مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و پنجم/شماره‌ی ٤٤٦/هفته‌ی دوم آبان ماه ۱۳۹۶

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۶/۷
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۷/۱۵

بررسی مولکولی اینتگرون‌های کلاس I و II در میان ایزوله‌های اشرشیاکلی جدا شده از عفونت‌های دستگاه ادراری کودکان بیمارستان امام رضای (ع) شهر کرمانشاه

سیاوش وزیری[۱]، رامین عبیری[۲]، فیض‌اله منصوری[۱]، امیر هوشنگ الوندی[۲]، محسن عزیزی[۳]، بنفشه حسنوند[۳]، مریم میرزایی[۴]، میترا همتی[۵]، کمال احمدی[۳]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: انتقال ژن‌های مقاومت دارویی از طریق اینتگرون‌ها، شایع‌ترین راه گسترش مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی و به دنبال آن، پیدایش گونه‌های دارای مقاومت دارویی چندگانه (Multidrug resistance یا MDR) است. هدف از انجام مطالعه‌ی حاضر، تعیین فراوانی اینتگرون‌های کلاس I و II در میان ایزوله‌های اشرشیاکلی جدا شده از عفونت‌های دستگاه ادراری کودکان در کرمانشاه بود.

روش‌ها: در این پژوهش توصیفی- مقطعی، ۸۹ ایزوله‌ی اشریشیاکلی جمع‌آوری شد. پس از تأیید ایزوله‌ها با تست‌های اختصاصی بیوشیمیایی، حساسیت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها با روش دیسک دیفیوژن مورد سنجش قرار گرفت. فراوانی اینتگرون‌های کلاس I و II با استفاده از پرایمرهای اختصاصی آن‌ها و روش Polymerase chain reaction (PCR) تعیین گردید.

یافته‌ها: از میان ۸۹ نمونه‌ی مورد بررسی، ۵۳ ایزوله (۵۹/۳ درصد) دارای MDR بود. بیشترین میزان مقاومت نسبت به آمپی‌سیلین (۸۵/۴ درصد) و کوتریموکسازول (۶۸/۵ درصد) و کمترین میزان مقاومت نسبت به ایمی‌پنم (۱۲/۴ درصد) و نیتروفورانتوئین (۱۶/۸ درصد) مشاهده شد. فراوانی اینتگرون‌های کلاس I و II به ترتیب ۷۱/۹ و ۳/۵ درصد بود. ارتباط معنی‌داری بین فراوانی اینتگرون‌ها و مقاومت به تتراسایکلین و جنتامایسین وجود داشت ($P < ۰/۰۵۰$).

نتیجه‌گیری: علاوه بر فراوانی بالای ایزوله‌های دارای MDR، شیوع اینتگرون‌های کلاس I در ایزوله‌های جداسازی شده‌ی اشرشیاکلی بیشتر بود. در نتیجه، شناسایی فراوانی اینتگرون‌ها و ارتباط آن‌ها با الگوهای مقاومت دارویی در ایزوله‌های باکتریایی ضروری به نظر می‌رسد.

واژگان کلیدی: اینتگرون، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، اشرشیاکلی

ارجاع: وزیری سیاوش، عبیری رامین، منصوری فیض‌اله، الوندی امیر هوشنگ، عزیزی محسن، حسنوند بنفشه، میرزایی مریم، همتی میترا، احمدی کمال. **بررسی مولکولی اینتگرون‌های کلاس I و II در میان ایزوله‌های اشرشیاکلی جدا شده از عفونت‌های دستگاه ادراری کودکان بیمارستان امام رضای (ع) شهر کرمانشاه.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۶؛ ۳۵ (۴۴۶): ۱۱۷۷-۱۱۷۱

مقدمه

از جمله شایع‌ترین عفونت‌های باکتریال در بیشتر سنین به ویژه کودکان و نوزدان، عفونت‌های دستگاه ادراری (Urinary tract infections یا UTIs) می‌باشد. اگرچه فراوانی شیوع UTIs بیشتر در دختران وجود دارد، اما در سال اول تولد پسرها بیشتر رخ می‌دهد (۱). عامل اصلی ایجاد کننده‌ی UTIs در انسان، باکتری اشرشیاکلی (Escherichia coli) می‌باشد (۲). درمان به موقع و مناسب این عفونت‌ها به دلیل عوارض خطرناکی همچون اختلالات دستگاه ادراری، اورمی، پرفشاری خون و حتی مرگ، اهمیت بسیار زیادی دارد (۳). انتخاب آنتی‌بیوتیک‌های مناسب در درمان عفونت‌ها به دلایلی از جمله کاهش احتمال ایجاد

۱- دانشیار، گروه بیماری‌های عفونی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
۲- دانشیار، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
۳- گروه میکروب‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
۴- گروه آمار زیستی و اپیدمیولوژی، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
۵- دانشیار، گروه کودکان، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: کمال احمدی
Email: kamal.ahmadi55@yahoo.com

عوارض ثانویه آن‌ها و همچنین، جلوگیری از هدررفت هزینه‌ها در استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های غیر ضروری، دارای اهمیت فراوانی است (۴).

امروزه مسأله‌ی مقاومت‌های دارویی به دلایلی از جمله استفاده‌ی بی‌رویه و نامناسب از آنتی‌بیوتیک‌های مختلف که علاوه بر ایجاد ایزوله‌های باکتریایی مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها، باعث اختلال در روند درمان عفونت‌ها شده، به یکی از چالش‌های اصلی در روند درمان عفونت‌ها تبدیل شده است (۶-۵). عناصر ژنتیکی مختلف شامل پلاسمیدها، ترانسپوزون‌ها و اینتگرون‌ها نقش مهمی را در گسترش هرچه بیشتر مقاومت‌های دارویی و حتی ایجاد ایزوله‌های دارای مقاومت دارویی چندگانه (Multidrug resistance یا MDR) ایفا می‌کنند (۷). از میان این عناصر ژنتیکی متحرک، اینتگرون‌ها به دلیل دارا بودن یک سیستم نوترکیبی خاص (Site-specific recombination) که باعث ورود و بیان کاست‌های ژنی (Gene cassette) متنوع و در نتیجه، گسترش بیشتر ژن‌های مقاومت دارویی می‌شوند، از اهمیت زیادی برخوردار هستند (۸).

انتقال افقی اینتگرون‌ها، مؤثرترین راه گسترش ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی و ایجاد ایزوله‌های MDR محسوب می‌شود (۹). اینتگرون‌ها، عناصر ژنتیکی متحرکی (Mobile genetic elements یا MGEs) هستند که با قرارگیری در داخل پلاسمیدها، کروموزوم‌ها و ترانسپوزون‌ها، ژن‌های مقاومتی موجود در کاست ژنی را حمل می‌کنند. تاکنون شش کلاس از اینتگرون‌ها بر اساس اینتگرازهای مختلفی که کد می‌کنند، شناخته شده است. شناسایی کلاس‌های مختلف اینتگرون‌ها در باکتری‌ها، بر اساس ژن کد کننده‌ی اینتگراز (Int) آن‌ها است (۱۰). شایع‌ترین اینتگرون شناسایی شده، مربوط به کلاس I و دارای ژن sull می‌باشد. کلاس II اینتگرون‌ها در ترانسپوزن‌های Tn۷ و کلاس III آن‌ها حاوی ژن‌های متالوبتالاکتاماز (Metallo-beta-lactamases یا MBLs) هستند (۱۱). اینتگرون‌ها در انتقال تعداد زیادی از ژن‌های مقاومت دارویی و در نتیجه، ایجاد مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف شامل بتالاکتام‌ها، ماکرولیدها، آمینوگلیکوزیدها و سایر موارد نقش دارند (۱۲). هدف از انجام مطالعه‌ی حاضر، تعیین فراوانی اینتگرون‌های کلاس I و II در میان ایزوله‌های اشرشیاکلی جدا شده از عفونت‌های دستگاه ادراری کودکان در کرمانشاه بود.

روش‌ها

این پژوهش توصیفی- مقطعی در سال ۱۳۹۵ و در یک بازه‌ی زمانی ۱۱ ماهه، بر روی ۸۹ ایزوله‌ی اشرشیاکلی جداسازی شده از نمونه‌های ادراری کودکان کمتر از ۱۲ سال بیمارستان امام رضای (ع) شهر کرمانشاه انجام گرفت. نمونه‌ها پس از جمع‌آوری و انتقال به آزمایشگاه، با استفاده از لوپ استاندارد در شرایط استریل بر روی محیط‌های اختصاصی Eosin Methylene Blue (EMB) آگار و MacConkey آگار کشت داده شد. سپس جهت شناسایی حضور باکتری اشرشیاکلی، از تست‌های اختصاصی شامل کشت در محیط Triple Sugar Iron (TSI)، Methyl Red-Voges-Proskauer (MR-VP)، Sulfide-Indole-Motility (SIM)، Lysine Iron Agar (LIA)، سیترات و اوره استفاده گردید.

پس از شناسایی، ایزوله‌های اشرشیاکلی با قرار گرفتن در محیط کشت Tryptic soy broth (TSB) و دمای ۷۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس برای شناسایی حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها، ۱۳ دیسک آنتی‌بیوتیکی (شرکت MAST، انگلستان) شامل آمپی‌سیلین، تتراسایکلین، سفوتاکسیم، سفتازیدیم، سفالکسین، کوتریموکسازول، ایمی‌پنم، آمیکاسین، جنتامایسین، سیپروفلوکساسین، نالیدیکسیک اسید، نیتروفورانتوئین و کلرامفنیکل با کمک روش دیسک دیفیوژن آگار مورد استفاده قرار گرفت. بدین منظور، در ابتدا سوسپانسیونی از کشت باکتری پس از مقایسه با استاندارد ۰/۵ McFarland بر روی محیط Muller-Hinton (شرکت Merck، آلمان)کشت داده شد و دیسک‌های مورد بررسی با فاصله مناسب از هم بر روی آن‌ها قرار گرفت و پس از انکوباسیون، نتایج آن‌ها با جداول استاندارد Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) مقایسه گردید (۱۳).

جهت کنترل کیفی، از سویه‌ی استاندارد E.coli ATCC 25922 استفاده شد. ایزوله‌هایی که حداقل به سه کلاس آنتی‌بیوتیکی مختلف مقاوم بودند، به عنوان ایزوله‌های MDR در نظر گرفته شدند. برای استخراج DNA کروموزومی ایزوله‌ها نیز از روش جوشاندن (Boiling) استفاده گردید. برای این کار، چندین کلنی خالص باکتری در ۰/۵ میلی‌لیتر آب مقطر استریل حل شد و پس از ۵ دقیقه جوشاندن و خنک شدن، در مرحله‌ی بعد با سرعت ۷۰۰۰ دور به مدت ۱ دقیقه سانتریفوژ گردید. محلول رویی جهت انجام واکنش Polymerase chain reaction (PCR) به لوله‌های اپندورف جدید منتقل شد و به عنوان DNA باکتری به کار رفت. سپس واکنش PCR جهت شناسایی ژن‌های اینتگرون کلاس I و II با استفاده از پرایمرهای اختصاصی آن‌ها (۱۴) با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۱۲/۵ میکرولیتر MasterMix، ۱ میکرولیتر از هر کدام از پرایمرها، ۲ میکرولیتر DNA باکتری و آب مقطر استریل تا حجم ۲۵ میکرولیتر انجام گرفت.

سیکل دمایی واکنش PCR برای هر دو ژن اینتگرون شامل دناتوراسیون اولیه با دمای ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه و سپس ۳۵ سیکل اصلی طبق جدول ۱ و در پایان طویل شدن نهایی در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۸ دقیقه بود.

جدول ۱. پرایمرها و سیکل‌های دمایی مورد استفاده در واکنش PCR (Polymerase chain reaction) (۱۴)

پرایمر	توالی (′۳–′۵)	۳۵ سیکل			
		دناتوراسیون (۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد)	آنیلینگ (۵۴ درجه‌ی سانتی‌گراد)	طویل شدن (۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد)	اندازه‌ی محصول (جفت باز)
اینتگرون کلاس I	F:CAGTGGACATAAGCCTGTTC R:CCCGACGCATAGACTGTA	s۳۰	s۶۰	min۲	۱۶۰
اینتگرون کلاس II	F:TTGCGAGTATCCATAACCTG R:TTACCTGCACTGGATTAAGC	s۳۰	s۶۰	min۲	۲۸۸

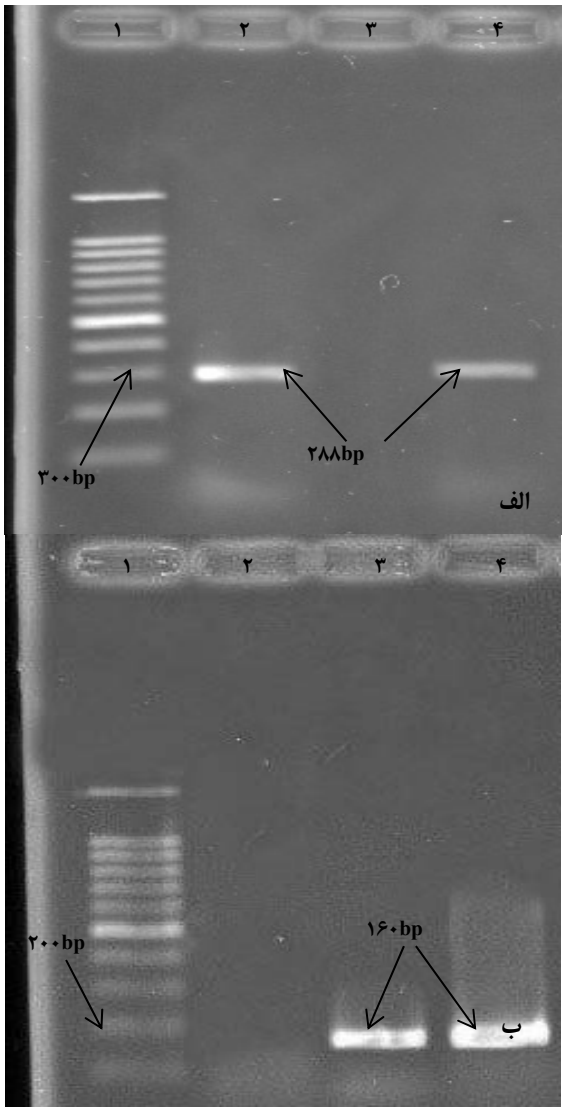
در نهایت، محصولات PCR با استفاده از الکتروفورز و رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید (Ethidium bromide) مورد بررسی قرار گرفت. داده‌ها با استفاده از آزمون χ^2 در نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۰ (version 20, IBM Corporation, Armonk, NY) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. $P < ۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

از مجموع ۸۹ ایزوله‌ی اشرشیاکلی شناسایی شده، ۵۸ ایزوله (۶۵/۲ درصد) مربوط به دختران و ۳۱ ایزوله (۳۴/۸ درصد) مربوط به پسران بود. بیشترین میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها نسبت به آمپی‌سیلین (۸۵/۴ درصد) و کوتریموکسازول (۶۸/۵ درصد) و کمترین مقاومت آن‌ها نسبت به ایمی‌پنم (۱۲/۴ درصد) و نیتروفورانتوئین (۱۶/۸ نیتروفورانتوئین) مشاهده شد. مقاومت نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها شامل سفالکسین، نالیدیکسیک اسید، تتراسایکلین، جنتامایسین، کلرامفنیکل، سفوتاکسیم، سفتازیدیم، سیپروفلوکساسین و آمیکاسین به ترتیب ۶۶/۳، ۶۰/۷، ۵۵/۱، ۴۹/۴، ۴۴/۹، ۴۲/۷، ۴۱/۵، ۳۸/۲ و ۳۷/۱ درصد بود. از مجموع ۸۹ ایزوله، ۵۳ ایزوله (۵۹/۶ درصد) دارای MDR بودند. نتایج واکنش PCR جهت شناسایی ژن‌های I و II به ترتیب ۶۴ (۷۱/۹ درصد) و ۳ (۳/۵ درصد) تعیین گردید (شکل ۱). با توجه به نتایج جدول ۲، ارتباط معنی‌داری بین فراوانی اینتگرون‌ها و مقاومت به دو آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین و جنتامایسین وجود داشت ($P < ۰/۰۵۰$)، اما در سایر موارد رابطه‌ی معنی‌داری مشاهده نگردید ($P > ۰/۰۵۰$).

بحث

گسترش مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج، باعث بروز مشکلات فراوانی در زمینه‌ی درمان عفونت‌های باکتریال گوناگون از جمله عفونت‌های ادراری شده است (۱۵). یکی از عوامل ایجاد کننده‌ی مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی، گسترش ژن‌های مقاومت می‌باشد. در مطالعه‌ی حاضر، سطح بالایی از مقاومت‌های دارویی نسبت به بیشتر آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله کوتریموکسازول و آمپی‌سیلین مشاهده شد که با نتایج تحقیقات سایر کشورها (۱۷–۱۶) همخوانی داشت.



شکل ۱. نتایج PCR (Polymerase chain reaction) ژن‌های اینتگرون کلاس I و II

الف. اینتگرون کلاس I (۱: نشانگر ۱۰۰ جفت باز، ۲: کنترل منفی، ۳ و ۴: نمونه‌ی مثبت با ۱۶۰جفت باز)؛ ب. اینتگرون کلاس II (نشانگر با ۱۰۰ جفت باز، ۲ و ۴: نمونه‌ی مثبت با ۲۸۸ جفت باز و ۳: کنترل منفی)..

جدول ۲. ارتباط بین وجود اینتگرون‌ها و مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌ها

حساسیت آنتی‌بیوتیکی (تعداد ایزوله)		ایزوله‌های اینتگرون مثبت [تعداد (درصد)]	مقدار P
سفتازیدیم	مقاوم (۳۷)	۲۶ (۷۰/۳)	۰/۴۷۷
	حساس (۵۲)	۳۸ (۷۳/۰)	
سفوتاکسیم	مقاوم (۳۸)	۲۹ (۷۶/۳)	۰/۲۸۹
	حساس (۵۱)	۳۵ (۶۸/۶)	
نالیدیکسیک اسید	مقاوم (۵۳)	۴۱ (۷۷/۳)	۰/۱۲۶
	حساس (۳۶)	۲۳ (۶۳/۹)	
کوتریموکسازول	مقاوم (۶۱)	۴۲ (۶۸/۹)	۰/۲۴۷
	حساس (۲۸)	۲۲ (۷۸/۶)	
جنتامایسین	مقاوم (۴۴)	۳۸ (۸۶/۴)	۰/۰۰۳*
	حساس (۴۵)	۲۶ (۵۷/۸)	
آمیکاسین	مقاوم (۳۳)	۲۴ (۷۲/۷)	۰/۵۴۸
	حساس (۵۶)	۴۰ (۷۱/۴)	
ایمی‌پنم	مقاوم (۱۱)	۸ (۷۲/۷)	۰/۶۲۹
	حساس (۷۸)	۵۶ (۷۱/۸)	
سیپروفلوکساسین	مقاوم (۳۴)	۲۷ (۷۹/۴)	۰/۱۶۰
	حساس (۵۵)	۳۷ (۶۷/۲)	
نیتروفورانتوئین	مقاوم (۱۵)	۱۱ (۷۳/۴)	۰/۵۸۳
	حساس (۷۴)	۵۳ (۷۱/۶)	
تتراسایکلین	مقاوم (۵۰)	۴۰ (۸۰/۰)	۰/۰۴۶*
	حساس (۳۹)	۲۴ (۶۱/۵)	
آمپی‌سیلین	مقاوم (۷۴)	۵۲ (۷۰/۳)	۰/۳۳۷
	حساس (۱۵)	۱۲ (۸۰/۰)	
کلرامفنیکل	مقاوم (۴۱)	۳۲ (۷۸/۰)	۰/۱۷۰
	حساس (۳۸)	۳۲ (۶۶/۷)	
سفالکسین	مقاوم (۵۹)	۴۰ (۶۷/۸)	۰/۱۶۹
	حساس (۳۰)	۲۴ (۸۰/۰)	

*معنی‌داری در سطح $P < ۰/۰۵۰$

Murshed و همکاران در پژوهش خود، سطح مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین، سفالکسین، تتراسایکلین، کوتریموکسازول، جنتامایسین و کلرامفنیکل را به ترتیب ۹۶، ۷۹، ۷۷، ۷۵، ۵۴ و ۵۰ درصد گزارش کردند (۱۸). کارگر و همکاران با انجام مطالعه‌ای در یاسوج، میزان بالایی از مقاومت را در ایزوله‌های اشرشیاکلی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین (۹۲/۰ درصد)، کوتریموکسازول (۷۹/۸ درصد)، نالیدیکسیک اسید (۶۶/۷ درصد)، تتراسایکلین (۵۹/۴ درصد)، سفالکسین (۵۶/۵ درصد)، آمیکاسین (۲۱/۷ درصد) و کلرامفنیکل (۱۴/۵ درصد) عنوان کردند (۱۹). نتایج بررسی حاضر نیز در راستای مطالعات مذکور (۱۹-۱۸)، حاکی از مقاومت بالای اشرشیاکلی نسبت به بیشتر این آنتی‌بیوتیک‌ها بود و بیشترین مقاومت نسبت به آمپی‌سیلین (۸۵/۴ درصد) و کوتریموکسازول (۶۸/۵ درصد) مشاهده شد. همچنین، مؤثرترین آنتی‌بیوتیک‌ها علیه ایزوله‌های مورد بررسی، ایمی‌پنم و نیتروفورانتوئین می‌باشد که نتایج به دست آمده در این زمینه با یافته‌های تحقیق رنجبران و همکاران (۱۲) مشابهت داشت.

در مطالعات مختلف، درصد ایزوله‌های MDR باکتری اشرشیاکلی از ۴۲/۷ تا ۸۷/۱ درصد گزارش شده است (۲۰-۱۹، ۱۰). درصد ایزوله‌های MDR در بررسی حاضر، ۵۹/۶ درصد بود. از جمله دلایل تفاوت در نتایج مقاومت‌های دارویی گزارش شده در مطالعات مختلف، می‌توان به عواملی همچون تفاوت در الگوهای مصرف داروها، نوع آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده و تفاوت‌های جغرافیایی اشاره نمود (۱۹، ۱). اینتگرون‌ها از جمله عوامل مؤثر در گسترش مقاومت‌های دارویی به ویژه ایزوله‌های MDR به شمار می‌روند. فراوانی اینتگرون‌های کلاس I و II به ترتیب ۶۴ (۷۱/۹ درصد) و ۳ (۳/۵ درصد) تعیین گردید که شیوع اینتگرون کلاس I بیشتر از کلاس II بود و با برخی تحقیقات (۲۳-۲۰) همخوانی داشت. معصومیان و حقی نیز در پژوهش خود، فراوانی این دو اینتگرون را به ترتیب ۹۰/۵ و ۷/۵ درصد عنوان کردند (۲۰). در مطالعه‌ی دیگری نیز فراوانی اینتگرون‌های کلاس I و II به ترتیب ۵۷/۳ و ۳/۸ درصد گزارش شد (۲۱). در سایر مطالعات نیز بیشترین شیوع در اینتگرون کلاس I مشاهده شده است (۲۳-۲۲).

فرشاد و همکاران در تحقیق خود، اینتگرون کلاس II را به عنوان شایع‌ترین اینتگرون در ایزوله‌های باکتری اشرشیاکلی گزارش کردند (۲۴) که با نتایج مطالعه‌ی حاضر همسو نبود. فراوانی اینتگرون کلاس II در پژوهش کارگر و همکاران، ۷۶/۸۱ درصد برآورد شد (۱۹) که از این نظر با نتایج بررسی حاضر متفاوت بود. در برخی از تحقیقات صورت گرفته، تفاوت معنی‌داری بین فراوانی اینتگرون‌ها و مقاومت به بعضی آنتی‌بیوتیک‌ها مشاهده شده است (۲۳، ۱۲-۱۱). نتایج مطالعه‌ی حاضر نیز در این راستا، رابطه‌ی معنی‌داری را بین فراوانی اینتگرون‌ها و مقاومت به بعضی آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله تتراسایکلین و جنتامایسین نشان داد.

در تحقیق Rao و همکاران، به ترتیب ۷۰ و ۴۹ درصد از ایزوله‌های کلبسیلا و اشرشیاکلی دارای اینتگرون کلاس I بودند و ارتباط معنی‌داری بین حضور اینتگرون و مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین، توبرامایسین،کوتریموکسازول، سفتازیدیم و سفپودوکسیم مشاهده گردید (۲۵). در پژوهش دیگری که بر روی ایزوله‌های اشرشیاکلی انجام شد، سطح پایینی از فراوانی اینتگرون کلاس I (۴۱/۹ درصد) گزارش شد. همچنین، مقاومت

آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها نسبت به سفالوسپورین‌های مختلف، آمینوگلیکوزیدها، کوتریموکسازول و نیتروفورانتوئین پایین بود (۲۶). در مطالعه‌ی حاضر، فراوانی بالاتری از اینتگرون کلاس I (۷۱/۹ درصد) به همراه مقاومت بالا در برابر آنتی‌بیوتیک‌های ذکر شده مشاهده شد. در نتیجه، یکی از دلایل وجود مقاومت دارویی بالای اشرشیاکلی در بررسی حاضر را می‌توان فراوانی بالای اینتگرون کلاس I و ارتباط آن با این موضوع عنوان کرد. این یافته می‌تواند نشان دهنده‌ی قرارگیری ژن‌های مقاومت به این آنتی‌بیوتیک‌ها در داخل اینتگرون‌ها باشد. نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که علاوه بر مقاومت دارویی بالا و فراوانی ایزوله‌های دارای MDR، شیوع اینتگرون‌های کلاس I در ایزوله‌های اشرشیاکلی مورد بررسی زیاد می‌باشد. بیشترین حساسیت این ایزوله‌ها در برابر ایمی‌پنم و نیتروفورانتوئین بود. در نتیجه، شناسایی ایزوله‌های دارای اینتگرون و ارتباط آن با الگوهای مقاومت دارویی در آن‌ها، برای به کارگیری برنامه‌های پیشگیری از گسترش هرچه بیشتر ایزوله‌های دارای مقاومت آنتی‌بیوتیکی بالا ضروری به نظر می‌رسد.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر برگرفته از طرح تحقیقاتی با شماره ۹۵۵۳۹ می‌باشد. بدین وسیله از معاونت تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه به جهت حمایت مالی این تحقیق تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

References

1. Yousefi-Fatmesari G, Hemmati M, Mortazavi SH, Mansouri F, Azizi M, Etemadimajd M, et al. Frequency of blaCTX-M, blaTEM, and blaSHV genes in Escherichia coli isolated from urine samples of children in Kermanshah City, Iran. J Isfahan Med Sch 2017; 35(430): 551-7. [In Persian].
2. Eslami M, Ghanbarpour R. Determination of P, S and Afa fimbria coding genes in Escherichia coli isolates from urinary tract infections. J Isfahan Med Sch 2015; 33(331): 546-53. [In Persian].
3. Khalili M B, Sharifi Yazdi M K, Ebadi M, Sadeh M. Correlation between urine analysis and urine culture in the diagnosis of urinary tract infection in Yazd central laboratory. Tehran Univ Med J 2007; 6(9): 53-8. [In Persian].
4. Mehr SS, Powell CV, Curtis N. Cephalosporin resistant urinary tract infections in young children. J Paediatr Child Health 2004; 40(1-2): 48-52.
5. Mobasherizadeh M, Bidoki SK, Mobasherizadeh S. Prevalence of CTX-M genes in Escherichia coli strains in outpatient and inpatient cases with urinary tract infections in Isfahan, Iran. J Isfahan Med Sch 2016; 33(360): 2019-25. [In Persian].
6. Akya A, Mojarab M, Farshchian M, Ahmadi K. The effect of stem bark extracts of Tamarix ramosissim shrub on Pseudomonas aeruginosa isolates. Sci J Kurdistan Univ Med Sci 2014; 19(4): 128-34. [In persian].
7. Boucher Y, Labbate M, Koenig JE, Stokes HW. Integrons: Mobilizable platforms that promote genetic diversity in bacteria. Trends Microbiol 2007; 15(7): 301-9.
8. Hajiahmadi F, Safari N, Alijani P, Rabiei M, Masomian N, Arabestani M R. Assessment of the prevalence of class I and II integrons of Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae isolates from hospitals of Hamadan. Sci J Hamadan Univ Med Sci 2016; 23(3): 193-201. [In Persian].
9. Gillings MR. Integrons: past, present, and future. Microbiol Mol Biol Rev 2014; 78(2): 257-77.
10. Japoni S, Japoni A, Farshad S, Ali AA, Jamalidoust M. Association between existence of integrons and multi-drug resistance in Acinetobacter isolated from patients in southern Iran. Pol J Microbiol 2011; 60(2): 163-8.
11. Eslami G, Seyedjavadi S S, Goudarzi H, Fallah F, Goudarzi M. Distribution of integrons among multidrug resistant E. coli and Klebsiella strains. Pajouhesh Dar Pezeshki 2010; 34(1): 61-5. [In Persian].
12. Ranjbaran M, Zolfaghari M, Japoni-Nejad A, Amouzandeh-Nobaveh A, Abtahi H, Nejad M et al . Molecular investigation of integrons in Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae isolated from urinary tract infections. J Mazandaran Univ Med Sci 2013; 23 (105): 20-7. [In Persian].
13. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-second informational supplement. CLSI document M100-S22. Wayne, PA: CLSI; 2012.
14. Sun J, Zheng F, Wang F, Wu K, Wang Q, Chen Q, et al. Class 1 integrons in urinary isolates of extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae in Southern China during the past five years. Microb Drug Resist 2013; 19(4): 289-94.
15. Kahlmeter G. Prevalence and antimicrobial susceptibility of pathogens in uncomplicated cystitis in Europe. The ECO.SENS study. Int J Antimicrob Agents 2003; 22(Suppl 2): 49-52.
16. Nguyen TV, Le PV, Le CH, Weintraub A. Antibiotic resistance in diarrheagenic Escherichia coli and Shigella strains isolated from children in Hanoi, Vietnam. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49(2): 816-9.
17. Ochoa TJ, Ruiz J, Molina M, Del Valle LJ, Vargas M, Gil AI, et al. High frequency of antimicrobial drug resistance of diarrheagenic Escherichia coli in infants in Peru. Am J Trop Med Hyg 2009; 81(2): 296-301.
18. Murshed M, Shahnaz S, Abdul Malek M. Detection of resistance gene marker intl1 and antimicrobial

resistance pattern of E. coli isolated from surgical site wound infection in Holy Family Red Crescent Medical College Hospital. Bangladesh Journal of Medical Microbiology 2010; 4(2): 19-23.

19. Kargar M, Mohammadalipour Z, Doosti A, Lorzadeh S, Japoni-Nejad A. High prevalence of class 1 to 3 integrons among multidrug-resistant diarrheagenic Escherichia coli in southwest of Iran. Osong Public Health Res Perspect 2014; 5(4): 193-8.

20. Masoumian N, Haghi F. Analysis of integrons and associated gene cassettes in clinical isolates of Escherichia coli. J Zanjan Univ Med Sci 2015; 23(99): 74-82. [In Persian].

21. Ibrahim N, Wajidi MF, Yusof MY, Tay ST. The integron prevalence of extended-spectrum beta-lactamase producing enterobacterial isolates in a Malaysian teaching hospital. Trop Biomed 2011; 28(3): 668-71.

22. Ahangarzadeh RM, Langarizadeh N, Aghazadeh M. First report of class 1 and class 2 integrons in multidrug-resistant Klebsiella pneumoniae isolates from northwest Iran. Jpn J Infect Dis 2012; 65(3): 256-9.

23. Memariani M, Najar Peerayeh S, Shokouhi Mostafavi SK, Zahraei Salehi T. Detection of class 1 and 2 integrons among enteropathogenic Escherichia coli isolates. Arch Pediatr Infect Dis 2014; 2(4): e16372.

24. Farshad S, Japoni A, Hosseini M. Low distribution of integrons among multidrug resistant E. coli strains isolated from children with community-acquired urinary tract infections in Shiraz, Iran. Pol J Microbiol 2008; 57(3): 193-8.

25. Rao AN, Barlow M, Clark LA, Boring JR, III, Tenover FC, McGowan JE, Jr. Class 1 integrons in resistant Escherichia coli and Klebsiella spp., US hospitals. Emerg Infect Dis 2006; 12(6): 1011-4.

26. Falakian Z, Nikookar I, Nafisi M, Karimi A, Validi M. Frequency of class 1 integrons among Escherichia coli isolates of patients with urinary tract infection. Iran J Clin Infect Dis 2011; 6(4): 157-60.

Journal of Isfahan Medical School

Vol. 35, No. 446, 2nd Week, November 2017

Received: 29.08.2017

Accepted: 07.10.2017

The Molecular Investigation of Class 1 and 2 Integrons among the Escherichia Coli Isolated from Urine Samples of Children in Imam Reza Hospital, Kermanshah City, Iran, in 2016

Siavash Vaziri[1], Ramin Abiri[2], Faizullah Mansouri[1], Amirhooshang Alvandi[2], Mohsen Azizi[3], Banafsheh Hasanvand[3], Maryam Mirzaei[4], Mitra Hemmati[5], Kamal Ahmadi[3]

Original Article

Abstract

Background: One of the most successful advances in bacteria is transmission of antibiotic resistance genes by integrons, which leads to the emergence of multiple drug resistant (MDR) species. The aim of this study was to determine the prevalence of class 1 and 2 integron among Escherichia coli (E. coli) isolated from children with urinary tract infection (UTI) in Imam Reza hospital, Kermanshah City, Iran, in 2016.

Methods: In this cross-sectional study, 89 Escherichia coli isolates were collected. After identification by biochemical tests, and evaluating antibiotic susceptibility tests using disk diffusion method, the frequency of class 1 and 2 integron were determined using specific primers and polymerase chain reaction (PCR) methods.

Findings: Of total of 89 studied samples, 53 (59.03%) isolates were multiple-drug resistant. The highest antibiotic resistance of isolates was to ampicillin (85.4%), and co-trimoxazole (68.5%), and the lowest was to imipenem (12.4%) and nitrofurantoin (16.8%). Frequency of class 1 and class 2 integron were 71.9% and 3.5%, respectively. There was significant relationship between the frequency of integrons and resistance to tetracycline and gentamicin ($P < 0.05$).

Conclusion: The results showed that, in addition to the high prevalence of multiple-drug resistant isolates, the frequency of class I integron was also high in Escherichia coli species. Therefore, identifying frequency of integrons and their relationship with drug resistance patterns in bacterial isolates seems to be necessary.

Keywords: Integron, Antibiotic resistance, Escherichia coli

Citation: Vaziri S, Abiri R, Mansouri F, Alvandi A, Azizi M, Hasanvand B, et al. **The Molecular Investigation of Class 1 and 2 Integrons among the Escherichia Coli Isolated from Urine Samples of Children in Imam Reza Hospital, Kermanshah City, Iran, in 2016.** J Isfahan Med Sch 2017; 35(446): 1171-7.

1- Associate Professor, Department of Infectious Diseases, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
2- Associate Professor, Department of Microbiology, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
3- Department of Microbiology, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
4- Department of Biostatistics and Epidemiology, School of Health, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
5- Associate Professor, Department of Pediatrics, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
Corresponding Author: Kamal Ahmadi, Email: kamal.ahmadi55@yahoo.com