مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی - مولکولی
دوره هفتم، شماره بیست و هشتم - پائیز ۱۳۹۶

Research Article
مقاله تحقیقی

بررسی وجود ژن‌های oqxB و oqxA (پمپ oqxAB) درکلبسیلا پنومونیه جدا شده از عفونت‌های مجاری ادراری و تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها در شهر قم

ساغر شهبازی، محسن زرگر*، محمد سلیمانی درجاق

گروه میکروب شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم، قم، ایران

چکیده

سابقه و هدف: پمپ‌های افلاکس یکی از مکانیسم‌های مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها محسوب می‌شوند. هدف از این مطالعه بررسی وجود ژن‌های oqxB و oqxA در کلبسیلا پنومونیه و تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها می‌باشد.

مواد و روش‌ها: نمونه برداری از ۵۰۰ مراجعه کننده به آزمایشگاه‌های استان قم، جمع آوری شد. تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی طبق (CLSI 2014) انجام شد. وجود ژن‌های oqxB ، oqxA با روش PCR مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: تعداد ۱۰۰ باکتری کلبسیلا پنومونیه جدا گردید. تمام جدایه‌های کلبسیلا پنومونیه به سیپروفلوکساسین و آمیکاسین، حساس بودند. نتایج حاصل از PCR نشان داد که، ۴۶ ٪ از نمونه‌ها دارای ژن oqxA و ۵۲٪ دارای ژن oqxB بودند.

بحث: نتایج حاکی از آن است که باکتری کلبسیلا پنومونیه در سویه‌های جدا شده در بیمارستان‌های شهر قم از آمار قابل توجه‌ای بر خوردار می‌باشد. هم‌چنین، پمپ‌های افلاکس oqxAB از کمیت به‌نسبت بالایی برخوردار می‌باشد.

نتیجه‌گیری: مقابله با مقاومت آنتی‌بیوتیکی از جمله پمپ‌های افلاکس oqxAB، دارای اهمیت می‌باشد. این یافته‌ها بیانگر به‌کارگیری عوامل آنتی‌بیوتیکی جدید برای درمان عفونت‌های حاصل از این باکتری و ارگانیسم‌های مقاوم می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: کلبسیلاپنومونیه، عفونت ادراری، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، پمپ افلاکس.

مقدمه

کلبسیلا پنومونیه[1] شایع‌ترین گونه در بین سایر گونه‌های جنس کلبسیلا است که باسیل گرم منفی میله‌ای شکل، غیر متحرک دارای کپسول پلی ساکاریدی و تخمیرکننده لاکتوز و گلوکز است.

این باکتری یکی از موارد مهم عفونت‌های اکتسابی از جامعه و بیمارستان و جزو شایع‌ترین پاتوژن‌های بیمارستانی می‌باشد که میزان مرگ و میر ناشی از آن بالا می‌باشد (۹،۲۳).

این باکتری باعث انواع مختلفی از عفونت‌ها به‌ویژه در نوزادان موجب پنومونی، سپتی سمی، اسهال، عفونت‌های ادراری و باکتریمی می‌گردد (۱۲،۱۴،۱۷،۲۸). مطالعه‌های مختلف نشان می‌دهند که بسیاری از جدایه‌های کلبسیلا پنومونیه نسبت به اکثر آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم شده‌اند و این جدایه‌های مقاوم به چند دارو به سرعت در بین بیماران بستری در بیمارستان در حال گسترش می‌باشند که می‌تواند درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری را با مشکل مواجه کند. توانایی این باکتری برای دست‌یابی به مکانیسم‌های متفاوتی از مقاومت آنتی‌بیوتیکی و نیز مقاوم شدن بعضی از سویه‌ها به اغلب آنتی‌بیوتیک‌های رایج و هم‌چنین فقدان داروهای ضد میکروبی جدید و مؤثر از مهم‌ترین علل ایجاد کننده خطر توسط این باکتری می‌باشند (۱،۸).

نویسنده مسئول :
گروه میکروب شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم
پست الکترونیکی: zmohsen2002@yahoo.com
تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۲/۱۳
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۵/۱

[1] klebsiella pneumoniae

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-13]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1396.7.28.12.6]

افزایش ظهور مقاومت چند دارویی در بین ایزوله‌های بیمارستانی کلبسیلا پنومونیه، گزینه‌های درمانی برای درمان عفونت‌های ایجاد شده به‌وسیله این باکتری را محدود کرده است (۵،۱۰). اغلب جدایه‌های کلبسیلا پنومونیه مقاوم به چندین دارو می‌باشند. در این میان پمپ‌های تراوشی برون ریز، با پمپ کردن آنتی‌بیوتیک‌ها به بیرون از سلول، باعث کاهش غلظت آنتی‌بیوتیک‌ها در فضای پری پلاسمی باکتری‌های گرم منفی می‌شود و هم‌چنین با ممانعت از تجمع داخل سلولی آن‌ها، از حد آستانه مورد نیاز برای فعالیت و تأثیر گذاری داروها جلوگیری می‌کند. به این ترتیب پمپ‌های برون ریز نقش مهمی در ایجاد مقاومت دارویی در کلبسیلا پنومونیه ایفا می‌کنند. از مهم‌ترین پمپ‌های افلاکس که در ایجاد مقاومت در کلبسیلا پنومونیه نقش دارند، پمپ oqxAB می‌باشد (۱۳).

به‌طورکلی مقاومت دارویی کلبسیلا پنومونیه روز به روز افزوده می‌شود و بنابراین انجام تست‌های مقاومت دارویی، قبل از تجویز آنتی‌بیوتیک، ضروری به نظر می‌رسد (۳). یکی از اهداف این مطالعه تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی گونه‌های کلبسیلا پنومونیه از نمونه‌های بالینی بیماران است. هم‌چنین از آنجا که افزایش بیان سیستم‌های افلاکس نقش مهمی در مقاومت آنتی‌بیوتیکی دارد، هدف از این مطالعه بررسی حضور ژن‌های پمپ افلاکس oqxAB در ایجاد مقاومت کلبسیلا *پنومونیه* و تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه نمونه‌برداری از ۵۰۰ بیمار سرپایی مراجعه کننده به آزمایشگاه‌های استان قم در سال ۱۳۹۴ و ۱۳۹۵ صورت گرفت و نمونه‌های ادراری جمع آوری شد. نمونه‌های گرفته شده در ظروف استریل به آزمایشگاه منتقل گردید. در

بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی کلبسیلا پنومونیه‌های جدا شده

کلبسیلا پنومونیه‌های جدا شده را به‌منظور نیاز به باکتری‌های تازه کشت برای انجام تست‌های آنتی‌بیوگرام از محیط کشت-های ائوزین متیلن بلو به محیط BHI آگار انتقال و کشت داده شد. سوسپانسیون میکروبی با کدورت معادل نیم مک فارلند تهیه شد. برای تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی (آنتی بیوگرام) جدایه‌ها از روش انتشار دیسک کربی بایر، طبق دستورالعمل (CLSI2014) استفاده شد. دیسک‌های آنتی-بیوتیک [۲] به کار رفته در این مطالعه شامل: ایمی‌پنم (۱۰µg)، مروپنم (۱۰µg)، آزترونام (۳۰µg)، سفوتاکسیم (۳۰µg)، سفتازیدیم (۳۰µg)، تتراسیکلین (۳۰µg)، آمپی‌سیلین (۱۰µg)، سیپروفلوکساسین (۵µg)، جنتامایسین (۱۰µg)، آمیکاسین (۱۰µg)، نالیدیکسیک اسید (۳۰µg)، آموکسی-سیلین (۱۰µg)، سفالکسین (۳۰µg) بودند. با توجه به جدول استاندارد CLSI 2014 نتایج تست آنتی‌بیوگرام گزارش گردید (۲۴).

نهایت ۱۰۰ باکتری کلبسیلا پنومونیه شناسایی و جداسازی شد.

کشت، جداسازی و شناسایی کلبسیلا پنومونیه

پس از آموزش بیماران نسبت به نحوه نمونه‌گیری استاندارد که شامل ضدعفونی کردن بخش خروجی مجرای ادراری و شستشو و اخذ نمونه ادرار می‌باشد، نمونه‌های ادراری از بیماران جمع آوری شده و به روی محیط کشت ائوزین متیلن بلو آگار و بلاد آگار انجام شد. ملاحظه‌های دستورالعمل CLSI در نمونه‌برداری و کشت مورد استفاده قرار گرفت. گرماگذاری پلیت‌ها در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انجام شد. بعد از گرماگذاری، کلنی‌های مشکوک به کلبسیلا پنومونیه را انتخاب شدند و جهت بررسی‌های بیش‌تر مورد استفاده قرار گرفتند. در ابتدا از تمام نمونه‌های لام میکروسکوپی تهیه شد و با روش رنگ آمیزی گرم مورد بررسی قرار گرفت. بعد از رنگ آمیزی گرم روی کلنی‌های رشد یافته، تست‌های افتراقی شامل تست اکسیداز، کشت در محیط‌های VP، MR، SIM، TSI، سیمون سیترات، لایزین دکربوکسیلاز و اوره جهت شناسایی کلبسیلا پنومونیه انجام گردید. در نهایت به منظور تهیه کشت‌های ذخیره، از محیط کشت BHI براث دارای ۳۰ درصد گلیسرول استفاده شد و برای آزمایش‌های بعدی در فریزر ۲۰- درجه ذخیره گردید.

استخراج DNA

[2] MAST

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-13]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1396.7.28.12.6]

استخراج DNA با استفاده از کیت DNP صورت گرفت. سپس به‌منظور بررسی کیفی DNA ژنومیک استخراج شده، نمونه حاصل بر روی ژل آگاروز ۱درصد الکتروفورز گردید و در نهایت ژل به منظور بررسی اسید نوکلئیک در دستگاه ژل داک قرار داده شد و با طول موج ۲۶۰ نانومتر مورد بررسی قرار گرفت. هم‌چنین به‌منظور بررسی کمی DNA ژنومیک، از دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده شد. برای این منظور ابتدا DNA استخراج شده را به میزان ۱۰۰ برابر رقیق کرده و جذب نوری آن در طول موج ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد.

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR)

واکنش PCR برای تکثیر ژن‌های oqxA و برای تکثیر ژن oqxB، با استفاده از دو جفت پرایمر[3] انجام شد که قطعه‌ای با طول ۱۱۰۲ جفت باز برای ژن oqxA و قطعه‌ای با طول ۲۰۱ جفت باز برای ژن oqxB به دست آمد. توالی پرایمرهای پیشرو و معکوس به قرار زیر بوده است (جدول۱).

جدول ۱- مشخصه‌های پرایمرهای به کار رفته در واکنش PCR

Primer name	Primer sequence	TM	Size band
oqxXA-F	5′- ACATTCACCTGACCGCGC -3′	56°C	1102bp
oqxA-R	5′- GGCATACCCGGCATAAACAC -3′	56°C	
oqxB-F	5′- ATCGTCGAGTTTGCCCGC -3′	55°C	201bp
oqxB-R	5′- CAGCATCCCGGAGAACACC -3′	55°C	

واکنش PCR به همراه کنترل مثبت و کنترل منفی انجام گرفت. برای کنترل مثبت از نمونه DNA استخراج شده سویه استاندارد کلبسیلاپنومونیه (ATCC700603) استفاده شد. برای کنترل منفی واکنش از آب مقطر بدون DNA استفاده شد. واکنش PCR طبق شرایط دمایی (جدول ۲) انجام گرفت.

جدول۲- برنامه PCR

مرحله	سیکل	زمان	دما
Initial denaturation	۱	۳دقیقه	۹۵
Denaturation	۳۵	۳۰ثانیه	۹۵
Annealing		۳۰ثانیه۳۵	۵۶
Extention		۴۵ثانیه۳۵	۷۲
Final extention	۱	۵دقیقه	۷۲

[3]- CLC Sequence Viewer version 8 Gene Runne

انجام الکتروفورز برای ژن‌های oqxA و oqxB

پس از اتمام واکنش PCR جهت بررسی‌های کیفی، محصول واکنش PCR را بر روی ژل آگاروز ۱ درصد، الکتروفورز شد وسپس ژل با اتیدیوم بروماید رنگ گردید و پس از پایان الکتروفورز، ژل در دستگاه ژل داک قرار داده شد.

یافته‌ها

در این تحقیق نمونه‌برداری از ۵۰۰ بیمار سرپایی مراجعه کننده به آزمایشگاه‌های قم از تاریخ آبان ماه ۱۳۹۴ تا فروردین ۱۳۹۵صورت گرفت که در نهایت ۱۰۰ نمونه باکتری مربوط به کلبسیلا پنومونیه بودند.

نتایج تست‌های بیوشیمیایی و کشت

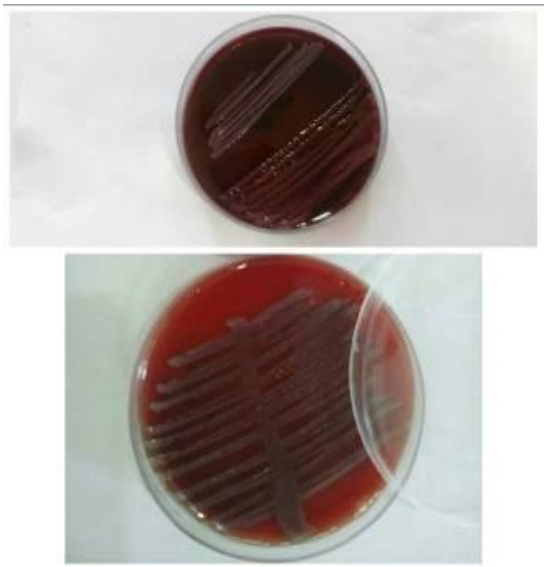
به‌منظور تعیین هویت باکتری‌های کلبسیلا پنومونیه بر اساس روش‌های استاندارد بیوشیمیایی افتراقی میکروب‌شناسی از جمله آزمون‌های اکسیداز، کشت بر روی محیط TSI، آزمون-های متیل رد یا MR و ووگس پروسکوئر یا VP، آزمون TSI، سیترات، اوره، لیزین دکربوکسیلاز صورت گرفت که در (جدول ۳) و (شکل ۱) نشان داده شده است.

جدول ۳- نتایج تست‌های افتراقی کلبسیلا پنومونیه

تست	کلبسیلا پنومونیه
MR	منفی
VP	مثبت
اوره	مثبت
اکسیداز	منفی
SIM	منفی
لیزین دکربوکسیلاز	مثبت
سیترات	مثبت

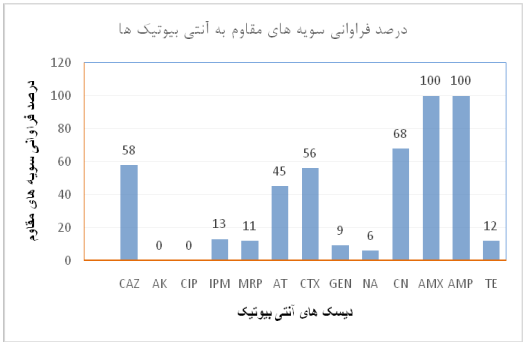
[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-13]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1396.7.28.12.6]



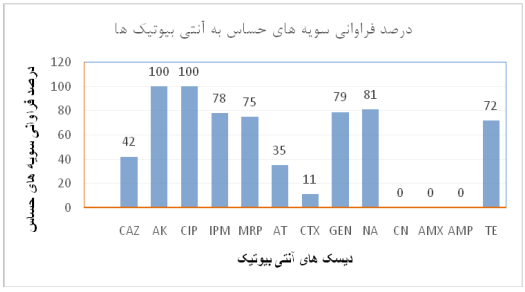
شکل ۱- رشد کلبسیلا پنومونیه در سطح محیط EMB و بلاد آگار

نتایج تست‌های مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها



نمودار ۱- درصد فراوانی سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها

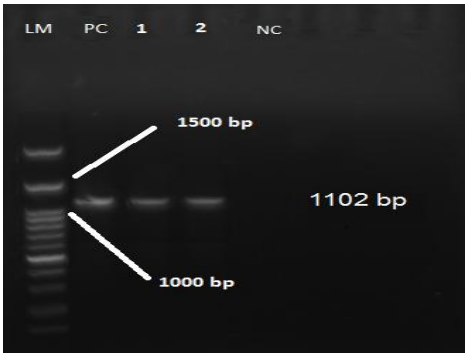
Ceftazidime (CAZ), Amikacin (Ak), Ciprofloxacin (CIP), Imipenem (IPM), Meropenem(MRP), Aztreonam(AT), Cefotaxime(CTX), Gentamicin(GEN),Nalidixic acid(NA),Cefalexin(CN), Amoxicilin(AMX), Ampicillin(AMP), Tetracycline(TE).



(نمودار ۲) درصد فراوانی سویه های حساس به آنتی بیوتیک ها

نتایج حاصل از بررسی ژن oqxA با روش PCR

جهت بررسی حضور ژن oqxA در جدایه‌های مورد بررسی، DNAهای تخلیص شده از جدایه‌ها به همراه پرایمرهای oqxA دروا‌کنش وارد گردید و نتایج مثبت به صورت باند واضحی به طول ۱۱۰۲ جفت باز در الکتروفورز مشاهده شد (شکل۲). ازبین ۱۰۰ جدایه، ۴۶ جدایه دارای ژن oqxA (۴۶٪) بودند که نتایج مربوط به آن در (نمودار شماره ۳) قابل مشاهده است.



شکل۲- الکتروفورز ژن oqxA: LM: سایزمارکر100 bp plus –

NC: کنترل منفی

PC: کنترل مثبت، شماره۱ و ۲ جدایه واجد ژن oqxA

نتایج حاصل از بررسی ژن oqxB با روش PCR

جهت بررسی حضور ژن oqxB در جدایه‌های مورد بررسی، DNAهای تخلیص شده از جدایه‌ها به همراه پرایمرهای oqxB دروا‌کنش وارد گردید و نتایج مثبت به صورت باند واضحی به طول ۲۰۱ جفت باز در الکتروفورز مشاهده شد (شکل ۳). از بین ۱۰۰ جدایه، ۵۲ جدایه دارای ژن oqxB (۵۲ ٪) بودند. که نتایج مربوط به آن در (نمودار شماره ۳) قابل مشاهده است.

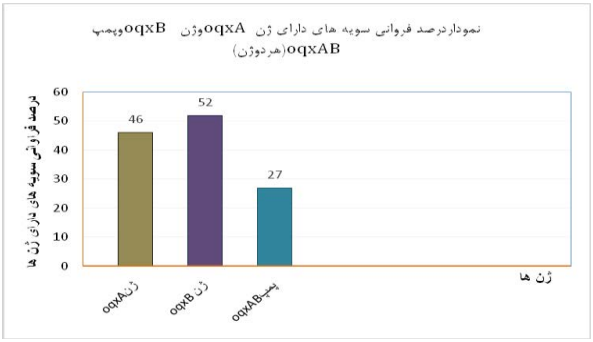
شکل۳- الکتروفورز ژن oqxB : LM : سایزمارکر 100 bp plus – شماره ۳

کنترل منفی

PC: کنترل مثبت، شماره۱ و ۲ جدایه واجد ژن oqxB

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-13]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1396.7.28.12.6]



نمودار ۳- درصد فراوانی سویه‌های دارای ژن oqxA و oqxB و پمپ oqxAB (هر دو ژن)

بحث

امروزه در تمام دنیا مقاومت میکروبی در بین باکتری‌ها به‌ویژه باسیل‌های گرم منفی یک مشکل رو به افزایش است، به‌خصوص در بخش‌های خاص از جمله بخش مراقبت‌های ویژه، به همین دلیل شناسایی الگوی مقاومت میکروب‌ها در هر بیمارستانی برای موفقیت پزشکان در درمان صحیح بیماران الزامی می‌باشد. از جمله باکتری‌های شایع عفونت‌های ادراری کلبسیلا پنومونیه می‌باشد. پمپ‌های افلاکس پمپ‌های خارج کننده آنتی‌بیوتیک هستند. این پمپ‌ها از طریق انتقال آنتی‌بیوتیک از داخل باکتری به محیط خارج از باکتری منجر به مقاومت باکتری به آنتی‌بیوتیک می‌شوند (۲۲،۲۵). از مهم‌ترین پمپ‌های افلاکس که در ایجاد مقاومت در کلبسیلا پنومونیه نقش دارد، پمپ oqxAB می‌باشد (۶،۲۱).

پمپ‌های ترشحی oqxAB ابتدا در درون پلاسمید Pola52 با وزن مولکولی ۵۲ کیلو دالتون در اشریشیاکلی جدا شده از خوک شناسایی شد که از دو ژن oqxA و oqxB تشکیل شده است. در ابتدا تصور می‌شد ژن‌های این افلاکس پمپ، تنها با جهش کروموزومی میانجی‌گری می‌شود تا زمانی که مقاومت به‌واسطه پلاسمید در سال ۱۹۹۸ شرح داده شد (۱۶،۱۸).

در تحقیقی که هاشمی و همکاران در سال ۱۳۹۳ به روی کلبسیلا پنومونیه انجام دادند، مقاومت جدایه‌ها به آزترونام (۵۶٪)، سفوتاکسیم(۵۷٪)، آمپی‌سیلین (۷۳٪)، سفتازیدیم (۵۴٪)، حساسیت جدایه‌ها به مروپنوم (۷۰٪)، جنتامایسین (۶۰٪)، آمیکاسین (۷۰٪)، ایمی پنم (۷۰٪) گزارش شد که در ایسن مطالعه مقاومت جدایه‌ها به آزترونام (۴۵٪)، سفوتاکسیم (۵۶٪)، آمپی‌سیلین (۱۰۰٪)، سفتازیدیم (۵۸٪) و حساسیت جدایه‌ها به مروپنوم (۷۵٪)، جنتامایسین (۸۱٪)، آمیکاسین (۱۰۰٪)، ایمی‌پنم (۷۴٪) نشان داده شد. در واقع نتایج هاشمی و همکاران با مطالعه حاضر مطابقت دارد (۴). در تحقیقی که شاهچراغی و همکاران در سال ۲۰۰۷ در شهر تهران انجام دادند، ایزوله های کلبسیلا پنومونیه به آنتی بیوتیک های سفتازیدیم (۳۱٪) و سفوتاکسی (۳۲٪) و جنتامایسین (۳۶٪) و آمیکاسین (۲۶٪) مقاوم بودند (۱۹).

هم‌چنین در مطالعه‌ای که شاهچراغی و همکاران در سال ۲۰۱۲ در شهر تهران انجام دادند، ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه (۶/۳ ٪) به مروپنم، (۱/۱٪) مقاوم به ایمی‌پنم بودند (۲۰).

مقایسه میزان مقاومت در مطالعه هاشمی و همکاران و شاهچراغی و همکاران، با مطالعه حاضر نشان می‌دهد که به مرور زمان به علت مقاوم شدن باکتری‌ها، میزان مقاومت در سال ۱۳۹۵ افزایش یافته است.

رستگار و همکاران در شهر تهران در سال ۲۰۱۳ از ۳۵ ایزوله کلبسیلا پنومونیه ۵۴/۲ ٪ ایزوله مقاوم به ایمی‌پنم بودند (۱۵). میزان مقاومت در ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه جدا شده در تحقیق رستگار و همکاران از مطالعه حاضر بیش‌تر بود که علت آن به‌احتمال به نوع نمونه مربوط می‌شود، چرا که نمونه‌های جدا شده از بیماران سوختگی مقاومت بیش‌تری از خود نشان داده‌اند. این افراد ایمنی ضعیف شده‌ای دارند و مدت زیادی در بیمارستان بستری و تحت درمان قرار می‌گیرند. باید توجه داشته که حساسیت سویه‌ها نسبت به ایمی‌پنم و مروپنم نباید پزشکان را در مصرف و تجویز بی‌رویه این دارو ترغیب نماید، چه بسا این گونه اقدام‌ها ممکن است باعث پیدایش و شیوع سوش‌های مقاوم به ایمی‌پنم و مروپنم هم‌چنان‌که در سال‌های اخیر نیز گزارش‌هایی مبنی بر پیدایش سوش‌های مقاوم سودوموناس و باکتری‌های دیگر در برابر ایمی‌پنم و مروپنم گزارش شده است.

سلطان دلال و همکاران در ۱۳۹۱، به روی تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی گونه‌های کلبسیلا جدا شده مطالعه‌های انجام دادند.

در مطالعه آن‌ها درصد مقاومت تمام گونه‌های کلبسیلا نسبت به، آموکسی‌سیلین (۹۷٪)، نالیدیکسیک اسید (۲٪)، تتراسایکلین (۲۸٪)، ایمی‌پنم و سفتازیدیم (۲٪) و آمیکاسین بدون مقاومت تعیین گردید. نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد آمیکاسین با کم‌ترین درصد مقاومت در مقابل تمام گونه‌های کلبسیلا، مؤثرترین آنتی‌بیوتیک بوده است که با مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد (۲).

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-13]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1396.7.28.12.6]

مولانا و همکاران در مطالعه‌ای در شهر بابل میزان مقاومت سویه‌های کلبسیلا پنومونیه جدا شده از نمونه‌های بالینی نسبت به آنتی‌بیوتیک سفوتاکسیم را (۹۰ ٪) و در مطالعه حاضر (۵۶ ٪) به‌دست آمد. میزان مقاومت بیماران مورد بررسی در این تحقیق نسبت به آنتی‌بیوتیک سفوتاکسیم نسبت به بیماران مورد بررسی توسط مولانا و همکاران پایین‌تر است (۱۱).

مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف براساس الگوهای درمانی که در مناطق مختلف صورت می‌گیرد متفاوت است. با مقایسه نتایج آنتی‌بیوگرام و بررسی درصد مقاومت به آنتی-بیوتیک‌ها در مناطق مختلف در می‌یابیم که در مورد برخی از آنتی‌بیوتیک‌ها نتایج متغیری را مشاهده می‌گردد. باید توجه داشت که تفاوت منطقه‌ای در نقاط مختلف دنیا یا حتی یک کشور، پاسخ‌های درمانی متفاوتی را نسبت به داروهای ضد میکروبی ایجاد می‌کند. منشأ این تفاوت‌ها در نقاط مختلف را می‌توان تفاوت‌های ژنتیکی افراد، تفاوت ژنتیکی سویه‌ها و تفاوت در زمینه‌های دیگری دانست که با توجه به این امر الگوهای درمانی مورد استفاده در نقاط مختلف، متفاوت و براساس ویژگی‌های خاص هر منطقه تعریف می‌شود (۷).

در تحقیقی که هاشمی و همکاران در ۱۳۹۳ بر روی سویه-های کلبسیلا پنومونیه انجام دادند، نتایج حاصل از PCR ژن-های oqxA و oqxB، شیوع هر دو ژن در ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه را (۵۰٪) نشان داد (۱۹). در مطالعه حاضر، (۴۶٪) دارای ژن oqxA، ۵۲ درصد دارای ژن oqxB بودند. نتایج حاضر با مطالعه‌های هاشمی و همکاران هم‌خوانی دارد.

در تحقیقی که جینیی یوآن و همکاران در سال ۲۰۱۲ در کشور چین با هدف بررسی ژن پمپ افلاکس oqxAB در نمونه های بالینی جدا شده از کلبسیلا پنومونیه توسط روش PCR انجام شد، تمام طول ژن oqxAB تعیین توالی شد. از ۱۵۴ نمونه کلبسیلا پنومونیه، (۶۶/۹٪) غیرحساس به سیپروفلوکساسین و (۵۰/۷ ٪) غیرحساس به لووفلوکساسین بودند. در مطالعه حاضر تمام سویه‌ها به سیپروفلوکساسین حساس بودند. در مطالعه یوآن، ژن‌های oqxA و oqxB در تمامی نمونه‌ها حضور داشتند. در نتیجه شناسایی ژنوم کلبسیلا پنومونیه به عنوان یک مخزن برای oqxAB بود (۲۶). هم-چنین در مطالعه حاضر (۷۱٪) از نمونه‌های کلبسیلا پنومونیه دارای ژن‌های oqxA و یا oqxB و یا هر دو ژن بودند، در واقع ۲۷٪ از نمونه‌ها دارای هر دو ژن oqxA و oqxB، ۴۶ ٪ دارای ژن oqxA و ۵۲٪ دارای ژن oqxB بودند.

حضور پمپ oqxAB در کشور کره جنوبی (۰/۴ ٪) ، در کشور سوئد (۱/۸ ٪) و در چین (۷۶٪) گزارش گردید (۱۷،۲۷). در مطالعه حاضر، ۷۱٪ از نمونه‌ها یا دارای ژن oqxA و یا ژن oqxB و یا هر دو ژن oqxB و oqxA (پمپ oqxAB) بودند که با فاصله بسیار کم فقط از کشور چین کم‌تر بود که در واقع ۲۷٪ از نمونه‌ها دارای هر دو ژن oqxA و oqxB، ۴۶ ٪ دارای ژن oqxA و ۵۲٪ دارای ژن oqxB بودند.

به‌طور کلی در مطالعه حاضر از ۱۰۰ سویه کلبسیلا پنومونیه جدا شده از عفونت‌های ادراری، بیش‌ترین میزان حساسیت (۱۰۰٪) مربوط به سیپروفلوکساسین و آمیکاسین بود و بیش-ترین میزان مقاومت (۱۰۰٪) مربوط به آمپی‌سیلین و آموکسی‌سیلین، بود. در این نتایج چندین مقاومت به طور ۱۰۰ درصدی دیده شد که نشان دهنده این می‌باشد که جدایه‌*های* کلبسیلا پنومونیه مورد استفاده در این تحقیق، مقاوم به چندین دارو یا MDR می‌باشند. هم‌چنین، پس از انجام آنتی-بیوگرام، به این نتیجه رسیده شد که هیچ یک از سویه‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های آمیکاسین و سیپروفلوکساسین مقاوم نبودند، لذا در مطالعه حاضر، سیپروفلوکساسین و آمیکاسین بهترین اثر را داشتند.

برای تأیید PCR از سویه کنترل مثبت دارای ژن‌های oqxAB استفاده شده است. هم‌چنین از کنترل منفی که فاقد ژن فوق می‌باشد، استفاده گردید. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که از بین ۱۰۰ جدایه کلبسیلا پنومونیه، ۴۶٪ دارای ژن oqxA، ۵۲ ٪دارای ژن oqxB و ۲۷٪ از نمونه‌ها دارای هردو ژن oqxA و oqxB، بودند.

در نتیجه به‌طور کلی احتمال می‌رود، پمپ افلاکس oqxAB در مقاومت برخی از سویه‌های کلبسیلا پنومونیه به‌کار رفته در این تحقیق، از جمله برخی از سفالوسپورین‌ها (سفالکسین و سفوتاکسیم)، بتالاکتام‌ها (مروپنم، ایمی‌پنم)، آمینوگلوکوزیدها (جنتامایسین) ممکن است که نقش داشته و در برخی دیگر از سویه‌ها، نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها احتمال می‌رود راه‌های دیگری منجر به مقاومت در آن‌ها شده است.

مطالعه حاضر، نگرشی مختصر به مقاومت دارویی بود در حالی‌که راه‌های مقابله با مقاومت آنتی‌بیوتیکی از جمله پمپ-های افلاکس oqxAB و سایر پمپ‌های افلاکس همواره پرسش‌هایی را در بر داشته است که در تحقیق‌های بعدی، می-توان به دنبال پاسخ آن‌ها گشت و یک راه قطعی برای درمان آن ارائه کرد.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-13]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1396.7.28.12.6]

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی بیان بیش از حد پمپ‌های افلاکس، موتاسیون جایگاه هدف منجر به افزایش شدید باکتری‌های مقاوم شده است که درمان را با مشکل مواجه کرده است. نیاز است در آینده برای طراحی آنتی‌بیوتیک‌های جدید و هم‌چنین به‌منظور به حداکثر رساندن اثر آنتی‌بیوتیک‌ها، اثر و حضور ژن‌های دیگر پمپ‌های افلاکس، حضور آنزیم‌های بتالاکتاماز، حضور مهارکننده‌های پمپ‌های افلاکس نیز مورد ارزیابی قرار گیرد.

سپاسگزاری

در پایان از مدیران و مسئولین و اساتید محترم دانشگاه آزاد اسلامی- واحد قم، به‌خصوص مدیریت گروه میکروبیولوژی و شرکت سامان ژن آراد کمال امتنان را دارم. این تحقیق برگرفته از پایان نامه دانشجویی می‌باشد.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-13]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1396.7.28.12.6]

منابع

۱. جلال پور.ش. الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های کلبسیلا پنومونیه مولد بتالاکتامازهای وسیع الطیف جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت های بیماری. مجله دانشکده پزشکی اصفهان. ۱۳۹۰؛ ۱۴۲(۲):۲۹.

۲. سلطان دلال.م، میرعمادی.ا، شریفی یزدی.م، رستگار لاری.ع، رجبی.ز، آودیس یانس.س. تعیین الگوی مقاومت انتی بیوتیکی گونه های کلبسیلا جدا شده از نمونه های بیماران بستری در بیمارستان امام خمینی. مجله دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران. ۱۳۹۱؛ ۶(۴):۲۸۱-۲۷۵.

۳. فروهی ف. بررسی تأثیر آنتی بیوتیک های رایج در سنجش مقاومت و حساسیت میکروبی سویه های سودوموناس آئروژینوزا و کلبسیلا پنومونیه. مجله علمی پژوهشی زیست فناوری میکروبی دانشگاه آزاد اسلامی. ۱۳۹۱؛ ۱۳: ۵۸-۵۳.

۴. هاشمی.ع، فلاح.ف، طاهرپور.ا، گودرزی.ح، عرفانی منش.س، تاکی.ا. بررسی الگوی ژنتیکی و نقش پمپ oqxA در ایزوله های کلبسیلا پنومونیه. مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران. ۱۳۹۳؛ ۲۴(۱۱۹):۴۸-۶۱.

5. García-Sureda L, Juan C, Doménech-Sánchez A, Albertí S. Role of klebsiella Pneumoniae LamB Porin in Antimicrobial Resistance. Antimicrob Agents Chemother, 2011; 55(4): 1803-5.
6. Guerin F, Lallement C, Isnard C, Dhalluin A, Cattoir V, Giard JC. Landscape of Resistance-Nodulation-cell Division (RND)-type Efflux Pumps in Enterobacter Cloacae Complex. Journal of Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2016; 60(4): 2373–2382.
7. Jabeen, K, A. Znfar and R. Hasan. Frequency and Sensitivity Pattern of Extended Spectrum Beta lactamase Producing Isolates in a Tertiary Care Hospital laboratory of Pakistan. Journal-Pakistan Medical Association, 2005; 55(10): 436-9.
8. Kaye KS, Kaye D. Multidrug-resistant pathogens: Mechanisms of Resistance and Epidemiology. Current Infectious Disease Reports, 2005; 2(5): 391-8.
9. Liu BT, Wang XM, Liao XP, Sun J, Zhu HQ, Chen XY, et al. Plasmid-mediated Quinolone Resistance Determinants OqxAB and aac(6')-Ib-cr and Extended-spectrum Beta-lactamase Gene BlaCTX-M-24 Co-located on the Same Plasmid in one Escherichia coli Strain from China. The Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2011; 66(7): 1638-9.
10. Maham S, Fallah F, Eslami G, et al. The Antimycobacterium Activity of Menthe Piperita and Menthe Spicata Ethanolic Extract Against Mycobacterium Bovis in Comparison With Isoniazid. Iran J Clin Infect Dis, 2011; 6(2): 78-81.
11. Molana Z, Ferdosi SHahandashti E, Gharavi S, Shafii M, Norkhomami S, Ahangarkani F, Rajabnia R. Molecular Investigation of Class i Integron in Klebsiella pneumoniae Isolated from Unit Shahid Beheshti Hospital of Babol Intensive Care, 2011; 13(6): 7-13
12. Navidinia M, Karimi A, Rahbar M, Fallah F, et al. Study Prevalence of Verotoxigenic E. coli Isolated from Urinary Tract Infections (UTIs) in an Iranian Children Hospital. Open Microbiol Journal, 2012; 6: 1-4.
13. Nordmann P, Naas T, Poirel L. Global spread of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Emerg Infect Dis, 2011; 17(10): 1791-8.
14. Padilla E, Llobet E, Doménech-Sánchez A, Martínez-Martínez L, Bengoechea JA, Albertí S. Klebsiella pneumonia AcrAB Efflux Pump Contributes to Antimicrobial Resistance and vVirulence. Antimicrob Agents Chemother, 2010; 54(1): 177-83.
15. Rastegar Lari A, Azimi L, Rahbar M, Fallah F, Alaghehbandan R. Phenotypic Detection of Klebsiella pneumoniae Carbapenemase Among Burns Patients: First Report from Iran. Burns, 2013; 39(1): 174-176.
16. Rodriguez-Martinez JM, Diaz de Alba P, Briales A, Machuca J, Lossa M, Fernandez-Cuenca F, et al. Contribution of OqxAB Efflux Pumps to Quinolone Resistance in Extended-spectrum-beta-lactamase-Producing Klebsiella pneumoniae. The Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2013; 68(1): 68-73.
17. Roy S, Viswanathan R, Singh AK, Das P, Basu S. Sepsis in Neonates Due to Imipenem-resistant klebsiella pneumoniae producing NDM-1 in India. J Antimicrob Chemother, 2011; 66(6): 1411-3.
18. Ruiz E, Saenz Y, Zarazaga M, Rocha-Gracia R, Martinez-Martinez L, Arlet G, et al. qnr, aac(6')-Ib-cr and QepA Genes in Escherichia coli and Klebsiella spp: Genetic Environments and Plasmid and Chromosomal location. The Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2012; 67(4): 886-97.
19. Shahcheraghi F, Moezi H, Feizabadi MM. Distribution of TEM and SHV Beta-lactamase Genes Among Klebsiella pneumoniae Strains Isolated from Patients in Tehran. Med Sci Monit, 2007; 13(11): 247-250.
20. Shahcheraghi F, Nobari S, Rahmati Ghezelgeh F, Nasiri S, Owlia P, Nikbin VS, et al. First Report of New Delhi Metallo-beta-lactamase-1-producing Klebsiella pneumoniae in Iran. Microbial Drug Resistance (Larchmont, NY), 2013; 19(1): 30.
21. Sun J, Deng Z, Yan A. Bacterial Multidrug Efflux Pumps: Mechanisms, Physiology and Pharmacological Exploitations. Biochemical and Biophysical Research Ommunications, 2015; 465(1): 165.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-13]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1396.7.28.12.6]

22. Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. Molecular Biology and Evolution, 2013; 30(12): 2725-9.
23. Tsai YK, Fung CP, Lin JC, Chen JH, Chang FY, Chen TL, Siu LK. Klebsiella pneumoniae Outer Membrane Porins OmpK35 and OmpK36 Play Roles in Both Antimicrobial Resistance and Virulence. Antimicrob Agents Chemother, 2011; 55(4): 1485-93.
24. Wayen PA. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 20th informational supplement. CLSI document, CLSI 2014; M 100-S20.
25. Wong MH, Chan EW, Chen S. Evolution and Dissemination of OqxAB-like Efflux Pumps, an Emerging Quinolone Resistance Determinant Among Members of Enterobacteriaceae. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2015; 59(6): 3290-7.
26. Yuan J, Xu X, Guo Q, Zhao X, Ye X, Guo Y, et al. Prevalence of the OqxAB Gene Complex in Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli Clinical Isolates. Journal of Antimicrobial Chemotherap, 2012; 67(7): 1655-9.
27. Zhao J, Chen Z, Chen S, Deng Y, Liu Y, Tian W, et al Prevalence and Dissemination of OqxAB in Escherichia coli Isolates from Animals, Farmworkers, and the Environment Antimicrob Agents Chemother, 2010; 54(10): 4219-4224.
28. Zhou X, Gaol J, Huang Y, Fu S, Chen H. Antibiotic Resistance Pattern of Klebsiella pneumonia and Enterobacter Sakazakii Isolates from Powdered Infant Formula. African J Microbiol Res, 2011; 5(19): 3073-3077.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-13]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1396.7.28.12.6]