مجلـه‌ی علمـی، پژوهشـی دانشـگاه علـوم پزشـکی زنجـان
دوره‌ی ۲۱، شماره‌ی ۸۸، آذر و دی ۱۳۹۲، صفحات ۷۶ تا ۸۳

ردیابی ژن *sul ۲* در *اشریشیاکلی* جداسازی شده از بیماران مبتلا به عفونت‌های ادراری مراجعه کننده به مراکز کلینیکی شهر خوی

دکتر جمیله نوروزی[۱]، دکتر عباس اخوان سپهی[۲]، نگار بزاززاده[۳]

نویسنده‌ی مسوول: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال bazzazzadeh_n۹۲@yahoo.com

دریافت: ۹۲/۲/۸ پذیرش: ۹۲/٤/۲٤

چکیده

زمینه و هدف: *مصرف گسترده‌ی کوتریموکسازول در درمان عفونت‌های مجاری ادراری و در عین حال استفاده‌ی نادرست از این دارو، منجر به پیدایش سویه‌های اشریشیاکلی مقاوم به آن شده است. با توجه به نقش ژن sul ۲ در ایجاد مقاومت نسبت به سولفونامیدها، مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی ژن sul ۲ در میان سویه‌های اشریشیاکلی جداسازی شده از بیماران مراجعه کننده به مراکز کلینیکی شهر خوی انجام گرفت.*

روش بررسی: *در این مطالعه، طی ٤ ماه، ۳۰۰ نمونه ادرار از بیماران سرپایی و بستری بیمارستان‌های شهر خوی جمع‌آوری و ۱۰۰ ایزوله اشریشیاکلی توسط آزمایش‌های بیوشیمیایی تایید شدند. در مرحله‌ی بعد تست تعیین حساسیت نسبت به ۱۰ آنتی‌بیوتیک منتخب توسط روش دیسک آگار دیفیوژن انجام شد. همچنین MIC و MBC آنتی‌بیوتیک کوتریموکسازول به روش برات میکرودیولشن برای سویه‌های مقاوم اشریشیاکلی به کوتریموکسازول سنجیده شد. روش PCR برای یافتن ژن sul ۲ در ایزوله‌های مقاوم انجام گردید.*

یافته‌ها: *از کل ۱۰۰ ایزوله اشریشیاکلی، ۷۱ ایزوله (۷۱ درصد) مقاوم به کوتریموکسازول بودند که ژن sul ۲ در ۵۷ ایزوله (۸۰ درصد) از آن‌ها مشاهده شد. این ژن در ایزوله‌های مقاوم به سولفونامیدها که هاله‌ی عدم رشد را تشکیل نداده بودند، مشاهده شد. همچنین در ایزوله‌هایی که دارای ژن sul ۲ بودند به طور هم‌زمان به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین، اسید نالیدیکسیک و سیپروفلوکساسین، مقاومت دیده شد. MIC و MBC برای آنتی‌بیوتیک کوتریموکسازول، به ترتیب ۱٦، ۳۲ میکروگرم در میلی‌لیتر به‌دست آمد.*

نتیجه‌گیری: *این پژوهش برای اولین بار در ایران، حضور ژن sul ۲ را در اشریشیاکلی مورد بررسی قرار داده است. نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که درصد مقاومت به این آنتی‌بیوتیک در شهر خوی، به ۷۱ درصد رسیده است. اگر این روند، ادامه پیدا کند، ممکن است مقاومت به همه‌ی آنتی‌بیوتیک‌های رایج مصرفی در مراکز کلینیکی ایجاد شود و باعث ناموفق شدن درمان گردد.*

واژگان کلیدی: اشریشیاکلی، سولفونامیدها، ژن sul ۲، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، دیسک دیفیوژن تست، MIC

مقدمه

اشریشیاکلی بخشی از فلور طبیعی روده انسان و حیوانات است. ولی گاهی توسط فاکتورهای بیماری‌زایی خود، توانایی بیماری‌زایی پیدا می‌کند. این ارگانیسم، عامل اصلی عفونت‌های مجاری ادراری (UTI)، منتژیت و گاستروانتریت

۱- دکترای تخصصی میکروبیولوژی، استاد دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال
۲- دکترای تخصصی میکروبیولوژی، استادیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال
۳- کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال

می‌باشد. *اشریشیاکلی*، شایع‌ترین عامل عفونت‌های مجاری ادراری می‌باشد (۱). تمام افراد مونث بالغ حداقل یک بار در دورانی از زندگی‌شان به عفونت‌های مجاری ادراری (UTI) مبتلا می‌شوند. عفونت‌های مجاری ادراری شامل التهاب مثانه (Cystitis)، التهاب کلیه و لگنچه (Pyelonephritis) می‌باشد. در سال‌های اخیر استفاده از داروهای ضد میکروبی سولفونامید و تری‌متوپریم برای درمان عفونت مجاری ادراری در اکثر کشورها در حال افزایش است و استفاده بیش از حد مجاز این داروها منجر به ایجاد مقاومت و ناموفق بودن درمان شده است (۳و۲).

ظهور مقاومت آنتی‌بیوتیکی در میان پاتوژن‌ها به‌ویژه در مراکز درمانی و بیمارستان‌ها به معضل بزرگ در رابطه با سلامت عمومی تبدیل شده است. مکانیسم ظهور مقاومت در باکتری *اشریشیاکلی* به‌دلیل شباهت ساختاری سولفونامیدها به اسید پ- آمینوبنزوئیک (PABA) می‌باشد که از طریق مسیر بیوسنتزی منجر به تولید اسید فولیک می‌شوند (٤).

سولفونامیدها، به‌طور رقابتی، آنزیم باکتریایی دهیدروپتروآت سنتتاز (DHPS) را مهار می‌کنند و بدین‌ترتیب مراحل بعدی را تسریع می‌نمایند که با واکنش‌های متوالی تغلیظ اسید پ- آمینوبنزوئیک و همچنین ۷ و ۸ دی هیدرو ٦ هیدروکسی متیل پترین پیروفسفات به اسید دی هیدرو پتروئیک، در نهایت به تشکیل اسید دی هیدرو فولیک منجر می‌شود (۵). مقاومت به سولفونامیدها معمولا توسط سه ژن ***sul*** *به صورت* ***sul*** ۱,***sul*** ۲ ,***sul*** ۳ کد می‌شود که این سه ژن معمولاً توسط پلاسمید انتقال می‌یابند. مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که شیوع ژن ***sul*** ۲ بیشتر از ***sul*** ۱ است (۷و ٦). دی‌هیدروپتروات سنتاز محصول ژن‌های ***sul*** ۱, ***sul*** ۲, ***sul*** ۳ شباهت کمی، در حدود KM ۰/٦ را به PABA نشان می‌دهد، در انواع مقاوم به سولفونامید، این میزان بسیار بالاست. به نظر می‌رسد آنزیمی که محصول ژن ***sul*** ۲ است، توانایی تشخیص سوبسترای نرمال PABA را از بازدارنده دارد (۸). در حال حاضر، داروی کوتریموکسازول در درمان عفونت‌های مجاری ادراری مصرف گسترده‌ای دارد و در عین حال استفاده نادرست و نا به جا از این دارو باعث پیدایش مقاومت نسبت به آن شده است (۹). با در نظر گرفتن نقش ژن ***sul*** ۲ در ایجاد مقاومت به کوتریموکسازول، مطالعه‌ی حاضر با هدف اصلی بررسی ژن ***sul*** ۲ (ژن اعطا کننده‌ی مقاومت به سولفونامیدها) در ایزوله‌های *اشریشیاکلی* جداسازی شده از بیماران مبتلا به عفونت‌های مجاری ادراری صورت گرفت.

روش بررسی

این مطالعه‌ی توصیفی مقطعی، بر روی ۳۰۰ نمونه ادراری از بیماران بستری و سرپایی مبتلا به عفونت‌های مجاری ادراری که به بیمارستان‌های شهید مدنی، قمربنی هاشم و آزمایشگاه‌های تشخیص طبی مهر و دانش شهر خوی مراجعه کرده بودند، در طی ٤ ماه از خرداد ماه سال ۱۳۹۱ تا شهریور سال ۱۳۹۱ انجام پذیرفت. نمونه‌های جمع‌آوری شده پس از کشت باکتری بر روی محیط EMB آگار و انجام تست‌های بیوشیمیایی افتراقی نظیر TSI، سیمون سیترات، اوره آز، MR/VP، SIM با استفاده از جدول استاندارد، ایزوله‌های *اشریشیاکلی* جداسازی گردیدند. مقاومت آنتی‌بیوتیکی با انجام تست آنتی‌بیوگرام از طریق روش انتشار از دیسک (Disk Diffusion Method) و با استفاده از دیسک‌های آنتی‌بیوتیک تهیه شده از شرکت پادتن طب شامل: جنتامیسین (۱۰ میکروگرم)، کوتریموکسازول (۱/۲۵ میکروگرم)، اسید نالیدیکسیک (۳۰ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، ایمی پنم (۱۰ میکروگرم)، سفتازیدیم (۳۰ میکروگرم)، کلرامفنیکل (۳۰ میکروگرم)، آمپی‌سیلین (۱۰ میکروگرم)، نیتروفورانتوئین (۳۰۰ میکروگرم)، آموکسی‌سیلین (۳۰ میکروگرم) تعیین گردید و با اندازه‌گیری هاله‌ی عدم رشد توسط خط کش میلی‌متری، سویه‌های حساس و نیمه حساس و مقاوم *اشریشیاکلی* با استفاده از

جدول CLSI مشخص شدند و همچنین مقاومت آنتی‌بیوتیکی برای آنتی‌بیوتیک کوتریموکسازول با استفاده از روش‌های ایجاد چاهک، نقطه گذاری و دیسک کاغذی ساده (Blank Disk) تعیین گردید که این روش‌ها برای تایید نتایج به‌دست آمده از تست آنتی‌بیوگرام انجام گردید. MIC با استفاده از روش میکرودیلوشن براث و سپس MBC برای آنتی‌بیوتیک کوتریموکسازول در سویه‌های مقاوم *اشریشیاکلی* نسبت به کوتریموکسازول، تعیین گردید. سپس برای انجام واکنش زنجیره‌ی پلیمراز (PCR) ابتدا DNA، پس از کشت بر روی محیط مولر هینتون آگار، با استفاده از کیت استخراج (MBST) استخراج گردید. توالی جفت پرایمر اختصاصی برای ژن ۲ ***sul*** که مورد استفاده قرار گرفت به صورت زیر بود:

Forward: 5′- GCGCTCAAGGCAGATGGCATT- 3′

Reverse: 5′- GCGTTTGATACCGGCACCCGT - 3′

واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل: ۱۵/۵ میکرولیتر آب مقطر استریل، ۲/۵ میکرولیتر بافر ۱۰x، ۵۰mM از ۱/۵ میکرولیتر $MgCl_2$، ۱۰ dNTP۱µl میلی‌مولار، ۱µl پرایمر ۱۰ پیکومول از هر کدام، ۲µl DNA الگو، ۰/۵µl Taq DNA polymerase (۵U/ µl) در طی ۳۵ سیکل، تحت برنامه‌ی زمانی ترموسایکلر شامل مرحله‌ی اولیه باز شدن ۲ رشته DNA به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۴ درجه‌ی سلسیوس، مرحله باز شدن ۲ رشته به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۹۴ درجه‌ی سلسیوس، مرحله‌ی اتصال پرایمرها به مدت ۱ دقیقه در دمای ۶۱ درجه سلسیوس، مرحله‌ی طویل شدن رشته‌ی هدف به مدت ۲ دقیقه در دمای ۷۲ درجه‌ی سلسیوس و مرحله‌ی طویل شدن نهایی به مدت ۷ دقیقه در دمای ۷۲ درجه‌ی سلسیوس انجام شد. قطعه‌ی مورد نظر از طریق واکنش زنجیره‌ی پلیمرازی تکثیر شد و سپس باند محصولات bp ۲۸۵، بعد از الکتروفورز مورد بررسی و مشاهده قرار گرفت.

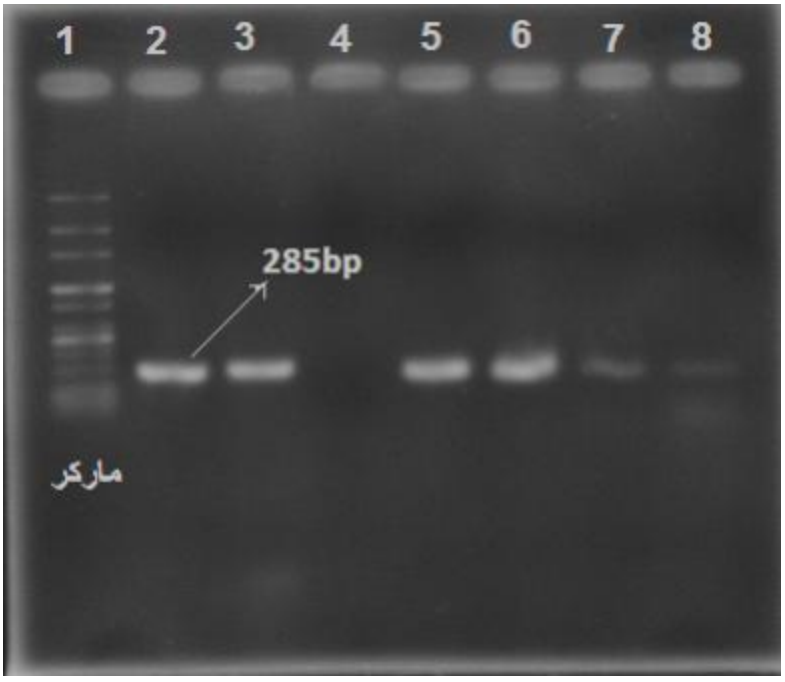
یافته ها

از ۳۰۰ نمونه‌ی ادراری مورد بررسی، ۱۰۰ ایزوله *اشریشیاکلی* توسط تست‌های بیوشیمیایی جداسازی شدند که در زنان جوان بیشتر از مردان مشاهده گردید. در زنان بیشتر در گروه سنی ۲۰ تا ۳۵ سال و در مردان بالای ۴۵ سال که بیشتر دچار بزرگی پروستات یا مبتلا به سنگ کلیه بودند، مشاهده شد. تست انتشار از دیسک برای این ۱۰۰ ایزوله انجام شد و نتایج حاصل از مقاومت دارویی به ۱۰ آنتی‌بیوتیک مورد استفاده در روش انتشار از دیسک در جدول ۱، بیان شده است. نتایجی که از روش ایجاد چاهک، نقطه گذاری و دیسک کاغذی به‌دست آمد با نتایج به‌دست آمده با تست انتشار از دیسک، مطابقت داشت و با استفاده از این روش‌ها نتایج تست آنتی‌بیوگرام با روش دیسک دیفیوژن مورد تأیید قرار گرفت. MIC (حداقل غلظت بازدارندگی) و MBC (حداقل غلظت کشندگی) برای آنتی‌بیوتیک کوتریموکسازول در ایزوله‌های مقاوم *اشریشیاکلی* نسبت به کوتریموکسازول به ترتیب ۱۶ و ۳۲ میکروگرم در میلی‌لیتر به‌دست آمد. در طی روش PCR که بر روی ۷۱ سویه‌ی *اشریشیاکلی* مقاوم به کوتریموکسازول انجام شد، مشخص گردید که از این میان ۵۷ (۸۰ درصد) سویه‌ها دارای ژن ۲ ***sul*** بودند (شکل ۱).

ایزوله‌های *اشریشیاکلی* که دارای ژن ۲ ***sul*** بودند، به طور همزمان علاوه بر آنتی بیوتیک کوتریموکسازول (۷۱ درصد) به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین (۷۶/۳۱ درصد)، و سیپروفلوکساسین (۴۰/۲۷ درصد) و اسید نالیدیکسیک (۵۰/۶۶ درصد) نیز مقاوم بودند. مقاومت به آنتی‌بیوتیک ایمی‌پنم در هیچکدام از سویه‌های *اشریشیاکلی* مشاهده نشد.

جدول ۱: نتایج آنتی‌بیوگرام ایزوله‌های اشریشیاکلی جمع‌آوری شده از مراکز کلینیکی شهر خوی

نوع آنتی بیوتیک	حساس	نیمه حساس	مقاوم
کلرومفنیکل	۷٤/٦٦	٤/۱	۲۱/۳۳
ایمی پنم	۱۰۰	۰	۰
اسید نالیدیکسیک	۱/۳۳	٤۸/۱	۵۰/٦٦
کوتریموکسازول	۲۹/۷	.	۷۱
آمیکاسین	۱۳/۳۳	۷۳/۳٤	۱۳/۳۳
آمپی سیلین	۱۸/٤۳	۵/۲٦	۷٦/۳۱
نیتروفورانتوئین	٤/۳	۸۹/۰۵	٦/٦٦
سفتازیدیم	۱٤/٦٦	٦۹/۲٤	۱٦/۹
سیپروفلوکساسین	۵۵/۵۵	٤/۱۸	٤۰/۲۷
جنتامیسین	۵۳/۳٤	۱۷/۳۳	۲۹/۳۳



*شکل ۱: ژل آگارز حاوی باند ژن ۲ **sul** در اشریشیاکلی پس از انجام **PCR***

*چاهک ۱: مارکر **bp** ۱۰۰۰، چاهک۲: کنترل مثبت، چاهک‌های ۸، ۷، ٦، ۵، ۳: ایزوله‌های دارای ژن ۲ **sul** چاهک ٤: کنترل منفی*

بحث

در چند سال اخیر برای درمان عفونت‌های مجاری ادراری به خصوص عفونت‌های ادراری بدون عارضه یا التهاب مثانه از داروی ترکیبی کوتریموکسازول (تری‌متو پریم- سولفونامید) استفاده می‌شود (۹). مطالعات اخیر از افزایش مقاومت پاتوژن‌های روده‌ای به آنتی‌بیوتیک کوتریموکسازول خبر می‌دهند، در واقع، موفقیت درمان با این آنتی بیوتیک در بیماران مبتلا به عفونت مجاری ادراری در حال کاهش است که یکی از علل آن مصرف خودسرانه و پیش از حد این آنتی‌بیوتیک توسط مردم است (۱۰). مقاومت به سولفانامیدها، به واسطه‌ی پلاسمید بوده و با تغییر آنزیم دی‌هیدروپتروات سنتاز صورت می‌گیرد (۱۱). پلاسمیدها عوامل ژنتیکی هستند که خارج از کروموزوم باکتری بوده، به‌طور مستقل از کروموزوم قادر به تکثیر می‌باشند. این عوامل ژنتیکی معمولاً حامل ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی می‌باشند. از خصوصیات ویژه پلاسمیدها، انتقال ساده این عوامل بین سلول‌ها می‌باشد (۱۳و۱۲). تاکنون برای مقاومت دارویی که با تغییر آنزیم دی‌هیدروپتروات سنتاز صورت گرفته، سه ژن کد شونده به نام‌های *Sul* ۱، *Sul* ۲، *Sul* ۳، شناخته شده است، که باعث ایجاد مقاومت در باکتری‌های پاتوژن نسبت به سولفونامیدها می‌گردند (۱۵و ۱٤). ژن *Sul* ۱ به‌طور عمده همراه با اینتگرون کلاس ۱ است، در حالی‌که *Sul* ۲، بیشتر بر روی پلاسمیدهای کوچک متعلق به گروه پلاسمیدهای ناسازگار *incQ* و یا روی انواعی از پلاسمیدهای کوچک که پلاسمیدهای pBP۱ نامیده می‌شوند، قرار می‌گیرند. ژن *Sul* ۳، در انسان کمتر گزارش شده است و فراوانی این ژن در خوک و گوشت خوک بسیار بالا می‌باشد. نقش ژن *sul* ۲ در ایجاد مقاومت به سولفونامیدها و همچنین ایجاد مقاومت چندگانه پر رنگ‌تر است (۷). ژن *sul* ۲ توسط پلاسمید منتقل می‌شود که ممکن است این پلاسمیدها علاوه بر این ژن‌ها حامل ژن‌های مقاومت به دیگر گروه‌های آنتی‌بیوتیکی باشد. این پلاسمیدها به سهولت بین سویه‌ها و گونه‌های مختلف از باسیل‌های گرم منفی که پاتوژن‌های روده‌ای می‌باشند، قابل انتقال هستند. وزن مولکولی ژن *sul* ۲، ۵۵ کیلو دالتون *است* (۱٦). با توجه به نقش ژن *sul* ۲ در ایجاد مقاومت به سولفونامیدها و همچنین در داروی ترکیبی کوتریموکسازول و همچنین با توجه به نقش این ژن در پیدایش مقاومت همزمان به چند آنتی‌بیوتیک، مطالعه‌ی حاضر برای اولین بار در ایران و در شهر خوی انجام گرفت و نتایج به‌دست آمده از این پژوهش نشان می‌دهد که عفونت مجاری ادراری در زنان جوان بیشتر از مردان است و نقش زنان در انتقال عفونت مجاری ادراری بیشتر از مردان است. همچنین در این مطالعه از ۱۰۰ ایزوله *اشریشیاکلی* ۷۱ (۷۱ درصد) به کوتریموکسازول مقاومت نشان دادند و ژن *sul* ۲ در ۵۷ (۸۰ درصد) نمونه‌ها مشاهده شد که نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که مقاومت به کوتریموکسازول در ایران درحال افزایش است. در مطالعات مشابهی، بین و همکارانش با بررسی ۳۹۱ ایزوله *اشریشیاکلی* جداسازی شده از بیماران مبتلا به عفونت مجاری ادراری از بیمارستان رویال لندن، درصد مقاومت به سولفونامیدها را ٤۵/۵ درصد گزارش کردند و فراوانی ژن *sul* ۲ را در ایزوله‌های مقاوم *اشریشیاکلی*، ۸۱ درصد اعلام کردند (۱۷)، که با مطالعه‌ی حاضر مطابقت داشت. هامروم و همکارانش از ۹۹۸ ایزوله *اشریشیاکلی* که از نمونه‌های انسانی و گوشت خوک جداسازی کرده بودند، ۱۹۹ ایزوله مربوط به نمونه‌ی مدفوع انسان سالم بود که درصد ژن *sul* ۲ را در انسان ۸۱ درصد گزارش کردند (۷)، که با مطالعه‌ی حاضر از نظر فراوانی مطابقت داشت. کولجالگ و همکارانش به بررسی ۷۸ ایزوله *اشریشیاکلی* جداسازی شده از کودکان مبتلا به عفونت مجاری ادراری پرداختند و درصد مقاومت به کوتریموکسازول و آمپی‌سیلین را به‌ترتیب ۳۳ و ٤۰ درصد گزارش کردند و فراوانی ژن *sul* ۲ را در ایزوله‌های مقاوم *اشریشیاکلی*، ٤۰ درصد گزارش کردند (۱۸)، که کمتر از

فراوانی مطالعه‌ی حاضر بود چون درصد مقاومت در بالغین معمولا بیشتر از کودکان می‌باشد. Al-Agamy به بررسی ۱۰۰ ایزوله *اشریشیاکلی* جداسازی شده از بیماران مبتلا به عفونت‌های مجاری ادراری پرداخت و درصد مقاومت به کوتریموکسازول را، ٦٢ درصد گزارش کرد که این ایزوله‌ها همزمان به آمپی‌سیلین و سیپروفلوکساسین نیز مقاومت نشان دادند و همچنین همه‌ی ایزوله‌ها به ایمی‌پنم حساس بودند و فراوانی ژن ۲ *sul* را ۸٦/۳٦ درصد گزارش کردند (۱۹)، که تقریبا با مطالعه‌ی حاضر مطابقت داشت. سلطان دلال و همکارانش به بررسی ۱۸۸ ایزوله از *اشریشیاکلی* جداسازی شده از بیماران مبتلا به عفونت‌های مجاری ادراری مراجعه کننده به مراکز کلنیکی شهر خوی پرداختند و درصد مقاومت را به کوتریموکسازول، کلرامفنیکل، سیپروفلوکساسین، نالیدیکسیک اسید و سفتازیدیم به‌ترتیب ۵۹/٦۲، ۹/۹۳، ۲٤/۸٤، ٤٥/۹٦، ۲۹/۸ درصد و همچنین همه ایزوله‌ها را حساس به ایمی‌پنم گزارش کردند (۲۰). که با مقایسه‌ی نتایج به‌دست آمده با مطالعه‌ی حاضر می‌توان گفت که درصد مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج مصرفی برای درمان عفونت مجاری ادراری در ایزوله‌های *اشریشیاکلی*، در مراکز کلینیکی خوی نسبت به سال‌های گذشته افزایش پیدا کرده است. در نتیجه از آنجایی که این مطالعه برای اولین بار در کشور ایران به بررسی ژن ۲ *sul* در ایزوله‌های *اشریشیاکلی* پرداخته است و نتایج این مطالعه از نظر اهمیت حضور ژن ۲ *sul* در میان جمعیت باکتری *اشریشیاکلی* و توانایی آن علاوه بر توسعه مقاومت به سولفونامیدها در احتمال بروز همزمان مقاومت به چند آنتی‌بیوتیک حایز اهمیت است. همچنین این مطالعه اهمیت استراتژی‌های کنترل عفونت مجاری ادراری و کنترل مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها را تایید می‌کند و می‌تواند بیان‌گر پیدایش مقاومت همزمان به چند آنتی‌بیوتیک در سویه‌های اشریشیا کلی باشد اگر این روند همچنان، ادامه پیدا کند به همه آنتی‌بیوتیک‌های رایج مصرفی که در مراکز کلینیکی برای درمان عفونت مجاری ادراری استفاده می‌شوند، مقاومت ایجاد می‌شود و باعث نا موفق بودن درمان آنتی‌بیوتیکی می‌شود.

References

1- Fallah-Mehrabadi J, Imanifooladi A, Rohaninejad H, Amini S. Comparing of *fimH* gene variation in normal flora and uropathogenic *Escherichia coli*. *Kowsar Med J*. 2010; 15: 65-69.

2- Larochelle A, Lovatsis D, Walter J, et al. Recurrent urinary tract infection. *J Obstet Gynaecol Can*. 2010; 32: 1082-101.

3- Moura A, Nicolau A. Antibiotherapy and pathogenesis of uncomplicated UTI. *J Appl Microbiol*. 2009; 106: 1779-1791.

4- Murata A, Takada H, Mutoh K, Hosoda H, Harada A, Nakada N. Nationwide monitoring of selected antibiotics: distribution and sources of sulfonamides, trimethoprim and macrolides in Japanese rivers. *Science of the total Environment*. 2011; 409: 5305-5312.

5- Skold O. Resistance to trimethoprim and sulfonamide. *Vet Res*. 2001; 32: 261-273.

6- Kerrn M, Klemmensen T. Susceptibility of Danish *E. coli* strains isolated from urinary tract infections and bacteraemia and distribution of sul genes conferring sulfonamide resistance. *J Antimicrob Chemother*. 2003; 50: 513-516.

7- 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. *Int J Food Microbiol*. 2006; 106: 235-239.

8- 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 Vet Scand.* 2010; 52: 1-7.

9- Daza R, Gutierrez J, Piedrola G. Antibiotic susceptibility of bacterial strains isolated from patients with community acquired urinary tract infections. *Int J Antimicrob Agents*. 2001; 18: 211-215.

10- Al-Tawfig JA, Anani A. Antimicrobial susceptibility pattern of bacterial pathogens causing urinary tract infections in Soudi Arabian hospital. *Chemotherapy*. 2009; 55: 127-131.

11- Bean DC, Livemore D, Hall LM. *E.coli:* implications for Plasmids imparting sulfonamide resistance in persistence. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009; 53: 1088-1093.

12- Mulvey M, Simor A. Antimicrobial resistance in hospitals: How concerned should we be?, *CMAJ*. 2009; 180: 408-415.

13- Carattioli A. Resistance plasmide families in *Enterobacteriaceae. J Antimicrob Chemother*. 2009; 53: 2227-2238.

14- Trobs M, Lester C, Olsen J, Hammerum A, Frimodt N. Natural transfer of sulfonamide and ampicillin resistance between *Escherichia coli* residing in the human intestine. *J Antimicrob Chemother*. 2009; 63: 80-86.

15- Grape M, Farra A, Kronall G, Sundstrom L. Integrons and gene cassettes in clinical isolates of co trimoxazole resistant gram negative bacteria. *Clin Microbiol Infect.* 2005; 11: 185- 192.

16-Trobos M, Jakobsen L, Olsen KE, et al. Prevalence of sulfonamide resistance and class 1 integron genes in *Escherichia coli* isolates obtained from broilers, broiler meat healthy humans and urinary infections in Denmark. *J Antimicrob A*gents. 2008; 32: 367-9.

17- Bean D, Livermore DM, Hall L, Papa I. Resistance among *Escherichia coli* to sulfonamides and other antimicrobials now little used in man. *J Antimicrob Agents Chemother*. 2005; 56: 962-966.

18- 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. *J Clin microbial*. 2009; 47: 99-105.

19- Al-Agamy M. Molecular resistance mechanisms to older antimicrobial agents in *Escherichia coli* isolates. *J African Microbiol*. 2012; 6: 106-111.

20- Soltan Dallal MM, Azarsa M, Mobasseri G, Fallah Mehrabadi J, Eshraghian MR. Detection of CTX-M-1 beta-lactamase gene in *Escherichia coli* isolated from clinical samples by polymerase chain reaction. *Tehran Univ Med J*. 2011; 69: 16-21.

Detection of *Sul2* Gene in *Escherichia coli* Isolated from Patients with Urinary Tract Infections Admitted to Clinical Centers of Khoy City

Norouzi J[1], Akhavan sepahy A[1], Bazzazzadeh N[2]

[1]Dept. of Microbology, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran.

[2]Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran.

Correspondig Author: Bazzazzadeh N, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran

E-mail: bazzazzadeh_n92@yahoo.com

Received: 28 Apr 2013 **Accepted:** 15 Jul 2013

***Background and Objective*:** Widespread use of co-trimoxazole in urinary tract infection treatments and its incorrect use has led to the emergence of co-trimoxazole resistant *E. coli* strains. The aim of this study was to evaluate *sul2* gene among *E.coli* isolates of patients admitted to the clinical centers of Khoy city.

Materials and Methods: Three hundred urine samples were collected from clinical centers of Khoy city. Among them, 100 *E.coli* isolates were confirmed by standard biochemical tests. Furthermore, the antibiotic susceptibility tests to 10 antibiotics were performed by the-disk-agar diffusion (DAD) method. Also, MIC and MBC were evaluated for co-trimoxazole by microdilution broth method. Finally, PCR was done in order to find *sul2* gene in resistant isolates.

***Results*:** Of 100 isolates, 71(71%) were resistant to co-trimoxazole out of which 57(80%) had *sul2* gene. This gene was recognized in sulfonamides-resistant isolates which did not create any zone of inhibition. Also, the isolates with *sul2* gene were found to be simultaneously resistant to ampicillin, nalidixic acid and ciprofloxacin. In co-trimoxazole-resistant isolates, MIC and MBC for Co-trimoxazole were calculated 16 and 32µg/ml.

***Conclusion*:** This study was the first of its kind in Iran with the main objective of manifesting the presence of *sul2* gene in E.coli. The results of the present study indicate that antibiotic-resistance percentage in Khoy city reaches to 71%. In such a situation, it is inevitable to see resistance to all common antibiotics currently prescribed to patients at clinical centers which will, in turn, result in treatment failures.

Keywords: Escherichia coli, Sulfonamides, sul2 gene, Antibiotic resistance, Disk-diffusion method, MIC