

## Detection of *sul1*, *sul2*, and *int1* Genes in the Uropathogenic *Escherichia coli* Strains by Multiplex-PCR and their Antibiotic Susceptibility Patterns

Tabidehchi S<sup>1</sup>, Amini K<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Microbiology, School of Basic Sciences, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran

<sup>2</sup>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 *sul1*, *sul2*, and *int1* 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 *sul1*, *sul2*, and *int1* genes by Multiplex-PCR.

**Results:** Overall, 60 (100%) *E. coli* strains were collected from 60 urine samples suspected to UTI. Distribution of *sul1*, *sul2*, and *int1* 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:** *sul1*, *sul2*, *int1*, 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

مجله علوم پزشکی صدرا

دوره ۴، شماره ۳، تابستان ۱۳۹۵، صفحات ۱۹۵ تا ۲۰۴

تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۴/۰۱ تاریخ دریافت: ۹۴/۰۷/۰۲

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

سمن دخت تابیده چی<sup>۱</sup>، کیومرث امینی<sup>\*۲</sup><sup>۱</sup>دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران<sup>۲</sup>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 *int1* و *sul2*، *sul1* در سویه‌های اشریشیا کلی یوروپاتوژنیک به روش Multiplex-PCR و تعیین الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی 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 سویه‌ها از نظر وجود ژن‌های *int1* و *sul2*، *sul1* 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 جمع‌آوری شد. توزیع ژن‌های *sul1*، *int1* و *sul2* 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 آنتی‌بیوتیکی 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 *int1* و *sul2*، *sul1*، یوروپاتوژنیک اشریشیا کلی، حساسیت آنتی‌بیوتیکی

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

## مقدمه

زیادی ندارند (۸). سولفونامیدها به دلیل شباهت ساختمانی با پارآمینو بنزوئیک اسید (PABA) بطور رقابتی آنزیم دی هیدرو پتروآت سنتتاز باکتریایی را که مسئول تبدیل کردن PABA به اسید دی هیدرو فولیک است، مهار می کنند در نتیجه اسید فولیک ساخته نمی شود. اسید فولیک (ویتامین B9) نوعی کوفاکتور در ساخت پورین ها، تیمیدین و DNA می باشد. در نتیجه سولفونامیدها با مهار سنتز DNA، سبب توقف رشد باکتریها (باکتریواستاتیک) می شوند (۱۰،۹). کد شدن ژن های پلاسمیدی *sul* شامل؛ *sul1*، *sul2* و *sul3* سبب بروز مقاومت به سولفونامیدها می گردد. آنزیم دی هیدرو پتروآت سنتتاز باکتریایی حاصل از کد شدن ژن های مذکور شباهت کمی را به PABA از خود نشان می دهد (KM ۰،۶). مشخص شده که محصول ژن *sul2* توانایی تشخیص سوبسترای نرمال PABA را از بازدارنده (Inhibitor) دارد. همچنین مطالعات نشان داده است که شیوع ژن *sul2* بیشتر از ژن *sul1* می باشد (۱۲،۱۱). تحقیقات اخیر نشان داده است که روند بروز مقاومت با انتقال ژن های دخیل در مقاومت آنتی بیوتیکی رو به رشد است (۱۳). اینتگرون مکانیسمی است که برای انتقال ژن های 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، ژن های مقاومتی موجود در کاست ژنی را حمل می کنند. این عناصر بر اساس تفاوت در ژن اینتگراز، به کلاس های مختلفی تقسیم می شوند که شامل *Int1*، *Int2*، *Int3* و *Int4* می باشند. اکثر سویه های 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 *sul1* بر روی کلاس یک اینتگرون قرار دارد، اما ژن های متالوبتالاکتاماز (MBLS) بر روی کلاس سه اینتگرون ها جای می گیرند. کلاس دو این عناصر نیز در

عفونت دستگاه ادراری (UTI) واژه ای عمومی بوده و به نوعی عفونت باکتریایی اطلاق می گردد که بر بخشی از دستگاه ادراری تأثیر می گذارد (۱). هنگامی که این عفونت، دستگاه ادراری تحتانی را مبتلا کند، عفونت مثانه یا سیستیت نامیده می شود. اما اگر بر دستگاه ادراری فوقانی تأثیر داشته باشد به آن پیلونفریت یا عفونت کلیه ها گفته می شود که هر کدام دارای علائم و عوارض جداگانه ای می باشند. این علائم در سیستیت شامل؛ دفع ادرار همراه با درد، تکرر ادرار، اضطراب برای ادرار و سوزش ادراری می باشد. 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. بطوری که نیمی از زنان در طول زندگی خود حداقل یکبار عفونت UTI را تجربه می کنند. عوامل خطر ساز (Risk factors) عبارتند از: آناتومی بدن زن، مقاربت جنسی و سابقه خانوادگی می باشند (۳).

اشریشیا کلی (*E.coli*) باسیلی گرم منفی، متحرک، هوازی بی هوازی اختیاری و بدون اسپور می باشد. این ارگانیسم شایع ترین عامل عفونت دستگاه ادراری است که حدود ۹۰ درصد از تمامی عفونت های ادراری را به خود اختصاص می دهد (۴، ۵). افزایش مقاومت دارویی در سال های اخیر در بین پاتوژن ها بویژه عوامل مسبب UTI معضل بزرگی است که دلیل اصلی پیدایش سویه های مقاوم، بویژه سویه های مقاوم به چند دارو (MDR)، انتشار عوامل مقاومتی به سویه های حساس، افزایش هزینه های درمانی و شکست درمان (Drug therapeutic failure -DTF)، افزایش مرگ و میر می باشد (۶، ۷). به عنوان مثال؛ دسته داروهای آنتی فولات شامل کوتریموکسازول و تری متوپریم که در گذشته ای نه چندان دور به عنوان داروی خط اول (First Choice) جهت درمان عفونت های UTI بودند، امروزه به دلیل بروز مقاومت سطح بالا (High Level Resistance-HLR) کاربرد بالینی

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 آنتی‌بیوتیک‌های (تهیه شده از شرکت Mast، انگلیس)؛ تریمتوپریم - سولفامتوکسازول (۲۵μg)، نیتروفورانتوئین (۳۰۰μg)، کلرامفنیکل (۳۰μg)، سفکسیم (۵μg)، تازوباکتام - پیراسیلین (۱۰/۱۰ μg)، آموکسی سیلین (۲۵μg)، تتراسیکلین (۳۰μg)، سفتریاکسون (۳۰μg)، آمیکاسین (۳۰μg)، کلیستین (۱۰μg)، سفنازیدیم (۳۰μg)، سیپروفلوکساسین (۵ μg)، جنتامایسین (۱۰ μg)، سیپروفلوکساسین (5μg) و ایمپنم (10μg) انجام شد (جدول ۲). در مطالعه پیش رو از سویه استاندارد اشریشیا کلی ۲۵۹۲۳ ATCC به عنوان سویه مثبت رفرانس و از سویه پseudomonas آئروژینوزا COL-1 به عنوان سویه کنترل منفی استفاده شد.

به منظور تکثیر ژن‌های مقاومت به سولفونامیدها (*sul1*) و *sul2* و کلاس یک اینتگرون (*int1*)، ابتدا DNA ژنومی سویه‌ها با استفاده از کیت (Cell) CinnaPure-DNA 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 سولفونامیدها (*sul1* و *sul2*) و کلاس یک اینتگرون (*int1*) از آغازگرهای اختصاصی استفاده شد (جدول ۱) (۱۷). پس از BLAST آغازگرهای انتخاب شده در سایت NCBI، واکنش Multiplex-PCR به حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۵ میکرولیتر 5X PCR master mix (سیناکلون، ایران) حاوی 0.05 Taq DNA polymerase (0.4mM) و 3 mM MgCl<sub>2</sub> (U/μl) و 0.۸ 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

ترانسپوزون Tn-7 قرار دارند (۱۴،۱۵). در سال‌های اخیر ظهور سویه‌های مقاوم به چند دارو (MDR) بویژه بر علیه آنتی‌بیوتیک‌های 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 سولفونامیدها (*sul1* و *sul2*) و کلاس یک اینتگرون (*int1*) در میان سویه‌های 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 ۱۰<sup>۵</sup> یا بیشتر از باکتری به عنوان عفونت ادراری در نظر گرفته شد. میانگین سنی بیماران در این مطالعه ۲۳±۴۵ سال بود. نمونه‌ها بر روی محیط آئوزین 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 سترات، 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.

سازی در ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۶۰ ثانیه. در پایان، محصولات واکنش Multiplex-PCR در ژل آگارز ۰.۲٪ حاوی اتیدیوم بروماید (۰/۵ μg/ml) در مقایسه با سویه استاندارد اشیریشیا کلی ATCC ۲۵۹۲۳ الکتروفورز گردید.

گردانیت 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 طولی

جدول ۱: توالی الیگونوکلوئیدی آغازگرهای مورد استفاده

ژن هدف	Oligonucleotide sequence (5'→3')	طول باند (bp)
<i>16SrRNA</i>	F= 5-GCGGACGGGTGAGTAATGT-3 R= 5-TCATCCTCTCAGACCAGCTA-3	۲۰۰
<i>Sul1</i>	F= 5-CGGCGTGGGCTACCTGAACG-3 R= 5-GCCGATCGCGTGAAGTTCCG-3	۴۳۳
<i>Sul2</i>	F= 5-GCGCTCAAGGCAGATGGCATT-3 R= 5-GGGTTTGATACCGGCACCCGT-3	۲۹۳
<i>Int1</i>	F= 5-GCCACTGCGCCGTTACCACC-3 R= 5-GGCCGAGCAGATCCTGCACG-3	۸۹۸

و نزدیکی دهانه خارجی آن با واژن و مقعد در زنان) نسبت به مردان بالاتر می باشد که این نتایج با مطالعه نوری فرد و همکاران همخوانی دارد (۱۸). نتایج تست Kirby-Bauer disk diffusion test برای چهارده آنتی بیوتیک نشان داد که هیچکدام از سویه ها (۰٪) حساسیتی به سفیکسیم و کلرامفنیکل نداشته و این در صورتی که تمامی این ایزوله ها (۱۰۰٪) دارای فنوتیپ حساسیت نسبت به ایمی پنم بودند. بنابراین ایمی پنم را می توان به عنوان Therapeutic Choice این عفونت انتخاب کرد. این نتایج با سایر مطالعات از قبیل ماتای، تاریک و گولسون (Gulsun, Tariq, Mattai) همخوانی دارد. همچنین هیچکدام از سویه های تحت مطالعه (۰٪) مقاومتی را نسبت به ایمی پنم و سفتریاکسون از خود نشان ندادند. بنابراین، می توان اذعان کرد که با توجه به روند رو به رشد مقاومت آنتی بیوتیکی، دو آنتی بیوتیک مذکور هنوز جایگاه خود را در درمان عفونت UTI حفظ کرده اند. یافته های پیش رو با سایر مطالعات از قبیل نخعی مقدم، صفرپوردهکردی، سید جوادی، متائی (Mattai) و ریجاویک (Rijavec) همخوانی دارد (۲۵-۱۹).

#### یافته ها

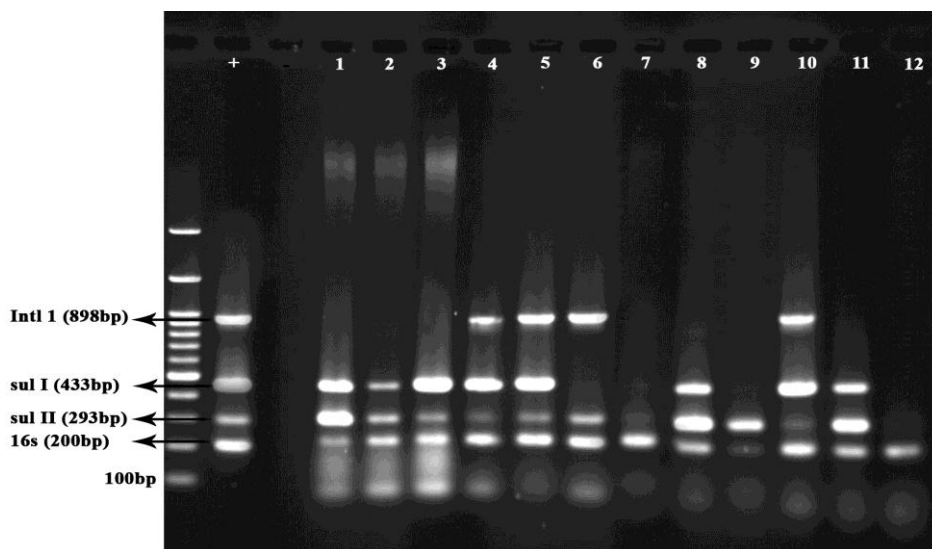
در مطالعه حاضر از تمامی ۶۰ نمونه گردآوری شده و مشکوک به عفونت ادراری با اشیریشیا کلی، تعداد ۶۰ سویه (۱۰۰٪) بدست آمد که ۲۷ (۴۵٪) مورد از مردان و ۳۳ (۵۵٪) مورد از زنان بود. نتایج تست آنتی بیوگرام نشان داد که بیشترین میزان مقاومت آنتی بیوتیکی سویه ها مربوط به کلرامفنیکل (۹۶/۷٪) و ایمی پنم (۰/۰٪) بود (جدول ۲). توزیع ژن های *Sul1*, *Sul2* و *Int1* در Multiplex-PCR نشان داد (تصویر شماره ۱) که از مجموع ۶۰ اشیریشیا کلی 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 آنتی بیوتیکی در بین سویه های اشیریشیا کلی رو به افزایش است و این امر تهدیدی جدی برای سلامتی در ایران و جهان محسوب می شود. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که که میزان جداسازی اشیریشیا کلی در زنان مبتلا به UTI به دلیل شرایط آناتومیک (کوتاهی پیشابراه

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

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



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

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 آنتی‌بیوتیک‌ها 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 دانشجویی دوره کارشناسی ارشد مصوب در شورای پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه بوده است. همچنین نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند 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

نتایج آزمون Multiplex-PCR نشان داد که توزیع ژن های *Sul1*، *Sul2* و *Int1* 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 *Sul1* بیشتر از ژن *Sul2* می‌باشد که هم ارز با مطالعه صفیپور دهکردی و همکاران در سال ۱۳۹۳ می‌باشد (۲۳). بزاززاده و همکاران نتیجه گرفتند که ژن *sul1* عمدتاً همراه با اینتگرون کلاس I بوده اما ژن *sul2* اکثراً بر روی پلاسمید های کوچک ناسازگار *incQ* یا *pBP1* قرار گرفته‌اند. بدلیل پراکندگی بیشتر ژن *sul3* 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 *sul2* 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 *sul2* 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 (۲۷-۳۰). نتایج نشان داد که فراوانی اینتگرون کلاس I (*int1*) 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

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 carrying 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.
- economic costs. *Disease-a-Month* 2000; 49: 53-70.
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. Antibigram 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.



- sensitivities of *Escherichia coli* isolated from recurrent urinary tract infections. *Saudi medical journal* 2005; 26: 1755–58.
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 Sepahi A, Nowroozi J. Detection of *sul2* in
  16. Clinical Laboratory Standards Institute, “Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, twenty-first informational supplement. M02-A10 and M07-A8,” CLSI Document M100-S21, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pa, USA, 2013.
  17. Kern 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

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. Persistence of *Escherichia coli* clones and phenotype and genotypic antibiotic resistance in recurrent urinary tract infections in childhood. *Journal of Clinical Microbiology* 2009; 47: 99-105.
- Escherichia coli isolated from patients with urinary tract infection admitted to clinical centers of Khoy city. *The Scientific Journal of University of 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.

Cite this article as:

Tabidehchi S, Amini K. 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.