Original Article

Relationship between antimicrobial resistance and class I integron in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from clinical specimens in Yazd during 2012-2013

Zarei-Yazdeli M[1], Eslami G[2], Zandi H[1*], Mousavi SM[1], Kosha H[3], Akhavan F[1], Kiani M[1]

1- Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Shahid-Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, I. R. Iran.
2- Department of Parasitology and Mycology, Faculty of Medicine, Shahid-Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, I. R. Iran.
3- Laboratory Expert, Shahid-Beheshti Hospital, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.

Received July 3, 2013; Accepted November 24, 2013

Abstract:

Background: Antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* has been increasing in recent years. The aim of this study was to investigate the relationship between antimicrobial resistance and class I integron in *P. aeruginosa* isolated from clinical specimens in Yazd city.

Materials and Methods: This cross-sectional study was carried out on 144 *P. aeruginosa* strains from April 2012 to April 2013. All clinical samples were initially identified by the biochemical method and the antibiotic resistance test was performed using the disc diffusion method according to CLSI recommendations. PCR was carried out for the detection of class I integron.

Results: Seventy-nine (54.9%) out of 144 patients were male with mean age of 34.9+22.7 years. Resistance rates to various antibiotics were as follows: gentamicin (63.2%), imipenem (62.5%), amikacin (58.3%), ceftazidime (56.9%), ticarcillin (55.6%), tobramycin (55.6%), piperacillin (54.9%) and ciprofloxacin (48.6%) and 75.3% of the isolates were detected as multi-drug resistant. PCR results showed that 119 (82.6%) *P. aeruginosa* isolates carried class I integron.

Conclusion: Class I integrons are commonly found in *P. aeruginosa* isolated from the clinical samples. Therefore, the transfer of antibiotic resistance genes is often related to these integrons and the contribution of integrons in antibiotic resistance should be evaluated.

Keywords: *P. aeruginosa*, Antimicrobial resistance, Class I integron

* **Corresponding Author.**
Email: hengameh_zandi@yahoo.com
Tel: 0098 912 308 8324
Fax: 0098 351 820 3414

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences April, 2014; Vol. 18, No 1, Pages 60-67

Please cite this article as: Zarei-Yazdeli M, Eslami G, Zandi H, Mousavi SM, Kosha H, Akhavan F, et al. Relationship between antimicrobial resistance and class I integron in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from clinical specimens in Yazd during 2012-2013. ***Feyz*** 2014; 18(1): 60-7.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-12-18]

بررسی ارتباط بین مقاومت آنتی‌بیوتیکی و اینتگرون کلاس یک در *پسودوموناس آئروژینوزا* جدا شده از نمونه‌های بالینی شهر یزد طی سال‌های ۱۳۹۱ تا ۱۳۹۲

محدثه زارعی یزدلی[۱]، گیلدا اسلامی[۲]، هنگامه زندی[۳*]، سید مرتضی موسوی[۱]، حسن کوشا[۴]، فاطمه اخوان[۱]، معصومه کیانی[۱]

خلاصه:

سابقه و هدف: مقاومت آنتی‌بیوتیکی در *پسودوموناس آئروژینوزا* در سال‌های اخیر رو به افزایش است. هدف اصلی این تحقیق بررسی ارتباط بین مقاومت آنتی بیوتیکی و اینتگرون کلاس یک در *پسودوموناس آئروژینوزا* جدا شده از نمونه‌های بالینی شهر یزد می‌باشد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه مقطعی از اردیبهشت ۱۳۹۱ تا فروردین ۱۳۹۲ روی ۱٤٤ سویه *پسودوموناس آئروژینوزا* انجام گردید. در ابتدا تمام نمونه‌ها به‌روش بیوشیمیایی شناسایی شده و سپس مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها به‌روش دیسک دیفیوژن مطابق با CLSI صورت گرفت. با انجام PCR حضور ژن اینتگراز بررسی گردید.

نتایج: در این مطالعه از ۱٤٤ بیمار مورد مطالعه ٥٤/۹ درصد مرد بودند. میانگین سنی بیماران ۲۲/۷±۳٤/۹ سال بود. میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف بدین ترتیب بود: جنتامایسین ٦۳/۲ درصد، ایمی‌پنم ٦۲/٥ درصد، آمیکاسین۵۸/۳ درصد، سفتازیدیم ٥٦/۹ درصد، تیکارسیلین ٥٥/٦ درصد، توبرامایسین ٥٥/٦ درصد، پیپراسیلین ٥٤/۹ درصد، سیپروفلوکساسین ٤۸/٦ درصد و ۷٥/۳ درصد مقاوم به چند دارو بودند. نتایج PCR نشان داد که ۱۱۹ ایزوله (۸۲/٦ درصد) حامل ژن اینتگرون کلاس یک بودند.

نتیجه‌گیری: در مجموع می‌توان گفت که اینتگرون کلاس یک به‌طور گسترده در *پسودوموناس آئروژینوزا*های جدا شده از نمونه‌های بالینی دیده می‌شود. لذا، می‌تواند باعث انتقال ژن‌های مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف گردد و بررسی آنتی‌بوتیک‌هایی که مقاومت آنها با اینتگرون انجام می‌گیرد ضروری است.

واژگان کلیدی: *پسودوموناس آئروژینوزا*، مقاومت دارویی، اینتگرون کلاس یک

دو ماه‌نامه علمی– پژوهشی فیض، دوره هجدهم، شماره ۱، فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۳، صفحات ٦۷-٦۰

مقدمه

پسودوموناس آئروژینوزا یک باکتری گرم منفی، اکسیداز مثبت، غیر تخمیر کننده و هوازی می‌باشد [۱] که بر روی پوست مرطوب و روده افراد سالم، مایعات و سطوح مختلف به‌ویژه سطوح مرطوب و حتی محلول‌های ضد عفونی کننده وجود دارد [۲]. *پسودوموناس آئروژینوزا* باکتری فرصت طلبی است که در سال‌های اخیر به‌عنوان یکی از مهمترین پاتوژن‌های بیمارستانی شناسایی شده است [۳].

این باکتری مسئول ۱۱ تا ۲۳ درصد از عفونت‌های بیمارستانی می‌باشد؛ به‌ویژه در بیماران مبتلا به سیستیک فیبروزیس، اشخاص دچار سوختگی یا دارای نقص سیستم ایمنی و افرادی که از تجهیزات تنفسی استفاده می‌کنند [٤]. استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان عفونت‌های باکتریایی باعث ایجاد سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک شده است و متاسفانه خطر انتقال ژن‌های مقاومت از سویه‌های مزبور به باکتری‌های حساس رو به ازدیاد می‌باشد [٥]. عناصر متحرکی مانند پلاسمیدها، ترانسپوزون‌ها و اینتگرون‌ها از موثرترین عناصر ژنتیکی هستند که در اکتساب و پخش عوامل مقاومت در باکتری‌های گرم منفی نقش دارند و در این بین مطالعات مختلف نشان می‌دهند که مقاومت چند دارویی در این باکتری‌ها به‌صورت قابل ملاحظه‌ای در ارتباط با وجود اینتگرون‌ها و کاست‌های ژنی می‌باشند [٦]. اینتگرون‌ها مجموعه‌ای ژنتیکی هستند که قادرند، عناصر ژنتیکی متحرک موسوم به بسته ژنی (Gene cassette) را در خود ادغام کرده و آن را جا به‌جا کند [۷]. در نواحی ´۳ و ´٥ اینتگرون، دو توالی نوکلئوتیدی محافظت شده وجود دارد. اجزاء ضروری ناحیه ´٥ تمام اینتگرون‌ها به‌قرار زیر است: ۱-ژن اینتگراز (*intI*) که جایگاه اختصاصی برای آنزیم ریکامبیناز می‌باشد. ۲- توالی (*attI*) یک مکان نوترکیب

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شهید صدوقی یزد

[۲] استادیار، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شهید صدوقی یزد

[۳] استادیار، گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شهید صدوقی یزد

[۴] کارشناس آزمایشگاه، بخش میکروب شناسی، بیمارستان شهید بهشتی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

*** نشانی نویسنده مسئول:**

یزد، دانشگاه شهید صدوقی یزد، دانشکده پزشکی، گروه میکروب شناسی

تلفن: ۰۹۱۲ ۳۰۸۸۳۲۴ **دورنویس:** ۰۳۵۱ ۸۲۰۳۴۱۴

پست الکترونیک: hengameh_zandi@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۲/۴/۱۲ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۹۲/۹/۳

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-12-18]

اختصاصی می‌باشد و در مجاورت ژن *intI* قرار گرفته است. توالی مزبور توسط اینتگراز نیز شناسایی می‌شود و هم‌چنین به‌عنوان یک گیرنده برای کاست ژنی به‌کار می‌رود. ۳- توالی پروموتور که برای بیان ژن‌های موجود در کاست ژنی که در اینتگرون ادغام شده است، لازم می‌باشد [۸،۷]. کاست ژنی در ناحیه بین ´۳ و ´۵ اینتگرون ادغام می‌شود. این کاست‌ها، عناصر ژنی متحرکی هستند که شامل یک یا چند ژن مقاومت به آنتی بیوتیک‌ها می‌باشند، و دارای یک توالی (*attc*) می‌باشند که مکان نوترکیبی اختصاصی اینتگراز است و به‌عنوان عناصر ۵۹ بازی نیز شناخته می‌شوند. اگر کاست ژنی در اینتگرون ادغام شود، در این حالت به‌طور قراردادی قسمتی از اینتگرون محسوب خواهد شد [۹]. این اینتگرون‌ها می‌توانند در توالی‌های ادغامی (IS)، پلاسمید قابل کونژوگاسیون، ترانسپوزون‌ها و یا در کروموزوم قرار گیرند و همگی به‌عنوان یک وسیله انتقال ماده ژنتیکی بین گونه‌ای، می‌توانند به‌کار روند [۱۰]. با توجه به اینکه ژن‌های اینتگرون از شیوع مختلفی در سرتاسر جهان برخوردار هستند -برای مثال در مطالعه انجام شده توسط یوسفی و همکاران در شهر تبریز ۵۶/۳ درصد [۱۱] و مطالعه انجام شده در منطقه آمازون برزیل ۴۱/۵ درصد [۱۲] برآورد گردید. لذا، این تحقیق جهت بررسی ارتباط بین مقاومت آنتی بیوتیکی و وجود اینتگرون کلاس I در بین سویه‌های مختلف *پسودوموناس آئروژینوزا*، جدا شده از نمونه‌های بالینی شهر یزد انجام گردید.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه توصیفی- تحلیلی که به‌صورت مقطعی از اردیبهشت ۱۳۹۱ تا فروردین ۱۳۹۲ انجام شد، تعداد ۱۴۴ ایزوله *پسودوموناس آئروژینوزا* از نمونه‌های خون، زخم، ادرار، ترشح ریه و زخم سوختگی بیماران بستری در چهار بیمارستان وابسته به دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد پس از تکمیل پرسشنامه جمع‌آوری و به آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشکده پزشکی انتقال داده شد. نمونه‌ها با استفاده از رنگ آمیزی گرم، آزمایشات مختلف بیوشیمیایی مانند کاتالاز، اکسیداز، اکسیداسیون و فرمانتاسیون قندها، تولید اندول، تخمیر گلوکز و لاکتوز، دکربوکسیلاسیون لایزین و اورنیتین، حرکت، تولید پیگمان و رشد در ۴۲ درجه سانتی‌گراد تعیین هویت مجدد گردید. تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی به‌روش دیسک دیفیوژن (کربی-بائر) بر اساس استانداردهای CLSI [۱۳] انجام شد. ابتدا از کشت ۲۴ ساعته سویه‌ها، سوسپانسیون باکتریایی با کدورت معادل لوله نیم مک فارلند تهیه شده و بر روی پلیت حاوی محیط کشت جامد مولر- هینتون (شرکت Merck آلمان) تلقیح گردید. پس از پخش کردن کامل سوسپانسیون میکروبی بر روی محیط مزبور دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی (شرکت پادتن طب ایران) مورد استفاده شامل: توبرامایسین (۱۰ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، آمیکاسین (۳۰ میکروگرم)، ایمی‌پنم (۱۰ میکروگرم)، پیپراسیلین (۱۰۰ میکروگرم)، تیکارسیلین (۷۵ میکروگرم)، سفتازیدیم (۳۰ میکروگرم) و سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم) به فاصله حداقل ۲ سانتی‌متر از یکدیگر قرار داده شد و پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷˚C قطر هاله عدم رشد اطراف هر دیسک اندازه‌گیری شده و نتایج آن ثبت گردید. جهت کنترل کیفی از سویه استاندارد *P.aeruginosa ATCC27853* استفاده گردید. جهت جداسازی DNA ژنومی، از روش salting out [۱۴] استفاده گردید؛ بدین صورت که پس از کشت شبانه باکتری‌ها در ۳۷ درجه سانتی‌گراد، نمونه‌ها سه بار با PBS استریل شستشو داده شدند. سپس، جهت تهیه سوپ سلولی از 450µlNET buffer NET (Tris base 50 m M , EDTA 10m M , NACL 50 m M) و (SDS 10% (50µl استفاده گردید. جهت تخلیص از نمک اشباع (۵ نرمال) و جهت رسوب‌دهی از اتانل مطلق استفاده شد. در نهایت پس از شستشوی DNA با الکل ۷۰ درصد، رسوب آب زده شد. جهت بررسی‌های کمی و کیفی DNA استخراج شده به‌ترتیب از روش‌های اسپکتروفتومتری و الکتروفورز ژل آگارز ۰/۸ درصد استفاده شد. جهت ادامه مطالعات نمونه‌ها در فریز ۲۰- نگه‌داری شدند. بعد از استخراج توالی نواحی *intI1* از GenBank پرایمرهای اختصاصی توسط نرم افزار primer3 طراحی گردید.

جدول شماره ۱- توالی پرایمرهای مورد استفاده در تکثیر ژن *intI1* [۱۵]

پرایمر	توالی نوکلئوتیدی پرایمر	درجه حرارت اتصال	اندازه باند
intI1-F	5-GGTGTGGCGGGCTTCGTG-3	50^0c	480bp
intI1-R	5-GCATCCTCGGTTTTCTGG-3		

تکثیر ژن *intI1*

تکثیر ژن با روش Standard PCR انجام شد. جهت انجام تکثیر از دستگاه ترموسایکلر (Applied biosystems ساخت آمریکا) استفاده شد. واکنش تکثیر با استفاده از ۱۸ میکرولیتر مستر میکس (ampliqon 180301) ۲ میکرولیتر پرایمر (10pmol) و ۲ میکرولیتر DNA (100ng) انجام گردید. پرایمرهای مورد استفاده برای هر یک از ژن‌ها و طول قطعه تکثیر شده در جدول ۱ نشان داده شده است. برنامه‌های مورد استفاده جهت تکثیر قطعات مورد نظر نیز در همان جدول آورده شده است. در نهایت محصول PCR با استفاده از الکتروفورز آگارز روی ژل ۱ درصد و در

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-12-18]

کنار مارکر DNA Ladder 100bp مورد بررسی قرار گرفت. جهت تایید و تعیین توالی باندهای با اندازه bp٤٨٠ دو عدد از نمونه‌های مثبت به شرکت پیشگام فرستاده شد. داده‌های جمع‌آوری شده وارد نرم افزاری SPSS ویرایش ۱۷ شدند و توسط آزمون‌های آمار توصیفی و مجذور کای مورد تجزیه و تحلیل قرارگرفتند. سطح معنی‌دار آزمون ۰/۰۵ جهت تفسیر داده‌ها مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج

در این مطالعه از ١٤٤ بیمار مورد مطالعه ۷۹ نفر (٥٤/٩ درصد) مذکر و ٦٥ نفر (٤٥/١ درصد) مونث بودند. حداقل سن بیماران یک ماه و حداکثر سن ۷۹ سال بود. میانگین سنی بیماران ۲۲/۷±۳٤/۹ سال بود. بخش سوختگی با ٤٧/٢ درصد و بخش اعصاب با ٤/٩ درصد به‌ترتیب دارای بالاترین و پایین‌ترین میزان جداسازی *پسودوموناس آئروژینوزا* بودند. فراوانی سویه‌های *پسودوموناس آئروژینوزا جدا شده* بر حسب نوع نمونه بدین شرح بود: زخم سوختگی ٤٣/٨ درصد، ادرار ٢٣/٦ درصد، تراشه ١٣/٩ درصد، زخم ٦/٩ درصد، خون ٦/٣ درصد، کاتتر ٢/٨ درصد، خلط ١/٤ درصد و سپتوم ١/٤ درصد. بیشترین میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به جنتامایسین (٦٣/٢ درصد) و کمترین میزان مقاومت نسبت به سیپروفلوکساسین (٤٨/٦ درصد) دیده شد (جدول شماره ۲).

جدول شماره ۲- حساسیت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های *پسودوموناس آئروژینوزای* جدا شده از نمونه‌های بالینی

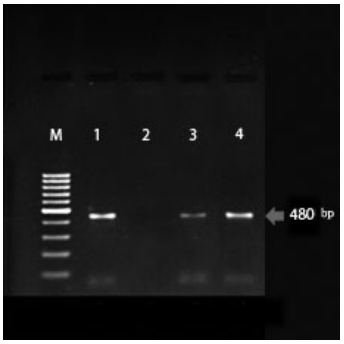
آنتی‌بیوتیک مورد بررسی	حساس	نیمه حساس	مقاوم
	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)
توبرامایسین	(٤٤/٤)٦٤	٠	(٥٥/٦)٨٠
جنتامایسین	(٣٦/٨)٥٣	٠	(٦٣/٢)٩١
آمیکاسین	(٣٩/٦)٥٧	(٢/١)٣	(٥٨/٣)٨٤
ایمی‌پنم	(٣١/٣)٤٥	(٦/٣)٩	(٦٢/٥)٩٠
پیپراسیلین	(٤٣/١)٦٢	(٢/١)٣	(٥٤/٩)٧٩
تیکارسیلین	(٤٣/٨)٦٣	(٠/٧)١	(٥٥/٦)٨٠
سفتازیدیم	(٤١)٥٩	(٢.١)٣	(٥٦/٩)٨٢
سیپروفلوکساسین	(٤٣/٨)٦٣	(٧/٦)١١	(٤٨/٦)٧٠

کلیه ١٤٤ نمونه باکتری پس از استخراج DNA و انجام PCR به‌منظور تشخیص حضور یا عدم حضور ژن اینتگراز با روش الکتروفورز بر روی ژل آگارز کنترل شدند. از ١٤٤ نمونه، ١١٩ ایزوله (٨٢/٦ درصد) دارای ژن اینتگراز بودند و ٢٥ ایزوله (١٧/٤ درصد) فاقد ژن مذکور بودند. این ژن، محصولی به اندازه bp٤٨٠ (شکل شماره ۱) تولید می‌کند. از نظر آماری رابطه معنی‌داری بین حضور اینتگرون کلاس یک و مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک جنتامایسین وجود داشت (جدول شماره ۳). نتایج حاصل از تعیین توالی مشابه با سکانس ژن *intI1* موجود در پایگاه داده NCBI بود. ژن مورد نظر در GenBank با شماره BankIt1632820 seq1KF146819 ثبت گردید.

جدول شماره ۳- ارتباط میان وجود اینتگرون و مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سویه‌های *پسودوموناس آئروژینوزا*

آنتی بیوتیک	کل مقاومت (درصد)	اینتگرون منفی	اینتگرون مثبت	*P*	OR	دامنه اطمینان ۹۵ درصد	
	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد(درصد)			Lower	Upper
جنتامایسین	(٦٣/٢)٩١	(٢٣/١)٢١	(٧٩/٩)٧٠	<٠/٠١٢	٠/٢٧٢	٠/٠٨٨	٠/٨٤٢
آمیکاسین	(٥٨/٣)٨٤	(١٩)١٦	(٨١)٦٨	٠/١٤	٠/٥٣٨	٠/٢٠٨	١/٣٨٢
سفتازیدیم	(٥٦/٩)٨٢	(١٩/٥)١٦	(٨٠/٥)٦٦	٠/٣٧٣	٠/٧٧٦	٠/٣١٧	١/٨٩٨
پیپراسیلین	(٥٤/٩)٧٩	(١٧/٧)١٤	(٨٢/٣)٦٥	٠/٥٤٤	١/٠٤٨	٠/٤٣٩	٢/٤٩٨
ایمی‌پنم	(٦٢/٥)٩٠	(٢٣/٣)٢١	(٧٦/٧)٦٩	٠/٠٧٠	٠/٣٦٢	٠/١١٧	١/١٢٦
تیکارسیلین	(٥٥/٦)٨٠	(١٨/٨)١٥	(٨١/٣)٦٥	٠/٦٧٨	٠/٨٣٠	٠/٣٤٥	١/٩٩٨
سیپروفلوکساسین	(٤٨/٦)٧٠	(١٧/١)١٢	(٨٢/٩)٥٨	٠/١٤	٠/٥٤٨	٠/٢١٩	١/٣٦٦
توبراماسین	(٥٥/٦)٨٠	(١٥)١٢	(٨٥)٦٨	٠/٢٦٨	١/٤٤٤	٠/٦٠٨	٣/٤٢٩

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-12-18]



شکل شماره ۱- نتایج PCR ژن *intI1*، لاین M مارکر با قدرت تفکیک 100bp، لاین۱ کنترل مثبت، لاین ۲ کنترل منفی و لاین ۳ و ٤ نتیجه PCR نمونه مثبت ٤٨٠ bp.

بحث

با توجه به اینکه ژن‌های مقاومت آنتی بیوتیکی می‌تواند توسط اینتگرون‌ها گسترش یابد، لذا اغلب باعث ایجاد مقاومت چند دارویی گردیده و در درمان عفونت‌های *پسودوموناس آئروژینوزا* مشکلات عدیده‌ای را ایجاد می‌نماید [١٦]. بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند که *پسودوموناس آئروژینوزا*، به‌ویژه سویه-های مقاوم به چند دارو (MDR) در بیمارستان‌های ایران شیوع بسیار بالایی دارد [١٨،١٧]. یافته‌های این مطالعه نشان داد که ٤٠ سویه (٢٧/٧ درصد) جدا شده به تمام آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده مقاوم بودند. بر اساس بررسی انجام شده توسط کهن طب و همکاران در سال ٢٠٠٧ در شهر شیراز [١٩] و نیکوکار و همکاران در سال ٢٠١٣ در گیلان [٢٠] مشخص شد که ٢٦/٧ درصد و ١٩/٧ درصد از *پسودوموناس آئروژینوزا* جدا شده مقاوم به تمام آنتی بیوتیک‌های ضد پسودوموناسی بودند. در این مطالعه تعداد سویه‌هایی که به تمام آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده مقاوم بودند بیش از سایر مطالعات می‌باشد که این امر می‌تواند بدین دلیل باشد که ٤٣/٨ درصد سویه‌های مطالعه ما از زخم سوختگی جدا شده بودند. در اکثر مطالعات انجام شده مقاومت به حداقل سه دارو از انواع گروه‌های آنتی‌بیوتیکی به‌عنوان مقاومت چند گانه دارویی در نظر گرفته می‌شود [٢١]. در مطالعه حاضر ١٠٨ ایزوله (٧٥ درصد) به حداقل ٣ یا بیشتر از ٣ نوع آنتی‌بیوتیک مختلف مقاوم بودند. *پسودوموناس آئروژینوزای* مقاوم به چند دارو به‌علت استفاده فراوان از آنتی‌بیوتیک‌های وسیع الطیف در بیماران به‌وفور دیده می‌شود. در آمریکا طی دوره ١٠ ساله میزان پسودوموناس با مقاومت چندگانه از ٤ درصد در سال ١٩٩٣ تا ١٤ درصد در سال ٢٠٠٢ افزایش نشان می‌دهد [٢٢]. در سال ٢٠٠٤ در آمریکا در ایزوله‌های *پسودوموناس آئروژینوزا* جدا شده از بخش مراقبت‌های ویژه درصد پسودوموناس با مقاومت چندگانه ٢٩/٥ درصد گزارش شده است [٢٣] و در ایران در مطالعه‌ای که توسط نیکوکار و همکاران [٢٠] انجام شد میزان *پسودوموناس آئروژینوزای* با مقاومت چند گانه ٤٢/٣ درصد گزارش گردید. با توجه به اینکه تقریبا نیمی از نمونه‌های مطالعه حاضر از بخش سوختگی و ١٨/٨ درصد از نمونه‌ها از بخش ICU اخذ گردیده، لذا بالا بودن میزان مقاومت چندگانه در مطالعه حاضر توجیه پذیر است. در این مطالعه درصد مقاومت به آنتی‌بیوتیک ایمی‌پنم، ٦٢/٥ درصد گزارش شد، در حالی‌که میزان مقاومت گزارش شده برای ایمی‌پنم در سال ٢٠٠٥ در ترکیه ٣٠/٨ درصد [٢٤]، در سال ٢٠١٠ در برزیل ٣٤/٥ درصد [٢٥] و در سال ٢٠٠٨ در فرانسه ٦/٦ درصد [٢٦] بوده است و در ایران در مطالعه‌ای که در اصفهان انجام گردید ١٤/٢٨ درصد و در مطالعه‌ای که در سال ٢٠٠٨ در تهران انجام گردید ١٦ درصد برآورد شده است [٢٨،٢٧]. با توجه به اینکه اغلب نمونه‌های این مطالعه از بخش سوختگی اخذ شده و به‌طور معمول بعد از پذیرش بیماران در این بخش، جهت پیشگیری از عفونت‌ها از ایمی‌پنم و ونکومایسین استفاده می‌گردد، لذا متاسفانه مقاومت نسبت به ایمی‌پنم بیش از مطالعات دیگر است. در این مطالعه درصد مقاومت به سیپروفلوکساسین ٤٨/٦ درصد برآورد گردید. میزان مقاومت در مطالعه‌ای که در سال ٢٠٠٨ در فرانسه انجام گردید ٣٢/٣ درصد [٢٦] و در مطالعه‌ای که در سال ٢٠٠٧ در نیجریه انجام گردید ٥٩/٨ درصد [٢٩] بوده است. در ایران، در مطالعه انجام گرفته توسط کیان پور و همکاران ٤٢/٨ درصد [٢٧] و در مطالعه‌ای که در سال ٢٠١٠ در اصفهان انجام گردید ٤١/٨ درصد می‌باشد [٣٠] که با مطالعات دیگر مطابقت دارد. درصد مقاومت به سفتازیدیم در این مطالعه ٥٦/٩ درصد برآورد گردید. مقاومت گزارش شده نسبت به این آنتی بیوتیک در فرانسه ١٧/٣ درصد [٢٦] و در مطالعه‌ای که در سال ٢٠٠١ در ترکیه انجام گردید ٢٦ درصد [٣١] و در مطالعات انجام گرفته در ایران به‌ترتیب ٥٣/٧ درصد [٢٧]، ٧٤/٨ درصد [٢٨] و ٩٥ درصد [١٩] می‌باشد. همان‌طور که ملاحظه می‌گردد مقاومت نسبت به سفتازیدیم در مطالعه حاضر و سایر مطالعات انجام شده در ایران بسیار بالاتر از نتایج دیگر کشورها است که می‌تواند به‌دلیل استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها در ایران باشد. میزان مقاومت به آمیکاسین در این مطالعه ٥٨/٣ درصد برآورده گردید، اما مقاومت گزارش شده در سال ٢٠٠٨ در فرانسه ١٥/٥ درصد [٢٦]، در سال ٢٠٠٧ در نیجریه ٢١/٦ درصد [٢٩] و مطالعه انجام شده در سال ٢٠٠٨ در کشور کره ٢٢ درصد [٣٢] و در ایران در مطالعات مختلف ٥٧/١ درصد [٢٧]، ٣٥/١ درصد [٢٨] و ٦٣/٣ درصد می-باشد [١٩]. مقاومت بالا نسبت به این آنتی‌بیوتیک می‌تواند ناشی از

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-12-18]

عدم کنترل بر مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها در ایران باشد. در این مطالعه درصد مقاومت به توبرامایسین ٥٥/٦ برآورد گردید. میزان مقاومت به توبرامایسین در فرانسه ١٥/٩ درصد [٢٦] و درمطالعه انجام شده در سال ٢٠١٣ در تایلند ٩٦ درصد [٣٣] گزارش شده است؛ اما میزان مقاومت گزارش شده نسبت به توبرامایسین در ایران توسط کهن طب وهمکاران ٦٥ درصد [١٩] و در مطالعه انجام شده توسط بوجاری و همکاران در سال ٢٠١٢ در تهران ٨٢ درصد [٣٤] می‌باشد. در این مطالعه درصد مقاومت به جنتامایسین ٦٣/٢ برآورد گردید. میزان مقاومت گزارش شده نسبت به جنتامایسین در سال ٢٠٠٨ در فرانسه ٥٥/٨ درصد [٢٦] و در سال ٢٠١٣ در تایلند ٩٥ درصد [٣٣] و در ایران در مطالعات انجام شده ٦٨/٣ و ٢٥/٥ درصد [٣٥،١٩] می‌باشد. به‌طور کلی مقاومت نسبت به آمینوگلیکوزیدها در کشورهای در حال توسعه بیش از کشورهای پیشرفته می‌باشد که می‌توان به‌دلیل استفاده غیر منطقی و بعضا بدون نسخه از این آنتی‌بیوتیک‌ها باشد. در این مطالعه درصد مقاومت به تیکارسیلین و پیپراسیلین به‌ترتیب ٥٥/٦ و ٥٤/٩ برآورد گردید. درصد مقاومت گزارش شده در فرانسه ٣٨/١ و ٢٤/٨ می‌باشد [٢٦]. امروزه نسبت به این دو آنتی‌بیوتیک ضد پسودوموناسی مقاومت روز افزون مشاهده می‌گردد که باعث گردیده در بسیاری از موارد جهت درمان بیماران بستری بد حال مورد استفاده قرار نگیرند و کارباپنم‌ها جایگزین این داروها گردند. در این مطالعه ٨٢/٦ درصد سویه‌های *پسودوموناس آئروژینوزا* دارای اینتگرون کلاس یک بودند. در مطالعه‌ای که توسط یوسفی و همکاران در سال ٢٠١٠ [١١] انجام گردید شیوع این ژن ٥٦/٣ درصد گزارش شده است. در مطالعه دیگری که توسط نیکوکار و همکاران [٢٠] در گیلان بر روی سویه‌های جدا شده از بیماران مبتلا به سوختگی انجام گردید شیوع این ژن ٤٣ درصد گزارش شده است. در مطالعه‌ای که توسط رجب نیا و همکاران [٣٦] در بابل بر روی *پسودوموناس آئروژینوزای* جدا شده از مکان‌های مختلف و دستگاه‌های ICU در بابل انجام گردید شیوع اینتگرون کلاس یک ٣٩/٤ درصد برآورد شده است. در مطالعات دیگر که در برزیل [١٢] و چین [٣٨،٣٧] بر روی نمونه‌های مختلف بالینی انجام شد، به‌ترتیب ٤١/٥ و ٣٨ و ٤٠/٨ درصد از *پسودوموناس آئروژینوزا* جدا شده حامل ژن اینتگرون کلاس یک بودند که در مقایسه با کار ما شاهد افزایش شیوع ژن اینتگراز یک می‌باشیم که می‌تواند ناشی از تفاوت مناطق جغرافیایی باشد. در مطالعه حاضر اینتگرون کلاس یک در سویه‌های MDR از شیوع بالاتری نسبت به سویه‌های غیر MDR برخوردار است که این امر مطابق با مطالعات مشابه [٣٧،١١] است. علاوه بر این، از نظر آماری رابطه معنی‌داری بین حضور اینتگرون کلاس یک و مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به جنتامایسین مشاهده گردید. از آنجایی‌که ژن‌های مقاومت نسبت به آمینوگلیکوزیدها به‌وسیله اینتگرون حمل می‌شوند، لذا این ارتباط منطقی به‌نظر می‌رسد.

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی نتایج مطالعه حاضر نشان داد که کلاس یک اینتگرون‌ها در بین سویه‌های پسودوموناس آئروژینوزا ایزوله شده از بیمارستان‌های یزد به‌طور وسیعی منتشر می‌باشند و وجود این اینتگرون‌ها نقش مهمی در اکتساب مقاومت به چند دارو در این سویه‌ها دارند. با توجه به شیوع بسیار بالای ژن اینتگراز یک در این تحقیق و تاثیر آن در افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی *پسودوموناس آئروژینوزا* لزوم تشخیص موارد مثبت و تعیین دقیق الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی این ایزوله توصیه می‌شود. در این مطالعه صرف نظر از اینکه ژن‌های مقاومت در اینتگرون‌ها وجود دارند یا خیر، ارتباط قوی میان وجود اینتگرون‌ها و افزایش مقاومت به بسیاری از گروه‌های آنتی بیوتیکی مشاهده شد و این می‌تواند نگران کننده باشد؛ چراکه این ساختارها می‌توانند باعث جابجائی ژن‌های دخیل در مقاومت بین سویه‌ها شده و آنها به آنتی‌بیوتیک‌های جدید مقاوم شوند. بنابراین جهت جلوگیری از گسترش کلون‌های اینتگرون مثبت باید مکان‌های احتمالی آلوده به *پسودوموناس آئروژینوزا* شناسایی شده و با مواد ضد عفونی‌کننده مناسب تمیز شوند و نیز جهت جلوگیری از پیدایش سویه‌های *پسودوموناس آئروژینوزای* مقاوم به چند دارو می توان به اجتناب از تجویز بی‌مورد آنتی‌بیوتیک‌ها، تجویز کوتاه مدت آنتی‌بیوتیک‌های وریدی برای پیشگیری از عفونت در بیماران پرخطر و نیز استفادهٔ محافظه کارانه از وسائل و تجهیزات پزشکی اشاره کرد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه قسمتی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد میکروب شناسی بوده و با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد انجام گردیده است. بدین‌وسیله از معاونت پژوهشی و کارکنان آزمایشگاه بیمارستان شهید صدوقی یزد جهت همکاری در انجام این تحقیق نهایت سپاسگزاری را داریم و نیز از کلیه افرادی که ما را در انجام این مطالعه یاری کردند، از جمله اساتید محترم گروه میکروب شناسی تشکر می‌نمائیم.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-12-18]

References:

[1] Goldberg JB. Pseudomonas: global bacteria. ***Trends Microbiol*** 2000; 8(2): 55-7.

[2] Hsueh PR, Teng LJ, Yang PC, Chen YC, Ho SW, Luh KT. Persistence of a multidrug resistant Pseudomonas aeruginosa clone in an intensive care burn unite. ***J Clin Microbiol*** 1998; 36 (5): 1347-51.

[3] Jaffe RI, Lane JD, Bates CW. Real-time identification of *Pseudomonas aeruginosa* direct from clinical samples using a rapid extraction method and polymerase chain reaction (PCR*)*. ***J Clin Lab Anal*** 2001; 15(3): 131-7.

[4] Wendelboe AM, Baumbach J, Blossom DB, Frank P, Srinivasan A, Sewell CM. Outbreak of cystoscopy related infections with Pseudomonas aeruginosa: New Mexico, 2007**.** ***J Urol*** 2008; 180(2):588-92

[5] Arora D, Jindal N, Kumar R, Romit. Emerging antibiotic resistance in *Pseudomonas*a challenge. ***Int J Pharm Pharm Sci*** 2011; 3(2): 82-4.

[6] Cambray G, Guerout AM, Mazel D. Integrons. ***Annu Rev Genet*** 2010; 44: 141-66.

[7] Hall RM, Collis CM. Mobile gene cassettes and integrons: apture and spread of genes by site-specific recombination. ***Mol Microbiol*** 1995; 15(4): 93-600.

[8] Collis CM, Kim MJ, Stokes HW, Hall RM. Binding of the purified integron DNA integrase IntI1 to integron- and cassette- associated recombination sites. ***Mol Microbiol*** 1998; 29(2): 477-90.

[9] Gravel A, Messier N, Roy P. Point mutations in the Integron Integrase IntI1 That Affect Recombination and/or Substrate Recognition. ***J Bacteriol*** 1998; 180(20): 5437-42.

[10] Carattoli A. Importance of integrons in the diffusion of resistance. ***Vet Res*** 2001; 32(3-4): 243-59.

[11] Yousefi S, Nahaei M, Farajnia S, Ghojazadeh M, Akhi M, Sharifi Y, et al. Class 1 integron and Imipenem Resistance in Clinical Isolates of *Pseudomonas aeruginosa*: Prevalence and Anti-biotic Susceptibility**.** ***Iran J Microbiol*** 2010; 2(3): 115-21.

[12] Fonseca EL, Vieira VV, Cipriano R, Vicente AC. Class 1 integrons in Pseudomonas aeruginosa isolates from clinical settings in Amazon region, Brazil. ***FEMS Immunol Med Microbiol*** 2005; 44: 303-9.

[13] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial suscep-tibility testing; twenty first informational supple-ment. CLSI document M100-S21. *CLSI* 2011 Wayne, PA.

[14] Sambrook J, Russell D. Molecular cloning: a laboratory manual. 3rd ed. New York: Cold Spring Harbor Press; 2001.

[15] Ohara M, Kouda S, Ondera M, Fujiue Y, Sasaki M, Kohara T, et al. Molecular chara-cterization of imipenem-resistant Pseudomonas aeruginosa in Hiroshima, Japan. ***Microbiol Immunol*** 2007; 51(3): 271-7.

[16] Sekiguchi J, Asagi T, Miyoshi-Akiyama T, Kasai A, Mizuguchi Y, Araake M, et al. Outbreaks of multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa in community hospitals in Japan. ***J Clin Microbiol*** 2007; 45(3): 979–89.

[17] Japoni A, Farshad S, Alborzi1 A. Pseudomonas aeruginosa: Burn infection, treatment and antibacterial resistance. ***Iran Red Crescent Med J*** 2009; 11(3): 244-53.

[18] Nikbin VS, Abdi-Ali A, Feizabadi MM, Gharavi S. Pulsed field gel electrophoresis & plasmid profile of Pseudomonas aeruginosa at two hospitals in Tehran, Iran. ***Indian J Med Res*** 2007; 126(2): 146-51.

[19] Kohanteb J, Dayaghi M, Motazedian M, Ghayumi MA. Comparison of biotyping and antibiotyping of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from patients with burn wound infection and nosocomial pneumonia in Shiraz, Iran. ***Pak J Biol Sci*** 2007; 10(11): 1817-22**.**

[20] Nikokar I, Tishayar A, Flakiyan Z, Alijani K, Rehana-banisaeed S, Hossinpour M, et al. Antibiotic resistance and frequency of class 1 integrons among Pseudomonas aeruginosa, isolated from burn patients in Guilan, Iran. ***Iran J Microbiol*** 2013; 5(1): 36-41.

[21] Romão CM, Faria YN, Pereira LR, Asensi MD. Susceptibility of clinical isolates of multi-resistant P.aeruginosa a hospital disinfectant and molecular typing. ***Mem Inst Oswaldo Cruz*** 2005; 100(5): 541-8.

[22] Flamm RK, Weaver MK, Thornsberry C, Jones ME, Karlowsky JA, Sahm DF. Factors associated with relative rates of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolates tested in clinical laboratories in the United States from 1999 to 2002. ***Antimicrob Agents Chemother*** 2004; 48(7): 2431-6.

[23] Nordmann P, Guibert M. Extended spectrum Betalactamases in *Pseudomonas aerugionsa*. ***J Antimicrob Chemother***1998*:* 42(2): 128-31.

[24] Altoparlak U, Aktas F, Celebi D, Ozkurt Z, Akcay MN. Prevalence of metallo-[beta]- lactamase among Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii isolated from burn wounds and in vitro activities of antibiotic combinations against these isolates. ***Burns*** 2005; 31(6): 707-10.

[25] Franco MR, 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.

[26] Dubois V, Arpin C, Dupart V, Scavelli A, Coulange L, Andre C, et al. blactam and aminoglycoside resistance rates and mechanisms

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-12-18]

among Pseudomonas aeruginosa in French general practice (community and private healthcare centres). ***J Antimicrob Chemother*** 2008; 62(2): 316-23.
[27] Kianpour F, Havaei SA, Hosseini MM. Evaluation of Pseudomonas aeroginosa isolated from cutaneous infections and determination of drug resistance pattern in patients of Alzahra hospital in Esfahan. ***J Isfahan Med Sch*** 2010; 28(110): 503-9. [in Persian]
[28] Salimi H, Yakhchali B, Owlia P, Rastegar Lari A. Molecular epidemiology and drug susceptibility of pseudomonas aeruginosa strains isolated from burn patients. ***Lab medicine*** 2010; 41: 540-4.
[29] Aibinu I, Nwanneka T, Odugbemi T. Occurrence of ESBL and MBL in clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa From Lagos, Nigeria. ***J Am Sci*** 2007; 3(4): 81-5.
[30] Fazeli H, Fatahi Bafghi M, Faghri M, Akbari R. Molecular Study of PER and VEB Genes is Multidrug Resistant Pseudomonas aeroginosa Isolated From Clinical Specimens in Isfahan/Iran and their Antibiotic Resistance Patterns. ***J Kerman Univ Med Sci*** 2012; 19(4): 345-53. [in Persian]
[31] Karakoc B, Gerceker AA. In-vitro activities of various antibiotics, alone and in combination with amikacin against Pseudomonas aeruginosa. ***Int J Antimicrob Agents*** 2001; 18(6): 567-70.
[32] Kim JY, Park YJ, Kwon HJ, Han K, Kang MW, Woo GJ. Occurrence and mechanisms of amikacin resistance and its association with b-lactamases in Pseudomonas aeruginosa: a Korean nationwide study. ***J Antimicrob Chemother*** 2008; 62(3): 479-83.
[33] Poonsuk K, Tribuddharat C, Chuanchuen R. Aminoglycoside resistance mechanisms in Pseudomonas aeruginosa isolates from non-cystic fibrosis patients in Thailand. ***Can J Microbiol*** 2013; 59(1): 51-6.
[34] Bojary Nasrabadi MR, Hajia M. Multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa strains in Tehran Reference Burn Hospital, Tehran, Iran. ***Afr J Microbiol Res*** 2012; 6(7): 1393-6.
[35] Imani Foolad AA, Rostami Z, Shapouri R. Antimicrobial resistance and ESBL prevalence in Pseudomonas aeruginosa strains isolated from clinical specimen by phenotypic and genotypic methods. ***J Ardabil Univ Med Sci*** 2010; 10(3): 189-98. [in Persian]
[36] Rajabnia R, Asgharpour F, Ferdosi Shahandashti F, Khalilian M, Norkhomami S, Shafii M, Moulana Z. Class 1 Integron in Pseudomonas aeruginosa Isolates From Different Places and Devices of ICU in Babol, Iran. ***Jondishapour J Microbiol*** 2013; 6(2): 138-43. [in Persian]
[37] Chen J, Su Z, Liu Y, Wang S, Dai X, Li Y, et al. Identification and characterization of class 1 integrons among *Pseudomonas aeruginosa* isolates from patients in Zhenjiang, China. ***Int J Infect Dis*** 2009; 13(6): 717-21.
[38] Gu B, Tong M, Zhao W, Liu G, Ning M, Pan S, et al. Prevalence and characterization of class 1 integrons among *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* isolates from patients in Nanjing, China. ***J Clin Microbiol*** 2007; 45(1): 241-3.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-12-18]