

فراوانی ژن‌های *fimH*، *papC* و *aer* در ایزوله‌های اشرشیاکلی جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری یزد و بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها

زهرا عبدالله‌زاده^۱، اکرم آستانی^۲، احمد مصدق^{۳*}، سعیده‌السادات حسینی محمدآبادی^۴، محمود وکیلی^۵

مقاله پژوهشی

مقدمه: اشریشیاکلی از عوامل اصلی ایجاد کننده عفونت ادراری می‌باشد. این باکتری برای ایجاد عفونت در دستگاه ادراری به چندین ویرولاس فاکتور از جمله آدهزین، توکسین‌ها و فیمبریه احتیاج دارد. در مطالعه حاضر، فراوانی چندین ویرولاس فاکتور انتخابی *fimH*، *aer*، *papC* را در ایزوله‌های اشریشیاکلی جدا شده از ادرار بیماران مبتلا به عفونت ادراری یزد بررسی کردیم. روش بررسی: در این مطالعه توصیفی-مقطعی طی سال ۹۵-۹۴، ۱۴۶ ایزوله اشریشیاکلی جدا شده از ادرار بیماران مبتلا به عفونت ادراری یزد جمع‌آوری و به وسیله روش‌های فنوتیپی و ژنوتیپی تایید هویت گردید. فراوانی ژن‌های *fimH*، *papC*، *aer* را با استفاده از پرایمرهای اختصاصی به روش PCR بررسی و الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها را به روش دیسک دیفیوژن تعیین کردیم. **نتایج:** در مطالعه حاضر، فراوانی ژن‌های ویرولاس انتخابی *fimH* (۸۷٪)، *aer* (۸۵/۶٪)، *papC* (۹/۶٪) بود. از بین ۱۴۶ ایزوله اشریشیاکلی، (۵۷/۲٪) ایزوله‌ها به کوتریماکسازول، ۵۴/۸٪ به نالیدیکسیک اسید، ۴۵/۹٪ به سفازولین، ۴۰/۴٪ به سفکسیم، ۴۲/۵٪ به سفالوتین، ۴۱/۸٪ به سفالکسین، ۳۱/۵٪ به نوروفلوکساسین، ۳۰/۱٪ به آفلوکساسین، ۲۸/۳٪ به سیپروفلوکساسین، ۲۴٪ به جنتامایسین، ۱۹/۹٪ به آمیکاسین، ۱/۴٪ به نیتروفورانتوئین، ۱/۴٪ به فسفومایسین مقاوم بودند. بیشترین مقاومت به کوتریماکسازول و کمترین مقاومت به نیتروفورانتوئین و فسفومایسین مشاهده شد. **نتیجه‌گیری:** در این مطالعه درصد فراوانی ژن *fimH* بالاتر از ژن‌های دیگر مورد مطالعه بود. هم‌چنین بر اساس الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی، نیتروفورانتوئین و فسفومایسین داروهای مناسبی جهت درمان بیماران در منطقه ما می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: اشریشیاکلی، فاکتورهای ویرولاس، *fimH*، *aer*، *papC*، مقاومت آنتی‌بیوتیکی

ارجاع: عبدالله‌زاده زهرا، آستانی اکرم، مصدق احمد، حسینی محمدآبادی سعیده‌السادات، وکیلی محمود. فراوانی ژن‌های *fimH*، *papC* و *aer* در ایزوله‌های اشریشیاکلی جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری یزد و بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۴۰۰؛ ۲۹(۳): ۳۵۵۶-۶۵.

- ۱- دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران.
- ۲- گروه میکروبی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران.
- ۳- کارشناسی ارشد میکروبی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران.
- ۴- مرکز تحقیقات پایش سلامت، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران.
- ۵- (نویسنده مسئول): تلفن: ۰۹۱۳۱۵۲۷۴۹۵، پست الکترونیکی: Mosadegh14@yahoo.com، صندوق پستی: ۸۹۱۵۱۷۳۱۴۹

پروتئین آشر را رمزدهی می‌کند که برای گردهمایی فیمبریه P مورد نیاز می‌باشد. تخمین زده شده است هشتاد درصد ایزوله‌های UPEC مرتبط با بیماران پیلونفریت، فیمبریه P دارند (۹). آئروباکتین سیدروفور باکتریایی است که توسط ژن *aer* کد می‌شود و در ایزوله‌های مرتبط با پیلونفریت و سیستیت یافت شده است. این سیدروفور تجزیه کننده آهن بوده و سیستم انتقالی است که اشیشیاکلی به واسطه آن قادر به رشد در محیط فقیر از آهن، مثل ادرار رقیق می‌باشد. در طی چندین دهه گذشته، فراوانی عفونت‌های ادراری مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها در سراسر دنیا افزایش یافته است. افزایش مقاومت ضد میکروبی به طور آشکاری باعث کاهش اثرات درمانی و افزایش هزینه‌های درمانی و مرگ و میر می‌شود (۱۲). باتوجه به شیوع عفونت ادراری در جامعه، ضرورت انجام غربالگری، تشخیص و درمان به موقع بیماران از اهمیت بالایی برخوردار می‌باشد. به دلیل اینکه با سهل‌انگاری در درمان این عفونت، مشکلات جبران‌ناپذیری در آینده برای بیمار رخ خواهد داد، بنابراین تحقیق حاضر با هدف بررسی میزان فراوانی ژن‌های ویروالانس *papC*، *fimH* و *aer* در ایزوله‌های UPEC جدا شده از ادرار بیماران مبتلا به عفونت ادراری یزد و تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها به داروهای ضد میکروبی بر اساس CLSI صورت پذیرفته است. آگاهی بهتر از مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها به پزشک این امکان را می‌دهد که روند پیشرفت عفونت در میزبان و درمان مناسب آن را پیش‌بینی کند. هم‌چنین محققین با آگاهی از شیوع ژن‌های ویروالانس می‌توانند کاندید مناسب واکسن را شناسایی کنند.

روش بررسی

در این مطالعه توصیفی-مقطعی، در مجموع ۱۴۶ ایزوله اشیشیاکلی از نمونه‌های ادرار بیماران مراجعه‌کننده به بیمارستان‌های شهید صدوقی و شهدای کارگر یزد طی سال ۱۳۹۴ تا ۱۳۹۵ جمع‌آوری شد. باکتری‌ها در محیط TSB/ گلیسرول در ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. این نمونه‌ها بروی EMB (Merck آلمان) کشت داده شدند و به مدت ۲۴

عفونت مجاری ادراری (UTI: Urinary Tract Infection) از شایع‌ترین بیماری‌های عفونی خارج روده‌ای انسان است که در همه سنین اتفاق می‌افتد (۲،۱) و براساس جایگاه عفونت به سه دسته تقسیم می‌شوند: سیستیت، پیلونفریت، باکتری وری (۳). براساس مطالعات قبلی شیوع سالانه عفونت ادراری حدود ۱۵۰ تا ۲۵۰ میلیون مورد در جهان می‌باشد (۴-۶). هشتاد تا نود درصد موارد عفونت ادراری توسط اشیشیاکلی اتفاق می‌افتد (۷). سروتیپ‌هایی از اشیشیاکلی که با عفونت ادراری مرتبط هستند تحت عنوان اشیشیاکلی یوروپاتوژن (*UPEC: Uropathogenic Escherichia coli*) شناخته می‌شوند (۸). ایزوله‌های UPEC به منظور پایداری در مجرای ادراری و ایجاد بیماری دارای چندین فاکتورهای ویروالانس ضروری می‌باشند (۳،۴). این فاکتورهای ویروالانس که به‌طور بالقوه باعث انتشار عفونت می‌شوند، به دو گروه تقسیم می‌شوند؛ فاکتورهای ویروالانس سطحی که باعث اتصال باکتری به بافت میزبان می‌شوند و فاکتورهای ویروالانس ترشحي که به سمت محل عفونت می‌روند (۳،۹). از نخستین ویروالانس فاکتورهای سطحی که باعث انتشار عفونت می‌شوند می‌توان به ادهزین‌ها اشاره کرد که علاوه بر نقش چسبندگی، با تشکیل بیوفیلم و انتقال سیگنال‌هایی به سلول‌های اپی‌تلیال، باعث التهاب می‌شوند (۹). فیمبریه تیپ یک و فیمبریه P از معمول‌ترین و شایع‌ترین فیمبریه ایزوله‌های UPEC هستند که باعث افزایش ویروالانس باکتری و مشارکت در کلونیزاسیون اولیه در مجرا می‌شوند (۹،۱۰). فیمبریه تیپ یک به وسیله ژن *fim H* کد می‌شود. *fim H* واسطه اتصال باکتری به رسپتورهای گلیکوپروتئینی حاوی مانوز می‌باشد که بر سطح لومینال سلول‌های اپی‌تلیال مثانه قرار دارد (۱۰،۳). فیمبریه P به وسیله ژن (*pap: Pyelonephritis associated*) کد می‌شود که برای عفونت قسمت فوقانی مجاری ادراری ضروری است و با القا سیگنال‌های التهابی باعث پیلونفریت حاد می‌شود (۱۱). ژن *papC* غشای خارجی

پرایمرهای Forward و Reverse با غلظت ۴ پیکومول، ۲/۵ μl DNA استخراج شده. تکثیر ژن 16SrRNA در دستگاه ترموسایکلر (Quantabiotech، انگلستان) شامل واسرشت اولیه در دمای ۹۴°C به مدت ۵ دقیقه و به دنبال آن ۲۰ چرخه شامل واسرشتگی در دمای ۹۴°C، اتصال در دمای ۵۳°C و گسترش در دمای ۷۲°C به مدت ۳۰ ثانیه برای هر مرحله و یک مرحله ۵ دقیقه‌ای به عنوان گسترش نهایی در ۷۲°C بود. تکثیر ژن‌های *aer*، *fimH*، *papC* با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (Quantabiotech، انگلستان) و به صورت زیر انجام شد: واسرشت اولیه به مدت ۵ دقیقه در ۹۴°C، ۳۰ سیکل حرارتی شامل واسرشتگی در ۹۴°C به مدت ۳۰ ثانیه، دمای اتصال پرایمر در ۶۱°C به مدت ۳۰ ثانیه برای ژن *fimH*، ۶۰/۵°C برای ژن *papC* به مدت ۳۰ ثانیه و ۵۷°C برای ژن *aer* به مدت ۳۰ ثانیه. دمای گسترش ۷۲°C به مدت ۳۰ ثانیه و یک مرحله نهایی ۵ دقیقه‌ای در ۷۲°C به عنوان گسترش نهایی. قطعات ژن تکثیر شده با این تکنیک به وسیله الکتروفورز با استفاده از ژل ۱٪ در کنار Ladder 50bp و با استفاده از DNA Green viewer نمایان (تصویر ۱، ۲، ۳) و برای تایید قطعات تکثیر شده از نظر وجود ژن‌های مورد نظر، از ژن‌های تکثیر یافته نمونه‌هایی جهت تعیین توالی ارسال شد.

تجزیه و تحلیل آماری

بررسی داده‌ها با استفاده از SPSS version 16 و با استفاده از آزمون آماری Chi-square انجام شد.

ملاحظات اخلاقی

در مطالعه حاضر تمامی موارد مربوط به اصول اخلاق پزشکی رعایت شده است. (کد اخلاق پزشکی IR.SSU.MEDICINE.REC1396.99).

نتایج

۱۴۶ نمونه جمع‌آوری شده با روش مولکولی با استفاده از روش PCR و ژن 16SrRNA تایید شد (شکل ۴). در این بررسی ۱۷/۸٪ ایزوله‌ها از افراد مذکر و ۸۲/۲٪ ایزوله‌ها از افراد مونث به دست آمد. ۴۳/۲٪ ایزوله‌ها از مراجعه‌کنندگان سرپایی و ۵۶/۸٪، مربوط به افراد بستری بود. از بین افراد

ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پرگنه‌های لاکتوز مثبت با استفاده از محیط‌های افتراقی (Merck آلمان) TSI، SIM، سیمون سترات، اوره آگار و MR-VP تعیین هویت شدند. جهت تایید مولکولی ایزوله‌ها از تکثیر ژن 16SRna استفاده شد که در بخش مولکولی به آن اشاره می‌گردد. برای تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها از روش دیسک دیفیوژن بر اساس پروتکل (Clinical Laboratory Standards Institute 2015) (and Laboratory Standards Institute) استفاده شد (۱۳). در این روش از محیط مولر هینتون آگار (Merck آلمان) و سوسپانسیون باکتریایی معادل کدورت نیم مک فارلند و دیسک‌های کوتریموکسازول، سفازولین، جنتامیسین، آمیکاسین، نیتروفورانتوئین، نوروفلوکساسین، آفلوکساسین، سفکسیم، سفالکسین، سفالوتین (پادتن طب، ایران)، سیپروفلوکساسین، نالیدیکسیک اسید، فسفومایسین (MAST، انگلستان) استفاده شد. از سویه استاندارد اشرشیاکلی ATCC 25922 جهت کنترل استفاده شد. جهت استخراج DNA از روش Salting Out استفاده شد (۱۴). کیفیت DNA استخراج شده به وسیله ژل آگارز الکتروفورز (ژل آگارز ۰/۷٪) (پدیده نوژن پارس، ایران) بررسی و غلظت DNA استخراج شده به وسیله نسبت A260/A280 با استفاده از اسپکتروفتومتر (BioTek instruments، آمریکا) اندازه‌گیری شد. غلظت نهایی برای هر یک از مواد در واکنش PCR برای ژن 16S rRNA عبارت بود از: ۵ μl آب مقطر تزریقی استریل، ۱ μl از هر کدام از پرایمرهای UNI_OL -R و UNI_OL -F با غلظت ۴ پیکومول، ۱۰ μl از مستر میکس (Amplicon، دانمارک) و ۳ μl از DNA استخراج شده از پرایمرهای یونیورسال 5'-GTGTAGCGGTGAAATGCG-3' UNI_OL-F و 5'-ACGGGCGGTGTGTACAA-3' UNI_OL-R (۷۰۹bp) جهت تکثیر ژن 16S rRNA استفاده شد (۱۵). از روش PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی برای شناسایی ژن‌های ویروالانس *aer*، *fimH*، *papC* استفاده شد (جدول ۱). واکنش PCR برای هر کدام از ژن‌ها در حجم ۲۰ میکرولیتر انجام شد. حجم مواد لازم برای واکنش PCR تمامی ژن‌ها به صورت زیر می‌باشد: ۱۰ μl مستر میکس (Amplicon، دانمارک)، ۵ μl آب مقطر استریل، ۱/۲۵ μl از هر کدام از

بستری در بیمارستان، به ترتیب بیشترین (۰/۲۲/۶) و کمترین (۰/۰/۷) ایزوله‌ها از بخش‌های داخلی و NICU بود. در این بررسی بیشترین مقاومت نسبت به کوتریماکسازول و فسفومایسین وجود داشت (جدول ۲).

جدول ۱: مشخصات پرایمرهای اختصاصی جهت شناسایی ژن‌های ویروالانس اشریشیاکلی

ژن‌ها	توالی پرایمر)	اندازه محصول (bp)	منبع
<i>fimH</i>	F: TGC AGA ACG GAT AAG CCG TGG R: GCA GTC ACC TGC CCT CCG GTA	۵۰۶	(۱۶)
<i>papC</i>	F: GTG GCA GTA TGAGTA ATG ACC GTT A R: ATA TCC TTT CTG CAG GGA TGC AAT A	۲۰۳	(۱۶)
<i>aer</i>	F: AAACCTGGCTTACGCAACTGT R: ACCCGTCTGCAAATCATGGAT	۲۶۹	(۱۷)

جدول ۲: الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های اشریشیاکلی (n=146)

آنتی‌بیوتیک	مقاوم (%)	نیمه حساس (%)	حساس (%)
فسفومایسین (۲μg)	۲ (۱/۴)	۱ (۰/۷)	۱۴۳ (۹۷/۹)
سفازولین (۳۰μg)	۶۷ (۴۵/۹)	۵ (۳/۴)	۷۴ (۵۰/۷)
جنتامیسین (۱۰μg)	۳۵ (۲۴)	۱ (۰/۷)	۱۱۰ (۷۵/۳)
آمیکاسین (۳۰μg)	۲۹ (۱۹/۹)	۱۷ (۱۱/۶)	۱۰۰ (۶۸/۵)
نیتروفورانتوئین (۳۰۰μg)	۲ (۱/۴)	۰	۱۴۴ (۹۸/۶)
نوروفلوکساسین (۱۰μg)	۴۶ (۳۱/۵)	۳ (۲)	۹۷ (۶۶/۴)
آفلوکساسین (۵μg)	۴۴ (۳۰/۱)	۱ (۰/۷)	۱۰۱ (۶۹/۲)
سفاکسیم (۵μg)	۵۹ (۴۰/۴)	۳ (۲/۱)	۸۴ (۵۷/۵)
سفالکسین (۳۰μg)	۶۱ (۴۱/۸)	۸ (۵/۵)	۷۷ (۵۲/۷)
سفالوتین (۳۰μg)	۶۲ (۴۲/۵)	۵ (۳/۴)	۷۹ (۵۴/۱)
سیپروفلوکساسین (۵μg)	۴۱ (۲۸/۳)	۰	۱۰۵ (۷۱/۷)
نالیدیکسیک اسید (۳۰μg)	۸۰ (۵۴/۸)	۲ (۱/۴)	۶۴ (۴۳/۸)
کوتریماکسازول (۱/۲۵μg) تری‌متوپریم و ۲۳/۷۵μg سولفامتوکسازول)	۸۳ (۵۷/۲)	۱ (۰/۷)	۶۲ (۴۲/۱)



شکل ۳: واکنش PCR ژن *papC* (۲۰۶ bp) شماره ۱: Ladder ۵۰ bp - شماره ۲: نمونه مثبت، شماره ۳: کنترل منفی



شکل ۲: واکنش PCR ژن *aer* (۲۶۹ bp) شماره ۱: Ladder ۵۰ bp - شماره ۲: نمونه مثبت، شماره ۳: کنترل منفی



شکل ۱: واکنش PCR ژن *fimH* (۵۰۶ bp) شماره ۱: Ladder ۵۰ bp - شماره ۲: نمونه مثبت، شماره ۳: کنترل منفی



شکل ۴: محصول PCR ژن 16S rRNA (۷۰۶ bp) شماره ۱: کنترل منفی - شماره ۲: DNA Ladder ۵۰ bp - شماره ۳ و ۴: نمونه های 16S rRNA

درصد فراوانی ژن‌های مورد بررسی در مطالعه حاضر به ترتیب *fimH* (۸۷/۶)، *aer* (۸۵/۶) و *papC* (۲۶) بود (شکل ۱، ۲، ۳).

بحث

عفونت ادراری در بین عفونت‌های کسب شده از جامعه و بیمارستانی اهمیت ویژه‌ای دارد. اشرشیاکلی عامل UTI و یکی از مهم‌ترین عوامل عفونت‌های باکتریال می‌باشد (۴). عفونت ادراری ایجاد شده به وسیله ایزوله‌های اشرشیاکلی یوروپاتوژن از شایع‌ترین عوامل ایجادکننده نارسایی کلیه می‌باشد و به نظر می‌رسد که پتانسیل بیماری‌زایی ایزوله‌های اشرشیاکلی به حضور فاکتورهای ویروانس وابسته می‌باشد یافتن ارتباط بین فاکتورهای ویروانس ایزوله‌های اشرشیاکلی و نوع عفونت در درمان عفونت ادراری اثر می‌گذارد. ادهزین‌ها، توکسین‌ها و فاکتورهای شلاته‌کننده آهن (سیدروفور) به عنوان اصلی‌ترین فاکتورهای ویروانس اشرشیاکلی شناخته شده‌اند (۱۸). در مطالعه حاضر ۱۴۶ ایزوله اشرشیاکلی عامل عفونت ادراری طی سال ۱۳۹۴ تا ۱۳۹۵ از بیمارستان شهید صدوقی و شهدای کارگر شهر یزد جمع‌آوری شد و بعد از تایید به روش مولکولی با استفاده از 16S rRNA، حضور ژن‌های ویروانس *papC*، *fimH*، *aer* با استفاده از روش PCR بررسی شد. درصد فراوانی ژن‌های مورد بررسی در مطالعه حاضر به ترتیب *fimH* (۸۷٪)، *aer* (۸۵/۶٪) و *papC* (۲۶٪) بود. درمان با آنتی‌بیوتیک اولین و مهم‌ترین اقدام به منظور کنترل عامل مهاجم می‌باشد. مصرف بیش از اندازه و ناآگاهانه داروهای ضد میکروبی باعث نارسایی در درمان و نگرانی‌های پیرامون آن می‌شود (۱۹). بدین منظور الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها براساس جدول CLSI2015 مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۲). چندین مطالعه ارتباط بین مقاومت آنتی‌بیوتیکی و ویروانس فاکتورها را در ایزوله‌های UPEC گزارش کرده‌اند. حضور ژن‌های ویروانس معین ممکن است به مکانیسم عمل آنتی‌بیوتیک‌ها یا واکنش‌های ناشناخته بین فاکتورهای ویروانس و آنتی‌بیوتیک‌ها مربوط باشد (۲۰). در مطالعه حاضر ارتباط آماری معنی‌داری بین ژن‌های ویروانس مورد بررسی و مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های UPEC یافت نشد ($P > 0.05$). در مطالعه حاضر *fimH* (۸۷٪)، بیشترین فراوانی

را داشت. بالا بودن درصد ژن *fimH* در این مطالعه احتمالاً به بیماری‌زایی ایزوله‌ها مربوط است، زیرا چسبندگی و اتصال باکتری به سطوح اوروپیتلیال مهم‌ترین عامل جهت آغاز بیماری‌زایی است. *fimH* در ایزوله‌های UPEC به شدت حفظ شده است که تعیین کننده نقش آن در کلونیزاسیون باکتری در مجاری ادراری است و با مطالعات دیگر هم‌خوانی دارد (۱۸). در مطالعه نعمتی و همکاران در سال ۲۰۱۳ تا ۲۰۱۲ در کاشان از بین ۱۵۰ ایزوله اشرشیاکلی جدا شده از عفونت ادراری بیمارستان شهید بهشتی کاشان شیوع ژن‌های *aer* (۳۰/۶٪) و *papC* (۱۶/۶٪) گزارش شده است (۱۲). در مطالعه‌ای دیگر که به وسیله تیبیا و همکاران در سال ۲۰۰۸ در برزیل انجام شد، از بین ۱۶۲ ایزوله اشرشیاکلی جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری شیوع ژن‌های *fimH* (۹۷/۵٪) و *papC* (۳۲/۷٪) گزارش شده است (۱) که نزدیک به نتایج مطالعه حاضر می‌باشد و بالا بودن درصد *fimH* نشان‌دهنده این است که فیمبریه نوع یک، یک ویروانس فاکتور مهم است و چسبندگی به واسطه آن نقش مهمی در آغاز التهاب دارد که باعث افزایش ویروانس اشرشیاکلی در مجرای ادراری می‌شود. در مطالعه اسدی و همکاران، ۲۰۱۱ تا ۲۰۱۰، در بیمارستان پیمانیه جهرم از بین ۶۰ ایزوله اشرشیاکلی جدا شده از عفونت ادراری، فراوانی ژن‌های *fimH* (۵۶/۷٪) و *papC* (۵۳/۳٪) گزارش شده است. هم‌چنین ۴۵٪ ایزوله‌ها به کوتریماکسازول، ۴۱/۷٪ به نالیدیکسیک اسید، ۲۱/۷٪ به سیپروفلوکساسین، ۲۰٪ به سفکسیم، ۱۶/۷٪ به سفالکسین، ۱۳/۳٪ به آمیکاسین، ۱۱/۷٪ به جنتامیسین و ۳/۳٪ به نیتروفورانئوئین مقاوم بودند، (۴) که با نتایج الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی مطالعه حاضر مغایرت دارد که این تفاوت می‌تواند به دلیل تفاوت مناطق جغرافیایی باشد. در مطالعه SANTO و همکاران در سال ۲۰۰۰ در کشور برزیل فراوانی ژن‌های *papC* (۱۱٪) و *aer* (۷۶٪) گزارش شده است (۱۱) که به مطالعه حاضر نزدیک می‌باشد. آئروباکتین (عامل شلاته‌کننده آهن)، باعث کلونیزاسیون باکتری در محیط‌های

آمیسیلین، حساس بودند (۱۷). در مطالعه پیمانی و همکاران طی سال ۱۳۹۳ تا ۱۳۹۲ در بخش مراقبت‌های ویژه کرج و قزوین، از بین ۱۲۰ ایزوله اشريشیاکلی جدا شده از ادرار بیماران مبتلا به عفونت دستگاه ادراری (*fim H* (۰.۸۸/۳) و (*papC* (۰.۵۹/۲) گزارش شده است (۲۲). در مطالعه کریمیان و همکاران در بیمارستان بقیه‌الله تهران طی سال ۲۰۱۲ از بین ۱۲۳ ایزوله اشريشیاکلی جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری (*fim H* (۰.۶۹/۶۷) و (*papC* (۰.۵۰/۴) گزارش شده است (۷). در مطالعه‌ای از رومانی طی ۲۰۰۷ تا ۲۰۰۶ از بین ۶۰ ایزوله اشريشیاکلی جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری (*aer* (۰.۵۳/۳) و (*fim H* (۰.۸۰) گزارش شده است (۲۳). در مطالعه بهالو و همکاران در ۲۰۱۱ در شهرکرد از بین ۱۰۰ ایزوله اشريشیاکلی جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری (*fimH* (۰.۳۰) و (*papC* (۰.۴۰) و (۰.۱۲) *aer* گزارش شده است که با نتایج مطالعه حاضر هم‌خوانی ندارد و ممکن است ایزوله‌های مورد بررسی در مطالعه بهالو از فاکتورهای ویروانس دیگری استفاده کنند (۲۴). Zhao در سال ۲۰۰۹ شیوع ویروانس فاکتورها و مقاومت آنتی‌بیوتیکی رادر ایزوله‌های اشريشیاکلی جدا شده از افراد مبتلا به عفونت ادراری در Jiangsu چین مورد بررسی قرار داد. فراوانی *fimH* و *papC* به ترتیب ۹۲٪، ۵۴٪ بود. ۹۳٪ ایزوله‌ها به نالیدیکسیکاسید، ۹۰٪ به آمپی‌سیلین، ۹۰٪ به مزلوسیلین، ۸۶٪ به تتراسیکلین، ۷۴٪ به سیپروفلوکساسین، ۷۳٪ به تری‌متوپریم‌سولفامتوکسازول، ۷۱٪ به لووفلوکساسین، ۶۸٪ به کانامایسین، ۶۳٪ به جنتامیسین، ۵۱٪ به سفوتاکسیم، ۳۶٪ به کلرامفنیکل، ۲۳٪ به نیتروفورانتوئین، ۲۲٪ به سفوکسیتین و ۴٪ به ایمپینم مقاوم بودند (۲۵). از کاستی‌های مطالعه حاضر می‌توان به محدودیت جمعیت مورد مطالعه و عدم بررسی تمامی ژن‌های ویروانس اشريشیاکلی اشاره کرد. اشريشیاکلی فاکتورهای ویروانس متعددی دارد. آنچه در مطالعه حاضر مهم و بارز به نظر می‌رسد وجود شاخص تر ژن *fim H* نسبت به ادهزین *papC* می‌باشد. در واقع نقش این ژن در ظهور

فقیر از آهن مثل ادرار رقیق می‌شود اپرون ژن *aer* در شرایط فقر آهن فعال می‌شود تا باکتری بتواند در این شرایط زنده بماند در واقع آئروباکتین باعث ترشح Fe^{+3} از سلول میزبان می‌شود (۱۰) که در مطالعه حاضر فراوانی بالای این ژن نشان‌دهنده نقش مهم این ژن در کلونیزاسیون باکتری در مجاری ادراری می‌باشد و با مطالعه رئیس‌پور و همکارانش هم‌خوانی دارد (۲۱). در مطالعه Tarchouna و همکاران در ۲۰۰۹ تا ۲۰۰۸ در تونس، از بین ۹۰ ایزوله اشريشیاکلی جدا شده از بیماران با عفونت ادراری شیوع (*fim H* (۰.۶۸) و (*fim H* (۰.۴۱) *papC* (۰.۵۲) گزارش شده است (۲). در مطالعه LOPEZ و همکاران در ۲۰۱۴ در مکزیک، از بین ۱۰۸ ایزوله اشريشیاکلی جدا شده از زنان مبتلا به عفونت ادراری درصد فراوانی ژن‌های (*fim H* (۰.۸۶) و (*papC* (۰.۶۲) بوده است. ۷۵/۹٪ ایزوله‌ها به آمپی‌سیلین/ سولباکتام، ۶۲/۳٪ به سیپروفلوکساسین، ۶۰/۲٪ به لووفلوکساسین، ۵۶/۱٪ به کوتریماکسازول، ۵۵/۲٪ به آمپی‌سیلین، ۵۲/۶٪ به موکسی‌فلوکساسین، ۵۱/۱٪ به پیراسیلین، ۳۴/۱٪ به سفازولین، ۲۸/۹٪ به سفکسیم، ۲۷/۸٪ به جنتامیسین، ۲۲/۱٪ به سفتازیدیم، ۲۱/۹٪ به سفتریاکسون، ۲۱/۹٪ به سفپیم، ۲۱/۱٪ به سفوتاکسیم، ۶/۵٪ به آمیکاسین، ۰/۹٪ به سفوکسیتین، ۰/۶٪ به سفوتتان مقاوم بودند (۵). در مطالعه Hassan و همکاران در مصر از بین ۱۱۱ نمونه جمع آوری شده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری، ۴۰ ایزوله اشريشیاکلی یافت شد که (*fim H* (۰.۳۱) و (*pap C* (۰.۶۹) گزارش شده است که با نتایج مطالعه حاضر مغایرت دارد. حضور ژن *pap* با پیلونفریت مرتبط است، بنابراین پایین بودن درصد ژن *pap* در مطالعه حاضر ممکن است بیانگر توانایی کمتر ایزوله‌ها در کلونیزاسیون کلیه و ایجاد پیلونفریت باشد. هم‌چنین در مطالعه Hassan ۱۰۰٪ ایزوله‌ها به آمیکاسین، ۶۷٪ به نیتروفورانتوئین، ۶۲٪ به جنتامیسین، ۳۲٪ به نوروفلوکساسین، ۳۲٪ به آفلوکساسین، ۲۷٪ به سیپروفلوکساسین، ۲۵٪ به کوتریماکسازول و ۵٪ به

باکتری اوری ناشی از اشرشیاکلی در بیماران چشم‌گیر است (۲۶). از آن‌جا که پروتئین *fim H* فاقد تنوع ژنتیکی می‌باشد، از این‌رو در بیشتر مطالعات انجام شده در مورد تهیه واکسن علیه عفونت ادراری این پروتئین مدنظر بوده است هم‌چنین در مطالعه حاضر درصد فراوانی ژن *aer* نسبت به مطالعات قبلی بیشتر می‌باشد که شاید یکی از علل آن، نقش مهم این ژن در پایداری باکتری و مقاومت آن در برابر سیستم ایمنی بدن است. افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جامعه ممکن است ناشی از استفاده نامناسب از آنتی‌بیوتیک، استفاده مداوم از آنتی‌بیوتیک در کشاورزی و حیوانات و برنامه‌های غیر موثر کنترل عفونت باشد. تخمین زده می‌شود که ۸۰ تا ۹۰ درصد داروهای ضد میکروبی توسط افراد عادی و ۱۰ تا ۲۰ درصد باقی‌مانده توسط افراد بستری در بیمارستان مصرف می‌شود (۲۰). براساس یافته‌های مطالعه حاضر، ایزوله‌های جدا شده از بیماران مقاومت کمی به فسفومایسین و نیتروفوران‌توئین دارند. هم‌چنین ایزوله‌ها مقاومت نسبتاً بالایی به نالیدیکسیک اسید و کوتریماکسازول دارند که احتمالاً ناشی از استفاده زیاد از این آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان عفونت ادراری می‌باشد.

نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر، اولین مطالعه انجام شده از فراوانی ژن‌های *fim H*، *papC* و *aer* اشرشیاکلی در شهر یزد می‌باشد. نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد فراوانی ژن *fim H* بیشتر از دو ژن دیگر می‌باشد و از آن‌جا که اولین مرحله برای ایجاد عفونت اتصال باکتری است و فیمبریه نقش مهم و کلیدی را برای اتصال فراهم می‌کند، این موضوع می‌تواند نقطه عطفی باشد تا در مطالعات بعدی به فکر طراحی واکسن علیه این فاکتور ویرولانسی باشیم تا بدین طریق بتوانیم از ایجاد این عفونت در جامعه جلوگیری کنیم. مطالعات قبلی روی *fim H* نشان داده است که واکسن حاصل از *fim H* توانسته است موش‌های ایمن شده را به صورت فعال و غیرفعال در برابر اشرشیاکلی یوروپاتوژن محافظت کند. هم‌چنین مطالعه روی سرم حیوانات

واکسینه شده با *fim H* نشان داده که این واکسن می‌تواند از اتصال باکتری یوروپاتوژن به سلول‌های مثانه انسان در شرایط آزمایشگاهی جلوگیری کند (۲۷). برای ارزیابی دقیق‌تر پیشنهاد می‌شود تا در مطالعات دیگر حضور دیگر عوامل ویرولانسی نیز مورد بررسی قرار گیرد تا بتوان مقایسه‌ای بین این فاکتورها انجام داد. در نتیجه به دلیل شیوع فراوان عفونت ادراری در حضور این ژن‌ها تشخیص سریع آن‌ها در نمونه‌ها می‌تواند به درمان و مدیریت سریع بیماری کمک کند و از هزینه‌های زیادی که هر ساله برای درمان عفونت ادراری بر جامعه و خانواده بیمار تحمیل می‌شود جلوگیری کرد. هم‌چنین براساس نتایج این مطالعه، پیشنهاد می‌شود استفاده منطقی از داروهای موثر و به کارگیری ابزارهای مناسب کنترل در محیط‌های بیمارستانی مورد توجه پزشکان و متخصصین کنترل عفونت قرار بگیرد. هم‌چنین پیشنهاد می‌شود که با آموزش راهکارهای مناسب کنترل عفونت، به پرسنل پزشکی بخش‌های بیمارستانی از بروز و گسترش عفونت‌های ادراری در جامعه و مراکز درمانی جلوگیری کرد و سایر فاکتورهای بیماری‌زایی این ارگانیسم در سایر مناطق جغرافیایی کشور مورد بررسی قرار بگیرد تا اطلاعات جامع‌تری در بحث پیشگیری، درمان و نحوه مدیریت عفونت‌های ناشی از این ارگانیسم در اختیار محققین قرار بگیرد.

سپاس‌گزاری

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه دوره کارشناسی ارشد میکروب‌شناسی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد می‌باشد. نویسندگان این مقاله لازم می‌دانند از کارکنان آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، بیمارستان شهید صدوقی و شهدای کارگر یزد برای زحمات بی‌دریغشان قدردانی نمایند.

حامی مالی: این پایان‌نامه تحقیقاتی با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد صورت گرفته است.
تعارض در منافع: وجود ندارد.

References:

- 1-Tiba MR, Yano T, Leite Dds. *Genotypic Characterization of Virulence Factors in Escherichia Coli Strains from Patients with Cystitis*. Revista Do Instituto De Medicina Tropical De Sao Paulo 2008; 50(5): 255-60.
- 2-Tarchouna M, Ferjani A, Ben-Selma W, Boukadida J. *Distribution of Uropathogenic Virulence Genes in Escherichia Coli Isolated from Patients with Urinary Tract Infection*. International J Infectious Diseases 2013; 17(6): E450-E53.
- 3-Bien J, Sokolova O, Bozko P. *Role of Uropathogenic Escherichia Coli Virulence Factors in Development of Urinary Tract Infection and Kidney Damage*. International J Nephrology 2012; 2012: 1-15.
- 4-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 Microbiology 2014; 7(5): e9936.
- 5- López-Banda DA, Carrillo-Casas EM, Leyva-Leyva M, Orozco-Hoyuela G, Manjarrez-Hernández AH, Arroyo-Escalante S, et al. *Identification of Virulence Factors Genes in Escherichia Coli Isolates from Women with Urinary Tract Infection in Mexico*. Biomed Research International 2014; 2014: 1-10.
- 6- Mukherjee M, Basu S, Mukherjee SK, Majumder M. *Multidrug-Resistance and Extended Spectrum Beta-Lactamase Production in Uropathogenic E. Coli Which Were Isolated from Hospitalized Patients In Kolkata, India*. J Clin Diagn Res 2013; 7(3): 449-53.
- 7-Karimian A, Momtaz H, Madani M. *Detection of Uropathogenic Escherichia Coli Virulence Factors in Patients with Urinary Tract Infections in Iran*. African J Microbiology Res 2012; 6(39): 6811-16.
- 8-Kumar Y, Sood S, Sharma A, Mani KR. *Antibiogram and Characterization of Resistance Markers among Escherichia Coli Isolates from Urinary Tract Infections*. The J Infection in Developing Countries 2013; 7(07): 513-19.
- 9-Starčič Erjavec M, Žgur-Bertok D. *Prevalence, Distribution and Genetic Association of Adhesin Gene Sequences of Escherichia Coli Isolates from Urinary Tract Infections in Slovenia*. Acta Biol Slov 2008; 51: 21-31.
- 10-Slavchev G, Pisareva E, Markova N. *Virulence of Uropathogenic Escherichia Coli*. J Culture Collections 2009; 6(1): 3-9.
- 11-Szemiako K, Krawczyk B, Samet A, Śledzińska A, Nowicki B, Nowicki S, et al. *A Subset of Two Adherence Systems, Acute Pro-Inflammatory Pap Genes and Invasion Coding Dra, Fim, Or Sfa, Increases the Risk of Escherichiacoli Translocation to the Bloodstream*. European J Clinical Microbiology & Infectious Diseases 2013; 32(12): 1579-82.
- 12-Neamati F, Firoozeh F, Saffari M, Zibaei M. *Virulence Genes and Antimicrobial Resistance Pattern in Uropathogenic Escherichia Coli Isolated from Hospitalized Patients in Kashan, Iran*. Jundishapur J Microbiology 2015; 8(2).
- 13-Wayne P. *Clinical and Laboratory Standard Institute*. Performance Standard for Antimicrobial Susceptibilitytesting: Document M100-S23.
- 14-Hosseini SS, Eslami G, Zandi H, Vakili M. *Frequency of OQXA and OQXB Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Genese in Escherichia Coli Isolated from Urine of Inpatient with Urinary Tract*

- Infection in YAZD City, IRAN*. IUMS 2016; 34(402): 1211-17.
- 15-Sauer P, Gallo J, Kesselová M, Kolar M, Koukalová D. *Universal Primers for Detection of Common Bacterial Pathogens Causing Prosthetic Joint Infection*. Biomedical Papers-Palacky University in Olomouc Czech Repub 2005; 149(2): 285-8.
- 16-Santo E, Macedo C, Marin JM. *Virulence Factors of Uropathogenic Escherichia Coli from a University Hospital in Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil*. Revista Do Instituto De Medicina Tropical De Sao Paulo 2006; 48(4): 185-88.
- 17-Hassan R, El-Naggar W, El-Sawy E, El-Mahdy A. *Characterization of Some Virulence Factors Associated with Enterbacteriaceae Isolated from Urinary Tract Infections in Mansoura Hospitals*. Egyptian J MedMicrobiology 2011; 20(2): 9-17.
- 18-Ranjbar R, Farahani O. *The Prevalence of Virulence Genes and Virulotypes of Escherichiacoli Strains Isolated from Hospital Wastewaters in Tehran, Iran*. Iran J Public Health 2018; 47(5): 713-19.
- 19-Farshad S, Ranjbar R, Anvarinejad M, Shahidi MA, Hosseini M. *Emergence of Multi Drug Resistant Strains of Eschetichiacoli Isolated from Urinary Tract Infection*. The Open Conference Proceedings J 2010; 1(1): 192-96.
- 20-Pourzare M, Derakhshan S, Roshani D. *Distribution of Uropathogenic Virulence Genes in Escherichiacoli Isolated from Children with Urinary Tract Infection in Sanandaj, Iran*. Archives of Pediatric Infectious Diseases 2017. [Persian]
- 21-Raeispour M, Ranjbar RJAR, Control I. *Antibiotic Resistance, Virulence Factors and Genotyping of Uropathogenic Escherichiacoli Strains*. Antimicrobial Resistance & Infection Control 2018; 7(1): 118.
- 22-Peymani D. *Frequency of P and Type 1 Fimbriae- Encoding Genes among Uropathogenic Escherichiacoli Isolated From Hospitalized Patients in Qazvin and Karaj Hospitals* 2015.
- 23-Mladin C, Usein CR, Chifiriuc MC, Palade A, Slavu CL, Negut M, et al. *Genetic Analysis of Virulence and Pathogenicity Features of Uropathogenic Escherichiacoli Isolated from Patients with Neurogenic Bladder*. Romanian Biotechnological Letters 2009; 14(6): 4900-5.
- 24-Bahalo S, Tajbakhsh E, Tajbakhsh S, Momeni M, Tajbakhsh F. *Detection of Some Virulence Factors of Escherichiacoli Isolated from Urinary Tract Infection Isolated of Children in Shahrekord Iran by Multiplex PCR*. Middle-East J Scientific Res 2013; 14(1): 29-32.
- 25-Zhao L, Chen X, Zhu X, Yang W, Dong L, Xu X, et al. *Prevalence of Virulence Factors and Antimicrobial Resistance of Uropathogenic Escherichiacoli in Jiangsu Province (China)*. Urology 2009; 74(3): 702-7.
- 26-Saki A, Mirzaee M. *Frequency of Fimbrial Virulence Genese (FIM, PAP, SFA) in Escherichiacoli Isolated from the Patients with Urinary Tract Infection from Selective Hospitals of Tehran, Boroujerd and Sanandej City in 2015-2016*. JSSU 2017; 24(11): 913-23.
- 27-Thankavel K, Madison B, Ikeda T, Malaviya R, Shah AH, Arumugam PM, et al. *Localization of a Domain in the Fimh Adhesin of Escherichia Coli Type 1 Fimbriae Capable of Receptor Recognition and Use of A Domain-Specific Antibody to Confer Protection Against Experimental Urinary Tract Infection*. J Clin Invest 1997; 100(5): 1123-36.

Frequency of *fimH*, *papC*, and *aer* in *E. coli* Strains Isolated from Patients with Urinary Tract Infection, and their Antibiotic Resistance Pattern

Zahra Abdolazadeh¹, Akram Astani², Ahmad Mosadegh^{†3},
Saeede Sadat Hosseini Mohammad Abadi⁴, Mahmoud Vakili⁵

Original Article

Introduction: *E. coli* is the predominant causes of urinary tract infection. Several virulence factors for bacterial infections in the urinary tract are required. In this study, we have considered several virulence factors in strains isolated from the patients with UTI in Yazd.

Methods: In this cross-sectional study in 2015-2016, 146 strains isolated were collected from the patients with urinary tract infection. After confirmation by phenotypic and genotype methods, frequency of gene *fimH*, *papC*, *aer* was evaluated using specific primers by PCR method. The pattern of antibiotic resistance of isolates was determined by disk diffusion method.

Results: In the present study, the prevalence of virulence genes was *fimH* (87%), *aer* (85.6%) and *papC* (9.6%). Among 146 *E. coli* isolates, resistance rate for various antibiotics were as follows: 57.2% to Cotrimoxazole, 54.8% to Nalidixic acid, 45.9% to Cefazolin, 40.4% to Cefixime, 42.5% to Cefalotin, 41.8% to Cefalexin, 31.5% to Norfloxacin, 30.1% to Ofloxacin, 28.3% to Ciprofloxacin, 24% to Gentamicin, 19.9% to Amikacin, 1.4% to Nitrofurantoin, and 1.4% to phosphomycin. The results showed that the most and less frequent resistant was seen in Cotrimoxazole and Nitrofurantoin, phosphomycin, respectively.

Conclusion: In this study, the frequency of *fimH* gene was higher than other genes. In addition, according to the pattern of antibiotic resistance nitrofurantoin and phosphomycin are suitable medicines for the treatment of patients in our region.

Keywords: *Escherichia coli*, UTI, virulence factor, *aer*, *papC*, *fimH*, Antibiotic Resistance.

Citation: Abdolazadeh Z, Astani A, Mosadegh A, Hosseini Mohammad Abadi S, Vakili M. Frequency of *fimH*, *papC*, and *aer* in *E. coli* Strains Isolated from Patients with Urinary Tract Infection, and their Antibiotic Resistance Pattern. J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2021; 29(3): 3556-65

¹⁻⁴Department of Microbiology, School of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences and Health Services, Yazd, Iran.

⁵Health Monitoring Research Center, School of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences and Health Services, Yazd, Iran.

*Corresponding author: Tel:09131527495, email: Mosadegh14@yahoo.com