

بررسی فراوانی سروتایپ‌های انتروپاتوژن دارای ژن *pap G* در اشریشیاکلی جداسازی شده از ادرار و خون بیماران بستری در بیمارستان‌های شهرستان خرم‌آباد

افسانه شعبان^۱، دکتر جمیله نوروزی^۲

نویسنده‌ی مسوول: گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران shabanafsaneh@yahoo.com

دریافت: ۹۴/۳/۱۷ پذیرش: ۹۴/۸/۹

چکیده

زمینه و هدف: اشریشیاکلی (*Escherichia coli*) باکتری گرم منفی می‌باشد که فلور طبیعی مجرای گوارشی انسان و حیوان است. ژن *pap G* نقش مهمی در ساخت نوک فیمبریه *P* و ایجاد عفونت‌های مجاری ادراری و سپتی سمی دارد. هدف از این مطالعه، بررسی وجود سروتایپ‌های انتروپاتوژن (*EPEC*) واجد ژن *pap G* در سویه‌های جداسازی شده از ادرار و خون بود.

روش بررسی: از فروردین تا مهر ۱۳۹۲، در طی ۶ ماه، تعداد ۹۰ کلنی مشکوک به اشریشیاکلی از نمونه‌ی ادرار و خون بیماران جمع‌آوری شد. ایزوله‌ها توسط تست‌های استاندارد بیوشیمیایی، تعیین هویت شدند و الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها به روش انتشار از دیسک (استاندارد جهانی *CLSI*) انجام گرفت و فراوانی ژن *pap G* به روش *Multiplex PCR* مورد بررسی قرار گرفت و ایزوله‌های *pap G* مثبت علیه آنتی‌ژن *O* سروتایپینگ شدند.

یافته‌ها: از بین ۹۰ کلنی مشکوک به اشریشیاکلی، ۷۲ مورد (۸۰ درصد) باکتری اشریشیاکلی ایزوله شد. از این ۷۲ مورد، ۶۵ مورد (۹۰/۳۷ درصد) از نمونه ادرار و ۷ مورد (۹/۷۳ درصد) از نمونه خون جداسازی شد. ۳۰ مورد (۴۱/۷ درصد) از ۷۲ مورد دارای ژن *pap G* (*II*, *III*) بودند. از بین ۳۰ مورد، ۵ مورد (۱۶/۶ درصد) متعلق به سویه‌های اشریشیاکلی انتروپاتوژن *O55*, *O114*, *O125*, *O128*, *O26* بودند.

نتیجه‌گیری: در طی این بررسی حضور ژن *pap G* (*II* و *III*) در اشریشیاکلی انتروپاتوژن جداسازی شده از ادرار و خون مشاهده شد. بنابراین سویه‌های انتروپاتوژن نیز قادرند مانند سویه‌های یوروپاتوژن دارای ژن *pap G* و فیمبریه *P* ایجاد عفونت‌های ادراری و سپتی سمی نمایند.

واژگان کلیدی: اشریشیاکلی، *pap G*، *Multiplex PCR*، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، عفونت‌های ادراری

مقدمه

ادراری تحتانی مستقر می‌گردند و باعث بروز علائمی چون سوزش و تکرر ادرار می‌شوند (سیستیت حاد). ۱۵ تا ۲۵ درصد عفونت‌ها، به صورت مخفی در مجاری فوقانی می‌ماند و گسترش عفونت باعث درد در ناحیه پهلوی، تب و بی‌قراری در افراد شده که در این حالت پیلونفریت حاد نامیده می‌شود

باکتری اشریشیاکلی توانایی انتشار از روده، و مستقر شدن در مکان‌های دیگری مانند گردش خون و مجاری ادراری را دارد (۱). مجاری ادراری محیط استریلی است که منبع باکتری‌های انتروپاتوژن و یوروپاتوژن آن اغلب باکتری‌های فلور مدفوعی می‌باشد که خصوصاً در مجاری

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران

۲- دکترای تخصصی باکتری شناسی، استاد گروه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران

سویه‌های /شریشیاکلی جدا شده از ادرار و خون بیماران بستری در بیمارستان‌های شهرستان خرم‌آباد بوده است. زیرا نقش سویه‌های انتروپاتوژن در ایجاد عفونت‌های ادراری و سپتی‌سمی در بیماران بستری کمتر مورد توجه قرار گرفته است.

روش بررسی

این مطالعه‌ی توصیفی - تحلیلی در یک دوره ۶ ماهه از فروردین لغایت مهرماه ۱۳۹۲ بر روی ۹۰ کلنی مشکوک به /شریشیاکلی که از نمونه‌ی ادرار و خون بیماران بستری در بیمارستان‌های شهرستان خرم‌آباد جمع‌آوری شد، انجام گرفت. کلیه‌ی کلنی‌ها با استفاده از روش‌های استاندارد تشخیصی و بیوشیمیایی شامل واکنش‌های مثبت در تخمیر لاکتوز، تولید گاز اکسیژن در تست کاتالاز، مثبت بودن تست اندول، مثبت بودن تست نیترات و واکنش مثبت در محیط کشت متیل رد (MR) و عدم رشد در سه محیط کشت و گس - پروسکوئر (VP)، محیط کشت سیمون سیترات و محیط کشت اوره تایید هویت شدند (۱۲). داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS۱۶ به صورت درصد فراوانی گزارش و حضور ژن pap G و حضور سویه‌های انتروپاتوژن با آزمون کای دو مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. در تمامی موارد Pvalue کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی گردید.

تعیین الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی: حساسیت آنتی‌بیوتیکی سویه‌ها، به روش انتشار از دیسک (کربی - بائر) بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار و بر اساس دستورالعمل‌های (Clinical and Laboratory Standard Institute) CLSI انجام شد (۱۳). نتایج آنتی‌بیوگرام پس از ۱۸ تا ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد با استفاده از جدول موسسه‌ی استاندارد فوق قرائت گردید. دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی مورد استفاده در این مطالعه که از شرکت Mast انگلیس با واسطه شرکت تجاری میکروپزشناسی راین تهیه

(۲). عفونت‌های مجاری ادراری (UTIs) Urinary Tract Infections در زنان بیشتر از مردان دیده می‌شود (۳). فیمبریه - P در سویه‌های /شریشیاکلی دومین عامل چسبندگی بعد از فیمبریه تیپ - ۱ می‌باشد (۴). مورفولوژی و مهندسی ساختمان فیمبریه - P بیش از ۲۰ سال است که مورد مطالعه قرار گرفته است (۵). فیمبریه - P با واسطه‌ی مولکول چسبنده‌ی حاصل از بیان ژن‌های pap G که تشکیل دهنده‌ی نوک فیمبریه است، به سلول‌های اپی تلیال حاوی Gal α (1-4) Gal β متصل می‌شود. ژن pap G دارای سه نوع آل می‌باشد که عبارتند از: pap G allele I, II, III (۶). فیمبریه تیپ - ۱ باعث تشکیل بیوفيلم و القای سایتوکین‌ها و فیمبریه - P حاصل از ژن pap G به سلول‌های مجاری ادراری متصل می‌شود (۷). pap G I در انسان به ندرت دیده می‌شود و موارد کلینیکی مرتبط با آن در انسان شناخته نشده است (۸ و ۹). pap G II مهم‌ترین فاکتور ویرولانسی جداسازی شده در فیمبریه - P می‌باشد و باعث استقرار اولیه در کلیه شده اما به دلیل دفاع ایمنی میزبان، عفونتی ایجاد نمی‌شود. عفونت مثانه توسط papG III حاصل می‌شود (۹). اشریشیاکلی دارای ژن pap G ۹۰-۸۰ درصد باعث پیلونفریت حاد، ۵۰ تا ۶۰ درصد عفونت مثانه و عفونت‌های ادراری بدون علامت می‌شود و ۱۰ تا ۲۰ درصد در فلور مدفوعی وجود دارد (۲). ورود این باکتری به جریان خون، مهم‌ترین تظاهر جدی عفونت‌های ناشی از /شریشیاکلی است که در مبتلایان به عفونت مجاری ادراری وجود دارد (۱۰).

زمانی که سویه‌های جدا شده از خون، مدفوع و ادرار یکسان باشند، بدین معنی است که افزایش آلودگی باعث انتقال باکتری از مدفوع به ادرار و سپس به خون و از خون هم دوباره به ادرار شده است. روده محل ذخیره‌ی سویه‌های انتروپاتوژن می‌باشد (۱۱). هدف این پژوهش، بررسی فراوانی سروتایپ‌های انتروپاتوژن دارای ژن‌های مهم pap G در بین

تهیه شده از شرکت بهار افشان استفاده شد.

محتویات کیت آنتی سرم: محتویات کیت، دارای ویال‌هایی با ویژگی‌های زیر بودند.

- *E. coli* Antiserum poly Group I (O26, O55, O111)
- *E. coli* Antiserum poly Group II (O86, O127)
- *E. coli* Antiserum poly Group III (O44, O125, O128)
- *E. coli* Antiserum poly Group IV (O20, O114)

آنتی‌سرم‌ها براساس آنتی ژن‌های O (سوماتیک) بودند. استفاده از آنتی‌سروتایپینگ، جهت شناسایی سروتایپ‌های EPEC به کار رفت. باکتری‌های pap G مثبت ابتدا در پلیت حاوی محیط کشت TSI (Triple Sugar Iron Agar) (مرک، آلمان) کشت و در انکوباتور ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شد. سپس از کلنی/شرشیاکلی رشد یافته در کشت تازه (۱۶ تا ۱۸ ساعت) برداشته و به قطره کنترل (سرم فیزیولوژی) و قطره‌ی آنتی سرم به صورت جداگانه انتقال داده شد. به‌طوری که سوسپانسیون غلیظ و یکنواخت به وجود آمد. هر لام به‌صورت دورانی حرکت داده شد و واکنش، قبل از ۳۰ ثانیه در مقابل یک صفحه سیاه و مات از نظر آگلوتیناسیون مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها

از ۸۰ کلنی مشکوک در نمونه‌های ادرار، ۶۵ مورد مثبت (۸۱/۲۵ درصد) که شامل نمونه‌های ۵۴ زن (۶۷/۵ درصد) و ۱۱ مرد (۱۳/۷۵ درصد) بودند و از ۱۰ کلنی مشکوک در ۱۰ نمونه خون، ۷ مورد (۷۰ درصد) از نظر/شرشیاکلی مثبت بودند که شامل ۴ مرد (۴۰ درصد) و ۳ زن (۳۰ درصد) بودند. به‌طور کلی ۸۰ درصد کلنی‌های مشکوک به/شرشیاکلی از کل نمونه‌های ادرار و خون از نظر وجود این باکتری تایید شدند.

نتایج آنتی‌بیوگرام: نتایج آنتی‌بیوگرام ۷۲ ایزوله/شرشیاکلی جداسازی شده از خون و ادرار نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد آزمایش نشان داد که بیشترین مقاومت مربوط به

گردید، شامل: جنتامیسین (۱۰ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، تری‌متوپریم - سولفامتوکسازول (۲۵ میکروگرم)، سفتریاکسون (۳۰ میکروگرم)، نیتروفورانتوئین (۳۰۰ میکروگرم)، سفیکسیم (۵ میکروگرم)، آمیکاسین (۳۰ میکروگرم)، نالیدیکسیک اسید (۳۰ میکروگرم)، نورفلوکساسین (۱۰ میکروگرم) بود.

استخراج DNA و PCR: برای استخراج DNA، از روش Boiling استفاده شد. به این منظور، ابتدا یک کلونی از هر ایزوله‌ی باکتری در محیط TSB (Trypticase Soy Broth) تلقیح و انکوبه شد. از سوسپانسیون باکتری در میکروتیوب ریخته، سانتریفوژ گردید. مایع رویی تخلیه و رسوب، با آب مقطر دیونیزه استریل به خوبی ورتکس گردید. سپس محلول حاصل در بن ماری جوش قرار گرفت. در پایان، میکروتیوب‌ها سانتریفوژ و محلول رویی جهت انجام واکنش PCR به میکروتیوب‌های جدید منتقل شد (۱۴). جهت بررسی حضور ژن pap G allele II و pap G allele III، روش Multiplex PCR و پرایمرهای اختصاص (جدول ۲) مطابق آنچه در مطالعات قبلی توصیف شده بود، استفاده گردید (۱۵). برنامه Multiplex PCR با کمی تغییر عبارت بود از: ۹۶ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه و سپس ۳۰ سیکل شامل: ۹۶ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ثانیه، ۶۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه، ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۸۰ ثانیه و در نهایت ۱ سیکل در ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه بود (Thermocycler Bio-Rad). محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۱ درصد الکتروفورز و پس از رنگ آمیزی با اریترول با استفاده از دستگاه Gel document مشاهده گردید.

آزمون سروتایپینگ سویه‌های انتروپاتوژن: برای انجام این آزمایش از کیت آنتی‌سرم‌های چند دودمانی/شرشیاکلی‌های پاتوژن (Enteropathogenic *Escherichia coli* = EPEC)

کوتریموکسازول (۶۲/۳ درصد) و کمترین مقاومت نسبت به نیتروفورانتوئین (۳/۵ درصد) بود. درصد حساسیت ایزوله‌ها نسبت به دیگر آنتی بیوتیک‌های مورد آزمایش در این مطالعه، در جدول ۱ گزارش شده است.

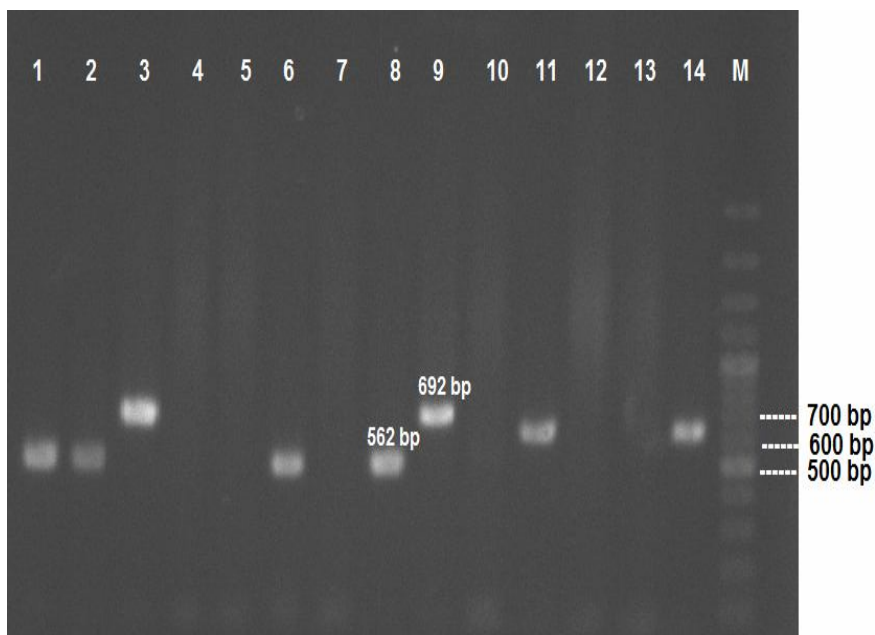
جدول ۱: نتایج تست آنتی‌بیوگرام بر اساس حساسیت آنتی‌بیوتیکی

دیسک آنتی‌بیوتیک	علامت اختصاری	میزان حساسیت	میزان مقاومت
آمیکاسین	AN	۸۹٪*	۱۱٪
سیپروفلوکساسین	CP	۶۹٪	۳۱٪
کوتریموکسازول	SXT	۳۷/۷٪	۶۲/۳٪
سفیکسیم	CFM	۵۰٪	۵۰٪
جتامیسین	GM	۸۲/۵٪	۱۷/۵٪
نالیدیکسیک اسید	NA	۵۰٪	۵۰٪
نیتروفورانتوئین	FM	۹۶/۵٪	۳/۵٪
نورفلوکساسین	NOR	۷۲/۷٪	۲۷/۳٪
سفترایکسون	CRO	۵۲/۷٪	۴۷/۳٪

*اعداد به درصد بیان شده اند.

نتایج PCR Multiplex: نتایج الکتروفورز pap G III را به ترتیب با اندازه‌ی ۶۹۲ bp و ۵۶۲ bp نشان داد (شکل ۱ و جدول ۲).

نتایج PCR Multiplex: نتایج الکتروفورز محصولات PCR، حضور باندهای اختصاصی pap G II و



شکل ۱: الکتروفورز محصولات Multiplex PCR روی ژل ۱٪ آگار از ایزوله‌های اشریشیا کلی جدا شده از ادرار

- ستون‌های ۳، ۹، ۱۱، ۱۴: ایزوله‌های مثبت اشریشیا کلی جدا شده از ادرار و دارای ژن pap G II (۶۹۲bp) - DNA ladder marker 100bp: M

- ستون‌های ۱، ۲، ۸: ایزوله‌های مثبت اشریشیا کلی جدا شده از ادرار و دارای ژن pap G III (۵۶۲bp)

- ستون‌های ۴، ۷، ۱۰، ۱۲، ۱۳: ایزوله‌های اشریشیا کلی فاقد ژن pap G

ژن pap G III مشاهده گردید. به عبارتی ۳۰ ایزوله (۴۱/۷ درصد)، واجد ژن pap G بودند. جزئیات نتایج فراوانی این دو ژن در جدول ۳ خلاصه شده است.

ژن pap G I به دلیل عدم مشاهده در کلیه‌ی ایزوله‌ها مورد بررسی قرار نگرفت. در ۷۲ ایزوله مورد بررسی خون و ادرار ۲۳ مورد (۳۲ درصد) ژن pap G II و ۷ مورد (۹/۷ درصد)

جدول ۲: توالی پرایمرهای مورد استفاده در ژن pap G (۷)

پرایمر pap G II	F	GGAATGTGGTGATTACTCAAAGG
	R	TCCAGAGACTGTGCAGAAGGAC
پرایمر pap G III	F	CATGGCTGGTTGTTCCTAAACAT
	R	TTCAGAGACTGACAGAAGGAC

جدول ۳: بررسی ژن pap G II و pap G III در باکتری اشریشیاکلی جدا شده از نمونه ادرار و خون بیماران

pap G III		pap G II		مجموع نمونه‌های pap G II و pap G III مثبت		نوع نمونه
درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	
۱۰/۸	۷	۳۰/۸	۲۰	۲۷ (۴۱/۵)	۶۵	ادرار
۰	۰	۴۲/۸	۳	۳ (۴۲/۸)	۷	خون
۹/۷	۷	۳۲	۲۳	۳۰ (۴۱/۷)	۷۲	مجموع

انتروپاتوژن با استفاده از آنتی‌سرم سویه‌های EPEC و براساس آگلوتیناسیون و تشکیل لخته در سوسپانسیون کلنی باکتری و قطرات آنتی‌سرم بر روی لام، از بین ۳۰ ایزوله واجد ژن pap G، ۵ ایزوله (۱۶/۶ درصد) متعلق به سویه‌های /اشریشیاکلی انتروپاتوژن O114, O125, O128, O26, O55، مشاهده شد و مابقی غیر انتروپاتوژن بودند.

بحث

در راستای جداسازی و ایزوله کردن /اشریشیاکلی در نمونه‌های ادرار و خون، مطالعات وسیعی در جهان انجام شده است. در حالی که سروتایپ‌های انتروپاتوژن در ایجاد عفونت‌های ادراری و سپتی سمی خصوصاً در بیمارستان‌ها

به دلیل عدم دسترسی به سویه مرجع حاوی ژن‌های مورد نظر (کنترل مثبت)، چهار نمونه از محصولات PCR با نتایج مثبت، جهت تصدیق حضور ژن pap G II و ژن pap G III تعیین توالی گردیده (Macrogen, Korea) و با توالی ژن pap G II و ژن pap G III موجود در بانک ژنی NCBI به ترتیب (Accession no: AY212279) و (Accession no: AF237475) با استفاده از نرم‌افزار Emboss Needle – Pairwise Sequence موجود در سایت (European Bioinformatics Institute) EBI مقایسه گردید.

نتایج آگلوتیناسیون با آنتی سرم سروتایپینگ انتروپاتوژن: در این بررسی جهت جداسازی سروتایپ‌های /اشریشیاکلی

۶۵ ایزوله بود که ۲۷ مورد (۴۱/۵ درصد) واجد یکی از ژن‌های pap G II و pap G III بودند که این فراوانی با شیوع عفونت‌های ادراری در بعضی مناطق تقریباً مطابقت دارد. به طور مثال، میزان جداسازی این دو ژن در فنلاند، ۳۸ درصد و در برزیل ۳۲/۱ درصد بوده است (۲۱ و ۱۵). طبق مطالعات انجام شده، میزان جداسازی pap G II و pap G III ممکن است بر حسب موقعیت جغرافیایی، تنوع محیطی، رعایت اصول بهداشتی و ویژگی‌های ژنتیکی افراد متفاوت باشد. اوت و همکاران در سال ۱۹۹۳، با جمع‌آوری نمونه‌های ادرار و خون از زنان مبتلا به پیلونفریت حاد و جداسازی ۲۵ مورد /شریشیالکی از زنان مبتلا به باکتری می و جداسازی ۶۷ مورد /شریشیالکی از زنان غیر باکتری می، تنها ژن pap G II را در هر دو گروه گزارش کردند که فیمبریہ - P در هر دو گروه حامل توالی DNA ژن pap G II بود (۲۲). به نظر می‌رسد در مطالعه‌ی حاضر عواملی مانند شرایط آب و هوایی، ویژگی‌های مربوط به بیماران از قبیل تغذیه، محیط و یا مصرف بعضی داروها باعث ایجاد پایداری و مقاومت این دو ژن شده باشد. در مطالعه‌ی جیمز، با بررسی ۲۱ مورد /شریشیالکی جداسازی شده از خون در کشور آفریقا (نایروبی)، ۹ مورد (۴۲/۸ درصد) دارای pap G II بود ولی از نظر pap G III هیچ موردی یافت نشد (۲۳). در مطالعه‌ی حاضر، ژن pap G III از نمونه‌های خون، یافت نشد. بنابراین هر دو مطالعه، از نظر اینکه در بیماران باکتری می تنها ژن pap G II گزارش شد، همسو می‌باشند. شاید وضعیت بهداشت، مقاومت باکتری، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، و شرایط اقلیمی در هر دو منطقه در برابر این باکتری یکسان بوده است. در بررسی اولاً و همکاران در سال ۱۹۹۸، نسبت ژن pap G III به ژن pap G II به ترتیب ۱ به ۲ ارزیابی شد (۱۵). در حالی که در مطالعه‌ی حاضر این نسبت به صورت ۱ به ۳ گزارش شد و این نشان می‌دهد که در منطقه‌ی مورد بررسی، /شریشیالکی واجد ژن pap G II در عفونت‌های

مورد توجه چندانی قرا نگرفته است. در پژوهش گانگرو و همکاران در سال ۲۰۱۰ در پاکستان، با بررسی نمونه‌های ادرار و خون تعداد مبتلایان دختر بیشتر از پسر گزارش شد (۱۷ و ۱۶). مطالعه‌ی حاضر نیز حاکی از آن است که /شریشیالکی از عوامل ایجاد کننده عفونت‌های ادراری و با شیوع بیشتر در زنان (۵۴ نفر، ۶۷/۵ درصد) در مقایسه با مردان (۱۱ نفر، ۱۳/۷۵ درصد) است که این یافته با نتایج حاصل از مطالعات قبلی همخوانی دارد. شیامالا و همکاران در سال ۲۰۱۲ در هند، با بررسی ۴۴ مورد /شریشیالکی جداسازی شده از نمونه‌ی ادرار و خون بیماران بستری شده در بیمارستان کمترین حساسیت به نیتروفورانتوئین (۴ مورد) را گزارش کردند (۱۸). رونالد و همکاران در سال ۲۰۰۶، با بررسی ۱۷۶ مورد /شریشیالکی از مبتلایان به عفونت‌های مجاری ادراری، بیشترین حساسیت نسبت به نیتروفورانتوئین و کوتریموکسازول و بیشترین مقاومت نسبت به سیپروفلوکساسین گزارش کردند (۱۹). موجه و همکاران نیز در سال ۲۰۱۰ در آنکارا، با بررسی ۱۱۰ مورد /شریشیالکی جدا شده از ادرار بیماران بستری در بیمارستان‌ها، بالاترین حساسیت را مربوط به نیتروفورانتوئین گزارش کردند (۲۰). در مطالعه‌ی حاضر نیز کمترین حساسیت نسبت به کو-تریموکسازول (۳۷/۷ درصد) و بیشترین حساسیت نسبت به نیتروفورانتوئین (۹۶/۵ درصد) گزارش شد. بنابراین در شهرستان خرم‌آباد، آنتی‌بیوتیک نیتروفورانتوئین جهت درمان عفونت‌های ادراری و سپتی سمی ناشی از /شریشیالکی، به عنوان یک داروی موثر بایستی مورد توجه قرار گیرد. با توجه به نتایج این مطالعه و مطالعات مشابه، به نظر می‌رسد که دستورالعمل‌های تجویز دارو نیاز به بازبینی داشته و حتی پیشنهاد می‌شود، برای هر منطقه داروهای خط اول درمان بر اساس مطالعات اپیدمیولوژیک انجام شده، تدوین گردد. در مطالعه‌ی حاضر میزان نمونه‌های ایزوله شده از ادرار که از نظر ژن pap G II و pap G III مورد بررسی قرار گرفتند،

مجاری ادراری و سپتی سمی می‌تواند نقش مهمی داشته باشد. ولد و همکاران در سال ۱۹۹۲، با بررسی سویه‌های /شریشیاکلی یوروپاتوژن، عامل عفونت‌های مجاری ادراری را سویه‌های O1, O2, O6, O7, O18, O25, O75 که دارای فیمبریه P - هستند، به‌عنوان عامل مقاومت و ایجاد عفونت‌های ادراری ثبت کردند (۲۴).

نتیجه‌گیری

این پژوهش برای اولین بار در ایران، در شهرستان خرم‌آباد، حضور ژن pap G II و pap G III را در سویه‌های انتروپاتوژن /شریشیاکلی مورد بررسی قرار داده است. بنابراین بایستی نقش این سویه‌ها در طی مدت بستری شدن بیماران در بیمارستان‌ها به دلیل ایجاد عفونت‌های ادراری و سپتی‌سمی مورد توجه قرار گیرد. فراوانی ژن pap G II در نمونه‌های ادرار بیشتر از pap G III و در نمونه‌های خون فقط ژن pap G II مشاهده شد. این نتایج ممکن است به دلیل شرایط جغرافیایی، آب و هوایی،

سازگاری ارگانیزم با بدن میزبان و غیره باشد. لذا بایستی اصول بهداشت در بخش‌های بستری در بیمارستان‌ها بیشتر مورد توجه قرار گیرد. با توجه به نتایج آنتی بیوگرام در مطالعه‌ی حاضر، مصرف آنتی‌بیوتیک کوتریموکسازول نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت بیشتری ایجاد نموده است. لذا، در موارد درمان تجربی UTIs، استفاده از داروهایی چون نیتروفورانتوئین، آمیکاسین در کنار سایر فاکتورها می‌تواند در ریشه‌کنی عفونت مفید باشد. بنابراین، پایش دوره‌ای مقاومت‌ها توصیه می‌گردد. در صورت ادامه‌ی این روند امکان ایجاد مقاومت به طیف وسیع‌تری از آنتی‌بیوتیک‌های رایج مصرفی در مراکز کلینیکی وجود دارد که می‌تواند مشکلاتی را در رابطه با درمان بیماران ایجاد کند.

تشکر و قدردانی

از ریاست محترم و کلیه‌ی همکاران گرامی مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی به دلیل همکاری‌های بی‌شائبه بی‌نهایت تشکر می‌گردد.

References

- 1- Katouli M. Population structure of gut Escherichia coli and its role in development of extraintestinal infections. *Iran J Microbiol.* 2010; 2: 59-72.
- 2- söderhäll Mats. The importance of Escherichia coli fimbriae in urinary tract infection. 2001.
- 3- Nicolle LE. Short-term therapy for urinary tract infection: success and failure. *Int J Antimicrob Agents.* 2008; 315: 40-45.
- 4- Johnson JR. Virulence factors in Escherichia coli strain urinary tract infection. *J Clin Microbiol.* 1991; 4: 80-128.

- 5- Bullitt E, Makowski Lee. Bacterial adhesion pili are heterologous assemblies of similar subunits. *Biophysical J.* 1998; 74: 623-32.
- 6- Björnham O, Nilsson H, Andersson M, Schedin S. Physical properties of the specific Pap G-galabiose binding in E. coli P pili-mediated adhesion. *Eur Biophys J.* 2009; 38: 245-54.
- 7- Bien Justyna, Sokolova Olga, Bozko Przemyslaw. Role of uropathogenic Escherichia coli virulence factors in development of urinary tract infection and kidney damage. *Int J Nephrol.* 2012; Epub.

- 8- Lane MC, Mobley M. Role of P-fimbrial Mediated adherence in pyelonephritis and persistence of uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) in the mammalian kidney. *Kidney Int.* 2007; 72: 19-25.
- 9- Tseng C, Huang J, Wang M. et al. Pap G II adhesion in the establishment and persistence of *Escherichia coli* infection in mouse kidneys. *Kidney Int.* 2007; 71: 764-70.
- 10- Öhara AM, Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ. *EMBO reports.* 2006; 7: 688-93.
- 11- Brauner A, Kaijser B, Wretling B, Kühn I. Characterion of *Escherichia coli* isolated in blood ,urine and faeces from basteraemic patients and possible spread of infection. *APMIS.* 1991; 99: 381-6.
- 12- Winn WC, Allen SD, Janda WM, Koneman EW, Woods GL. Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 6th ed. Lippincott Williams & Wilkins. 2006; PP: 211-38.
- 13- Clinical and laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; M100-S20. CLSI document. 2010; 30: 27-44.
- 14- Azami S, Asgarani E, Abdi A. Evaluation of three methods of DNA extraction from *Pseudomonas aeruginosa* by spectrophotometer nanodrop and gel electrophoresis. *J of Apply Biol.* 2012; 23: 24.
- 15- Ulla M, Kauppinen J, Ikaheimo R, Marja LK, Anja S. Rapid and specific detection of three different G adhesin classes of P-fimbriae in uropathogenic *Escherichia coli* by polymerase chain reaction. *J Microbiol Method.* 1998; 34: 23-29.
- 16- Gangro A, Arshad HL. Urinary tract infection as a predictor of childhood malnutrition in southern sindh, Pakistan. *Pakistan J of Nut.* 2010; 9: 819-21.
- 17- Manaal Z, Chetan R, Pushpendra S. et al. Isolation, identify cation and characterization of *Esherichia coli* from urine samples and their antibiotic sensitivity pattern. pelagio Research Library. 2011; 1: 118-24.
- 18- Shyamala R, Rama RMV, Janardhan RRMD. The sensitivity pattern of *Escherichia coli* to amikacin in a tertiary care hospital. *Scholars Research Library.* 2012; 4: 1010-12.
- 19- Ronald PO, Lizzie J. Antibiotic resistance in urinary isolates of *Esherichia coli* from college women with urinary tract infections. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 2009; 53: 1285-86.
- 20- Müjde E ,Merve EB , Muharrem MY, Ahmet A. Antimicrobial resistance of urinary *Esherichia coli* isolates. *Trop J Pharm Res.* 2010; 9: 205-9.
- 21- Monique RT, Tomomasa Y, Domingos SL. Genotypic characterization of virulence factors in *Escherichia coli* strains from patients with cystitis. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo.* 2008; 50: 255-60.
- 22- Sandberg T, markund BI, Ulleryd P, Svanborg C. Virulence factors and Pap genotype in *Escherichia coli* isolates from woman with acute pyelonephritis with or without bacteremia. *J Bacteriol.* 1993; 17: 448-560.

23- James R J, Jennifer JD, Joel NM. Clonal distribution of the tree alleles of the gal α (1-4) gal- specific adhesion gene pap G among *Escherichia coli* strains from patients with bacteremia. *J Infect Disease*. 1998; 177: 651-61.

24- Wold AE, Cauquant DA, Lidin JG, Svanborg C. Resident colonic *Escherichia coli* strains frequently display uropathogenic characteristics. *J Infect Dis*. 1992; 165: 46-52.

Detection of pap G Gene in *Enteropathogenic Escherichia Coli (EPEC)* Strains Isolated from Urine and Blood of Hospitalized Patients' in Khorramabad City, Iran

Shaban A¹, Norouzi J¹

¹Dept. of Microbiology, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran

Corresponding Author: Shaban A, Dept. of Microbiology, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran.

E-mail: shabanafsanah@yahoo.com

Received: 7 Jun 2015 **Accepted:** 30 Oct 2015

Background and Objective: *Escherichia coli (E-coli)* is a normal gram negative organism that inhabit the human and animal intestinal tract. Pap G gene has an important role in creating P -fimbriae tip and in producing septicemia and urinary tract infection. The aim of this study was to investigate the presence of pap G gene in *EPEC* strains isolated from urine and blood.

Materials and Methods: From March to October 2013, 90 colonies of urine and blood samples suspected to *Escherichia coli* were collected. The identity of isolates was determined by standard biochemical tests. Their antibiotic resistance pattern was detected by susceptibility disk diffusion method (Global standard CLSI) and the frequency of pap G gene was examined by Multiplex PCR and pap G positive isolates were serotyped against O antigen.

Results: From 90 suspected colonies of urine and blood, 72 (80%) cases found to be E- coli. Out of 72 cases, 65 (90.27%) cases were isolated from urine and 7 (9.73%) cases isolated from blood. 30 out of 72 samples were positive for pap G (II, III) gene. Five out of 30 (16.6%) cases were found to belong to O26, O128, O125, O114 and O55 *EPEC* strains.

Conclusion: In this study, the pap G (II, III) gene was observed in the isolated enteropathogenic E- coli from the hospitalized patients' urine and blood samples. Therefore, entropathogenic strains of *E-coli* can also cause urinary tract infections and septicemia similar to uropathogenic strains which having pap G gene and P- fimbriae tip.

Keywords: *Escherichia coli*, Multiplex PCR, pap G, Antibiotic resistance, Urinary infection.