JAMS
Journal of Arak University of Medical Sciences
2019; 21(7)
Journal Homepage: http://jams.arakmu.ac.ir

ORIGINAL RESEARCH

Integron-associated Antibiotic Resistance in Clinical Isolates of *Klebsiella* from Karaj

Hiva Saki [1], Azam Haddadi [1*], Mahmoud Shavandi [2]

1. Department of Microbiology, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran.
2. Microbiology and Biotechnology Research Group, Research Institute of Petroleum Industry, Tehran, Iran.

ARTICLE INFORMATION

Article history

Received: *07 May 2018*

Accepted: *13 June 2018*

Published online: *04 February 2019*

Keywords

Antibiotic resistance
Integron
Klebsiella

**** Corresponding Author:***

Azam Haddadi; P.O. Box 31485-313, Imam Ali Complex, Moazen and Esteghlal Junc, End of Rajaei Shahr, Karaj, Iran.

Fax: *+98 26 3441 8156*

Email: *haddadi@kiau.ac*

ABSTRACT

Background and Aim: In recent years, Multidrug resistance has been increasing among *Klebsiella* isolates. The aim of this study was to survey existence of integrons and its relation with antibiotic resistance among clinical isolates of *Klebsiella*.

Materials and Methods: From Jun 2015 to May 2016, 129 *Klebsiella* isolates collected from Karaj hospitals and laboratories. Statistical population included 80.6% female and 19.4% male. Antimicrobial susceptibility was performed using Kirby-Bauer disk diffusion and ESBLs producer were screened. Integrons were detected using PCR.

Ethical Considerations: This study with research ethics code IR.IAU.K.REC.1396.16 has been approved by research ethics committee at Islamic Azad University of Karaj, Iran.

Findings: The highest and lowest percentage of sensivity were found to ofloxacin (89.1%) and amoxcicillin (6.2%), respectively. 82.9% of isolates were resistant to more than two antibiotics from different classes. Among 129 isolates, 19.3% of the isolates harbour integrons. Frequencies of MDR among integron-positive isolates were 100%. Also, 71.3% and 28.7% of isolates were ESBLs positive and negative respectively.

Conclusion: Results showed integron elements were prevalent among MDR isolates. Integron-associated resistance genes can be served as reservoirs of multi drug resistance within clinical isolates and presence of integron can be used as a marker to identify MDR isolates. Prevalence of ESBLs among clinical isolates of *Klebsiella* showed that antibiotics like ampicillin or amoxicillin-clavulanic acid are not effecvtive anymore in treatment of UTIs.

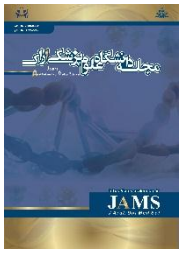
© Copyright (2019) Arak University of Medical Sciences

Use your device to scan and read this article online:

Saki H., Haddadi A., Shavandi M. Integron-associated Antibiotic Resistance in Clinical Isolates of *Klebsiella* from Karaj. J Arak Uni Med Sci. 2019; 21(7): 48-57.

This open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution NonCommercial 4.0 License (CC BY-NC 4.0).

JAMS
مجله دانشگاه علوم پزشکی اراک
دوره بیست و یک، شماره هفت، بهمن و اسفند ۱۳۹۷
journal homepage: http://jams.arakmu.ac.ir



مقاله پژوهشی

بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی وابسته به اینتگرون در ایزوله‌های بالینی کلبسیلا جمع‌آوری‌شده از شهر کرج

هیوا ساکی[۱]، اعظم حدادی[۱*]، محمود شوندی[۲]

۱. گروه میکروبیولوژی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران.

۲. گروه حفاظت محیط زیست، پژوهشگاه صنعت نفت، تهران، ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۲/۱۷

تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۳/۲۳

تاریخ انتشار: ۹۷/۱۱/۱۵

واژگان کلیدی

اینتگرون

عفونت ادراری

کلبسیلا

مقاومت آنتی‌بیوتیکی

***نویسنده مسئول:**

اعظم حدادی

آدرس پستی: ایران، کرج، انتهای رجایی شهر، تقاطع بلوار موذن و استقلال، مجتمع دانشگاهی امیرالمومنین (ع)، کد پستی: ۳۱۳-۳۱۴۸۵.

نمابر: 8156 3441 26 98+

E-mail: haddadi@kiau.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: مقاومت چندگانه آنتی‌بیوتیکی در سال‌های اخیر در ایزوله‌های کلبسیلا افزایش یافته است. هدف از این مطالعه، بررسی حضور ژن اینتگرون و رابطه آن با مقاومت آنتی‌بیوتیکی درایزوله‌های بالینی کلبسیلا مولد عفونت ادراری بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه که از خرداد ۹۴ تا اردیبهشت ۹۵ به طول انجامید، ۱۲۹ ایزوله بالینی از نمونه‌های ادراری در مراکز درمانی و بیمارستان‌های کرج جداسازی گردید. جامعه آماری شامل ۸۰/۶ درصد زن و ۱۹/۴ درصد مرد بود. برای تمام ایزوله‌ها تست آنتی‌بیوگرام با روش دیسک دیفیوژن انجام شد. توانایی تولید ESBLs سنجیده شد و ایزوله‌ها از نظر حضور ژن اینتگرون با روش PCR بررسی شدند.

ملاحظات اخلاقی: این مطالعه با کد IR.IAU.K.REC.1396.16 به تصویب کمیته اخلاق پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی کرج رسیده است.

یافته‌ها: بیشترین حساسیت آنتی‌بیوتیکی به افلوکساسین (۸۹/۱ درصد) و کمترین حساسیت به آموکسی‌سیلین (۶/۲ درصد) گزارش شد. از این تعداد ۸۲/۹ درصد ایزوله‌ها به بیش از دو آنتی‌بیوتیک از کلاس متفاوت مقاوم بودند. از میان ۱۲۹ ایزوله پس از بررسی مولکولی، ۱۹/۳ درصد حاوی ژن اینتگرون تشخیص داده شد و شیوع مقاومت چندگانه آنتی‌بیوتیکی (MDR) در بین ایزوله‌های حاوی اینتگرون ۱۰۰ درصد بود. هم‌چنین از این تعداد، ۷۱/۳ درصد ایزوله‌ها توانایی تولید ESBLs را داشتند و ۲۸/۷ درصد فاقد این توانایی بودند.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد اینتگرون‌ها در بین ایزوله‌های MDR شایع می‌باشند. ژن‌های مقاومت وابسته به اینتگرون می‌توانند مخزنی برای شیوع مقاومت چندگانه آنتی‌بیوتیکی در بین ایزوله‌های بالینی باشند و اینتگرون‌ها می‌توانند به عنوان مارکری برای شناسایی ایزوله‌های MDR استفاده شوند. نتایج از فراوانی ESBLs در بین ایزوله‌های بالینی کلبسیلا و عدم کارآمدی آنتی‌بیوتیک‌هایی نظیر آمپی‌سیلین-کلاونیک اسید و آموکسی‌سیلین در درمان عفونت‌های ادراری حکایت دارد.

تمامی حقوق انتشار این اثر، متعلق به دانشگاه علوم پزشکی اراک می‌باشد.

۱. مقدمه

کلبسیلا پنومونیه یک باسیل گرم منفی از اعضای خانواده انتروباکتریاسه می‌باشد و از عوامل شایع عفونت‌های بیمارستانی محسوب می‌شود (۱). ظهور و گسترش مقاومت چندگانه آنتی‌بیوتیکی کلبسیلا پنومونیه به ویژه سویه‌های مولد ESBLs (Extended Spectrum Beta Lactamases) اغلب عامل شکست درمان آنتی‌بیوتیکی در بیمارستان‌ها هستند (۲). ظهور مقاومت به عوامل ضدمیکروبی در باکتری‌های بیماری‌زا به تهدید مهمی برای بهداشت عمومی جامعه تبدیل شده است. پدیده مقاومت دارویی چندگانه (MDR) مشکلی مهم در میان باکتری‌های بیماری‌زاست که با افزایش مرگ و میر و بیماری‌زایی در سراسر جهان همراه شده است.

شیوع مقاومت ضدمیکروبی در باکتری‌ها، یک فرآیند پیچیده مشتمل بر تنوع گوناگونی از مکانیسم‌هاست. باکتری حساس ممکن است مقاومت را از طریق موتاسیون یا انتقال ژن‌های مقاومت روی عوامل ژنتیکی متحرک کسب کند (۳).

عوامل ژنتیکی متحرکی مانند ترانسپوزون‌ها برای حمل واحدهای ژنتیکی گزارش شده که اینتگرون نامیده می‌شوند و حاوی ژن‌هایی برای سایت نوترکیبی اختصاصی و قابلیت دریافت و تحرک کاست‌های ژنی هستند. این واحدهای متحرک را می‌توان به دو گروه اصلی تقسیم کرد: سوپراینتگرون‌ها و اینتگرون‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی (ARI). انتشار ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی در میان باکتری‌ها می‌تواند از طریق عوامل ژنتیکی متحرک محتوی ARIs ها رخ دهد (۴).

کاست‌های ژنی وقتی در اینتگرون ادغام می‌شوند تبدیل به بخشی از اینتگرون می‌شوند. اگرچه اینتگرون‌ها متحرک نیستند ولی می‌توانند در میان باکتری‌ها از طریق ترانسپوزون‌ها یا پلاسمیدهایی که در باکتری‌ها حضور دارند، انتقال یابند. بر این اساس اینتگرون‌ها یک مکانیسم عمده برای گسترش مقاومت چندگانه دارویی هستند (۳).

مطالعات متعددی شیوع اینتگرون‌ها در ایزوله‌های اشریشیا کولای و کلبسیلای دارای مقاومت دارویی چندگانه را در سراسر جهان بررسی کرده‌اند. این مطالعات ارتباط معناداری بین حضور اینتگرون‌ها و مقاومت آنتی‌بیوتیکی یافته‌اند. از آن‌جایی‌که در شهر مهاجرپذیر کرج مطالعه‌ای در مورد گسترش اینتگرون‌ها و ارتباطشان با MDR در ایزوله‌های بالینی کلبسیلا صورت نگرفته است، هدف از این مطالعه بررسی شیوع اینتگرون‌ها در ایزوله‌های بالینی کلبسیلا جمع‌آوری شده از چندین بیمارستان و آزمایشگاه تشخیص طبی در سطح شهر کرج و بررسی الگوی مقاومت دارویی چندگانه در بین این ایزوله‌ها و ارتباط مابین الگوی MDR و حضور اینتگرون‌ها بود.

۲. مواد و روش‌ها

در این مطالعه‌ی مشاهده‌ای-توصیفی که در یک بازه زمانی ۱۱ ماهه (از خرداد ۹۴ تا اردیبهشت ۹۵) صورت گرفته در مجموع ۱۳۵ ایزوله از نمونه‌های ادراری بیماران بستری و سرپایی مراجعه‌کننده به چند بیمارستان و آزمایشگاه تشخیص طبی در شهر کرج جداسازی شده است. شناسایی ایزوله‌های کلبسیلا بر اساس رنگ‌آمیزی گرام، انجام تست بیوشیمیایی و استفاده از محیط‌های افتراقی و اختصاصی انجام گرفت. آنتی‌بیوگرام به روش کربی بائر با استفاده از ۱۹ دیسک آنتی‌بیوتیکی رایج انجام شد. دیسک‌های مورد استفاده عبارت بودند از: افلوکساسین (۵ میکروگرم)، ایمی‌پنم (۱۰ میکروگرم)، کلرامفنیکل (۳۰ میکروگرم)، نورفلوکساسین (۱۰ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، سولفامتاکسازول-تری‌متوپریم (۲۵ میکروگرم)، سفتریاکسون (۳۰ میکروگرم)، سفتی‌زوکسیم (۳۰ میکروگرم)، سفتازیدیم (۳۰ میکروگرم)، نالیدیکسیک‌اسید (۳۰ میکروگرم)، آمیکاسین (۳۰ میکروگرم)، تتراسایکلین (۳۰ میکروگرم)، سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرم)، سفالکسین (۳۰ میکروگرم)، سفالوتین (۳۰ میکروگرم)، نیتروفورانتوئین (۳۰۰ میکروگرم)، آموکسی‌سیلین-کلاونیک اسید (۲۰/۱۰ میکروگرم) و آموکسی‌سیلین (۱۰ میکروگرم) (شرکت پادتن طب) که پس از گرمخانه‌گذاری پلیت‌ها به مدت ۱۸ ساعت در ۳۷ درجه سلسیوس قطر هاله عدم رشد اطراف باکتری با استفاده از خط‌کش آنتی‌بیوگرام اندازه‌گیری گردید. در این مرحله نیز تست روتین کنترل کیفیت

توسط سوش استاندارد K.pneumoniae ATCC 700603 به صورت روزانه یا هفتگی انجام گرفت. شناسایی ایزوله‌های کلبسیلا مولد ESBLs با روش‌های پیشنهادی CLSI یعنی روش غربال‌گری اولیه توسط سه دیسک آنتی‌بیوتیکی سفتازیدیم، سفوتاکسیم و سفتریاکسون (ساخت شرکت پادتن طب) و هم‌چنین آزمایش تاییدی توسط دیسک‌های ترکیبی سفتازیدیم، سفتازیدیم-کلاونیک اسید و سفوتاکسیم، سفوتاکسیم-کلاونیک اسید (ساخت شرکت پادتن طب) روی محیط کشت مولر هینتون آگار (ساخت شرکت کوندا) انجام گرفت (۵).

استخراج DNA و واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

DNA نمونه‌های شناسایی شده به عنوان کلبسیلا با استفاده از روش جوشاندن استخراج شدند (۶) و جهت انجام واکنش مورد استفاده قرار گرفتند. پرایمرهای استفاده شده جهت شناسایی ژن اینتگرون عبارت بودند از: hep35 5'-TGCGGGTYAARGATBTKGATTT-3' و hep36 5'-CARCACATGCGTRTARAT-3' که در آن‌ها B=C or G=T, K=G or T, R=A or G, Y=C or T است (۷). مخلوط واکنش در حجم نهایی ۳۰ میکرولیتر حاوی: ۱۵ میکرولیتر مسترمیکس، ۳ میکرولیتر از هر پرایمر، ۵ میکرولیتر آب مقطر و ۴ میکرولیتر از DNA و واکنش PCR برای ژن اینتگرون به صورت واسرشته‌سازی اولیه در ۹۴ درجه به مدت ۴ دقیقه، سپس در ۴۰ دور PCR به ترتیب واسرشته‌سازی ۹۴ درجه سیلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال پرایمر در ۴۸ درجه سیلسیوس به مدت ۵۰ ثانیه، طویل سازی در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه و ۲۰ ثانیه و در نهایت طویل‌سازی نهایی در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ده دقیقه انجام شد. محصولات PCR در ژل آگارز ۱/۴ درصد توسط دستگاه ترانس لومیناتور مشاهده شدند. هم‌چنین برای شناسایی باند مربوطه از مارکر ۱۰۰bp (شرکت سیناکلون) استفاده شد (۲).

۳. ملاحظات اخلاقی

این مطالعه با کد IR.IAU.K.REC.1396.16 به تصویب کمیته اخلاق پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی کرج رسیده است.

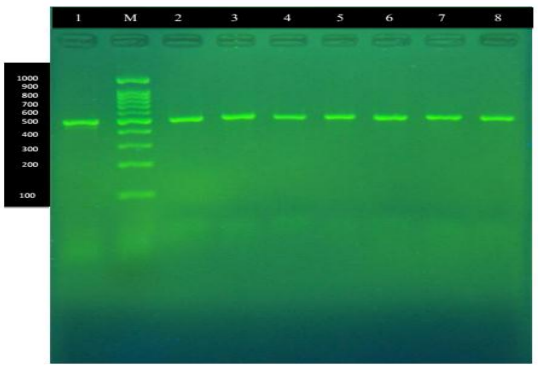
۴. یافته‌ها

از مجموع ۱۳۵ ایزوله جمع‌آوری شده از بیمارستان‌های البرز، کسری، قایم، امام خمینی و مراکز تشخیص طبی پویش، صبا و نوین در شهر کرج به عنوان نمونه کلبسیلا مثبت، پس از انجام تست‌های تأییدی تعداد ۱۲۹ نمونه کلبسیلا مورد تایید قرار گرفتند. از ۱۲۹ نمونه جمع‌آوری شده، ۱۰۴ نمونه (۸۰/۶ درصد) مربوط به زنان و ۲۵ نمونه (۱۹/۴ درصد) مربوط به مردان بودند، مطابق جدول ۱، افلوکساسین با حساسیت ۸۹/۱ درصد موثرترین آنتی‌بیوتیک و آموکسی‌سیلین با حساسیت ۶/۲ درصد غیرموثرترین آنتی‌بیوتیک در شرایط آزمایشگاهی بودند.

جدول ۱. توزیع فراوانی مقاومت آنتی‌بیوتیکی کلبسیلا به روش کربی-بائر

آنتی‌بیوتیک	حساس	نیمه حساس	مقاوم	درصد حساس	درصد نیمه حساس	درصد مقاوم
AN آمیکاسین	۸۹	۲۷	۱۳	۶۹	۲۰/۹	۱۰/۱
CP سیپروفلوکساسین	۹۸	۱۷	۱۴	۷۶/۰	۱۳/۲	۱۰/۹
NOR نورفلوکساسین	۱۱۰	۸	۱۱	۸۵/۳	۶/۲	۸/۵
OFX افلوکساسین	۱۱۵	۱	۱۳	۸۹/۱	۰/۸	۱۰/۱
NA نالیدیکسیک اسید	۹۰	۲۳	۱۶	۶۹/۸	۱۷/۸	۱۲/۴
C کلرامفنیکل	۱۱۱	۵	۱۳	۸۶/۰	۳/۹	۱۰/۱
IMP ایمی‌پنم	۱۱۱	۳	۱۵	۸۶/۰	۲/۳	۱۱/۶
CT سفتی‌زوکسیم	۹۶	۹	۲۴	۷۴/۴	۷/۰	۱۸/۶
GM جنتامایسین	۱۰۹	۶	۱۴	۸۴/۵	۴/۷	۱۰/۹
FM نیتروفورانتوئین	۲۷	۲۸	۷۲	۲۲/۵	۲۱/۷	۵۵/۸
CRO سفتریاکسون	۹۷	۷	۲۵	۷۵/۲	۵/۴	۱۹/۴
CTX سفوتاکسیم	۸۶	۱۷	۲۶	۶۶/۷	۱۳/۲	۲۰/۲
TE تتراسایکلین	۸۹	۷	۳۳	۶۹/۰	۵/۴	۲۵/۶
CF سفالوتین	۷۸	۱۰	۴۱	۶۰/۵	۷/۸	۳۱/۸
CN سفالکسین	۸۱	۱۶	۳۲	۶۲/۸	۱۲/۴	۲۴/۸
AMC آموکسی‌سیلین-کلاونیک اسید	۲۳	۴۸	۵۸	۱۷/۸	۳۷/۲	۴۵/۰
SXT سلفومتاکسازول-تریمتوپرایم	۹۷	۴	۲۸	۷۵/۲	۳/۱	۲۱/۷
AMX آموکسی‌سیلین	۸	۱	۱۲۰	۶/۲	۰/۸	۰/۸
CAZ سفتازیدیم	۹۶	۶	۲۷	۷۴/۴	۴/۷	۲۰/۹

از ۱۲۹ نمونه جمع‌آوری شده، درصد ایزوله‌های مقاوم به دو آنتی‌بیوتیک غیر هم خانواده (MDR) ۸۲/۹ درصد می‌باشد. از تعداد ۱۲۹ نمونه،۹۲ نمونه ESBLs مثبت (۷۱/۳ درصد) و ۳۷ نمونه (۲۸/۷ درصد) ESBLs منفی گزارش شده‌اند. نتایج PCR برای بررسی حضور ژن اینتگرون (باند ۴۹۱ جفت باز) نشان داد که ۲۵ نمونه از ۱۲۹ ایزوله کلبسیلای تأیید شده حاوی ژن اینتگرون بودند (شکل ۱).



شکل ۱. نتایج PCR ایزوله‌های کلبسیلا برای بررسی ژن اینتگرون؛ چاهک ۱. کنترل مثبت، چاهک M: مارکر، چاهک

نتایج آنتی‌بیوگرام در بین نمونه‌های حاوی ژن اینتگرون نشان داد که کمترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی مربوط به افلوکساسین و بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به آموکسی‌سیلین می‌باشد. همگی ۲۵ نمونه حاوی ژن اینتگرون دارای الگوی مقاومت MDR بوده‌اند. به عبارتی، درصد MDR در بین ایزوله‌های حاوی ژن اینتگرون ۱۰۰ درصد بود. از تعداد ۲۵ نمونه اینتگرون مثبت، ۱۵ ایزوله (۶۰ درصد) مولد ESBLs و تعداد ۱۰ ایزوله (۴۰ درصد) ESBLs منفی گزارش شد. درصد مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین کلبسیلاهای مولد ESBLs حاوی اینتگرون عبارت بودند از: آموکسی‌سیلین، آموکسی‌سیلین‌کلاونیک اسید، سفالوتین، سفالکسین و سفتازیدیم (۱۰۰ درصد)، سفوتاکسیم و سفتریاکسون (۹۹/۳۳ درصد)، سولفامتاکسازول-تری‌متوپرایم (۷۷/۳۳ درصد)، تتراسایکلین و جنتامایسین (۶۶/۶۷ درصد)، سفتی‌زوکسیم (۶۰ درصد)، نیتروفورانتئین و ایمی‌پنم (۵۳/۳۳ درصد)، نالیدیسیک اسید (۴۶/۶۷ درصد)، سیپروفلوکساسین، نورفلوکساسین و افلوکساسین (۴۰ درصد)، کلرامفنیکل (۳۳/۳۳ درصد)، آمیکاسین (۲۶/۶۷ درصد). درصد مقاومت آنتی‌بیوتیکی در

ایزوله‌های کلبسیلا که توانایی تولید ESBLs ندارند به این صورت گزارش شدند: آموکسی‌سیلین (۱۰۰ درصد)، تتراسایکلین و سولفامتاکسازول-تری‌متوپرایم (۸۰ درصد)، آموکسی‌سیلین-کلاونیک اسید (۷۰ درصد)، نیتروفورانتئوین (۵۰ درصد)، نالیدیکسیک‌اسید (۴۰ درصد)، سفالوتین (۳۰ درصد)، کلرامفنیکل (۲۰ درصد)، سفتی‌زوکسیم، سفوتاکسیم، سفتازیدیم و سیپروفلوکساسین هرکدام (۱۰ درصد). در ضمن این ایزوله‌ها به نورفلوکساسین، اوفلوکساسین، سفتریاکسون، آمیکاسین، نالیدیکسیک‌اسید، جنتامایسین و ایمی‌پنم کاملا حساس بودند. نمونه‌های ESBLs مثبت به پنج عدد از آنتی‌بیوتیک‌های (سفالکسین، سفتازیدیم، سفالوتین، آموکسی‌سیلین و آموکسی‌سیلین-کلاونیک اسید) ۱۰۰ درصد مقاوم بودند، درحالی‌که کلبسیلاهای ESBLs منفی تنها به آموکسی‌سیلین ۱۰۰ درصد مقاوم بودند. هم‌چنین حساس‌ترین آنتی‌بیوتیک در کلبسیلاهای ESBLs مثبت افلوکساسین بود در حالی‌که در کلبسیلاهای ESBLs منفی سفتریاکسون و ایمی‌پنم به عنوان حساس‌ترین آنتی‌بیوتیک‌ها گزارش شد. نرخ مقاومت در ایزوله‌های اینتگرون مثبت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های آمیکاسین، سیپروفلوکساسین، نورفلوکساسین، افلوکساسین، نالیدیکسیک‌اسید، جنتامایسین، سفالوتین، سفتازیدیم، سفتریاکسون، سفوتاکسیم، سفتی‌زوکسیم، ایمی‌پنم، آموکسی‌سیلین، آموکسی‌سیلین-کلاونیک اسید به مقدار قابل‌توجهی نسبت به نمونه‌های اینتگرون منفی بیشتر بود.

۵. بحث

عفونت دستگاه ادراری شایع‌ترین نوع عفونت بیمارستانی بوده و ۲۳ تا ۴۳ درصد کل عفونت‌های بیمارستانی را شامل می‌شود. کلبسیلا در ۶ تا ۱۷ درصد عفونت‌های مجاری ادراری نقش داشته و در بین باکتری‌های گرم منفی دومین عامل عفونت‌های ادراری پس از اشریشیا کولای می‌باشد (۸، ۹). شیوع ایزوله‌های بالینی کلبسیلا پنومونیه دارای مقاومت چندگانه آنتی‌بیوتیکی به ویژه ایزوله‌های مولد ESBLs اغلب عامل شکست درمان آنتی‌بیوتیکی در بیمارستان‌ها هستند (۲). در مطالعه حاضر، شیوع ESBLs در بین ایزوله‌های کلبسیلا (۷۱/۳ درصد) گزارش شد که نسبت به مطالعه فیض و همکاران (۴۵ درصد) که در سال ۱۳۹۳ و بر روی ۶۰ ایزوله کلبسیلا جداشده از مراکز پزشکی کرمانشاه انجام گرفته بالاتر می‌باشد که می‌تواند نشان از افزایش شیوع ESBLs در بین ایزوله‌های بالینی کلبسیلا باشد (۱۰). اگرچه روشن است که مصرف آنتی‌بیوتیک در مقاومت باکتریایی مهم است، اما انتشار ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی از طریق انتقال افقی ژن اجازه انتقال سریع مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین باکتری‌ها را می‌دهد (۱۱). باکتری حساس ممکن است مقاومت را از طریق موتاسیون یا انتقال ژن‌های مقاومت روی عوامل متحرک DNA مثل اینتگرون‌ها کسب کند (۳، ۱۲).

در این مطالعه با بررسی ایزوله‌های کلبسیلا دارای ژن اینتگرون و انجام تست آنتی‌بیوگرام کمترین مقاومت مربوط به افلوکساسین و بیشترین مقاومت به آموکسی‌سیلین گزارش شد. مطابق با تحقیقات پیشین شیوع عفونت ادراری در زنان نسبت به مردان به طرز واضحی بالاتر بود. هم‌چنین پدیده مقاومت چندگانه آنتی‌بیوتیکی (MDR) در ایزوله‌های اینتگرون مثبت به میزان ۱۰۰ درصد گزارش شد. بررسی نتایج پژوهش‌ها و مطالعات قبلی، بیانگر گسترش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در میان عوامل مولد عفونت‌های ادراری است. همان‌طور که در نتایج آمده است در میان ایزوله‌های حاوی ژن اینتگرون بیشترین حساسیت آنتی‌بیوتیکی مربوط به افلوکساسین (۷۲ درصد) و مقاوم‌ترین آن‌ها آموکسی‌سیلین (۱۰۰ درصد) بود.

در مطالعه‌ای که توسط روآ و همکاران در بیمارستان‌های ایالات متحده آمریکا جهت تعیین فراوانی اینتگرون کلاس یک برروی ۳۲۰ نمونه اشریشیاکولای و کلبسیلا صورت گرفت، ۱۸۱ مورد (۵۷ درصد) از ایزوله‌ها حامل ژن اینتگرون بودند، در حالی‌که در این پژوهش که تنها روی ایزوله‌های بالینی کلبسیلا انجام گرفت از میان ۱۲۹ ایزوله پس از بررسی مولکولی (۱۹/۳ درصد) حاوی ژن اینتگرون تشخیص داده شد که در مقایسه با تحقیق روآ و همکاران پایین‌تر می‌باشد (۱۳). در مطالعه‌ای که توسط

محلوجی و همکاران در کاشان برروی ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه انجام شد، از ۱۸۱ ایزوله مورد بررسی، ۱۵۰ نمونه (۸۲/۹ درصد) دارای مقاومت چندگانه آنتی بیوتیکی (MDR) بودند و در تمام ۱۵۰ مورد حضور اینتگرون مشاهده شد (۱۰۰ درصد). در پژوهش حاضر نیز شیوع MDR در بین ایزوله‌های حاوی اینتگرون ۱۰۰ درصد بود (۱۴). در مطالعه آهنگرزاده رضایی و همکاران که روی ۱۵۰ نمونه کلبسیلا پنومونیه انجام شد، درصد MDR در بین ایزوله‌های مورد بررسی ۹۹/۳ درصد بود و نتایج آنالیز PCR نشان داد که فراوانی اینتگرون کلاس ۱ و ۲ در مجموع در این ایزوله‌های دارای مقاومت چندگانه حدود ۹۱ درصد می‌باشد، در صورتی‌که در این مطالعه درصد MDR ۸۲/۹ درصد و شیوع اینتگرون‌ها در بین این ایزوله‌ها ۱۰۰ درصد بود (۱۵). در مطالعه مولانا و همکاران که بر روی کلبسیلا پنومونیه در بابل انجام شد، ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه (۳۶/۶ درصد) دارای اینتگرون بودند که نسبت به نرخ پژوهش حاضر (۱۹/۳ درصد) بیشتر می‌باشد (۱۶) شاید یک دلیل این تفاوت نوع نمونه‌ها باشد که در پژوهش مولانا نمونه‌ها از ICU جمع‌آوری شده‌اند، ولی در این پژوهش از نمونه‌های ادراری، باکتری جداسازی شده است. در مطالعه جونز که بر روی کلبسیلا پنومونیه در استرالیا انجام شد، (۷۳ درصد) سویه‌های کلبسیلا پنومونیه مولد ESBLs دارای اینتگرون بودند که نسبت به نرخ پژوهش حاضر (۶۰ درصد) بیشتر بود (۱۷). در مطالعه‌ای که توسط پورعلی و همکاران در شیراز برای تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی متقاطع کلبسیلا پنومونیه انجام شد، مقادیر حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌های سفتازیدیم (۴۴ درصد)، جنتامایسین (۵۹ درصد)، آمیکاسین (۶۵ درصد)، سیپروفلوکساسین (۶۷ درصد) و ایمی‌پنم (۸۸ درصد) گزارش شدند، درحالی‌که در پژوهش حاضر نرخ حساسیت آنتی‌بیوتیکی برای این آنتی‌بیوتیک‌ها به ترتیب برای سفتازیدیم (۷۴/۴ درصد)، جنتامایسین (۸۴/۵ درصد)، آمیکاسین (۶۹ درصد)، سیپروفلوکساسین (۷۶ درصد) و ایمی‌پنم (۸۶ درصد) گزارش شدند که نشان از افزایش نرخ مقاومت در ایزوله‌های کلبسیلا عامل عفونت ادراری می‌باشد (۱۸). در مطالعه‌ای که توسط درخشان و همکاران در تهران برای تعیین الگوی مقاومت با آنتی‌بیوتیکی در نمونه‌های ادراری بیماران مبتلا به عفونت ادراری توسط کلبسیلا پنومونیه انجام شد، بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی به سفتریاکسون، سفوتاکسیم و آموکسی‌سیلین-کلاونیک اسید (۵۵ درصد) گزارش شد (۱۹)، اما در پژوهش حاضر مقادیر مقاومت آنتی‌بیوتیکی برای آنتی‌بیوتیک‌های حاضر به ترتیب ۱۹/۴ درصد، ۲۰/۹ درصد و ۴۵ درصد گزارش شدند که در مقایسه مقادیر متفاوتی را نشان دادند. تفاوت‌های منطقه‌ای در نقاط مختلف دنیا، پاسخ‌های آنتی‌بیوتیکی متفاوتی را ایجاد می‌کند و حتی ممکن است الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی از بیمارستانی تا بیمارستان دیگر در یک کشور متفاوت باشد منشأ این تفاوت‌ها می‌تواند تفاوت‌های ژنتیکی سویه‌ها، تفاوت‌های ژنتیکی افراد و تفاوت‌های اقتصادی و حتی فرهنگی باشد. در ۵۰ سال اخیر استفاده بیش از اندازه از آنتی بیوتیک‌ها فشار انتخابی را برای گردهم‌آوردن عناصر DNA حامل چندین ژن مقاومت تحمیل کرده است. از آن‌جایی‌که اینتگرون‌ها وفور بسیار زیادی دارند، بنابراین احتمال میانکنش با سایر DNAها و تولید عناصر متحرک جدید و پیچیده‌تر که مقاومت به چندین کلاس آنتی‌بیوتیک، گندزداها و فلزات سنگین را حمل می‌کنند، افزایش داده است (۲۰).

۶. نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که شیوع MDR در بین ایزوله‌های کلبسیلا یک نگرانی جدی در درمان این باکتری می‌باشد. به دام انداختن کاست‌های ژنی بزرگ با ۵ تا ۱۸ عامل مقاومت و شیوع گسترده MDR در ایزوله‌های اینتگرون مثبت ما نشان می‌دهد که اینتگرون‌ها در ایزوله‌های ما در حال رشد و توسعه هستند. فهم مقاومت آنتی‌بیوتیکی و فعالیت اینتگرون در یک مقیاس جهانی منافع زیادی دارد، زیرا که اکتشافات اخیر در مورد فعالیت اینتگرون‌ها پیشنهاد می‌کند که این عناصر متحرک قابلیت نمونه‌گیری و بیان هر ژنی از بیوسفر میکروبی را دارند.

۷. تقدیر و تشکر

این مطالعه هیچ گونه حامی مالی نداشته است. بدین وسیله از مساعدت‌های کارکنان بخش میکروب‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج به ویژه سرکار خانم اسدی در انجام این پژوهش قدردانی می‌گردد.

۸. سهم نویسندگان

تمامی نویسندگان معیارهای استاندارد نویسندگی بر اساس پیشنهادات کمیته بین المللی ناشران مجلات پزشکی را دارا بودند.

۹. تضاد منافع

بدین‌وسیله نویسندگان تصریح می‌نمایند که هیچ‌گونه تضاد منافعی در خصوص پژوهش حاضر وجود ندارد.

References

1. Heidary M, Bahramian A, Goudarzi H, Eslami G, Hashemi A, Khoshnood S. To study the association between AcrAB and Qep A efflux pumps and ciprofloxacin resistance among Escherichia coli and *Klebsiella* pneumoniae clinical strains. AMUJ. 2016; 19(109): 1-10.
2. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum-lactamases: a clinical update. Clin Microbiol Rev. 2005; 18(4): 657-686.
3. Mohammad Kargar, Zahra Mohammadalipour, Abbas Doosti, Shahrokh Lorzadeh, Alireza Japoni-Nejad. High prevalence of class 1 to 3 integrons among multidrug-resistant diarrheagenic Escherichia coli in southwest of Iran. Osong Public Health Res Perspect. 2014; 5(4): 193-198.
4. Maryam Mobarak-Qamsari, Mitra Ashayeri-Panah, Freshteh Eftekhar, Mohammad Mehdi Feizabadi. Integron mediated multidrug resistance in extended spectrum beta-lactamase producing clinical isolates of *Klebsiella* pneumonia. Brazil J Microbiol. 2013; 44(3): 849-854.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; seventeenth informational supplement, M100-17. Wayne CLSI, 2007.
6. Hammond DS, Schooneveldt JM, Nimmo GR, Huygens F, Giffard PM. blaSHV genes in *Klebsiella* pneumoniae:different allele distributions are associated with different promoters within individual isolates. Antimicrob Agents Chemother. 2005; 49(6): 256-63.
7. Haddadi A, Mikaeili S, Shavandi M. Prevalence of class 1 and 2 integrons among the multidrug resistant uropathogenic strains of Escherichia coli. Asian Biomed. 2015; 9(1): 49-54.
8. Babypadmini S, Appalaraju B. Extended spectrum β-lactamases in urinary isolates of Escherichia coli and *Klebsiella* pneumoniae prevalence and susceptibility pattern in a territory care hospitals. Indian J Med Microbe. 2004; 22(3): 172-74.
9. Gasmier P. Nosocomial urinary tract infection: many unresolved question. Clin Microbiol Infect. 2001; 7(10): 521-22.
10. Feiz Sarshar MH , Akya A. The frequency of extended spectrum β-lactamase genes of SHV-2a, SHV-5 and SHV-12 in clinical isolates of *Klebsiella* Pneumoniae isolated from Kermanshah Medical Centers in 2014. AMUJ. 2016; 19(107): 59-67.
11. Dalsgaard A, Forslud A, Scrichantalergs O. Distribution and content of Class 1 integron in different Vibrio cholerae O. Distribution and content of class1 integrons in different Vibrio cholerae O-serotype strains isolated in tailand. Antimicrob Agent Chemother. 2000; 44(5): 1315-1321.
12. Dubois V, Poirel L, Marie C. Molecular characterization of a novel class 1 integron containing bla(GES-1) and a fused product of acc3 Ib/acc6-Ib gene cassettes in Pseudomonas aeuroginosa. Antimicrob Agents Chemother. 2002; 46(3): 638-645.
13. Rao A.N, Barlow M,Clark LA, Boring JR, Tenover FC, MacGowan JE. Class 1 integronsin resistants Escherichia coli and *Klebsiella* pnumoniea, us hospitals. Emerg Infect Dis. 2006; 12(6): 1011-1014.
14. Zeinab Mahluji, Farzaneh Firoozeh, Ahmad Khorshidi, Mohammad Zibaei. The frequency of class 1 integrons in multi-drag resistant *Klebsiella* pneumoniae isolated from Clinical samples using polymerase chain reaction assay. SJKU. 2016; 21(3): 68-78.
15. 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. Jap J Infect Dis. 2012; 65(3): 256-9.
16. 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 Intensive Care Unit (Shahid Beheshti Hospital of Babol 2010). JBUMS. 2011; 13(6): 7-13.
17. Jones LA, McIver CJ, Kim MJ, Rawlinson WD, White P. The aadB gene cassette is associated with blaSHV genes in *Klebsiella* species producing extendedspectrum ß-lactamases. Antimicrob Agents Chemother. 2005; 49(2): 794-797.
18. Pourali Sheshblouki GH, Mardaneh J, Hosseinzadeh Z. *Klebsiella* pneumoniae infections in hospitalized patients: characterization of antibiotic cross-resistance and detection of cefepime susceptible-dose dependent (SDD) strains. JFUMS. 2016; 6(1): 52-59.
19. Safoura Derakhshan, Fatemeh Fallah, Bita Bakhshi, Mohammad Rahbar; and Abbas Ashrafi. Detection of class 1, 2, and 3 integrons

among *Klebsiella* pneumoniae isolated from children in Tehran hospitals . Archi Pediatr Infect Dis. 2013; 1(4): 164-8.

20. Michael R. Gillings. Integrons: Past, present, and future. Microbiol Mol Biol Rev. 2014; 78(2): 257-277.