Original Article

Evaluation of Antibiotic Resistance and Detection of papC and papG genes in Escherichia coli Strains Isolated from Patients with Urinary Tract Infection

Mitra Alishah[1], Taghi Zahraei Salehi[2], Kiumars Amini[1], Ramak Yahya Raeyat[2]*

[1]*Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran.*

[2]*Department of Microbiology & Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.*

[*]***Corresponding Author:***
Taghi Zahraei Salehi,
Department of Microbiology & Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.

Email:
tsalehi@ut.ac.ir

Received: 26 Sep, 2015

Accepted: 30 Dec, 2015

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 2:38 IRST on Tuesday November 21st 2017

Abstract

Background and Objectives: *Escherichia coli* is the most common etiologic factor of urinary tract infection, which its most important virulence factor is P fimbriae. Uropathogenic *E. coli* expresses various types of adhesins, such as pili adhesins (pyelonephritis-associated pili, Pap) that mediates binding to the surface of epithelial cells of the urinary tract. This study aims to identify *pap*C and *pap*G genes and to evaluate antibiotic resistance level in the isolated *E. coli* samples.

Methods: In this descriptive cross-sectional study, 50 samples were collected from patients with urinary tract infection and after isolation of bacteria and DNA extraction, antibiotic susceptibility tests was performed by disc diffusion method using related antibiotics. Presence of *pap*G and *pap*C genes (class I, II, and III) was assessed by multiplex PCR method. Statistical data were analyzed using descriptive t-test.

Results: The isolated *E. coli* samples were susceptible to amikacin (100%) and cefepime (72%) and resistant to ampicillin (100%) and nitrofurantoin (94%). Eighteen samples (32.7%) had *pap*G gene, of which 17 (30.9%) samples had *pap*GII gene and 1 sample (1.8%) had *pap*GIII gene; *pap*GI gene was not detected in any of the samples.

Conclusion: The results of the present study showed that *pap*C and *pap*GI genes are the most common Pap fimbriae adhesion-encoding genes in *E. coli* isolated from urinary tract infection. The difference between the results of this study with those of other studies is due to geographic diversity.

Keywords: *Escherichia coli*; Adhesion pap, Disk diffusion antimicrobial tests; Multiplex polymerase chain reaction.

مجله دانشگاه علوم پزشکی قم
دوره دهم، شماره هشتم، آبان ۹۵
صفحه ۸۰ الی ۸۷

مقاله پژوهشی
(Original Article)

ارزیابی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و ردیابی ژن‌های *papG* و *papC* در باکتری *اشرشیاکلی* جداشده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری

میترا علیشاه[۱]، تقی زهرایی صالحی[۲*]، کیومرث امینی[۱]، رامک یحیی رعیت[۲]

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 2:38 IRST on Tuesday November 21st 2017

چکیده

زمینه و هدف: شایع‌ترین عامل اتیولوژیک عفونت مجاری ادراری، باکتری *اشرشیاکلی* می‌باشد که مهم‌ترین عامل حدت آن، فیمبریه p است. *اشرشیاکلی* یوروپاتوژن، انواع مختلفی از ادهسین مانند ادهسین‌های پیلی (Pyelonephritis Associated Pili, PaP) را بیان می‌کند که واسطه اتصال به سطح سلول‌های اپی‌تلیال مجاری ادراری هستند. این مطالعه با هدف شناسایی ژن‌های *papG*، *papc* و بررسی میزان مقاومت آنتی‌بیوتیک نمونه‌های *اشرشیاکلی* جداسازی‌شده انجام گرفت.

روش بررسی: در این مطالعه توصیفی - مقطعی، ۵۰ نمونه از افراد مبتلا به عفونت دستگاه ادراری، جمع‌آوری شد و پس از جداسازی باکتری و استخراج DNA، آزمون‌های حساسیت آنتی‌بیوتیکی به‌وسیله روش دیسک دیفیوژن با آنتی‌بیوتیک‌های موردنظر انجام گرفت. حضور ژن‌های *papG* و *papC* (کلاس I، II، III) به روش PCR چندگانه‌ای بررسی گردید. داده‌های آماری با استفاده از آزمون‌های آماری توصیفی تی‌تست تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: نمونه‌های *اشرشیاکلی* جداشده نسبت به آمیکاسین،۱۰۰٪ و سفپیم، ۷۲٪؛ حساس و نسبت به آمپی‌سیلین، ۱۰۰٪ و نیتروفورانتوئین، ۹۴٪ مقاومت نشان دادند. ۱۸ نمونه (۳۲/۷٪)، واجد ژن *papG* بودند. از بین ۱۸ نمونه واجد ژن *papG*، ۱۷ نمونه (۳۰/۹٪)، واجد ژن *papG II* و ۱ نمونه (۱/۸٪)، واجد ژن *papG III* بود. ژن *papG I* در هیچ‌یک از نمونه‌ها شناسایی نشد.

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه حاضر نشان داد ژن‌های *papC* و *papG* کلاس I، شایع‌ترین ژن کدکننده ادهسین *pap* فیمبریه در *اشرشیاکلی* جداشده از عفونت دستگاه ادراری هستند. علت تفاوت نتایج این پژوهش با سایر مطالعات به دلیل تنوع منطقه جغرافیایی می‌باشد.

کلید واژه‌ها: *اشرشیاکلی*؛ ادهسین پاپ؛ تست‌های آنتی‌میکروبی دیسک دیفیوژن، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز چندگانه‌ای.

[۱]گروه میکروب‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران.

[۲]گروه میکروب‌شناسی و ایمونولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

[*]نویسنده مسئول مکاتبات:
تقی زهرایی صالحی، [۲]گروه میکروب‌شناسی و ایمونولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران؛

آدرس پست الکترونیکی:
tsalehi@ut.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۴/۷/۴

تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۰/۹

لطفاً به این مقاله به‌صورت زیر استناد نمایید:

Alishah M, Zahraei Salehi T, Amini K, Yahyaraeyat R. Evaluation of antibiotic resistance and detection of *pap*C and *pap*G genes in *Escherichia coli* strains isolated from patients with urinary tract infection. Qom Univ Med Sci J 2016;10(8):80-87. [Full Text in Persian]

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 2:38 IRST on Tuesday November 21st 2017

مقدمه

باکتری *اشرشیاکلی* جزئی از فلور طبیعی روده است، اما برخی مواقع این باکتری با تهاجم به سایر بافت‌ها ایجاد بیماری می‌کند (۲،۱). باکتری‌های پاتوتیپ یوروپاتوژنیک *اشرشیاکلی* (UPEC) واجد فیمبریه یا پیلی بوده و قادر هستند به سلول‌های اپی‌تلیال دستگاه ادراری حمله کرده و درون آنها تکثیر یابند که حدود ۹۰٪ عفونت‌های اکتسابی را شامل می‌شوند (۴،۳). فیمبریه p که ادهسین *papG* را بیان می‌کند، مانع از اتصال باکتری به سلول‌های نوتروفیل شده و در نهایت، مانع از فعال‌شدن پاسخ ضدباکتریایی در پلی‌مورفونوکلئرها و انجام فاگوسیتوز می‌شود (۵). یکی از فیمبریه‌های مقاوم به مانوز در *اشرشیاکلی* یوروپاتوژن، فیمبریه p است که توانایی اتصال به گلیکولیپیدهای غشایی اوروپاپی‌تلیوم مجاری ادراری را دارد که به این فیمبریه pap نیز گفته می‌شود (۶). papC پروتئینی در پرده بیرونی است که به‌عنوان هدایتگر عمل کرده و اجازه عبور منظم تحت واحدهای مختلف را صادر می‌کند (۷). زیرواحد متصل‌شونده به گیرنده یا ادهسین، پیلی p که *papG* نام دارد، در اتصال به گلیکولیپید سطح سلول‌های اوروپاپی‌تلیال و اریتروسیت‌های انسانی نقش دارد. *papG* در سیتوپلاسم ساخته شده و به فضای پری‌پلاسمی‌ترشح می‌شود (۱۰-۸). *papG* دارای سه کلاس(*papG* کلاس I، *papG* کلاس II و *prsG* کلاس III) می‌باشد. از نظر بالینی، آلل کلاس II از ژن *papG*، به‌طور اولیه با پیلونفریت و باکتریمی در انسان، و آلل III با سیستیت انسانی ارتباط دارد (۷). مقاومت دارویی، مفهوم پیچیده‌ای است که چندین فاکتور ازجمله نوع میکروارگانیسم عفونت‌زا، محل میکروب در داخل بدن، توزیع میکروارگانیسم در بدن، غلظت دارو در محل عفونت و وضعیت ایمنی بیمار در آن دخالت داشته و بر یکدیگر تأثیر می‌گذارند (۱۱). باید اذعان داشت مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها همچنان به‌عنوان تهدیدی جدی بر سلامت افراد در سراسر دنیا به شمار می‌رود. مطالعات داخلی انجام‌شده نشان می‌دهد بیشترین مقاومت‌ها در باکتری *اشرشیاکلی* نسبت به آمپی‌سیلین و کوتریموکسازول بوده که زنگ خطری در انتقال ژن‌های مقاومت به‌وسیله اینتگرون‌ها خواهد بود (۱۲).

در تحقیقاتی در کشور سوئد بر روی نمونه‌های ادراری مشخص گردید ۷۱٪ از نمونه‌های ادراری دارای ژن $papG^{+}$ هستند (۱۳). این تحقیق با هدف شناسایی ژن‌های *papG*، *papC* به روش Multiplex PCR و بررسی میزان مقاومت آنتی‌بیوتیک نمونه‌های *اشرشیاکلی* جداسازی‌شده انجام شد.

روش بررسی

در این مطالعه توصیفی - مقطعی با سطح اطمینان ۹۵٪، تعداد ۱۵۰ نمونه ادرار از بیماران دارای علائم بالینی (سوزش ادرار، تکرر ادرار و درد در هنگام دفع) مبتلا به عفونت ادراری از فروردین تا مهرماه ۱۳۹۳ از بیمارستان مهدیه شهر تهران در ظروف استریل جمع‌آوری و پس از انتقال به آزمایشگاه میکروب‌شناسی پاسارگاد، بر روی محیط‌های بلادآگار و مک‌کانکی آگار کشت داده شد. پس از ۲۴ ساعت، کلنی‌های رشدیافته، بررسی و با آزمون‌های تشخیصی و تکمیلی بیوشیمیایی، باکتری *اشرشیاکلی* به تعداد ۵۰ نمونه شناسایی گردید (۱۴).

از نمونه *اشرشیاکلی* یوروپاتوژن که وجود ژن‌های *papG* و *papC* در آنها تأیید شده بود به‌عنوان استاندارد مثبت استفاده شد. DNA نمونه‌ها با استفاده از کیت باکتری‌های گرم منفی سیناژن (Cinna Pure DNA KIT-PR881613) استخراج گردید.

آزمون Multiplex PCR بر روی نمونه‌های DNA استخراج‌شده با برنامه حرارتی زیر انجام شد:

مرحله دناتوراسیون اولیه، ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۳ دقیقه؛ دناتوراسیون، ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۱ دقیقه؛ اتصال، ۵۶ درجه سانتیگراد به مدت ۱ دقیقه؛ بسط، ۶۸ درجه سانتیگراد به مدت ۲ دقیقه (تعداد ۳۴ سیکل) و مرحله بسط نهایی، ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه بود. پرایمرهای مورد استفاده در این آزمون در جدول شماره ۱ آورده شده است (۱۵).

مخلوط‌های استفاده‌شده جهت انجام واکنش؛ PCR MASTER MIX (Cinna KIT-PR8250C) به میزان ۱۲/۵ میکرولیتر، پرایمرهای مورد استفاده هرکدام ۰/۵ میکرولیتر، آب مقطر ۴/۵ میکرولیتر، نمونه DNA ۴ میکرولیتر و در حجم نهایی به میزان ۲۵ میکرولیتر، تهیه و مورد استفاده قرار گرفت (۱۵).

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 2:38 IRST on Tuesday November 21st 2017

جهت بررسی محصول، نمونه‌ها بر روی ژل آگارز ۲٪ انتقال داده شدند و بعد از رنگ‌آمیزی در دستگاه ژل داک (BIORAD) مورد بررسی قرار گرفتند.

جهت انجام آزمون آنتی‌بیوگرام از روش دیسک دیفیوژن (Disk diffusion) به روش کربی‌بائر و طبق دستورالعمل CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) استفاده شد (۱۶). در ادامه، تعدادی از کلنی باکتری به‌وسیله آنس برداشته شد و در سرم فیزیولوژی استریل حل گردید تا برابر با کدورت استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند شود، سپس بر روی محیط مولر هینتون آگار کشت داده شد و در ادامه، دیسک‌های آنتی‌بیوتیک با فاصله استاندارد بر روی محیط کشت قرار گرفتند و در دمای ۳۷ درجه انکوبه شدند و بعد از ۲۴ ساعت، نتایج قرائت گردید (۱۶). جهت انجام این مطالعه، دیسک‌های آنتی‌بیوتیک سفیکسیم (۵ میکروگرم)، آمپی‌سیلین (۱۰ میکروگرم)، سفتریاکسون (۲ میکروگرم)، نالیدکسیک‌اسید (۳۰ میکروگرم)، سفپیم (۳۰ میکروگرم)، جنتامایسین (۵ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۲ میکروگرم)، آمیکاسین (۳۰ میکروگرم)، نیتروفورانتوئین (۳۰۰ میکروگرم)، از شرکت پادتن طب تهیه گردید. داده‌های آماری با نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ و با استفاده از آزمون‌های آماری توصیفی تی‌تست تجزیه و تحلیل شدند.

جدول شماره ۱: توالی پرایمرهای مورد استفاده در این تحقیق

ژن هدف (papG class)	طول محصول bp	نام پرایمر	توالی پرایمر ('3- '5)
$papG_{J96}$ (Class I)	۴۶۱	j96-193f	TCGTGCTCAGGTCCGGAATTT
		j96-653r	TGGCATCCCCCAACATTATCG
$papG_{IA2}$ (Gass II)	۱۹۰	ia2-383f	GGGATGAGCGGGCCTTTGAT
		ia2-572r	CGGGCCCCCAAGTAACTCG
$prsG_{J96}$ (Class III)	۴۲۱	prs-l98f	GGCCTGCAATGGATTTACCTGG
		prs-455r	CCACCAAATGACCATGCCAGAC
papC	۳۲۸	Papc-f	GACGGCTGTACTGCAGGGTGTGGCG
		Papc-r	ATATCCTTTCTGCAGGGATGCAATA

یافته‌ها

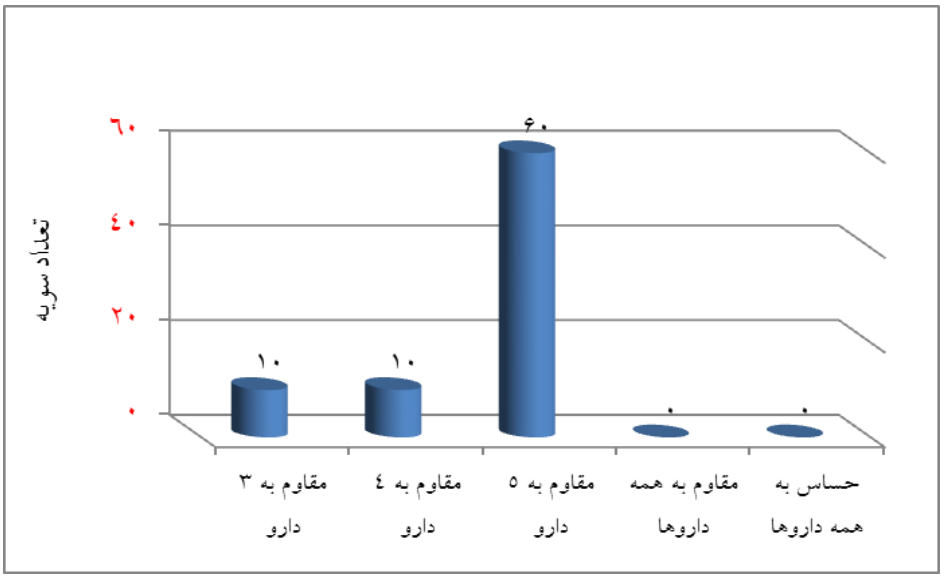
از مجموع ۵۰ نمونه ادراری تهیه‌شده از بیماران مبتلا به عفونت دستگاه ادراری که وجود باکتری *اشرشیاکلی* در آنها به اثبات رسیده بود؛ ۱۴ نمونه (۲۸٪)، واجد ژن *papG* بودند که از بین این تعداد نمونه‌های مثبت از نظر حضور ژن *papG*، ۱۱ نمونه (۲۲٪) دارای ژن *papG I* و ۳ نمونه (۶٪)، واجد ژن *papG III* بود. در هیچ‌یک از نمونه‌ها، ژن *papG II* شناسایی نشد. همچنین در هیچ‌یک از نمونه‌ها، ژن‌های مورد نظر به‌طور همزمان ردیابی نشدند. در ۲۸ نمونه (۵۶٪) نیز ژن *papC* شناسایی شد.

نتیجه آزمون مولکولی در شکل به همراه نمونه‌های مثبت گزارش شده است. بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین و سفپیم به ترتیب ۹۲ و ۷۲٪ و بیشترین میزان حساسیت آنتی‌بیوتیکی سویه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های آمیکاسین و نیتروفورانتوئین به ترتیب ۱۰۰ و ۹۴٪ گزارش شد (جدول شماره ۲). همچنین سویه‌ای‌که به همه داروها مقاوم باشد و سویه‌ای‌که به کل داروهای مورد استفاده حساس باشد، در بین سویه‌های مورد مطالعه در این تحقیق یافت نشد. بیشترین میزان مقاومت در این سویه‌ها نسبت به ۵ دارو مشاهده گردید (نمودار).

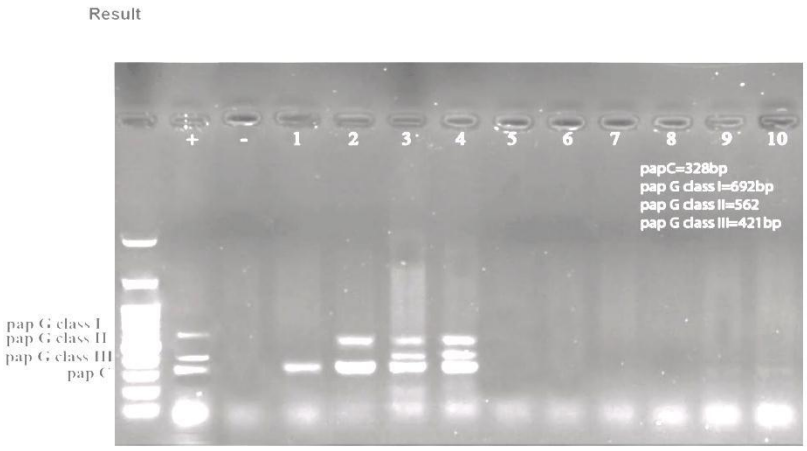
جدول شماره ۲: میزان حساسیت سویه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف با روش دیسک دیفیوژن

نوع آنتی‌بیوتیک	میزان مقاومت	حساسیت متوسط	میزان حساسیت
	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)
جنتامایسین	۲۶ (۵۲)	۲ (۴)	۲۲ (۴۴)
سفکسیم	۳۱ (۶۲)	۲ (۴)	۱۷ (۳۴)
سفتریاکسون	۳۳ (۶۶)	–	۱۷ (۳۴)
سیپروفلوکساسین	۱۸ (۳۶)	–	۳۲ (۶۴)
آمپی‌سیلین	۴۶ (۹۲)	۲ (۴)	۲ (۴)
نالیدکسیک اسید	۳۶ (۷۲)	–	۱۴ (۲۸)
سفپیم	۳۳ (۶۶)	۳ (۶)	۱۴ (۲۸)
آمیکاسین	–	–	۵۰ (۱۰۰)
نیتروفورانتوئین	۳ (۶)	–	۴۷ (۹۴)

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 2:38 IRST on Tuesday November 21st 2017



نمودار: مقاومت چندداروییی در بین سویه‌های جداسازی‌شده *اشرشیاکلی*



شکل: محصول Multiplex PCR بر روی DNA نمونه‌های *E.Coli* جداشده از بیماران مبتلا به عفونت‌های ادراری با استفاده از جفت پرایمرهای *papG* و *papC*، به ترتیب از چپ به راست: مارکر bp ۱۰۰، کنترل مثبت حاوی ژن‌های *papG* و *papC*، کنترل منفی، چاهک ۱۰-۱ نمونه‌های *E.Coli* جداشده از بیماران؛ نمونه‌های ۱، ۲، ۳ و ٤ دارای ژن *papC*، چاهک ۳ و ٤ دارای ژن *papG III*، چاهک ۲، ۳ و ٤ دارای ژن *papGII*

بحث

براساس یافته‌های این پژوهش، از مجموع ۵۰ نمونه ادراری بیماران مبتلا به عفونت دستگاه ادراری، شیوع کلاس I ادهسین *papG* نسبت به دو کلاس دیگر بیشتر مشاهده شد. در تحقیقاتی‌که در سال ۱۹۹۳ در سوئد بر روی نمونه‌های ادراری و مدفوعی انجام گرفت مشخص گردید ۷۱٪ از نمونه‌های ادراری، $papG^{+}$ بوده‌اند، همچنین شیوع آلل‌های سه‌گانه ادهسین *papG* *اشرشیاکلی*‌های جداشده از عفونت ادراری را براساس ژن‌های مورد نظر به ترتیب ژن *papG I* (صفر تا ۱٪)، ژن *papG II* (۴۶-۳۶٪) و ژن *papG III* (۲۳-۱۷٪) گزارش کردند (۱۳).

در تحقیق حاضر درصد شیوع هریک از ژن‌ها با نتایج حاصل از پژوهش‌های فوق تفاوت داشت؛ بدین معنی‌که در تحقیق حاضر فراوانی ژن *papG I* از ژن *papG III*، بیشتر و فراوانی هر دو ژن قبلی از ژن *papG II* بالاتر بود. در یک مطالعه در کشور آمریکا (سال ۱۹۹۸) بر روی نمونه‌های ادرار زنانی‌که برای اولین و یا چندمین بار دچار عفونت ادراری شده بودند مشخص گردید از مجموع ۷۴ مورد عفونت ادراری ناشی از *اشرشیاکلی* یوروپاتوژن، تعداد ۲۰ مورد (۲۷٪) از نمونه‌ها واجد ژن *papG III*، ۵ مورد (۷٪) واجد ژن *papG II* و هیچ نمونه‌ای، ژن *papG I* را نداشته است (۱۷).

در انسان از نظر بالینی، آلل کلاس II ژن *papG* با پیلونفریت و باکتریمی و آلل کلاس III ژن *papG* با سیستیت مرتبط هستند. به‌نظر می‌رسد بین ژن‌ها با تظاهرات بالینی، ارتباط مؤثری وجود ندارد. طی تحقیقی در کشور ژاپن با عنوان "مقایسه فراوانی آلل‌های ژن *papG* در نمونه‌های اخذشده از بیماران مبتلا به سیستیت حاد، پیلونفریت حاد و نمونه‌های فلور مدفوعی" مشخص گردید ۳۴٪ نمونه‌های بیماران مبتلا به عفونت سیستیت حاد، واجد آلل *papG* II و ۲۵٪ نمونه‌ها نیز آلل *papG* III دارند؛ درحالی‌که هیچ‌یک از نمونه‌ها واجد آلل *papG I* نبودند. علاوه بر این، از ۷۶ نمونه مربوط به بیماران مبتلا به عفونت حاد پیلونفریت؛ از ۴۳٪ نمونه‌ها، آلل *papG II* و از ۲۹٪، آلل *papG III* جداسازی شد، همچنین هیچ‌یک از نمونه‌ها واجد آلل *papG I* نبودند (۱۸). در اکثر تحقیقات مورد بررسی، شیوع ژن *papG I*، صفر و یا در حدود ۱٪ بوده است؛ درصورتی‌که در مطالعه حاضر میزان فراوانی این ژن از سایر مطالعات بیشتر گزارش شد و ژن *papG II* در حد صفر بود. مطابق تحقیقی‌که در کشور چین (سال ۲۰۰۹) انجام گرفت، شیوع ژن *papG I* در نمونه‌های ادراری بیماران مبتلا به عفونت ادراری در کشور چین ۱۴٪؛ ژن *papG II*، ۳۸٪ و ژن *papG III*، ۸٪ گزارش شد (۱۹). در پژوهش حاضر براساس نتایج به‌دست‌آمده، در هیچ‌یک از نمونه‌ها دو آلل از ژن *papG* همزمان مشاهده نشد. نتایج تحقیق صورت‌گرفته در چین با مطالعه حاضر از نظر فراوانی نوع ژن‌ها مطابقت داشت، ولی در تحقیقی‌که در کشور آمریکا (سال ۱۹۹۸) بر روی نمونه‌های ادراری انجام شد مشخص گردید ۵۸ مورد (۳۱٪) دارای ژن *papG II*، ۳۲ مورد (۱۷٪) دارای ژن *papG III* بوده و در هیچ نمونه‌ای، ژن *papG I* به تنهایی وجود نداشته است، اما در ۹ نمونه (۵٪)، هر دو ژن *papG III* و *papG II* به‌طور توأمان و در ۲ نمونه (۱٪)، هر دو ژن *papG III* و *papG I* به‌طور همزمان شناسایی شدند (۱۷،۸).

در پژوهشی که در کشور فنلاند بر روی بیماران مبتلا به عفونت ادراری انجام گرفت، ۲۵٪ از نمونه‌ها واجد ژن *papG II*، ۱۲٪ دارای ژن *papG III* بوده و در ۱٪ از نمونه‌ها هر دو آلل *papG II* و *papG III* با هم شناسایی شدند (۲۰). نتایج این مطالعه نشان داد آلل‌های سه‌گانه ژن *papG* را می‌توان به سرعت و با دقت فراوان به‌وسیله روش M-PCR شناسایی کرد.

همچنین در اکثر مطالعات، ژن *papG II*، شایع‌ترین ژن کدکننده ادهسین *papG* فیمبریه p در *اشرشیاکلی*‌های جداشده از عفونت دستگاه ادراری گزارش شده که برخلاف این نتایج، در تحقیق حاضر میزان آن صفر بود. در یک مطالعه دیگر مشخص گردید ژن *pap*، جزء شایع‌ترین ژن‌های کدکننده فیمبریه در *اشرشیاکلی*‌های جداسازی‌شده از عفونت‌های ادراری در شهر تهران است (۲۱). در مطالعات محدودی که در ایران بر روی *pap* انجام گرفت بیشتر به شیوع اپرون*pap* در پیلونفریت نسبت به سیستیت تأکید شده است، ازجمله در سال ۲۰۰۹ میزان ابتلا به پیلونفریت، ۶۶/۶٪ و سیستیت، ۳۳/۳٪ گزارش گردید (۲۲). همچنین در مطالعه‌ای دیگر، نمونه‌های جداسازی‌شده از عفونت‌های ادراری را از نظر وجود ژن papC مورد ارزیابی قرار دادند که میزان شیوع آن ۳۶/۳٪ گزارش شد و مشخص گردید اپرون *pap* دارای شیوع جهانی بوده و در موارد پیلونفریت به‌مراتب بیشتر از سیستیت و باکتریوری بدون علامت است (۲۳). به‌نظر می‌رسد تنوع جغرافیایی و منطقه جداسازی باکتری می‌تواند در نوع فراوانی ژن‌های *pap*، نقش مهمی داشته باشد. شناسایی حضور فیمبریه p در باکتری *اشرشیاکلی*، در موارد وجود عفونت مجاری ادراری؛ حتی در حضور مقادیر باکتریوری پایین، تصمیم‌گیری در مورد درمان مناسب را تسهیل می‌کند. طبق نتایج یک مطالعه، بیشترین مقاومت نسبت به کوتریموکسازول (۸۲٪) و آمپی‌سیلین (۷۹/۹٪) و کمترین مقاومت نسبت به نیتروفورانتوئین (۳۸٪) بوده است (۲۴). در تحقیقاتی‌که در شهرکرد انجام شد، بالاترین مقاومت نسبت به آمپی‌سیلین و کوتریموکسازول گزارش شد (۱۲). طی مطالعه‌ای در بازه زمانی ۲۰۰۲-۱۹۵۰ عنوان گردید مقاومت چند دارویی (۳<) در مورد *اشرشیاکلی* روبه افزایش بوده، به‌طوری‌که از دهه ۲۰۰۲-۱۹۵۰ از ۷/۲٪ به ۶۳/۶٪ رسید و شایع‌ترین فنوتیپ مقاوم نسبت به تتراسایکلین و استرپتومایسین، ۲۹/۷٪ و تتراسایکلین و سولفونامید، ۲۹٪ مشاهده گردید (۲۵). در تحقیق حاضر در مقایسه با سایر نتایج، بیشترین حساسیت مربوط به آنتی‌بیوتیک‌های آمیکاسین و نیتروفورانتوئین به ترتیب ۱۰۰ و ۹۴٪ گزارش شد. همچنین در مطالعه حاضر در ۶۰٪ نمونه‌ها، مقاومت به ۵ دارو و بیشتر مشاهده شد که این میزان مقاومت چندداروییی می‌تواند در ایجاد سویه‌های مقاوم به درمان مؤثر باشد.

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 2:38 IRST on Tuesday November 21st 2017

نتیجه‌گیری

با توجه به شیوع بالای عفونت‌های مجاری ادراری و افزایش بروز مقاومت در این ایزوله‌ها، بررسی دوره‌ای و مداوم میزان مقاومت و مکانیسم ایجاد مقاومت در این باکتری‌ها می‌تواند در انتخاب مناسب‌ترین گزینه درمانی مؤثر باشد. همچنین استفاده از روش‌های جدیدی که واجد حساسیت بیشتر و صرف زمان کمتری جهت تشخیص باشند مانند روش‌های نوین مولکولی جهت بررسی وجود جدایه‌ها، ژن‌های بیماری‌زا و بررسی وجود عوامل حدت مانند روش Multiplex PCR که می‌تواند در زمان کوتاه و با دقت بیشتر، حضور ژن‌های بیماری‌زا را شناسایی و با درمان مناسب از انتقال این ژن‌ها در جمعیت‌های انسانی جلوگیری به عمل آورد توصیه می‌گردد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از کارکنان آزمایشگاه پژوهشی میکروب‌شناسی پاسارگاد مهندس ابوالفضل مقدم و دکتر علیرضا مختاری که در تمامی مراحل انجام عملی این تحقیق ما را یاری نمودند تشکر و قدردانی می‌گردد.

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 2:38 IRST on Tuesday November 21st 2017

References:

1. Al-Kobaisi, Muhannad F. Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology. Sultan Qaboos Univ Med J 2007:7(3);273-5.

2. Garrity GM, Bell JA, Lilburn TG. Taxonomic outline of the prokaryotes. Bergey's manual of systematic bacteriology. 2nd ed. New York: Springer; 2004.

3. Schwartz I, Wormser GP. Bacterial pathogenesis: A molecular approach. Clin Infect Dis 2002;35(5):638-9.

4. Snyder GA, Cirl C, Jiang J, Chen K, Waldhuber A, Smith P, et al. Molecular mechanisms for the subversion of MyD88 signaling by TcpC from virulent uropathogenic Escherichia coli. Proc Natl Acad Sci 2013;110(17):6985-90.

5. Ohman L, Hed J, Stendahl O. Interaction between human polymorphonuclear leukocytes and two different strains of type 1 fimbriae-bearing Escherichia coli. J Infect Dis 1982;146(6):751-7.

6. Wilson BA, Salyers AA, Whitt DD, Winkler ME. Bacterial pathogenesis: A molecular approach. 3rd ed. New York: ASM Press; 2010.

7. Lane M, Mobley H. Role of P-fimbrial-mediated adherence in pyelonephritis and persistence of uropathogenic Escherichia coli (UPEC) in the mammalian kidney. Kidney Int 2007;72(1):19-25.

8. Johnson JR, Swanson JL, Barela TJ, Brown JJ. Receptor specificities of variant Gal (α1–4) Gal-binding PapG adhesins of uropathogenic Escherichia coli as assessed by hemagglutination phenotypes. J Infect Dis 1997;175(2):373-81.

9. Soto GE, Hultgren SJ. Bacterial adhesins: Common themes and variations in architecture and assembly. J Bacteriol 1999;181(4):1059-71.

10. Asakura M, Hinenoya A, Alam MS, Shima K, Zahid SH, Shi L, et al. An inducible lambdoid prophage encoding cytolethal distending toxin (Cdt-I) and a type III effector protein in enteropathogenic Escherichia coli. Proc Natl Acad Sci USA 2007;104(36):14483-8.

11. Fluit AC VM, Schmitz FJ. Molecular detection of antimicrobial resistance. Clin Microbiol Rev 2001;14(4):836-71.

12. Zamanzad B NF, Shirzad HA, 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. Arak Med Univ J 2005;8(4):23-30. [Full Text in Persian]

13. Johanson I-M, Plos K, Marklund B-I, Svanborg C. Pap, papG and prsG DNA sequences in Escherichia coli from the fecal flora and the urinary tract. Microb Pathol 1993;15(2):121-9.

14. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Medical Microbiology, with Student Consult Online Access, 7e. 7th ed. New York: Saunders Pub;2012.

15. Johnson JR, Brown JJ. A novel multiply primed polymerase chain reaction assay for identification of variant papG genes encoding the Gal (α1–4) Gal-binding papG adhesins of Escherichia coli. J Infect Dis 1996;173(4):920-6.

16. Clinical laboratory standards institute. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; Approved Standard. [Online].[cited 2012 Jan];. Available From: http://antimicrobianoscomar/ATB/wpcontent/uploads/ 2014/11/10-CLSI-M02-A11-2012. Accessed: Jan 10, 2012.

17. Johnson JR. PapG alleles among Escherichia coli strains causing urosepsis: Associations with other bacterial characteristics and host compromise. Infect Immun 1998;66(9):4568-71.

18. Mitsumori K, Terai A, Yamamoto S, Yoshida O. Identification of S, F1C and three PapG fimbrial adhesins in uropathogenic Escherichia coli by polymerase chain reaction. FEMS Immunol Med Microbiol 1998;21(4):261-8.

19. Zhao L, Chen X, Zhu X, Yang W, Dong L, Xu X, et al. Prevalence of virulence factors and antimicrobial resistance of uropathogenic Escherichia coli in Jiangsu province (China). Urology 2009;74(3):702-7.

20. Kärkkäinen U-M, Kauppinen J, Ikäheimo R, Katila ML, Siitonen A. Rapid and specific detection of three different G adhesin classes of P-fimbriae in uropathogenic Escherichia coli by polymerase chain reaction. J Microbioll Methods 1998;34(1):23-9.

21. Nazemi A NM, Jafarpour M, Miri Nargesi MS, Sharifi SA. Distribution of genes encoding fimbriae of Escherichia coli isolated from patients with urinary tract infection. Med Lab J 2009;4(2):31-7. [Full Text in Persian]

22. Farshad S, Emamghorashi F. The prevalence of virulence genes of Escherichia coli strains isolated from children with urinary tract infection. Saudi J Kidney Dis Transplant 2009;20(4):613.

23. Serajian AA ZB, Afrogh P, Soltandallal MM. Identification of virulence factors fimbria P in strains Escherichia coli isolated from hospital Shahrekord by PCR method. J Kurdistan Univ Med Sci 2012;17(2):35-43. [Full Text in Persian]

24. Tankhiwale SS, Jalgaonkar SV, Ahamad S, Hassani U. Evaluation of extended spectrum beta lactamase in urinary isolates. Indian J Med Res 2004;120(6):553-6.

25. Tadesse DA, Zhao Sh, Tong E, Ayers Sh, Singh A, Bartholomew MJ, et al. Antimicrobial drug resistance in Escherichia coli from humans and food animals, United States, 1950-2002. Emerg Infect Dis 2012;18(5):741-9.

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 2:38 IRST on Tuesday November 21st 2017