مقاله پژوهشی

شناسایی ژن‌های ویرولانس در سویه‌های اشریشیا کلی جداشده 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 *papC*، *papG*، *fimH*، *iutA*، *sfaS*، *ibeA* و نیز بررسی میزان حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های *اشریشیاکلی* جداشده 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 *papC*، *papG*، *fimH*، *iutA*، *sfaS* و *ibeA* به روش PCR چندگانه‌ای موردبررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که نمونه‌های *اشریشیاکلی* جداشده 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 شناسایی‌شده در *اشریشیاکلی* جداشده از عفونت دستگاه ادراری بوده است. علت تفاوت نتایج با سایر مطالعات به دلیل تنوع منطقه جغرافیایی می‌باشد.

کلیدواژه‌ها: اشریشیا کلی، ژن‌های ویرولانس، 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. ۶۶۴۲۷۵۱۷-۰۲۱

Email: tsalehi@ut.ac.ir

مقدمه

اشریشیا کلی 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 ۹۰-۷۵درصد عامل عفونت دستگاه ادراری (UTI) می‌باشد. عفونت‌های دستگاه ادراری یکی از بیماری‌های التهابی می‌باشد که توسط بسیاری از باکتری‌های بیماری‌زا در 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 به‌حساب 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. به‌طورکلی تب و علائم درگیری دستگاه گوارش مانند اسهال و استفراغ، عدم رشد FTT، تحریک‌پذیری در کودکان در زیر ۲ سال دیده می‌شود.

[۱] دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد، 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)

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]

در سنین بالاتر علائم تحریکی ادرار مانند دیزوری، تکرر ادرار، اورژانسی، شب‌ادراری، شایع‌تر و تب کم‌تر دیده می‌شود. در بیمارانی که به علت شک به (*UTI*) بستری‌شده‌اند، قبل از آماده شدن جواب کشت ادرار، درمان آنتی‌بیوتیکی به‌صورت امپایریک (تجربی) شروع می‌شود(۷-۹). این کار به‌منظور رفع علائم، سرکوب عفونت، جلوگیری از اوروسپسیس و کاهش احتمال آسیب کلیوی صورت می‌گیرد. درمان آنتی‌بیوتیکی وریدی در هر کودکی با علائم سیستمیک شدید لازم است. درمان اولیه در نوزادان معمولاً آمپی‌سیلین و جنتامایسین وریدی و در کودکان با سن بیشتر، سفالوسپورین‌ها مثل سفوتاکسیم می‌باشد. از بین تمام فاکتورهای ویرولانس در باکتری فیمبریه *P* باکتری (*pap*)، فیمبریه *S* (*sfa*)، فیمبریه مربوط به اتصال باکتری (*afa*)، همولیزین باکتری (*hly*)، فاکتور نکروز دهنده سایتوتوکسیک (*cnf-1*)، آئروباکتین باکتری (*eae*)، فاکتور ادهسین (*fimH*) و فاکتورهای حدت (ویرولانس) *usp*، *iroN*، *set-1*، *astA*، *iha*، *ibeA* و *iutA* نقش اصلی را در بروز عفونت‌های دستگاه ادراری دارند(۱۰-۱۲). بنابراین نفوذ، اتصال و حمله باکتری اشریشیا کلی پاتوژن ادراری ژن‌های فوق نقش دارد. مشکل مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها در سراسر دنیا وجود دارد. شناخت الگوی مقاومت و حساسیت میکروارگانیسم‌ها، خصوصاً باکتری‌های گرم منفی، نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها در هر بیمارستان، در انتخاب مناسب و صحیح آنتی‌بیوتیک و کنترل عفونت‌ها ازجمله عفونت‌های بیمارستانی نقش مؤثری دارد. گر چه *اشریشیا کلی* به‌عنوان یک پاتوژن حساس به آنتی‌بیوتیک شناخته شده است، اما طی دهه گذشته، میزانمقاومت *اشریشیا کلی* افزایش یافته است(۱۲، ۱۳). هدف از این تحقیق شناسایی ژن‌های ویرولانس *اشریشیا کلی* جدا شده از نمونه‌های ادراری کودکان به روش Multiplex PCR و بررسی میزان حساسیت آنتی‌بیوتیک آن‌ها می‌باشد.

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 جمع‌آوری شد. تمامی پلیت‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه تحقیقاتی پاسارگاد به‌منظور تأیید بر روی محیط‌های بلادآگار، مک‌کانکی آگار و ائوزین متیلن بلو آگار (EMB) کشت داده شدند. پس از ۲۴ ساعت کلنی‌های رشد یافته بررسی و با آزمون‌های تشخیصی و تکمیلی بیوشیمایی تأیید گردیدند (۱۴). ایزوله‌های *اشریشیا کلی* یوروپاتوژن که وجود ژن‌های *papC*، *papG*، *fimH*، *iutA*، *sfaS* و *ibeA* (جدول-۱. توالی پرایمر ژن‌ها) در آن‌ها تأیید شده بود به‌عنوان استاندارد مثبت، 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 سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه، مرحله دناتوراسیون ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، مرحله اتصال ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، مرحله بسط ۶۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه (تعداد ۳۴ سیکل)، مرحله بسط نهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد 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 می‌باشد: (Cinna KIT-PCR MASTER MIX (PR8250C به میزان ۱۲/۵ میکرولیتر، پرایمرهای مورد استفاده هرکدام 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 نمونه‌ها بر روی ژل آگارز ۲درصد انتقال داده شده و بعد از رنگ-آمیزی در دستگاه ژل داک BIORAD موردبررسی قرار گرفت. جهت انجام آزمون آنتی‌بیوگرام از روش دیسک دیفیوژن (Disk diffusion) به روش کربی بائر و بر طبق دستورالعمل CLSI (Clinical and Laboratory Standards institute) استفاده گردید(۱۹). تعدادی از کلونی باکتری را به‌وسیله آنس 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 ودیسک های آنتی‌بیوتیک 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 دیسک‌های آنتی-بیوتیک سفکسیم (۵ میکروگرم)، آمپی‌سیلین (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. داده‌های آماری با نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ و با استفاده از آزمون‌های آماری توصیفی مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها

میانگین سنی بیماران ۱،۶۷ ± ۵ سال (محدوده سنی ۱۰-۱ 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 نمونه‌ها ژن‌های موردنظر به‌طور هم‌زمان ردیابی نگردیدند. نتیجه آزمون ملکولی در شکل ۱ به همراه

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]

نمونه‌های مثبت گزارش شده است. همچنین میزان مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف جنتامایسین، سفکسیم، سفتریاکسون، سیپروفلوکساسین، آمپی‌سیلین، نالیدکسیک اسید، سفپیم و نیتروفورانتوئین به‌ترتیب 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 به‌ترتیب ۶۰ و ۲۷ درصد و بیشترین میزان حساسیت آنتی‌بیوتیکی سویه‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های آمیکاسین و نیتروفورانتوئین به‌ترتیب 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 موردمطالعه در این تحقیق یافت نگردید. بیشترین میزان مقاومت در این سویه‌ها نسبت به ۵ دارو مشاهده گردید.

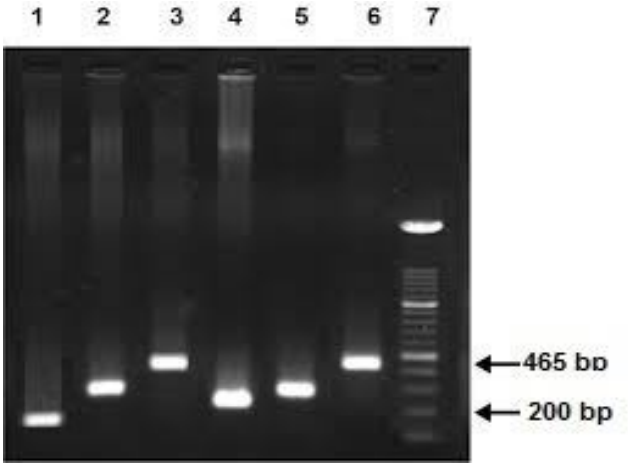
جدول (۱): توالی پرایمرهای مورد استفاده در این تحقیق

ژن هدف	طول محصول bp	نام پرایمر	دمای اتصال پرایمر	توالی پرایمر ('3-'5)	ژن هدف
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		TGGCATCCCCCAACATTATCG	
iutA	۳۰۰	iutA-f	۶۵	GGCTGGACATCATGGGAACTGG	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)
نیتروفورانتوئین	۳ (۳)	-	۱۱۷ (۹۷)

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]



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

بحث و نتیجه‌گیری

اشریشیا کلی باکتری گرم منفی عامل اصلی عفونت‌های خارج روده‌ای مانند باکتریمی، 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 ویرولانس 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 ویرولانس *papC*، *papG*، *fimH*، *iutA*، *sfaS* و *ibeA* در ایزوله‌های بالینی *اشریشیا کلی* جدا شده از نمونه‌های ادرای کودکان انجام شده است. فراوانی ژن‌های این مطالعه (۵۸درصد) واجد ژن *papC*، (۴۷درصد) *papG*، (۸۵درصد) *fimH*، (۳۵درصد) *iutA*، (۱درصد) *sfaS* و (۱درصد) *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 (۳۲/۷درصد)، *papG* ۵۳ سویه (۳۲/۷درصد) و *fimH* ۱۵۸ ایزوله (۹۷/۵درصد) 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 (۳/۱درصد)، *papG* ۲۵ سویه (۳۹درصد) و *fimH* ۶۲ ایزوله (۹۶/۹درصد) گزارش نمود. همچنین میزان مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف در مطالعه Yun جنتامایسین، سفتریاکسون، سیپروفلوکساسین، آمپی‌سیلین و سفپیم به‌ترتیب ۳۴/۸درصد، ۲۰/۴درصد، ۴/۱درصد، ۶۵/۲درصد و ۱۵درصد 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 (۶۵درصد)، *papG* ۳۷ سویه (۶۲درصد)، *ibeA* ۴ سویه (۶/۷درصد) و *fimH* ۵۷ ایزوله (۹۵درصد) گزارش نمود(۲۲). Rodriguez-Siek و همکارانشان در سال ۲۰۰۵ فراوانی ژن‌های تحت مطالعه ما رو در ۲۰۰ ایزوله UPEC به‌ترتیب *papC* ۱۰۳ (۵۱/۵درصد)، *papG* ۶۴ (۳۲درصد)، *fimH* ۱۹۸ (۹۹درصد)، *iutA* ۶۷ (۳۳/۵درصد)، *sfaS* ۵۲ (۲۶درصد) و *ibeA*۱۹۸(۹۹درصد) گزارش نمودند(۲۳). López-Banda و همکارانشان در سال ۲۰۱۴ با استفاده از روش مولتی‌پلکس PCR به بررسی فراوانی ژن‌های تحت مطالعه ما در ۱۰۸ ایزوله UPEC به‌ترتیب *papC* (۶۲درصد)، *fimH* (۹۸/۱درصد)، *iutA* (۴۸/۱درصد)، *sfaS* (۱/۹درصد) و *ibeA* (۲/۸درصد) گزارش نمودند(۲۴). Navidinia و همکارانشان در سال ۲۰۱۲ به بررسی حساسیت دارویی و ردیابی ژن‌های تحت مطالعه حاضر شامل *papC* (۱۲/۳۷درصد) و *papG* (۱۵/۰۶درصد) پرداختند. تمامی ایزوله‌های ۳۷۸ ایزوله از ۱۲۵۷۲ نمونه ادراری کودکان به‌دست آمده نسبت به پنی‌سیلین، اگزاسیلین، باسیتراسین، کلوگزاسیلین و پیپراسیلین مقاوم بودند. مقاوم در برابر آنتی‌بیوتیک‌های دیگر عبارت بودند از: سولفومتاکسازول (۹۲درصد)، نالیدیکسیک اسید ۵۳درصد، آمپی‌سیلین ۸۹درصد، نیتروفورانتوئین ۹درصد، سفوتاکسیم ۵۵/۳ درصد، سفکسیم ۶۷درصد، جنتامایسین ۷۲درصد، سفالکسین ۷۵/۶درصد و سیپروفلوکساسین ۱۷/۵درصد گزارش شد(۲۵). در

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]

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 استرپتومایسین 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 ۱۰۰درصد 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 استرین ها 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 در سطح مولکولی ضروری هستند که سویه‌های مولد بیماریزای دستگاه ادراری که به‌طور هم‌زمان عوامل بیان متعدد ویرولانس 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 ویرولانس 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 منافعی 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.

References:

1. Ozçelik 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.
2. 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.
3. Wilson BA, Salyers AA, Whitt DD, Winkler ME. Bacterial pathogenesis: a molecular approach: American Soci Microbiol (ASM); 2011.
4. Slavchev G, Pisareva E, Markova N. Virulence of uropathogenic Escherichia coli. J Cult Collect 2013; 6: 3-9.
5. Wiles TJ, Kulesus RR, Mulvey MA. Origins and virulence mechanisms of uropathogenic Escherichia coli. Exp Mol Pathol 2008; 85(1): 11-9.
6. 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.
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.
8. 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).
9. Johnson JR, Russo TA. Molecular epidemiology of extraintestinal pathogenic (uropathogenic) Escherichia coli. Inter J Med Microbiol 2005; 295(6): 383-404.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]

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 Uropathoigenic 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 Appli 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,

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]

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.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]

Original Article

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

Mitra Alishah[1], Kumarss Amini [2], 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)*

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-28]