

شناسایی ژن‌های ویروالانس در سویه‌های اشریشیا کلی جدا شده از کودکان مبتلا به عفونت دستگاه ادراری و تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها

میترا علیشاه^۱، کیومرث امینی^۲، تقی زهرایی صالحی^۳

تاریخ دریافت ۱۳۹۵/۰۸/۱۷ تاریخ پذیرش ۱۳۹۵/۰۹/۲۹

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: عفونت‌های دستگاه ادراری (UTI) یکی از شایع‌ترین عفونت‌های سراسر جهان هستند. مبتلایان به عفونت ادراری اشریشیا کلی (UPEC) پاتوژن اولیه‌ای که باعث عفونت ادراری می‌شوند. هدف از انجام این مطالعه شناسایی ژن‌های مختلف *ibeA*, *sfaS*, *iutA*, *fimH*, *papG*, *papC* و نیز بررسی میزان حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های اشریشیاکلی جدا شده از نمونه ادراری می‌باشد.

مواد و روش کار: در این تحقیق توصیفی-مقطعی، ۱۲۰ نمونه از کودکان مبتلا به عفونت دستگاه ادراری مراجعه‌کننده به مرکز طبی کودکان در تهران جمع‌آوری و پس از جداسازی باکتری و استخراج DNA، آزمون‌های حساسیت آنتی‌بیوتیکی توسط روش دیسک دیفیوژن با آنتی‌بیوتیک‌های موردنظر انجام گرفت. حضور ژن‌های کلاس *ibeA* و *sfaS*, *iutA*, *fimH*, *papG*, *papC* به روش PCR چندگانه‌ای مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که نمونه‌های اشریشیاکلی جدا شده نسبت به آمیکاسین (۱۰۰ درصد) حساس و نسبت به آمپی‌سیلین (۶۰ درصد) مقاومت داشته‌اند. فراوانی ژن‌های تحت مطالعه *papC* (۵۸ درصد)، *papG* (۴۷ درصد)، *fimH* (۸۵ درصد)، *iutA* (۳۵ درصد)، *sfaS* (۱ درصد) و *ibeA* (۱ درصد) بود.

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که ژن *fimH* و ژن *papC* شایع‌ترین ژن‌های شناسایی شده در اشریشیاکلی جدا شده از عفونت دستگاه ادراری بوده است. علت تفاوت نتایج با سایر مطالعات به دلیل تنوع منطقه جغرافیایی می‌باشد.

کلیدواژه‌ها: اشریشیا کلی، ژن‌های ویروالانس، عفونت دستگاه ادراری

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و هفتم، شماره یازدهم، ص ۹۴۹-۹۴۲، بهمن ۱۳۹۵

آدرس مکاتبه: تهران، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات. ۰۲۱-۶۶۴۲۷۵۱۷

Email: tsalehi@ut.ac.ir

مقدمه

دستگاه ادراری ایجاد می‌شوند، که منجر به تغییرات در عملکرد در دستگاه ادراری و کلیه‌ها می‌شود. این بیماری در بین کودکان هم بسیار دیده می‌شود که یک بیماری مهم و شایع در کودکان به حساب می‌آید که ۳ تا ۵ درصد در دختران و ۱ درصد در پسران رخ می‌دهد (۵، ۶). این عفونت یک علت شایع تب و ارجاع به بخش اورژانس و بستری در بیمارستان به‌خصوص در شیرخواران می‌باشد. سن، جنس، میکروارگانیسم عامل بیماری، درگیری کلیه یا مثانه و اختلالات زمینه‌ای بستگی دارد. به‌طور کلی تب و علائم درگیری دستگاه گوارش مانند اسهال و استفراغ، عدم رشد FTT، تحریک‌پذیری در کودکان در زیر ۲ سال دیده می‌شود.

اشریشیاکلی جزئی از فلور طبیعی روده است اما برخی مواقع این باکتری با تهاجم به سایر بافت‌ها ایجاد بیماری می‌کند (۱، ۲). باکتری‌های پاتوتیپ یوروپاتوژنیک/اشریشیاکلی (UPEC) واجد فیمبریه یا پیلی بوده و قادرند به سلول‌های اپی‌تلیال دستگاه ادراری حمله کرده و درون آن‌ها تکثیر شوند که حدود ۹۰ درصد عفونت‌های اکتسابی را شامل می‌شود (۳، ۴). این باکتری از خانواده انتروباکتریاسه عامل ۷۵-۹۰ درصد عامل عفونت دستگاه ادراری (UTI) می‌باشد. عفونت‌های دستگاه ادراری یکی از بیماری‌های التهابی می‌باشد که توسط بسیاری از باکتری‌های بیماری‌زا در

^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

^۳ استاد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران (نویسنده مسئول)

استفاده گردید (۱۴-۱۸). جهت استخراج DNA از کیت باکتریهای گرم منفی سیناژن (Cinna Pure DNA KIT-PR881613) استفاده گردید. چرخه برنامه آزمون M-PCR: مرحله دناتوراسیون اولیه ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۳ دقیقه، مرحله دناتوراسیون ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه، مرحله اتصال ۶۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه، مرحله بسط ۶۸ درجه سانتی گراد به مدت ۲ دقیقه (تعداد ۳۴ سیکل)، مرحله بسط نهایی ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه بوده است. پرایمرهای مورد استفاده در این آزمون در جدول ۱ ذکر شده است (۱۵). مخلوطهای استفاده شده جهت انجام واکنش به این شرح می باشد: (Cinna KIT- PCR MASTER MIX (PR8250C به میزان ۱۲/۵ میکرولیتر، پرایمرهای مورد استفاده هر کدام ۰/۵ میکرولیتر، آب مقطر ۴/۵ میکرولیتر، نمونه DNA ۴ میکرولیتر در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر تهیه و مورد استفاده قرار گرفت (۱۴-۱۸). جهت بررسی محصول نمونه ها بر روی ژل آگارز ۲ درصد انتقال داده شده و بعد از رنگ آمیزی در دستگاه ژل داگ BIORAD مورد بررسی قرار گرفت. جهت انجام آزمون آنتی بیوگرام از روش دیسک دیفیوژن (Disk diffusion) به روش کربی بائر و بر طبق دستورالعمل (Clinical and Laboratory Standards institute) استفاده گردید (۱۹). تعدادی از کلونی باکتری را به وسیله آس برداشته و در سرم فیزیولوژی استریل حل نموده تا برابر با کدورت استاندارد نیم مک فارلند گردد. سپس بر روی محیط مولر هینتون آگار کشت داده و دیسک های آنتی بیوتیک با فاصله استاندارد بر روی محیط کشت قرار داده و در دمای ۳۷ درجه انکوبه گردیده و بعد از ۲۴ ساعت نتایج قرائت گردید (۱۹). جهت انجام این مطالعه دیسک های آنتی بیوتیک سفکسیم (۵ میکروگرم)، آمپی سیلین (۱۰ میکروگرم)، سفتریاکسون (۲ میکروگرم)، نالیدکسیک اسید (۳۰ میکروگرم)، سفپیم (۳ میکروگرم)، جنتامایسین (۵ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۲ میکروگرم)، آمیکاسین (۳۰ میکروگرم)، نیتروفورانتوئین (۳۰۰ میکروگرم)، از شرکت پادتن طب تهیه گردید. داده های آماری با نرم افزار SPSS نسخه ۱۹ و با استفاده از آزمون های آماری توصیفی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته ها

میانگین سنی بیماران 1.67 ± 5 سال (محدوده سنی ۱-۱۰ سال) بود. در مجموع ۷۰ ایزوله (۵۸ درصد) واجد ژن *papC* ۵۶ ایزوله (۴۷ درصد) *papG*، ۱۰۲ ایزوله (۸۵ درصد) *fimH*، ۴۲ ایزوله (۳۵ درصد) *iutA*، ۱ ایزوله (۱ درصد) *sfaS* و ۱ ایزوله (۱ درصد) *ibeA* بود. در هیچ یک از نمونه ها ژن های مورد نظر به طور هم زمان ردیابی نگردیدند. نتیجه آزمون ملکولی در شکل ۱ به همراه

در سنین بالاتر علائم تحریکی ادرار مانند دیزوری، تکرر ادرار، اورژانسی، شب ادراری، شایع تر و تب کم تر دیده می شود. در بیمارانی که به علت شک به *(UTI)* بستری شده اند، قبل از آماده شدن جواب کشت ادرار، درمان آنتی بیوتیکی به صورت امپایریک (تجربی) شروع می شود (۷-۹). این کار به منظور رفع علائم، سرکوب عفونت، جلوگیری از اوروسپسیس و کاهش احتمال آسیب کلیوی صورت می گیرد. درمان آنتی بیوتیکی وریدی در هر کودکی با علائم سیستمیک شدید لازم است. درمان اولیه در نوزادان معمولاً آمپی سیلین و جنتامایسین وریدی و در کودکان با سن بیشتر، سفالوسپورین ها مثل سفوناکسیم می باشد. از بین تمام فاکتورهای ویروالانس در باکتری فیمبریه *P* باکتری (*pap*)، فیمبریه *S* (*sfa*)، فیمبریه مربوط به اتصال باکتری (*afa*)، همولیزین باکتری (*hly*)، فاکتور نکروز دهنده سایتوتوکسیک (*cnf-1*)، آئروباکترین باکتری (*eae*)، فاکتور ادهسین (*fimH*) و فاکتورهای حدت (ویروالانس) *iutA* و *ibeA* *aha* *astA* *set-1* *aroN* *ausp* نقش اصلی را در بروز عفونت های دستگاه ادراری دارند (۱۰-۱۲). بنابراین نفوذ، اتصال و حمله باکتری اشریشیا کلی پاتوژن ادراری ژن های فوق نقش دارد. مشکل مقاومت به آنتی بیوتیک ها در سراسر دنیا وجود دارد. شناخت الگوی مقاومت و حساسیت میکروارگانیسم ها، خصوصاً باکتری های گرم منفی، نسبت به آنتی بیوتیک ها در هر بیمارستان، در انتخاب مناسب و صحیح آنتی بیوتیک و کنترل عفونت ها از جمله عفونت های بیمارستانی نقش مؤثری دارد. گر چه اشریشیا کلی به عنوان یک پاتوژن حساس به آنتی بیوتیک شناخته شده است، اما طی دهه گذشته، میزان مقاومت اشریشیا کلی افزایش یافته است (۱۲، ۱۳). هدف از این تحقیق شناسایی ژن های ویروالانس اشریشیا کلی جدا شده از نمونه های ادراری کودکان به روش Multiplex PCR و بررسی میزان حساسیت آنتی بیوتیک آن ها می باشد.

مواد و روش کار

در این مطالعه توصیفی - مقطعی که در یک بازه زمانی ۶ ماهه از ابتدای خرداد لغایت انتهای آبان سال ۱۳۹۴ انجام گرفت، تعداد ۱۲۰ سویه اشریشیا کلی جدا شده از نمونه ادرار از آزمایشگاه بیمارستان مرکز طبی کودکان شهر تهران جمع آوری شد. تمامی پلیت ها پس از انتقال به آزمایشگاه تحقیقاتی پاسارگاد به منظور تأیید بر روی محیط های بلاد آگار، مک کانکی آگار و ائوزین متیلن بلو آگار (EMB) کشت داده شدند. پس از ۲۴ ساعت کلنی های رشد یافته بررسی و با آزمون های تشخیصی و تکمیلی بیوشیمیایی تأیید گردیدند (۱۴). ایزوله های اشریشیا کلی یوروپاتوژن که وجود ژن های *papC* *papG* *fimH* *iutA* *sfaS* و *ibeA* (جدول-۱). توالی پرایمر ژن ها) در آن ها تأیید شده بود به عنوان استاندارد مثبت،

نمونه‌های مثبت گزارش شده است. همچنین میزان مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف جنتامایسین، سفکسیم، سفتریاکسون، سیپروفلوکساسین، آمپی‌سیلین، نالیدکسیک اسید، سفپیم و نیتروفرانتوئین به ترتیب ۲۲ درصد، ۲۵ درصد، ۲۷ درصد، ۱۵ درصد، ۶۰ درصد، ۳۰ درصد، ۲۷ درصد و ۳ درصد مشاهده شد (جدول ۲). همانگونه که در جدول ۲ قابل مشاهده است بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین و

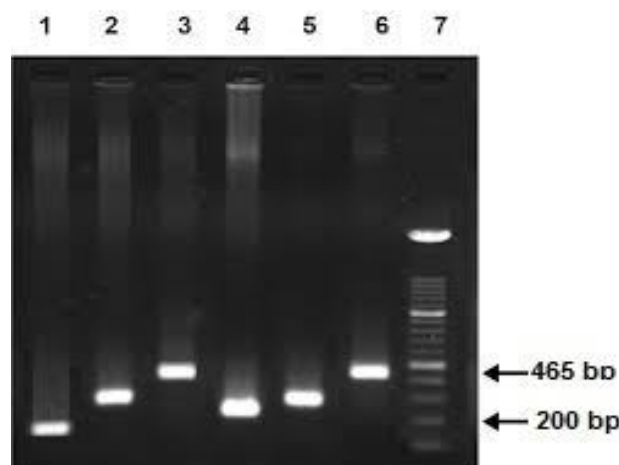
دو داروی سفپیم و سفتریاکسون به ترتیب ۶۰ و ۲۷ درصد و بیشترین میزان حساسیت آنتی‌بیوتیکی سویه‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های آمیکاسین و نیتروفرانتوئین به ترتیب ۱۰۰ و ۹۷ درصد گزارش شد. همچنین سویه‌ای که به همه داروها مقاوم باشد و همچنین سویه‌ای که به کل داروهای مورد استفاده حساس باشند، در بین سویه‌های مورد مطالعه در این تحقیق یافت نگردید. بیشترین میزان مقاومت در این سویه‌ها نسبت به ۵ دارو مشاهده گردید.

جدول (۱): توالی پرایمرهای مورد استفاده در این تحقیق

ژن هدف	طول	نام پرایمر	دمای اتصال	توالی پرایمر (5'-3')	ژن هدف
محصول bp		پرایمر			
fimH	۴۶۵	fimH-f	۶۵	AACAGCGATGATTTCCAGTTTGTGTG	fimH
		fimH-r		ATTGCGTACCAGCATTAGCAATGTCC	
papC	۳۲۸	pap-f	۶۵	GACGGCTGTACTGCAGGGTGTGGCG	papC
		pap-r		ATATCCTTTCTGCAGGGATGCAATA	
papG	۴۶۱	pap-f	۶۵	TCGTGCTCAGGTCCGGAATTT	papG
		pap-r		TGGCATCCCCAACATTATCG	
iutA	۳۰۰	iutA-f	۶۵	GGCTGGACATCATGGGAAGTGG	iutA
		iutA-r		CGTCGGGAACGGGTAGAATCG	

جدول (۲): تعداد و درصد سویه‌های حساس و مقاوم نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف

نوع آنتی‌بیوتیک	تعداد (درصد) سویه‌های مقاومت	تعداد (درصد) سویه‌های نیمه حساسیت	تعداد (درصد) سویه‌های حساسیت
جنتامایسین	۲۶ (۲۲)	۲ (۲)	۹۲ (۷۶)
سفکسیم	۳۱ (۲۵)	۲ (۲)	۸۷ (۷۳)
سفتریاکسون	۳۳ (۲۷)	-	۸۷ (۷۳)
سیپروفلوکساسین	۱۸ (۱۵)	-	۱۰۲ (۸۵)
آمپی‌سیلین	۷۲ (۶۰)	۲ (۲)	۴۶ (۳۸)
نالیدکسیک اسید	۳۶ (۳۰)	-	۸۴ (۷۰)
سفپیم	۳۳ (۲۷)	۳ (۳)	۸۴ (۷۰)
آمیکاسین	-	-	۱۲۰ (۱۰۰)
نیتروفرانتوئین	۳ (۳)	-	۱۱۷ (۹۷)



شکل (۱): ردیف ۱، ژن *ibeA* (۱۷۰ bp)، ردیف ۲، ژن *papC* (۳۲۸ bp)، ردیف ۳، ژن *papG* (۴۶۱ bp)، ردیف ۴، ژن *sfaS* (۲۴۰ bp)، ردیف ۵، ژن *iutA* (۳۰۰)، ردیف ۶، ژن *fimH* (۴۶۵ bp) و ردیف ۷، سایز مارکر 2kb

بحث و نتیجه‌گیری

اشریشیا کلی باکتری گرم منفی عامل اصلی عفونت‌های خارج روده‌ای مانند باکتری، مننژیت نوزادان، پیلونفریت، سیستیت، و پروستاتیت است. عفونت دستگاه ادراری از شایع‌ترین عفونت‌ها در زنان و کودکان است و در این میان باکتری‌های مختلف اشریشیا کلی عامل اصلی عفونت بشمار می‌رود. این باکتری بواسطه داشتن ژن‌های ویروالانس مختلف در بیماری‌زایی دستگاه ادراری نقش اساسی دارد از طرفی مقاومت علیه آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده، مشکل مهمی در پروسه درمانی می‌باشد (۱۳). این مطالعه به‌منظور تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی و بررسی شیوع ژن‌های ویروالانس *papG* *papC* *fimH* *iutA* *sfaS* و *ibeA* در ایزوله‌های بالینی اشریشیا کلی جدا شده از نمونه‌های ادراری کودکان انجام شده است. فراوانی ژن‌های این مطالعه (۵۸ درصد) واجد ژن *papC* (۴۷ درصد) *papG* (۸۵ درصد) *fimH* (۳۵ درصد) *iutA* (۱ درصد) *sfaS* و (۱ درصد) *ibeA* بود. Tiba و همکارانشان در سال ۲۰۰۸ با استفاده از روش مولتی پلکس PCR در ۱۶۲ ایزوله اشریشیا کلی (UPEC) جدا شده از نمونه‌های ادراری به بررسی فراوانی ژن‌های تحت مطالعه ما *papC* ۵۳ ایزوله (۳۲/۷ درصد)، *papG* ۵۳ ایزوله (۳۲/۷ درصد) *fimH* ۱۵۸ ایزوله (۹۷/۵ درصد) گزارش نمود (۲۰). Yun و همکارانشان در سال ۲۰۱۴ با استفاده از روش PCR در ۶۴ ایزوله اشریشیا کلی (UPEC) جدا شده از نمونه‌های ادراری به بررسی فراوانی ژن‌های تحت مطالعه ما *papC* ۲ ایزوله (۳/۱ درصد)، *papG* ۲۵ ایزوله (۳۹ درصد) و *fimH* ۶۲ ایزوله (۹۶/۹ درصد) گزارش نمود. همچنین میزان مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف در مطالعه Yun جنتامایسین، سفتریاکسون،

سیپروفلوکساسین، آمپی‌سیلین و سفپیم به‌ترتیب ۳۴/۸ درصد، ۲۰/۴ درصد، ۴/۱ درصد، ۶۵/۲ درصد و ۱۵ درصد گزارش شد (۲۱). Ananias و همکارانشان در سال ۲۰۰۸، با استفاده از روش PCR در ۶۰ ایزوله اشریشیا کلی به بررسی فراوانی ژن‌های تحت مطالعه ما *papC* ۳۹ ایزوله (۶۵ درصد)، *papG* ۳۷ ایزوله (۶۲ درصد)، *ibeA* ۴ ایزوله (۶/۷ درصد) و *fimH* ۵۷ ایزوله (۹۵ درصد) گزارش نمود (۲۲). Rodriguez-Siek و همکارانشان در سال ۲۰۰۵ فراوانی ژن‌های تحت مطالعه ما رو در ۲۰۰ ایزوله UPEC به‌ترتیب *papC* ۱۰۳ (۵۱/۵ درصد)، *papG* ۶۴ (۳۲ درصد)، *fimH* ۱۹۸ (۹۹ درصد)، *iutA* ۶۷ (۳۳/۵ درصد)، *sfaS* ۵۲ (۲۶ درصد) و *ibeA* ۱۹۸ (۹۹ درصد) گزارش نمودند (۲۳). López-Banda و همکارانشان در سال ۲۰۱۴ با استفاده از روش مولتی پلکس PCR به بررسی فراوانی ژن‌های تحت مطالعه ما در ۱۰۸ ایزوله UPEC به‌ترتیب *papC* ۶۲ (۵۷ درصد)، *fimH* ۹۸ (۹۱ درصد)، *iutA* (۴۸/۱ درصد)، *sfaS* (۱/۹ درصد) و *ibeA* (۲/۸ درصد) گزارش نمودند (۲۴). Navidinia و همکارانشان در سال ۲۰۱۲ به بررسی حساسیت دارویی و ردیابی ژن‌های تحت مطالعه حاضر شامل *papC* (۱۲/۳۷ درصد) و *papG* (۱۵/۰۶ درصد) پرداختند. تمامی ایزوله‌های ۳۷۸ ایزوله از ۱۲۵۷۲ نمونه ادراری کودکان به‌دست آمده نسبت به پنی‌سیلین، اگزاسیلین، باسیتراسین، کلوزاکسازین و پیپراسیلین مقاوم بودند. مقاوم در برابر آنتی‌بیوتیک‌های دیگر عبارت بودند از: سولفومتاکسازول (۹۲ درصد)، نالیدیکسید اسید (۵۳ درصد)، آمپی‌سیلین (۸۹ درصد)، نیتروفورانتوئین (۹ درصد)، سفوتاکسیم (۵۵/۳ درصد)، سفکسیم (۶۷ درصد)، جنتامایسین (۷۲ درصد)، سفالکسین (۷۵/۶ درصد) و سیپروفلوکساسین (۱۷/۵ درصد) گزارش شد (۲۵). در

در سطح مولکولی ضروری هستند که سویه‌های مولد بیماری‌زای دستگاه ادراری که به‌طور هم‌زمان عوامل بیان متعدد ویروالانس را دارا می‌باشند. 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 و بررسی ژن‌های ویروالانس در این باکتری‌ها می‌تواند در انتخاب مناسب‌ترین گزینه درمانی مؤثر باشد.

تشکر و قدردانی

از کارکنان آزمایشگاه پژوهشی میکروبیولوژی پاسارگاد مهندس ابوالفضل مقدم و دکتر علیرضا مختاری که در کلیه مراحل انجام عملی این تحقیق یاری نمودند تشکر و قدردانی می‌گردد.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافی را اعلام نکرده‌اند.

ملاحظات اخلاقی

کلیه اقدامات جهت رعایت اخلاق در تهیه و استفاده از اطلاعات مقالات دیگر جهت بکارگیری در پژوهش فعلی توسط نویسندگان اتخاذ گردید. این مقاله کد اخلاقی ندارد.

تحقیقاتی که در شهرکرد انجام شد، بالاترین مقاومت نسبت به آمپی‌سیلین و کوتریماکسازول گزارش گردید (۲۶). طی مطالعه‌ای در بازه زمانی ۱۹۵۰-۲۰۰۲ گزارش گردید که مقاومت چند دارویی (۳) در مورد اشریشیا کلی روبه افزایش بوده، به‌طوری‌که از دهه ۱۹۵۰ تا ۲۰۰۰ از ۷/۲ درصد به ۶۳/۶ درصد رسیده و شایع‌ترین فنوتیپ مقاومت نسبت به تتراسایکلین و استریتومایسین ۲۹/۷ درصد و تتراسایکلین و سولفونامید ۲۹ درصد مشاهده شد (۲۷). در تحقیق ما در مقایسه با سایر نتایج، بیشترین حساسیت مربوط به آنتی‌بیوتیک‌های آمیکاسین و نیتروفوران‌توئین به‌ترتیب ۱۰۰ درصد و ۹۷ درصد گزارش شد. همچنین در مطالعه حاضر در ۶۰ درصد نمونه‌ها مقاومت به ۵ دارو و بیشتر مشاهده گردید که این میزان مقاومت چند دارویی می‌تواند در ایجاد سویه‌های مقاوم به درمان مؤثر باشد. علت تفاوت نتایج مطالعه حاضر با سایر مطالعات به دلیل تنوع منطقه جغرافیایی و تنوع ژنتیکی استرین‌ها می‌باشد. با بررسی مطالعه حاضر با مطالعه دیگران بیشترین فراوانی ژن متعلق به ژن *fimH* بوده است به دنبال آن ژن *papC* و *papG* بوده است. سیپروفلوکساسین و نیتروفوران‌توئین همچنان به‌عنوان آنتی‌بیوتیک انتخابی می‌تواند در درمان مؤثر باشد. بررسی دوره‌ای و تدوین سیاست آنتی‌بیوتیک برای کنترل کسب مقاومت دارویی موردنیاز است. مطالعات بیشتر در درک بهتر از تعامل عوامل حدت مختلف

References:

- Ozcelik B, Aslan M, Orhan I, Karaoglu T. Antibacterial, antifungal, and antiviral activities of the lipophylic extracts of Pistacia vera. Microbiolo Res 2005; 160(2): 159-64.
- Al-Shara M. Emerging Antimicrobial Resistant of Klebsiella Pneumonia strains Isolated from Pediatric Patients in Jordan. New Iraqi J Med 2011; 7(2): 81-7.
- Wilson BA, Salyers AA, Whitt DD, Winkler ME. Bacterial pathogenesis: a molecular approach: American Soci Microbiol (ASM); 2011.
- Slavchev G, Pisareva E, Markova N. Virulence of uropathogenic Escherichia coli. J Cult Collect 2013; 6: 3-9.
- Wiles TJ, Kulesus RR, Mulvey MA. Origins and virulence mechanisms of uropathogenic Escherichia coli. Exp Mol Pathol 2008; 85(1): 11-9.
- 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.
- Snyder JA, Haugen BJ, Buckles EL, Lockatell CV, Johnson DE, Donnenberg MS, et al. Transcriptome of uropathogenic Escherichia coli during urinary tract infection. Infect Immun 2004; 72(11): 6373-81.
- Dormanesh B, Dehkordi FS, Hosseini S, Momtaz H, Mirnejad R, Hoseini MJ, et al. Virulence factors and o-serogroups profiles of uropathogenic Escherichia coli isolated from Iranian pediatric patients. Iran Red Crescent Med J 2014; 16(2).
- Johnson JR, Russo TA. Molecular epidemiology of extraintestinal pathogenic (uropathogenic) Escherichia coli. Inter J Med Microbiol 2005; 295(6): 383-404.

10. 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): 261-72.
11. Safarpourdehkourdi F, Momtaz H, Esmailzade S, Khayyat Khameneie M, Yahaghi E. Detection of virulence factors of Uropathogenic *Escherichia coli* isolates from infertile women high vaginal swabs. *Iran J Med Microbiol* 2014; 7(4): 1-8. (Persian)
12. Von Baum H, Marre R. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* and therapeutic implications. *Inter J Med Microbiol* 2005; 295(6): 503-11.
13. Gaspari RJ, Dickson E, Karlowsky J, Doern G. Antibiotic resistance trends in paediatric uropathogens. *Inter J Antimicrob Agents* 2005; 26(4): 267-71.
14. Tarchouna M, Ferjani A, Ben-Selma W, Boukadida J. Distribution of uropathogenic virulence genes in *Escherichia coli* isolated from patients with urinary tract infection. *Intern J Infect Dis* 2013; 17(6): e450-e3.
15. Johnson JR, Russo TA, Brown JJ, Stapleton A. papG alleles of *Escherichia coli* strains causing first-episode or recurrent acute cystitis in adult women. *J Infect Dis* 1998; 177(1): 97-101.
16. Matsuda K, Chaudhari AA, Lee JH. Avian colibacillosis caused by an intestinal pathogenic *Escherichia coli* isolate from calf diarrhea. *Res Vet sci* 2010; 89(2): 150-2.
17. Nam E-H, Ko S, Chae J-S, Hwang C-Y. Characterization and zoonotic potential of uropathogenic *Escherichia coli* isolated from dogs. *J Microbiol Biotechnol* 2013; 23(3): 422-9.
18. Guiral E, Bosch J, Vila J, Soto SM. Prevalence of *Escherichia coli* among samples collected from the genital tract in pregnant and nonpregnant women: relationship with virulence. *FEMS Microbiol letters* 2011; 314(2): 170-3.
19. Jorgensen JH, Turnidge JD. Susceptibility test methods: dilution and disk diffusion methods. *Manual of Clinical Microbiology*, Eleventh Edition American Society of Microbiology; 2015. P. 1253-73.
20. Tiba MR, Yano T, Leite DdS. Genotypic characterization of virulence factors in *Escherichia coli* strains from patients with cystitis. *Rev Assoc Med Bras* 2008; 50(5): 255-60.
21. Yun KW, Kim HY, Park HK, Kim W, Lim IS. Virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli* of urinary tract infections and asymptomatic bacteriuria in children. *J Microbiol Immunol Infect* 2014; 47(6): 455-61.
22. Ananias M, Yano T. Serogroups and virulence genotypes of *Escherichia coli* isolated from patients with sepsis. *Brazilian J Med Biol Res* 2008; 41(10): 877-83.
23. Rodriguez-Siek KE, Giddings CW, Doetkott C, Johnson TJ, Fakhr MK, Nolan LK. Comparison of *Escherichia coli* isolates implicated in human urinary tract infection and avian colibacillosis. *Microbiol* 2005; 151(6): 2097-110.
24. López-Banda DA, Carrillo-Casas EM, Leyva-Leyva M, Orozco-Hoyuela G, Manjarrez-Hernández ÁH, Arroyo-Escalante S, et al. Identification of virulence factors genes in *Escherichia coli* isolates from women with urinary tract infection in Mexico. *Biomed Res Int* 2014;2014:959206.
25. Navidinia M, Krimi A, Ahsani RR, Fallah F, Adabian S, Malekan MA, et al. Antibiotic Susceptibility Spectrum in UPEC from Urine in Children with UTI in Mofid Children Hospital. *J Pure Appl Microbiol* 2012; 6(2): 751-6.
26. Zamanzad B, 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 Uni J 2005; 8(4): 23-30. (Persian)
27. Tadesse DA, Zhao S, Tong E, Ayers S, 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.

DETECTION OF VIRULENCE GENES IN *ESCHERICHIA COLI* STRAINS ISOLATED FROM CHILDREN WITH URINARY TRACT INFECTION AND THEIR ANTIBIOTIC RESISTANCE PROFILE

Mitra Alishah¹, Kumarss Amini², Taghi Zahraei Salehi^{3*}

Received: 8 Nov, 2016; Accepted: 20 Dec, 2016

Abstract

Background & Aims: Urinary tract infections (UTI) are of the most common infections worldwide. Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) causing urinary tract infections are the primary pathogens. The aim of this study was to identify different genes *papC*, *papG*, *fimH*, *iutA*, *sfaS*, *ibeA* and antibiotic susceptibility of *E. coli* strains isolated from urinary tract infection.

Materials & Methods: In this cross-sectional study, 120 samples were collected from patients with urinary tract infection who referred to Children Medical Center in Tehran, Iran. Antibiotic susceptibility testing by disk diffusion method was performed according to CLSI guidelines. Thus, DNA extraction was performed from all strains and multiplex PCR was conducted for detection of *papC*, *papG*, *fimH*, *iutA*, *sfaS* and *ibeA* virulence genes in all strains.

Results: The results showed that *E. coli* isolates to amikacin (100%) sensitive and had resistance to ampicillin (60%). Virulence genes prevalence was *fimH* 85%, *papC* 58%, *papG* 47%, *iutA* 35%, *sfaS* 1% and *ibeA* 1%.

Conclusion: The results of this study showed that the most common gene encoding genes *fimH* and *papC* adhesion genes in *E. coli* was isolated from urinary tract infection *pap* Fimbriae. The difference between the results with other studies is due to the diversity of geographic region.

Keywords: *Escherichia coli*, Virulence genes, Urinary tract infection

Address: Microbiology Department, Faculty of Specialized Veterinary Medicine, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Tel: +989121597067

Email: tsalehi@ut.ac.ir

SOURCE: URMIA MED J 2017; 27(11): 949 ISSN: 1027-3727

¹ MSc in Microbiology, 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

³ Professor, Microbiology Department, Faculty of Specialize Veterinary Medicine, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran (Corresponding Author)