

## بررسی فراوانی اینتگرون ۱، ۲ و تشکیل بیوفیلیم در جدایه‌های بالینی سودوموناس آئروژینوزا شهر تهران

سعید بشارتی<sup>۱</sup>، محمد رهبر<sup>۲</sup>، ندا سلیمانی<sup>۳</sup>

## مقاله پژوهشی

## چکیده

**مقدمه:** سودوموناس آئروژینوزا، یکی از باکتری‌های مهم در ایجاد طیف گسترده‌ای از عفونت‌ها می‌باشد. گسترش شیوع مقاومت آنتی‌بیوتیک در میان آنها نگران کننده بوده و اینتگرون‌ها در کنار تشکیل بیوفیلیم از عوامل مهم افزایش بروز مقاومت آنتی‌بیوتیک در آنها هستند. در مطالعه‌ی حاضر، فراوانی اینتگرون‌های کلاس ۱، ۲ و تشکیل بیوفیلیم در بین جدایه‌های بالینی سودوموناس آئروژینوزا در شهر تهران بررسی گردید.

**روش‌ها:** در این مطالعه، ۱۰۰ ایزوله بالینی سودوموناس آئروژینوزا جداسازی شد. نمونه‌ها از نظر کشت میکروبی و بیوشیمیایی بررسی و تأیید مولکولی با PCR برای ژن‌های *OprL* انجام و حضور اینتگرون‌های کلاس ۱ و ۲ بررسی شد.

**یافته‌ها:** شیوع اینتگرون کلاس ۱ و ۲ به ترتیب ۴۷ و ۸ درصد بود. اینتگرون ۱ و ۲ بطور معنی‌داری در بیوفیلیم شدید و متوسط بیشتر از موارد ضعیف بودند ( $P < 0.05$ ). از ۳۳ نمونه با بیوفیلیم قوی ۹۰/۹ درصد نمونه‌ها دارای ژن اینتگرون ۱ بودند. نتایج نشان داد که ژن اینتگرون ۱ بطور معنی‌داری در نمونه‌های با مقاومت دارویی چندگانه (MDR (Multiple drug resistance) بیشتر از نمونه‌های فاقد MDR بود ( $P < 0.05$ ).

**نتیجه‌گیری:** ارتباط بین تشکیل بیوفیلیم و حضور اینتگرون‌ها نشان‌دهنده نقش این عوامل در ایجاد مقاومت آنتی‌بیوتیکی بوده و حضور اینتگرون‌های ۱ و ۲ در سوبه‌های بالینی می‌تواند ریسک انتقال ژن‌های مقاومت دارویی را افزایش دهد.

**واژگان کلیدی:** سودوموناس آئروژینوزا؛ مقاومت دارویی؛ بیوفیلیم؛ اینتگرون

**ارجاع:** بشارتی سعید، رهبر محمد، سلیمانی ندا. بررسی فراوانی اینتگرون ۱، ۲ و تشکیل بیوفیلیم در جدایه‌های بالینی سودوموناس آئروژینوزا شهر تهران. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۴؛ ۴۳ (۸۰۴): ۱۲۵-۱۳۴.

## مقدمه

عامل مهم عفونت‌های بیمارستانی بویژه موارد مقاوم به آنتی‌بیوتیک است (۶). بروز مقاومت به چند دارو (MDR) در عفونت‌های ناشی از سودوموناس آئروژینوزا در گزارشات مختلف متفاوت بوده و نشان داده شده که حدود ۲۰ تا ۳۰ درصد از عفونت‌های ناشی از این باکتری می‌تواند MDR باشد (۷-۱۰). مکانیسم‌های گوناگون از جمله مهار ورود دارو، پمپ‌های افلاکس، تشکیل بیوفیلیم و مقاومت با واسطه‌ی اینتگرون‌ها این باکتری را به یکی از شایع‌ترین عوامل بیماری‌زا تبدیل کرده است. با گسترش چشمگیر مقاومت دارویی در آنها به ویژه در ایزوله‌های بالینی روند درمانی را با چالش‌های جدی مواجه شده که امروزه به دنبال جایگزین مناسب برای مواجهه با آنها

کشف اولین موارد مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین دهه‌ی ۱۹۴۰ تا ۱۹۵۰ آغازی بر شروع نگرانی‌ها برای تبدیل آن به بحران بهداشت عمومی بود و با شدت گرفتن آن حتی در موارد بیماری‌زای نوپدید نگرانی‌ها را در سال‌های اخیر افزایش داده است (۱، ۲). عدم یافتن راه‌حل مناسب برای مبارزه با مقاومت دارویی از جمله ابزارهایی همچون آنتی‌بیوتیک‌های نسل جدید، پپتیدهای ضد میکروبی، فاژ تراپی و... افزایش مقاومت دارویی می‌تواند موجب مرگ ۱۰ میلیون نفر تا سال ۲۰۵۰ شود (۳-۵). سودوموناس آئروژینوزا یک باسیل گرم منفی فرصت‌طلب و یک

۱ - دانشجوی دکتری گروه میکروبیولوژی، دانشکده‌ی علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

۲ - استاد، گروه میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات آزمایشگاهی مرجع سلامت ایران، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، تهران، ایران

۳ - دانشیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده‌ی علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: ندا سلیمانی؛ دانشیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده‌ی علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

Email: N\_Soleimani@sbu.ac.ir

روش‌ها

جمع‌آوری ایزوله‌های بالینی

در این مطالعه، ۱۰۰ ایزوله‌ی بالینی از نمونه‌های مختلفی همچون ادرار (۴۷)، خون (۳)، خلط (۲۹)، زخم (۸)، تراکئال (۱۳) از دو بیمارستان تخصصی شهر تهران در سال ۱۴۰۳ جمع‌آوری شدند. از این میان ۵۴ ایزوله (۵۴ درصد) از مردان و ۴۶ ایزوله (۴۶ درصد) از زنان جدا شد. ۵۳ ایزوله (۵۳ درصد) مربوط به بیماران بستری و ۴۷ نمونه (۴۷ درصد) مربوط به بیماران سرپایی بود.

در این مطالعه رده‌های سنی مختلف بصورت محدوده سنی کمتر از ۱ سال بعنوان نوزاد (Infant)، محدوده‌ی سنی بین ۱ تا ۹ سال کودک (Child)، محدوده‌ی سنی بین ۹ تا ۱۹ سال نوجوان (Adolescent)، محدوده‌ی سنی بین ۱۹ تا ۵۴ سال بزرگسال (Adult)، محدوده‌ی سنی بین ۵۴ تا ۶۴ سال میانسال (Middle age) و محدوده‌ی سنی بالاتر از ۶۴ سال سالمند (Old age) در نظر گرفته شد. سوبیه‌ی استاندارد سودوموناس آئروژینوزا از جمله (ATCC 27853, PAOI) به ترتیب برای آنتی‌بیوگرام و بیوفیلیم استفاده شد. برای رشد باکتری از محیط آگار نوترینت (Merck، آلمان) و نگهداری آنها در دمای ۷۰- درجه‌ی سانتی‌گراد در محیط برات غذایی (Merck، آلمان) حاوی ۱۵ درصد گلیسرول انجام شد.

شناسایی فنوتیپی و تأیید مولکولار سودوموناس آئروژینوزا

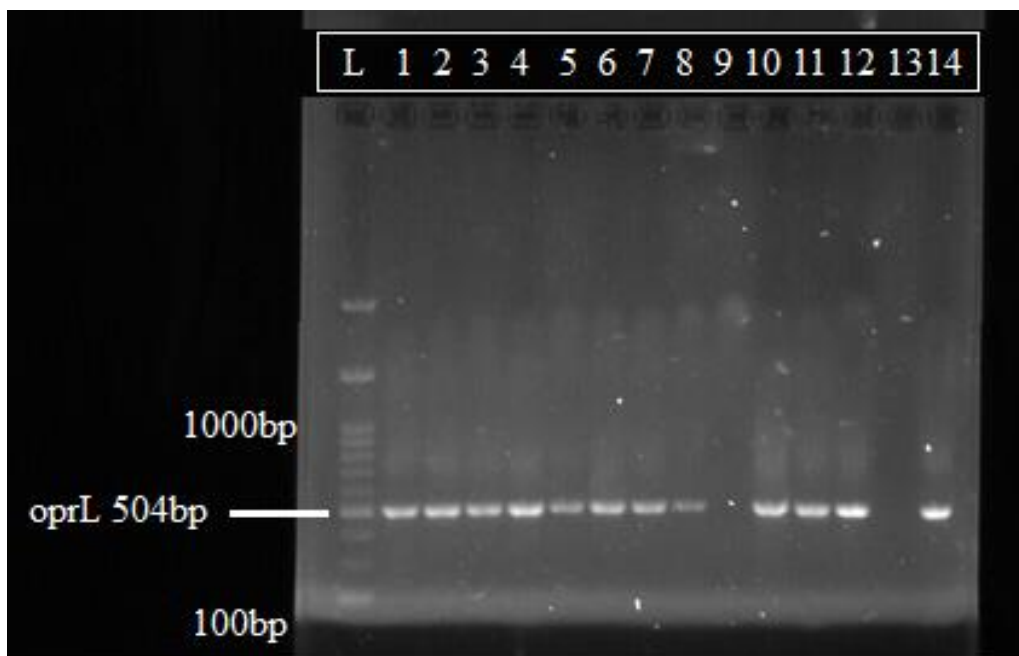
نمونه‌های سودوموناس آئروژینوزا جدا شده و باکتری برای ۲۴ ساعت در دمای ۴۲ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد. رشد سودوموناس آئروژینوزا در این دما، آزمایش O-F گلوکز با انجام اکسیداتیو و عدم تخمیر، سیترات، کاتالاز، اکسیداز مثبت آن را از سایر سودوموناس‌ها متمایز می‌کند. تأیید مولکولار باکتری سودوموناس آئروژینوزا با بررسی حضور ژن *OprL* در تمام ایزوله‌ها با پرایمر آورده شده در جدول ۱ انجام شد. حجم نهایی هر واکنش برابر با ۲۵ میکرولیتر و طول محصول آمپلیکون ۵۰۴ جفت باز بود. از سوبیه‌ی سودوموناس آئروژینوزا PAOI به عنوان کنترل مثبت استفاده شد (شکل ۱).

هستند (۱۱). تشکیل بیوفیلیم در کنار حضور اینتگرون‌ها بعنوان عناصر ژنتیکی متحرک (مانند ترانسپوزون‌ها، باکتریوفاژها و پلاسمیدها) نقش مهمی در بروز مقاومت دارویی دارد و انتقال بین گونه‌ای و درون گونه‌ای دارد.

تاکنون بیش از ۹ کلاس از آن در باکتری‌های گرم منفی شناسایی شده است که حضورشان در باکتری‌ها، آنها را به عنوان یکی از عوامل مهم در ایجاد مقاومت چندگانه در باکتری‌های گرم منفی مطرح کرده است (۱۲، ۱۳). اینتگرون کلاس I حامل بیش از ۴۰ ژن مقاومت مربوط به آمینوگلیکوزیدها، بتالاکتام‌ها، کلرامفنیکل، ماکرولیدها، سولفونامیدها، ضد عفونی‌کننده‌ها است (۱۴، ۱۵). اینتگرون کلاس II شبیه کلاس I، بوده که خانواده ترانسپوزون‌های مثل Tn7 و مشتقات آن مرتبط هستند. ژن اینتگرگاز یکی از مهم‌ترین تفاوت‌های بین این دو کلاس اینتگرون است. اینتگرون‌های کلاس II حاوی کاست‌های ژنی شامل دی‌هیدروفولات ردوکتاز (Dihydrofolate reductase) *dfraI*، استرپتوتریسین-استیل ترانسفراز (Streptothricin-acetyl transferase) *satI* و آمینوگلیکوزید آدنیل ترانسفراز (*aadAI* (Aminoglycoside adenylyltransferase) هستند که آنتی‌بیوتیک‌هایی همچون تری‌متوپریم و استرپتومايسین مقاوم هستند. با توجه به قرار گرفتن تعداد زیادی از ژن‌های مقاومت دارویی بر روی اینتگرون‌ها و انتشار سریع آنها در بین جامعه شناسایی حضور اینتگرون و بیوفیلیم بعنوان مکانیسم‌های مهم مقاومت دارویی می‌تواند اطلاعات ارزشمندی در اختیار ما قرار دهد و با توجه به اینکه نمونه‌های مورد مطالعه بالینی بوده و از بیماران جدا شده می‌تواند در تدبیر راهکارهای مناسب درمانی و جلوگیری از انتشار بیش‌تر باکتری‌های مؤثر در عفونت‌های بیمارستانی مفید باشد. مطالعات محدودی در مورد بررسی همزمان اینتگرون و بیوفیلیم در جدایه‌ی بالینی سودوموناس آئروژینوزا در تهران انجام شده و هدف ما در این مطالعه، بررسی فراوانی اینتگرون‌های کلاس I، II، تعیین الگوی مقاومت به آنتی‌بیوتیک و تشکیل بیوفیلیم در جدایه‌ی بالینی سودوموناس آئروژینوزا در شهر تهران بود.

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده در تکثیر ژن‌های *OprL* و اینتگرون کلاس ۱ و ۲ در جدایه‌های سودوموناس آئروژینوزا

پرایمرها	سکانس PCR (5'-3')	شرایط PCR	سایز آمپلیکون (bp)	رفرنس
OprL	F: 5'ATGGAAATGCTGAAATTCGGC3' R: 5' CTTCTTCAGCTCGACGCGACG3'	95°C, 5 min; 30 cycles of 95°C, 30 s, 57°C, 1 min, 72°C, 1min, 72°C, 10min	504 bp	(۲۸)
Integron	3' CAGTGGACATAAGCCTGTTC F:5' 3' CCCGAGGCATAGACTGTA R:5'	94°C, 3 min; 30 cycles of 94°C, 30 s, 58°C, 30 s, 72°C, 1 min, 72°C, 7 min	160 bp	(۲۸)
Integron II	3' CACGGATATGCGACAAAAAGGT F:5' 5' GTAGCAAACGAGTGACGAAATG-3' R:	94°C, 3 min, 25 cycles of 94°C, 30 s, 57°C, 30 s, 72°C, 1 min, 72°C, 7 min	789 bp	(۲۸)



شکل ۱. بررسی حضور ژن *oprL* در از سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از نمونه‌های بالینی. ستون مارکر وزن مولکولی ۱۰۰ جفت باز (Sina Gen) *oprL* plus DNA Ladder RTU. ایزوله‌های ۱ تا ۸ و ۱۰ تا ۱۲ دارای ژن *oprL*، ایزوله ۹ فاقد ژن *oprL*، ۱۳: کنترل منفی، ۱۴: کنترل مثبت.

#### شناسایی اینتگرون کلاس ۱ و ۲

آزمون PCR برای شناسایی اینتگرون کلاس ۱ و ۲ بر روی ۱۰۰ ایزوله‌ی بالینی سودوموناس آئروژینوزا انجام شد. در این مطالعه پرایمرهای مربوط به ژن اینتگرون کلاس ۱ و ۲، شرایط و اندازه‌ی سایز آمپلیکون (bp) در جدول ۱ آورده شده است. برای رنگ‌آمیزی ژل در هر مرحله از DNA safe stain (سینا کلون، ایران) استفاده شد. ایجاد محصول توسط آگارز ۱/۵ درصد ارزیابی گردید.

#### بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن:

با استفاده از دستورالعمل CLSI مقاومت آنتی‌بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن استفاده گردید (۱۶). در ابتدا باکتری بر روی محیط نوترینت آگار به مدت ۲۴ ساعت کشت داده شد. از این کشت چند کلنی به لوله حاوی سرم فیزیولوژی منتقل، ورتکس و نیم مک‌فارلند تهیه شد. پس از ۲۴ ساعت، قطر هاله‌ی عدم رشد اطراف هر دیسک بر حسب میلی‌متر با استفاده از خط‌کش یا کولیس اندازه‌گیری شد. از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی همچون آزترونام (۳۰ μg)، پپراسیلین (۱۰۰ μg)، پپراسیلین تازو باکتام (۱۰/۱۰۰ μg)، سفمتازیدیم (۳۰ μg)، سیپروفلوکساسین (۵ μg)، ایمپنم (۱۰ μg)، دوریپنم (۱۰ μg)، جنتامیسین (۱۰ μg)، تورامایسین (۱۰ μg)، آمیکاسین (۳۰ μg)، نورفلوکساکسین (۵ μg) و افلوکساکسین (۵ μg) (Mast Group, UK) در این مطالعه استفاده شد. سودوموناس آئروژینوزا با ATCC 27853 به عنوان سویه‌ی مرجع برای تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی استفاده شد.

#### اندازه‌گیری تولید بیوفیلم

از روش میکروتیتربلیت برای بررسی تشکیل بیوفیلم استفاده شد (۱۷). باکتری در دمای ۳۷ °C برای ۲۴ ساعت در محیط MHB انکوبه شد. نمونه‌ها برای بدست آمدن OD نیم مک‌فارلند به نسبت ۱:۱۰۰ در MHB رقیق شد. ۲۰۰ μl سوسپانسیون بدست آمده را در چاهک میکروپلیت ریخته شد. چاهک‌ها ۳ مرتبه با ۲۰۰ μl PBS (pH: 7.4) شسته شده تا باکتری‌های که متصل نشده بود، حذف شود. بعد از خشک شدن چاهک‌ها ۱۵۰ μl رنگ کریستال ویوله ۱ درصد ریخته و شسته شد. با افزودن ۱۵۰ μl استیک اسید ۳۳ درصد رنگ متصل شده به بیوفیلم آزاد شده و جذب نوری آن را در طول موج ۴۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای ارزیابی تولید بیوفیلم تولید شده‌ی جذب نوری (OD) سویه‌های مورد آزمایش با نمونه‌ی کنترل مقایسه (جدول ۲ و ۳) و بصورت ۳ بار تکرار انجام گردید.

اطلاعات نمونه‌ها جمع‌آوری و ارتباط میان متغیرهای مختلف همچون ژن اینتگرون ۱ و ۲، تشکیل بیوفیلم و MDR نمونه‌های آلوده به سودوموناس آئروژینوزا با نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۲ (version 22, IBM Corporation, Armonk, NY) بررسی انجام گردید. از آزمون‌های آماری Fisher's exact test، Chi-square برای مقایسه‌های آماری استفاده شد. در صورت مشاهده‌ی P کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد. این مطالعه با کد اخلاق IR.SBU.REC.1403.115 در دانشگاه شهید بهشتی به تصویب رسید.

جدول ۲. تشکیل بیوفیلیم، حضور ژن اینتگرون و الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در نمونه‌های بالینی سودوموناس آئروژینوزا

تعداد ایزوله (N = 100)	الگوی آنتی بیوتیکی	بیوفیلیم	اینتگرون I	اینتگرون II
۵۹	حساس به همه آنتی بیوتیک ها	+++، 15++، 33+11	18+، 41-	59 -
۳	IMI(I)	+++، 2++1	1+، 2-	3 -
۱	IMI(I), OFX(I)	++	-	-
۱	ATM(I), IMI(I)	++	+	-
۱	CAZ(I), ATM(I), OFX(I)	+	-	-
۱	IMI(I), DOR(I), OFX(I)	++	-	-
۱	PRL(I), CAZ(I), ATM(I), DOR(I), OFX(I)	+	-	-
۱	IMI(R), GM(I), TN(I)	++	-	-
۱	PRL(I), CAZ(I), ATM(R), IMI (R), TN(I), OFX(I)	+++	+	-
۱	PRL(I), CAZ(I), ATM(R), IMI(R), TN(I), OFX(I)	+++	+	-
۱	IMI(R), AK (I), GM(R), TN(R), CIP(I), OFX(R)	+++	+	-
۱	PRL(I), PTZ(I), CAZ(R), IMI(I), DOR(R), GM(R), TN(R), CIP(R), NOR(R), OFX(R)	+++	+	+
۱	PRL(I), ATM(R), GM(R), TN(R), AK(I), CIP(I)	+++	+	+
۱	CAZ(R), IMI (I), DOR(R), GM(R), TN(R), CIP(R), NOR(R), OFX(R)	++	+	-
۱	PRL(I), PTZ(I), ATM(R), DOR(R), GM(R), TN(R), AK(R), CIP(R), NOR(R), OFX(R)	++	-	-
۱	PRL(I), PTZ(I), CAZ(R), IMI(R), DOR(R), GM(R), TN(R), CIP(R), NOR (R), OFX(R),	+++	+	+
۱	CAZ(R), ATM(R), IMI(R), DOR(I), GM(R), TN(R), AK(R), CIP(R), NOR(R), OFX(R)	+++	+	-
۱	PRL(I), CAZ(R), IMI(R), DOR(R), GM(R), TN(R), AK(R), CIP(R), NOR(R), OFX(R)	+++	+	-
۱	PRL(I), CAZ(R), ATM(R), IMI(R), DOR(R), GM(R), TN(R), AK(I), CIP(R), NOR(R), OFX (R)	+	-	-
۱	PRL(R), PTZ(I), ATM(I), IMI(R), DOR(R), GM(R), TN(R), AK(R), CIP(R), NOR(R), OFX(R)	++	+	+
۱	PRL(R), PTZ(R), CAZ(I), ATM(I), IMI(R), DOR(R), GM(R), TN(R), AK(R), CIP(R), NOR(I), OFX(R)	++	+	-
۱	PRL(I), PTZ(R), ATM(I), IMI(R), DOR(R), GM(R), TN(R), AK(R), CIP(R), NOR(R), OFX(R)	++	+	-
۱	PRL(R), PTZ(I), CAZ(I), ATM(I), IMI(R), DOR(R), GM(R), TN(R), AK(R), CIP(R), NOR(R), OFX(R)	++	-	-
۲	PRL(I), PTZ(R), CAZ(R), ATM(I), IMI(R), DOR(R), GM(R), TN(R), AK(R), CIP(R), NOR(R), OFX(R)	+++2	2+	2 -
۱	PRL(R), PTZ(I), CAZ(R), ATM(I), IMI(I), DOR(R), GM(R), TN(R), AK(R), CIP(R), NOR(R), OFX(R)	++	+	-
۳	PRL(R), PTZ(R), CAZ(R), ATM(R), IMI(I), DOR(R), GM(R), TN(R), AK(R), CIP(R), NOR(R), OFX(R)	+++، 1++2	2+، 1-	2+، 1-
۱۱	PRL(R), PTZ(R), CAZ(R), ATM(R), IMI(R), DOR(R), GM(R), TN(R), AK(R), CIP(R), NOR(R), OFX(R)	+++، 4++7	9+، 1-	2+، 8-

بیوفیلیم: بیوفیلیم ضعیف؛ ++؛ بیوفیلیم متوسط؛ +++؛ بیوفیلیم قوی؛ ++++ اینتگرون ۱ و ۲: حضور ژن؛ +؛ عدم حضور ژن؛ -؛ الگوی آنتی بیوتیکی: PRL: پیراسیلین؛ PTZ: پیراسیلین-تازوباکتام؛ CAZ: سفنازیدیم؛ ATM: آزترونام؛ IMI: ایمی پنم؛ GM: جتتامایسین؛ TN: توبرامایسین، DOR: دوری پنم؛ AK: آمیکاسین، NOR: نورفلوکساسین، OFX: افلوکساسین CIP: سیپروفلوکساسین. S: حساس؛ I: حد واسط؛ R: مقاوم.

جدول ۳. تفسیر ارزیابی بیوفیلم

OD	تفسیر ارزیابی بیوفیلم
$OD_t \leq OD_c$	عدم تولید بیوفیلم
$OD_c < OD_t < 2x OD_c$	بیوفیلم ضعیف
$2x OD_c < OD_t < 4x OD_c$	بیوفیلم متوسط
$OD_t \geq 4x OD_c$	بیوفیلم قوی

OD: OD<sub>t</sub> کنترل، OD: OD<sub>c</sub> نمونه‌ی مورد آزمایش

درصد)، تراکتال (۲/۳۰، ۶/۶۶ درصد) و نمونه خون فاقد نمونه MDR بود. از ۳۰ ایزوله MDR، ۲۰ ایزوله (۶۶/۶ درصد) مربوط به مردان و ۱۰ ایزوله (۳۳/۴ درصد) مربوط به زنان بود.

در رده‌ی سنی بزرگسال ۳۳/۴ درصد از ایزوله‌ها (۱۰ از ۳۰ ایزوله) دارای مقاومت دارویی چندگانه بودند، که این مقدار بیشترین فراوانی ایزوله‌های MDR در رده‌های سنی مختلف بود. از ۵۳ نمونه بیماران بستری ۲۰ نمونه MDR بود در حالیکه از ۴۷ نمونه بیماران سرپایی، ۱۰ نمونه MDR جداسازی شد. در مجموع میزان مقاومت دارویی چندگانه در ایزوله‌های جداسازی شده از بیماران بستری بیشتر بود اما این اختلاف معنی‌دار نبود ( $P = 0/08$ ). نتایج حاصل نشان داد که بیشترین مقاومت مربوط به آنتی‌بیوتیک‌های افلوکسازین (از خانواده‌ی فلوروکینولون‌ها)، جنتامایسین و توبرامایسین از خانواده‌ی آمینوگلیکوزیدها بود (۳۰ درصد) و کمترین میزان مقاومت مربوط به پیپراسیلین/ تازوباکتام از خانواده‌ی پنی‌سیلین‌های مهارکننده‌ی بتالاکتاماز با ۱۸ درصد مقاومت بود. ۱۱ ایزوله از نمونه‌های بالینی به تمامی ۱۲ آنتی‌بیوتیک مورد بررسی مقاومت داشتند.

#### بررسی سویه‌ها از نظر حضور ژن اینتگرون کلاس ۱ و ۲

آزمون PCR برای شناسایی اینتگرون کلاس ۱ و ۲ بر روی ۱۰۰ ایزوله‌ی سودوموناس آئروژینوزا انجام شد. پرایمرهای مربوط به اینتگرون‌های کلاس ۱ و ۲ به ترتیب ایجاد محصولات با وزن مولکولی ۱۶۰ و ۷۸۹ bp نمودند (شکل ۲ و ۳). میزان شیوع اینتگرون کلاس ۱ و ۲ برای نمونه‌های ترتیب ۴۶ درصد (۴۶/۱۰۰) و ۸ درصد (۸/۱۰۰) بود. تمام ایزوله‌های دارای اینتگرون کلاس ۲ دارای اینتگرون کلاس ۱ نیز بودند. ژن اینتگرون کلاس ۲ تنها در نمونه‌های مقاوم به توبرامایسین (Tobramycin)، سیپروفلوکسازین (Ciprofloxacin)، پیپراسیلین (Piperacillin) دیده شده و به عبارت دیگر هیچ کدام از نمونه‌های حساس به این آنتی‌بیوتیک‌ها این ژن را نداشتند اما این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود.

#### یافته‌ها

#### تشکیل بیوفیلم و حضور ژن اینتگرون ۱ و ۲

نتایج تشکیل بیوفیلم در ایزوله‌ی بالینی سودوموناس آئروژینوزا نشان داد که ۳۳ درصد از نمونه‌ها بیوفیلم قوی داشتند، فراوانی بیوفیلم متوسط و ضعیف نیز به ترتیب ۵۳ و ۱۴ درصد بود. ۴۷ درصد نمونه‌ها دارای اینتگرون ۱ بودند (جدول ۳). اینتگرون ۱ بطور معنی‌داری در بیوفیلم شدید و متوسط بیشتر از موارد ضعیف بود ( $P < 0/05$ ). ۳ مورد از نمونه‌ها با بیوفیلم ضعیف اینتگرون ۱ داشتند. از ۳۳ نمونه با بیوفیلم قوی ۹۰/۹ درصد نمونه‌ها دارای ژن اینتگرون ۱ بودند. ۸ درصد نمونه‌ها دارای اینتگرون ۲ بودند. اینتگرون ۲ بطور معنی‌داری در بیوفیلم شدید و متوسط بیشتر از موارد ضعیف بود ( $P < 0/05$ ). هیچکدام از نمونه‌ها با بیوفیلم ضعیف اینتگرون ۲ نداشتند.

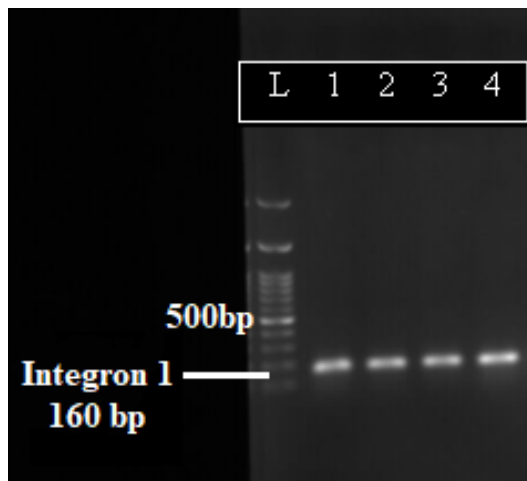
#### ارتباط مقاومت چندگانه به آنتی‌بیوتیک (MDR) و حضور ژن

#### اینتگرون ۱ و ۲

۸۳/۳ درصد (۲۵/۳۰) از نمونه MDR ژن اینتگرون ۱ را داشتند، در صورتی که فراوانی این ژن در نمونه‌های فاقد MDR ۳۱/۴ درصد (۲۲/۷۰) بود. نتایج نشان داد که ژن اینتگرون ۱ بطور معنی‌داری در نمونه‌های MDR بیشتر از نمونه‌های فاقد MDR بود ( $P < 0/05$ ). هیچکدام از نمونه‌ها فاقد MDR ژن اینتگرون ۲ را نداشتند یا به عبارت دیگر تمام نمونه‌ها با اینتگرون ۲ تنها در نمونه‌های MDR دیده شدند، که این ارتباط معنی‌دار بود ( $P < 0/05$ ).

#### مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جدایه‌های سودوموناس آئروژینوزا

۱۲ آنتی‌بیوتیک به روش دیسک دیفیوژن مورد ارزیابی قرار گرفت. مقاومت دارویی به دست کم یک داروی ضد میکروبی در سه یا بیشتر از سه دسته ضد میکروبی در یک گونه از میکروارگانیسم‌ها مقاومت دارویی چندگانه (MDR) در نظر گرفته شد. فنوتیپ MDR در ۳۰ درصد (۳۰/۱۰۰) از جدایه‌های سودوموناس آئروژینوزا شناسایی شد. فراوانی MDR در نمونه‌های بالینی به ترتیب: خلط (۱۱/۳۰، ۳۶/۶ درصد)، ادرار (۱۵/۳۰، ۵۰ درصد)، زخم (۲/۳۰، ۶/۶۶



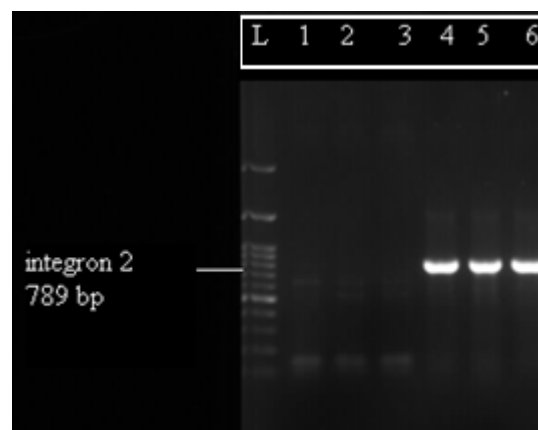
شکل ۲. بررسی حضور ژن اینتگرون کلاس I در از سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از نمونه‌های بالینی. ستون مارکر وزن مولکولی ۱۰۰ جفت باز شکل ۲. بررسی حضور ژن اینتگرون کلاس I در از سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از نمونه‌های بالینی. ستون مارکر وزن مولکولی ۱۰۰ جفت باز ۱۰۰ bp plus DNA Ladder RTU (Sina Gen). ایزوله‌های ۱، ۲، ۳، ۴ دارای اینتگرون کلاس I. C-: کنترل منفی، C+: کنترل مثبت.

Khademi و همکاران در سال ۲۰۲۱ (۲۱)، در ایران نشان‌دهنده اهمیت این مطالعه بوده و ضرورت مطالعات گسترده در نواحی جغرافیایی مختلف با نمونه‌های بالینی بیشتر و متنوع‌تر را نشان می‌دهد.

تشکیل بیوفیلیم، یکی از مکانیسم‌های مهم در بیماری‌زایی بوده که می‌تواند منجر به مشکلاتی در درمان عفونت‌های ناشی از سودوموناس آئروژینوزا شود. تمامی جدایه‌های بالینی سودوموناس آئروژینوزا در این مطالعه بیوفیلیم تشکیل دادند که در مقایسه با مطالعه‌ی Lima و همکاران که میزان تشکیل بیوفیلیم را ۷۷ در صد گزارش کردند، بیشتر بود (۲۲). با وجود تفاوت‌هایی در تشکیل بیوفیلیم و میزان MDR در بین بیماران بستری و سرپایی، ارتباط معنی‌داری میان آنها مشاهده نشد که نتایج حاصل مشابه مطالعه‌ی Davarzani و همکاران بود (۸).

همچنین تفاوت در جنسیت بیمار تأثیر بر توانایی تولید بیوفیلیم نشان نداد. نتایج مطالعه‌ی ما نشان داد که ۳۳ درصد از نمونه‌ها بیوفیلیم قوی داشتند، فراوانی بیوفیلیم متوسط و ضعیف نیز به ترتیب ۵۳ و ۱۴ درصد بود که مطالعه‌ی انجام شده توسط Zahedani و همکاران نیز فراوانی بیوفیلیم ضعیف کمتر از قوی و متوسط گزارش شده بود (۲۳). تمام ایزوله‌های بالینی در این مطالعه بیوفیلیم تشکیل دادند و میزان تشکیل بیوفیلیم قوی در این مطالعه همراستا با مطالعه‌ی Karami و همکاران بود که بیوفیلیم قوی را ۵۶ درصد گزارش کرده بودند (۲۰).

بدون شک توانایی تولید بیوفیلیم به عنوان یک مکانیسم مناسب برای زنده ماندن باکتری در شرایط سخت مثل تخریب باکتری بعد از شروع در مان با آنتی‌بیوتیک می‌تواند نقش مهمی در بقا، تکثیر و تشدید بیماری‌زایی داشته باشد که شناسایی ابعاد مختلف آن می‌تواند در مدیریت، کنترل و پیگیری از گسترش آن مفید باشد. سودوموناس آئروژینوزا با تولید بیوفیلیم موجب مهار ورود دارو به داخل سلول‌های خود می‌شود. با توجه



شکل ۳. بررسی حضور ژن اینتگرون کلاس II در از سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از نمونه‌های بالینی. ستون مارکر وزن مولکولی ۱۰۰ جفت باز ۱۰۰ bp plus DNA Ladder RTU (Sina Gen). ایزوله‌های ۱، ۲ فاقد اینتگرون کلاس II. ایزوله‌های ۵، ۶ اینتگرون کلاس II. ۳: کنترل منفی، ۴: کنترل مثبت.

### بحث

سودوموناس آئروژینوزا، یک باکتری گرم منفی و پاتوژن مهم در ایجاد طیف گسترده‌ای از عفونت‌ها انسانی است. گسترش شیوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی بسیار نگران‌کننده است که با افزایش روزافزون آن در باکتری‌ها موجب نگرانی جوامع بهداشتی درمانی در سرتاسر دنیا شده است. در مطالعه‌ی حاضر، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، تشکیل بیوفیلیم و ارتباط آن با توزیع اینتگرون‌های کلاس I، II در ایزوله‌های بالینی سودوموناس آئروژینوزا بررسی شد. مطالعات انجام شده توسط Mahmoud و Sultan در مصر در سال ۲۰۲۴ (۱۸)، در سال ۲۰۲۳ Alfarras و Al-Daraghi در عراق (۱۹)، Karami و همکاران در سال ۲۰۱۹ در ایران (۲۰) و



مطالعه‌ی ما بود، همچنین فراوانی ژن اینتگرون ۱ و ۲ به ترتیب ۸۲ و ۱۵ گزارش شد که بیشتر از مطالعه‌ی ما بود (۳۰). تمام ایزوله‌های دارای ژن اینتگرون کلاس ۲ بطور همزمان دارای ژن اینتگرون کلاس ۱ نیز بودند. ژن اینتگرون کلاس ۲ تنها در نمونه‌های مقاوم به تویرامایسین (Tobramycin)، سیپروفلوکسازین (ciprofloxacin)، پیراسیلین (piperacillin) دیده شد و به عبارت دیگر هیچ کدام از نمونه‌های حساس به این آنتی‌بیوتیک‌ها این ژن را نداشتند. مطالعه‌ی Zarei-Yazdeli و همکاران نشان داد که مقاومت به آمینوگلیکوزید و کوئینولون در نمونه‌های دارای ژن اینتگرون کلاس ۱ بیشتر بود (۳۰).

فراوانی بالای اینتگرون‌های کلاس ۱ و ۲ به‌عنوان عناصر ژنتیکی مؤثر در بروز مقاومت دارویی و ارتباط آن با بیوفیلم در سویه‌های MDR می‌تواند احتمال دخالت آن‌ها در انتقال عوامل ژنتیکی نشان دهد (۳۱). آگاهی هرچه بیشتر از آنها می‌تواند ما را در دستیابی به مسیری به منظور کنترل و پیشگیری از انتقال مقاومت بین گونه‌ای و یا حتی با گونه‌های دیگر در نمونه‌های بالینی سودوموناس آئروژینوزا یاری دهد. همچنین با توجه به افزایش موارد گزارش شده MDR از نمونه‌های بالینی سودوموناس آئروژینوزا ضرورت لزوم هر چه بیشتر برای دستیابی به یک راهکار اساسی برای مقابله با گسترش سویه‌های بالینی و کنترل آن پررنگ‌تر از گذشته می‌کند.

### نتیجه‌گیری

تمامی جدایه‌های بالینی قادر به تشکیل بیوفیلم بودند که بطور عمده بیوفیلم متوسط و قوی‌ترین بود. نتایج حاصل، فراوانی بالایی از حضور اینتگرون‌های ۱ و ۲ در جدایه‌های بالینی سودوموناس آئروژینوزا را نشان داد. ارتباط بین تشکیل بیوفیلم و حضور اینتگرون‌ها، نشان دهنده نقش این عوامل در ایجاد مقاومت آنتی‌بیوتیکی بود. فراوانی بالای سویه‌های مقاوم سودوموناس آئروژینوزا در کنار حضور اینتگرون‌ها می‌تواند یکی از عوامل مهم در افزایش انتقال ژن‌های مقاومت دارویی و ریسک ناشی از آن باشد. با توجه به این موضوع جلوگیری از انتشار سویه‌های دارای مقاومت دارویی چندگانه یک امر ضروری بنظر می‌رسد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله منتج پایان‌نامه‌ی مقطع دکتری رشته‌ی میکروبیولوژی به شماره‌ی ۹۲۰/۴۶۰/د می‌باشد که در دانشگاه شهید بهشتی به تصویب رسیده و با حمایت مالی دانشجو به انجام رسیده است.

به اینکه این باکتری یکی از شایع‌ترین عفونت‌های بیمارستانی به شمار می‌رود و کسب این ویژگی در نمونه‌های بالینی می‌تواند چالش‌های جدی در درمان بیماران ایجاد کند بسیار نگران‌کننده است که این موضوع لزوم شناخت ابعاد مختلف بیوفیلم را بیش از پیش برای ما مشخص می‌کند. در مطالعه‌ی حاضر، ۴۷ درصد نمونه‌ها دارای اینتگرون ۱ بودند، که بیشتر از نمونه‌های گزارش شده توسط Ahmadian و همکاران با ۴۲ درصد در مازنداران (۲۴) و کمتر از مطالعه‌ی Goli و همکاران با ۶۶ درصد در گیلان (۲۵)، Khademi و همکاران با ۵۸ درصد در اردبیل بود (۲۱). ۳۰ درصد از نمونه‌های بالینی سودوموناس آئروژینوزا در این مطالعه، MDR بودند که بیشتر از مطالعه‌ی Mirzaei و همکاران با ۱۵/۳ درصد گزارش MDR در شمال شرقی در سال ۲۰۲۰ ایران بوده است (۲۶). مطالعه‌ی ما نشان داد که فراوانی اینتگرون ۱ در نمونه‌هایی MDR ۸۳/۳ درصد بوده که بیشتر از مطالعه‌ی Nikokar و همکاران به دست آمد، که میزان فراوانی اینتگرون ۱ را ۶۹/۲ درصد گزارش دادند (۲۷). در این مطالعه، اینتگرون ۱ بطور معنی‌داری در بیوفیلم شدید و متوسط بیشتر از موارد ضعیف بود و ۹۰/۹ درصد نمونه‌ها با بیوفیلم قوی دارای ژن اینتگرون ۱ بودند. که همراستا با مطالعه‌ی Sultan و Mahmoud بود (۱۸). ارتباط معنی‌دار میان تشکیل بیوفیلم و حضور اینتگرون ۱ و ۲ در مطالعه‌ی Alfarras و Al-Daraghi نیز نشان داده شده است که همسو با مطالعه‌ی ما بود (۱۹).

مطالعه‌ی Aryanezhad و همکاران در بندعباس، فراوانی اینتگرون ۱ را ۱۳/۳ درصد و اینتگرون ۲ را ۶ درصد گزارش دادند که کمتر از مطالعه‌ی ما بود (۲۸). نتایج حاصل از مطالعه‌ی Liu و همکاران، فراوانی حضور اینتگرون ۱ در نمونه‌های بالینی را ۱۳ درصد در چین گزارش کردند که بسیار کمتر از مطالعه‌ی ما بود (۲۹). نتایج نشان داد که ژن اینتگرون ۱ بطور معنی‌داری در نمونه‌های MDR بیشتر از نمونه‌های فاقد MDR بود (P = ۰/۰۱). هیچ‌کدام از نمونه‌ها فاقد MDR ژن اینتگرون ۲ را نداشتند. به عبارت دیگر تمام نمونه‌ها دارای ژن اینتگرون ۲ تنها در MDR و نمونه‌های غیر MDR این ژن را نداشتند. فنوتیپ MDR در ۳۰ درصد (۳۰/۱۰۰) از جدایه‌های سودوموناس آئروژینوزا شنا سایی شد. بیشترین مقاومت مربوط به افلوکسازین (۳۰ درصد) و کمترین میزان مقاومت مربوط به پیراسیلین/تازوباکتام (۱۸ درصد) بود. ۱۱ ایزوله به همه‌ی آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم بودند. این نتایج در حالیست که مطالعه‌ی Liu و همکاران، مقاومت به سیپروفلوکسازین و ایمپنم را به ترتیب با ۲۶۵/۵ و ۲۳/۶ درصد بیشترین آنتی‌بیوتیک مقاومت گزارش کردند (۲۹). در مطالعه‌ی Zarei-Yazdeli و همکاران، میزان بروز فنوتیپ MDR، ۷۵ درصد گزارش شد که بیش از دو برابر از گزارش MDR در

## References

1. Leisner JJ. The diverse search for synthetic, semisynthetic and natural product antibiotics from the 1940s and up to 1960 exemplified by a small pharmaceutical player. *Frontiers in microbiology* 2020; 11: 976
2. Varahram M, Besharati S, Farnia P, Ghanavi J, Saif S, Nia JH, et al. Correlation of single-nucleotide polymorphism at interferon-gamma R1 (at Position -56) in positive purified protein derivative health workers with COVID-19 infection. *Int J Mycobacteriol* 2022;11(3): 318-22.
3. Moradi M, Besharati S, Moghaddam MM, Fasihi-Ramandi M, Azad ZM, Mirnejad R. A concise review on the antimicrobial peptides and their critical activity against intracellular targets of bacteria. *J Microbiol Biotechnol Food Sci* 2023; 12(4): e6006-e.
4. Alara JA, Alara OR. An overview of the global alarming increase of multiple drug resistant: a major challenge in clinical diagnosis. *Infect Disord Drug Targets* 2024; 24(3): e250723219043.
5. Besharati S, Farnia P, Farnia P, Ghanavi J, Velayati AA. Investigation of the hypothesis of biofilm formation in coronavirus (COVID-19). *Biomed Biotechnol Res J* 2020; 4(Suppl 1): S99-S100.
6. Besharati S. The expanding antibiotic resistance: the requirement of new therapeutic strategy for the development of new anti-infective. [27 November 2024]. Available from: <https://www.intechopen.com/chapters/1201282>
7. Motbainor H, Bereded F, Mulu W. Multi-drug resistance of blood stream, urinary tract and surgical site nosocomial infections of *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* among patients hospitalized at Felegehiwot referral hospital, Northwest Ethiopia: a cross-sectional study. *BMC Infect Dis* 2020; 20(1): 92.
8. Davarzani F, Saidi N, Besharati S, Saderi H, Rasooli I, Owlia P. Evaluation of antibiotic resistance pattern, alginate and biofilm production in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Iran J Public Health* 2021; 50(2): 341-9.
9. Hafiz TA, Bin Essa EA, Alharbi SR, Alyami AS, Alkudmani ZS, Mubarak MA, et al. Epidemiological, microbiological, and clinical characteristics of multi-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates in King Fahad Medical City, Riyadh, Saudi Arabia. *Trop Med Infect Dis* 2023; 8(4): 205.
10. Litwin A, Rojek S, Gozdzik W, Duszyńska W. *Pseudomonas aeruginosa* device associated-healthcare associated infections and its multidrug resistance at intensive care unit of University Hospital: polish, 8.5-year, prospective, single-centre study. *BMC Infect Dis* 2021; 21(1): 180.
11. Huang L, Wu C, Gao H, Xu C, Dai M, Huang L, et al. Bacterial multidrug efflux pumps at the frontline of antimicrobial resistance: an overview. *Antibiotics (Basel)* 2022; 11(4): 520.
12. Sabbagh P, Rajabnia M, Maali A, Ferdosi-Shahandashti E. Integron and its role in antimicrobial resistance: A literature review on some bacterial pathogens. *Iran J Basic Med Sci* 2021; 24(2): 136-42.
13. Davoodi NR, Soleimani N, Hosseini SM, Rahnamaye-Farzami M. Molecular characterization and epidemiological investigation of colistin resistance in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in a tertiary care hospital in Tehran, Iran. *BMC Microbiol* 2024; 24(1): 230.
14. Besharati S, Owlia P, Sadeghi A, Ahmadi F, Alebouyeh M. Frequency of integrons 1 and 2 and their relationship with drug resistance patterns of *Salmonella* isolates in patients with gastroenteritis in Tehran, Iran [in Persian]. *Daneshvar Medicine* 2020; 28(5): 1-10.
15. El-Baz AM, Yahya G, Mansour B, El-Sokkary MM, Alshaman R, Alattar A, et al. The Link between occurrence of class I integron and acquired aminoglycoside resistance in clinical MRSA isolates. *Antibiotics (Basel)* 2021; 10(5): 488.
16. Lewis I, James S. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. [January 27, 2025]. Available from: <https://clsi.org/shop/standards/m100/>
17. Müsken M, Di Fiore S, Römling U, Häußler S. A 96-well-plate-based optical method for the quantitative and qualitative evaluation of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation and its application to susceptibility testing. *Nat Protoc* 2010; 5(8): 1460-9.
18. Sultan AM, Mahmoud NM. Detection of resistance integrons among biofilm and non-biofilm producing clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Germes* 2024; 14(1): 11-9.
19. Alfarras AF, Al-Daraghi WA. Characterization of Integron Genes of Clinical Isolates of *Pseudomonas aeruginosa* which Perform Resistance to Antibiotics and Biofilm Formation by these Strains. *Mikrobiolohichnyi Zhurnal* 2024; 86(1): 3-13.
20. Karami P, Khaledi A, Mashoof RY, Yaghoobi MH, Karami M, Dastan D, et al. The correlation between biofilm formation capability and antibiotic resistance pattern in *Pseudomonas aeruginosa*. *Gene Reports*. 2020; 18: 100561.
21. Khademi F, Ashrafi SS, Neyestani Z, Vaez H, Sahebkar A. Prevalence of class I, II and III integrons in multidrug-resistant and carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. *Gene Reports* 2021; 25: 101407.
22. Lima JLDc, Alves LR, Jacomé PRLda, Bezerra JP, Maciel MAV, Morais MMCd. Biofilm production by clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and structural changes in LasR protein of isolates non biofilm-producing. *Braz J Infect Dis* 2018; 22(2): 129-36.
23. Zahedani SS, Tahmasebi H, Jahantigh M. Coexistence of virulence factors and efflux pump genes in clinical isolates of *pseudomonas aeruginosa*: analysis of biofilm-forming strains from Iran. *International Journal of Microbiology* 2021; 2021(1): 5557361.
24. Ahmadian L, Haghshenas MR, Mirzaei B, Norouzi Bazgir Z, Goli HR. Distribution and molecular characterization of resistance gene cassettes containing class I integrons in multi-drug resistant (MDR) clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Infect Drug Resist* 2020; 13: 2773-81.



25. Goli HR, Nahaei MR, Rezaee MA, Hasani A, Kafil HS, Aghazadeh M, et al. Prevalence and molecular characterization of Class 1 integrons among clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in Northwest of Iran. *Mol Genet Microbiol Virol* 2017; 32: 109-15.
26. Mirzaei B, Bazgir ZN, Goli HR, Iranpour F, Mohammadi F, Babaei R. Prevalence of multi-drug resistant (MDR) and extensively drug-resistant (XDR) phenotypes of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* isolated in clinical samples from Northeast of Iran. *BMC Res Notes* 2020; 13(1): 380.
27. Nikokar I, Tishayar A, Flakiyan Z, Aljani K, Rehana-Banisaeed S, Hossinpour M, et al. Antibiotic resistance and frequency of class 1 integrons among *Pseudomonas aeruginosa*, isolated from burn patients in Guilan, Iran. *Iranian J Microbiol* 2013; 5(1): 36-41.
28. Aryanezhad M, Shakibaie MR, Karmostaji A, Shakibaie S. Prevalence of Class 1, 2, and 3 Integrons and Biofilm Formation in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* among ICU and non-ICU Patients. *Infect Epidemiol Med* 2016; 2(4): 1-7.
29. Liu M, Ma J, Jia W, Li W. Antimicrobial resistance and molecular characterization of gene cassettes from class 1 integrons in *Pseudomonas aeruginosa* strains. *Microb Drug Resist* 2020; 26(6): 670-6.
30. Zarei-Yazdali M, Eslami G, Zandi H, Kiani M, Barzegar K, Alipanah H, et al. Prevalence of class 1, 2 and 3 integrons among multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in Yazd, Iran. *Iran J Microbiol* 2018; 10(5): 300-6.
31. Soleimani N, Hosseini SM. Comparison of loop-mediated isothermal amplification, multiplex PCR, and REP-PCR techniques for identification of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. *Iran J Microbiol* 2023; 15(5): 654-64.
32. Ghazaei C. *Pseudomonas aeruginosa*: Prevalence of Pathogenic Genes, OprL and ToxA in Human and Veterinary Clinical Samples in Ardabil, Iran, 2020. *Journal of Advanced Biomedical Sciences* 2022; 12(4): 412-21..

## Evaluation of the Prevalence of Integron 1, 2 and Biofilm Formation in Clinical Isolates of *Pseudomonas Aeruginosa* in Tehran

Saeid besharati<sup>1</sup>, Mohammad Rahbar<sup>2</sup>, Neda Soleimani<sup>3</sup>

### Original Article

### Abstract

**Background:** *Pseudomonas aeruginosa* is a significant bacterium responsible for various infections. The increasing spread of antibiotic resistance in these bacteria is concerning. Key factors contributing to the rise in antibiotic resistance include the presence of integrons and the ability to form biofilms. The current study investigated the abundance of class 1 and 2 integrons and biofilm formation among clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in Tehran, Iran.

**Methods:** In this study, 100 clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* were isolated. The samples were examined in terms of microbial and biochemical culture, molecular confirmation was done by PCR for OprL genes and the presence of class 1 and 2 integrons was checked. The significance of variables was checked with the p-value.

**Findings:** The prevalence of integron class 1 and 2 was 47% and 8%, respectively. Integron 1 and 2 were significantly higher in severe and moderate biofilm than in weak cases ( $P < 0.05$ ). Out of 33 samples with strong biofilm, 90.9% of samples had the integron one gene. The results showed that the integron one gene was significantly higher in Multiple drug resistance (MDR) samples than in non-MDR samples ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion:** The relationship between biofilm formation and the presence of integrons shows the role of these factors in creating antibiotic resistance, and the presence of integrons 1 and 2 in clinical strains can increase the risk of drug resistance gene transmission.

**Keywords:** *Pseudomonas aeruginosa*; Drug resistance; Biofilms; Integrons

**Citation:** besharati S, Rahbar M, Soleimani N. Evaluation of the Prevalence of Integron 1, 2 and Biofilm Formation in Clinical Isolates of *Pseudomonas Aeruginosa* in Tehran. J Isfahan Med Sch 2025; 43(805): 125-34.

1- PhD Student, Department of Microbiology and Microbial Biotechnology, School of Life Sciences and Biotechnology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

2- Professor, Departments of Microbiology, Iranian Reference Health Laboratory Research Center, Ministry of Health and Medical Education, Tehran, Iran

3- Assistant Professor of Medical Bacteriology, Department of Microbiology and Microbial Biotechnology, School of Life Sciences and Biotechnology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

**Corresponding Author:** Neda soleimani, Assistant Professor of Medical Bacteriology, Department of Microbiology and Microbial Biotechnology, School of Life Sciences and Biotechnology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran; Email: N\_Soleimani@sbu.ac.ir