Horizon of Medical Sciences
Volume 24, Issue 4, Fall 2018
Pages: 277-285
Type: Original Research

Downloaded from hms.gmu.ac.ir at 22:31 +0330 on Thursday November 15th 2018

A Survey of Integrons and Their Relationships with Antibiotic Resistance Among the Escherichia coli Isolates Collected from Urinary Tract Infection of Patients referred to the hospitals in Tehran, Iran

Habibi M.[1] *PhD*, Asadi Karam M.R.[*] *PhD* , Mohammadzadeh A.[2] *PhD*
*Department of Molecular biology, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran.
[1]Department of Molecular biology, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran.
[2]Department of Microbiology, School of Medicine, Gonabad University of Medical Sciences, Gonabad, Iran.

Abstract

Aims: *Escherichia coli* strains are the most important cause of urinary tract infection. Integrons are considered as one of the transfer mechanisms of antibiotic resistance. The aim of the present study was detection of integrons and their realtionships with antibiotic resistance in Escherichia coli isolates.

Material & Methods: Totally, 150 *E.coli* isolates was collected from urine of patients with urinary tract infection in hospitals in Tehran, Iran. Evaluation of resistance to antibiotics and identification of isolates producing Extended-Spectrum Beta Lactamase (ESBL) were done using the disk diffusion and combined disk diffusion tests, respectively. Amplification of integron gene class I in the isolates was performed by Polymerase Chain Reaction (PCR).

Findings: The resistance rate of isolates to antibiotics was amoxicillin (71.3%), trimethoprim/sulfamethoxazole (64%), cefotaxime (55.3%), ceftazidime (52.7%), ciprofloxacin (52%), norfloxacin (46.7%), gentamicin (19.3%), meropenem (3.3%), amikacin (2%) and imipenem (0%). Seventy isolates were considered as multiple drug resistance producing isolates (MDR) and 56 (37.3%) isolates showed the ability of ESBLs production. 34 (22.7%) isolates harbored the integron class I. There was a significant relationship between the ESBL producing isolates and MDR resistance and also between the presence of integron class I and MDR resistance.

Conclusion: There was a significant rate of resistance to the majority of tested antibiotics with production of ESBL that could be related to the presence of integrons class I. Thus, it suggests more studies need to be conducted to provide better conditions for prevention of antibiotic resistance.

Keywords:
Urinary tract infection [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/?term=urinary+tract+infection];
Escherichia coli [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68004926];
Integrons [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68032023]

[*]Corresponding Author: Mohammad Reza Asadi Karam
Tel: +98 (21) 66953311
Fax: +98 (21) 66370573
Address: Department of Molecular biology, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran.
E-mail: m_asadi12@yahoo.com.
Received: 26 Jul 2018 Accepted: 22 Sep 2018 ePublished: 10 Oct 2018

بررسی حضور اینتگرونها و ارزیابی ارتباط آنها با مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین ایزوله‌های اشریشیاکلی جدا شده از عفونت دستگاه ادراری بیماران مراجعه کننده به بیمارستانهای شهر تهران

مهری حبیبی PhD
بخش بیولوژی ملکولی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران.
محمدرضا اسدی کرم* PhD
بخش بیولوژی ملکولی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران.
علیرضا محمدزاده PhD
گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گناباد، گناباد، ایران.

چکیده
اهداف: سویه‌های اشریشیاکلی به عنوان مهمترین عامل عفونت دستگاه ادراری هستند. اینتگرون‌ها به عنوان یکی از عوامل انتقال مقاومت آنتی‌بیوتیکی می‌باشند. هدف از مطالعه حاضر شناسایی اینتگرون‌ها و ارتباط آن‌ها با مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های اشریشیاکلی بود.
مواد و روش‌ها: تعداد ۱۵۰ ایزوله اشریشیاکلی از ادرار بیماران با عفونت دستگاه ادراری در بیمارستان‌های شهر تهران، (ایران) جمع آوری شد. ارزیابی مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها و شناسایی ایزوله‌هاي تولید کننده بتالاکتاماز وسیع الطیف به ترتیب با روش‌های دیسک دیفیوژن و دیسک دیفیوژن ترکیبی انجام گردید. تکثیر ژن اینتگرون کلاس ۱ با روش واکنش زنجیره‌ای پلیمرازی انجام شد.
یافته‌ها: میزان مقاومت ایزوله‌ها به آموکسی سیلین (۷۱/۳٪)، تری متوپریم-سولفامتاکسازول (٦٤٪)، سفوتاکسیم (۵۵/۳٪)، سفتازیدیم (۵۲/۷٪)، سیپروفلوکساسین (۵۲٪)، نورفلوکساسین (٤٦/٧٪)، جنتامیسین (۱۹/۳٪)، مروپنم (۳/۳٪)، آمیکاسین (۲٪) و ایمی پنم (۰٪) بود. ۷۰ ایزوله به عنوان ایزوله‌های تولید کننده مقاومت چند دارویی یا MDR در نظر گرفته شدند و ٥٦ (۳۷/۳ درصد) ایزوله توانایی تولید ESBLs را نشان دادند. ٣٤ (٢٢/٧٪) ایزوله دارای اینتگرون کلاس I بودند. رابطه معنی‌داری بین ایزوله‌های تولید کننده ESBLs و مقاومت MDR و نیز بین حضور اینتگرون کلاس I و مقاومت MDR مشاهده شد.
نتیجه گیری: مقاومت قابل توجهی به اغلب آنتی‌بیوتیک های تست شده با تولید ESBL مشاهده شد که می‌تواند به دلیل حضور اینتگرون‌های کلاس I باشد. در نهایت پیشنهاد می‌شود تا مطالعات گسترده‌تری انجام شود تا بتوان شرایط مناسب‌تری را در جهت جلوگیری از مقاومت آنتی‌بیوتیکی فراهم نمود.
کلید واژه‌ها: عفونت دستگاه ادراری، اشریشیاکلی، اینتگرون‌ها.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۵/۰٤
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰٦/۳۱
*نویسنده مسئول: m_asadi12@yahoo.com

مقدمه
عفونت دستگاه ادراری به مجموعه عفونت‌هایی اطلاق می‌شود که اجزای مختلف دستگاه ادراری را درگیرکرده و سبب عفونت در این قسمت‌ها می‌شود [1]. این عفونت‌ها جزء شایع‌ترین عفونت‌های باکتریایی شناخته شده به خصوص در بین زنان تلقی می‌شوند [2]. گزارش‌ها نشان می‌دهد که حدود ۵۰ تا ٦۰ درصد زنان حداقل یک مرتبه در طول زندگی به این عفونت دچار می‌شوند و نزدیک به ۲۵ درصد این افراد دوباره به این عفونت مبتلا خواهند شد[3,4]. مطالعات مختلف نشان داده است که از بین عوامل ایجاد کننده عفونت‌های دستگاه ادراری، سویه‌های باکتریایی اشریشیاکلي همواره به عنوان شایع‌ترین و مهم‌ترین عامل ایجاد این عفونت‌ها بوده‌اند، بطوریکه این باکتری عامل بیش از ۹۰ درصد عفونت‌هاي کسب شده از جامعه و نیز عامل حدود نیمی از عفونت‌هاي کسب شده از بیمارستان است[5].

امروزه از کلاس‌های مختلف آنتی‌بیوتیکی مانند خانواده بتالاکتام‌ها (سفالوسپورین‌ها)، کینولون‌ها و فلوروکینولون‌ها (نالیدیکسیک اسید و سیپروفلوکساسین)، کارباپنم‌ها (ارتاپنم و ایمی پنم) و آمینوگلیکوزیدها (آمیکاسین و جنتامیسین) در جهت درمان عفونت‌های پیچیده و غیر پیچیده دستگاه ادراری استفاده می شود [6-9]. مطالعات مختلفی در کشورهای مختلف در زمینه ارزیابی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های اشریشیاکلی جدا شده از عفونت ادراری انجام شده و یا به طور روتین در حال انجام است. با مرور این مطالعات می‌توان به این نتیجه دست یافت که مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین این سویه‌ها در حال افزایش است و این می‌تواند در آینده‌ای نزدیک معضلات عظیمی را در زمینه درمان این عفونت‌ها به وجود آورد[8-10].

مطالعات مختلف نشان می‌دهد که کسب مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها در بین سویه‌های اشریشیاکلی در اثر مکانیسم‌های مختلفی رخ می‌دهد. این مکانیسم‌ها شامل کسب ژن‌های مقاومت از طریق پلاسمیدها، ترانسپوزون‌ها، توالی‌های ژنی موجود در اینتگرون‌ها یا تغییر در لوکوس تنظیمی به نام mar یا لوکوس مقاومت آنتی‌بیوتیکی چند گانه موجود بر روی کروموزوم باکتری است[11,12]. اینتگرون‌ها به عنوان یکی از عناصر ژنتیکی متحرک نقش مهمی در انتقال مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین باکتری‌های گرم منفی از جمله اشریشیاکلی ها دارند. این عوامل به تنهایی قابلیت انتقال نداشته ولی با درج در پلاسمیدها و یا ترانسپوزون‌ها، قادر خواهند بود تا به راحتی از طریق انتقال افقی در بین سویه‌های باکتریایی انتقال یابند[13,14]. تاکنون کلاس‌های مختلفی از اینتگرون‌ها شناسایی شده که معیار تقسیم بندی آن‌ها تفاوت موجود در ژن اینتگراز آن‌ها است. از مهم ترین و شایع‌ترین کلاس‌های اینتگرون می‌توان اینتگرون های کلاس I و II را نام برد[15]. از لحاظ ساختاری همه کلاس‌های اینتگرون دارای سه ناحیه شامل نواحی حفاظت شده انتهای ′5، نواحی حفاظت شده انتهای ′3 و ناحیه متغیر مرکزی بین نواحی ′5 و ′3 می‌باشند. اینتگرون ها در ناحیه ′5 دارای بخش های مختلفی بوده که از مهمترین قسمت های آن می توان به جایگاه گیرنده attI که جایگاه نوترکیبی اختصاصی در توالی های ژنی است، ژن اینتگراز یا IntI که عامل کد کننده جایگاه نوترکیبی اختصاصی است و پروموتور به نام Pc در جهت بیان ژن‌های موجود در توالی ژنی اشاره کرد [13,16].

امروزه باکتری‌های تولید کننده آنزیم بتالاکتاماز از جمله اشریشیاکلی‌ها به دلیل توانایی شان در انتشار این عوامل مقاومت یک نگرانی عمده در بهداشت جوامع محسوب می‌شوند[17]. بتالاکتامازهای تولید شده قادر به هیدرولیز حلقه بتالاکتام در آنتی‌بیوتیک‌ها و بی اثر کردن آن‌ها می‌باشند. بتالاکتامازهای وسیع الطیف (ESBLs) یک گروه عمده از این آنزیم‌ها هستند که توسط ژن‌های متعددی کد شده و امروزه

Downloaded from hms.gmu.ac.ir at 22:31 +0330 on Thursday November 15th 2018

Downloaded from hms.gmu.ac.ir at 22:31 +0330 on Thursday November 15th 2018

باعث مقاومت به طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام و غیر بتالاکتام شده‌اند [17,18].

با توجه به اینکه حضور ژن‌های کدکننده اینتگرون‌ها و ارتباط حضور این ژن‌ها با مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های اشریشیاکلی جدا شده از بیماران با عفونت ادراری در ایران کمتر مورد توجه قرار گرفته است، این مطالعه با هدف بررسی حضور اینتگرون‌ها و ارزیابی ارتباط آنها با مقاومت آنتی‌بیوتیکی و تولید ESBL ها در بین ایزوله‌های اشریشیاکلی جدا شده از عفونت ادراری بیماران مراجعه کننده به چندین بیمارستان شهر تهران در سال ۱۳۹۶ انجام شد.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر به صورت مقطعی و در فاصله زمانی آبان تا اسفند ماه سال ۱۳۹۶ انجام شد. در این مطالعه پلیت‌های کشت ادراری از بیماران مشکوک به عفونت ادراری که به برخی از بیمارستان‌های دولتی شهر تهران مراجعه کرده بودند جمع‌آوری گردید. در این بررسی تنها پلیت‌های کشت ادراری که عاملیت عفونت ادراری آنها اشریشیاکلی گزارش شده بود برای مطالعه انتخاب شدند و جمع آوری پلیت‌ها تا زمانی ادامه یافت تا در نهایت تعداد ۱۵۰ ایزوله اشریشیاکلی بدست آید. البته برای اطمینان از تشخیص صحیح ایزوله‌های جمع آوری شده مجددا تست‌های تشخیصی مربوط به اشریشیاکلی در آزمایشگاه بیولوژی ملکولی انستیتو پاستور ایران انجام گرفت. این تست‌ها شامل کشت در محیط‌های افتراقی، تست‌های بیوشیمیایی از جمله تخمیر قندهای مختلف، رشد در محیط SIM، تولید گاز و H2S، تولید اندول، رشد در محیط MR/VP، استفاده از سیترات و احیای اسیدهای آمینه بود. البته علاوه بر تست‌های آزمایشگاهی، تشخیص عفونت ادراری در این بیماران بر مبناي معیارهاي بالینی مرکز کنترل و پیشگیري از بیماری‌ها (CDC) مانند تب، نیاز به دفع شدید ادرار، تکرر ادرار، ادرار همراه با سوزش، تخلیه ناکامل ادرار، درد ناحیه بالای کلیه‌ها و درد پهلوها بود.

در مرحله بعد ارزیابی مقاومت ایزوله‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های از کلاس‌های مختلف شامل بتالاکتام‌ها (آموکسی سیلین ۱۰ میکروگرمی، سفالوسپورین های سفتازیدیم و سفوتاکسیم ۳۰ میکروگرمی)، کارباپنم‌ها (ایمی پنم و مروپنم ۱۰ میکروگرمی)، فلوروکینولون‌ها (سیپروفلوکساسین ۵ میکروگرمی و نورفلوکساسین ۱۰ میکروگرمی)، آمینوگلیکوزیدها (آمیکاسین ۳۰ میکروگرمی و جنتامیسین ۱۰ میکروگرمی) و تری متوپریم-سولفامتاکسازول ۲۵ میکروگرمی با روش دیسک دیفیوژن و بر اساس دستورالعمل موسسه استاندارد بالینی و آزمایشگاهی CLSI انجام شد[19]. به طور خلاصه در این روش چند کلني از کشت‌های خالص ایزوله‌ها در محیط مولر هینتون مایع (مرک، آلمان) تلقیح و پس از انکوباسیون چند ساعته، کدورت آن‌ها با لوله نیم مک فارلند معادل‌سازی و در سطح پلیت‌های مولر هینتون آگار (مرک، آلمان) کشت انجام شد. دیسک‌ها (مست، انگلیس) در سطح پلیت‌ها قرار داده شدند و پس از انکوباسیون، منطقه ممانعت از رشد برحسب میلي‌متر اندازه‌گیري گردید. در این ارزیابی از سویه اشریشیاکلیATCC25922 به عنوان سویه کنترل استفاده شد.

در مرحله بعد شناسایی ایزوله‌هاي تولید کننده ESBL با استفاده از تست فنوتیپی دیسک دیفیوژن ترکیبی (CDDT) و بر اساس پروتکل CLSI انجام گرفت. در این روش از دیسک سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرمی) به همراه دیسک ترکیبی سفوتاکسیم+کلاوولانیک اسید (۳۰ میکروگرمی+۱۰ میکروگرمی) و همچنین دیسک سفتازیدیم (۳۰ میکروگرمی) به همراه دیسک ترکیبی سفتازیدیم+کلاوولانیک اسید (۳۰ میکروگرمی+۱۰ میکروگرمی) استفاده شد[19]. به طور خلاصه، از ایزوله‌ها غلظت معادل نیم مک فارلند تهیه و بر روي محیط مولر هینتون آگار کشت صورت گرفت. سپس دیسک‌هاي بر روی پلیت‌ها قرار داده شد و پس از انکوباسیون شبانه مورد خوانش قرار گرفتند. اگر قطر هاله عدم رشد باکتري در اطراف دیسک ترکیبی حداقل ۵ میلی‌متر یا بیشتر از قطر هاله عدم رشد دیسک منفرد همان آنتی‌بیوتیک بود، به عنوان ایزوله تولیدکننده ESBL در نظر گرفته می شد. در این تست از سویه استاندارد کلبسیلا پنومونیه ATCC70603 به عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

در مرحله بعدی تکثیر ژن‌های اینتگرون (*intI*) I با روش واکنش زنجیره‌ای پلیمرازی یا PCR انجام شد[12]. برای این منظور در ابتدا تخلیص ژنوم ایزوله‌ها با روش دستی فنل-کلروفرم انجام و سپس کیفیت و کمیت ژنوم‌های تخلیص شده با روش‌های الکتروفورز روی ژل آگاروز ۱٪ و نیز اندازه‌گیری با استفاده از دستگاه پیکودراپ مورد ارزیابی قرار گرفت.

برای تکثیر ژن *intI* در ابتدا پرایمرهای مورد نظر از شرکت ژن فن آوران ایران سفارش داده شد (پرایمر رفت: 5′-GGTCAAGGATCTGGATTTCG-3′ و پرایمر برگشت: 5′-ACATGCGTGTAAATCATCGTC-3′). سپس مخلوط PCR طبق موارد ذکر شده آماده گردید: ۲ میکرومول از Mgcl2، 200 میکرومول از dNTPs، ۱۰ پیکومول از هر کدام از پرایمرهای رفت و برگشت، ۱ واحد از آنزیم Taq DNA polymerase (فرمنتاز، لیتوانی) و ۵۰ نانوگرم از DNA الگو در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر از واکنش PCR. واکنش PCR نیز طبق برنامه ذیل انجام گرفت: واسرشت اولیه در ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۳ دقیقه، ۳۰ چرخه شامل واسرشت در ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، اتصال پرایمرها به مدت ۱ دقیقه در دمای ۶۲ درجه سانتی‌گراد، گسترش در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و گسترش نهایی در ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۷ دقیقه. بعد از انجام واکنش PCR، مقدار ۱۰ میکرولیتر از محصولات تکثیر یافته روی ژل آگارز ۱٪ الکتروفورز گردید و حضور یا عدم حضور ژن‌ها در دستگاه ژل داک مورد بررسی قرار گرفت.

در نهایت از نرم افزار SPSS نسخه ۱۹ جهت آنالیز آماری نتایج استفاده شد و ارتباط بین حضور ژن های مقاومت اینتگرونی با مقاومت آنتی‌بیوتیکی و تولید ESBL با آزمون کای دو مورد بررسی قرار گرفت. در این آنالیز آماری سطح معنی دار آماری کمتر از ۰/۰۵ ($p<0/05$) در نظر گرفته شد.

Downloaded from hms.gmu.ac.ir at 22:31 +0330 on Thursday November 15th 2018

نتایج

در مطالعه حاضر تعداد ۱۵۰ ایزوله اشریشیاکلی از کشت ادرار بیماران مراجعه کننده به بیمارستان‌های مورد مطالعه جمع‌آوری گردید که تمام آنها متعلق به زنان با رنج سنی بین ۱۸ تا ۶۰ سال بود.

با توجه به نتایج به دست آمده از تست دیسک دیفیوژن، ایزوله‌ها بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی را به آموکسی‌سیلین (۷۱/۳٪) نشان دادند و کمترین مقاومت به ترتیب مربوط به آنتی‌بیوتیک‌های ایمی پنم (۰٪)، آمیکاسین (۲٪) و مروپنم (۳/۳٪) بود. همچنین مقاومت نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها شامل تری متوپریم-سولفاماتاکسازول (٦٤٪)، سفوتاکسیم (۵۵/۳٪)، سفتازیدیم (۵۲/۷٪)، سیپروفلوکساسین (۵۲٪)، نورفلوکساسین (٤٦/۷٪) و جنتامیسین (۱۹/۳٪) بود. با توجه به الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی، ۷۰ ایزوله مقاومت آنتی‌بیوتیکی را حداقل به سه خانواده آنتی‌بیوتیکی نشان دادند و به عنوان سویه‌های با مقاومت آنتی‌بیوتیکی چند گانه یا MDR (ایزوله‌های با مقاومت به ۳ یا بیشتر از سه کلاس آنتی‌بیوتیکی) در نظر گرفته شدند. در جدول شماره ۱ الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های MDR آورده شده است.

جدول ۱) الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین ایزوله‌های MDR

شماره	تعداد ایزوله	الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی
۱	۳۳	AMO, SXT, CIP, NOR, CAZ, CTX
۲	۱۲	AMO, SXT, CIP, NOR, GM, CAZ, CTX
۳	۴	AMO, SXT, GM, CAZ, CTX
۴	۳	AMO, SXT, CIP, CAZ, CTX
۵	۳	AMO, CIP, NOR, GM, CAZ, CTX
۶	۲	AMO, SXT, CIP, NOR, GM, AN, CAZ, CTX
۷	۲	AMO, SXT, CIP, NOR
۸	۲	AMO, SXT, CIP, NOR, CTX
۹	۲	AMO, SXT, GM
۱۰	۲	AMO,MER, SXT, CIP,NOR, CAZ, CTX
۱۱	۱	AMO, SXT, CIP, NOR, GM, AN
۱۲	۱	AMO, SXT, CIP, CTX
۱۳	۱	AMO, SXT, CIP, GM, CAZ, CTX
۱۴	۱	AMO, MER, CIP, NOR, GM, CAZ, CTX
۱۵	۱	AMO, SXT, CIP, NOR, GM

AMO, Amoxicillin; SXT, Trimethoprim/sulfamethoxazole; CIP, Ciprofloxacin; NOR, Norfloxacin; CAZ, Ceftazidime; CTX, Cefotaxime; GM, Gentamicin; MER, Meropenem; AN, Amikacin.

همچنین نتایج تست دیسک دیفیوژن ترکیبی جهت شناسایی ایزوله‌های تولیدکننده ESBLs نشان داد که ٥٦ (۳۷/۳ درصد) ایزوله دارای توانایی تولید ESBL بودند. نتایج بررسی میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف در ایزوله‌های حاوی ESBLs و فاقد ESBLs در جدول ۲ نشان داده شده است.

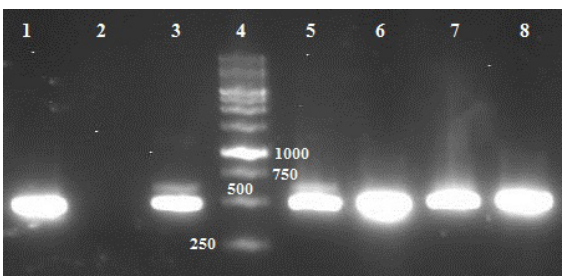
در این جدول مشاهده می شود که مقاومت به تمامی آنتی‌بیوتیک‌ها در ایزوله‌های تولید کننده ESBLs بیشتر از ایزوله‌های فاقد ESBLs می‌باشد و همچنین رابطه

جدول ۲) میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف در ایزوله‌های حاوی ESBLs و فاقد ESBLs

آنتی‌بیوتیک	ایزوله‌های حاوی ESBLs %	ایزوله‌های فاقد ESBLs %	سطح معنی‌داری
آموکسی‌سیلین	٪۱۰۰	٪۵۴/۳	۰/۰۰۰۱
تری متوپریم-سولفاماتوکسازول	٪۸۳/۹	٪۵۲/۱	۰/۰۰۰۱
سیپروفلوکساسین	٪۸۰/۴	٪۳۵/۱	۰/۰۰۱
نورفلوکساسین	٪۷۳/۲	٪۳۰/۹	۰/۰۰۱
جنتامیسین	٪۳۹/۳	٪۷/۴	۰/۰۰۰۱
آمیکاسین	٪۳/۶	٪۱/۱	۰/۵۵
مروپنم	٪۵/۴	٪۲/۱	۰/۳۶
سفوتاکسیم	٪۱۰۰	٪۲۸/۷	۰/۰۰۰۰۱
سفتازیدیم	٪۹۸/۲	٪۲۸/۵	۰/۰۰۰۱

معنی داری بین ایزوله‌های تولیدکننده ESBLs و مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام، تری متوپریم-سولفاماتوکسازول، سیپروفلوکساسین، نورفلوکساسین و جنتامیسین مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). تمام ایزوله‌های دارای ESBL مقاومت به دو آنتی‌بیوتیک آموکسی‌سیلین و سفوتاکسیم را از خود نشان دادند. از طرفی رابطه معنی‌داری بین ایزوله‌های تولیدکننده ESBLs و مقاومت MDR وجود داشت ($p<۰/۰۰۱$).

در مرحله بعدی تخلیص ژنومی ایزوله‌های اشریشیاکلی با روش فنل کلروفرم انجام شد و ارزیابی این نمونه‌ها نشان داد که همگی از درجه خلوص و غلظت مناسبی برای انجام PCR برخوردار هستند (1.8~OD260/OD280). سپس تکثیر ژن‌های اینتگرون در این ایزوله‌ها با برنامه PCR بهینه شده انجام گرفت که نتایج تکثیر این ژن‌ها در شکل ۱ نشان داده شده است. در این شکل مشاهده می‌شود که این ژن دارای اندازه‌ای در حدود ٤٩١ جفت باز است.



شکل ۱) الکتروفورز محصول PCR ژن اینتگراز روی ژل آگاروز. شماره ۱، کنترل مثبت؛ شماره ۲، کنترل منفی اشریشیاکلی K12؛ شماره‌های ۳ و ۵ تا ۸، ایزوله‌های دارای ژن اینتگراز؛ شماره ۴، مارکر DNA از نوع 1kb ladder mix.

Downloaded from hms.gmu.ac.ir at 22:31 +0330 on Thursday November 15th 2018

بررسی فراوانی حضور اینتگرون کلاس I در ۱۵۰ ایزوله اشریشیاکلی نشان داد که ۳٤ (۲۲/۷٪) ایزوله دارای اینتگرون کلاس I بودند. همچنین الگوی مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های تست شده در ایزوله‌های اشریشیاکلی دارای اینتگرون و فاقد اینتگرون در جدول ۳ آورده شده است.

جدول ۳) میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف در ایزوله‌های مولد اینتگرون و فاقد اینتگرون

آنتی‌بیوتیک	ایزوله‌های مولد اینتگرون (٪)	ایزوله‌های فاقد اینتگرون (٪)	سطح معنی‌داری
آموکسی سیلین	٪۸۸/۲	٪۶۶/۴	۰/۰۱۷
تری متوپریم سولفامتوکسازول	٪۸۸/۲	٪۵۶/۹	۰/۰۰۱
سیپروفلوکساسین	٪۶۱/۸	٪۴۹/۱	۰/۲۴۳
نورفلوکساسین	٪۵۵/۹	٪۴۴	۰/۲۴۵
جنتامیسین	٪۳۸/۲	٪۱۳/۸	۰/۰۰۳
آمیکاسین	٪۸/۸	٪۰	-
مروپنم	٪۰	٪۴/۳	-
سفوتاکسیم	٪۶۱/۸	٪۵۳/۴	۰/۴۳۷
سفتازیدیم	٪۵۵/۹	٪۵۱/۷	۰/۷

همان‌گونه که در جدول ۳ مشاهده می شود بیشترین میزان مقاومت در ایزوله‌های مولد اینتگرون مربوط به آنتی‌بیوتیک‌های آموکسی‌سیلین و تری متوپریم-سولفامتوکسازول بود. مقاومت به آمیکاسین تنها در بین ایزوله‌های دارای اینتگرون مشاهده شد، در حالی که هیچ یک از سویه‌های مقاوم به مروپنم دارای اینتگرون نبودند. همچنین ارتباط معنی‌داری بین حضور اینتگرون و مقاومت به آموکسی سیلین، تری متوپریم- سولفامتوکسازول، جنتامیسین و آمیکاسین مشاهده شد ($p<۰/۰۵$).

ارتباط توزیع ایزوله‌های دارای ژن اینتگراز با الگوی مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف در جدول ٤ آورده شده است.

طبق جدول مذکور مشاهده می شود که از ۳٤ ایزوله دارای ژن اینتگراز، ۳۱ ایزوله حداقل به یکی از آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت نشان داده و تنها ۳ ایزوله دارای این ژن به تمامی آنتی‌بیوتیک‌های تست شده حساسیت نشان دادند. همچنین در این مطالعه مشاهده شد که از ۳٤ ایزوله حاوی ژن int1، ۲۲ ایزوله (٦٤/۷ درصد) جزو ایزوله‌های MDR بودند. در این مطالعه همچنین ارتباط معنی داری بین حضور اینتگرون کلاس I و مقاومت MDR وجود داشت ($p=۰/۰۲$) و همچنین مشاهده گردید که در بین ٥٦ ایزوله حاوی ESBL، ۱۸ ایزوله دارای اینتگرون کلاس I بودند ($p=۰/۰٤۳$).

جدول ٤) ارتباط توزیع ایزوله‌های دارای ژن اینتگراز با الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی

شماره الگو	تعداد ایزوله	الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی
۱	٦	AMO, SXT, CIP, NOR, GM, CAZ, CTX
۲	٦	AMO, SXT, CIP, NOR, CAZ, CTX
۳	۳	AMO, SXT
٤	۲	AMO, SXT, CIP, NOR, GM, AN, CAZ, CTX
٥	۲	AMO, CIP, NOR, CAZ, CTX
٦	۲	AMO, SXT, GM, CAZ, CTX
۷	۲	AMO, SXT, CAZ, CTX
۸	۱	AMO, SXT, CIP, NOR, GM
۹	۱	AMO, SXT, CIP, CTX
۱۰	۱	AMO, SXT, CIP
۱۱	۱	AMO, SXT, GM
۱۲	۱	SXT
۱۳	۱	AMO, SXT, CIP, NOR, GM, AN
۱٤	۱	AMO, SXT, CIP, NOR
۱٥	۱	AMO, SXT, CIP, NOR, CTX

AMO, Amoxicillin; SXT, Trimethoprim/sulfamethoxazole; CIP, Ciprofloxacin; NOR, Norfloxacin; CAZ, Ceftazidime; CTX, Cefotaxime; GM, Gentamicin; AN, Amikacin.

بحث

با توجه به افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی، آگاهی از الگوی مقاومت میکروبی و مکانیسم‌های انتقال مقاومت در بین عفونت‌های باکتریایی مانند عفونت دستگاه ادراری می‌تواند یک راهکار موثر در راستای پیشگیری از انتقال مقاومت میکروبی و غلبه بر نقایص درمانی باشد[8,9]. بنابراین در این مطالعه الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی، حضور اینتگرون کلاس ۱ و ارتباط آنها با یکدیگر در بین ایزوله‌های اشریشیاکلی جمع آوری شده از افراد مبتلا به عفونت ادراری در شهر تهران مورد بررسی قرار گرفت.

در این مطالعه مشاهده شد که از بین آنتی‌بیوتیک‌های مطالعه شده بیشترین مقاومت به آموکسی‌سیلین وجود دارد. البته در مطالعات دیگر مقاومت بالای سویه‌های اشریشیاکلی به آنتی‌بیوتیک‌های خانواده بتالاکتام از جمله آمپی‌سیلین و آموکسی سیلین گزارش شده که نشان دهنده آن است که بایستی استفاده از این آنتی‌بیوتیک‌ها در جهت درمان عفونت های ادراری به طور کامل محدود شود[10,20,21]. البته مشاهده مقاومت قابل توجه به آنتی‌بیوتیک‌های خانواده کینولون، سفالوسپورین‌ها و تری متوپریم-سولفامتاکسازول آن هم در بین ایزوله‌هایی که از افراد غیر بستری در بیمارستان جمع آوری شده بودند نیز قابل توجه بود. نکته جالب آن است که این آنتی‌بیوتیکها به عنوان خط اول درمانی عفونت‌های ادراری در بسیاری از کشورها استفاده می‌شوند [22] و بنابراین در مصرف این آنتی‌بیوتیک‌ها نیز به خصوص در ایران بایستی محدودیت‌های بیشتری در نظر گرفته شود. مصرف بی رویه و خودسرانه آنتی‌بیوتیک‌های ذکر شده می‌تواند اصلی ترین عامل ایجاد این مقاومت به آن ها در بین ایزوله‌های اشریشیاکلی باشد[8,21].

در تطابق با مطالعه حاضر در مطالعه دیگری که روی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های اشریشیاکلی جدا شده از عفونت ادراری

Downloaded from hms.gmu.ac.ir at 22:31 +0330 on Thursday November 15th 2018

در مناطق مختلف در ایران انجام گرفت، ایمی پنم به عنوان یکی از موثرترین آنتی‌بیوتیک ها علیه عفونت ادراری گزارش شد و بنابراین می تواند در اهداف درمانی به خصوص در موارد عفونت بیمارستانی و پیچیده مد نظر قرار گیرد[10]. البته در اندکی از مطالعات مانند مطالعاتی که روی ایزوله‌های اشریشیاکلی جمع آوری شده از شمال ایران انجام شد درصد قابل توجهی از مقاومت به ایمی پنم (۳۳٪ تا ۳۸/۶٪) گزارش شد[10,23].

مطالعات مختلف در ایران نشان داده است که درصد مقاومت ایزوله‌های اشریشیاکلی جدا شده از عفونت دستگاه ادراری به آنتی‌بیوتیک های آمینوگلیکوزیدی از رنج ۱۱/۷ در جهرم[24] تا ۷۶/۶ در زاهدان[25] متغیر بوده است که این آمار گزارش شده در اغلب شهرها در نقاط مختلف ایران بالاتر از مقاومت آمینوگلیکوزیدی مشاهده شده در مطالعه حاضر بود. همچنین مقاومت به آنتی‌بیوتیک های فلوروکینولونی نیز به صورت متغیر در نقاط مختلف ایران و از ۸/۳ در جهرم[26] تا ۵۵/۵ درصد در اصفهان[27] گزارش شده که در اغلب موارد این آمارهای گزارش شده نزدیک به مطالعه حاضر بود. مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های خانواده سفالوسپورین‌های نسل سوم نیز در مطالعات مختلف صورت گرفته در ایران از ۲/۶ درصد در تهران تا ۷۳/۵ درصد در کرمانشاه متغیر گزارش شده است که در برخی موارد این میزان مقاومت از مطالعه حاضر بالاتر و در برخی موارد نیز کمتر بود[10]. این تفاوت در آمارهای گزارش شده از مقاومت ایزوله‌ها به آنتی‌بیوتیک کلاس های مختلف در مناطق مختلف می‌تواند به دلیل تفاوت در منطقه جغرافیایی، تفاوت در نوع عفونت ادراری، تفاوت در نمونه گیری، تفاوت در آداب و فرهنگ و تفاوت در سطح بهداشتی مناطق باشد. البته این آمارهای متغیر گزارش شده از مقاومت آنتی‌بیوتیکی به خصوص در ایران نشان می دهد که بایستی راه کارهایی برای یکسان سازی جواب های بدست آمده که ناشی از خطاهای آزمایشگاهی و تکنیکی می باشد ارائه گردد که به طور یقین می‌تواند به پزشکان در زمینه انتخاب کارآمدترین آنتی‌بیوتیک‌ها و ارائه درمان صحیح تر بیماران با عفونت دستگاه ادراری کمک شایانی نماید[21]. از مواردی که موجب بدست آمدن این نتایج متغیر در زمینه مقاومت آنتی‌بیوتیکی در کشورهای در حال توسعه از جمله ایران شده است می توان به استفاده از دیسک‌های آنتی بیوتکی نامعتبر و نامرغوب در تست آنتی بیوگرام اشاره کرد که با جایگزینی آن‌ها با دیسک‌ها آنتی‌بیوتیکی شرکت‌های معتبر می‌توان انتظار نتایج بهتری را در این زمینه داشت.

در این مطالعه ایزوله‌های اشریشیاکلی با مقاومت چند گانه (MDR) مقاومت بالایی به اغلب کلاس های آنتی‌بیوتیکی نشان دادند، به طوری که این ایزوله‌ها همگی به آمپی سیلین مقاومت نشان داده و مقاومت به تری متوپریم-سولفامتاکسازول، سیپروفلوکسازین، سفوتاکسیم، سفتازیدیم و نورفلوکساسین نیز به ترتیب ۹۴/۳٪، ۹۱/۴٪، ۹۰٪، ۸۵/۷٪ و ۸۴/۳٪ بود. شیوع مقاومت MDR در کشورهای مختلف از جمله در نقاط مختلف ایران با درصدهای متفاوتی گزارش شده است. در مطالعه مروری که توسط هادی فر و همکاران در ایران انجام شد میانگین شیوع سویه‌های اشریشیاکلی MDR در نقاط مختلف ایران در حدود ۵۰ درصد گزارش شد که از میانگین MDR در ایزوله‌های بررسی شده در مطالعه حاضر کمتر بود[20]. در کشور هند نیز مقاومت چند گانه در سویه های اشریشیاکلی ادراری تا سال ۲۰۰۸ حدود ۵۰٪ گزارش شد که این میزان بعد از سال ۲۰۱۱ به بعد به ۸۰٪ رسید[20,28]. البته در کشور توسعه یافته ای مانند ایالت متحده آمریکا نیز میزان MDR در بین سویه های اشریشیاکلی ادراری تا سال ۲۰۰۱ در حدود ۹٪ گزارش شده ولی از سال ۲۰۱۰ به بعد این میزان به بیش از ۱۷٪ افزایش یافت[29]. این مطالعات نشان می دهد که با توجه به اهمیت سویه های با مقاومت چند گانه بایستی در جهت جلوگیری از گسترش این سویه‌ها نیز تمهیدات و بازنگری‌هایی در استفاده از آنتی‌بیوتیک ها در کشورهای مختلف صورت گیرد که در صورت محقق نشدن این موضوع در آینده ای نه چندان دور شاهد ظهور سویه های مختلفی با توانایی تولید مقاومت چندگانه به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف خواهیم بود که در آن صورت انتخاب آنتی‌بیوتیک های کارآمد علیه عفونت های ایجاد شده بسیار مشکل خواهد بود.

در این مطالعه ۳۷/۳ درصد از ایزوله‌ها توانایی تولید ESBL را داشتند و طبق مطالعات انجام شده در ایران میزان شیوع سویه‌های دارای ESBL از ۲/۴ در تهران تا ۶۲/۷ درصد در زاهدان متغیر گزارش شده است[10]. این مطالعات نشان داد که شیوع سویه‌های دارای توانایی تولید ESBL در مطالعه حاضر نزدیک به مطالعات انجام شده در اصفهان و زنجان بود[10]. البته در کشورهای اروپایی مانند ترکیه[30]، اسپانیا[31] و لهستان[32] نیز شیوع بالایی از ESBL ها در بین سویه‌های اشریشیاکلی گزارش شده است که آمار نگران کننده ای را در زمینه انتشار سویه های حامل ESBL نشان می دهد[23]. این مطالعات نیز خاطر نشان می کند که بایستی راه کارهای جدیدی توسط سیستم بهداشتی کشورها برای کنترل و یا کاهش تولید ESBL ها در بین این سویه‌ها ارائه گردد تا در آینده شاهد کاهش انتقال این آنزیم های تولید کننده مقاومت میکروبی در جوامع باشیم.

در مطالعه حاضر تنها ۲۲/۷٪ ایزوله‌های تست شده حامل اینتگرون کلاس I بودند که شیوع نسبتا پایین اینتگرون در این مطالعه مي تواند به این دلیل باشد که توالی‌هاي ژني مقاومت روي عناصر دیگري مانند ترانسپوزون‌ها و پروفاژها قرار دارند. در مطالعات دیگری در ایران این آمار از ۶/۲٪ در شیراز[26] تا ۵۲٪ در یاسوج[33] و ۹۷٪ در شمال[23] گزارش شده است. البته در مطالعات انجام شده در دیگر کشورها نیز درصدهای مختلفی از شیوع اینتگرون‌ها گزارش شده که از جمله آن‌ها می‌توان به شیوع ۵۴٪ در مصر[34]، ۵۴/۶٪ در سوریه[35] و ۶۷٪ در اسپانیا[36] اشاره کرد که البته این میزان در کشورهای توسعه یافته کمتر مشاهده شده است. این اختلافات در شیوع اینتگرون‌ها نیز می تواند به دلیل تفاوت در نمونه گیری، تفاوت در نوع عفونت ادراری، تفاوت در فرهنگ‌ها و دیگر موارد باشد. البته کنترل انتقال مقاومت آنتی‌بیوتیکی توسط اینتگرون‌ها نیز نیازمند راه کارهای اساسی در سیستم بهداشتی کشورها خواهد بود که از جمله آن‌ها می توان به محدود کردن استفاده بی‌رویه

Downloaded from hms.gmu.ac.ir at 22:31 +0330 on Thursday November 15th 2018

و خودسرانه از آنتی‌بیوتیک‌های روتین درمانی اشاره کرد.

در این مطالعه ارتباط معنی‌داری از لحاظ آماری بین حضور اینتگرون کلاس I و ESBLs در ایزوله‌های اشریشیاکلی مشاهده شد که این ارتباط می تواند نشان دهنده حضور ژن های ESBLs بر روی اینتگرون کلاس I در جهت تسهیل و تسریع انتقال این ژن‌ها در این گونه از باکتری‌ها باشد. البته مطالعات دیگری نیز در این زمینه به ارتباط ژن های ESBLs با اینتگرون‌ها اشاره کرده اند[37,38]، در حالی که در برخی مطالعات مانند مطالعه ماچادو در اسپانیا ارتباط خاصی بین حضور ESBL و اینتگرون ها در سویه های اشریشیاکلی مشاهده نشده است[36].

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که مقاومت نسبتا بالایی به اغلب آنتی‌بیوتیک‌های بررسی‌شده از کلاسهای مختلف همراه با حضور ESBL در ایزوله‌های اشریشیاکلی وجود دارد که درصد زیادی از آن‌ها به صورت مقاومت چند گانه بود. همچنین در این مطالعه اینتگرون کلاس ۱ در برخی از ایزوله‌ها مشاهده شد که این عوامل می توانند در انتقال مقاومت آنتی‌بیوتیکی شرکت کنند. در نهایت پیشنهاد می شود تا با انجام مطالعات گسترده‌تر در این زمینه بتوان نتیجه‌گیری دقیق‌تری انجام داد تا با ایجاد شرایط بهداشتی بهتر در جوامع و یا تغییر استراتژی مصرف آنتی‌بیوتیک، شرایط مناسبی را در جهت جلوگیری از انتقال مقاومت آنتی‌بیوتیکی فراهم نمود.

تشکر و قدردانی: از انستیتو پاستور ایران جهت حمایت در انجام این پروژه کمال تشکر و قدردانی را داریم.

تاییدیه اخلاقی: با توجه به اینکه در این مطالعه تنها پلیت‌های کشت ادراری از بیمارستانها جمع آوری شد بنابراین نیازی به کد اخلاقی در این مطالعه وجود نداشت.

تعارض منافع: تعارض منافع بین نویسندگان وجود ندارد.

سهم نویسندگان: مهری حبیبی (نویسنده اول)، محمدرضا اسدی کرم (نویسنده دوم و مسئول)، علیرضا محمدزاده (نویسنده سوم).

منابع مالی: مطالعه حاضر با حمایتهای مالی انستیتو پاستور ایران انجام شده است.

منابع

1- Wright KJ, Seed PC, Hultgren SJ. Uropathogenic Escherichia coli flagella aid in efficient urinary tract colonization. Infect Immun. 2005; 73(11):7657-68.

2- Gupta K, Hooton TM, Naber KG, Wullt B, Colgan R, Miller LG, et al. International clinical practice guidelines for the treatment of acute uncomplicated cystitis and pyelonephritis in women: a 2010 update by the Infectious Diseases Society of America and the European Society for Microbiology and Infectious Diseases. Clin Infect Dis. 2011; 52(5):e103-e20.

3- Nicolle LE. Uncomplicated urinary tract infection in adults including uncomplicated pyelonephritis. Urol Clini North Am. 2008; 35(1):1-12.

4- Salvatore S, Salvatore S, Cattoni E, Siesto G, Serati M, Sorice P, et al. Urinary tract infections in women. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2011; 156(2):131-6.

5- Dhakal BK, Kulesus RR, Mulvey MA. Mechanisms and consequences of bladder cell invasion by uropathogenic Escherichia coli. Eur J Clin Invest. 2008; 38 Suppl 2:2-11.

6- Vachhani AV, Barvaliya M, Naik V, Jha P, Tripathi C. Effectiveness and tolerability of short course co-trimoxazole, norfloxacin and levofloxacin in bacteriological cure of uncomplicated urinary tract infection in outpatient setting. An open label, parallel group, randomized controlled trial. Infez Med. 2015; 23(2):155-60.

7- Fasugba O, Gardner A, Mitchell BG, Mnatzaganian G. Ciprofloxacin resistance in community- and hospital-acquired Escherichia coli urinary tract infections: a systematic review and meta-analysis of observational studies. BMC Infect Dis. 2015; 15:545.

8- Walker E, Lyman A, Gupta K, Mahoney MV, Snyder GM, Hirsch EB. Clinical Management of an Increasing Threat: Outpatient Urinary Tract Infections Due to Multidrug-Resistant Uropathogens. Clin Infect Dis. 2016; 63(7):960-5.

9- Sanchez GV, Babiker A, Master RN, Luu T, Mathur A, Bordon J. Antibiotic Resistance among Urinary Isolates from Female Outpatients in the United States in 2003 and 2012. Antimicrob Agents Chemother. 2016;60(5):2680-3.

10- Alizade H. Escherichia coli in Iran: An Overview of Antibiotic Resistance: A Review Article. Iran J Public Health. 2018;47(1):1-12.

11- Tong YQ, Sun M, Hu C, Zhao D. Plasmid transfer capacities of multi-resistant UPEC clinical isolates in biofilms. Biomed Res. 2017;28(5).

12- Paniagua-Contreras GL, Monroy-Perez E, Rodriguez-Moctezuma JR, Dominguez-Trejo P, Vaca-Paniagua F, Vaca S. Virulence factors, antibiotic resistance phenotypes and

Downloaded from hms.gmu.ac.ir at 22:31 +0330 on Thursday November 15th 2018

O-serogroups of Escherichia coli strains isolated from community-acquired urinary tract infection patients in Mexico. J Microbiol Immunol Infect. 2017; 50(4):478-85.

13- Kaushik M, Kumar S, Kapoor RK, Virdi JS, Gulati P. Integrons in Enterobacteriaceae: diversity, distribution and epidemiology. Int J Antimicrob Agents. 2018; 51(2):167-76.

14- Fluit AC, Schmitz FJ. Resistance integrons and super-integrons. Clin Microbiol Infect. 2004; 10(4):272-88.

15- Mazel D. Integrons: agents of bacterial evolution. Nat Rev Microbiol. 2006; 4(8):608-20.

16- Rowe-Magnus DA, Mazel D. Integrons: natural tools for bacterial genome evolution. Curr Opin Microbiol. 2001; 4(5):565-9.

17- Lina TT, Khajanchi BK, Azmi IJ, Islam MA, Mahmood B, Akter M, et al. Phenotypic and molecular characterization of extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli in Bangladesh. PLoS One. 2014; 9(10):e108735.

18- Barguigua A, El Otmani F, Talmi M, Bourjilat F, Haouzane F, Zerouali K, et al. Characterization of extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae isolates from the community in Morocco. J Med Microbiol. 2011; 60(Pt 9):1344-52.

19- Wayne P. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fifth Informational Supplement. CLSI Document M100-S25, Clinical and Laboratory Standards Institute 2015.

20- Hadifar S, Moghoofei M, Nematollahi S, Ramazanzadeh R, Sedighi M, Salehi-Abargouei A, et al. Epidemiology of Multidrug Resistant Uropathogenic Escherichia coli in Iran: a Systematic Review and Meta-Analysis. Jpn J Infect Dis. 2017; 70(1):19-25.

21- Terlizzi ME, Gribaudo G, Maffei ME. UroPathogenic Escherichia coli (UPEC) Infections: Virulence Factors, Bladder Responses, Antibiotic, and Non-antibiotic Antimicrobial Strategies. Front Microbiol. 2017; 8:1566.

22- Enne VI, Livermore DM, Stephens P, Hall LM. Persistence of sulphonamide resistance in Escherichia coli in the UK despite national prescribing restriction. Lancet. 2001; 357(9265):1325-8.

23- 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. Iran Biomed J. 2015; 19(4):233.

24- Asadi S, Kargar M, Solhjoo K, Najafi A, Ghorbani-Dalini S. The Association of Virulence Determinants of Uropathogenic Escherichia coli With Antibiotic Resistance. Jundishapur J Microbiol. 2014; 7(5):e9936.

25- Shayan S, Bokaeian M, Shahraki S. Prevalence and molecular characterization of AmpC-producing clinical isolates of Escherichia coli from southeastern Iran. Microb Drug Resist. 2014; 20(2):104-7.

26- 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.

27- Gholipour A, Soleimani N, Shokri D, Mobasherizadeh S, Kardi M, Baradaran A. Phenotypic and Molecular Characterization of Extended-Spectrum beta-Lactamase Produced by Escherichia coli, and Klebsiella pneumoniae Isolates in an Educational Hospital. Jundishapur J Microbiol. 2014; 7(10):e11758.

28- Dash SK, Chakraborty SP, Mandal D, Roy S. Isolation and characterization of multi drug resistant uropathogenic Escherichia coli from urine sample of Urinary tract infected patients. Int J Life Sci Pharma Res. 2012; 25-39.

29- Sanchez GV, Baird AM, Karlowsky JA, Master RN, Bordon JM. Nitrofurantoin retains antimicrobial activity against multidrug-resistant urinary Escherichia coli from US outpatients. J Antimicrob Chemother. 2014; 69(12):3259-62.

30- Bali EB, Accedil L, Sultan N. Phenotypic and molecular characterization of SHV, TEM, CTX-M and extended-spectrum-lactamase produced by Escherichia coli, Acinobacter

Downloaded from hms.gmu.ac.ir at 22:31 +0330 on Thursday November 15th 2018

baumannii and Klebsiella isolates in a Turkish hospital. Afr J Microbiol Res. 2010; 4(8):650-4.
31- Sorlozano A, Gutierrez J, Fernandez F, Soto M, Piedrola G. A preliminary study on the presence of extended-spectrum beta-lactamases (ESBL) in clinical isolates of Escherichia coli in Granada (Spain). Ann Microbiol. 2004; 54:227-32.
32- Franiczek R, Dolna I, Krzyzanowska B, Szufnarowski K, Kowalska-Krochmal B. Conjugative transfer of multiresistance plasmids from ESBL-positive Escherichia coli and Klebsiella spp. clinical isolates to Escherichia coli strain K12 C600. Adv Clin Exp Med. 2007; 16(2):239.
33- Khoramrooz SS, Sharifi A, Yazdanpanah M, Malek Hosseini SA, Emaneini M, Gharibpour F, et al. High Frequency of Class 1 Integrons in Escherichia coli Isolated From Patients With Urinary Tract Infections in Yasuj, Iran. Iran Red Crescent Med J. 2016; 18(1):e26399.
34- Salem MM, Magdy M, Alhosiny IM. Distribution of classes 1 and 2 integrons among multi drug resistant E. coli isolated from hospitalized patients with urinary tract infection in Cairo, Egypt. Aust J Basic Appl Sci. 2010; 4(3):398-407.
35- Al-Assil B, Mahfoud M, Hamzeh AR. First report on class 1 integrons and Trimethoprim-resistance genes from dfrA group in uropathogenic E. coli (UPEC) from the Aleppo area in Syria. Mob Genet Elements. 2013; 3(3):e25204.
36- Machado E, Canton R, Baquero F, Galan JC, Rollan A, Peixe L, et al. Integron content of extended-spectrum-beta-lactamase-producing Escherichia coli strains over 12 years in a single hospital in Madrid, Spain. Antimicrob Agents Chemother. 2005; 49(5):1823-9.
37- Bonnet R. Growing group of extended-spectrum beta-lactamases: the CTX-M enzymes. Antimicrob Agents Chemother. 2004;48(1):1-14.
38- Jacoby GA, Sutton L. Properties of plasmids responsible for production of extended-spectrum beta-lactamases. Antimicrob Agents Chemother. 1991; 35(1):164-9.