مقاله پژوهشی

مجله میکروب شناسی پزشکی ایران

سال ۷ – شماره ۴ – زمستان ۱۳۹۲

Journal homepage: www.ijmm.ir

مقاومت پادزیستی مرتبط با اینتگرون کلاس ۱ در ایزوله‌های بالینی *سالمونلا انتریکا*

رضا رنجبر[۱]، علی ناغونی[۲]

۱. مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج)، تهران، ایران.

۲. باشگاه پژوهشگران جوان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، کرج، ایران

اطلاعات مقاله

تاریخچه مقاله

دریافت: ۱۳۹۲/۰۷/۲۱

پذیرش:۱۳۹۲/۹/۱۹

انتشار آنلاین:۱۳۹۳/۰۳/۱۹

موضوع:

باکتری شناسی پزشکی

IJMM 1392; 7(4): P 16-26

نویسنده مسئول:

علی ناغونی

باشگاه پژوهشگران جوان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج

تلفن: ۰۲۶۱-۴۴۰۵۴۵۹

پست الکترونیک:

alinaghoni@gmail.com

چکیده

زمینه و اهداف: مقاومت سویه‌های *سالمونلا انتریکا* نسبت به ترکیبات ضد میکربی در حال افزایش می‌باشد و یکی از علل این افزایش، انتقال افقی ژن‌های مقاومت پادزیستی بر روی ساختارهای اینتگرونی می‌باشد. هدف از انجام این مطالعه تعیین رابطه بین حضور اینتگرون های کلاس ۱ و بروز مقاومت‌های پادزیستی و همچنین تعیین فراوانی این عناصر ژنتیکی در سویه‌های *سالمونلا انتریکا* جداشده از نمونه‌های بالینی در تهران بود.

مواد و روش کار: جدایه‌های *سالمونلا* از بیمارستان‌های مختلف شهر تهران در طی سال‌های ۸۸-۱۳۸۶ جداسازی و موردمطالعه قرار گرفتند. این جدایه‌ها با استفاده از تست‌های بیوشیمیایی و سرولوژیک تعیین هویت گردیدند. حساسیت و مقاومت پادزیستی ایزوله‌های جداشده مطابق با روش استاندارد توصیه‌شده از طرف CLSI تعیین گردید. حضور اینتگرون های کلاس ۱ توسط روش PCR تعیین شد. برای بررسی اختلاف مقاومت پادزیستی بین دو گروه واجد اینتگرون و فاقد اینتگرون از آزمون دقیق فیشر یا مجذور کای استفاده شد و مقادیر P کمتر یا مساوی ۰/۰۵ به‌عنوان شاخص معنی‌دار بودن در نظر گرفته شدند.

یافته‌ها: ۳۹/۱٪ از مجموع ۱۳۸ ایزوله جداسازی شده، واجد اینتگرون های کلاس ۱ بودند. ایزوله‌های واجد اینتگرون کلاس ۱ در هفت سروتیپ مختلف *سالمونلا انتریکا* وجود داشتند. تمامی ایزوله‌های واجد اینتگرون دارای مقاومت چندگانه پادزیستی بودند.

نتیجه‌گیری: یافته‌های ما نشان داد که اینتگرون های کلاس ۱ به‌طور گسترده‌ای در بین *سالمونلا انتریکا* های جداشده از نمونه‌های بالینی در تهران یافت می‌شوند. حضور اینتگرون در سویه‌های *سالمونلا* با مقاومت چندگانه پادزیستی در آن سویه‌ها ارتباط دارد. مراقبت و نظارت بر روی مقاومت‌های پادزیستی شامل، غربالگری اینتگرون ها به‌عنوان یک شاخص و نشانه از کسب و گسترش مقاومت‌های پادزیستی، می‌تواند به‌عنوان یک استراتژی مهم در مقابله با مقاومت‌های پادزیستی در این میکروارگانیسم‌ها مدنظر باشد.

کلمات کلیدی : *سالمونلا*، اینتگرون کلاس ۱، مقاومت پادزیستی

کپی‌رایت ©: حق چاپ، نشر و استفاده علمی از این مقاله برای مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران محفوظ است.

مقدمه

افزایش مقاومت‌های پادزیستی (آنتی بیوتیکی) در باکتری‌ها یک مشکل جهانی محسوب می‌شود. انتقال افقی عناصر ژنتیکی در بین *سالمونلا انتریکا* نقش بسیار مهمی در گسترش مقاومت در این پاتوژن ها دارد (۳-۱). در سال ۱۹۸۹ میلادی کسب ژن‌های مقاومت پادزیستی و انتقال آن‌ها بین باکتری‌ها توسط ساختارهای اینتگرونی به‌وسیله Stokes و همکاران شناسایی شد (۴). تاکنون پنج کلاس از اینتگرون ها شناسایی‌شده‌اند. اینتگرون های کلاس ۱ به‌طور گسترده در بین باکتری‌های گرم منفی از

جمله سروتیپ های مختلف *سالمونلا انتریکا* مشاهده‌شده‌اند (۵-۷).

اینتگرون ها عناصر ژنتیکی هستند که قادرند ژن‌های خارجی را در ساختار خود وارد کنند که اغلب این ژن‌های خارجی، کد کننده مقاومت‌های پادزیستی می‌باشند. اینتگرون های کلاس ۱ دارای دو بخش محافظت‌شده (3′-CS و 5′-CS) در دو انتهای ′۳ و ′۵ خود می‌باشند. این دو ناحیه توسط یک منطقه متغیر از نظر اندازه و دارای یک یا چند ژن مقاومت پادزیستی، از هم جدا می‌شوند. ناحیه محافظت‌شده ′۵ (5′-CS) دارای ژن آنزیم اینتگراز (*intI1*) (این اینتگراز متعلق به خانواده تیروزین-ریکامبیناز می‌باشد)، محل ورود ژن‌های مقاومت پادزیستی (*attI1*) و پروموتور (P_C) می‌باشد که محل شروع صحیح رونویسی را برای آنزیم رونویسی مشخص می‌کند و سبب بیان صحیح ژن‌های واردشده در ساختار اینتگرون می‌شود. ناحیه محافظت‌شده ′۳ دارای دو ژن می‌باشند یکی ژن *qacEΔ1* که سبب مقاومت به ترکیبات چهار ظرفیتی آمونیم می‌شود و دیگری ژن *sul1* که سبب مقاومت به سولفانامید ها می‌گردد (۷،۸). معمولاً یک یا چند ژن مقاومت پادزیستی می‌تواند در ناحیه متغیر اینتگرون ها وارد شوند. اینتگرون های کلاس ۱ به‌طور گسترده در ایزوله‌های بالینی یافت می‌شوند و بسیاری از ژن‌های مقاومت پادزیستی در این کلاس از اینتگرون ها وجود دارند. تاکنون بیش از ۸۰ ژن مقاومت مختلف در اینتگرون های کلاس ۱ مورد شناسایی قرارگرفته است (۷). این ژن‌ها می‌توانند سبب مقاومت باکتری‌ها به پادزیست‌های مختلفی ازجمله بتالاکتام ها، آمینوگلیکوزیدها، کلرامفنیکل، تری متوپریم، استرپتومایسین، استرپتوتریسین، ریفامپین، اریترومایسین، فسفومایسین، لینکومایسین و آنتی‌سپتیک‌هایی به‌مانند ترکیبات چهار ظرفیتی آمونیم شوند (۷). امروزه در نقاط مختلف جهان سویه‌های *سالمونلا* مقاوم به آمپی‌سیلین، کلرامفنیکل، کوتریموکسازول، کینولون ها و سفالوسپورین ها گزارش می‌شوند. اخیراً در چندین کشور آسیایی، اروپایی و آمریکای جنوبی گزارش‌هایی مبنی بر بروز همه‌گیری و پاندمی سویه‌های *سالمونلا* مقاوم به چند دارو (MDR)، واجد اینتگرون منتشر گردیده است (۹، ۱۰). در مطالعه‌ای که توسط Krauland و همکاران بر روی ۱۷۴۳ نمونه *سالمونلا* جداسازی شده از کشورهای آرژانتین، استرالیا، بلژیک، کانادا، دانمارک، آلمان، ایتالیا، فیلیپین، آفریقای جنوبی، اسپانیا، تایوان، اوگاندا و ایالات‌متحده آمریکا انجام گرفت، ۱۰۴ نمونه *سالمونلا انتریکا* با مقاومت پادزیستی چندگانه نسبت به پادزیست‌های آمپی‌سیلین، کلرامفنیکل، استرپتومایسین، سولفامتاکسازول و تتراسایکلین که واجد اینتگرون کلاس ۱ بودند جداسازی شدند (۱۱).

از آنجائی که در تحقیقات انجام‌شده، بروز همزمان مقاومت به چند دارو در باکتری‌ها باوجود اینتگرون ها در ارتباط بوده است (۹-۱۲). لذا هدف از انجام این تحقیق، شناسایی رابطه بین حضور اینتگرون های کلاس ۱ و وجود مقاومت‌های پادزیستی و همچنین بررسی فراوانی این عناصر ژنتیکی در سویه‌های *سالمونلا انتریکا* می‌باشد.

مواد و روش‌ها:

این تحقیق، یک مطالعه توصیفی بوده و جامعه آماری آن را نمونه‌های به‌دست‌آمده از بیماران مراجعه‌کننده به مرکز طبی کودکان و بیمارستان بقیه‌الله (عج) در طی سال‌های ۸۸-۱۳۸۶ تشکیل می‌دهند. نمونه‌های بالینی ازجمله مدفوع و خون از بیماران مشکوک به عفونت با *سالمونلا* اخذ می‌شد. نمونه مدفوع بیماران بلافاصله پس از نمونه‌گیری به محیط کشت سلنیت F منتقل می‌گردید. نمونه‌ها به مدت حداکثر ۶ ساعت در این محیط نگهداری می‌شدند. سپس به محیط‌های کشت انتخابی به‌مانند سالمونلا – شیگلا آگار (SS)، بیسموت سولفیت آگار انتقال یافته و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده می‌شدند.

نمونه‌های خون نیز ابتدا در محیط‌های دوفازی مربوط به شرکت بهارافشان (Castaneda) کشت و سپس به محیط‌های انتخابی انتقال داده می‌شدند. در روز بعد کلونی های مشکوک به *سالمونلا* جداسازی می‌شدند و سپس توسط تست‌های بیوشیمیایی استاندارد نظیر انتقال بر روی محیط Triple sugar iron (TSI) agar، Simmons’ citrate agar، اوره و MRVP broth مورد شناسایی قرار می‌گرفتند. پس از انجام آزمون‌های بیوشیمیایی، جهت جداسازی و تأیید *سالمونلا*، آزمون سروتایپینگ طبق دستورالعمل شرکت سازنده آنتی سرم های پلی والان و منو والان *سالمونلا* (Staten Serum Institut, Copenhagen, Denmark) و با استفاده از جدول کافمن- وایت انجام شد.

جهت تعیین حساسیت پادزیستی از روش دیسک دیفیوژن آگار استفاده شد. دیسک‌های پادزیستی مورداستفاده در این تحقیق شامل پادزیست‌های آمپی‌سیلین (AM 10µg)، آموکسی سیلین- کلاولانیک اسید (AMC 20+10µg)، تیکارسیلین (TIC 75µg)، پیپراسیلین (PIP 100µg)، سفوتاکسیم (CTX 30µg)، استرپتومایسین (S 10µg)، کانامایسین (K 30µg)، نئومایسین (N 30µg)، توبرامایسین (TOB 10µg)، تتراسایکلین (TE 30µg)، داکسی سایکلین (D 30µg)، کلرامفنیکل (C 30µg) و سولفامتوکسازول-تری متوپریم (SXT 23.75+1.25µg) بودند. آزمون آنتی بیوگرام با استفاده از سوسپانسیون باکتری در سرم فیزیولوژی و مقایسه کدورت آن با استاندارد نیم مک فارلند انجام گردید. سوسپانسیون تهیه‌شده به‌وسیله سواب استریل پنبه‌ای بر روی محیط مولر هینتون آگار (Merck؛ آلمان) به‌صورت متراکم کشت داده شد، سپس دیسک‌های پادزیستی با پنس استریل در سطح محیط قرار گرفتند. محیط‌ها به مدت ۲۴-۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس در انکوباتور قرار داده شدند. سپس قطر هاله منطقه ممانعت از رشد به‌وسیله خط کش اندازه‌گیری شد و مقاومت و یا حساسیت باکتری با استفاده از جدول استاندارد CLSI مشخص گردید (۱۳). در این مطالعه از میکروارگانیسم *اشریشیا کلی* ATCC 25922 به‌عنوان کنترل در انجام آزمایش استفاده شد.

ژنوم ایزوله‌های *سالمونلا* با استفاده از روش فنل-کلروفرم-ایزوآمیلیک الکل استخراج شد و برای بررسی حضور اینتگرون های کلاس ۱ با استفاده از روش PCR موردمطالعه قرار گرفت. پرایمر های مورداستفاده در این مطالعه در جدول ۱ نمایش داده‌شده‌اند. شرایط تکثیر ژن موردنظر با استفاده از شرایط توصیه‌شده توسط سایر محققین در دستگاه Mastercycler gradient ساخت شرکت Eppendorf صورت پذیرفت (۱۶-۱۴). تمام محصولات PCR بعد از رنگ‌آمیزی ژل‌ها توسط اتیدیوم برماید موردبررسی قرار گرفتند. برای بررسی اختلاف مقاومت پادزیستی بین دو گروه واجد اینتگرون و فاقد اینتگرون از آزمون دقیق فیشر یا مجذور کای استفاده شد. سویه‌های واجد مقاومت و مقاومت نسبی نسبت به پادزیست موردنظر به‌عنوان سویه‌های مقاوم در این محاسبات در نظر گرفته شدند و مقادیر P کمتر یا مساوی ۰/۰۵ به‌عنوان شاخص معنی‌دار بودن در نظر گرفته شدند. نرم‌افزار مورداستفاده در این محاسبات SPSS نسخه ۱۸ بود (SPSS Inc. Chicago, Ill. USA).

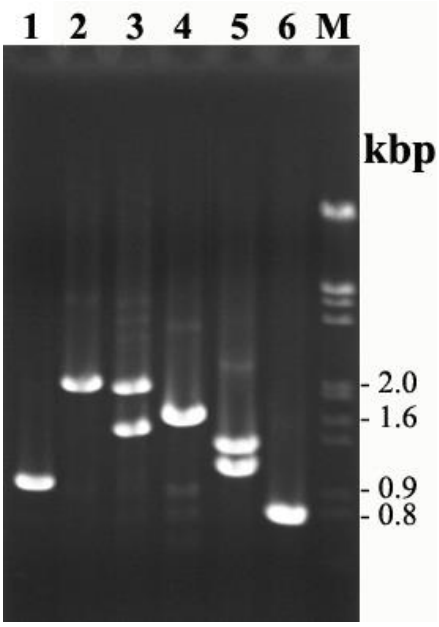
: جدول ۱: ژن هدف و پرایمر های استفاده‌شده در این مطالعه

نام پرایمر ها	ترادف سکانس پرایمر (5′→3′)	ناحیه هدف	دمای ذوب	منبع
hep58	5′-TCATGGCTTGTTATGACTGT-3′	ناحیه متغیر اینتگرون کلاس ۱	۵۸/۱ °C	(۱۵)
hep59	5′-GTAGGGCTTATTATGCACGC-3′	ناحیه متغیر اینتگرون کلاس ۱	۶۱ °C	(۱۵)

یافته‌ها:

درمجموع ۱۳۸ سویه *سالمونلا* در این تحقیق جداسازی و موردمطالعه قرار گرفتند. بیشترین موارد از مرکز طبی کودکان (۱۱۱ مورد) و سپس بیمارستان بقیه‌الله (عج) (۲۸ مورد) جدا گردید. از کل بیماران تشخیص داده‌شده، ۷۳ مورد (۵۲/۹٪) مذکر و ۶۵ مورد (۴۷/۱٪) مؤنث بودند.

۵۴ ایزوله (۳۹/۱٪) واجد اینتگرون های کلاس ۱ بودند. فراوانی اینتگرون های کلاس ۱ در سروتیپ های مختلف *سالمونلا انتریکا* شامل Albany (۳ مورد)، Enteritidis (۵ مورد)، Haifa (۱ مورد)، Infantis (۲۶ مورد)، Muenchen (۲ مورد)، Reading (۱ مورد) و Typhimurium (۱۶ مورد) بود. محصولات PCR



شکل ۱: نتایج آزمایش PCR جهت تشخیص اینتگرون های کلاس ۱ در ایزوله های *سالمونلا انتریکا*. ستون های ۱ الی ۶؛ نمونه های مثبت واجد اینتگرون کلاس ۱. ستون M؛ مارکر مولکولی.

اینتگرون های کلاس ۱ در هفت اندازه مختلف یعنی ۲۱۰۰، ۱۹۰۰، ۱۷۵۰، ۱۶۰۰، ۱۲۵۰، ۱۱۰۰ و ۸۵۰ جفت‌باز وجود داشتند (شکل ۱). از آنجائی که پرایمر های موردنظر برای نواحی محافظت شده در دو سوی ناحیه متغیر در ساختار اینتگرون کلاس ۱ انتخاب‌شده‌اند و اندازه ناحیه متغیر وابسته به تعداد ژن‌های واردشده در ساختار اینتگرون کلاس ۱ می‌باشد، محصولات PCR دارای اندازه‌های مختلفی می‌باشند.

اطلاعات مربوط به ایزوله‌های واجد اینتگرون کلاس ۱ و ایزوله‌های فاقد اینتگرون کلاس ۱ با یکدیگر مقایسه شدند و ارتباط وجود اینتگرون ها با الگوی مقاومت پادزیستی در این ایزوله‌ها موردبررسی قرار گرفت. مقاومت به آموکسی سیلین-کلاولانیک اسید، آمپی‌سیلین، کلرامفنیکل، داکسی سایکلین، کانامایسین، نئومایسین، پیپراسیلین، استرپتومایسین، تتراسایکلین و سولفامتوکسازول-تری متوپریم در ایزوله‌های واجد اینتگرون کلاس ۱ و ایزوله‌های فاقد اینتگرون کلاس ۱ باهم متفاوت، و دارای اختلاف معنی‌دار یعنی P کمتر یا مساوی ۰/۰۵ بودند (جدول ۲).

حدود ۸۵ درصد از سویه‌های *سالمونلا انتریکا* جداسازی شده حداقل به یک پادزیست مقاومت نشان دادند و ۶۸/۸٪ از سویه‌ها دارای مقاومت چندگانه پادزیستی بودند. تمامی ایزوله‌های واجد اینتگرون دارای مقاومت چندگانه پادزیستی بودند. دوازده ایزوله واجد اینتگرون کلاس ۱، دارای دو ژن اینتگرونی در ژنوم خود بودند.

بحث:

سروتیپ های *سالمونلا* قادرند از راه‌های مختلف مقاومت‌های پادزیستی را کسب نمایند. کسب مقاومت‌های پادزیستی از طریق چندین مکانیسم صورت می‌گیرد: ایجاد موتاسیون های کروموزومی، انتقال مقاومت به سایر باکتری‌ها از طریق تبادلات ژنتیکی، مثل پلاسمیدها، ترانسپوزون ها و اینتگرون ها، کاهش قابلیت نفوذ پادزیست‌ها از دیواره سلولی، غیرفعال سازی آنزیماتیک پادزیست‌ها، مکانیسم Efflux pump برای خارج کردن پادزیست‌ها و تغییر جایگاه هدف پادزیست ازجمله این مکانیسم‌ها می‌باشند (۱۶،۱۷).

امروزه گسترش ژن‌های مقاومت پادزیستی از طریق ساختارهای اینتگرونی به یک مشکل مهم در درمان عفونت‌های حاصل از باکتری‌های بیماری‌زا تبدیل‌شده است. همچنین ظهور مقاومت‌های پادزیستی چندگانه به یک پدیده معمول در کشورهای درحال‌توسعه تبدیل گشته است (۹،۱۰). در طی چند دهه گذشته سروتیپ های مختلف *سالمونلا* به‌طور فزاینده‌ای نسبت به پادزیست‌های رایج مقاوم شده‌اند (۱۸) و ظهور مقاومت چندگانه پادزیستی در *سالمونلا* نسبت به پادزیست‌های مؤثر، به یک مسئله بهداشتی نگران‌کننده برای مسئولین بهداشتی در کشورهای درحال‌توسعه مبدل گردیده است (۱۹).

سویه‌های *سالمونلا* دارای مقاومت چندگانه پادزیستی از سرتاسر دنیا گزارش می‌شوند. مطالعه‌ای که در هندوستان صورت گرفته، نشان می‌دهد مقاومت چندگانه پادزیستی از ۵۳/۶٪ به ۶۳/۹٪ از سال ۱۹۹۷ تا ۲۰۰۱ افزایش پیداکرده است (۲۰). این نتایج بامطالعه Chang و همکاران در سال ۲۰۰۳، که ۱۳۳۴ ایزوله *سالمونلا* را در کشور کره جنوبی موردمطالعه قرار داده بودند و نتیجه گرفته بودند که ۶۵/۹٪ از آن‌ها دارای مقاومت

چندگانه پادزیستی بودند، مطابقت دارد (۲۱). بعلاوه Antunes و همکاران در سال ۲۰۰۶ گزارش کرده بودند که ۲۱٪ از ۱۱۸۳ سویه *سالمونلا* جداسازی شده از پرتغال دارای مقاومت چندگانه پادزیستی بودند (۱۲). نتایج حاصل از این مطالعه از میزان بالای مقاومت چندگانه پادزیستی (حدود ۸۵٪) در سویه‌های *سالمونلا انتریکا* حکایت می‌کند.

جدول ۲: مقایسه الگوی مقاومت پادزیستی در ایزوله‌های واجد اینتگرون کلاس ۱ و ایزوله‌های فاقد اینتگرون کلاس ۱

پادزیست‌ها	درصد مقاومت کل	ایزوله‌های واجد اینتگرون کلاس ۱ (۵۴/۱۳۸)			ایزوله‌های فاقد اینتگرون کلاس ۱ (۸۴/۱۳۸)			مقدار *P*
		%S*	%I	%R	%S	%I	%R	
آمپی‌سیلین	۱۵/۹	۵۳/۷	۹/۲۶	۳۷/۰۴	۹۵/۲۴	۲/۳۸	۲/۳۸	≤۰/۰۵
آموکسی سیلین-کلاولانیک اسید	۲۱	۴۲/۵۹	۱۱/۱۱	۴۶/۳	۸۳/۳۳	۱۱/۹۱	۴/۷۶	≤۰/۰۵
تیکارسیلین	۳/۶	۹۴/۴۵	۰	۵/۵۵	۹۷/۶۲	۰	۲/۳۸	-
پیپراسیلین	۲۳/۲	۴۲/۵۹	۱۱/۱۱	۴۶/۳	۶۵/۴۷	۲۶/۱۹	۸/۳۳	≤۰/۰۵
سفوتاکسیم	۴/۳	۹۲/۶	۰	۷/۴	۹۴/۰۵	۳/۵۷	۲/۳۸	-
استرپتومایسین	۴۲/۷	۵/۵۵	۱۱/۱۱	۸۳/۳۴	۵۷/۱۴	۲۶/۱۹	۱۶/۶۷	≤۰/۰۵
کانامایسین	۲۲/۵	۵۳/۷	۱/۸۵	۴۴/۴۵	۸۳/۳۳	۸/۳۳	۸/۳۳	≤۰/۰۵
نئومایسین	۱۹/۶	۴۴/۴۵	۱۸/۵۱	۳۷/۰۴	۶۳/۱	۲۸/۵۷	۸/۳۳	≤۰/۰۵
توبرامایسین	۰/۷	۹۸/۱۵	۰	۱/۸۵	۱۰۰	۰	۰	-
تتراسایکلین	۵۰/۷	۱/۸۵	۱/۸۵	۹۶/۳	۳۹/۲۸	۳۹/۲۸	۲۱/۴۴	≤۰/۰۵
داکسی سایکلین	۶۷/۴	۰	۱۲/۹۶	۸۷/۰۴	۲۲/۶۲	۲۲/۶۲	۵۴/۷۶	≤۰/۰۵
کلرامفنیکل	۱۳	۶۸/۵۱	۰	۳۱/۴۸	۹۷/۶	۱/۲	۱/۲	≤۰/۰۵
سولفامتوکسازول-تری متوپریم	۲۰/۳	۵۱/۸۶	۷/۴	۴۰/۷۴	۷۶/۱۹	۱۶/۶۷	۷/۱۴	≤۰/۰۵

همچنین بیش از ۹۶٪ از ایزوله‌های *سالمونلا* واجد اینتگرون کلاس ۱ نسبت به تتراسایکلین، ۸۷٪ به داکسی سایکلین، ۸۳٪ به استرپتومایسین، ۴۶٪ به پیپراسیلین، ۴۴٪ به کانامایسین، ۴۰٪ به سولفامتوکسازول-تری متوپریم، ۳۷٪ به نئومایسین، ۳۷٪ به آمپی‌سیلین و ۳۱٪ به کلرامفنیکل مقاوم بودند، درصورتی‌که مقاومت به همین پادزیست‌ها در ایزوله‌های *سالمونلا* فاقد اینتگرون کلاس ۱ به ترتیب ۲۱، ۵۴، ۱۶، ۸، ۸، ۷، ۸، ۲، ۱ درصد بوده است و از آنجائی که مقاومت به آموکسی سیلین-کلاولانیک اسید، آمپی‌سیلین، کلرامفنیکل، داکسی سایکلین، کانامایسین، نئومایسین، پیپراسیلین، استرپتومایسین، تتراسایکلین و سولفامتاکسازول-تری متوپریم در ایزوله‌های واجد اینتگرون کلاس ۱ و ایزوله‌های فاقد اینتگرون کلاس ۱ باهم متفاوت و دارای اختلاف معنی‌دار بودند، می‌توان این‌گونه نتیجه‌گیری نمود که احتمالاً وجود اینتگرون های کلاس ۱ با

مقاومت نسبت به این پادزیست‌ها در سویه‌های جداسازی شده از تهران در ارتباط است. اگرچه مقاومت به این پادزیست‌ها از راه‌های دیگر، نظیر وجود ژن‌های مقاومت بر روی پلاسمیدهای مقاومت و غیره نیز امکان‌پذیر هست.

در تحقیقی که توسط Jin و همکاران در سال ۲۰۰۹ بر روی ۸۳۴ ایزوله *سالمونلا* در هونگ کونگ انجام گرفت، محققین دریافتند که ۹۰٪ ایزوله‌های دارای اینتگرون، به سولفامتاکسازول و ۸۹٪ به تتراسایکلین مقاوم بودند (۲۲). Chang و همکاران نیز در سال ۲۰۰۷ نشان دادند که ۱۰۰٪ ایزوله‌های واجد اینتگرون به سولفامتوکسازول، ۵۰٪ به تتراسایکلین، ۵۰٪ به تری متوپریم، ۲۹٪ به استرپتومایسین و ۲۵٪ به کلرامفنیکل مقاوم بودند (۲۳). کاست‌های ژنی مختلفی که باعث ایجاد مقاومت می‌شدند، در این مطالعه شناسایی شدند. ژن‌های *dfrA1* و *dfrA5* که سبب مقاومت به تری متوپریم، *catB3* و *catB8* که سبب مقاومت به کلرامفنیکل و *aadA1* و *aadA2* که سبب مقاومت به آمینوگلیکوزیدها می‌شوند، در ساختار اینتگرون کلاس ۱ مورد شناسایی قرار گرفتند (۲۳). در مطالعه‌ای که توسط Krauland و همکاران بر روی ۱۷۴۳ نمونه *سالمونلا* جداسازی شده از کشورهای آرژانتین، استرالیا، بلژیک، کانادا، دانمارک، آلمان، ایتالیا، فیلیپین، آفریقای جنوبی، اسپانیا، تایوان، اوگاندا و ایالات‌متحده آمریکا انجام گرفت، ۱۰۴ نمونه *سالمونلا انتریکا* با مقاومت پادزیستی چندگانه نسبت به پادزیست‌های آمپی‌سیلین، کلرامفنیکل، استرپتومایسین، سولفامتاکسازول و تتراسایکلین که واجد اینتگرون کلاس ۱ بودند جداسازی شدند. محققین دریافتند که کاست‌های ژنی مقاومت پادزیستی یافت شده بر روی ساختار اینتگرون کلاس ۱، سبب مقاومت به آمینوگلیکوزیدها (*aadA1*, *aadA2*, *aadA7*, *aadB*, *aacA4*, *aac*, *aac3A-Id*, *aac(6')-IIc*)، تری متوپریم (*dfrA1*, *dfrA7*, *dfrA12*, *dfrA15*, *dfrA17*)، کلرامفنیکل (*cmlA*, *cmlA5*, *catB3*) و بتالاکتام ها (*blaPSE1*, *blaOXA10*, *blaOXA30*) شده است (۱۱). افزایش مقاومت به آمپی‌سیلین، کلرامفنیکل، کانامایسین، استرپتومایسین، تتراسایکلین و سولفامتوکسازول-تری متوپریم نمی‌تواند تنها به علت استفاده از این پادزیست‌ها در درمان عفونت‌های حاصل از *سالمونلا* باشد. این بدین معنی است که مقاومت بسیار بالای *سالمونلا* به این ترکیبات، ممکن است به دلیل استفاده بیش‌ازحد از این پادزیست‌ها در حیوانات به‌منظور درمان و یا رشد بیشتر این حیوانات باشد (۲۴).

اینتگرون ها یکی از راه‌های گسترش مقاومت‌های چندگانه پادزیستی هستند (۹). در تحقیق حاضر، اینتگرون کلاس ۱ در ۵۴ (۳۹/۱٪) ایزوله *سالمونلا* شناسایی شد. این میزان بیشتر از میزانی بود که توسط Cabrera و همکاران در سال ۲۰۰۶ گزارش شد. ایشان نشان دادند که ۲۵٪ از *سالمونلا انتریکا* هایی که در اسپانیا جداسازی کرده‌اند، واجد اینتگرون کلاس ۱ بودند (۲۵). همچنین گزارش‌های دیگر نشان داد که ۲۰/۴٪ از سویه‌های *سالمونلا* جداسازی شده در انگلستان، ۱۳٪ در هونگ کونگ و ۱۳٪ در ویتنام واجد اینتگرون کلاس ۱ بودند (۲۶،۲۲،۲۷). در مطالعه‌ای که توسط Firoozeh و همکاران در سال ۲۰۱۱ در تهران صورت گرفت، محققین ۵۸ ایزوله *سالمونلا* را جداسازی نمودند که ۴۳ ایزوله دارای مقاومت چندگانه پادزیستی بودند. از این ۴۳ ایزوله، ۳۸ ایزوله واجد اینتگرون کلاس ۱ بودند (۲۸). در مطالعه‌ای دیگر که توسط Rajaei و همکاران در سال ۲۰۱۱ صورت پذیرفت، محققین ۸۴ ایزوله *سالمونلا انتریکا* را جداسازی نمودند. ۵۰ ایزوله (۵۹/۵٪) واجد اینتگرون کلاس ۱ بودند (۲۹).

یافته‌های ما نشان داد که اینتگرون های کلاس ۱ به‌طور گسترده‌ای در بین *سالمونلا انتریکا* های جداشده از نمونه‌های بالینی در تهران یافت می‌شوند. حضور اینتگرون های کلاس ۱ در سویه‌های *سالمونلا* با مقاومت چندگانه پادزیستی در آن سویه ارتباط داشته و احتمالاً وجود اینتگرون های کلاس ۱ با مقاومت نسبت به آموکسی سیلین- کلاولانیک اسید، آمپی‌سیلین، کلرامفنیکل، داکسی سایکلین، کانامایسین، نئومایسین، پیپراسیلین، استرپتومایسین، تتراسایکلین و سولفامتوکسازول-تری متوپریم در ارتباط می‌باشد.

این مطالعه با توجه به اینکه تنها ارتباط حضور اینتگرون با فنوتیپ MDR را موردبررسی قرار می‌دهد، می‌تواند پیشنهاد دهد که در ادامه نیازمند مطالعات مولکولی بیشتری برای شناسایی دقیق ژن‌های مقاومت با توجه به تنوع باندی محصول PCR هست. مراقبت و نظارت بر روی مقاومت‌های پادزیستی شامل، غربالگری اینتگرون ها به‌عنوان یک شاخص و نشانه از کسب و گسترش مقاومت‌های پادزیستی، می‌تواند به‌عنوان یک استراتژی مهم در مقابله با مقاومت‌های پادزیستی در این میکروارگانیسم‌ها باشد. مطالعات دیگری نیز باید در مورد گسترش اینتگرون ها در مناطق دیگر ایران صورت پذیرد تا فراوانی شیوع این عناصر

ژنتیکی مهم در جنس *سالمونلا* در کشور ما به‌طور صحیح‌تری تخمین زده شود.

References:

1. Carattoli A. Importance of integrons in the diffusion of resistance. Vet Res 2001; 32: 243-59.
2. Dubois V, Debreyer C, Quentin C, Parissi V. In vitro recombination catalyzed by bacterial class 1 integron integrase IntI1 involves cooperative binding and specific oligomeric intermediates. PLoS ONE 2009; 4: e5228.
3. Butaye P, Michael GB, Schwarz S, Barrett TJ, Brisabois A, White DG. The clonal spread of multidrug-resistant non-typhi Salmonella serotypes. Microbes Infect 2006; 8: 1891-7.
4. Stokes HW, Hall RM. A novel family of potentially mobile DNA elements encoding site-specific gene-integration functions: integrons. Mol Microbiol 1989; 3: 1669-83.
5. Martinez-Freijo P, Fluit AC, Schmitz FJ, Grek VS, Verhoef J, Jones ME. Class I integron in Gram-negative isolates from different European hospitals and association with decreased susceptibility to multiple antibiotic compounds. J Antimicrob Chemother 1998; 42: 689-96.
6. Cambray G, Guerout AM, Mazel D. Integrons. Annu Rev Genet 2010; 44: 141-66.
7. Mazel D. Integrons: agents of bacterial evolution. Nat Rev Microbiol 2006; 4: 608-20.
8. Rodríguez I, Martín MC, Mendoza MC, Rodicio MR. Class 1 and 2 integrons in non-prevalent serovars of *Salmonella enterica*: structure and association with transposons and plasmids. J Antimicrob Chemother 2006; 58: 1124-32.
9. Peirano G, Agerso Y, Asrestrup FM, Falavina dos Reis EM, dos Reis EM, dos Prazeres Rodrigues, D. Occurrence of integrons and antimicrobial resistance genes among *Salmonella enterica* from Brazil. J Antimicrob Chemother 2006; 58: 305-9.
10. Rodriguez I, Rosario Rodicio M, Cruz Martin M. Large conjugative plasmids from clinical strains of *Salmonella enterica* serovar virchow contain a class 2 integron in addition to class 1 integrons and several non-integron-associated drug resistance determinants. Antimicrob Agents Chemother 2006; 50(4): 1603-7.
11. Krauland MG, Marsh JW, Paterson DL, Harrison LH. Integron-mediated Multidrug Resistance in a Global Collection of Nontyphoidal Salmonella enterica Isolates. Emerging Infectious Diseases 2009; 15(3): 388-96.
12. Antunes P, Machado J, Peixe L. Characterization of antimicrobial resistance and class 1 and 2 integrons in *Salmonella enterica* isolates from different sources in Portugal. J Antimicrob Chemother 2006; 58: 297-304.
13. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 15th Informational Supplement. Approved Standard M100-S15. Wayne, PA; 2005; Clinical and Laboratory Standards Institute.
14. Pai H, Byeon J, Yu S, Lee BK, Kim S. *Salmonella enterica* serovar typhi strains isolated in Korea containing a Multidrug resistance class 1 integron. Antimicrob Agents Chemother 2003; 47(6): 2006
15. White PA, McIver CJ, Deng YM, Rawlinson WD. Characterisation of two new gene cassettes, aadA5 and dfrA17. FEMS Microbiology Letters 2000; 182: 265-9.
16. Mirza SH, Beeching NJ, Hart CA. Multi-drug resistant typhoid: a global problem. J Med Microbiol 1996; 44: 317-9.
17. Mirza SH, Kariuki S, Mamun KZ, Beeching NJ, Hart CA. Analysis of plasmid and chromosomal DNA of multi-drug resistant *Salmonella enterica* serovar Typhi from Asia. J Clin Microbiol 2000; 38: 1449-52.
18. McDermott PF. Antimicrobial resistance in nontyphoidal Salmonellae. In: Aarestrup FM, ed. Antimicrobial Resistance in Bacteria of Animal Origin. Washington, DC, USA; ASM Press. 2006; PP: 293-314.
19. Parry C. Antimicrobial drug resistance in *Salmonella enterica*. Current Opinion in Infectious Diseases 2003; 16: 467-2.
20. Gaind R, Paglietti B, Murgia M, Dawar M, Uzzau S, Cappuccinelli P, et al. Molecular characterization of ciprofloxacin-resistant *Salmonella enterica* serovar Typhi and Paratyphi A causing enteric fever in India. J Antimicrob Chemother 2006; 58: 1139-44.
21. Chung YH, Kim SY, Chang YH. Prevalence and antibiotic susceptibility of Salmonella isolated from foods in Korea from 1933 to 2001. J Food Prot 2003; 66(7): 1154-7.
22. Jin Y, Ling JM. Prevalence of integrons in antibiotic-resistant Salmonella spp. in Hong Kong. Jpn J Infect Dis 2009; 62: 432-9.
23. Chang YC, Shih DY, Wang JY, Yang SS. Molecular characterization of class 1 integrons and antimicrobial resistance in Aeromonas strains from foodborne outbreak-suspect samples and environmental sources in Taiwan. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 2007; 59: 191-7.
24. McDonald LC, Chen MT, Lauderdale TL, Ho M. The use of antibiotics critical to human medicine in food-producing animals in Taiwan. J Microbiol Immunol Infect 2001; 34: 97-102.
25. Cabrera R, Marco F, Vila J, Ruiz J, Gascon J. Class 1 integrons in Salmonella strains causing traveler's diarrhea. Antimicrob Agents Chemother 2006; 50(4): 1612-3.
26. Machado E, Canton R, Baquero F, Galan JC, Rollan A, Peixe L, et al. Integron content of extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* strains over 12 years in a single hospital in Madrid, Spain. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49: 1823-9.
27. Randall LP, Cooles SW, Osborn MK, Piddock LJ, Woodward MJ. Antibiotic resistance genes, integrons

and multiple antibiotic resistance in thirty-five serotypes of *Salmonella enterica* isolated from humans and animals in the UK. J Antimicrob Chemother 2004; 53(2): 208-16.
28. Firoozeh F, Shahcheraghi F, Zahraei Salehi T, Karimi V, Aslani M. Antimicrobial resistance profile and presence of class I integrongs among *Salmonella enterica* serovars isolated from human clinical specimens in Tehran, Iran. Iran J Microbiol 2011; 3(3):112-7.
29. Rajaei B, Siadat SD, Razavi MR, Aghasadeghi MR, Sepehri Rad N, Badmasti F, et al. Expanding drug resistance through integron acquisition in Salmonella spp. isolates obtained in Iran. Afr J Microbiol Res 2011; 5(16): 2249-53.