Daneshvar Medicine
Basic and Clinical Research Journal Vol. 29, No. 5, 2020

Research Paper

Frequency of integrons 1 and 2 and their relationship with drug resistance patterns of Salmonella isolates in patients with gastroenteritis in Tehran, Iran

Saeid Besharati[1], Parviz Owlia[1,2], Atena Sadeghi[1], Fatemeh Ahmadi[3], Masoud Alebouyeh[4*]

1. Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran
2. Molecular Microbiology Research Center, Faculty of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran
3. Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
4. Pediatric Infections Research Center, Research Institute for Children's Health, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

*** Corresponding author e-mail: masoud.alebouyeh@gmail.com**

Citation: Besharati S, Owlia P, Sadeghi A, Ahmadi F, Alebouyeh M. Frequency of integrons 1 and 2 and their relationship with drug resistance patterns of Salmonella isolates in patients with gastroenteritis in Tehran, Iran. Daneshvar Medicine 2020; 29(5):1-10.
doi: 10.22070/DANESHMED.2020.3051

Abstract

Background and Objective: Salmonella is one of the most important bacteria that causes gastroenteritis in humans and the spread of Salmonella strains with multidrug resistance is an acute global problem. Integrons are one of the most important factors responsible for transfering of drug resistance genes among Salmonella serotypes. In the present study, the frequency of class 1 and class 2 integrons as well as their relationship with drug resistance patterns in patients with gastrointestinal symptoms were investigated.

Materials and Methods: In this cross-sectional study, 400 human fecal samples with gastrointestinal symptoms were collected from 4 hospitals in Tehran. All the samples were analyzed by standard method for microbial culture and the results were confirmed by biochemical and PCR tests. Antimicrobial susceptibility testing was performed by disk diffusion method. After DNA extraction, the presence of class 1 and 2 integrons was investigated by PCR. Statistical analysis for detection of correlation between the presence of integrons and resistance patterns was done using SPSS software and Fisher's exact test.

Results: The results showed that Salmonella was present in 5.5% (22.400) of the stool specimens. The prevalence rates of class 1 and 2 integrons for human stool specimens were 40.9% (9/22) and 27.2% (6/22), respectively. MDR phenotype was detected in 4.5% (1.22) of the Salmonella isolates from patients with gastroenteritis.

Conclusion: In this study, high levels of integrons 1 and 2 were observed in the patients' Salmonella isolates with gastroenteritis. The observed relationship between drug resistance patterns and the integrons indicated a possible increased risk of drug resistance genes in Salmonella isolates with human gastroenteritis.

Keywords: Salmonella, Integrons, Drug Resistance, Gastroenteritis

Received: 30 Sep 2020
Last revised: 09 Dec 2020
Accepted: 23 Dec 2020

مقاله پژوهشی

بررسی فراوانی اینتگرون ۱ و ۲ و ارتباط آنها با الگوی مقاومت دارویی در بیماران مبتلا به گاستروانتریت در سویه های سالمونلا در تهران، ایران

نویسندگان: سعید بشارتی[۱]، پرویز اولیاء[۱،۲]، آتنا صادقی[۱]، فاطمه احمدی[۳]، مسعود آل بویه[۴*]

۱. گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد تهران. ایران
۲. مرکز تحقیقات میکروب‌شناسی مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران
۳. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم تحقیقات، گروه زیست‌شناسی، تهران، ایران
۴. مرکز تحقیقات عفونی اطفال، پژوهشکده سلامت کودکان، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

*نویسنده مسئول: مسعود آل بویه Email: masoud.alebouyeh@ gmail.com

دریافت: ۱۳۹۹/۰۷/۰۹
آخرین اصلاح‌ها: ۱۳۹۹/۰۹/۱۹
پذیرش: ۱۳۹۹/۱۰/۰۳

چکیده

مقدمه و هدف: سالمونلا یکی از باکتری های مهم ایجادکننده گاستروانتریت در انسان بوده و گسترش سویه های سالمونلا با مقاومت چند دارویی یک مشکل حاد جهانی است. اینتگرون ها از مهمترین عوامل مسئول انتقال ژنهای مقاومت به دارو در بین سروتیپ های سالمونلا هستند. در مطالعه حاضر، فراوانی اینتگرون های کلاس ۱ و کلاس ۲ و همچنین ارتباط آنها با الگوهای مقاومت دارویی بیماران با علائم گوارشی بررسی شد.

مواد و روش ها: در این مطالعه مقطعی، ٤٠٠ نمونه مدفوع انسانی با علائم گوارشی از ٤ بیمارستان در شهر تهران تهیه شد. تمامی نمونه ها توسط روش استاندارد از نظر کشت میکروبی بررسی و تائید نتایج توسط آزمایش های بیوشیمیایی و PCR انجام گرفت. آنتی بیوگرام توسط روش انتشار از دیسک صورت پذیرفت. پس از استخراج DNA حضور اینتگرون های کلاس ۱ و ۲ با PCR بررسی گردید. آنالیز آماری جهت سنجش ارتباط بین الگوهای مقاومت دارویی و حضور اینتگرون ها توسط نرم افزار SPSS و آزمون فیشر انجام گرفت.

نتایج: نتایج نشان داد که سالمونلا در ٥,٥٪ (٢٢/٤٠٠) از نمونه های مدفوع با علامت گوارشی وجود دارد. میزان شیوع اینتگرون کلاس ۱ و ۲ برای نمونه های مدفوع انسانی به ترتیب ٤٠/٩٪ (٩/٢٢) و ٢٧/٢٪ (٦/٢٢) بود. فنوتیپ MDR در ٤,٥٪ (١,٢٢) جدایه های سالمونلا از نمونه های مدفوع انسانی شناسایی شد.

نتیجه‌گیری: در این مطالعه میزان بالایی از حضور اینتگرون های ۱ و ۲ در جدایه های مدفوع بیماران با علائم گاستروانتریت مشاهده شد. ارتباط مشاهده شده میان حضور اینتگرون ها و الگوهای مقاومت دارویی نشان دهنده احتمال افزایش ریسک انتقال ژنهای مقاومت دارویی در سویه های سالمونلای مسئول عفونت انسانی است.

واژه های کلیدی: سالمونلا، اینتگرون، مقاومت دارویی، گاستروانتریت

مقدمه

سالمونلا یکی از اعضای مهم خانواده انتروباکتریاسه و عامل ایجاد بیماری های مختلف برای انسان و حیوانات است. این باکتری به عنوان یکی از شایعترین علل باکتریایی گاستروانتریت حاد و عفونتهای ناشی از غذا در سراسر جهان شناخته می شود (۱). گاستروانتریت ایجاد شده توسط جنس سالمونلا معمولا میان افراد سالم با سیستم ایمنی کامل خود محدود شونده است و در صورت همراه بودن با بیماری های زمینه ای یا نقص سیستم ایمنی مشکلاتی را ایجاد میکند (۲،۳). گاستروانتریت ناشی از عفونت سالمونلا می تواند توسط سروتیپ های مختلف، بویژه سالمونلا انتریتیدیس و سالمونلا تیفی موریوم ایجاد گردد (٤). این باکتری در دستگاه گوارش انسان و حیوانات مشاهده شده و در بیشتر موارد با مصرف مواد غذایی آلوده به انسان منتقل می‌گردد (۵).

اینتگرون ها از جمله عناصر ژنتیکی هستند که در انتقال مقاومت آنتی بیوتیکی نقش دارند. این عناصر ژنتیکی قادرند در کروموزوم، یا پلاسمید وارد شوند و ژنهای مقاومت آنتی بیوتیکی را انتقال دهند (٦). مصرف گسترده آنتی بیوتیک ها در صنایع دامپروری و صنعت طیور باعث افزایش مقاومت آنتی بیوتیک ها شده که قابل انتقال به انسان است (۷).

اینتگرون ها از سیستم نوترکیبی اختصاصی جایگاه که در شناسایی و الحاق کاست های ژنی متحرک، از جمله ژنهای مقاومت دارویی، دخالت دارند تشکیل شده اند (۸). اینتگرون کلاس I در بین کلاس های مختلف اینتگرون، نقش مهم‌تری در ایجاد و انتقال مقاومت‌های آنتی بیوتیکی داشته و فراگیری بیشتری دارد (۵، ۹). اینتگرون ها به عنوان عوامل تأثیرگذار در ایجاد مقاومت به آنتی بیوتیک ها در بین جدایه های گوناگون باکتریایی گرم منفی مشخص شده‌اند که این مسائل نگرانی‌هایی را در مورد روند درمان سالمونلوز بوجود آورده است (۱۰،۱۱). پیدا کردن الگوی مقاومت دارویی در نمونه‌های بالینی سالمونلا با مقاومت آنتی بیوتیکی چندگانه (MDR) در انتخاب رژیم‌های درمانی مناسب جهت بهبود بیماران با علامت گوارشی آلوده به این باکتری‌ها مؤثر است. هدف از این مطالعه بررسی فراوانی اینتگرون ۱ و ۲، ارتباط آنها با الگوی مقاومت دارویی در بیماران مبتلا به گاستروانتریت در سوبه های سالمونلا است.

مواد و روش ها

در این مطالعه ٤۰۰ نمونه مدفوع از بیماران دچار اسهال مراجعه‌کننده به ٤ بیمارستان در تهران (سه بیمارستان عمومی و یک بیمارستان کودکان) به دست آمد که نمونه مدفوع متعلق به کودکان (محدوده سنی ۱ تا ۹ سالگی)، نوجوانان (سن کودکان ۱۰ تا ۱۹ ساله) و بزرگسالان (سن بالای ۱۹ سال) بود. غنی‌سازی و جداسازی باکتری از این نمونه‌ها با استفاده از روش ISO ٦٥٧٩:٢٠٠٢ صورت گرفت. نمونه‌های سالمونلا در ابتدا با تست های بیوشیمیایی و سپس توسط روش مولکولی تائید گردیدند (۱۲).

نمونه‌های مدفوع تازه تهیه شده، با زمان حمل و نقل کمتر از ۲ ساعت، یا نمونه‌های سواب در محیط انتقالی Cary Blair و محیط براث سلنیت F تلقیح شدند. مقدار کمی از مدفوع یا نمونه سواب بر روی محیط کشت مک کانکی آگار و Xylose lysine Desoxycholate (XLD) تلقیح شد. رشد کلنی های مشکوک پس از انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۱۸-۲٤ ساعت بررسی شد. جدایه ها بعد از کشت در محیط غنی مثل نوترینت آگار در محیط سویا تریپتیکاز مایع در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد برای تجزیه و تحلیل ها بیشتر ذخیره شدند. کلنی‌هایی با مرکز سیاه در آگار XLD و کلنی‌هایی بی‌رنگ در آگار مک کانکی جداسازی و جهت انجام آزمایش‌های تکمیلی توسط آزمایش های بیوشیمیایی و سپس PCR تعیین هویت شدند.

از روش دیسک دیفیوژن مطابق با دستورالعمل (CLSI 13) برای تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی استفاده شد. در ابتدا کلنی‌ها بر روی محیط نوترینت آگار کشت داده شده سپس تعدادی از کلنی‌ها از محیط کشت به لوله‌های حاوی

سرم فیزیولوژی منتقل گردید. برای ایجاد کدورت یکسان ورتکس و کدورت ایجاد شده در لوله با لوله حاوی نیم مک فارلند استاندارد بررسی و مقایسه گردید. از دیسک های آنتی بیوتیکی همچون سفتری اکسون (۳۰ μg)، کلرامفنیکل (۳۰ μg)، ایمی پنم (۱۰ μg)، سفوتاکسیم (۳۰ μg)، سیپروفلوکساسین (۵ μg)، سفوکسیتین (۳۰ μg)، تتراسیکلین (۳۰ μg)، جنتامیسین (۱۰ μg)، آزیترومایسین (۱۵ μg) و تری متوپریم-سولفامتوکسازول (25 μg) (Mast Group, UK) در این مطالعه استفاده شد. اطلاعات نمونه‌های مدفوع انسانی جمع‌آوری و میان متغیرهای مختلفی همچون علائم گوارشی، مورفولوژی نمونه مدفوع آلوده به سالمونلا با نرم افزار SPSS و آزمون دقیق فیشر انجام گرفت. معنادار بودن تفاوت‌ها با p value کمتر از ۰/۰۵ ارزیابی شد.

استخراج DNA

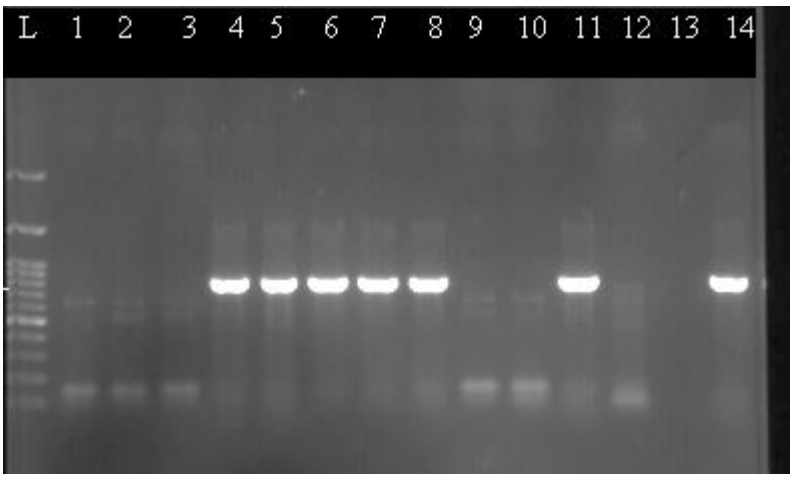
برای استخراج DNA از روش جوشاندن استفاده شد. بدین منظور کشت ۲٤ ساعته باکتری تهیه و مقداری از باکتری در داخل میکروتیوپ حاوی بافر Tris-EDTA افزوده شد. مخلوط باکتریایی برای مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد جوشانده شد، سپس نمونه ها در ۱٤۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. از مایع رویی بعنوان DNA استخراج شده برای PCR استفاده شد.

شرایط PCR

آزمون PCR برای شناسایی اینتگرون کلاس ۱ و ۲ بر روی ۲۲ ایزوله سالمونلا جدا شده از مدفوع انجام شد. در این مطالعه پرایمرهای مربوط به اینتگرون های کلاس ۱ و ۲ به ترتیب در باندهای bp 160 و bp 789 در تصاویر UV مشاهده شد. سکانس ژن اینتگرون کلاس ۱ و ۲ در جدول (۱-۱) آورده شده است. شرایط تکثیر برای ژن اینتگرون کلاس ۱ و ۲ شامل، دناتوراسیون اولیه در دمای ۹٤ درجه سانتی‌گراد برای ۳ دقیقه، ۳۰ بار تکرار از چرخه‌های دمایی برای اینتگرون ۱ و ۲۵ بار تکرار برای اینتگرون ۲، ۹٤ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه، مرحله اتصال برای ۳۰ ثانیه در دمای ۵۸ درجه سانتی‌گراد و مرحله طویل سازی برای ۱ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد بود. در انتها طویل سازی نهایی برای ۷ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای یک چرخه انجام گرفت. برای رنگ‌آمیزی ژل در هر مرحله از DNA safe stain (سینا کلون، ایران) استفاده شد. ایجاد محصول توسط آگارز ۱/۵٪ ارزیابی گردید.

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده در تکثیر ژن‌های اینتگرون کلاس ۱ و ۲ در جدایه های *سالمونلا*

Primers	Sequences (5′-3′) PCR	conditions	Expected amplicon size (bp)	Reference
Integron 1	F:5′-CAGTGGACATAAGCCTGTTC-3′ R:5′-CCCGAGGCATAGACTGTA-3′	94°C, 3 min; 30 cycles of 94°C, 30 s, 58°C, 30 s, 72°C, 1min, 72°C, 7min	160 bp	۱۴
Integron 2	F:5′-CACGGATATGCGACAAAAAGGT-3′ R: 5′ GTAGCAAACGAGTGACGAAATG-3′	94°C, 3 min; 25 cycles of 94°C, 30 s, °C, 30 s, ۸5 72°C, 1min, 72°C, 7min	789 bp	۱۵



شکل ۱. بررسی حضور ژن اینتگرون کلاس ۲ در نمونه‌های *سالمونلای* جداشده از نمونه‌های مدفوع انسانی

بررسی حضور اینتگرون ۲ در ایزوله های سالمونلا. L: ستون L، مارکر وزن مولکولی ۱۰۰ جفت باز (Sina Gen 100bp plus DNA Ladder RTU)، 1 تا ۳، ۹ و ۱۰: ایزوله های فاقد اینتگرون کلاس ۲، ٤ تا ۸ و ۱۱: ایزوله های دارای اینتگرون ۲، ۱۳: کنترل منفی، ١٤: کنترل مثبت ژن اینتگرون کلاس.۱

نتایج

فراوانی سالمونلا در نمونه های مدفوع انسانی

در این مطالعه ٤۰۰ نمونه مدفوع بیمار (مرد ۵۸٪ و زن ٤۲٪) جمع‌آوری شد. نمونه‌های مدفوع از ٤ بیمارستان تهران (سه بیمارستان عمومی و یک بیمارستان کودکان) به دست آمد. نمونه مدفوع متعلق به کودکان (محدوده سنی ۱ تا ۹ سالگی)، نوجوانان (سن کودکان ۱۰ تا ۱۹ ساله) و بزرگسالان (سن بالای ۱۹ سال) بود. در بررسی ماکروسکوپیک نمونه‌های مدفوعی به ۳ حالت شل (٤۰۰/۳۲۹)، اسهالی (٤۰۰/٦۲) و دیسنتریک (٤۰۰/۹) نشان داده شدند.

تنوع سرولوژی سالمونلا در نمونه‌های مدفوع انسانی

جدایه های مدفوع انسانی به طور عمده به سرووگروه D (۵۹,۱٪، ۱۳/۲۲) سرووگروه B (۳۱,۸٪، ۷/۲۲)، سرووگروه C(٤,۵٪، ۱/۲۲) و سرووگروه غیر A تا D (٤,۵٪، ۱/۲۲) تعلق داشتند. بررسی ارتباط بین سروگروه های عمده جدایه‌های *سالمونلا* از مدفوع بیماران مبتلا به اسهال که در بیمارستان های مختلف تهران جدا شده بودند صورت گرفت. این بررسی ارتباط آماری مشخصی را بین سروگروه های جدایه های انسانی نشان نداد. می‌توان احتمال داد به دلیل انتقال آلودگی از نمونه‌هایی حیوانی همچون مرغ و تفاوت در فراوانی سروگروه های موجود در آنها با نمونه‌های انسانی رخ داده باشد.

تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در جدایه های سالمونلا

فنوتیپ MDR در ٤/۵٪ (۲۲,۱) از جدایه های *سالمونلا* در نمونه‌های مدفوع انسانی شناسایی شد. تنها جدایه ی انسانی با فنوتیپ مقاومت دارویی MDR شامل فنوتیپ مقاومت آزیترومایسین/تتراسایکلین/تیکارسیلین بود. ۹٪ از این نمونه‌ها به آزیترومایسین، ٤۵٪ به سفوتاکسیم، ۱,۳٦٪ به تتراسایکلین و ۹٪ به تیکارسیلین مقاوم بودند.

بررسی سویه ها از نظر حضور ژن اینتگرون کلاس ۱ و ۲

آزمون PCR برای شناسایی اینتگرون کلاس ۱ و ۲ بر روی ۲۲ ایزوله *سالمونلا* جدا شده از مدفوع انسانی انجام شد. پرایمرهای مربوط به اینتگرون های کلاس ۱ و ۲ به ترتیب ایجاد محصولات با وزن مولکولی ۱٦۰ و ۷۸۹ bp نمودند. میزان شیوع اینتگرون کلاس ۱ و ۲ برای نمونه‌های مدفوع انسانی به ترتیب ٤۰/۹٪ (۹/۲۲) و ۲۷/۲٪ (٦/۲۲) بود. بررسی این نتایج همزمانی حضور اینتگرون های کلاس ۱ و ۲ را در ۸۳,۳٪ از سویه های جدا شده از مدفوع بیماران تائید نمود. الگوی مقاومت دارویی به تری-

مپتوپریم-سولفامتوکسازول تنها در سویه های دارای اینتگرون ۱ و ۲ دیده شد.

بحث

سالمونلا غیرتیفوییدی بصورت چشمگیری در دنیا در حال گسترش است. این باکتری بعنوان عامل ایجاد کننده بیماری های گوارشی و گاستروانتریت در انسان می‌تواند توسط سروتیپ های مختلف *سالمونلا* ایجاد می شود. تحقیقات در کشورهای مختلف نشان می‌دهد که مصرف تخم‌مرغ و مرغ‌های آلوده به *سالمونلا* از عواملی است که موجب گسترش و انتقال آنها به انسان‌ها گردیده است. همچنین گسترش سویه های *سالمونلا* با مقاومت چند دارویی به یک مشکل حاد جهانی تبدیل شده است (۱۶، ۱۷).

میزان شیوع اینتگرون های کلاس ۱ و ۲ به دست آمده در این تحقیق نسبت به سایر تحقیقات انجام شده بیشتر بود که این اختلاف می تواند به دلیل وجود مقاومت آنتی بیوتیکی به اینتگرون در باکتری‌های جدا شده باشد. در طی چند دهه اخیر مقاومت دارویی به یک مسئله بهداشتی نگران‌کننده، مخصوصاً در بخش بیماری های منتقله از طریق آب و غذا تبدیل شده است. مطالعات انجام شده انتشار باکتری های مقاوم چند دارویی را در فاضلاب های بیمارستانی که متصل به سیستم فاضلاب شهری است اثبات نموده است (۲۹).

در ایران گزارش‌های حاصل از ناقلین تیفوئید در همدان که توسط مشعوف و همکاران در سال ۱۳۸۲ و لاهورپور و همکاران در سنندج در سال ۱۳۸۳ انجام شد به ترتیب ۰/۹٤٪ و ۰/٦٪ بوده است که بیانگر شیوع بسیار پایین ناقلین در این افراد می باشد. در هردو تحقیق فوق جهت شناسایی *سالمونلا* در نمونه مدفوع افراد شاغل در تهیه و توزیع مواد غذایی از روش‌های کشت و سرولوژی استفاده شده بود (۱۸، ۱۹).

در مطالعه سلطان دلال و همکارانش ۳۱۰ نمونه اسهال مربوط به کودکان زیر پنج سال در بیمارستان مرکز طبی کودکان مورد مطالعه قرار گرفت. میزان آلودگی به پاتوژن-های باکتریایی مختلف ۳۰/۳٪ و میزان آلودگی به سروارهای مختلف جنس *سالمونلا* ۲/٦٪ گزارش شد (۹۷). با توجه به نتایج به دست آمده از مطالعه ما که بر روی کودکان انجام شد نتایج بطور مشابهی میزان کمی از عفونت را در آنها نشان داد (۲۰).

در بررسی های انجام شده توسط کیومرث امینی و همکارانش در سال ۱۳۹۲ نشان داده شد که علاوه بر پلاسمیدها، اینتگرون ها (مخصوصاً اینتگرون کلاس I) نیز نقش مهمی در بروز مقاومت آنتی بیوتیکی *سالمونلا* ایفا می‌کنند. در این بررسی از ۱۱ نمونه *سالمونلا انتریتیدیس* جدا شده از انسان ۳٦/۳٪ از جدایه ها دارای مقاومت چند دارویی به آنتی بیوتیک بودند که همراستا با مطالعات انجام شده توسط ما بود (۲۱).

در مطالعه‌ای که توسط رنجبر و همکارانش با هدف ارزیابی گوناگونی ریبوتایپی ایزوله‌های بالینی *سالمونلا انتریکا* سرووار تیفی موریوم جدا شده از برخی بیمارستان‌های تهران در سال ۱۳۹۲ انجام شد، ریبوتایپینگ توانست مجموع ۱۳ جدایه متعلق به سروتایپ *تیفی‌موریوم* را به ۷ دسته تقسیم نماید. این الگوها در دسته های 1b تا 7b طبقه بندی شدند که دسته 2b، الگوی غالب در هر دو بیمارستان تحت بررسی بود. لذا این الگوهای بسیار شبیه به هم حکایت از آن دارد که به احتمال زیاد سویه های موجود در این گروه از یک کلون مشترک منشأ گرفته باشند. در مطالعه ما نیز الگوهای مقاومت دارویی مشابه بین جدایه های مختلف انسانی گزارش شد که اثبات کلونی‌های آنها نیاز به مطالعات بیشتر دارد. الگویی مقاومت دارویی تنها در ۳ نمونه با مقاومت چند آنتی بیوتیکی (MDR) دیده شد (۲۲).

در مطالعه انجام شده توسط کوناته و همکارانش از سال ۲۰۱۳ تا ۲۱۵ در آفریقا از میان ۳۱۵ مدفوع انسانی دارای علائم گوارشی، ۵۳ نمونه به *سالمونلا* آلوده بودند که این میزان در مقابل مطالعه ما که از ٤۰۰ نمونه مدفوع ۲۲ نمونه آلوده به *سالمونلا* بودند بیشتر است. این امر می‌تواند نشانگر آلودگی کمتر بیماران در تهران نسبت به مناطق تحت مطالعه در آفریقا باشد (۲۳).

در مطالعه انجام شده توسط اسپیلیوپولو (Spiliopoulo) در سال ۲۰۰۷ در یونان، تمام جدایه‌های *سالمونلا* جدا شده از مدفوع به سفتریاکسون و سیپروفلوکسازین حساس بودند که با مطالعه ما تطابق دارد. تنها یک ایزوله دارای الگوی مقاومت چندگانه بوده که در مطالعه ما نیز تنها در ۱

مورد از نمونه‌های مدفوع انسانی الگوی مقاومت چندگانه مشاهده شد (۲٤).

در مطالعه توصیفی که در سال ۱۳۹۲-۱۳۹۳ توسط فلاح و همکارانش در تهران انجام شد، تعداد ۲۰۰ نمونه مدفوع از افراد دخیل در تهیه و توزیع کنندگان مواد غذایی جمع‌آوری و از نظر میکروب‌شناسی و آزمایش‌های بیوشیمیایی و روش مولکولی nested-PCR مورد مطالعه قرار گرفتند. از میان ۲۰۰ نفر افراد شرکت کننده در مطالعه، ۱۷۱ نفر مرد (۸۵٪) و ۲۹ نفر زن (۱۵٪) بودند. نتایج کشت مدفوع نشان دهنده رشد فلور نرمال روده بودند و رشد از نظر *سالمونلا* انتریکا سروواریتی مشاهده نشد. در این مطالعه ٤۰۰ نمونه مدفوع بیمار (مرد ۵۸٪ و زن ٤۲٪) جمع‌آوری شد و آلودگی با *سالمونلا* ۵,۵٪ بود (۲۵، ۲٦).

در بررسی‌های انجام شده توسط آقای کیومرث امینی و همکارانش نشان داده شد که علاوه بر پلاسمیدها، اینتگرون‌ها (مخصوصاً اینتگرون کلاس I) نیز نقش مهمی در بروز مقاومت آنتی بیوتیکی *سالمونلا* ایفا می‌کنند. در بررسی آنها از ۱۱ نمونه *سالمونلا انتریتیدیس* جدا شده از انسان ۳٦/۳٪ از جدایه‌ها دارای مقاومت چند دارویی به آنتی‌بیوتیک بودند که از میان آنها ۱۱ نمونه *سالمونلا* دارای اینتگرون کلاس I و ۵ نمونه *سالمونلا* دارای اینتگرون کلاس II بودند که این مسئله تائید کننده نقش مهم اینتگرون در بروز مقاومت آنتی بیوتیکی *سالمونلا*، مخصوصاً بواسطه حمل اینتگرون کلاس I است. نقش اینتگرون ها در بوجود آوردن مقاومت چندگانه نیز ثابت شده است. اینتگرون کلاس I از شایعترین اینتگرون های یافت شده در جدایه های بالینی *سالمونلا* بشمار می رود که کاملاً هم راستا با تحقیقات ما بوده است (21، 27).

در بررسی‌های انجام شده توسط رندل و همکارانش نشان داده شد که ۱۳٪ نمونه‌های *سالمونلای* جدا شده دارایاینتگرون ۱ بودند که این میزان کمتر از مطالعه انجام شده توسط ما است (۲۸).

در بررسی انجام شده توسط آقای کیومرث امینی هیچ مورد اینتگرون کلاس ۱ ای در نمونه‌های بالینی دارای مقاومت دارویی مشاهده نشد، این در حالی است که در مطالعه ما ٤۰/۹٪ درصد از جدایه های مربوط به نمونه‌های مدفوع از بیماران بالینی دارای اینتگرون کلاس ۱ هستند که ۳۳٪ از آنها مقاومت به حداقل یک آنتی بیوتیک را نشان دادند (۲۱).

در مطالعه حاضر ارتباط معناداری بین سویه های حمل کننده اینتگرون های کلاس ۱ و ۲ و وجود فنوتیپ مقاومت دارویی در این جدایه ها ملاحظه گردید. این ارتباط پیشنهاد کننده انتقال خانواده‌های ژن‌های مذکور در اینتگرون های موجود در این جدایه ها است. در مطالعه مبصری و همکاران که بر روی جدایه های *سالمونلا* انجام شده بود، وجود مقاومت به تتراسایکلین، کلرامفنیکل، تری-مپتوپریم-سولفامتوکسازول و آمپی‌سیلین در سویه‌های اینتگرون مثبت در مقایسه با اینتگرون منفی بیشتر بود (۳۰).

در مطالعه رجایی و همکاران که بر روی جدایه های *سالمونلا* انجام شده بود، وجود مقاومت به تری‌مپتوپریم-سولفامتوکسازول و کلرامفنیکل به ترتیب در ۹۰٪ و ٤۲٪ از سویه های حامل اینتگرون کلاس ۱ و ۸۵/۷٪ و ۸٪ از سویه های دارای اینتگرون کلاس ۲ دیده شد (۳۱).

در مطالعه ما از جدایه های *سالمونلا* از نمونه بالینی مقاومت به تتراسایکلین و تری‌مپتوپریم-سولفامتوکسازول در ۲۲/۲٪ از سویه های حامل اینتگرون کلاس ۱ و ۳۳/۳٪ از سویه های دارای اینتگرون کلاس ۲ دیده شد.

از محدودیت‌های این طرح می‌توان به نحوه انتقال نمونه‌ها از بیمارستان به آزمایشگاه در کوتاه‌ترین زمان، شرایط نگهداری مناسب تا رسیدن به آزمایشگاه و آنالیز اطلاعات اشاره نمود.

نتیجه‌گیری

با توجه به افزایش بیش از حد مصرف آنتی بیوتیک و تجویز نادرست آن در برخی موارد چه در انسان و چه در دام (مثل مرغ) مقاومت آنتی بیوتیکی در گونه‌های *سالمونلا* افزایش یافته است. بیشتر گونه‌های دارای مقاومت آنتی بیوتیکی دارای یکی از کلاس های ۱ تا ۳ اینتگرون هستند. نتایج این مطالعه *سالمونلا* را بعنوان یکی از عوامل دخیل در بروز عفونت‌های افراد مبتلا به گاستروانتریت در نمونه‌های مدفوع نشان داد. علیرغم فراوانی کم سویه های مقاوم *سالمونلا* در بیماران با علائم گوارشی، حضور اینتگرون در آنها مشاهده شد. با توجه به وجود اینتگرون

ها و حضور آنها بعنوان یک عامل مهم در انتقال ژنهای مقاومت دارویی دوز این جدایه ها، غربالگری سالانه نمونه‌ها به منظور جلوگیری از انتشار سویه های دارای مقاومت دارویی چندگانه یک امر ضروری به نظر می رسد. به همین منظور طراحی برنامه هایی جهت کنترل عفونت و جلوگیری از انتشار این آلودگی و مشخص نمودن آنتی بیوتیک های مؤثر در درمان عفونت‌های شدید توسط سویه های مسئول پیشنهاد می شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان نامه مقطع کارشناسی ارشد می باشد که بطور مشترک توسط دانشگاه شاهد و دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی به اجرا در آمده است. بودجه این مطالعه توسط موسسه ملی توسعه تحقیقات علوم پزشکی (National Institute for Medical Research Development) در قالب طرح مصوب کد ۹۵۸۱۰۱ تامین شده است.

منابع

1. Octavia S, Lan R. Multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis of Salmonella enterica serovar Typhi. Journal of Clinical Microbiology 2009; 1;47(8):2369-76.

2. Da Silva N, Taniwaki MH, Junqueira VC, Silveira N, Okazaki MM, Gomes RA, editors. Microbiological examination methods of food and water: a laboratory manual. Chemical Rubber Company Press 2018.

3. Salimkhani E, Ranjbar R, Sadeghifard N, Morovvati S, Jonaidi N, Izadi M. An outbreak of gastroenteritis of unknown origin in Tehran. Pakistan Journal of Biological Science 2007; 10:1138-40.

4. Eshraghi S, Dalall MM, Fardsanei F, Salehi TZ, Ranjbar R, Nikmanesh B, Aminharati F, Abdosamadi Z, Akbari A. Salmonella enteritidis and antibiotic resistance patterns.Tehran University Medical Journal 2010, 67(12): 876-882

5. Besharati S, Owlia P, Sadeghi A, Ahmadi F, Fani F, Puladfar G, Alebouyeh M. Frequency, antibiotic resistance, and serogroups of Salmonella among chicken meat specimens in Tehran, Iran. Daneshvar Medicine 2019; 10;27(143):1-0.

6. Rowe-Magnus DA, Mazel D. The role of integrons in antibiotic resistance gene capture. International Journal of Medical Microbiology 2002; 1;292(2):115-25.

7. Manyi-Loh C, Mamphweli S, Meyer E, Okoh A. Antibiotic use in agriculture and its consequential resistance in environmental sources: Potential Public Health Implications. Molecules 2018; 23(4):795.

8. Collis CM, Grammaticopoulos G, Briton J, Stokes HW, Hall RM. Site-specific insertion of gene cassettes into integrons. Molecular Microbiology 1993; 9(1):41-52.

9. Firoozeh F, Shahcheraghi FE, Salehi TZ, Karimi V, Aslani MM. Antimicrobial resistance profile and presence of class I integrongs among Salmonella entericaserovars isolated from human clinical specimens in Tehran, Iran. Iranian Journal of Microbiology 2011; 3(3):112.

10. Hall, R. M.: Mobile gene cassettes and integrons: moving antibiotic resistance genes in gram-negative bacteria. Ciba

۸

Foundation symposium 1997;207:192-202; discussion 202-5.

11. Hall RM, Collis CM, KIM MJ, Partridge SR, Recchia GD, Stokes HW. Mobile gene cassettes and integrons in evolution. Annals of the New York Academy of Sciences 1999; 870(1):68-80.

12. WHO Global Foodborne Infections Network. Laboratory Protocol. Isolation of salmonella spp from food and animal faeces 5th Ed 2010.

13. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing 2018.

14. Lindstedt B-A, Heir E, Nygård I, Kapperud G. Characterization of class I integrons in clinical strains of Salmonella enterica subsp. Enterica serovars typhimurium and enteritidis from norwegian hospitals. Journal of Medical Microbiology 2003; 52:141−9.

15. Machado E, Ferreira J, Novais Â, Peixe L, Cantón R, Baquero F, Coque TM. Preservation of integron types among Enterobacteriaceae producing extended-spectrum β-lactamases in a Spanish hospital over a 15-year period. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2007; 1;51(6):2201-4.

16. Rodrigue DC, Tauxe RV, Rowe B. International increase in Salmonella enteritidis: a new pandemic. Epidemiology & Infection 1990; 105(1):21-7.

17. Louis M. S. St, Morse D.L, Potter M.E, DeMelfi T, Guzewich J, et al. The emergence of grade A eggs as a major source of Salmonella enteritidis infections. JAMA 1988;259(14):2103-2107.

18. Lahoorpour F, Jasemi N, Ashrafi S. Salmonella typhi holder inspection in foodstuff producers and distributors in Sanandaj. International Congress of Central Asia Infectious Diseases 2006.

19. Mashouf R, Ranjbar M. Prevalence of Salmonella carriers among food handlers in Hamadan, western Iran. Clinical Microbiology & Infection Supplement 2005; 1(11):648. ۹

20. SoltanDallal MM, Moezardalan K. Aeromonas spp associated with children's diarrhoea in Tehran. Annals of Tropical Paediatrics 2004; 1;24(1):45-51.

21. Amini K. Prevalence of antibiotic resistance genes in Salmonella enteritidis isolated from animal and human and determining their antibiotic resistance patterns. Journal of Comparative Pathobiology Iran 2016; 12;4(51):1733-1740. ۹

22. Ranjbar R, Sarshar M. Genetic diversity of clinical strains of Salmonella enterica serovar Typhimurium. Journal Military Medicine 2012; 15;14(2):143-7.

23. Konaté A, Guessennd NK, Kouadio FK, Dembélé R, Kagambèga A. Epidemiology and Resistance Phenotypes of Salmonella spp. Strains Responsible for Gastroenteritis in Children Less Than Five Years of Age in Ouagadougou, Burkina Faso. Archives of Clinical Microbiology 2019; 10(2):90.

24. Spiliopoulou I, Zografou S, Goula A, Dimitracopoulos G, Christofidou M. Molecular epidemiology and antibiotic resistance patterns of Salmonella enterica from southwestern Greece. Chemotherapy 2007; 53(6):392-6.

25. Fallah SH, Asgharpour F, Naderian Z, Moulana Z. Isolation and

determination of antibiotic resistance patterns in nontyphoid Salmonella spp isolated from chicken. International Journal of Enteric Pathogense 2013;1(1): e9416.

26. Fallah F, Godarzi H, Lahoorpour F, Bandehpour M. Detection of asymptomatic carrier of salmonella entericaserovartyphi by phenotypic and molecular characteristics of organism. Medical Journal of Mashhad University of Medical Sciences 2015; 58(5):258-62

27. Sadeghi V, Amini K. Study and identify integrons class Ⅰ, II III, Salmonella typhimurium isolated from clinical samples of Tehran Medical Centers. Medical Science Journal of Islamic Azad Univesity Tehran Medical Branch 2018; 15;28(2):130-5.

28. Randall LP, Cooles SW, Osborn MK, Piddock LJ, Woodward MJ. Antibiotic resistance genes, integrons and multiple antibiotic resistance in thirty-five serotypes of Salmonella enterica isolated from humans and animals in the UK. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 2004; 1;53(2):208-16

29. Chitnis V, Chitnis S, Vaidya K, Ravikant S, Patil S, Chitnis D. Bacterial population changes in hospital effluent treatment plant in central India. Water Research 2004; 38:441-77.