جداسازی هم زمان ژن های مقاومت سولفانامیدی کلاس(sul I, II) و اینتگرون کلاس I شیگلا سونئی جدا شده از نمونه های بالینی استان کرمان

علی جاودانی[۱]، محمدجواد سلطانی بناوندی[۲]، اکرم سادات طاطبایی بفرودی[۳]، کیومرث امینی[۴*]

۱) گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد سیرجان، دانشگاه آزاد اسلامی، سیرجان، ایران
۲) گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمان، کرمان، ایران
۳) گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه ازاد اسلامی، واحد تهران شرق(قیامدشت)، تهران، ایران
۴) گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۹/۱ **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۰/۱۲**

چکیده

مقدمه: شیگلا باسیل گرم منفی روده ای است که عفونت های ناشی از آن مشکلات جدی را در کشورهای پیشرفته و در حال توسعه ایجاد کرده است. مصرف بی رویه آنتی بیوتیک بدون توجه به الگوهای مقاومتی باعث ظهور سویه های مقاوم شده است. هدف از مطالعه حاضر بررسی شیوع ژن های مقاومت به سولفونامیدها و اینتگرون کلاس ۱ در سویه های شیگلا سونئی جداسازی شده از بیماران مبتلا به اسهال و تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی این جدایه ها بود.

مواد و روش ها: ۶۰ جدایه باکتری شیگلا سونئی جدا شده از عفونت های مدفوعی از بیمارستان های کرمان جمع آوری شد و در محیط های اختصاصی کشت داده و با آزمون های بیوشیمیایی تایید شد. حضور ژن های مقاومت سولفونامیدی شامل sulI و sullI و intI1 با روش Multiplex-PCR (M-PCR) مورد بررسی قرار گرفت. حساسیت آنتی بیوتیکی جدایه ها به ۸ آنتی بیوتیک مختلف با روش دیسک دیفیوژن سنجیده شد.

یافته های پژوهش: در نتیجه M-PCR مشخص گردید ژن SulI در ۱ نمونه و ژن sulII در ۳۲ نمونه حضور داشت اما ژن IntI1 در هیچ کدام از سویه ها شناسایی نشد. نتایج آنتی بیوگرام نشان داد بیشترین مقاومت به آنتی بیوتیک نالیدیکسیک اسید(۹۶/۶ درصد) و بیشترین حساسیت به آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین(۹۲/۱ درصد) بود.

بحث و نتیجه گیری: نتایج مطالعه حاضر نشان دهنده مقاومت بالای سویه های شیگلا سونئی به آنتی بیوتیک ها بود به همین جهت مراقبت های دقیق پزشکی و استفاده صحیح و به موقع از آنتی بیوتیک های مناسب جهت جلوگیری از شیوع سویه های مقاوم ضروری می باشد. به علاوه مشخص گردید فراوان ترین ژن مقاومت به سولفونامید در این سویه ها، ژن sullI می باشد.

واژه های کلیدی: شیگلا سونئی، sulI، sullI، اینتگرون کلاس ۱، Multiplex-PCR

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

Email:dr_kumarss_amini@yahoo.com

Copyright © 2018 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.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-28]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.68]

مقدمه

شیگلوز یک بیماری منتقله از طریق غذا و یک خطر جدی در سلامت انسان است که توسط باکتری شیگلا ایجاد می شود. این باکتری گرم منفی دارای ۴ گونه شامل دیسانتری، سونئی، فلکسنری و بوئیدی می باشد اما در بین گونه های شیگلا، گونه سونئی عامل مهمی در ایجاد اسهال خونی باکتریایی به خصوص در کشورهای پیشرفته می باشد. این بیماری بیشتر در کودکان زیر ۵ سال و در کشورهای در حال توسعه اتفاق می افتد. طبق گزارش سازمان بهداشت جهانی سالانه ۱۶۵ میلیون نفر به این بیماری مبتلا می شوند که از این میان، ۱/۱ میلیون نفر در جهان در اثر ابتلا به این بیماری جان خود را از دست می دهند(۱،۲). درمان آنتی بیوتیکی به خصوص در افراد مبتلا به سوء تغذیه و ایمنی تضعیف شده توصیه می شود زیرا این درمان علائم را کاهش داده، اسهال را درمان کرده و دوره دفع باکتری را کاهش می دهد. اولین خط درمانی توصیه شده توسط موسسه استاندارد آزمایشگاهی و کلینیکی Clinical and Laboratory Standards (Institute) جهت درمان این بیماری آنتی بیوتیک های آمپی سیلین و کوتریموکسازول هستند اما در موارد حضور سویه های دارای مقاومت چندگانه که غیر معمول هم نیستند، دومین خط درمانی فلوروکینولون ها در بالغین و نسل سوم سفالوسپورین ها در کودکان می باشد(۳). سولفونامیدها آنتی بیوتیک های سنتتیکی هستند که به فراوانی در درمان عفونت های باکتریایی در انسان و دام های اهلی استفاده می شوند. این آنتی بیوتیک ها با رقابت با سوبسترای طبیعی P-آمینوبنزوئیک اسید برای اتصال با دی هیدروپتروات سنتتاز(آنزیم موثر در سنتز اسید فولیک) از بیوسنتز فولات ممانعت به عمل می اورند. مقاومت باکتریایی به سولفونامیدها می تواند از طریق موتاسیون در ژن folP یا با به دست آوردن ژن sul به وجود می آید که روش دوم متداول تر می باشد. این مقاومت در بین پاتوژن های انسان و دام بسیار شایع می باشد(۴). ژن sul دارای کلاس های مختلفی شامل sulI، sulII و sulIII می باشد. سولفانامیدها به دلیل شباهت ساختمانی با پارا آمینوبنزوئیک اسید(PABA) به طور رقابتی آنزیم دی هیدرو پتروآت سنتتاز باکتریایی را که مسئول تبدیل کردن PABA به اسید دی هیدرو فولیک است، مهار می کنند در نتیجه اسید فولیک ساخته نمی شود. اسید فولیک(ویتامین B9) نوعی کوفاکتور در ساخت پورین ها، تیمیدین و DNA می باشد. در نتیجه سولفونامیدها با مهار سنتز DNA، سبب توقف رشد باکتری ها(باکتریواستاتیک) می شوند. ممکن است ژن های sul روی اینتگرون ها، ترانسپوزون ها، فاژ یا پلاسمیدهای متحرک قرار بگیرند و از این طریق به سرعت گسترش یابند. کد شدن ژن های پلاسمیدی sul شامل؛ sul1، sul2 و sul3 سبب بروز مقاومت به سولفونامیدها می گردد(۴،۵). اینتگرون مکانیسمی است که برای انتقال ژن های مقاومتی علی رقم کونژوگاسیون، ترانسداکسیون، فاژ، پلاسمید و ترانسپوزون معرفی گردید. اینتگرون ها عناصر ژنتیکی متحرک(Mobile Genetic Elements-MGE) هستند که با جایگیری در پلاسمیدها، کروموزوم ها و ترانسپوزون ها، ژن های مقاومتی موجود در کاست ژنی را حمل می کنند. این عناصر بر اساس تفاوت در ژن اینتگراز، به کلاس های مختلفی تقسیم می شوند که شامل Int1، Int2، Int3 و Int4 می باشند. اکثر سویه های دارای مقاومت چندگانه(MDR) دارای اینتگرون کلاس ۱ هستند(Int1) که بر روی پلاسمید یا ترانسپوزون مستقر بوده و بنا بر این توان انتشار بالایی را دارد. ژن sul1 بر روی کلاس یک اینتگرون قرار دارد، اما ژن های متالوبتالاکتاماز(MBLs) بر روی کلاس سه اینتگرون ها جای می گیرند. کلاس دو این عناصر نیز در ترانسپوزون Tn-7 قرار دارند(۶). هدف از مطالعه حاضر بررسی حضور ژن های مقاومت به سولفونامیدها(sul) در سویه های شیگلا سونئی جداسازی شده از اسهال باکتریایی و هم چنین بررسی میزان مقاومت این سویه ها به آنتی بیوتیک ها می باشد.

مواد و روش ها

در این مطالعه تعداد ۶۰ ایزوله شیگلا سونئی جدا شده از مهرماه لغایت بهمن ماه سال ۱۳۹۴ به صورت کاملاً تصادفی از بیماران مبتلا به اسهال مراجعه کننده

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-28]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.68]

به بیمارستان های شهرستان کرمان، جمع آوری و مورد بررسی قرار گرفت. ابتدا جدایه ها روی محیط های مک کانکی و سالمونلا–شیگلا آگار کشت داده شدند. سپس از آزمون های بیوشیمیایی استاندارد جهت تشخیص گونه شیگلا استفاده شد. برای افتراق گونه ها نیز از آزمون های بیوشیمیایی ONPG، بررسی واکنش دکربوکسیلاسیون اورنیتین، آزمون تولید اندول و تخمیر قندهای مانیتول استفاده شد. استخراج DNA نمونه ها توسط کیت شرکت سیناژن و مطابق دستورالعمل کیت انجام گرفت. پس از استخراج نسبت به تکثیر DNA الگو به روش Multiplex- PCR اقدام شد. آزمون PCR بر روی ۶۰ جدایه شیگلا سونئی برای ژن های sulI، sulII و intI1 انجام گرفت(۷)(جدول شماره ۱). واکنش زنجیره ای پلیمراز PCR استاندارد در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ۲ میکرولیتر 10X PCR Buffer، ۰/۸ میکرولیتر MgCl2، ۱ میکرولیتر dNTP، ۱/۶ میکرولیتر از پرایمرها(۰/۸ میکرولیتر از هر پرایمر با غلظت ۱۰ پیکومول)، ۱۴/۳ میکرولیتر آب مقطر، ۰/۳ میکرولیتر آنزیم Taq DNA polymerase و ۵ میکرولیتر از DNA الگو انجام گردید. برنامه حرارتی جهت انجام واکنش های PCR عبارت بود از واسرشت اولیه در ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۵ سیکل هرکدام شامل: واسرشت در ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۴۰ ثانیه، اتصال در ۶۵ درجه سانتی گراد به مدت ۶۰ ثانیه، بسط در ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۹۰ ثانیه و نیز بسط نهایی در ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه. محصولات PCR در ژل آگارز ۱ درصد الکتروفورز شدند و با اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی و تحت نور UV مشاهده گردید. در مطالعه پیش رو از سویه استاندارد اشریشیاکلی $ATCC_{۲۵۹۲۳}$ تهیه شده از موسسه انستیتو پاستور ایران به عنوان سویه کنترل مثبت استفاده شد.

حساسیت ایزوله های شیگلا سونئی نسبت به آنتی بیوتیک های آمپی سیلین(µg ۱۰)، سفتریاکسون (µg ۳۰)، سفالوتین(µg ۳۰)، سفتی زوکسیم(µg ۳۰)، تتراسایکلین(µg ۳۰) کوتریموکسازول(µg ۲۵)، نالیدیکسیک اسید(µg ۳۰) و سیپروفلوکساسین(µg ۵) (پادتن طب) به روش دیسک دیفیوژن(Kirby-Bauer) و مطابق با موسسه استاندارد آزمایشگاهی و کلینیکی Clinical and Laboratory Standards (Institute) سنجیده شد(۸،۹).

جدول شماره ۱. پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه

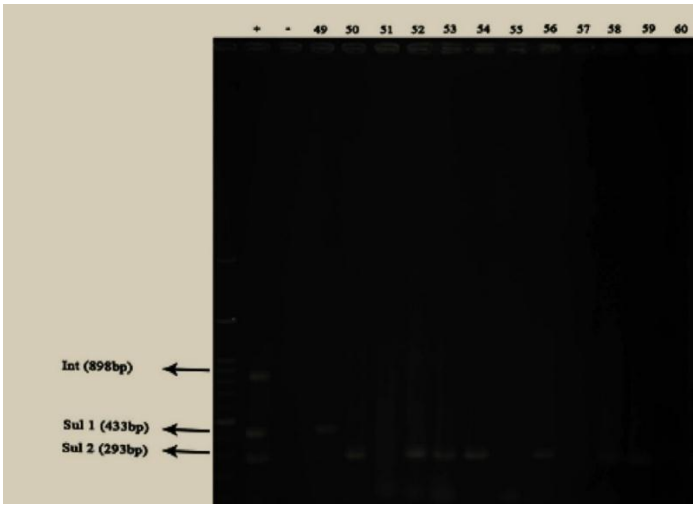
ژن	توالی (′۵ به ′۳)	اندازه محصول bp
SulI	F- CGGCGTGGGCTACCTGAACG R- GCCGATCGCGTGAAGTTCCG	۴۳۳
SulII	F- GCGCTCAAGGCAGATGGCATT R- GCGTTTGATACCGGCACCCGT	۲۹۳
intI1	F- GCCACTGCGCCGTTACCACC R- GGCCGAGCAGATCCTGCACG	۸۹۸

یافته های پژوهش

تمامی نمونه های مورد بررسی با استفاده از آزمایشات بیوشیمیایی بررسی و مطابق با استانداردهای تشخیصی به عنوان شیگلا سونئی تایید گردیدند. بر اساس نتیجه آزمایش M-PCR مشخص گردید ۱ نمونه دارای ژن sulI و ۳۲ نمونه دارای ژن sulII بودند، اما هیچ کدام دارای ژن intI1 نبودند که نتایج در شکل شماره ۱ بر اساس طول باند هر یک از ژن ها مشخص شده است که این تصویر برخی از نمونه های مورد بررسی می باشد(شکل شماره ۱). هم چنین در نتایج آنتی بیوگرام مشخص شد که بیشترین مقاومت به آنتی بیوتیک نالیدیکسیک اسید(۹۶/۶ درصد) و بیشترین حساسیت به آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین(۹۲/۱ درصد) بود(جدول شماره ۲).

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-28]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.68]



شکل شماره ۱. نتایج آزمون Multiplex-PCR جهت تعیین ژن های Sul1، Sul2 و Int1 . به ترتیب از چپ به راست: مارکر bp ۱۰۰(سیناژن، ایران)، استاندارد اشریشیاکلی ATCC ۲۵۹۲۳ به عنوان سویه کنترل مثبت واجد ژن های مورد مطالعه و چاهک سوم کنترل منفی. چاهک شماره ۴۹ تا ۶۰ نمونه های مجهول مورد بررسی. چاهک شماره ۴۹ واجد ژن Sul1 با طول باند bp ۴۳۳ و سایر نمونه ها واجد ژن Sul2 با طول باند bp ۲۹۳.

جدول شماره ۲. نتایج تست حساسیت آنتی بیوتیکی جدایه های شیگلا سونئی

آنتی بیوتیک	حساس(S)	نیمه حساس(I)	مقاوم(R)
کوتریموکسازول	٪۳۳/۴	٪۵	٪۶۱/۶
تتراسایکلین	۳/۴	٪۵	٪۹۱/۶.
نالیدیکسیک اسید	۰	٪۳/۴	۹۶/۶
آمپی سیلین	۰	٪ ۱۰	٪۹۰
سفتریاکسون	٪۹۱/۷	۰	٪۸/۳
سفالوتین	٪۵	٪۸/۳	٪۸۶/۷
سفتی زوکسیم	٪۶۵	٪۳/۳	٪۳۱/۷
سیپروفلوکساسین	٪۹۳/۳	٪۳/۳	٪۳/۳

بحث و نتیجه گیری

شیگلا یکی از عوامل مهم اسهال حاد هم در کشورهای پیشرفته و هم در کشورهای در حال توسعه می باشد(۱۰). گونه های مختلف شیگلا قادر به ایجاد اسهال خونی هستند اما به نظر می رسد گونه سونئی در سال های اخیر از فراوانی بالایی برخوردار بوده است(۱۱). درمان آنتی بیوتیکی مناسب، شدت، دوره، علایم، عوارض و دفع باکتری را کاهش می دهد. اولین خط درمانی شیگلوز، آنتی بیوتیک های آمپی سیلین و کوتریموکسازول هستند اما با توجه به بروز مقاومت نسبت به این آنتی بیوتیک ها، فلوروکینولون ها و نسل سوم سفالوسپورین ها جایگزین این ها شده اند(۳). در مطالعه حاضر ۳/۳ درصد نمونه ها به سیپروفلوکساسین، ۸/۳ درصد به سفتریاکسون، ۳۱/۷ درصد به سفتی زوکسیم، ۶۱/۶ درصد به کوتریموکسازول، ۸۶/۷ درصد به سفالوتین، ۹۰ درصد به آمپی سیلین، ۹۱/۶ درصد به تتراسایکلین و ۹۶/۶ درصد به نالیدیکسیک اسید مقاوم بودند. در مطالعه عباس پور و همکاران در سال ۱۳۹۳، سویه های شیگلا از لحاظ مقاومت آنتی بیوتیکی مورد بررسی قرار گرفتند. در این مطالعه که شایع ترین گونه جداسازی شده سونئی(۶۳ درصد) بود، ۷/۸ درصد به سفتی زوکسیم، ۲۲/۲ درصد به سیپروفلوکساسین، ۲۳/۳ درصد به سفتریاکسون، ۳۴/۴ درصد به اسید نالیدیکسیک، ۶۵/۶ درصد به

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-28]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.68]

آمپی سیلین و تتراسایکلین و ۹۲/۲ درصد به کوتریموکسازول مقاوم بوده اند(۱۲). در مطالعه ضیائی و همکاران در سال ۸۹، سویه های شیگلای جداسازی شده از موارد اسهال خونی از لحظ مقاومت دارویی مورد بررسی قرار گرفتند. در این مطالعه ۸۰ درصد نمونه ها به کوتریموکسازول مقاوم بودند اما هیچ کدام به سیپروفلوکساسین و نالیدیکسیک اسید مقاوم نبودند(۱۳). مقبلی و همکاران در سال ۱۳۹۳، ۷۳ نمونه شیگلای جداسازی شده از مدفوع و خون بیماران مبتلا به اسهال را مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه، ۹۴/۵ درصد نمونه ها به کوتریموکسازول، ۹۳/۲ درصد به تتراسایکلین، ۴۸ درصد به آمپی سیلین، ۳۱/۶ درصد به نالیدیکسیک اسید، ۱۲/۳ درصد به سفالوتین و ۶/۸ درصد به سفتریاکسون مقاوم بوده اند اما مقاومت به آنتی بیوتیک های سفتی زوکسیم و سیپروفلوکساسین در هیچ یک از سویه ها مشاهده نشد(۱۴). قندیان و همکاران در سال ۱۳۹۰، به بررسی گونه ها و مقاومت آنتی بیوتیکی ۱۰۰ نمونه شیگلای جداسازی شده از موارد اسهال پرداختند. در این مطالعه ۷۳ درصد نمونه ها متعلق به گونه سونئی بودند. به علاوه ۶۰ درصد سویه های شیگلا سونئی مقاوم به کوتریموکسازول، ۴۴ درصد مقاوم به سفالوتین، ۲۸ درصد مقاوم به تتراسایکلین و ۶ درصد مقاوم به نالیدیکسیک اسید بودند اما هیچ کدام از سویه ها مقاومت به سیپروفلوکساسین و سفتی زوکسیم را نشان ندادند(۱۵). در مطالعه سلطان دلال و همکاران در سال ۱۳۹۲ بر روی ۸۰ نمونه شیگلای جداسازی شده از موارد بالینی، ۸۶/۷ درصد نمونه ها به آمپی سیلین، ۸۰ درصد به تتراسایکلین، ۷۵ درصد به کوتریموکسازول ۱۶/۷ درصد به سفتریاکسون، ۱۵ درصد به نالیدیکسیک اسید ۱۳/۳ درصد به سیپروفلوکساسین، ۸/۳ درصد به سفالوتین و ۳/۳ درصد به سفتی زوکسیم مقاوم بودند(۱۶). در بررسی اقتداردوست و همکاران در سال ۱۳۸۹ بر روی سویه های مختلف شیگلای جداسازی شده از بیمارستان بقیه الله، ۶۰ درصد نمونه ها به آنتی بیوتیک های کوتریموکسازول و تتراسایکلین و ۵۰ درصد به آمپی سیلین مقاومت نشان دادند ولی مقاومت به نالیدیکسیک اسید مشاهده نشد(۱۷). هم چنین در مطالعه افشاری و همکاران در سال ۱۳۹۵ بر روی نمونه های مدفوع کودکان مبتلا به اسهال مراجعه کننده به بیمارستان های میلاد و امام خمینی، ۵۰ سویه شیگلا سونئی جداسازی شد که در این مطالعه مقاومت به تتراسایکلین و کوتریموکسازول در ۹۰ درصد ایزوله های شیگلا سونئی مشاهده شد(۱۸).

ژن SulI غالباً روی منطقه حفاظت شده ′۳ اینتگرون کلاس ۱ قرار می گیرد و عمدتاً توسط این عنصر متحرک و حتی در باکتری های محیطی یافت می شود. ژن sulII اولین بار در باکتری اشریشیاکلی و روی یک پلاسمید کوچک غیر الحاقی شناسایی شد و امروزه مشخص گردیده غالباً روی طیف وسیعی از پلاسمیدها یافت می شود(۴). در مطالعه حاضر ۱/۶۶ درصد سویه ها دارای ژن sulI و ۵۳/۳ درصد ژن SulII را نشان دادند اما هیچ یک از سویه ها دارای اینتگرون کلاس ۱ نبودند. Ahmed و همکاران در سال ۲۰۱۳، به بررسی مقاومت ژنتیکی در ۴۶ سویه شیگلا فلکسنری جداسازی شده از کودکان و بالغین پرداختند. در این مطالعه ۴۵ درصد سویه های مربوط به کودکان و ۵۳ درصد سویه های بالغین دارای ژن sulII و ۶ درصد سویه ها واجد اینتگرون کلاس ۱ بودند. هم چنین مشخص شد ۴۸ درصد سویه ها دارای ژن sulI بودند که حضور این ژن در ارتباط با ژن bla_{OXA} بود(۱۹). در مطالعه Yang و همکاران در سال ۲۰۱۴ بر روی ۱۵۰ سویه شیگلای جداسازی شده از کشور چین، اینتگرون کلاس ۱ در تعداد قابل توجهی از نمونه ها وجود داشت اما حضور کاست آنتی بیوتیکی sul روی این اینتگرون مشاهده نشد(۲۰). Chang و همکاران در سال ۲۰۱۱، نوع اینتگرون، کاست های ژنی و ژن های مقاومت آنتی بیوتیکی را در ۱۰۳ سویه شیگلا سونئی جداسازی شده ار همه گیری و ۳۲ سویه جداسازی شده از موارد تک گیر را بررسی کردند. در این مطالعه ۳۳ درصد سویه های همه گیر و ۱۹ درصد سویه های تک گیر دارای ژن int1I، ۵۵/۳ درصد سویه های همه گیر و ۷۵ درصد سویه های تک گیر واجد ژن sulII بودند. به علاوه ۱۱/۸ درصد سویه ها دارای ژن sulI بودند که حضور این ژن در ارتباط با

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-28]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.68]

اینتگـــرون کـــلاس ۱ بـــود(۲۱). Byrne-Bailey و همکاران در سال ۲۰۰۹ به بررسی حضور ژن های سولفونامیدی در باکتری های جداســـازی شده از نمونه های محیطی پرداختند که در نتایج این مطالعه مشخص شد ژن sulI و intI1 در ۳ نمونه شیگلا حضور داشت(۲۲). در مطالعه Dubios و همکاران در سال ۲۰۰۷ بر روی ۶۸ سویه شیگلا سونئی دارای مقاومت های چندگانه آنتی بـــیوتیـــکی، هیـــچ یک از سویه های شیگلا سونئی اینتگرون کلاس ۱ را نداشتند(۲۳). Peirano و همکاران در سال ۲۰۰۵ به جستجوی ژن اینتگرون در جدایه های شیگلای مقاوم به سولفونامید پرداختند. در این پژوهش که ۶۲ جدایه مورد بررسی قرار گرفتند، ۳/۲ درصد جدایه ها دارای ژن sulI و intI1 و ۱۰۰ درصد جدایه ها دارای دارای ژن sulII بودند. در مطالعه مشابهی که توسط Frank و همکـــاران در سال ۲۰۰۷ بر روی نمـــونه های انتروباکتریاسه مقاوم به سولفونامید انجام شد، از ۹ سویه شیگلای مورد بررسی، ۷ نمونه دارای ژن sulI، ۹ نمونه دارای ژن sulII و ۸ نمونه دارای ژن intI1 بودند(۲۴). در مطالعه Yu و همکاران در ســـال ۲۰۱۰، ۲۵ سویه شیگلا سونئی جداسازی شده از موارد اسهال از لحاظ ژن های اینتگرون مورد بررسی قرار گرفتند. در این مطـــالعه ۹۲ درصـــد ســـویه ها دارای ژن intI1 بودند(۲۶).

نتایج مطالعه حاضـــر نشان دهنده مقاومـــت بالای سویه های شیگلا سونئی به آنتی بیوتیک ها بود که این امر بسیار نگران کننده می باشد، زیرا گونه سونئی در حال حاضر رایج ترین گونه شیگلا در ایران می باشد و این مقاومت کنترل و درمان این بیماری را مشکل می سازد. از این رو مراقبت دقیق بر بروز مقاومت دارویی، تجـــویز مـــناسب آنتی بیوتیک ها جهت کاهش انـــتشار ســـویه های شیگلا سونئی مـــقاوم ضـــروری می باشد. به علاوه در نتـــایج مطالعه حاضر مشخـــص گردید در نمـــونه های مقاوم به سولفونامید بیشـــترین عـــامل مقاومت ژن sulII بود.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله بر خود لازم می دانند که از مدیریت و پرســـنل آزمایشـــگاه تحـــقـــیقاتی مـــیکروبیولوژی پاسارگاد تقدیر و تشکر نمایند.

References

1.Kacmaz B, Unaldi O, Sultan N, Durmaz R. Drug resistance profiles and clonality of sporadic Shigella sonnei isolates in Ankara, Turkey. Brazil J Microbiol 2014; 45 :845-49.

2.Paula CMD, Geimba MP, Amaral PHD, Tondo EC. Antimicrobial resistance and PCR-ribotyping of Shigella responsible for foodborne

3.outbreaks occurred in South Brazil. Brazil J Microbiol2010; 41: 966-977. Doi.org/10.1590/S1517-83822010000400015

4.Acikgoz ZC, Eser OK, Kocagoz S .CTX-M-3 type beta lactamase producing Shigella sonnei isolates from pediatric bacillary dysentery. Jpn J Infect Dis2008; 61: 135-7.

5.Hoa PTP, Nonaka L, Viet PH, Suzuki S. Detection of the sul1, sul2, and sul3 genes in sulfonamide-resistant bacteria from wastewater and shrimp ponds of north Vietnam. Sci Total Enviornment. 2008; 405:377-384. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2008.06.023.

6.Smalla K, Sobecky PA. The prevalence and diversity of mobile genetic element in bacterial communities of different environmental habitats: insights gained from different methodological approaches. FEMS Microb Ecol2002; 42:165-75. DOI: 10.1111/j.1574-6941.2002.tb01006.x.

7.Stokes Ht, Hall RM. A novel family of potentially mobile DNA elements encoding site-specific gene-integration functions: integrons. Mole Microbiol1989; 3:1669-83.

8.Kerrn MB, Klemmensen T, Frimodt N, Espersen F. Susceptibility of danish Escherichia coli strains isolated from urinary tract infections and bacteraemia and distribution of Sul genes conferring sulphonamide resistance. J Antimicrob Chemother2002; 50: 5136. Doi.org/10.1093/jac/dkf164.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-28]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.68]

9.Bauer A, Kirby WM, Sherris JC, Truck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am J Clin Pathol1996; 45: 493-6.
10.Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing Twentyfirst Inform Suppl2014; 100-24.
11.Xiong Z, Li T, Xu Y, Li J. Detection of CTX-M-14 extended spectrum betalactamase in Shigella sonnei isolates from China. J Infect2007; 55: 125-8. DOI: 10.1016/j.jinf.2007.07.017
12.Ranjbar R, Mirsaeed Ghazi F, Farshad S, Giammanco GM, Aleo A, Owlia P, et al. The occurrence of extended-spectrum β-lactamase producing Shigella spp. Tehran Iran. IJM2013; 5:108-12.
13.Abbaspour S, Mardaneh J, Ahmadi K. [The survey of shigellosis frequency and determination of antibiotic resistance profile of isolated strains from infected children in Tehran]. ISMJ. 2014; 17: 42-8. (Persian)
14.Ziyaei M, Azarkar G, Saadatjou SA, Namaei MH. [Study of Shigella genera and their drug resistance in dysenteric patients referbn 23we56tgy7gtring to Nehbandan health care centers and health houses]. J Birjand Uni Med Sci2007; 14: 30-36. (Persian)
15.Moghbeli M, Behnood V, Ranjbar R. A study to determine antibiotic resistance and recognition Qnr genes in Shigella strains isolated from patients admitted to mofids children medical Center Tehran. J Microbial World 2014; 7: 49-57. (Persian)
16.Ghandian S, Sattari M, Nikbin VS, Aslani MM. Study of antibiotic susceptibility pattern and presence of ipaH gene among shigella strains isolated from selected provinces in Iran. Modares J Med Sci Pathobiol 2011; 14: 81-8. (Persian)
17.Soltan Dallal MM, Rastegar Lari A, Hosseini M, Aminharati F. The trend of drug resistance in toxin and non-toxin producing Shigella Spp.
18.isolated from stool of children with diarrhea. J Kurd Uni Med Sci2013; 18: 51-8. (Persian)
19.Eghtedardoost M, Saadati M, Nazarian SH, Mokhtarzare, Malaii F, Heiat M. Identification of IpaB in Shigella and cloning of this gene pET22b^{+} vector and antibiotic susceptibility of Shigella strains. Iranian J Infect Dis2010; 15: 55-61. (Persian) DOI: 10.29252/jarums.18.1.52
20.Afshari N, Bakhshi B, Mahmoudi aznaveh A, Fallah F, Rahbar M, Rafiei Tabatabaei S. Investigation of prevalence of Shigella sonnei isolates among children with diarrhea admitted in to two hospitals in Tehran in 1391 with antimicrobial susceptibility of isolates. Iran J Med Microbiol2016; 10: 16-22. (Persian)
21.Ahmed SF, Klena J, Husain T, Monestersky J, Naguib A, Wasfy MO. Genetic characterization of antimicrobial resistance of Shigella flexneri 1c isolates from patients in Egypt and Pakistan. Annals Clin Microbiol Antimicrob2013; 12: 1-6. Doi.org/10.1186/1476-0711-12-9
22.Yang H, Pan Y, Hu L, Liu Y, Ye Y, Cheng J, et al. Antimicrobial resistance patterns and characterization of integrons in clinical isolates of Shigella from China. Canadian J Microbiol 2014; 60: 237-42. Doi: 10.1139/cjm-2013-0893.
23.Chang CY, Lu PL, Lin CC, Lee TM, Tsai MY, Chang LL. Integron types gene cassettes antimicrobial resistance genes and plasmids of Shigella sonnei isolates from outbreaks and sporadic cases in Taiwan. J Med Microbiol2011; 60: 197-204. Doi: 10.1099/jmm.0.022517-0.
24.Byrne KG, Gaze WH, Kay P, Boxall ABA, Hawkey PM, Wellington EMH. Prevalence of sulfonamide resistance genes in bacterial isolates from manured agricultural soils and pig slurry in the United Kingdom. Antimicrob Age chemother2009; 53: 696-702. Doi: 10.1128/AAC.00652-07 23.
25.Dubois V, Parizano MP, Arpin C, Coulange L, Bezian MC, Quentin C. High genetic stability of integrons in clinical isolates of Shigella spp. of worldwide origin. Antimicrob agents chemother. 2007; 51: 1333-40. Doi: 10.1128/AAC.00652-07.
26.Peirano G, Agerso Y, Aarestrup FM, Rodrigues DP. Occurrence of integrons and resistance genes among sulphonamide resistant Shigella spp. from Brazil. J Antimicrob Chemother2005; 55: 301-5. Doi: 10.1128/AAC.00652-07.
27.Frank T, Gautier V, Talarmin A, Bercion R, Arlet G. Characterization of Sulphonamide resistance genes and class 1 Integron gene cassettes in

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-28]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.68]

Enterobacteriaceae Central African Republic. J Antimicrob Chemother2007; 59: 742-45. Doi: 10.1093/jac/dkl538.
28.Yu J, Stehling EG, Angelini M, Leite JL, Pace F, Jadhav S, et al. Prevalence of integrons in Shigella sonnei from Brazil. J Antibiotics2010; 63: 607-9. Doi: 10.1038/ja.2010.85.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-28]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.68]

Simultaneous isolation of sulfonamide resistance gene class (sul I, II) and Integron Class I in Shigella Sonnei isolated from clinical samples in Kerman province using Multiplex-PCR

Javedini A [1], Soltanibanavandi M [2], Sadatabatabaeebafroee A[3], Amini K[4]*

(Received: November 21, 2016 Accepted: January 1, 2017)

Abstract

Introduction: Shigella infections caused by gram-negative bacilli intestinal has created problems in the developed and developing countries. Indiscriminate use of antibiotics, regardless of the resistance has caused the emergence of resistant strains. The aim of this study was to investigate the prevalence of sulfonamide resistance genes and class 1 integron in Shigella sonnei strains isolated from patients with diarrhea and determination of antibiotic susceptibility of the isolates.

Materials &methods: A total of 60 isolates were collected out of the Shigella Sonnei bacteria isolated from fecal infection at Kerman hospitals and cultured in specific media and then confirmed by biochemical tests. Sulfonamide resistance genes were studied including sulI and sulII and intI1 by Multiplex-PCR methods. Antibiotic susceptibility was determined to 8 isolates to different antibiotics by disk diffusion method.

Findings: As a result, M-PCR was found in one-sample SulI genes and gene sulII genes in 32 samples, but intI1 gene was not detected in any of the strains. The results demonstrated the greatest resistance to antibiotic of Nalidixic acid (96.6%) and the highest sensitivity to ciprofloxacin(92.1%), respectively.

Conclusion & discussion: Our study proved the resistance of Shigella sonnei strains to antibiotics. Therefore, it is essential to take deep medical care and conduct an appropriate use of antibiotics to prevent the spread of resistant strains. In addition, it was found that the gene sulII was the most frequent resistance gene to sulfonamide.

Keywords: shigella sonnei, sulI, sulII, class 1 integron, multiplex-PCR.

1. Dept of Microbiology, Sirjan Branch, Islamic Azad University, Sirjan, Iran
2. Dept of Microbiology, Kerman Branch, Islamic Azad University, Kerman, Iran
3. Dept of Biology, Faculty of Basic Sciences, East Tehran Branch (Ghiamdasht), Islamic Azad University, Tehran, Iran
4. Dept of Microbiology, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran
**Corresponding author Email: dr_kumarss_amini@yahoo.com*

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-28]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.68]