بررسی ژنهای مقاومت کارباپنماز و اینتگرون در سودوموناس آئروژینوزا جداشده از نمونه های بالینی و تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی به روش آزمایشگاهی

الهام عینی کامرانی*[۱]، علیرضا مختاری[۲]، زهرا طهماسبی‌فرد [۳]

[۱] کارشناسی ارشد باکتری‌شناسی، گروه بیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد رودهن، رودهن ، ایران
[۲] مسئول فنی بخش میکروبشناسی، آزمایشگاه آتیه، شرکت دانش بنیان تامین آتیه سلامت البرز، البرز، ایران
[۳] استادیار کشاورزی و علوم پایه ، گروه کشاورزی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد رودهن ، رودهن ، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۲/۸؛ تاریخ پذیرش:۱۴۰۰/۱۲/۶

چکیده

زمینه و هدف: *سودوموناس آئروژینوزا* باکتری مهم ایجادکننده عفونت های بیمارستانی به ویژه در بیماران مبتلا به نقص ایمنی است. درمان عفونت های ناشی از این باکتری، آنتی بیوتیک های متعددی نظیر آمینوگلیکوزیدها، کینولون‌ها و بتالاکتام ها است. اما ظهور مقاومت و شیوع عفونت بیمارستانی سویه های مقاومت بسیارومکررگزارش شده است. این مطالعه با هدف بررسی فراوانی اینتگرون کلاس I، II و III وژن های کارباپنماز درایزوله های بالینی *سودوموناس آئروژینوزا* انجام شد.

روش کار: در این مطالعه مقطعی- توصیفی، ۱۰۰ جدایه بالینی *سودوموناس آئروژینوزا* از آزمایشگاه مراکز درمانی تهران جمع آوری شد. تمامی ایزوله‌ها با استفاده از تست های فنوتایپی و بیوشیمیایی مورد تایید قرار گرفت. تست حساسیت آنتی بیوتیکی به روش انتشار در ژل و براساس دستورالعمل CLSI بر روی محیط مولر هینتون آگار با دیسک آنتی‌بیوتیک های تجاری انجام شد.آزمایش PCR- جهت تشخیص ژن های مقاومت اینتگرون و کارباپنمازها با استفاده از آغازگرهای اختصاصی انجام گرفت.

نتایج: تست حساسیت آنتی بیوتیکی نشان داد که بیشترین مقاومت آنتی بیوتیکی سویه‌ها نسبت به آمیکاسین(۱۰۰٪) و ایمی پنم (۸۵٪) و کمترین مقاومت آنتی بیوتیکی نسبت به جنتامیسین (٦٦٪) بود. بیشترین توزیع فراوانی مربوط به ژن intI با ۹۲٪ و کمترین فراوانی ژن intII به میزان ۵٪ گزارش شد. ژن KPC در ۸۷٪ و ژن IMP در۵۱٪ ازنمونه‌ها ردیابی گردید.

نتیجه‌گیری: با توجه به شیوع بالای اینتگرون در ایزوله های مقاوم *سودوموناس آئروژینوزا* و ارتباط آن با الگوهای مختلف مقاومت دارویی، اعمال راهکارهای مناسب کنترل عفونت و درمان در بیمارستان جهت جلوگیری از انتشار بیشتر آنها ضروری به نظر می‌رسد. اختلاف نتایج بدست آمده از روش PCR با نتایج مطالعات سایر محققان در نقاط مختلف دنیا می‌تولند بدلیل منبع اخذ نمونه باشد، تشخیص سریع *سودوموناس آئروژینوزا* در نمونه های بالینی برای شروع درمان مهم است. کاربرد روشهای ملکولی برای تشخیص مقاومت به آنتی بیوتیک *سودوموناس آئروژینوزا* در نمونه های بالینی بیماران توصیه می‌شود.

کلمات کلیدی: ژن های اینتگرون، *سودوموناس آئروژینوزا*، مقاومت دارویی، PCR.

نویسنده مسئول:
کارشناسی ارشد باکتری‌شناسی، گروه بیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد رودهن، رودهن، ایران

۰۹۱۹۸۸۱۱۲۳۶
Email: esperanza_eka@yahoo.com

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2022-09-26]

[DOI: 10.29252/aums.11.3.5]

مقدمه

باکتری فرصت طلب *سودوموناس آئروژینوزا* باسیلی گرم منفی، متحرک و میله‌ای از خانواده سودوموناسه که به طور وسیعی در طبیعت انتشار دارد. این باکتری یک پاتوژن فرصت طلب به ویژه در افرادی که دارای ضعف سیستم ایمنی هستند بعنوان عامل شایع عفونت‌های بیمارستانی مثل عفونت‌های مجاری ادراری ، سیستم تنفسی،التهاب وآماس پوست، عفونت‌های بافت‌های نرم، باکتریمی (وجود باکتری در خون) عفونت‌های استخوان ومفاصل، عفونت‌های معدی روده‌ای و عامل منتهی به مرگ در مبتلایان به فیبروز سیستیک و بیماران نئوپلاسمی و سوختگی‌های شدید مطرح می‌گردد[۱].

این باکتری سومین عامل مهم ومتداول عفونت های بیمارستانی بعداز *اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس* است که حدود۱۰ درصد کل عفونت های بیمارستانی را شامل می شود. درمان این بیماری با آنتی بیوتیک های متداول به دلیل تولید آنزیم بتالاکتاماز معمولاً با مقاومت همراه است که استفاده ازپروتکل درمانی چند آنتی بیوتیک و داروهای مقاوم به بتالاکتاماز موفق‌تر است. *سودوموناس آئروژینوزا* حاوی پیلی و لایه لعابی شبه کپسولی از جنس گلیکوکالیس که در ایجاد مقاومت و عدم نفوذ آنتی بیوتیک بداخل باکتری نقش بسیار مهمی را ایفا می‌کند[۲].

مقاومت دارویی به علت ژن هایESBL است که توسط ترانسپوزون‌ها و پلاسمیدها و یا موتاسیون در باکتری *سودوموناس* ایجاد می‌شود. آگاهی از چگونگی انتشار سویه‌های این باکتری، از اهمیت اپیدمیولوژیک ویژه‌ای به منظور یافتن منبع عفونت، ارزیابی چگونگی انتشار سویه‌ها و کنترل سریع شیوع پاتوژن به ویژه سویه-های مقاوم چند دارویی، برخوردار است. مقاومت دربرابر آنتی‌بیوتیک ها در این باکتری دارای مکانیسم‌های متفاوتی از جمله: بتالاکتامازها، عوامل پلاسمیدی و ترانسپوزون، پمپ های انتشار دارو، بیوفیلم‌ها، تغییرنفوذپذیری غشای خارجی می‌باشد[۳].

مقاومت در برابر آنتی بیوتیک‌ها به دو صورت ذاتی و اکتسابی است. درواقع مقاومت اکتسابی در نتیجهٔ جهش در ژن های کروموزومی و یا در ارتباط با پلاسمیدها، ترانسپوزونها و اینتگرون‌ها است. باکتری به راحتی می تواند به ژن های مقاومتی که بر روی عناصر متحرک ژنتیکی (پلاسمیدها، ترانسپوزونها و اینتگرونها) قرار دارد و از یک باکتری به باکتری دیگر انتقال می یابد، دسترسی پیدا کنند[٤].

اینتگرون‌های مقاومتی، کاست‌های ژنی را که منجر به مقاومت علیه آنتی بیوتیک‌ها و دزانفکتان‌ها می‌شوند حمل می‌نمایند و می‌توانند بر روی کروموزوم یا پلاسمید قرار گیرند. اینتگرون کلاسI بیش از ٤٠ ژن مقاومت در ارتباط با مقاومت به آمینوگلیکوزیدها ، بتالاکتام‌ها ، کلرانفنیکل ، ماکرولیدها ، سولفونامیدها ، ضدعفونی کننده‌ها و دزانفکتان‌ها را حمل می‌نماید و به طور گسترده‌ای در سویه‌های گرم منفی دیده می‌شود[٥].

ژن اینتگراز در اینتگرون کلاس II توسط کدون پایان (TAA) زود متوقف شده و در نتیجه منجر به غیر فعال شدن ۱۷۸ اسید آمینه و متعاقب آن توقف سنتز پروتئین می‌شود. اینتگرون کلاس III به ندرت در نمونه‌های بالینی وجود دارد. انتهای ′۳ در اینتگرون کلاس III مشابه اینتگرون کلاس I بوده و شامل ژن‌های *qacEΔ1* و *SulI* و *orf5,6* است. تنها تفاوتشان در فقدان ژن‌های ترانسپوزیشن در اینتگرون‌های کلاس III می‌باشند و شامل کاست‌های ژنی که کدکننده آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز و کد کننده ژن مقاومت به آمینوگلیکوزید وجود دارند[٦].

سوپر اینتگرون‌ها شامل اینتگرون IV بوده که سایز بازوی این دسته از اینتگرون‌ها بزرگ بوده و در حدود ۱۲٦kb که حداقل حاوی ۱۷۸ کاست ژنی می‌باشد. کاست ژنی سوپر اینتگرون‌ها هیچ مقاومت آنتی بیوتیکی را کد نمی‌کنند بلکه بیشتر در ارتباط با تکامل ژنومی است. کاست‌های ژنی به ۲ حالت آزاد حلقوی شکل و ادغام شده وجود دارند که منشاء آن‌ها از کروموزوم است و از یک چهارچوب بازخواندن (ORF) و یک عامل ۵۹ bp یا attc که به عنوان جایگاه ویژه نوترکیبی تشکیل شده است [٦].

شیوع مقاومت در برابر کینولون‌ها و بتالاکتام‌ها وسیع‌الطیف درخانواده انتروباکتریاسه، *سودوموناس* و *استنتوباکتر* روبه افزایش است و این باعث محدود شدن رژیم درمانی مناسب برای درمان این باکتری‌ها به ویژه *سودوموناس آئروژینوزا* شده است. متالوبتالاکتامازها از نظر خصوصیات مولکولی و سکانس اسید آمینه در گروه B طبقه‌بندی آمبلر و از نظرعملکرد درگروه سه طبقه‌بندی بوش قرار می‌گیرند. در طی دهه‌های اخیرانواع MBLها از جمله *VIM*، *SPM*، *GIM* شناسایی شده اند. همه متالوبتالاکتامازها توانایی

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2022-09-26]
[DOI: 10.29252/aums.11.3.5]

هیدرولیز ایمی‌پنم را دارند اما قدرت و میزان این توانایی در بین آنها متفاوت است[۴،۷].

اولین گام برای جداسازی و شناسایی سویه‌های تولید کننده متالوبتالاکتاماز تعیین MIC و یا حساسیت آنتی‌بیوتیکی برای آنتی-بیوتیک‌های ایمی‌پنم ومروپنم، سفتی زوکسیم، سفپایم، سفتازیدیم، سیپروفلوکساسین، آمیکاسین است. در نهایت می‌توان توسط PCR و به کمک پرایمرهای اختصاصی مربوط به ژنهای کد کننده متالوبتالاکتامازها که در *سودوموناس آئروژینوزا* IMP و VIM و SPM_1 هستند، حضور ژن های کد کننده این آنزیم‌ها را تایید کرد[۸،۹]. هدف از این مطالعه، تعیین میزان مقاومت آنتی بیوتیکی سویه‌های سودوموناس آئروژینوزای جدا شده از نمونه های بالینی انسان با تکنیک های ملکولی در شرایط آزمایشگاهی است.

مواد و روش ها

نمونه برداری

این تحقیق مطالعه‌ای مقطعی است که به روش توصیفی تحلیلی طراحی و اجرا گردید. در این پژوهش تعداد ۱۰۰ نمونه انسانی شامل (خلط، خون، ادرار، ترشحات زخم) که از مراکز درمانی بیمارستانی تهران به آزمایشگاه تشخیص طبی ارسال شده را جمع‌آوری و پس از انتقال به آزمایشگاه تحقیقاتی آتیه کشت ابتدایی بر روی نمونه‌ها انجام گردید.

شناسایی بیوشیمیایی جدایه

نمونه‌ها بعد از جمع‌آوری برای تأیید نهایی از کشت روی محیط‌های بلاد آگار، مک کانکی آگار و ستریمید آگار جهت تشخیص باکتری سودوموناس آئروژینوزا با روش‌های میکروب شناسی شامل تست کاتالاز و اکسیداز و استفاده از محیط‌های افتراقی مانند TSI، SIM، MRVP، سیمون سیترات، اوره آگار، نیترات براث، و نیز تست‌های تکمیلی بیوشیمیایی مانند تخمیر قندها و استفاده از آمینواسیدها، طبق جدول استانداردهای تشخیصی میکروب شناسی انجام گرفت[۱۰]. سپس سویه‌های جداسازی شده در محیط‌های کشت TSA در دمای ٤ درجه سانتی گراد و نیز TSB گلیسیرین دار در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد تا زمان انجام آزمایش نگهداری شد[۱۰].

تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن (کربی بائر)

مقداری از کلونی باکتری را بوسیله آنس برداشته و در سرم فیزیولوژی استریل حل کرده تا به کدورت مناسب برابر با استاندارد نیم مک فارلند برسد. بعد از تهیه محلول هموژن با سوآب استریل آن را به محیط کشت مولر هینتون آگار انتقال داده و به روش کشت چمنی بر روی محیط، کشت شد. بعد از کشت، دیسک‌های آنتی بیوتیک بر روی محیط کشت انتقال داده شد. بعد از قرار گرفتن دیسک‌ها، پلیت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری و بعد از ۲٤- ۱۸ ساعت زیر نور چراغ بررسی شد. قطر هاله عدم رشد با خط کش اندازه گیری شد و با توجه به جدول همراه دیسک‌ها، گزارش تست آنتی بیوگرام را برای هریک از آنتی بیوتیک‌ها به صورت حساس (Susceptible)، مقاوم، (Resistant) و یا نیمه حساس (Intermediate) گزارش گردید[۱۱].

مراحل استخراج DNA با استفاده از کیت

پس از تایید *باکتری سودوموناس آئروژینوزا* استخراج DNA با استفاده از کیت مرکز ذخایر ژنتیکی طبق پروتکل کیت انجام گرفت. جهت استخراج سویه های جمع آوری شده، از کیت استخراج DNA ژنومی باکتری‌های گرم منفی شرکت (GTP) پیشگامان انتقال ژن به شماره LOT:808288 استفاده شد. از ژن خانگی sRNA ١٦ بعنوان کنترل داخلی در انجام تحقیق استفاده شد.

آغازگرها (پرایمرها)

پس از مراجعه به سایت زیر و مطالعه و جستجو در مقالات مختلف پرایمرهای مناسب برای ژن *Int* و *bla* انتخاب شدند. پرایمرها در سایت (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi) مقایسه و بلاست شده و به شرکت سیناژن سفارش داده شدند. پرایمرها توسط آب مقطر دیونیزه به غلظت ۱۰۰ پیکومول و سپس به غلظت مناسب که ۱۰پیکومول بود، رسانده شد. در جدول ۱ و۲ توالی پرایمر و طول قطعه تکثیری آورده شده است. پرایمر الیگونوکلئوتیدی اساسی ترین عامل موثر بر راندمان و اختصاصی

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2022-09-26]

[DOI: 10.29252/aums.11.3.5]

شدن واکنش PCR است. طراحی دقیق پرایمر برای بدست آوردن محصولات مورد نظر در مقادیر مطلوب و جلوگیری از تکثیر توالی‌های غیر اختصاصی ضروری است. معمولاً M ۱- ۰/۱ پرایمر در هر واکنش مورد نیاز می‌باشد[۱۳،۱۲].

جدول ۱: توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت انجام Multiplex-PCR (Multiplex-polymerase chain reaction) [۱۳،۱۲]

نام ژن	توالی اولیگونوکلئوتیدی(۳′→۵′)	طول قطعه(bp)
Int1	F=5′-CAGTGGACATAAGCCTGTTC -3′ R= 5′-CCCGAGGCATAGACTGTA -3′	۱٦۰
Int2	F= 5′-CACGGATATGCGACAAAAAGGT -3′ R=5′-GTAGCAAACGAGTGACGAAATG -3′	۷۸۸
Int3	F=5′-GCCTCCGGCAGCGACTTTCAG -3′ R=5′-ACGGATCTGCCAAACCTGAC -3′	۹۷۹

جدول۲: توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت انجام Multiplex-PCR (Multiplex-polymerase chain reaction) [۱۳،۱۲]

Genes	Primer	Sequence (5'-3')	طول قطعه (bp)
blaKPC type	f	5'-TCGCTAAACTCGAACAGG-3'	۷۸۵
	r	5'-TTACTGCCCGTTGACGCCCAATCC-3'	۷۸۵
blaIMP type	f	5'-GAGTGGCTTAATTCTCRATC-3'	۱۲۰
	r	5'-AACTAYCCAATAYRTAAC-3'	۱۲۰

جدول ۳: برنامه تنظیم درجه حرارت و زمان برای انجام شناسایی ژن های کارباپنمازها

مرحله	دما(درجه سیلسیوس)	زمان(ثانیه)	تعداد سیکل
واسرشت اولیه	۹۵	۳۰۰	۱
واسرشت	۹۵	۲۰	–
اتصال	٥٦	٤٥	–
بازآرایی(گسترش)	۷۲	۳۰	۳٤
بازآرایی نهایی	۷۲	۳۰۰	–

جدول ٤: برنامه تنظیم درجه حرارت و زمان برای انجام شناسایی شناسایی **ژن های اینتگرون**

مرحله	دما(درجه سیلسیوس)	زمان(ثانیه)	تعداد سیکل
واسرشت اولیه	۹۵	۱۸۰	۱
واسرشت	۹۵	٦۰	–
اتصال	٥٤	٦۰	–
بازآرایی(گسترش)	۷۲	٦۰	۳٤
بازآرایی نهایی	۷۲	۳۰۰	–

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2022-09-26]
[DOI: 10.29252/aums.11.3.5]

برنامه زمانی و واکنش Multiplex-PCR

واکنش زنجیره ای پلیمراز PCR : مقادیر مواد اولیه PCR برای هر واکنش شامل ۱۰ میکرولیتر PCR Master Mix 2x (Amplicon)، ۱میکرولیتر از هرکدام یک از پرایمرها با غلظت ۱۰ پیکومول بر میکرولیتر، ٤ میکرولیتر از DNA الگو (۱۵۰ نانوگرم) و آب مقطر ٤ میکرولیتر است. مراحل دمایی واکنش PCR که ابتدا مرحله دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۵ چرخه شامل دناتوراسیون ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ ثانیه، مرحله اتصال پرایمر در دمای ٥٦ درجه سانتی گراد به مدت ٤٥ ثانیه و مرحله تکثیر در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه، و پس از ۳۵ چرخه مرحله تکثیر نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه انجام شد(جدول ۳و٤).

بهینه سازی PCR

بهینه سازی یعنی تعیین غلظت‌های مناسب مواد واکنشگر و دمای مناسب اتصال پرایمرها و تعداد سیکل‌های آزمایش مختلفی انجام شد، سپس با بررسی محصول PCR و نوع پرایمرها و نیز شرایط واکنش، بهترین دما و سیکل انتخاب گردید که در مورد آزمایش‌ها دمای ۵۸درجه و تعداد ٤۰ سیکل انتخاب شد[۱۵،۱٤].

مواد و محلول‌های استفاده شده جهت انجام واکنش در این تحقیق به قرار زیر است:

انجام الکتروفورز برای بررسی موقعیت و محل باندهای جداسازی اندازه‌های مختلف DNA در ژل توسط رنگ آمیزی با غلظت‌های پایین محلول رنگ اریتروژل و مشاهده مستقیم آن تحت تأثیر تابش نور ماورای بنفش تشخیص داده می‌شود.

نتایج

تست‌های بیوشیمیایی جهت تایید سویه‌های جداسازی شده

آزمایش‌های بیوشیمیایی برروی نمونه‌های جداسازی شده انجام گرفت و نتایج به شرح زیر به دست آمد: در این پایان نامه ۱۰۰ نمونه مورد بررسی قرار گرفت. معیار تأیید جدایه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* ویژگی‌های مورفولوژیک و بیوشیمیایی این باکتری بود. نتیجه کشت برروی محیط ستریمید آگار تولید پیگمان سبز مایل به آبی است که تمامی نمونه‌ها دارای این ویژگی زیر بوده‌اند(جدول ۸).

جدول ٦: محتویات PCR Master mix به ازای یک نمونه پرایمر ژن های اینتگرون

Distilled Water	**٤/٥ µl**
Master mix	۱۲/۵ µl
Forward each Primer	۳ µl
Reverse each Primer	۳ µl
DNA	۲ µl
Total volume	۲۵ µl

جدول ۷: محتویات PCR Master mix به ازای یک نمونه پرایمر ژن های کارباپنمازها

Distilled Water	**۵/۵ µl**
Master mix	**۱۲/۵ µl**
Forward each Primer	**۲ µl**
Reverse each Primer	**۲ µl**
DNA	**۳ µl**
Total volume	**۲۵ µl**

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2022-09-26]

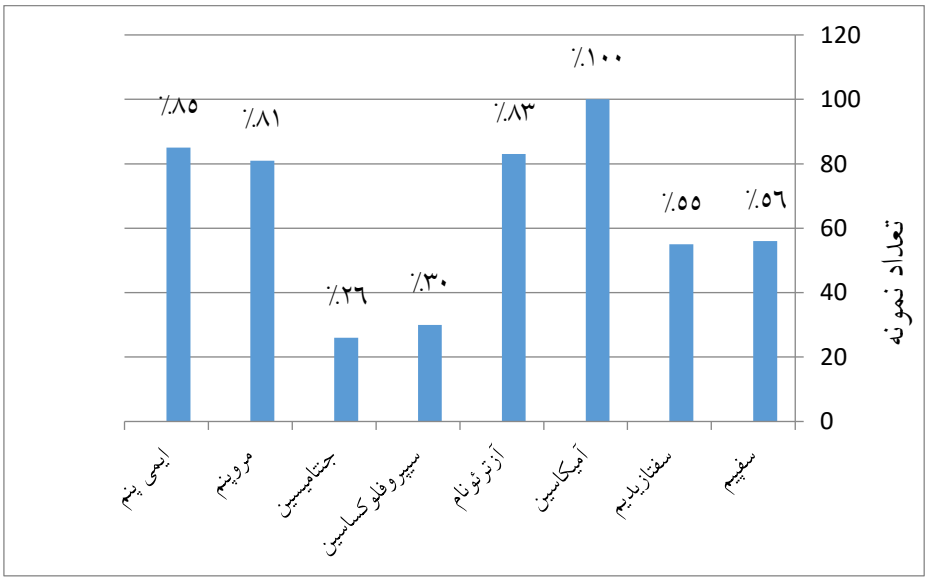
[DOI: 10.29252/aums.11.3.5]

جدول ۸ : نتایج خصوصیات بیوشیمیایی باکتری *سودوموناس آئروژینوزا*

تولید اندول	منفی	کاتالاز	مثبت
متیل رد MR	منفی	اکسیداز	مثبت
VP	مثبت	لیزین دکربوکسیلاز	منفی
مصرف سیمون سیترات	مثبت	اورنیتین دکربوکسیلاز	مننفی
سولفید هیدروژن	مثبت	رشد در ۳۷C º	مثبت
هیدرولیز اوره	مثبت	تخمیر گزیلوز	منفی
حرکت	مثبت	تخمیر لاکتوز	منفی

جدول ۹: جدول میزان حساسیت جدایه‌ها نسبت به آنتی بیوتیک های مختلف با روش دیسک دیفیوژن برحسب تعداد و درصد

نوع آنتی بیوتیک	میزان مقاومت (٪) Resistance	حساسیت متوسط(٪) Intermediate	میزان حساسیت (٪) Sensitive
جنتامیسین	(۲٦) ۲٦	(۸) ۸	(٦٦) ٦٦
سفپیم	(٥٦) ٥٦	(۱۳) ۱۳	(۳۱) ۳۱
سفتازیدیم	(٥٥) ٥٥	(۱٦) ۱٦	(۲۹) ۲۹
آمیکاسین	(۱۰۰) ۱۰۰	–	–
آزترئونام	(۸۳) ۸۳	(۱۱) ۱۱	(٦) ٦
سیپروفلوکساسین	(۳۰) ۳۰	(٦) ٦	(٦٤) ٦٤
مروپنم	(۸۱) ۸۱	(۷) ۷	(۱۲) ۱۲
ایمی پنم	(۸٥) ۸٥	(۲) ۲	(۱۳) ۱۳



نمودار ۱: توزیع فراوانی مقاومت سویه‌ها نسبت به آنتی بیوتیک ها

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2022-09-26]
[DOI: 10.29252/aums.11.3.5]

بررسی مقاومت‌های آنتی بیوتیکی

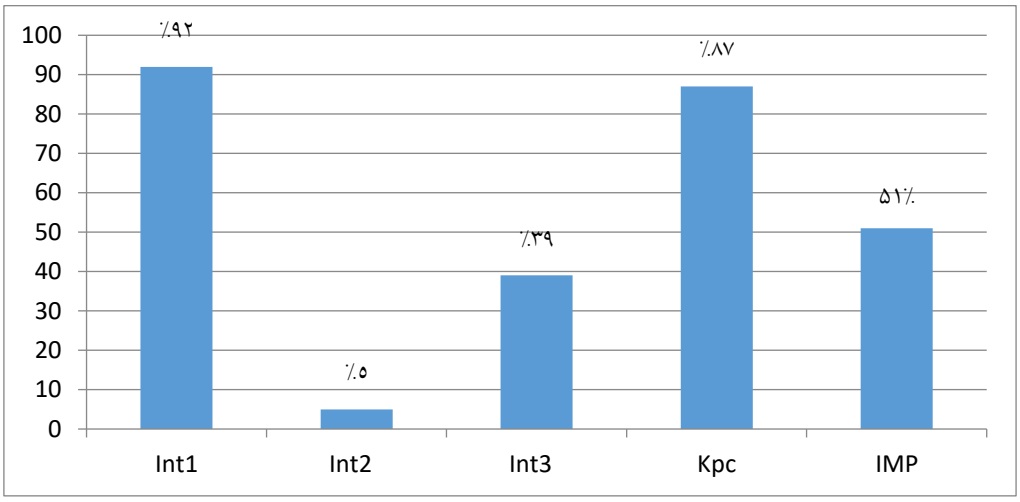
به منظور بررسی مقاومت‌های آنتی بیوتیکی سویه‌ها، آنتی بیوگرام با روش دیسک دیفیوژن انجام شد و میزان حساسیت و مقاومت کلیه سویه‌ها به آنتی بیوتیک‌های مورد نظر مشخص گردید. نتایج در جدول ۹ قابل مشاهده است. بیشترین مقاومت آنتی بیوتیکی سویه‌ها نسبت به آنتی بیوتیک آمیکاسین به میزان ۱۰۰٪ و کمترین مقاومت آنتی بیوتیکی نسبت به آنتی‌بیوتیک جنتامیسین ۲۶٪ و بیشترین حساسیت آنتی‌بیوتیکی به میزان ٦٦٪ نسبت به جنتامیسین گزارش شد(نمودار ۱).

نتایج حاصل از آزمون مولکولی با استفاده از روش Multiplex PCR

در این مطالعه ۵ جفت ژنKPC,IMP، Int_3، Int_2، Int_1 مورد بررسی قرار گرفت. از مجموع ۱۰۰ نمونه بالینی که وجود باکتری سودوموناس آئروژینوزا در آنها به اثبات رسیده بود، میزان فراوانی ژنها مطابق جدول ۱۰ و نمودار ۲ردیابی گردید.

جدول ۱۰: فراوانی ژن های مورد بررسی در این مطالعه(IMP- KPC- Int3- Int2-Int1)

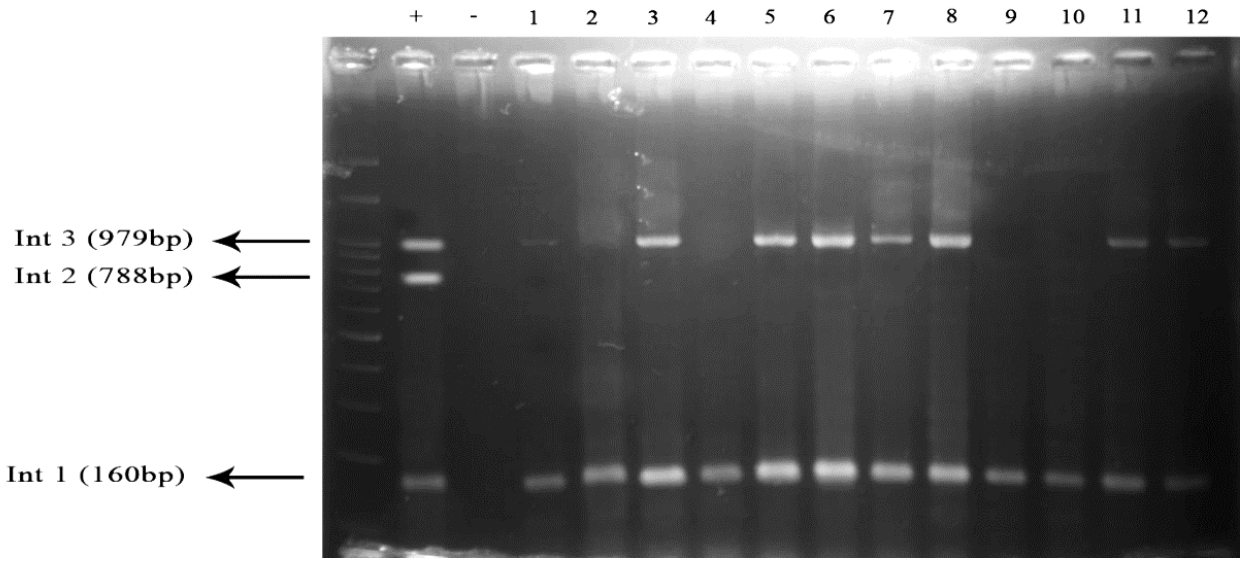
ژن	تعداد مورد مطالعه	درصد
Int_1	۹۲	۹۲
Int_2	۵	۵
Int_3	۳۹	۳۹
KPC	۸۷	۸۷
IMP	۵۱	۵۱



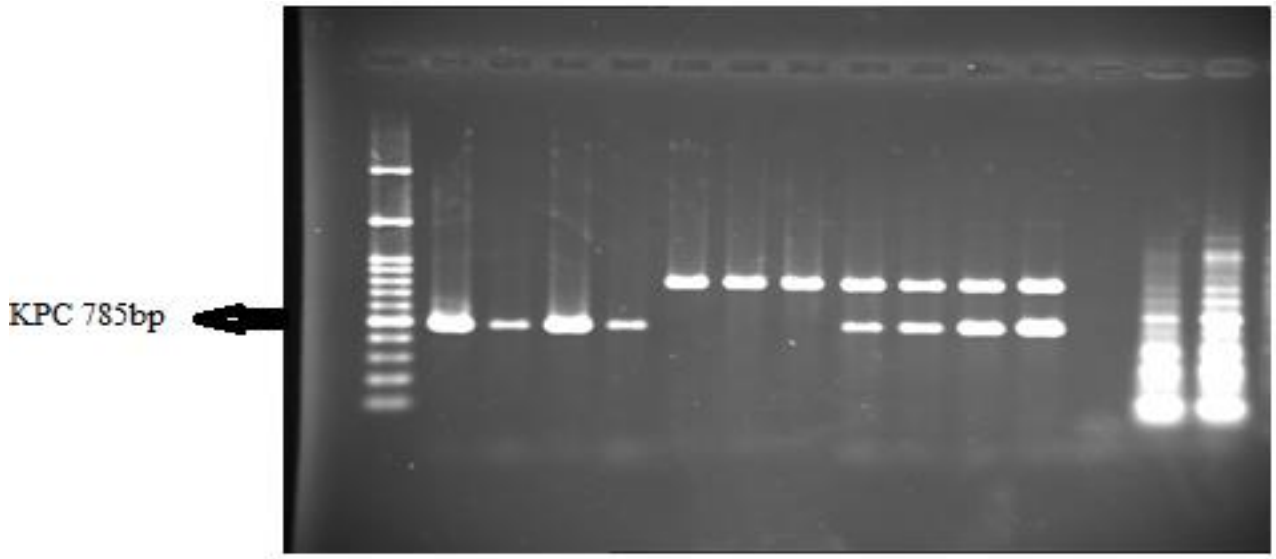
نمودار۲: توزیع فراوانی ژن های مورد مطالعه (Int1 Int2 Int3 KPC IMP)

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2022-09-26]

[DOI: 10.29252/aums.11.3.5]



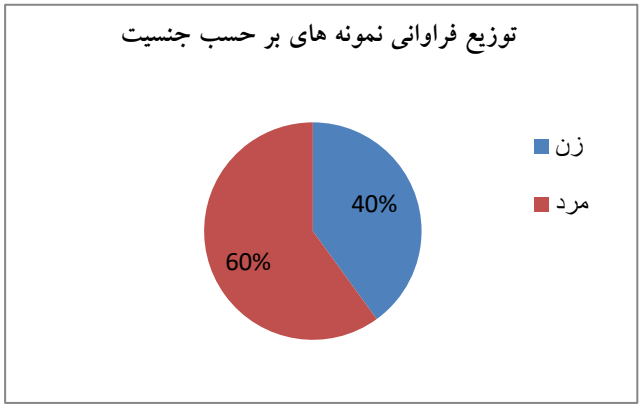
شکل ۱: نتایج آزمون M-PCR جهت تعیین ژن‌ها -از راست به چپ: Ladder 100bp – کنترل مثبت ژن اینتگرون- کنترل منفی- چاهک نمونه‌ها



شکل ۲: نتایج آزمون M-PCR جهت تعیین ژن‌های کارباپنماز - از چپ به راست : Ladder 100bp – چاهک دوم تا پنجم نمونه‌های فاقد ژن مورد نظر، چاهک ششم تا دوازدهم نمونه‌های مثبت دارای ژن، چاهک سیزدهم کنترل منفی و چاهک چهاردهم کنترل مثبت

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2022-09-26]

[DOI: 10.29252/aums.11.3.5]



نمودار ۳: توزیع فراوانی نمونه‌ها بر حسب جنسیت(مرد و زن) در آزمایشگاه طبی

بحث و نتیجه گیری

مقاومت باکتری ها دربرابر آنتی بیوتیک‌ها معمولاً بر اساس مکانیسم هایی نظیر تولید آنزیم های تخریب کننده دارو، تغییر نفوذپذیری باکتری نسبت به دارو، تغییر در گیرنده‌های دارو در سطح باکتری، تغییر در ساختار دیواره سلولی باکتری و دستیابی به مسیرهای متابولیکی فرعی که جبران‌کننده واکنش مهار شده توسط دارو صورت می‌گیرد. بروز مقاومت به صورت موتاسیون خود به خودی بر روی ژنهای کنترل‌کننده حساسیت باکتری و یا از طریق انتقال پلاسمید می‌باشد. یکی از مسائل مهم در درمان بیماری‌های عفونی، مقاومت باکتری‌های پاتوژن نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشد، که در آن چندین فاکتور از جمله نوع میکروارگانیسم عفونت زا، محل میکروب در داخل بدن، توزیع میکروارگانیسم در بدن، غلظت دارو در محل عفونت و وضعیت ایمنی بیمار دخالت داشته و بر یکدیگر تأثیر می-گذارند[۱۶].

مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها به دو صورت ذاتی و اکتسابی می‌باشد. در مقاومت ذاتی، سلول طبیعی و یا وحشی قادر به مهار آنتی‌بیوتیک‌ها بوده و منشاء کروموزومی دارد. در حالی که مقاومت اکتسابی در اثر قرار گرفتن جمعیت‌های حساس و طبیعی در معرض عوامل مختلف و تبدیل سویه‌های حساس به مقاوم ناشی می‌شود[۱۷].

پسودوموناس آئروژینوزا مهمترین عامل بیماریزای انسانی درجنس سودوموناس است .این باکتری ازمهمترین عوامل بیماری و مرگ و میر در مبتلایان به فیبروز سیستیک، نئوپلاسمی و سوختگیهای شدید است. در دهه‌های اخیر در پی ابداع درمان آنتی بیوتیکی، سودوموناس آئروژینوزا به دلیل مقاومت ذاتی به اکثر آنتی بیوتیک ها به عنوان یکی از مهمترین پاتوژن های بیمارستانی شناسایی شده است[۱۸]. این باکتری به دلیل توانایی سازگاری با محیط‌ها و میزبان‌های مختلف، دارای تنوع ژنوتیپی زیادی است که منجر به واکنش های فنوتیپی غیرمعمول می‌شود. شجاع پور و همکاران در سال ۱۳۸۷ *سودوموناس آئروژینوزا* را به عنوان عامل عفونت اصلی بیمارستانی گزارش نموده و تشخیص‌های صحیح آزمایشگاهی را برای جلوگیری از شکست درمان ناشی ازانتخاب داروی نامناسب بسیار مهم توصیف می‌نمایند[۱۹].

محزونیه و همکاران در سال ۲۰۱٤ با پژوهش پیرامون وجود ژن های مقاومت به مواد ضدعفونی‌کننده چهارتایی آمونیوم در بین سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا و اسینتوباکتر بومانی جداشده از بیماران سوختگی، به این نتیجه رسیدند که میزان بروز ژنهای مقاومت به این نوع ترکیبات ضدعفونی کننده در حال گسترش بوده که خود می‌تواند زنگ خطری برای اشاعه سویه‌های مقاوم باشد[۲۰]. در مطالعه حاضر نیز مشخص گردید که از مجموع نمونه‌ها ٦۰٪ متعلق به مردان می‌باشد که با توجه به میزان بالای بروز سوختگی در مردان به دلیل شغل و موارد دیگر میزان عفونت و جداسازی بر اساس تاریخچه اعلامی در پرونده بیمارانی که نمونه‌ها از آنها اخذ گردیده است، به مراتب بالاتر گزارش گردیده است.

در مطالعه آذرگون و همکاران از ۵۱ نمونه *سودوموناس آئروژینوزا* جداسازی شده از بیماران مبتلا به سیستیک فیبروزیس، ۳۷/۲ ٪ مقاوم به جنتامایسین، ۲۱/۵٪ مقاوم به آمیکاسین، ۱۵/۷٪

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2022-09-26]
[DOI: 10.29252/aums.11.3.5]

مقاوم به سپیروفلوکساسین و ۹/۸٪ مقاوم به سفتازیدیم بودند[۲۱]. در مطالعه حاضر میزان مقاومت نسبت به آمیکاسین در بین نمونه‌های بالینی ۱۰۰ ٪ بود که در مقایسه با سایر مطالعات به عمل آمده مشابهت نشان داد. از طرفی در مطالعات میرصالحیان و همکاران میزان مقاومت به این آنتی بیوتیک بسیار بالا بوده است. به نظر می‌رسد این تفاوت می‌تواند به دلیل تفاوت در منبع سویه‌ها باشد[۲۲].

میزان مقاومت *سودوموناس* آئروژینوزا به آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین در مطالعات فاضلی و همکاران به ترتیب ۹۸/۷٪، ۴۲ ٪، ۴۱ ٪ و ۴۰/۶٪ بود[۲۳]. مقایسه نتایج تحقیق حاضر (۳۰٪ مقاومت) با تحقیق‌های دیگر نشان داد که مقاومت آنتی بیوتیکی در جدایه‌های سودوموناس آئروژینوزا نسبت به سایر آنتی بیوتیک‌ها کمتر بوده و هنوز کارآیی لازم را جهت درمان بیماران مبتلا به این باکتری دارا می‌باشد. سفتازیدیم آنتی بیوتیک دیگری است که در مطالعه حاضر مورد بررسی قرار گرفت و میزان مقاومت ۵۵٪ از خود نشان داد. مقایسه این نتیجه با نتایج سایر مطالعات از جمله شاهچراغی و همکاران (۴۲ ٪) [۲۴]، شیرانی و همکاران (۷۸/۹ ٪) [۲۵]، خسروی و همکاران (۸۱ ٪) [۲۶]. نشان می‌دهد نمونه‌های سودوموناس آئروژینوزا در این تحقیق کمترین میزان مقاومت به سفتازیدیم را نسبت به سایر مطالعات دارند. علت مغایرت مطالعه این محققین با مطالعه پیش رو می‌تواند در نوع نمونه، محل انجام آزمون، بازه زمانی و دیسک‌های مورد استفاده باشد.

در این تحقیق ۸۵٪ و ۸۱٪ از سویه‌ها به ترتیب به ایمی‌پنم و مروپنم مقاوم بودند. بررسی‌ها نشان می‌دهد، میزان مقاومت نسبت به ایمی‌پنم نیز درچند سال اخیر به دلیل انتشار و انتقال ژنهای کدکننده متالوبتالاکتاماز درحال افزایش است. در سال ۲۰۰۴ لوزارو و همکاران نشان دادند که ۱۵٪ سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا مقاوم به ایمی-پنم بودند[۲۷]. این تحقیق نتایج مشابهی را با لوزارو نشان داد، اما نسبت به سایر مطالعات مقاومت کمتری را نشان داد، دلیل این امر می‌تواند نوع نمونه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* باشد که از بیماران غیر بستری مرکز درمانی جدا شده‌اند و به همین دلیل مقاومت کمتری را نسبت به ایمی پنم نشان دادند.

فرانکو وهمکاران در سال ۲۰۱۰ درتحقیقی که در بیمارستانی در برزیل انجام گرفت مشاهده کردند که ۱۰۰٪ بیماران مقاوم به ایمی‌پنم بودند[۲۸]. درتحقیق سال ۹۲ دوستی و همکاران ۵۵/۱٪ از بیماران مقاوم به ایمی‌پنم بودند. دراین تحقیق ۸۱٪ از سویه‌ها مقاومت نسبت به مروپنم را نشان دادند[۲۹].

بروز مقاومت به آنتی‌بیوتیک ها در اکثر موارد به علت استفاده بی رویه و خودسرانه آنتی بیوتیک ها، بدون انجام آزمون های آنتی‌بیوگرام و شناسایی عامل پاتوژن صورت می‌گیرد. این امر منجر به پیدایش موارد زیادی از مقاومت های داروئی می‌شود که این خود سبب عدم موفقیت در درمان و پیدایش بسیاری از عوارض علی‌رغم صرف هزینه های زیاد درمانی می شود. مقاومت های داروئی نسبت به آنتی بیوتیک‌ها در مناطق مختلف ایران و جهان به دلیل تغییرات ژنتیکی در سویه های ایجاد کننده و تفاوت در میزان مصرف آنتی‌بیوتیک ها و وجود اختلاف در میزان دسترسی به آنتی بیوتیک های وسیع الطیف و جدید متفاوت می‌باشند. از طرفی استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در تغذیه دام باعث شده که حتی باکتری‌هایی که در بدن بصورت فلور طبیعی حضور دارند نیز به داروها مقاوم شده و مخزنی برای انتشار سویه‌های مقاوم به دارو در جامعه باشند. اثرات متقابل رشد سریع، تراکم بالای سلول‌ها، روند ژنتیکی موتاسیون، انتخاب طبیعی و نیز توان بالای باکتری‌ها در تبادل ژنتیکی سبب سازش و تنوع در حدی غیر معمول می‌شود، به همین جهت سازش باکتری‌ها درمحیط حاوی آنتی-بیوتیک، درایجادمقاومت بسیارسریع اتفاق می‌افتد[۳۰].

اینتگرون مکانیسمی است که برای انتقال ژن های مقاومتی علی-رغم کونژوگاسیون، ترانسداکسیون، فاژ، پلاسمید و ترانسپوزون معرفی گردید. اینتگرون‌ها عناصر ژنتیکی متحرک (Mobile Genetic Elements-MGE) هستند که با جایگیری در پلاسمیدها، کروموزوم ها و ترانسپوزون ها، ژن های مقاومتی موجود در کاست ژنی را حمل می‌کنند. این عناصر براساس تفاوت در ژن اینتگراز، به کلاس‌های مختلفی تقسیم می‌شوند که شامل Int_1، Int_2، Int_3 و Int_4 می‌باشند.

اینتگرون‌های کلاس I رایج ترین نوع اینتگرون‌های یافت شده در جدایه‌های بالینی *سودوموناس آئروژینوزا* می‌باشند. در تحقیق بینگ ۲۰۰۶ میزان شیوع اینتگرون‌های کلاسI ، ۴۰/۸ درصد و در مطالعه فونسکا، ۴۱/۵ درصد در نمونه‌های بالینی بیماران بستری گزارش شده است. شیوع اینتگرون کلاس I در مطالعه حاضر برابر با ۹۲ درصد بوده و اختلاف موجود در نتایج مطالعه ما با مطالعه دیگران احتمالاً می‌تواند به دلیل تفاوت در رعایت کردن بهداشت در بین جمعیت‌های انسانی در کشورهای مختلف و همچنین مناطق مختلف

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2022-09-26]
[DOI: 10.29252/aums.11.3.5]

یک کشور باشد. البته با مقایسه نتایج آزمون آنتی بیوگرام این تحقیق و شناسایی ژن اینتگرون می‌توان گفت که با توجه به مقاوم بودن اکثر آنتی بیوتیک‌ها نسبت به این باکتری فراوانی بالای ژن اینتگرون کلاسI در این مطالعه کاملاً طبیعی بوده و همچنین تفاوت در میزان استفاده از مواد ضد میکروبی در درمان انسان‌ها نیز از دیگر دلایل وجود اختلاف می‌باشد. در مطالعه ما نیز این مطلب کاملاً به اثبات رسید.

اکثر سویه‌های دارای مقاومت چندگانه (MDR) دارای اینتگرون کلاس ۱ هستند(*Int1*) که بر روی پلاسمید یا ترانسپوزون مستقر بوده و بنابراین توان انتشار بالایی را دارد. اینتگرون‌ها به عنوان عناصر متحرک ژنتیکی موجب انتقال شاخص‌های مقاومت ضدمیکروبی در میزان بالا شده و از اهمیت زیادی در ایجاد مقاومت چندگانه آنتی بیوتیکی به خصوص در باکتریهای گرم منفی برخوردار هستند. انتقال افقی ژن‌های مقاومت آنتی بیوتیکی از طریق اینتگرون‌ها باعث افزایش مقاومت سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* نسبت به ترکیبات ضد میکروبی شده است. در سالهای اخیر ظهور سویه‌های مقاوم به چند دارو(MDR) بویژه بر علیه آنتی بیوتیک‌های رایج، نگرانی‌های فراوانی را در جوامع پزشکی به دلیل شکست درمانی و هزینه‌های بالای درمان پدید آورده است. بنابراین؛ داشتن اطلاعات در مورد حساسیت آنتی بیوتیکی پاتوژنهای شایع، اطلاعات مفیدی را در مورد راهکارهای درمانی و اقدامات کنترلی مفید خواهد بود.

نتیجه‌گیری

در نتیجه تنوع ژنتیکی زیادی بین سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزای* جدا شده از نمونه‌های بالینی وجود داشته و منشا گرفتن این سویه‌ها از یک کلون واحد یا کلون های محدود بسیار محتمل نمی‌باشد ولی وجود کلون هایی که دریک کلاستر قرار می‌گیرند احتمالاً از یک منبع مشترک باعث آلودگی و بیماریزایی شده است. دلایل تفاوت مشاهده شده در این مطالعه با سایر مطالعات می‌تواند بدلیل این باشد که ایزوله‌های بالینی از نمونه‌های مختلفی جدا شده است. از دلایل دیگر می‌توان از جنبه اپیدمیولوژیکی اشاره نمود که مربوط به شرایط آب و هوایی، میزبانان مستعد مختلف، استرین‌های ایجاد کننده و نوع نمونه برداری می شود.

در مقایسه نتایج نشان می‌دهد که فراوانی ژن‌های مقاومت رو به افزایش بوده و اگر این روند ادامه پیدا کند ممکن است مقاومت به همه آنتی بیوتیک‌های رایج مصرفی در مراکز درمانی منتقل شده و موجب شکست روند درمان گردد. مطالعات بررسی فراوانی و شناسایی ژنهای مقاومت سبب افزایش اطلاعات و مواجهه موثرتر با مقاومت آنتی بیوتیکی میکروارگانیسم‌های بیماریزا خواهد شد. استفاده از روش های ملکولی در تسریع تشخیص عوامل پاتوژن بیماریزا بخصوص در نمونه‌های ادراری می‌تواند دقت تشخیص در نوع باکتری و متعاقباً نوع آنتی بیوتیک های تجویز شده را افزایش دهد.

References

1. Agustina M, Soegianto L, Sinansari R. Uji aktivitas antibakteri hasil fermentasi kulit buah naga merah (Hylocereus polyrhizus) terhadap Propionibacterium acnes. Jurnal Farmasi Sains dan Terapan 2021;8(1):1-7.

2. Freeman W. B. Sc microbiology (cbcs) revised syllabus–2020 mbt–iii: medical microbiology and immunology. ap state council of higher education cbcs pattern for microbiology b sc microbiology (cbcs) revised syllabus-2020: 7.

3. Sastry AS, Bhat S. Essentials of medical microbiology: JP Medical Ltd; 2018.

4. Yang W, Zhou X, Zhao J, Xu W. A cascade amplification strategy of catalytic hairpin assembly and hybridization chain reaction for the sensitive fluorescent assay of the model protein carcinoembryonic antigen. Microchimica Acta 2018;185(2): 1-7.

5. Schierwater B, Streit B, Wagner G, DeSalle R. Molecular ecology and evolution: approaches and applications: Birkhäuser; 2013.

6. Hadrys H, Balick M, Schierwater B. Applications of random amplified polymorphic DNA (RAPD) in molecular ecology. Molecular ecology 1992;1(1): 55-63.

7. Cheng S, Fockler C, Barnes WM, Higuchi R. Effective amplification of long targets from cloned inserts and human genomic DNA. Proceedings of the National Academy of Sciences 1994;91(12): 5695-9.

8. Sheikh AF, Shahin M, Shokoohizadeh L, et al. Emerge of NDM-1-producing multidrug-resistant pseudomonas aeruginosa and co-harboring of carbapenemase genes in South of Iran. Iranian Journal of Public Health 2020;49(5):

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2022-09-26]

[DOI: 10.29252/aums.11.3.5]

959.

9. Sharifi H, Pouladfar G, Shakibaie MR, et al. Prevalence of β-lactamase genes, class 1 integrons, major virulence factors and clonal relationships of multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa isolated from hospitalized patients in southeast of Iran. Iranian journal of basic medical sciences 2019;22(7): 806.

10. Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G. Textbook of diagnostic microbiology-e-book: Elsevier Health Sciences; 2018.

11. Humphries RM, Ambler J, Mitchell SL, et al. CLSI methods development and standardization working group best practices for evaluation of antimicrobial susceptibility tests. Journal of clinical microbiology 2018;56(4).

12. Jeong S, Kim JO, Jeong SH, et al. Evaluation of peptide nucleic acid-mediated multiplex real-time PCR kits for rapid detection of carbapenemase genes in gram-negative clinical isolates. Journal of microbiological methods 2015;113: 4-9.

13. Monteiro J, Widen RH, Pignatari AC, et al. Rapid detection of carbapenemase genes by multiplex real-time PCR. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 2012;67(4): 906-9.

14. Huang L, Liu W, Jiang Q, et al. Integration of transcriptomic and proteomic approaches reveals the temperature-dependent virulence of Pseudomonas plecoglossicida. Frontiers in cellular and infection microbiology 2018;8: 207.

15. Lin S-P, Liu M-F, Lin C-F, Shi Z-Y. Phenotypic detection and polymerase chain reaction screening of extended-spectrum β-lactamases produced by Pseudomonas aeruginosa isolates. Journal of Microbiology, Immunology and Infection 2012;45(3): 200-7.

16. Fluit A, Schmitz F-J. Resistance integrons and super-integrons. Clinical microbiology and infection 2004;10(4): 272-88.

17. Aloush V, Navon-Venezia S, Seigman-Igra Y, et al. Multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa: risk factors and clinical impact. Antimicrobial agents and chemotherapy 2006;50(1): 43–8.

18. Amini B, Kamali M, ZareiMahmodabadi A, et al. Cloning of catalytic domain of exotoxin a from Pseudomonas aeruginosa. J Adv Med Biomed Res 2010;18(71): 24-33.

19. Shojapour M, Shariati L, Karimi A, Zamanzad B. Prevalence of TEM-1 type beta-lactmase genes in Pseudomonas aeruginosa strains isolated from burn infections using Duplex PCR in Shahrekord, 2008. J Arak Univ Med Sci 2011;14(1).

20. Mahzounieh M, Khoshnood S, Ebrahimi A, et al. Detection of antiseptic-resistance genes in Pseudomonas and Acinetobacter spp. isolated from burn patients. Jundishapur journal of natural pharmaceutical products 2014;9(2).

21. Azargoon R, Doustdar F, Khanbabaei G, et al. Type III secretion system characterization of Pseudomonas aeruginosa isolates associated with cystic fibrosis. Research in Medicine 2013;37(3): 189-93.

22. Mirsalehian A, Nakhjavani F, Bahador A, et al. Prevalence of MBL-producing Pseudomonas aeruginosa isolated from burn patients. Tehran University Medical Journal 2011;68(10).

23. Ghamgosha M, Shahrekizahedani S, Kafilzadeh F, et al. Metallo-beta-lactamase VIM-1, SPM-1, and IMP-1 genes among clinical Pseudomonas aeruginosa species isolated in Zahedan, Iran. Jundishapur journal of microbiology 2015;8(4).

24. Shahcheraghi F, Nikbin V-S, Feizabadi MM .Prevalence of ESBLs genes among multidrug-resistant isolates of Pseudomonas aeruginosa isolated from patients in Tehran. Microbial Drug Resistance 2009;15(1): 37-9.

25. Shirani K, Ataei B, Roshandel F. Antibiotic resistance pattern and evaluation of metallo-beta lactamase genes (VIM and IMP) in Pseudomonas aeruginosa strains producing MBL enzyme, isolated from patients with secondary immunodeficiency. Advanced biomedical research 2016;5.

26. Khosravi AD, Mihani F. Detection of metallo-β-lactamase–producing Pseudomonas aeruginosa strains isolated from burn patients in Ahwaz, Iran. Diagnostic microbiology and infectious disease 2008;60(1): 125-8.

27. Luzzaro F, Endimiani A, Docquier J-D, et al. Prevalence and characterization of metallo-β-lactamases in clinical isolates of pseudomonas aeruginosa☆. Diagnostic microbiology and infectious disease 2004;48(2): 131-5.

28. Franco MRG, Caiaffa-Filho HH, Burattini MN, Rossi F. Metallo-beta-lactamases among imipenem-resistant Pseudomonas aeruginosa in a Brazilian university hospital. Clinics 2010;65(9): 825-9.

29. Doosti M, Ramazani A, Garshasbi M. Identification and characterization of metallo-β-lactamases producing Pseudomonas aeruginosa clinical isolates in University Hospital from Zanjan Province, Iran. Iranian biomedical journal 2013;17(3): 129.

30. Engel J, Balachandran P. Role of Pseudomonas aeruginosa type III effectors in disease. Current opinion in microbiology 2009;12(1): 61-6.

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2022-09-26]

[DOI: 10.29252/aums.11.3.5]

AUMJ Journal Alborz University of Medical Sciences

Alborz University of Medical Sciences Journal, August 2022, Vol. 11, No. 3: 298-310 *Original Article*

Elham EyniKamrani [1*], ***Alireza Mokhtari*** [2], ***Zahra Tahmasbi-Fard*** [3]

[1] *Master Student of Bacteriology, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Roodehen Branch, Roodehen, Iran*

[2] *Technical Assistant of the Department of Microbiology, Atiyeh Veterinary Laboratory, Tamin Atiyeh Salamat Alborz Knowledge Foundation Company, Alborz, Iran*

[3] *Assistant Professor, Faculty of Agriculture and Basic Sciences, Department of Agriculture, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Roodehen Branch, Roodehen, Iran*

Evaluation of Carbapenemase and Integron Resistance Genes in Pseudomonas Aeruginosa Isolated from Clinical Samples and Determination of Antibiotic Resistance Pattern by Laboratory Method

Received: 28 Apr 2021 ; Accepted: 25 Feb 2022

Abstract

Introduction: Pseudomonas aeruginosa is one of the most important bacteria causing nosocomial infections, especially in immunocompromised patients. Many antibiotics such as aminoglycosides, quinolones, and beta-lactams are used to treat infections caused by this bacterium. But the emergence of hospital resistance and outbreaks of resistance strains have been widely reported. The aim of this study was to evaluate the frequency of class I, II and III integrons and carbapenemase genes in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*.

Methods: In this descriptive cross-sectional study, 100 clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* were collected from Tehran health centers. All isolates were confirmed by phenotypic and biochemical tests. Antibiotic susceptibility testing was performed by gel diffusion method, based on CLSI procedure, and on commercial Müller Hinton agar medium with commercial antibiotics.

Results: The results of antibiotic susceptibility test showed that the highest antibiotic resistance was obtained against amikacin (100%) and imipenem (85%) and the least antibiotic resistance to gentamycin (66%). The highest frequency distribution was related to intI gene with 92% and the lowest frequency of intII gene with 5%. KPC gene was detected in 87% and IMP gene in 51% of samples.

Conclusion: Due to the high prevalence of integron in *Pseudomonas aeruginosa* resistant isolates and its association with different patterns of drug resistance, appropriate strategies for infection control and treatment in the studied hospitals are necessary to prevent further spread of these isolates. The PCR method in this study, with the results of other researchers in different parts of the world, may be due to the source of the sample. Rapid detection of *Pseudomonas aeru*ginosa in clinical specimens is important for initiating treatment. The use of molecular methods to detect antibiotic resistance of *Pseudomonas aeruginosa* in clinical samples of patients is very important.

Keywords: Integron genes, *Pseudomonas aeruginosa*, Drug resistance, PCR.

***Corresponding Author:**

Master Student of Bacteriology, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Roodehen Branch, Roodehen, Iran.

Tel: 09198811236
Email: esperanza_eka@yahoo.com

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2022-09-26]

[DOI: 10.29252/aums.11.3.5]