مجله دنیای میکروب‌ها
سال نهم شماره اول (پیاپی ۲۶) بهار ۱۳۹۵
صفحات ۵۲-۴۴

Original Article

فراوانی ژن های *papA* ،*papC* و الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در سویه های *اشریشیا کلی* عامل عفونت ادراری

مریم قلندری شمامی[۱]، محسن میرزائی*[۲]، شهین نجار پیرایه[۳]

[۱] کارشناس ارشد، گروه میکروب شناسی، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، [۲] استادیار، گروه علوم آزمایشگاهی، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، [۳] دانشیار، گروه باکتری شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران.

چکیده

سابقه و هدف: عفونت دستگاه ادراری یکی از رایج ترین عفونت های باکتریایی در انسان است و شایع ترین عامل اتیولوژیک آن باکتری *اشریشیا کلی* می باشد. هدف از این مطالعه بررسی الگوی مقاومت جدایه های *اشریشیا کلی* عامل عفونت ادراری در شهر بروجرد، به تعدادی از آنتی بیوتیک های رایج و فراوانی ژن های *papA* و *papC* در میان آن ها می باشد.

مواد و روش ها: در یک مطالعه مقطعی توصیفی، تعداد ۱۵۰ جدایه *اشریشیا کلی* از بیماران مبتلا به عفونت ادراری مراجعه کننده به بیمارستان امام (ره) شهرستان بروجرد جمع آوری و با آزمایش های افتراقی رایج تعیین هویت شدند. مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه ها علیه ۱۳ آنتی بیوتیک رایج با استفاده از روش انتشار از دیسک طبق دستورالعمل های CLSI بررسی شد. حضور ژن های *papA* و *papC* با روش واکنش زنجیره ای پلی مراز (PCR) ارزیابی گردید.

یافته ها: در جدایه های مورد بررسی، بیشترین مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک آمپی سیلین ۱۲۷ (۸۴/۷٪) و کمترین مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک نیتروفورانتوئین ۸ (۵/۳٪) مشاهده گردید. همچنین میزان فراوانی ژن های *papA* و *papC* در جدایه های مورد بررسی، به ترتیب ۳۲ (۲۱/۳٪) و ۷۲ (۴۸٪) تعیین شد.

نتیجه گیری: نتایج نشان دهنده سیر صعودی مقاومت جدایه های پاتوژن ادراری *اشریشیاکلی* به اکثر آنتی بیوتیک ها و فراوانی نسبتاً بالای اپرون *pap* در این جدایه ها بود. از این رو تحقیقات بیشتر در مورد عوامل بیماری زایی و الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی این باکتری ها می تواند نقش موثری در درمان عفونت های ادراری داشته باشد.

واژگان کلیدی: عفونت مجاری ادراری، *اشریشیاکلی*، ژن *papA*، ژن *papC*، مقاومت آنتی بیوتیکی.

دریافت مقاله: تیرماه ۹۴ پذیرش برای چاپ: مهر ماه ۹۴

مقدمه

اشریشیا کلی (*Escherichia coli*) نوعی باسیل گرم منفی از خانواده انتروباکتریاسه است که به طور شایع در روده جانوران خونگرم وجود دارد و با تولید ویتامین K_2، حفظ هموستاز و ممانعت از استقرار سایر باکتری های بیماری زا در روده مزایایی را برای میزبان خود به همراه دارد (۱ و ۲). با این حال برخی از جدایه های *اشریشیا کلی* با به دست آوردن عوامل بیماری زا از طریق عوامل ژنتیکی قابل انتقال مانند پلاسمیدها، ترانسپوزون ها، باکتریوفاژها و ژن های موثر در بیماری زایی از حالت همزیست خارج شده و طبیعت بیماری زا پیدا می کنند (۱، ۳ و ٤). با وجود اینکه در دهه های گذشته مطالعات زیادی بر روی *اشریشیا کلی* صورت گرفته است و بسیاری از ویژگی های آن ها به خوبی شناخته شده اند، اما این باکتری هنوز هم یکی از اصلی ترین علل انواع عفونت در انسان محسوب می شود.

*) آدرس برای مکاتبه: بروجرد، میدان مدرس، دانشگاه آزاد واحد بروجرد، گروه علوم آزمایشگاهی.
تلفن: ۰۹۱٦٦٦٥٨٩٣٧ پست الکترونیک: mirzaei.iaub@gmail.com

از میان سروتیپ های متعدد *اشریشیا کلی* تنها تعداد کمی از آن ها توانایی ایجاد عفونت مجاری ادراری را دارا می باشند. جدایه های *اشریشیا کلی* مولد عفونت ادراری (Uropathogenic *Escherichia coli*= UPEC) نامیده می شوند (۱ و ۵). پتانسیل بیماری زایی *اشریشیا کلی* و به طور کلی توانایی آن برای حرکت از دستگاه گوارش، استقرار و ایجاد عفونت در دستگاه ادراری در نتیجه عملکرد هم زمان چندین عامل بیماری زایی اختصاصی می باشد (٦). به نظر می رسد بیان هم زمان چند عامل بیماری زایی در میان جدایه های ادراری، شایع تر از جدایه های مدفوعی باشد. در میان UPEC های جدا شده از عفونت های مجاری ادراری فوقانی نیز شایع تر از UTI های تحتانی است. این امر نشان دهنده هم افزایی عوامل بیماری زایی برای غلبه بر مکانیسم های دفاعی میزبان و در نتیجه ایجاد عفونت می باشد (۷).

پیلی P، پیلی مقاوم به مانوز (Mannose-resistant =MRHA haemagglutination) یا پیلی مرتبط با پیلونفریت نیز نامیده می شود و که توسط اپرون بسیار حفاظت شده *pap* (*papA-K*) کد می گردد. این پیلی تقریباً در ۱۵-۱۰ درصد از جدایه های مدفوعی *اشریشیا کلی* و ۹۰ درصد از جدایه های ادراری بیماران مبتلا به پیلونفریت حاد وجود دارد. پیلی P برای ایجاد عفونت های دستگاه ادراری فوقانی ضروری است و بیان *pap* شدیداً توسط عوامل متعدد محیطی و تغذیه ای تنظیم می شود. همچنین تولید آن به کمک فرآیند تغییر فاز (phase variation) وابسته به متیلاسیون کنترل می گردد.

ژن *papC* که یک ژن کاملاً حفاظت شده است، یک پروتئین غشای خارجی را بیان می کند و منفذی را در طول غشاء برای عبور پیلی تشکیل می دهد. ژن *papA* پروتئین ساختاری papA، که زیرواحد اصلی پیلی است را کد می کند. گیرنده پیلی P، گلیکوپروتئین های حاوی Gal-Gal آنتی ژن گروه خونی P انسان هستند که در سطح گلبول های قرمز بسیاری از مهره داران، لایه های عضلانی و اپی تلیوم مثانه (دستگاه ادراری فوقانی) حضور دارند و پروتئین papG واسطه این اتصال می باشد (۲ و ۸).

در دهه های اخیر، مقاومت آنتی بیوتیکی به طور قابل توجهی در میان گونه های UPEC افزایش یافته است. به طوری که روند غیر منتظره ای از مقاومت به اکثر آنتی بیوتیک های رایج مصرفی در میان سویه های *اشریشیا کلی* در سطح جهان گزارش شده است. علاوه بر *اشریشیا کلی* های بیماری زا، مقاومت آنتی بیوتیکی ممکن است سویه های *اشریشیا کلی* همسفره (کامنسال) روده را نیز درگیر نماید و به این ترتیب مخزن بزرگی از گونه های مقاوم ایجاد گردد (۹). عوامل مختلفی شامل حجم استفاده از آنتی بیوتیک، شرایط بد بهداشتی، استفاده از آنتی بیوتیک ها در تغذیه حیوانات و شرایط زندگی جمعی، ممکن است به توسعه و انتشار مقاومت آنتی بیوتیکی کمک نمایند (۱۰).

آنتی بیوتیک های مختلفی مانند کوتریموکسازول، پنی سیلین ها، سفالوسپورین ها، آمینوگلیکوزیدها، نالیدیکسیک اسید، نیتروفورانتوئین و ... در درمان عفونت های ادراری مصرف می شوند. با این وجود، روند مقاومت آنتی بیوتیکی به علت مصرف نابجا، درحال گسترش است و اکثر گونه های میکروبی که قبلاً به داروها حساس بوده اند، به تدریج مقاوم شده اند. در حال حاضر اکثر بیماران مبتلا به عفونت ادراری به صورت تجربی درمان می شوند، بدین معنی که قبل از تعیین نوع میکروب مولد عفونت ادراری، آنتی بیوتیک تجویز می شود. این امر منجر به پیدایش سویه های میکروبی مقاوم به آنتی بیوتیک های رایج مصرفی می گردد (۱۱).

هدف از این مطالعه بررسی فراوانی ژن های *papA* و *papC*، بررسی الگوی مقاومت دارویی در جدایه های بالینی *اشریشیاکلی* مولد عفونت ادراری جدا شده از بیمارستان امام خمینی (ره) شهر بروجرد بود.

مواد و روش ها

الف) جمع آوری نمونه و شناسایی باکتری: در یک مطالعه مقطعی توصیفی، تعداد ۱۵۰ جدایه *اشریشیاکلی* در مقطع زمانی

جدول ۱: ترادف پرایمرهای استفاده شده در واکنش زنجیره ای پلی مراز (٤ و ١٤).

نام ژن	توالی (5'→3')	اندازه (جفت باز)
papA	F: ATGGCAGTGGTGTCTTTTGGTG R: CGTCCCACCATACGTGCTCTTC	۷۰۶
papC	F: GTGGCAGTATGAGTAATGACCGTTA R: ATATCCTTTCTGCAGGGATGCAATA	۲۰۳

۵ ماهه، از بهمن ماه ۱۳۹۲ تا تیر ماه ۱۳۹۳، از بیماران مبتلا به عفونت ادراری مراجعه کننده به بیمارستان امام شهرستان بروجرد جداسازی گردید. انتخاب نمونه ها به صورت تصادفی و از بخش های مختلف بیمارستان صورت گرفت. تمامی جدایه ها توسط آزمایش های تعیین هویت معمول باکتری شناسی مانند تولید سولفید هیدروژن در محیط TSI (Triple Sugar Iron Agar)، اوره آز، اندول، SIM (Sulfide Indole Motility Medium)، MR/VP (Methyl Red/Voges-Proskauer) و سیترات مورد شناسایی و تائید قرار گرفتند. سویه ها برای آزمایشات بیشتر در محیط BHB (Brain heart infusion Broth) حاوی ۱۰ درصد گلیسرول و در فریزر ۲۰- نگهداری شدند (۱۲).

ب) ارزیابی حساسیت آنتی بیوتیکی: حساسیت باکتری ها نسبت به ۱۳ آنتی بیوتیک رایج مصرفی شامل آمپی سیلین (۱۰ µg)، آمپی سیلین/سولباکتام (۱۰/۱۰µg)، آمیکاسین (۳۰ µg)، سفتازیدیم (۳۰ µg)، سفوروکسیم (۳۰ µg)، سیپروفلوکساسین (۵ µg)، سفوتاکسیم (۳۰ µg)، سفوتاکسیم/کلاوولانیک اسید (۳۰/۱۰ µg)، جنتامایسین (۱۰ µg)، نالیدیکسیک اسید (۳۰ µg)، نیتروفورانتوئین (۳۰۰ µg)، نورفلوکساسین (۱۰ µg) و تری متوپریم/سولفامتوکسازول (کوتریموکسازول) (۲۵ µg) (شرکت هایمدیا هند) با استفاده از روش انتشار از دیسک و مطابق دستورالعمل انستیتو استانداردهای آزمایشگاهی و بالینی (Clinical and Laboratory Standards Institute =CLSI) بررسی شد. پس از ٢٤-١٨ ساعت گرماگذاری، هاله عدم رشد هر یک از دیسک ها اندازه گیری گردید. به منظور کنترل کیفیت دیسک ها از سویه استاندارد *اشریشیا کلی* (*Escherichia coli* ATCC 25922) استفاده شد (۱۳).

ج) واکنش زنجیره ای پلی مراز: استخراج DNA به روش جوشاندن در دستگاه ترموبلاک مدل eppendorf صورت گرفت. به منظور شناسایی ژن های فیمبریایی *papA* (Fimbrial major pilin protein) و *papC* (Outer membrane usher protein) از پرایمرهای اختصاصی (جدول ۱) استفاده گردید.

واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ۱ میکرولیتر کلرید منیزیم، ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR، ۰/۲ میکرولیتر آنزیم Taq DNA Polymerase، ۰/۵ میکرولیتر dNTPs، یک میکرولیتر از هر پرایمر، ٦ میکرولیتر DNA الگو و ۸/۵ میکرولیتر آب مقطر استریل انجام شد. واکنش PCR توسط دستگاه ترموسایکلر مدل BioRad®Gradiant مطابق با برنامه دمایی آورده شده در جدول ۲ انجام گرفت (۳، ١٤ و ١٥). در نهایت محصولات PCR با استفاده از ژل آگاروز ۱/۵ درصد الکتروفورز و در زیر دستگاه UV ترانس ایلومیناتور مورد مطالعه قرار گرفتند.

د) تجزیه و تحلیل آماری: برای آنالیزهای آماری از نسخه بیست و یکم نرم افزار SPSS و نیز EXCEL استفاده شد. آنالیزهای توصیفی برای متغیرهای پارامتریک و غیر پارامتریک

جدول ۲: برنامه دمایی واکنش زنجیره ای پلی مراز برای تکثیر ژن های *papA* و *papC*.

مراحل	دما و زمان برای *papA*	دما و زمان برای *papC*	تعداد سیکل برای *papA*	تعداد سیکل برای *papC*
واسرشت شدن ابتدایی	۹۵ °C به مدت ۱۲ دقیقه	۹٤ °C به مدت ۱۲ دقیقه	۱	۱
واسرشت شدن	۹٤ °C به مدت ۳۰ ثانیه	۹٤ °C به مدت ۳۰ ثانیه		
اتصال	٦۳ °C به مدت ۳۰ ثانیه	۵۵ °C به مدت ۳۰ ثانیه	۲۵	۳۵
گسترش	٦۸ °C به مدت ۳ دقیقه	۷۲ °C به مدت ۱ دقیقه		
گسترش نهایی	۷۲ °C به مدت ۱۰ دقیقه	۷۲ °C به مدت ۱۰ دقیقه	۱	۱

جدول۳: میزان ابتلا به عفونت دستگاه ادراری در گروه های سنی مختلف و ارتباط آن با جنسیت.

گروه سنی (سال)	زن (درصد) تعداد	مرد (درصد) تعداد	جمع کل (درصد) تعداد
۱-۱۰	۱٤ (۹/۳)	۱۰ (٦/۷)	۲٤ (۱٥/۹)
۱۱-۲۰	٤ (۲/۷)	۱ (۰/۷)	٥ (۳/۳)
۲۱-۳۰	۸ (٥/۳)	۱ (۰/۷)	۹ (٦)
۳۱-٤۰	۷ (٤/۷)	۳ (۲)	۱۰ (٦/٦)
٤۱-٥۰	۲۷ (۱۸)	٥ (۳/۳)	۳۲ (۲۱/۱)
٥۱-٦۰	۱٥ (۱۰)	٥ (۳/۳)	۲۰ (۱۳/۲)
٦۱-۷۰	۹ (٦)	٥ (۳/۳)	۱٤ (۹/۳)
۷۱-۸۰	۱۰ (٦/۷)	۱۱ (۷/۳)	۲۱ (۱۳/۹)
بالای ۸۰	٦ (٤)	۹ (٦)	۱٥ (۱۰/٦)
	۱۰۰ (٦٦/۷)	٥۰ (۳۳/۳)	۱٥۰ (۱۰۰)

جدول ۴: میزان مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه های *اشریشیاکلی* مورد بررسی.

آنتی بیوتیک ها	میزان مقاومت (٪) تعداد
آمپی سیلین	۱۲۷ (۸٤/۷)
آمپی سیلین/سولباکتام	۲۰ (۱۳/٤)
آمیکاسین	۱٥ (۱۰)
سفتازیدیم	٦۷ (٤٤/۷)
سفوروکسیم	۸۷ (٥۸)
سیپروفلوکساسین	٦۸ (٤٥/۳)
سفوتاکسیم	٦۷ (٤٤/۷)
سفوتاکسیم/کلاوولانیک اسید	٦٦ (٤٤)
جنتامایسین	۳۷ (۲٤/۷)
نالیدیکسیک اسید	۱۰۱ (٦۷/۳)
نورفلوکساسین	٦۲ (٤۱/۳)
نیتروفورانتوئین	۸ (٥/۳)
تری متوپریم/سولفامتوکسازول	۹۸ (٦٥/۳)

انجام و آزمون مربع کای برای تخمین ارتباط متغیرها انجام شد. مقادیر P کمتر از ۰/۰٥ معنی دار درنظر گرفته شدند.

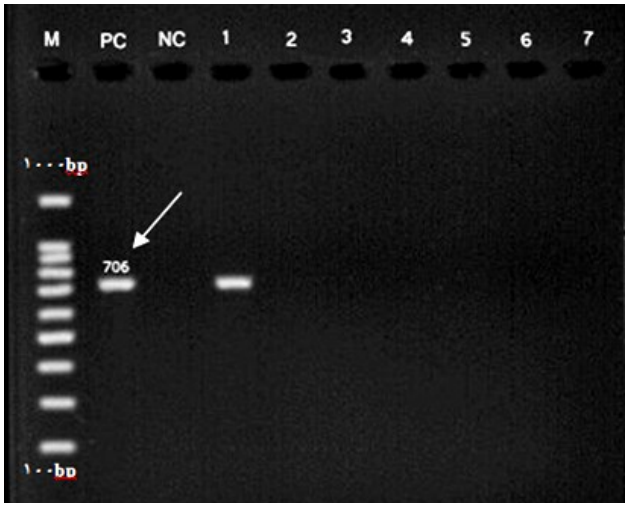
یافته ها

تعداد ۱٥۰ جدایه *اشریشیاکلی* از بیماران مبتلا به عفونت ادراری سنین یک ماه تا ۸۹ سال جداسازی گردید. در این میان تعداد ۱۰۰ جدایه (٦٦/۷٪) را زنان با میانگین سنی ٤٥/۱ سال و ٥۰ جدایه (۳۳/۳٪) را مردان با میانگین سنی ٥۲/۰٤ سال تشکیل دادند. بیشترین میزان ابتلا به عفونت ادراری در زنان ٤۰ تا ٥۰ سال و کمترین میزان آن در مردان ۱۰ تا ۳۰ سال مشاهده شد (جدول ۳).

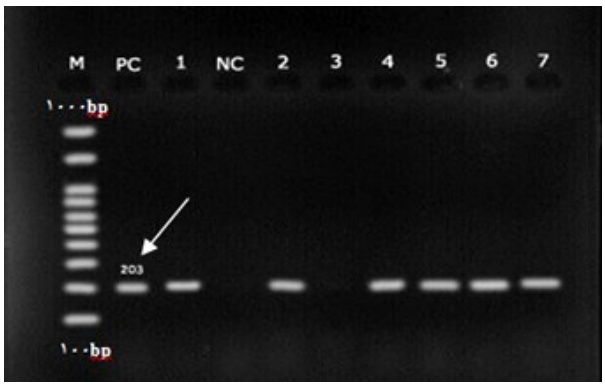
از مجموع ۱٥۰ جدایه، تعداد (۱۹/۳٪) ۲۹ جدایه از بخش قلب، (۹/۳٪) ۱٤ جدایه از بخش CCU، (۱٦٪) ۲٤ جدایه از بخش اورژانس، (۱۱/۳٪) ۱۷ جدایه از بخش ICU، (۱٦/۸٪) ۲٥ جدایه از بخش نوزادان و (۲۷/۳٪) ٤۱ جدایه از بخش داخلی جمع آوری شدند.

ارزیابی حساسیت آنتی بیوتیکی نشان داد که بیشترین مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های آمپی سیلین (۸٤/۷٪) ۱۲۷، نالیدیکسیک اسید (٦۷/۳٪) ۱۰۱ و کوتریموکسازول (٦٥/۳٪) ۹۸ و کمترین مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های نیتروفورانتوئین (٥/۳٪) ۸، آمیکاسین (۱۰٪) ۱٥ و آمپی سیلین/سولباکتام (۱۳/٤٪) ۲۰ بوده است. تنها ٦ درصد از کل جدایه ها به تمامی آنتی بیوتیک های مورد استفاده حساس بودند. اما هیچ یک از آن ها به تمامی آنتی بیوتیک ها مقاومت نشان ندادند (جدول ٤).

بر اساس نتایج حاصل از واکنش PCR فراوانی ژن *papA* (۲۱/۳٪) ۳۲ و ژن *papC* (٤۸٪) ۷۲ به دست آمد (شکل های ۱ و ۲). نتایج نشان داد که بین میزان شیوع ژن *papA* و مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک آمپی سیلین/سولباکتام (P=۰/۰٤۲) و ژن *papC* و مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های



شکل ۱: محصولات حاصل از PCR ژن *papA* (M مارکر مولکولی (۱۰۰ جفت بازی)، PC) کنترل مثبت، NC) کنترل منفی، ستون ۱) نمونه مثبت دارای ژن *papA* (۷۰٦ جفت باز).



شکل ۲: محصولات حاصل از PCR ژن *papC* M) مارکر مولکولی (۱۰۰ جفت بازی)، PC) کنترل مثبت، NC) کنترل منفی، ستون های ۱، ۲، ٤ تا ۷) نمونه های مثبت دارای ژن *papC* (۲۰۳ جفت باز).

آمپی سیلین (P=۰/۰۱۱) و (تری متوپریم/سولفامتوکسازول) کوتریموکسازول (P=۰/۰۲۸) ارتباط معنی داری وجود دارد.

بحث

ویژگی های بالینی عفونت های ادراری ناشی از *اشریشیا کلی*، به طور قابل توجهی متفاوت است و به عواملی مانند، سن، جنس و دیگر شرایط بالینی زمینه ای بستگی دارند. این عفونت ها می توانند به صورت یک باکتریوری بی علامت، سیستیس و یا پیلونفریت حاد ظاهر شوند (۸). برخی از گونه ها قادر به تهاجم به سلول های اپی تلیال پوششی و تشکیل اجزای باکتریایی هستند که ممکن است نقش مهمی را در عفونت های ادراری راجعه ایفا نمایند (١٦).

پتانسیل بیماری زایی *اشریشیا کلی* به حضور عوامل بیماری زایی مانند پیلی P وابسته است. پیلی P یک اندامک بسیار با اهمیت مقاوم به مانوز در باکتری های *اشریشیا کلی* بیماریزای خارج روده ای است. این اندامک نقش موثری در بیماریزایی، استقرار در بافت های میزبان و تحریک ایجاد پاسخ های التهابی ایفا می نماید. بیان پیلی P در پاسخ به بسیاری از عوامل محیطی و تغذیه ای تغییر و تنظیم می شود. ژن های رمز کننده پیلی P به صورت اپرون کنترل و تنظیم می شوند.

در مجموع ۱۱ ژن (*papA-K*) در غالب اپرون *pap* تولید و تنظیم پیلی P را تحت تاثیر قرار می دهند (۱۷). این پیلی گلیکواسفنگولیپیدهای کلیه حاوی گالاکتوز- گالاکتوز (آلفا ٤-۱) در سطح سلول های اپیتلیال کلیه را شناسایی می کند. اتصال پیلی P به این گیرنده باعث آزاد شدن سرآمید می شود. سرآمید باعث فعال شدن پاسخ های ایمنی می شود و در نتیجه باعث التهاب و درد ناشی از عفونت ادراری می شود (۱۷ و ۱۸). در میزبان مطالعات اپیدمیولوژیک بیان کننده ارتباط قوی پیلی P با شدت بیماری هستند و پیشنهاد می کنند که اتصال با واسطه این ارگانل ها تاثیر مستقیمی بر روی التهاب مخاطی دارد (۵). احتمالا وجود پیلی P تنها عامل بیماری زای مهم در اتیولوژی پیلونفریت های حاد محسوب نمی شود. اما خصوصیتی است که از نظر اپیدمیولوژیک بهترین ارتباط را با این بیماری دارد. به طوری که شیوع بالای آن در بسیاری از بیماران مبتلا به عفونت ادراری گزارش شده است.

اسدی (Asadi) و همکاران در جهرم (۲۰۱٤)، شیوع اپرون *papC* را ۵۳/۳٪ گزارش کردند (۱۸). در پژوهش دیگری فرشاد (Farshad) و همکاران (۲۰۱۰)، پراکندگی اپرون *pap* را ۳۰/۲٪ گزارش نمودند (۱۹). همچنین در زابل (۲۰۱٤)، راهدار (Rahdar) و همکاران فراوانی اپرون *pap* را ۸۳/٦۳٪ گزارش کردند (۲۰).

ژائو(Zhao) و همکاران (۲۰۰۹) در چین، پراکندگی ژن های *papA* و *papC* را به ترتیب ٥٤ و ٥٤ درصد گزارش نمودند (۲۱). در اکثر موارد نتایج پژوهش حاضر، با سایر گزارش های نقاط مختلف جهان مطابقت داشت و حاکی از شیوع نسبتاً بالای ژن های *papA* (۲۱/۳٪) و *papC* (٤۸٪) در میان جدایه های بالینی مورد بررسی می باشد. اما با نتایج راهدار (Rahdar) اختلاف چشمگیری دارد. دلیل آن می تواند تفاوت های جغرافیایی و نقل و انتقال ژن در جمعیت های مختلف باکتریایی باشد.

این تنوع در شیوع ژن ها میان مطالعات مختلف می تواند به این دلیل باشد که سویه های مولد عفونت ادراری انواع مختلفی از

چسبنده ها را برای اتصال به سلول های اپی تلیال ادراری و شروع عفونت را دارند. سویه های فاقد پیلی P ، ممکن است از چسبنده های دیگر استفاده نماید.

تا کنون گزارش های متعددی در مورد الگوی مقاومت ضد میکروبی و میزان شیوع اپرون *pap* در جدایه های *اشریشیاکلی* مولد عفونت ادراری انتشار یافته است. کتولی (Katouli) و همکاران دریافتند که جدایه های *اشریشیاکلی* مقاومت بالایی را نسبت به آنتی بیوتیک های آمپی سیلین و تری متوپریم/سولفامتوکسازول نشان می دهند (۲۲). در یک مطالعه دیگر، ماینارد (Maynard) و همکاران نشان دادند که اغلب *اشریشیاکلی* ها مورد بررسی نسبت به آمپی سیلین، سولفانامیدها و تتراسایکلین مقاومت دارند (۲۳). این یافته با نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر مشابهت دارد. بسیاری از محققین بر این باورند که حضور عوامل بیماری زا بر روی مقاومت ضد میکروبی جدایه های *اشریشیاکلی* موثر هستند. ورانس (Veranes) و همکاران (۱۹۹٤) گزارش کردند که جدایه های *اشریشیاکلی* حامل ژن *pap* نسبت به آموکسی سیلین مقاوم می باشند (۲٤).

در یک مطالعه دیگر، آریسوی (Arisoy) و همکاران (۲۰۰۸)، نشان دادند که جدایه های *اشریشیاکلی* حامل ژن *pap* نسبت به جدایه های فاقد این ژن، مقاومت بالاتری نسبت به آمپی سیلین دارند (۲۵). آن ها دریافتند که ژن های بیماری زا موجب افزایش مقاومت در جدایه های مقاوم و افزایش حساسیت در جدایه های حساس می شوند.

در مطالعه حاضر نیز جدایه های حامل ژن *pap* نسبت به جدایه های فاقد این ژن مقاومت بیشتری را نسبت به آمپی سیلین نشان دادند. طبق ارزیابی های به عمل آمده بیشترین پراکندگی ژن های *papA* و *papC* در نمونه های جدا شده از بخش داخلی بیمارستان مشاهده شده است. همچنین بیشترین میزان مقاومت ضد میکروبی در نمونه های جدا شده از همان بخش وجود داشته است. این یافته می تواند نتایج به دست آمده مطالعه حاضر را تائید نماید.

نتیجه گیری

مطالعه حاضر نشان دهنده سیر صعودی مقاومت جدایه های بیماری زای ادراری *اشریشیاکلی* به اکثر آنتی بیوتیک های رایج و فراوانی نسبتاً بالای اپرون *pap* در این جدایه ها است. از آنجایی که ممکن است عفونت های ادراری توسط سوش های ویرولانت و مقام به آنتی بیوتیک های رایج ایجاد شده باشند، لذا برای درمان بیمارانی با علائم حاد نباید از درمان های تجربی و فرضی استفاده شود. بنابراین برای جلوگیری از گسترش سویه های مقاوم و بیماری زا، تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی و بررسی فراوانی شاخص های بیماری زایی جدایه های بالینی *اشریشیاکلی* مولد عفونت ادراری و انتخاب اصولی آنتی بیوتیک ها برای درمان امری ضروری به نظر می رسد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد، بیمارستان امام خمینی (ره) شهرستان بروجرد و همچنین سرکار خانم روح انگیز افتخاری به دلیل همکاری صمیمانه در اجرای این پژوهش کمال امتنان را دارند.

References

1. Bien J, Sokolova O, Bozko P. Role of uropathogenic *Escherichia coli* virulence factors in development of urinary tract infection and kidney damage. Int J Nephrol. 2012; Article ID 681473. doi:10.1155/2012/681473

2. Slavchev G. Virulence of uropathogenic *Escherichia Coli*. Culture Collection. 2009; 6(4): 3-9.

3. Kaper JB, Nataro JP, Mobley HL. Pathogenic *Escherichia coli*. Nat Rev Microbiol. 2004; (2):

123-140.

4. Tarchouna M, Ferjani A, Ben-Selma W, Boukadida J. Distribution of uropathogenic virulence genes in *Escherichia coli* isolated from patients with urinary tract infection. Int J Infect Dis. 2013; 17(6): 450-453.

5. Wullt B, Bergsten G, Connell H, Rollano P, Gebretsadik N, Hull R. P fimbriae enhance the early establishment of *Escherichia coli* in the human urinary tract. Molecular Microbiol. 2000; 38(3): 456-464.

6. Tiba MR, Yano T, Leite Dda S. Genotypic characterization of virulence factors in *Escherichia coli* strains from patients with cystitis. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2008; 50(5): 255-260.

7. Yamamoto S. Molecular epidemiology of uropathogenic *Escherichia coli*. J Infect Chemother 2007; 13(2): 68-73.

8. Roberts JA, Marklund BI, Ilver D, Haslam D, Kaack MB, Baskin G. The gal (alpha 1-4) gal-specific tip adhesin of *Escherichia coli* P-fimbriae is needed for pyelonephritis to occur in the normal urinary tract. Proc Natl Acad Sci USA. 1994; 91(25): 11889-11893.

9. Moreno E, Prats G, Sabate M, Perez T, Johnson JR, Andreu A. Quinolone, fluoroquinolone and trimethoprim/sulfamethoxazole resistance in relation to virulence determinants and phylogenetic background among uropathogenic *Escherichia coli*. J Antimicrob Chemother. 2006; 57(2): 204-211.

10. Da Silva GJ, Mendonça N. Association between antimicrobial resistance and virulence in *Escherichia coli*. Virulence. 2012; 3(1): 18-28.

11. Lau SM, Peng MY, Chang FY. Resistance rates to commonly used antimicrobials among pathogens of both bacteremic and non-bacteremic community-aacquired urinary tract infection. J Microbiol Immuno Infect. 2004; 37(3): 185-191.

12. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Bailey & Scott's diagnostic microbiology. 12th ed. St. Louis: Mosby Elsevier, 2007.

13. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 21th informational supplement. Clinical and Laboratory Standards Institute Wayne PM-S.

14. Johnson JR, Stell AL. Extended virulence genotypes of *Escherichia coli* strains from patients with urosepsis in relation to phylogeny and host compromise. J Infect Dis. 2000; 181(1): 261-272.

15. Goetz GS, Mahmood A, Hultgren SJ, Engle MJ, Dodson K, Alpers DH. Binding of pili from uropathogenic *Escherichia coli* to membranes secreted by human colonocytes and enterocytes. Infect Immunity. 1999; 67(11): 6161-6163.

16. Schilling JD, Hultgren SJ. Recent advances into the pathogenesis of recurrent urinary tract infections: the bladder as a reservoir for uropathogenic *Escherichia coli*. Int J Antimicrob Agents. 2002; 19(6): 457-460.

17. Justyna B, Olga S, and PB. Role of uropathogenic *Escherichia coli* virulence factors in development of urinary tract infection and kidney damage. Int J Nephrol. 2012; Article ID

681473. doi:10.1155/2012/681473

18. Asadi S, Kargar M, Solhjoo K, Najafi A, Ghorbani-Dalini S. The association of virulence determinants of uropathogenic *Escherichia coli* with antibiotic resistance. Jundishapur J Microbiol. 2014; 7(5): e9936. [In Persian]

19. Farshad S, Emamghoraishi F, Japoni A. Association of virulent genes *hly*, *sfa*, *cnf-1* and *pap* with antibiotic sensitivity in *Escherichia coli* strains isolated from children with community-acquired UTI. Iran Red Crescent Med J. 2010; 12(1): 33-37. [In Persian]

20. Rahdar M, Rashki A, Miri H. Comparison of the common adhesion coding operons distribution in uropathogenic and phylogenetic group B2 and A *Escherichia coli* isolates. Avicenna J Clin Microbiol Infect. 2014; 1(3): e22981. [In Persian]

21. Zhao L, Gao S, Huan H, Xu X, Zhu X, Yang W. Comparison of virulence factors and expression of specific genes between uropathogenic *Escherichia coli* and avian pathogenic *E. coli* in a murine urinary tract infection model and a chicken challenge model. Microbiol. 2009; 155(Pt 5): 1634-1644.

22. Katouli M, Brauner A, Haghighi LK, Kaijser B, Muratov V, M¨ollby R. Virulence characteristics of *Escherichia coli* strains causing acute cystitis in young adults in Iran. J Infect. 2005; 50: 312-321. [In Persian]

23. Maynard C, Bekal S, Sanschagrin F. Heterogeneity among virulence and antimicrobial resistance gene profiles of extra-intestinal *Escherichia coli* isolates of animal and human origin. J Clin Microbiol. 2004; 42: 5444-5452.

24. Vranes J, Sch¨onwald S, Zagar Z. Relation between P-fimbriae and resistance to amoxicillin, carbenicillin and tetracycline in uropathogenic strains of *Escherichia coli*. Lijec Vjesn. 1994; 116: 178-181. [In Croatian]

25. Arisoy M, Yousefi Rad A, Akın A, Akar N. Relationship between susceptibility to antimicrobials and virulence factors in paediatric *Escherichia coli* isolates. Int J Antimicrob Agents. 2008; 31 Suppl 1:S4-8.

Journal of Microbial World
Volume 9, No. 1, April 2016

Original Article

Frequency of *papaA, papC* genes and antimicrobial resistance pattern in uropathogenic *Escherichia coli*

Maryam Ghalandari Shamami[1], Mohsen Mirzaee[2], Shahin Najar-peerayeh[3]

[1]MS.c., Department of Microbiology, Boroujerd branch, Islamic Azad university, Boroujerd, Iran.
[2]Assistant Professor, Department of Lab Sciences, Boroujerd branch, Islamic Azad university, Boroujerd, Iran.
[3]Associate Professor, Department of Bacteriology, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

Abstract

Background & Objectives: Urinary tract infection (UTI) is a common bacterial infection in humans. Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) strains are one of the etiologic reason for UTIs. The purpose of this study is evaluation of bacterial resistance to commonly used antibiotics and the prevalence of *papaA* and *papC* genes among uropathogenic *E. coli*.

Materials & Methods: This cross-sectional study was carried out on 150 isolates *E. coli* collected from patients with UTIs referred to Imam Khomeini Hospital in Boroujerd. Antimicrobial susceptibility test was performed for all isolates against 13 antibiotics according to the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) guidelines. Then, prevalence of *papA* and *papC* genes was examined by PCR method.

Results: The highest and lowest rates of antibiotic resistance belonged to ampicillin 127 (84.7%) and nitrofurantoin (3.5%). Also, the prevalence of *papA* and *papC* genes was 32 (21.3%) and 72 (48%), respectively.

Conclusion: These results shows increases in the antibiotic resistance in pathogen *E. coli* and high levels of pap operon in these strains. Based on these results, further investigations on the bacterial virulence and the antimicrobial resistance patterns can improve the treatment of urinary infections.

Keywords: Urinary tract infection, *Escherichia coli*, *papA gene, papC gen,* Antibiotic resistance.

Correspondence to: Mohsen Mirzaee

Tel: +989166658937

E-mail: mirzaei.iaub@gmail.com

Journal of Microbial World 2016, 9(1): 44-52.