Original Article

Prevalence of Class I and II Integrons of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Isolates from Hospitals in Hamadan, Iran

Nasim Safari[1], Mohammad Yousef Alikhani[1], Fahimeh Hajiahmadi[1], Mohammad Reza Arabestani[2*]

[1]*Department of Microbiology, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran.*

[2]*Brucellosis Research Center, Faculty of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamedan, Iran.*

[*]***Corresponding Author:*** **Mohammad Reza Arabestani**, Brucellosis Research Center, Faculty of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamedan, Iran.

Email: mohammad.arabestani@gmail.com

Received: 26 Apr, 2016

Accepted: 24 May, 2016

Abstract

***Background and Objectives*:** In recent years, the role of integrons has been identified in the transfer of antibiotic resistance genes. The aim of this study was to determine the antibiotic resistance pattern and to identify class I and II integrons and associated gene cassettes in clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*.

***Methods*:** In this descriptive cross-sectional study, 100 isolates of *S. aureus* were isolated from clinical samples in 2015. After cultivation, the isolates were verified by standard biochemical tests. Then, PCR test was used on *nuc* gene for final confirmation of the isolates and presence of methicillin-resistance gene. Then, methicillin-resistant isolates were tested for susceptibility to 9 antibiotics. Finally, identification of Class I and II integrons genes and associated gene cassettes was performed on *mecA* gene using PCR method. Data analysis was carried out using Chi square test.

***Results*:** Forty-one out of 100 *S. aureus* isolates carried *mecA* gene. The most frequent antibiotic resistance was for cefoxitin and tetracycline (41 and 36 isolates, respectively) and the lowest resistance was reported for vancomycin (0). In this study, The prevalence of 38 isolates (92.68%) and 3 isolates (7.31%) produced class I and II integrons. One type of gene cassette was identified in these isolates, which was related to *aadA1* gene cassette.

***Conclusion*:** The results of the current study were indicative of high prevalence of antibiotic resistance and class I integrons in *S. aureus* isolates carrying *mecA* gene.

Keywords: *Staphylococcus aureus*; Drug resistance; Microbial; Integrons.

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 21:36 IRST on Tuesday January 23rd 2018

مجله دانشگاه علوم پزشکی قم
دوره یازدهم، شماره سوم، خرداد ۹۶
صفحه ۵۷ الی ۶۵

مقاله پژوهشی
(Original Article)

بررسی شیوع اینتگرون‌های کلاس I و II در ایزوله‌های *استافیلوکوک اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین جداشده از بیمارستان‌های شهر همدان

نسیم صفری[۱]، محمدیوسف علیخانی[۱]، فهیمه حاجی احمدی[۱]، محمدرضا عربستانی[۲*]

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 21:36 IRST on Tuesday January 23rd 2018

چکیده

زمینه و هدف: در سالهای اخیر، نقش اینتگرون‌ها در انتقال ژن‌های مقاوم آنتی‌بیوتیکی، به‌خوبی مشخص شده است. این مطالعه با هدف تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی، شناسایی اینتگرون‌های کلاس I و II و کاست‌های ژنی مربوطه در ایزوله‌های بالینی *استافیلوکوک اورئوس*‌های مقاوم به متی‌سیلین صورت گرفت.

روش بررسی: در این مطالعه توصیفی - مقطعی، ۱۰۰ ایزوله *استافیلوکوک اورئوس* از نمونه‌های بالینی مختلف، در سال ۱۳۹۴ جمع‌آوری شد. پس از کشت، ایزوله‌ها با تست‌های بیوشیمیایی مختلف تأیید شدند. سپس آزمون PCR برای ژن *nuc*، جهت تأیید نهایی ایزوله‌ها و ژن مقاومت به متی‌سیلین مورد استفاده قرار گرفت. در نهایت، شناسایی اینتگرون‌های کلاس I و II و کاست‌های ژنی مربوطه، با روش PCR بر روی ایزوله‌های مولد ژن *mecA* انجام شد. برای آنالیز داده‌ها از آزمون آماری مربع کای‌دو استفاده گردید.

یافته‌ها: از ۱۰۰ ایزوله *استافیلوکوک اورئوس*، ۴۱ ایزوله مولد ژن *mecA* بودند. بیشترین میزان مقاومت مربوط به آنتی‌بیوتیک‌های سفوکسیتین و تتراسیکلین (به ترتیب ۴۱ و ۳۶ ایزوله) و کمترین میزان مقاومت مربوط به آنتی‌بیوتیک ونکومایسین (صفر) گزارش شد. در این مطالعه، ۳۸ ایزوله (۹۲/۶۸٪) و ۳ ایزوله (۷/۳۱٪) به ترتیب مولد اینتگرون‌های کلاس I و II بودند. یک نوع کاست ژنی در این ایزوله‌ها شناسایی شد که مربوط به کاست ژنی *aadA1* بود.

نتیجه‌گیری: نتایج تحقیق حاضر، نشان‌دهنده شیوع بالای مقاومت آنتی‌بیوتیکی و اینتگرون‌های کلاس I در ایزوله‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مولد ژن *mecA* می‌باشد.

کلید واژه‌ها: *استافیلوکوکوس اورئوس*؛ مقاومت دارویی، میکروبی؛ اینتگرون‌ها.

لطفاً به این مقاله به‌صورت زیر استناد نمایید:

Safari N, Alikhani MY, Hajiahmadi F, Arabestani MR. Prevalence of class I and II Integrons of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from hospitals in Hamadan, Iran
Qom Univ Med Sci J 2017;11(3):57-65. [Full Text in Persian]

[۱]گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران.

[۲]مرکز تحقیقات بروسلوز، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران.

[*]نویسنده مسئول مکاتبات:
محمدرضا عربستانی، مرکز تحقیقات بروسلوز، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، ایران

آدرس پست الکترونیکی:
mohammad.arabestani@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۵/۲/۶

تاریخ پذیرش: ۹۵/۳/۳

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 21:36 IRST on Tuesday January 23rd 2018

مقدمه

استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌های موجود، منجر به گسترش مقاومت آنتی‌بیوتیکی شده که به‌عنوان یکی از نگرانی‌های پیشرو در بهداشت عمومی جهانی باقی مانده است. مطالعات نشان می‌دهد چندین مکانیسم مختلف شامل عناصر ژنتیکی متحرک متشکل از پلاسمیدها، ترانسپوزون‌ها و اینتگرون‌ها، نقش مهمی در کسب و انتشار ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی دارند. در سالهای اخیر، نقش اینتگرون‌ها به‌عنوان یک مکانیسم ژنتیکی متحرک در انتقال افقی مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها، به‌خوبی مشخص شده است. تاکنون ۹ کلاس از اینتگرون‌ها براساس تفاوت موجود در ژن اینتگراز شناسایی شده که اینتگرون‌های کلاس I و متعاقب آن اینتگرون‌های کلاس II، به‌عنوان شایع‌ترین کلاس‌ها در بین ایزوله‌های بالینی مطرح است (۱). از نظر ساختاری، تمامی اینتگرون‌ها از سه ناحیه اصلی شامل: انتهای '۵ حفاظت‌شده، انتهای'۳ حفاظت‌شده و یک ناحیه مرکزی متغیر بین ناحیه '۳ و'۵ تشکیل شده‌اند. اجزای ضروری ناحیه '۵ تمام اینتگرون‌ها شامل: ۱- ژن اینتگراز (intI)، کدکننده آنزیم ریکامبیناز بوده که به‌عنوان یک سایت نوترکیبی اولیه محسوب می‌گردد.

۲- attI (Recombination Site) که توسط اینتگراز به رسمیت شناخته شده و در مجاورت ژن *intI* قرار دارد (۲) و ۳- توالی پروموتر متشکل از Pc و Pint که به ترتیب برای بیان کاست‌های ژنی ادغام‌شده در اینتگرون و بیان اینتگراز می‌باشد.

ناحیه '۳ اینتگرون‌ها واجد سه ساختار متفاوت بوده که این تفاوت در کلاس‌های اینتگرون می‌باشد. کاست‌های ژنی (Gene Cassette) در ناحیه بین '۳ و '۵ اینتگرون‌ها، به‌صورت تصادفی ادغام می‌شوند. این کاست‌ها، عناصر ژنی متحرکی هستند که یک یا چند ژن مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها را کد می‌کنند. اینتگرون‌های متحرک حمل‌کننده کاست‌های مقاومت، در گونه‌های گرم منفی مختلف شناسایی شده‌اند، اما محدود به این میکروارگانیسم‌ها نیستند و در باکتری‌های گرم مثبت مانند *کورینه باکتریا*، *بروی باکتریا*، انتروکوک‌ها و استافیلوکوک‌ها نیز یافت می‌شوند (۳). استافیلوکوک‌ها، میکروارگانیسم‌های گرم مثبتی هستند که در حال حاضر به‌عنوان یکی از مهم‌ترین علل مرگ و میر در بیماران بستری به شمار می‌آیند.

استافیلوکوک‌ها جزء پاتوژن‌های فرصت‌طلب بوده و موجب بیماری‌هایی همچون عفونت‌های زخم، مسمومیت غذایی، سینوزیت، اندوکاردیت، استئومیلیت، سندرم شوک سمّی و عفونت‌های مجاری ادراری می‌شوند (۴). این باکتری‌ها، به‌خصوص سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین (Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA) عامل بیش از ۸۰٪ از موارد بیماری‌های چرکی بوده که به‌واسطه دارابودن توانایی ذاتی، همچنین توانایی کسب مقاومت نسبت به عوامل و داروهای ضدمیکروبی، به یکی از نگرانی‌های عمده سلامت عمومی مبدل شده است (۵). در واقع، بروز سویه‌های MRSA در سرتاسر جهان در حال افزایش است و یک تهدید جدی به شمار می‌آید. اطلاعات اندکی در مورد شیوع اینتگرون کلاس I در باکتری‌های گرم مثبت، به‌ویژه *استافیلوکوک اورئوس* و مقاومت‌های دارویی کدشونده توسط آن وجود دارد. لذا در این مطالعه، اینتگرون‌های کلاس I، II و کاست‌های ژنی مربوطه در ایزوله‌های بالینی *استافیلوکوک اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین بررسی گردید.

روش بررسی

در این مطالعه به روش توصیفی - مقطعی، ۱۰۰ ایزوله *استافیلوکوکوس اورئوس* از نمونه‌های بالینی مختلف شامل: خون، مجرای تراکئال، زخم، ادرار، چرک، پلور و مایع مغزی نخاعی از بیمارستان‌های شهر همدان در سال ۱۳۹۴، جداسازی و مورد بررسی قرار گرفت. سپس سویه‌های جداشده با استفاده از تست‌های بیوشیمیایی استاندارد شامل: واکنش گرم، تست اکسیداز، کاتالاز، DNAase، کواگولاز و تخمیر مانیتول، تعیین هویت و مورد تأیید قرار گرفتند. ایزوله‌های تأییدشده، در فریزر ۷۰- درجه سانتیگراد برای انجام آزمایشهای بعدی ذخیره شدند. به‌منظور تأیید قطعی وجود *استافیلوکوکوس اورئوس* در نمونه‌های کشت داده‌شده، از واکنش زنجیره پلیمراز (PCR) استفاده گردید. در این راستا، ابتدا DNA کروموزومی تمام ایزوله‌های جداشده با استفاده از کیت تجاری استخراج DNA (BioFlux، ساخت ژاپن) استخراج شد. در ادامه، خلوص DNA استخراج‌شده با دستگاه اسپکتروفتومتر و ژل آگارز مورد ارزیابی

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 21:36 IRST on Tuesday January 23rd 2018

قرار گرفت.

سپس آزمون PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی برای ژن *nuc* (کدکننده Deoxyribonuclease Enzyme) جهت تأیید نهایی ایزوله‌ها به کار برده شد.

در این مرحله، واکنش PCR در حجم ۲۰ میکرولیتر واجد ۱۰ میکرولیتر از Master Mix، ۱ میکرولیتر زوج پرایمرهای پیشرو و پیرو، ۳ میکرولیتر از نمونه DNA و ۵ میکرولیتر آب مقطر دی‌یونیزه با برنامه حرارتی ۹۴ درجه به مدت ۵ دقیقه برای یک سیکل، ۳۰ سیکل تکراری ۹۴ درجه به مدت ۶۰ ثانیـه، ۵۵ درجـه به مدت ۵۵ ثانیه و ۷۲ درجه به مدت ۱ دقیقه و یک سیکل انتهایی ۷۲ درجه به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. واکنش PCR در دستگاه ترموسایکلر (Bio-Rad Laboratories, Inc, USA) صورت گرفت. از ایزوله *استافیلوکوک اورئوس* ATCC 25423 نیز به‌عنوان سویه کنترل مثبت استفاده گردید. جهت بررسی وجود ژن مقاومت به متی‌سیلین (*mecA*) بر روی تمامی ایزوله‌ها، آزمون PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ذکرشده انجام شد (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱: پرایمرهای استفاده‌شده در واکنش‌های PCR

Gene targets	Primer sequences (5' to 3')	amplicon / product size (bp)	References
intI1	F:CAGTGGACATAAGCCTGTTC R:CCCGACGCATAGACTGTA	۱۶۰	٦
intI2	F:TTGCGAGTATCCATAACCTG R:TTACCTGCACTGGATTAAGC	۲۸۸	٦
3CS,5CS	F:GGCATCCAAGCAGCAAG R: AAG CAG ACT TGA CCT GA	Variable	۷
Nuc	F: GCGATTGATGGTGATACGGTT R: AGCCAAGCCTTGACGAACTAAAGC	۲۷۹	۸
mecA	F: GTAGAAATGACTGAACGTCCGATAA R: CCAATTCCACATTGTTTCGGTCTAA	۳۱۰	۸

سیکل حرارتی مورد استفاده در دستگاه ترموسایکلر بدین ترتیب انجام گرفت:

ابتدا یک دناتوراسیون اولیه به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتیگراد، سپس ۳۰ سیکل به مدت ۴۵ ثانیه در ۹۴ درجه، ۴۵ ثانیه در ۶۰ درجه و ۴۵ ثانیه در ۷۲ درجه و در ادامه، یک سیکل در دمای ۷۲ درجه به مدت ۵ دقیقه.

حجم مخلوط واکنش PCR برای هر سویه ۲۵ میکرولیتر شامل: ۱۰ میکرولیتر Master Mix، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر (۱۰ پیکومول)، ۲ میکرولیتر از نمونه DNA الگو و ۱۱ میکرولیتر آب مقطر دی یونیزه بود.

تست آنتی‌بیوگرام با روش استاندارد انتشار دیسک (Bauer Kirby)، بر روی محیط مولر هینتون آگار انجام گرفت. این تست براساس انتشار در دیسک و طبق دستورالعمل کمیته ملی استانداردهای آزمایشگاه بالینی (CLSI) (۹)، به‌وسیله ۹ دیسک آنتی‌بیوتیک مختلف شامل: سفوکسیتین (۱۵ میکروگرم)، ونکومایسین (۳۰ میکروگرم)، ریفامایسین (۵ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، تتراسیکلین (۳۰ میکروگرم)، کوتریموکسازول (۲۵ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، کلیندامایسین (۲ میکروگرم)، اریترومایسین (۱۵ میکروگرم) انجام شد (جدول شماره ۲).

ایزوله‌هایی که حداقل به سه کلاس آنتی‌بیوتیک مقاوم بودند، به‌عنوان ایزوله‌های MDR در نظر گرفته شدند.

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 21:36 IRST on Tuesday January 23rd 2018

جدول شماره ۲: الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های *استافیلوکوک اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین

آنتی‌بیوتیک	ایزوله‌های دارای اینتگرون (n=۳۸)		ایزوله‌های فاقد اینتگرون (n=۳)		مجموع کل (n=٤١)	
	مقاوم (No)	حساس (No)	مقاوم (No)	حساس (No)	مقاوم (No)	حساس (No)
سفوکسیتین	۳۸	۰	۳	۰	۴۱	۰
ونکومایسین	۰	۳۸	۰	۳	۰	۴۱
ریفامایسین	۲۷	۱۱	۲	۱	۲۹	۱۲
جنتامایسین	۳۲	۶	۲	۱	۳۴	۷
تتراسیکلین	۳۴	۴	۲	۱	۳۶	۵
کوتریموکسازول	۲۴	۱۴	۳	۰	۲۷	۱۴
سیپروفلوکساسین	۳۲	۶	۳	۰	۳۵	۶
کلیندامایسین	۳۰	۸	۲	۱	۳۲	۹
اریترومایسین	۳۲	۶	۲	۱	۳۴	۷

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR).

حضور ژن‌های اینتگرون و کاست‌های ژنی مربوطه در اینتگرون‌های کلاس I و II، به‌واسطه واکنش PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی بر روی تمام ایزوله‌های مولد ژن *mecA* انجام شد. برای کنترل مثبت از سویه‌های کلینیکی (با اینتگرون‌های کلاس I و II مثبت) که نتایج تعیین توالی وجود این ژنها در آنها تأیید شده بود، استفاده گردید (جدول شماره ۱). واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل: ۱۰ میکرولیتر Master Mix، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر (۱۰ پیکومول)، ۲ میکرولیتر DNA الگو و ۱۱ میکرولیتر آب دیونیزه‌شده، انجام شد. در ادامه، واکنش PCR در دستگاه ترموسایکلر (Biorad,US) با شرایط دمایی ۵ دقیقه واسرشت شدن ابتدایی در دمای ۹۴ درجه سانتیگراد، سپس ۳۵ چرخه شامل: واسرشت شدن در دمای ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال در دمای ۵۵ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ ثانیه (برای ژن‌های intI2، intI1 و 5'CS 3'CS)، طویل‌شدن در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۱ دقیقه و طویل‌شدن نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۸ دقیقه انجام گرفت. در نهایت، محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵٪، منتقل و پس از الکتروفورز به‌وسیله دستگاه ژل داک بررسی شدند. پس از تعیین توالی کاست‌های ژنی (Genfanavaran, Macrogen, Seoul, Korea)، توالی نوکلئوتیدی کاست‌ها به‌وسیله نرم‌افزار Chromas، استخراج و به‌منظور تعیین نوع کاست‌ها با توالی‌های موجود در Genbank مورد مقایسه و ارزیابی قرار گرفت (Blast).

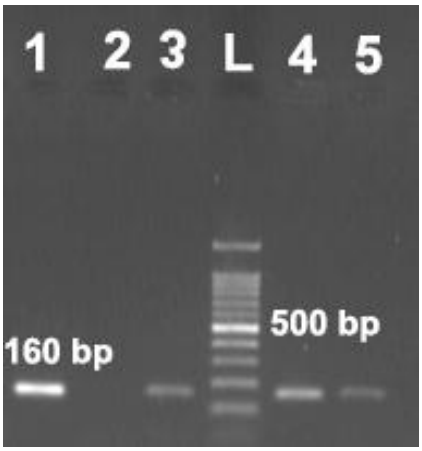
در این مطالعه ارتباط بین اینتگرون‌ها با مقاومت آنتی‌بیوتیکی، با استفاده از نرم‌افزار SPPS نسخه ۱۷ و آزمون مربع کای‌دو بررسی گردید. سطح معنی‌داری، کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

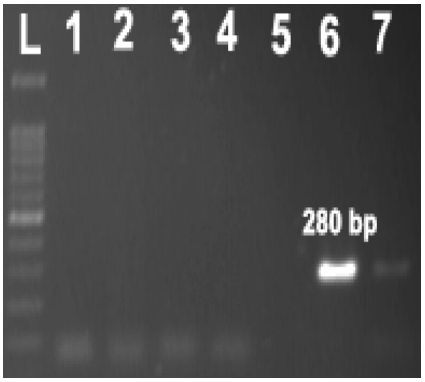
یافته‌ها

در این مطالعه، تمامی ۱۰۰ سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* با استفاده از آزمون‌های فنوتیپی تأیید شدند. نتایج آزمون PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن *nuc*، صحت شناسایی تمام سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* را تأیید کردند. همچنین نتایج حاصل از آزمون PCR نشان داد ۴۱٪ از سویه‌ها واجد ژن *mecA* بوده‌اند. مقاومت آنتی‌بیوتیکی ۴۱ ایزوله کلینیکی *استافیلوکوکوس اورئوس* مولد ژن *mecA* نیز مورد مطالعه قرار گرفت (جدول شماره ۲). بیشترین میزان مقاومت مربوط به آنتی‌بیوتیک‌های سفوکسیتین و تتراسیکلین (به ترتیب ۴۱ و ۳۶ ایزوله) و کمترین میزان مقاومت مربوط به آنتی‌بیوتیک ونکومایسین (صفر) گزارش شد. تمام ایزوله‌ها نسبت به حداقل سه کلاس آنتی‌بیوتیکی، از خود مقاومت نشان دادند و به‌عنوان سویه‌های MDR در نظر گرفته شدند (۱۰۰٪).

در این مطالعه از ۴۱ ایزوله مولد ژن *mecA*، ۳۸ ایزوله (۹۲/۶۸ ٪) و ۳ ایزوله (۷/۳۱ ٪) به ترتیب مولد اینتگرون‌های کلاس I و II بودند (شکل شماره ۱).

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 21:36 IRST on Tuesday January 23rd 2018





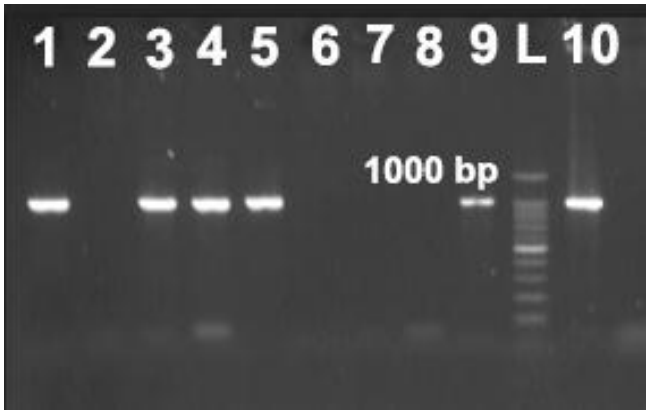
شکل شماره ۱: الکتروفورز ژل آگارز ۱/۵٪ برای شناسایی ژن‌های *intI1* و *intI2*.

چاهک L: سایز مارکر (۱۰۰ bp)، شکل بالا؛ چاهک ۱: کنترل مثبت برای ژن intI1؛ چاهک ۲: کنترل منفی؛ چاهک‌های ۳، ٤ و ٥: نمونه‌های بالینی حامل ژن intI1.

شکل پایین؛ چاهک ۱، ۲، ۳ و ٤: سویه‌های فاقد ژن intI2؛ چاهک ٥: کنترل منفی برای ژن intI2؛ چاهک ٦: کنترل مثبت برای ژن intI2؛ چاهک ۷: نمونه بالینی برای ژن intI2.

سه ایزوله (۷/۳۱٪)، مولد هر دو کلاس اینتگرون بودند. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد شیوع اینتگرون‌های کلاس‌های I به‌طور چشمگیری بیش از اینتگرون‌های کلاس II می‌باشد.

جهت شناسایی کاست‌های ژنی، بر روی تمامی ایزوله‌های بالینی مولد اینتگرون‌های کلاس I، PCR با شرایط استاندارد انجام شد (شکل شماره ۲).



شکل شماره ۲: الکتروفورز ژل آگارز ۱/۵٪ برای شناسایی کاست مربوطه در اینتگرون‌های کلاس I.

چاهک L: سایز مارکر (۱۰۰ bp)؛ چاهک ۱، ۳، ٤، ٥، ۹ و ۱۰: سویه‌های بالینی مولد کاست ژنی در اینتگرون‌های کلاس I؛ چاهک ۲، ٦، ۷ و۸: سویه‌های بالینی فاقد کاست ژنی در اینتگرون‌های کلاس I.

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 21:36 IRST on Tuesday January 23rd 2018

از ۳۸ ایزوله *استافیلوکوکوس اورئوس* حامل اینتگرون کلاس I، کاست‌های ژنی در ۱۵ سویه (۳۹/۴۷٪) شناسایی شدند. یک نوع کاست ژنی در این ایزوله‌ها شناسایی گردید که مربوط به کاست ژنی *aadA1* (aminoglycoside 3'-adenyltransferase) بود.

بحث

شناسایی و درمان عفونت‌های ناشی از MRSA، از اقدامات مهم در پیشگیری از گسترش عفونت و کاهش خطر مرگ و میر بیماران است. در حال حاضر، استفاده بیش از حد و خودسرانه از آنتی‌بیوتیک‌ها، یکی از دلایل مهم شیوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی بوده که مشکلات فراوانی را در درمان بیماران ناشی از این ارگانیسم در نقاط مختلف جهان ازجمله ایران ایجاد کرده است. در واقع، این ژن‌های مقاومتی به‌واسطه عناصر ژنتیکی متحرک همچون پلاسمیدها، ترانسپوزون‌ها و اینتگرون‌ها می‌توانند منجر به انتشار عوامل مقاومت از یک سویه به سویه دیگر شوند. مطالعه حاضر بر روی ۱۰۰ *ایزوله استافیلوکوک* جداشده از بیمارستان‌های آموزشی شهر همدان انجام گرفت. در این مطالعه، مقاومت به متی‌سیلین در ۴۱ ایزوله (۴۱٪) به دست آمد که همچون سایر مطالعات انجام‌شده در ایران و سایر نقاط مختلف جهان بالا می‌باشد (۱۲-۱۰). طبق نتایج به‌دست‌آمده، شیوع بالایی از اینتگرون‌های کلاس I، در ایزوله‌های مذکور گزارش شده که بیانگر شیوع بسیار بالای مقاومت آنتی‌بیوتیکی در کشور است. در تحقیق حاضر، فراوانی اینتگرون‌های کلاس I و II در ایزوله‌های *استافیلوکوک اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین به ترتیب ۹۲/۶۸٪ و ۷/۳۱٪ به دست آمد. همچنین براساس تجزیه و تحلیل آماری، ارتباط معنی‌داری بین سویه‌های مولد اینتگرون با مقاومت آنتی‌بیوتیکی مشاهده گردید ($p<0/05$)(جدول شماره ۲). در این مطالعه یک نوع کاست ژنی (aadA1) برای مقاومت به استرپتومایسین گزارش شد. تعداد کمی از مطالعات بر روی باکتری‌های گرم مثبت تاکنون انجام شده است. به‌طورکلی حضور اینتگرون‌های کلاس ۱ در باکتری‌های گرم مثبت، برای اولین‌بار در باکتری‌های *کورینه باکتریوم جلاتامیکوم*، *انتروکوکوس فکالیس* و باکتری‌های گرم مثبت مختلف ازجمله استافیلوکوک‌های جداشده از طیور، نشان داده شد (۱۴،۱۳،۳).

اما اولین مطالعه جامع و گسترده بر روی ایزوله‌های کلینیکی گرم مثبت، توسط Shi و همکاران (سال ۲۰۰۶) در کشور چین انجام گرفت. در این مطالعه، ۴۶ سویه گرم مثبت از نمونه‌های بالینی جمع‌آوری شد که ۵۶٪ ایزوله‌ها مولد اینتگرون کلاس ۱ بودند (۱۵). در مطالعه دیگری که در سال ۲۰۰۶ توسط XU و همکاران در جنوب کشور چین بر روی ایزوله‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین صورت گرفت، ۷۶ ایزوله از ۱۷۹ ایزوله (۴۲/۵٪) حاوی اینتگرون کلاس I، واجد ۴ نوع کاست ژنی بودند (۱۶). همچنین در تحقیقی‌که توسط ابراهیم‌زاده و همکاران (سال ۱۳۹۴) انجام شد، ۱۱۰ سویه *استافیلوکوک اورئوس* از بیماران واجد سوختگی و غیرسوختگی جدا شد که در نتیجه ۵۲/۷٪ سویه‌ها، مولد ژن *mecA* بودند. همچنین ۹۴/۵٪ از سویه‌ها در بیماران سوختگی و ۱۲/۷٪ از سویه‌ها در بیماران فاقد سوختگی مولد اینتگرون‌های کلاس ۱ گزارش شد (۱۷)، این نتیجه مانند یافته مطالعه حاضر، شیوع بالایی را نشان می‌داد. در مطالعه دیگری که توسط ویسی و همکاران در شهر سنندج انجام گرفت، از ۲۰۰ ایزوله استافیلوکوک، ۸۱ ایزوله حاوی ژن اینتگراز کلاس I بود که از این تعداد ۳۵ ایزوله (۲۳/۵٪) مربوط به *استافیلوکوک اپیدرمیدیس*، ۳۷ ایزوله (۴۰/۱٪) مربوط به *استافیلوکوک اورئوس* و ۹ ایزوله (۳۶٪) مربوط به *استافیلوکوک ساپروفیتیکوس* گزارش شد (۱۸). مقایسه نتایج به‌دست‌آمده نشان می‌دهد شیوع این ژن‌ها در بیشتر مناطق کشور بالا بوده که نشانگر یک هشدار به افزایش مقاومت می‌باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر حاکی از شیوع اینتگرون‌های کلاس I و افزایش سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین و بیانگر انتشار گسترده سویه‌های مقاوم در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها بوده که یک نگرانی جدی برای سلامت جامعه محسوب می‌شود. لذا شناسایی این نوع از ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی، در جهت اجرای برنامه‌های کنترل عفونت و ممانعت از انتشار سویه‌های مقاوم، از اهمیت بالایی برخوردار است.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی هیئت علمی تحت عنوان "شناسایی اینتگرون‌ها و کاست‌های ژنی مربوطه در ایزوله‌های بالینی گرم مثبت و گرم منفی" در سال ۱۳۹۴ (به شماره ۹۳۱۲۱۸۶۷۵۷) می‌باشد که با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی همدان به انجام رسیده است. بدین‌وسیله نویسندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را از این معاونت محترم ابراز می‌دارند.

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 21:36 IRST on Tuesday January 23rd 2018

References:

1. Khosravi Y, Tay ST, Vadivelu J. Analysis of integrons and associated gene cassettes of metallo-β-lactamase-positive Pseudomonas aeruginosa in Malaysia. J Med Microbiol 2011;60(7):988-94.

2. Partridge SR, Tsafnat G, Coiera E, Iredell JR. Gene cassettes and cassette arrays in mobile resistance integrons. Fems Micobiol Rev 2009;33(4):757-84.

3. Nandi S, Maurer JJ, Hofacre C, Summers AO. Gram-positive bacteria are a major reservoir of Class 1 antibiotic resistance integrons in poultry litter. Proc Natl Acad Sci U S A 2004;101(18):7118-22.

4. Tong SY, Davis JS, Eichenberger E, Holland TL, Fowler VG. Staphylococcus aureus infections: Epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. Clin Microbiol Rev 2015;28(3):603-61.

5. Goldstein RER, Micallef SA, Gibbs SG, Davis JA, He X, George A, et al. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) detected at four US wastewater treatment plants. Environ Health Persp 2012;120(11):1551.

6. Koeleman JG, Stoof J, Van Der Bijl MW, Vandenbroucke-Grauls CM, Savelkoul PH. Identification of epidemic strains of Acinetobacter baumannii by integrase gene PCR. J Clin Micobiol 2001;39(1):8-13.

7. Levesque C, Piche L, Larose C, Roy PH. PCR mapping of integrons reveals several novel combinations of resistance genes. Antimicrob Agents Chemother 1995;39(1):185-91.

8. Zhang K, Sparling J, Chow BL, Elsayed S, Hussain Z, Church DL, et al. New quadriplex PCR assay for detection of methicillin and mupirocin resistance and simultaneous discrimination of Staphylococcus aureus from coagulase-negative staphylococci. J Clin Micobiol 2004;42(11):4947-55.

9. Cockerill FR. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty-first informational supplement: Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI); 2013 .p. 35-6.

10. Fatholahzadeh B, Emaneini M, Gilbert G, Udo E, Aligholi M, Modarressi MH, et al. Staphylococcal Cassette Chromosome mec (SCC mec) analysis and antimicrobial susceptibility patterns of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) isolates in Tehran, Iran. Microb Drug Resist 2008;14(3):217-20.

11. Japoni A, Alborzi A, Orafa F, Rasouli M, Farshad S. Distribution patterns of methicillin resistance genes (mecA) in Staphylococcus aureus isolated from clinical specimens. Iran Biomed J 2004;8(4):173-8.

12. Appelbaum PC. MRSA-the tip of the iceberg. Clin Microbiol Infec 2006;12(s2):3-10.

13. Nešvera J, Hochmannová J, Pátek M. An integron of class 1 is present on the plasmid pCG4 from gram-positive bacterium Corynebacterium glutamicum. FEMS microbiol lett 1998;169(2):391-5.

14. Clark NC, Olsvik O, Swenson JM, Spiegel CA, Tenover FC. Detection of a streptomycin/spectinomycin adenylyltransferase gene (aadA) in Enterococcus faecalis. Antimicrob Agents Chemother 1999;43(1):157-60.

15. Shi L, Zheng M, Xiao Z, Asakura M, Su J, Li L, et al. Unnoticed spread of class 1 integrons in gram-positive clinical strains isolated in Guangzhou, China. Microbiol Immun 2006;50(6):463-7.

16. Xu Z, Li L, Shirtliff M, Peters B, Li B, Peng Y, et al. Resistance class 1 integron in clinical methicillin-resistant Staphylococcus aureus strains in southern China, 2001-2006. Clin Microbiol Infec 2011;17(5):714-8.

17. Namvar AE, Khodaei F, Bijari A, Lari AR. Detection of integrons and Staphylococcal cassette chromosome (SCCmec) types in Staphylococcus aureus isolated from burn and non-burn patients. Int J Health Sci 2015;9(4):440-5.

18. Veise P, Ramazanzadeh R, Khiababi ZD, Derakhshi B, Amirmozafari N. Identification of class I integrons gene in staphylococcus strains isolated from clinical samples. Cell Biol 2013;1(3):24-27.

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 21:36 IRST on Tuesday January 23rd 2018