

## فراوانی ژن‌های متالوبتالاکتاماز و بتالاکتامازهای طیف گسترده در باکتری‌های گرم منفی جدا شده از پنومونی وابسته به ونتیلاتور در بخش مراقبت‌های ویژه بیمارستان امام رضا (ع) شهر کرمانشاه

سپیده کدیوریان<sup>۱</sup>، ژاله مرادی<sup>۲</sup>، محسن نجفی<sup>۳</sup>، محسن عزیزی<sup>۳</sup>، رامین عبیری<sup>۴</sup>، سارا کوتی<sup>۵</sup>، امیرهوشنگ الوندی<sup>۱</sup>

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**مقدمه:** پنومونی وابسته به ونتیلاتور، شایع‌ترین عفونت اکتسابی بیمارستانی است که مسؤول افزایش مرگ و میر بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه است. مطالعه‌ی حاضر، با هدف بررسی فراوانی ژن‌های MBL و ESBL و تعیین الگوهای مقاومت آنتی‌بیوتیکی در باسیل‌های گرم منفی جدا شده از ونتیلاتور در بخش ICU (Intensive care unit) بیمارستان امام رضا (ع) شهر کرمانشاه طراحی شد.

**روش‌ها:** پس از جمع‌آوری نمونه‌ها و تعیین هویت باکتری‌ها به وسیله‌ی روش‌های استاندارد بیوشیمیایی و کشت میکروبی، ۱۵۲ ایزوله‌ی باکتریایی شناسایی شد. شناسایی ژن‌های ESBL و MBL با روش فنوتیپی DDCT و روش مولکولی PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی انجام شد.

**یافته‌ها:** شایع‌ترین میکروارگانیسم جداسازی شده از بیماران VAP (Ventilator-associated pneumonia)، کلسیلا پنومونیه (۵۶/۲ درصد) بود. در مجموع، فراوانی ژن‌های ESBL و MBL (۷۴/۳۴ درصد) و ۱۱۳ (۵/۲۶ درصد) بود. الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی نشان داد که ۳۶/۵۳ درصد ایزوله‌ها به سفوتاکسیم و ایمپنم مقاوم هستند. ژن blaSHVOS با فراوانی (۴۹/۳۴ درصد) ۷۵، بیشترین فراوانی ژنوتیپی را داشت. ژن blaVIM در هیچ کدام از ایزوله‌ها یافت نشد.

**نتیجه‌گیری:** مقاومت بالای ایزوله‌های اسیتینوآکتر بومانی و کلسیلا پنومونیه نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مذکور و شیوع بالای ژن‌های مولد ESBL در ایزوله‌های کلسیلا پنومونیه، زنگ هشدار قابل توجهی در ICU بخش‌های مختلف بیمارستان امام رضا (ع) است. ظهور ژن blaPER-1 در بیماران مبتلا به VAP نگرانی دیگری در بیماران مبتلا به VAP در بخش مراقبت‌های ویژه ایجاد کرده است.

**واژگان کلیدی:** پنومونی وابسته به ونتیلاتور؛ ESBL؛ MBL؛ بخش مراقبت‌های ویژه

**ارجاع:** کدیوریان سپیده، مرادی ژاله، نجفی محسن، عزیزی محسن، عبیری رامین، کوتی سارا، الوندی امیرهوشنگ. فراوانی ژن‌های متالوبتالاکتاماز و بتالاکتامازهای طیف گسترده در باکتری‌های گرم منفی جدا شده از پنومونی وابسته به ونتیلاتور در بخش مراقبت‌های ویژه بیمارستان امام رضا (ع) شهر کرمانشاه. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۱؛ ۴۰ (۷۰۲): ۱۰۹۰-۱۰۸۰

لوله‌گذاری در بیماران دارای تهویه‌ی مکانیکی ایجاد می‌شود (۱). این عارضه‌ی جدی، اغلب با افزایش هزینه‌های درمانی و افزایش مرگ و میر بیماران بستری در بخش ICU (Intensive care unit) همراه است. امروزه با وجود افزایش کیفیت حمایت‌های بهداشتی، مرگ و میر بیماران پنومونی وابسته به ونتیلاتور، ۲۴-۷۶ درصد نسبت به سایر

### مقدمه

عفونت‌های بیمارستانی یا مرتبط با مراقبت‌های بهداشتی، ۴۸ ساعت یا بیشتر پس از بستری شدن و دریافت مراقبت‌های بهداشتی رخ می‌دهد. پنومونی وابسته به ونتیلاتور (Ventilator-associated pneumonia) VAP یکی از شایع‌ترین این دسته است که ۴۸-۷۲ ساعت پس از

۱- کارشناسی ارشد میکروبی‌شناسی، کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، گروه میکروبی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

۲- استادیار باکتری‌شناسی پزشکی، گروه میکروبی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

۳- کارشناسی ارشد، کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، گروه میکروبی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

۴- استاد، مرکز تحقیقات باروری و ناباروری، گروه میکروبیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

۵- استادیار، گروه باکتری‌شناسی پزشکی، دانشکده‌ی علوم پزشکی بهبهان، بهبهان، ایران

۶- دانشیار، مرکز تحقیقات فناوری پزشکی، گروه میکروبیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: امیرهوشنگ الوندی؛ دانشیار، مرکز تحقیقات فناوری پزشکی، گروه میکروبیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

Email: ah\_alvandi@kums.ac.ir

به ونتیلاتور باعث مقاومت به داروهای درمانی اصلی پنومونی وابسته به ونتیلاتور و استفاده از درمان ترکیبی با چندین آنتی‌بیوتیک شده است. همین امر، سبب ظهور سویه‌های مقاوم به یک یا چند کلاس آنتی‌بیوتیکی شده است. دانستن اپیدمیولوژی ژن‌های رایج در هر بخش بیمارستان می‌تواند برای پزشک در درمان تجربی کمک‌کننده باشد.

شناسایی ژن‌های ESBL و MBL در بیماران مبتلا به پنومونی وابسته به ونتیلاتور، باعث درمان مؤثر و کاهش زمان انتقال و به تبع آن کاهش مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی، کاهش هزینه‌های مراقبت‌های بهداشتی و کاهش نرخ مرگ و میر در بخش ICU می‌شود. علاوه بر این، به بهبود وضعیت سلامت بیماران و حمایت‌های درمانی و آزمایشگاهی کمک می‌کند (۱۰). هدف از مطالعه‌ی حاضر، شناسایی فراوانی ژن‌های ESBL و MBL در بیماران پنومونی وابسته به ونتیلاتور در ICU بخش‌های مختلف بیمارستان امام رضا(ع) شهر کرمانشاه بود.

### روش‌ها

این مطالعه‌ی توصیفی-مقطعی از تیرماه ۱۳۹۸ تا خردادماه ۱۳۹۹ در بخش مراقبت‌های ویژه‌ی بیمارستان امام رضا(ع) شهر کرمانشاه با رعایت معیارهای ورود و خروج بیماران مبتلا انجام شد. معیار ورود بیماران شامل بیماران اتوبه شده با تشخیص پنومونی بر اساس علائم بالینی مانند تب بالای ۳۸ درجه، ترشحات چرکی نای، لکوسیتوز و انفیلتراسیون در رادیوگرافی بود. معیارهای خروج شامل بیماران دارای مشکلات ریوی قبل از لوله‌گذاری، نقص سیستم ایمنی و سپسیس ناشی از بیماری غیر ریوی بود.

نمونه‌های گرفته شده از بیماران بر روی محیط‌های مک کانکی آگار، شکلات آگار و بلاد آگار کشت داده شد و به مدت ۱۸-۲۴ ساعت انکوبه شدند. همه‌ی نمونه‌ها با استفاده از روش‌های متداول بیوشیمیایی و میکروسکوپی مرتبط با استانداردهای میکروب‌شناسی تعیین هویت شدند. در مجموع ۱۵۲ ایزوله‌ی باکتریایی شامل ۸۱ ایزوله‌ی کلبسیلا پنومونیه، ۴۹ ایزوله‌ی اسیتوباکتر بومانی و ۲۹ ایزوله‌ی سودوموناس اثرورینوزا شناسایی شد. علاوه بر این، تعیین مولکولی ایزوله‌های اسیتوباکتر بومانی با استفاده از ژن *blaOXA-51* انجام شد. پس از آماده‌سازی ایزوله‌ها در محیط نگهدارنده‌ی حاوی ۲۰ درصد گلیسرول، ایزوله‌ها به منظور انجام بررسی‌های آزمایشگاهی در منفی ۸۰ درجه نگهداری شدند. جهت تشخیص ایزوله‌های تولیدکننده‌ی آنزیم‌های MBL و ESBL با استفاده از روش DDCT از دیسک ایمی‌پنم به تنهایی و در ترکیب با EDTA و جهت شناسایی ایزوله‌های تولیدکننده‌ی ESBL از دیسک‌های سفنازیدیم و سفوتاکسیم به تنهایی و در ترکیب با

بیماری‌های مرتبط با مراقبت‌های بهداشتی افزایش یافته است. امروزه ظهور و انتشار پاتوژن‌های گرم منفی مقاوم به اکثر آنتی‌بیوتیک‌ها در ICU بالا است (۲، ۳). شایع‌ترین پاتوژن باکتریایی مسبب پنومونی وابسته به ونتیلاتور، باسیل‌های گرم منفی مانند کلبسیلا پنومونیه، سودوموناس اثرورینوزا و اسیتوباکتر بومانی هستند، که انتشار و توانایی بالایی در مقاومت به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها دارند. با وجود پیچیدگی مکانیسم‌های مقاومت به کاربایتم‌ها در باسیل‌های گرم منفی، تولید کاربایتم‌ها از اصلی‌ترین مکانیسم‌های مقاومت به داروها به شمار می‌آیند (۴). باکتری‌های تولیدکننده‌ی ESBL ابتدا در اروپا و سپس در سراسر جهان انتشار یافتند. پاتوژن‌های باکتریایی معمولاً از طریق تولید آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز (MBLs) و بتالاکتامازهای طیف گسترده (ESBLs) مقاومت بالایی به کاربایتم‌ها و سفالوسپورین‌ها پیدا کرده‌اند. از این‌رو، مقاومت به چند دارو و شیوع باکتری‌های تولیدکننده‌ی ESBL و MBL درمان ضد میکروبی را به شدت با مشکل مواجه کرده است و جهان را به یک چالش جدی در امر درمان کشانده است (۵).

مهم‌ترین ژن‌های ESBL متعلق به خانواده‌ی *blaCTXM*، *blaSHV* و *blaTEM* است. ژن‌های کدکننده‌ی *blaCTXM* و *blaTEM* بر روی پلاسמידهای بزرگ قرار دارند و مسؤول مقاومت به سفالوسپورین‌های نسل سوم و چهارم هستند. نوع غالب و شایع ESBL در بسیاری از کشورها *blaCTXM* است که از بسیاری از پاتوژن‌های چند مقاومتی مسبب VAP جداسازی شده است (۶). در مقابل رایج‌ترین نوع ژن‌های ESBL، ژن‌هایی مانند *blaPER* از انواع نادر ژن‌های ESBL مسبب عفونت‌های بیمارستانی است. اما امروزه به دلیل استفاده‌ی گسترده از لوله‌گذاری در بیماران بستری، افزایش مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی و عدم درمان مؤثر ضدباکتریایی، ظهور و گسترش باسیل‌های گرم منفی تولیدکننده‌ی *blaPER* در بیماران مبتلا به پنومونی وابسته به ونتیلاتور مشاهده می‌شود (۷). علاوه بر ژن‌های ESBL، ژن‌های *VIM* و *IMP* به عنوان مهم‌ترین ژن‌های MBL با فراوانی بالا در باسیل‌های گرم منفی شناسایی شده‌اند. این ژن‌ها توانایی هیدرولیز کاربایتم‌ها و گسترش بالا در بیماران و سایر پاتوژن‌ها دارند. از این‌رو، به عنوان نگران‌کننده‌ترین ژن‌های MBL جداسازی شده از بیماران پنومونی وابسته به ونتیلاتور محسوب می‌شوند (۸، ۹).

با وجود شناخت اکثر میکروارگانیزم‌های عامل پنومونی وابسته به ونتیلاتور و تلاش در زمینه‌ی پیشگیری و کاهش شیوع سویه‌های مقاوم، دانش ما در زمینه‌ی درمان مؤثر، پیشگیری از عوارض بستری در ICU و مدیریت بیماران آلوده به این عفونت تنفسی ضعیف است. گسترش فراوانی ژن‌های ESBL و MBL در بیماران پنومونی وابسته

شد (Bioneer, Korea) و پس از ویرایش با استفاده از نرم‌افزار BLAST مشابهت‌یابی شد. برای اطمینان از نتایج PCR، یک نمونه مثبت از هر کدام از ژن‌های دارای فراوانی توالی‌یابی شد. تجزیه و تحلیل آماری نتایج با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۰ Chi-Square (version 20, SPSS Inc., Chicago, IL) و آزمون انجام گرفت.

### یافته‌ها

در مجموع ۱۵۲ سویه‌ی باکتریایی شامل سودوموناس اثرورژینوزا (n = ۲۹)، کلبسیلا پنومونیه (n = ۸۰) و اسیتوباکتر بومانی (n = ۴۳) از بیماران مبتلا به پنومونی وابسته به ونتیلاتور ICU بخش‌های مختلف بیمارستان امام رضا(ع) شهر کرمانشاه جداسازی شد و به صورت فنوتیپی و ژنوتیپی مورد ارزیابی قرار گرفتند. حداقل و حداکثر سن بیماران مبتلا به پنومونی وابسته به ونتیلاتور، ۲ و ۷۱ سال بود. در بین جمعیت مورد مطالعه، بیشترین ایزوله‌های جداسازی شده مربوط به گروه سنی ۴۰-۲۱ (n = ۷۶) سال بود. (۵۷ درصد) ۸۷ از بیماران مبتلا به پنومونی وابسته به ونتیلاتور را مردان و (۴۳ درصد) ۶۵ از بیماران را زنان شامل شدند. فراوانی کلبسیلا پنومونیه، در مردان و فراوانی اسیتوباکتر بومانی و سودوموناس اثرورژینوزا در زنان بیشتر بود. غالب‌گری با استفاده از روش انتشار دیسک با اندازه‌گیری قطر هاله‌ی عدم رشد در اطراف دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی مورد مطالعه ایزوله‌های باکتریایی در جدول ۲ نشان داده شده است. الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی کل ایزوله‌های مطالعه نشان داد که (۳۴/۱۹ درصد) ۱۴۶، (۲/۳۴ درصد) ۱۰ و (۷۹/۳۹ درصد) ۳۳۹ به ترتیب به همه‌ی آنتی‌بیوتیک‌ها حساس، نیمه حساس و مقاوم بودند. میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه، اسیتوباکتر بومانی و سودوموناس اثرورژینوزا به ترتیب ۶۹/۷۶، ۶۹/۶۹ درصد بود.

کلاولانیک اسید استفاده شد. قطر هاله‌ی عدم رشد  $\geq 7$  در اطراف دیسک ایمپنم همراه با EDTA و قطر هاله‌ی عدم رشد  $\geq 5$  در اطراف دیسک‌های سفنازیدیم و یا سفوتاکسیم همراه با کلاولانیک اسید، به عنوان MBL و ESBL مثبت در نظر گرفته شد. از سویه‌های استاندارد سودوموناس اثرورژینوزا ATCC 27853، کلبسیلا پنومونیه ATCC 700603 و اسیتوباکتر بومانی ATCC 19606 به عنوان کنترل استفاده شد. ژنوم باکتری‌های تأیید نهایی شده با استفاده از کیت استخراج DNA AccuPrep Genomic (Bioneer, Korea) مطابق با دستورالعمل کیت، انجام شد سپس ژنوم تمام ایزوله‌های مورد مطالعه با استفاده از کیت استخراج (Bioneer, Korea) DNA AccuPrep Genomic و مطابق با دستورالعمل کیت، استخراج شد. کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری گردید. DNA تمام نمونه‌ها برای انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمرز در دمای منفی ۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد ذخیره شد.

حضور ژن‌های MBL و ESBL با روش PCR در ایزوله‌های گرم منفی مورد بررسی قرار گرفت. برای بهینه‌سازی واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با استفاده از دستگاه ترموسیکلر (Bio Rad, Singapore) در ۳۰ سیکل در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل مستر میکس IX با حجم ۸/۵ میکرولیتر (آمپلیکون، دانمارک)، ۱ میکرولیتر از هر جفت پرایمر با غلظت ۰/۶۷ میکرومولار و ۲ میکرولیتر از DNA نمونه‌ها با غلظت ۱۰۰ نانوگرم انجام شد. توالی پرایمرهای تهیه شده از شرکت بایونیر کره جنوبی در جدول ۱ آورده شده است. محصولات PCR با استفاده از ژل الکتروفورز (BIO RAD) با ولتاژ ۸۵ به مدت ۴۵ دقیقه بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد حاوی safe stain حرکت داده شد و با استفاده از ژل داک مشاهده گردید. برای تأیید حضور هر یک از ژن‌ها محصول PCR به وسیله‌ی روش Dye-terminator sequencing توالی‌یابی

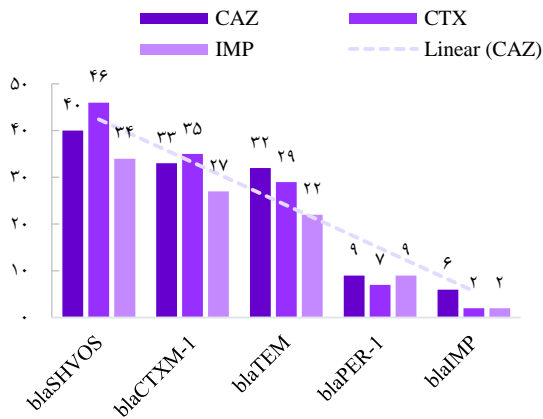
جدول ۱. پرایمرهای مورد مطالعه

No.	Name	Sequence(5'→3')	Product size (bp)	Reference	Annealing
1	CTXM-1 F CTXM-1 R	GCAGCACCAGTAAAGTGATGG GCTGGGTGAAGTAAAGTACC	591 bp	(۱۱)	54.5°C
2	TEM A TEM B	TAAAATCTTGAAGACG TTACCAATGCTTAATCA	1074 bp	(12)	42°C
3	SHVOS 5 SHVOS 6	GATTTGCTGAATTCGCTC TTATCTCCCTGTTAGCCA	797 bp	(12)	49.5°C
4	PER-1 F PER-1 R	ATGAATGTCATTATAAAAAGCT TTAATTTGGGCTTAGGG	927 bp	(13)	45.5°C
5	VIM F VIM R	TTGGTCGCATATCGCAACG CCATTCAGCCAGATCGGCAT	500bp	This study	58°C
6	IMP F IMP R	GCTGAGGCTTATCTAATTGAC CCAACCTTCACTGTGACTTGG	479bp	This study	53.5°C
7	OXA-51 F OXA-51 R	TAATGCTTTGATCGGCCTTG TGGATTGCACTTCATCTTGG	353bp	(14)	54°C

جدول ۲. مشخصات مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های باکتریایی

Antibiotic	<i>K. pneumoniae</i>			<i>A. baumannii</i>			<i>P. aeruginosa</i>		
	S (درصد)	I (درصد)	R (درصد)	S (درصد)	I (درصد)	R (درصد)	S (درصد)	I (درصد)	R (درصد)
CAZ	۴۱ (۵۱/۲۵)	۰ (۰)	۳۹ (۴۸/۷۵)	۰ (۰)	۰ (۰)	۴۲ (۹۷/۶۷)	۵ (۱۷/۲۴)	۰ (۰)	۲۴ (۸۲/۷۶)
CTX	۳۰ (۳۷/۵)	۸ (۱۰)	۴۲ (۵۲/۵)	۰ (۰)	۰ (۰)	۴۲ (۹۷/۶)	-	-	-
IMP	۳۵ (۶۶/۲۵)	۲ (۲/۵)	۲۵ (۳۱/۲۵)	۰ (۰)	۰ (۰)	۴۱ (۹۵/۳۴)	۱۳ (۴۴/۸۳)	۰ (۰)	۱۶ (۵۵/۱۷)
Total	۱۲۴ (۵۱/۶۷)	۱۰ (۱۲/۵)	۱۷۳ (۳۹/۳۲)	۰ (۰)	۰ (۰)	۱۲۵ (۹۶/۸۹)	۱۸ (۳۱/۰۴)	۰ (۰)	۴۱ (۶۸/۹۶)

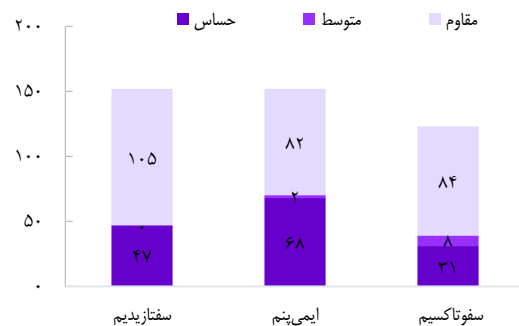
و MBL در ایزوله‌های مورد مطالعه نشان داده شده است. مقادیر P کمتر از ۰/۰۵ از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شدند. بیشترین حساسیت و مقاومت ضد میکروبی در میان ایزوله‌های تولیدکننده‌ی ESBL را ایمی پنم (۴۱/۶ درصد) و سفنازیدیم (۳۲/۷ درصد) ۳۷ نشان دادند (شکل ۲).



شکل ۲. رابطه‌ی بین ژن‌های ESBL و MBL و مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های سفناتاکسیم، سفنازیدیم و ایمی پنم

نتایج واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) نشان داد که ۶۷/۴۴ درصد (۱۰۱ ایزوله‌ی تولیدکننده‌ی ESBL) و ۵/۲۶ درصد (۸ ایزوله‌ی MBL مثبت بودند که کلبسیلا پنومونیه با فراوانی ۸۵ درصد و سودوموناس اثرورژینوزا ۲۰/۶ درصد به ترتیب بیشترین ایزوله‌های تولیدکننده‌ی ESBL و MBL بودند.

درصد مقاومت در ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه، اسیتوباکتر بومانی و سودوموناس اثرورژینوزا به ترتیب ۷۶/۲۵، ۹۶/۹۰ و ۷۰/۶۹ درصد بود. بیشترین حساسیت در ایزوله‌های تولیدکننده‌ی ESBL نسبت به ایمی پنم ۶۸ (۴۴/۷۳ درصد) و بیشترین مقاومت در این سویه‌ها نسبت سفنازیدیم ۱۰۵ (۶۹/۰۸ درصد) به دست آمد. همانطور که در شکل ۱ نشان داده شده است، ایزوله‌های مورد مطالعه الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی بسیار بالایی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سفنازیدیم، سفناتاکسیم و ایمی پنم داشته‌اند. در مجموع ۱۵۲ ایزوله‌ی باکتریایی مورد مطالعه مطابق با دستورالعمل CLSI تحت تشخیص فنوتیپی تولید ESBL بر اساس روش دیسک ترکیبی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که (۷۴/۳۴ درصد) ۱۱۳ ایزوله، ESBL مثبت و (۲۵/۶۵ درصد) ۳۹ ایزوله‌ی ESBL منفی بودند.



شکل ۱. الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی کل ایزوله‌های مطالعه

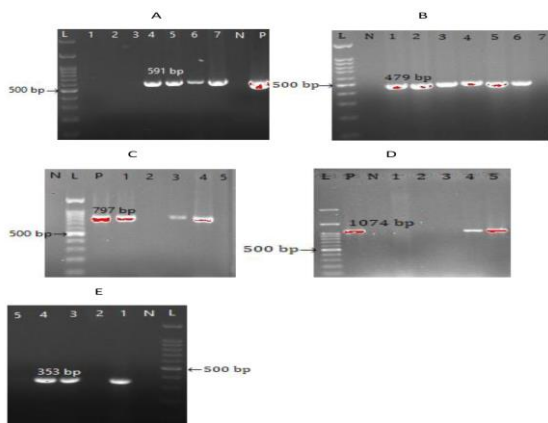
در جدول ۳، ارتباط فنوتیپی و ژنوتیپی و فراوانی ژن‌های ESBL

جدول ۳. ارتباط فنوتیپی و ژنوتیپی و فراوانی ژن‌های ESBL و MBL در ایزوله‌های مورد مطالعه

ایزوله	فراوانی ایزوله (درصد)	فنتوتیپ مثبت ESBL (درصد)	ژنوتیپ مثبت ESBL (درصد)	فنتوتیپ مثبت MBL (درصد)	ژنوتیپ مثبت MBL (درصد)
<i>K. pneumoniae</i>	۸۰ (۵۲/۶)	۴۸ (۶۰)	۶۸ (۸۵)	۱۱ (۱۳/۷۵)	۲ (۲/۵)
<i>A. baumannii</i>	۴۳ (۲۸/۳)	۲۷ (۶۲/۸)	۲۶ (۶۰/۴۶)	۰ (۰)	۰ (۰)
<i>P. aeruginosa</i>	۲۹ (۱۹/۱)	۱۹ (۶۵/۵۱)	۷ (۲۴/۱۳)	۱۶ (۵۵/۱۷)	۶ (۲۰/۶۹)
مجموع	۱۵۲ (۱۰۰)	۹۴ (۶۱/۸۴)	۱۰۱ (۶۶/۴۴)	۲۶ (۱۷/۱)	۸ (۵/۲۶)

جدول ۴. فراوانی ژن‌های مورد مطالعه بر حسب سویه‌های باکتریایی

<i>P. aeruginosa</i> (درصد)	<i>A. baumannii</i> (درصد)	<i>K. pneumonia</i> (درصد)	
۴ (۱۳/۸)	۹ (۲۰/۹)	۶۲ (۷۷/۵)	<i>SHVOS</i>
۱ (۳/۴)	۹ (۲۰/۹)	۲۶ (۳۲/۵)	<i>TEM</i>
۰ (۰)	۱۶ (۳۷/۲)	۲۲ (۲۷/۵)	<i>CTXM-1</i>
۶ (۲۰/۶)	۰ (۰)	۲ (۲/۵)	<i>IMP</i>
۲ (۶/۹)	۷ (۱۶/۲)	۰ (۰)	<i>PER-1</i>
۰ (۰)	۲ (۴/۶)	۱۱ (۱۳/۷۵)	<i>SHVOS+TEM+CTXM-1</i>
۰ (۰)	۰ (۰)	۱۲ (۱۵)	<i>SHVOS+TEM</i>
۰ (۰)	۷ (۱۶/۲)	۷ (۸/۷۵)	<i>SHVOS+CTXM-1</i>
۱ (۳/۴)	۰ (۰)	۲ (۲/۵)	<i>SHVOS+IMP</i>
۰ (۰)	۲ (۴/۶)	۱ (۱/۲۵)	<i>CTXM-1+TEM</i>
۰ (۰)	۱ (۲/۳)	۰ (۰)	<i>TEM+PER-1</i>
۰ (۰)	۱ (۲/۳)	۰ (۰)	<i>CTXM-1+PER-1</i>



شکل ۳. نتایج PCR ژن‌های ESBL و MBL (مطالعه: A) نتایج PCR ژن *CTXM-1*: L: مارکر با وزن مولکولی 100 bp، N: کنترل منفی، P: کنترل مثبت، ۱ تا ۳: نمونه‌های منفی، ۴ تا ۷: نمونه‌های مثبت (B) نتایج PCR ژن *IMP*: L: مارکر با وزن مولکولی 100 bp، N: کنترل منفی، ۱ تا ۶: نمونه‌های مثبت، ۷: نمونه‌ی منفی (C) نتایج PCR ژن *SHVOS*: L: مارکر با وزن مولکولی 100 bp، N: کنترل منفی، P: کنترل مثبت، ۱، ۳، ۴: نمونه‌های مثبت، ۲، ۵: نمونه‌های منفی (D) نتایج PCR ژن *TEM*: L: مارکر با وزن مولکولی 100 bp، N: کنترل منفی، P: کنترل مثبت، ۱ تا ۳: نمونه‌های منفی، ۴، ۵: نمونه‌های مثبت (E) نتایج PCR ژن *OXA-51*: L: مارکر با وزن مولکولی 100 bp، N: کنترل منفی، ۱، ۳، ۴: نمونه‌های مثبت، ۲، ۵: نمونه‌های منفی

### بحث

پنومونی وابسته به ونتیلاتور (VAP)، شایع‌ترین عفونت در بخش مراقبت‌های ویژه است که نقش مهمی در افزایش مرگ و میر بیماران بستری در ICU می‌شود و خسارات اقتصادی زیادی بر سیستم‌های مراقبت بهداشتی تحمیل می‌کند (۱۵). فراوانی پنومونی وابسته به

در کل ۱۶۶ ژن MBL و ESBL شناسایی شد که ژن *blaSHVOS* با فراوانی ۷۵ (۴۹/۳۴ درصد) غالب‌ترین ژن حامل ESBL بود و ژن‌های *blaCTXM-1*، *blaTEM*، *blaPER-1* و *blaIMP* دارای فراوانی ۳۸ (۲۵ درصد)، ۳۶ (۲۳/۶۸ درصد)، ۹ (۵/۹۲ درصد) و ۸ (۵/۲۶ درصد) بودند. در حالی که ژن *blaVIM* از هیچ کدام از ایزوله‌ها جداسازی نشد. مشخص شد که ۴۷ (۳۰/۹۲ درصد) سویه دارای بیش از یک ژن بودند که در جدول ۴ توزیع حضور همزمان چند ژن نشان داده شده است. حضور همزمان ژن‌های *SHVOS+CTXM-1* و *SHVOS+TEM* به ترتیب در کلبسیلا پنومونیه و اسیتوباکتر بومانی بالاتر بود. همچنین فراوانی ژن‌های ESBL و MBL و توزیع همزمان چند ژن بر حسب جنسیت در جدول ۵ آورده شده است. نتایج ژل الکتروفورز محصولات PCR نیز در شکل ۳ قابل مشاهده است.

جدول ۵. فراوانی ژن‌های ESBL و MBL و توزیع همزمان چند ژن بر

### حسب جنسیت

ژن (درصد)	مرد (درصد)	
۳۵ (۵۳/۸)	۴۰ (۴۵/۹)	<i>SHVOS</i>
۱۰ (۱۵/۳)	۲۶ (۲۹/۸)	<i>TEM</i>
۱۱ (۱۶/۹)	۲۷ (۳۱/۰۳)	<i>CTXM-1</i>
۲ (۳/۰۷)	۲ (۲/۳)	<i>IMP</i>
۶ (۹/۲)	۷ (۸/۰۴)	<i>PER-1</i>
۶ (۹/۲)	۷ (۸/۰۴)	<i>SHVOS+TEM+CTXM-1</i>
۳ (۴/۶)	۹ (۱۰/۳)	<i>SHVOS+TEM</i>
۴ (۶/۱)	۱۰ (۱۱/۵)	<i>SHVOS+CTXM-1</i>
۲ (۳/۰۷)	۱ (۱/۱۵)	<i>SHVOS+IMP</i>
۰ (۰)	۲ (۲/۳)	<i>CTXM-1+TEM</i>
۰ (۰)	۱ (۱/۱۵)	<i>TEM+PER-1</i>
۰ (۰)	۱ (۱/۱۵)	<i>CTXM-1+PER-1</i>

سودوموناس آئروژینوزا در بیماران مبتلا به ونتیلاتور وابسته به پنومونی از ۲۶/۶ تا ۸۶/۶ درصد گزارش شده است (۳۱).

در مطالعه‌ی Bandić-Pavlović و همکاران، سودوموناس آئروژینوزا مقاومت بالایی به ایمپنم و مروپنم و مقاومت متوسط به سفنازیدیم نشان داده است (۳۲).

در مطالعه‌ی در کرمانشاه، کلبسیلا پنومونیه، مقاومت بالایی به سفنازیدیم ۷۱/۹ درصد نشان داده است که این یافته‌ها در راستای مطالعه‌ی ما نمی‌باشند (۳۳). افزایش مقاومت به ایمپنم و سفالوسپورین‌ها را می‌توان به استفاده‌ی بیش از حد از بتالاکتام‌ها و سفالوسپورین‌های نسل سوم و چهارم در درمان بسیاری از عفونت‌های سیستمیک و درمان عفونت‌های ناشی از باسیل‌های گرم منفی مرتبط دانست (۳۴). این مطالعات حاکی از آن بود که برای درمان بیماران VAP باید ویژگی‌های پاتوژن‌های مختلف و دخیل در ایجاد VAP در نظر گرفته شود و از روش‌های تک درمانی ناکافی یا درمان ترکیبی نامناسب استفاده نشود زیرا عوامل خطر را افزایش و باعث ایجاد پاتوژن‌های MDR و XDR می‌شود (۲۹، ۳۵).

در مطالعه‌ی حاضر، 101 (۶۶/۴۴ درصد) ایزوله، تولیدکننده‌ی ESBL و ۸ (۵/۲۶ درصد) ایزوله‌ی MBL مثبت بودند. در مطالعه‌ی سایر محققان، شیوع ESBL و MBL در سویه‌های کلبسیلا، اسیتوباکتر و سودوموناس SPP، ۵۹/۷۲ و ۷/۹۰ درصد گزارش شده است (۲۰، ۳۶). در مطالعه‌ی حاضر، ۸۵ (درصد) ۶۸ ایزوله‌ی کلبسیلا پنومونیه تولیدکننده‌ی ESBL بودند. در حالی که در مطالعه‌ی وزیری و همکاران، شیوع ESBL ناشی از کلبسیلا پنومونیه در بیماران پنومونی وابسته به ونتیلاتور، ۳۸/۶ (درصد) ۲۲ بود (۳۳).

مطابق با نتایج سایر مطالعات، شیوع ESBL در کلبسیلا پنومونیه بالاتر از سایر سویه‌ها (۱۰۰ درصد) گزارش شده است (۳۲، ۳۷). (۶۰/۴ درصد) ۲۶ و (۱۶/۲ درصد) ۷ از ایزوله‌های اسیتوباکتر بومانی و سودوموناس ائروژینوزا تولیدکننده‌ی ESBL بودند. (۲۰/۶ درصد) ۶ و (۶/۹ درصد) ۲ از ایزوله‌های سودوموناس ائروژینوزا و کلبسیلا پنومونیه تولیدکننده‌ی MBL بودند. با وجود شیوع بالای مقاومت به کارباپنم‌ها در اسیتوباکتر بومانی هیچ ژن MBL یافت نشد.

در حالی که در مطالعه‌ی Shivaprasad و همکاران، ۵۰/۶ درصد ایزوله‌های اسیتوباکتر بومانی، MBL مثبت بودند (۳۸). همچنین با توجه به مطالعات مختلف شیوع MBL در اسیتوباکتر بومانی در بیماران VAP از ۶/۲ تا ۱۰۰ درصد گزارش شده است (۳۹-۴۳). فراوانی MBL از ۵۰ درصد در سال ۲۰۰۷ (۱) تا ۱۳/۳ درصد در سال ۲۰۲۰ از هند (۴۴) گزارش شد.

از دیگر یافته‌های مطالعه‌ی حاضر می‌توان گفت که بالاترین فراوانی مربوط به ژن blaSHVOS (۴۹/۳۴ درصد) ۷۵ بود و به دنبال

ونتیلاتور در جوامع مختلف و با توجه به متفاوت بودن عوامل خطر ساز متغیر است. در مطالعه‌ی حاضر، بروز پنومونی وابسته به ونتیلاتور در مردان بالاتر از زنان بود. بیشترین ایزوله‌های جداسازی شده مربوط به مردان (۵۷ درصد) ۸۷ بود. نتایج سایر مطالعات (۲، ۱۶-۱۸) نیز حاکی از مستعد بودن بیشتر مردان به VAP است و این امر گویای ارتباط جنسیت با VAP در ICU می‌باشد.

در مطالعه‌ی حاضر، کلبسیلا پنومونیه ۸۰ (۵۲/۶۳ درصد)، به عنوان ارگانسیم غالب و به دنبال آن اسیتوباکتر بومانی ۴۳ (۲۸/۲۹ درصد) و سودوموناس ائروژینوزا ۲۹ (۱۹/۰۸ درصد) از فراوانی بالایی برخوردار بودند. وضعیت مشابهی از شیوع بالای VAP مرتبط با کلبسیلا پنومونیه در یونان مشاهده شده است (۴).

در برخی از مطالعات، سودوموناس آئروژینوزا و اسیتوباکتر بومانی شایع‌ترین عوامل ایجادکننده‌ی VAP بودند (۱، ۱۹) در حالی که در مطالعه‌ی Krishnamurthy و همکاران، کلبسیلا پنومونیه و اشرشیاکلی غالب‌ترین ارگانسیم‌های جدا شده از بیماران VAP بودند (۲۰). گزارش شده است که مهم‌ترین عامل خطر و مسؤول بروز VAP در شمال ایران (۲۱) و هند (۲۲) و شمال شرقی چین (۲۳)، عفونت‌های ناشی از گونه‌های سودوموناس آئروژینوزا بود.

طی دهه‌ی گذشته، شیوع باسیل‌های گرم منفی به ویژه کلبسیلا پنومونیه و باسیل‌های گرم منفی غیر تخمیری مانند سودوموناس ائروژینوزا و اسیتوباکتر بومانی در بیماران VAP گسترده شده است (۲۴، ۲۵). محققان دریافته‌اند که شیوع پاتوژن‌های مقاوم به کارباپنم‌ها در اسیتوباکتر بومانی و سودوموناس آئروژینوزا در حال افزایش است که این امر حضور پاتوژن‌های ایجادکننده‌ی عفونت‌های مقاوم به کارباپنم‌ها را افزایش می‌دهد (۲۶، ۲۷). در سایر مطالعات نیز مقاومت بالایی به سفالوسپورین‌ها و کارباپنم‌ها در اسیتوباکتر بومانی گزارش شده است که این روند افزایشی در سراسر جهان نگران‌کننده می‌باشد و دامنه‌ی درمان را محدود کرده است (۲۸، ۲۹).

در مطالعه‌ی حاضر، کلبسیلا پنومونیه و سودوموناس ائروژینوزا به ترتیب مقاومت بالایی به سفوتاکسیم ۵۰ (۶۲/۵ درصد) و سفنازیدیم ۲۴ (۸۲/۷ درصد) نشان دادند. در حالی که اسیتوباکتر بومانی مقاومت بسیار بالایی به هر سه آنتی‌بیوتیک سفوتاکسیم، سفنازیدیم و ایمپنم نشان داد.

Huang و همکاران گزارش کرده‌اند که مقاومت اسیتوباکتر بومانی به سفنازیدیم و ایمپنم در سال ۲۰۱۵، ۷۳/۸ و ۶۳/۲ درصد بوده است و در سال ۲۰۱۷ این مقاومت به ۹۵/۵ و ۹۰/۹ درصد رسیده است که این یافته‌ها نشان‌دهنده‌ی افزایش صعودی مقاومت به کارباپنم‌ها و سفالوسپورین‌ها در اسیتوباکتر بومانی بود (۳۰).

در مطالعه‌ی در شمال ایران، میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی ناشی از



در زمینه‌ی پیشگیری عوارض بستری در ICU و مدیریت بیماران آلوده به این عفونت تنفسی و درمان مؤثر ضعیف است (۱۰). فراوانی بالای ژن‌های ESBL و MBL در بیماران VAP باعث مقاومت به داروهای درمانی اصلی VAP شده است. دانستن اپیدمیولوژی ژن‌های رایج در هر بخش بیمارستان می‌تواند برای پزشک در درمان تجربی کمک‌کننده باشد.

از این‌رو، شناسایی ژن‌های ESBL و MBL در بیماران مبتلا به VAP، باعث بهینه‌سازی درمان ضد میکروبی و کاهش مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی، هزینه‌های مراقبت‌های بهداشتی و کاهش نرخ مرگ و میر در بخش ICU می‌شود.

### نتیجه‌گیری

نسبت به مطالعات قبلی در شهر کرمانشاه، نتایج مطالعه‌ی اخیر نشان‌دهنده‌ی افزایش مقاومت به سفالوسپورین‌های نسل سوم و کاربامپن‌ها مانند سفنازیدیم و ایمپنم بود. وقوع مقاومت بسیار بالای اسیتوباکتر بومانی در برابر ایمپنم و بیان گسترده‌ی ESBL‌ها در سویه‌های کلبسیلا پنومونیه و اسیتوباکتر بومانی سبب مقاومت بالای این سویه‌ها نسبت به سفالوسپورین‌های نسل سوم و چهارم شده است که زنگ هشدار قابل توجهی در ICU بخش‌های مختلف بیمارستان امام رضا (ع) است. از طرفی نیز یافته‌ها نشان‌دهنده‌ی سیر صعودی ژن‌های *blaSHVOS*، *blaTEM-1B* و *blaCTXM-1* در بیماران مبتلا به VAP بود. ظهور ژن *blaPER-1* در بیماران مبتلا به VAP نگرانی دیگری در بیماران مبتلا به VAP در بخش مراقبت‌های ویژه است. این نتایج نشان‌دهنده‌ی این است که بیماران بستری در بخش ICU، حامل میزان قابل توجهی از پاتوژن‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های متداول در درمان هستند. همین امر سبب حضور مداوم و ظهور گسترده‌ی سویه‌های مقاوم به کاربامپن‌ها و سفالوسپورین‌های نسل سوم و چهارم شده است. بنابراین ضروری به نظر می‌رسد که اقدامات فوری برای کنترل و کاهش آلودگی بخش ICU و عفونت‌های ناشی از باسیل‌های گرم منفی غالب مسبب VAP در بیمارستان امام رضا (ع) صورت گیرد.

بنابراین ضروری است که برای کنترل و کاهش آلودگی بخش ICU و عفونت‌های ناشی از باسیل‌های گرم منفی غالب مسبب VAP در بیمارستان امام رضا (ع) اقدامات قابل توجهی صورت گیرد.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله کمال تشکر و قدردانی خود را از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه را به واسطه‌ی تقبل هزینه‌های اجرای طرح حاضر را اعلام می‌نمایند. مقاله‌ی حاضر

آن ژن‌های *blaCTXM-1* و *blaTEM-1B* دارای بالاترین فراوانی (۲۵ درصد) ۳۸ و (۲۳/۶۸ درصد) ۳۶ بودند. در مطالعه‌ی حاضر، ۷۷/۵ درصد ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه حامل ژن *blaSHVOS* بود در حالی که در مطالعاتی از کرواسی (۳۲، ۴۵) و هند (۲۰) بیش از ۵۰ درصد ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه حامل *blaCTXM-1* بود. فراوانی ژن *blaTEM-1B* در مطالعه‌ی حاضر در کلبسیلا پنومونیه ۳۲/۵ درصد بود که فراوانی بالاتری نسبت به مطالعه‌ی Xu و همکاران داشت (۷).

مطابق با مطالعه‌ی ما در پژوهش Bandić-Pavlović و همکاران نیز ژن *blavIM* در هیچ کدام از ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه یافت نشد (۳۲). از دیگر یافته‌های مطالعه‌ی حاضر می‌توان به فراوانی بیشتر *blaCTXM-1* (۳۷/۲ درصد) در ایزوله‌های اسیتوباکتر بومانی حامل اشاره کرد در حالی که در مطالعه‌ی رضایی و همکاران (۴۶)، غالب‌ترین ژن ESBL در ایزوله‌های اسیتوباکتر بومانی *blaSHV* (۹۶/۶ درصد) بود که نتیجه‌ی در راستای گزارش اخیر مطالعه‌ی حاضر ندارد. در حالی که شایع‌ترین ژن ESBL در ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا در تهران، ژن *SHV* گزارش شده است (۳۱). ژن *TEM* شایع‌ترین ژن ESBL در زاهدان (۴۷) بود. در مطالعه‌ی حاضر ۶ ایزوله از ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزا حامل ژن *IMP* بودند و ژن *VIM* از هیچ کدام ایزوله‌ها جداسازی نشد. این در حالی است که در مطالعه‌ی در هند، ۶ ایزوله حامل ژن *VIM* بودند و ژن *IMP* از هیچ ایزوله‌ای جداسازی نشد (۴۸).

در یافته‌ی مطالعه‌ی حاضر، شاهد حضور ۳۰/۹۲ درصد سویه‌های دارای بیش از یک ژن بودیم که نتایج مشابهی با مطالعات سایر محققان داشت (۲۰، ۳۳، ۴۹). این در حالی است که این یافته در تضاد با نتایج گزارش Rezai و همکاران بود (۴۶). فراوانی بالای برخی ژن‌ها مانند *blaSHVOS*، *blaTEM-1B* و *blaCTXM-1* و همچنین حضور بیش از یک ژن در بسیاری از سویه‌ها را می‌توان به وابستگی و پیچیدگی که سویه‌های تولیدکننده‌ی ESBL به آنتی‌بیوتیک‌های ضد میکروبی دارند، نسبت داد (۴۹). در یافته‌های مطالعه‌ی حاضر، هیچ کدام از ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه حامل ژن *blaPER-1* نبودند و این فراوانی در سویه‌های اسیتوباکتر بومانی و سودوموناس آئروژینوزا ۱۶/۲ و ۶/۹ درصد بود که نشان‌دهنده‌ی گسترش این ژن در بیماران VAP است (۵۰). همانطور که در سایر مطالعات (۴۲، ۴۳، ۵۱، ۵۲) نیز مشاهده شد، میزان مقاومت سویه‌های تولیدکننده‌ی ESBL نسبت به سفالوسپورین‌های نسل سوم و ایمپنم بالا است.

با وجود شناخت اکثر میکروارگانیسم‌های غالب مسؤول VAP و تلاش در زمینه‌ی پیشگیری و کاهش شیوع سویه‌های مقاوم، دانش ما

## References

- Dey A, Bairy I. Incidence of multidrug-resistant organisms causing ventilator-associated pneumonia in a tertiary care hospital: a nine months' prospective study. *Ann Thorac Med* 2007; 2(2): 52-7.
- Feng DY, Zhou YQ, Zhou M, Zou XL, Wang YH, Zhang TT. Risk factors for mortality due to ventilator-associated pneumonia in a chinese hospital: a retrospective study. *Med Sci Monit* 2019; 25: 7660-5.
- Nusrat T, Akter N, Rahman NAA, Godman B, DT DR, Haque M. Antibiotic resistance and sensitivity pattern of Metallo- $\beta$ -Lactamase Producing Gram-Negative Bacilli in ventilator-associated pneumonia in the intensive care unit of a public medical school hospital in Bangladesh. *Hosp Pract* 2020; 48(3): 128-36.
- Bandić-Pavlović D, Zah-Bogović T, Žižek M, Bielen L, Bratić V, Hrabáč P, et al. Gram-negative bacteria as causative agents of ventilator-associated pneumonia and their respective resistance mechanisms. *J Chemother* 2020; 32(7): 344-58.
- Gao B, Li X, Yang F, Chen W, Zhao Y, Bai G, et al. Molecular Epidemiology and Risk Factors of Ventilator-Associated Pneumonia Infection Caused by Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae. *Front Pharmacol* 2019; 10: 262.
- Bonnet R. Growing group of extended-spectrum beta-lactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48(1): 1-14.
- Xu H, Huo C, Sun Y, Zhou Y, Xiong Y, Zhao Z, et al. Emergence and molecular characterization of multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates harboring bla (CTX-M-15) extended-spectrum  $\beta$ -lactamases causing ventilator-associated pneumonia in China. *Infect Drug Resist* 2018; 12: 33-43.
- Hong DJ, Bae IK, Jang IH, Jeong SH, Kang HK, Lee K. Epidemiology and Characteristics of Metallo- $\beta$ -Lactamase-Producing *Pseudomonas aeruginosa*. *Infect Chemother* 2015; 47(2): 81-97.
- Ghasemian A, Salimian Rizi K, Rajabi Vardanjani H, Nojoomi F. Prevalence of Clinically isolated metallo-beta-lactamase-producing *pseudomonas aeruginosa*, coding genes, and possible risk factors in Iran. *Iran J Pathol* 2018; 13(1): 1-9.
- Timsit JF, Bassetti M, Cremer O, Daikos G, de Waele J, Kallil A, et al. Rationalizing antimicrobial therapy in the ICU: a narrative review. *Intensive Care Med* 2019; 45(2): 172-89.
- Abdalhamid B, Pitout JDD, Moland ES, Hanson ND. Community-onset disease caused by *Citrobacter freundii* producing a novel CTX-M beta-lactamase, CTX-M-30, in Canada. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48(11): 4435-7.
- De Champs C, Sirot D, Chanal C, Bonnet R, Sirot J. A 1998 survey of extended-spectrum beta-lactamases in Enterobacteriaceae in France. The French Study Group. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44(11): 3177-9.
- Mirsalehian A, Feizabadi M, Nakhjavani FA, Jabalameli F, Goli H, Kalantari N. Detection of VEB-1, OXA-10 and PER-1 genotypes in extended-spectrum beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from burn patients. *Burns* 2010; 36(1): 70-4.
- Hou C, Yang F. Drug-resistant gene of blaOXA-23, blaOXA-24, blaOXA-51 and blaOXA-58 in *Acinetobacter baumannii*. *Int J Clin Exp Med* 2015; 8(8): 13859-63.
- Tuon FF, Graf ME, Merlini A, Rocha JL, Stallbaum S, Arend LN, et al. Risk factors for mortality in patients with ventilator-associated pneumonia caused by carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. *Braz J Infect Dis* 2017; 21(1): 1-6.
- Sharpe JP, Magnotti LJ, Weinberg JA, Brocker JA, Schroepel TJ, Zarzaur BL, et al. Gender disparity in ventilator-associated pneumonia following trauma: identifying risk factors for mortality. *J Trauma Acute Care Surg*. 2014;77(1):161-5.
- Cui J, Chen QQ, Liu TT, Li SJ. Risk factors for early-onset ventilator-associated pneumonia in aneurysmal subarachnoid hemorrhage patients. *Braz J Med Biol Res* 2018; 51(7): e6830.
- Mathai AS, Phillips A, Isaac R. Ventilator-associated pneumonia: A persistent healthcare problem in Indian Intensive Care Units! *Lung India* 2016; 33(5): 512-6.
- Royer S, Faria AL, Seki LM, Chagas TP, Campos PA, Batistão DW, et al. Spread of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* clones in patients with ventilator-associated pneumonia in an adult intensive care unit at a university hospital. *Braz J Infect Dis* 2015; 19(4): 350-7.
- Krishnamurthy V, Vijaykumar GS, Sudeepa Kumar M, Prashanth HV, Prakash R, Nagaraj ER. Phenotypic and genotypic methods for detection of extended spectrum  $\beta$  lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated from ventilator associated pneumonia. *J Clin Diagn Res* 2013; 7(9): 1975-8.
- Rezai MS, Ahangarkani F, Rafiei A, Hajalibeig A, Bagheri-Nesami M. Extended-spectrum beta-lactamases producing *pseudomonas aeruginosa* isolated from patients with ventilator associated nosocomial infection. *Arch Clin Infect Dis* 2018; 13(4): e13974.
- Gupta R, Malik A, Rizvi M, Ahmed SM. Incidence of multidrug-resistant *Pseudomonas* spp. in ICU patients with special reference to ESBL, AMPC, MBL and biofilm production. *J Glob Infect Dis* 2016; 8(1): 25-31.
- Wang Y, Zhang R, Liu W. Distribution and drug resistance of pathogenic bacteria in ventilator-associated pneumonia at a local hospital of North-eastern China. *Infect Drug Resist* 2018; 11: 2249-55.
- Torres A, Niederman MS, Chastre J, Ewig S, Fernandez-Vandellos P, Hanberger H, et al. International guidelines for the management of hospital-acquired pneumonia and ventilator-associated pneumonia: guidelines for the



- management of hospital-acquired pneumonia (HAP)/ventilator-associated pneumonia (VAP) of the European Respiratory Society (ERS), European Society of Intensive Care Medicine (ESICM), European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) and Asociación Latinoamericana del Tórax (ALAT). *Eur Respir J* 2017; 50(3): 1700582.
25. Micek ST, Wunderink RG, Kollef MH, Chen C, Rello J, Chastre J, et al. An international multicenter retrospective study of *Pseudomonas aeruginosa* nosocomial pneumonia: impact of multidrug resistance. *Crit Care* 2015; 19(1): 219.
  26. Cillóniz C, Dominedò C, Torres A. An overview of guidelines for the management of hospital-acquired and ventilator-associated pneumonia caused by multidrug-resistant Gram-negative bacteria. *Curr Opin Infect Dis* 2019; 32(6): 656-62.
  27. Zilahi G, Artigas A, Martin-Loeches I. What's new in multidrug-resistant pathogens in the ICU? *Ann Intensive Care* 2016; 6(1): 96.
  28. Martin-Loeches I, Deja M, Koulenti D, Dimopoulos G, Marsh B, Torres A, et al. Potentially resistant microorganisms in intubated patients with hospital-acquired pneumonia: the interaction of ecology, shock and risk factors. *Intensive Care Med* 2013; 39(4): 672-81.
  29. Kumar A, Safdar N, Kethireddy S, Chateau D. A survival benefit of combination antibiotic therapy for serious infections associated with sepsis and septic shock is contingent only on the risk of death: a meta-analytic/meta-regression study. *Crit Care Med* 2010; 38(8): 1651-64.
  30. Huang Y, Zhou Q, Wang W, Huang Q, Liao J, Li J, et al. *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia: Clinical efficacy of combined antimicrobial therapy and in vitro drug sensitivity test results. *Front Pharmacol* 2019; 10: 92.
  31. Rezai MS, Ahangarkani F, Rafiei A, Hajalibeig A, Bagheri-Nesami M. Extended-spectrum beta-lactamases producing *pseudomonas aeruginosa* isolated from patients with ventilator-associated nosocomial infection. *Arch Clin Infect Dis* 2018; 13(4): e13974.
  32. Bandić-Pavlović D, Zah-Bogović T, Žižek M, Bielen L, Bratić V, Hrabac P, et al. Gram-negative bacteria as causative agents of ventilator-associated pneumonia and their respective resistance mechanisms. *J Chemother* 2020; 32(7): 344-58.
  33. Vaziri S, Mansouri F, Abiri R, Alvandi A, Mortazavi SH, Ahmadi K, et al. Prevalence study of extended spectrum beta-lactamase in *klebsiella pneumonia* isolated from patients with ventilator-associated pneumonia in Kermanshah City, Iran [in Persian]. *J Isfahan Med School* 2017; 35(444): 1113-9.
  34. Yazdi M, Nazemi A, Mirinargasi M, Jafarpour M, Sharifi S, Branch T. Genotypic versus Phenotypic methods to detect extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) in uropathogenic *Escherichia coli*. *Ann Biol Res* 2012; 3(5): 2454-8.
  35. Torres A, Lee N, Cilloniz C, Vila J, Van der Eerden M. Laboratory diagnosis of pneumonia in the molecular age. *Eur Respir J* 2016; 48(6): 1764-78.
  36. Bailey KL, Kalil AC. Ventilator-associated pneumonia (VAP) with multidrug-resistant (MDR) pathogens: optimal treatment? *Curr Infect Dis Rep* 2015; 17(8): 494.
  37. Vitkauskienė A, Skrodenienė E, Dambrauskienė A, Bakšytė G, Macas A, Sakalauskas R. Characteristics of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains in patients with ventilator-associated pneumonia in intensive care units. *Medicina* 2011; 47(12): 652-6.
  38. Shivaprasad A, Antony B, Shenoy P. Comparative evaluation of four phenotypic tests for detection of metallo-β-lactamase and carbapenemase production in *Acinetobacter baumannii*. *J Clin Diagn Res* 2014; 8(5): DC05-DC08.
  39. Patil HV, Mohite ST, Patil VC. Metallo-beta-lactamase-producing multidrug-resistant acinetobacter isolates in patients with ventilator-associated pneumonia. *J Nat Sc Biol Med* 2021; 12: 64-74.
  40. Safari M, Mozaffari Nejad AS, Bahador A, Jafari R, Alikhani MY. Prevalence of ESBL and MBL encoding genes in *Acinetobacter baumannii* strains isolated from patients of intensive care units (ICU). *Saudi J Biol Sci* 2015; 22(4): 424-9.
  41. Kabbaj H, Seffar M, Belefquih B, Akka D, Handor N, Amor M, et al. Prevalence of metallo-β-lactamases producing *Acinetobacter baumannii* in a Moroccan hospital. *ISRN Infectious Diseases* 2013; 1-3.
  42. Hasanin A, Mukhtar A, El-adawy A, Elazizi H, Lotfy A, Nassar H, et al. Ventilator associated pneumonia caused by extensive-drug resistant *Acinetobacter species*: colistin is the remaining choice. *Egyptian J Anaesthesia* 2016; 32(3): 409-13.
  43. Al-Agamy MH, Khalaf NG, Tawfick MM, Shibl AM, El Kholy A. Molecular characterization of carbapenem-insensitive *Acinetobacter baumannii* in Egypt. *Int J Infect Dis* 2014; 22: 49-54.
  44. Shilpa AG. Multidrug resistant ventilator associated pneumonia: A persistent and dreaded complication in Indian tertiary care hospitals. *IP Int J Med Microbiol Trop Dis* 2020; 6(1): 23-27.
  45. Bedenić B, Vraneš J, Bošnjak Z, Marijan T, Mlinarić-Džepina A, Kukovec T, et al. Emergence of CTX-M group 1 extended-spectrum β-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* strains in the community. *Med Glas* 2010; 7(1): 32-9.
  46. Rezai MS, Rafiei A, Ahangarkani F, Bagheri-Nesami M, Nikkhah A, Shafahi K, et al. Emergence of extensively drug resistant acinetobacter baumannii-encoding integrons and extended-spectrum beta-lactamase genes isolated from ventilator-associated pneumonia patients. *Jundishapur J Microbiol* 2017; 10(7): e14377.
  47. Bokaeian M, Zahedani SS, Bajgiran MS, Moghaddam AA. Frequency of *PER*, *VEB*, *SHV*, *TEM* and *CTX-M* genes in resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa* producing extended spectrum β-lactamases. *Jundishapur J Microbiol* 2015; 8(1): e13783.
  48. Gupta V, Singla N, Gombar S, Palta S, Chander J. Prevalence of multidrug-resistant pathogens and their antibiotic susceptibility pattern from late-onset ventilator-associated pneumonia patients from a

- tertiary-care hospital in North India. J Assoc Chest Physicians 2018; 6(1): 4-11.
49. Ye Q-h, Lau Y, Liang B, Tian S-f. Antimicrobial resistance, genotypic characterization and pulsed-field gel electrophoresis typing of extended spectrum  $\beta$ -lactamases-producing clinical *Escherichia coli* strains in Macao, China. Chin Med J 2011; 124(17): 2701-7.
50. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: a clinical update. Clin Microbiol Rev 2005; 18(4): 657-86.
51. Anwar M, Ejaz H, Zafar A, Hamid H. Phenotypic detection of metallo-beta-lactamases in carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* isolated from pediatric patients in Pakistan. J pathog 2016; 2016: 8603964.
52. Amudhan MS, Sekar U, Kamalanathan A, Balaraman S. *blaIMP* and *blaVIM* mediated carbapenem resistance in *Pseudomonas* and *Acinetobacter* species in India. J Infect Dev Ctries 2012; 6(11): 757-62.

## Frequency of Metallo-Beta-Lactamase and Extended- Spectrum Beta-Lactamase Genes in Gram-Negative Bacteria Isolated from Ventilator- Associated Pneumonia in the Intensive Care Unit of Imam Reza Hospital in Kermanshah

Sepide Kadivarian<sup>1</sup>, Jale Moradi<sup>2</sup>, Mohsen Najafi<sup>3</sup>, Mohsen Azizi<sup>3</sup>,  
Ramin Abiri<sup>4</sup>, Sara Kooti<sup>5</sup>, Amirhooshang Alvandi<sup>6</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Ventilator-associated pneumonia is the most common nosocomial infection that is responsible for increasing the mortality of patients admitted to the intensive care unit. The aim of this study was to evaluate the frequency of MBL and ESBL genes and to determine the patterns of antibiotic resistance in gram-negative bacilli isolated from ventilators in the ICU of Imam Reza Hospital in Kermanshah.

**Methods:** After collecting samples and identifying the bacteria by standard biochemical and microbial culture methods, 152 bacterial isolates were identified. ESBL and MBL genes were identified by phenotypic DDCT method and molecular PCR method using specific primers.

**Findings:** The most common microorganism isolated from ventilator-associated pneumonia (VAP) patients was *Klebsiella pneumoniae* (2.56%). In total, the frequency of ESBL and MBL genes was 113 (74.34%) and 8 (5.26%). The antibiotic resistance pattern showed that 36.53% of the isolates were resistant to ceftazidime, cefotaxime and imipenem. The *blaSHVOS* gene with a frequency of 75 (49.34%) had the highest genotypic frequency. The *blaVIM* gene was not found in any of the isolates.

**Conclusion:** The high resistance of *Acinetobacter baumannii* and *Klebsiella pneumoniae* isolates to the mentioned antibiotics and the high prevalence of ESBL-producing genes in *Klebsiella pneumoniae* isolates is a significant alarm in the ICU of different wards of Imam Reza Hospital. The emergence of the *blaPER-1* gene in patients with VAP has raised another worry in patients with VAP in the intensive care unit.

**Keywords:** Ventilator-associated pneumonia; Extended Spectrum Beta-Lactamase; Metallo-Beta-Lactamase; Intensive care unit

**Citation:** Kadivarian S, Moradi J, Najafi M, Azizi M, Abiri R, Kooti S, et al. **Frequency of Metallo-Beta-Lactamase and Extended- Spectrum Beta-Lactamase genes in Gram-Negative Bacteria Isolated from Ventilator- Associated Pneumonia in the Intensive Care Unit of Imam Reza Hospital in Kermanshah.** J Isfahan Med Sch 2023; 40(702): 1080-90.

1- MSc, Student Research Committee, Department of Microbiology, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

2- Assistant Professor of Medical Bacteriology, Department of Microbiology, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

3- MSc, Student Research Committee, Department of Microbiology, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

4- Professor, Fertility and Sterility Research Center, Department of Microbiology, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

5- Assistant Professor, Department of Medical Bacteriology, School of Medical Sciences, Behbahan, Iran

6- Associate Professor, Medical Technology Research Center, and Department of Microbiology, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

**Corresponding Author:** Amirhooshang Alvandi, Associate Professor, Medical Technology Research Center, and Department of Microbiology, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran; Email: ah\_alvandi@kums.ac.ir