مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان / دوره بیست و یکم/ مرداد و شهریور ۱۳۹۵/ ۷۸-۶۸

بررسی فراوانی اینتگرون های کلاس I در سویه های کلبسیلا پنومونیه با مقاومت چند دارویی جدا شده از نمونه های بالینی به وسیله واکنش زنجیره ای پلیمراز

زینب محلوجی[۱]، فرزانه فیروزه[۲]، احمد خورشیدی[۳]، محمد زیبائی[۴]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه میکروب شناسی و ایمنی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران.

۲. استادیار، گروه میکروب شناسی و ایمنی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران (مولف مسئول) تلفن ثابت: ۵۵۵۴۰۰۲۱-۰۳۱، ffiroozeh@ut.ac.ir

۳. استاد، گروه میکروب شناسی و ایمنی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران.

۴. دانشیار، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: گسترش سویه های با مقاومت چند دارویی (MDR) *کلبسیلا پنومونیه* یک عامل نگرانی مهم و انتقال افقی اینتگرون ها از فاکتورهای مهم در ایجاد باکتری مقاوم به چند دارو می باشد. این مطالعه با هدف تعیین فراوانی اینتگرون های کلاس I و بررسی کاست های ژنی اینتگرون ها در سویه های با مقاومت چند دارویی *کلبسیلا پنومونیه*ی جدا شده از نمونه های بالینی انجام پذیرفت.

روش بررسی: این مطالعه توصیفی- تحلیلی روی ۱۸۱ نمونه *کلبسیلا پنومونیه* جدا شده از بیماران بستری و سرپایی در سال های ۹۳-۱۳۹۲ انجام شد. الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه ها با روش دیسک دیفیوژن بر اساس استاندارد CLSI تعیین شد. حضور اینتگرون کلاس ۱ و کاست های ژنی موجود در آن با استفاده از روش واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR) در سویه های با مقاومت چند دارویی بررسی شد. تجزیه وتحلیل آماری یافته ها با نرم افزار SPSS نسخه ۱۷ و آزمون های کای دو و آزمون دقیق فیشر انجام و سطح معنی داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد .

نتایج: از ۱۸۱ نمونه ۱۵۰ (۸۲/۹ درصد) سویه های با مقاومت چند دارویی بودند. بیشترین مقاومت به آمپی سیلین (۹۸/۷درصد) و کمترین مقاومت به ایمی پنم (۲۴ درصد) دیده شد. کلاس ۱ اینتگرون در ۱۵۰ (۱۰۰ درصد) سویه های با مقاومت چند دارویی مشاهده شد. از میان آنها، ۱۴۷ (۹۸ درصد) حامل کاست های ژنی از پنج نوع مختلف بودند.

نتیجه گیری: نتایج نشان داد که فراوانی ژن اینتگرون کلاس I و کاست های ژنی در سویه ها ی *کلبسیلا پنومونیه*ی مقاوم به چند دارو در میان بیماران بستری در بیمارستان در کاشان بالا می باشد که می تواند نقش مهمی در ایجاد و انتقال مقاومت آنتی بیوتیکی داشته باشد.

کلید واژه ها: *کلبسیلا پنومونیه*، مقاومت چند دارویی (MDR)، اینتگرون، نمونه های بالینی

وصول مقاله:۹۵/۱۰/۱۴ اصلاحیه نهایی:۹۵/۱/۱۸ پذیرش:۹۵/۱/۲۲

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-12]

مقدمه

کلبسیلا پنومونیه یک پاتوژن فرصت طلب مهم است که مکرراً سبب عفونت های مجرای ادراری و پنومونی در اشخاص دارای نقص ایمنی می شود. پس از *اشرشیا کلی*، شایع ترین علت ایجاد کننده سپتی سمی ناشی از باکتری های گرم منفی و عفونت های بیمارستانی است. گسترش جهانی گونه های *کلبسیلا پنومونیه* مقاوم به چند دارو یک عامل نگرانی مهم است (۱). مقاومت آنتی بیوتیکی، توانایی یک میکروارگانیسم برای توقف اثر یک آنتی بیوتیک و یک علت عمده شکست در درمان بیماری های عفونی است که سبب افزایش شیوع بیماری، مرگ و میر و هزینه های مراقبت سلامت می شود (۲). میزان بالای استفاده از آنتی بیوتیک ها در اهداف درمانی در پزشکی و دامپزشکی و نیز به عنوان فاکتور رشد در پرورش حیوانات و طیور و آبزیان و نیز در کشاورزی، همچنین مکانیسم های انتقال ژن های مقاومت آنتی بیوتیکی منجر به ایجاد فشار انتخابی بالا و در نتیجه انتخاب و گسترش باکتریهای بیماریزا دارای مقاومت چند دارویی شده است (۳). عناصر متحرک ژنتیکی مانند پلاسمیدها، ترانسپوزون ها و کاست های ژنی در اینتگرون ها فاکتورهای هستند که در افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی در باکتری های بیماریزا خصوصا در میان اجزای خانواده انترو باکتریاسیه نقش دارند (۵ و ۴). اینتگرون ها عناصر ژنتیکی هستند که روی کروموزم یا پلاسمید باکتری واقع شده اند و اغلب در انتقال ژن های ایجاد کننده مقاومت دارویی نقش دارند (۶). اینتگرون ها دارای سه جزء اصلی در قسمت محافظت شده '5 (5'-CS) هستند: ژن *intI* که اینتگراز را کد می کند، یک سایت نوترکیبی اختصاصی (*attI*) و یک پروموتور که رونویسی کاست های ژنی را هدایت می کند. بیشتر اینتگرون های کلاس I شامل یک ژن مقاومت اضافی (*sul1*) در 3'-CS هستند که سبب مقاومت به سولفانامیدها می شود (۷). نقش اینتگرون ها در گسترش مقاومت چندگانه مربوط به توانایی منحصر به فرد آن ها برای بدست آوردن کاست های ژنی و بیان ژن های مرتبط با کاست است (۸). بر اساس ژن های کد کننده آنزیم های اینتگراز، پنج کلاس اینتگرون شناسایی شده که سه کلاس آنها شامل کلاس ها I، II و III اهمیت بالینی دارند (۱۰ و ۹). کلاس I اینتگرون ها بیشترین فراوانی را در سویه های بیماریزا با مقاومت چند دارویی و استفاده مداوم از آنتی بیوتیک ها در سال های اخیر تعداد آن ها را افزایش داده است (۱۱). به منظور کنترل شیوع سویه های با مقاومت چند دارویی در باکتری های ایجاد کننده عفونت به ویژه در بیماران بستری در بیمارستان، استفاده از روش های سریع و حساس جهت تعیین الگوی حساسیت و مقاومت مانند روش واکنش زنجیره ای پلیمراز Polymerase Chain Reaction (PCR) می تواند در برنامه های کنترل عفونت بیمارستانی، کوتاه شدن طول مدت بستری و کاهش میزان مرگ و میر سودمند باشد (۱۲). در مطالعات مختلف در باکتری های گرم منفی همراهی بالا میان وجود مقاومت چند دارویی و حضور اینتگرون های کلاس I گزارش شده است (۱۳). در تحقیق انجام شده در کردستان توسط سلیمی زند و همکاران ۱۰۰ درصد گونه های *کلبسیلا* دارای مقاومت چند دارویی، به روش واکنش زنجیره ای پلیمراز حامل اینتگرون های کلاس I تشخیص داده شدند (۱۴). در مطالعه ای گه در ارومیه در سویه های *پسودوموناس ائروژینوزا* جدا شده از نمونه های بالینی انجام شد، حضور اینتگرون های کلاس I با روش واکنش زنجیره ای پلیمراز در ۵۶/۳ درصد سویه های با مقاومت چند دارویی نشان داده شد (۱۵). در بررسی انجام شده در بیمارستان های انگلستان ۷۰ درصد سویه های *کلبسیلا پنومونیه* با مقاومت چند دارویی جدا شده از نمونه های بالینی، با روش واکنش زنجیره ای پلیمراز حامل اینتگرون کلاس I تشخیص داده شدند (۶). از آنجایی که درمان عفونت های ناشی ازسویه های با مقاومت چند دارویی به ویژه سویه های حمل کننده عناصر متحرک ژنتیکی مانند اینتگرون ها که نقش مهمی در

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-12]

گسترش ژن های مقاومت آنتی بیوتیکی دارند بسیار مشکل و در برخی مواقع غیر ممکن است و به دلیل اینکه در منطقه ما مطالعاتی که به بررسی این عناصر متحرک ژنتیکی در میان شایع ترین باکتری های ایجاد کننده عفونت های بیمارستانی بپردازد محدود می باشد، این مطالعه با هدف تعیین فراوانی اینتگرونهای کلاس I و بررسی کاست های ژنی اینتگرون ها در سویه های با مقاومت چند دارویی *کلبسیلا پنومونیه*ی جدا شده از نمونه های بالینی بیماران مراجعه کننده به بیمارستان شهید بهشتی کاشان انجام پذیرفت.

روش بررسی

مطالعه حاضر یک مطالعه توصیفی- تحلیلی بوده و جامعه مورد بررسی شامل ۱۸۱ سویه *کلبسیلا پنومونیه* جدا شده از ۱۹۶۰۸ نمونه بالینی بیمار (بستری/ سرپایی) مراجعه کننده به بیمارستان شهید بهشتی کاشان با عفونت باکتریایی در طی آبان ماه سال ۱۳۹۲ الی خرداد ماه ۱۳۹۳ می باشد. روش جمع آوری داده ها به روش آزمایشگاهی و با استفاده از ابزارهای پرسشنامه و چک لیست انجام شد و روش نمونه گیری به صورت غیر احتمالی مبتنی بر هدف می باشد. نمونه های بالینی شامل ادرار (۱۲۴ نمونه)، خون (۵ نمونه)، زخم (۶ نمونه)، تنفسی (۴۳ نمونه)، کاتتر (۲ نمونه) و مایع مغزی- نخاعی (۱ نمونه) بوده که از ۱۴۶ بیمار بستری در بخش های مختلف بیمارستان و نیز ۳۵ بیمار سرپایی جداسازی و جهت مطالعات میکروب شناسی به آزمایشگاه میکروب شناسی دانشکده پزشکی منتقل گردید.

کشت و جداسازی: نمونه ها روی محیط مک کانکی آگار (MacConkey agar, Merck, Germany) کشت و ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه انکوبه شدند. سپس با استفاده از رنگ آمیزی گرم و تست های استاندارد بیوشیمیایی شامل نظیر کشت در محیط کشت جامد سه قندی آهن دار (Triple Sugar Iron Agar) TSI، ایندول، متیل رد (MR)، وژس پروسکائر (VP)، سیترات، اوره و حرکت با استفاده از محیط های ساخت شرکت مرک آلمان (Merck, Germany) سویه های *کلبسیلا پنومونیه* با خصوصیات ایجاد الگوی اسید/اسید روی محیط جامد سه قندی آهن دار، ایندول منفی، متیل رد منفی، وژس پروسکائر مثبت، سیترات مثبت، اوره مثبت و حرکت منفی تشخیص داده شد (۱۶). پس از تشخیص، با استفاده از کلونی های خالص از هر یک از سویه ها، سوسپانسیون غلیظی در میکروتیوب های ۲ میلی لیتری حاوی ۱ میلی لیتر محیط تریپتیک سوی براث (TSB) Tryptic Soy Broth ساخت شرکت مرک آلمان (Merck, Germany) دارای گلیسرول با غلظت نهایی۲۰ درصد تهیه و جهت نگهداری طولانی و مطالعات بیشتر در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد ذخیره شدند.

تست حساسیت آنتی بیوتیکی: حساسیت آنتی بیوتیکی تمامی سویه ها با استفاده از روش دیسک دیفیوژن (کربی بائر) روی محیط مولر هینتون آگار و بر اساس استاندارد CLSI(Clinical and Laboratory Standard Institute) انجام شد (۱۷). از دیسک های آمپی سیلین (10 µg)، سفالوتین (30 µg)، سفوتاکسیم (30 µg)، سفتریاکسون (30 µg)، ایمی پنم (10 µg)، آزترئونام (30 µg)، جنتامایسین (10 µg)، سیپروفلوکساسین (5 µg)، نالیدیکسیک اسید (30µg)، آگمنتین (30 µg)، سفتازیدیم (30 µg)، سفوکسیتین (30 µg) (شرکت MAST ، انگلستان) استفاده شد. سویه هایی که به دو کلاس آنتی بیوتیکی و بیشتر مقاومت داشتند، به عنوان سویه MDR جداسازی شدند (۱۲). از سویه *E. coli* شماره ATCC25922 تهیه شده از انستیتو پاستور ایران به عنوان سویه کنترل جهت تست حساسیت آنتی بیوتیکی بر اساس دستورالعمل CLSI استفاده شد.

استخراج DNA: DNA سویه های MDR با روش جوشاندن (Boiling) که توسط YU و همکاران توصیف شده، استخراج شدند (۱۸) . پس از استخراج، DNA هر

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-12]

نمونه تا انجام PCR در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد.

واکنش PCR : حضور کلاس I اینتگرون و کاست های ژنی آن با استفاده از روش PCR در نمونه های MDR بررسی گردید. سکانس پرایمرهای مورد استفاده، سایز محصولات PCR و شرایط واکنش در جدول۱ ذکر شده است. برای واکنش زنجیره ای پلیمراز از مخلوط PCR Master mix شرکت تکاپو زیست استفاده شد که به هر یک از ویال ها، یک میکرولیتر از پرایمر Forward ، یک میکرولیتر پرایمر Reverse و یک میکرولیتر DNA الگو اضافه شد و سپس با آب مقطر دیونیزه به حجم ۲۰ میکرولیتر رسانده و در در دستگاه ترموسایکلر اپندورف ساخت کشور امریکا (Eppendorf, USA) قرار داده شد. محصولات PCR بر روی ژل آگارز (۱/۲ درصد وزنی/حجمی) الکتروفورز گردید، سپس با ۵ میکرولیتر اتیدیوم بروماید (۰/۵ میلی گرم/میلی لیتر) رنگ آمیزی و با دستگاه (Bio-Rad, Hemel Hempstead, UK) Trans illuminator تحت نور UV نتایج قرائت و با Ladder 100 bp نتایج تفسیر شدند. در مخلوط PCR به جای DNA نمونه، از آب مقطر به عنوان کنترل منفی و از سویه *کلبسیلا پنومونیه* دارای ژن *intI1* تهیه شده از مرکز تحقیقات میکروب شناسی انستیتو پاستور ایران و گروه میکروب شناسی دانشگاه علوم پزشکی کردستان به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید (۱۴). در نمونه های دارای ژن اینتگراز و مثبت از نظر وجود اینتگرون کلاس I ، کاست های ژنی افزوده شده در نواحی متغیر اینتگرون های کلاس I با روش PCR و استفاده از پرایمر های اختصاصی به نواحی CS-´5 و CS-´3 بررسی گردیدند.

تجزیه وتحلیل آماری :داده ها وارد نرم افزار SPSS نسخه ۱۷ شدند و سپس توسط نمودارها و جداول مرتبط توصیف شده. آزمون های مورد استفاده کای دو (Chi-square) و آزمون دقیق فیشر (Fisher exact test) بود. از آنجا که این مطالعه به صورت توصیفی اجرا شده تخمین فراوانی نسبت ها با حدود اطمینان ۹۵درصد ارائه شد. سطح معنی داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

۱۸۱ سویه *کلبسیلا پنومونیه* از نمونه های بالینی مختلف شامل ادرار (۶۸/۵ درصد)، تنفسی (۲۳/۸ درصد)، زخم (۳/۳ درصد)، خون (۲/۸ درصد)، کاتتر (۱/۱ درصد) و مایع مغزی نخاعی Cerebrospinal fluid (CSF) (۰/۶ درصد) جمع آوری شد. بیشترین تعداد نمونه مربوط به بخش مراقبت های ویژه Intensive Care Unit (ICU)(۲۴/۷ درصد) و کمترین مربوط به بخش مراقبت های ویژه قلبی Coronary Care Unit (CCU) (۴/۱ درصد) بود. از ۱۸۱ سویه *کلبسیلا پنومونیه*، ۱۵۰ سویه (۸۲/۹ درصد) MDR بودند. فراوانی الگوی مقاومت دارویی سویه های با مقاومت چند دارویی در نمودار ۱ ارائه شده است. بیشترین مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک آمپی سیلین (۹۸/۷ درصد) و کمترین مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک ایمی پنم(۲۴ درصد) دیده شد. بررسی های آماری نشان داد میان فاکتورهایی مانند جنس و نوع نمونه با مقاومت چند دارویی ارتباط معنی داری وجود دارد ($P<$۰/۰۵) (جدول ۲).

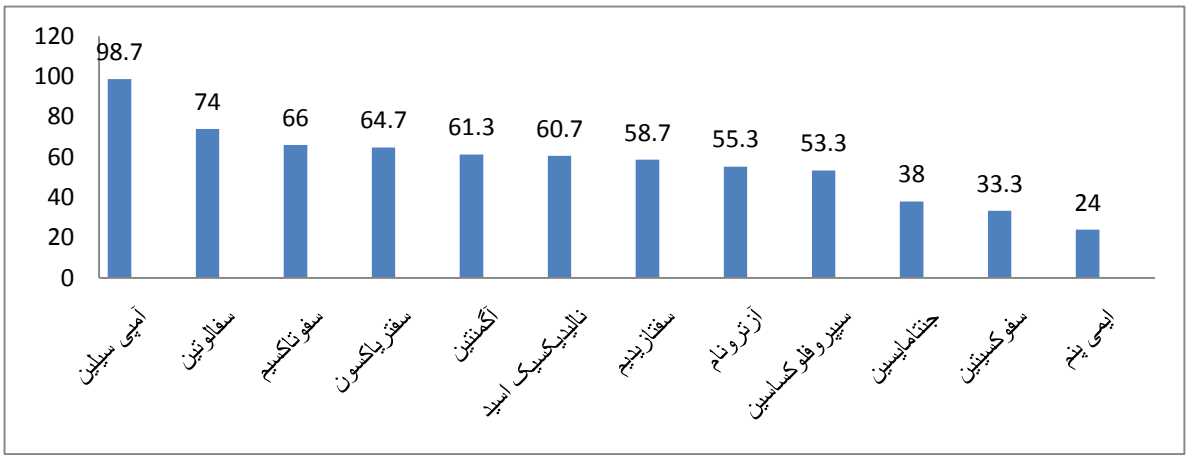
تمام ۱۵۰ سویه با مقاومت چند دارویی دارای ژن اینتگراز ۱ و اینتگرون کلاس I بودند (شیوع ۱۰۰ درصد) (شکل ۲). تعداد ۱۴۷ مورد (۹۸ درصد) از سویه های دارای اینتگرون کلاس I، حامل کاست های ژنی بودند. تعداد ۵ کاست با اندازه های به ترتیب ۲۵۴، ۷۰۸، ۱۰۰۲، ۱۵۰۰ و ۱۶۱۰ جفت باز جداسازی شد (شکل ۳). این ۵ نوع باند در قالب ۱۵ الگوی کاستی متفاوت قرار گرفته بودند که عبارتند از ۴ الگوی تک باندی شامل: ۲۵۴، ۷۰۸، ۱۵۰۰، ۱۶۱۰ جفت باز، ۸ الگوی دو باندی شامل: ۲۵۴-۷۰۸، ۲۵۴-۱۰۰۲، ۲۵۴-۱۵۰۰، ۲۵۴-۱۶۱۰، ۷۰۸-۱۰۰۲، ۷۰۸-۱۶۱۰، ۷۰۸-

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-12]

۱۵۰۰، ۱۰۰۲–۱۵۰۰ جفت باز، ۲ الگوی ۳ باندی شامل: یک الگوی ۴ باندی ۱۵۰۰–۱۰۰۲–۷۰۸–۲۵۴ (جدول ۳).
۱۶۱۰–۱۰۰۲–۷۰۸–۱۶۱۰، ۷۰۸–۲۵۴ جفت باز و در نهایت

جدول ۱: پرایمرها و شرایط آزمون PCR

ژن	توالی پرایمر(۳' به ۵')	اندازه محصول (جفت باز)	شرایط PCR	رفرانس
IntI 1(F) *IntI1(R)*	TCTCGGGTAACATCAAGG AGGAGATCCGAAGACCTC	۲۵۰	۵ دقیقه در ۹۴ درجه سانتی گراد ۳۵ چرخه دمایی شامل: ۱ دقیقه در ۹۴ درجه سانتی گراد ۱ دقیقه در ۵۵ درجه سانتی گراد ۳۰ ثانیه در ۷۲ درجه سانتی گراد ۱۰ دقیقه در۷۲ درجه سانتی گراد	۱
5'-CS *3'-CS*	GGCATCCAAGCAGCAAG AAGCAGACTTGACCTGA	متغیر	۵ دقیقه در ۹۴ درجه سانتی گراد ۳۵ چرخه دمایی شامل: ۳۰ ثانیه در ۹۴ درجه سانتی گراد ۳۰ ثانیه در ۵۵ درجه سانتی گراد ۲ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی گراد ۵ دقیقه در۷۲ درجه سانتی گراد	۱۴



نمودار ۱: درصد مقاومت آنتی بیوتیکی در سویه های *کلبسیلا پنومونیه* دارای مقاومت چندگانه آنتی بیوتیکی.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-12]

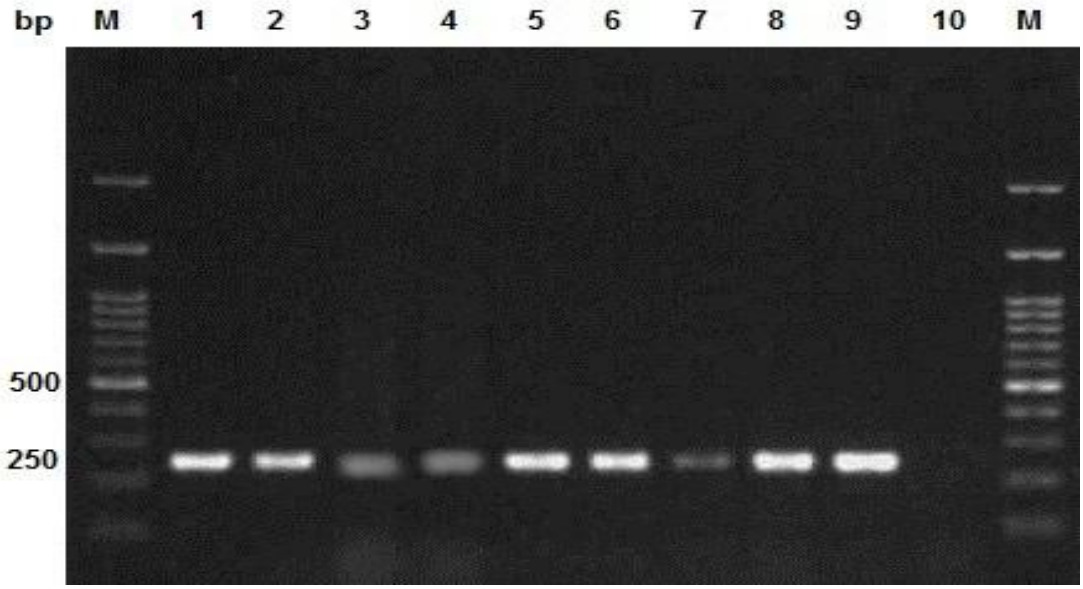
جدول ۲: رابطه میان مقاومت چند دارویی و جنس، سن، نوع نمونه ، بخش بستری و نوع مراجعه بیماران در سویه های *کلبسیلا پنومونیه* در مطالعه حاضر

فاکتورهای موثر	سویه های دارای مقاومت چند دارویی (MDRمثبت)، تعداد ۱۵۰ (درصد) تعداد	سویه های بدون مقاومت چند دارویی (MDRمنفی)، تعداد ۳۱ (درصد) تعداد	*P-Value*
جنس			
مرد	۷۲ (۴۸/۰)	۶ (۱۹/۴)	۰/۰۰۳
زن	۷۸ (۵۲/۰)	۲۵ (۸۰/۶)	
سن			
۵۰≥	۷۱ (۴۷/۳)	۱۷ (۵۴/۸)	۰/۴۴
۵۰<	۷۹ (۵۲/۷)	۱۴ (۴۵/۲)	
نوع مراجعه			
بستری	۱۲۳ (۸۲/۰)	۲۳ (۷۴/۲)	۰/۳۰
سرپایی	۲۷ (۱۸/۰)	۸ (۲۵/۸)	
نوع نمونه			
ادرار	۹۹ (۶۶/۰)	۲۵ (۸۰/۶)	۰/۰۴
تنفسی	۴۰ (۲۶/۷)	۳ (۹/۷)	
زخم	۶ (۴/۰)	۰ (۰/۰)	
مایع مغزی-نخاعی	۱ (۰/۷)	۰ (۰/۰)	
کاتتر	۲ (۱/۳)	۰ (۰/۰)	
خون	۲ (۱/۳)	۳ (۹/۷)	
بخش بستری			
ICU	۳۴ (۲۶/۷)	۲ (۸/۷)	۰/۵۸
طبی	۱۳ (۱۰/۶)	۴ (۱۷/۴)	
عفونی	۲۶ (۲۱/۱)	۳ (۱۳/۰)	
جراحی	۲۱ (۱۷/۱)	۳ (۱۳/۰)	
زنان و زایمان	۸ (۶/۵)	۲ (۸/۷)	
اطفال	۱۰ (۸/۱)	۵ (۲۱/۷)	
اورژانس	۸ (۶/۵)	۱ (۴/۳)	
CCU	۳ (۴/۲)	۳ (۱۳/۰)	

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-12]

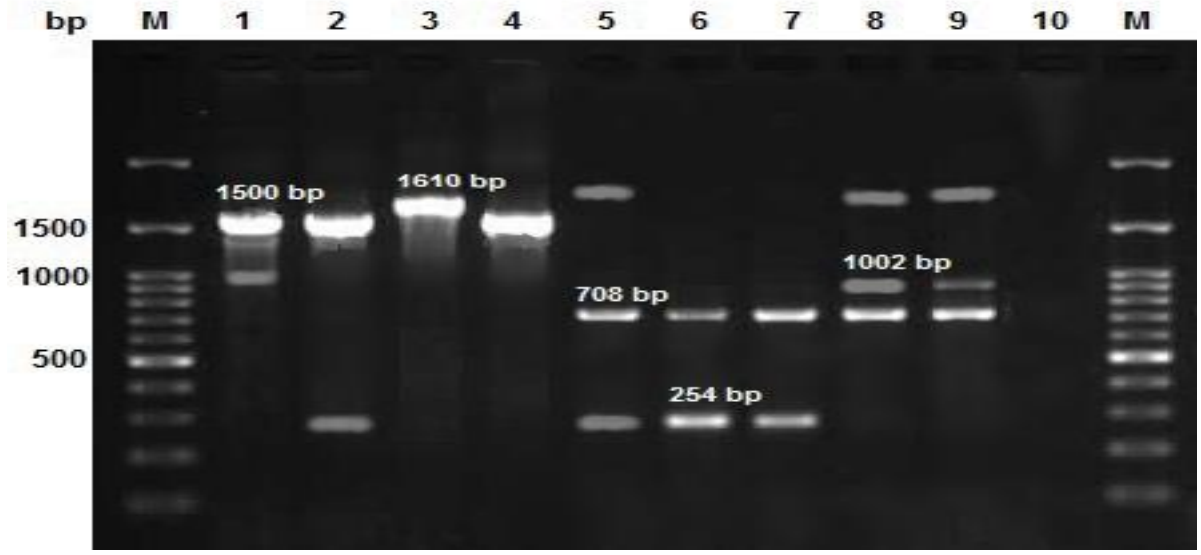
جدول ۳: میزان شیوع الگوهای کاست های ژنی موجود در اینتگرون کلاس ۱

کاست های ژنی	تعداد سویه (درصد)
بدون کاست	۳ (۲)
تک باندی ها	۵۵ (۳۶/۷)
دو باندی ها	۶۶ (۴۴)
سه باندی ها	۱۷(۱۱/۳)
چهار باندی	۹ (۶)
جمع	**۱۵۰ (۱۰۰)**



شکل ۲: سویه *کلبسیلا پنومونیه* با مقاومت چند دارویی جدا شده از نمونه های بالینی دارای ژن *intI1*. ستون M: DNA سایز مارکر ۱۰۰ جفت بازی؛ ستون های ۸-۱: سویه های *کلبسیلا پنومونیه* با مقاومت چند دارویی دارای ژن *intI1*؛ ستون ۹: سویه کنترل مثبت دارای ژن *intI1*؛ ستون ۱۰: کنترل منفی شامل مخلوط واکنش PCR بدون DNA الگو.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-12]



شکل ۳: سویه های *کلبسیلا پنومونیه* دارای اینتگرون کلاس I، حامل کاست های اینتگرون با ۵ اندازه مختلف شامل ۲۵۴، ۷۰۸، ۱۰۰۲، ۱۵۰۰ و ۱۶۱۰ جفت بازی جدا شده از نمونه های بالینی. ستون M: DNA سایز مارکر ۱۰۰ جفت بازی؛ ستون ۱: سویه *کلبسیلا پنومونیه* دارای کاست های اینتگرون ۱۵۰۰ و ۱۰۰۲ جفت بازی؛ ستون ۲: سویه *کلبسیلا پنومونیه* دارای کاست های اینتگرون ۲۵۴ و ۱۵۰۰ جفت بازی؛ ستون ۳: سویه *کلبسیلا پنومونیه* دارای کاست اینتگرون ۱۶۱۰ جفت بازی؛ ستون ۴: سویه *کلبسیلا پنومونیه* دارای کاست اینتگرون ۱۵۰۰ جفت بازی؛ ستون ۵: سویه *کلبسیلا پنومونیه* دارای کاست های اینتگرون ۲۵۴، ۷۰۸ و ۱۶۱۰جفت بازی؛ ستون های ۷و ۶: سویه های *کلبسیلا پنومونیه* دارای کاست های اینتگرون ۷۰۸و ۲۵۴ جفت بازی؛ ستون های ۹و ۸: سویه های *کلبسیلا پنومونیه* دارای کاست های اینتگرون ۷۰۸، ۱۰۰۲ و ۱۶۱۰ جفت بازی؛ ستون ۱۰: کنترل منفی شامل مخلوط واکنش PCR بدون DNA الگو.

بحث

سطح مقاومت آنتی بیوتیکی در بین سویه های کسب شده از جامعه و بیمارستان رو به افزایش است و این امر یک مشکل بزرگ و جهانی می باشد (۱۹). در مطالعه حاضر مقاومت چند دارویی در میان سویه های *کلبسیلا پنومونیه* جدا شده از نمونه های بالینی شیوع بالایی را نشان داد (۸۲/۹ درصد) که با نتایج بدست آمده در مطالعه آهنگرزاده و همکاران (۱) با شیوع ۹۹/۳ درصد، مطالعه Taher و همکاران (۹) با شیوع ۸۷ درصد هماهنگی داشت. ینتگرون ها به عنوان عناصر ژنتیکی متحرک نقش مهمی در گسترش و انتقال ژن های مقاومت در بین سویه ها و گونه های باکتری ها به ویژه باکتری های گرم منفی ایفا می کنند (۱۳). در مطالعات مختلف همراهی بسیار بالا میان حضور اینتگرون و مقاومت چند دارویی گزارش شده است (۲۰).

نتایج این بررسی نشان داد تمامی سویه های *کلبسیلا پنومونیه* با مقاومت چند دارویی، از نظر حضور اینتگرون کلاس I مثبت می باشند. در مطالعه سلیمی زند و همکاران نیز همانند مطالعه حاضر ۱۰۰ درصد سویه های *کلبسیلا* با مقاومت چند دارویی جدا شده از نمونه های بالینی در بیمارستان های کردستان دارای اینتگرون کلاس I بودند (۱۴). در سایر مطالعات در مناطق مختلف نیز حضور اینتگرون کلاس I و ایجاد فنوتیپ مقاومت چند دارویی به ویژه در باکتری های گرم منفی جدا شده از نمونه های بالینی تایید شده است (۲۲و ۲۱و ۵). از آنجا که اینتگرون ها بسیار در انتقال ژن های مقاومت دخیل هستند شیوع بسیار بالای آنها در میان سویه های *کلبسیلا پنومونیه* با مقاومت چند دارویی خطر گسترش سریع سویه های فوق را در محیط های بیمارستانی نشان می دهد. در سویه های *کلبسیلا پنومونیه* در این مطالعه

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-12]

۲۴ درصد مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک ایمی پنم دیده شد. در مطالعات سلیمی زند و همکاران در کردستان و نیز درخشان و همکاران در تهران برخلاف مطالعه حاضر هیچ یک از سویه های *کلبسیلا پنومونیه* جدا شده از نمونه های بالینی و کودکان به ترتیب به ایمی پنم مقاومت نشان ندادند (۱۴و ۸). با توجه به اینکه ایمی پنم داروی انتخابی و آخرین حربه در درمان عفونت های گرم منفی مقاوم به سفالوسپورین های نسل سوم می باشد وجود این درصد بالای مقاومت به چنین آنتی بیوتیک با ارزشی بسیار نگران کننده بوده و احتمال گسترش از طریق عناصر متحرک این خطر را بیشتر می سازد. شیوع اینتگرون ها میان ایزوله های گرم منفی از بیماران در اروپا بالا است، گزارشات از کشورهای آسیایی همچنین شیوع بالای کلاس I اینتگرون را در سویه های کلینیکی گرم منفی ذکر کرده اند (۲۳). در مطالعه ما نیز شیوع بسیار بالای اینتگرون کلاس I مشاهده شد، که با مطالعه سلیمی زند و همکاران (۱۴) با شیوع ۱۰۰ درصد ، مطالعه آهنگرزاده و همکاران (۱) با شیوع ۷۸/۵ درصد و مطالعه Taher و همکاران (۹) با شیوع ۸۸ درصد هماهنگی دارد. البته شیوع پایین تر در برخی مطالعات نظیر مطالعه مبارک قمصری و همکاران (۲۴) با شیوع ۴۴ درصد، مطالعه مولانا و همکاران (۲۵) با شیوع ۳۶/۶ درصد همچنین مطالعه درخشان و همکاران (۸) با شیوع ۲۵/۷ درصد گزارش شده است. نتایج حاصل از تعیین کاست های ژنی اینتگرون های کلاس I حاکی از وجود ۱۵ الگوی مختلف کاستی در سویه های *کلبسیلا پنومونیه* تحت مطالعه می باشد. وجود الگوی های مختلف کاستی در سایر مطالعات نیز گزارش شده و نشان می دهد انواع متفاوت اینتگرون کلاس I در منطقه ما وجود دارد (۱۳و ۵). هم چنین بررسی الگوی باندها نشان داد که اینتگرون ها می توانند، چندین کاست ژنی را همزمان با یکدیگر حمل کنند. در سایر مطالعات نیز حضور همزمان چندین کاست ژنی با یکدیگر نشان داده شده و نشان دهنده پتانسیل بالای سویه های فوق در انتشار ژن های مقاومت به چندین آنتی بیوتیک در میان سویه های ایجاد کننده عفونت بالینی می باشد (۲۷و ۲۶). وجود اینتگرون های فاقد کاست ژنی نیز در این مطالعه پتانسیل بالقوه سویه های *کلبسیلا پنومونیه* موجود در منطقه مورد مطالعه ما را جهت کسب کاست های حامل ژن های مقاومت آنتی بیوتیکی نشان می دهد که این ویژگی به ویژه در محیط های با فشار انتخابی بالا مانند مراکز درمانی اهمیت بیشتری می یابد.

نتیجه گیری

یافته های مطالعه حاضر نشان داد، مقاومت چند دارویی در میان سویه های *کلبسیلا پنومونیه* جدا شده در مراکز درمانی در منطقه ما شیوع بالایی دارد، به علاوه اینتگرون های کلاس I و کاست های ژنی الحاق شده در آنها در سویه های *کلبسیلا پنومونیه* MDR با شیوع بسیار بالا حضور دارند که تغییر سیاست درمانی عفونت های ناشی از سویه های فوق و استراتژی های کنترلی دقیق را می طلبد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه قسمتی از پایان نامه کارشناسی ارشد میکروب شناسی می باشد و با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی کاشان انجام گردیده است (شماره طرح: ۹۲۱۵۶)، لذا از معاونت پژوهشی و کارکنان آزمایشگاه گروه میکروب شناسی و ایمنی شناسی به ویژه آقای محمد پور بابایی جهت همکاری در انجام این تحقیق تشکر و قدردانی می گردد.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-12]

References

1. Ahangarzadeh-Rezaee M, Langarizadeh N, Aghazadeh M. First report of class 1 and class 2 integrons in multidrug-resistant Klebsiella pneumoniae isolates from northwest Iran. Japanese Journal of Infectious Diseases 2012; 65: 256-9.
2. Bouza E, Cercenado E. Klebsiella and Enterobacter: antibiotic resistance and treatment implications. Seminars in Respiratory Infections 2002; 17: 215-30.
3. Nikaido H. Multidrug resistance in bacteria. Annuals Review of Biochemistry 2009; 78: 119–46.
4. Lim KT, Yeo CC, Yasin RM, Balan G, Thong KL. Characterization of multidrug-resistant and extended-spectrum β-lactamase-producing Klebsiella pneumoniae strains from Malaysian hospitals. Journal of Medical Microbiology 2009; 58: 1463–9.
5. Li B, Hu Y, Wang Q, Yi Y, Woo PCY, Jing H, et al. Structural diversity of class 1 integrons and their associated gene cassettes in Klebsiella pneumoniae isolates from a hospital in China. PLOS One 2013; 9: e75805.
6. Rao AN, Barlow M, Clark LA, Boring JR, Tenover FC, McGowan JE. Class 1 Integrons in resistant Escherichia coli and Klebsiella spp. US Hospitals. Emerging Infectious Diseases 2006; 12: 1011-14.
7. Kor SB, Choo QC, Chew CH. New integron gene arrays from multiresistant clinical isolates of members of the Enterobacteriaceae and Pseudomonas aeruginosa from hospitals in Malaysia. Journal of Medical Microbiology 2013; 62:412–20.
8. Derakhshan S, Najar Peerayeh Sh, Fallah F, Bakhshi B, Rahbar M, Ashrafi A. Detection of class 1, 2, and 3 integrons among Klebsiella pneumoniae isolated from children in Tehran hospitals. Archives of Pediatric Infectious Diseases 2013; 1: 164-8.
9. Taher T, Rezwana S, James D. Multiple-antibiotic resistance mediated by plasmids and integrons in uropathogenic Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae. Bangladesh Journal Microbiology 2007; 24: 19-23.
10. Chowdhury PR, Ingold A, Vanegas N, Martínez E, Merlino J, Merkier AK, et al. Dissemination of multiple drug resistance genes by class 1 integrons in Klebsiella pneumoniae isolates from four countries: a comparative study. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2011; 55: 3140–9.
11. Partridge SR, Tsafnat G, Coiera E, Iredel JR. Gene cassettes and cassette arrays in mobile resistance integrons. FEMS Microbiology Reviews 2009; 33: 757-84.
12. Frickmann H, Masanta WO, Zautner AE. Emerging rapid resistance testing methods for clinical microbiology laboratories and their potential impact on patient management. BioMed Research International 2014; 2014: 1-19.
13. Firoozeh F, Zahraei-Salehi T, Shahcheraghi F, Karimi V, Aslani MM. Characterization of class I integrons among Salmonella enterica serovar Enteritidis isolated from human and poultry. FEMS Immunology and Medical Microbiology 2011; 64: 237–43.
14. Salimizand H, Shahcheraghi F, Kalantar E, Badmasti F. Molecular characterization of class 1 integrons and gene cassettes in multidrug resistant (MDR) Klebsiella spp. isolated from hospitalized and outpatients in Iran, 2009. Iranian Journal of Microbiology 2013; 5: 48-55.
15. Yousefi S, Nahaei MR, Farajnia S, Ghojazadeh M, Akhi MT, Sharifi Y, et al. Class 1 integron and imipenem resistance in clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa: prevalence and antibiotic susceptibility. Iranian Journal of Microbiology 2010; 2: 115–21.
16. Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G. Textbook of Diagnostic Microbiology, 4th edition, Saunders Company: Philadelphia, 2011.p.427-61.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-12]

17. Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance standards for antimicrobial. Wayne PA, USA 2013. 23th information supplement, M100-S23.
18. Yu HS, Lee JC, Kang HY, Ro DW, Chung JY, Jeong YS, et al. Changes in gene cassettes of class 1 integrons among Escherichia coli isolates from urine specimens collected in Korea during the last two decades. Journal of Clinical Microbiology 2003; 41: 5429–33.
19. Eslami G, Seyedjavadi S, Goudarzi H, Fallah F, Goudarzi M. Distribution of integrons among multidrug resistant E. coli and Klebsiella strains. Research in Medicine 2010; 34: 61-5.
20. Khan AA, Ponce E, Nawaz MS, Cheng CM, Khan JA, West CS. Identification and characterization of class 1 integron resistance gene cassettes among Salmonella strains isolated from imported seafood. Applied and Environmental Microbiology 2009; 4: 1192–6.
21. Firoozeh F, Shahcheraghi F, Zahraei-Salehi T, Karimi, V, Aslani MM. Characterization of antimicrobial resistance profile and class I integrongs among Salmonella enterica serovars isolated from human clinical specimens in Tehran, Iran. Iranian Journal of Microbiology 2011; 3:112–17.
22. Taherikalani M, Maleki A, Sadeghifard N, Mohammadzadeh D, Soroush S, Asadollahi P, et al. Dissemination of class 1, 2 and 3 integrons among different multidrug resistant isolates of Acinetobacter baumannii in Tehran hospitals, Iran. Polish Journal of Microbiology 2011; 60: 169–74.
23. Wua K, Wanga F, Suna J, Wanga Q, Chenb Q, Yub S, et al. Class 1 integron gene cassettes in multidrug-resistant Gram-negative bacteria in southern China. International Journal of Antimicrobial Agents 2012; 40: 264–7.
24. Mobarak-Qamsari M, Ashayeri-Panah M, Eftekhar F, Feizabadi MM. Integron mediated multidrug resistance in extended spectrum beta-lactamase producing clinical isolates of Klebsiella pneumoniae. Brazilian Journal of Microbiology 2013; 44: 849-54.
25. Molana Z, Ferdosi Shahandashti E, Gharavi S, Shafii M, Norkhomami S, Ahangarkani F, et al. Molecular investigation of class I integron in Klebsiella pneumoniae isolated from intensive care unit (Shahid Beheshti hospital of Babol 2010). Journal of Babol University of Medical Sciences 2010; 13:7-13, [In Persian].
26. Lima AM, de Melo ME, Alves LC, Brayner FA, Lopes AC. Investigation of class 1 integrons in Klebsiella pneumoniae clinical and microbiota isolates belonging to different phylogenetic groups in Recife, State of Pernambuco. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 2014; 47:165-9.
27. Chang CY, Fang YT, Tsai SM, Chang LL, Yu WL. Characterization of class 1 integrons and gene cassettes in clinical isolates of Klebsiella pneumoniae from Taiwan. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 2009; 65: 214–16.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-12]