Archive of SID

فصلنامه علمی- پژوهشی زیست‌شناسی میکروارگانیسم‌ها
سال چهارم، شماره ۱۴، تابستان ۱۳۹۴، صفحه ۱۳۱- ۱۴۰
تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۸/۰۸ – تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۰/۲۵

پایش اینتگرون کلاس ۱ در سویه‌های *اشریشیاکلی* اسهال‌زا جدا شده از کودکان شهر یاسوج

محمد کارگر *: دانشیار میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، جهرم، ایران، mkargar@jia.ac.ir
زهرا محمدعلی پور: کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، جهرم، ایران، mohammadalipour_z@yahoo.com
عباس دوستی: دانشیار ژنتیک مولکولی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، ایران، abbasdoosti@yahoo.com
شاهرخ لرزاده: کارشناس ارشد بیوتکنولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، ایران، lorzadeh.sh@gmail.com
فتانه معین جهرمی: کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، جهرم، ایران، fatanemoein@yahoo.com

چکیده

مقدمه: اینتگرون‌ها عناصر ژنتیکی متحرکی هستند که توانایی کسب و درج کاست‌های ژنی مقاومت آنتی‌بیوتیکی را دارند و نقش مهمی در گسترش مقاومت دارویی ایفا می‌کنند. هدف از این پژوهش، ارزیابی نقش اینتگرون کلاس ۱ در مقاومت دارویی جدایه‌های *اشریشیاکلی* اسهال‌زا در کودکان زیر ۵ سال است.

مواد و روش‌ها: ۱۶۴ جدایه‌ی *اشریشیاکلی* اسهال‌زا در کودکان زیر ۵ سال از نظر حضور ژن *intI1* و کاست ژنی درج شده در اینتگرون کلاس یک ارزیابی شد. همچنین، مقاومت آنتی‌بیوتیکی با استفاده از استاندارد CLSI بررسی شد.

نتایج: میزان شیوع ژن *intI1* و کاست ژنی در جدایه‌های *اشریشیاکلی* به ترتیب ۷۰/۷۳ و ۶۴/۶۳ درصد بود. اندازه کاست‌های ژنی در این نمونه‌ها از ۷۵۰ تا ۲۰۰۰ جفت باز متغییر بود. همچنین، بین حضور اینتگرون کلاس ۱ و کاست ژنی آن و مقاومت نسبت به استرپتومایسین، جنتامایسین، کانامایسین، آمیکاسین، کلرامفنیکل، تتراسایکلین، نالیدیکسیک‌اسید و کوتریموکسازول ارتباط معناداری به دست آمد.

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج این پژوهش نشان داد که اینتگرون کلاس ۱ و کاست‌های ژنی درج شده در آن، در بین *اشریشیاکلی‌های* اسهال‌زا در منطقه مورد پژوهش شیوع در خور توجهی دارد. با توجه به امکان شیوع گسترده سویه‌های مقاوم به دارو، ضرورت پایش مولکولی جدایه‌های *اشریشیاکلی* در سایر مناطق کشور وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: *اشریشیاکلی* اسهال‌زا، اینتگرون کلاس ۱، کاست ژنی، مقاومت دارویی

* نویسنده مسؤول مکاتبات

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

اشریشیاکلی[1] یکی از مهم‌ترین عوامل ایجاد کننده گاستروانتریت به ویژه در کودکان است. بیماری‌های اسهالی در همه گروه‌های سنی و در تمام مناطق جغرافیایی جهان شایع است. عوامل باکتریایی حدود ۲۴ درصد از موارد اسهال را ایجاد می‌کنند و بیش از ۷۰ درصد مرگ و میر کودکان زیر ۵ سال در اثر بیماری‌های اسهالی اتفاق می‌افتد (۱).

مقاومت آنتی‌بیوتیکی یک پدیده طبیعی در پاسخ به استفاده از عوامل ضدمیکروبی است (۲). انتشار ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین سویه‌های باکتریایی در حال افزایش است که به پیچیدگی درمان بیماری‌های عفونی منجر می‌شود (۳- ۵). گسترش مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها، کشف بسیاری از عناصر ژنتیکی متحرک مانند ترانسپوزون‌ها و پلاسمیدها را به دنبال داشته است (۶). همچنین، در مطالعات اخیر مکانیسم‌های دیگری نیز برای انتشار ژن‌های مقاومت شناسایی شده است (۳). ژن‌های مقاومت می‌توانند درون عناصر متحرک DNA به نام اینتگرون[2] درج شوند. اگرچه اینتگرون‌ها به تنهایی متحرک نیستند، اما به علت حضور در پلاسمیدها و ترانسپوزون‌ها می‌توانند به شکل افقی در بین سویه‌های باکتریایی منتقل شوند (۴ و ۷). مهم‌ترین بخش‌های اینتگرون‌ها، جایگاه درج شدن در کاست‌های ژنی (*attI*) ،اینتگراز (واسطه انتقال و درج شدن در کاست ژنی) و پروموتر (Pc) به منظور بیان اپرون هستند. اینتگراز یکی از اعضای خانواده ریکامبینازهای واجد تیروزین در جایگاه اختصاصی[3] هستند که موجب درج شدن و بیان DNA در اینتگرون می‌شوند. بر همین اساس، چهار کلاس از اینتگرون‌ها شناسایی شده‌اند (۲، ۳ و ۸). اینتگرون‌های کلاس ۱ متداول‌تر و شناخته شده‌تر از سایر اینتگرون‌ها هستند. این اینتگرون‌ها، در سویه‌های بالینی انسانی و حیوانی باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه انتشار گسترده‌ای دارند (۸- ۱۰). این پژوهش با هدف ارزیابی نقش اینتگرون کلاس ۱ در مقاومت داروبی جدایه‌های *اشریشیاکلی* اسهال‌زا در کودکان زیر ۵ سال شهر یاسوج انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به شکل مقطعی- توصیفی بر روی ۱۶۴ جدایه *اشریشیاکلی* اسهال‌زا جدا شده از نمونه‌های مدفوع کودکان زیر ۵ سال مبتلا به اسهال شهرستان یاسوج در سال‌های ۱۳۹۰ تا ۱۳۹۱ انجام شد. به منظور جداسازی *اشریشیاکلی*، نمونه‌ها بر روی محیط ائوزین متیلن بلو آگار[4] (Merck, Germany) کشت داده شد. سپس، کلونی‌های مشکوک به *اشریشیاکلی* با استفاده از آزمون‌های متداول بیوشیمیایی (TSI، SIM، MR/VP، LIA، Citrate و Urea) تایید شدند و تا زمان استفاده در محیط کشت تریپتیکاز سوی براث[5] (مرک، آلمان[6]) حاوی ۲۰ درصد گلیسرول در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از شناسایی و تعیین هویت *اشریشیاکلی* آنتی‌بیوگرام به روش استاندارد CLSI[7] انجام شد. میزان حساسیت باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، سفالکسین (۳۰ میکروگرم)، آمپی‌سیلین (۱۰ میکروگرم)، تری‌متوپریم- سولفامتوکسازول (۱/۲۵+۲۳/۷۵ میکروگرم)، نالیدیکسیک اسید (۳۰ میکروگرم)، کلرامفنیکل (۳۰ میکروگرم)، کانامایسین (۳۰ میکروگرم)، تتراسایکلین (۳۰ میکروگرم)، آمیکاسین (۳۰ میکروگرم)، استرپتومایسین (۱۰ میکروگرم) با اندازه‌گیری قطر هاله بازدارنده‌ی رشد با

www.SID.ir

Archive of SID

توجه به دستور شرکت سازنده دیسک (پادتن طب، ایران) ارزیابی شد. از سویه *اشریشیا کلی* ATCC 25922 به عنوان کنترل استفاده شد.

شناسایی اینتگرون کلاس ۱ و تکثیر ناحیه متغییر آن به روش PCR با استفاده از دستگاه ترموسایکلر[۸] انجام شد. آزمون PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر حاوی یک میکرولیتر DNA الگو، یک میکرولیتر از پرایمرهای اختصاصی، یک میکرولیتر $MgCl_2$، ۰/۵ میکرولیتر dNTPs، ۰/۲۵ آنزیم Taq پلیمراز انجام شد. از پرایمرهای اختصاصی *IntI1-R/IntI1-F* و *3′CS/5′CS* به ترتیب برای تکثیر ژن *IntI1* و ناحیه متغییر حاوی کاست ژنی استفاده شد (جدول ۱) (۱۱). تمامی واکنش‌گرها و پرایمرها از شرکت سیناژن تهیه شدند. محصولات PCR بر روی ژل آگاروز یک درصد واجد اتیدیوم برمایید و به وسیله دستگاه ترانس الیمیناتور بررسی شدند. سپس، ارتباط جدایه‌های مقاوم واجد اینتگرون توسط نسخه ۱۵، نرم افزار SPSS و آزمون‌های آماری مربع کای و دقیق فیشر بررسی شد. سطح معناداری در $P\ value < ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

جدول ۱- توالی پرایمرها و شرایط PCR برای شناسایی اینتگرون‌های کلاس ۱ و کاست ژنی درج شده در آن

پرایمر	توالی پرایمر (′3→′5)	اندازه آمپلیکون(bp)	شرایط PCR
IntI1-F	GGT CAA GGA TCT GGA TTT CG	۴۳۶	۱ سیکل ۵ دقیقه ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۳۲ سیکل ۱ دقیقه ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۱ دقیقه ۶۲ درجه سانتی‌گراد، ۱ دقیقه ۷۲ درجه سانتی‌گراد، ۱ سیکل ۸ دقیقه ۷۲ درجه سانتی‌گراد
IntI1-R	ACA TGC GTG TAA ATC ATC GTC		
5′CS	GGC ATC CAA GCA GCA AG	متغییر	۱ سیکل ۵ دقیقه ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۳۵ سیکل ۱ دقیقه ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۱ دقیقه ۶۰ درجه سانتی‌گراد، ۲ دقیقه ۷۲ درجه سانتی‌گراد، ۱ سیکل ۱۰ دقیقه ۷۲ درجه سانتی‌گراد
3′CS	AAG CAG ACT TGA CCT GA		

نتایج

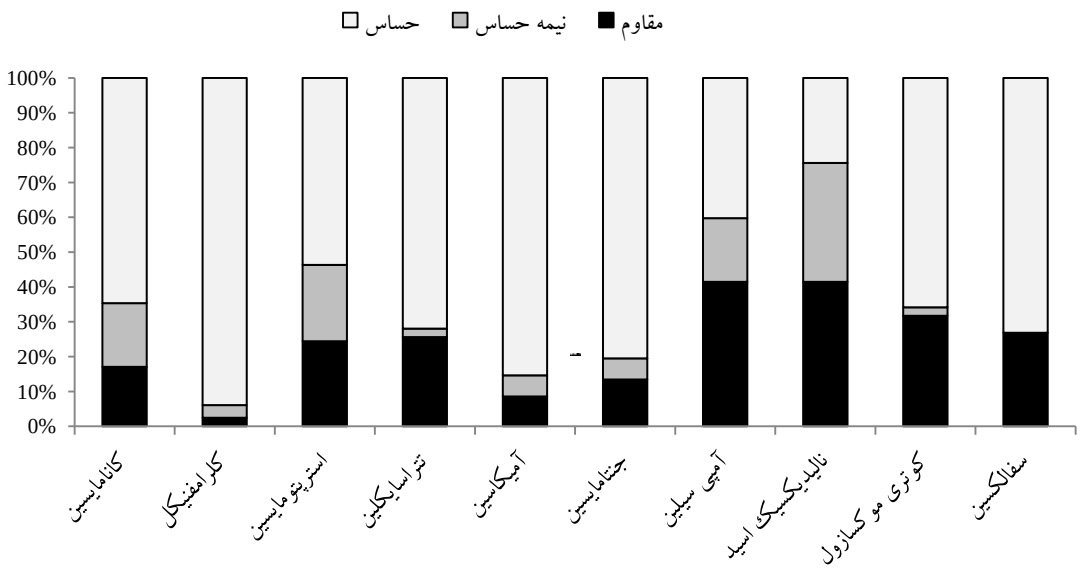
از مجموع جدایه‌های تایید شده *اشریشیا کلی* ۱۰۶ (۶۴/۶۳ درصد) مورد مربوط به پسران و ۵۸ (۳۵/۳۷ درصد) مورد مربوط به دختران بود که در این بین ۶۹/۵۱ درصد مورد درمان سرپایی و ۳۰/۴۹ درصد بیماران بستری شده بودند. بیشتر بیماران مربوط به گروه سنی ۶ تا ۸ماه (۳۰/۴۹ درصد) و کم‌ترین آن‌ها در گروه‌های سنی ۱۸ تا ۲۳ ماه و ۳۶ تا ۴۷ ماه (۱/۲۲ درصد) قرار داشتند. در بین سویه‌های مورد بررسی، تنها ۲/۴۴ درصد جدایه‌ها به تمامی آنتی‌بیوتیک‌های مورد پژوهش حساسیت کامل داشتند و در سایر موارد به یک یا تعداد بیشتری از آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت وجود داشت.

نتایج مربوط به آزمون حساسیت آنتی‌بیوتیکی در شکل ۱ نشان داده شده است. به منظور افزایش احتمال شناسایی ارتباط وجود ژن‌های مقاومت در سویه‌های نیمه حساس، همه آن‌ها در محاسبات آماری به عنوان مقاوم در نظر گرفته شدند.

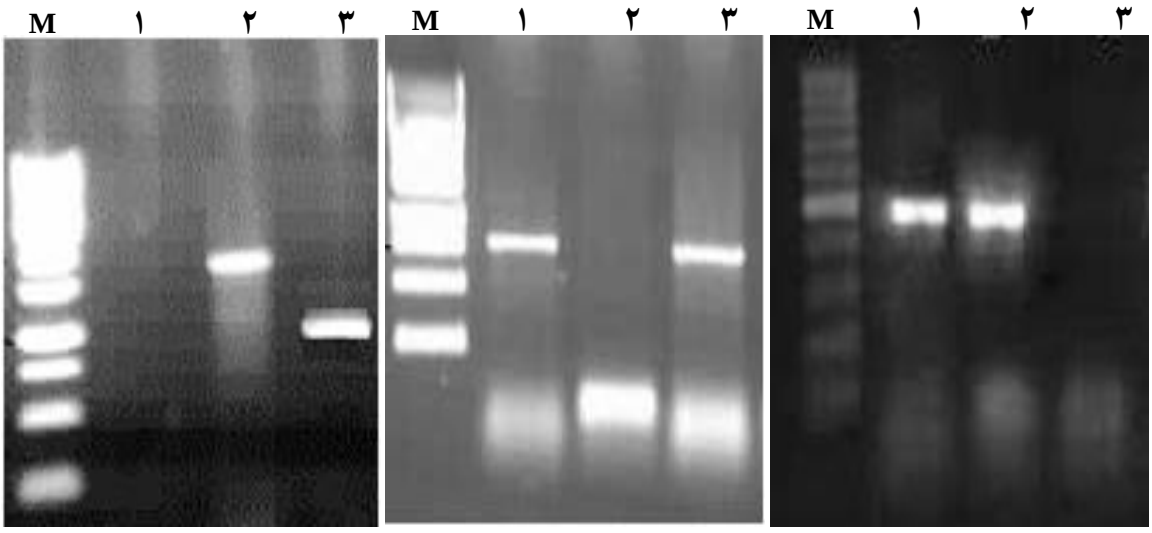
از ۱۶۴ جدایه *اشریشیا کلی* در ۱۱۶ مورد (۷۰/۷۳ درصد) ژن *intI1* شناسایی شد. تنها در ۱۰۶ (۶۴/۶۳ درصد) سویه ناحیه متغییر وجود داشت. توالی‌های کاست ژنی بین ۷۵۰ تا ۲۰۰۰ جفت‌باز متغییر بودند (شکل ۲). شیوع اینتگرون کلاس ۱ در بین سویه‌های اسهال‌زای جدا شده از کودکان در جدول ۲ نشان داده شده است.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱- الگوی حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌ها در سویه‌های *اشریشیاکلی* جدا شده از کودکان



(ج) (ب) (الف)

شکل ۲- (الف) قطعات ۴۳۶ جفت باز حاصل از تکثیر ژن *IntI1*، M: سایز مارکر bp ۱۰۰، ۱ و ۲: نمونه‌های مثبت، ۳: کنترل منفی
(ب) قطعات حاصل از تکثیر ناحیه متغییر اینتگرون کلاس ۱، M: سایز مارکر kb ۱، ۱: کاست ژنی ۷۵۰ جفت باز، ۲: کنترل منفی، ۳: کاست ژنی ۷۰۰ جفت باز
(ج) قطعات حاصل از تکثیر ناحیه متغییر اینتگرون کلاس ۱، M: سایز مارکر kb ۱، ۱: کنترل منفی، ۲: کاست ژنی ۲۰۰۰ جفت باز، ۳: کاست ژنی ۱۰۰۰ جفت باز

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- فراوانی و نسبت درصد مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها بر اساس اینتگرون کلاس ۱ و کاست ژنی (n=۱۶۴)

آنتی بیوتیک	مقاومت	*IntI1*	P_{value}	*Cassette1*	P_{value}
آمپی‌سیلین	(۵۹/۷۶) ۹۸	(۴۲/۶۸) ۷۰	۰/۹۴۹	(۴۰/۲۴) ۶۶	۰/۴۷۲
نالیدیکسیک اسید	(۷۵/۶۱) ۱۲۴	(۵۱/۲۲) ۸۴	۰/۲۰۰	(۴۵/۱۲) ۷۴	۰/۰۳۲*
استرپتومایسین	(۴۶/۳۴) ۷۶	(۳۷/۸۰) ۶۲	۰/۰۰۸*	(۳۵/۳۷) ۵۸	۰/۰۰۶*
کاناماپسین	(۳۵/۳۷) ۵۸	(۲۶/۸۳) ۴۴	۰/۳۷۴	(۲۶/۸۳) ۴۴	۰/۰۴۰*
کوتری موکسازول	(۳۴/۱۵) ۵۶	(۲۸/۰۵) ۴۶	۰/۰۳۳*	(۲۵/۶۱) ۴۲	۰/۰۶۸
تتراسایکلین	(۲۸/۰۵) ۴۶	(۲۵/۶۱) ۴۲	۰*	(۲۴/۳۹) ۴۰	۰*
سفالکسین	(۲۶/۸۳) ۴۴	(۲۱/۹۵) ۳۶	۰/۰۹۰	(۲۰/۷۳) ۳۴	۰/۰۶۲
جنتامایسین	(۱۹/۵۱) ۳۲	(۱۷/۰۷) ۲۸	۰/۰۲۹*	(۱۷/۰۷) ۲۸	۰/۰۰۲*
آمیکاسین	(۱۴/۶۳) ۲۴	(۱۲/۲۰) ۲۰	۰/۲۲۳	(۱۲/۲۰) ۲۰	۰/۰۴۰*
کلرامفنیکل	(۶/۱۰) ۱۰	(۶/۱۰) ۱۰	۰/۰۳۵*	(۶/۱۰) ۱۰	۰/۰۱۵*

*= ارتباط معنادار

بحث و نتیجه‌گیری

بیماری اسهال دومین عامل مرگ و میر پس از عفونت‌های تنفسی در جهان است. تخمین زده شده است ۴ تا ۶ میلیون کودک در هر سال به علت بیماری اسهال به ویژه در کشورهای درحال توسعه می‌میرند. در ایران، طبق آمار سازمان بهداشت جهانی میزان مرگ و میر در اثر اسهال در کودکان زیر ۵ سال ۹/۷ مورد به ازای هر ۱۰۰۰ تولد زنده است. یکی از مشکلات اصلی تمامی کشورهای دنیا، استفاده گسترده از آنتی‌بیوتیک‌ها و شیوع باکتری‌های مقاوم به چند دارو است (۱۲ و ۱۳). نتایج این پژوهش نشان داد که بیش‌ترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی مربوط به نالیدیکسیک‌اسید (۷۵/۶۱ درصد)، آمپی‌سیلین (۵۹/۷۶ درصد) و استرپتومایسین (۴۶/۳۲ درصد) و کم‌ترین آن مربوط به کلرامفنیکل (۶/۱۰ درصد) است. در مطالعه‌ای سو[9] و همکارانش در سال ۲۰۰۶ نیز نتایجی مشابهی گزارش شده است (۱۴). همچنین، فونگ پیچیت[10] و همکارانش در سال ۲۰۰۸ بیش‌ترین مقاومت جدایه‌های *اشریشیاکلی* را نسبت به استرپتومایسین و آمپی‌سیلین گزارش کردند، اما برخلاف مطالعه حاضر کم‌ترین میزان مقاومت نسبت به نالیدیکسیک اسید گزارش شد (۱۵). علت اختلاف در میزان مقاومت در مناطق مختلف جهان می‌تواند تفاوت در موقعیت جغرافیایی، ویژگی‌های بالینی و میزان رواج مصرف هر آنتی‌بیوتیک در هر کشور باشد. شیوع اینتگرون کلاس ۱ در این مطالعه ۷۰/۷۳ درصد بود. به طور مشابه، شیوع اینتگرون کلاس ۱ در سال ۲۰۰۴ در تایلند در نمونه‌های بالینی ۹۹ درصد و نمونه‌های جدا شده از افراد سالم ۸۷ درصد (۱۶)، در سال ۲۰۰۵ در تایوان ۶۱ درصد (۱۷)، در سال ۲۰۰۶ در اردن ۶۷ درصد (۱۸)، در سال ۲۰۰۸ در چین ۶۱ درصد (۱۹)، در سال ۲۰۱۰ در تونس ۲۲/۲۲ درصد (۲۰)، در سال ۲۰۱۱ در مالزی ۵۷/۸ درصد (۲۱)، در سال ۲۰۱۱ در پاکستان ۴۳/۵۶ درصد (۲۲) و در سال ۲۰۱۲ در تهران در بین سویه‌های *EPEC* و *non-EPEC* به ترتیب ۸۲ و ۶۸/۸ درصد (۲۳) گزارش شده است. علاوه بر این، در این مطالعه، در ۶۴/۶۳ درصد نمونه‌ها توالی‌های متغییر ۷۵۰ تا ۲۰۰۰ جفت بازی کاست ژنی مشاهده شد. همچنین، در مطالعه مارتینزفریجیو[11] در سال ۱۹۹۸ (۲۴) و اسمیتز[12] در سال ۲۰۰۱ (۲۵) و ماچادو[13] در سال ۲۰۰۷

www.SID.ir

Archive of SID

(۲۶) نتایج مشابهی به دست آمد. مشابه با پژوهش‌های پیشین در این مطالعه نیز ارتباط معناداری بین اینتگرون کلاس ۱ و مقاومت به کلرامفنیکل، استرپتومایسین، تتراسایکلین، جنتامایسین، کوتریموکسازول، کانامایسین، آمیکاسین و نالیدیکسیک‌اسید مشاهده شد. این مساله می‌تواند احتمالا نشان دهنده قرارگرفتن ژن‌های مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های یاد شده در درون اینتگرون باشد (۱۳، ۱۴ و ۱۷- ۳۶).

در برخی از پژوهش‌ها به منظور شناسایی اینتگرون از پرایمرهای اختصاصی ناحیه متغییر استفاده شده است. اما نتایج این پژوهش نشان داد که برخی از سویه‌ها با وجود داشتن ژن اینتگراز، امکان دارد که ناحیه متغییر را نداشته باشند. همچنین داوز[۱۴] و همکارانش در سال ۲۰۱۰ نشان دادند که در صورت درج نشدن کاست ژنی در اینتگرون امکان شناسایی آن‌ها با استفاده از PCR توالی‌های کوتاه وجود خواهد داشت (۴). به این ترتیب می‌توان علت اختلاف نتایج PCR در شناسایی اینتگرون در نمونه‌ها را به تغییر در ناحیه ′۳ اینتگرون و محل اتصال پرایمر نسبت داد.

نتایج این مطالعه شیوع اینتگرون کلاس ۱ و ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی در منطقه مورد پژوهش را نشان داد. این مساله می‌تواند منعکس کننده تهدید جدی شیوع مقاومت ضدمیکروبی و پیچیدگی درمان عفونت‌ها در آینده باشد. از این رو ضرورت پیش بینی تدابیر لازم به منظور درمان بیماران و کنترل مقاومت در باکتری‌ها و جلوگیری از انتشار اینتگرون‌ها وجود دارد. همچنین، پایش مستمر شیوع اینتگرون‌ها و الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در گروه‌های مختلف سنی در مناطق مختلف کشور به ویژه نوزادان و افراد سالخورده پیشنهاد می‌شود. با توجه به این که اینتگرون‌ها ژن‌های مقاومت زیادی را حمل می‌کنند، پتانسیل بالقوه‌ای برای انتقال کاست ژنی مقاومت در بین تمامی باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه دارند. بنابراین، ژن‌های مقاومت در بین آنتی‌بیوتیک‌های متداول در کشور می‌تواند در تصمیم‌گیری در مورد رژیم درمانی و پروتکل‌های درمانی اهمیت داشته باشد.

تشکر و قدردانی

نگارندگان مقاله از معاون محترم پژوهشی و تمامی کارکنان مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد و معاون محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی جهرم برای پشتیبانی اجرایی در انجام این پژوهش تشکر و قدردانی می‌کنند.

References

(1) Kargar M., Homayoon M. Outbreaks of infection sources and antibiotic resistance in EHEC strains among children under 5 years old in Marvdasht. *Medical Sciences Journal of Islamic Azad University Tehran Medical Branch* 2010 19: 268- 73. [In Persian]

(2) Dawes F. Antibiotic resistance genes located in integrons isolated from *Escherichia coli* recovered from humans and animals. [Dissertation] Australia: School of Biological Sciences, University of Wollongong; 2009.

(3) Chang C., Chang L., Chang Y., Lee T., Chang S. Characterization of drug resistance gene cassettes associated with class 1 integrons clinical isolates of *Escherichia coli* from Taiwan. *Journal of Medical Microbiology*. 2000; 49 (12): 1097- 102.

(4) Dawes F., Kuzevski A., Bettelheim K., Hornitzky M., Djordjevic S., Walker M. Distribution of Class 1 Integrons with IS26-Mediated Deletions in Their 39-Conserved Segments in *Escherichia Coli* of Human and Animal Origin. *PLoS ONE* 2010; 5 (9): e12754.

www.SID.ir

Archive of SID

(5) Levesque C., Piche L., Larose C., Roy P. PCR Mapping of Integrons Reveals Several Novel Combinations of Resistance Genes, *Antimicrob. Agents Chemother* 1995; 39 (1): 185- 91.

(6) Rowe-Magnus D., Guerout A., Ploncard P., Dychinco B., Davies J., Mazel D. The evolutionary history of chromosomal super-integrons provides an ancestry for multiresistant integrons. *PNAS* 2001; 98 (2): 652- 7.

(7) 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. *Polish Journal of Microbiology* 2008; 57(3): 193- 8.

(8) Ahangarzadeh Rezaee M., Sheikhalizadeh V., Hasani A. First Report of Class 1 and Class 2 Integrons in Multidrug-Resistant (MDR) *Escherichia coli* strains isolated from clinical specimens in northern west of Iran. *Japanese Journal of Infectious Diseases* 2012; 65: 256- 9.

(9) Goldstein C., Lee M., Sanchez S., Hudson C., Phillips B., Register B., et al. Incidence of Class 1 and 2 Integrases in Clinical and Commensal Bacteria from Livestock, Companion Animals, and Exotics, *Antimicrob. Agents Chemother* 2001; 45 (3): 723- 6.

(10) Mobaseri P, Salehi M, Hosseini F. Study of class 1 integrons and antibiotic resistance in Salmonella Typhimurium strains isolated from livestock and poultry. *Biological Journal of Microorganism* 2013; 2 (7): 45- 52.

(11) Machado E., Canton R., Baquero F., Galan J., Rollan A., Peixe L., et al. Integron Content of Extended-Spectrum-β-Lactamase-Producing *Escherichia coli* Strains over 12 Years in a Single Hospital in Madrid, Spain. *Anti microb. Agents Chemother* 2005; 49 (5): 1823- 9.

(12) Levy S., Marshal B. Antimicrobial resistance worldwide: causes challenges and responses. *Nature* 2004; 10 (12): 122- 7.

(13) Eslami G., Seyedjavadi S., Goudarzi H., Fallah F., Goudarzi M. Distribution of Integrons among Multidrug Resistant E. coli and Klebsiella Strains. *Journal of Research in Medical Sciences* 2010; 34 (1): 61- 5. [In persion]

(14) Su J., Shi L., Yang L., Xiao Z., Li X., Yamasaki S. Analysis of integrons in clinical isolates of *Escherichia coli* in China during the last six years. *Federation of European Microbiological Societies Microbiology Letters* 2006; 254: 75- 80.

(15) Phongpaichit S., Wuttananupan K., Samasanti W. Class 1 integrons and multidrug resistance among *Escherichia coli* isolates from human stools. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health* 2008; 39 (2): 279- 87.

(16) Pongpech P., Naenna P., Taipobsakul Y., Tribuddharat C., Srifuengfung S. Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase and class 1 integron integrase gene *IntI1* in *Escherichia coli* from Thai patients and healthy adults. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health* 2008; 39 (3): 425- 33.

(17) Hsu s., Chiu T., Pang J., Hsuan-Yuan C., Chang G., Tsen H. characterization of antimicrobial resistance patterns and class 1 integrons among *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* serovar Choleraesuis strains isolated from humans and swine in Taiwan. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2005; 27 (5): 383- 91.

(18) Shehabi A., Odeh J.f., Fayyad M. Characterization of antimicrobial resistance and class 1 integrons found in *Escherichia coli* isolates from human stools and drinking water sources in Jordan. *Journal of Chemotherapy* 2006; 18 (5): 468- 72.

(19) Su Z., Dai X., Chen J., Kong F., Wang H., Li Y., et al. The *bla* $_{CTX\text{-}M\text{-}1}$ gene located in a novel complex class I integron bearing an ISCR1 element in *Escherichia coli* isolates from Zhenjiang, China. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2008; 62: 1150- 64.

(20) Jouini A., Ben Slama K., Vinue L.

www.SID.ir

Archive of SID

Detection of unrelated *Escherichia coli* strains harboring genes of *CTX-M-15, OXA-1*, and *AAC(6')-Ib-cr* enzymes in a Tunisian hospital and characterization of their integrons and virulence factors. *Journal of Chemotherapy* 2010; 22 (5): 318- 23.

(21) Ibrahim N., Wajidi M.F., Yusef M.Y., Tay S.T. The integron prevalence of extended-spectrum betalactamase producing *enterobacterial* isolates in a Malaysian teaching hospital. *Tropical Biomedicine* 2011; 28 (3): 668- 71.

(22) Muhammad I., Uzma M., Yasmin B., Mehmood Q., Habib B. Prevalence of antimicrobial resistance and integrons in *Escherichia coli* from Punjab, Pakistan. *Brazilian Journal of Microbiology* 2011; 42: 462- 6.

(23) Najibi S., Bakhshi B., Fallahzad S., Pourshafie M.R., Katouli M., Sattari M., et al. Distribution of class 1 integrons among *enteropathogenic Escherichia coli*. *Canadian Journal of Microbiology* 2012; 58 (5):637- 43.

(24) Martinez-Freijo P., Fluit A., Schmitz F., Grek V., Verhoef J., Jonest M. Class 1 integrons in Gram-negative isolates from different European hospitals and association with decreased susceptibility to multiple antibiotic compounds. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 1998; 42: 689- 96.

(25) Schmitz F., Hafner D., Geisel R., Follmann P., Kirschke C., Verhoef J., et al. Increased Prevalence of Class I Integrons in *Escherichia coli, Klebsiella Species*, and *Enterobacter Species* Isolates over a 7-Year Period in a German University Hospital *Journal of Clinical Microbiology* 2001; 39 (10): 3724- 26.

(26) Machado E., Ferreira J., Novais A., Peixe L., Canton R., Baquero F., Coque T. Preservation of Integron Types among *Enterobacteriaceae* Producing Extended-Spectrum β-Lactamases in a Spanish Hospital over a 15-Year Period (1988 to 2003). *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51 (6): 2201- 4.

(27) Rijavec M., Erjavec M., Avgustin J., Ressbrodt R., Fruth A., Krizan-Hergouth V., et al. High Prevalence of Multidrug Resistance and Random Distribution of Mobile Genetic Elements Among *Uropathogenic Escherichia coli (UPEC)* of the Four Major Phylogenetic Groups. *Current Microbiology* 2006; 53: 158- 62

(28) Singh R., Schroeder C., Meng J., White D., McDermott P., Wagner D., et al. Identification of antimicrobial resistance and class 1 integrons in *Shiga toxin-producing Escherichia coli* recovered from humans and food animals. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2005; 56: 216- 19.

(29) Yu H., Lee J., Kang H., Ro D., Chung J., Jeong Y., et al. Changes in Gene Cassettes of Class 1 Integrons among *Escherichia coli* Isolates from Urine Specimens Collected in Korea during the Last Two Decades. *Journal of Clinical Microbiology* 2003; 41 (12): 5429- 54.

(30) Rao A., Barlow M., Clark L., Boring J., Tenover F., McGowan J. Class 1 Integrons in Resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella spp.*, US Hospitals. *Emerging Infectious Diseases* 2006; 12 (6): 1011- 4.

(31) Heir E., Lindstedt B., Leegaard T., Gjernes E., Kapperud G. Prevalence and characterization of integrons in blood culture *Enterobacteriaceae* and gastrointestinal *Escherichia coli* in Norway and reporting of a novel class 1 integron-located lincosamide resistance gene. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials* 2004; 3 (12): 1- 9.

(32) White P., McIver C., Rawlinson W. Integrons and Gene Cassettes in the *Enterobacteriaceae* Antimicrob. *Agents Chemother* 2001; 45 (9): 2658- 61.

(33) Jones L., McIver C., Rawlinson W., White P. Polymerase chain reaction screening for integrons can be used to complement resistance surveillance programs. *Communicable Diseases Intelligence Quarterly Report* 2003; 27: 103- 10.

www.SID.ir

Archive of SID

(34) Van Belkum A., Goessens W., Van der schee C. Rapid emergency of ciprofloxacin resistant Entrobacteriaceae containing multiple gentamicin resistance associated integrons in a Dutch hospital. *Emerging Infectious Diseases* 2001; 7 (5):862- 71.

(35) Japoni A., Gudarzi M., Farshad S., Basiri E., Ziyaeyan M., Alborzi A., et al. Assay for integrons and pattern of antibiotic resistance in clinical *Escherichia coli* strains by PCR-RFLP in southern Iran. *Japanese Journal of Infectious Diseases* 2008; 61: 85- 88

(36) Mutasim I., Magzoub A., Bilal N., Hamid M. Distribution of Class I integrons and their effect on the prevalence of multi-drug resistant *Escherichia coli* clinical isolates from Sudan. *Saudi Medical Journal* 2013; 34 (3): 240- 47.

[1]- *Escherichia coli*
[2]- Integron
[3]- Tyrosin site-specific recombinase
[4]- Eosin Methylene Blue Agar (EMB)
[5]- Trypticase soy broth
[6]- Merck, Germany
[7]- Clinical and laboratory standards institute
[8]- Mastercycler Gradient eppendorf
[9]- Su
[10]- Phongpaichi
[11]- Martinez-Freijo
[12]- Schmitz
[13]- Machado
[14]- Dawes

www.SID.ir

Archive of SID

Monitoring of class1 integrons in diarrheagenic *E. coli* strains isolated from children in Yasouj

Mohammad Kargar *
Associate Professor of Microbiology, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom, Iran, mkargar@jia.ac.ir
Zahra Mohammadalipour
M.Sc. of Microbiology, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom, Iran, mohammadalipour_z@yahoo.com
Abbas Doosti
Associate Professor of Molecular genetics, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran, abbasdoosti@yahoo.com
Shahrokh Lorzadeh
M.Sc. of Biotechnology, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran, lorzadeh.sh@gmail.com
Fataneh Moein jahromi
M.Sc. of Microbiology, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom, Iran, fatanemoein@yahoo.com

Abstract

Introduction: Integrons are mobile genetic elements able to acquire and integrate the antibiotic resistance gene cassettes and play an important role in the development of the drug resistant. This study assessed the contribution of class 1 integron in drug resistant diarrheagenic *Escherichia coli* strains, in children under 5 years.

Materials and methods: 164 diarrheagenic *E. coli* strains isolated from children under 5 were evaluated to investigate *intI1* gene and gene cassette. Furthermore the antibiotic resistance was determined using CLSI critria.

Results: The rate of *intI1 gene* and *gene cassette in Escherichia coli* isolates were 70.73 % and 64.63 %, respectively. In these samples, gene cassette sizes varied from 750 to 2000 bp. There was a significant correlation between the presence of class 1 integron and resistance to streptomycin, gentamicin, kanamycin, amikacin, chloramphenicol, tetracycline, nalidixic acid and cotrimoxazole.

Discussion and conclusion: The present study elucidates that the rampancy of class 1 integron and the incorporated gene cassettes is quite high among diarrheagenic *E. coli* in our area of research. Hence, considering the prospect of widespread break out of the drug-resistant strains of *E.coli*, further molecular analysis in different regions of the country is essential.

Key words: Diarrheagenic *E. coli*, Class 1 integron, Gene cassette, Drug resistance

* Corresponding author
Received: October 30, 2013 / **Accepted:** January 15, 2014

www.SID.ir