Journal of Microbial World
Volume 16, No. 3, December 2023

Original Article

Antibiotic resistance and presence of integron class 1 and class 2 genes amongst *Escherichia coli* isolates of urine specimens of inpatients and outpatients in Ahvaz, southern of Iran

Abbas Farahani[1], Mahsa Dastranj[2], Jebreil Shamseddin[3], Hojat Veisi[2], Saber Soltani[4], Hadi Kalantar[5]

[1] Department of Medical Laboratory Sciences, Khomein University of Medical Sciences, Khomein, Iran. [2] Student Research Committee, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran. [3] Infectious and Tropical Diseases Research Center, Hormozgan Health Institute, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran. [4] Department of Virology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. [5] Department of Toxicology, School of Pharmacy, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.

Abstract

Background &Objectives: Integrons play an essential role in spreading antibiotic resistance genes among Escherichia coli isolates. The aim of this study was to determine the prevalence of class 1 and 2 integrons amongst *Escherichia coli* isolates producing broad-spectrum beta-lactamases (ESBLs) in patients with urinary tract infections referred to Ahvaz teaching Hospital in 2017-2018.

Materials & Methods: In this cross-sectional descriptive study, isolates were determined using conventional methods. Antibiotic susceptibility was measured by agar disc diffusion method. Production of ESBLs enzymes was measured via double disc method. Finally, presence of genes related to class 1 and 2 integrons was done using specific primers and Polymerase chain reaction method. Amongst 123 *Escherichia coli* ESBLs producing isolates the highest resistance was related to Cefotaxime, Ceftazidime, Cotrimoxazole and Nalidixic acid, respectively, and the least resistance was related to Imipenem.

Results: About 84 (68.29%) isolates had multiple drug resistance (MDR). Additionally, 93 (75.60 %) isolates had class 1 integron and 11 (8.94 %) isolates had class 2 integron. There were no significant relationships between the presence of integrons and resistance to different antibiotics ($p > 0.05$).

Conclusion: High prevalence of class 1 integron amongst *Escherichia coli* isolates producing broad-spectrum β-lactamase may contribute to resistance to common antibiotics. Therefore, identifying frequency of integrons and their relationship with drug resistance patterns seems to be necessary.

Keywords: *Escherichia coli*, antibiotic resistance, Extended-Spectrum β-Lactamase, Integrons.

Received: 12 June 2023 Revised: 6 August 2023 Accepted: 16 November 2023

Correspondence to: Hojat Veisi
Tel: +98 9167783643
E-mail: hojatveisi1@gmail.com

Journal of Microbial World 2023, 16 (3): 167 - 177
DOI:10.30495/jmw.2023.1982309.2057

Copyright © 2019, This article is published in Journal of Microbial World as an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License. Non-commercial, unrestricted use, distribution, and reproduction of this article is permitted in any medium, provided the original work is properly cited.

مجله دنیای میکروب‌ها
سال شانزدهم شماره سوم (پیاپی ٥٦) پاییز ١٤٠٢
صفحات ١٧٧ –١٦٧

Original Article

مقاومت آنتی‌بیوتیکی و حضور ژن‌های اینتگرون کلاس ۱ و ۲ در میان جدایه‌های *اشریشیاکلی* جداشده از نمونه‌های ادرار بیماران بستری و سرپایی شهر اهواز، جنوب ایران

عباس فراهانی[۱]، مهسا دست رنج[۲]، جبرئیل شمس الدین[۳]، حجت ویسی[۲*]، صابر سلطانی[٤]، هادی کلانتر[٥]

[۱] استادیار، گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده علوم پزشکی خمین، خمین، ایران. [۲] کارشناسی ارشد، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی جندیشاپور اهواز، اهواز، ایران. [۳] استادیار، مرکز تحقیقات بیماریهای عفونی و گرمسیری، پژوهشکده سلامت هرمزگان، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، بندرعباس، ایران. [٤] دکتری، گروه ویروس شناسی پزشکی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران. [٥] استادیار، گروه سم شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران.

چکیده

سابقه و هدف: اینتگرون‌ها نقش اساسی در انتشار ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین جدایه‌های *اشریشیاکلی* دارند. هدف از این مطالعه، تعیین شیوع اینتگرون‌های کلاس ۱ و ۲ در میان جدایه‌های *اشریشیاکلی* مولد بتالاکتامازهای وسیع الطیف (ESBLs) جداشده از بیماران مبتلا به عفونت‌های دستگاه ادراری مراجعه کننده به بیمارستان آموزشی اهواز در سال ۱۳۹۷-۱۳۹٦ بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه توصیفی- مقطعی، جدایه‌ها با استفاده از روش‌های مرسوم آزمایشگاهی شناسایی شدند. حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها بوسیله روش دیسک دیفیوژن آگار و تولید آنزیم‌های ESBLs با استفاده از روش Double disc مورد سنجش قرار گرفت. در نهایت حضور ژن‌های مربوط به اینتگرون‌های کلاس ۱ و ۲ با استفاده از روش PCR انجام شد. در بین ۱۲۳ جدایه *اشریشیاکلی* تولید کننده ESBLs، بیشترین میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی به‌ترتیب نسبت به سفوتاکسیم، سفتازدیدیم، کوتریموکسازول، نالیدیکسیک اسید و کمترین مقاومت آن‌ها نسبت به ایمی‌پنم مشاهده شد.

یافته‌ها: تعداد ٨٤ (٦٨/٢٩ درصد) جدایه دارای مقاومت دارویی چندگانه (MDR) بودند. تعداد ۹۳ (۷۵/٦۰ درصد) جدایه دارای اینتگرون کلاس ۱ و ۱۱ (۸/۹٤ درصد) جدایه دارای اینتگرون کلاس ۲ بودند. ارتباط معنی‌داری بین حضور اینتگرون و مقاومت به آنتی بیوتیک‌های مختلف مشاهده نشد ($P > 0/05$).

نتیجه‌گیری: شیوع بالای اینتگرون کلاس ۱ در بین جدایه‌های *اشریشیاکلی* مولد بتالاکتاماز وسیع الطیف ممکن است به مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج، کمک کند. بنابراین بررسی فراوانی اینتگرون‌ها و ارتباط آن‌ها با الگوهای مقاومت آنتی‌بیوتیکی ضروری بنظر می‌رسد.

واژگان کلیدی: *اشریشیاکلی*، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، بتالاکتامازهای وسیع الطیف، اینتگرون.

دریافت مقاله: ١٤٠٢/٣/٢٢ ویرایش مقاله: ١٤٠٢/٥/١٥ پذیرش مقاله: ١٤٠٢/٨/٢٥

مقدمه

اشریشیاکلی به‌عنوان یکی از اعضای خانواده *انتروباکتریاسه*، از گروه باسیل‌های گرم منفی بی‌هوازی اختیاری می‌باشند. این باکتری از عوامل مهم ایجاد کننده عفونت‌های بیمارستانی به‌خصوص در بخش مراقبت‌های ویژه به شمار می‌رود (۱و۲). این میکروارگانیسم از شایع‌ترین علت ایجاد عفونت‌های مجاری ادراری و همچنین یک پاتوژن مهم در منتژیت نوزادان و عفونت‌های تنفسی و سپسیس در بیماران بستری در

*) آدرس برای مکاتبه: کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی جندیشاپور، اهواز، ایران.
تلفن: ۰۹۱٦۷۷۸۳٦٤۳ پست الکترونیک: hojatveisi1@gmail.com

حقوق نویسندگان محفوظ است. این مقاله با دسترسی آزاد و تحت مجوز مالکیت خلاقانه (http://creativecommons.org/licenses/bync/4.0/) در فصلنامه دنیای میکروب‌ها منتشر شده است. هرگونه استفاده غیرتجاری فقط با استناد و ارجاع به اثر اصلی مجاز است.

بخش‌های مختلف بیمارستان به‌ویژه بخش مراقبت‌های ویژه می‌باشد. مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین سویه‌های *اشریشیاکلی* بسیار شایع است و این به سبب کسب فاکتورهای مقاومت متعدد می‌باشد (۵-۳). بتالاکتامازهای وسیع الطیف (ESBLs) گروهی از آنزیم‌ها هستند که در بین *انتروباکتریاسه‌ها* رایج هستند. بتالاکتامازهای وسیع الطیف توانایی هیدرولیز نسل سوم و چهارم سفالوسپورین‌ها و مونوباکتام‌ها را دارند. اگر چه ESBLs توصیف شده در طیف وسیعی از *انتروباکتریاسه‌ها* از نقاط مختلف دنیا گزارش شده‌اند، اما آن‌ها اغلب در *اشریشیاکلی* و *کلبسیلا پنومونیه* شناسایی شده‌اند (٦).

درمان عفونت‌های ناشی از جدایه‌های باکتریایی مولد بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف بسیار مشکل می‌باشد، زیرا از یک طرف باعث مقاومت به طیف وسیعی از سفالوسپورین‌ها می‌شوند و از طرفی دیگر بسیاری از ژن‌های ESBL بر روی پلاسمیدهای بزرگی قرار دارند، که هم‌زمان سایر ژن‌های مقاومت میکروبی مثل کلرامفنیکل، سولفونامیدها، آمینوگلیکوزیدها و تتراسایکلین‌ها نیز وجود دارند. بیشتر ژن‌های مربوط به ESBLs که اخیرا طی مطالعاتی شناسایی شده‌اند، به‌طور مکرر در ساختارهایی مانند اینتگرون‌ها یافت شده‌اند. بنابراین ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی از جمله ESBLs می‌توانند بر روی اینتگرون‌ها قرار گیرند و به راحتی توسط این ساختارهای ژنتیکی گسترش یابند (۹-۷).

انتقال افقی ژن (Horizontal gene transfer) یکی از مکانیسم‌های اصلی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و پاتوژنز در میکروارگانیسم‌ها می‌باشد (۱۰). اینتگرون‌ها شامل یک سیستم کسب ژنی خاصی هستند که با یک مکانیسم منحصر به فردی، توانایی ورود به سلول جدید و نیز بیان کاست‌های ژنی خود را دارند.

این سیستم برروی عناصر ژنتیکی متحرک قرار داشته و پتانسیل زیادی برای انتقال ژن‌های مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها را دارا می‌باشند (۸و۹و۱۱). اینتگرون‌های کدکننده مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها را می‌توان به چهار کلاس تقسیم کرد که هر کلاس واجد اینتگراز خاص خود است.

اینتگرون کلاس ۱ شایع‌ترین اینتگرون از لحاظ انتشار در گونه‌های بالینی می‌باشد به‌طوری که در ۲۲ تا ۵۹ درصد از گونه‌های گرم منفی گزارش شده‌اند. کلاس ۲ اینتگرون‌ها در ترانسپوزون‌های Tn-7 قرار دارند. اینتگرون‌ها با وجود داشتن سیستم کسب کاست‌های ژنی مقاومت به آنتی‌بیوتیک که در مکان attI و با کمک آنزیم اینتگراز (IntI) وارد می‌گردد، می‌توانند موجب توسعه مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف شوند (۸). اهمیت کلینیکی اینتگرون‌ها در این است که مصرف بی رویه یک آنتی‌بیوتیک (مانندآنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام) در محیطی مانند بیمارستان، موجب فشار انتخاب طبیعی و حاکم شدن سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک می‌شوند (۱۲و۱۳).

با توجه به مطالب بیان شده، مطالعات اپیدمیولوژیکی در خصوص فراوانی جدایه‌های *اشریشیاکلی* مقاوم به آنتی‌بیوتیک حامل اینتگرون برای کنترل عفونت ضروری به نظر می‌رسد. بنابراین هدف از این مطالعه، تعیین شیوع اینتگرون‌های کلاس ۱ و ۲ در میان جدایه‌های *اشریشیاکلی* مولد بتالاکتامازهای وسیع الطیف (ESBLs) جداشده از بیماران بستری و سرپایی مبتلا به عفونت‌های دستگاه ادراری مراجعه کننده به بیمارستان آموزشی اهواز در سال ۱۳۹٦ بود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه توصیفی- مقطعی که طی فروردین ماه ۱۳۹٦ لغایت فروردین ماه ۱۳۹۷ انجام شد، نمونه‌های *اشریشیاکلی* جمع‌آوری شده از بیماران بستری و سرپایی بیمارستان آموزشی اهواز مورد بررسی قرار گرفتند. تعداد کل نمونه‌های جمع‌آوری شده *اشریشیاکلی*، ۲۰۵ جدایه بود. نمونه‌هایی که بر اساس سرشماری جمع‌آوری شده‌اند، پس از تعیین جنس و گونه، با استفاده از روش‌های مرسوم آزمایشگاهی (تست‌های بیوشیمیایی) و تائید در موارد لازم به کمک کیت API20E، در فریزر ۸۰- درجه سلسیوس تا زمان انجام بررسی تست‌های ملکولی ژن‌های دخیل در مقاومت ذخیره شدند.

الف) تست تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی: در این بررسی حساسیت آنتی‌بیوتیکی مربوط به جدایه‌های *اشریشیاکلی* مولد بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف (ESBL) به روش انتشار از دیسک در مولر هینتون آگار (روش کربی بائر) و طبق معیارهای دستورالعمل CLSI ۲۰۱۸ انجام شد (۱۴). از ۹ آنتی بیوتیک مختلف شرکت MAST شامل ایمی‌پنم (10 µg)، نالیدیکسیک اسید (30 µg)، سیپروفلوکساسین (5 µg)، افلوکساسین (5 µg)، سفتازیدیم (30 µg)، سفوتاکسیم (30 µg)، جنتامایسین (10 µg)، کوتریموکسازول (23.75/1.25 µg) و کلرامفنیکل (30 µg) جهت آنتی‌بیوگرام استفاده گردید. از سویه استاندارد *اشریشیاکلی* ATCC 25922 برای کنترل کیفی محیط‌های کشت و آنتی‌بیوگرام استفاده شد. همچنین جدایه‌هایی که حداقل به سه کلاس آنتی‌بیوتیکی مقاوم بودند را به‌عنوان جدایه‌های مقاوم به چند دارو (multidrug-resistant) در نظر گرفته شدند.

تعیین ارگانیسم‌های مولد بتالاکتامازهای وسیع الطیف (ESBLs) غربالگری ارگانیسم‌های مولد ESBL با استفاده از روش DDST (double-disk synergy test) صورت گرفت. در این روش ابتدا سوسپانسیونی از باکتری با کدورت نیم مک فارلند تهیه شد و به وسیله سوآپ استریل به روی محیط مولر هینتون آگار (pH ۷/۲۰-۷/۴۰) کشت داده شد. سپس از دیسک‌های ترکیبی سفتازیدیم/ کلاولانیک اسید (30 µg + 10 µg) در مقایسه با سفتازیدیم (30 µg) و سفوتاکسیم/ کلاولانیک اسید (30 µg + 10 µg) در مقایسه با سفوتاکسیم (30 µg) که از شرکت MAST انگلستان خریداری شده بودند استفاده شد. بعد از گرمخانه‌گذاری به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سلسیوس، قطر هاله عدم رشد مورد بررسی قرار گرفت. افزایش بیش از ۵ میلی‌متر در قطر هاله هر کدام از آنتی‌بیوتیک‌های فوق در ترکیب با کلاولانیک اسید نسبت به آنتی‌بیوتیک تنها نشانه تولید ESBL توسط باکتری خواهد بود (۶). از سویه استاندارد *کلبسیلا نومونیه* ATCC 700603 برای کنترل کیفی استفاده شد.

ب) استخراج DNA و انجام PCR: در این پژوهش از دستورالعمل استخراج DNA به روش جوشاندن (Boiling) استفاده شد. جدایه‌ها بر روی پلیت مکانکی آگار (Merck, Germany) کشت و در دمای ۳۷ درجه به مدت ۲۴-۱۸ ساعت در انکوباتور قرار گرفتند. سپس یک لوپ از منطقه اول کشت برداشته و در ۲۵۰ میکرولیتر آب مقطر تزریقی استریل حل شد. سوسپانسیون باکتری به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۹۰ درجه سلسیوس (در بن ماری ۹۰ درجه) گرماگذاری شد. سوسپانسیون به مدت ۵ دقیقه با ۱۲۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. محلول بالایی که حاوی DNA است به یک میکروتیوب خالی انتقال داده شد.

واکنش PCR جهت شناسایی ژن‌های اینتگرون کلاس ۱ و کلاس ۲ با استفاده از پرایمرهای اختصاصی که در جدول ۱ ذکر گردیده و با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر که شامل ۱۲/۵۰ میکرولیتر مسترمیکس، ۱ میکرولیتر از هر کدام از پرایمر مورد نظر، ۳ میکرولیتر DNA باکتری و در نهایت با آب مقطر استریل تا حجم ۲۵میکرولیتر انجام گرفت (۱۵).

جدول ۱: توالی پرایمرها و محل قرار گیری ژن ها بر روی ژل آگارز.

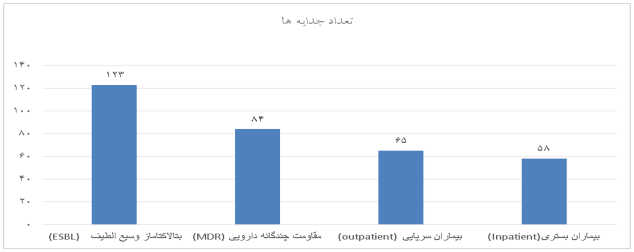
ژن	توالی پرایمر	طول قطعه (bp)	منبع
Intl 1	F: 5′ -CAGTGGACATAAGCCTGTTC -3′ R: 5′ -CCCGAGGCATAGACTGTA-3′	۱۶۰	(۱۵)
Intl 2	F: 5′ -GTAGCAAACGAGTGACGAAATG-3′ R: 5′ -CACGGATATGCGACAAAAAGGT-3′	۷۸۹	

ج) تجزیه و تحلیل داده‌ها: داده‌های به‌دست آمده توسط نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. از آزمون آماری Chi-Square جهت مقایسه مقاومت آنتی‌بیوتیکی و حضور اینتگرون‌ها در جدایه‌های *اشریشیاکلی* به‌دست آمده از بیماران سرپایی و بستری، استفاده گردید و P value کمتر از ۰/۰۵ به‌عنوان با معنی بودن آزمون در نظر گرفته شد.

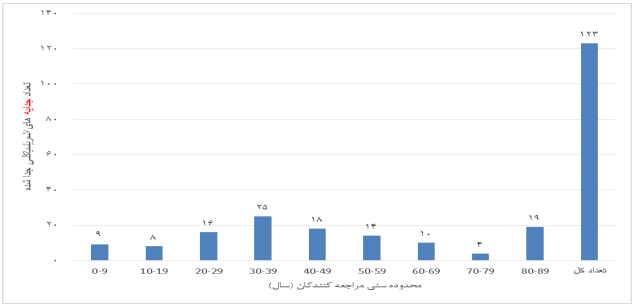
یافته‌ها

در این مطالعه ۲۰۵ جدایه باکتریایی به واسطه انجام تست‌های بیوشیمیایی تاییدی به‌عنوان *اشریشیاکلی* شناسایی شدند. تعداد ۱۲۳ جدایه تولید کننده بتالاکتاماز وسیع‌الطیف بودند، که به

عنوان جمعیت مورد بررسی در این مطالعه قرار گرفتند. همچنین از مجموع ۱۲۳ (۶۰ درصد) جدایه تولید کننده بتالاکتاماز وسیع الطیف، ۵۸ (۴۷/۱۵ درصد) جدایه مربوط به بیماران بستری و ۶۵ (۵۲/۸۵ درصد) جدایه مربوط به بیماران سرپایی بودند (شکل ۱).



شکل ۱: فراوانی جدایه‌های مربوط به بیماران سرپایی، بستری، جدایه‌های تولید کننده بتالاکتاماز وسیع‌الطیف (ESBL) و مقاوم به چند دارو (MDR).



شکل ۲: فراوانی جدایه‌های مورد بررسی بر اساس رده سنی افراد مراجعه کننده جهت جداسازی باکتری‌های *اشریشیا کلی* از ادرار.

به طور کلی در این میان ۳۶ نمونه از مردان (۲۹/۲۷ درصد) و ۸۷ نمونه از زنان (۷۰/۷۳ درصد) جدا گردید که محدوده سنی مراجعه کنندگان در جدول شماره ۱ نشان داده شده است.

بیشترین میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها به‌ترتیب نسبت به سفوتاکسیم (۹۱/۰۶ درصد)، سفتازدیدیم (۹۰/۲۴ درصد)، کوتریموکسازول (۸۰/۴۹ درصد)، نالیدیکسیک اسید (۸۰/۴۹ درصد)، سیپروفلوکساسین (۶۸/۲۹ درصد) و افلوکساسین (۶۶/۶۷ درصد) و کمترین مقاومت آن‌ها نسبت به ایمی پنم (۹/۷۶ درصد) مشاهده شد (جدول ۳). بررسی فراوانی اینتگرون‌های کلاس ۱ و کلاس ۲ نشان داد که ۹۳ جدایه (۷۵/۶۰ درصد) دارای اینتگرون کلاس ۱ و ۱۱ جدایه (۸/۹۴ درصد) دارای اینتگرون کلاس ۲ بودند.

ارتباط معنی‌داری بین حضور اینتگرون و مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های متعدد مشاهده نشد ($P > 0/05$). در بین ۱۲۳ جدایه تولید کننده بتالاکتاماز وسیع الطیف جمع‌آوری شده، تعداد ۸۴ جدایه (۶۸/۲۹ درصد) دارای مقاومت چندگانه دارویی (MDR) بودند.

جدول ۳: مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در جدایه‌های *اشریشیاکلی* مولد بتالاکتاماز وسیع الطیف و فراوانی اینتگرون‌ها در جدایه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها.

آنتی بیوتیک	حساس [تعداد (درصد)]	نیمه حساس [تعداد (درصد)]	مقاوم [تعداد (درصد)]	مقاومت اینتگرون کلاس ۱ [تعداد (درصد)]	مقاومت اینتگرون کلاس۲ [تعداد (درصد)]
ایمی پنم	۱۰۹ (۸۸/۶۲)	۲ (۱/۶۳)	۱۲ (۹/۷۶)	۱۱ (۹۱/۶۷)	۳ (۲۵)
افلوکساسین	۴۰ (۳۲/۵۲)	۱ (۰/۸۱)	۸۲ (۶۶/۶۷)	۶۵ (۷۹/۲۶)	۷ (۸/۵۴)
سیپروفلوکساسین	۲۹ (۲۳/۵۸)	۱۰ (۸/۱۳)	۸۴ (۶۸/۲۹)	۷۰ (۸۳/۳۳)	۸ (۹/۵۲)
نالیدیکسیک اسید	۲۱ (۱۷/۰۷)	۳ (۲/۴۴)	۹۹ (۸۰/۴۹)	۷۵ (۷۵/۷۶)	۱۰ (۱۰/۱۰)
سفوتاکسیم	۳ (۲/۴۴)	۸ (۶/۵۰)	۱۱۲ (۹۱/۰۶)	۸۲ (۷۳/۲۱)	۱۱ (۱۳/۴۱)
سفتازیدیم	۲ (۱/۶۶)	۱۰ (۸/۱۳)	۱۱۱ (۹۰/۲۴)	۷۹ (۷۱/۱۷)	۹ (۸/۱۱)
جنتامایسین	۷۳ (۵۹/۳۵)	۰ (۰)	۵۰ (۴۰/۶۵)	۳۷ (۷۴)	۷ (۸/۵۴)
کوتریموکسازول	۱۸ (۱۴/۶۳)	۶ (۴/۸۸)	۹۹ (۸۰/۴۹)	۷۶ (۷۶/۷۷)	۹ (۱۱/۸)
کلرامفنیکل	۶۹ (۵۶/۱۰)	۲۳ (۱۸/۷۰)	۳۱ (۲۵/۲۰)	۲۱ (۶۷/۷۴)	۴ (۱۲/۹۰)

بحث

جدایه‌های *اشریشیا کلی* یکی از عوامل بیماری‌زای شناخته شده می‌باشد، که نه تنها در افراد دچار نقص سیستم ایمنی، بلکه حتی در افراد سالم نیز می‌تواند منجر به ایجاد عفونت‌های شدید و حاد گردد (٤). افزایش چشمگیر و روز افزون مقاومت نسبت به انواعی از آنتی بیوتیک‌ها، اهمیت بررسی الگوی مقاومت در این جدایه‌ها را محرز کرده تا به این ترتیب امکان انتخاب داروهای درمانی با کارایی و موفقیت بیشتر میسر گردد (١٦و١٧). در سال‌های اخیر نقش اینتگرون‌ها به‌عنوان یکی از عناصر دخیل در انتقال افقی مقاومت آنتی‌بیوتیکی مشخص گردیده است. از انجایی که بسیاری از آن‌ها دارای بیش از یک کاست ژنی مقاومتی هستند و اغلب نیز توسط المنت‌های ژنتیکی متحرک جا به جا و حمل می‌شوند و از این طریق منجر به گسترش مقاومت میکروبی از یک سویه به سویه دیگر می‌شوند (١٨). مطالعه حاضر بر روی ١٢٣ جدایه *اشریشیاکلی* مولد بتالاکتاماز وسیع‌الطیف جدا شده از بیمارستان آموزشی اهواز انجام گرفت. طبق نتایج این مطالعه، مقاومت بالایی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سفوتاکسیم (٩١/٠٦ درصد)، سفتازدیدیم (٩٠/٢٤ درصد)، کوتریموکسازول (٨٠/٤٩ درصد)، نالیدیکسیک اسید (٨٠/٤٩ درصد)، سیپروفلوکساسین (٦٨/٢٩ درصد) و افلوکساسین (٦٦/٦٧ درصد) گزارش شد. همچنین کمترین مقاومت نسبت به ایمی پنم (٩/٧٦ درصد) مشاهده شد که این آنتی‌بیوتیک موثرترین آنتی‌بیوتیک بر ضد جدایه‌های *اشریشیا کلی* در مطالعه حاضر می‌باشد.

نتایج به‌دست آمده در این تحقیق موید این امر است که درصد قابل توجهی از نمونه‌های مورد بررسی در این مطالعه مولد بتالاکتاماز وسیع‌الطیف (ESBL) هستند و همچنین مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج در این نمونه‌ها به شدت رو به افزایش است، که به نظر می‌رسد این افزایش مقاومت و شیوع ارگانیسم‌های تولید کننده ESBL می‌تواند به دلیل مصرف بیش از حد سفالوسپورین‌ها باشد. همچنین افزایش مقاومت در جامعه می‌تواند به دلیل خود درمانی افراد با آنتی بیوتیک‌های مختلف یا حتی استفاده از نسخه‌های افراد دیگر با بیماری‌های مشابه بدون توجه به الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی باشد، که مسئله عدم توجه به حساسیت آنتی‌بیوتیکی نقش اساسی را در افزایش مقاومت به عهده دارد.

در مطالعه‌ای که در سال ٢٠١٦ توسط محبی و همکاران در کرمان انجام شد، بیشترین مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین، نالیدیکسیک اسید، کوتریموکسازول و سفتریاکسون مشاهده شد و نیز کمترین میزان مقاومت مربوط به آنتی‌بیوتیک‌های ایمی‌پنم و آمیکاسین بود (٦). که نتایج مطالعه حال حاضر با نتایج آن‌ها هم خوانی دارد. در مطالعه‌ای که توسط وزیری و همکاران انجام شد، این محققین نیز بیشترین مقاومت را نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین و کوتریموکسازول و بیشترین حساسیت را نسبت به آنتی‌بیوتیک ایمی‌پنم گزارش کردند که این نتایج مشابه با نتایج مطالعه حاضر بود (١٩).

در مطالعات مختلف، درصد فراوانی جدایه‌های *اشریشیاکلی* مقاوم به چند دارو (MDR) از حدود ٤٢ درصد تا ٨٨ درصد گزارش شده است (٢٠و٢١). در مطالعه حاضر، فراوانی جدایه‌های مقاوم به چند دارو در میان جدایه‌های مولد ESBLs، تعداد ٨٤ جدایه (٦٨/٢٩ درصد) بود. این آمار نشان می‌دهد که جدایه‌های *اشریشیاکلی* مولد ESBLs احتمالا حاوی سایر ژن‌های مقاومتی نیز می‌باشند.

در مطالعه‌ای که توسط رضایی و همکاران در سال ٢٠١١ میلادی در شهر تبریز انجام شد، ٨٤/٢٠ درصد از جدایه‌های *اشریشیاکلی* مقاوم به چند دارو یا MDR بودند که این میزان فراوانی جدایه‌های MDR بیشتر از نتایج به‌دست آمده در این مطالعه می‌باشد و نشان دهنده تفاوت در فراوانی این جدایه‌ها در نقاط مختلف جغرافیایی می‌باشد (٢٢).

از جمله دلایل تفاوت در نتایج مقاومت‌های دارویی گزارش شده در مطالعات مختلف، می‌توان به عواملی همچون تفاوت در نوع آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده، الگوهای مصرف داورها، و تفاوت‌های جغرافیایی اشاره نمود (٤و٢٠).

تا به امروز، اینتگرون‌های مرتبط با عناصر ژنتیکی متحرک به

پنج کلاس بر اساس توالی اینتگراز (کلاس‌های ۱ تا ۵) طبقه بندی شده‌اند. اینتگرون‌های کلاس ۱ با گرفتن کاست‌های ژنی و بیان ژن‌های ذخیره‌شده در کاست که باکتری‌ها را قادر می‌سازد تا با تغییرات محیطی سازگار شوند، به‌عنوان پلتفرم‌های تکاملی برای باکتری‌ها عمل می‌کنند، که امکان انتقال افقی ژن‌های مقاومت چند دارویی را فراهم می‌کند (۲۳).

طبق نتایج این مطالعه، فراوانی اینتگرون‌های کلاس ۱ و کلاس ۲ به‌ترتیب ۹۳ جدایه (۷۵/۶۰ درصد) و ۱۱ جدایه (۸/۹۴ درصد) بودند. مطالعات مختلفی در کشور ما در خصوص فراوانی اینتگرون‌ها در جدایه‌های *اشریشیاکلی* جدا شده از نمونه‌های بالینی انجام شده است (۲۱و۲۴). مطابق با مطالعات قبلی، اینتگرون‌های کلاس ۱ در مقایسه با کلاس ۲ در مطالعه ما رایج‌تر بود. مشابه نتایج ما، در مطالعه‌ای که توسط یکانی و همکاران که در ایران انجام شد، بیشترین فراوانی مربوط به اینتگرون‌های کلاس ۱ (۶۳/۶۰ درصد) بود (۲۴). در یک مطالعه دیگر از ایران که توسط فلاح و همکاران در سال ۲۰۱۲ انجام شد، ۵۰/۳۰ درصد از جدایه‌های *اشریشیاکلی* برای اینتگرون‌های کلاس ۱ مثبت بودند (۲۵)، که نسبت به مطالعه ما کمتر بود. با توجه به مطاله ما و سایر مطالعات انجام شده در خصوص شناسایی اینتگرون‌ها، بنظر می‌رسد که اینتگرون کلاس ۱ در میان جدایه‌های *اشریشیاکلی* جدا شده از بیماران، در کشور ما غالب باشد.

کارگر و همکاران در مطالعه‌ای از ایران گزارش داده‌اند که میزان شیوع اینتگرون کلاس ۱ و ۲ به ترتیب ۴۱/۷۰ و ۱۷/۴۰ درصد است (۲۰). که فراوانی اینتگرون کلاس ۱ کمتر در حالی که فراوانی اینتگرون کلاس دو بیشتر از مطالعه ما بود.

در مطالعه برزگر و همکاران، نتایج آزمایش PCR نشان داد که شیوع اینتگرون‌های کلاس ۱و ۲ به ترتیب ۳۹/۹۰ درصد (تعداد ۶۵ جدایه) و ۱۴/۱۰ درصد (تعداد ۲۳ جدایه) بود. همچنین ارتباط معنی‌داری بین سویه MDR و حضور اینتگرون‌ها مشاهده شد (P= ۰/۰۰۱)، به‌طوری که میزان حضور اینتگرون‌ها در نمونه‌های MDR مثبت حدودا ۶/۳۴ برابر بیشتر از MDR منفی بود (۲۱). در مطالعه ما نیز بیشتر جدایه‌های MDR حاوی ژن‌های اینتگرون کلاس ۱ بودند. اینتگرون‌ها به‌عنوان یک عنصر ژنتیکی متحرک، نقش مهمی در حفظ و گسترش مقاومت ضدمیکروبی در بین باکتری‌ها، به‌ویژه باکتری‌های گرم منفی دارند. طبق نتایج این مطالعه و سایر مطالعات انجام شده، پذیرفته شده است که حضور اینتگرون‌ها در سویه MDR به‌طور قابل ملاحظه‌ای بیشتر از سویه‌های حساس است (۲۶و۲۷).

در مطالعه‌ای که توسط Rao و همکاران که در سال ۲۰۰۶ و در کشور امریکا انجام شد، ۴۹ درصد از جدایه‌های *اشریشیاکلی* دارای اینتگرون کلاس ۱ بودند و ارتباط معنی‌داری بین حضور اینتگرون و مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های کوتریموکسازول، جنتامایسین، توبرامایسین، سفتازیدیم و سفپودوکسیم مشاهده گردید (۲۸)، در حالی که در مطالعه ما هیچ رابطه معنی‌داری بین حضور اینتگرون‌ها و وجود مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها مشاهده نگردید. ذکر این نکته حائز اهمیت است که فراوانی اینتگرون‌ها در جدایه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک نسبت به جدایه‌های حساس بیشتر بود. در نتیجه، یکی از دلایل وجود مقاومت دارویی بالای *اشریشیاکلی* در بررسی حاضر را می‌توان فراوانی بالای اینتگرون کلاس ۱ در جدایه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک عنوان کرد. این یافته می‌تواند نشان دهنده‌ی قرارگیری ژن‌های مقاومت به این آنتی بیوتیک‌ها در داخل اینتگرون‌ها باشد و حضور این عوامل مقدمه شیوع جدایه‌های *اشریشیاکلی* مقاوم به چند دارو باشد. در نهایت می‌توان نتیجه گرفت که ژن‌های مقاومت خصوصا ژن‌های ESBLs می‌توانند بر روی انتگرون‌ها قرار بگیرند و به آسانی در باکتری‌های گرم منفی خصوصا *اشریشیاکلی* منتقل شوند.

همچنین نتایج ما نشان داد که ۶۵ عدد از جدایه‌هایی که به پنج آنتی‌بیوتیک نالیدیکسیک اسید، سفوتاکسیم، سفتازیدیم و کوتریموکسازول مقاوم‌اند و دارای ژن اینتگرون کلاس ۱ هستند، که به نظر می‌رسد که احتمالا در کنار این ژن عوامل دیگری در ایجاد مقاومت نقش داشته باشند.

همانطور که اشاره شد کلاس‌های مختلفی از اینتگرون‌ها وجود

دارد و میزان شیوع آن‌ها در مناطق مختلف جغرافیایی متفاوت بوده و فراوانی اینتگرون کلاس ۱ در منطقه مورد مطالعه، و سایر مطالعات به طور قابل مالحظه‌ای بیشتر از سایر اینتگرون‌ها بود. از آن جایی که باکتری *اشریشیاکلی* از باکتری‌های فلور طبیعی مشترک بین طیور، حیوانات و انسان است، احتمال انتقال این کاست ژنی بین باکتری‌های *اشریشیاکلی* با میزبان‌های مختلف نیز وجود دارد (۲۹). بنابراین نتیجه شیوع بالای اینتگرون‌ها مطمئنا ایجاد و گسترش هرچه سریع تر گونه‌های مقاوم به درمان است و روز به روز، درمان بیماری‌های انسانی با مشکلات بیشتری مواجه می‌شود.

نتیجه‌گیری

این مطالعه شیوع بالای اینتگرون کلاس ۱ در جدایه‌های *اشریشیاکلی* مولد آنزیم‌های ESBLs جدا شده از نمونه‌های بیماران بستری و سرپایی را نشان می‌دهد، که به کارگیری سیاست‌هایی جهت کنترل عفونت‌های ناشی از این باکتری‌ها بسیار حائز اهمیت می‌باشد. به‌طور خلاصه، در منطقه مورد بررسی ما، اکثر جدایه‌های *اشریشیاکلی* که باعث عفونت ادراری می‌شوند دارای فنوتیپ MDR می‌باشند. شیوع بالای اینتگرون کلاس ۱ در بین جدایه‌های *اشریشیاکلی* مولد بتالاکتاماز وسیع‌الطیف ممکن است به مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج کمک کند. بنابراین تعیین دوره‌ای و منظم الگوهای مقاومت دارویی برای به کارگیری برنامه‌های پیشگیری از گسترش هرچه بیشتر جدایه‌های *اشریشیاکلی* دارای مقاومت چنددارویی، ضروری به نظر می‌رسد.

ملاحظات اخلاقی

نویسندگان تمامی نکات اخلاقی شامل شامل عدم سرقت ادبی، انتشار دوگانه، تحریف داده‌ها و داده‌سازی را در این مقاله رعایت کرده‌اند.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر برگرفته از طرح تحقیقاتی با شماره ۹۷S۱۸ (IR.AJUMS.REC.1397.576) می‌باشد. بدین وسیله از معاونت تحقیقات و فنآوری دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز به جهت حمایت مالی این تحقیق تشکر و قدردانی به‌عمل می‌آید.

تعارض در منافع

وجود ندارد.

References

1. Mohammadi-Mehr M, Feizabadi M. Antimicrobial resistance pattern of Gram-negative bacilli isolated from patients at ICUs of Army hospitals in Iran. Iranian journal of microbiology. 2011;3(1):26.
2. Alaee N, Bahador A, Harzandi N. Molecular epidemiology & antimicrobial resistance of *Acinetobacter baumannii* isolated from Namazi Hospital, in Shiraz by modified AFLP analysis. Journal of Microbial World. 2013;15(6):91-104.
3. FarajzadehSheikh A, Veisi H, Shahin M, Getso M, Farahani A. Frequency of quinolone resistance genes among extended-spectrum β-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* strains isolated from urinary tract infections. Tropical medicine and health. 2019;47:1-7.
4. Mohajeri P, Darfarin G, Farahani A. Genotyping of ESBL producing uropathogenic *Escherichia coli* in west of Iran. International journal of microbiology. 2014;2014.
5. golestani f, Javadpour S, Kafilzadeh F, daryaii z. Determination of antibiotic resistance pattern and frequency of blaVIM & blaIMP genes in clinical isolates of *Acinetobacter* species in Bandar Abbass. Journal of Microbial World. 2018;33(10):299-309.
6. Mohebi S, Hossieni Nave H, Norouzi A, Kandehkar Gharaman M, Taati Moghadam M. Detection of extended spectrum beta lactamases on class I integron in *escherichia coli* isolated from clinical samples. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences. 2016;26 (138):66-76.
7. Machado E, Cantón R, Baquero F, Galán J-C, Rollán A, Peixe L, Coque TM. Integron content of extended-spectrum-β-lactamase-producing *Escherichia coli* strains over 12 years in a single hospital in Madrid, Spain. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2005;49(5):1823-9.
8. Ranjbar R, Farahani A. Shigella: antibiotic-resistance mechanisms and new horizons for treatment. Infect Drug Resist 12: 3137–3167. 2019.
9. Hosseini F, Salimizadeh Z, Salehi M. The evaluation of int1, sul1, aadA2, and aadB genes frequencies in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* in Tehran. Journal of Microbial World. 2017 Jan 1;9(4):297-306.
10. Mohajeri P, Rostami Z, Farahani A, Norozi B. Distribution of ESBL producing Uropathogenic *Escherichia coli* and carriage of selected [beta]-lactamase genes in Hospital and community isolates in west of Iran. Annals of Tropical Medicine and Public Health. 2014;7(5):219.
11. 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 journal of microbiology. 2013;5(1):36.
12. Moghaddam MJM, Mirbagheri AA, Salehi Z, Habibzade SM. Prevalence of class 1 integrons and extended spectrum beta lactamases among multi-drug resistant *Escherichia coli* isolates from north of Iran. Iranian biomedical journal. 2015;19(4):233.

13. Yan H, Li L, Zong M, Alam MJ, Shinoda S, Shi L. Occurrence and characteristics of Class 1 and 2 integrons in clinical bacterial isolates from patients in south China. Journal of health science. 2010;56(4):442-50.
14. Wayne P. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty seven Informational Supplement M100-S27CLSI. 2021.
15. Mobasseri P, Harsini MJ, Mehrabian S, Amini K. Detection of Different Types of Class 1, 2 and 3 Integrons among *Pseudomonas aeruginosa* Isolates from Raw Milks. Journal of Medical Bacteriology. 2021:11-8.
16. Hajiahmadi F, Safari N, Alijani P, Rabiei M, Masomian N, Arabestani MR. Assessment of the Prevalence of Class I and II Integrons of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* Isolates From Hospitals of Hamadan. Avicenna Journal of Clinical Medicine. 2016;23(3):193-201.
17. Shaheli M, Baseri Salehi M, Bahador N. Antibiotic resistance dependent on efflux pump in the isolates of clinical and environmental *Acinetobacter baumannii*. Journal of Microbial World. 2019 May 22;12(1):15-26.
18. Zeighami H, Haghi F, Hajiahmadi F. Integrons and Their role in Antibiotic Resistance. Laboratory & Diagnosis. 2014;5(22):61-71.
19. 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. Journal of Isfahan Medical School. 2017;35(446):1171-7.
20. 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 and research perspectives. 2014;5(4):193-8.
21. Barzegar S, Arzanlou M, Teimourpour A, Esmaelizad M, Yousefipour M, MohammadShahi J, Teimourpour R. Prevalence of the Integrons and ESBL Genes in Multidrug-Resistant Strains of *Escherichia coli* Isolated from Urinary Tract Infections, Ardabil, Iran. Iranian Journal of Medical Microbiology. 2022;16(1):56-65.
22. Rezaee MA, Sheikhalizadeh V, Hasani A. Detection of integrons among multi-drug resistant (MDR) *Escherichia coli* strains isolated from clinical specimens in northern west of Iran. Brazilian Journal of Microbiology. 2011;42:1308-13.
23. Li W, Ma J, Sun X, Liu M, Wang H. Antimicrobial Resistance and Molecular Characterization of Gene Cassettes from Class 1 Integrons in *Escherichia coli* Strains. Microbial Drug Resistance. 2022;28(4):413-8.
24. Yekani M, Memar MY, Baghi HB, Sefidan FY, Alizadeh N, Ghotaslou R. Association of integrons with multidrug-resistant isolates among phylogenic groups of uropathogenic *Escherichia coli*. Microbiology Research. 2018;9(1):7484.

25. Fallah F, Karimi A, Goudarzi M, Shiva F, Navidinia M, Hadipour Jahromi M, Sajadi Nia RS. Determination of integron frequency by a polymerase chain reaction–restriction fragment length polymorphism method in multidrug-resistant *Escherichia coli*, which causes Urinary tract infections. Microbial Drug Resistance. 2012;18(6):546-9.

26. Behera M, Roshan M, Rajput S, Gautam D, Vats A, Ghorai SM, De S. Novel aadA5 and dfrA17 variants of class 1 integron in multidrug-resistant *Escherichia coli* causing bovine mastitis. Applied Microbiology and Biotechnology. 2023;107(1):433-46.

27. Al-Hasani HM, Al-Rubaye DS, Abdelhameed A. The Emergence of Multidrug-Resistant (MDR), Extensively Drug-Resistant (XDR), and Pandrug-Resistant (PDR) In Iraqi Clinical Isolates of *Escherichia coli*. Journal of Population Therapeutics and Clinical Pharmacology. 2023;30(5):469-82.

28. Rao AN, Barlow M, Clark LA, Boring JR, Tenover FC, McGowan JE. Class 1 integrons in resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp., US hospitals. 2006.

29. Jouini A, Klibi A, Kmiha S, Hamrouni S, Ghram A, Maaroufi A. Lineages, Virulence Gene Associated and Integrons among Extended Spectrum β-Lactamase (ESBL) and CMY-2 Producing *Enterobacteriaceae* from Bovine Mastitis, in Tunisia. Pathogens. 2022;11(8):948.