

الهام عینی کامرانی^{۱*}، علیرضا مختاری^۲،
زهرا طهماسبی فرد^۳

^۱ کارشناسی ارشد باکتری‌شناسی، گروه بیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد رودهن، رودهن، ایران
^۲ مسئول فنی بخش میکروبیشناسی، 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

چکیده

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

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

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، کینولون ها و بتالاکتام ها است. اما ظهور مقاومت و شیوع عفونت بیمارستانی سوبه های مقاومت بسیارومکررگزارش شده است. این مطالعه با هدف بررسی فراوانی اینتگرون کلاس I، II و III و ژن های کارباپنماز در ایزوله 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 آنتی بیوتیک 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 سوبه‌ها نسبت به آمیکاسین (۱۰۰٪) و ایمی پنم (۸۵٪) و کمترین مقاومت آنتی بیوتیکی نسبت به جنتامیسین (۶۶٪) 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* در ۵۱٪ از نمونه‌ها ردیابی گردید.

نتیجه گیری: 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 می‌تواند 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.

نویسنده مسئول:

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

۰۹۱۹۸۸۱۱۲۳۶

Email: esperanza_eka@yahoo.com

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

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 و آماس پوست، عفونت‌های بافت‌های نرم، باکتری می (وجود باکتری در خون) عفونت‌های استخوان و مفاصل، عفونت‌های معدی روده‌ای و عامل منتهی به مرگ در مبتلایان به فیروز سیستمیک و بیماران نئوپلاسمی و سوختگی‌های شدید مطرح می‌گردد^۱.

این باکتری سومین عامل مهم و متداول عفونت‌های بیمارستانی بعد از *اشرشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* است که حدود ۱۰ درصد کل عفونت‌های بیمارستانی را شامل می‌شود. درمان این بیماری با آنتی بیوتیک‌های متداول به دلیل تولید آنزیم بتالاکتاماز معمولاً با مقاومت همراه است که استفاده از پروتکل درمانی چند آنتی بیوتیک و داروهای مقاوم به بتالاکتاماز موفق‌تر است. *سودوموناس آئروژینوزا* حاوی پیلای و لایه لعابی شبه کپسولی از جنس گلیکوکالیس که در ایجاد مقاومت و عدم نفوذ آنتی بیوتیک بدخل باکتری نقش بسیار مهمی را ایفا می‌کند^۲.

مقاومت دارویی به علت ژن‌های ESBL 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 سویه‌های مقاوم چند دارویی، برخوردار است. مقاومت در برابر آنتی بیوتیک‌ها در این باکتری دارای مکانیسم‌های متفاوتی از جمله: بتالاکتامازها، عوامل پلاسمیدی و ترانسپوزون، پمپ‌های انتشار دارو، بیوفیلیم‌ها، تغییر نفوذپذیری غشای خارجی می‌باشد^۳.

مقاومت در برابر آنتی بیوتیک‌ها به دو صورت ذاتی و اکتسابی است. در واقع مقاومت اکتسابی در نتیجه جهش در ژن‌های کروموزومی و یا در ارتباط با پلاسمیدها، ترانسپوزون‌ها و ایتتگرون‌ها است. باکتری به راحتی می‌تواند به ژن‌های مقاومتی که بر روی عناصر متحرک ژنتیکی (پلاسمیدها، ترانسپوزون‌ها و ایتتگرون‌ها) قرار

دارد و از یک باکتری به باکتری دیگر انتقال می‌یابد، دسترسی پیدا کند^۴.

ایتتگرون‌های مقاومتی، کاست‌های ژنی را که منجر به مقاومت علیه آنتی بیوتیک‌ها و دزائفکتان‌ها می‌شوند حمل می‌نمایند و می‌توانند بر روی کروموزوم یا پلاسمید قرار گیرند. ایتتگرون کلاس I بیش از ۴۰ ژن مقاومت در ارتباط با مقاومت به آمینوگلیکوزیدها، بتالاکتام‌ها، کلرانفیکل، ماکرولیدها، سولفونامیدها، ضد عفونی کننده‌ها و دزائفکتان‌ها را حمل می‌نماید و به طور گسترده‌ای در سویه‌های گرم منفی دیده می‌شود^۵.

ژن ایتتگراز در ایتتگرون 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. ایتتگرون کلاس III به ندرت در نمونه‌های بالینی وجود دارد. انتهای ۳' در ایتتگرون کلاس III مشابه ایتتگرون کلاس I بوده و شامل ژن‌های *qacEAl* و *SulI* و *orf5,6* است. تنها تفاوتشان در فقدان ژن‌های ترانسپوزیشن در ایتتگرون‌های کلاس III می‌باشد و شامل کاست‌های ژنی که کدکننده آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز و کدکننده ژن مقاومت به آمینوگلیکوزید وجود دارند^۶.

سوپر ایتتگرون‌ها شامل ایتتگرون IV بوده که ساین بازوی این دسته از ایتتگرون‌ها بزرگ بوده و در حدود ۱۲۶kb که حداقل حاوی ۱۷۸ کاست ژنی می‌باشد. کاست ژنی سوپر ایتتگرون‌ها 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^۶.

شیوع مقاومت در برابر کینولون‌ها و بتالاکتام‌ها وسیع‌الطیف در خانواده انتروباکتریاسه، *سودوموناس* و *اسیتتوباکتر* 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 نظر عملکرد در گروه سه طبقه‌بندی بوش قرار می‌گیرند. در طی دهه‌های اخیر انواع MBLها از جمله *GIM*، *SPM*، *VIM* شناسایی شده‌اند. همه متالوبتالاکتامازها توانایی

هیدرولیز ایمی پنم را دارند اما قدرت و میزان این توانایی در بین آنها متفاوت است.^{۷۴}

اولین گام برای جداسازی و شناسایی سویه های تولید کننده متالوبتالاکتاماز تعیین MIC و یا حساسیت آنتی بیوتیکی برای آنتی-بیوتیک های ایمی پنم و مروپنم، سفتری زوکسیم، سفپایم، سفنازیدیم، سیپروفلوکساسین، آمیکاسین است. در نهایت می توان توسط PCR و به کمک پرایمرهای اختصاصی مربوط به ژنهای کد کننده متالوبتالاکتامازها که در سودوموناس آئروژینوزا IMP و VIM و SPM₁ هستند، حضور ژن های کد کننده این آنزیم ها را تایید کرد^{۹۸}. هدف از این مطالعه، تعیین میزان مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های 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 مطالعه ای 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 جمع آوری و پس از انتقال به آزمایشگاه تحقیقاتی آتیه کشت ابتدایی بر روی نمونه ها انجام گردید.

شناسایی بیوشیمیایی جدایه

نمونه ها بعد از جمع آوری برای تأیید نهایی از کشت روی محیط های بلاد آگار، مک کانکی آگار و ستریمید آگار جهت تشخیص باکتری سودوموناس آئروژینوزا با روش های میکروب شناسی شامل تست کاتالاز و اکسیداز و استفاده از محیط های افتراقی مانند TSI، SIM، MRVP، سیمون سیترات، اوره آگار، نیترات برات، و نیز تست های تکمیلی بیوشیمیایی مانند تخمیر قندها و استفاده از آمینواسیدها، طبق جدول استانداردهای تشخیصی میکروب شناسی انجام گرفت^۱. سپس سویه های جداسازی شده در محیط های کشت TSA در دمای ۴ درجه سانتی گراد و نیز TSB گلیسرین دار در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد تا زمان انجام آزمایش نگهداری شد^۱.

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 هموزن با سوآب استریل آن را به محیط کشت مولر هیتون آگار انتقال داده و به روش کشت چمنی بر روی محیط، کشت شد. بعد از کشت، دیسک های آنتی بیوتیک بر روی محیط کشت انتقال داده شد. بعد از قرار گرفتن دیسک ها، پلیت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری و بعد از ۲۴-۱۸ ساعت زیر نور چراغ بررسی شد. قطر هاله عدم رشد با خط کش اندازه گیری شد و با توجه به جدول همراه دیسک ها، گزارش تست آنتی بیوگرام را برای هر یک از آنتی بیوتیک ها 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 باکتری های گرم منفی شرکت (GTP) پیشگامان انتقال ژن به شماره LOT:808288 استفاده شد. از ژن خانگی sRNA ۱۶ 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 *bla* و *Int* 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 ۱۰ پیکومول بود، رسانده شد. در جدول ۱ و ۲ توالی پرایمر و طول قطعه تکثیری آورده شده است. پرایمر الیگونوکلئوتیدی اساسی ترین عامل موثر بر راندمان و اختصاصی

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 ۱ M - ۰/۱ پرایمر

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

نام ژن	توالی اولیگونوکلئوتیدی (۵'→۳')	طول قطعه (bp)
Int1	F=5'-CAGTGGACATAAGCCTGTTC-3' R=5'-CCCGAGGCATAGACTGTA-3'	۱۶۰
Int2	F=5'-CACGGATATGCGACAAAAAGGT-3' R=5'-GTAGCAAACGAGTGACGAAATG-3'	۷۸۸
Int3	F=5'-GCCTCCGGCAGCGACTTTCAG-3' R=5'-ACGGATCTGCCAAACCTGAC-3'	۹۷۹

جدول ۲: 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 سلسیوس)	زمان (ثانیه)	تعداد سیکل
واسرشت اولیه	۹۵	۳۰۰	۱
واسرشت	۹۵	۲۰	-
اتصال	۵۶	۴۵	-
بازآرایی (گسترش)	۷۲	۳۰	۳۴
بازآرایی نهایی	۷۲	۳۰۰	-

جدول ۴: برنامه تنظیم درجه حرارت و زمان برای انجام شناسایی ژن های اینتگرون

مرحله	دما (درجه سلسیوس)	زمان (ثانیه)	تعداد سیکل
واسرشت اولیه	۹۵	۱۸۰	۱
واسرشت	۹۵	۶۰	-
اتصال	۵۴	۶۰	-
بازآرایی (گسترش)	۷۲	۶۰	۳۴
بازآرایی نهایی	۷۲	۳۰۰	-

برنامه زمانی و واکنش Multiplex-PCR

واکنش زنجیره ای پلیمرز PCR: مقادیر مواد اولیه PCR برای هر واکنش شامل ۱۰ میکرولیتر PCR Master Mix 2x (Amplicon)، ۱ میکرولیتر از هرکدام یک از پرایمرها با غلظت ۱۰ پیکومول بر میکرولیتر، ۴ میکرولیتر از DNA الگو (۱۵۰ نانوگرم) و آب مقطر ۴ 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 ۵۶ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ 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 ۳ و ۴).

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 ۵۸ درجه و تعداد ۴۰ سیکل انتخاب شد^{۱۵۱۴}. 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 اریترئول و مشاهده مستقیم آن تحت تأثیر تابش نور ماورای بنفش تشخیص داده می‌شود.

نتایج

تست‌های بیوشیمیایی جهت تایید سویه‌های جداسازی شده

آزمایش‌های بیوشیمیایی بر روی 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 بر روی محیط ستریمید آگار تولید پیگمان سبز مایل به آبی است که تمامی نمونه‌ها دارای این ویژگی زیر بوده‌اند (جدول ۸).

جدول ۶: محتویات PCR Master mix به ازای یک نمونه پرایمر ژن های اینتگرئون

Distilled Water	۴/۵ 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 کارباینمازها

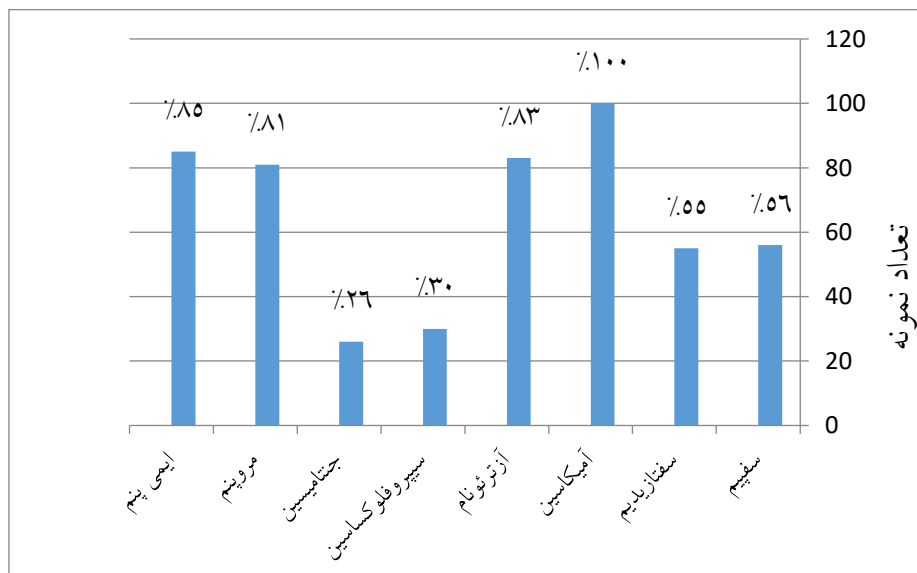
Distilled Water	۵/۵ µl
Master mix	۱۲/۵ µl
Forward each Primer	۲ µl
Reverse each Primer	۲ µl
DNA	۳ µl
Total volume	۲۵ µl

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 سترات	مثبت	اورنیتین دکربوکسیلاز	منفی
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 (%)	حساسیت متوسط (%)	میزان حساسیت (%)
	Resistance	Intermediate	Sensitive
جنتامیسین	۲۶ (۲۶)	۸ (۸)	۶۶ (۶۶)
سفپیم	۵۶ (۵۶)	۱۳ (۱۳)	۳۱ (۳۱)
سفتازیدیم	۵۵ (۵۵)	۱۶ (۱۶)	۲۹ (۲۹)
آمیکاسین	۱۰۰ (۱۰۰)	-	-
آزترئونام	۸۳ (۸۳)	۱۱ (۱۱)	۶ (۶)
سیپروفلوکساسین	۳۰ (۳۰)	۶ (۶)	۶۴ (۶۴)
مروپنم	۸۱ (۸۱)	۷ (۷)	۱۲ (۱۲)
ایمی پنم	۸۵ (۸۵)	۲ (۲)	۱۳ (۱۳)



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

بررسی مقاومت های آنتی بیوتیکی

به منظور بررسی مقاومت های آنتی بیوتیکی سویه ها، آنتی بیوگرام با روش دیسک دیفیوژن انجام شد و میزان حساسیت و مقاومت کلیه سویه ها به آنتی بیوتیک های مورد نظر مشخص گردید. نتایج در جدول ۹ قابل مشاهده است. بیشترین مقاومت آنتی بیوتیکی سویه ها نسبت به آنتی بیوتیک آمیکاسین به میزان ۱۰۰٪ و کمترین مقاومت آنتی بیوتیکی نسبت به آنتی بیوتیک جنتامیسین ۲۶٪ و بیشترین حساسیت آنتی بیوتیکی به میزان ۶۶٪ نسبت به جنتامیسین

گزارش شد (نمودار ۱).

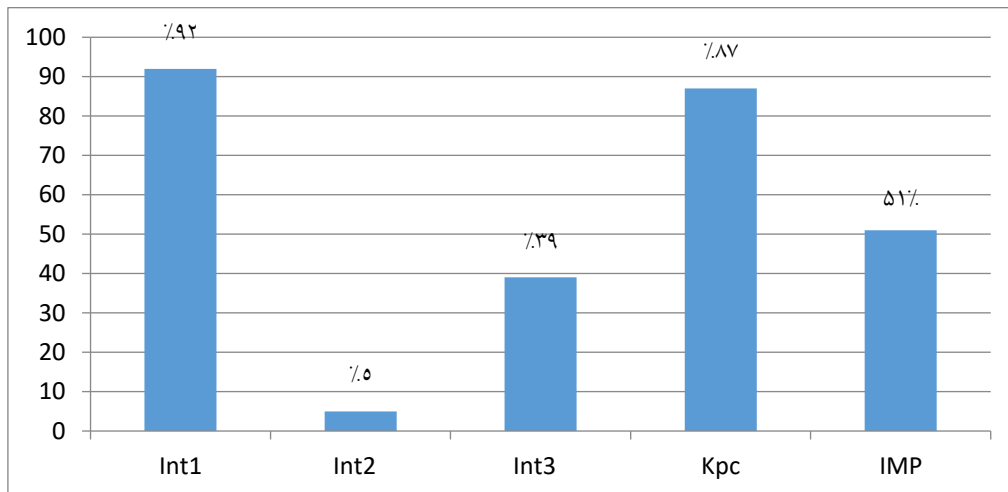
نتایج حاصل از آزمون مولکولی با استفاده از روش

Multiplex PCR

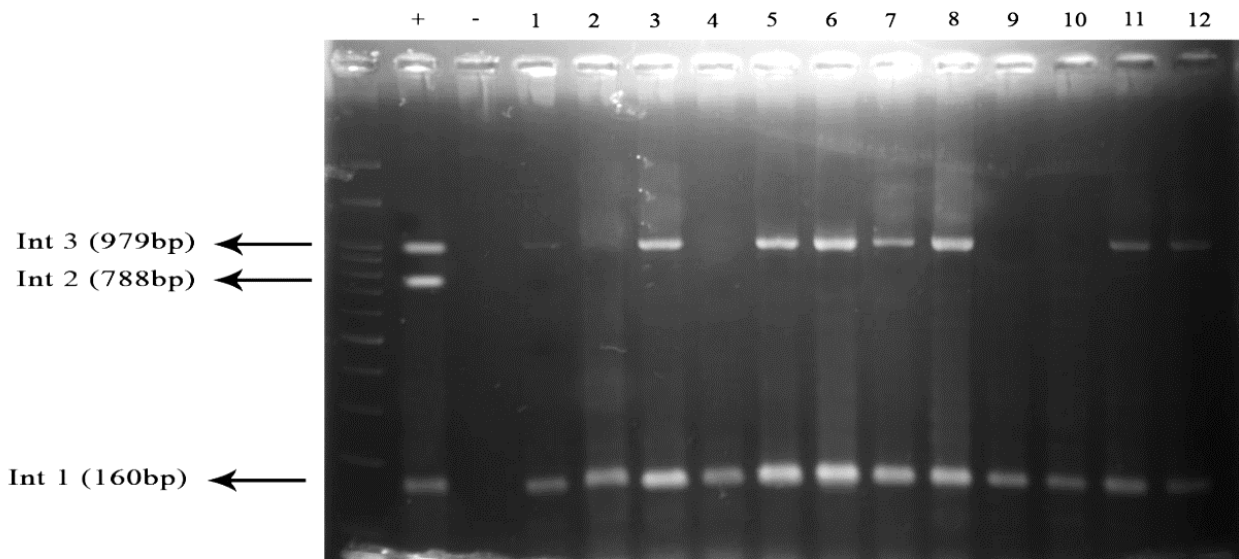
در این مطالعه ۵ جفت ژن Int₁, Int₂, Int₃, KPC, IMP مورد بررسی قرار گرفت. از مجموع ۱۰۰ نمونه بالینی که وجود باکتری سودوموناس آئروژینوزا در آنها به اثبات رسیده بود، میزان فراوانی ژنها مطابق جدول ۱۰ و نمودار ۲ ردیابی گردید.

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

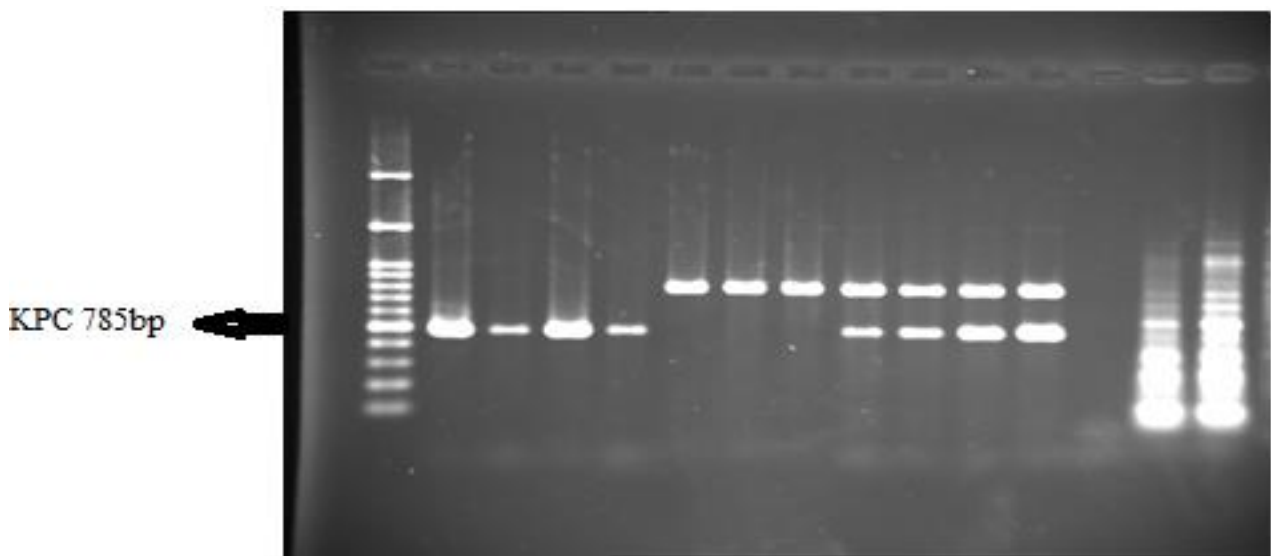
ژن	تعداد مورد مطالعه	درصد
Int ₁	۹۲	۹۲
Int ₂	۵	۵
Int ₃	۳۹	۳۹
KPC	۸۷	۸۷
IMP	۵۱	۵۱



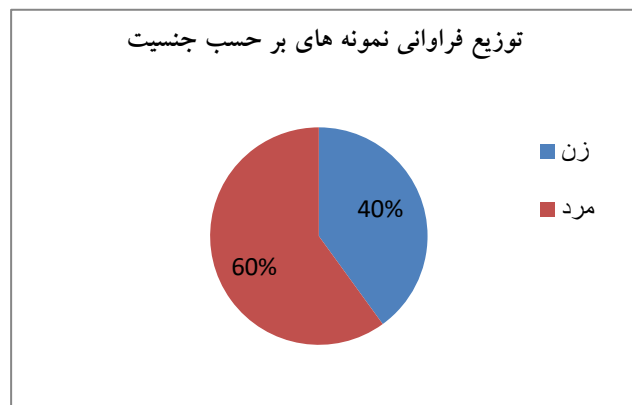
نمودار ۲: توزیع فراوانی ژن های مورد مطالعه (Int1 Int2 Int3 KPC IMP)



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



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

بحث و نتیجه گیری

مقاومت باکتری ها در برابر آنتی بیوتیک ها معمولاً بر اساس مکانیسم هایی نظیر تولید آنزیم های تخریب کننده دارو، تغییر نفوذپذیری باکتری نسبت به دارو، تغییر در گیرنده های دارو در سطح باکتری، تغییر در ساختار دیواره سلولی باکتری و دستیابی به مسیرهای متابولیکی فرعی که جبران کننده واکنش مهار شده توسط دارو صورت می گیرد. بروز مقاومت به صورت موتاسیون خود به خودی بر روی ژنهای کنترل کننده حساسیت باکتری و یا از طریق انتقال پلاسمید می باشد. یکی از مسائل مهم در درمان بیماری های عفونی، مقاومت باکتری های پاتوژن نسبت به آنتی بیوتیک ها می باشد، که در آن چندین فاکتور از جمله نوع میکروارگانیسم عفونت زاء، 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 آنتی بیوتیک ها به دو صورت ذاتی و اکتسابی می باشد. در مقاومت ذاتی، سلول طبیعی و یا وحشی قادر به مهار آنتی بیوتیک ها بوده و منشاء کروموزومی دارد. در حالی که مقاومت اکتسابی در اثر قرار گرفتن جمعیت های حساس و طبیعی در معرض عوامل مختلف و تبدیل سویه های حساس به مقاوم ناشی می شود.^{۱۷}

پسودوموناس آئروژینوزا مهمترین عامل بیماریزای انسانی در جنس سودوموناس است. این باکتری از مهمترین عوامل بیماری و مرگ و میر در مبتلایان به فیبروز سیستیک، نئوپلاسمی و سوختگیهای شدید است. در دهه های 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 محیط ها و میزبان های مختلف، دارای نوع ژنوتیپی زیادی است که منجر به واکنش های فنوتیپی غیر معمول می شود. شجاع پور و همکاران در سال ۱۳۸۷ سودوموناس آئروژینوزا را به عنوان عامل عفونت اصلی بیمارستانی گزارش نموده و تشخیص های صحیح آزمایشگاهی را برای جلوگیری از شکست درمان ناشی از انتخاب داروی نامناسب بسیار مهم توصیف می نمایند.^{۱۹}

محزونی و همکاران در سال ۲۰۱۴ با پژوهش پیرامون وجود ژن های مقاومت به مواد ضد عفونی کننده چهارتایی آمونیوم در بین سویه های سودوموناس آئروژینوزا و اسپیتوباکتر بومانی جدا شده از بیماران سوختگی، به این نتیجه رسیدند که میزان بروز ژنهای مقاومت به این نوع ترکیبات ضد عفونی کننده در حال گسترش بوده که خود می تواند زنگ خطری برای اشاعه سویه های مقاوم باشد.^{۲۰} در مطالعه حاضر نیز مشخص گردید که از مجموع نمونه ها ۶۰٪ متعلق به مردان می باشد 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 بیماران که نمونه ها 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 جتتامایسین، ۲۱/۵٪ مقاوم به آمیکاسین، ۱۵/۷٪

به ایمی پنم بودند. در این تحقیق ۸۱٪ از سویه‌ها مقاومت نسبت به مروپنم را نشان دادند.^{۲۹}

بروز مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها در اکثر موارد به علت استفاده بی‌رویه و خودسرانه آنتی‌بیوتیک‌ها، بدون انجام آزمون‌های آنتی‌بیوگرام و شناسایی عامل پاتوژن صورت می‌گیرد. این امر منجر به پیدایش موارد زیادی از مقاومت‌های دارویی می‌شود که این خود سبب عدم موفقیت در درمان و پیدایش بسیاری از عوارض علی‌رغم صرف هزینه‌های زیاد درمانی می‌شود. مقاومت‌های دارویی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها در مناطق مختلف ایران و جهان به دلیل تغییرات ژنتیکی در سویه‌های ایجادکننده و تفاوت در میزان مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها و وجود اختلاف در میزان دسترسی به آنتی‌بیوتیک‌های 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 در محیط حاوی آنتی‌بیوتیک، در ایجاد مقاومت بسیار سریع اتفاق می‌افتد.^{۳۰}

این‌تگرون مکانیسمی است که برای انتقال ژن‌های مقاومتی علی‌رغم کونژوگاسیون، ترانسداکسیون، فاژ، پلاسمید و ترانسپوزون معرفی گردید. این‌تگرون‌ها عناصر ژنتیکی متحرک (Mobile Genetic Elements-MGE) هستند که با جایگیری در پلاسمیدها، کروموزوم‌ها و ترانسپوزون‌ها، ژن‌های مقاومتی موجود در کاست ژنی را حمل می‌کنند. این عناصر براساس تفاوت در ژن اینتگرز، به کلاس‌های مختلفی تقسیم می‌شوند که شامل *Dnt1*، *Dnt2* و *Int4* می‌باشند.

این‌تگرون‌های کلاس I رایج‌ترین نوع این‌تگرون‌های یافت شده در جدایه‌های بالینی سودوموناس آئروژینوزا می‌باشند. در تحقیق بینگ ۲۰۰۶ میزان شیوع این‌تگرون‌های کلاس I، 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

مقاوم به سپیروفلوکساسین و ۹/۸٪ مقاوم به سفنازیدیم بودند.^{۳۱} 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 آنتی‌بیوتیک بسیار بالا بوده است. به نظر می‌رسد این تفاوت می‌تواند به دلیل تفاوت در منبع سویه‌ها باشد.^{۳۲}

میزان مقاومت سودوموناس آئروژینوزا به آنتی‌بیوتیک سپیروفلوکساسین در مطالعات فاضلی و همکاران به ترتیب ۹۸/۷٪، ۴۲٪، ۴۱٪ و ۴۰/۶٪ بود.^{۳۳} مقایسه نتایج تحقیق حاضر (۳۰٪ مقاومت) با تحقیق‌های دیگر نشان داد که مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جدایه‌های سودوموناس آئروژینوزا نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها کمتر بوده و هنوز کارایی لازم را جهت درمان بیماران مبتلا به این باکتری دارا می‌باشد. سفنازیدیم آنتی‌بیوتیک 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٪)،^{۳۴} شیرانی و همکاران (۷۸/۹٪)،^{۳۵} خسروی و همکاران (۸۱٪).^{۳۶} نشان می‌دهد نمونه‌های سودوموناس آئروژینوزا در این تحقیق کمترین میزان مقاومت به سفنازیدیم 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 ایمی پنم و مروپنم مقاوم بودند. بررسی‌ها نشان می‌دهد، میزان مقاومت نسبت به ایمی پنم نیز در چند سال اخیر به دلیل انتشار و انتقال ژنهای کدکننده متالوبتالاکتاماز در حال افزایش است. در سال ۲۰۰۴ لوزارو و همکاران نشان دادند که ۱۵٪ سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا مقاوم به ایمی پنم بودند.^{۳۷} 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 و همکاران در سال ۲۰۱۰ در تحقیقی که در بیمارستانی در برزیل انجام گرفت مشاهده کردند که ۱۰۰٪ بیماران مقاوم به ایمی پنم بودند.^{۳۸} در تحقیق سال ۹۲ دوستی و همکاران ۵۵/۱٪ از بیماران مقاوم

نتیجه گیری

در نتیجه تنوع ژنتیکی زیادی بین سویه های سودوموناس آئروژینوزای جدا شده از نمونه های بالینی وجود داشته و منشا گرفتن این سویه ها از یک کلون واحد یا کلون های محدود بسیار محتمل نمی باشد ولی وجود کلون هایی که در یک کلاستر قرار می گیرند احتمالاً از یک منبع مشترک باعث آلودگی و بیماریزایی شده است. دلایل تفاوت مشاهده شده در این مطالعه با سایر مطالعات می تواند بدلیل این باشد که ایزوله های بالینی از نمونه های مختلفی جدا شده است. از دلایل دیگر می توان از جنبه اپیدمیولوژیکی اشاره نمود که مربوط به شرایط آب و هوایی، میزبانان مستعد مختلف، استرین های ایجاد کننده و نوع نمونه برداری می شود.

در مقایسه نتایج نشان می دهد که فراوانی ژن های مقاومت رو به افزایش بوده و اگر این روند ادامه پیدا کند ممکن است مقاومت به همه آنتی بیوتیک های 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 میکروارگانیسم های بیماریزا خواهد شد. استفاده از روش های ملکولی در تسریع تشخیص عوامل پاتوژن بیماریزا بخصوص در نمونه های ادراری می تواند دقت تشخیص در نوع باکتری و متعاقباً نوع آنتی بیوتیک های تجویز شده را افزایش دهد.

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

اکثر سویه های دارای مقاومت چندگانه (MDR) دارای اینتگرون کلاس ۱ هستند (IntI) که بر روی پلاسمید یا ترانسپوزون مستقر بوده و بنابراین توان انتشار بالایی را دارد. اینتگرون ها به عنوان عناصر متحرک ژنتیکی موجب انتقال شاخص های مقاومت ضد میکروبی در میزان بالا شده و از اهمیت زیادی در ایجاد مقاومت چندگانه آنتی بیوتیکی به خصوص در باکتریهای گرم منفی برخوردار هستند. انتقال افقی ژن های مقاومت آنتی بیوتیکی از طریق اینتگرون ها باعث افزایش مقاومت سویه های سودوموناس آئروژینوزا نسبت به ترکیبات ضد میکروبی شده است. در سالهای اخیر ظهور سویه های مقاوم به چند دارو (MDR) بویژه بر علیه آنتی بیوتیک های رایج، نگرانی های فراوانی را در جوامع پزشکی به دلیل شکست درمانی و هزینه های 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.

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. Emergence 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):

- 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.

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 Albort Knowledge Foundation Company, Albort, 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 aeruginosa* 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