

بررسی نقش اینتگرون کلاس ۱ در شیوع ژن های بتالاکتامازی کلاس D (OXA-2, OXA-10) همراه با تعیین نوع الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در سویه های سودوموناس جدا شده از نمونه های بالینی سپیده کنگاوری^۱، مرجان شاه ایلی^{۱*}، عباسعلی رضائیان^۲

۱. گروه زیست شناسی، واحد ارسنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، ارسنجان، ایران

۲. گروه میکروبیولوژی، واحد جهرم، دانشگاه آزاد اسلامی، جهرم، ایران

چکیده

سابقه و هدف: به دلیل وجود ژن های مقاومتی و جابه جایی آن ها در بین گونه های سودوموناس، درمان عفونت های ناشی از آن ها دشوار شده است. هدف از این مطالعه تعیین فراوانی ژن های *OXA-2*، *OXA-10*، *Int1* و همچنین مقاومت آنتی بیوتیکی در بین سودوموناس های جدا شده بوده است.

مواد و روش ها: در این تحقیق، تعداد ۱۲۰ جدایه مشکوک به جنس سودوموناس جمع آوری گردید. پس از انجام آزمون های بیوشیمیایی، تأیید جنس با استفاده از پرایمر اختصاصی ژن *rRNA* ۱۶S صورت گرفت. فراوانی ژن های بتالاکتامازی با استفاده از روش مولکولی PCR و مقاومت آنتی بیوتیکی ارزیابی گردید.

یافته ها: نتایج این پژوهش نشان داد که ۷۸/۵٪ از جدایه ها حاوی ژن *OXA-10*، ۷۷/۵۷٪ ژن *OXA-2* و ۳۴/۵۸٪ حاوی ژن *Int1* هستند. همچنین ۹۵/۳۸ درصد نمونه ها جزء گروه MDR بودند. بیشترین مقاومت با ۷۹/۴۴٪ فراوانی به سفپیم و کمترین مقاومت با ۱۰/۲۸٪ فراوانی مربوط به توبرامایسین به دست آمد.

نتیجه گیری: ژن اینتگرون کلاس ۱ و ژن های بتالاکتامازی *OXA-2* و *OXA-10* از نظر همزمانی رابطه معنی داری را از خود نشان ندادند. تولید آنزیم بتالاکتاماز باعث افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی می شود و با توجه به نتایج سایر تحقیق ها میزان فراوانی آن ها رو به افزایش است. این موضوع سبب می شود تا بروی تجویز و مصرف آنتی بیوتیک کنترل بیش تری صورت گیرد.

واژه های کلیدی: اینتگرون کلاس ۱، سودوموناس، MDR، *OXA-2*، *OXA-10*

مقدمه

اکسیداز مثبت و متحرک بوده و قادر به رشد در محیط های ساده هستند و به طور وسیع در آب، خاک، گیاهان و جانوران وجود دارند. سودوموناس ها در بیمارانی که اختلال ایمنی دارند، عفونت ایجاد می کنند و عامل مهم عفونت های بیمارستانی بوده و به عنوان یک پاتوژن فرصت طلب مطرح

باکتری های جنس سودوموناس جزء باسیل های گرم منفی غیر تخمیری هستند. سودوموناس ها هوازی اجباری،

نویسنده مسئول:

گروه زیست شناسی، واحد ارسنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، ارسنجان، ایران

پست الکترونیکی: Shaheli87@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۲/۱۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۶/۱۴

هستند (۲۲،۴). از بین بردن عفونت های ایجاد شده توسط این ارگانیسم به دلیل مقاومت نسبت به مواد ضد میکروبی و آنتی بیوتیک ها و مقاومت چند دارویی دشوار است (۱۷). استفاده زیاد از آنتی بیوتیک ها باعث افزایش مقاومت چند دارویی شده است که اثر منفی در درمان بیماران داشته است (۴). مکانیسم های مختلفی برای ایجاد مقاومت در سودوموناس ها وجود دارد. از جمله آن ها می توان به سیستم پمپ افلاکس (۱۱)، تغییر گیرنده ها و یا نفوذپذیری میکروارگانیسم نسبت به دارو (۱۲)، دستیابی به مسیرهای متابولیک فرعی (۱۳) و تولید آنزیم های بتالاکتاماز (۶،۲۲) اشاره کرد. به دلیل قرار گرفتن ژن های مربوط به این نوع مقاومت ها بر روی اینتگرون های سودوموناس ها، به خصوص آنزیم های بتالاکتامازی، اهمیت مقاومت آن بیش تر می شود (۱۷). انتقال اینتگرون ها به عنوان موفق ترین راه انتشار ژن های مقاومتی و پیدایش گونه هایی با مقاومت چند گانه MDR مطرح است (۳۰).

آنزیم های بتالاکتامازی سودوموناس از طریق هیدرولیز هسته مرکزی در آنتی بیوتیک های بتالاکتام باعث غیر فعال شدن آن ها می گردند و از طریق ترانسپوزون ها و اینتگرون ها می توانند به کروموزوم انتقال یابند (۲۵). ژن *OXA* متعلق به کلاس D از آنزیم های ESBL از طبقه بندی آمبلر است. ژن های *OXA-10* و *OXA-2* از مهم ترین ژن های مؤثر در تولید بتالاکتامازها و مقاومت سودوموناس ها محسوب می شوند (۳،۲۹). به دلیل اینکه مقاومت آنتی بیوتیکی به طرق مختلف در بین سودوموناس ها در حال شیوع است، تحقیق های اپیدمیولوژی در این مورد می تواند کمکی برای درک بهتر و صحیح این موضوع در کاهش سرعت مقاومت آنتی بیوتیکی این گروه از باکتری ها باشد (۱۲). هدف از این مطالعه بررسی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی، فراوانی ژن های *OXA-2* و *OXA-10* و ارتباط احتمالی حضور هم زمان ژن *Int1* با آن ها بوده است.

مواد و روش ها

الف- نمونه گیری و غربالگری سوبه های باکتری:

در این پژوهش مقطعی-توصیفی که در تابستان سال ۱۳۹۵ انجام شد تعداد ۱۲۰ جدایه مشکوک به جنس سودوموناس

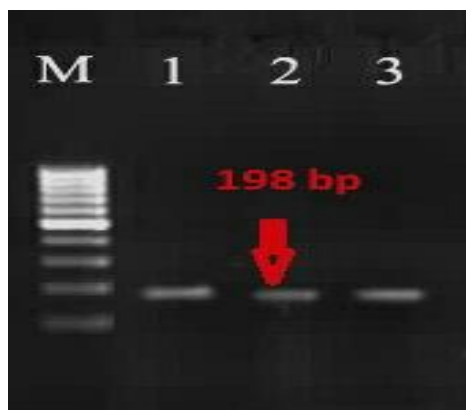
به طور تصادفی از بیماران بستری یا مراجعه کننده به بیمارستان سوانح و سوختگی شیراز جمع آوری گردید. پس از انتقال نمونه ها به آزمایشگاه، ابتدا بر روی محیط های ائوزین متیلن بلو و آگار خون دار کشت داده و در دستگاه اینکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴-۱۸ ساعت قرار داده شدند. جهت تشخیص آزمایشگاهی و تأیید سودوموناس جمع آوری شده، از رنگ آمیزی گرم و تست های بیوشیمیایی استفاده شد. لازم به ذکر است که از سویه استاندارد سودوموناس آتروجینوزا (ATCC 37853) جهت استاندارد سازی استفاده گردید.

باکتری های جنس سودوموناس گرم منفی و بدون اسپور بوده و مولد آنزیم های کاتالاز و اکسیداز، مصرف کننده قندها از طریق اکسیداسیون در محیط اکسیداتیو فرمنتاتیو (OF)، اندول منفی و متحرک در محیط SIM، دارای واکنش Alk-Alk در محیط TSI، تست سیمون سیترات مثبت، مولد رنگدانه های پیوسیانین و پیووردین در محیط مولر هینتون آگار و دارای توانایی رشد در دمای ۴۲ درجه سانتی گراد هستند. جهت نگهداری طولانی مدت، نمونه های جمع آوری شده در گلیسرول ۱۰٪ در دمای ۷۰- درجه سانتی گراد قرار داده شدند (۲۱).

ب- ارزیابی مقاومت آنتی بیوتیکی

برای این منظور از روش انتشار دیسک، مطابق با استانداردهای CLSI (مؤسسه استانداردهای آزمایشگاهی و بالینی) استفاده شد. ابتدا میزان مقاومت جدایه ها به آنتی بیوتیک های پیراسیلین PRL، تیکارسیلین TIC، اگزاسیلین OX، سفتازیدیم CAZ، سفپیم FEP، آزترونام ATM، ایمپنم IMP، مروپنم MEM، پلی میکسین B، جنتامایسین GN، سیپروفلوکساسین CIP، توبرامایسین TOB سنجیده شد. سپس بر حسب واکنش سوبه های جداسازی شده در مقابل آنتی بیوتیک، آن ها به سه گروه حساس، نیمه حساس و مقاوم تقسیم بندی شدند (۲۴).

ج- استخراج DNA و ارزیابی کمی DNA استخراج شده



شکل ۱: نتیجه انجام PCR برای شناسایی حضور ژن *rRNA* ۱۶S روی ژل آگارز ۱٪ (M: مارکر، ۱-۲: نمونه های مثبت، ۳: کنترل مثبت)

نتایج تست حساسیت آنتی بیوتیکی با توجه به جدول CLSI برای سودوموناس های جدا شده مورد آنالیز قرار گرفت. سپس بر حسب واکنش جدایه ها در مقابل آنتی بیوتیک ها، به سه گروه حساس، نیمه حساس و مقاوم تقسیم بندی شدند. بر اساس نتایج حاصل مقاومت به آنتی بیوتیک های آزمون CLSI ۲۹٪، تیکارسیلین ۳۷/۳۸٪، پیراسیلیلین ۳۷/۳۸٪، سفنازیدیم ۳۹/۲۵٪، سفپیم ۷۹/۴۴٪، ایمپینم ۲۹٪، توبرامایسین ۱۰/۲۸٪، سیپروفلوکساسین ۲۱/۵٪، نورفلوکساسین ۲۰/۵۶٪، مرونم ۱۲/۱۵٪، آمیکاسین ۳۴/۶٪ و جنتامایسین ۲۲/۴۳٪ به دست آمد. بیشترین مقاومت مربوط به سفپیم و کمترین مقاومت به توبرامایسین بود.

نتایج را می توان در نمودار ۱ مشاهده کرد. براساس آزمون One sample T-test و براساس مندرجات جدول ۲ مشخص گردید، جمعیت باکتری های مورد مطالعه نسبت به آنتی بیوتیک های سفپیم، مرونم، جنتامایسین، توبرامایسین، سیپروفلوکساسین و نورفلوکساسین مقاومت پیدا نموده و رابطه معنی دار شکل گرفته است. بر اساس آزمون Chi-Square و در سطح معنی دار ۰/۰۵ و براساس مندرجات مشخص گردید که رابطه معنی داری در همزمانی مقاومت آنتی بیوتیکی وجود دارد.

برای استخراج DNA، از روش جوشاندن استفاده شد. در این مرحله پس از قرار دادن ۲ الی ۳ کلنی از باکتری مورد نظر در ۲۰۰ میکرولیتر آب مقطر استریل و کمی ورتکس آن، نمونه در آب ۱۰۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شد و سپس با دور ۱۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. محلول روی رسوب که حاوی DNA باکتری بود، جدا سازی شد. سپس مراحل PCR انجام گرفت. باروش UV اسپکتروفتومتری غلظت و خلوص نمونه DNA استخراج شده به کمک جذب نوری در طول موج ۲۶۰ nm و ۲۸۰ و به کمک دستگاه نانودراپ سنجیده شد.

د- انجام PCR

پس از انجام تست های بیوشیمیایی جهت تأیید جنس سودوموناس از پرایمر اختصاصی ژن *rRNA* ۱۶S به روش مولکولی PCR و همچنین برای بررسی فراوانی ژن های *OXA-2*، *OXA-10*، *Int1* دمایی خاص طبق جدول شماره ۱ استفاده شد. پس از انجام PCR از الکتروفورز با ولتاژ ۹۵ به مدت ۵۰ دقیقه بر روی ژل آگارز ۱٪ استفاده گردید. سپس برای دیدن باندهای تشکیل شده از دستگاه ژل داک استفاده گردید. از سویه استاندارد سودوموناس آئروجینوزا (ATCC 37853) به عنوان کنترل مثبت جهت استاندارد سازی استفاده گردید (۲۶، ۱۹، ۵).

ه- تجزیه و تحلیل داده ها

نتایج با استفاده از نسخه ۱۸ نرم افزار SPSS بررسی گردید. برای بررسی تعیین روابط معنی دار از آزمون های Chi-square و One sample T test استفاده شد. در نهایت سطح معنی دار روابط آماری بررسی و براساس $p \leq 0.05$ سنجیده شد.

در این مطالعه از ۱۲۰ جدایه جمع آوری شده، تعداد ۱۰۷ نمونه باکتری سودوموناس، طبق نتایج حاصل از رنگ آمیزی گرم و تست های بیوشیمیایی (اکسیداز، TSI، سیترات، SIM، اوره، LD، OD و احیاء نیترات) جدا گردید. نتایج حاصل از بررسی ژن *rRNA* ۱۶S نشان داد که جدایه های به دست آمده همگی از جنس سودوموناس بوده اند. باندهای تشکیل شده طبق شکل ۱ در محدوده ی ۱۹۸ bp قرار داشتند.

منبع	طول قطعه	چرخه ها	طول سازی	دمای اتصال	دنا توراسیون	ترادف	پرایمر
Rahimzade2013	۷۷۵	۳۵	$\min 1^{\circ}c - 72$	$\min 1^{\circ}c - 58$	$\min 1^{\circ}c - 94$	$5' \text{ } ^{\circ}\text{TATCGCGTGTCTTTTCGAGTA-3}$ $5' \text{ } ^{\circ}\text{TTAGCCACCAATGATGCCC-3}$	<i>OXA-10-f</i> <i>OXA-10-r</i>
Rahimzade2013	۴۸۶	۳۸	$\min 5^{\circ}c - 72$	$\min 1^{\circ}c - 60$	$\min 1^{\circ}c - 94$	$5' \text{ } ^{\circ}\text{-AAGAAACGCTACTCGCCTGC-}$ $3' \text{ } ^{\circ}\text{-CCACTCAACCCATCCTACCC-3}$	<i>OXA-2-f</i> <i>OXA-2-r</i>
Clifford 2012	۱۹۸	۳۰	$\min 1^{\circ}c - 72$	$57/5^{\circ}c - sec 30$	$94^{\circ}c - sec 45$	$5' \text{ } ^{\circ}\text{-ACTCTACGGGAGGCAGCAGT-3}$ $5' \text{ } ^{\circ}\text{-TATTACCGCGGCTGCTGGC-3}$	<i>16S rRNA-f</i> <i>16S rRNA-r</i>
Koeleman 2000	۱۶۰	۳۰	$\min 1^{\circ}c - 72$	$62^{\circ}c - sec 50$	$\min 1^{\circ}c - 94$	$5' \text{ } ^{\circ}\text{-CAGTGGACATAAGCCTGTTC-3}$ $5' \text{ } ^{\circ}\text{-CCCGAGGCATAGACTGTA-3}$	<i>Int1-f</i> <i>Int1-r</i>

جدول ۱: توالی پرایمرهای مورد استفاده برای آزمون PCR

به-طوری که مصرف همزمان این آنتی بیوتیک ها و یا جایگزینی یکی به جای دیگری، تأثیری در درمان نخواهد گذاشت.

سویه هایی که به بیش از ۳ کلاس آنتی بیوتیکی مقاومت نشان دهند، جزء سویه های MDR محسوب می شوند. جدول ۳ مقاومت چند آنتی بیوتیکی را نشان می دهد. در این پژوهش، ۹۵/۳۳٪ نمونه ها جز گروه MDR بوده اند.

جدول ۳: مقاومت چند آنتی بیوتیکی یا MDR در جدایه های سودوموناس

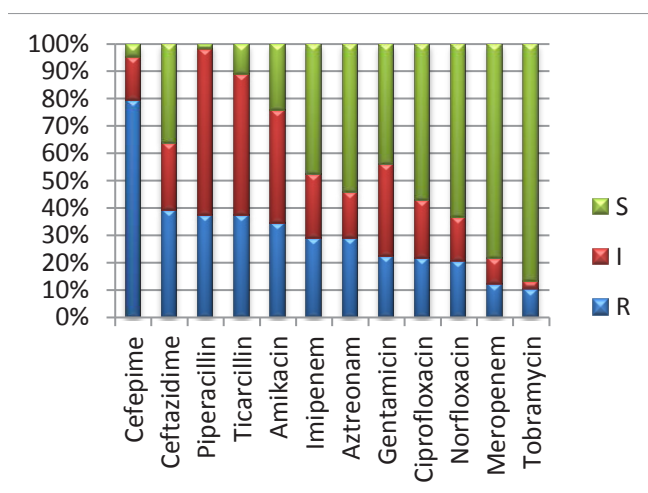
تعداد و درصد سویه های مقاوم	کلاس آنتی بیوتیک
۰	۱
۵ (۴/۶۷٪)	۲
۳۷ (۳۴/۵۸٪)	۳
۱۰ (۹/۳۵٪)	۴
۲۷ (۲۵/۲۳٪)	۵
۲۸ (۲۶/۱۷٪)	۶

در این پژوهش از ۱۲ آنتی بیوتیک در قالب ۶ کلاس آنتی-بیوتیکی استفاده شده است. بیشترین میزان مقاومت مربوط به کلاس سفالوسپورین ها و کمترین میزان مقاومت مربوط به کلاس کارباپنم به دست آمد. نتایج در جدول ۴ نشان داده شده است.

جدول ۴: مقایسه درصد مقاومت به کلاس های مختلف آنتی بیوتیکی در

جامعه آماری مورد مطالعه

تعداد و درصد سویه های مقاوم	کلاس آنتی بیوتیک
۳۱ (۲۹٪)	مونوباکتام
۴۰ (۳۷/۳۸٪)	پنی سیلین ها
۶۴ (۵۹/۸٪)	سفالوسپورین ها
۲۲ (۲۰/۵۶٪)	کارباپنم
۲۴ (۲۲/۴۳٪)	آمینوگلیکوزید
۲۳ (۲۱/۵٪)	فلوروکینولون



نمودار ۱: نمودار ستونی میزان مقاومت و حساسیت آنتی بیوتیکی

جدول ۲: ارتباط معنی دار مقاومت آنتی بیوتیکی در جمعیت میکروبی

مورد مطالعه

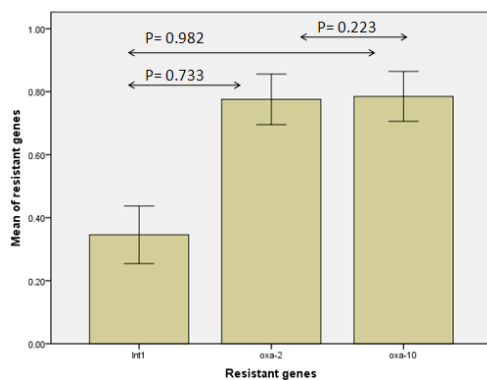
P ≤ 0.05	هاله عدم رشد	آنتی بیوتیک مصرفی
۰/۸۳۴	$\leq 14 \text{ mm}$	پیپراسیلین
۰/۰۶۹	$\leq 15 \text{ mm}$	تیکارسیلین
۰/۸۰۱	$\leq 14 \text{ mm}$	سفتازیدیم
۰/۰۰۰	$\leq 14 \text{ mm}$	سفپیم
۰/۱۶۴	$\leq 15 \text{ mm}$	ایمی پنم
۰/۰۰۰	$\leq 15 \text{ mm}$	مروپنم
۰/۲۰۳	$\leq 14 \text{ mm}$	آمیکاسین
۰/۰۰۱	$\leq 12 \text{ mm}$	جنتامایسین
۰/۰۰۰	$\leq 12 \text{ mm}$	توبرامایسین
۰/۰۰۰	$\leq 15 \text{ mm}$	سیپروفلوکساسین
۰/۰۰۰	$\leq 12 \text{ mm}$	نورفلوکساسین
۰/۴۳۴	$\leq 15 \text{ mm}$	آزترونام

نتایج فراوانی ژن های مقاومتی و همزمانی وجود آن ها درون ژنوم باکتری در جدول ۵ مشخص شده است.

جدول ۵: فراوانی ژن های مقاومتی و همزمانی وجود آن ها درون ژنوم باکتری

تعداد و درصد سویه های واجد ژن	تنوع حضور ژن
۱ (٪۰/۹۳)	<i>Int1</i>
۱۳ (٪۱۲/۱۵)	<i>OXA-2</i>
۱۳ (٪۱۲/۱۵)	<i>OXA-10</i>
۷ (٪۶/۵۴)	<i>Int1/OXA-2</i>
۸ (٪۷/۴۸)	<i>Int1/OXA-10</i>
۴۲ (٪۳۹/۲۵)	<i>OXA-2 /OXA-10</i>
۲۱ (٪۱۹/۶۳)	<i>Int1/OXA-2/OXA-10</i>
۲ (٪۱/۸۷)	Non

بین حضور همزمان ژن های *Int1* و *OXA-2*، *OXA-10* رابطه معنی دار به وجود نیامده است. این رابطه در نمودارستونی ۲ نشان داده شده است.



نمودارستونی ۲: ارتباط بین میانگین حضور ژن های *Int1*، *OXA-2* و *OXA-10*

با استفاده از آزمون کای مربع مشخص می گردد که بین وجود ژن های مقاومت ساز و برخی از آنتی بیوتیک ها رابطه معنی داری در سطح ۰/۰۵ وجود دارد. این موضوع بدان معنی است که بین مقاومت آنتی بیوتیکی و وجود ژن، یک همخوانی و یا همراهی وجود دارد.

همان گونه که در جدول ۶ دیده می شود براساس آزمون کای مربع و در سطح معنی دار ۰/۰۵ بین حضور ژن های مورد مطالعه و مقاومت نسبت به برخی از آنتی بیوتیک ها رابطه معنی داری شکل گرفته است.

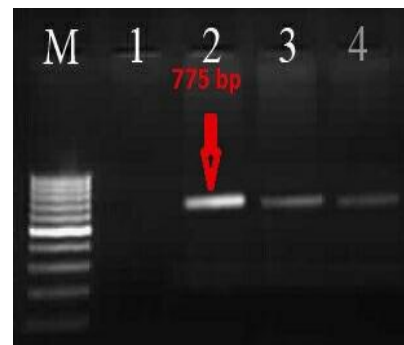
نتایج PCR جهت بررسی حضور ژن های *Int1*، *OXA-2*، *OXA-10*

در شکل ۲ ژن *Int1* را بر روی ژل نشان می دهد که پس از ۳۰ سیکل باندهای ۱۶۰ bp را تولید کرده است.



شکل ۲: نتیجه انجام PCR جهت شناسایی حضور ژن *Int1* روی ژل آگارز ۱٪ (M): مارکر، ۱-۳: نمونه های مثبت، ۴: کنترل مثبت)

در شکل ۳ ژن *OXA-10* را بر روی ژل نشان می دهد که پس از ۳۵ سیکل باندهای ۷۷۵ bp را تولید کرده است.



شکل ۳: نتیجه انجام PCR جهت شناسایی حضور *OXA-10* روی ژل آگارز ۱٪ (M): مارکر، ۱: نمونه منفی، ۲-۳: نمونه های مثبت، ۴: کنترل مثبت)

در شکل ۴ ژن *OXA-2* را بر روی ژل نشان می دهد که پس از ۳۸ سیکل، باندهای ۴۸۶ bp را تولید کرده است.



شکل ۴: نتیجه انجام PCR برای شناسایی حضور ژن *OXA-2* روی ژل آگارز ۱٪ (M): مارکر، ۱: نمونه منفی، ۲-۳: نمونه های مثبت، ۴: کنترل مثبت)

جدول ۶: وجود رابطه معنی دار $P \leq 0.05$ بین مقاومت آنتی بیوتیکی و

حضور هم زمان ژن های مقاومتی

سفتازیدیم	ایمی پنم	پیپراسیلین	تیکارسلین	آزترنام
Int1				
OXA-2	۰/۰۳۴	۰/۰۰۸		
OXA-10				۰/۰۰۸
Int1 OXA-10		۰/۰۲۱	۰/۰۰۰	۰/۰۱۹

بحث

سودوموناس پاتوژنی فرصت طلب واز عوامل مهم عفونت های بیمارستانی است (۴). یکی از علل مهم بروز و انتقال ژن های مقاومت وجود عناصر سیار ژنتیکی^۱ در جدایه های مقاوم است. بخش عمده ای از ژن های مقاومت از جمله بتالاکتامازها (ESBLs) بر روی یکی از مهم ترین عناصر سیار ژنتیکی (اینتگرون ها) حضور دارند. کلاس های مختلفی از این عناصر وجود دارد، اینتگرون کلاس ۱ در باکتری های گرم منفی شیوع بالایی دارد (۱۰).

مطالعه های مختلفی سرتاسر جهان صورت گرفته است که شیوع کلاس های مختلف اینتگرونی و فاکتورهای مختلف مقاومت دارویی را بررسی کرده اند. در مطالعه GU و همکارانش (۹) اختلاف معنی دار بین حضور اینتگرون ها و بروز مقاومت دارویی مورد بررسی قرار گرفت. هم چنین در مطالعه هایی که توسط Khorramrooz و همکاران (۱۸)، Haghi و همکارانش (۳۱) انجام گرفت، با به دست آوردن نتایج ۶/۳۵٪ و ۴۵/۸٪ مشخص کردند که اینتگرون کلاس ۱ فراوانی بیش تری دارد، این نتایج با مطالعه های انجام شده در این پژوهش هم خوانی داشت.

مطالعه های مختلفی بر روی آنتی بیوتیک های ایمی پنم، سیپروفلوکساسین، آمیکاسین و جنتامایسین در شهرهای مختلف صورت گرفت. میزان مقاومت به آنتی بیوتیک های مذکور در مطالعه های Adabi و همکاران (۱) به ترتیب ۷۵/۵٪، ۸۷٪، ۸۵٪ و ۸۶٪، Fazeli و همکاران (۷) ۶۰/۶٪، ۶۵/۲٪، ۵۰٪، ۶۰/۶٪ و Sadari و همکاران (۲۷) ۳۸/۲٪، ۴۹/۲٪، ۷۳٪، ۸۶٪ گزارش گردید.

¹Mobile Genetic Elements (MGE)

در این پژوهش میزان مقاومت نسبت به این آنتی بیوتیک ها به طور چشم گیری متفاوت است، شاید دلیل این تفاوت، نحوه درمان و آنتی بیوتیک تجویز شده باشد.

هم چنین در مطالعه Imani-Fooladi (۱۴)، درصد مقاومت به آنتی بیوتیک های آمیکاسین، جنتامایسین، سیپروفلوکساسین و سفتازیدیم به ترتیب برابر با ۱۷/۳٪، ۲۵/۵٪، ۲۰/۹٪، ۲۰/۹٪ و در پژوهش Keramati و همکارانش میزان مقاومت سفوتاکسیم ۴۳/۳٪، آمیکاسین ۲۱/۶٪ و ایمی پنم ۲۹٪ بود (۱۷). هم چنین Daimhem و همکاران (۶) بیش ترین مقاومت آنتی بیوتیکی را نسبت به سفتازیدیم با ۲۸/۷٪ گزارش کردند که به طور کلی این نتایج با مطالعه حاصل از این پژوهش هم خوانی داشت مقاومت آنتی بیوتیکی در مکان های مختلف متفاوت است که می تواند ناشی از وضعیت تفاوت بهداشت باشد.

در این پژوهش ۹۵/۳۸٪ از نمونه ها جزء گروه MDR بود. که با نتایج Moradian که ۹۸/۱٪ (۲۳) و Zhenbo و همکاران که ۹۳/۲٪ (۳۲) مقاومت به چند دارو را گزارش کرده اند، هم خوانی دارد. در مطالعه های Japoni و همکاران (۱۵) و Fazeli و همکاران (۸) نیز به ترتیب ۷۳٪ و ۷۷/۲٪ مقاومت چند دارویی گزارش شد. استفاده بیش از اندازه و نادرست از آنتی بیوتیک ها باعث افزایش مقاومت دارویی و ایجاد سویه های MDR می گردد.

در تحقیق هایی که توسط Jemima و Verghese (۱۶) انجام گرفت مشخص کردند بسیاری از باکتری های بیمارستانی دارای ژن های ESBL هستند و هم چنین Tavajjohi و همکاران (۲۸) نشان دادند که ۸/۱٪ از کل باکتری های بیمارستانی حامل این ژن ها هستند. در طی مطالعه حاضر، حضور ژن های Int1، OXA-2، OXA-10 مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد ژن OXA از فراوانی بالایی برخوردار است. هم چنین Amirmozafari و همکاران (۲) مطالعه هایی در ایلام و کرمان انجام دادند که در ایلام ۳۰٪ از نمونه ها دارای بتالاکتاماز بودند. که از این تعداد ۸۷/۶۱٪ دارای ژن OXA-10 و ۴/۷۶٪ دارای ژن OXA-2 بودند.

در کرمان نیز ۳۸/۳۳٪ نمونه ها دارای ژن بتالاکتاماز بوده که از این تعداد ۶۳٪ حاوی ژن های OXA-10 و ۲/۱٪ دارای OXA-2 بودند.

همچنین مطالعه‌ای توسط Lee و همکاران در کره انجام شد، ژن *OXA-10* با فراوانی ۱۲/۵٪ را به عنوان شایع ترین ژن گزارش کردند (۲۰). که درصد فراوانی این ژن با درصد به دست آمده در این مطالعه بسیار نزدیک است. بررسی های مختلفی در مناطق مختلف صورت گرفته است که وجود درصد بالایی از باکتری های سودوموناس مولد بتالاکتاماز را نشان می دهد. با توجه به اهمیت موضوع، تشخیص سریع باعث کنترل مؤثر این سویه می شود.

نتیجه گیری

با بررسی مطالعه های گذشته و نتایج حاصل از این پژوهش مشخص است که میزان مقاومت به آنتی بیوتیک های مختلف در سویه های سودوموناس زیاد است. از بین آنتی بیوتیک های مطالعه شده توبرامایسین بهترین تأثیر را از خود نشان داد زیرا دارای مقاومت کم تر و حساسیت بیش تر بود. همچنین مقاومت چند دارویی در بین نمونه های سودوموناس قابل توجه بود. طبق مطالعه ها جدایه های سودوموناس حامل اینتگرون کلاس ۱ شیوع قابل توجهی یافته اند اما در این مطالعه حضور هم زمان ژن *OXA-2*، *Int1* و *OXA-10* رابطه معنی داری نشان ندادند. با توجه به این نتایج بهتر است پیش از درمان، آزمایش آنتی بیوگرام و نظارت صورت گیرد و با استفاده صحیح از دارو، باکتری ها را در معرض چندین آنتی بیوتیک قرار ندهیم تا پیدایش سویه های مقاوم در امر درمان مشکل ایجاد نکند.

سپاسگزاری

این مقاله با استفاده از داده های پایان نامه خانم سپیده کنگاوری دانشجوی کارشناسی ارشد و حمایت دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان انجام گردید، از همکاری این دانشگاه و همچنین معاونت و کارکنان بیمارستان سوختگی شیراز جهت همکاری در انجام این تحقیق تشکر و قدردانی می شود.

منابع

1. Adabi M, TalebiTaher M, Arbabi L, Afshar M, Fathizadeh S, MinaeianS,etal. Determination of Antibiotic Resistance Pattern of *Pseudomonas aeruginosa* Strains Isolated from Patients With Burn wounds. J.Ardabil Univ Med Sci.spring 2012; 15(1): 66-74.[In persian]
- 2.Amirmozafari N, Sadeghifard N, Raftari M, Abdulamir AS, Mohebi R, Abu Bakar f, etal. Incidence of ex tended spectrum beta-lactamase producing *pseudomonas aeruginosa* and frequency of oxa-2 and oxa-10 genes.Australian J. Basic and Applied Sci.2010; 8(4):7-2. [In persian]
3. Aoki S, Hirakata Y, Kondoh A. Virulence of metallo beta lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa* in vitro. J.Antimicrob Agents Chemother.2004; 48(5): 1876-1878.
4. Brooks G, Carroll K, Butel J, More S, Mietzner T. Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology. Arjmand Publishing, Sotodeh panah A, Nikpor M, Ahmadi M, saadat p, Hedayati M, Tehran. 2013; 26:349-355.
5. Clifford R, Milillo M, Prestwood J, Quintero R, Zurawski DV, Kwak YI, Waterman PE, Lesho EP, Gann PM. Detection of Bacterial16SrRNA and Identification of Four Clinically Important Bacteria by Real-Time PCR.PLOS ONE. 2012; 11 (7):1-6.
6. Daimhem B, Basi khaste M. Antibiotic Resistance Pattern Evaluation And Study on the production of metalloalalbathactamase in *Pseudomonas aeruginosa* isolates isolated from clinical specimens of Dezful Hospital. J. Microbiology Biotechnology.1391; 4(14): 21-28. [In persian]
7. Fazeli H, Havaei A, Solgi H, SHokri D, Motallebirad T. Pattern of Antibiotic Resistance in *Pesudomonas aeruginosa* Isolated from Intensive Care Unit, Isfahan, Iran. J.Isfahan Med Sch. June2013;31(232): 433-438.
8. Fazeli H, Moslehi T Z, Irajian GR, Salehi M. Determination of Drug resistance patterns and detection of bla-VIM gene in *Pseudomonas aeruginosa* strains Isolated from burned patients in the EmamMosaKazem hospital. Iranian J Med Sci. 2010; 3(4): 1-8. [In persian]
9. Gu B, Tong M, Zhao W, Liu G, Ning M, Pan S. Prevelence and characterization of class Iintegrons among *Pseudomonas aerruginosa* and *Acinetobacter baumannii* isolates from patients in Nanjing, China. J.ClinMicrobiol. Nov 2007; 45(1): 241-3.
10. Hall RM, Collis CM. Mobile gene cassettes and integrons: capture and spread of genes by site-specific recombination. MolMicrobiol. 1995 Feb; 15(4): 593- 600 (Review).
11. Hancock RE, Brinkman FS.Function of *Pseudomonas* porins in uptake andefflux. AnnuRevMicrobiol.2002; 56(10): 17-38.
12. Hancock RE, Speert DP.Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*, mechanisms andimpact on Treatment.Drug Resist Updat. 2000 Aug; 3(4): 247-255.
13. Huovinen P.Resistance to Trimethoprim-Sulfamethoxazole.ClinicalInfectious Diseases.2001; 32(11): 1608 – 14.
14. ImaniFooladi AA, Rostami Z, Shapouri R. Antimicrobial resistance and ESBL prevalence in *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from clinical specimen by phenotypic and genotypic methods, Zanjan, Iran. Iranian J. Med Microbiol.2011; 10(3): 189-198. [In persian]
15. Japoni A, Alborzi A, Kalani M, Nasiri J, Hayati M, Farshad SH. Susceptibility patterns and cross-resistance of antibiotics against *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients in the south of Iran. J.Burns.2006; 32(3): 343-347. [In persian]
16. Jemima AS, Verghese S. Multiplex PCR for blaCTX-M &blaSHV in the extended spectrum beta lactamase (ESBL) producing Gram-negative isolates.Indian J Med Res. 2008; 128(11): 313-317.
17. Keramati N, Zeighami H, Haghi F. Frequency of Class I and II Integrons in Metalobetalactamase Producing Clinical Isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. zumsj. 2014; 22 (94) :111-119. [In persian]

18. Khorramrooz S S, Gharibpour F, Parhizgari N, Yazdanpanah M, Mohammadi R, Rahbari N. Prevalence of Class 1 Integron and Antibiotic Resistance among *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from Patients Admitted to the Burn Unit at Taleghani Hospital in Ahvaz. J.Arak Uni Med Sci. 2015; 18 (3) :9-18. [In persian]
19. Koeleman JG, Stoof J, Der bijl MWV, Vandenbroucke Grauls CMV, Savelkoul PH. Identification of epidemic strains of *Acinetobacter baumannii* by integrase gene PCR. J. Clin Microbiol. 2000;39(1): 8–13.
20. Lee S, Park YJ, Kim M, Lee HK, Han K, Kang CS, et al. Prevalence of Ambler class A and D beta-lactamases among clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in Korea. J.AntimicrobChemother. 2005; 56(1): 122-7.
21. Mahon C R, Lehman OC, Manuselis G. Textbook of diagnostic microbiology fifth edition. Saunders. 2015; 30(2): 494-512.
22. Mohammadi M. Identification of *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates producing of IMP, VIM and SPM metallo-binding lactamases to 2 phenotypic and molecular methods (PCR). J.Ghazvin Univ Med Sci. 2015; 1(3): 3-8. [In persian]
23. Moradian kouchaksaraei F, FerdosiShahandashti E, Molana Z, MoradianKouchaksaraei M, Asgharpour F, Mojtahedi A, et al. Molecular Detection of Integron Genes and Pattern of Antibiotic Resistance in *Pseudomonas aeruginosa* Strains Isolated from Intensive Care Unit. IJMCM. 2012; 1(4): 209-217. [In persian]
24. Patel JB, Patel R, Weinstein MP. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. J. Clin Microbiol. 2017; 100(23): 58-60.
25. Philippon A, Arlet G, Lagrange PH. Origin and import of plasmid- mediated extended- sepectrum B-lactamases. EurJclin microbial Infect Dis. 1994; 13(3): 17-29.
26. Rahimzade A, Faraj Nia S, Pourbabaei A, Ansarin Kh, Zolfaghri M, Masoudi N. Survey on the prevalence of oxa type oxa-2 and oxa-10 and Class-1 incronatal beta-lactamases in isolated *Acinetobacter esophagus* from Tabriz patients by PCR method. J. Babol Univ Med Sci. 2013; 14 (5): 56-63. [In persian]
27. Saderi H, Lotfalipour H, Owlia P, Salimi H. Detection of Metallo beta Lactamase Producing *Pseudomonas areruginisa* Isolated from Burn Patients in Tehran, Iran. Iran J Med sci. 2010; 41(4):10. [In persian]
28. Tavajjohi Z, Moniri R, Khorshidi A. Detection and characterization of multidrug resistance and extended-spectrum-beta- lactamase-producing (ESBLs).Pak J Med Sci. 2013; 29(3): 788–792. [In persian]
29. ValiZadeh A, Sadeghifard N, Zolfaghari M. Relationship between Beta- lactamase enzyme oxa-10 and nalC motility in *pseudomonas aeruginosa* producing ESBL and FAFAD ESBL, The first national conference on biological sciences, Falavarjan. Iran J. Med Microbiol. 2012;13(1): 4-6. [In persian]
30. Xu Z, Li L, Shirliff ME, Alam MJ, Yamasaki S, Shi L. Occurrence and characteristics of class 1 and 2 integrons in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from patients in southern China. J. ClinMicrobiol.2009;47(1): 230-234.
31. Haghi F, Zeighami H, Hajiahmadi F. Integrons and Their role in Antibiotic Resistance. Iran biomed J. 2014; 5 (22) :61-71. [In persian]
32. Zhenbo X, Lin L, Mark ES, MJ A, Shinji Y, Lei Sh, Jan. Occurrence and Characteristics of Class 1 and 2 Integrons in *Pseudomonas aeruginosa* Isolates from Patients in Southern China. J.clinical Microbiol American Soc. 2009; 47 (1): 230–234.

