فراوانی اینتگرون کلاس ۱ و فنوتیپ مقاومت چندداروییِ در *استافیلوکوکوس اورئوس‌های* جداشده از بیماران و محیط یک واحد مراقبت‌های ویژه در تهران، ایران

سیماالسادات سیدجوادی[۲و۱](M.Sc)،مسعود آل‌بویه[۲و۱*](Ph.D)،احسان ناظم‌الحسینی مجرد[۱](M.Sc)، محمدرضا زالی[۲و۱](M.D)

۱- *دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد*

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

چکیده

سابقه و هدف: ***استافیلوکوکوس اورئوس*** **یکی از مهم‌ترین باکتری‌های بیماری‌زا است.هدف از مطالعه حاضر بررسی حضور کلاس ۱ اینتگرون در میان*استافیلوکوکوس اورئوس‌های* جداشده از محیط، پرسنل و بیماران بخش ICU و ارتباط آن با الگوهای مقاومت دارویی آن‌ها بود.**

مواد و روش‌ها: در مجموع ۴۱۰ نمونه بالینی، محیطی و پرسنل بخش ICU از نظر آلودگی*استافیلوکوکوس اورئوس* بررسی گردیدند. الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی این جدایه‌ها توسط ۱۵ دیسک آنتی‌بیوتیکی سنجیده و حداقل غلظت مهاری آنتی‌بیوتیک اگزاسیلین به روش رقیق‌سازی در مایع تعیین گردید. پس از استخراجDNA و تخلیص پلاسمید، تکثیر ناحیه ژنی اینتگرون کلاس یک توسط PCR انجام گردید.

یافته‌ها:۳۲/۲٪ از نمونه بالینی، به ترتیب ۲۷٪ و ۱۹/۳٪ از نمونه‌های محیطی و پرسنل از نظر *استافیلوکوکوس اورئوس* مثبت بودند. به ترتیب۹۰/۶٪، ۶۸٪ و ۴۶٪ از جدایه‌های بالینی، محیطی و پرسنل فنوتیپ مقاومت به اگزاسیلین را نشان دادند. هم‌چنین تمامی جدایه‌های بالینی و ۳۳/۳٪ از جدایه‌های محیطی فنوتیپ مقاومتی چندداروییِ را نشان دادند. بیش‌ترین مقاومت در جدایه‌های بالینی مربوط به آمپی‌سیلین و اریترومایسین (۹۶/۵٪)، پنی‌سیلین و کانامایسین (۹۳/۵٪) و جنتامایسین (۹۰/۵٪) و در نمونه‌های محیطی مربوط به پنی‌سیلین (۷۲٪)، آمپی‌سیلین (۶۸٪)، اریترومایسین (۶۶٪)، و در نمونه‌های پرسنل مربوط به پنی‌سیلین و آمپی‌سیلین (۷۳٪) و اریترومایسین(۶۱/۵) بود. در این مطالعه ۳۲/۳٪ از جدایه‌های بالینی و ۶۷/۷٪ از جدایه‌های محیطی از نظر ژن اینتگرون کلاس ۱ مثبت بودند.

نتیجه‌گیری:نتایج این تحقیق در مجموع نشان داد که بینی و دست پرستاران و کارکنان به عنوان بیش‌ترین منابع کلونیزاسیون محیطی سویه‌های*استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به چند دارو در بیمارستان می‌باشد. این نتایج هم‌چنین موید فراوانی حضور اینتگرون کلاس یک در این جدایه‌ها، به‌ویژه در میان جدایه‌های مقاوم به اگزاسیلین است.

واژه‌های کلیدی: اینتگرون ،*استافیلوکوکوس اورئوس*، بخش مراقبت ویژه، مقاومت میکروب به دارو، مقاومت دارویی

مقدمه

*استافیلوکوکوس اورئوس*یکی از مهم‌ترین باکتری‌های بیماری‌زا است که عامل باکتریمی، عفونت‌های زخم، عفونت‌های پوست و بافت‌های نرم است. به علاوه این باکتریییکی از شایع‌ترین عوامل ایجادکننده عفونت بیمارستانی می‌باشد [۱]. از زمان کشف اولین*استافیلوکوکوس*

* نویسنده مسئول، تلفن:۰۲۱-۲۲۴۳۲۵۱۸ نمابر:۰۲۱-۲۲۴۳۲۵۱۷

Email: masoud.alebouyeh@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۱/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۹/۳

Archive of SID

www.SID.ir

*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 مستقیما 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 به‌طور معمول به پنی‌سیلین‌های مقاوم به پنی‌سیلیناز (مانند اگزاسیلین 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 [۵،۴]. 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 اینتگرون‌ها در گسترش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بسیاری از باکتری‌ها به خوبی ثابت شده است [۷،۶]. کلاس‌های متعددی از اینتگرون‌ها بر اساس ژن intI گزارش شده‌اند. کلاس‌های ۱ تا ۳ آن‌ها به اصطلاح اینتگرون‌های عامل مقاومت‌های چندگانه نامیده می‌شوند. از میان آن‌ها، اینتگرون کلاس یک در میان ایزوله‌های بالینی باکتری‌های گرم منفی بیش‌تر دیده شده است و مشخص شده است که این کلاس از اینتگرون در ارتباط با خانواده ترانسپوزون Tn21 می‌باشد [۹،۸]. اطلاعات اندکی در مورد شیوع کلاس ۱ اینتگرون در باکتری‌های گرم مثبت، به خصوص استافیلوکوکوس اورئوس و مقاومت‌های دارویی کدشونده توسط آن وجود دارد [۱۱،۱۰]. شناخت دقیق فراوانی اینتگرون‌ها 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 اینتگرون کلاس ۱ در میان ایزوله‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* جداشده 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 رشدیافته 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 به‌دست آمده از هر جدایه بر روی محیط مولرهینتون آگار (Merck, Germany)کشت انجام گرفت و وضعیت حساسیتیا مقاومت هر جدایه علیه ۱۵ آنتی‌بیوتیک، شامل آنتی‌بیوتیک‌های اگزاسیلین (۱۰ میکروگرم)، اریترومایسین (۱۵میکروگرم)،

Archive of SID
www.SID.ir

ونکومایسین (۳۰ میکروگرم)، کلیندامایسین (۲ میکروگرم)، تتراسیکلین (۳۰ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، ریفامپیسین (۵میکروگرم)، کوتریموکسازول (۵ میکروگرم)، تیکوپلانین (۳۰ میکروگرم)، آمپی‌سیلین (۱۰ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، توبرامایسین (۱۰ میکروگرم)، پنی‌سیلین (۱۰ واحد)، کانامایسین (۳۰ میکروگرم)، لینزولید (۳۰ میکروگرم) در دو پلیت جداگانه سنجیده شد. تمامی دیسک‌های مورد استفاده در این آزمایش از شرکت Mast (UK)تهیه شده بودند. محیط‌ها به مدت ۲۴ ساعت در حرارت ۳۰-۳۲ درجه سانتی‌گراد انکوبه شده و مورد ارزیابی قرار گرفتند. تمام مراحل کشت، انجام آنتی‌بیوگرام و تفسیر نتایج در طی این مطالعه بر اساس الگوی پیشنهادی استانداردهای آزمایش‌گاهی و بالینی (CLSI) انجام شده است [۱۳]. جهت کنترل کیفی دیسک‌ها از سویه استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 25923 در آزمون آنتی‌بیوگرام استفاده شد. هم‌چنین جهت شناسایی سویه‌های مقاوم به اگزاسیلین و تعیین حداقل غلظت مهاری این آنتی‌بیوتیک MIC به روش رقیق‌سازی در مایع (Micro dilution method) با استفاده از پودر آنتی‌بیوتیک مذکور (Sigma, St Louis, USA) انجام شد. مقاومت به سه یا بیش‌تر خانواده آنتی‌بیوتیکی از کلاس‌های مختلف در میان این جدایه‌ها به عنوان الگوی مقاومتی چندداروییی (MDR) در نظر گرفته شد.

استخراج DNA ژنومی و واکنش PCR . DNAژنومی جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* به روش هضم آنزیمی به وسیله لیزواستافین جداسازیگردید[۱۴]. به منظور ارزیابی حضور اینتگرون‌ها 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. توالی‌های آغازگرها در جدول ۱ آمده است. مخلوط واکنش در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ۰/۱ میکرومول از هر آغازگر، ۲/۵ میکرولیتر بافر 1x PCR، ۱/۵ میلی‌مول $MgCl_2$، ۲/۰ میلی‌مولdNTPs، ۲ میکرولیترDNAالگو و ۵/۱ واحد آنزیم Taq DNA polymeraseبود که حجم نهایی با آب دیونیزه استریل به ۲۵ میکرولیتر رسانده شد. برنامه دستگاه ترموسایکلر (Mastercycler gradient, Eppendrof, Germany)به صورت مقابل تنظیم شد: واسرشتگی اولیه (Initial Denaturation)در ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای ۴ دقیقه و بعد از آن ۳۵ چرخه شامل واسرشتگی در ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای ۱ دقیقه، اتصال در ۶۰ درجه سانتی‌گراد برای ۱ دقیقه، تکثیر در ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای ۱ دقیقه و تکثیر نهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای ۱۰ دقیقه.

الکتروفورز. محصولات PCR توسط الکتروفورز با استفاده از ژل ۱/۲٪ آگارز (وزنی به حجمی: W/V) از یک‌دیگر جدا شدند و سپس توسط اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی شده و در زیر نور ماورای بنفش :Ultra violet) (UVدر 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 به‌منظور شناسایی تنوع وزن باندی محصول‌های واکنش و حضور و عدم حضور آن‌ها از ژل‌های حاصل توسط دستگاه ژل داکیومنتیشن (BioDocAnalyse, Biometra) عکسبرداری شد.

آنالیز آماری. تجزیه و تحلیل داده‌ها و نتایج با استفاده از نرم‌افزار آماری (Excel 2007 Microsoft Office) و آزمون آماری۲χانجام گرفت و P <۰/۰۵ از نظر آماری با اهمیت و معنی‌دار در نظر گرفته شد.

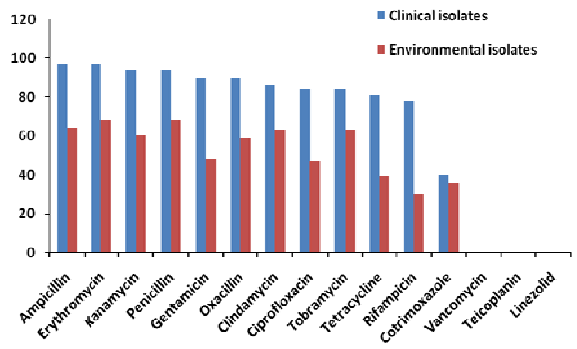
جدول۱. توالی پرایمر اینتگرون کلاس یک مورد استفاده در این مطالعه

ژن	توالی	تعدادنوکلئوتید	طولقطعهمحصول	مرجع
intI	جلویی 5́-AAGCAGACTTGACCTGAT-3́	18	متغییر	[16]
	برگشتی 5́ –GGCATCCAAGCAGCAAGC-3́	18		

www.SID.ir

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 کاناماسین (۹۳/۵٪)، جنتامایسین (۹۰/۵٪)، کلیندامایسین (۸۷/۵٪)، توبرامایسین و سیپروفلوکساسین (۸۴/۳٪)، تتراسایکلین (۸۱/۲٪) و ریفامپیسین (۷۱/۸٪) بود. در نمونه‌های محیطی بیش‌ترین مقاومت مربوط به پنی‌سیلین (۷۲٪)، آمپی‌سیلین (۶۸٪)، اریترومایسین (۶۶٪)، کاناماسین (۶۴٪)، کلیندامایسین (۶۲/۳٪)، توبرامایسین (۵۶٪)، سیپروفلوکساسین 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، تیکوپلانین و لینزولید 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 اگزاسیلین در دامنه ۱ µg/ml تا ۵۱۲ µg/ml<بود. از میان جدایه‌های به‌دست آمده از نمونه‌های کلینیکی، محیطی و پرسنل، به ترتیب ۹۰/۶٪، ۶۸٪ و ۴۶٪ از جدایه‌ها نسبت به اگزاسیلین مقاوم بودند. تمامی جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس جداشده 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 اگزاسیلین 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 کلینیکی، 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 کلینیکی 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 کلینیکی ۵۰٪ از نمونه‌ها دارای ژن اینتگرون با طول bp ۱۱۰۰، ۳۰٪ دارای طول bp ۷۵۰ و ۲۰٪ دارای طول bp ۳۵۰ بودند. در نمونه‌های محیطی ۴/۵٪ دارای باند bp ۳۵۰، ۱۹٪ دارای باند bp ۷۵۰ و ۷۶٪ دارای باند bp 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 چندداروی و حضور اینتگرون کلاس یک در این جدایه‌ها بود (جدول ۲).

Archive of SID
www.SID.ir

جدول۲. فنوتایپ مقاومت به چند دارو و حضور اینتگرون 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 نتیجه‌گیری

عفونت‌های ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلینیکی از بزرگ‌ترین عوامل عفونت‌های بیمارستانی محسوب می‌شود که در سال‌های اخیر مرگ و میر بالایی در ارتباط با آن‌ها در مناطق مختلف جغرافیایی گزارش شده است. کلونیزاسیون این باکتری‌ها در بینی و دست پرستاران و کارکنان بیمارستان و همچنین در پرسنل بخش مراقبت‌های ویژه به عنوان بیش‌ترین منابع جدایه‌های آلوده‌کننده بیماران بستری مطرح می‌باشد [۱۷]. مهم‌ترین مکانیسم‌های مقاومت دارویی این جدایه‌ها می‌تواند در رابطه با حضور پروتئین‌های تغییریافته میان‌کنش‌دهنده با آنتی‌بیوتیک‌ها و یا به‌واسطه آنزیم‌های هیدرولیزکننده این داروها باشد. توسعه وسیع این مقاومت‌ها در رابطه با عناصر ژنتیکی انتقال‌یابنده در میان جمعیت‌های باکتریایی مقیم امروزه به‌عنوان معضلات درمانی در مراکز درمانی به‌ویژه بیمارستان‌ها مطرح است [۱۸]. حضور هم‌زمان موتاسیون‌های ژنیPBP های مسبب بروز فنوتیپ مقاومتیMRSA در سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس در کنار کاست‌های ژنی انتقال‌پذیر کدکننده ژن‌های مقاومت دارویی به سایر داروهای درمانی (فنوتیپMDR) از دیگر مشکلات نوظهور در این باکتری‌ها محسوب می‌شود. در این مطالعه فراوانی نمونه‌های کلینیکی استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین۹۰/۶٪ گزارش شد که تا کنون بیش‌ترین گزارش از این جدایه در مقایسه با سایر گزارشات از کشورهایی نظیر تایوان، کانادا و استرالیا با فراوانی ۶۶ تا ۷۷٪محسوب می‌شود [۱۹-۲۲]. مطالعه‌ی ما نشان داد که ۱۹/۳٪ از کارکنان مراقبت‌های بهداشتی حامل استافیلوکوکوس اورئوس بودند که از این میان ۴۶٪ مربوط به جدایه‌های مقاوم به اگزاسیلین بود. این میزان از نظر شیوع تقریباً مشابه با گزارش‌های اخیر در مورد ناقلین بیمارستانی این باکتری در گرگان است (۲۴٪)، اما از نظر سطح مقاومت به متی‌سیلین،۱۲/۵٪ از جدایه‌ها مقاوم به متی‌سیلین بودند، که این میزان فراوانی از سایر گزارشات بالاتر است [۲۳]. عوامل اپیدمیولوژیک مختلفی از جمله منطقه جغرافیایی و کارایی نظام سلامت در اجرای برنامه‌های کنترل عفونت نقش مهمی در شیوع متفاوت جدایه‌های مقاوم به اگزاسیلین در مناطق مختلف دارند. این فراوانی در سال‌های اخیر در ایران در مورد نمونه‌های محیط‌های بیمارستانی در دامنه ۱۲/۷ تا ۴۵٪ و در مورد جدایه‌های عفونت بیمارستانی در دامنه ۲۳ تا ۶۸ قرار دارد [۲۳-۲۶]. البته علت این تفاوت گزارش می‌تواند به سبب خطای روش انجام آزمون با توجه به استانداردهای اخیرCLSI باشد.

بررسی‌ها نشان می‌دهد که جدایه‌های مقاوم به اگزاسیلین، به آنتی‌بیوتیک‌های مختلفی مانند ماکرولیدها، لینکوزیدها، آمینوگلیکوزیدها، پنی‌سیلین‌های بتالاکتام و سفالوسپورین‌ها دارای مقاومت بوده و این مقاومت با گذشت زمان پیوسته در حال افزایش است. پیدایش جدایه‌هایمقاوم به اگزاسیلین نه تنها باعث بروز مشکل در درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری در بیمارستان‌ها گردیده، بلکه سبب افزایش انتشار

Archive of SID

www.SID.ir

آن‌ها در جوامع و بیمارستان‌ها نیز می‌شود. در مطالعه حاضر جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس علاوه بر مقاومت نسبت به متی‌سیلین، مقاومت‌های چندداروییی نظیر AP, CIP, CD, E, GM, Ox, T, TS و AP, CIP, E, OX, T و TN, PG, K, RP 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 تیکوپلانین، ونکومایسین و لینزولید 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 ونکومایسین در ژاپن و ایالات متحده آمریکا گزارش شده است اما خوشبختانه هیچ‌گونه مقاومتی در جدایه‌های مطالعه حاضر نسبت به ونکومایسین مشاهده نشده است که مشابه نتایج گزارش شده از کشورهایی مانند ایرلند، جمهوری چک و رومانی می‌باشد [۳۲-۳۴]. البته صحت این نتایج باید توسط آزمون رقت در آگار در مورد ونکومایسین 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 چندداروییی مطرح باشد [۳۵]. مقاومت چندداروییی 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 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 استافیلو کوکوس 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 باندbp ۳۵۰ 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 مولکولیکسان در جدایه‌های دارای الگوی مقاومت چندداروییی 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.

Archive of SID
www.SID.ir

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 Staphlococcus 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 1 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 1 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 1 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 1 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; Philadelfia, 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, Frisch EF, Maniatis T. Molecular cloning in: A Laboratory manual 3nd 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.

[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] Arbique 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, Rezazade 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.aspid=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-resistantstaphylococcus aureus (MRSA)causing nosocomial infection in a tertiary care hospital. ANNALS 2010; 16:91-96.

Archive of SID

www.SID.ir

[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, Hoien-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 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.

Archive of SID

www.SID.ir

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 Tahran, 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 Tahran, 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

Archive of SID

www.SID.ir