین	سفتازیدیم	جنتامایسین	ایمی‌پنم	سفتاکسیم	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

متالوبتالاکتاماز تولید می‌کند و مقاومت چندگانه نسبت به آنتی-بیوتیک‌ها 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 انجام گرفته است در مورد ژن‌های متالوبتالاکتاماز bla_{IMP} و bla_{VIM} و bla_{NDM} در باکتری‌های گرم منفی (سودوموناس، اشرشیا کلی، سیتروباکتر) تحقیقاتی انجام شده 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 افزایش یافته 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 مورد بررسی 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 سفتاکسیم با ۸۶/۶ درصد و سفترایاکسون

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). کارباینها از جمله مروپنم و ایمپنم داروهای انتخابی برای درمان عفونت‌های ایجادشده به‌وسیله سودوموناس آئروژینوزا هستند، اما مقاومت این باکتری به کارباینها توسط کاربپنمازها به‌خصوص متالوبتالاکتاماز موجب گسترش و ظهور عفونت‌های شدید مانند سپتی‌سمی و پنومونی می‌گردد (۱۳). انتشار ژن‌های متالوبتالاکتاماز با مصرف آنتی‌بیوتیک‌هایی نظیر کارباینها افزایش می‌یابد و به‌طور کلی 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 ایمپنم، ۱۴۷ سویه متالوبتالاکتاماز مثبت گزارش شده 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 متالوبتالاکتاماز گزارش نگردیده است (۱۷). همچنین در تحقیق دیگری که توسط تاپا و همکاران در سال ۲۰۱۷ بر روی



گرفت که اکثر ایزوله‌های جمع‌آوری شده از بیماران بستری شده 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 خورش و همکاران بر روی ۴۸ ایزوله سودوموناس آئروژینوزا/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 ایمی-پنم مقاوم هستند و از میان ۴۰ نمونه مقاوم به ایمی-پنم 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 ایمی-پنم 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 ایمی-پنم 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). به‌طور کلی در روند این مطالعات مقاومت نسبت به آنتی

با ۷۴/۶ درصد و کمترین مقاومت مربوط به آنتی‌بیوتیک جنتامایسین با ۱۶ درصد و میزان مقاومت سفنازیدیم، سیپروفلوکساسین، آمیکامایسین و ایمی-پنم 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 پیرامایسین (۷۸/۴ درصد) و کمترین میزان مقاومت را نسبت به آنتی‌بیوتیک ایمی-پنم (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، ۵۱/۶، ۸/۶، ۶۵/۵ و ۵۱/۰۶ درصد از سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا در تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی به ترتیب نسبت به سفنازیدیم، سفوتاکسیم، جنتامایسین، سیپروفلوکساسین و ایمی-پنم 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 سفنازیدیم، 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 ایمی-پنم 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 انجام گرفته 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

حاضر طبق نتایج به دست آمده بیشترین میزان مقاومت در باکتری سودوموناس آئروژینوزا مربوط به آنتی بیوتیک سفوتاکسیم (۸۶/۶ درصد) و کمترین میزان مقاومت مربوط به آنتی بیوتیک جنتامایسین (۱۶ درصد) بود.

از جمله محدودیت هایی که پیشبرد بهتر تحقیق حاضر را دچار مشکل می نماید، عدم همکاری بیمارستان ها برای دسترسی به نمونه های سودوموناس آئروژینوزا بود. هم چنین در مطالعه حاضر به دلیل وجود تحریم ها، مهارکننده ای که برای انجام تست فنوتیپی متالوبتالاکتاماز خریداری شده بود، از کیفیت مناسبی برخوردار نبود، به همین دلیل نتایج حاصل از تست های MBL متالوبتالاکتاماز جهت ارائه در مقاله غیر قابل استناد بودند، بنابراین از ارائه آن ها در مقاله امتناع شد.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان نامه دوره کارشناسی ارشد زیست فناوری گرایش میکروبی مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه با شماره ۱۰۳۳۰۵۰۷۹۷۲۰۰۶ است. بدین وسیله نویسندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را از معاونت محترم تحقیقات و فناوری و کارکنان آزمایشگاه میکروبی شناسی و ژنتیک دانشگاه به دلیل همکاری در مسیر انجام این مطالعه ابراز می نمایند.

تعارض منافع

بین نتایج مطالعه و منافع نویسندگان هیچ گونه تعارضی وجود ندارد.

بیوتیک ها به وضوح نشان داده شده است. با اینکه در تمامی این تحقیقات از روش انتشار دیسک استفاده شده است، اما تفاوت های چشمگیری در مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک ها دیده می شود. عامل اصلی این نوسانات و تفاوت های چشمگیر نتایج حاصل از مطالعه ای حاضر با مطالعاتی که در نقاط مختلف انجام شده است می تواند به دلیل سطح بهداشت افراد منطقه، تفاوت در روش نمونه گیری، تفاوت منطقه ای جغرافیایی و رژیم غذایی باشد. لذا اختلاف در فراوانی ژن های مقاومت را باید در حضور سایر ژن های مولد مقاومت جستجو کرد که در مناطق مختلف از فراوانی متفاوتی برخوردارند که باعث تفاوت ژنوتیپی و فنوتیپی در سطح سویه های مقاوم این باکتری می گردد. این تنوع ژن های مقاومت در تمام باکتری های خانواده ای سودوموناس آئروژینوزا نیز صدق می کند و باعث تفاوت نتایج فنوتیپی و ژنوتیپی در سطح ایزوله های مقاوم این باکتری ها می گردد.

نتیجه گیری

به طور کلی نتایج این تحقیق بیانگر این است که سویه های سودوموناس آئروژینوزای مقاوم به آنتی بیوتیک در حال افزایش است و تولید متالوبتالاکتاماز یکی از دلایل این امر است. هم چنین وجود ژن bla_{IMP} در ۵۵/۳۸ درصد سویه های مولد متالوبتالاکتاماز ردیابی شده است. بررسی و تشخیص سریع این آنزیم ها در باکتری های مقاوم به کاربایتم ها به ویژه ایمی پنم هم از لحاظ اپیدمیولوژیک و هم به منظور کمک به پزشکان معالج در انتخاب آنتی بیوتیک مناسب برای درمان موفق بیماران و نیز برای کنترل سویه های مقاوم به داروها و جلوگیری از انتشار چنین عفونت هایی در بیمارستان ها لازم به نظر می رسد. در پژوهش

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, Bréchet 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 β -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* from 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 bla_{VIM1} and bla_{IMP1} 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>