فصلنامه علمی- پژوهشی زیست‌شناسی میکروارگانیسم‌ها
سال دوم، شماره ۷، پاییز ۱۳۹۲، صفحه ۴۵- ۵۲
تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۴/۳۰ – تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۰۷/۱۵

بررسی اینتگرون کلاس ۱ و مقاومت آنتی بیوتیکی در سویه‌های سالمونلاتیفی‌موریوم جداشده از دام و طیور

پریسا مبصری: کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، ایران، p.mobasseri2011@gmail.com
میترا صالحی: استادیار میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، ایران، mitra_salehi_microbiology@yahoo.com *
فرزانه حسینی: استادیار میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، ایران، farzaneh953@yahoo.com

چکیده

مقدمه: گسترش جدایه‌های سالمونلا انتریکا با مقاومت چندگانه و مقاومت به آنتی‌بیوتیک در سروتیپ‌های سالمونلا یک مشکل حاد جهانی است. اینتگرون‌ها واحدهای ژنتیکی هستند که در انتشار کاست‌های ژنی متحرک در میان میکروارگانیسم‌های گرم منفی شرکت دارند. تحرک اینتگرون‌ها با پلاسمیدها و ترانسپوزون‌ها تسهیل می‌شود.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش، فنوتیپ مقاومت به آنتی بیوتیک در ۳۲ سالمونلا تیفی موریوم جدا شده با خواستگاه حیوانی از سال ۱۳۹۰ تا ۱۳۹۱ مطالعه شد. همه نمونه‌ها با استفاده از روش کشت و آزمون استاندارد بیوشیمیایی برای شناسایی سویه‌های سالمونلا ارزیابی شدند. پس از استخراج DNA حضور کلاس ۱ اینتگرون توسط تکنیک PCR بررسی شد.

نتایج: رایج‌ترین فنوتیپ مقاومت نسبت به سفالوتین (۱۰۰ درصد)، کلرامفنیکل (۶۸/۷ درصد)، آمپی سیلین (۶۲/۵ درصد)، تتراسایکلین (۵۶/۲ درصد)، آموکسی سیلین/ کلاولانیک اسید (۵۰ درصد)، سولفامتوکسازول (۴۳/۷ درصد) مشاهده شد. کلاس ۱ اینتگرون به ترتیب در ۵۵/۵ درصد و ۶۴/۲ درصد از جدایه‌های سالمونلا جدا شده از دام و طیور یافت شد.

بحث و نتیجه‌گیری: جدایه‌های اینتگرون مثبت در مقایسه با جدایه‌های اینتگرون منفی، مقاومت بالاتری نسبت به تتراسایکلین، کلرامفنیکل، سولفامتوکسازول، آمپی سیلین و آموکسی سیلین/ کلاولانیک اسید داشتند. اینتگرون‌های حامل ژن‌های مقاومت به عوامل ضد میکروبی به عنوان مخازن اصلی برای انتشار مقاومت به آنتی بیوتیک مطرح می‌شوند.

واژه‌های کلیدی: سالمونلا تیفی موریوم، اینتگرون کلاس ۱، مقاومت هم‌زمان به چند دارو

---

* نویسنده مسؤول مکاتبات

مقدمه

مقاومت آنتی میکروبی به یک مشکل بهداشت عمومی در سراسر جهان تبدیل شده است که این امر، تاثیر مستقیمی بر ایمنی مواد غذایی دارد. بنابراین، نظارت بر پاتوژن‌های منتقل شده از مواد غذایی دارای مخازن حیوانی، دارای اهمیت زیادی است (۱). تقریبا در تمام کشورهای صنعتی جهان، سالمونلوز یکی از شایع‌ترین بیماری‌های منتقل شونده از طریق غذا است. استفاده گسترده از عوامل ضد میکروبی در تولید مواد غذایی حیوانی، می‌تواند زمینه افزایش مقاومت باکتری‌ها نسبت به آنتی بیوتیک‌ها و انتقال آن از طریق محصولات غذایی به انسان را فراهم کند (۲). افزایش میزان عفونت با سالمونلای مقاوم در برابر داروهای ضد میکروبی نیازمند توجه ویژه ای است. مطالعات زیادی گویای ظهور سالمونلا انتریکا سروتیپ تیفی موریوم مقاوم به چند دارو (MDR) (۲)، سالمونلا تولید کننده بتالاکتاماز طیف گسترده (ESBL) (۳ و ۴) و سویه‌های سالمونلا مقاوم در برابر فلوروکینولون است (۲ و ۵). در پژوهش‌های متعددی از نقش عناصر ژنتیکی مرتبط با حدت و مقاومت‌های آنتی بیوتیکی در مورد عفونت‌های تهاجمی سالمونلا، گزارش شده است (۴). بسیاری از ژن‌های مسئول مقاومت در باکتری‌های گرم منفی، بخشی از یک کاست ژن در اینتگرون هستند (۶ و ۷). اینتگرون حاوی یک ژن از خانواده λ اینتگراز است که نوترکیبی بین دو سایت هدف متمایز را انجام می دهد (۸ و ۹). اینتگرون‌ها بر اساس مقایسه توالی اسید آمینه اینتگراز خود، کدگذاری شده و توسط ژن *intI* طبقه‌بندی می شوند. بر اساس مطالعات انجام شده در سال‌های اخیر بیش از چهار نوع کلاس اینتگرون شناسایی شده است (۱۰ و ۱۱). بیشتر اینتگرون‌های سویه‌های بالینی خانواده انتروباکترسه‌ها، از کلاس ۱ هستند (۱۲). رایج‌ترین کاست اینتگرون حاوی ژن‌های مرتبط با مقاومت در برابر طیف وسیعی از عوامل ضد میکروبی، از جمله آنتی بیوتیک‌ها، آنتی سپتیک‌ها و دزانفاکتانت‌هاست(۶ و ۷). اینتگرون‌ها از طریق ترانسپوزون‌ها و پلاسمیدها انتشار ژن‌های مقاومت در میان باکتری‌ها را امکان پذیر می کنند. به نظر می رسد که حضور اینتگرون در سویه‌ها، موجب افزایش مقاومت آن‌ها نسبت به انواع آنتی بیوتیک‌های رایج می‌شود.

بنابراین، کسب اینتگرون، یکی از عوامل مهم چند مقاومتی در میکروارگانیسم‌های گرم منفی، به ویژه در باکتری‌های روده ای در نظر گرفته شده است (۷ و ۱۳). کلاس ۱ و ۲ اینتگرون در سروتیپ‌های مختلف سالمونلا شناسایی شده‌اند (۱۴). در مطالعه حاضر، پروفایل‌های مقاومت ضد میکروبی سالمونلا جدا شده در طول سال‌های ۱۳۹۰ تا ۱۳۹۱ از نمونه‌های حیوانی مطالعه شد. علاوه بر این، توزیع کلاس ۱ اینتگرون در میان جمعیت مقاوم در برابر دارو نیز بررسی شد.

مواد و روش‌ها

نمونه گیری، کشت و آزمایش‌های بیوشیمیایی

در مجموع ۳۲ سویه سالمونلا از تابستان ۱۳۹۰ تا تابستان ۱۳۹۱ به ترتیب شامل۱۴ جدایه گاوی و ۱۸جدایه مرغی از نمونه‌های حیوانی دام و طیور بخش میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه جمع‌آوری شدند. نمونه‌ها به محیط کشت انتخابی سالمونلا شیگلا آگار و بیسموت سولفیت آگار (مرک[1]، ساخت آلمان) انتقال یافته و به مدت ۲۴ ساعت در دمای

۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. کلونی‌های مشکوک به سالمونلا توسط روش‌های متداول میکروبیولوژی نظیر کشت در محیط‌های TSI، لیزین آیرون آگار، سیترات، اوره، رنگ آمیزی گرم و آزمایش‌های متیل رد وگس پروسکئور (مرک) شناسایی شدند. سپس آزمون سروتایپینگ با آنتی سرم‌های اختصاصی سروار انجام شد (۱۵). روش دیسک دیفیوژن برای تعیین حساسیت سویه‌های سالمونلا بر اساس پروتکل CLSI سال ۲۰۱۱ انجام شد. دیسک‌های تهیه شده از شرکت پادتن طب برای تعیین حساسیت سویه‌ها شامل: آمپی سیلین (۱۰ میکروگرم)، تتراسایکلین (۳۰ میکروگرم)، کلرامفنیکل (۳۰ میکروگرم)، سولفامتوکسازول (۲۵۰ میکروگرم)، نالیدیکسیک اسید (۳۰ میکروگرم)، سفالوتین (۳۰ میکروگرم)، سفتریاکسون (۳۰ میکروگرم)، آمیکاسین (۳۰ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، کانامایسین (۱۰ میکروگرم) و آموکسی سیلین- کلاولانیک اسید (۲۰-۱۰ میکروگرم) بودند. اشریشیاکلی ATCC 25922 به عنوان یک سویه مرجع استفاده شد.

واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR)

ژنوم سویه‌ها با استفاده از کیت (متابیون[۲]، ساخت آلمان) استخراج شد. حضور کلاس ۱ اینتگرون توسط تکنیک PCR (جدول ۱)، با استفاده از پرایمرهای خاص برای ژن *intI* در همه سویه‌ها مطالعه شد (۱۵). مواد PCR از شرکت سیناژن ساخت ایران تهیه و واکنش در حجم ۲۵ میکرولیتر (۲/۵ میکرولیتر بافر PCR X ۱۰، ۱/۵ میکرولیتر MgCl2 ۵۰ میلی‌مولار، یک میکرولیتر dNTP ۱۰ میلی‌مولار، ۱/۵ واحد آنزیم Taq پلی مراز، یک میکرولیتر با غلظت ۱۰ میکرومولار از هر پرایمر، یک میکرولیتر DNA الگو) انجام شد. فرآیند PCR در دستگاه ترموسایکلر (اپندورف[۳]، ساخت آلمان) شامل: ۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد (واسرشت سازی ابتدایی)، ۳۵ سیکل ۳۰ ثانیه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد (واسرشت‌سازی)، ۳۰ ثانیه در ۵۳ درجه سانتی‌گراد (اتصال پرایمر)، یک دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد (گسترش پرایمر) و در نهایت، ۱۰ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد (گسترش نهایی) انجام شد. محصول PCR بر روی ژل آگاروز یک درصد با دستگاه (بیوراد[۴]، ساخت آمریکا) الکتروفورز و با نور ماورابنفش مشاهده شد.

جدول ۱- طول قطعه و توالی پرایمرها *intI*

توالی پرایمرها ۳َ-۵َ	ژن	طول قطعه	منبع
F- ACGAGCGCAAGGTTTCGGT R- GAAAGGTCTGGTCATACATG	*IntI*	bp ۵۶۵	۱۶

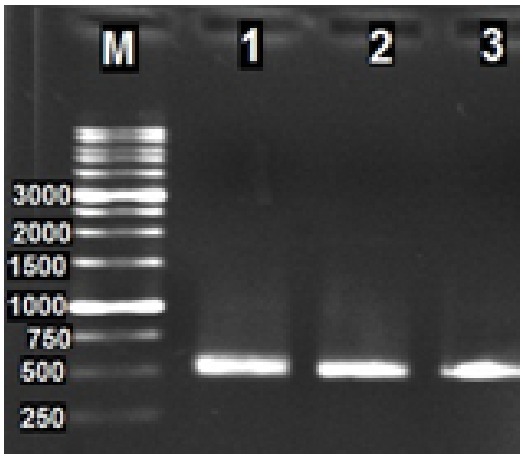
نتایج

از میان سویه‌های مورد مطالعه، ۱۲/۹ درصد تنها نسبت به یک آنتی‌بیوتیک و ۸۷ درصد دارای مقامت چندگانه (حداقل به ۳ گروه آنتی بیوتیک) بودند. در مجموع، ۱۴ نمونه از ۱۸ نمونه جدا شده از دام (۷۷/۷ درصد) و ۱۴ از ۱۴ نمونه جدا شده از طیور (۱۰۰ درصد) دارای مقاومت چندگانه [۵]، بودند. در رایج‌ترین فنوتیپ‌ها میانگین مقاومت به سفالوتین (۱۰۰ درصد)، کلرامفنیکل (۶۸/۷ درصد)، آمپی سیلین (۶۲/۵ درصد)، تتراسایکلین (۵۶/۲/ درصد)، آموکسی سیلین/ کلاولانیک اسید (۵۰ درصد) و سولفامتوکسازول (۴۳/۷ درصد) شناسایی شدند. مقاومت به نالیدیکسیک اسید (۱۱/۷ درصد)، کانامایسین (۵/۸ درصد)، سفتریاکسون (صفر درصد)، جنتامایسین (صفر درصد) و آمیکاسین (صفر درصد) مشاهده شد. سویه‌های مقاوم در برابر سولفامتوکسازول (۷۸/۵ درصد) حامل کلاس ۱ اینتگرون بودند. اینتگرون در سویه‌های تیفی موریوم دامی ۵۵/۵ درصد و طیور ۶۴/۲ درصد مشاهده شد (شکل ۱). جدول ۲ مقاومت آنتی بیوتیکی در سویه‌های سالمونلا اینتگرون مثبت و منفی را نشان می دهد.

جدول ۲- مقاومت آنتی بیوتیکی در سویه‌های سالمونلا اینتگرون مثبت و منفی

	سفالوتین	سفتریاکسون	آمپی سیلین	جنتامایسین	کانامایسین	آمیکاسین	نالیدیکسیک اسید	سولفامتوکسازول	آموکسی سیلین- کلاولانیک اسید	کلرامفنیکل	تتراسایکلین
طیور +	۱۰۰	صفر	۸۸/۸	صفر	صفر	صفر	۲۲/۲	۷۷/۷	۵۵/۵	۱۰۰	۸۸/۸
دامی +	۱۰۰	صفر	۶۰	صفر	صفر	صفر	صفر	۴۰	۶۰	۶۰	۴۰
طیور-	۱۰۰	صفر	۸۰	صفر	صفر	صفر	۲۰	۲۰	۲۰	۶۰	۸۰
دامی-	۱۰۰	صفر	۵۰	صفر	۲۵	صفر	۲۵	۲۵	۵۰	۵۰	۲۵

+ اینتگرون مثبت، - اینتگرون منفی



شکل ۱- الکترفورز ژل آگاروز محصول ژن اینتگرون با PCR: ردیف M مارکر (DNA ladder)، ردیف۲ و ۳ سویه سالمونلا دارای ژن *intI*، ردیف ۱ کنترل مثبت (باند ۵۶۵ جفت باز)

بحث و نتیجه گیری

در مطالعه حاضر، میزان گسترده ای از مقاومت نسبت به چندین گروه از آنتی بیوتیک‌های رایج مانند کلرامفنیکل، آمپی‌سیلین، تتراسایکلین و سولفونآمیدها در سویه‌های سالمونلا مشاهده شد. این یافته‌ها تعجب آور نیست، زیرا این‌گونه آنتی بیوتیک‌ها در سیستم‌های مدرن پرورش حیوانات استفاده می شوند (۱۷ و ۱۸). شیوع بالای مقاومت به سولفامتوکسازول (۴۳ درصد) نشان دهنده استفاده زیاد سولفونآمید در حیوانات تولید کننده مواد غذایی است. اینتگرون‌ها نقش قابل توجهی

در کسب مقاومت ضد میکروبی باکتری‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف دارند (۷ و ۱۳). ۷۸/۵ درصد از سویه‌های سالمونلای مقاوم در برابر سولفونآمیدها، حضور اینتگرون را نشان دادند. بیش‌ترین مقاومت چندگانه دارویی در خانواده انتروباکتریاسه با حضور اینتگرون گزارش شده است (۱۹،۲۰ و ۲۱). به دلیل حضور بیش از ۶۰ کاست ژنی، وجود اینتگرون‌ها باعث افزایش ویرولانس باکتری زنوتیک می شود، به ویژه هنگامی که حضور کلاس ۱ اینتگرون شناسایی شود (۱۹). در این مطالعه، ۲۸ مورد از ۳۲ سویه مقاومت چندگانه را نسبت به آنتی بیوتیک‌های رایج نشان دادند. این شرایط می‌تواند راه حل درمانی برای بیماری‌های تهاجمی تولید شده توسط سالمونلا را کاهش دهد و احتمال شکست در درمان را به ویژه به دلیل حضور سویه‌های مقاوم به فلوروکینولون و بتالاکتام افزایش دهد (۲۲). نتایج مطالعه حاضر با پژوهش‌های ماجتانووا و همکاران[۶] در سال ۲۰۱۰ که بیش‌ترین مقاومت جدایه‌ها را نسبت به سولفامتوکسازول، آمپی‌سیلین و تتراسایکلین گزارش می‌کند، و نیز نتایج پژوهش تورووو همکاران[۷] در سال ۲۰۱۱ که بالاترین مقاومت جدایه‌ها را نسبت به آمپی‌سیلین، آموکسی سیلین-کلاولانیک اسید، سولفامتوکسازول، تتراسایکلین و کلرامفنیکل گزارش می کند، مطابقت دارد (۲۳ و ۲۴). نتایج الگوی مقاومت جدایه‌های این تحقیق با نتایج مقاومت جدایه‌های انسانی حاصل از مطالعه رنجبر و همکاران[۸] در سال ۲۰۰۹ که بیش‌ترین مقاومت را نسبت به تتراسایکلین، آمپی سیلین و کلرامفنیکل و نیز نتایج مطالعه رجایی و همکاران[۹] در سال ۲۰۱۱ که بیش‌ترین مقاومت را نسبت به تتراسایکلین، سولفامتوکسازول، گزارش می کند مطابقت دارد (۲۵ و ۲۶). داده‌های پژوهش حاضر با نتایج پژوهش سلطان دلالو همکاران[۱۰] در سال ۲۰۰۹ که بیش‌ترین مقاومت نمونه‌های جدا شده از جوجه و گاو نسبت به نالیدیکسیک اسید، تتراسایکلین را گزارش می‌کند، مطابقت ندارد (۲۷). دلایل این اختلاف می‌تواند به تفاوت در نوع سویه‌ها، زمان نمونه‌گیری و میزان شیوع پلاسمیدهای حاوی ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی مرتبط باشد. کلاس ۱ اینتگرون بیشتر در سویه‌های سالمونلا یافت می‌شود. با توجه به این، وناسن زندبرگ و همکاران[۱۱] حضور ۴۳ درصدی کلاس ۱ اینتگرون را در سویه‌های جدا شده از حیوانات و انسان و گلدستاین و همکاران[۱۲] ۶۱/۵ درصد در سویه‌های سالمونلا جدا شده از مرغ را گزارش کردند (۲۸ و ۲۹). در مطالعه گبریس[۱۳]، ۷۵ در صد از سویه‌های جدا شده از خوک، دارای مقاومت چندگانه و متعلق به کلاس ۱ اینتگرون بودند (۳۰). به همین ترتیب، نتایج پژوهش مایکل و همکاران[۱۴] نیز حاکی از این بود که در ۴۱/۶ درصد از سویه‌ها این عناصر مولکولی مشاهده می شوند (۳۱). همچنین، در مطالعه دیگر توسط پیرانوو همکاران[۱۵] در برزیل، از ۱۳۵ سویه سالمونلا ۵۵ مورد حضور کلاس ۱ اینتگرون را نشان دادند (۳۲). در مطالعات دیگر در ایران، توسط فیروزه و همکاران[۱۶]، ۴۱/۶ درصد از سویه‌های سالمونلای انسانی حامل کلاس ۱ اینتگرون بوند. همچنین، مطالعات ناغونی و همکاران[۱۷] شیوع بالای اینتگرون را در بین سویه‌های سالمونلا MDR نشان دادند (۳۳ و ۳۴). حضور شایع این عناصر ژنتیکی در میان سویه‌های سالمونلا، گویای ارتباط کاهش حساسیت به داروهای انتخابی و استفاده نا مناسب از داروهای ضد میکروبی جایگزین در زمینه‌های مختلف و گسترش عوامل مقاومت است. در حال حاضر سفالوسپورین‌های طیف گسترده مانند سفوتاکسیم، سفتازیدیم، سفتریاکسون و فلوروکینولون‌ها داروهای انتخابی برای درمان عفونت‌های سالمونلاست (۳۳).

نتایج این پژوهش بیانگر این مطلب است که ارتباط تنگاتنگی بین جدایه‌های سالمونلا MDR و حضور کلاس ۱ اینتگرون وجود دارد. از یک سو سویه‌های اینتگرون مثبت، در مقایسه با سویه‌های اینتگرون منفی مقاومت بیشتری به تتراسایکلین، کلرامفنیکل، سولفامتوکسازول، آمپی سیلین و آموکسی‌سیلین/ کلاولانیک اسید ، در دام و طیور داشتند. از سوی دیگر، سویه‌های دامی اینتگرون منفی نیز مقاومت بالایی نسبت به کانامایسین و نالیدیکسیک اسید داشتند. این یافته‌ها نشانگر آن است که فنوتیپ مقاومت در میان سویه‌های سالمونلا، نه تنها به علت حضور کلاس ۱ اینتگرون بلکه می‌تواند به حضور دیگر کلاس‌های اینتگرون و یا عناصرهای ژنتیکی دیگر مانند ترانسپوزون‌ها مرتبط باشد (۳۳). ارتباط معنی‌داری بین حضور کلاس ۱ اینتگرون و مقاومت به سولفونآمید، کلرامفنیکل، آمپی سیلین، تتراسایکلین، استرپتومایسین و تری متوپریم وجود دارد در حالی‌که مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های دیگر مستقل از اینتگرون است (۳۵). حیوانات تولید کننده مواد غذایی، ممکن است به طور هم‌زمان به عنوان یک مخزن از اینتگرون و حامل ژن‌های مقاومت به آنتی بیوتیک محسوب شوند. در نتیجه امکان دارد که محصولات تولیدی در زنجیره غذایی، به عنوان منابع سویه‌های MDR در نظر گرفته شوند. استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های خاص به مدت طولانی، ممکن است به انتخاب اینتگرون‌های حامل عناصر ژنتیکی کمک کند. اگر چه عوامل دیگر مربوط به مقاومت، به طور غیر مستقیم ممکن است به گسترش نیچ آن‌ها منجر شود. نظارت بر تغییرات کاست ژن اینتگرون در جمعیت سالمونلا می‌تواند به جلوگیری از گسترش عوامل تعیین کننده مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها از طریق زنجیره غذایی از حیوانات به انسان کمک کند.

References

(1) Caleja C, Toro M, Gonçalves A, Themudo P, Vieira-Pinto M, Monteiro D, et al. Antimicrobial resistance and class I integrons in Salmonella enterica isolates from wild boars and Bísaro pigs. *Int Microbiol.* 2011; 14 (1): 19-24.

(2) Threlfall EJ. Antimicrobial drug resistance in Salmonella: problems and perspectives in food- and water-borne infections. *FEMS Microbiol Rev* 2002; 26 (2): 141–8.

(3) Miriagou V, Tassios PT, Legakis NJ. Expanded-spectrum cephalosporin resistance in non-typhoid Salmonella. *Int J Antimicrob Agents* 2004; 23 (6): 547–55.

(4) Fluit AC. Towards more virulent and antibiotic-resistant Salmonella? *FEMS Immunol Med Microbiol* 2005; 43 (1): 1–11.

(5) Aarestrup FM, Molbak K, Threlfall EJ. Is it time to change fluoroquinolone breakpoints for Salmonella spp.? *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47 (2): 827–9.

(6) Hall RM, Collis CM. Antibiotic resistance in gram-negative bacteria: the role of gene cassettes and integrons. *Drug Resist Updat* 1998; 1 (2): 109–19.

(7) Rowe-Magnus DA, Mazel D. The role of integrons in antibiotic resistance gene capture. *Int J Med Microbiol* 2002; 292 (2): 115–25.

(8) Hall RM, Collis CM. Mobile gene cassettes and integrons: capture and spread of genes by site-specific recombination. *Mol Microbiol* 1995; 15 (4): 593–600.

(9) Hall RM, Stokes HW. Integrons: novel DNA elements which capture genes by site-specific recombination. *Genetica* 1993; 90 (2-3): 115–32.

(10) Rowe-Magnus DA, Guerout AM, Ploncard P, Dychinco B, Davies J, Mazel D. The evolutionary history of chromosomal super-integrons provides an ancestry for multiresistant integrons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98 (2): 652–7.

(11) Nield BS, Holmes AJ, Gillings MR, Recchia GD, Mabbutt BC, Nevalainen KM, et al. Recovery of new integron classes from environmental DNA. *FEMS Microbiol Lett* 2001; 195 (1): 59–65.

(12) Mazel D, Davies J. Antibiotic resistance in microbes. *Cell Mol Life Sci* 1999; 56 (9-10): 742–54.

(13) Leverstein-van Hall MA, Blok HEM, Donders ART. Multidrug resistance among Enterobacteriaceae is strongly associated with the presence of integrons and is independent of species or isolate origin. *J Infect Dis* 2003; 187 (2): 251–9.

(14) Ahmed AM, Nakano H, Shimamoto T. Molecular characterization of integrons in non- typhoid Salmonella serovars isolated in Japan: description of an unusual class 2 integron. *J Antimicrob Chemother* 2005; 55 (3): 371–4.

(15) Washington Winner JR, Allen S, Janda W, Koneman. E, Procop G, Schreckenberger P, et al. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins Press; 2002.

(16) Yan H, Shi L, Yamasaki S, Li X, Cao Y, Li L, et al. A Plasmidic Class 1 Integron from Five *Pseudomonas aeruginosa* Clinical Strains Harbored aacA4 and Nonsense-mutated cmlA1 Gene Cassettes. *J Health Sci* 2007; 53 (6): 750–5.

(17) Marshall BM, Levy SB. Food Animals and Antimicrobials: Impacts on Human Health. *Clin Microbiol Rev* 2011; 24 (4): 718–33.

(18) Mvzhnh L. *use of antibiotics in poultry.* Zoghie Esmail.Tehran: Gholeh; 2005.

(19) Carattoli A. Importance of integrons in the diffusion of resistance. *Vet Res* 2001; 32 (3-4): 243–59.

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

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

(22) Helms M, Vastrup P, Gerner-Smidt P, Molbak K. Excess mortality associated with antimicrobial drug-resistant Salmonella typhimurium. *Emerg Infect Dis* 2002; 8 (5): 490–5.

(23) Majtaá novaá L , Majtaá n T, Majtaá n V. Detection of the Class 1 Integrons and SGI1 among Salmonella enterica Serovar Typhimurium DT104, U302, DT120, DT193, and Nontypable Human Isolates, Jpn. *J Infect Dis* 2010; 63 (4): 292-5.

(24) Toro M, Sáenz Y, Cercenado E, Rojo-Bezares B, García-Campello M, Undabeitia E, et al. Genetic characterization of the mechanisms of resistance to amoxicillin/clavulanate and third-generation cephalosporins in Salmonella enterica from three Spanish hospitals. *Int Microbiol* 2011; 14 (3): 173-81.

(25) Ranjbar R, Naghvny A, Panahi Y, Izadi M. Antibiotic sensitivity of Salmonella strains isolated from clinical cases to ten less current antibiotics used in the treatment of Salmonella infections. *Journal of Infectious Diseases* 2009; 14 (46): 41-5.

(26) Rajaei B, Siadat SD, Razavi M, Aghasadeghi M, Sepehri Rad N ,Badmasti F, et al. Expanding drug resistance through integrin acquisition in Salmonella spp. isolates obtained in Iran. *Afr J Microbiol Res* 2011; 5 (16): 2249-53.

(27) Soltan Dallal MM, Taremi M, Gachkar L, Modarressi S, Sanaei M, Bakhtiari R, et al. Characterization of antibiotic resistant patterns of *Salmonella* serotypes isolated from beef and chicken samples in Tehran. *Jundishapur J Microbiol* 2009; 2 (4): 124-31.

(28) van Essen-Zandbergen A, Smith H, Veldman K, Mevius D. Occurrence and characteristics of class 1, 2, and 3 integrons in Escherichia coli, Salmonella and Campylobacter spp. in the Netherlands. *J Antimicrob Chemother* 2007; 59 (4): 746–50.

(29) Goldstein C, Lee M D, Sa´nchez S, Hudson C, Phillips B, Register B. Incidence of class1 and 2 integrases in clinical and

commensal bacteria from livestock, companion animals, and exotics. Antimicrob *Agents Chemother* 2001; 45 (3): 723–36.

(30) Gebreyes W A, Thakur S. Multidrug-resistant Salmonella enterica serovar Muenchen from pigs and humans and potential interserovar transfer of antimicrobial resistance. Antimicrob *Agents Chemother* 2005; 49 (2): 503–11.

(31) Michael GB, Cardoso M, Schwarz S. Molecular anlysis of Salmonella enterica subsp. enterica serovar Agona iso- lated from slaughter pigs. *Vet Microbiol* 2006b; 112 (1): 43–52.

(32) Peirano G, Agerso Y, Aerestrup FM, dos Reis EM, dos Prazeres-Rodrigues D. Occurrence of integrons and antimicrobial resistance genes among Salmonella enterica from Brazil. *J Antimicrob Chemother* 2006; 58 (2): 305–9.

(33) Firoozeh F, Shahcheraghi F, Zahraei Salehi T, Karimi V, Aslani MM. Antimicrobial resistance profile and presence of class I integrongs among Salmonella enterica serovars isolated from human clinical specimens in Tehran, Iran. *Iran J Microbiol* 2011; 3 (3): 112-17.

(34) Naghoni A, Ranjbar R, Tabaraie B, Farshad S, Owlia P, Safiri Z, et al. High prevalence of integron-mediated resistance in clinical isolates of Salmonella enterica. *Jpn J Infect Dis* 2010; 63 (6) :417-21.

(35) Vo ATT, Duijkeren E, Fluit AC. Antibiotic Resistance, Integrons, and Salmonella Genomic Island 1 non-typhoid Salmonella in The Netherlands. *Int J Antimicrob Agents* 2006; 28 (3) :172-9.

---

[1]. Merck
[2]. Metabion
[3]. Eppendorf
[4]. Biorad
[5]. Multi Drug Resistance (MDR)
[6]. Majtaánovaá *et al*
[7]. Toro *et al*
[8]. Ranjbar *et al*
[9]. Rajaei *et al*
[10]. Soltan Dallal *et al*
[11]. Van Essen-Zandbergen *et al*
[12]. Goldstein *et al*
[13]. Gebreyes
[14]. Michael *et al*
[15]. Peirano *et al*
[16]. Firoozeh *et al*
[17]. Naghoni *et al*

Study of class 1 integrons and antibiotic resistance in *Salmonella Typhimurium* strains isolated from livestock and poultry

Parisa Mobaseri
M.Sc. of Microbiology, Tehran north branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, p.mobasseri2011@gmail.com
Mitra Salehi *
Associate Professor of Microbiology, Tehran north branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, mitra_salehi_microbiology@yahoo.com
Farzaneh Hosseini
Associate Professor of Microbiology, Tehran north branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, farzaneh953@yahoo.com

Abstract

Introduction: Evolution and dissemination of multidrug-resistant *Salmonella enterica* isolates have been reported. Resistance to antibiotic within Salmonella serotypes is a serious global concern. Integrons are genetic units that participate in capturing and dissemination of mobile gene cassettes among Gram-negative microorganisms. Integron mobility is facilitated by transposons and plasmids.

Materials and methods: Antibiotic resistance phenotype of 32 *Salmonella enterica* isolates of animal origin which were collected during 2011–2012 were investigated. All samples were assessed by culture method and standard biochemical tests for identification of Salmonella strains. After DNA extraction, the presence of class I integron was examined by PCR.

Results: The most common resistant phenotypes were to cefalothin (100%), chloramphenicol (68/7%), ampicillin (62/5%), tetracycline (56/2%), amoxicillin/ clavulanate (50%), sulfamethoxazole (43/7%). Class 1 integrons were found in (55/5%) and (64.2 %) of Salmonella isolates from livestock and poultry respectively.

Discussion and conclusion: Integron positive isolates had higher resistance to tetracycline, chloramphenicol, ampicillin sulfamethoxazole and amoxicillin / clavulanate compared with integron negative isolates. The ability of integrons to integrate resistance gene to antimicrobial agents makes them the main sources in the diffusion of antibiotic resistance.

Key words: *Salmonella Typhimurium*, Class 1 integrons, Multidrug resistance

* Corresponding Author
Received: July 21, 2013/ **Accepted:** October 7, 2013