بررسی کلاس های مختلف اینتگرون در سالمونلا اینفنتیس جدا شده از نمونه‌های بالینی و الگوی مقاومتی آن ها

فاطمه عباس پور شوشتری[۱]، کیومرث امینی[*۱]

۱) گروه میکروبیولوژی، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران

تاریخ دریافت: ۹۵/۱/۱۶ تاریخ پذیرش: ۹۵/۶/۱۶

چکیده

مقدمه: سالمونلاها یکی از مهم ترین عوامل بیماریزای منتقله از غذا و زئونوز در سراسر جهان محسوب می شوند. مقاومت آنتی بیوتیکی، یک مسئله رو به افزایش در ایزوله های سالمونلا بوده و انتشار ژن های مقاومتی از طریق اینتگرون ها به سویه های حساس یکی از نگرانی های عمده در ظهور سویه های مقاوم می باشد. هدف از انجام مطالعه حاضر، بررسی کلاس های مختلف اینتگرون در سویه های سالمونلا اینفنتیس جدا شده از نمونه های بالینی و تعیین پروفایل حساسیتی این جدایه ها می باشد.

مواد و روش ها: در این مطالعه توصیفی–مقطعی، تعداد ۱۰۱ نمونه سالمونلا از نمونه های مدفوعی به دست آمد. تست حساسیت آنتی بیوتیکی بر طبق دستورالعمل CLSI و بر اساس روش انتشار در ژل تعیین شد. DNA سلولی با استفاده از کیت AccuPrep Genomic DNA Extraction Kit استخراج و PCR چندگانه به منظور شناسایی ژن های intI, intII و intIII انجام شد.

یافته های پژوهش: تعداد ۶۰ جدایه سالمونلا اینفنتیس با استفاده از تست های بیوشیمیایی و میکروبیولوژیکی به دست آمد. کمترین مقاومت در بین تمامی جدایه ها مربوط به سفتریاکسون(۴۵ درصد) بود. آنالیز مولکولی کلاس های مختلف اینتگرون مشخص نمود که ۵۹ (۹۸/۳ درصد)، ۵۱ (۸۵ درصد) و ۲۳ (۳۸/۳ درصد) جدایه به ترتیب حامل ژن های intI، intII و intIII بودند.

بحث و نتیجه گیری: نتایج نشان داد که افزایش مقاومت در سالمونلا اینفنتیس و حضور اینتگرون کلاس I در این جدایه ها، می تواند سبب انتقال شاخص ها مقاومتی به دیگر پاتوژن های منتقله از طریق مواد غذایی گردد.

واژه های کلیدی: اینتگرون، سالمونلا اینفنتیس، مقاومت آنتی بیوتیکی، نمونه های بالینی

*نویسنده مسئول: گروه میکروبیولوژی، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران

Email:kamini@iau-saveh.ac.ir

Copyright © 2017 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

مقدمه

سالمونلا، یکی از اعضاء خانواده انتروباکتریاسه می باشد که از نظر بیوشیمیایی و سرولوژیک بسیار متنوع بوده و اکثر آن ها برای انسان و سایر حیوانات بیماریزا هستند(۱). این ارگانیسم های بی هوازی اختیاری به صورت میله هایی کوتاه، گرم منفی، فاقد کپسول و اسپور می باشد(۲). اعضای این جنس را می توان بر اساس اپیدمیولوژی، نوع میزبان، واکنش های بیوشیمیایی و ساختار آنتی ژن های O، H و Vi طبقه بندی می شوند که بر این اساس در سه گونه تقسیم می شوند؛ سالمونلا تیفی، سالمونلا کلراسوییس و سالمونلا انتریکا(۳). تمامی سروتیپ های سالمونلا توانایی ایجاد بیماری در انسان را دارند. این ارگانیسم ها در انسان بیماری های مختلف و گاهاً خطرناکی از جمله تب روده(حصبه و شبه حصبه)، عفونت خون و مسمومیت های غذایی را ایجاد می نماید. سالمونلا تیفی و سالمونلا پاراتیفی عامل ایجاد تب روده(تیفوئید) محسوب می شوند در حالی که سالمونلا کلراسوئیس توانایی زیادی در انتشار به درون سیستم گردش خون دارد و عفونت خونی خطرناکی را ایجاد می کند. مهم ترین عامل در ابتلاء به سالمونلوزیس منتقله از طریق غذا، سالمونلا انتریتیدیس و سالمونلا اینفنتیس می باشند(۴). این بیماری بیشتر در ارتباط با مصرف گوشت، ماکیان، تخم مرغ و شیر است و بنا بر این این ارگانیسم یک پاتوژن منتقله از طریق غذا محسوب می شود(۵). در دهه اخیر، سالمونلا اینفنتیس که در گروه C سالمونلا قرار دارد، اولین رتبه را در موارد عفونت انسانی در اروپا به خود اختصاص داده است. از اواخر سال ۱۹۷۰ این سروار در تمام جهان در کشورهایی از جمله آرژانتین، استرالیا، برزیل، هلند، فنلاند، کانادا، ژاپن، روسیه و مجارستان در حال گسترش است. سالمونلا اینفنتیس معمولاً در بیمارستان ها خصوصاً در بخش کودکان شیوع داد، اما چنان چه افراد بزرگسال درگیر شوند با علائم سپتی سمی و مرگ همراه است(۶). بسیاری از ژن های مسئول مقاومت در باکتری های گرم منفی، بخشی از یک کاست ژنی در اینتگرون هستند. اینتگرون ها با داشتن ژن *int* که کدکننده اینتگراز است، نوترکیبی بین دو سایت هدف متمایز را انجام می دهند. بر اساس مطالعات انجام شده در سال های اخیر بیش از چهار نوع کلاس اینتگرون(I-IV) شناسایی شده است(۷). اینتگرون ها از طریق ترانسپوزون و پلاسمیدها انتشار ژن های مقاومتی در میان باکتری ها را امکان پذیر می کنند(۸). در سال های اخیر، نقش اینتگرون ها به عنوان عناصر ژنتیکی متحرک در انتقال افقی مقاومت آنتی بیوتیکی مشخص شده است. از آن جا که بسیاری از اینتگرون ها دارای بیش از یک کاست ژنی مقاومتی هستند و اغلب توسط المنت های ژنتیکی متحرک حمل و جا به جا می شوند، منجر به انتشار گسترده عوامل مقاومت از یک سویه به سویه دیگر و یا حتی در بین گونه های مختلف باکتریایی می شوند(۹). لذا شناسایی این نوع از ژن های مقاومتی در جهت اجرای برنامه های کنترل عفونت و ممانعت از انتشار سویه های مقاوم از اهمیت بالایی برخوردار می باشد. لذا هدف از پژوهش پیش رو بررسی ژنوتیپی و فنوتیپی اینتگرون‌های کلاس I، II و III در سالمونلا اینفنتیس جدا شده از نمونه های بالینی می باشد.

مواد و روش ها

جدا سازی باکتری: در این مطالعه توصیفی- مقطعی که در طی مدت ۹ ماهه از ابتدای اردیبهشت لغایت انتهای دی ماه ۱۳۹۴ انجام شد تعداد ۱۰۱ نمونه سالمونلا از نمونه بالینی مدفوع بیماران مشکوک به عفونت سالمونلا از بیمارستان امام خمینی تهران جمع آوری شد. غنی سازی نمونه ها در محیط سلنیت F (مرک، آلمان) انجام و پس از گرمخانه گذاری به مدت ۱۲-۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سیلسیوس، کلنی های رشد یافته بر روی محیط XLD آگار و SS آگار(مرک، آلمان) کشت داده شدند. کلنی های رشد کرده و مشکوک با استفاده از تست های روزمره و استاندارد بیوشیمیایی و میکروبیولوژیکی مانند: TSI، اوره، سیمون سیترات آگار و MRVP مورد شناسایی قرار گرفت. آزمون سروتایپینگ برای مشخص نمودن آنتی ژن های سوماتیک(O) و فلاژله(H) با استفاده از آنتی سرم های پلی والانت و مونو والانت به روش Slide agglutination انجام گردید. از سویه استاندارد Salmonella infantis ATCC1675 استفاده گردید.

تعیین الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی: آزمون انتشار از دیسک(Disk diffusion) به روش کربی بائر طبق دستورالعمل CLSI (Clinical and Laboratory Standards institute) (۲۰۱۴) جهت تعیین پروفایل مقاومت دارویی ایزوله ها انجام گردید(۱۰). بدین منظور، پس تهیه کدورت معادل نیم مک فارلند، کشت چمنی جدایه ها بر روی محیط مولر هینتون آگار(ساخت شرکت مرک، آلمان) انجام شد و دیسک های آنتی بیوتیکی شامل؛ ایمی پنم، جنتامایسین، آمیکاسین، استرپتوماسین، تتراسایکلین، تری متوپریم-سولفامتوکسازول، آمپی‌سیلین، سفتریاکسون، آموکسی کلاو و کلرآمفنیکل از شرکت(تهیه شده از شرکت هایمدیای هندوستان) تهیه گردید. پس از انکوباسیون در ۳۷ درجه سیلیسیوس برای یک شبانه روز، قطر هاله عدم رشد با استفاده از کولیس اندازه گیری و نتایج به سه صورت حساس(S)، نیمه حساس(I) و مقاوم (R) گزارش گردید.

آزمون Multiplex-PCR: به منظور استخراج DNA سلولی، تمامی ایزوله ها به مدت یک شبانه روز بر روی محیط لوریا برتانی براث(مرک، المان) کشت داده شد. سپس، استخراج DNA ژنوم طبق دستورالعمل شرکت سازنده و با استفاده از کیت AccuPrep Genomic DNA Extraction Kit (Bioneer، کره) انجام گردید. جهت اطمینان از درجه خلوص DNA استخراج شده از دستگاه بیوفتومتر (Bio-Rad, USA) استفاده گردید. به منظور شناسایی کلاس های مختلف اینتگرون(I، II و III) از توالی های اختصاصی الیگونوکلئوتیدی پرایمرهای موجود در جدول شماره ۱ استفاده شد.

جدول شماره ۱. توالی آغازگرهای جلودار و برگشتی مورد استفاده

Primers	Nucleotide Sequence (5′→3′)	Product size (bp)
Int1		160
F	CAGTGGACATAAGCCTGTTC	
R	CCCGAGGCATAGACTGTA	
Int2		788
F	GACGGATATGCGACAAAAAGGT	
R	GTAGCAAACGAGTGACGAAATG	
Int3		979
F	GCCTCCGGCCAGCGACTTTCAG	
R	ACGGATCTGCCAAACCTGAC	

در نهایت، واکنش PCR به حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۶/۳ میکرولیتر PCR master mix 5X (سیناکلون، ایران) حاوی Taq DNA polymerase (0.05 U/µl)، $MgCl_2$ (3 mM) و dNTPs (0.4mM)، ۰/۸ میکرولیتر از هر یک از پرایمرها به غلظت ۰/۸ میکرومولار، ۱ میکرولیتر از DNA الگو(۱۰ نانوگرم) و ۱۲/۹ میکرولیتر آب دو بار تقطیر و دیونیزه استریل با استفاده از گرادیانت ترموسایکلر(اپندورف، آلمان) برای ۳۵ سیکل به صورت زیر انجام گرفت؛ مرحله واسرشتگی در دمای ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۶۰ ثانیه، مرحله اتصال پرایمرها در ۵۴ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه و مرحله طویل سازی در ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۶۰ ثانیه. در پایان، محصولات واکنش PCR در ژل آگارز ۱ درصد حاوی اتیدیوم بروماید(۰/۵ µg/ml) الکتروفورز گردیده و در عکس برداری با استفاده از Gel document دیجیتالی انجام شد.

یافته های پژوهش

نتایج آزمون آگلوتیناسیون اسلایدی نشان داد که از ۱۰۱ سالمونلای به دست آمده از نمونه مدفوعی، ۶۰ جدایه متعلق به گروه C سالمونلا بود و تمامی آن ها با استفاده از تست های بیوشیمیایی و میکروبیولوژیکی به عنوان سالمونلا انتریکا سروتیپ اینفنتیس(سالمونلا اینفنتیس) شناخته شدند. بررسی میزان مقاومت ایزوله

ها نسبت به آنتی بیوتیک های مورد مطالعه با استفاده از روش انتشار دیسک نشان داد که کمترین مقاومت در بین تمامی ۶۰ جدایه تحت مطالعه مربوط به سفتریاکسون (۴۵ درصد) بود. هم چنین نتایج تست کربی-بائر نشان داد که تمامی ایزوله ها (۱۰۰ درصد) به کوتریموکسازول، آمیکاسین، جنتامایسین و ایمی پنم مقاوم بودند(جدول شماره ۲). مقاومت هم زمان به ۵، ۶، ۷، ۸، ۹ و ۱۰ نوع آنتی بیوتیک مختلف به ترتیب در ۲(۳/۳ درصد)، ۴(۶/۶ درصد)، ۱۵(۲۵ درصد)، ۲۲(۳۶/۶ درصد)، ۱۵(۲۵ درصد) و ۲ (۳/۳ درصد) ایزوله دیده شد و بنا بر این به عنوان سویه های مقاوم به چند آنتی بیوتیک(Multidrug Resistance-MDR) نام گرفتند.

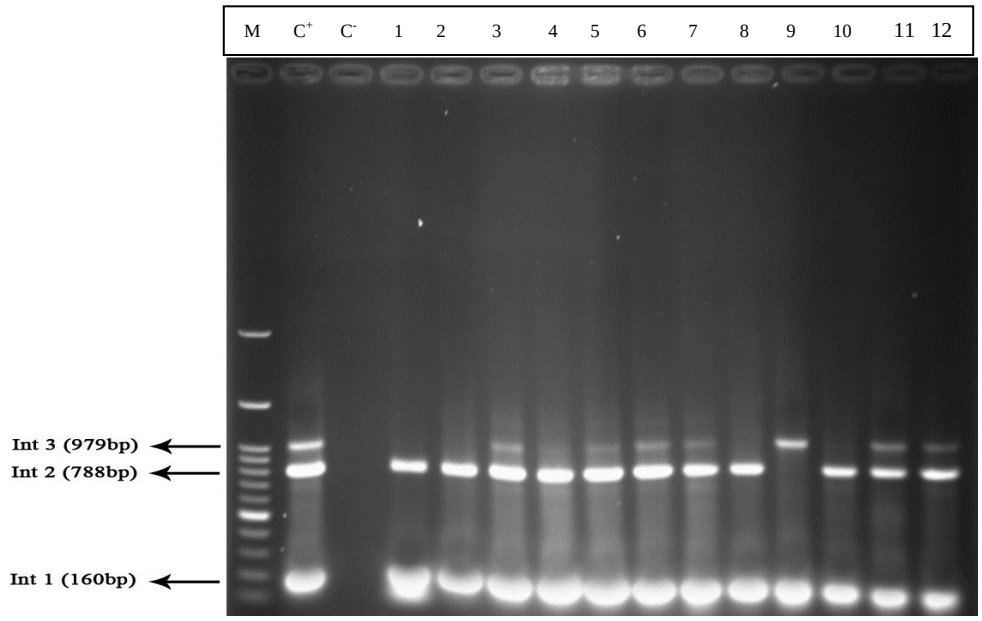
جدول شماره ۲. الگوی حساسیتی و مقاومتی جدایه های تحت مطالعه به آنتی بیوتیک های انتخاب شده

نوع آنتی بیوتیک تست شده	غلظت آنتی بیوتیک	مقاوم(R)		نیمه حساس(I)		حساس(S)	
		تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
تری متوپریم- سولفومتاکسازول	۱۵ میکروگرم	۶۰	۱۰۰	۰	۰	۰	۰
جنتامایسین	۱۰ میکروگرم	۶۰	۱۰۰	۰	۰	۰	۰
آمیکاسین	۳۰ میکروگرم	۶۰	۱۰۰	۰	۰	۰	۰
ایمی پنم	۱۰ میکروگرم	۶۰	۱۰۰	۰	۰	۰	۰
آمپی سیلین	۱۰ میکروگرم	۵۰	۸۳/۳	۵	۸/۳	۵	۸/۳
آموکسی کلاو	۳۰ میکروگرم	۴۴	۷۳/۳	۰	۰	۱۶	۲۶/۷
استرپتومایسین	۱۰ میکروگرم	۴۳	۷۱/۷	۱۷	۲۸/۳	۰	۰
کلرامفنیکل	۳۰ میکروگرم	۳۸	۶۳/۳	۲	۳/۳	۲۰	۳۳/۳
تتراسایکلین	۳۰ میکروگرم	۲۸	۴۶/۷	۳۲	۵۳/۳	۰	۰
سفتریاکسون	۳۰ میکروگرم	۲۷	۴۵/۰	۰	۰	۳۳	۵۵/۰

آنالیز مولکولی کلاس های مختلف اینتگرون مشخص نمود که ۵۹ (۹۸/۳ درصد)، ۵۱ (۸۵ درصد) و ۲۳ (۳۸/۳ درصد) جدایه به ترتیب حامل ژن های intI، intII و intIII بودند. در جدول شماره ۳، فراوانی کلاس های مختلف اینتگرون به طور هم زمان در جدایه های تحت مطالعه نشان داده شده است. تنها یک جدایه(۱/۶ درصد) برای حضور ژن های intI، intII و intIII منفی بود. شکل شماره ۱ نتایج واکنش Multiplex-PCR را نشان می دهد.

جدول شماره ۳. فراوانی ترکیب های اینتگرون کلاس I، II، III در ٦٠ جدایه سالمونلا اینفنتیس

کلاس های مختلف اینتگرونی	تعداد جدایه ها	درصد جدایه ها
اینتگرون کلاس I و II و III	۲۱	۳۵/۰۰
اینتگرون کلاس I و II	۳۰	۵۰/۰۰
اینتگرون کلاس I وIII	۲	۳/۳۳
فقط حامل اینتگرون کلاس I	۶	۱۰/۰۰
فاقد ژن اینتگرون کلاس I یاII یاIII	۱	۱/۶۷



شکل شماره ۱. الگوهای باندی حاصل از Multiplex PCR در سویه های سالمونلا اینفنتیس بر روی ژل آگارز و رنگ آمیزی شده با اتیدیوم برماید. +C، کنترل مثبت(سالمونلا اینفنتیس ATCC1675)، -C، کنترل منفی (اشریشیاکلی ATCC 25922)، M: 100 bp DNA size marker (سیناژن، ایران)

بحث و نتیجه گیری

بر اساس گزارشات سازمان بهداشت جهانی، سالیانه حدود سه میلیون نفر به عفونت های ناشی از سالمونلاهای غیرتیفوئیدی مبتلا می‌گردند(۱۱). در دهه اخیر سالمونلا اینفنتیس اولین رتبه را در موارد عفونت انسانی ناشی از سالمونلا در اروپا به خود اختصاص داد. از اواخر سال ۱۹۷۰ این سروار در کشورهایی از جمله آرژانتین، استرالیا، برزیل، هلند، فنلاند، کانادا، ژاپن و روسیه در حال گسترش است(۱۲،۱۳). سالمونلا اینفنتیس معمولاً در بیمارستان ها خصوصاً در بخش کودکان مشاهده می شود، اما چنان چه افراد بزرگسال درگیر شوند با علائم سپتی سمی و مرگ همراه می گردد. منبع عمده این باکتری حیوانات به ویژه جمعیت های طیور صنعتی می باشند. در مطالعه ای در ژاپن در بین سال های ۲۰۰۶ تا ۲۰۰۸، تعداد ۸۱ سالمونلا اینفنتیس از بین ۱۶۴ جدایه سالمونلا به دست آمد(۱۴). پیغمبری نیز در سال ۱۳۹۳ از مجموع ۱۰۰ جدایه به دست آمده از نمونه طیور، تعداد ۷۹ سروتیپ از سالمونلا اینفنتیس جدا نمود(۱۵). نتایج آزمون حساسیت آنتی بیوتیکی نشان داد که، از مجموع ۶۰ جدایه سالمونلا اینفنتیس، تمامی ایزوله ها(۱۰۰ درصد) به ایمی پنم، آمیکاسین، جنتامایسین و تری متوپریم–سولفومتاکسازول مقاوم بودند. هم چنین ۷۳/۳ درصد به آموکسی کلاو، ۴۶/۶ درصد به تتراسایکلین، ۷۱/۶ درصد به استرپتومایسین، ۶۳/۳ درصد به کلرامفنیکل، ۸۳/۴ درصد به آمپی‌سیلین و ۴۵ درصد به سفتریاکسون مقاومت نشان دادند. از طرفی، حضور سویه های مقاوم به چند آنتی بیوتیک می تواند طول مدت درمان را افزایش دهد که این خود سبب افزایش هزینه های درمانی، شکست های درمانی و مرگ و میر بالا به ویژه در افرادی که دارای بیماری زمینه ای یا ضعف سیستم ایمنی باشند می شود. رنجبر و همکاران در سال ۱۳۸۸ به بررسی اثر ده آنتی بیوتیک کمتر رایج در درمان سالمونلوزیس انسانی پرداختند که نتایج به این صورت بود که ۱۶/۲ درصد به آمپی‌سیلین، ۱۳/۲ درصد به کلرامفنیکل، ۱۹/۱ درصد به کوتریموکسازول، ۲۵/۷ درصد به آموکسی‌کلاو و ۵۰/۷ درصد به تتراسایکلین و ۱/۵ درصد به آمیکاسین مقاوم

بودند(۱۶). این محققین دریافتند که آمپی سیلین، کلرامفنیکل و کوتریموکسازول که استفاده از آن ها در درمان عفونت های حاصل از سالمونلا رایج بوده، هم چنان کارایی درمانی لازم را دارا بوده اند. اما نتایج مطالعه حاضر بر خلاف نتایج رنجبر و همکاران(۱۶) بود که می تواند به سبب افزایش مقاومت دارویی طی سال های گذشته بر اثر تجویز بی رویه و استفاده ناصحیح از داروهای مورد نظر باشد. نتایج الگوی مقاومت این تحقیق با نتایج مقاومت جدایه های انسانی حاصل از مطالعه رجایی و همکاران(۲۰۱۱) که بیشترین مقاومت را نسبت به سولفومتوکسازول-تری متوپریم گزارش کرده اند، مطابقت دارد(۱۷).

نتایج پراکندگی کلاس های مختلف اینتگرون در بین جدایه های سالمونلا اینفنتیس نشان داد که؛ ۹۸/۳ درصد حامل ژن اینتگرون کلاس I، ۸۵ درصد حامل ژن اینتگرون کلاس II و ۳۸/۳ درصد حامل ژن اینتگرون کلاس III بودند. شیوع اینتگرون های کلاس I در مطالعه حاضر در مقایسه با سایر مطالعات تفاوت هایی را نشان می دهد. فراوانی اینتگرون کلاس I در مطالعه Zhang و همکاران(۲۰۰۴) در چین ۱۷/۳ درصد بود(۱۸). در مطالعات انجام شده توسط Jin و همکاران در سال ۲۰۰۹ در هنگ کنگ روی ۸۲۴ جدایه سالمونلای گرفته شده از انسان مشخص گردید که ۳ درصد آن ها حاوی اینتگرون کلاس I بودند(۱۹). در مطالعه رجایی و همکاران در سال ۲۰۱۱ که روی ۸۴ جدایه سالمونلا گرفته شده انسان در ایران انجام شد، ۵۹/۵ درصد از جدایه ها حاوی اینتگرون کلاس I بودند(۱۷). رنجبر و همکاران در سال ۲۰۱۰ به بررسی کلاس های مختلف اینتگرون در سویه های مختلف سالمونلا پرداختند. فراوانی کلاس I و II اینتگرون به ترتیب برابر ۳۹ درصد و ۸ درصد بود که با مطالعه پیش رو مغایرت داد و این تضاد می تواند در نتیجه تفاوت در تعداد نمونه ها(۴۰ جدایه سالمونلا اینفنتیس در مطالعه رنجبر در مقایسه با ۶۰ جدایه به دست آمده در پژوهش فعلی باشد(۲۰). مبصری و سایرین در سال ۱۳۹۲ به بررسی اینتگرون کلاس I و مقاومت آنتی بیوتیکی در سویه های سالمونلا تیفی موریوم جدا شده از دام و طیور پرداختند(۲۱). نتایج نشان داد که مشابه مطالعه حاضر، جدایه های اینتگرون مثبت در مقایسه با جدایه های اینتگرون منفی مقاومت بالاتری نسبت به تتراسایکلین، کلرامفنیکل، سولفامتوکسازول، آمپی‌سیلین و آموکسی سیلین داشتند. اینتگرون های حامل ژن های مقاومت به عوامل ضد میکروبی به عنوان مخازن اصلی برای انتشار مقاومت به آنتی بیوتیک مطرح می شوند. Lopes Correa در برزیل نشان دادند که از ۳۶ نمونه سالمونلا اینفنتیس جدا شده، فراوانی کلاس های I و II اینتگرون به ترتیب برابر ۳۱(۸۶/۱ درصد) و ۳(۸/۳ درصد) می باشد(۲۲). این محققین پیشنهاد کردند که چندین فاکتور بر بیان ژن های مقاومت در اینتگرون ها تاثیرگذار است که از مهم ترین آن نزدیکی مکانی ژن های مقاومتی به پروموتر(آغازگر) می باشد که در نتیجه بیان این ژن ها نسبت به ژن های دوردست بیشتر و کاراتر خواهد بود. مطالعات پیشین توسط سایر محققین نشان داد که میزان مقاومت در سویه های دارای کلاس های مختلف اینتگرون به مراتب بالاتر از سویه های فاقد اینتگرون می باشد. در مطالعه نیکوکار و همکاران(۲۳) ارتباط معنی داری بین حضور اینتگرون کلاس I و مقاومت به داروهای بتالاکتام از جمله سفتازیدیم و پیپراسیلین نشان داده شد. هم چنین در مطالعه ای که توسط GU و همکاران(۲۴) در سال ۲۰۰۷ انجام شد با بررسی بیشتر الگوی مقاومت دارویی در دو گروه حاوی و فاقد اینتگرون مشخص گردید اختلاف معنی داری بین حضور اینتگرون و بروز مقاومت دارویی، به ویژه نسبت به آنتی بیوتیک های بتالاکتام وجود دارد، به طوری که ایزوله دارای اینتگرون به طور معنی داری نسبت به آنتی بیوتیک ها مقاومت بالاتری داشته است. در مطالعه ای مشابه در بابل(شمال ایران)، اصغر پور و همکاران(۲۵) در سال ۲۰۱۳ دریافتند که تمامی سویه ها(۱۰۰ درصد) دارای مقاومت کامل به سیپروفلوکساسین و سفوتاکسیم بودند. این محققین دریافتند که سویه های سالمونلا اینفنتیس حامل اینتگرون کلاس I دارای مقاومت بالاتری نسبت به سویه های فاقد اینتگرون هستند. مقاومت دارویی و گسترش عوامل مقاومت در باکتری های پاتوژن از اهمیت بسیار بالایی در جامعه پزشکی برخوردار است و

در صورت عدم اتخاذ راهکار صحیح و هوشمندانه به معضل جهانی در جامعه پزشکی تبدیل خواهد شد. کما این که مطالعات گذشته و حاضر شیوع رو به رشد عوامل مقاومت از جمله ژن های اینتگرون و باکتری های پاتوژن با الگوی مقاومت چندگانه را تایید می نمایند. باید توجه داشت که الگوی مقاومت دارویی در مناطق مختلف و مقاطع زمانی متفاوت حتی در یک ناحیه ممکن است متفاوت باشد که می‌تواند ناشی از تفاوت در نوع، میزان و تداوم مصرف داروهای آنتی بیوتیک باشد. لذا برای تجویز و استفاده از آنتی بیوتیک ها، الگوی مقاومت دیگر مناطق یا کشورهای جهان چندان قابل اتکا نمی باشد و نیاز به بررسی بومی این الگو ضروری است.

سپاسگزاری

بدین وسیله از همکاری مدیریت و پرسنل آزمایشگاه تحقیقاتی میکروبیولوژی پاسارگاد و گروه میکروب شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه تقدیر و تشکر می شود.

References

1. Abbasoglu D, Akcelik M. Phenotypic and genetic characterization of multidrug resistant Salmonella infantis strains isolated from broiler chicken meats in Turkey. Biologia 2011; 66: 406-10.
2. Akiba M, Kusumoto M, Iwata T. Rapid identification of Salmonella enterica serovars Typhimurium choleraesuis and infantis and Hadar and enteritidis and dublin and gallinarum by multiplex PCR. J Microbiol Meth 2011; 85: 9-15.
3. Dionisi AM, Lucarelli C, Benedetti I, Owczarek S, Luzzi I. Molecular characterisation of multidrug resistant Salmonella enterica serotype infantis from humans and animals and the environment in Italy. Int J Antimicrob Agents 2011; 38: 384-9.
4. Xu Z, Li L, Shirtliff ME, Peters BM, Peng Y, Alam MJ, et al. First report of class 2 integron in clinical Enterococcus faecalis and class 1 integron in Enterococcus faecium in South China. Diagn Microbiol Infect Dis 2010; 68: 315-7.
5. Deng Y, Bao X, Ji L, Chen L, Liu J, Miao J, et al. Resistance integrons class 1 and 2 and 3 integrons. Ann Clin Microbiol Antimicrob2015: 14: 1-11.
6. Cambray G, Guerout AM, Mazel D. Integrons. Annu Rev Genet 2010; 44: 141-65.
7. Beier RC, Anderson PN, Hume ME, Poole TL, Duke SE, Crippen TL, et al. Characterization of Salmonella enterica isolates from turkeys in commercial processing plants for resistance to antibiotics disinfectants and a growth promoter. Foodborne Pathog Dis 2011; 8: 593-600
8. Zhao S, Mcdermott PF, Friedman S, Qaiyumi S, Abbott J. Characterization of antimicrobial resistant Salmonella isolated from imported foods. J Food Prot 2006; 69: 500-7.
9. Wannaprasat W, Padungtod P, Chuanchuen R. Class 1 integrons and virulence genes in Salmonella enterica isolates from pork and humans. Int J Antimicrob Agents 2011; 37:457-61.
10. Clinical and laboratory standards institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing 24th informational supplement. Wayne PA CLSI Publicatuon. 2014.
11. Emaddichashni SH. Hassanzadeh M. Bozorgmehrifard, MH, Mirzaie S. Characterization of the Salmonella isolates from backyard chickens in north of Iran, by serotyping multiplex PCR and antibiotic resistance analysis. Arch Razi Ins2009; 64: 77-83.
12. Miller T. Prager R. Rabsch W. Fehlhaber K, Voss M. Epidemiological relationship between Salmonella Infantis isolates of human and broiler origin. Lohmann Inf2010; 45: 27-31.
13. Morshed R, Peighambari SM. Salmonella infections in poultry flocks in the vicinity of Tehran. Iranian J Vet Med20104; 273-6.
14. Iwabuchi E, Yamamoto S, Endo Y, Ochiai T, Hirai K. Prevalence of Salmonella isolates and antimicrobial resistance patterns in chicken meat

throughout Japan. J Food Prot 2011; 74:270-3.
15. Peighambari SM, Sorahi Nobar M, Morshed R. [Detection of Salmonella enterica serovar infantis among serogroup C Salmonella isolates from poultry using PCR and determination of drug resistance patterns]. Iran Vet J 2015; 11:54-60. (Persian)
16. Ranjbar R, Giammanco GM, Farshad S, Owlia P, Aleo A, Mammina C. Serotypes antibiotic resistance and class 1 integrons in Salmonella isolates from pediatric cases of enteritis in Tehran Iran. Foodborne Pathog Dis 2011; 8:547-53.
17. Rajaei B, Siadat SD, Razavi MR, Aghasadeghi MR, Rad NS, Badmasti F, Jafroodi SK, et al. Expanding drug resistance through integron acquisition in Salmonella spp. isolates obtained in Iran. African J Microbiol Res2011;5:2249-53.
18. Zhang H, Shi L, Li L, Guo S, Zhang X, Yamasaki S, et al. Identification and characterization of class 1 integron resistance gene cassettes among Salmonella strains isolated from healthy humans in China. Microbiol Immunol 2004; 48:639-45.
19. Jin Y, Ling JM. Prevalence of integrons in antibiotic-resistant Salmonella spp. in Hong Kong. Jpn J Infect Dis2009;62:432-9.
20. Naghoni A, Ranjbar R, Tabaraie B, Farshad S, Owlia P, Safiri Z, et al. High prevalence of integron-mediated resistance in clinical isolates of Salmonella enterica. Jpn J Infect Dis 2010;63:417-21.
21. Mobaseri P. Salehi M. Hosseini F. Study of class 1 integrons and antibiotic resistance in Salmonella Typhimurium strains isolated from livestock and poultry. Biol J Microorgan2013;7: 45-52.
22. Lopescorrêa FE, Silvadantas FG, Grisolia AB, Amaralcrispim B, Piresoliveira KM. Identification of class 1 and 2 integrons from clinical and environmental Salmonella isolates. J Infect Dev Ctries 2014; 8:1518-24.
23. Nikokar I, Tishayar A, Flakiyan Z, Alijani K, Rehana-Banisaeed S, Hossinpour M, et al. Antibiotic resistance and frequency of class 1 integrons among Pseudomonas aeruginosa isolated from burn patients in Guilan Iran. Iranian J Microbiol 2013; 5:36-41.
24. Gu B, Tong M, Zhao W, Liu G, Ning M, Pan S, Zhao W. Prevalence and characterization of class I integrons among Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii isolates from patients in Nanjing, China. J Clin Microbiol2007; 45:241-3.
25. Asgharpour F, Rajabnia R, Ferdosi Shahandashti E, Marashi MA, Khalilian M, Moulana Z. Investigation of class i integron in salmonella infantis and its association with drug resistance. Jundishapur J Microbiol2014; 7:10019.

Investigating Classes of Integrons in Salmonella infantis Isolated from Clinical Samples and their Antibiotic Resistance Profile

Abaspourshoushtari F[1], Amini K[2]*

(Received: April 4, 2016 Accepted: September 6, 2016)

Abstract

Introduction: Salmonella is one of the most important food-borne pathogens and zoonotic agents all over the world. Antibiotic resistance is a growing problem in Salmonella isolates and spreading of resistance genes by integrons to susceptible strains is one of the major concerns in the emergence of resistant strains. The aim of the current study was the identification of classes of integrons in the Salmonella infants isolated from clinical samples and their antibiotic resistance profile.

Material & Methods: In the cross-sectional study, 101 salmonella isolates were obtained from the stool samples. The antibiotic susceptibility test was determined using the disk diffusion method agreeing with CLSI guideline. Cellular DNA was extracted by AccuPrep Genomic DNA Extraction Kit and MPCR was performed for the identification of the intI, intII and intIII genes.

Findings: Sixty S. infantis isolates were collected using biochemical and microbiological tests. The lowest resistance rate in all isolates was related to Ceftriaxone (45%). The molecular analysis of classes of integrons showed 59 (98.3%), 51 (85%) and 23 (38.3%) isolates caring intI, intII and intIII genes, respectively.

Discussion & Conclusions: The result of this study showed that due to increased level of drug resistance in S. infantis and the presence of class 1 integron in these strains, resistance can be transferred to other food borne pathogens.

Keywords: Integrons, Salmonella infantis, Antibiotic resistance, Clinical samples

1. Dept of Microbiology, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran
**Corresponding author Email: kamini@iau-saveh.ac.ir.*