

فراوانی اینتگرون کلاس ۱ و فنوتیپ مقاومت چنددارویی در استافیلوکوکوس اورئوس های جدا شده از بیماران و محیط یک واحد مراقبت های ویژه در تهران، ایران

سیمالسادات سیدجوادی^۱ (M.Sc)، مسعود آل بویه^{۲*} (Ph.D)، احسان ناظم الحسینی مجرد^۱ (M.Sc)، محمدرضا زالی^۱ (M.D)

۱- دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، مرکز تحقیقات بیماری های گوارش و کبد

۲- دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، مرکز تحقیقات علوم پایه و اپیدمیولوژی مولکولی بیماری های دستگاه گوارش

چکیده

سابقه و هدف: استافیلوکوکوس اورئوس یکی از مهم ترین باکتری های بیماری زا است. هدف از مطالعه حاضر بررسی حضور کلاس ۱ اینتگرون در میان استافیلوکوکوس اورئوس های جدا شده از محیط، پرسنل و بیماران بخش ICU و ارتباط آن با الگوهای مقاومت دارویی آنها بود.

مواد و روش ها: در مجموع ۴۱۰ نمونه بالینی، محیطی و پرسنل بخش ICU از نظر آلودگی استافیلوکوکوس اورئوس بررسی گردیدند. الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی این جدایه ها توسط ۱۵ دیسک آنتی بیوتیکی سنجیده و حداقل غلظت مهاری آنتی بیوتیک اگزاسیلین به روش رقیق سازی در مایع تعیین گردید. پس از استخراج DNA و تخلیص پلاسمید، تکثیر ناحیه ژنی اینتگرون کلاس یک توسط PCR انجام گردید.

یافته ها: ۳۲/۲٪ از نمونه بالینی، به ترتیب ۲۷٪ و ۱۹/۳٪ از نمونه های محیطی و پرسنل از نظر استافیلوکوکوس اورئوس مثبت بودند. به ترتیب ۹۰/۶٪، ۶۸٪ و ۴۶٪ از جدایه های بالینی، محیطی و پرسنل فنوتیپ مقاومت به اگزاسیلین را نشان دادند. هم چنین تمامی جدایه های بالینی و ۳۳/۳٪ از جدایه های محیطی فنوتیپ مقاومت به چنددارویی را نشان دادند. بیش ترین مقاومت در جدایه های بالینی مربوط به آمپی سیلین و اریترومایسین (۹۶/۵٪)، پنی سیلین و کاناامایسین (۹۳/۵٪) و جنتامایسین (۹۰/۵٪) و در نمونه های محیطی مربوط به پنی سیلین (۷۲٪)، آمپی سیلین (۶۸٪)، اریترومایسین (۶۶٪) و در نمونه های پرسنل مربوط به پنی سیلین و آمپی سیلین (۷۳٪) و اریترومایسین (۶۱/۵٪) بود. در این مطالعه ۳۲/۳٪ از جدایه های بالینی و ۶۷/۷٪ از جدایه های محیطی از نظر ژن اینتگرون کلاس ۱ مثبت بودند.

نتیجه گیری: نتایج این تحقیق در مجموع نشان داد که بینی و دست پرستاران و کارکنان به عنوان بیش ترین منابع کلونیزاسیون محیطی سوبه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به چند دارو در بیمارستان می باشد. این نتایج هم چنین موید فراوانی حضور اینتگرون کلاس یک در این جدایه ها، به ویژه در میان جدایه های مقاوم به اگزاسیلین است.

واژه های کلیدی: اینتگرون، استافیلوکوکوس اورئوس، بخش مراقبت ویژه، مقاومت میکروب به دارو، مقاومت دارویی

مقدمه

عفونت های پوست و بافت های نرم است. به علاوه این باکتری یکی از شایع ترین عوامل ایجادکننده عفونت بیمارستانی می باشد [۱]. از زمان کشف اولین استافیلوکوکوس

استافیلوکوکوس اورئوس یکی از مهم ترین باکتری های بیماری زا است که عامل باکتری، عفونت های زخم،

فراوانی اینتنگرون‌ها در جدایه‌های مختلف عفونت‌های بیمارستانی و تعیین نقش آن‌ها در انتقال عناصر ژنی مقاومت‌های دارویی پرخطر از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. هدف از مطالعه حاضر بررسی حضور اینتنگرون کلاس ۱ در میان ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس جداسازی شده از محیط پرسنل و بیماران بخش ICU در یکی از بیمارستان‌های شهر تهران و ارتباط آن با الگوهای فنوتیپی مقاومت دارویی چندگانه می‌باشد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری و تشخیص طی مدت شش ماه (مرداد لغایت دی ماه) تعداد ۱۰۵ نمونه بالینی از بیماران بستری در بخش ICU (شامل نمونه‌های زخم‌های چرکین، تراشه، خون و ادرار)، ۱۲۴ نمونه بینی و دست پرسنل مرتبط با این بخش (شامل پرستاران، خدمت‌کاران، بهیاران، پزشکان و منشی) و ۱۸۱ نمونه محیطی (شامل ترالی، تخت، ملحفه و ونتیلاتور) از یکی از بیمارستان‌های دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی در سال ۱۳۸۹ گرفته شد و مورد مطالعه قرار گرفت. نمونه‌ها به محیط کشت انتقالی استوارت تلقیح و سپس به آزمایشگاه منتقل و در محیط کشت بلاد آگار کشت داده شدند. نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور در حرارت ۳۰-۳۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. از کلنی‌های رشد یافته ابتدا رنگ‌آمیزی گرم انجام شده و بعد از تأیید کوکسی گرم مثبت آزمایش کاتالاز گذاشته شد. کلنی‌های مشکوک از نظر مصرف مانیتول، واکنش کوآگولاز و DNase مورد بررسی قرار گرفتند [۱۲]. کلنی‌های تک بعد از تأیید، از نظر مقاومت دارویی مورد بررسی قرار داده شدند.

تعیین الگوی مقاومت دارویی از کدورت ۰/۵ مک‌فارلند تهیه شده از ساب‌کالچرهای حاصله از کلنی‌های تک به دست آمده از هر جدایه بر روی محیط مولر هینتون آگار (Merck, Germany) کشت انجام گرفت و وضعیت حساسیت‌ها مقاومت هر جدایه علیه ۱۵ آنتی‌بیوتیک، شامل آنتی‌بیوتیک‌های آگراسیلین (۱۰ میکروگرم)، اریترومایسین (۱۵ میکروگرم)،

اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) در سال ۱۹۶۱، این باکتری به عنوان یکی از شایع‌ترین پاتوژن‌های ایجادکننده عفونت‌های بیمارستانی در سراسر جهان معرفی شد. از آنجا که این پاتوژن به راحتی می‌تواند از طریق تماس مستقیم یا غیرمستقیم بین بیماران و محیط زیست و یا از طریق بیماران و پرسنل پزشکی گسترش یابد، یک عامل خطر مهم برای عفونت‌های بیمارستانی در نظر گرفته می‌شود [۲]. این سویه‌ها به طور معمول به پنی‌سیلین‌های مقاوم به پنی‌سیلیناز (مانند آگراسیلین و متی‌سیلین) مقاوم هستند و طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام بر روی آن‌ها بی‌اثر می‌باشند [۳].

ترکیب‌های دارویی مختلفی هم‌چون ترکیبات حاوی آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام مقاوم به پنی‌سیلیناز، کلیندامایسین، گلیکوپپتیدها، سولفونامیدها و آمینوگلیکوزیدها علیه عفونت‌های استافیلوکوکوس اورئوس تجویز می‌گردند [۴، ۵]. استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها منجر به گسترش مقاومت آنتی‌بیوتیکی به اغلب طیف‌های دارویی فوق شده است که به عنوان یک معضل برای درمان عفونت باکتریایی مربوطه مطرح است. مکانیسم‌های متعددی شامل حضور عوامل متحرک ژنتیکی کدکننده ژن‌های مقاومت دارویی مانند پلاسمیدها و ترانسپوزون‌ها نشان داده‌اند که به گسترش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در میان این باکتری‌ها کمک می‌کنند. علاوه بر این، نقش اینتنگرون‌ها در گسترش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بسیاری از باکتری‌ها به خوبی ثابت شده است [۶، ۷]. کلاس‌های متعددی از اینتنگرون‌ها بر اساس ژن *intI* گزارش شده‌اند. کلاس‌های ۱ تا ۳ آن‌ها به اصطلاح اینتنگرون‌های عامل مقاومت‌های چندگانه نامیده می‌شوند. از میان آن‌ها، اینتنگرون کلاس یک در میان ایزوله‌های بالینی باکتری‌های گرم منفی بیش‌تر دیده شده است و مشخص شده است که این کلاس از اینتنگرون در ارتباط با خانواده ترانسپوزون Tn21 می‌باشد [۸، ۹]. اطلاعات اندکی در مورد شیوع کلاس ۱ اینتنگرون در باکتری‌های گرم مثبت، به خصوص استافیلوکوکوس اورئوس و مقاومت‌های دارویی کدشونده توسط آن وجود دارد [۱۰، ۱۱]. شناخت دقیق

آغازگرها در جدول ۱ آمده است. مخلوط واکنش در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ۰/۱ میکرومول از هر آغازگر، ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR 1x، ۱/۵ میلی مول $MgCl_2$ ، ۲/۰ میلی مول dNTPs، ۲ میکرولیتر DNA الگو و ۵/۱ واحد آنزیم Taq DNA polymerase بود که حجم نهایی با آب دیونیزه استریل به ۲۵ میکرولیتر رسانده شد. برنامه دستگاه ترموسایکلر (Mastecycler gradient, Eppendorf, Germany) به صورت مقابل تنظیم شد: واسرشتگی اولیه (Initial Denaturation) در ۹۴ درجه سانتی گراد برای ۴ دقیقه و بعد از آن ۳۵ چرخه شامل واسرشتگی در ۹۴ درجه سانتی گراد برای ۱ دقیقه، اتصال در ۶۰ درجه سانتی گراد برای ۱ دقیقه، تکثیر در ۷۲ درجه سانتی گراد برای ۱ دقیقه و تکثیر نهایی در ۷۲ درجه سانتی گراد برای ۱۰ دقیقه.

الکتروفورز. محصولات PCR توسط الکتروفورز با استفاده از ژل ۱/۲٪ آگارز (وزنی به حجمی: W/V) از یک دیگر جدا شدند و سپس توسط اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی شده و در زیر نور ماورای بنفش (Ultra violet) در طول موج ۲۶۰ نانومتر توسط دستگاه ترانس ایلومیناتور (Transilluminator) مشاهده شدند. برای تعیین اندازه محصولات از یک نشانگر (Marker) مولکولی ۱۰۰ جفت بازی (GeneRuler TM, Fermentas) استفاده شد. در نهایت به منظور شناسایی تنوع وزن باندی محصول های واکنش و حضور و عدم حضور آن ها از زل های حاصل توسط دستگاه ژل داکيومنتيشن (BioDocAnalyse, Biometra) عکسبرداری شد.

آنالیز آماری. تجزیه و تحلیل داده ها و نتایج با استفاده از نرم افزار آماری (Excel 2007 Microsoft Office) و آزمون آماری χ^2 انجام گرفت و $P < 0/05$ نظر آماری با اهمیت و معنی دار در نظر گرفته شد.

و نکومايسين (۳۰ میکروگرم)، کلیندامایسین (۲ میکروگرم)، تتراسیکلین (۳۰ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، ریفامپیسین (۵ میکروگرم)، کوتریموکسازول (۵ میکروگرم)، تیکوبلانین (۳۰ میکروگرم)، آمپی سیلین (۱۰ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، توبرامایسین (۱۰ میکروگرم)، پنی سیلین (۱۰ واحد)، کانامایسین (۳۰ میکروگرم)، لینزولید (۳۰ میکروگرم) در دو پلیت جداگانه سنجیده شد. تمامی دیسک های مورد استفاده در این آزمایش از شرکت Mast (UK) تهیه شده بودند. محیط ها به مدت ۲۴ ساعت در حرارت ۳۰-۳۲ درجه سانتی گراد انکوبه شده و مورد ارزیابی قرار گرفتند. تمام مراحل کشت، انجام آنتی بیوگرام و تفسیر نتایج در طی این مطالعه بر اساس الگوی پیشنهادی استانداردهای آزمایشگاهی و بالینی (CLSI) انجام شده است [۱۳]. جهت کنترل کیفی دیسک ها از سویه استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 25923 در آزمون آنتی بیوگرام استفاده شد. همچنین جهت شناسایی سویه های مقاوم به اگزاسیلین و تعیین حداقل غلظت مهارتی این آنتی بیوتیک MIC به روش رقیق سازی در منابع (Micro dilution method) با استفاده از پودر آنتی بیوتیک مذکور (Sigma, St Louis, USA) انجام شد. مقاومت به سه یا بیش تر خانواده آنتی بیوتیکی از کلاس های مختلف در میان این جدایه ها به عنوان الگوی مقاومتی چند دارویی (MDR) در نظر گرفته شد.

استخراج DNA ژنومی و واکنش PCR. DNA ژنومی جدایه های استافیلوکوکوس اورئوس به روش هضم آنزیمی به وسیله لیزواستافین جداسازی گردید [۱۴]. به منظور ارزیابی حضور اینتگرون ها بر روی پلاسمید نیز از روش لیز قلیایی استفاده شد [۱۵]. برای تکثیر ژن اینتگرون کلاس ۱ از یک جفت آغازگر (Primer) اختصاصی استفاده گردید. توالی های

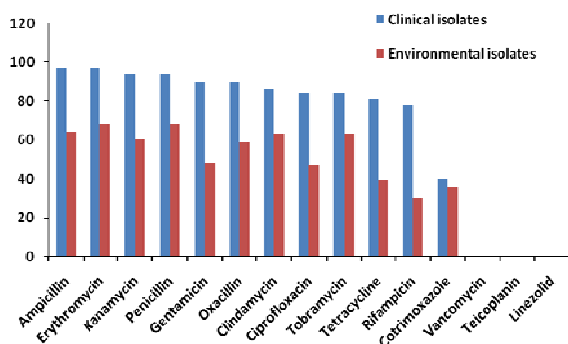
جدول ۱. توالی پرایمر اینتگرون کلاس یک مورد استفاده در این مطالعه

ژن	توالی	تعداد نوکلئوتید	طول قطعه محصول	مرجع
int1	جلویی 3'-AAGCAGACTTGACCTGAT-5'	18	متغییر	[16]
	برگشتی 5'-GGCATCCAAGCAGCAAGC-3'	18		

نتایج

در این مطالعه از مجموع ۱۰۵ نمونه بالینی ۳۴ (۳۲/۳٪) نمونه، از ۱۲۴ نمونه پرسنل ۲۴ (۱۹/۳٪) نمونه و از ۱۸۱ نمونه محیطی ۴۹ (۲۷٪) نمونه از نظر استافیلوکوکوس اورئوس مثبت بودند که مجموعاً ۱۰۸ نمونه استافیلوکوکوس اورئوس جدا شد. آزمون حساست دارویی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج مورد استفاده در بیمارستان، بر روی جدایه‌های استافیلوکوکوس حاصله از نمونه‌های بالینی، پرسنل و محیطی انجام شد که نتایج میزان مقاومت دارویی آن‌ها به ۱۵ آنتی‌بیوتیک تحت مطالعه در شکل ۱ قابل مشاهده است. در جدایه‌های بالینی بیش‌ترین مقاومت مربوط به آمپی‌سیلین و اریترومایسین (۹۶/۵٪)، پنی‌سیلین و کانامایسین (۹۳/۵٪)، جنتامایسین (۹۰/۵٪)، کلیندامایسین (۸۷/۵٪)، توبرامایسین و سیپروفلوکساسون (۸۴/۳٪)، تتراسایکلین (۸۱/۲٪) و ریفاپیسین (۷۱/۸٪) بود. در نمونه‌های محیطی بیش‌ترین مقاومت مربوط به پنی‌سیلین (۷۲٪)، آمپی‌سیلین (۶۸٪)، اریترومایسین (۶۶٪)، کانامایسین (۶۴٪)، کلیندامایسین (۶۲/۳٪)، توبرامایسین (۵۶٪)، سیپروفلوکساسون و جنتامایسین (۵۲٪) و تتراسایکلین (۴۲٪) بود. در نمونه‌های پرسنل بیش‌ترین مقاومت مربوط به پنی‌سیلین و آمپی‌سیلین (۷۳٪)، اریترومایسین (۶۱/۵٪) و کلیندامایسین (۵۷/۶٪) بود (شکل ۱). در هر دو گروه هیچ‌گونه مقاومتی نسبت به ونکومایسین، تیکوپلانتین و لیزولید مشاهده نشد. از نظر درصد فراوانی مقاومت بررسی شده در میان نمونه‌های بالینی و غیر بالینی، میزان مقاومت در ارتباط با تمامی آنتی‌بیوتیک‌ها درصد فراوانی کم‌تری را در میان جدایه‌های محیطی نشان می‌داد (شکل ۱). بررسی نتایج حساسیت دارویی به متی‌سیلین موید تنوع سطوح MIC برای آگراسیلین در دامنه ۱ µg/ml تا ۵۱۲ µg/ml > بود. از میان جدایه‌های به‌دست آمده از نمونه‌های بالینی، محیطی و پرسنل، به ترتیب ۹۰/۶٪، ۶۸٪ و ۴۶٪ از جدایه‌ها نسبت به آگراسیلین مقاوم بودند. تمامی جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از نمونه‌های بالینی و ۳۳/۳٪ جدایه‌های به‌دست آمده از نمونه‌های محیطی دارای فنوتیپ مقاومت به چند دارو (MDR) به خصوص در

برابر آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین، آمپی‌سیلین، اریترومایسین، کلیندامایسین و آگراسیلین بودند که بر حسب پروفایل حساسیت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها به ۴ گروه طبقه‌بندی شدند (جدول ۲). اغلب جدایه‌های محیطی دارای فنوتیپ مقاومتی MDR-MRSA مربوط به نمونه‌های گرفته شده از ونتیلاتور ۳۲٪، تشک ۳۰٪ و دست پرسنل ۱۸٪ بودند.



شکل ۱. نمودار جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از نمونه‌های بالینی، محیطی و پرسنل در ارتباط با میزان مقاومت آنها به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف

بررسی نتایج غربالگری PCR برای تمامی ایزوله‌ها مشخص نمود که ۳۱ (۲۸/۷٪) جدایه از استافیلوکوکوس اورئوس از نظر ژن *int1* مثبت بودند. از نمونه‌های استافیلوکوکوس اورئوس که از نظر اینتگرون کلاس یک مثبت بودند، ۳۲/۲٪ از آن‌ها مربوط به نمونه‌های بالینی و ۲۹٪ مربوط به نمونه‌های پرسنل و ۳۸/۷٪ مربوط به نمونه‌های محیطی بودند. از مجموع ۳۱ جدایه استافیلوکوکوس اورئوس که از نظر اینتگرون مثبت بودند ۲۶ (۸۳/۸٪) سویه فنوتیپ مقاومتی مقاوم به متی‌سیلین را نشان می‌دادند. طول باند حاصل از PCR ژن اینتگرون در نمونه‌های مختلف متفاوت بود. در نمونه‌های بالینی ۵۰٪ از نمونه‌ها دارای ژن اینتگرون با طول ۱۱۰۰ bp، ۳۰٪ دارای طول ۷۵۰ bp و ۲۰٪ دارای طول ۳۵۰ bp بودند. در نمونه‌های محیطی ۴/۵٪ دارای باند ۳۵۰ bp، ۱۹٪ دارای باند ۷۵۰ bp و ۷۶٪ دارای باند ۱۱۰۰ بودند. نتایج ارزیابی ترادفی این محصولات تاییدکننده صحت باندها بود. بررسی آماری در این نمونه‌ها موید وجود ارتباط معنادار آماری بین حضور الگوی مقاومتی چنددارویی و حضور اینتگرون کلاس یک در این جدایه‌ها بود (جدول ۲).

جدول ۲. فنوتیپ مقاومت به چند دارو و حضور اینتگرولن در استافیلوکوکوس های جدا شده از نمونه های بالینی و محیطی

الگوهای مقاومت	نمونه های بالینی (%)	نمونه های محیطی و پرسنل (%)	int1 (bp)			
			نمونه های بالینی	P value	نمونه های محیطی و پرسنل	Pvalue
AP, CIP, CD, E, GM, Ox, T, TS	9 (26%)	7 (9.5%)	۳	0.0003	۶	0.025
AP, CIP, E, OX, T	24 (70%)	22 (30%)	۸	<0.0001	۷	0.0253
TN, PG, K, RP	21 (61.7%)	21 (28%)	۷	<0.0001	۵	0.0167

AP: Ampicillin (10µg), CIP: Ciprofloxacin (5µg), CD: Clindamycin (2µg), E: Erythromycin (15µg), GM: Gentamicin (10µg), OX: Oxacillin (1µg), T: Tetracyclin (30µg), TS: Cotrimoxazole (25µg), TN: Tobramycin (10µg), PG: Penicillin G (10 Unit), K: Kanamycin (30µg), RP: Rifampicin (5µg).

بحث و نتیجه گیری

عفونت های ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلینیکی از بزرگ ترین عوامل عفونت های بیمارستانی محسوب می شود که در سال های اخیر مرگ و میر بالایی در ارتباط با آن ها در مناطق مختلف جغرافیایی گزارش شده است. کلونیزاسیون این باکتری ها در بینی و دست پرستاران و کارکنان بیمارستان و هم چنین در پرسنل بخش مراقبت های ویژه به عنوان بیش ترین منابع جدایه های آلوده کننده بیماراران بستری مطرح می باشد [۱۷]. مهم ترین مکانیسم های مقاومت دارویی این جدایه ها می تواند در رابطه با حضور پروتئین های تغییر یافته میان کنش دهنده با آنتی بیوتیک ها و یا به واسطه آنزیم های هیدرولیزکننده این داروها باشد. توسعه وسیع این مقاومت ها در رابطه با عناصر ژنتیکی انتقال یابنده در میان جمعیت های باکتریایی مقیم امروزه به عنوان معضلات درمانی در مراکز درمانی به ویژه بیمارستان ها مطرح است [۱۸]. حضور هم زمان موتاسیون های ژنی PBP های مسبب بروز فنوتیپ مقاومتی MRSA در سویه های استافیلوکوکوس اورئوس در کنار کاست های ژنی انتقال پذیر کدکننده ژن های مقاومت دارویی به سایر داروهای درمانی (فنوتیپ MDR) از دیگر مشکلات نوظهور در این باکتری ها محسوب می شود. در این مطالعه فراوانی نمونه های کلینیکی استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین ۹۰/۶٪ گزارش شد که تا کنون بیش ترین گزارش از این جدایه در مقایسه با سایر گزارشات از کشورهای نظیر تایوان، کانادا و استرالیا با فراوانی ۶۶ تا

۷۷٪ محسوب می شود [۱۹-۲۲]. مطالعه ای ما نشان داد که ۱۹/۳٪ از کارکنان مراقبت های بهداشتی حامل استافیلوکوکوس اورئوس بودند که از این میان ۴۶٪ مربوط به جدایه های مقاوم به اگزاسیلین بود. این میزان از نظر شیوع تقریباً مشابه با گزارش های اخیر در مورد ناقلین بیمارستانی این باکتری در گرگان است (۲۴٪)، اما از نظر سطح مقاومت به متی سیلین، ۱۲/۵٪ از جدایه ها مقاوم به متی سیلین بودند، که این میزان فراوانی از سایر گزارشات بالاتر است [۲۳]. عوامل اپیدمیولوژیک مختلفی از جمله منطقه جغرافیایی و کارایی نظام سلامت در اجرای برنامه های کنترل عفونت نقش مهمی در شیوع متفاوت جدایه های مقاوم به اگزاسیلین در مناطق مختلف دارند. این فراوانی در سال های اخیر در ایران در مورد نمونه های محیطی بیمارستانی در دامنه ۱۲/۷ تا ۴۵٪ و در مورد جدایه های عفونت بیمارستانی در دامنه ۲۳ تا ۶۸ قرار دارد [۲۳-۲۶]. البته علت این تفاوت گزارش می تواند به سبب خطای روش انجام آزمون با توجه به استانداردهای اخیر CLSI باشد.

بررسی ها نشان می دهد که جدایه های مقاوم به اگزاسیلین، به آنتی بیوتیک های مختلفی مانند ماکرولیدها، لینکوزیدها، آمینوگلیکوزیدها، پنی سیلین های بتالاکتام و سفالوسپورین ها دارای مقاومت بوده و این مقاومت با گذشت زمان پیوسته در حال افزایش است. پیدایش جدایه های مقاوم به اگزاسیلین نه تنها باعث بروز مشکل در درمان عفونت های ناشی از این باکتری در بیمارستان ها گردیده، بلکه سبب افزایش انتشار

این عناصر ژنی بر روی باکتری‌های گرم منفی انجام شده است [۱۱، ۱۰، ۱]. این مطالعه در واقع اولین گزارش فراوانی ژن اینتگرون کلاس یک در باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس در ایران است. در این مطالعه از ۱۰۸ نمونه استافیلوکوکوس اورئوس، ۲۱ ایزوله‌ی محیطی (۶۷/۷٪) و ۱۰ نمونه کلینیکی (۳۲/۳٪) ژن اینتگرون کلاس یک را حمل می‌کردند. نتایج به دست آمده از مطالعه ما نشان داد که اینتگرون به طور گسترده در میان ایزوله‌های بالینی وجود دارد. در این مطالعه، ۲۰٪ از نمونه‌های کلینیکی و ۴/۵٪ از نمونه‌های محیطی دارای اینتگرون با باند ۳۵۰ bp بودند که این امر بدین معنی است که این جدایه‌های اینتگرون مثبت هیچ‌گونه ژن مقاومت به آنتی‌بیوتیک را با خود حمل نمی‌کنند؛ این وضعیت توسط Lee و هم‌کاران نیز گزارش شده است [۴۱]. به‌علاوه حضور فنوتیپ مقاومت دارویی چندگانه در میان جدایه‌های حاوی اینتگرون کلاس ۱ با الگوی باندی وزن مولکولی بالا تایید گردید. بررسی آماری این نتایج وجود ارتباط معنادار بین مقاومت چندگانه و حضور اینتگرون کلاس ۱ را مورد تاکید قرار داد. هم‌زمانی حضور اینتگرون کلاس یک با وزن مولکولی بزرگ در جدایه‌های دارای الگوی مقاومت چنددارویی مشابه در میان نمونه‌های محیطی و بالینی پیشنهادکننده گردش احتمالی این جدایه‌ها میان کارکنان و بیماران است. مطالعه ما نشان می‌دهد که شیوع بالایی از اینتگرون کلاس ۱ در جدایه‌های بالینی و محیطی وجود دارد که این امر سودمندی آنتی‌بیوتیک‌ها را به عنوان عوامل درمانی تهدید می‌کند. مطالعه دقیق‌تر اینتگرون‌ها و کاست‌های ژنی مقاومت دارویی حمل‌شونده توسط آن‌ها می‌تواند اطلاعات مهمی را در مورد مکانیسم‌های کسب ژن‌های مقاومت چندگانه در این ایزوله‌ها به منظور انتخاب رژیم درمان آنتی‌بیوتیکی موثر و کنترل عفونت‌های ناشی از آن‌ها ارائه نماید.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت مالی مرکز تحقیقات گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی به انجام رسیده است.

آن‌ها در جوامع و بیمارستان‌ها نیز می‌شود. در مطالعه حاضر جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس علاوه بر مقاومت نسبت به متی‌سیلین، مقاومت‌های چنددارویی نظیر AP, CIP, CD, E, GM, OX, T, TS و TN, PG, K, AP, CIP, E, OX, T را نیز از خود نشان دادند (جدول ۲). در مطالعه‌ای که در کاشان در سال ۲۰۱۱ انجام شده بود، به‌طور مشابهی فراوانی جدایه‌های MDR-MRSA در نمونه‌های بالینی دارای فنوتیپ MRSA، ۱۰۰٪ گزارش گردیده است که موید حضور این باکتری‌ها در سایر نقاط کشور می‌باشد [۲۷]. بررسی الگوی حساسیت دارویی نشان داد که جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به تیکوپلانتین، ونکومايسين و لیزولید کاملاً حساس هستند که نتایج حاصل از مطالعه ما با مطالعات دیگر که در سطح ملی و بین‌المللی در پاکستان، هند، کلمبیا و رومانی انجام پذیرفته است مطابقت می‌کند [۲۸-۳۱]. اگرچه کاهش حساسیت و افزایش مقاومت استافیلوکوکوس اورئوس به ونکومايسين در ژاپن و ایالات متحده آمریکا گزارش شده است اما خوشبختانه هیچ‌گونه مقاومتی در جدایه‌های مطالعه حاضر نسبت به ونکومايسين مشاهده نشده است که مشابه نتایج گزارش شده از کشورهایمانند ایرلند، جمهوری چک و رومانی می‌باشد [۳۲-۳۴]. البته صحت این نتایج باید توسط آزمون رقت در آگار در مورد ونکومايسين به تایید برسد.

بررسی شیوع اینتگرون‌ها در سویه‌های باکتریایی جدا شده از هر کشور به عنوان عوامل موثر در انتشار مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی دارای اهمیت می‌باشد. حضور این عناصر، به ویژه اینتگرون کلاس یک می‌تواند بر مبنای مطالعات منطقه‌ای صورت گرفته به عنوان شاهدی دال بر حضور فنوتیپ مقاومت چنددارویی مطرح باشد [۳۵]. مقاومت چنددارویی به واسطه اینتگرون در نمونه‌های کلینیکی در باکتری‌های گرم منفی توصیف شده است [۳۶-۳۹]. اینتگرون‌ها به عنوان منشا اولیه انتقال ژن‌های مقاومت دارویی و مخزنی برای آن‌ها در جمعیت‌های باکتری‌هایی شناخته شده است [۴۰، ۴۱]. به استثنای چند مورد، بیش‌تر مطالعات اپیدمیولوژیک بر روی

[18] Handwerger S, Tomasz A. Alterations in penicillin-binding proteins of clinical and laboratory isolates of pathogenic *Streptococcus pneumoniae* with low levels of penicillin resistance. *J Infect Dis* 1986; 153:83-89.

[19] Fatholahzadeh B, Emaneini M, Gilbert G, Udo E, Aligholi M, Modarressi MH, et al. Staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec) analysis and antimicrobial susceptibility patterns of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolates in Tehran, Iran. *Microb Drug Resist* 2008; 14:217-220.

[20] Hsueh PR, Teng LJ, Chen WH, Pan HJ, Chen ML, Chang SC, et al. Increasing prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* causing nosocomial infections at a university hospital in Taiwan from 1986 to 2001. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48:1361-1364.

[21] Merlino J, Watson J, Rose B, Beard-Pegler M, Gottlieb T, Bradbury R, Harbour C. Detection and expression of methicillin/oxacillin resistance in multidrug-resistant and non-multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* in Central Sydney, Australia. *J Antimicrob Chemother* 2002; 49:793-801.

[22] Arbiq J, Forward K, Haldane D, Davidson R. Comparison of the velogene rapid MRSA identification assay, denka MRSA-screen assay, and BBL crystal MRSA ID system for rapid identification of methicillin-resistant staphylococcus aureus. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2001; 40:5-10.

[23] Khalili M, Sharifi-Yazdi M, Dargahi H, Ali Sadeghian H. Nasal colonization rate of staphylococcus aureus strains among health care service employee's of teaching university hospitals in Yazd. *Acta Medica Iranica* 2009; 47: 315-317.

[24] Nikbakht M, Hasannejad S, Rezazadeh B, Taghizadeh Baghi A, Ghorbani F, Faraji F, et al. Antibiotic resistance pattern of isolated strains of *Staphylococcus aureus* from personnel nasal specimens in meshginshahr valiasr hospital. *J Ardabil Univ Med Sci* 2009; 9: 80-88.(Persian).

[25] Mamishi S, Pourakbari B, Ashtiani MH, Hashemi FB. Frequency of isolation and antimicrobial susceptibility of bacteria isolated from bloodstream infections at children's medical center, Tehran, Iran, 1996-2000. *Int J Antimicrob Agents* 2005; 26:373-379.

[26] Rahbar M, Babazadeh H, Zarghami N. High methicillin resistance of *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci in Imam Khomeini Hospital of Urmia, Iran. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2001; 22:196-197.

[27] Zeinali E, Moniri R, Musavi GH. Antibiotic resistance and molecular subtypes of clinical methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a teaching hospital. *Indian J Med Microbiol* 2011; 29:318-319.

[28] Kandle SK, Ghatole MP, Takpere AY, Hittinhalli VB, Yemul VL. Bacteriophage typing and antibiotic sensitivity pattern of *Staphylococcus aureus* from clinical specimen in and around Solapur (South Maharashtra). *J Commun Dis* 2003; 35:17-23.

[29] Butt T, Ahmed RN, Usman M, Mahmood A. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, Pakistan. 1996-2003 [Letter] *Emerg Infect Dis* 2004 available from URL: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol10no9/03-0844.html#ref>.

[30] Contreras G, Prieto R, Leal A. Antimicrobial susceptibility of the pathogens of bacteraemia in a tertiary neonatal intensive care unit in Bogota, Colombia, 2001-2006 ESCMID 2007 [Abstract number:1733_1033] Available from URL: <http://www.blackwellpublishing.com/eccmid17/abstract.asp?id=57332>

[31] Dragomirescu CC, Codita I, Oprea M. Antimicrobial resistance of *S. aureus* strains isolated in 2005 from nosocomial infections in Romania. ESCMID 2007 [Abstract number; 1733_1321] available from URL: <http://www.blackwellpublishing.com/eccmid17/abstract.asp?id=57620>

[32] Murchan S. Analysis of trends in antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in Ireland. 1999-2004. ESCMID 2005 [Abstract number; 1134_03_227] available from URL: <http://www.blackwellpublishing.com/eccmid15/abstract.asp?id=37312>.

[33] Mahmood K, Tahir T, Jameel T, Ziauddin A, Aslam HF. Incidence of methicillin-resistant staphylococcus aureus (MRSA) causing nosocomial infection in a tertiary care hospital. *ANNALS* 2010; 16:91-96.

نویسندگان این اثر از تمامی محققان و کارکنان این مرکز و هم‌چنین کارکنان بخش ICU بیمارستان تحت مطالعه کمال قدردانی و تشکر را دارند.

منابع

[1] Ikeagwu IJ, Amadi ES, Iroha IR. Antimicrobial sensitivity pattern of *Staphylococcus aureus* in Abakalki, Nigeria. *Pak J Med Sci* 2008; 24: 231-235.

[2] Chang SC, Sun CC, Yang LS, Luh KT, Hsieh WC. Increasing nosocomial infections of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at a teaching hospital in Taiwan. *Int J Antimicrob Agents* 1997; 8:109-114.

[3] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 21st informational supplement M100-S21. Wayne, PA: CLSI; 2011.

[4] Lee S, Choe PG, Song KH, Park SW, Kim HB, Kim NJ, et al. Is cefazolin inferior to nafcillin for treatment of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia? *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55:5122-5126.

[5] Elliott DJ, Zaoutis TE, Troxel AB, Loh A, Keren R. Empiric antimicrobial therapy for pediatric skin and soft-tissue infections in the era of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Pediatrics* 2009; 123:e959-966.

[6] Williams DJ, Cooper WO, Kaltenbach LA, Dudley JA, Kirschke DL, Jones TF, et al. Comparative effectiveness of antibiotic treatment strategies for pediatric skin and soft-tissue infections. *Pediatrics* 2011; 128:e479-487.

[7] Yang H, Chen S, White DG, Zhao S, McDermott P, Walker R, Meng J. Characterization of multiple-antimicrobial-resistant *Escherichia coli* isolates from diseased chickens and swine in China. *J Clin Microbiol* 2004; 42:3483-3489.

[8] Yu HS, Lee JC, Kang HY, Ro DW, Chung JY, Jeong YS, et al. Changes in gene cassettes of class I integrons among *Escherichia coli* isolates from urine specimens collected in Korea during the last two decades. *J Clin Microbiol* 2003; 41:5429-5433.

[9] Nesvera J, Hochmannová J, Pátek M. An integron of class I is present on the plasmid pCG4 from gram-positive bacterium *Corynebacterium glutamicum*. *FEMS Microbiol Lett* 1998; 169:391-395.

[10] Sun W, Wang Z, Chen L, Luo S, Jin X, Zhang W. Etiological analysis on bacterial ocular disease in northern China (1989-1998). *Chin Med J (Engl)* 2002; 115:933-935.

[11] Xu Z, Shi L, Zhang C, Zhang L, Li X, Cao Y, et al. Nosocomial infection caused by class I integron-carrying *Staphylococcus aureus* in a hospital in South China. *Clin Microbiol Infect* 2007; 13: 980-984.

[12] Nandi S, Maurer JJ, Hofacre C, Summers AO. Gram-positive bacteria are a major reservoir of class I antibiotic resistance integrons in poultry litter. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 7118-7122.

[13] Baron EJ, Finegold SM. Diagnostic microbiology. 18th ed; Mosby Press; Philadelphia, USA: 1990; p: 323-332.

[14] Okamoto R, Okubo T, Inoue M. Detection of genes regulating beta-lactamase production in *Enterococcus faecalis* and *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40:2550-2554.

[15] Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. Molecular cloning in: A Laboratory manual 3rd ed. Cold Spring Harbor Press, NY, p:31-38.

[16] Izumiya H, Terajima J, Matsushita S, Tamura K, Watanabe H. Characterization of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serovar Typhimurium isolated in Japan. *J Clin Microbiol* 2001; 39:2700-2703.

[17] Nickerson EK, West TE, Day NP, Peacock SJ. *Staphylococcus aureus* disease and drug resistance in resource-limited countries in south and East Asia. *Lancet Infect Dis* 2009; 9:130-135.

resistance genes in clinical isolates of enterobacteriaceae. *Microb Drug Resist* 1995; 1:195-202.

[39] Hall RM, Collis CM. Antibiotic resistance in gram-negative bacteria: the role of gene cassettes and integrons. *Drug Resist Updat* 1998; 1:109-119.

[40] Fujimura S, Kato S, Hashimoto M, Takeda H, Maki F, Watanabe A. Survey of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from neonates and the environment in the NICU. *J Infect Chemother* 2004; 10:131-132.

[41] Stokes HW, Hall RM. A novel family of potentially mobile DNA elements encoding site-specific gene-integration functions: integrons. *Mol Microbiol* 1989; 3:1669-1683.

[42] Lee MF, Peng CF, Lin YH, Lin SR, Chen YH. Molecular diversity of class 1 integrons in human isolates of *Aeromonas* spp. from southern Taiwan. *Jpn J Infect Dis* 2008; 61: 343-349.

[34] Leman R, Alvarado-Ramy F, Pocock S, Barg N, Kellum M, McAllister S, et al. Nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in an American Indian population. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2004; 25:121-125.

[35] Rao S, Maddox CW, Hoiem-Dalen P, Lanka S, Weigel RM. Diagnostic accuracy of class 1 integron PCR method in detection of antibiotic resistance in *Salmonella* isolates from swine production systems. *J Clin Microbiol* 2008; 46:916-920.

[36] Ochman H, Lawrence JG, Groisman EA. Lateral gene transfer and the nature of bacterial innovation. *Nature* 2000; 405:299-304.

[37] Orman BE, Piñeiro SA, Arduino S, Galas M, Melano R, Caffer MI, et al. Evolution of multiresistance in nontyphoid *salmonella* serovars from 1984 to 1998 in Argentina. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46:3963-3970.

[38] Sallen B, Rajoharison A, Desvarenne S, Mabilat C. Molecular epidemiology of integron-associated antibiotic

Frequency of class 1 integron and multidrug resistance pattern among isolates of *Staphylococcus aureus* from hospitalized patients and environmental samples in an intensive care unit in Tahrán, Iran

Sima Sadat Seyedjavadi (M.Sc)^{1,2}, Masoud Alebouyeh (Ph.D)^{*1,2}, Ehsan Nazem Alhosseini Mojarad (M.Sc)¹, Mohammad Reza Zali (M.D)^{1,2}

1 - Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

2 - Basic and Molecular Epidemiology of Gastrointestinal Disorders Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received: 3 Feb 2013; Accepted: 24 Nov 2013)

Introduction: The aim of this study was to investigate the presence of class 1 integrons and their association with antimicrobial resistance profiles among *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) isolates from environment, staffs and hospitalized patients at an intensive care unit (ICU) in a hospital in Tehran, Iran.

Materials and Methods: A total of 410 clinical, environmental and personnel samples were examined for *S. aureus* infections and contamination. Susceptibility of these isolates to 15 antibiotics and minimum inhibitory concentrations (MIC) of oxacillin were determined by disk diffusion and micro dilution methods, respectively. Class 1 integrons (*int1*) were determined among the extracted DNA and purified plasmid samples by PCR.

Results: In this study, 32.2% of the clinical specimens including respectively 27% and 19.3% of the environmental and personnel samples were positive for *S. aureus*. A total of 90.6%, 68% and 46% of the clinical, environmental and personnel samples showed oxacillin resistance phenotype, respectively. In addition, all of the clinical and 33.3% of the environmental isolates showed multidrug resistance (MDR) phenotype. Highest resistance rates for the clinical isolates were related to ampicillin and erythromycin (96.5%), penicillin and kanamycin (93.5%), and gentamicin (90.5%); and these rates for the environmental samples were related to penicillin (72%), ampicillin (68%), and erythromycin (66%); and also for the personnel samples were related to penicillin and ampicillin (73%) and erythromycin (61.5%). Integron class one was found among 32.3% of the clinical, 67.7% of the environmental and all of the oxacillin resistance isolates (100%).

Conclusion: Nose and hands of the ICU nurses and staffs seems as main sources of the infections. Our results also established the presence of class 1 integron in these isolates, especially among the isolates with oxacillin resistant phenotype.

Keywords: Integrons, *Staphylococcus aureus*, Intensive care units, Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*, MDR, Microbial drug resistance, Drug resistance

* Corresponding author: Fax: +98 2122432517; Tel +98 2122432518
masoud.alebouyeh@gmail.com

How to cite this article:

Seyed javadi S, Alebouyeh M, Nazem Alhosseini Mojarad E, Zali M. Frequency of class 1 integron and multidrug resistance pattern among isolates of *Staphylococcus aureus* from hospitalized patients and environmental samples in an intensive care unit in Tahrán, Iran. *koomesh*. 2014; 15 (3) :341-348

URL http://www.koomeshjournal.ir/browse.php?a_code=A-10-1887-1&slc_lang=fa&sid=1