Jundishapur
Journal of Medical Sciences

September & October 2022. Vol 21. No 4

Research Paper

# Prevalence of Class I, II and III Integrons in Uropathogenic *Escherichia Coli* Strains Isolated from Patients with Urinary Tract Infection in Shiraz, Iran

**Fatemeh Fathpoor[1], *Afsoon Shariat[2]**

1 Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran.
2 Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran.

Use your device to scan and read the article online

Citation Fathpoor F, & Shariat A. [Prevalence of Class I, II and III Integrons in Uropathogenic Escherichia Coli Strains Isolated from Patients with Urinary Tract Infection in Shiraz, Iran (Persian)]. Jundishapur Journal of Medical Sciences. 2022; 21(4):500-513. https://doi.org/10.32598/JSMJ.21.4.2384

https://doi.org/10.32598/JSMJ.21.4.2384

CC BY NC

## ABSTRACT

**Background and Objectives** Transfer of antibiotic resistance genes by integrons is the main cause of drug-resistant bacteria. This study aims to evaluate the prevalence of class I, II, and III integrons among uropathogenic Escherichia Coli (UPEC) strains isolated from patients with Urinary tract infection (UTI).

**Subjects and Methods** This cross-sectional study was carried out on 50 UPEC strains isolated from patients with UTI referred to hospitals in Shiraz, Iran in 2020. Antibiotic susceptibility pattern was evaluated by the disk diffusion susceptibility test. Then, the prevalence of class 1 to 3 integrons in the isolates was investigated by the polymerase chain reaction test. Data were statistically analyzed in SPSS software using chi-square test. $P \leq 0.05$ was statistically significant.

**Results** 42% of isolates had multi-drug resistance. The highest antibiotic resistance and sensitivity were related to trimethoprim/sulfamethoxazole (52%) and gentamicin (90%), respectively. There was a significant relationship between the presence of class I integron and resistance to amikacin and ciprofloxacin, between the presence of class II integron and resistance to gentamicin, and between the presence of class III integron and resistance to trimethoprim/sulfamethoxazole and nalidixic acid ($P<0.05$).

**Conclusion** There is a significant association between the presence of class I, II and III integrons and antibiotic resistance in UPEC strains isolated from patients with UTI. Infection control measures and suitable treatment methods are needed for preventing the spread of these isolates in the hospitals and health centers in Shiraz city.

**Keywords** *Escherichia coli*, Integrons, Urinary tract infection, Shiraz

**Received:** 01 Feb 2021
**Accepted:** 22 Jun 2021
**Available Online:** 23 Sep 2022

***Corresponding Author:***
**Afsoon Shariat, Assistant Professor.**
**Address:** Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran.
**Tel:** +98 (714) 2243930-40
**E-Mail:** afsoonsh1980@yahoo.com

## Extended Abstract

### Introduction

Urinary tract infection (UTI) is one of the most common bacterial infections worldwide [1]. Gram-negative bacilli are the most common etiological agents of UTIs. *Escherichia coli* (*E.coli*) is the most predominant pathogen causing 80% of UTIs [1]. This pathogen acquires antibiotic resistance factors through chromosomal mutations, transposable plasmids, transposons, and integrons [4, 5]. Integrons play a major role in spreading antibiotic resistance factors in these bacteria. Integrons are mobile genetic elements that transfer and express the genes in their gene cassette by entering the bacterial plasmid and chromosome [7]. In these bacteria, different classes of integrons can be found , but three types of classes I, II, and III, are more common. Class 1 and II integrons are found in many gram-negative bacteria. Class 3 integrons is less common [7]. According to the role of *E. coli* in UTIs, the increased antibiotic resistance in this bacterium, and the importance of integrons in spreading antibiotic-resistant genes, this study aims to evaluate the frequency of class I, II, and III integrons among uropathogenic *E. coli* (UPEC) strains isolated from patients with UTI.

### Methods

This descriptive cross-sectional study was performed for 5 months (from April to August 2020) on 50 UPEC isolates collected from patients with UTI aged 1-86 years referred to hospitals and health centers in Shiraz, Iran. All samples were cultured on eosin methylene blue agar and MacConkey agar plates. One colony from each sample with a typical *E.coli* morphology was recovered by standard biochemical tests (triple sugar iron, sulfide indole motility, methyl red/voges-proskauer, citrate, urea, oxidase, catalase). Antimicrobial susceptibility of all isolates was then determined using the Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test according to the guidelines of Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). After DNA extraction, the presence of class 1 to 3 integrons in all *E.coli* isolates was tested by polymerase chain reaction (PCR) method using specific primers at a reaction mixture volume of 25 µL containing 7.5 µL distilled water, 12.5 µL master mix, 1 µL of each primer, and 3 µL of template DNA. The PCR products were separated by electrophoresis on 2% agarose gel in TBE buffer. The ATCC 25922 strain was used as a control positive. A tube containing PCR product without any DNA template was used as a negative control. Statistical analyses were performed in SPSS software, version 23, using chi-square test. The significance level was set at 0.05.

### Results

The highest resistance was observed to trimethoprim-sulfamethoxazole (52%), nalidixic acid (44%), cefixime (34%), and ceftriaxone (34%) antibiotics. In addition, the highest sensitivity belonged to the gentamicin (90%), amikacin (80%), and nitrofurantoin (76%) isolates (Figure 1). Twenty-one isolates (42%) showed resistance to more than two classes of antibiotics such that these iso-

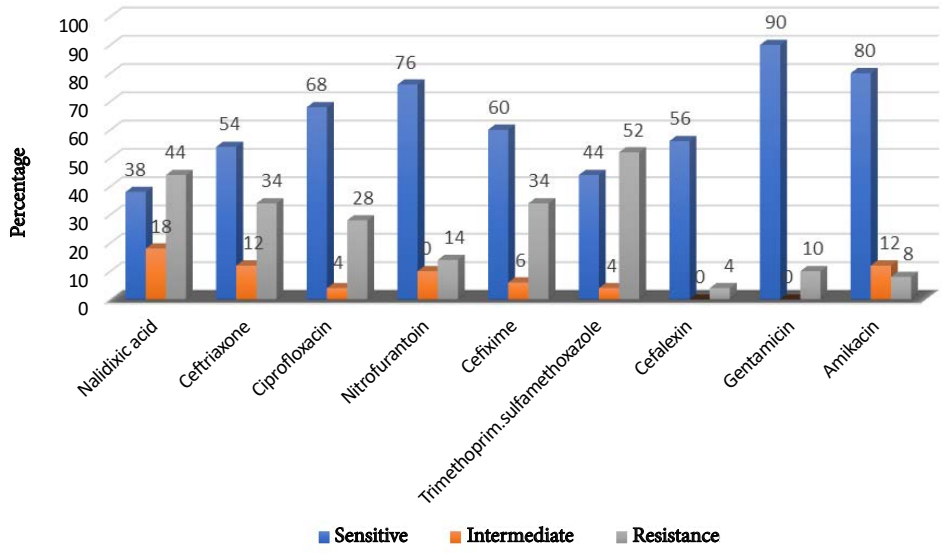
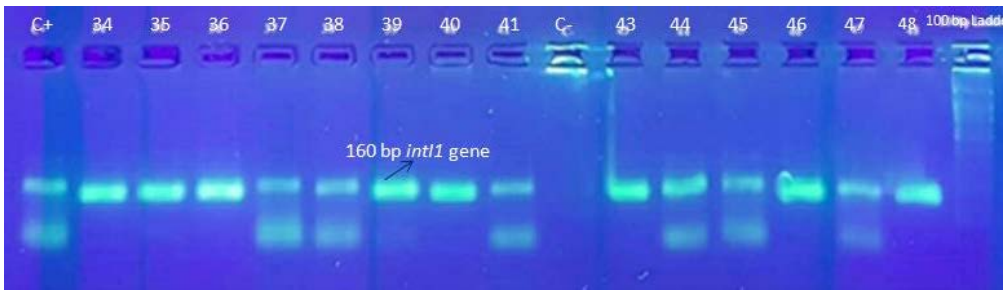



**Figure 1.** Antimicrobial resistance pattern of *E.coli* isolates




Jundishapur
Journal of Medical Sciences

**Figure 2.** Electrophoresis of PCR product on agarose gel for integron class I (160 bp). Lane C+: Positive control (*E.coli* ATCC 25922 strain); Lanes 34-41 and 43-48: The strains with integron class I; Lane C-: Negative control; Last lane: 100 bp DNA ladder.

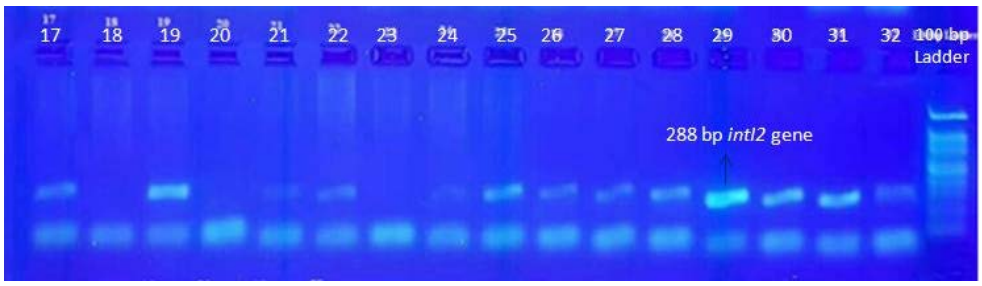



Figure 3. Electrophoresis of PCR product on agarose gel for integron class II (288 bp)
Lanes 17, 19, 22, 25-32 show the UPEC strains with integron class II; Last lane: 100 bp DNA ladder.

Jundishapur
Journal of Medical Sciences

lates were resistant to the antibiotic classes of quinolones, first- and third-generation cephalosporins, sulfonamides, and aminoglycosides. The integron classes I, II and III were detected in 92% (n=46), 64% (n=32), and 10% (n=5) isolates, respectively (Figures 2, 3, 4). The class I and II integrons were highly detected in the UPEC strain, possibly playing a role in the drug resistance. A significant correlation was revealed between class 1 integron and resistance to amikacin (P=0.04), and ciprofloxacin (P=0.04), and also between class 2 integron and resistance to gentamicin (P=0.03). In addition, a significant relationship was observed between class III integron and resistance to nalidixic acid (P=0.03), and trimethoprim-sulfamethoxazole (P=0.03).

## Conclusion

In this study, out of 50 *E.coli* isolates, 21(42%) were designated as multi-drug resistant. The highest rate of resistance belonged to trimethoprim-sulfamethoxazole (52%) and nalidixic acid (44%). Gentamicin, amikacin and nitrofurantoin antibiotics were the most effective drugs in the treatment of UTI caused by *E.coli* strains. The prevalence of class I, II, and III integrons was 92%, 64%, and 10%, respectively. A significant correlation was observed between the presence of class I, II and III integrons and resistance to the ciprofloxacin, amikacin, gentamicin, nalidixic acid, and trimethoprim-sulfamethoxazole antibiotics (P<0.05). Therefore, considering the existence of a significant relationship between the presence of integrons

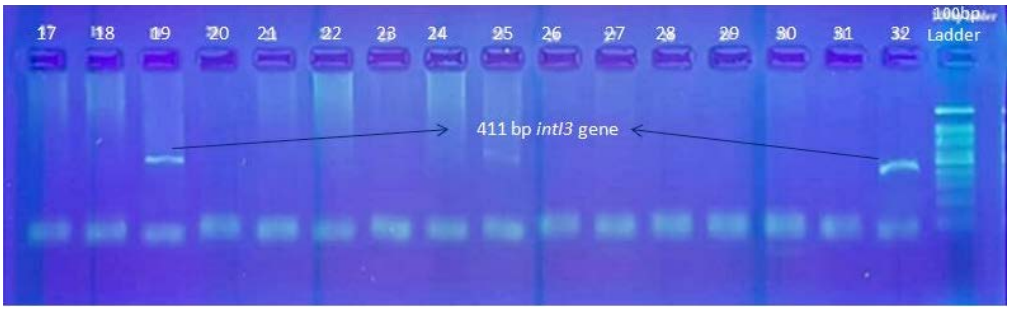



**Figure 4.** Electrophoresis of PCR product on agarose gel for integron class III (411 bp)
Lanes 19-32: The UPEC strains with integron class III; Last lane: 100 bp DNA ladder.

Jundishapur
Journal of Medical Sciences

and drug resistance, the detection of integron-producing E.coli isolates and determining their antibiotic resistance pattern can be effective in reducing the infection rate caused by this bacterium and prevent the spread of drug-resistant bacterial strains. in hospitals and health centers in Shiraz city.

## Ethical Considerations

### Compliance with ethical guidelines

This study was approved by the ethics committee of Islamic Azad University of Kazerun Branch (Code: IR.IAUKAU.REC.1399.032).

### Funding

This study was extracted from a research project for Islamic Azad University of Kazerun Branch. This research received no specific grant from any funding agency in the public, commercial, or not-for-profit sectorsg.

### Authors contributions

Conceptualization and Supervision: Afsoon Shariat; Methodology, Investigation, writing original draft, review & editing, and Resources: Afsoon Shariat, and Fatemeh Fathpoor.

### Conflicts of interest

The authors declared no conflict of interest.

### Acknowledgements

The authors would like to thank the cooperation of experts in microbiology laboratories of hospitals in Shiraz city.

This Page Intentionally Left Blank

مجله علمی پزشکی
جندی شاپور
مهر و آبان ۱۴۰۱. دوره ۲۱. شماره ۴

## مقاله پژوهشی

# ارزیابی شیوع اینتگرون‌های کلاس یک، دو و سه در سویه‌های اشریشیاکلی یوروپاتوژنیک جداشده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری در شیراز

فاطمه فتح پور[۱]، *افسون شریعت[۲]

۱. گروه میکروب شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران.
۲. گروه میکروب شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران.

Use your device to scan and read the article online

Citation Fathpoor F & Shariat A. [Evaluating the Prevalence of Class I, II and III Integrons in Uropathogenic Escherichia coli Strains Isolated from Patients with Urinary Tract Infection in South of Iran (Persian)] Jundishapur Journal of Medical Sciences. 2022; 21(4):500-513. https://doi.org/10.32598/JSMJ.21.4.2384

https://doi.org/10.32598/JSMJ.21.4.2384

CC BY NC

## چکیده

**زمینه و هدف** انتقال ژن‌های مقاومت دارویی به‌واسطه اینتگرون‌ها، عامل اصلی ایجاد گونه‌های مقاوم به درمان است. هدف از این پژوهش، ارزیابی فراوانی اینتگرون‌های کلاس ۱، ۲ و ۳ در سویه‌های اشریشیاکلی یوروپاتوژنیک جداشده از بیماران با عفونت دستگاه ادراری مراجعه‌کننده به بیمارستان‌های شیراز می‌باشد.

**روش بررسی** این مطالعه توصیفی‌مقطعی بر روی ۵۰ سویه اشریشیاکلی جداشده از نمونه‌های عفونت ادراری در بیمارستان‌های شیراز در سال ۱۳۹۹ انجام شد. الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها به‌روش دیسک دیفیوژن انجام شد. سپس توسط روش واکنش زنجیره پلیمرازی میزان شیوع اینتگرون‌های کلاس ۱ تا ۳ در ایزوله‌ها بررسی شد. یافته‌ها با نرم‌افزار SPSS و آزمون کای‌اسکوئر ازنظر آماری تجزیه‌وتحلیل شدند. مقادیر کمتر از ۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شد.

**یافته‌ها** مقاومت چندگانه دارویی در ۴۲ درصد از ایزوله‌ها وجود داشت. به‌ترتیب بیشترین مقاومت و حساسیت آنتی‌بیوتیکی به تری متوپریم سولفامتوکسازول (۵۲ درصد) و جنتامایسین (۹۰ درصد) دیده شد. بین حضور اینتگرون کلاس ۱ با مقاومت به آمیکاسین و سیپروفلوکساسین، شیوع اینتگرون کلاس ۲ با مقاومت به جنتامایسین و وجود اینتگرون کلاس ۳ با مقاومت به تری متوپریم-سولفامتوکسازول و نالیدیکسیک اسید ارتباط معنادار آماری وجود داشت (P<۰/۰۵).

**نتیجه‌گیری** به‌دلیل وجود ارتباط معنادار بین حضور اینتگرون‌های کلاس ۱، ۲ و ۳ و مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سویه‌های اشریشیاکلی یوروپاتوژنیک جداشده از بیمارستان‌های شیراز، کنترل عفونت و درمان مناسب در بیمارستان‌ها جهت پیشگیری از انتقال این ایزوله‌ها ضروری می‌باشد.

**کلیدواژه‌ها** اشریشیاکلی، اینتگرون‌ها، عفونت ادراری، شیراز

تاریخ دریافت: ۱۳ بهمن ۱۳۹۹
تاریخ پذیرش: ۰۱ تیر ۱۴۰۰
تاریخ انتشار: ۰۱ مهر ۱۴۰۱

* نویسنده مسئول:
افسون شریعت
نشانی: کازرون،دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کازرون، دانشکده علوم پایه، گروه میکروب شناسی.
تلفن: ۴۰-۲۲۴۳۹۳۰ (۷۱۴) ۹۸+
رایانامه: afsoonsh1980@yahoo.com

## مقدمه

عفونت ادراری در سنین مختلف رخ می‌دهد و درمان نادرست آن می‌تواند منجر به بروز عوارض خطرناکی مانند اختلالات دستگاه ادراری، فشار خون، افزایش اوره در خون و زایمان زودرس در زنان باردار شود [۱]. باسیل‌های گرم منفی به‌عنوان شایع‌ترین عوامل اتیولوژیک عفونت‌های مجاری ادراری است و در بین آن‌ها، باکتری اشریشیاکلی[1] بیش از ۸۰ درصد موارد عفونت‌های دستگاه ادراری را تشکیل می‌دهد [۱]. اشریشیاکلی یوروپاتوژنیک شایع‌ترین عامل عفونت مجاری ادراری در هر دو جنس زن و مرد در تمام گروه‌های سنی محسوب می‌شود [۱]. زنان به‌دلیل داشتن میزراه کوتاه و پهن، بیشتر از مردان مستعد ابتلا به عفونت‌های ادراری هستند و در طول زندگی خود حداقل یک بار این عفونت را تجربه می‌کنند [۲، ۳]. باکتری به‌واسطه جهش‌های کروموزومی، پلاسمیدهای قابل انتقال، ترانسپوزون‌ها و اینتگرون‌ها فاکتورهای مقاومت به آنتی‌بیوتیک را کسب می‌کند [۴، ۵].

مطالعات اخیر نشان می‌دهد اینتگرون‌ها نقش برجسته‌تری در انتشار فاکتورهای مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها در باکتری‌ها دارند [۶]. اینتگرون‌ها عناصر ژنتیکی متحرکی هستند که با وارد شدن به داخل پلاسمید و کروموزوم باکتریایی، ژن‌های موجود در کاست ژنی خود را منتقل و بیان می‌کنند [۷]. در باکتری‌ها کلاس‌های اینتگرونی مختلفی براساس ژن کدکننده اینتگراز شناسایی شده‌اند، اما ۳ نوع آن شامل کلاس‌های ۱، ۲ و ۳ شایع‌تر می‌باشند [۷]، به‌طوری‌که در پژوهشی که رنجبران و همکاران در سال ۲۰۱۳ در اراک انجام دادند، به‌ترتیب ۸۶ و ۸ درصد ایزوله‌های اشریشیاکلی دارای اینتگرون‌های کلاس ۱ و ۲ بودند [۸]. همچنین در تحقیقی که وزیری و همکاران در سال ۲۰۱۷ در کرمانشاه انجام دادند، میزان شیوع اینتگرون‌های کلاس ۱ و ۲ را در اشریشیاکلی یوروپاتوژنیک به‌ترتیب ۷۲ و ۳ درصد عنوان کردند [۹].

طی مطالعات جداگانه‌ای، اسلامی و همکاران در سال ۲۰۱۰، لواخمسه و همکاران در سال ۲۰۱۵، خرم‌روز و همکاران در سال ۲۰۱۶ و میرنظامی و همکاران در سال ۲۰۲۰ نشان دادند شیوع اینتگرون‌ها در مقاومت ایزوله‌های اشریشیاکلی به آنتی‌بیوتیک‌های کوتریموکسازول، نالیدیکسیک اسید، آمپی سیلین، سیپروفلوکساسین و جنتامایسین نقش بسزایی دارند [۱۰-۱۳]. بدین ترتیب باتوجه‌به افزایش میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی در اشریشیاکلی یوروپاتوژنیک و ارتباط بین حضور اینتگرون‌ها و بروز مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های باکتریایی، هدف از این مطالعه ارزیابی شیوع ژن‌های اینتگرون‌های[2] کلاس ۱، ۲ و ۳ و ارتباط آن‌ها با مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سویه‌های اشریشیاکلی جداشده از بیماران مبتلا به عفونت‌های ادراری در برخی بیمارستان‌های شیراز بود.

## روش بررسی

### جمع‌آوری نمونه و شناسایی سویه‌های باکتریایی

در مطالعه توصیفی‌مقطعی حاضر، ۵۰ پلیت کشت ادراری از بیماران مبتلا به عفونت ادراری ارجاع داده‌شده به برخی بیمارستان‌ها و آزمایشگاه‌های شهر شیراز (بیمارستان‌های ام آر آی، قلب الزهرا، شهید دوران، کوثر و آزمایشگاه‌های پیوند، نشاط، فرزانگان و درمانگاه محمد رسول‌الله (ص)) در یک بازه زمانی ۵ ماهه (فروردین الی مرداد ماه) در سال ۱۳۹۹ جمع‌آوری شد. در این بررسی تنها پلیت‌های کشت ادراری بیمارانی که عامل عفونت ادراری آن‌ها اشریشیاکلی گزارش شده بود، انتخاب شدند.

جوان‌ترین و مسن‌ترین بیماران در این پژوهش، به‌ترتیب ۱ و ۸۶ سال سن داشتند (با میانگین سنی ۳۹/۰۶) و اکثر نمونه‌ها در رده سنی ۳۱ تا ۴۰ سال بودند. معیارهای ورود به مطالعه شامل بیماران سرپایی فاقد بیماری زمینه‌ای همراه با علائم شایع عفونت ادراری مانند تکرر ادرار، احساس پر بودن مثانه اما دفع اندک ادرار، سوزش ادرار، درد لگن و ادرار بد بو بودند. معیارهای خروج از مطالعه شامل داشتن بیماری‌های زمینه‌ای و دریافت آنتی‌بیوتیک طی ۲ هفته قبل از شروع مطالعه بود. جهت نمونه‌گیری از بیماران با تنوع گروه‌های سنی، انتخاب افراد فاقد بیماری‌های زمینه‌ای و به منظور دستیابی به سویه‌های متنوع باکتریایی از بیمارستان‌های مختلف و آزمایشگاه‌های شناخته‌شده در شیراز نمونه‌ها جمع‌آوری شدند.

جهت تأیید ایزوله‌های جمع‌آوری‌شده، مجدداً تست‌های تشخیصی مربوط به اشریشیاکلی انجام شد. چنان‌که همه سویه‌ها بر روی پلیت‌های حاوی محیط ائوزین متیلن بلو آگار (شرکت Conda، آمریکا) و محیط مک کانکی آگار (شرکت Conda ، آمریکا) کشت داده شدند. کلنی‌های سبز رنگ با جلای فلزی در محیط ائوزین متیلن بلو آگار و کلنی‌های صورتی رنگ در محیط مک کانکی آگار به‌عنوان ایزوله‌های اشریشیاکلی انتخاب شدند. همچنین تست‌های بیوشیمیایی نظیر کاتالاز، اکسیداز، سیمون سیترات، محیط سه قندی حاوی آهن[3]، متیل رد، وگس-پروسکوئر و تحرک جهت تأیید ایزوله‌های اشریشیاکلی به کار رفت [۱۴].

### تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی

پس از تأیید ایزوله‌های اشریشیاکلی، الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی در سویه‌ها با استفاده از روش دیسک دیفیوژن (کربی-بائر) تعیین شد [۱۵]. ابتدا سوسپانسیون میکروبی

1. Escherichia coli (E.coli)
2. intI1، intI2 و intI3
3. Triple Sugar Iron (TSI)

**جدول ۱.** توالی پرایمر ها و شرایط PCR مورد استفاده

| ژن | توالی پرایمر | اندازه محصول (جفت باز) | شرایط PCR | منبع |
|---|---|---|---|---|
| اینتگرون کلاس یک- فوروارد | CAGTGGACATAAGCCTGTTC | ۱۶۰ | ۱ سیکل ۵ دقیقه در ۹۵°C ، ۳۰ سیکل ۲۰ ثانیه در ۹۵°C، ۲۰ ثانیه در ۵۴°C، ۲۰ ثانیه در ۷۲°C، ۱ سیکل ۲ دقیقه در ۷۲°C | [۱۷] |
| اینتگرون کلاس یک- ریورس | CCCGAGGCATAGACTGTA | | | |
| اینتگرون کلاس دو- فوروارد | TTGCGAGTATCCATAACCTG | ۲۸۸ | ۱ سیکل ۵ دقیقه در ۹۵°C ، ۳۰ سیکل ۲۵ ثانیه در ۹۵°C، ۲۵ ثانیه در ۵۳°C، ۳۰ ثانیه در ۷۲°C، ۱ سیکل ۴ دقیقه در ۷۲°C | [۱۷] |
| اینتگرون کلاس دو- ریورس | TTACCTGCACTGGATTAAGC | | | |
| اینتگرون کلاس سه- فوروارد | AATCCACATCCTTGAC | ۴۱۱ | ۱ سیکل ۵ دقیقه در ۹۵°C، ۳۰ سیکل ۳۰ ثانیه در ۹۵°C، ۳۰ ثانیه در ۴۷°C، ۳۵ ثانیه در ۷۲°C، ۱ سیکل ۴ دقیقه در ۷۲°C | طراحی در سایت مرکز ملی اطلاعات بیوتکنولوژی |
| اینتگرون کلاس سه- ریورس | ATTACATCCTACAGACC | | | |

مجله علمی پزشکی
جندی شاپور

با کدورتی معادل ۰/۵ مک فارلند تهیه و بر روی محیط مولر هینتون آگار (مرک، آلمان) به‌روش چمنی کشت داده شد. سپس دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی خریداری‌شده از شرکت پادتن طب-ایران شامل آمیکاسین (۳۰ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، سفالکسین (۳۰ میکروگرم)، تری‌متوپریم-سولفامتوکسازول (۲۳/۷۵-۱/۲۵ میکروگرم)، سفکسیم (۵ میکروگرم)،نیتروفورانتوئین(۳۰۰میکروگرم)،سیپروفلوکساسین (۵میکروگرم)، سفتریاکسون (۳۰میکروگرم) و نالیدیکسیک‌اسید (۳۰ میکروگرم) بر روی محیط‌ها قرار داده شد. پس از انکوباسیون در دمای ۳۵ درجه سلسیوس به‌مدت ۲۰ ساعت، قطر هاله عدم رشد با استفاده از خط‌کش استاندارد اندازه‌گیری و براساس معیارهای مؤسسه استانداردهای آزمایشگاهی و بالینی[۴] گزارش شد [۱۶]. همچنین سویه استاندارد E.coli ATCC 25922 به‌عنوان نمونه کنترل به کار رفت. نمونه‌هایی که به بیش از ۲ آنتی بیوتیک مقاوم بودند، به‌عنوان ایزوله‌هایی با مقاومت چندگانه دارویی[۵] در نظر گرفته شدند.

### تشخیص ملکولی اینتگرون‌های کلاس ۱، ۲ و ۳

جهت استخراج ژنوم از ایزوله‌ها از کیت استخراج DNA (شرکت سیناژن، ایران) استفاده شد. به منظور بررسی کیفیت DNA استخراج‌شده، نمونه‌ها بر روی ژل آگاروز ۲ درصد الکتروفورز شدند. پس از تأیید کیفیت DNA استخراج‌شده به منظور شناسایی اینتگرون‌های کلاس ۱، ۲ و ۳ توسط پرایمرهای اختصاصی از واکنش PCR با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۷/۵ میکرولیتر آب مقطر، ۱۲/۵ میکرولیتر ترکیب اصلی[۶]، ۱ میکرولیتر از هر کدام از پرایمرهای رفت و برگشت و ۳ میکرولیتر از DNA برای هر واکنش استفاده شد. توالی پرایمرهای اختصاصی و شرایط PCR به‌کاررفته در جدول شماره ۱ ارائه شده است. با استفاده از دستگاه ترموسیکلر (شرکت Bioer، چین)، ژن‌های مربوطه تکثیر شدند. سپس محصولات PCR بر روی ژل آگاروز ۲درصد الکتروفورز شدند. نهایتاً توسط دستگاه Gel document (شرکت Syngene، انگلستان) محصولات PCR قابل مشاهده شد. از سویه کنترل مثبت E.coli ATCC 25922 (خریداری‌شده از بانک میکروبی آزمایشگاه میکروب شناسی تهران) جهت تأیید تکثیر ژن‌های اینتگرون کلاس ۱، ۲ و ۳ استفاده شد. آب دیونیزه نیز به‌عنوان کنترل منفی به کار رفت.

### تحلیل آماری

ارتباط ایزوله‌های مقاوم به آنتیبیوتیک با وجود اینتگرون با نسخه ۲۳ نرم‌افزار[۷] SPSS و آزمون آماری مربع کای[۸] مورد بررسی قرار گرفت. مقادیر P<۰/۰۵ ازنظر آماری معنادار در نظر گرفته شد.

## یافته‌ها

از ۵۰ ایزوله اشریشیاکلی به‌دست‌آمده از بیماران مراجعه‌کننده به مراکز درمانی شیراز، ۴۰ نمونه (۸۰ درصد) مربوط به زنان و ۱۰ نمونه (۲۰ درصد) مربوط به مردان بود. در بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها، بیشترین مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های

4. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)
5. Multidrug Resistance (MDR)
6. Master Mix
7. Spss Inc. Chicago, USA
8. Chi Square

**جدول ۲.** ارتباط مقاومت آنتی‌بیوتیکی و حضور اینتگرون‌ها در سویه‌های اشریشیاکلی

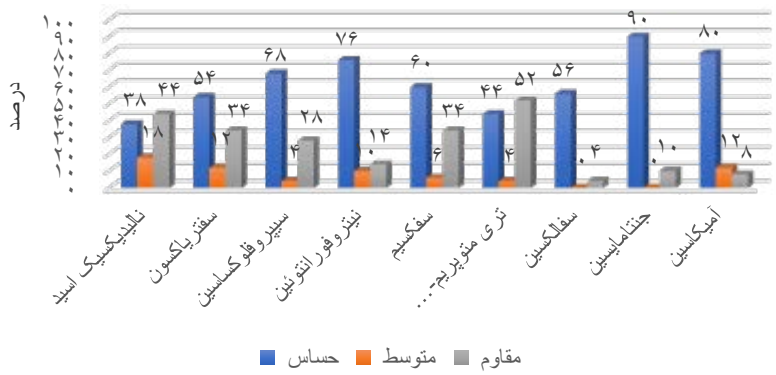
| آنتی‌بیوتیک | | تعداد (درصد) | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | نالیدیکسیک اسید | سفتریاکسون | آمیکاسین | جنتامایسین | سفالکسین | سولفامتوکسازول تری متو پریم | سفکسیم | نیتروفورانتوئین | سیپروفلوکساسین |
| اینتگرون کلاس یک | حساس | ۱۸(۳۹/۱) | ۲۵(۵۴/۳) | ۳۸(۸۲/۶) | ۴۱(۸۹/۱) | ۲۷(۵۸/۷) | ۲۰(۴۳/۵) | ۲۸(۶۰/۹) | ۲۸(۶۰/۹) | ۳۱(۶۷/۴) |
| | نیمه حساس | ۸(۱۷/۴) | ۶(۱۳) | ۴(۸/۷) | ۰ | ۱(۲/۲) | ۲(۴/۳) | ۳(۶/۵) | ۵(۱۰/۹) | ۱(۲/۲) |
| | مقاوم | ۲۰(۴۳/۵) | ۱۵(۳۲/۶) | ۴(۸/۷) | ۵(۱۰/۹) | ۱۸(۳۹/۱) | ۲۴(۵۲/۲) | ۱۵(۳۲/۶) | ۶(۱۳) | ۱۴(۳۰/۴) |
| سطح معناداری | | ۰/۸۴ | ۰/۶۵ | ۰/۰۴* | ۰/۴۸ | ۰/۰۵۹ | ۰/۸۹ | ۰/۷۱۹ | ۰/۶۶ | ۰/۰۴* |
| اینتگرون کلاس دو | حساس | ۱۳(۴۰/۶) | ۱۹(۵۹/۴) | ۲۷(۸۴/۴) | ۳۱(۹۶/۹) | ۱۸(۵۶/۳) | ۱۴(۴۳/۸) | ۱۹(۹۵/۴) | ۲۶(۸۱/۳) | ۲۳(۷۱/۹) |
| | نیمه حساس | ۵(۱۵/۶) | ۳(۹/۴) | ۴(۱۲/۵) | ۰ | ۱(۳/۱) | ۱(۳/۱) | ۲(۶/۳) | ۳(۹/۴) | ۱(۳/۱) |
| | مقاوم | ۱۴(۴۳/۸) | ۱۰(۳۱/۳) | ۱(۳/۱) | ۱(۳/۱) | ۱۳(۴۰/۶) | ۱۷(۵۳/۱) | ۱۱(۳۴/۴) | ۳(۹/۴) | ۸(۲۵) |
| سطح معناداری | | ۰/۸۰۲ | ۰/۵۵۳ | ۰/۲۳۸ | ۰/۰۳۱* | ۰/۹۱۴ | ۰/۹۰۸ | ۰/۹۹۱ | ۰/۴۲۴ | ۰/۷۲۲ |
| اینتگرون کلاس سه | حساس | ۱(۲۰) | ۱(۲۰) | ۳(۶۰) | ۵(۱۰۰) | ۳(۶۰) | ۰ | ۳(۶۰) | ۴(۸۰) | ۳(۶۰) |
| | نیمه حساس | ۳(۶۰) | ۲(۴۰) | ۲(۴۰) | ۰ | ۰ | ۱(۲۰) | ۰ | ۱(۲۰) | ۰ |
| | مقاوم | ۱(۲۰) | ۲(۴۰) | ۰ | ۰ | ۲(۴۰) | ۴(۸۰) | ۲(۴۰) | ۰ | ۲(۴۰) |
| سطح معناداری | | ۰/۰۳۶* | ۰/۰۸۷ | ۰/۱۱۴ | ۰/۴۳۲ | ۰/۸۸۸ | ۰/۰۳۳* | ۰/۸۲۲ | ۰/۵۱۰ | ۰/۷۵۶ |

* ارتباط معنادار (P<۰/۰۵)

مجله علمی پزشکی
جندی شاپور

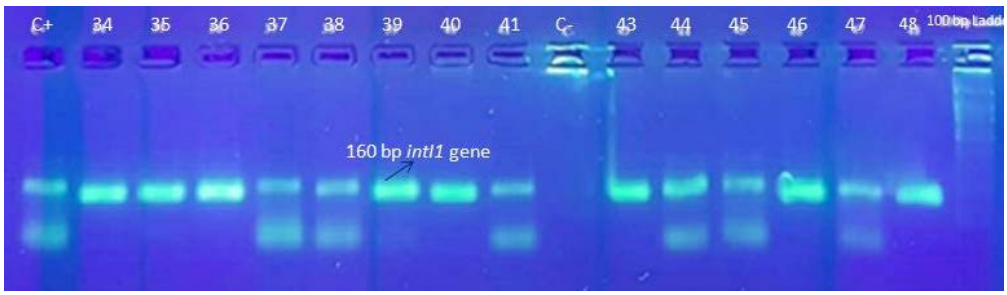
تری‌متوپریم-سولفامتوکسازول (۵۲ درصد)، نالیدیکسیک‌اسید (۴۴ درصد)، سفکسیم (۳۴ درصد) و سفتریاکسون (۳۴ درصد) مشاهده شد (تصویر شماره ۱)، درحالی‌که ایزوله‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین (۹۰ درصد)، آمیکاسین (۸۰ درصد) و نیتروفورانتوئین (۷۶ درصد) بیشترین حساسیت را داشتند (تصویر شماره ۱). از ۵۰ ایزوله اشریشیاکلی، ۲۱ نمونه (۴۲ درصد) به بیش از ۲ کلاس آنتی‌بیوتیکی مقاومت نشان دادند. چنان‌که این ایزوله‌ها به کلاس‌های آنتی‌بیوتیکی کینولون‌ها، سفالوسپورین‌های نسل اول و سوم، سولفامیدها و آمینوگلیکوزیدها مقاوم بودند.

تصاویر شماره ۲، ۳، ۴، الکتروفورز ژل آگاروز جهت شناسایی ژن‌های اینتگرون‌های کلاس ۱، ۲ و ۳ را نشان می‌دهند. براساس نتایج، ۴۶ نمونه (۹۲درصد) دارای اینتگرون کلاس ۱، ۲ و ۳ نمونه (۶۴ درصد) حاوی اینتگرون کلاس ۲ و ۵ نمونه (۱۰ درصد) واجد اینتگرون کلاس ۳ بودند.



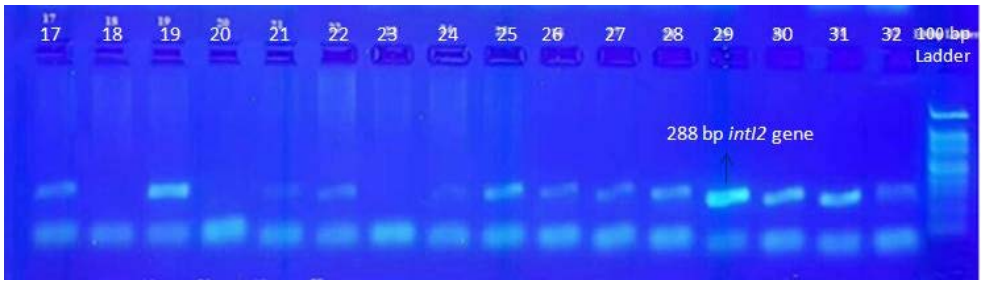

**تصویر ۱.** الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های اشریشیاکلی

مجله علمی پزشکی
جندی شاپور



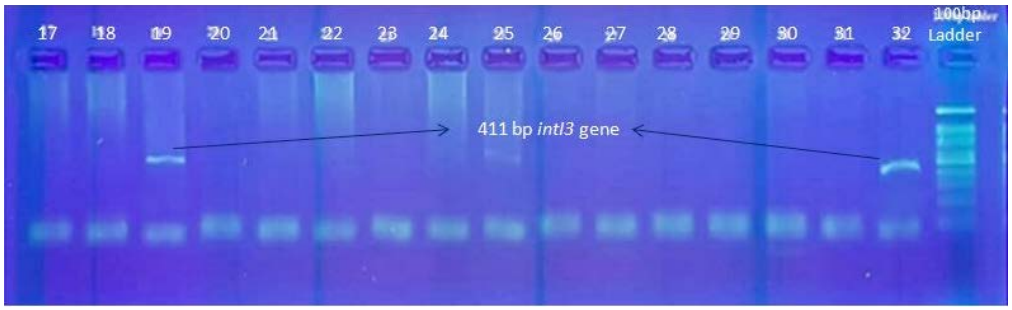

مجله علمی پزشکی
جندی شاپور

**تصویر ۲.** الکتروفورز ژل آگاروز جهت شناسایی ژن intI1 (۱۶۰جفت باز). چاهک اول از سمت چپ ( $C^+$): نمونه کنترل مثبت (اشریشیاکلی ATCC 25922) ، چاهک های ۴۱-۳۴ و ۴۸-۴۳: نمونه های حامل ژن intI1 ، چاهک ( $C^-$):نمونه کنترل منفی، چاهک آخر: مارکر Ladder ۱۰۰ جفت بازی.




مجله علمی پزشکی
جندی شاپور

**تصویر ۳.** الکتروفورز ژل آگاروز جهت شناسایی ژن intI2 (۲۸۸جفت باز). چاهک‌های ۱۷، ۱۹، ۲۲ و ۳۲-۲۵: نمونه‌های حامل ژن intI2، چاهک آخر: مارکر Lad-der ۱۰۰جفت بازی.




مجله علمی پزشکی
جندی شاپور

**تصویر ٤.** الکتروفورز ژل آگاروز جهت شناسایی ژن intI3 (۴۱۱ جفت باز). چاهک‌های ۱۹ و ۳۲: نمونه‌های حامل ژن intI3 ، چاهک آخر: مارکر Ladder ۱۰۰ جفت بازی.

به‌علاوه، ۵ ایزوله (۱۰ درصد) هر ۳ کلاس اینتگرونی، ۲۳ ایزوله (۴۶ درصد) ۲ اینتگرون کلاس ۱، ۲ و ۵ ایزوله (۱۰ درصد)، ۲ اینتگرون کلاس ۱ و ۳ و ۵ ایزوله (۱۰ درصد) و ۲ اینتگرون کلاس ۲ و ۳ را با هم داشتند. هیچ سویه‌ای به تنهایی اینتگرون کلاس ۳ را نداشت و ایزوله‌های دارای اینتگرون کلاس ۱ و ۲ فراوان‌ترین گروه را تشکیل می‌دادند. همچنین تمام ایزوله‌ها حداقل یکی از انواع اینتگرون را داشتند و ایزوله فاقد اینتگرون مشاهده نشد.

در سویه‌های اشریشیاکلی مورد مطالعه، بین مقاومت آنتی‌بیوتیکی و حضور اینتگرون‌ها ازنظر آماری ارتباط معناداری مشاهده شد (جدول شماره ۲). بین حضور اینتگرون کلاس ۱ و مقاومت به آمیکاسین (P=۰/۰۴) و سیپروفلوکساسین (P=۰/۰۴) ازنظر آماری ارتباط معناداری وجود داشت (جدول شماره ۲). همچنین بین حضور اینتگرون کلاس ۲ و مقاومت به جنتامایسین (P=۰/۰۳) ارتباط معناداری دیده شد (جدول شماره ۲). به‌علاوه، بین حضور اینتگرون کلاس ۳ و مقاومت به نالیدیکسیک‌اسید (P=۰/۰۳) و تری‌متوپریم-سولفامتوکسازول (P=۰/۰۳) ارتباط معناداری مشاهده نشد (جدول شماره ۲).

نتایج نشان داد هر ۳ کلاس اینتگرونی، در بین زنان، فراوانی بیشتری داشتند، به‌طوری‌که به‌ترتیب ۹۰، ۶۲ و ۷/۵ درصد ایزوله‌های به‌دست‌آمده از زنان، اینتگرون کلاس ۱، ۲ و ۳ را دارا بودند. بااین‌حال، ارتباط معناداری بین حضور اینتگرون‌ها با جنسیت دیده نشد (P>۰/۰۵). همچنین بین حضور کلاس‌های مختلف اینتگرونی در ایزوله‌ها و رده‌های سنی بیماران تفاوت معناداری وجود نداشت (P>۰/۰۵).

## بحث

اشریشیاکلی یوروپاتوژنیک در ایجاد عفونت مجاری ادراری از جمله سیستیت و پیلونفریت نقش بالقوه‌ای بازی می‌کند [۱۵]. شناسایی به موقع فاکتورهای مقاومت آنتی‌بیوتیکی در باکتری‌ها در کنترل عفونت‌های بیمارستانی، انتخاب مناسب‌ترین آنتی‌بیوتیک و کاهش مقاومت دارویی حائز اهمیت می‌باشد [۹]. نتایج این مطالعه نشان داد از بین ۵۰ ایزوله اشریشیاکلی جداشده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری در شیراز، ۲۱ نمونه (۴۲ درصد) مقاومت چندداروییی داشتند که مشابه با مطالعه‌ای بود که وزیری و همکاران در سال ۲۰۱۷ در کرمانشاه انجام داده بودند [۹]. بیشترین میزان مقاومت در این مطالعه، به دو آنتی‌بیوتیک تری‌متوپریم-سولفامتوکسازول (کوتریموکسازول) (۵۲ درصد) و نالیدیکسیک اسید (۴۴ درصد) مشاهده شد.

در تحقیقی که حدادی و همکاران در سال ۲۰۱۵ عنوان کردند، سویه‌های اشریشیاکلی به آموکسی سیلین و نیتروفورانتوئین بیشترین مقاومت را دارند [۱۴] که با مطالعه حاضر هم‌خوانی نداشت. این تناقض می‌تواند به‌دلیل مصرف بی‌رویه این آنتی‌بیوتیک‌ها و انتقال ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی در اشریشیاکلی باشد. طی تحقیقات صورت‌گرفته در ایران، بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی در اشریشیاکلی به کوتریموکسازول بوده که زنگ خطری جدید در انتقال ژن‌های مقاومت دارویی تلقی می‌شود [۱۸]. میزان مقاومت به این آنتی‌بیوتیک در نواحی مختلف ایران متفاوت است. به‌گونه‌ای که مقاومت به این آنتی‌بیوتیک در کرمان ۹۳/۴ درصد و در تهران ۴/۲ درصد گزارش شده است [۱۹، ۲۰]، درحالی‌که در کشورهای ترکیه و پاکستان میزان مقاومت اشریشیاکلی به کوتریموکسازول به‌ترتیب ۷۵ و ۸۸ درصد می‌باشد [۲۱، ۲۲].

نالیدیکسیک‌اسید نیز ازجمله آنتی‌بیوتیک‌های نسل اول کینولون‌ها است و امروزه مقاومت به این آنتی‌بیوتیک در ایران به‌طور قابل توجهی افزایش یافته است [۲۳]. میزان مقاومت به نالیدیکسیک‌اسید در این مطالعه (۴۴ درصد) تقریباً مشابه با مطالعه صورت‌گرفته توسط شریفی و همکاران در سال ۲۰۱۴ در یاسوج (۴۸/۳) گزارش شده است، اما بسیار بیشتر از مقاومت مشاهده‌شده در تبریز و کشورهای سنگال و ترکیه بود [۲۴]. شاید بتوان چنین استنباط کرد که نزدیکی شیراز و یاسوج و متعاقباً تعاملات اجتماعی بیشتر منجر به اختلاط ژنتیکی و تشابه در سویه‌های باکتریایی جداشده از این دو استان شده است، اما فاصله بیشتر با استان‌ها و کشورهای دیگر باعث ایجاد مقاومت آنتی‌بیوتیکی متفاوتی در این پاتوژن شده است.

به‌علاوه در این پژوهش ایزوله‌های اشریشیاکلی بیشترین حساسیت را به آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین (۹۰ درصد) و آمیکاسین (۸۰ درصد) نشان دادند. میزان مقاومت به آمینوگلیکوزیدها می‌تواند بین صفر تا ۷۷/۲۷ درصد در سویه‌های اشریشیاکلی متفاوت باشد [۲۵]، اما در تحقیقی که فراهانی و همکاران در سال ۲۰۱۲ انجام دادند، ایزوله‌های اشریشیاکلی بیشترین مقاومت را به آمپیسیلین، جنتامایسین و کوتریموکسازول و بیشترین حساسیت را به نورفلوکساسین و نیتروفورانتوئین داشتند [۲۶]. همچنین ملاعباس‌زاده و همکاران در سال ۲۰۱۳، نیتروفورانتوئین و کوتریموکسازول را به‌ترتیب به‌عنوان آنتی‌بیوتیک‌هایی با بیشترین حساسیت و مقاومت نسبت به سویه‌های اشریشیاکلی گزارش کردند [۱] که این یافته‌ها با نتایج تحقیق حاضر هم‌خوانی داشتند. علل اختلاف در مقاومت‌های دارویی در سویه‌های باکتریایی می‌تواند به‌دلیل تفاوت در الگوی مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها و تفاوت جغرافیایی باشد، به‌طوری‌که میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی اشریشیاکلی از شهری به شهر دیگر و حتی از بیمارستانی به بیمارستان دیگر نیز متفاوت است [۲۷].

اینتگرون‌ها از عوامل متحرک ژنتیکی بوده که قادر به حمل ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی در میان باکتری‌ها هستند [۱۴]. انتقال افقی این عوامل در بین باکتری‌ها از مهم‌ترین راه‌های گسترش ژن‌های مقاومت دارویی محسوب می‌شود [۲۸]. این عناصر همانند پلاسمیدها و ترانسپوزون‌ها سبب انتشار مقاومت دارویی از یک سویه به سویه دیگر می‌شوند، به‌طوری‌که این امر منجر به انتشار مقاومت چندگانه آنتی‌بیوتیکی و مشکلات جدی درمانی در سراسر جهان شده است [۶]. نتایج این پژوهش نشان داد در بین ایزوله‌های اشریشیاکلی، میزان شیوع اینتگرون‌های کلاس ۱، ۲ و ۳ به‌ترتیب ۹۲، ۶۴ و ۱۰ درصد بود. البته در برخی سویه‌ها چندین کلاس اینتگرونی نیز هم‌زمان با هم وجود داشتند.

در تحقیقی که حدادی و همکاران در سال ۲۰۱۵ بر روی سویه‌های اشریشیاکلی یوروپاتوژنیک مقاوم به چندداروانجام داده بودند، بیشترین میزان فراوانی به‌ترتیب مربوط به اینتگرون‌های کلاس ۱ و ۲ بود [۱۴] که با پژوهش حاضر مطابقت داشت. همچنین، به‌طور مشابهی در مطالعات جداگانه‌ای که در سال ۲۰۱۵، معصومیان و حقی و مهدی‌پور و همکاران، فراوانی اینتگرون کلاس ۱ را به‌ترتیب ۹۰/۵ و ۹۷ درصد گزارش کردند [۲۹، ۳۰]. همچنین، بشیر و همکاران در سال ۲۰۱۵ بیان کردند که شیوع اینتگرون کلاس ۱ بیشتر از کلاس ۲ و به

دنبال آن کلاس ۳ می‌باشد [۱۵] که با تحقیق حاضر هم‌خوانی داشت. به‌علاوه، به‌طور مشابهی در مطالعه صورت‌گرفته توسط الخودهیری و همکاران در سال ۲۰۱۹ در اهواز در ایزوله‌های اشریشیاکلی بیشترین میزان فراوانی در اینتگرون کلاس ۱ دیده شد [۳۱]، اما برخلاف این مطالعه، در تحقیقی که رضایی و همکاران در سال ۲۰۱۱ انجام داده بودند، فراوانی اینتگرون‌های کلاس ۱ و ۲ به‌ترتیب ۲۲ و ۵ درصد بود و اینتگرون کلاس ۳ در هیچ ایزوله‌ای تشخیص داده نشد [۳۲]. شیوع پایین اینتگرون در برخی مطالعات می‌تواند به این دلیل باشد که ژن‌های مقاومت دارویی روی عناصر دیگری مانند ترانسپوزون‌ها و فاژها قرار گرفته‌اند.

در این پژوهش ازنظر آماری بین حضور اینتگرون‌های کلاس ۱، ۲ و ۳ با مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین، آمیکاسین، جنتامایسین، نالیدیکسیک‌اسید و تری‌متوپریم-سولفامتوکسازول ارتباط معناداری مشاهده شد (P<۰/۰۵). به‌طور مشابهی، در مطالعات جداگانه‌ای فلاکیان و همکاران در سال ۲۰۱۱، خرم‌روز و همکاران در سال ۲۰۱۶ و نجومی و همکاران در سال ۲۰۱۸ بیان کردند در اشریشیاکلی بین حضور اینتگرون‌های کلاس ۱ و ۲ و مقاومت به آمیکاسین، جنتامایسین، کوتریموکسازول و سیپروفلوکساسین ارتباط معناداری وجود دارد [۱۲، ۳۳، ۳۴]. همچنین در مطالعه آهنگرکانی و همکاران در سال ۲۰۱۵ بین حضور اینتگرون کلاس ۱ و مقاومت به ۳ آنتی‌بیوتیک کوتریماکسازول، سیپروفلوکساسین و سفکسیم تفاوت معناداری ازنظر آماری مشاهده شد [۳۵].

به‌طور مشابهی، وزیری و همکاران در سال ۲۰۱۷ و میرنظامی و همکاران در سال ۲۰۲۰ عنوان کردند ارتباط معناداری بین فراوانی اینتگرون‌های کلاس ۱ و مقاومت به سیپروفلوکساسین، جنتامایسین، کوتریموکسازول و نالیدیکسیک اسید وجود دارد [۹، ۱۳]. اینتگرون کلاس ۱ اغلب در ایزوله‌های بالینی انتروباکتریاسه گزارش شده است، به‌طوری‌که مطالعات پیشین حاکی از آن است که مقاومت به کینولون‌ها (سیپروفلوکساسین) در میان سویه‌های دارای اینتگرون شایع‌تر بوده است [۳۳]. بااین‌حال، اطلاعات کافی در مورد شیوع اینتگرون کلاس ۳ و ارتباط آن با مقاومت دارویی موجود نیست. ارتباط بین شیوع اینتگرون‌ها و مقاومت دارویی به‌دلیل حضور کاست‌های ژنی مقاوم به آنتی‌بیوتیک حمل‌شده بر روی کلاس‌های اینتگرون‌ها می‌باشد [۱۳].

محدودیت پژوهش حاضر عدم بررسی این کاست‌های ژنی بر روی اینتگرون‌ها بود. بنابراین، پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده شیوع کاست‌های ژنی مقاوم به دارو بر روی اینتگرون‌ها و میزان فراوانی کلاس‌های اینتگرونی در ایزوله‌های اشریشیاکلی در جمعیت گسترده‌تری از بیماران مبتلا به عفونت ادراری بررسی شود.

## نتیجه‌گیری

یافته‌های این تحقیق نشان می‌دهد آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین، آمیکاسین و نیتروفورانتوئین مؤثرترین داروها در درمان عفونت‌های ادراری ناشی از اشریشیاکلی در بیمارستان‌های شیراز می‌باشند. در این مطالعه، میزان شیوع اینتگرون‌های کلاس ۱ (۹۲ درصد) و ۲ (۶۴ درصد) بالا بود. چنان‌که فراوانی اینتگرون‌های کلاس ۱، ۲ و ۳ در ایزوله‌های اشریشیاکلی به‌ترتیب در ایجاد مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین، آمینوگلیکوزیدها، نالیدیکسیک اسید و تری متوپریم-سولفامتوکسازول نقش داشتند. بنابراین، باتوجه‌به وجود ارتباط معنادار بین حضور اینتگرون‌ها در ایزوله‌های مقاوم به چنددارو و مقاومت دارویی، شناسایی ایزوله‌های اشریشیاکلی مولد اینتگرون و تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها می‌تواند گام اساسی در کاهش میزان عفونت ناشی از این باکتری و پیشگیری از گسترش سویه‌های باکتریایی مقاوم به دارو باشد.

## ملاحظات اخلاقی

### پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این مطالعه در کمیته ملی اخلاق در پژوهش‌های زیست پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی کازرون با شناسه اخلاق IR.IAU.KAU.REC.1399.032 تأیید شده است.

### حامی مالی

تحقیق حاضر برگرفته از طرح پژوهشی دانشجویی مصوب در دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون می‌باشد. این پژوهش هیچ‌گونه کمک مالی از سازمانی‌های دولتی، خصوصی و غیرانتفاعی دریافت نکرده است.

### مشارکت نویسندگان

مفهوم‌سازی و سرپرستی: افسون شریعت؛ روش‌شناسی، تحقیق، نگارش پیش‌نویس اصلی، نگارش نقد و ویرایش و منابع : فاطمه فتح‌پور و افسون شریعت.

### تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان، این مقاله تعارض منافع ندارد.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان از همکاری کارشناسان آزمایشگاه‌های میکروب‌شناسی بیمارستان‌های شیراز تشکر و قدردانی می‌کنند.

## References

[1] Molaabaszadeh H, Hajisheikhzadeh B, Mollazadeh M, Eslami K, Mohammadzadeh Gheshlaghi N. [Study of sensibility and antimicrobial resistance in Escherichia coli isolated from urinary tract infection in Tabriz city (Persian)]. J Adv Biomed Sci. 2013; 3(2):149-54. [Link]

[2] Haghighatpanah M, Mojtahedi A. Characterization of antibiotic resistance and virulence factors of Escherichia coli strains isolated from Iranian inpatients with urinary tract infections. Infect Drug Resist. 2019; 12:2747-54. [DOI:10.2147/IDR.S219696] [PMID] [PMCID]

[3] Mohammadi J, Amini K. [Detection of virulence genes in Uropathogenic E. coli (UPEC) strains by Multiplex-PCR method (Persian)]. J Adv Biomed Sci. 2017; 7(1):128-33. [Link]

[4] Kargar M, Mohammadalipour Z, Doosti A, Lorzadeh S, Moein Jahromi F. [Monitoring of class1 integrons in diarrheagenic E. coli strains isolated from children in Yasouj (Persian)]. Biol J Microorganism. 2015; 4(14): 131-40. [Link]

[5] Shokri D, Rabbani Khorasgani M. [New molecular resistance mechanisms against antibiotics in bacteria (Persian)]. J Isfahan Med Sch. 2015; 33(328):410-28. [Link]

[6] Hajiahmadi F, Safari N, Alijani P, Rabiei M, Masomian N, Arabestani MR. [Assessment of the prevalence of class I and II integrons of escherichia coli and Klebsiella pneumoniae isolates from hospitals of Hamadan (Persian)]. Avicenna J Clin Med. 2016; 23(3):193-201. [DOI:10.21859/hums-23036]

[7] Tabidehchi S, Amini K. [Detection of $sul_1$, $sul_2$, and $int_1$ genes in the uropathogenic escherichia coli strains by multiplex-PCR and their antibiotic susceptibility patterns (Persian)]. Sadra Med Sci J. 2016; 4(3):195-204. [Link]

[8] Ranjbaran M, Zolfaghari M, Japoni-Nejad A, Amouzandeh-Nobaveh A, Abtahi H, Tabib Nejad M, et al. [Molecular investigation of integrons in escherichia coli and klebsiella pneumoniae isolated from urinary tract infections (Persian)]. J Mazandaran Univ Med Sci. 2013; 23(105):20-7. [Link]

[9] Vaziri S, Abiri R, Mansouri F, Alvandi A, Azizi M, Hasanvand B, et al. [The molecular investigation of class 1 and 2 integrons among the escherichia coli isolated from urine samples of children in Imam Reza Hospital, Kermanshah City, Iran, in 2016 (Persian)]. J Isfahan Med Sch. 2017; 35(446):1171-7. [Link]

[10] Eslami G, Seyedjavadi SS, Goudarzi H, Fallah F, Goudarzi M. [Distribution of integrons among multidrug resistant E. coli and klebsiella strains (Persian)]. Res Med. 2010; 34(1):61-5. [Link]

[11] Lavakhamseh H, Mohajeri P, Rouhi S, Shakib P, Ramazanzadeh R, Rasani A, et al. Multidrug-resistant escherichia coli strains isolated from patients are associated with class 1 and 2 integrons. chemotherapy. 2015; 61(2):72-6. [DOI:10.1159/000438666] [PMID]

[12] Khoramrooz SS, Sharifi A, Yazdanpanah M, Malek Hosseini SA, Emaneini M, Gharibpour F, et al. High frequency of class 1 integrons in escherichia coli isolated from patients with urinary tract infections in Yasuj, Iran. Iran Red Crescent Med J. 2016; 18(1):e26399. [DOI:10.5812/ircmj.26399] [PMID] [PMCID]

[13] Mirnezami M, Ranjbar R, Niakan M, Ahmadi MH. Frequency of antimicrobial resistance and class 1 and 2 integrons in escherichia coli strains isolated from urinary tract infections. Iran J Pharm Res. 2020; 19(3):282-7. [doi:10.22037/ijpr.2020.1101148]

[14] Haddadi A, Mikaili Ghezeljeh S, Shavandi M. Prevalence of class 1 and 2 integrons among the multidrug resistant uropathogenic strains of Escherichia coli. Asian Biomed. 2015; 9(1):49-54. [DOI:10.5372/1905-7415.0901.367]

[15] Bashir S, Haque A, Sarwar Y, Raza A. Prevalence of integrons and antibiotic resistance among uropathogenic Escherichia coli from Faisalabad Region of Pakistan. Arch Clin Microbiol. 2015; 6(4):9. [Link]

[16] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 26th ed. Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2016. [Link]

[17] Koeleman JG, Stoof J, Van Der Bijl MW, Vandenbroucke-Grauls CM, Savelkoul PH. Identification of epidemic strains of acinetobacter baumannii by integrase gene PCR. J Clin Microbiol. 2001; 39(1):8-13. [DOI:10.1128/JCM.39.1.8-13.2001] [PMID] [PMCID]

[18] Zamanzad B, Shirzad H, Naseri F. [Comparison of the causative bacteria and antibacterial susceptibility pattern of nosocomial and community-acquired urinary tract pathogens in 13-35 years old women, Shahrekord, 2004 (Persian)]. J Arak Uni Med Sci. 2005; 8(4):23-30. [Link]

[19] Mansouri S, Kalantar Neyestanaki D, Shokoohi M, Halimi S, Beigverdi R, Rezagholezadeh F, et al. Characterization of AmpC, CTX-M and MBLs types of β-lactamases in clinical isolates of Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli producing extended spectrum β-lactamases in Kerman, Iran. Jundishapur J Microbiol. 2014; 7(2):e8756. [DOI:10.5812/jjm.8756]

[20] Shahcheraghi F, Rahmati Ghezelgeh F, Nobari S, Torabi E, Mousavi SF, et al. Identification and characterization of class 1 integrons among atypical enteropathogenic Escherichia coli isolated from children under 5 years of age. Iran J Microbiol. 2014; 6(3):156-62. [PMCID]

[21] Düzgün AO, Okumuş F, Saral A, Çiçek AC, Cinemre S. Determination of antibiotic resistance genes and virulence factors in Escherichia coli isolated from Turkish patients with urinary tract infection. Rev Soc Bras Med Trop. 2019; 52:e20180499. [DOI:10.1590/0037-8682-0499-2018] [PMID]

[22] Muhammad I, Uzma M, Yasmin B, Mehmood Q, Habib B. Prevalence of antimicrobial resistance and integrons in Escherichia coli from Punjab, Pakistan. Braz J Microbiol. 2011; 42(2):462-6. [DOI:10.1590/S1517-83822011000200008] [PMID] [PMCID]

[23] Alizade H. Escherichia coli in Iran: An overview of antibiotic resistance: A review article. Iran J Public Health. 2018; 47(1): 1-12. [PMCID]

[24] Sharifi A, Khoramrooz S, Khosravani S, Yazdanpanah M, Gharibpour F, Malekhoseini A, et al. [Antimicrobial resistance pattern of Escherichia coli isolated from patients with urinary tract infection (UTI) in Yasuj city during 1391-1392 (Persian)]. Armaghan-e-Danesh. 2014; 19(4):337-46. [Link]

[25] Rashki A. Cervico-vaginopathogenic Escherichia coli in Iran: Serogroup distributions, virulence factors and antimicrobial resistance properties. Microb Pathog. 2014; 75:29-34. [DOI:10.1016/j.micpath.2014.08.004] [PMID]

[26] Hamid-Farahani R, Tajik AR, Noorifard M, Keshavarz A, Taghipour N, Hossieni-Shokouh J. [Antibiotic resistance pattern of E. coli isolated from urine culture in 660 Army clinical laboratory center in Tehran 2008 (Persian)]. Sci Res J Army Univ Med Sci. 2012; 10(1):45-9. [Link]

[27] Yousefi-Fatmesari G, Hemmati M, Mortazavi SH, Mansouri F, Azizi M, Etemadimajed M, et al. [Frequency of blaCTX-M, blaTEM, blaSHV genes in escherichia coli isolated from urine samples of children in Kermanshah, Iran (Persian)]. J Isfahan Med Sch. 2017; 35(430):551-7. [Link]

[28] Poey ME, Lavina M. Integrons in uropathogenic Escherichia coli and their relationship with phylogeny and virulence. Microb Pathog. 2014; 77:73-7. [DOI:10.1016/j.micpath.2014.11.002] [PMID]

[29] Masoumian N, Haghi F. [Analysis of integrons and associated gene cassettes in clinical isolates of escherichia coli (Persian)]. J Adv Med Biomed Res. 2015; 23(99):74-82. [Link]

[30] Mehdipour Moghaddam MJ, Mirbagheri AA, Salehi Z, Habibzade SM. Prevalence of class 1 integrons and extended spectrum beta lactamases among multi-drug resistant escherichia coli isolates from north of Iran. Iran Biomed J. 2015; 19(4):233-9.[DOI:10.7508/ibj.2015.04.007]

[31] Alkhudhairy MK, Saki M, Seyed-Mohammadi S, Jomehzadeh N, Khoshnood S, Moradzadeh M, et al. Integron frequency of Escherichia coli strains from patients with urinary tract infection in Southwest of Iran. J Acute Dis. 2019; 8(3):113-7. [DOI:10.4103/2221-6189.259110]

[32] Rezaee MA, Sheikhalizadeh V, Hasani A. Detection of integrons among multi-drug resistant Escherichia coli strains isolated from clinical specimens in Northern West of Iran. Braz J Microbiol. 2011; 42(4):1308-13. [DOI:10.1590/S1517-83822011000400010]

[33] Falakian Z, Nikokar I, Nafisi M, Karimi A, Validi M. Frequency of class 1 integrons among escherichia coli isolates of patients with urinary tract infection. Iran J Clin Infect Dis. 2011; 6(4):157-60. [Link]

[34] Nojoomi F, Vafaee M, Rajabi Vardanjani H. The relationship between class I and II integrons and antibiotic resistance among Escherichia coli isolates from urinary tract infections. Int J Enteric Pathog. 2018; 6(2):45-7. [DOI:10.15171/ijep.2018.12]

[35] Ahangarkani F, Rajabnia R, Shahandashti EF, Bagheri M, Ramez M. Frequency of class 1 integron in Escherichia coli strains isolated from patients with urinary tract infections in north of iran. Mater Sociomed. 2015; 27(1):10-2. [DOI:10.5455/msm.2014.27.10-12] [PMID] [PMCID]