

Isolation and Antibiotic Resistance Patterns of *Shigella* and *Salmonella* Bacteria in Children with Acute Diarrhea in Amirkola Children's Hospital in Babol, in 2019

Morteza Moghaddami¹,
Abolfazl Davoodabadi²,
Sanaz Mehrabani³

¹ MSc Student in Microbiology, Student Research Committee, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

² Assistant Professor, Cellular and Molecular Biology Research Center, Health Research Institute, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

³ Assistant Professor, Non-Communicable Pediatric Diseases Research Center, Health Research Institute, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

(Received April 10, 2021 ; Accepted May 29, 2021)

Abstract

Background and purpose: Diarrhea caused by *Salmonella* and *Shigella* species is one of the leading causes of death in children. Determining antibiotic resistance is of great importance in management of diarrhea. The aim of this study was to determine antibiotic resistance of these bacteria in children with acute diarrhea in Amirkola Children's Hospital in Babol.

Materials and methods: In this cross-sectional study, 252 stool samples were collected from children aged 6 months-5 years in 2019. The samples were cultured and bacterial isolation was performed by conventional laboratory methods. Antibiotic resistance of the strains was investigated by disk diffusion method and using *Escherichia coli* American Type Culture Collection (ATCC) 25922 control strain for extended-spectrum beta-lactamase (ESBL). The frequency of classes I, II and III integrons were delineated using polymerase chain reaction (PCR).

Results: A total of 28 samples (11.1%) were positive for *Salmonella* (n=15, 5.9%) and *Shigella* (n=13, 5.1%) species. All *Shigella* strains (100%) were sonnei, but *Salmonella* strains were serotypes D (n=6, 46%), B (n=4, 31%), and C (n= 3, 23%). *Shigella* and *Salmonella* strains were resistant to nalidixic acid (100% and 54%), trimethoprim sulfamethoxazole (93% and 0%), azithromycin (87% and 23%), ampicillin (73% and 8%), and cefotaxime (60% and 46.1%), respectively. All *Shigella* strains were ESBL-positive (beta-lactamase positive). For *Salmonella*, 7 (53.9%) strains were ESBL positive. The PCR results showed that in *Shigella* strains, 11 (73.3%), 14 (93%), and 10 (66.7%) cases had class I, class II and both classes of integron genes, respectively, but class III integron was not detected. Furthermore, in *Salmonella* strains, 3 (23%) had class I integron and classes II and III were not identified.

Conclusion: Due to high level of antibiotic resistance of *Shigella* strains and high frequency of classes I and II integrons, identification of these pathogens and antibiogram can be helpful in treatment of diarrhea in children.

Keywords: antibiotic resistance, diarrhea, *Salmonella*, *Shigella*, integron, children

J Mazandaran Univ Med Sci 2021; 31 (198): 60-72 (Persian).

* Corresponding Author: Sanaz Mehrabani-Non-Communicable Pediatric Diseases Research Center, Health Research Institute, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran (E-mail: mehrabanisanaz@gmail.com)

جداسازی و تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری های شیگلا و سالمونلا در کودکان مبتلا به اسهال حاد مراجعه کننده به بیمارستان کودکان امیرکلا بابل در سال 1398

مرتضی مقدمی¹
ابوالفضل داودآبادی²
ساناز مهربانی³

چکیده

سابقه و هدف: یکی از دلایل مرگ و میر کودکان، اسهال مرتبط با سالمونلا و شیگلا است. تعیین مقاومت آنتی بیوتیکی، مهم ترین روش مدیریت اسهال است. این مطالعه با هدف جداسازی و تعیین مقاومت آنتی بیوتیکی این باکتری ها در کودکان با اسهال حاد مراجعه کننده به بیمارستان کودکان امیرکلا بابل انجام شد.

مواد و روش ها: این مطالعه توصیفی - مقطعی روی 252 نمونه مدفوع کودکان 6 ماه تا 5 سال در سال 1398 انجام شد. پس از کشت، جداسازی باکتری ها با روش های استاندارد میکروبیولوژی انجام و مقاومت آنتی بیوتیکی با روش دیسک دیفیوژن با استفاده سویه کنترل E.coli ATCC 25922 برای بتا لاکتاماز وسیع الطیف و فراوانی ژن های اینتگرون I، II، III با روش PCR (polymerase chain reaction) بررسی شدند.

یافته ها: در 28 نمونه (11/1 درصد) این دو پاتوژن مثبت بودند. 15 سویه (5/9 درصد) شیگلا، 13 (5/1 درصد) سالمونلا بودند. تمامی شیگلاها (100 درصد)، سونتی بودند، سالمونلاها، 6 (46 درصد) سرو تایپ D، 4 (31 درصد) B، 3 (23 درصد) C بودند. مقاومت آنتی بیوتیکی شیگلا و سالمونلا به ترتیب، نالیدیکسیک اسید (100 و 54 درصد)، تریمتوپریم سولفامتو کسازول (93، 0 درصد)، آزیترومایسین (87، 23 درصد)، آمپی سیلین (73، 8 درصد)، سفوتاکسیم (60، 46/1 درصد) بود. شیگلاها ESBL (Extended-spectrum beta-lactamase) (بتا لاکتاماز) مثبت بودند. در سالمونلا 7 (53/9 درصد) ESBL مثبت بودند. در PCR 11 ایزوله (73/3 درصد)، 14 (93 درصد) و 10 (66/7 درصد) شیگلاها به ترتیب دارای اینتگرون I، II، هر دو اینتگرون بودند، اینتگرون III شناسایی نشد. سالمونلاها 3 (23 درصد) اینتگرون I داشتند، اینتگرون II، III شناسایی نشد.

استنتاج: با توجه به میزان بالای مقاومت آنتی بیوتیکی شیگلاها و شیوع بالای اینتگرون های I، II در آن ها، شناسایی این پاتوژن ها و انجام آنتی بیوگرام می تواند در مدیریت اسهال کودکان کمک کننده باشد.

واژه های کلیدی: مقاومت آنتی بیوتیکی، اسهال، سالمونلا، شیگلا، اینتگرون، کودکان

مقدمه

اسهال عفونی یکی از علل مهم بیماری و مرگ و میر در سرتا سر جهان می باشد که عواملی از جمله شرایط زندگی، سن افراد، نوع و مصرف غذا در ایجاد آن نقش دارند (1،2). این بیماری در کشورهای در حال

E-mail: mehrabanisanaz@gmail.com

مؤلف مسئول: ساناز مهربانی - بابل: دانشگاه علوم پزشکی بابل، مرکز تحقیقات غرواگیر کودکان، پژوهشکده سلامت

1. کارشناس ارشد میکروب شناسی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

2. استادیار، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

3. استادیار مرکز تحقیقات بیماری های غرواگیر کودکان، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

تاریخ دریافت: 1400/1/22 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 1400/1/28 تاریخ تصویب: 1400/3/8

توسعه 25 درصد عامل مرگ و میر در کودکان زیر 5 سال است (3,1). اسهال عفونی در دوران کودکی و اوایل کودکی بسیار شایع بوده و اوج بروز آن در سن 6 تا 18 ماهگی است (4). سازمان بهداشت جهانی (WHO) در سال 1980 برنامه کنترل بیماری های اسهال حاد را به منظور کاهش مرگ و میر کودکان خردسال در کشورهای در حال توسعه آغاز کرد (5). شیوع عوامل ایجادکننده اسهال براساس منطقه جغرافیایی، وضعیت اجتماعی اقتصادی، استانداردهای بهداشتی و زندگی در مناطق مختلف، متفاوت است (6). علل اسهال حاد در کشورهای توسعه یافته، ویروس ها از جمله روتاویروس، نورواک ویروس و کلسی ویروس می باشد، که عامل 40 درصد عفونت اسهال در 5 سال اول زندگی می باشد. در کشورهای در حال توسعه بیش تر پاتوژن های باکتریایی از جمله، کمپیلوباکتر ژژونی، سالمونلا، اشرشیا کلی، شیگلا، یرسینیا انترولیتیکا و کلستریدیوم دیفیسیل هستند که عامل 20 درصد از اسهال کودکان می باشند (7). انگل هایی از جمله ژیا ردیا لامبلیا، کریپتوسپوریدیا، انتاموبیا هیستولیتیکا نیز کم تر از 5 درصد عامل ایجاد اسهال هستند (8).

شیگلا عامل 15-10 درصد بیماری های اسهالی در کودکان زیر 5 سال را تشکیل می دهد و از لحاظ سرولوژی به 4 زیر گروه شیگلا دیسانتری (گروه A) که 17 سروتایپ دارد، شیگلا فلکسنری (گروه B) که 14 سروتایپ دارد، شیگلا بویدی (گروه C) که 19 سروتایپ دارد و شیگلا سونئی (گروه D) که یک سروتایپ منفرد است تقسیم بندی می شود (6,9). شیوع شیگلوزیس اغلب در ماه های تابستان بوده و انتقال آن از طریق مدفوع و دهان، آب و غذای آلوده به مدفوع فرد آلوده می باشد (10). سالمونلا شایع ترین پاتوژن جدا شده از مواد غذایی آلوده می باشد که براساس آنالیز توالی 16S rRNA به دو گونه سالمونلا انتریکا و سالمونلا بونگوری طبقه بندی می شوند (11). در حال حاضر 2463 سروتایپ از سالمونلا وجود دارد که آنتی ژن های سروتایپ های سالمونلا در

مرکز بهداشت جهانی نگهداری می شود و سروتایپ های سالمونلاهای جدید در جدول کافمن وایت نیز مشاهده می شود (12). مهم ترین درمان برای اسهال حاد جایگزینی مایعات و الکترولیت ها می باشد و برای درمان دیسانتری، حصبه و وبا از عوامل ضد باکتریایی استفاده می شود (2). نسل دوم فلوروکینون ها (سپروفلوکساسین) به عنوان اولین انتخاب برای بیماران مبتلا به اسهال خونی مقاوم به نسل سوم سفالوسپورین ها و نالیدیکسیک اسید توصیه می شود (13). افزایش مقاومت ضد میکروبی در بین پاتوژن های روده در کشورهای در حال توسعه یک امر نگران کننده و موثر در مرگ و میر کودکان زیر 5 سال موثر می باشد. تا سال های اخیر گونه های سالمونلا نسبت به متداول ترین آنتی بیوتیک ها بسیار حساس بودند، اما در دهه گذشته با ظهور سالمونلا غیر تیفوئیدی مقاوم به چند دارو و همچنین افزایش تعداد ایزوله های شیگلا مقاوم نسبت به بیش تر آنتی بیوتیک های موجود در کشورهایی که انتخاب درمانی آن ها محدود است، این امر باعث یک مشکل بهداشتی شده است (14). در ایجاد مقاومت آنتی بیوتیکی مکانیسم های مختلفی از جمله جهش نقطه ای، مقاومت اکتسابی، یا خارج کروموزومی مانند وجود بتالاکتامازها، دی هیدروفولات ردوکتاز و آنزیم های کلراستیل ترانسفراز و بسیاری دیگر نقش دارند (14,15). مقاومت ضد میکروبی با وقوع و توزیع عناصر ژنتیکی در ارتباط است، اینتگرون ها به عنوان یک گروه خاص از عناصر ژنتیکی نقش مهمی را در سازگاری باکتری و تکامل ژنوم دارند (16,17). اینتگرون کلاس I و II در بسیاری از ارگانسیم های گرم منفی بیماریزا و اینتگرون های کلاس III بیش تر در باکتری هایی که در آب های شیرین، خاک و فاضلاب وجود دارند، مشاهده می شود و به ندرت در نمونه های بالینی وجود دارد (18,19). باکتری های دارای بتالاکتاماز با طیف وسیع به بسیاری از آنتی بیوتیک ها از جمله پنی سیلین ها، سفالوسپورین های نسل اول، دوم و سوم و آزترونام (بجز سفامایسین ها و کارباپنم ها) مقاوم هستند (20). ژن های

کدکننده این آنزیم‌ها بر روی عناصر ژنتیکی متحرک از قبیل پلاسمید یا کروموزوم قرار دارند (22,21). از آنجایی که تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی این باکتری‌ها یکی از مهم‌ترین روش‌ها در مدیریت درمان اسهال است، لذا این مطالعه با هدف تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های بیمارزای سالمونلا و شیگلا در کودکان مبتلا به اسهال حاد مراجعه‌کننده به بیمارستان کودکان امیرکلا بابل انجام شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه توصیفی - مقطعی پس از تصویب در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی بابل با کد IR.MUBABOL.HRI.REC1398.37 در سال 1398 روی 252 نمونه مدفوع جمع‌آوری شده از کودکان مبتلا به اسهال حاد در محدوده سنی 6 ماه تا 5 سال، مراجعه‌کننده به بیمارستان کودکان امیرکلا انجام شد. کودکان مبتلا به اسهال مزمن با محدوده سنی بیش‌تر از 5 سال و کم‌تر از 6 ماه، دارای نقص ایمنی، مصرف آنتی‌بیوتیک و پروبیوتیک، بیماری‌های گوارشی زمینه‌ای و سوء جذب از مطالعه خارج شدند. حجم نمونه با سطح اطمینان 95 درصد و ضریب اطمینان 1/96 تعداد 252 به دست آمد. اسهال حاد، دفع مدفوع آبکی بیش‌تر از سه نوبت در روز که کم‌تر از 14 روز طول می‌کشد، در نظر گرفته شد (7). نمونه‌های مدفوع با روش سواب رکتال گرفته شدند و به داخل محیط انتقالی کری بلر برده شدند و پس از قرار دادن آن بر روی یخ به آزمایشگاه میکروب شناسی دانشگاه علوم پزشکی بابل منتقل شدند. اطلاعات دموگرافیک نمونه‌ها نیز از بخش بایگانی اطلاعات بیمارستان جمع‌آوری شد. نمونه‌های سواب بر روی محیط هکتون انتریک آگار (دلتا آزما ایران) و مک کانکی (مرک آلمان) کشت داده شدند. سپس پلیت‌ها به مدت 24 ساعت در داخل انکوباتور قرار داده شدند. سواب حاوی نمونه بعد از کشت بر روی پلیت جهت غنی شدن و جداسازی بهتر سالمونلا در داخل محیط سلنیت F (انگلستان) به مدت 18-24

ساعت قرار داده شد و دوباره در محیط کشت هکتون انتریک آگار کشت داده شد. جهت شناسایی سالمونلا و شیگلا از تست‌های فنوتیپی و بیوشیمیایی مانند رنگ آمیزی گرم، تست اکسیداز، TSI, SIM, MR/VP، اوره آز و سترات، استفاده شد. سپس جهت تعیین نوع گونه این دو باکتری از کیت‌های سرولوژی شرکت بهارافشان استفاده شد. ذخیره‌سازی نمونه‌ها در 20- درجه سانتی‌گراد جهت آزمون‌های تشخیص حساسیت آنتی‌بیوتیکی و مولکولی در محیط مایع BHI حاوی 12 درصد گلیسرول انجام شد. آنتی‌بیوگرام با روش انتشار از دیسک (روش کربی - بوئر) طبق استاندارد براساس دستورالعمل کمیته ملی استانداردهای آزمایشگاه بالینی (CLSI) انجام شد (23).

جهت بررسی الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های سالمونلا و شیگلا جدا شده از 11 نوع دیسک آنتی‌بیوتیک (Mast آلمان) استفاده شد: آمپی‌سیلین (10 میکروگرم)، سفوتاکسیم (30 میکروگرم)، سفتریاکسون (30 میکروگرم)، سفنازیدیم (30 میکروگرم)، سفیکسیم (5 میکروگرم)، ایمی‌پنم (10 میکروگرم)، جنتامایسین (10 میکروگرم)، آزیترومایسین (15 میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (5 میکروگرم)، نالیدیکسیک اسید (30 میکروگرم)، تریمتوپریم سولفامتو کسازول (23/75) 1/25 میکروگرم).

روش انتشار دیسک برای تعیین ESBL

از چهار دیسک سفوتاکسیم، سفوتاکسیم/کلاوولانیک اسید، سفنازیدیم و سفنازیدیم/کلاوولانیک اسید استفاده شد و برای کنترل کیفی دیسک‌ها از سویه Ecoli ATCC 35218 استفاده شد و بعد کشت باکتری‌های مربوطه بر محیط مولر هیتون آگار و قرار دادن دو به دو آنتی‌بیوتیک‌ها، قطر هاله عدم رشد اندازه‌گیری شد اختلاف هاله‌های رشد دو به دو برابر یا بیش‌تر از 5 میلی‌متر موید تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع‌الطیف خواهد بود (23).

جدول شماره 3: برنامه دمایی دستگاه ترموسایکلر جهت انجام PCR

گسترش نهایی	گسترش	بازپخت	داتوره کردن	فعال سازی اولیه آنزیم	ژن
10 min- 72°C	30 sec- 72°C	30 sec- 59°C	30 sec- 94°C	94°C- 2 min	int I, II, III
1Cycles		33Cycles		1Cycles	

بارگذاری محصولات PCR

محصول PCR شامل نمونه‌های مورد مطالعه به همراه کنترل مثبت و منفی بود، که هر یک را به میزان 5 میکرولیتر درون چاهک‌ها بارگذاری شد. DNA سائز مارکر نیز به میزان 3 میکرولیتر درون یکی از چاهک‌ها بارگذاری شد. ژل از تانک خارج شد و بر روی صفحه ترانس ایلومیناتور منتقل شد، نور UV روشن شد و عکس برداری از ژل انجام گرفت.

برای اطمینان از دقت کار جهت آزمون‌های فنوتیپی و ژنوتیپی از سویه‌های شیگلا سونئی ATCC 9290 و سالمونلا اینترتیدیس H7 استفاده شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS_V25 و با Chi-Square Test مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و $P < 0/05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

در این مطالعه از 252 نمونه جمع‌آوری شده، در کل 28 نمونه (11/1 درصد) از نظر این دو پاتوژن مثبت بودند. 15 سویه (5/9 درصد) به عنوان شیگلا و 13 سویه (5/1 درصد) به عنوان سالمونلا شناسایی شدند. 15 سویه شیگلا، در 9 دختر (60 درصد) و 6 پسر (40 درصد) و 13 سویه سالمونلا در 7 دختر (54 درصد) و 6 پسر (46 درصد) جداسازی شد. از نظر سروتایپ‌های مختلف جدا شده شیگلا تمامی 15 سویه (100 درصد) مربوط به شیگلا سونئی بود. سروتایپ‌های مختلف سالمونلا شامل 6 سویه (46 درصد) مربوط به سروتایپ D، 4 سویه (31 درصد) مربوط به سروتایپ B، 3 سویه (23 درصد) مربوط به سروتایپ C بودند. بیش‌ترین میزان مقاومت در بین سویه‌های شیگلا مربوط به نالیدیکسیک اسید (100 درصد) و کم‌ترین میزان مقاومت در جنتامایسین

آزمون مولکولی جهت تشخیص ژن های مقاومت (اینترگون های کلاس I، II، III)

استخراج DNA به روش جوشاندن

دو تا سه کلنی از کشت باکتری در 50 میکرولیتر بافر استریل حل شده و به مدت 10 دقیقه در آب جوش قرار داده شد. سپس سوسپانسیون فوق 5 دقیقه سانتریفیوژ شده و مایع رویی به میکروتیوب استریل منتقل شد و نمونه‌های DNA در دمای 20- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

آنالیز کمی DNA

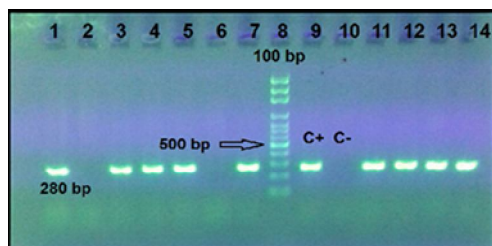
با روش اسپکتروفتومتری به وسیله نور UV با دستگاه نانو دراپ برای سالمونلا و شیگلا در جذب نوری 260-280 نانومتر سنجیده شد. جهت شناسایی هر یک از اینترگون‌های کلاس I، II و III از پرایمرهای اختصاصی استفاده شد. واکنش PCR در حجم 25 میکرولیتر انجام گرفت توالی پرایمرها و اندازه محصول در واکنش PCR در جدول شماره 1 آورده شده است. غلظت مواد واکنش دهنده PCR و برنامه دمایی دستگاه ترموسایکلر در جدول شماره 2 و 3 آورده شده است. پس از پایان PCR جهت آنالیز و شناسایی ژن ها، از الکتروفورز روی ژل آگار 1/5 درصد استفاده شد.

جدول شماره 1: توالی پرایمر ها و اندازه محصول PCR

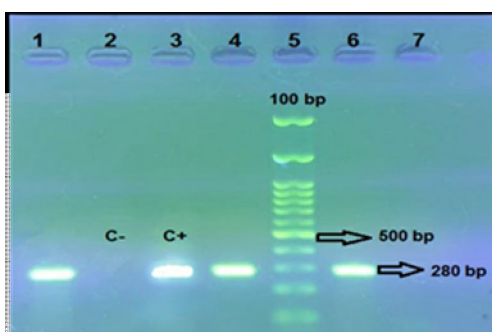
ژن	توالی پرایمر	اندازه محصول (جفت باز)	منبع
اینترگون I	F: CCTCCGCGACGATGATC R: TCCACGCATCGTCAGGC	280	(23)
اینترگون II	F: CACGGATATGCGACAAAAAGGT R: GTAGCAAACGAGTGACGAAATG	789	
اینترگون III	F: GCCTCCGGCAGCGACTTTTCAG R: ACGGATCTGCCAACCTGACT	979	

جدول شماره 2: غلظت مواد واکنش دهنده PCR برای پرایمر اینترگون I، II و III

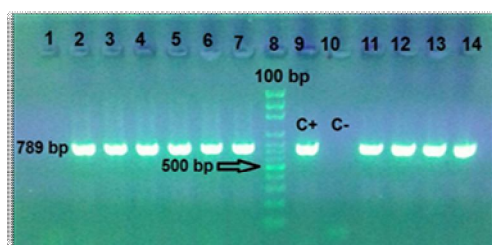
مقدار	ترکیبات
7/5 µL	Sterile deionized water
12/5 µL	Super MasterMix 2X
1 µL	Primer -F (Pmol)
1 µL	Primer -R (10 Pmol)
3 µL	DNA Template
25 µL	FINAL



تصویر شماره 1: الکتروفورز محصولات PCR ژن اینتگرون کلاس I در سویه های شینگلا سونئی
چاهک 8: لدر DNA 100 جفت بازی، چاهک 9: کنترل مثبت سویه چاهک 10: کنترل منفی، به جای نمونه DNA در واکنش PCR از آب مقطر استفاده شد. چاهک های 1-7 و 11-14: سویه های شینگلا مورد بررسی



تصویر شماره 2: الکتروفورز محصولات PCR ژن اینتگرون کلاس I در سویه های سالمونلا
چاهک 5: لدر DNA 100 جفت بازی، چاهک 2: کنترل منفی به جای نمونه DNA در واکنش PCR از آب مقطر استفاده شد، چاهک 3: کنترل مثبت سویه Shigella sonnei ATCC9290، چاهک شماره 1، 4 و 6 سویه های سالمونلا مورد بررسی



تصویر شماره 3: الکتروفورز محصولات PCR ژن اینتگرون کلاس II در سویه های شینگلا سونئی
چاهک 8: لدر DNA 100 جفت بازی، چاهک 9: کنترل مثبت سویه چاهک 10: کنترل منفی، به جای نمونه DNA در واکنش PCR از آب مقطر استفاده شد. چاهک های 2-7 و 11-14: سویه های شینگلا مورد بررسی

7 درصد مشاهده شد. بیشترین میزان حساسیت نسبت به ایمنی پنم (100 درصد) مشاهده شد، بیشترین میزان مقاومت در بین سویه های سالمونلا مربوط به نالیدیکسیک اسید (54 درصد) و کمترین میزان مقاومت در تریمتوپریم سولفاتو کسازول و سفیکسیم (همگی 0 درصد) مشاهده شد (جدول شماره 4).

جدول شماره 4: فراوانی مقاومت و حساسیت آنتی بیوتیکی سویه شینگلا و سالمونلا

نوع آنتی بیوتیک	نوع میکروب	مقاوم تعداد (درصد)	نیمه حساس تعداد (درصد)	حساس تعداد (درصد)
نالیدیکسیک اسید	شینگلا	15 (100)	0	0
تریمتوپریم سولفاتو کسازول	سالمونلا	7 (54)	0	6 (46)
	شینگلا	14 (93)	0	1 (7)
	سالمونلا	0	0	13 (100)
آزیترومایسین	شینگلا	13 (87)	0	2 (13)
	سالمونلا	3 (23)	0	10 (77)
آمی سیلین	شینگلا	11 (73)	0	4 (27)
	سالمونلا	1 (8)	0	12 (92)
سفیکسیم	شینگلا	9 (60)	1 (7)	5 (33)
	سالمونلا	0	0	13 (100)
سفلواکسیم	شینگلا	9 (60)	0	6 (40)
	سالمونلا	6 (146)	0	7 (538)
سفری اکون	شینگلا	9 (40)	2 (13)	4 (27)
	سالمونلا	1 (8)	0	12 (92)
سیروفلو کساین	شینگلا	2 (13)	3 (20)	10 (67)
	سالمونلا	1 (8)	0	12 (92)
جتادابین	شینگلا	1 (7)	1 (7)	13 (86)
	سالمونلا	1 (8)	0	12 (92)
سفتازیدیم	شینگلا	0	5 (334)	10 (666)
	سالمونلا	6 (461)	0	7 (538)
ایمنیم	شینگلا	0	0	15 (100)
	سالمونلا	0	1 (8)	12 (92)

از میان 15 سویه شناسایی شده شینگلا تمامی سویه ها ESBL مثبت بودند. 13 سویه سالمونلا شناسایی شده 7 سویه (53/9 درصد) ESBL مثبت بودند. از میان 15 سویه شینگلا سونئی، 11 سویه (73 درصد) دارای ژن اینتگرون کلاس I بودند و از 13 سویه سالمونلا، 3 سویه (23 درصد) دارای اینتگرون کلاس I بودند که دو سویه مربوط به سالمونلا سرو تایپ C و یک سویه مربوط به سالمونلا سرو تایپ B بود (تصاویر شماره 1 و 2).

از میان 15 سویه شینگلا 14 سویه (93 درصد) دارای اینتگرون کلاس II و 10 سویه (66/7 درصد) به طور همزمان دارای هر دو کلاس اینتگرون I و اینتگرون II بودند (تصویر شماره 3).

CRO: سفتریاکسون، CIP: سیپروفلوکساسین، GM: جنتامایسین، IMI: ایمپی پنم، CAZ: سفنازیدیم
در مورد سویه های سالمونلا الگوهای مقاومت آنتی بیوتیکی مشابهی مشاهده نشد.

بحث

در مطالعه حاضر از 252 نمونه مدفوع جمع آوری شده از کودکان مبتلا به اسهال، 13 سویه (5/1 درصد) سالمونلا و 15 سویه (5/9 درصد) شیگلا شناسایی شدند. از بین این 13 سویه سالمونلا 6 سرو تایپ D (46/1 درصد)، 4 سرو تایپ B (30/8 درصد)، 3 سرو تایپ C (23/1 درصد) بود. 15 سویه (5/9 درصد) نیز شیگلا سونثی بودند. بیشترین میزان مقاومت آنتی بیوتیکی در بین سویه های سالمونلا مربوط به نالیدیکسیک اسید (54 درصد)، سفنازیدیم و سفوتاکسیم هر کدام (46/1 درصد) بود و مقاومت آنتی بیوتیکی نسبت به تریمتوپریم سولفامتوکسازول و سفیکسیم مشاهده نشد. در مطالعه زاده و همکاران، از 1535 بیمار کودک مبتلا به اسهال، 30 بیمار (1/95 درصد) از نظر سالمونلا مثبت بودند (24). در مطالعه حاضر میزان 5/1 درصد سالمونلا جداسازی شد که نسبت به مطالعه زاده و همکاران که 1/95 درصد است، بیش تر می باشد. علت بالا تر بودن میزان سالمونلا احتمالا مربوط به سن کودکان مورد بررسی و محل جغرافیایی تحقیق می باشد. بیشترین مقاومت آنتی بیوتیکی در مطالعه بالا مربوط به نالیدیکسیک اسید (53/3 درصد) و در مطالعه حاضر نیز مربوط به نالیدیکسیک اسید با (54 درصد) بود که نزدیک به یکدیگر می باشد. میزان اینتگرون کلاس I شناسایی شده در مطالعه حاضر (23 درصد) بود که کم تر از مطالعه بالا (36/7 درصد) می باشد (24).

در مطالعه Siourimè و همکاران، بیشترین مقاومت آنتی بیوتیکی در بین تمامی سویه های سالمونلا به تتراسایکلین (55 درصد)، تیکارسیلین (38 درصد)، آموکسی سیلین / کلولاونیک اسید، آموکسی سیلین (36 درصد) و تریمتوپریم سولفامتوکسازول (33 درصد)

هیچ کدام یک از تمامی سویه های شیگلا و سالمونلا دارای اینتگرون کلاس III نبودند. الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی شیگلا و سالمونلا در دو جدول زیر نشان داده شده است (جدول شماره 5 و 6).

جدول شماره 5: الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی شیگلا

الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی									
GM	CIP	CRO	CTX	CFM	AP	ATH	TS	NA	اینترن
-	-	+	+	+	+	+	+	+	I, II
-	-	+	+	+	+	+	+	+	I, II
-	-	+	+	+	+	+	+	+	I, II
-	-	+	+	+	+	+	+	+	I, II
-	-	+	+	+	+	+	+	+	I, II
-	-	+	+	+	+	+	+	+	I, II
-	-	+	+	+	+	+	+	+	I, II
-	-	+	+	+	+	+	+	+	I, II
+	+	+	+	-	+	+	+	+	I, II
-	-	-	-	+	+	+	-	+	I
-	-	-	-	-	+	+	+	+	II
-	-	-	-	-	-	+	+	+	II
-	+	-	-	-	-	+	+	+	II
-	-	-	-	-	-	-	+	+	II

علامت (+) نشان دهنده مقاومت به آنتی بیوتیک می باشد.

علامت (-) نشان دهنده عدم مقاومت به آنتی بیوتیک می باشد.

NA: نالیدیکسیک اسید، TS: تریمتوپریم سولفامتوکسازول، ATH: آزیتروماکسیم، AP: آمپی سیلین، CFM: سفیکسیم، CTX: سفوتاکسیم، CRO: سفتریاکسون، CIP: سیپروفلوکساسین، GM: جنتامایسین.

نمونه های 1 تا 8 در مورد سویه های شیگلا همگی الگوی مقاومت آنتی - بیوتیکی مشابهی از خود نشان دادند و همگی نسبت به آنتی بیوتیک های آمپی سیلین، سفیکسیم، آزیتروماکسیم، نالیدیکسیک اسید، تریمتوپریم سولفامتوکسازول، سفتریاکسون و سفوتاکسیم مقاوم بودند. همچنین تمامی این نمونه های نام برده شده دارای اینتگرون کلاس I و II نیز می باشند.

جدول شماره 6: الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سالمونلا

الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی									
CTX	CAZ	CRO	GM	TS	IMI	CIP	NA	ATH	CFM
+	+	-	+	-	-	+	+	-	-
-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
+	+	+	-	-	-	-	+	+	-
+	+	-	-	-	-	-	+	+	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
+	+	-	-	-	-	-	+	-	-

علامت (+) نشان دهنده مقاومت به آنتی بیوتیک می باشد.

علامت (-) نشان دهنده عدم مقاومت به آنتی بیوتیک می باشد.

NA: نالیدیکسیک اسید، TS: تریمتوپریم سولفامتوکسازول، ATH: آزیتروماکسیم، AP: آمپی سیلین، CFM: سفیکسیم، CTX: سفوتاکسیم،

مشاهده شد (25). در این مطالعه میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی سالمونلا به آمپی‌سیلین (8 درصد) و نسبت به تریمتوپریم سولفامتو کسازول (0 درصد) بود. در هر دو مورد مقاومت آنتی‌بیوتیک در این مطالعه کم‌تر بود. علت تفاوت احتمالا مربوط به تفاوت سن افراد مورد مطالعه و شرایط بهداشتی منطقه جغرافیایی آن‌ها باشد.

در مطالعه Chiyangi و همکارانش بر روی 271 کودک 0-59 ماهه، فراوانی گونه‌های سالمونلا و شیگلا به ترتیب 25/5 و 14/4 درصد بود که از مطالعه حاضر بیش‌تر می‌باشد. سالمونلا تیفی و سالمونلا پاراتیفی B و شیگلا نسبت به آمپی‌سیلین، کوتریموکسازول و استرپتومایسین مقاومت (100 درصد) داشتند (2)، اما در این مطالعه مقاومت به آمپی‌سیلین به ترتیب در سالمونلا و شیگلا 80 و 73 درصد بود. در مطالعه حاضر کودکان 6 ماه تا 5 سال بررسی شدند اما در مطالعه Chiyangi و همکاران کودکان 0-59 ماهه بررسی شدند که نشان دهنده گروه سنی متفاوت است.

در مطالعه مقدم و همکاران، میزان بروز اسهال حاد ناشی از سالمونلا شناسایی شده (8/4 درصد) و بیش‌تر از مطالعه حاضر (5/1 درصد) بود.

میزان اینتگرون کلاس I در مطالعه مقدم و همکاران (93/7 درصد) بیش‌تر از مطالعه حاضر (23 درصد) می‌باشد و در مطالعه مقدم و همکاران، اینتگرون کلاس II و III نیز شناسایی شده است، ولی در مطالعه حاضر شناسایی نشد (26).

در مطالعه امین شهیدی و همکاران، 41 سویه (15/2 درصد) مربوط به شیگلا و 14 سویه (5/2 درصد) مربوط به سالمونلا بود (7). میزان سویه‌های شیگلا جدا شده بیش‌تر از مطالعه حاضر (5/9 درصد) بود، این تفاوت ممکن است مربوط به سن افراد تحت بررسی و نوع تغذیه آن‌ها باشد. میزان سالمونلا شناسایی شده در مطالعه امین شهیدی، به مطالعه حاضر نزدیک بود. در مطالعه مقدم و همکاران، دو سویه شیگلا سونئی و شیگلا فلکسنری شناسایی شده است ولی در مطالعه حاضر فقط سویه شیگلا سونئی شناسایی شد و میزان

مقاومت آنتی‌بیوتیکی شیگلا سونئی نسبت به آمپی‌سیلین در دو مطالعه مشابه اما نسبت به تریمتوپریم سولفامتو کسازول (100 درصد) بود که بیش‌تر از مطالعه حاضر (93 درصد) بود (26).

Gebrekidan و همکارانش در مطالعه‌ای، 15 سویه شیگلا (6/9 درصد) جداسازی کردند. سویه‌های شیگلا به ترتیب 100، 86/7 و 66/7 درصد نسبت به آموکسی‌سیلین، آمپی‌سیلین و کوتریموکسازول مقاومت نشان دادند. کم‌ترین میزان مقاومت به نورو فلو کساسین و سیپروفلوکساسین در هر یک (6/7 درصد) مشاهده شد (27). میزان شیگلا شناسایی شده به این مطالعه نزدیک می‌باشد. اما میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به آمپی‌سیلین (100 درصد) بیش‌تر از مطالعه حاضر و نسبت به سیپروفلوکساسین (6/7 درصد) کم‌تر از مطالعه حاضر بود. بیش‌ترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی در مطالعات مختلف بین سویه‌های شیگلا مربوط به نالیدیکسیک اسید (100 درصد)، تریمتوپریم سولفامتو کسازول (93 درصد) و آزیترومایسین (87 درصد) و بیش‌ترین حساسیت آنتی‌بیوتیکی مربوط به ایمی‌پنم (100 درصد) می‌باشد (7، 24، 26، 27). علت تفاوت در میزان فراوانی سالمونلا و شیگلا می‌تواند به دلیل تفاوت در منطقه جغرافیایی، فصل نمونه‌گیری و شرایط بهداشتی مناطق مختلف باشد.

در مطالعه جمعه زاده و همکاران، 36 سویه (5/1 درصد) شیگلا شناسایی شد. سویه‌های شیگلا در برابر تریمتوپریم سولفامتو کسازول (80/5 درصد)، آمپی‌سیلین (63/8 درصد)، نالیدیکسیک اسید (27/7 درصد) و سفیکسیم (16/6 درصد) مقاومت نشان دادند. نسبت به سیپروفلوکساسین و سفتریاکسون مقاومتی نشان ندادند (28). مقاومت نسبت به سیپروفلوکساسین و سفتریاکسون نسبت به مطالعه حاضر (40 درصد) کم‌تر بود. در مطالعه عباسی و همکاران، 19 سویه (8/2 درصد) شیگلا شناسایی شد. 53 درصد سویه‌های شیگلا ESBL مثبت بودند (29).

در مطالعه دوکی و همکاران، 7 سویه (4/06 درصد) شیگلا و 4 سویه (2/3 درصد) سالمونلا شناسایی شد که نسبت به این مطالعه از شیوع کمتری برخوردار می باشد. تمامی ایزوله های شیگلا نسبت به سیپروفلوکساسین و آمیکاسین (100 درصد) حساس و نسبت به سفیکسیم (100 درصد) مقاوم بودند (30). علت تفاوت حساسیت و مقاومت آنتی بیوتیکی احتمالاً مربوط به سن کودکان، فصل مورد بررسی و نوع تغذیه آنها می باشد. در مطالعه Rathaur و همکاران، 79 سویه (28/2 درصد) شیگلا و 38 سویه (13/6 درصد) سالمونلا شناسایی شد (6) که هر دو سویه بیش تر از مطالعه حاضر بود. در مطالعه Bhattacharya و همکاران، 50 سویه (12/1 درصد) شیگلا شناسایی شد که بیش ترین مقاومت آنتی بیوتیکی مربوط به آمپی سیلین (100 درصد)، نالیدیکسیک اسید (96 درصد)، تتراسایکلین (94 درصد) و سیپروفلوکساسین (82 درصد) بود (31).

در مطالعه Bhattacharya فراوانی شیگلا بیش تر از مطالعه حاضر می باشد. مقاومت آنتی بیوتیکی به ترتیب در مورد آمپی سیلین، بیش تر از مطالعه حاضر، نالیدیکسیک اسید کم تر از مطالعه حاضر و سیپروفلوکساسین بیش تر از مطالعه حاضر می باشد. علت تفاوت در مقاومت آنتی بیوتیکی در مطالعات مختلف می تواند به خاطر منطقه جغرافیایی مختلف، مصرف بی رویه آنتی بیوتیک، پراکندگی نوع سویه های شیگلا و سالمونلا باشد.

در مطالعه افتخاری و همکاران، 32 سویه (4/5 درصد) شیگلا شناسایی شد که 13 سویه (40/6 درصد) دارای اینتگرون کلاس I و 25 سویه (78/12 درصد) دارای اینتگرون کلاس II بودند (32).

در مطالعه افتخاری و همکاران، میزان شیگلا شناسایی شده، اینتگرون کلاس I و II کم تر از مطالعه حاضر است (32). در مطالعه زمانلو و همکاران، 77 سویه (54/2 درصد) شیگلا سونتی بود که 98/7 درصد سویه های شیگلا سونتی ESBL مثبت بودند (33). در مطالعه رنجبر و همکاران، 138 سویه (6/2 درصد) سالمونلا شناسایی

شد و 29 درصد از سویه های سالمونلا شناسایی شده ESBL مثبت بودند (34).

در مطالعه Yang و همکاران بر روی 153 سویه شیگلا، 28/8 درصد از سویه های شیگلا حاوی اینتگرون کلاس I، 7/1 درصد دارای اینتگرون کلاس II و 64 درصد دارای هر دو کلاس اینتگرون بودند (35). در مطالعه Yang میزان اینتگرون کلاس I و II کم تر از مطالعه حاضر می باشد و حضور همزمان اینتگرون کلاس I و II در مطالعه Yang (64 درصد) و در مطالعه حاضر (66/7 درصد) می باشد. در مطالعه Akinyemi و همکاران بر روی 40 سویه سالمونلا، فراوانی سویه های تولید کننده ESBL، 40 درصد گزارش شد (36). در مطالعه Zhang و همکاران بر روی 356 سویه شیگلا، 140 سویه (39/3 درصد) شیگلا سونتی بود. فراوانی سویه های تولید کننده ESBL در شیگلا سونتی 92 درصد شناسایی شد (37).

در مقایسه ESBL در مطالعه حاضر با مطالعات بالا می توان این نتیجه را گرفت که سویه های شیگلا تولید کننده ESBL نسبت به سویه های سالمونلا تولید کننده ESBL فراوانی بیش تری دارند و با مقاومت آنتی بیوتیکی شیگلا که نسبت به سالمونلا بیش تر می باشد، مطابقت دارد. ژن های اینتگرون شناسایی شده در این مطالعه همانند مطالعات دیگر بود. اینتگرون کلاس I در مورد سالمونلا نسبت به کلاس II و III بیش تر شناسایی شد (24، 26). در مورد شیگلا نیز اینتگرون کلاس II همانند مطالعات دیگر بیش تر از اینتگرون کلاس I شناسایی شده است (32، 35). اینتگرون کلاس III نیز مشابه مطالعات دیگر در سالمونلا و شیگلا شناسایی نشد.

فراوانی سویه های شیگلا و سالمونلا تولید کننده ESBL در مطالعه حاضر در مقایسه با مطالعات دیگر بدین گونه بود که در مورد شیگلا در مطالعات دیگر همانند مطالعه حاضر سویه های تولید کننده ESBL درصد فراوانی زیادی دارند (33، 37) ولی سویه های سالمونلا کم تر ESBL تولید می کنند (34، 38).

در مطالعه نموده فراهانی و همکاران در تهران 7 درصد نمونه‌های مطالعه از نظر شیگلا و 8/9 درصد نمونه‌ها از نظر سالمونلا مثبت گزارش شد و بیشترین سروتایپ سالمونلا سروتایپ D همانند مطالعه ما بود، ولی با وجود فرم غالب شیگلا در مطالعه آن‌ها که سونتی (60/8 درصد) بوده است فرم فلکسنری، نیز در 39/2 درصد برخلاف مطالعه ما گزارش شد که به ترتیب 31 و 35/7 درصد گونه‌های شیگلای این مطالعه ESBL، مثبت گزارش شد و در این مطالعه نیز همانند مطالعه ما، سویه‌های شیگلا تولیدکننده ESBL نسبت به سویه‌های سالمونلای تولیدکننده ESBL از فراوانی بیش‌تری برخوردار بودند (38).

در خصوص ژن مقاومت آنتی‌بیوتیکی در یک مطالعه اشاره شد که این ژن وابسته به سن، از کودکی تا بزرگسالی در میکروبیوتای روده ای تجمع می‌یابد و لذا روده انسان، مخزن ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی است و این مسئله، بیانگر ارتباط تفاوت مقاومت آنتی‌بیوتیکی با سن افراد می‌باشد (39).

نتایج مطالعه نشان داد که فراوانی آلودگی به شیگلا و همچنین مقاومت آنتی‌بیوتیکی گونه‌های آن‌ها بیش‌تر از سالمونلا در کودکان مبتلا به اسهال حاد است. همچنین بر اساس نتایج مطالعه فراوانی سالمونلا و شیگلا در این

مطالعه نسبت به مطالعات دیگر کم‌تر می‌باشد و بیش‌ترین سروتایپ جدا شده در سالمونلا مربوط به سروتایپ D و در مورد شیگلا نیز گونه شیگلا سونتی غالب بوده است. درمورد مقاومت آنتی‌بیوتیکی نیز سویه‌های سالمونلا شناسایی شده در این مطالعه نسبت به مطالعات دیگر مقاومت آنتی‌بیوتیکی کم‌تری را نشان دادند. در مورد شیگلا نیز مقاومت آنتی‌بیوتیکی در این مطالعه نسبت به مطالعات دیگر تفاوت چندانی نداشت. از محدودیت‌های مطالعه، تعداد کم نمونه‌ها بود و پیشنهاد می‌شود مطالعه‌ای با تعداد نمونه بیش‌تر و با تعیین انواع ژن‌های بتالاکتاماز با روش PCR صورت پذیرد.

با توجه به میزان بالای مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین سویه‌های شیگلا و همچنین شیوع بالای اینتگرین‌های کلاس I و II در بین این سویه‌ها، شناسایی درست این پاتوژن و انجام آنتی‌بیوگرام می‌تواند به انتخاب درست آنتی‌بیوتیک‌ها در مدیریت درمان کودکان مبتلا به اسهال کمک کننده باشد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی بابل و همچنین آقای مقدار باقری و خانم آییناز خادمیان تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

- Guerrant RL, Van Gilder T, Steiner TS, Thielman NM, Slutsker L, Tauxe RV, et al. Practice guidelines for the management of infectious diarrhea. Clin Infect Dis 2001; 32(3): 331-351.
- Chiyangi H, Muma JB, Malama S, Manyahi J, Abade A, Kwenda G, et al. Identification and antimicrobial resistance patterns of bacterial enteropathogens from children aged 0-59 months at the University Teaching Hospital, Lusaka, Zambia: a prospective cross sectional study. BMC Infect Dis 2017; 17(1): 117.
- Sack RB, Rahman M, Yunus M, Khan EH. Antimicrobial resistance in organisms causing diarrheal disease. Clinical Infect Dis 1997; 24(Suppl,1): S102-S105.
- Koletzko S, Osterrieder S. Acute infectious diarrhea in children. Dtsch Arztebl Int 2009; 106(33): 539-547.
- Kolahi AA, NABAVI M, Sohrabi MR. Epidemiology of acute diarrheal diseases among children under 5 years of age in Tehran, Iran. Iran J Clin Infect Dis 2008; 3(4): 193-198 (Persian).

6. Rathaur VK, Pathania M, Jayara A, Yadav N. Clinical study of acute childhood diarrhoea caused by bacterial enteropathogens. *J Clin Diagn Res* 2014; 8(5): PC01-PC05.
7. Aminshahidi M, Arastehfar A, Pouladfar G, Arman E, Fani F. Diarrheagenic *Escherichia coli* and *Shigella* with high rate of extended-spectrum Beta-lactamase production: two predominant etiological agents of acute diarrhea in Shiraz, Iran. *Microb Drug Resist* 2017; 23(8): 1037-1044.
8. Whyte LA, Jenkins H. Pathophysiology of diarrhoea. *Pathophysiol Child Health* 2012; 22(10): 443-447.
9. Marteyn B, Gazi A, Sansonetti P. *Shigella*: a model of virulence regulation in vivo. *Gut Microbes* 2012; 3(2): 104-120.
10. Dekker JP, Frank KM. *Salmonella*, *Shigella*, and *Yersinia*. *Clin Lab Med* 2015; 35(2): 225-246.
11. Eng SK, Pusparajah P, Ab Mutalib NS, Ser HL, Chan KG, Lee LH. *Salmonella*: a review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance. *Frontier Life Sci* 2015; 8(3): 284-293.
12. Brenner FW, Villar RG, Angulo FJ, Tauxe R, Swaminathan B. *Salmonella* nomenclature. *J Clin Microbiol* 2000; 38(7): 2465-2467.
13. Avakh Majalan P, Hajizade A, Nazarian S, Pourmand MR, Amiri Siyavoshani K. Investigation the prevalence of *Shigella* species and their antibiotic resistance pattern in children with acute diarrhea referred to selected hospitals in Tehran, Iran. *J Appl Biotechnol Rep* 2018; 5(2): 70-74 (Persian).
14. Tjaniadi P, Lesmana M, Subekti D, Machpud N, Komalarini S, Santoso W, et al. Antimicrobial resistance of bacterial pathogens associated with diarrheal patients in Indonesia. *Am J Trop Med Hyg* 2003; 68(6): 666-670.
15. Mandomando I, Jaintilal D, Pons MJ, Vallès X, Espasa M, Mensa L, et al. Antimicrobial susceptibility and mechanisms of resistance in *Shigella* and *Salmonella* isolates from children under five years of age with diarrhea in rural Mozambique. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53(6): 2450-2454.
16. AlAmri AM. Integron in Gram negative bacteria: Classes and fitness cost. *Asian J Med Sci* 2017; 8(6): 1-4.
17. Pormohammad A, Pouriran R, Azimi H, Goudarzi M. Prevalence of integron classes in Gram-negative clinical isolated bacteria in Iran: a systematic review and meta-analysis. *Iran J Basic Med Sci* 2019; 22(2): 118-127.
18. Bagheri-Nesami M, Rafiei A, Eslami G, Ahangarkani F, Rezai MS, Nikkhah A, et al. Assessment of extended-spectrum β -lactamases and integrons among *Enterobacteriaceae* in device-associated infections: multicenter study in north of Iran. *Antimicrob Resist Infect Control* 2016; 5: 52.
19. 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. *Proceed Nation Acad Sci (PNAS)* 2001; 98(2): 652-657.
20. Bado I, Cordeiro NF, Robino L, García-Fulgueiras V, Seija V, Bazet C, et al. Detection of class 1 and 2 integrons, extended-spectrum β -lactamases and *qnr* alleles in enterobacterial isolates from the digestive tract of Intensive Care Unit inpatients. *Int J Antimicrob Agent* 2010; 36(5): 453-458.
21. Fallah F, Hakemi Vala M, Hashemi A, Shams S. Emergence of Novel Plasmid-mediated Beta-lactamase in *Klebsiella pneumoniae*. *Qom Univ Med Sci J* 2012; 6(4): 104-116 (Persian).

22. Poirel L, Hombrouck-Alet C, Freneaux C, Bernabeu S. Patrice Nordmann Global spread of New Delhi metallo-beta-lactamase-1. *Lancet Infect Dis* 2010; 10(12): 832.
23. Corona A, Bertolini G, Lipman J, Wilson AP, Singer M. Antibiotic use and impact on outcome from bacteraemic critical illness: the BActeraemia Study in Intensive Care (BASIC). *J Antimicrob Chemother* 2010; 65(6): 1276-1285.
24. Zadeh SHE, Fahimi H, Fardsanei F, Mehdi M, Dallal S. Antimicrobial Resistance and Presence of Class 1 Integrons Among Different Serotypes of Salmonella spp. Recovered From Children With Diarrhea In Tehran, Iran. *Infect Disord Drug Targets* 2020; 20(2): 160-166.
25. Siourimè SN, Isidore BOJ, Oumar T, Nestor BIH, Yves T, Nicolas B, et al. Serotyping and antimicrobial drug resistance of Salmonella isolated from lettuce and human diarrhea samples in Burkina Faso. *Afr J Infect Dis* 2017; 11(2): 24-30.
26. Moghadam A, Nazarian S. Evaluation of class 1, 2 and 3 integrons in clinical Salmonella enteritidis strains by PCR method. *Jorjani Biomed J* 2018; 5(2): 1-10 (Persian).
27. Gebrekidan A, Dejene TA, Kahsay G, Wasihun AG. Prevalence and antimicrobial susceptibility patterns of Shigella among acute diarrheal outpatients in Mekelle hospital, Northern Ethiopia. *BMC Res Notes* 2015; 8(1): 611.
28. Jomezadeh N, Babamoradi S, Kalantar E, Javaherizadeh H. Isolation and antibiotic susceptibility of Shigella species from stool samples among hospitalized children in Abadan, Iran. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench* 2014; 7(4): 218-223.
29. Abbasi E, Abtahi H, van Belkum A, Ghaznavi-Rad E. Multidrug-resistant Shigella infection in pediatric patients with diarrhea from central Iran. *Infect Drug Resist* 2019; 12: 1535-1544.
30. Eslami Dooki MR, Rajabnia R, Barari Sawadkahi R, Mosaiebnia Gatabi Z, Poornasrollah M, Mirzapour M. Bacterial enteropathogens and antimicrobial susceptibility in children with acute diarrhea in Babol, Iran. *Caspian J Intern Med* 2014; 5(1): 30-34 (Persian).
31. Bhattacharya D, Sugunan A, Bhattacharjee H, Thamizhmani R, Sayi D, Thanasekaran K, et al. Antimicrobial resistance in Shigella-rapid increase & widening of spectrum in Andaman Islands, India. *Indian J Med Res* 2012; 135(3): 365-370.
32. Eftekhari N, Bakhshi B, Pourshafie MR, Zarbakhsh B, Rahbar M, Hajia M, et al. Genetic diversity of Shigella spp. and their integron content. *Foodborne pathogens Dis* 2013; 10(3): 237-242.
33. Zamanlou S, Ahangarzadeh Rezaee M, Aghazadeh M, Ghotaslou R, Babaie F, Khalili Y. Characterization of integrons, extended-spectrum β -lactamases, AmpC cephalosporinase, quinolone resistance, and molecular typing of Shigella spp. from Iran. *Infect Dis* 2018; 50(8): 616-624.
34. Ranjbar R, Ardashiri M, Samadi S, Afshar D. Distribution of extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) among Salmonella serogroups isolated from pediatric patients. *Iran J Microbiol* 2018; 10(5): 294-299.
35. Yang H, Pan Y, Hu L, Liu Y, Ye Y, Cheng J, et al. Antimicrobial resistance patterns and characterization of integrons in clinical isolates of Shigella from China. *Can J Microbiol* 2014; 60(4): 237-242.
36. Akinyemi KO, Iwalokun BA, Oyefolu AOB, Fakorede CO. Occurrence of extended-spectrum and AmpC β -lactamases in multiple

- drug resistant *Salmonella* isolates from clinical samples in Lagos, Nigeria. *Infect Drug Resist* 2017; 10: 19.
37. Zhang C-L, Liu Q-Z, Wang J, Chu X, Shen L-M, Guo Y-Y. Epidemic and virulence characteristic of *Shigella* spp. with extended-spectrum cephalosporin resistance in Xiaoshan District, Hangzhou, China. *BMC Infect Dis* 2014; 14(1): 260.
38. Nodeh Farahani N, Masjedian Jazi F, Nikmanesh B, Asadolahi P, Sadeghi Kalani B, Amirmozafari N. Prevalence and Antibiotic Susceptibility Patterns of *Salmonella* and *Shigella* Species Isolated from Pediatric Diarrhea in Tehran, *Arch Pediatr Infect Dis* 2018; 6(4): e57328 (Persian).
39. Lu N, Hu Y, Zhu L, Yang X, Yin Y, Lei F, Zhu Y, Du Q, Wang X, Meng Z, Zhu B. DNA microarray analysis reveals that antibiotic resistance-gene diversity in human gut microbiota is age related. *Sci Rep* 2014; 4(1): 1-5.