Archive Of SID

Detection of sul_1, sul_2, and int_1 Genes in the Uropathogenic *Escherichia coli* Strains by Multiplex-PCR and their Antibiotic Susceptibility Patterns

Tabidehchi S[1], Amini K[2*], Moradli GH[2]

[1]Department of Microbiology, School of Basic Sciences, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran

[2]Assistant Professor, Department of Microbiology, School of Basic Sciences, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran

Abstract

Background: Uropathogenic *E. coli* is one of the most important etiologic agents of UTI. To date, resistance rate of uropathogenic *E. coli* against different antimicrobial agents is a global health concern. The present study aimed to detect sul_1, sul_2, and int_1 genes in the uropathogenic *E. coli* strains by Multiplex-PCR and their antibiotic susceptibility patterns.

Methods: This cross-sectional study was conducted in Tehran, Iran from March to July 2015. Antibiotic susceptibility test was performed by disk diffusion method. After biochemical and microbiological tests, all the isolates were tested regarding the presence of sul_1, sul_2, and int_1 genes by Multiplex-PCR.

Results: Overall, 60 (100%) *E. coli* strains were collected from 60 urine samples suspected to UTI. Distribution of sul_1, sul_2, and int_1 genes was 76.6%, 61.6%, and 43.3%, respectively.

Conclusion: The results of this study showed high antibiotic resistance, which is a serious health threat. Spread of integrons is one of the main causes of emergence of resistant strains.

Keywords: sul_1, sul_2, int_1, Uropathogenic *E. coli*, Multiplex-PCR, Antibiotic susceptibility

Sadra Med Sci J 2016; 4(3): 195-204
Received: Sep. 24th, 2015
Accepted: Jun. 21st, 2016

[*]Corresponding Author: **Amini K**, Department of Microbiology, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran, kamini@iau-saveh.ac.ir

www.SID.ir

Archive Of SID

مقاله پژوهشی
(Original Article)

مجـــــله علـــوم پزشکی صدرا
دوره ۴، شماره ۳، تابستان ۱۳۹۵، صفحات ۱۹۵ تا ۲۰۴
تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۴/۰۱ تاریخ دریافت: ۹۴/۰۷/۰۲

شناسایی ژن‌های *sul1*، *sul2* و *int1* در سویه های *اشریشیا کلی* یوروپاتوژنیک به روش Multiplex-PCR و تعیین الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی

سمن‌دخت تابیده چی[۱]، کیومرث امینی[۲*]، غلامعلی مرادلی[۲]

[۱]دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران
[۲]استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران

چکیده

زمینه و هدف: اوروپاتوژنیک اشریشیا کلی یکی از مهم‌ترین عوامل اتیولوژیک در ایجاد UTI می‌باشد. میزان مقاومت اوروپاتوژنیک اشریشیا کلی در مقابل عوامل ضد میکروبی مختلف امروزه یکی از نگرانی‌های بهداشت جهانی محسوب می‌شود. هدف از مطالعه حاضر، شناسایی ژن‌های *sul1*، *sul2* و *int1* در سویه‌های اشریشیا کلی یوروپاتوژنیک به روش Multiplex-PCR و تعیین الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی آن‌ها بود.

مواد و روش: این مطالعه توصیفی-مقطعی، در یک بازه زمانی ۵ ماهه از فروردین لغایت مرداد ۱۳۹۴ در تهران، ایران انجام شد. تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی بر اساس روش حساسیت آنتی‌بیوتیکی انجام شد. پس از انجام تست‌های روتین بیوشیمیایی و میکروبیولوژیکی، تمامی سویه ها از نظر وجود ژنهای*sul1*، *sul2* و *int1* با استفاده از روش Multiplex-PCR مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها: در مجموع، تعداد ۶۰(۱۰۰٪) سویه اشریشیا کلی از ۶۰ نمونه ادرار مشکوک به UTI جمع آوری شد. توزیع ژن‌های *sul1*، *sul2* و *int1* در Multiplex-PCR به ترتیب برابر ۷۶/۶ درصد، ۶۱/۶ درصد و ۴۳/۳ درصد بود.

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که روند مقاومت آنتی بیوتیکی رو به افزایش است که با ایجاد سویه‌های مقاوم به چند آنتی‌بیوتیک (MDR) که تهدیدی جدی برای سلامتی محسوب می‌شوند، مواجه خواهیم بود. انتشار اینتگرونهای مسئول مقاومت می‌تواند یکی از عوامل اصلی در بروز سویه‌های مقاوم باشد.

واژگان کلیدی: ژنهای *sul1*، *sul2* و *int1*، یوروپاتوژنیک *اشریشیاکلی*، حساسیت آنتی بیوتیکی

[*]نویسنده مسئول: **کیومرث امینی،** گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه، ساوه، ایران،kamini@iau-saveh.ac.ir

www.SID.ir

Archive Of SID

مقدمه

عفونت دستگاه ادراری (UTI) واژه‌ای عمومی بوده و به نوعی عفونت باکتریایی اطلاق می‌گردد که بر بخشی از دستگاه ادراری تأثیر می‌گذارد (۱). هنگامی که این عفونت، دستگاه ادراری تحتانی را مبتلا کند، عفونت مثانه یا سیستیت نامیده می‌شود. اما اگر بر دستگاه ادراری فوقانی تأثیر داشته باشد به آن پیلونفریت یا عفونت کلیه‌ها گفته می‌شود که هر کدام دارای علائم و عوارض جداگانه‌ایی می‌باشند. این علائم در سیستیت شامل؛ دفع ادرار همراه با درد، تکرر ادرار، اضطرار برای ادرار و سوزش ادراری می‌باشد. در حالی که علائم مربوط به پیلونفریت عبارتند از؛ تب و درد پهلو به همراه علائم مربوط به عفونت دستگاه ادراری تحتانی (۲). شیوع عفونت ادراری معمولاً در زنان نسبت به مردان بیشتر است. بطوری‌که نیمی از زنان در طول زندگی خود حداقل یکبار عفونت UTI را تجربه می‌کنند. عوامل خطرساز (Risk factors) عبارتند از: آناتومی بدن زن، مقاربت جنسی و سابقه خانوادگی می‌باشند (۳).

اشریشیا کلی (*E.coli*) باسیلی گرم منفی، متحرک، هوازی بی‌هوازی اختیاری و بدون اسپور می‌باشد. این ارگانیسم شایع‌ترین عامل عفونت دستگاه ادراری است که حدود ۹۰ درصد از تمامی عفونت‌های ادراری را به خود اختصاص می‌دهد (۵, ۴). افزایش مقاومت دارویی در سال‌های اخیر در بین پاتوژن‌ها بویژه عوامل مسبب UTI معضل بزرگی است که دلیل اصلی پیدایش سویه‌های مقاوم، بویژه سویه‌های مقاوم به چند دارو (MDR)، انتشار عوامل مقاومتی به سویه‌های حساس، افزایش هزینه‌های درمانی و شکست درمان(Drug therapeutic failure -DTF)، افزایش مرگ و میر می‌باشد(۷،۶). به عنوان مثال؛ دسته داروهای آنتی فولات شامل کوتریموکسازول و تری متوپریم که در گذشته‌ای نه چندان دور به عنوان داروی خط اول (First Choice) جهت درمان عفونت‌های UTI بودند، امروزه به دلیل بروز مقاومت سطح بالا(High Level Resistance-HLR) کاربرد بالینی زیادی ندارند (۸). سولفانامیدها به دلیل شباهت ساختمانی با پارا آمینو بنزوئیک اسید (PABA) بطور رقابتی آنزیم دی هیدرو پتروآت سنتتاز باکتریایی را که مسئول تبدیل کردن PABA به اسید دی هیدرو فولیک است، مهار می‌کنند در نتیجه اسید فولیک ساخته نمی‌شود. اسید فولیک (ویتامین B9) نوعی کوفاکتور در ساخت پورین‌ها، تیمیدین و DNA می‌باشد. در نتیجه سولفونامید ها با مهار سنتز DNA، سبب توقف رشد باکتری‌ها (باکتریواستاتیک) می‌شوند (۱۰،۹). کد شدن ژن‌های پلاسمیدی *sul* شامل؛ sul_1، sul_2 و sul_3 سبب بروز مقاومت به سولفونامیدها می‌گردد. آنزیم دی هیدرو پتروآت سنتتاز باکتریایی حاصل از کد شدن ژن‌های مذبور شباهت کمی را به PABA از خود نشان می‌دهد (KM ~۰,۶). مشخص شده که محصول ژن sul_2 توانایی تشخیص سوبسترای نرمال PABA را از بازدارنده (Inhibitor) دارد. همچنین مطالعات نشان داده است که شیوع ژن sul_2 بیشتر از ژن sul_1 می‌باشد (۱۲،۱۱). تحقیقات اخیر نشان داده است که روند بروز مقاومت با انتقال ژن‌های دخیل در مقاومت آنتی بیوتیکی رو به رشد است (۱۳). اینتگرون مکانیسمی است که برای انتقال ژنهای مقاومتی علی رقم کونژوگاسیون، ترانسداکسیون، فاژ، پلاسمید و ترانسپوزون معرفی گردید. اینتگرون ها عناصر ژنتیکی متحرک (Mobile Genetic Elements-MGE) هستند که با جایگیری در پلاسمیدها، کروموزوم‌ها و ترانسپوزون‌ها، ژنهای مقاومتی موجود در کاست ژنی را حمل می‌کنند. این عناصر بر اساس تفاوت در ژن اینتگراز، به کلاس‌های مختلفی تقسیم می‌شوند که شامل Int_1، Int_2، Int_3 و Int_4 می‌باشند. اکثر سویه‌های دارای مقاومت چندگانه (MDR) دارای اینتگرون کلاس ۱ هستند (Int1) که بر روی پلاسمید یا ترانسپوزون مستقر بوده و بنابراین توان انتشار بالایی را دارد. ژن sul_1 بر روی کلاس یک اینتگرون قرار دارد، اما ژن‌های متالوبتالاکتاماز(MBLs) بر روی کلاس سه اینتگرون ها جای می‌گیرند. کلاس دو این عناصر نیز در

www.SID.ir

Archive Of SID

ترانسپوزون Tn-7 قرار دارند(۱۴،۱۵). در سال‌های اخیر ظهور سویه‌های مقاوم به چند دارو(MDR) بویژه بر علیه آنتی بیوتیک‌های رایج، نگرانی‌های فراوانی را در جوامع پزشکی به دلیل شکست درمانی و هزینه‌های بالای درمان پدید آورده است. بنابراین؛ داشتن اطلاعات در مورد حساسیت آنتی‌بیوتیکی پاتوژن‌های شایع، اطلاعات مفیدی را در مورد راهکارهای درمانی و اقدامات کنترلی به همراه خواهد داشت. لذا، هدف از مطالعه پیش رو تعیین الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی و بررسی وجود ژن‌های مقاومت به سولفونامید ها(*sul1* و *sul2*) و کلاس یک اینتگرون (*int1*) در میان سویه های اشریشیا کلی یوروپاتوژنیک (UPEC) با استفاده از روش Multiplex-PCR بود.

مواد و روش

این مطالعه توصیفی-مقطعی (Cross-sectional) از فروردین لغایت مرداد سال ۱۳۹۴ تعداد ۶۰ نمونه ادراری به صورت کاملاً تصادفی از افراد مبتلا به عفونت دستگاه ادراری از مراکز مختلف درمانی واقع در شهر تهران جمع‌آوری شد.

نمونه‌های دارای 10^5 یا بیشتر از باکتری به عنوان عفونت ادراری در نظر گرفته شد. میانگین سنی بیماران در این مطالعه ۴۵±۲۳ سال بود. نمونه‌ها بر روی محیط ائوزین متیلن بلو آگار(مرک، آلمان) کشت داده و به آزمایشگاه میکروب شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه منتقل شدند. تمامی نمونه‌ها با استفاده از تست‌های استاندارد بیوشیمیایی و میکروبیولوژیکی نظیر اکسیداز، احیای نیترات، سیمون سیترات، واکنش TSI، اوره آز، اندول، حرکت، MR/VP و لیزین دکربوکسیلاز (مرک، آلمان) تعیین هویت شدند. به منظور تایید مولکولی سویه‌های جدا شده، تکثیر ژن 16sr RNA انجام گرفت. جدایه‌های تعیین هویت شده در محیط عصاره قلب-مغز آگار(BHI)(مرک، آلمان) حاوی ۱۵٪ گلیسرول کشت و در ۷۰-درجه سلسیوس نگهداری شدند تا در مراحل بعدی کار مورد استفاده قرار گیرند.

پروفایل حساسیت آنتی‌بیوتیکی بر روی محیط مولر هینتون آگار (مرک، آلمان) بر اساس دستورالعمل استاندارد آزمایشگاه و بالین(CLSI., 2013) (۱۶) و با استفاده از روش انتشار از دیسک برای آنتی بیوتیک‌های (تهیه شده از شرکت Mast، انگلیس)؛ تریمتوپریم – سولفامتوکسازول (۲۵µg)، نیتروفورانتوئین (۳۰۰µg)، کلرامفنیکل (۳۰µg) ، سفکسیم (۵µg)، تازوباکتام – پیپراسیلین (۱۰۰/۱۰ µg)، آموکسی سیلین (۲۵µg) ، تتراسیکلین (µg۳۰)، سفتریاکسون (۳۰µg)، آمیکاسین (۳۰µg)، کلیستین (۱۰µg)، سفتازیدیم (۳۰µg)، سیپروفلوکساسین (۵ µg)، جنتامایسین (۱۰ µg)، سیپروفلوکساسین(5µg) و ایمی‌پنم (10µg) انجام شد (جدول ۲). در مطالعه پیش رو از سویه استاندارد اشریشیا کلی ATCC ۲۵۹۲۳ به عنوان سویه مثبت رفرانس و از سویه پسودوموناس آئروژینوزا COL-1 به عنوان سویه کنترل منفی استفاده شد.

به منظور تکثیر ژن‌های مقاومت به سولفونامید ها (*sul1* و *sul2*) و کلاس یک اینتگرون (*int1*)، ابتدا DNA ژنومی سویه‌ها با استفاده از کیت (CinnaPure-DNA (Cell culture, Tissues, Gram negative Bacteria and CSF (سیناکلون، ایران) استخراج گردید. جهت تایید درجه خلوص DNA استخراج شده از دستگاه بیوفتومتر(Bio-Rad, USA) استفاده گردید. به منظور شناسایی ژن‌های مقاومت به سولفونامید ها (*sul1* و *sul2*) و کلاس یک اینتگرون (*int1*) از آغازگرهای اختصاصی استفاده شد (جدول۱) (۱۷) . پس از BLAST آغازگرهای انتخاب شده در سایت NCBI، واکنش Multiplex-PCR به حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۵ میکرولیتر PCR master mix 5X (سیناکلون، ایران) حاوی Taq DNA polymerase (0.05 U/µl)، $MgCl_2$ (3 mM)، dNTPs (0.4mM)، ۰/۸ میکرولیتر از هر یک از پرایمرها به غلظت ۰/۸ میکرومولار، ۰/۷ میکرولیتر از DNA الگو (۱۰ نانو گرم) و ۱۶/۱ میکرولیتر آب دوبار تقطیر استریل با استفاده از

www.SID.ir

Archive Of SID

گرادیانت ترموسایکلر(اپندورف، آلمان) برای ۳۵ سیکل به صورت زیر انجام گرفت؛ مرحله واسرشتگی در دمای ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۴۰ ثانیه، مرحله اتصال پرایمرها در ۶۶ درجه سلسیوس به مدت ۶۰ ثانیه و مرحله طویل سازی در ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۶۰ ثانیه. در پایان، محصولات واکنش Multiplex-PCR در ژل آگارز ۲٪ حاوی اتیدیوم بروماید (۰/۵ µg/ml) در مقایسه با سویه استاندار اشریشیا کلی ATCC ۲۵۹۲۳ الکتروفورز گردید.

جدول۱: توالی الیگونوکلئوتیدی آغازگرهای مورد استفاده

ژن هدف	Oligonucleotide sequence (5′→3′)	طول باند (bp)
16SrRNA	F= 5-GCGGACGGGTGAGTAATGT-3 R= 5- TCATCCTCTCAGACCAGCTA-3	۲۰۰
Sul_1	F= 5 -CGGCGTGGGCTACCTGAACG-3 R= 5-GCCGATCGCGTGAAGTTCCG-3	۴۳۳
Sul_2	F= 5 -GCGCTCAAGGCAGATGGCATT-3 R= 5- GGGTTTGATACCGGCACCCGT-3	۲۹۳
Int_1	F= 5- GCCACTGCGCCGTTACCACC-3 R= 5-GGCCGAGCAGATCCTGCACG-3	۸۹۸

یافته‌ها

در مطالعه حاضر از تمامی ۶۰ نمونه گردآوری شده و مشکوک به عفونت ادراری با اشریشیا کلی، تعداد ۶۰ سویه (۱۰۰٪) بدست آمد که ۲۷ (۴۵٪) مورد از مردان و ۳۳ (۵۵٪) مورد از زنان بود. نتایج تست آنتی‌بیوگرام نشان داد که بیشترین میزان مقاوت آنتی‌بیوتیکی سویه‌ها مربوط به کلرامفنیکل (۹۶/۷٪) و ایمی‌پنم (۰/۰٪) بود (جدول۲). توزیع ژن‌های Sul_1، Sul_2 و Int_1 در Multiplex-PCR نشان داد (تصویر شماره ۱) که از مجموع ۶۰ اشریشیاکلی جدا شده از نمونه ادراری به ترتیب برابر ۷۱/۶ درصد (N=43)، ۶۱/۶ درصد (N=37) و ۴۳/۳ درصد (N=26) بود.

بحث

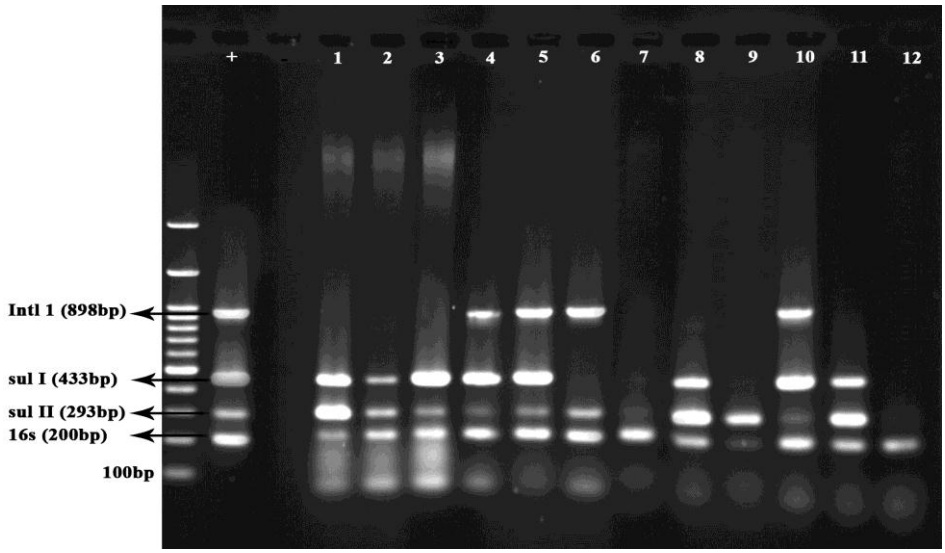
سطح مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین سویه‌های اشریشیاکلی رو به افزایش است و این امر تهدیدی جدی برای سلامتی در ایران و جهان محسوب می‌شود. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که که میزان جداسازی اشریشیاکلی در زنان مبتلا به UTI به دلیل شرایط آناتومیک (کوتاهی پیشابراه و نزدیکی دهانه خارجی آن با واژن و مقعد در زنان) نسبت به مردان بالاتر می‌باشد که این نتایج با مطالعه نوری فرد و همکاران همخوانی دارد (۱۸). نتایج تست Kirby-Bauer disk diffusion test برای چهارده آنتی‌بیوتیک نشان داد که هیچکدام از سویه‌ها (۰٪) حساسیتی به سفیکسیم و کلرامفنیکل نداشته و این در صورتی که تمامی این ایزوله‌ها (۱۰۰٪) دارای فنوتیپ حساسیت نسبت به ایمی‌پنم بودند. بنابراین ایمی‌پنم را می توان به عنوان Therapeutic Choice این عفونت انتخاب کرد. این نتایج با سایر مطالعات از قبیل ماتای، تاریک و گولسون (Mattai، Tariq، Gulsun) همخوانی دارد. همچنین هیچکدام از سویه‌های تحت مطالعه (۰٪) مقاومتی را نسبت به ایمی‌پنم و سفتریاکسون از خود نشان ندادند. بنابراین، می‌توان اذعان کرد که با توجه به روند رو به رشد مقاومت آنتی‌بیوتیکی، دو آنتی‌بیوتیک مذکور هنوز جایگاه خود را در درمان عفونت UTI حفظ کرده‌اند. یافته‌های پیش رو با سایر مطالعات از قبیل نخعی مقدم، صفرپوردهکردی، سید جوادی، متائی (Mattai) و ریجاویک (Rijavec) همخوانی دارد (۲۵-۱۹).

www.SID.ir

Archive Of SID

جدول ۲: الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی در سویه های تحت مطالعه

آنتی بیوتیک	نتایج آزمون آنتی بیوگرام		
	تعداد (٪) سویه های حساس(S)	تعداد (٪) سویه های نیمه حساس(I)	تعداد (٪) سویه های مقاوم(R)
تری متوپریم – سولفامتوکسازول	۱۶ (۲۶٪/۷)	۱۰(٪.۱۶/۶)	۳۴ (٪.۵۶/۷)
نیتروفورانتوئین	۴(٪.۶/۶)	۵(٪.۸/۳)	۵۱(٪.۸۵)
کلرامفنیکل	۰(٪.۰,۰)	۲(٪.۳/۳)	۵۸ (٪.۹۶/۷)
سفکسیم	۰(٪.۰/۰)	۴۴(٪.۷۳/۳)	۱۶(٪.۲۶/۶)
تازوباکتام - پیپراسیلین	۳۴(٪.۵۶/۶)	۱۳(٪.۲۱/۶)	۱۳(٪.۲۱/۶)
آموکسی سیلین	۷ (٪.۱۱/۷)	۲(٪.۳/۳)	۵۱ (٪.۸۵)
تتراسیکلین	۳۸ (٪.۶۳/۴)	۴(٪.۶/۶)	۱۸ (٪.۳۰)
سفتریاکسون	۴۱(٪.۶۸/۳)	۱۹(٪.۳۱/۶)	۰(٪.۰/۰)
آمیکاسین	۳۶(٪.۶۰)	۲۰(٪.۳۳/۳)	۴(۶/۶)
سفتازیدیم	۳۹(٪.۶۵)	۱۶(٪.۲۶/۶)	۵(٪.۳/۸)
سیپروفلوکساسین	۳۵(٪.۵۸/۳)	۴(٪.۶/۶)	۲۱ (٪.۳۵)
جنتامایسین	۱۵ (٪.۲۵)	۱۰(٪.۱۶/۶)	۳۵ (٪.۵۸/۳)
سیپروفلوکساسین	۵۳(٪.۸۸/۳)	۵(٪.۸/۳)	۲(٪.۳/۳)
ایمی پنم	۶۰(٪.۱۰۰)	۰(٪.۰,۰)	۰(٪.۰/۰)



شکل ۱: نتایج آزمون Multiplex-PCR جهت تعیین ژنهای تحت مطالعه. مارکر 100bp (سیناژن، ایران)، استاندارد *اشریشیا کلی* ATCC ۲۵۹۲۳ به عنوان سویه کنترل مثبت و سویه پسودوموناس آئروژینوزا COL-1 به عنوان سویه کنترل منفی.

www.SID.ir

Archive Of SID

نتایج آزمون Multiplex-PCR نشان داد که توزیع ژن های Sul_1، Sul_2 و Int_1 به ترتیب برابر ۷۱/۶ درصد (N=۴۳)، ۶۱/۶ درصد (N=۳۷) و ۴۳/۳ درصد (N=۲۶) می‌باشد. همان‌طور که محرز می‌باشد فراوانی ژن Sul_1بیشتر از ژن Sul_2 می‌باشد که هم ارز با مطالعه صفرپور دهکردی و همکاران در سال ۱۳۹۳ می‌باشد (۲۳). بزاززاده و همکاران نتیجه گرفتند که ژن sul_1 عمدتاً همراه با اینتگرون کلاس I بوده اما ژن sul_2 اکثراً بر روی پلاسمید های کوچه ناسازگار $incQ$ یا pBP_1 قرار گرفته‌اند. بدلیل پراکندگی بیشتر ژن sul_3 در خوک و گزارش کمتر آن در انسان مورد بررسی قرار نگرفت (۲۶). این محققین در مطالعه خود عنوان کردند که به دلیل حضور ژن sul_2 بر روی پلاسمید، حمل همزمان دیگر ژن‌های مقاومت به آنتی‌بیوتیک، انتشار همزمان چندین نوع ژن مقاومت و بنابراین ایجاد سویه‌های MDR پررنگ‌تر است. علت فراوانی بیشتر (۸۰٪) ژن sul_2 در مطالعه بزاززاده در مقایسه با مطالعه پیش رو می‌تواند به دلیل حجم نمونه (۱۰۰ نمونه در مقابل ۶۰ ایزوله) و محل انجام مطالعه (شهرستان خوی در مقایسه با تهران) و بنابراین اختلافات جغرافیایی و سطح بهداشت و کنترل عفونت در دو منطقه باشد. همچنین علت اختلاف موجود در مطالعه بیم (Beam) و همکاران، الاقامی (Al-Agamy) و همکاران، هامروم (Hammerum) و همکاران و کولجالگ (Koljalg) و همکاران می‌توان در نتیجه اختلافات جغرافیایی، نوع و تعداد نمونه و سال نمونه‌گیری باشد (۳۰-۲۷). نتایج نشان داد که فراوانی اینتگرون کلاس I(int_1) برابر ۴۳/۳ درصد بود که بیشتر از مطالعه سیدجوادی و همکاران (۲۰/۵ درصد) بود (۲۴) و این اختلاف می‌تواند به سال انجام مطالعه و حجم نمونه مربوط باشد. نقش اینتگرون‌ها در مقاومت آنتی‌بیوتیکی پوشیده نیست و این عناصر متحرک ژنتیکی دارای نقش مهمی در ایجاد سویه‌های MDR دارند. شیوع پایین اینتگرون می‌تواند به دلیل حضور کاست‌های ژنی مقاومت روی عناصر دیگری مانند ترانسپوزون و فاژ باشد (۲۴). همچنین این محققین نشان دادند که ارتباط معناداری بین حضور اینتگرون و مقاومت آنتی‌بیوتیکی از قبیل جنتامایسین، سفالوتین و نالیدیکسیک اسید وجود دارد که ناشی از حضور ژن عامل مقاومت به این آنتی‌بیوتیک ها در داخل اینتگرون می‌باشد (۲۴).

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که روند مقاومت آنتی‌بیوتیکی رو به افزایش است که با ایجاد سویه‌های مقاوم به چند آنتی‌بیوتیک (MDR) که تهدیدی جدی برای سلامتی محسوب می‌شوند، مواجه خواهیم بود. همچنین الگوی مقاومت هر منطقه می‌تواند متفاوت باشد، لذا شناسایی دقیق سویه‌های مقاوم هر منطقه، انجام آنتی‌بیوگرام، آموزش صحیح کارکنان آزمایشگاهی در تفسیر صحیح نتایج آنتی‌بیوگرام و ارائه گزارشی دقیق به پزشک می‌تواند سبب کاهش میزان مرگ و میر، کاهش هزینه درمان، جلوگیری از شکست درمانی و کاهش انتشار مقاومت گردد. این مطالعه نشان داد که انتشار اینتگرون‌های مسئول مقاومت می‌تواند یکی از عوامل اصلی در بروز سویه‌های مقاوم باشد.

تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل پایان نامه داشنجویی دوره کارشناسی ارشد مصوب در شورای پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه بوده است. همچنین نویسندگان مقاله بر خود لازم می دانند که از همکاران و کارکنان محترم بخش میکروبیولوژی آزمایشگاه گروه پژوهشی پاسارگاد تقدیر و تشکر نمایند.

منابع

1. Foxman B. Epidemiology of urinary tract infections. In: morbidity and economic costs. Disease-a-Month 2000; 49. 53-70.

www.SID.ir

Archive Of SID

2. Riccabona M. Urinary tract infections in children. Current Opinions in Urology 2003; 13(1):59-62.

3. Foxman B, Barlow R, D'Arcy H, Gillespie B, Sobel JD. Urinary tract infection: self-reported incidence and associated costs. Annals of epidemiology 2000; 10(8):509-15.

4. Kumar Y, Sood S, Sharma A, Mani KR. Antibiogram and characterization of resistance markers among Escherichia coli Isolates from urinary tract infections. The Journal of Infection in Developing Countries 2013; 7(07):513-519.

5. Naveen R, Mathai E. Some virulence characteristics of uropathogenic Escherichia coli in different patient groups. Indian Journal of Medical Research 2005; 122(2):143.

6. Sanchez GV, Master RN, Karlowsky JA, Bordon JM. In vitro antimicrobial resistance of urinary Escherichia coli isolates among U.S. outpatients from 2000 to 2010. Antimicrobial Agents Chemotherapy 2012; 56(4):2181-2183.

7. Gold HS, Moelleing RC. Antimicrobial-drug resistance. New England Journal of Medicine 1996; 335(19):1445-53.

8. Enne VI, Livermore DM, Stephens P, Hall LM. Persistence of sulphonamide resistance in Escherichia coli in the UK despite national prescribing restriction. Lancet 2001; 357: 1325–28.

9. Skold O. Sulfonamide resistance: mechanisms and trends. Drug Resistance Updates 2000; 3: 155–160.

10. Roland S, Ferone R, Harvey RJ, Styles VL, Morrison RW. The characteristics and significance of sulfonamides as substrates for Escherichia coli dihydropteroate synthase. The Journal of Biological Chemistry 1979; 254: 10337–10345.

11. Hammerum A, Sandvaye D, Andersen SR. Detection of sul1, sul2, sul3, in sulfonamide resistant Escherichia coli isolates obtained from healthy humans pork and pigs in Denmark. International Journal of Food Microbiology 2006; 106: 235-239.

12. Wu S, Dalsgard A, Hammerum AM, Porsbo L, Jensen LB. Prevalence and characterization of plasmids carring sulfonamide resistance genes. Among E.coli from pigs, pig carcasses and human. Acta Veterinaria Scandinavica 2010; 52: 1-7.

13. Gold HS, Moellering RC. Antimicrobial-drug resistance. New England Journal of Medicine 1996; 335 (19): 1445-53.

14. Stokes HT, Hall RM. A novel family of potentially mobile DNA elements encoding site-specific gene-integration functions: integrons. Molecular microbiology 1989; 3(12):1669-83.

15. Ploy MC, Lambert T, Couty JP, Denis F. Integrons: an antibiotic resistance gene capture and expression system. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine 2000; 38: 483–87.

16. Clinical Laboratory Standards Institute, "Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, twenty-first informational supplement.

www.SID.ir

Archive Of SID

22. Nakhaii Moghadam M, Moshrefi SH. Determination of Urinary antibiotic resistance pattern in E. coli urinary isolates of and Prevalence of broad spectrum beta-lactamases among them. Journal of Sabzevar University of Medical Sciences 2009; 16(4): 228-233 (Persian).

23. Dormanesh B, Mirnejad R, Khodaverdi Daryan A, Momtaz H, Yahaghi E, Safarpour Dehkordi F, et al. Evaluation of virulence factors, antibiotic resistance and serogroups determination uropathogenic Escherichia coli isolated from children with pyelonephritis and cystitis. Iranian Journal of Medical Microbiology 2013; 7(2): 27-39. (Persian)

24. Eslami G, Seyed Javadi S, Goudarzi H, Fallah F, Goudarzi M. Prevalence of Integron in Escherichia coli and Klebsiella in children with Urinary tract infection multi-drug resistant. Research in Medicine 2010; 34(1): 61-65.(Persian)

25. Rijavec M, Starcic Erjavec M, Ambrozic Avgustin J, Reissbrodt R, Fruth A, Krizan-Hergouth V, et al. High prevalence of multidrug resistance and ran dom distribution of mobile genetic elements among uropathogenic Escherichia coli (UPEC) of the four major phylogenetic groups. Curr Microbiol 2006; 53: 158–62.

26. Bazaz Zadeh N, Akhavan Sepehi A, Nowroozi J. Detection of sul2 in Escherichia coli isolated from patients with urinary tract infection admitted to clinical centers of Khoy city. The Scientific Journal of University of

M02-A10 and M07-A8," CLSI Document M100-S21, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pa, USA, 2013.

17. Kerrn MB, Klemmensen T, Frimodt-Moller N, Espersen F. Susceptibility of Danish Escherichia coli strains isolated from urinary tract infections and bacteremia, and distribution of sul genes conferring Sulfonamide resistance. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 2002; 50: 513–516.

18. Hamidi Farahani R, Tajik AR, Nourifard M, Keshavarze A, Taghipour N, Hosseini Shokouh SJ. Antibiotic resistance pattern in E. coli in urine culture sample Research Center Laboratory 660 Army in 2008-2009. Journal of Army University of Medical Sciences 2012; 10(1): 45-49. (Persian)

19. Mathai E, Grape M, Kronvall G. Integrons and multidrug resistance among Escherichia coli causing community acquired urinary tract infection in southern India. Acta Pathologica, Microbiologica, et Immunologica Scandinavica 2004; 112: 159–64.

20. Tariq N, Jaffery T, Ayub R, Alam AY, Javid MH, Shafique S. Frequency and antimicrobial susceptibility of aerobic bacterial vaginal isolates. Journal of the College of Physicians and Surgeons Pakistan 2006; 16: 196–99.

21. Gulsun S, Oguzoglu N, Inan A, Ceran N. The virulence factors and antibiotic sensitivities of Escherichia coli isolated from recurrent urinary tract infections. Saudi medical journal 2005; 26: 1755–58.

www.SID.ir

Archive Of SID

Medical Science 2013; 21(88): 76-83. (Persian)

27. Bean D, Livermore DM, Hall L, Papa I. Resistance among Escherichia coli to sulfonamides and other antimicrobials now little used in man. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 2005; 56: 962-966.

28. Al-Agamy M. Molecular resistance mechanisms to older antimicrobial agents in Escherichia coli isolates. African Journal of Microbiology Research 2012; 6: 106-111.

29. Wu S, Dalsgard A, Hammerum AM, Porsbo L, Jensen LB. Prevalence and characterization of plasmids carrying sulfonamide resistance genes. Among E.coli from pigs, pig carcasses and human. Acta Veterinaria Scandinavica. 2010; 52: 1-7.

30. Koljalg S, Trusaluk K, Vainumae I, Stsepetova J, Mikelsaar M. Presistance of Escherichia coli colones and phenotype and genotypic antibiotic resistance in recurrent urinary tract infections in childhood. Journal of Clinical Microbiology 2009; 47: 99-105.

Cite this article as:
Tabidehchi S, Amini K, Moradli GH. Detection of sul1, sul2, and int1 Genes in the Uropathogenic Escherichia coli Strains by Multiplex-PCR and their Antibiotic Susceptibility Patterns. Sadra Med Sci J 2016; 4(3): 195-204.

www.SID.ir