Association between class 1 integrons and multidrug resistance pattern among Enterobacter spp. isolated from Qazvin and Tehran teaching hospitals

A. Peymani* T. Naserpour Farivar** P. Ghoraiian*** R. Najafipour****

*Assistant Professor of Medical Microbiology, Cellular and Molecular Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran
**Professor of Medical Microbiology, Cellular and Molecular Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran
***General Physician, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran
****Assistant Professor of Genetics, Cellular and Molecular Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

Abstract

Background: Multi-drug resistant (MDR) Enterobacter spp. containing class 1 integrons are considered as one of the major concerns of clinicians and infection control specialists.

Objective: The aim of this study was to determine the association between class 1 integrons and the multidrug resistance pattern among Enterobacter spp.

Methods: In this analytical study, antimicrobial susceptibility pattern were determined among 137 isolates of Enterobacter from Qazvin and Tehran hospitals during May 2011-September 2012. Then all isolates were screened for class 1 integrons using PCR assay. Data were analyzed using chi-square test and Fisher's exact test.

Findings: The MDR pattern was found in 83 isolates (61%) and class 1 integrons were detected in 52 (63%) of these isolates. There was a significant association between the presence of class 1 integrons and the MDR pattern.

Conclusion: With regards to the results, use of proper equipment for infection control and appropriate treatment strategies are necessary.

Keywords: Enterobacter, Integrons, Multiple Drug Resistance, Infection

Corresponding Address: Reza Najafipour, Cellular and Molecular Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Shahid Bahonar Blvd., Qazvin, Iran
Email: rnajafipour@gmail.com
Tel: +98-281-3324971
Received: 8 Jul 2013
Accepted: 6 Nov 2013

ارتباط حضور اینتگرون کلاس یک با الگوی مقاومت دارویی چندگانه در گونه‌های انتروباکتر جمع‌آوری شده از بیمارستان‌های آموزشی قزوین و تهران

دکتر امیر پیمانی* دکتر تقی ناصرپور فریور** دکتر پرهام قرائیان*** دکتر رضا نجفی‌پور****

* استادیار میکروب‌شناسی مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی قزوین
** استاد میکروب‌شناسی مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی قزوین
*** دانش‌آموخته پزشکی عمومی دانشگاه علوم پزشکی قزوین
**** استادیار ژنتیک مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی قزوین

آدرس نویسنده مسؤول: قزوین، بلوار شهید باهنر، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، تلفن ۲۸۱۳۳۲۴۹۷۱- ۰۲۸۱
Email: rnajafipour@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۲/۴/۱۷ تاریخ پذیرش: ۹۲/۸/۱۵

چکیده

زمینه: در حال حاضر گونه‌های انتروباکتر با الگوی مقاومت دارویی چندگانه و حاوی اینتگرون کلاس یک به عنوان یکی از نگرانی‌های مهم پزشکان و متخصصین کنترل عفونت محسوب می‌شوند.

هدف: مطالعه به منظور تعیین ارتباط بین حضور اینتگرون کلاس یک و الگوهای مختلف مقاومت دارویی در گونه‌های انتروباکتر انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تحلیلی از خرداد ۱۳۹۰ تا شهریور ۱۳۹۱، الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی ۱۳۷ نمونه بالینی انتروباکتر جدا شده از بیمارستان‌های قزوین و تهران سنجیده شد. تمام نمونه‌ها از نظر حضور اینتگرون کلاس یک با استفاده از آزمون PCR بررسی و داده‌ها با استفاده از آزمون‌های آماری مجذور کای و دقیق فیشر تحلیل شدند.

یافته‌ها: ۸۳ نمونه (۶۱٪) الگوی مقاومت دارویی چندگانه را نشان دادند که ۵۲ نمونه (۶۳٪) اینتگرون کلاس یک داشتند. ارتباط معنی‌داری بین حضور اینتگرون کلاس یک و الگوی مقاومت دارویی چندگانه گزارش شد.

نتیجه‌گیری: با توجه به یافته‌ها، استفاده از تجهیزات مناسب جهت کنترل عفونت و راهکارهای مناسب درمانی ضروری است.

کلیدواژه‌ها: انتروباکتر، اینتگرون‌ها، مقاومت دارویی چندگانه، عفونت

مقدمه:

گونه‌های انتروباکتر از اعضای خانواده انتروباکتریاسیه، در ایجاد عفونت‌های بالینی مختلف به ویژه در محیط‌های بیمارستانی نقش دارند و در حال حاضر به عنوان یکی از عوامل مهم ایجادکننده عفونت‌های بیمارستانی (nosocomial infection) محسوب می‌شوند.[۱] گونه‌های انتروباکتر در ایجاد بیماری‌هایی از جمله پنومونی و عفونت‌های پوست، مجاری تحتانی تنفسی، بافت نرم، خون و مجاری ادراری نقش دارند. در سال‌های اخیر پیدایش و انتشار گونه‌هایی با مقاومت دارویی بالا از این ارگانیسم‌ها نگرانی‌های زیادی را برای پزشکان و متخصصین کنترل عفونت ایجاد کرده است.[۲] به طوری که گزارش‌های زیادی مبنی بر حضور گونه‌های انتروباکتر با الگوی مقاومت دارویی چندگانه در بخش‌های بالینی بیمارستان‌های سراسر جهان وجود دارد.[۳-۵]

این باکتری از طریق مکانیسم‌های مختلفی نسبت به داروهای ضد میکروبی مقاوم می‌شود: از جمله تغییر نفوذپذیری ارگانیسم نسبت به داروها، پمپ افلاکس، تغییر گیرنده برای داروها، دست‌یابی به مسیرهای متابولیک فرعی و تولید آنزیم‌های تخریب‌کننده داروها.[۶] ژن‌های کدکننده این آنزیم‌ها یا منشأ کروموزومی دارند یا توسط عناصر ژنتیکی سیار مانند پلاسمیدها، ترانس پوزون‌ها و اینتگرون‌ها انتشار می‌یابند. اینتگرون‌ها،

عناصری هستند که می‌توانند در پلاسمیدها، کروموزوم‌ها یا ترانس پوزون‌ها جای گیرند. این عناصر از جمله عوامل دخیل در ایجاد مقاومت‌های دارویی چندگانه‌اند و همانند پلاسمیدها و ترانسپوزون‌ها، جزء مؤلفه‌های ژنتیکی سیار، در کسب و انتشار عوامل مقاومت هستند.[۷و۸]

در مجموع، اینتگرون‌ها کاسِت‌های ژنی را می‌پذیرند که حاوی یک یا چند ژن (اغلب ژن‌های مقاومت دارویی) به همراه یک جایگاه محافظت شده باشند و مقدمات جای‌گیری آن‌ها را در این عناصر فراهم کنند.[۹] تاکنون بیش از ۶۰ کاست ژنی متفاوت در مجموعه اینتگرونی شناسایی شده‌اند که باعث مقاومت به آنتی بیوتیک‌های مهم می‌شوند: از جمله آمینوگلیکوزیدها، پنی‌سیلین‌ها، سفالوسپورین‌ها، کربا‌پنم‌ها، تریمتوپریم، کلرامفنیکل، ریفامپین، اریترومایسین و ترکیب‌های چهارگانه آمونیومی. برخی از مطالعه‌ها اینتگرون‌های حاوی بیش از یک کاست ژنی را گزارش کرده‌اند که نمونه‌های باکتری‌های حاوی آن‌ها را مستعد داشتن الگوی مقاومت دارویی چندگانه می‌کند. در بین کلاس‌های اینتگرونی شناخته شده، اینتگرون کلاس یک از اهمیت بالایی در انتقال ژن‌های مقاومت دارویی برخوردار است.[۱۰]

با توجه قرارگیری ژن‌های مربوط به الگوهای مختلف مقاومت دارویی بر روی اینتگرون‌ها و امکان انتشار سریع این ژن‌ها در بین سایر گونه‌ها، شناسایی حضور این اینتگرون‌ها می‌تواند اطلاعات مفیدی را در مورد میزان شیوع گونه‌های مقاوم انتروباکتر، رهگیری نحوه انتشار و توسعه مقاومت ارایه دهد. در دو دهه اخیر، گونه‌های انتروباکتر با الگوی مقاومت دارویی چندگانه افزایش قابل ملاحظه‌ای در محیط بیمارستان‌ها داشته‌اند و مشکلات فراوانی را برای پزشکان و متخصصین کنترل عفونت ایجاد کرده‌اند. نقش این ارگانیسم‌های مقاوم در بخش‌های بحرانی بیمارستانی به ویژه بخش‌های مراقبت ویژه از اهمیت بالاتری برخوردار است.[۳] لذا این مطالعه با هدف تعیین ارتباط بین حضور اینتگرون کلاس یک و الگوهای مختلف مقاومت دارویی در گونه‌های انتروباکتر انجام شد.

❋ مواد و روش‌ها:

در این مطالعه تحلیلی، تعداد ۱۳۷ نمونه بالینی انتروباکتر از بخش‌های مختلف بیمارستان‌های قزوین (شهید رجایی و بوعلی) و تهران (امام خمینی، سینا و شهید فیاض بخش) از خرداد ماه ۱۳۹۰ تا شهریور ماه ۱۳۹۱ جمع‌آوری شد. نمونه‌های باکتریایی از نمونه‌های بالینی خون، ادرار و کاتترهای ادراری، تراشه، زخم، خلط، برونکو آلوئولار لاواژ و مایع مغزی- نخاعی و از بیماران بستری در بخش‌های مراقبت ویژه، داخلی، ارتوپدی، عفونی، جراحی و اعصاب جمع‌آوری شدند. نمونه‌های جمع‌آوری شده بر روی دو محیط پایه بلاد آگار و ائوزین متیلن بلو کشت مجدد داده شده و به مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی قزوین انتقال داده شدند. در ادامه، با استفاده از آزمون‌های استاندارد آزمایشگاهی (میکروب‌شناسی و بیوشیمیایی) مربوط به شناسایی گونه‌های انتروباکتر به شرح زیر تعیین هویت شدند: رنگ‌آمیزی گرم، آزمون‌های اکسیداز، تولید اندول، هیدرولیز اوره، بررسی تحرک (کشت بر روی محیط SIM) و مصرف سیترات (کشت بر روی محیط سیمون سیترات)، کشت بر روی محیط‌های کلیگلر آیرون آگار (KIA)، متیل رد و وگس پروسکوئر (آزمون‌های MR-VP).[۱۱] باکتری‌های جدا شده بعد از تشخیص در محیط تریپتی کیز سوی براث حاوی ۲۰ درصد گلیسرول در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمون‌های بعدی ذخیره شدند.

الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی تمامی نمونه‌ها براساس دستور کار CLSI [۱۲] و با استفاده از دیسک‌های زیر انجام شد: جنتامایسین، توبرامایسین، تیکارسیلین- کلاولانیک اسید، کاربنی‌سیلین، افلوکساسین، سفوتاکسیم، سفتازیدیم، ایمی‌پنم، مروپنم، آزترونام، لووفلوکساسین، تری متوپریم- سولفومتوکسازول، سیپروفلوکساسین و پیپراسیلین- تازوباکتام. بدین منظور، ابتدا محیط مولر هینتون آگار (pH ۷/۲ تا ۷/۴) تهیه شد. سپس سوسپانسیون میکروبی استاندارد براساس نیم مک فارلند تهیه و به روش چمنی بر روی محیط مولر کشت داده شد. پس از قرار گرفتن دیسک‌های مذکور، پلیت‌ها به

مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند و سپس نتایج براساس دستور کارهای مربوطه ثبت شدند. دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی از شرکت MAST انگلستان خریداری شدند. در مجموع نمونه‌هایی که همزمان نسبت به سه کلاس آنتی‌بیوتیکی (داروهای بتالاکتام، کینواون ها و آمینوگلیکوزیدها) مقاومت کامل یا حد واسط نشان دادند به عنوان نمونه‌های با مقاومت دارویی چندگانه در نظر گرفته شدند.[۲] در این آزمون از سویه اشریشیاکلی ATCC 25922 جهت کنترل انجام آزمون استفاده شد.

برای تعیین شیوع اینتگرون کلاس یک از آزمون واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) استفاده شد. در این روش از پرایمر مخصوص ژن داخلی اینتگرون کلاس یک،
IntF, 5′-ATCATCGTCGTAGAGACG TCG G
IntR, 5′-GTCAAGGTTCTGGACCAG TTGC
استفاده شد[۱۳] که با تکثیر ژن مورد نظر و در نهایت الکتروفورز محصولات بر روی ژل آگارز، حضور یا عدم حضور آن مشخص و استخراج DNA تام نمونه‌ها با استفاده از روش جوشاندن انجام شد. به طور خلاصه، دو یا سه کلنی از کشت ۲۴ ساعته باکتری در ۰/۵ میلی‌لیتر آب مقطر استریل حل و سپس سوسپانسیون به مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری جوش قرار داده شد. پس از سانتریفیوژ در دور ۱۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه، از محلول رویی به عنوان DNA الگو استفاده شد. در این مرحله پس از استخراج، برای اطمینان از وجود DNA، از دستگاه نانودراپ در دو طول موج ۲۶۰ و۲۸۰ نانومتر استفاده شد.

واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر انجام شد و شامل مواد زیر بود: ۲۰۰ میکرومول dNTP، ۱۰ پیکومول از هر پرایمر، ۱/۵ میلی‌مول در لیتر کلرید منیزیم، ۰/۵ واحد آنزیم پلیمراز و ۵۰ نانوگرم DNA الگو. تکثیر ژن اینتگرون کلاس یک تحت شرایط زیر با استفاده از دستگاه ترمال سیکلر (Applied biosystems ساخت کشور آمریکا) انجام شد: دمای دناتوراسیون اولیه (۹۶ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه)، ۳۵ سیکل حرارتی شامل دمای دناتوراسیون (۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه)، دمای اتصال پرایمر (۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه) و دمای تکثیر (۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه) و در پایان دمای تکثیر نهایی (۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه).[۱۳] محصول‌های PCR از نظر حضور ژن‌های مورد نظر با انجام الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۱ درصد و پس از رنگ‌آمیزی با سایبر گرین بررسی شدند. برای اطمینان از صحت انجام آزمایش، از سویه شاهد اشریشیاکلی با ویژگی‌های زیر استفاده شد: سویه حاوی اینتگرون کلاس یک تعیین توالی و تأیید شده ناحیه محافظت شده ژن اینتگراز (int1) به عنوان شاهد مثبت و اشرشیاکلی ATCC ۲۵۹۲۲ به عنوان شاهد منفی، همچنین برای کنترل آزمون PCR، از میکروتیوب‌های حاوی مواد واکنش بدون DNA الگو استفاده شد.

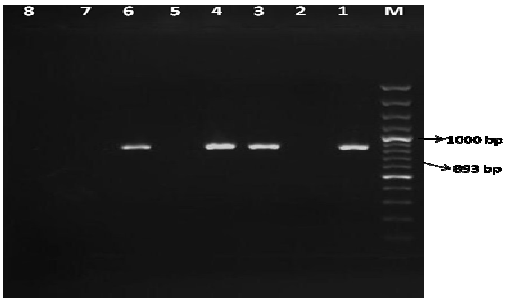
داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS ۱۶ و آزمون‌های آماری مجذور کای و دقیق فیشر تحلیل شدند. در تحلیل نتایج، گروه‌های با مقاومت متوسط و کامل ادغام شدند و P کم‌تر از ۰/۰۵ از لحاظ آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

❋ یافته‌ها:

از ۱۳۷ نمونه جمع آوری شده، ۸۶ نمونه (۵۸ درصد) مربوط به مردان و ۵۱ نمونه (۴۲ درصد) مربوط به زنان بودند. میانگین سنی بیماران۲۰±۵۰ سال (محدوده سنی ۱۷ تا ۸۳ سال) بود. بیش‌تر نمونه‌ها به ترتیب از ادرار (۳۷ نمونه، ۲۷ درصد) و خون (۳۰ نمونه، ۲۱/۹ درصد) و از بیماران بستری در بخش‌های مراقبت ویژه (۶۵ بیمار، ۴۷/۴ درصد)وداخلی(۳۷ بیمار، ۲۷ درصد)جمع‌آوری شدند.

براساس نتایج آزمون حساسیت آنتی بیوتیکی، ۸۳ نمونه (۶۱ درصد) الگوی مقاومت دارویی چندگانه نشان دادند (به کلاس‌های آنتی بیوتیکی بتالاکتام، آمینوگلیکوزید و کینولون مقاومت دارویی کامل یا حد واسط نشان دادند). از این تعداد، ۲ نمونه (۲/۴ درصد) به ایمی پنم مقاومت کامل، ۱۲ نمونه (۱۴/۵ درصد) مقاومت متوسط و ۶۹ نمونه (۸۳/۱ درصد) حساسیت نشان دادند. همچنین مشخص شد که از بین ارگانیسم‌های با مقاومت دارویی چندگانه، ۸۰ نمونه (۹۶/۴ درصد) به مروپنم حساسیت و ۳ نمونه (۳/۶ درصد) مقاومت حدواسط نشان دادند.

براساس آزمون PCR از ۱۳۷ نمونه انتروباکتر، ۷۳ نمونه (۵۳ درصد) اینتگرون کلاس یک داشتند. همچنین از مجموع ۸۳ نمونه دارای الگوی مقاومت دارویی چندگانه، ۵۲ نمونه (۶۳ درصد) از نظر حضور اینتگرون کلاس یک مثبت بودند (شکل شماره ۱).



شکل۱- نتایج الکتروفورز PCR ژن اینتگرون کلاس یک
ستون M: مارکر 100bp، ستون ۱: نمونه شاهد مثبت از نظر حضور ژن Int، ستون‌های ۷ و ۲: نمونه بالینی منفی از نظر حضور ژن Int، ستون‌های ۳، ۴ و ۶: نمونه بالینی مثبت از نظر حضور ژن Int و ستون ۸: کنترل آزمون PCR (واکنش بدون DNA الگو)

نمونه‌های دارای اینتگرون اغلب از نمونه‌های ادرار (۲۳ درصد) و خون (۲۲ درصد) و از بیماران بستری در بخش‌های مراقبت ویژه (۳۷ درصد) و داخلی (۳۶ درصد) بودند (جدول‌های شماره ۱و ۲).

ارتباط معنی‌داری بین حضور اینتگرون کلاس یک و الگوی مقاومت دارویی چندگانه و همچنین بین حضور اینتگرون کلاس یک و مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک‌های جنتامایسین، آموکسی سیلین- کلاولانیک اسید، سفوتاکسیم، سفتریاکسون، سفتازیدیم، سفپودوکسیم، آزترونام، پیپراسیلین، تری متوپریم- سولفومتوکسازول مشاهده شد. اما ارتباط معنی‌داری بین حضور اینتگرون و مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین، ایمی‌پنم، مروپنم، گتی فلوکساسین و نورفلوکساسین مشاهده نشد (جدول شماره ۳).

جدول۱- فراوانی نمونه‌های حاوی اینتگرون کلاس یک در گونه‌های انتروباکتر جداشده از بخش‌های مختلف بیمارستان‌های مورد مطالعه

بخش / نمونه باکتریایی (تعداد)	عفونی تعداد (درصد)	اعصاب تعداد (درصد)	ارتوپدی تعداد (درصد)	جراحی تعداد (درصد)	داخلی تعداد (درصد)	مراقبت ویژه تعداد (درصد)
نمونه‌های دارای اینتگرون (۷۳)	۵ (۷)	۵ (۷)	۲ (۳)	۸ (۱۱)	۲۶ (۳۶)	۲۷ (۳۷)
نمونه‌های فاقد اینتگرون (۶۴)	۳ (۵)	۷ (۱۱)	۴ (۶)	۱ (۲)	۱۱ (۱۷)	۳۸ (۵۹)
مجموع (۱۳۷)	۸ (۶)	۱۲ (۹)	۶ (۴)	۹ (۷)	۳۷ (۲۷)	۶۵ (۴۷)

جدول ۲- فراوانی نمونه‌های حاوی اینتگرون کلاس یک در گونه های انتروباکتر جدا شده از نمونه‌های مختلف بالینی

نمونه / نمونه باکتریایی(تعداد)	مایع مغزی-نخاعی تعداد (درصد)	کاتتر تعداد (درصد)	تراشه تعداد (درصد)	خلط تعداد (درصد)	زخم تعداد (درصد)	برونکو آلوئولار لاواژ تعداد (درصد)	خون تعداد (درصد)	ادرار تعداد (درصد)
نمونه‌های دارای اینتگرون(۷۳)	۴ (۵/۵)	۲ (۳)	۱۳ (۱۸)	۱ (۱)	۱۵ (۲۰/۵)	۵ (۷)	۱۶ (۲۲)	۱۷ (۲۳)
نمونه‌های فاقد اینتگرون(۶۴)	۰	۵ (۸)	۱۶ (۲۵)	۳ (۵)	۵ (۸)	۱ (۲)	۱۴ (۲۲)	۲۰ (۳۱)
مجموع (۱۳۷)	۴ (۳)	۷ (۵)	۲۹ (۲۱)	۴ (۳)	۲۰ (۱۵)	۶ (۴)	۳۰ (۲۲)	۳۷ (۲۷)

جدول ۳- بررسی مقایسه‌ای الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی گونه‌های انتروباکتر دارا و فاقد اینتگرون کلاس یک

آنتی بیوتیک	نمونه‌های فاقد اینتگرون (۶۴ نمونه)			نمونه‌های حاوی اینتگرون (۷۳ نمونه)			سطح معنی‌داری
	حساس تعداد (درصد)	متوسط تعداد (درصد)	مقاوم تعداد (درصد)	حساس تعداد (درصد)	متوسط تعداد (درصد)	مقاوم تعداد (درصد)	
سفوتاکسیم	۲۳ (۱۷)	۵ (۴)	۳۶ (۲۶)	۱۹ (۱۴)	۱۰ (۷)	۴۴ (۳۲)	<۰/۰۰۱
سفتازیدیم	۳۱ (۲۳)	۳ (۲)	۳۰ (۲۲)	۲۶ (۱۹)	۶ (۴)	۴۱ (۳۰)	۰/۰۰۵
سفپودوکسیم	۲۶ (۱۹)	۵ (۴)	۳۳ (۲۴)	۲۳ (۱۷)	۵ (۷)	۴۱ (۳۰)	<۰/۰۰۱
آزترونام	۳۲ (۲۳)	۳ (۲)	۲۹ (۲۱)	۲۹ (۲۱)	۶ (۴)	۳۸ (۲۸)	۰/۰۰۵
سفتریاکسون	۲۹ (۲۱)	۲ (۱/۵)	۳۳ (۲۴)	۲۵ (۱۸)	۳ (۲)	۴۵ (۳۳)	۰/۰۰۳
آموکسی سیلین/کلاولانیک اسید	۰	۲ (۱/۵)	۶۲ (۴۵)	۰	۱۳ (۹/۵)	۶۹ (۵۰)	۰/۰۰۹
سیپروفلوکساسین	۴۷ (۳۴)	۶ (۴)	۱۱ (۸)	۴۹ (۳۶)	۱۳ (۹/۵)	۱۱ (۸)	۰/۱۳
جنتامایسین	۴۴ (۳۲)	۰	۲۰ (۱۵)	۳۱ (۲۳)	۳ (۲)	۳۹ (۲۸/۵)	<۰/۰۰۱
ایمی پنم	۵۷ (۴۲)	۷ (۵)	۰	۶۷ (۴۹)	۴ (۳)	۲ (۱/۵)	۰/۱۱۹
مروپنم	۶۲ (۴۵)	۲ (۱/۵)	۰	۶۹ (۵۰)	۳ (۲)	۱ (۱)	۰/۵۵
کوتریموکسازول	۳۸ (۲۸)	۰	۲۶ (۱۹)	۱۶ (۱۲)	۰	۵۷ (۴۲)	<۰/۰۰۱
گتی فلوکساسین	۵۹ (۴۳)	۳ (۲)	۲ (۱/۵)	۶۳ (۴۶)	۵ (۴)	۵ (۴)	۰/۳۲۴
نورفلوکساسین	۵۳ (۳۹)	۴ (۳)	۷ (۵)	۶۰ (۴۴)	۴ (۳)	۹ (۷)	۰/۵۰
پیپراسیلین	۳۰ (۲۲)	۰	۳۴ (۲۵)	۲۳ (۱۷)	۳ (۲)	۴۷ (۳۴)	<۰/۰۰۱

❋ بحث و نتیجه‌گیری:

این مطالعه نشان داد که ۷۳ نمونه انتروباکتر (۵۳ درصد) اینتگرون کلاس یک داشتند. در مجموع، اطلاعات فراوانی در خصوص شیوع کلاس‌های مختلف اینتگرونی در گونه‌های کلبسیلا و اشرشیاکلی وجود دارد، ولی اطلاعات در مورد گونه‌های انتروباکتر بسیار کم است. مطالعه‌های انجام شده در مورد شیوع کلاس‌های مختلف اینتگرونی و محتوی آن‌ها از نظر وجود عوامل مختلف مقاومت دارویی، نتایج متفاوتی داشته‌اند؛ به طوری که در نواحی جغرافیایی مختلف شیوع اینتگرون کلاس یک در باکتری‌های بیماری‌زای گرم منفی از ۲۸/۵ تا ۸۹/۲ درصد گزارش شده است.[۸]

نتایج این مطالعه با نتایج مطالعه هان و همکاران در سال ۲۰۰۷ در چین مطابقت نداشت. آن‌ها گزارش کردند که ۳۴ درصد نمونه‌های خانواده انتروباکتریاسه از نظر حضور اینتگرون کلاس یک مثبت بودند.[۱۴] بادو و همکاران در سال ۲۰۱۰ در اروگوئه و ماچادو و همکاران در سال ۲۰۰۷ در اسپانیا گزارش کردند که به ترتیب ۳۸ و ۲۳ درصد نمونه‌ها دارای اینتگرون کلاس یک بودند.[۱۵و۱۶] البته این میزان در مقایسه با برخی مطالعه‌ها کم‌تر بود؛ به طوری که در مطالعه ابراهیم و همکاران در سال ۲۰۱۱ در مالزی بر روی نمونه‌های انتروباکتریاسه مشخص شد که ۶۱/۴ درصد نمونه‌ها دارای اینتگرون کلاس یک بودند.[۱۷] همچنین در مطالعه یان و همکاران در سال ۲۰۱۰ در چین، ۷۶/۳ درصد نمونه‌ها از نظر حضور اینتگرون کلاس یک مثبت بودند.[۱۸] به نظر می‌رسد که تنوع در میزان شیوع اینتگرون کلاس یک در نمونه های باکتریایی به دلیل راهبردهای مختلف و نحوه به کارگیری تجهیزات کنترل عفونت در بخش‌های مختلف بیمارستانی است. همچنین تنوع در تجویز و مصرف آنتی بیوتیک‌ها از دیگر عوامل دخیل در آمار متفاوت شیوع اینتگرون کلاس یک در مناطق جغرافیایی مختلف است.

در این مطالعه اکثر نمونه‌های حاوی اینتگرون کلاس یک (۳۷ درصد) از بخش مراقبت ویژه جداسازی شدند. دلایل عمده شیوع ارگانیسم‌های مقاوم در این بخش می‌تواند موارد زیر باشد:

بستری طولانی مدت بیماران در این بخش، وخیم بودن حال بیماران، به کار بردن ابزارهای تهاجمی درمانی از قبیل تراشه و کاتتر، مواجه بودن بیماران با آنتی بیوتیک‌های وسیع الطیف و در نهایت نبود ابزارها و راهکارهای مناسب کنترل عفونت.[۱۹]

در مطالعه حاضر ارتباط معنی‌داری بین مقاومت به داروهای بتالاکتام و حضور اینتگرون کلاس یک وجود

داشت که با نتایج مطالعه یان و همکارانش در سال ۲۰۱۰ بر روی نمونه‌های بالینی گرم منفی در چین همخوانی داشت.[۱۸] رئیز و همکاران در سال ۲۰۰۳ نیز گزارش کردند که نمونه‌های حاوی اینتگرون در مقایسه با نمونه‌های فاقد آن به طور معنی‌داری نسبت به داروهای آمپی‌سیلین و سفوتاکسیم مقاومت نشان دادند.[۱۳] در مجموع این نتایج خیلی دور از انتظار نیست؛ زیرا براساس مطالعه‌ها بخش عمده‌ای از ژن‌های بتالاکتاماز توسط اینتگرون کلاس یک انتقال می‌یابند. حضور ژن‌های بتالاکتاماز تیپ OXA و متالوبتالاکتامازها و برخی از بتالاکتازهای وسیع الطیف (ESBLS) بر روی کاست‌های ژنی قابل انتقال توسط اینتگرون کلاس یک اثبات شده است که در نهایت مقدمات مقاومت دارویی نسبت به طیف وسیعی از داروهای بتالاکتام از جمله سفالوسپورین‌های وسیع الطیف، پنی سیلین‌ها، ترکیب‌های مهارکننده بتالاکتازها و حتی کرباپنم‌ها را فراهم می‌کنند.[۲۰]

در مطالعه حاضر ارتباط معنی‌داری بین حضور اینتگرون کلاس یک و مقاومت به آنتی بیوتیک‌های خانواده آمینوگلیکوزیدها وجود داشت. در مطالعه موکراکا و همکاران در سال ۲۰۰۳ نیز ارتباط معنی‌داری بین حضور اینتگرون کلاس یک و مقاومت نمونه‌های انتروباکتر به داروهای خانواده آمینوگلیکوزید وجود داشت.[۲۱] در مطالعه یان و همکاران نیز نتایج مشابهی به دست آمد و نمونه‌های گرم منفی حاوی اینتگرون کلاس یک در مقایسه با نمونه‌های بدون اینتگرون به میزان معنی‌داری در برابر آنتی بیوتیک‌های خانواده آمینوگلیکوزید مقاومت نشان دادند.[۱۸] نتایج حاصل از این ارتباط از این منظر قابل توجیه است که بخش عمده‌ای از ژن‌های مقاومت به آمینوگلیکوزیدها از جمله ژن‌های acc و aad توسط اینتگرون کلاس یک انتقال می‌یابند.[۱۳]

در این مطالعه بین حضور اینتگرون کلاس یک و مقاومت به آنتی بیوتیک‌های خانواده کنیولون ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد. این در حالی است که در برخی مطالعه‌ها این ارتباط معنی‌دار بوده است.[۱۳و۱۴] دلیل عدم ارتباط در مطالعه حاضر می‌تواند این باشد که مقاومت به کینولون‌ها اغلب به واسطه جهش‌های نقطه‌ای در ژن‌های کروموزومی و همچنین به واسطه ژن‌های پلاسمیدی qnr اتفاق می‌افتد.[۲۲و۲۳]

در مجموع، نتایج حاکی از آمار قابل توجه حضور اینتگرون کلاس یک در نمونه‌های انتروباکتر جمع‌آوری شده از بیمارستان‌های مورد مطالعه بود. با توجه به نقش حضور اینتگرون کلاس یک در مقاومت دارویی در برابر آنتی بیوتیک‌های مهمی از جمله داروهای بتالاکتام، آمینوگلیوزیدها و تتراسایکلین، لزوم توجه بیش‌تر به آن‌ها ضروری است. در عین حال، به سبب ماهیت سیار اینتگرون‌ها و چرخش آن بین گونه‌های مختلف باکتری‌های دخیل در عفونت‌های بیمارستانی، به کارگیری ابزارهای مناسب جهت کنترل عفونت و راهکارهای درمانی برای جلوگیری از انتشار بیش‌تر آن‌ها در بخش‌های مختلف بیمارستانی به ویژه بخش مراقبت ویژه ضروری است.

❋ سپاس‌گزاری:

بخشی از این مقاله مربوط به پایان‌نامه مقطع پزشکی عمومی دانشگاه علوم پزشکی قزوین است. از شورای پژوهشی دانشگاه بابت حمایت مالی از این پروژه و آقای دکتر نهایی بابت اهدای سویه استاندارد قدردانی می‌شود.

❋ مراجع:

1. Mezzatesta ML, Gona F, Stefani S. Enterobacter cloacae complex: clinical impact and emerging antibiotic resistance. Future Microbiol 2012 Jul; 7 (7): 887-902

2. Fernández A, Pereira MJ, Suárez JM, et al. Emergence in Spain of a multidrug-resistant Enterobacter cloacae clinical isolate producing SFO-1 extended-spectrum beta-lactamase. J Clin Microbiol 2011 Mar; 49 (3): 822-8

3. Müller S, Oesterlein A, Frosch M, et al. Characterization of extended-spectrum beta-lactamases and qnr plasmid-mediated quinolone resistance in German isolates of Enterobacter species. Microb Drug Resist 2011 Mar; 17 (1): 99-103
4. Baba Ahmed-Kazi Tani Z, Decré D, Genel N, et al. Molecular and epidemiological characterization of enterobacterial multidrug-resistant strains in Tlemcen Hospital (Algeria) (2008-2010). Microb Drug Resist 2013 Jun; 19 (3): 185-90
5. Hammami S, Boutiba-Ben Boubaker I, Saidani M, et al. Characterization and molecular epidemiology of extended spectrum beta-lactamase producing Enterobacter cloacae isolated from a Tunisian hospital. Microb Drug Resist 2012 Feb; 18 (1): 59-65
6. Chevalier J, Mulfinger C, Garnotel E, et al. Identification and evolution of drug efflux pump in clinical Enterobacter aerogenes strains isolated in 1995 and 2003. PLoS One 2008 Sep 12; 3 (9): e3203
7. McGowan JE Jr. Resistance in nonfermenting gram negative bacteria: multidrug resistance to the maximum. Am J Infect Control 2006 Jun; 34 (5 Suppl 1): S29-S37
8. Weldhagen GF. Integrons and beta lactamases-a novel perspective on resistance. Int J Antimicrob Agents 2004 Jun; 23 (6): 556-62
9. Rowe-Magnus DA, Mazel D. The role of integrons in antibiotic resistance gene capture. Int J Med Microbiol 2002 Jul; 292 (2): 115-25
10. Severino P, Magalhâes VD. Integrons as tools for epidemiological studies. Clin Microbiol Infect 2004 Feb; 10 (2): 156-62
11. Hall GS. Nonfermenting and miscellaneous Gram negative bacilli. In: Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G. Textbook of diagnostic microbiology. 3rd ed. Ohio: Saunders-Elsevier; 2007. 564-84
12. Clinical and Laboratory Standard Institute. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standard 2006; M2-A9. Wayne, PA
13. Reyes A, Bello H, Domínguez M, et al. Prevalence and types of class 1 integrons in aminoglycoside-resistant Enterobacteriaceae from several Chilean hospitals. J Antimicrob Chemother 2003 Feb; 51 (2): 317-21
14. Huan W, Fan XL. Relationship between class 1 integron and resistance in gram negative bacteria. J Dalian Medical University 2007; 29 (6): 584-6
15. Bado I, Cordeiro NF, Robino L, et al. Detection of class 1 and 2 integrons, extended-spectrum beta-lactamases and qnr alleles in enterobacterial isolates from the digestive tract of Intensive Care Unit inpatients. Int J Antimicrob Agents 2010 Nov; 36 (5): 453-8
16. Machado E, Ferreira J, Novais A, et al. Preservation of integron types among Enterobacteriaceae producing extended-spectrum beta-lactamases in a Spanish hospital over a 15-year period (1988 to 2003). Antimicrob Agents Chemother 2007 Jun; 51 (6): 2201-4
17. Ibrahim N, Wajidi MF, Yusof MY, Tay ST. The integron prevalence of extended-spectrum beta-lactamase producing enterobacterial isolates in a Malaysian teaching hospital. Trop Biomed 2011 Dec; 28 (3): 668-71
18. Yan H, Li L, Zong M, et al. Occurrence and characteristics of class 1 and 2 integrons in clinical bacterial isolates from patients in South China. J Health Sci 2010; 56 (4): 442-

50
19. Maragakis LL. Recognition and prevention of multidrug-resistant Gram-negative bacteria in the intensive care unit. Crit Care Med 2010 Aug; 38 (8 Suppl): S345-51
20. Patzer JA, Toleman MA, Grzesik A. The diverse integron structures disseminating VIM genes in Poland. Clin Microbiol Infect 2005; 11 (Suppl 2): P412
21. Mokracka J, Koczura R, Pawlowski K, Kaznowski A. Resistance patterns and integron cassette arrays of Enterobacter cloacae complex strains of human origin. J Med Microbiol 2011 Jun; 60 (Pt 6): 737-43
22. Hooper DC. Emerging mechanisms of fluoroquinolone resistance. Emerg Infect Dis 2001 Mar-Apr; 7 (2): 337-41
23. Strahilevitz J, Jacoby GA, Hooper DC, Robicsek A. Plasmid-mediated quinolone resistance: a multifaceted threat. Clin Microbiol Rev 2009 Oct; 22 (4): 664-89