

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.

¹Department of Molecular biology, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran.

²Department 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 relationships 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.

محمد رضا اسدی کرم * PhD

بخش بیولوژی ملکولی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران.

علیرضا محمدزاده PhD

گروه میکروپ 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 ایزوله‌های 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 پلیمراز انجام شد.

یافته‌ها: میزان مقاومت ایزوله‌ها به آموکسی سیلین (۳/۷۷٪)، تری متوپریم-سولفامتاکسازول (۶۴/۶٪)، سفوتاکسیم (۳/۵۵٪)، سفنازیدیم (۷/۵۲٪)، سیپروفلوکساسین (۵۲/۷٪)، نورفلوکساسین (۷/۴۶٪)، جنتامیسین (۳/۱۹٪)، مروپنم (۳/۳٪)، آمیکاسین (۲/۲٪) و ایمی پنم (۰/۰٪) بود. ۷۰ ایزوله به عنوان ایزوله‌های تولید کننده مقاومت چند دارویی یا MDR در نظر گرفته شدند و ۵۶ (۳۷/۳٪) ایزوله توانایی تولید ESBLs را نشان دادند. ۳۴ (۲۲/۷٪) ایزوله دارای اینتگرون کلاس I بودند. رابطه معنی داری 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 آنتی‌بیوتیک‌های 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: ۱۳۹۷/۰۵/۰۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۶/۳۱

* نویسنده مسئول: m_asadi12@yahoo.com

مقدمه

عفونت دستگاه ادراری به مجموعه عفونت‌هایی اطلاق می‌شود که اجزای مختلف دستگاه ادراری را درگیر کرده 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 ۶۰ 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 اشریشیاکلی همواره به عنوان

شایع‌ترین و مهم‌ترین عامل ایجاد این عفونت‌ها بوده‌اند، بطوریکه این باکتری عامل بیش از ۹۰ درصد عفونت‌های کسب شده از جامعه و نیز عامل حدود نیمی از عفونت‌های کسب شده از بیمارستان است [5].

امروزه از کلاس‌های مختلف آنتی‌بیوتیکی مانند خانواده بتالاکتام‌ها (سفالوسپورین‌ها)، کینولون‌ها و فلوروکینولون‌ها (نالیدیکسیک اسید و سپیروفلوکساسین)، کارباپنم‌ها (ارتاپنم و ایمی پنم) و آمینوگلیکوزیدها (آمیکاسین و جنتامیسین) در جهت درمان عفونت‌های پیچیده و غیر پیچیده دستگاه ادراری استفاده می‌شود [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 اشریشیاکلی‌ها دارند. این عوامل به تهابی 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 مهم‌ترین و شایع‌ترین کلاس‌های اینتگرون می‌توان اینتگرون‌های 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. اینتگرون‌ها در ناحیه 5' دارای بخش‌های مختلفی بوده که از مهم‌ترین قسمت‌های آن می‌توان به جایگاه گیرنده attI که جایگاه نوترکیبی اختصاصی در توالی‌های 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 توانایی‌شان 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

ارزیابی از سویه اشریشیاکلی ATCC25922 به عنوان سویه کنترل استفاده شد.

در مرحله بعد شناسایی ایزوله‌های تولید کننده ESB� 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 سفنازیدیم (۳۰ میکروگرمی) به همراه دیسک ترکیبی سفنازیدیم+کلاوولانیک اسید (۳۰ میکروگرمی+۱۰ میکروگرمی) استفاده شد^[19]. به طور خلاصه، از ایزوله‌ها غلظت معادل نیم مک فارلند تهیه و بر روی محیط مولر هینتون آگار کشت صورت گرفت. سپس دیسک‌های بر روی پلیت‌ها قرار داده شد و پس از انکوباسیون شبانه مورد خوانش قرار گرفتند. اگر قطر هاله عدم رشد باکتری در اطراف دیسک ترکیبی حداقل ۵ میلی‌متر یا بیشتر از قطر هاله عدم رشد دیسک منفرد همان آنتی بیوتیک بود، به عنوان ایزوله تولیدکننده ESB� در نظر گرفته می‌شد. در این تست از سویه استاندارد کلیسیلا پنومونه ATCC70603 به عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

در مرحله بعدی تکثیر ژن‌های اینتگرون *I (intI)* 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:

3'-ACATGCGTGTAAATCATCGTC-5'. 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 سانتی‌گراد 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 سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه. بعد از انجام واکنش PCR، مقدار ۱۰ میکرولیتر از محصولات تکثیر یافته روی ژل آگاروز 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 ژن‌های مقاومت اینتگرونی با مقاومت آنتی بیوتیکی و تولید ESB� با آزمون کای دو مورد بررسی قرار گرفت. در این آنالیز آماری سطح معنی دار آماری کمتر از ۰/۰۵/۰/۰۵ ($p < 0.05$) در نظر گرفته شد.

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

با توجه به اینکه حضور ژن‌های کدکننده اینتگرون‌ها و ارتباط حضور این ژن‌ها با مقاومت آنتی بیوتیکی 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 آنتی بیوتیکی و تولید ESB� 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 جمع‌آوری پلیت‌ها تا زمانی ادامه یافت تا در نهایت تعداد ۱۵۰ ایزوله اشریشیاکلی بدست آید. البته برای اطمینان از تشخیص صحیح ایزوله‌های جمع‌آوری شده مجدداً 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 مبنای معیارهای بالینی مرکز کنترل و پیشگیری 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 آنتی بیوتیک‌های از کلاس‌های مختلف شامل بتالاکتام‌ها (آموکسی سیلین ۱۰ میکروگرمی، سفالوسپورین‌های سفنازیدیم و سفوتاکسیم ۳۰ میکروگرمی)، کارباپنم‌ها (ایمی پنم و مرو پنم ۱۰ میکروگرمی)، فلوروکینولون‌ها (سپروفلوکساسین ۵ میکروگرمی و نورفلوکساسین ۱۰ میکروگرمی)، آمینوگلیکوزیدها (امیکاسین 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 کلنی 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 میلی‌متر اندازه‌گیری گردید. در این

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 ایمپی پنم (۰٪)، آمیکاسین (۲٪) و مروپنم (۳/۳٪) بود. همچنین مقاومت نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها شامل تری متوپریم-سولفامتاکسازول (۶۴٪)، سفوتاکسیم (۵۵/۳٪)، سفتازیدیم (۵۲/۷٪)، سیپروفلوکساسین (۵۲٪)، نورفلوکساسین (۴۶/۷٪) 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 ۵۶ (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.

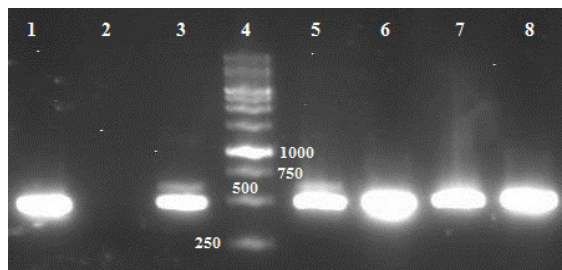
در این جدول مشاهده می‌شود که مقاومت به تمامی آنتی‌بیوتیک‌ها در ایزوله‌های تولید کننده ESBLs بیشتر از ایزوله‌های فاقد ESBLs می‌باشد و همچنین رابطه

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-سولفامتاکسازول	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٪	۰/۰۰۰۱
سفتازیدیم	۹۸/۲٪	۲۸/۵٪	۰/۰۰۰۱

معنی‌داری بین ایزوله‌های تولیدکننده ESBLs و مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام، تری متوپریم-سولفامتاکسازول، سیپروفلوکساسین، نورفلوکساسین و جنتامیسین مشاهده شد ($p < 0.05$). 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 ($p < 0.001$).

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 (OD260/OD280 ~ 1.8). سپس تکثیر ژن‌های اینتگران 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 ۴۹۱ جفت باز است.



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

آموکسی سیلین 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 معنی داری بین حضور اینتگرون و مقاومت به آموکسی سیلین، تری متوپریم-سولفامتوکسازول، جنتامیسین و آمیکاسین مشاهده شد ($p < 0.05$).

ارتباط توزیع ایزوله‌های دارای ژن اینتگراز با الگوی مقاومت به آنتی بیوتیک‌های مختلف در جدول ۴ آورده شده است.

طبق جدول مذکور مشاهده می شود که از ۳۴ ایزوله دارای ژن اینتگراز، ۳۱ ایزوله حداقل به یکی از آنتی بیوتیک‌ها مقاومت نشان داده و تنها ۳ ایزوله دارای این ژن به تمامی آنتی بیوتیک‌های تست شده حساسیت نشان دادند. همچنین در این مطالعه مشاهده شد که از ۳۴ ایزوله حاوی ژن *int1*، ۲۲ ایزوله (۶۴٪) جزو ایزوله‌های MDR بودند. در این مطالعه همچنین ارتباط معنی داری بین حضور اینتگرون کلاس I و مقاومت MDR وجود داشت ($p = 0.02$) و همچنین مشاهده گردید که در بین ۵۶ ایزوله حاوی *ESBL*، ۱۸ ایزوله دارای اینتگرون کلاس I بودند ($p = 0.043$).

بحث

با توجه به افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی، 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 آنتی بیوتیکی، حضور اینتگرون کلاس I 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 آنتی بیوتیک‌های مطالعه شده بیشترین مقاومت به آموکسی سیلین وجود دارد. البته در مطالعات دیگر مقاومت بالای سویه‌های اشریشیاکلی به آنتی بیوتیک‌های خانواده بتالاکتام از جمله آمپی سیلین و آموکسی سیلین گزارش شده که نشان دهنده آن است که بایستی استفاده از این آنتی بیوتیک‌ها در جهت درمان عفونت‌های ادراری به طور کامل محدود شود^[10,20,21]. البته مشاهده مقاومت قابل توجه به آنتی بیوتیک‌های خانواده کینولون، سفالوسپورین‌ها و تری متوپریم-سولفامتوکسازول 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 آنتی بیوتیک‌ها به عنوان خط اول درمانی عفونت‌های ادراری در بسیاری از کشورها استفاده می‌شوند^[22] و بنابراین در مصرف این آنتی بیوتیک‌ها نیز به خصوص در ایران بایستی محدودیت‌های بیشتری در نظر گرفته شود. مصرف بی رویه و خودسرانه آنتی بیوتیک‌های ذکر شده می‌تواند اصلی ترین عامل ایجاد این مقاومت به آن‌ها در بین ایزوله‌های اشریشیاکلی باشد^[8,21].

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

بررسی فراوانی حضور اینتگرون کلاس I در ۱۵۰ ایزوله اشریشیاکلی نشان داد که ۳۴ (۲۲٪) ایزوله دارای اینتگرون کلاس I بودند. همچنین الگوی مقاومت به آنتی بیوتیک‌های تست شده در ایزوله‌های اشریشیاکلی دارای اینتگرون و فاقد اینتگرون در جدول ۳ آورده شده است.

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

آنتی بیوتیک	ایزوله‌های مولد اینتگرون (%)	ایزوله‌های فاقد اینتگرون (%)	سطح معنی داری
آموکسی سیلین	۸۸/۲	۶۶/۴	۰/۰۱۷
تری متوپریم سولفامتوکسازول	۸۸/۲	۵۶/۹	۰/۰۰۱
سیپروفلوکسازین	۶۱/۸	۴۹/۱	۰/۲۴۳
نورفلوکسازین	۵۵/۹	۴۴	۰/۲۴۵
جنتامیسین	۳۸/۲	۱۳/۸	۰/۰۰۳
آمیکاسین	۸/۸	۰	-
مروپنم	۰	۴/۳	-
سفوناکسیم	۶۱/۸	۵۳/۴	۰/۴۳۷
سفتازیدیم	۵۵/۹	۵۱/۷	۰/۷

همان گونه که در جدول ۳ مشاهده می شود بیشترین میزان مقاومت در ایزوله‌های مولد اینتگرون مربوط به آنتی بیوتیک‌های

جدول ۴) ارتباط توزیع ایزوله‌های دارای ژن اینتگراز با الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی

شماره الگو	تعداد ایزوله	الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی
۱	۶	AMO, SXT, CIP, NOR, GM, CAZ, CTX
۲	۶	AMO, SXT, CIP, NOR, CAZ, CTX
۳	۳	AMO, SXT
۴	۲	AMO, SXT, CIP, NOR, GM, AN, CAZ, CTX
۵	۲	AMO, CIP, NOR, CAZ, CTX
۶	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
۱۴	۱	AMO, SXT, CIP, NOR
۱۵	۱	AMO, SXT, CIP, NOR, CTX

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

در مناطق مختلف در ایران انجام گرفت، ایمی پنم به عنوان یکی از موثرترین آنتی‌بیوتیک‌ها علیه عفونت ادراری گزارش شد و بنابراین می‌تواند 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 آنتی‌بیوتیک‌های 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 آنتی‌بیوتیک‌های 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 کلاس‌های 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 می‌دهد که بایستی راه کارهایی برای یکسان سازی جواب‌های بدست آمده که ناشی از خطاهای آزمایشگاهی و تکنیکی می‌باشد ارائه گردد که به طور یقین می‌تواند به پزشکان در زمینه انتخاب کارآمدترین آنتی‌بیوتیک‌ها و ارائه درمان صحیح‌تر 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 می‌توان به استفاده از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی نامعتبر و نامرغوب در تست آنتی‌بیوگرام اشاره کرد که با جایگزینی آن‌ها با دیسک‌های 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 کلاس‌های آنتی‌بیوتیکی نشان دادند، به طوری که این ایزوله‌ها همگی به آمپی‌سیلین مقاومت نشان داده و مقاومت به تری‌متوپریم-سولفامتاکسازول، سیپروفلوکسازین، سفوتاکسیم، سفنازیدیم و نورفلوکسازین 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 سویه‌های 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 یافته‌ای مانند ایالت متحده آمریکا نیز میزان MDR در بین سویه‌های 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 می‌دهد که با توجه به اهمیت سویه‌های با مقاومت چند گانه بایستی در جهت جلوگیری از گسترش این سویه‌ها نیز تمهیدات و بازنگری‌هایی در استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در کشورهای مختلف صورت گیرد که در صورت محقق نشدن این موضوع در آینده‌ای نه چندان دور شاهد ظهور سویه‌های مختلفی با توانایی تولید مقاومت چندگانه به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف خواهیم بود که در آن صورت انتخاب آنتی‌بیوتیک‌های کارآمد علیه عفونت‌های 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 ESBL‌ها در بین سویه‌های اشریشیاکلی گزارش شده است که آمار نگران کننده‌ای را در زمینه انتشار سویه‌های حامل ESBL نشان می‌دهد^[23]. این مطالعات نیز خاطر نشان می‌کند که بایستی راه کارهای جدیدی توسط سیستم بهداشتی کشورها برای کنترل و یا کاهش تولید ESBL‌ها در بین این سویه‌ها ارائه گردد تا در آینده شاهد کاهش انتقال این آزیم‌های تولید کننده مقاومت میکروبی در جوامع باشیم.

در مطالعه حاضر تنها ۲۲/۷٪ ایزوله‌های تست شده حامل اینتگرین کلاس I بودند که شیوع نسبتاً پایین اینتگرین در این مطالعه می‌تواند به این دلیل باشد که توالی‌های ژنی مقاومت روی عناصر دیگری 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 اینتگرین‌ها 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 اینتگرین‌ها نیز می‌تواند به دلیل تفاوت در نمونه گیری، تفاوت در نوع عفونت ادراری، تفاوت در فرهنگ‌ها و دیگر موارد باشد. البته کنترل انتقال مقاومت آنتی‌بیوتیکی توسط اینتگرین‌ها نیز نیازمند راه کارهای اساسی در سیستم بهداشتی کشورها خواهد بود که از جمله آن‌ها می‌توان به محدود کردن استفاده بی‌رویه

Infect Dis. 2011; 52(5):e103-e20.

3- Nicolle LE. Uncomplicated urinary tract infection in adults including uncomplicated pyelonephritis. *Urol Clin 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, Mntzaganian 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

و خودسرانه از آنتی بیوتیک های روتین درمانی اشاره کرد. در این مطالعه ارتباط معنی داری از لحاظ آماری بین حضور اینتگرون کلاس I و ESBLs در ایزوله های 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 ژن ها در این گونه از باکتری ها باشد. البته مطالعات دیگری نیز در این زمینه به ارتباط ژن های ESBLs با اینتگرون ها 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 نسبتاً بالایی به اغلب آنتی بیوتیک های بررسی شده از کلاسهای مختلف همراه با حضور ESBL در ایزوله های اشریشیاکلی وجود دارد که درصد زیادی از آن ها به صورت مقاومت چند گانه بود. همچنین در این مطالعه اینتگرون کلاس ۱ در برخی از ایزوله ها مشاهده شد که این عوامل می توانند در انتقال مقاومت آنتی بیوتیکی شرکت کنند. در نهایت پیشنهاد می شود تا با انجام مطالعات گسترده تر در این زمینه بتوان نتیجه گیری دقیق تری انجام داد تا با ایجاد شرایط بهداشتی بهتر در جوامع و یا تغییر استراتژی مصرف آنتی بیوتیک، شرایط مناسبی را در جهت جلوگیری از انتقال مقاومت آنتی بیوتیکی 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 پلیت های 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 حمایت های 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*

- 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* 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, Griboudo 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

- 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.