دانشگاه الزهرا

دانشکده علوم پایه

پایان نامه

جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد

رشته بیوتکنولوژی – گرایش میکروبی

عنوان

بهینه سازی تکنیک PCR برای بررسی خصوصیات ملکولی اینتگرون کلاس یک سویه *کلبسیلا پنومونیه* در جهت طراحی کیت تشخیصی

اساتید راهنما

دکتر رمضان رجب نیا

دکتر سارا غروی

دانشجو

الهه فردوسی شاهاندشتی

تیر ماه 1390

ستاره ای بدرخشید و ماه مجلس شد ...

تردیدی نیست که روح سیال و جان شیفته و جویا را آرامشی نیست تا به آرامش جاری و مانا برسد و امر تحصیل و درس و کلاس برای ما همان است که باور داریم آنرا فراغتی نیست.

هر چند طی درجات و سطوح تحصیل علم حرکت در مسیر این امر است ولی آنچه که در می یابیم بیش ذرگی و ناچیزی حضور است در حلاوت کشف و شهود بیشتر و بهتر منطق و مکانیزم و هندسه متین حاکم بر کلیت هستی .

و در این حضور چه خوب مزه می کردیم آیه روشن حق را که :

" و ما اوتیتم من العلم الا قلیلا "

و اینک در پایان این بخش از تحصیلات دانشگاهی ام، خداوند را شاکرم که مرا بیش از پیش به فرداها ره نمود و از او می خواهم که مرا به باورهایم عالم ،و داشته هایم معلوم و به آینده ام معطوف بگرداند .

و اما قصه سپاس تذکریست همیشگی که در جای جای این حضور مرا در خود فشرده می کند تا به تکرار سپاسگزار باشم، سپاس به پیشگاه همه آنهایی که الفبای درس و کلاس را تا امروزی که همچنان اشتهای شنیدن و نوشتن دارم به من آموختند از دبستان جهان تربیت آمل تا دانشکده علوم پایه دانشگاه الزهرا (س) تهران.

سپاس ناب تر و گزیده و خلاصه جان به پیشگاه ستاره های آسمان هستی ام؛ پدر و مادر که ماندگاری و سلامت و سعادت و هر آنچه خوبیست از درگاه حضرت حق برایشان

خواهانم و این وجیزه ناچیز را اگر قدر و شأنی باشد و بهانه ابتهاج و سرور، از سویدای دل پیشکش می کنم به حضور این گرانمایگان.

سپاس از اساتید راهنما، فرهیخته و گرانقدرم

جناب آقای دکتر رمضان رجب نیا

سرکار خانم دکتر سارا غروی

اساتید فرزانه و گرانقدرم، سرکار خانم دکتر عزت عسگرانی و سرکار خانم دکتر فرشق افتخار که زحمت داوری این پژوهش را بر عهده گرفتند.

و سرکار خانم دکتر احیاء عبدی عالی، استاد بزرگوار و مدیریت محترم گروه زیست شناسی.

پیشکشی دیگر به حضور طالع سعد فرداهایم، همراه و همسر گرامی و مهربانم که تقارن و تبدیل آغاز زندگی مشترکمان با این پایان را به‌فال نیک گرفته باشد تا این داشته هایمان را در همه مناسبات زندگی امروز و فردا به کار و نقد و نظر بگیریم ....

با تشکر از خواهران مهربان و برادر عزیزم، دوستان و همکاران گران مایه ام، خانم ها دکتر سونیا نورخمامی، دکتر مینو شفیعی، راضیه دلیر فردویی، فاطمه آهنگرکانی و آقای مقداد باقری که مرا در انجام این پژوهش صمیمانه یاری کردند.

چکیده

اینتگرون ها از عناصر متحرک ژنتیکی هستند که قادرند ژنهای مقاومت به آنتی بیوتیک های مختلف را حمل نمایند. در میان کلاس های مختلف اینتگرون، اینتگرون کلاس I در ایجاد و انتقال مقاومت های آنتی بیوتیکی مهم‌تر و دارای فراگیری بیشتری می باشد. نقش اینتگرون ها در بوجود آوردن مقاومت های چندگانه آنتی بیوتیکی نیز ثابت شده است.از طرفی دیگر، *کلبسیلا پنومونیه* از عوامل مهم عفونت های بیمارستانی و مقاومت های داروئی می باشد. لذا با توجه به ا همیت ژن اینتگرون کلاس I در مقاومت های دارویی و نقش *کلبسیلا پنومونیه* در عفونت های بیمارستانی، این پژوهش جهت بهینه سازی تکنیک PCR برای بررسی ملکولی دقیق تر اینتگرون کلاس I سویه های *کلبسیلا پنومونیه* در جهت طراحی کیت تشخیصی می باشد.

این مطالعه بر روی سویه های استاندارد ATCC1029 *Klebsiella pneumoniae* به عنوان اینتگرون مثبت (C+) و *Klebsiella pneumoniae* ATCC1053 به عنوان اینتگرون منفی (C-) و 30 نمونه *کلبسیلا پنومونیه* جدا شده از محیط و تجهیزات بخش مراقبت های ویژه بیمارستان شهید بهشتی بابل انجام شد. پس از جداسازی و شناسایی کامل باکتری ها، برای بررسی الگوی حساسیت و مقاومت به آنتی بیوتیک های سیپروفلوکسازین، سفازولین، سفتریاکسون، سفتی زوکسیم، سفپیم، سفوتاکسیم، آمیکاسین، اوفلوکسازین، ایمی پنم، تیکارسیلین وجنتامایسین ، تست حساسیت به روش دیسک دیفیوژن صورت گرفت. پس از انجام تست حساسیت، درصد مقاومت به آنتی بیوتیک های فوق به ترتیب 60، 86/6، 83/3، 90، 90، 90، 36/6، 56/6، 60، 86/6 و 86/6 بدست آمد.

استخراج DNA انجام گردید. ژن اینتگرون کلاس I با استفاده از برنامه PCR و پرایمر بدست آمده از مقالات ، تشخیص داده شد. سپس یک جفت پرایمر جدید برای ناحیه *intI* ژن اینتگرون کلاس I طراحی گردید و PCR مجدد برای تمام سویه های *کلبسیلا پنومونیه* با این پرایمر طراحی شده انجام شد.

با استفاده از پرایمر اولیه، از 30 سویه *کلبسیلا پنومونیه* جدا شده از ICU، 11 سویه (36/6درصد) دارای ژن اینتگرون کلاس I بودند. بهترین دمای annealing برای این پرایمر، که در مقالات 55 درجه سانتی گراد گزارش شده بود، 53 درجه سانتی گراد بدست آمد. با استفاده از پرایمر جدید طراحی شده، از 30 سویه فوق، در 18 مورد (60 درصد) ژن اینتگرون کلاس I شناسایی شد که 11 مورد شناسایی شده با پرایمر اول را نیز در بر می گیرد.

نتایج این مطالعه نشان می دهد با استفاده از پرایمر جدید و بهینه سازی صورت گرفته ، می توان درصد بیشتری از سویه های کلینیکی *کلبسیلا پنومونیه* دارای ژن اینتگرون کلاس I را، در مقایسه با پرایمر موجود، شناسایی کرد. از آنجایی که اینتگرون کلاس I نقش مهمی در ایجاد و انتقال مقاومت آنتی بیوتیکی دارد، شناسایی موارد بیشتر آنها با طراحی کیت های تشخیصی پزشکی حائز اهمیت می باشد . مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های *کلبسیلا پنومونیه* جدا شده از محیط و وسایل ICU بسیار بالا بوده که می تواند به دلیل مصرف بی رویه آنتی بیوتیک ها باشد . باید تدابیری اندیشیده شود تا از بروز و انتشار این عنصر مقاومت آنتی بیوتیکی جلوگیری گردد.

واژه های کلیدی : *کلبسیلا پنومونیه*، اینتگرون کلاس I، مقاومت آنتی بیوتیکی، طراحی پرایمر، کیت تشخیصی

فهرست مطالب

فصل اول مقدمه 1

1-1) مقاومت به داروهای ضد میکروبی..... 2

1-2) مکانیسم های مختلف مقاومت به آنتی بیوتیک ها..... 3

1-3) منشأ مقاومت دارویی..... 4

1-4) مکانیسم های انتقال مواد ژنتیکی و پلاسمیدها..... 8

1-5) مقاومت متقاطع (Cross-Resistance) 9

1-6) محدودیت مقاومت دارویی 9

1-7) اینتگرون ها..... 10

1-7-1) تفاوت اینتگرون ها و ترانسپوزون ها 11

1-7-2) اینتگرون کلاس I 11

1-7-3) اینتگرون کلاسII 12

1-7-4) اینتگرون کلاس III 13

1-7-5) اینتگرون کلاس IV یا سوپر اینتگرون ها 13

1-7-6) ژن های مقاومت داخل اینتگرون 14

1-7-7) مکانیسم عمل اینتگرون ها 14

1-7-8) تکامل اینتگرون ها 17

1-9) عوامل شایع باکتریایی در عفونت های بیمارستانی..... 17

1-9-1) شایع ترین عفونت های بیمارستانی 18

1-10) *کلبسیلا پنومونیه*..... 19

1-10-1) تاریخچه 19

1-10- 2) مورفولوژی و فیزیولوژی 19

1-10-3) کشت 20

1-10-4) خواص بیوشیمیایی 21

1-10-5) ساختمان آنتی ژنی 21

1-10- 6) مقاومت..... 21

1-10- 7) بیماریزایی در حیوانات آزمایشگاهی 22

1-10-8) عفونت های ناشی از *کلبسیلا پنومونیه* 22

1-10-9) تشخیص آزمایشگاهی 23

1-10-10) فراگیری 23

1-10-11) درمان 24

1-10-12) پیشگیری 24

1-11) آزمون تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی ..... .24

1-12) واکنش زنجیره ای پلی مراز (PCR) 25

فصل دوم مواد و روش ها 26

2-1- مواد و وسایل لازم 27

2-2- روش کار 31

2-2-1- نوع تحقیق 31

2-2-2- نمونه برداری و کشت نمونه ها 31

2-2-3-شناسایی جدایه ها 32

2-3- سویه باکتری استاندارد به کار رفته در این تحقیق 37

2-4-تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی 37

2-4-1-تعیین حساسیت جدایه ها نسبت به آنتی بیوتیک ها به روش انتشار در آگار 37

2-4-2- عوامل موثر در آزمایش تعیین حساسیت 40

2-5- طرز تهیه محلول ها ی مورد نیاز در روش های مولکولی 42

2-5-1- طرز تهیه بافر Tris –Borate - EDTA (TBE) 42

2-5-2- طرز تهیه ژل آگارز برای الکتروفورز 42

2-6- روش های انجام تکنیک های مولکولی 43

2-6-1- جمع آوری باکتری به منظور استخراج DNA 43

2-6-2- استخراج DNA 43

2-6-3- انتخاب پرایمر 43

2-6-4- روش انجام PCR 44

2-6-5- بهینه کردن دمای annealing برای این پرایمر 47

2-7- طراحی پرایمر با استفاده از نرم افزارهای Generunner و Blast 47

2-7-1- بهینه کردن دمای annealing برای پرایمر طراحی شده 48

2-8- الکتروفورز 48

2-8-1- روش عکسبرداری 49

2-8-2- مارکر وزنی 49

2-9- تعیین توالی(Sequencing) محصولPCR 49

۲-۹-۱- توالی ژن *intI* در اینتگرون کلاس I به فرمتFASTA ۵۰

فصل سوم نتایج 51

3-1- جداسازی و شناسایی گونه های*Klebsiella pneumoniae* از ICU 52

3-2- سنجش حساسیت نسبت به آنتی بیوتیک ها.....56

3-2-1- تعیین حساسیت نسبت به آنتی بیوتیک ها به روش انتشار در آگار.....56

3 – 3- روش های ملکولی..... 61

۳-۳-۱- نتیجه آنالیز کیفی استخراج DNA ۶۱

۳-۴- نتیجه واکنش PCR با پرایمر اول..... ۶۳

3-5- نتیجه واکنش PCR با پرایمر دوم (پرایمر طراحی شده).....64

3-5-1- نتایج تعیین توالی محصول PCR با پرایمر طراحی شده.....66

3-6- نتایج تست های تعیین حساسیت نمونه های دارای ژن اینتگرون

کلاس I..... 70

فصل چهارم بحث 81

4- 1- جداسازی و شناسایی سویه *کلبسیلا پنومونیه* از ICU بیمارستان ..82

4-2- تعیین حساسیت دارویی(به روش دیسک دیفیوژن آگار).....82

4-3- بررسی ژن مقاومت به آنتی بیوتیک با روش PCR.....87

4-4- بهینه سازی کیت تشخیصی ژن اینتگرون کلاس یک و طراحی

پرایمر جدید 92

4-5- نتیجه گیری نهایی: معرفی کیت پیشنهادی.....93

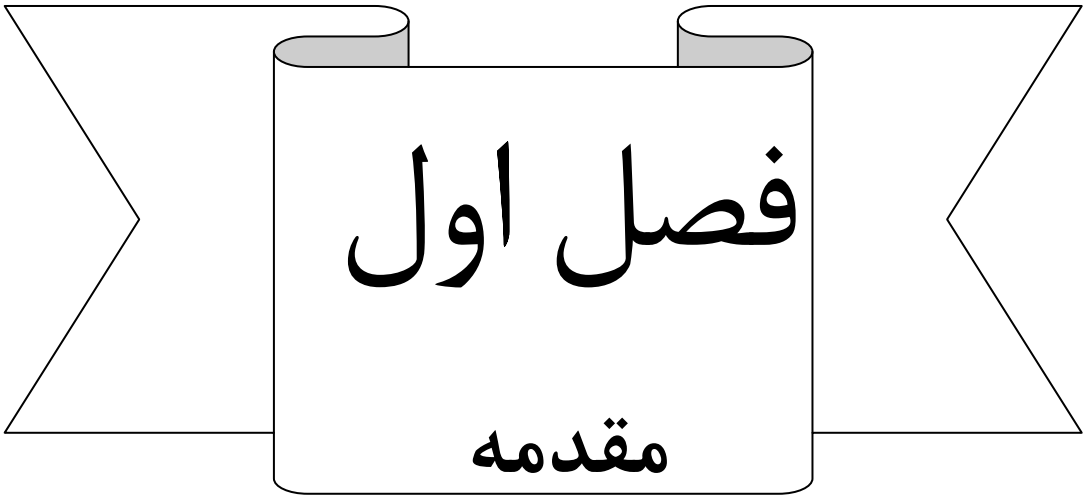
منابع..... 94

پیوست ها..... 107

پیوست 1..... 108

پیوست 2..... 109

پیوست 3..... 112


فصل اول
مقدمه

مقدمه

1-1- مقاومت به داروهای ضد میکروبی

تعریف مقاومت

به باکتری هایی مقاوم گفته می شود که رشد آنها توسط حداکثر میزان یک آنتی بیوتیک، که برای میزبان قابل تحمل است، متوقف نگردد . بعضی از ارگانیسم ها ذاتا" به یک آنتی بیوتیک مقاومت دارند . اما گونه های میکروبی که به طور طبیعی نسبت به داروی خاصی پاسخ می دهند می توانند گونه های مقاوم تولید کنند (Busani et al., 2004).

به طور کلی وجود مقاومت در باکتری ها را می توان ذاتی و اکتسابی تعریف کرد

- مقاومت ذاتی (طبیعی):

باکتری ممکن است ذاتا" به یک آنتی بیوتیک مقاوم باشد. به عنوان مثال استرپتومایست ژن هایی دارد که مسئول مقاومت به آنتی بیوتیک حاصله از خودش (استرپتومایسین) می باشد . مقاومت ذاتی به واسطه ی وجود ترکیب ثابت ژنتیکی در کروموزوم میکروارگانیسم حاصل می شود و به تشخیص طیف فعالیت آنتی بیوتیک کمک می کند (Busani et al., 2004).

- مقاومت اکتسابی:

باکتری ها می توانند به آنتی بیوتیک ها مقاوم گردند، یعنی جمعیت باکتری که قبلاً به آنتی بیوتیک هایی حساس بودند، مقاومت پیدا می کنند. این تیپ مقاوم، از تغییرات در ژنوم باکتری حاصل می شود (Whiteman, 2007).

1-2- مکانیسم های مختلف مقاومت به آنتی بیوتیک ها

میکروارگانیسم ها با مکانیسم های مختلفی نسبت به داروها مقاوم می شوند:

(1) مقاومت آنزیمی: میکروارگانیسم ها آنزیم هایی تولید می کنن د که داروی فعال را تخریب می کند ، برای مثال: بتالاکتامازها که توسط استافیلوکوک های مقاوم به پن ی سیلین G یا باسیل های گرم منفی ساخته می شوند . باکتری های گرم منفی مقاوم به آمینوگلیکوزید (از طریق پلاسمید) آنزیم های استیل کننده، آدنیل کننده یا فسفوریل کننده ای تولید می کنند که دارو را از بین می برند . باکتری های گرم منفی در صورتی که کلرامنفیل استیل ترانسفراز تولید کنند، به کلرامفنیکل مقاوم می شوند.

(2) تغییر در نفوذپذیری: میکروارگانیسم ها نفوذپذیری خود به دارو را تغییر می دهند ، برای مثال: تتراسیکلین ها در باکتری های حساس تجمع می یابند ولی در باکتری های مقاوم، چنین نیست. مقاومت به پلی میکسین ها هم ناشی ا ز تغییر نفوذپذیری به دارو است. استرپتوکوک ها به طور طبیعی دارای سدی در برابر نفوذپذیری آمینوگلیکوزیدها هستند که این سد ممکن است با حضور همزمان یک داروی مؤثر بر دیواره مثل پنی سیلین، برداشته شود. مقاومت به آمیکاسین و آمینوگلیکوزیدهای دیگر ممکن است ناشی از فقدان نفوذپذیری نسبت به دارو به علت تغییر در غشای خارجی باشد که انتقال فعال دارو را به داخل سلول مختل می کند.

(3) تغییر در محل هدف : میکروارگانیسم یک هدف ساختمانی تغییر یافته ، برای دارو ایجاد می کند، برای مثال: میکروارگانیسم های مقاوم به اریترومایسین یک گیرن ده ی تغییریافته روی زیر واحد 50S ریبوزوم دارند که از متیله شدن RNA ریبوزومی 23S ناشی می شود. مقاومت به بعضی از پنی سیلین ها و سفالوسپورین ها ممکن است به علت فقدان یا تغییر PBPs (Penicillin Binding Proteins) باشد. مقاومت به پنی سیلین در *انتروکوک* و *استرپتوکوک پنومونیه* ناشی از تغییر PBPs است.

(4) تغییر واکنش های متابولیسمی : میکروارگانیسم ها با تغییر مسیر متابولیسم، واکنشی که توسط دارو مهار می شود را جبران می کنند، برای مثال: بعضی از باکتری های مقاوم به سولفانامید، به PABA خارج سلولی نیاز ندارند و مثل سلول های پستانداران می توانند از اسید فولیک آماده استفاده کنند.

(5) پدیده Efflux یا پمپ کردن به فضای بیرون:

پدیده Efflux مسئول خروج مواد سمی و آنتی بیوتیک ها به خارج سلول می باشد و بنابراین باعث ایجاد مقاومت های آنتی بیوتیکی باکتری ها می شود بعضی از سیستم های Efflux اختصاصی و فقط برای داروی خاصی هستند، اما بعضی دیگر باعث مقاومت باکتری به چند دارو می شوند. این نوع مقاومت که از شیوه بیرون راندن دارو استفاده می کند، در باکتری های گرم منفی دیده می شود (Tenover, 2006; Tuckman *et al*, 2007)

1-3- منشأ مقاومت دارویی

منشأ مقاومت دارویی ممکن است ژنتیکی یا غیر ژنتیکی باشد.

1) منشأ غیرژنتیکی مقاومت دارویی

- نسخه برداری فعال باکتری ها برای عمل اکثر داروهای ضد میکروبی لازم است. در نتیجه، میکروارگانیسم هایی که از نظر متابولیکی غیرفعال هستند (در حال تکثیر نیستند) از نظر فنوتیپی ممکن است به داروها مقاوم باشند . البته سلول های جدید حاصل از آنها کاملاً حساس هستند، برای مثال: مایکوباکتریوم ها اغلب چندین سال پس از عفونت در بافت ها باقی می مانند، توسط دفاع میزبان متوقف شده و تکثیر نمی یابند. این ارگانیسم های باقی مانده به درمان مقاوم هستند و با آن ریشه کن نمی شوند. حال، اگر این ارگانیسم ها شروع به تکثیر کنند (مثلاً به دنبال مهار ایمنی سلولی در بیمار) به همین داروها بسیار حساس می شوند (Johnson *et al*., 2000).

- میکروارگانیسم ها ممکن است برای چند نسل، ساختمان هدف اختصاصی (Specific target structure) برای دارو را از دست بدهند و مقاوم شوند، برای مثال: ارگانیسم های حساس به پنی سیلین ممکن است در هنگام تجویز پنی سیلین ، به شکل L که فاقد دیواره است، تبدیل شوند. آنها به علت نداشتن دیواره، نسبت به مهارکننده های دیواره ی سلولی (پنی سیلین، سفالوسپورین) مقاوم هستند و ممکن است برای چندین نسل به همین صورت باقی بمانند. وقتی که این ارگانیسم ها با تولید دیواره ی سلولی به شکل اصلی والدی خود مبدل شوند، دوباره به پنی سیلین حساس می شوند (Vakulenko *et al*., 2003).

- میکروارگانیسم ها ممکن است در محل هایی از بدن میزبان ، عفونت ایجاد کنند که داروهای ضد میکروبی در آنجا ، فعال نیستند یا حذف می شوند ، برای مثال: آمینوگلیکوزیدهایی مثل جنتامایسین در درمان تب های روده ای سالمونلایی مؤثر نیستند، چرا که سالمونلا داخل سلولی است و آمینوگلیکوزید ها وارد سلول نمی شوند. همین طور فقط دار وهایی که وارد سلول می شوند در درمان بیماری لژیونر

(Legionnaire's disease) مؤثر هستند، چون لژیونلا پنوموفیلا در داخل سلول به سر می برد (Dutka-Malen *et al.*,1995).

2) منشأ ژنتیکی مقاومت دارویی

اکثر میکروب های مقاوم به دارو در نتیجه ی تغییر ژنتیکی و روند انتخا ب توسط داروهای ضد میکروبی ایجاد می شوند.

الف) مقاومت کروموزومی

این مقاومت در نتیجه ی یک جهش خود بخودی در یک جایگاه ژنی که حساسیت به یک داروی ضد میکروبی را بر عهده دارد، رخ می دهد . وجود داروی ضد میکروبی به صورت یک مکانیسم انتخابی، ارگانیسم های حساس را تضع یف می کند و رشد باکتری های جهش یافته ی مقاوم را افزایش می دهد. جهش خودبخودی با احتمال 10^{-7} تا 10^{-12} اتفاق می افتد و بنابراین یک علت شایع مقاومت بالینی به دارو در بیمار است. البته، مقاومت به دلیل جهش های کروموزومی به ریفامپین با احتمال بالایی (حدود 10^{-5} تا 10^{-7}) رخ می دهد. در نتیجه، درمان عفونت باکتریایی با ریفامپین به تنهایی، اغلب به شکست می انجامد . باکتری های دچار جهش های کروموزومی بیش از همه بر اثر تغییر در ساختمان گیرنده ی یک دارو مقاوم می شوند ، به عنوان مثال، پروتئین P12 روی جزء 30S ریبوزوم باکتری مثل گیرنده ای جهت اتصال استرپتومایسین عمل می کند. بنابراین جهش در ژنی که این پروتئین ساختمانی را کنترل می کند به مقاومت در برابر استرپتومایسین منتهی می شود . جهش می تواند به فقدان PBPs منجر می شود

که چنین باکتری هایی را نسبت به داروهای بتالاکتام مقاوم م ی سازند (McGraw *et al.*,2007)

ب) مقاومت خارج کروموزومی

اغلب باکتری ها، عناصر ژنتیکی خارج کروموزومی از جمله پلاسمید ها، ترانسپوزون ها و اینتگرون ها را دارا می باشند . این عناصر می توانند ژن های مقاومت به آنتی بیوتیک های مختلف را در گونه های میکروبی منتقل کنند (Shahid *et al.*, 2003, Salipante *et al.*, 2003 & Kimpe *et al.*, 2003).

- ایجاد مقاومت توسط پلاسمید ها: پلاسمید ها غالبا" ژن های مقاومت به یک - و اغلب چند - داروی ضد میکروبی را حمل می کنند . ژن های پلاسمیدی مربوط به مقاومت داروها معمولاً آنزیم هایی را تولید می کنند که تخریب داروهای ضد میکروبی را کنترل می کنند. بنابراین، پلاسمیدها، مقاومت به پنی سیلین ها و سفالوسپورین ها را بحمل ژن های تولید بتا لاکتاماز تعیین می کنند . پلاسمیدها، آنزیم های تخریب کننده ی کلرامفنیکل (استیل ترانسفراز)، آنزیم های استیل کننده و آ دنیل کننده و فسفوریل کننده ی آمینوگلیکوزیدهای مختلف و آنزیم های تعیین کننده ی انتقال فعال تتراسیکلین و ... را رمز می کنند (McGraw *et al.*,2007).

به عبارت دیگر مقاومت پلاسمیدی در برابر عوامل ضد میکروبی به دلایل زیر از مقاومت کروموزومی رایج تر است:

1 -اکثر سلول های موجود در یک جمعیت میکروبی خاص در غیاب اثر تحمیلی عوامل ضد میکروبی به حفظ پلاسمید ها نیاز ندارند.

2 -ژن هایی که روی پلاسمید ها رمز می شوند به طور ذاتی از ژن های کروموزومی متحرک تر می باشند، چون پلاسمید ها می توانند هم درون باکتری و هم بین جنس های مشخص جابج ا شوند. بنابراین پلاسمید ها می توانند علاوه بر ارث از سلول های مادری از سایر باکتری ها نیز گرفته شوند.

- پلاسمید ها حاملین ترانسپوزون ها هستند (Foster., 1983).

- ایجاد مقاومت توسط ترانسپوزون ها و اینتگرون ها: حضور ترانسپوزون ها و یا اینتگرون هایی که در ر ابطه با مقاومت به عوامل ضد باکتریایی هستند، علت مناسبی برای تکثیر ناگهانی باکتری های مقاوم است . ترانسپوزون ها و اینتگرون ها عناصر متحرک ژنتیکی هستند که قادرند خود را از یک ملکول DNA دهنده به مولکول گیرنده منتقل کنند، بر خلاف پلاسمید ها ، ترانسپوزون ها و ای‌نتگرون ها قادر نیستند به طور مستقل همانند سازی انجام دهند و باید درون یک رپلیکون ویژه نگهداری شوند (پلاسمید یا کروموزوم).

از آنجایی که ترا نسپوزون ها به شباهت زیاد DNA برای الحاق به ملکول گیرنده نیاز ندارند، بدست آوردن ژن های مقاومت گوناگون برای باکتری ها ا مکان پذیر است و این عمل به وسیله ی گروهی از ترانسپوزون ها که در پلاسمید های موجود جا گرفته اند، انجام می شود

(1382، زمانی).

1-4- مکانیسم های انتقال مواد ژنتیکی و پلاسمیدها:

ترانسداکشن: در این نوع تبادل ژنتیکی ، DNA توسط باکتریوفاژ به سلول گیرنده انتقال داده می شود(Alanis, 2005).