Arak Medical University Journal (AMUJ) *Original Article*
2017; 20(124): 98-107

Genetic Analysis of Integrons among Methicillin-resistant and Susceptible *Staphylococcus aureus* Isolated from Nosocomial Infections

Somayyeh Moatti[1], Behrouz Shojaee Sadi[2], Ehsanollah Ghaznavi-rad[3*]

1. MSc in Microbiology, Arak Branch, Islamic Azad University, Arak, Iran
2. Instructor, Department of Microbiology, Arak Branch, Islamic Azad University, Arak, Iran
3. Associate Professor, Department of Medical Microbiology and Immunology, Molecular Medicine Research Center, Faculty of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran

Received: 19 Jul 2017, Accepted: 6 Sep 2017

Abstract

Background: Integrons are mobile genetic elements that play an important role in dissemination of antibiotic resistance genes. The aim of present study is to determine the antibiotic resistance profile, frequency of integrons genes (class 1, 2, 3) and compare it between MRSA and MSSA isolates from clinical infections.

Materials and Methods: 50 MRSA and 50 MSSA isolates from March to September 2015 were isolated from infection site of hospitalized patients referred to Valiasr hospital Arak, Iran were subjected to this study. All isolates were tested for susceptibility to antibiotics using disk diffusion method. Then, the mecA gene was studied to validate resistance. The frequency of integrons (class 1, 2, 3) and the variable region genes like qacEΔ1 and sul1 in isolates were determined by PCR method.

Results: The highest antibiotic resistances rate in isolates was found for clindamycin. All of the isolates were susceptibel to vancomycin. 80% of MRSA and 40% of the MSSA isolates carried class 1 integrons, whereas class 2 integron were found in 12 % and 4% of MRSA and MSSA isolates, respectively. Also, all isolates that were class 1 integron gene positive contain qacEΔ1 and sul1 genes. Class 3 integrons were not found.

Conclusion: The high frequency of class 1 integron in MRSA and MSSA isolates associated with high rate of antibiotic resistance indicating that may be integrons play an important role facilitating the spread of antimicrobial resistance in this region. Clinical doctors and infection control committee should take this issue seriously.

Keywords: Integron, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, Methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*, Polymerase chain reaction.

*Corresponding Author:
Address: Department of Microbiology, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.
E-mail: e.ghaznavirad@arakmu.ac.ir

مقاله پژوهشی
مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک
سال ۲۰، شماره ۷ (شماره پیاپی ۱۲۴)،مهر۱۳۹۶، ۱۰۷-۹۸

بررسی ژنتیکی اینتگرون‌ها در استافیلوکوکوس اورئوس‌های حساس و مقاوم به متی‌سیلین جدا شده از عفونت‌های بیمارستانی

سمیه معطی[۱]، بهروز شجاعی سعدی[۲]، احسان اله غزنوی‌راد[۳*]

۱. کارشناس ارشد میکروب شناسی، واحد اراک، دانشگاه آزاد اسلامی، اراک، ایران
۲. مربی، گروه میکروبیولوژی، واحد اراک، دانشگاه آزاد اسلامی، اراک، ایران
۳. دانشیار، گروه میکروب شناسی وایمنی شناسی، مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۴/۲۸، تاریخ پذیرش: ۹۶/۶/۱۵

چکیده

زمینه و هدف: اینتگرون ها عوامل ژنتیکی متحرکی هستند که در گسترش و حمل ژن‌های مقاومت آنتی بیوتیکی موثرند. هدف از انجام این مطالعه، تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی، بررسی فراوانی اینتگرون‌های کلاس ۱، ۲ و ۳ و مقایسه آن در ایزوله های MRSA و MSSA جدا شده از عفونت‌های کلینیکی می باشد.

مواد و روش ها: در این مطالعه،۵۰ ایزوله MRSA و ۵۰ ایزوله MSSA از عفونت‌های مختلف بیمارستان ولیعصر شهر اراک جمع آوری گردید. الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی با استفاده از روش دیسک دیفیوژن تعیین گردید. سپس وجود ژن mecA جهت تایید مقاومت بررسی شد. فراوانی اینتگرون‌های کلاس ۱ و ۲ و ۳ و حضور ژن های qacEΔ 1 و ژن sul1 در ناحیه متغیر ایزوله ها با استفاده از روش PCR تعیین شد.

یافته‌ها: بیشترین مقاومت آنتی بیوتیکی در ایزوله ها مربوط به آنتی بیوتیک کلیندامایسین بود. تمامی ایزوله ها نسبت به ونکومایسین حساسیت نشان دادند.۸۰ درصد از MRSA ها دارای اینتگرون کلاس ۱و ۱۲ درصد دارای اینتگرون کلاس ۲ بودند. هم‌چنین تمامی ایزوله هایی که اینتگرون کلاس ۱ درآن‌ها مشاهده شد حاوی ژن qacEΔ 1, sul1 نیز بودند. میزان فراوانی اینتگرون کلاس ۱ و ۲ به ترتیب در MSSAها۴۰ درصد و ۴ درصد بود. اینتگرون کلاس ۳ نیز در ایزوله ها یافت نگردید.

نتیجه گیری: میزان فراوانی اینتگرون کلاس ۱، در سویه های MRSA و MSSAهای مورد مطالعه بسیار بالا می باشد که این عامل احتمالاً می تواند نقشی در تسهیل گسترش سویه هایی با مقاومت دارویی داشته باشد. این یافته باید در نظر پزشکان بالینی و کمیته کنترل عفونت بیمارستان جدی تلقی شود.

واژگان کلیدی: استافیلوکوکوس اورئوس حساس به متی سیلین، استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین، اینتگرون، واکنش زنجیره ای پلی مراز.

***نویسنده مسئول:** ایران، اراک، دانشگاه علوم پزشکی اراک، گروه میکروب شناسی
Email: e.ghaznavirad@arakmu.ac.ir

مقدمه

استافیلوکوکوس اورئوس یکی از مهم‌ترین و شایع‌ترین علل ایجادکننده عفونتهای بیمارستانی بوده که با توجه به افزایش میزان مقاومت این باکتریها به آنتی بیوتیکها بعنوان یک معضل جهانی شناخته می شود(۱). امروزه کسب مقاومت آنتی بیوتیکی مشکلات عمده ای را در درمان عفونتهای ناشی از این باکتری ایجاد کرده است(۲). این باکتری با دریافت ژن mecA تبدیل به استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین می‌شود(MRSA)که تاکنون ۲ نوع HA(اکتسابی از بیمارستان) و CA (اکتسابی از جامعه) یافت شده است(۳). کسب عناصر ژنتیکی متحرک از جمله پلاسمیدها، ترانسپوزون ها و اینتگرون ها در میان باکتری های گرم مثبت، نقش مهمی را در گسترش مقاومت آنتی بیوتیکی ایفا می کند(۴). اینتگرونها یکی از عوامل متحرک ژنتیکی می باشند که قادر به حمل و گسترش ژن های مقاومت آنتی بیوتیکی در میان این باکتری ها هستند و انتقال افقی آن ها در بین باکتریها یکی از مهمترین راه های انتشار ژن های مقاومت و به وجود آمدن سویه های مقاوم به دارو می باشد(۵). از نظر ساختاری اینتگرونها دارای دو ناحیه محافظت شده '۳ و '۵ ، ژن اینتگراز و ناحیه متغیر می باشند(۶). تاکنون شش کلاس از اینتگرون ها بر اساس اینتگراز های مختلفی که کد می کنند شناخته شده اند. در میان کلاس‌های مختلف اینتگرونی، اینتگرون کلاس یک در بین ایزوله های باکتریایی بیش تر یافت شده است(۷). این اینتگرون در سمت '۵، دارای ژن کدکننده اینتگراز (Int1) وتوالی attI1 می باشد و در سمت '۳ خود دارای ژن qacEΔ1 وژن sul1 می باشد. بیش تر از ۷۰ ژن مقاومت آنتی بیوتیکی توسط اینتگرون حمل می شوند که این ژن ها در ایجاد مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های مختلف از جمله آمینوگلیکوزیدها، بتالاکتام ها، ماکرولیدها، سولفانامیدها، کلرامفینکل نقش دارند(۸). همچنین ارتباط مشخصی بین فنوتایپ مقاومت و کاست های ژنی قرار گرفته در ناحیه متغیر اینتگرون ها وجود دارد. در دسترس بودن اطلاعات جدید از الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی در باکتری‌ها، آشنایی با مقاومت رایج در بین آن‌ها و نیز مطالعه در جهت بررسی علل ایجادکننده مقاومت در آنها می‌تواند در جهت تدابیر درمانی مناسب کمک کند. با توجه به این‌که در حال حاضر در بیمارستان ولیعصر (عج) اراک شاهد فراوانی بالایی از مقاومت به آنتی بیوتیکها در بین سویه های MRSA و MSSA هستند و تاکنون مطالعه ای بر روی نقش اینتگرونها در ایجاد مقاومت آنتی بیوتیکی صورت نپذیرفته است، این مطالعه با هدف تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی، بررسی شیوع اینتگرون‌های کلاس ۱ ،۲ و۳ و تعیین ارتباط آن در ایجاد مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک‌ها در ایزوله های MRSA و MSSA جدا شده از عفونت‌های کلینیکی بیماران بستری در مرکز آموزشی و درمانی ولیعصر (عج) اراک طراحی گردید.

مواد و روش ها

در این مطالعه که بصورت توصیفی مقطعی و در مدت زمان بین فروردین ۱۳۹۴ تا شهریورماه ۱۳۹۴ صورت پذیرفت، تعداد۵۰ ایزوله MRSA و۵۰ ایزوله MSSA از نمونه های مربوط به عفونتهای مختلف از بیماران بستری شده در بخش‌های مختلف مرکز آموزشی درمانی ولیعصر(عج) اراک جمع آوری گردید. با توجه به اینکه روش مطالعه توصیفی مقطعی بوده، روش آماری مورد استفاده قرار نگرفته است. عفونت‌های مختلف در بیماران بوسیله علائم کلینیکی و یافته های آزمایشگاهی مربوط به این عفونت ها، تایید شده بودند. نمونه ها با استفاده از روش های بیوشیمیایی استاندارد از جمله رنگ آمیزی گرم، تست کاتالاز، تست کوآگولاز، تست DNase، تست MSA ، تست حساسیت به دیسک نوبیوسین تعیین هویت شدند.

حساسیت نمونه ها نسبت به دیسک سفوکسیتین (۳۰mg) و اگزاسیلین (۱۰ میلی گرم) بررسی شد. الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی در سویه ها با استفاده از روش دیسک دیفیوژن (کربی-بائر) مطابق با معیارهای موسسه استانداردهای آزمایشگاهی و بالینی (CLSI) تعیین گردید(۹). دیسک ها محصول شرکت MASTانگلستان و به شرح زیر بودند: سیپروفلوکسازین، کلیندامایسین، آمیکاسین، جنتامایسین، ریفامپین، اریترومایسین، تتراسیکلین، کلرامفینیکل، کوتریموکسازول، موپیروسین، فوزیدیک اسید و ونکومایسین(۱۰). وجود ژن Sa442 در تمام ۱۰۰ ایزوله جمع آوری شده با آزمون PCR تایید گردید. جهت تایید ژنتیکی سویه های MRSA نیز آزمون PCR با استفاده از پرایمر برای ژن mecA صورت پذیرفت(۱۱). مشخصات پرایمرهای مورد استفاده و شرایط واکنش در جدول۱ شرح داده شده است.

استخراج DNA و انجام PCR

استخراج DNA ایزوله ها با استفاده از کیت استخراج DNA محصول کره جنوبی (Biofluxbioer) مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده صورت پذیرفت. آزمون PCR برای شناسایی ژن های کد کننده آنزیم اینتگراز صورت پذیرفت(۱۲). مشخصات پرایمرهای مورد استفاده و شرایط واکنش در جدول۲ شرح داده شده است. واکنش در حجم ۲۵ میکرولیتر انجام پذیرفت. بدین ترتیب که ۱ میکرولیتر از پرایمر رفت، ۱ میکرولیتر از پرایمر برگشت (۱۰ پیکومول)، ۲ میکرولیتر از DNA (به منظور تعیین غلظت DNA با آگارز ۰/۸ درصد ران شد و رنگ قابل ملاحظه دیده شد و سپس ۲ میکرولیتر DNA انتقال داده شد.) به عنوان الگو ، ۱۲/۵ میکرولیتر از Super Master mix (یکتا تجهیز آزما) و ۸/۵ میکرولیتر آب مقطر دو بار تقطیر استفاده گردید. الکتروفورز محصول PCR بر روی ژل آگارز ۱ درصد با روش رنگ آمیزی Safe dye (یکتا تجهیز آزما) و ولتاژ ۹۰ به مدت ۱ ساعت صورت پذیرفت(۱۳). سپس ژل با استفاده از نور ماوراء بنفش مورد ارزیابی قرار گرفت، اندازه باندهای به دست آمده در مقایسه با مارکر 100bp(Fermentas) مورد بررسی قرار گرفتند.

جدول۱. مشخصات پرایمرهای استفاده شده جهت شناسایی ژن های Sa442 وmecA

Target gene	Primer/Sequence(5' to 3')	PCR condition	PCR fragment size	Reference
Sa442	F:AATCTTTGTCGGTACACGATATTCTTC ACG R:CGTAATGAGATTTCAGTAGATAATACA ACA	30cycle: 30s95ºC 30s55ºC 30s72ºC	108	OchmanH,2000
Mec A	F: TCCAGATTACAACTTCACCAGG R: CCACTTCATATCTTGTAACG	30cycle 30s94ºC 30s53ºC 90s72ºC	160	OchmanH,2000

جدول۲. مراحل واکنش PCR برای شناسایی ژن های اینتگرون

پرایمر	واسرشتگی اولیه	واسرشتگی	اتصال	تکثیر	
			Cycle		
Int1U,D	94ºC-5min	94ºC-30s	50ºC-30s 30 cycles	72ºC-90s	72ºC-5min
qacEΔ1 sul1	94ºC-5min	94ºC-30s	56ºC-30s 30 cycles	72ºC-90s	72ºC-7min
Int2	94ºC-4min	94ºC-1min	50ºC-30s 35 cycles	72ºC-1min	72ºC-5min
Int3	94ºC-4min	94ºC-1min	50ºC-30s 35cycles	72ºC-1min	72ºC-5min

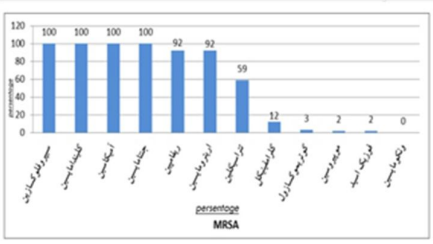
یافته‌ها

تعداد ۵۰ سویه استافیلوکوکوس حساس به متی سیلین و ۵۰ سویه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین از نمونه های بالینی نظیر خون (۲۸ درصد)، زخم (۲۵ درصد)، ادرار (۱۸ درصد)، کاتتر (۴ درصد)، خلط (۱۳درصد)، آبسه (۳ درصد)، مایع مفصلی (۳درصد) و دیگر ترشحات (۶ درصد) به دست آمد (جدول۳).

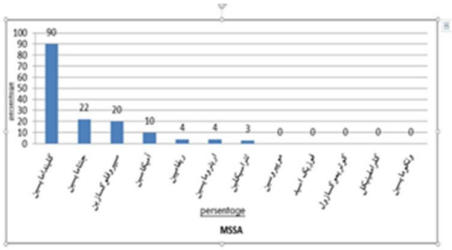
جدول۳. تفکیک سویه های استافیلوکوکوس براساس محل جداسازی

ترشحات	مایع مفصلی	آبسه	خلط	کاتتر	ادرار	زخم	خون	نمونه بالینی
۶(۶)	۳(۳)	۳(۳)	۱۳(۱۳)	۴(۴)	۱۸(۱۸)	۲۵(۲۵)	۲۸(۲۸)	تعداد (درصد)

با توجه به این که مقاومت به متی سیلین را فقط در MRSA می بینیم لذا می خواهیم الگوی آنتی بیوتیک های دیگر را هم مشاهده نمائیم. بنابراین آنتی بیوگرام انجام شد و درصد مقاومت آنتی بیوتیکی ایزوله های MRSA وMSSA در برابر ۱۲ آنتی بیوتیک به کار گرفته شده در نمودار۱ و۲ نشان داده شده است.



نمودار۱. درصد مقاومت آنتی بیوتیکی در ۵۰ ایزوله MRSA



نمودار۲. درصد مقاومت آنتی بیوتیکی در ۵۰ ایزوله MSSA

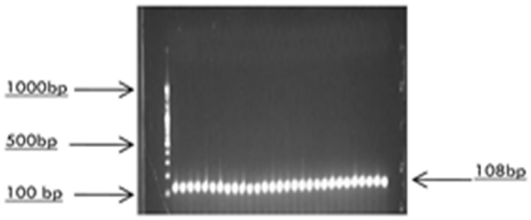
الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در سویه های دارای اینتگرون کلاس ۱ و ۲ در جدول۴ نشان داده شده است.

جدول٤. الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در استافیلوکوکوس اورئوس های حاوی اینتگرون کلاس ۱ و ۲

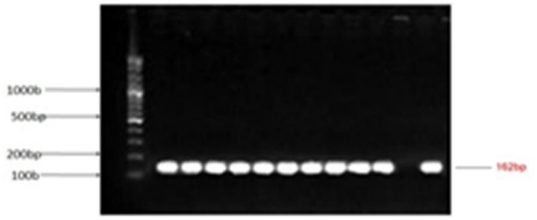
اینتگرون	الگوی مقاومت
کلاس ۱	SXT-GT-CIP SXT-GT-CIP-Levo SXT-GT
کلاس ۲	SXT-Levo-GT

SXT: Co-Trimoxazole, GT:Gentamicin, CIP: Ciprofloxacin, Levo: Levofloxacin

نتایج حاصل از الکتروفورز جهت شناسایی ژن Sa442و ژن mecA در شکل های ۱ و ۲ نشان داده شده است.

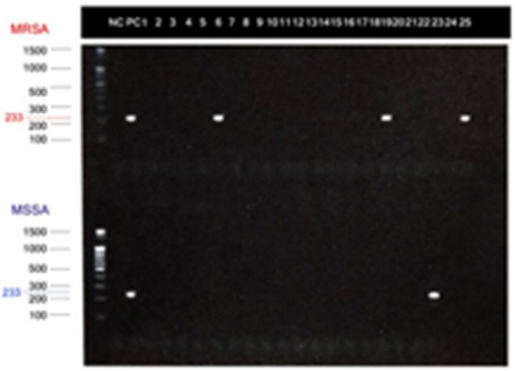


شکل۱. الکتروفورز جهت بررسی ژن Sa442 در ایزوله های استافیلوکوکوس اورئوس و جداسازی ژن در 108 bp

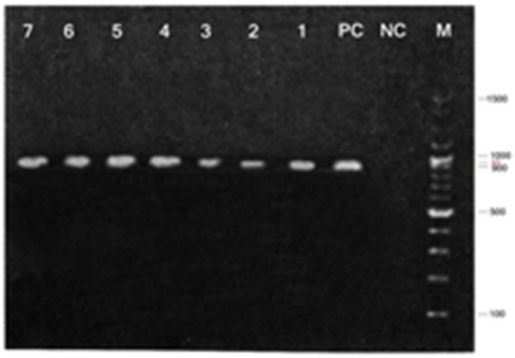


شکل۲. الکتروفورز جهت بررسی ژن mecA در ایزوله های استافیلو کوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین (MRSA)، جداسازی ژن در 162bp

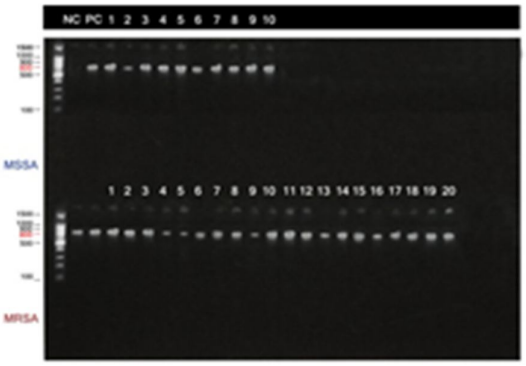
نتایج حاصل ازPCR جهت تعیین میزان فراوانی ژن های Int1 و Int2 در ایزوله های MRSA به ترتیب برابر با ۸۰ درصد (n=۴۰) و ۱۲ درصد (n=۶) شکل۳، هم چنین میزان فراوانی ژن های Int1 و Int2 در ایزوله های MSSA به ترتیب برابر با۴۰ درصد (n=۲۰) و۴ درصد (n=۲) شکل۴ گردید. هم چنین نتایج حاصله از PCR جهت تعیین میزان فراوانی ژن qacEΔ 1, sul1 در شکل ۵ نشان داده شده است. ژن Int3 در هیچ کدام از ایزوله های MRSA وMSSAیافت نگردید.



شکل۳. تشخیص ژن Int1 در میان ایزوله های استافیلو کوکوس اورئوس. M برابر است با مارکر 100 bp. NCکنترل منفی،PC کنترل مثبت، ستون های شماره ۱ تا ۷ همگی دارای Int1



شکل٤. تشخیص ژن Int2: (NC در ردیف بالا و پایین کنترل منفی، PC در ردیف بالا و پایین کنترل مثبت، ۳ نمونه مثبت در ردیف بالا، یک نمونه مثبت در ردیف پایین)



شکل۵. تشخیص ژن qacEΔ 1, sul1: (NC در ردیف بالا و پایین کنترل منفی، PC در ردیف بالا و پایین کنترل مثبت، ۱۰ نمونه مثبت در ردیف بالا، ۲۰ نمونه مثبت در ردیف پایین)

بحث

افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی در عوامل ایجاد کننده عفونت های بیمارستانی، نگرانی های بسیاری را در جهت درمان این دسته از عفونتها به وجود آورده است(۱۴). اینتگرون ها نقش مهمی در گسترش مقاومت آنتی بیوتیکی به ویژه از طریق انتقال افقی (Horizontal transmission) به عهده دارند و اهمیت این امر تا اندازه ای است که مقالات مختلف، نقش اینتگرون ها را در مقاومت استافیلوکوکوس اورئوس قابل توجه می‌دانند(۱۵). هم چنین اینتگرون ها به عنوان ابزاری جهت کنترل عفونت ها و هم‌چنین جهت مطالعه مقاومت آنتی بیوتیکی در باکتری ها شناخته می شوند(۱۶). با توجه به مطالب گفته شده بالا، در این مطالعه الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی درایزوله‌های MRSA و MSSA شیوع اینتگرون های کلاس یک، دو و سه در آن‌ها و ارتباط اینتگرون ها با ایجاد مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌ها مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه بیشترین مقاومت آنتی بیوتیکی در ایزوله های MRSA مربوط به آنتی بیوتیک های سیپروفلوکسازین، کلیندامایسین، آمیکاسین، جنتامایسین، ریفامپین، اریترومایسین و تتراسیکلین بود، همچنین بیشترین میزان مقاومت آنتی بیوتیکی در ایزوله های MSSA مربوط به آنتی بیوتیکهای کلیندامایسین، جنتامایسین و سیپروفلوکسازین بود(۱۷). موثرترین آنتی بیوتیکها در برابر

ایزوله‌هایMRSA و MSSA، ونکومایسین، موپیروسین، فوزیدیک اسید و کوتریموکسازول بود که تنها ۳ درصد از MRSA نسبت به کوتریموکسازول و ۲ درصد از آن‌ها به موپیروسین و فوزیدیک اسید مقاوم بودند. در حالی که تمامی ایزوله های MRSA و MSSA نسبت به ونکومایسین حساس بودند و تمامی ایزوله های MSSA نسبت به موپیروسین، فوزیدیک اسید، کوتریموکسازول و کلرامفینیکل حساس بودند(۱۸). بررسی نتایج آنتی بیوگرام به دست آمده در این مطالعه نشان دهنده افزایش میزان مقاومت آنتی بیوتیکی در ایزوله های مورد بررسی نسبت به مطالعات صورت گرفته قبلی در ایران می‌باشد، به طوری که در مطالعه حاضر میزان مقاومت در ایزوله های MRSA نسبت به اکثر آنتی بیوتیکهای مورد بررسی از جمله تتراسیکلین، کوتریموکسازول و اریترومایسین بسیار بالاتر از مطالعه صورت پذیرفته توسط دکتر زمانی در همدان در سال ۱۳۸۴ می باشد. هم‌چنین میزان فراوانی اینتگرون کلاس یک در مطالعه حاضر (۸۰ درصد) درMRSA بسیار بالاتر از میزان فراوانی آن در مطالعه ذکر شده است(۱۹). این موضوع نشان دهنده این مطلب است که با افزایش میزان فراوانی اینتگرون کلاس یک در ایزوله های مورد بررسی در مطالعه ما نسبت به ایزوله های مورد بررسی در مطالعه دکتر زمانی، میزان مقاومت آنتی بیوتیکی نیز در آن‌ها افزایش یافته است(۲۰). در ضمن هیچ یک از ایزوله های MRSA در مطالعه ما و مطالعه ذکر شده نسبت به ونکومایسین مقاوم نبودند. در مطالعه صورت پذیرفته توسط آقای صفدری در بیمارستان قائم مشهد در سال ۱۳۹۰ درصد مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های اریترومایسین، کلیندامایسین و ونکومایسین به ترتیب ۵۷ درصد، ۳۳ درصد و ۲۰ درصد بود(۲۱). مقایسه نتایج این مطالعه با مطالعه ما نشان دهنده این مطلب است که میزان مقاومت نسبت به آنتی بیوتیکهای ذکر شده در بالا بسیار کمتر از میزان مقاومت آنتی بیوتیکی در مطالعه حاضر می باشد. در مطالعه صورت گرفته توسط دکتر ملاعباس زاده در سال ۱۳۸۹ بیشترین حساسیت آنتی بیوتیکی نسبت به تتراسیکلین و ونکومایسین به ترتیب برابر با ۸۸/۱۷ درصد و ۴۱/۹۴ درصد و بیشترین مقاومت آنتی بیوتیکی نسبت به سیپروفلوکسازین بود(۲۲). نتیجه بدست آمده در مطالعه ما شبیه به نتایج ذکر شده در مطالعه بالا بود. هم چنین در مطالعه انجام شده توسط جونگ و همکاران در سال۲۰۰۳ در کره جنوبی، میزان مقاومت به سیپروفلوکسازین ۱۰/۳۷ درصد بود که این میزان در مطالعه ما ۱۰۰ درصد می باشد(۲۳). بنابراین با توجه به نتایج ما در این مطالعه و مطالعات دیگر میزان مقاومت به این آنتی بیوتیک ها در ایران بسیار بالاتر می باشد. مطالعات گذشته نگر در مورد مقاومت به این آنتی بیوتیک ها روند روبه افزایشی را نشان می دهد. در مطالعه ما نیز این مقاومت مشاهده می گردد که علت این افزایش مقاومت، تجویز گسترده آنتی بیوتیک ها مخصوصا در بیمارستان ها می باشد. که باعث افزایش فشار انتخابی بر روی نمونه های حساس بوده و سبب افزایش نمونه های مقاوم می‌شود. در مجموع با توجه به نتایج الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی مشاهده شده در این مطالعه، آنتی بیوتیکهای ونکومایسین، موپیروسین، فوزیدیک اسید و کوتریموکسازول بیشترین فعالیت ضد میکروبی را در میان عوامل آنتی باکتریال داشته‌اند. در مطالعه ما میزان فراوانی ژن های Int1 و Int2 در ایزوله های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین (MRSA)، به ترتیب برابر با ۸۰ درصد (تعداد ۴۰ نمونه) و ۱۲ درصد (تعداد ۶ نمونه) می باشد. همچنین میزان فراوانی ژن های Int1 و Int2 در ایزوله های استافیلوکوکوس اورئوس حساس به متی سیلین (MSSA) ، به ترتیب برابر با ۴۰ درصد (تعداد ۲۰ نمونه) و ۴ درصد (تعداد ۲ نمونه) می باشد. در مطالعه صورت پذیرفته توسط یاحقی در بیمارستان تهران فراوانی اینتگرون کلاس یک در ایزوله های استافیلوکوکوس اورئوس ۱ درصد گزارش گردید. همچنین در مطالعه صورت گرفته توسط Zhenbo.Xu و همکارانش در یک بیمارستان در گوانگژو ۵۳ درصد از نمونه ها حاوی ژن اینتگرون کلاس ۱ بودند. در بررسی دیگر در جنوب چین که توسط Zhenbo.Xu و همکاران صورت گرفت فراوانی ژن

اینتگرون کلاس یک ۴۲/۵ درصد بود(۲۴). که در تمام مطالعات ذکر شده در بالا این میزان کمتر از میزان اینتگرون کلاس یک (۸۰ درصد MRSA و۴۰ درصد MSSA) در مطالعه ما بود. هم‌چنین در مطالعات انجام شده مشاهده شد که تمامی نمونه های که حاوی اینتگرون کلاس ۱ در سویه های MRSA و MSSA بوده اند، ژن های qacE Δ 1, sul1 را نیز دارا بودند. بنابراین میزان فراوانی ژن qacEΔ 1, sul1 در تمام سویه های MRSA و MSSA به اندازه میزان فراوانی اینتگرون کلاس ۱ در سویه های مذکور می باشد. این نتایج نشانه نقش بارز اینتگرون ها در انتقال مقاومت های آنتی بیوتیکی می باشند(۲۵). بنابراین وجود اینتگرون بخصوص کلاس یک، در گونه های باکتری ها توانایی مضاعفی را برای کسب عوامل مقاومت ایجاد کرده است. هم‌چنین نتایج نشان می دهد که درصد فراوانی ژن اینتگرون کلاس یک در سویه های MRSA با مقاومت چند دارویی، بسیار بالاتر است که این عامل می تواند نقشی در تسهیل گسترش سویه های مقاوم داشته باشد(۲۶). در تمام مطالعات انجام شده با توجه به وجود اینتگرون در ایزوله ها، درصد بالایی از آن‌ها نسبت به ونکومایسین حساس بودند که این موضوع نشان دهنده این است که بین حضور این عامل و مقاومت نسبت به این آنتی بیوتیک در این مطالعه ارتباطی وجود ندارد. از طرف دیگر ارتباط معنا داری بین حضور اینتگرون و آنتی بیوتیک های سیپروفلوکسازین، جنتامایسین و کلیندامایسین وجود دارد. مقاومت بالای آنتی بیوتیکی در ایزوله های مورد بررسی و شیوع بالای اینتگرون ها در آنها در مطالعات اخیر، موید این مطلب است که کاست های ژنی قرار گرفته در ناحیه متغیر این عوامل، در ایجاد مقاومت آنتی بیوتیکی نقش مستقیمی را ایفا می کند. از جمله محدودیتهای تحقیق می توان به تعداد نمونه ها اشاره کرد، همچنین اگر نمونه ها جامع بود و فقط از نمونه های بیمارستانی جدا نمی‌شد، بهتر بود. ضمنا اگر ناحیه Variable بررسی می‌شد و Sequencingصورت می گرفت، بهتر بود.

نتیجه گیری

با توجه به فراوانی اینتگرون کلاس ۱ و ۲ در سویه های MRSA نسبت به MSSA می توان این-گونه نتیجه‌گیری نمود که اینتگرون‌ها نقش بسزایی در القای مقاومت آنتی بیوتیکی در ایزوله استافیلو کوکوس اروئوس دارا می باشد. مد نظر قرار دادن موارد فوق می تواند به عنوان پایه ای در جهت کنترل عفونت های بیمارستانی که توسط ایزوله های دارای مقاومت چندگانه ایجاد می‌شود قرار گیرد و می تواند در کنترل این ایزوله کمک نموده و در سیاست گذاری کلی کمیته کنترل عفونت بیمارستانی نیز نقش موثر داشته باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله از پایان نامه خانم سمیه معطی جهت دریافت مدرک کارشناسی ارشد استخراج گردیده است. بدین وسیله از معاونت آموزشی دانشگاه علوم پزشکی اراک بخاطر همکاری در انجام این طرح سپاس‌گزاری می‌گردد.

منابع

1. Anonymous R. Methicillin resistance in staphylococcus aureus isolated from blood inEngland and Weals.Communicable Dis1999; 9(1):65-68.
2. AppelbaumP.C. Microbiology of Antibiotic Resistance in Staphylococcus aureus.Clin Infect Dis2007; 45(3)165-70.
3. Archer G.L. Alteration of cutaneous staphylococcal flora as a consequence oantimicrobial prophylaxis.Rev Infect Dis1991; 13(10):805-809.
4. Ranjbaran M., Zolfaghari M., Japoni-Nejad A. Molecular investigation of integrons in Escherichia coliand Klebsiella pneumoniae isolated from urinary tract infections. J Mazand Univ Med Sci. 2013; 23(105):20–27.
5. Baba T, Takeuchi, F, Kuroda, M, Yuzawa, H, Aoki, K, Oguchi, A, et al. Genome and virulence determinants of high virulence

community-acquired MRSA,Lancet j2002;359(9320):1819-27.
6. Bdour S. Heterogeneity of aminoglycoside resistance genes profile in clinical Staphylococcus aureus isolates, African J of Microbiology Research 2012; 6(24):5259-5265.
7. Berger-Bachi B, Rohrer S. Factors influencing methicillin resistance in staphylococci. ArcMicrobiol 2002; 178(3):165–71.
8. Hall RM, Collis CM. Mobile gene cassettes and integrons: capture and spread of genes by site-specific recombination. Mol Microbial 1995; 15(4):593-600.
9. Chang R,Chou S, Shaw J. Synthesis of Fatty Acid Esters by Recombinant Staphylococcus epidermidis Lipases in Aqueous Environment. JournaAgricultural and Food Chemistry 2001; 49(5):2619-2622.
10.Cook H, Furuya E, Larson E,Vasquez G, Lowy F. Heterosexual transmission of community-associated methicillin-resistant Staphylococcusaureus. Clin Infect Dis 2007; 44(3):410–413.
11. Gill S.R, Fouts D.E, Archer G.L, Mongodin E.F, DeBoy R.T, Ravel J,et al. Insights on evolution of virulence and resistance from the complete genome analysis of an early methicillin-resistant Staphylococcus aureus strain and a biofilm-producing methicillin-resistant Staphylococcus epidermidis strain. J Bacteriol 2005; 187(7):2426-38.
12.Grundmann H,Airdesousa M,Boyce J,Tiemersma E. Emergence and resurgence of methicillin-resistant staphylococcus aureus as a public healththreat.Lancet 2006;368(9538):874-885.
13. Hanssen A.M, Kjeldsen G, Sollid J.U. Local variants of Staphylococcal cassette chromosome mec in sporadic methicillin-resistant Staphylococcus aureus and methicillin-resistant coagulase-negative Staphylococci: evidenceofhorizontalgenetransfer? Antimicrob Agents Chemother 2004;48(1):285-296.
14. Healy C.M,Hulten K.G,Palazzi D.L,Campbell J.R, Baker C.J. Emergence of new strains of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in a neonatal intensive care unit,Clin Infect Dis 2004;39(10):1460-1466.
15. Hendriks G.E,van Horn J.R,van der Mei H.C,Busscher H.J. Backgrounds of antibiotic-loaded bone cement and prosthesis-related infection.Biomaterials 2004;25(3): 545–556.
16. Dillon B, Thomas L, Mohmand G, Zelynski A, Iredell J. Multiplex PCR for screening of integrons in bacterial lysates. J Microbiol Methods 2005; 62(2):221-232.
17. van Belkum A, Goessens W, van der Schee C, Lemmens-den Toom N, Vos MC, Cornelissen J, et al. Rapid emergence of ciprofloxacin-resistant staphylococcus aureus containing multiple gentamicine resistance-associated integrons in a Dutch hospital. Emerg Infect Dis 2001; 7(5):862-871.
18. Cafferkey M.T, Hone R, Falkiner F.R, Keane C.T, Pomeroy H. Gentamicin and methicillin resistant staphylococcus aureus in Dublin hospitals: Clinical and laboratory studies. J of Medical Microbiology1983; 16(2): 117-27.
19. Jaffe R,Lane J.D,Albury,S.V, Niemeyer D.M. Rapid extraction from & direct identification in clinical samples of methicillin-resistant staphylococci using the PCR.J ClinMicrobiol 2014; 38(9): 3407–3412.
20. Kuroda M, Ohta T, Uchiyama I, Baba T, Yuzawa H, Kobayashi I,et al. Whole genome sequencing of methicillin-resistant Staphylococcus aureus, Lancet 2001; 357(9264):1225-1240.
21. Lowy F.D. Staphylococcus aureus infections, Engl J Med 1998; 339(8):520-32.
22.Makoto K,Atsushi Y,Hideki H,Miyuki K,Kazuya M,Masato H,et al. Whole genome sequence of Staphylococcus saprophyticus reveals the pathogenesis of uncomplicated urinary tract infection.Journal pubmed 2005;102(37): 13272–13277.
23. Miller G.H, Sabatelli F.J, Naples L, Hare R.S, Shaw K.J. The most frequently occurring aminoglycoside resistance mechanisms-combined results of surveys in eight regions of the world.J Chemother 1995; 7(2):17-30
24. Murray P.R, Rosenthal K.S, Kobayashi G.S, Pfaller M.A. Medical Microbiology. ASM Press,7 th ed 2007;107-128

of aminoglycoside resistance and corresponding resistance genes in clinical isolates of staphylococci from 19 European hospitals. JAntimicrob Chemother1999; 43(2):253-259.

25. Nizami D, Burcin O, Gulay G, Yusuf O, Cemil D. Antibiotic resistance genes & susceptibility patterns in staphylococci.Indian J Med Res 2012, 135:389-396.

26.Shmitz F.J,Fluit A.C,Gondolf M,Beyrau R,Lindenlauf E,Verhoef J, et al. The prevalence