

Evaluation of the presence of pap, sfa, and fimH genes in imipenem-resistant *Escherichia coli* isolated from the patients with urinary tract infections from the laboratories of Amol in 2018-2019

Rahem Khoshbakht¹, Zahra panahi^{*2}, Faezeh Alizadeh³

1. Assistant Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran

2. PhD student, Department of Food hygiene and Aquaculture, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

3. Bachelor of Veterinary Laboratory Science, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran

(Received: 2020/08/15

Accepted:2021/09/04)

Abstract

Background and Aims: Urinary tract infection is one of the most common bacterial infections in the world anduropathogenic *Escherichia coli* is one of the main causes of this infection. The presence of fimbrial genes causes the bacteria to attach to the cells of the urinary tract. The aim of the present study was to evaluate the presence of 3 fimbrial genes *papEF*, *sfaD*, and *fimH* in *Escherichia coli* isolated from patients with urinary tract infections.

Materials and Methods: In the current cross-sectional study, 235 urine samples were randomly collected from patients referred to different laboratories in Amol between 2018-2019. First, each sample was cultured separately on EMB agar and then analyzed using biochemical tests, such as IMViC, TSI, and urease. In positive samples for the presence of *Escherichia coli*, antibiogram test was performed to evaluate the sensitivity to the imipenem. After DNA extraction from imipenem resistant samples via boiling method, the presence of *papEF*, *sfaD*, and *fimH* genes was examined using Polymerase Chain Reaction (PCR). The results of the study were analyzed in SPSS, version 22. Statistical analyses were performed running Man-Whitney and Chi-square tests with a significance level of $P < 0.05$.

Results: From among the 235 urine samples, 75 (31/9%) contained *Escherichia coli* bacteria. Also, 47 samples (62/7%) were detected from imipenem-resistant *Escherichia coli* isolates. After PCR reaction, it was found that 28 isolates (59/6%) were positive for *fimH* gene, 8 isolates (17%) were positive for *papEF* gene, and 19 isolates (40/42%) were positive for *sfaD* gene. The results showed that, among the studied strains, *fimH* gene was the most common gene encoding fimbriae in *Escherichia coli* isolated from urinary tract infection in Amol city. However, this finding was not statistically significant ($P < 0.05$). Also, in the statistical study of the results of antibiotic resistance and the presence of fimbrial virulence genes, no significant relationship was observed between the variables ($P < 0.05$).

Conclusion: It seems that *fimH* gene is the most common gene encoding fimbrial in *Escherichia coli* isolated from urinary tract infections in Amol city and is an important factor in the pathogenicity of this bacteria. Most cases of urinary tract infections are associated with *Escherichia coli* bacteria that contain these genes, so its early detection in patients with urinary tract infections can help treat patients in a faster and better way.

Keywords: Urinary tract infections; Fimbrial genes; *Escherichia coli*; Imipenem

*Corresponding author: Zahra panahi

Email: za.panahi@mail.um.ac.ir

بررسی حضور ژن‌های فیمبریل *pap*، *sfa* و *fimH* در جدایه‌های اشریشیاکلی مقاوم به ایمنی پنم به دست آمده از بیماران مبتلا به عفونت دستگاه ادراری در آزمایشگاه‌های شهر آمل در سال ۱۳۹۷-۱۳۹۸

راحم خوشبخت^۱، زهرا پناهی^{۲*}، فائزه علیزاده^۳

۱. استادیار، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل، آمل، ایران
 ۲. دانشجوی دکترا، گروه بهداشت مواد غذایی و آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
 ۳. لیسانس علوم آزمایشگاهی دامپزشکی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل، آمل، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۰۰/۰۶/۱۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۵/۲۵

چکیده:

سابقه و هدف: عفونت ادراری، یکی از شایع‌ترین عفونت‌های باکتریایی در جهان است. اشریشیاکلی یوروپاتوژنیک یکی از عوامل اصلی ایجاد این عفونت است. حضور ژن‌های فیمبریه، سبب چسبندگی باکتری به سلول‌های مجاری ادراری می‌شوند. هدف از این مطالعه، بررسی حضور 3 ژن فیمبریل *sfaD*، *papEF* و *fimH* در اشریشیاکلی جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت دستگاه ادراری است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه، توصیفی-مقطعی، 235 نمونه ادراری به صورت تصادفی از افراد مبتلا به عفونت دستگاه ادراری در سال 1397 تا 1398 از آزمایشگاه‌های شهر آمل جمع‌آوری شد. ابتدا هرکدام از نمونه‌ها به طور جداگانه روی محیط کشت اتوزین متیلن بلو (EMB) کشت داده شدند و سپس توسط تست‌های بیوشیمیایی نظیر TSI، IMViC، و اوره‌آز بررسی شدند. در نمونه‌های مثبت از نظر حضور اشریشیاکلی تست آنتی بیوگرام برای ارزیابی حساسیت به آنتی‌بیوتیک ایمنی پنم انجام شد. پس از استخراج DNA از نمونه‌های مقاوم به ایمنی پنم با روش جوشاندن، حضور ژن‌های فیمبریه *sfaD*، *papEF* و *fimH* توسط روش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز (PCR) بررسی شد. نتایج مطالعه با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه 22 تجزیه و تحلیل شد. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از آزمون‌های *Man-Whitney* و *Chi-square* و با سطح معناداری $P < 0/05$ انجام شد.

یافته‌ها: از 235 نمونه ادراری، تعداد 75 نمونه (31/9 درصد) حاوی باکتری اشریشیاکلی بودند. با استفاده از تست آنتی بیوگرام، تعداد 47 نمونه (62/7 درصد) از جدایه‌های اشریشیاکلی مقاوم به ایمنی پنم تشخیص داده شدند. پس از انجام واکنش PCR، مشخص شد که تعداد 28 جدایه (59/6 درصد) از نظر حضور ژن *fimH*، هشت جدایه (17 درصد) از نظر حضور ژن *papEF* و 19 جدایه (40/42 درصد) از نظر حضور ژن *sfaD* مثبت بودند. نتایج نشان داد که در بین سویه‌های مطالعه شده، ژن *fimH* شایع‌ترین ژن کدکننده فیمبریه در اشریشیاکلی‌های جدا شده از عفونت ادراری در شهر آمل بود. هرچند این یافته به لحاظ آماری معنادار نبود ($P < 0/05$). همچنین در بررسی آماری نتایج مقاومت آنتی‌بیوتیکی و حضور ژن‌های حدت فیمبریل، هیچ ارتباط معناداری بین متغیرها (آنتی‌بیوتیک‌های مطالعه شده و ژن‌های حدت) مشاهده نشد ($P < 0/05$).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد ژن *fimH* شایع‌ترین ژن کدکننده فیمبریه در اشریشیاکلی‌های جدا شده از عفونت ادراری در شهر آمل و عامل مهمی در بیماری‌زایی این باکتری است. بیشترین موارد ابتلا به عفونت ادراری، مرتبط با باکتری اشریشیاکلی حاوی ژن‌های نامبرده است. به همین دلیل تشخیص سریع آن‌ها در مبتلایان به عفونت ادراری می‌تواند به درمان سریع‌تر و بهتر مبتلایان کمک کند.

واژگان کلیدی: عفونت دستگاه ادراری، ژن‌های فیمبریه، اشریشیاکلی، ایمنی پنم

مقدمه

جدایه‌های اشریشیاکلی دارای عوامل حدتی از جمله توانایی چسبندگی به مخاط‌ها، توانایی جذب آهن، تولید کپسول پلی‌ساکارییدی، تولید انواعی از سایتوتوکسین‌ها، توانایی حرکت هستند (۲).

سویه‌های یوروپاتوژنیک اشریشیاکلی (UPEC) در میان سویه‌های اشریشیاکلی توانایی ایجاد عفونت ادراری را دارند. سویه یوروپاتوژنیک اشریشیاکلی (عامل عفونت دستگاه ادراری در انسان، سگ و گربه)، سویه‌های مسئول سپتی سمی در انسان و

عفونت دستگاه ادراری (UTI) یکی از رایج‌ترین عفونت‌های بیمارستانی است. باکتری اشریشیاکلی یکی از عوامل رایج و متداول این عفونت است. باکتری اشریشیاکلی عامل ۹۰-۸۰ درصد از عفونت‌های دستگاه ادراری است (۱). باکتری اشریشیاکلی یکی از باکتری‌های فلور طبیعی روده انسان، پستانداران و پرندگان است که برخی سویه‌های آن توانایی ایجاد عفونت در انسان و حیوان‌ها را دارند. برخی از

نویسنده مسئول: زهرا پناهی

پست الکترونیک: za.panahi@mail.um.ac.ir

مولر هیتونن آگار کشت داده شد و دیسک آنتی‌بیوتیک ای‌می‌پنم (شرکت پادتن طب، ایران) حاوی ۱۰ میلی‌گرم از این آنتی‌بیوتیک روی محیط قرار داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه گرمخانه‌گذاری انجام شد. سپس قطر هاله عدم رشد باکتری براساس استاندارد CLSI ۲۰۱۰ بررسی شد (۱۳).

استخراج DNA:

برای استخراج DNA از جدایه‌های اشریشیاکلی مقاوم به ای‌می‌پنم از روش جوشاندن (boiling method) استفاده شد. به این دلیل یک لوپ از پرگنه‌های خالص باکتری مورد نظر در یک میکروتیوب حاوی ۲۰۰ میکرولیتر آب دی‌یونیزه استریل حل شد. سپس در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری حرارت داده شد، پس از آن در سانتریفیوژ یخچال‌دار به مدت پنج دقیقه و دور ۱۲۰۰۰rpm سانتریفیوژ شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از مایع فوقانی به عنوان DNA خالص برای انجام واکنش PCR برداشته و استفاده شد (۱۴).

واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR):

برای تایید حضور ژن‌های فیمبریه از روش PCR استفاده شد. این واکنش در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ۲۰۰ میکرومول dNTP، ۱۰ پیکومول از هر کدام از پرایمرهای اختصاصی، ۷/۵ میلی‌مول در لیتر کلرید منیزیم، یک واحد آنزیم Taq و ۵۰ نانوگرم DNA انجام شد. در جدول ۱ توالی پرایمرهای استفاده شده آورده شده است. برنامه دستگاه ترموسایکلر (Bio-Rad, USA) شامل واسرشت اولیه در ۹۵ درجه سلسیوس به مدت پنج دقیقه، ۳۵ دور تکرار شامل ۳۰ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سلسیوس، اتصال پرایمرها در دمای مناسب به مدت ۳۰ ثانیه، ۶۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای گسترش آنزیم و گسترش نهایی در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت پنج دقیقه انجام شد.

توالی اولیگونوکلئوتیدهای استفاده شده به عنوان آغازگر واکنش PCR برای شناسایی حضور ژن‌های فیمبریه در اشریشیاکلی‌های جدا شده از عفونت ادراری

ژن هدف	توالی پرایمر (5'-3')	طول قطعه تکثیر شده (bp)	دمای اتصال	منبع
papEF	GCAACAGCAAC-GCTGGTT-GCAT-CAT AGAGAGAGC-CACTCTTATACG-GACA	337	60 °C	(15)
SfaD	CTCCGGAGAACT-GGGTGCATCTTAC CGGAGGAGTA-ATTACAAACCT-GGCA	410	59 °C	(16)
fimH	ATGAAACGAGT-TATTACCCT TTATTGATAAAA-CAAAAGTCAC	903	45 °C	(17)

آنالیز آماری:

نتایج مطالعه با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ تجزیه و تحلیل شد. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از آزمون‌های Chi-square، Man-Whitney و با سطح معناداری $P < 0.05$ انجام شد.

حیوان‌ها و سویه‌های مسئول مننژیت نوزادان هستند (۲). سویه‌های یورپاتوژنیک اشریشیاکلی رایج‌ترین بیماری عفونی در انسان را سبب می‌شوند. این سویه‌ها توانایی کلونیزاسیون در سطوح مخاطی میزبان را دارا هستند و به این ترتیب باکتری به مجاری ادراری هجوم می‌برد. باکتری پس از اتصال سبب شروع و گسترش عفونت دستگاه ادراری می‌شود (۳). سویه‌های یورپاتوژنیک اشریشیاکلی انواع مختلفی از عوامل چسبندگی (adhesins) لازم برای اتصال به رسپتورهای مجاری ادراری را تولید می‌کنند. یکی از ادهسین‌های فیمبریه‌ای در اشریشیاکلی فیمبریه نوع یک، فیمبریه P و فیمبریه S است که به ترتیب توسط ژن *pap*، *fim* و *sfa* بیان می‌شوند. فیمبریه نوع یک توسط ۹۰ درصد سویه‌های اشریشیاکلی تولید می‌شود و این فیمبریه سبب تسهیل اتصال گلیکوپروتئین‌های ترش‌حی و مانوزیل شده به سطح سلول می‌شوند (۴، ۵). بیان ژن فیمبریه نوع یک توسط ۹ ژن *fim* انجام می‌گیرد که ژن *fimH* نیز برای جذب و اتصال باکتری به گیرنده‌های سلولی یورپلاکین در سلول‌های پوششی دستگاه ادراری ضروری است و چون این پروتئین فاقد تنوع ژنتیکی است، بیشتر مطالعه‌های انجام شده برای تهیه واکسن علیه عفونت ادراری پروتئین *fimH* است (۶). فیمبریه نوع P مرتبط با موارد پیلونفریت سویه‌های حامل است. فیمبریه P به مانوز مقاوم است و از شش پروتئین ساختاری متمایز تشکیل شده است (۷). فیمبریه S به رسپتورهای حاوی بخش‌های قندی اسید سیالیک متصل و سبب پیلونفریت می‌شود (۸).

آنتی‌بیوتیک ای‌می‌پنم از کلاس کارباپنم است. این آنتی‌بیوتیک در شرایط آزمایشگاهی دارای خاصیت ضد میکروبی خوبی علیه انواع مختلفی از باکتری‌هاست (۹). امروزه برای درمان بسیاری از بیماری‌ها از جمله عفونت ادراری، پزشکان انواع مختلفی از آنتی‌بیوتیک‌ها را تجویز می‌کنند. مصرف بیش از حد آنتی‌بیوتیک‌ها، سبب افزایش مقاومت باکتری‌های ایجادکننده عفونت ادراری شده است (۱۰). بنابراین به دلیل ابتلای بالای عفونت‌های ادراری ناشی از اشریشیاکلی و افزایش مقاومت میکروبی در برابر آنتی‌بیوتیک‌های موثر، بررسی ویرولانسی سویه‌های یورپاتوژنیک اشریشیاکلی امری ضروری است (۱۱). از این‌رو این پژوهش با هدف بررسی حضور ژن‌های فیمبریه *pap*، *fimH* و *sfa* در اشریشیاکلی مقاوم به آنتی‌بیوتیک ای‌می‌پنم جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت دستگاه ادراری انجام شد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه:

در یک مطالعه توصیفی-مقطعی در طول یک سال، ۲۲۵ نمونه ادرار به صورت تصادفی، از بخش میانی جریان ادرار مبتلایان به عفونت دستگاه ادراری که در طول سال ۱۳۹۸ به آزمایشگاه بیمارستان‌های قائم، امام رضا (ع) و شمال در شهر امل مراجعه کردند، جمع‌آوری شد. نمونه‌های گرفته شده درون ظروف استریل، بلافاصله برای کشت و جداسازی به آزمایشگاه میکروبی‌شناسی دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین امل منتقل شد.

جداسازی و شناسایی اشریشیاکلی از نمونه‌ها:

ابتدا هر کدام از نمونه‌ها به طور جداگانه روی محیط کشت EMB کشت داده شدند. کلنی‌های مشکوک به اشریشیاکلی با رنگ تیره و حالت جلای فلزی برای انجام آزمون‌های بیوشیمیایی و تشخیصی، دوباره روی آگار خوندار کشت داده شده و خالص شد. جدایه‌های خالص شده توسط تست‌های بیوشیمیایی IMViC، محیط TSI، اوره آز و لایزین دکربوکسیلاز مورد آنالیز بیوشیمیایی قرار گرفتند. جدایه‌های تایید شده روی محیط BHI برات کشت داده شدند و تا زمان استفاده در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. تمامی محیط کشت‌های استفاده شده، از شرکت مرک آلمان تهیه شدند (۱۲).

بررسی حساسیت آنتی‌بیوتیکی:

حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها به آنتی‌بیوتیک ای‌می‌پنم با روش انتشار دیسک (Disk diffusion) ارزیابی شد. به این دلیل ابتدا از سویه‌های جدا شده سوسپانسیون معادل نیم‌مک‌فارلند تهیه شد و سپس از سوسپانسیون مورد نظر روی محیط کشت

یافته‌ها

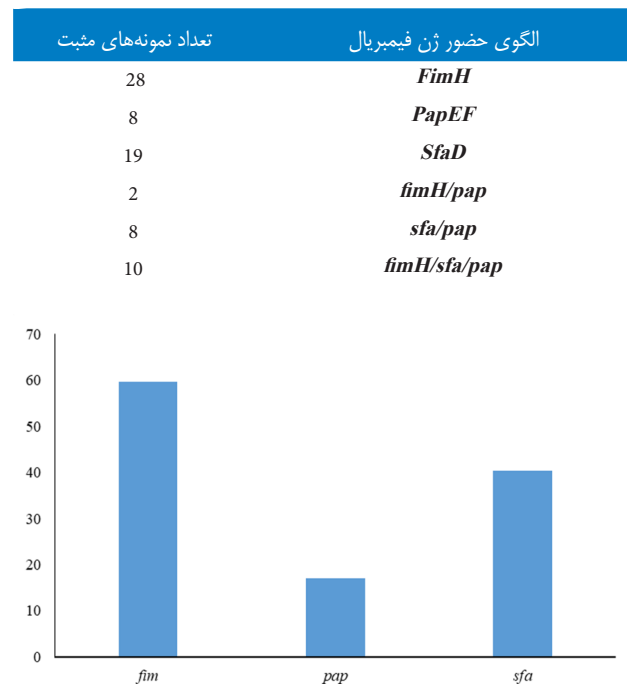
توانایی باکتری اشریشیا کلی در اتصال و کلونیزاسیون در مجاری ادراری، از فاکتورهای مهم اشریشیا کلی در ایجاد عفونت‌های ادراری است. این مطالعه بیانگر اهمیت وجود ژن‌های فیمبریه *fimH*، *sfa* و *pap* در سویه‌های یوروپاتوژنیک است. در این مطالعه مشخص شد که بیشترین درصد آماری مربوط به ژن *fimH* است. پروتئین پیلی *fimH* سبب ورود باکتری به داخل سلول‌های اپیتلیال سیستم ادراری و کلونیزاسیون باکتری می‌شود و نقش مهمی در بیماری‌زایی این باکتری دارد. یکی از راه‌های پیشگیری از این عفونت، تهیه واکسن است. برای تهیه واکسن باید از پروتئینی استفاده شود که بتواند سیستم ایمنی را تحریک کند، تغییرهای آنتی‌ژنیکی نداشته باشد و در بین جدایه‌های بیماری‌زا تنوع بالایی نداشته باشد. پروتئین *fimH* دارای این خصوصیات است و می‌تواند برای تهیه واکسن برای پیشگیری از ابتلا به عفونت‌های ادراری استفاده شده قرار گیرد (۱۹).

در تحقیق انجام شده توسط Watts و همکاران (۲۰۱۰)، میزان شیوع ژن *fimH* در بین جدایه‌های اشریشیا کلی یوروپاتوژن ۹۸ درصد بود (۲۰). ساکی و همکاران (۱۳۹۵)، فراوانی ژن‌های عوامل حدت فیمبریه‌ای *fimH*، *pap* و *sfa* را در جدایه‌های اشریشیا کلی بیماران مبتلا به عفونت دستگاه ادراری در چندین بیمارستان مطالعه کردند، شیوع ژن‌های فیمبریه *fimH*، *pap* و *sfa* به ترتیب ۹۶/۶۶ درصد، ۹۳/۳ درصد و ۴/۶۶ درصد گزارش شد که نتایج بیانگر شیوع بالاتر ژن *fimH* بود که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد (۲۱). در مطالعه‌های انجام شده توسط ناظمی و همکاران (۲۰۱۰)، نتایج بررسی فراوانی ژن‌های عوامل حدت فیمبریه‌ای *fimH*، *pap*، *sfa*، *foc* و *afa* در جدایه‌های اشریشیا کلی بیماران مبتلا به عفونت دستگاه ادراری نشان داد که ژن‌های فیمبریه‌ای *fim* و *sfa* بیشترین جدایه‌ها بودند (۲۲). نتایج مطالعه صالحی و همکاران (۲۰۱۶)، بررسی فراوانی ژن‌های فیمبریه *papEF*، *fimH*، *papA*، *kpsMT* و *ibeA* در نمونه‌های اشریشیا کلی جداسازی شده از عفونت ادراری کودکان، بیانگر بیشترین فراوانی ژن حدت *fimH* (۷۵ درصد) بود (۲۳). قاسمی‌پور و همکاران (۱۳۹۷)، فراوانی ژن‌های ویروالانس *fimH* و *PAI* در باکتری‌های اشریشیا کلی جدا شده از عفونت‌های ادراری در شهر رشت را بررسی کردند، نتایج نشان داد که میزان فراوانی ژن *fimH* (۸۴ درصد) بیشتر از ژن *PAI* (۷۶ درصد) بود (۲۴). در مطالعه انجام شده توسط Kaczmarek و همکاران (۲۰۱۴)، فراوانی ژن *fimH* در نمونه‌های جدا شده از زنان باردار و نوزادان نسبت به ژن‌های دیگر از جمله *fimA*، *sfa/foc*، *iutA*، *ibeA* و *hlyF* بیشتر بود (۲۵). نتایج این محققان با نتایج حاضر در این مطالعه مطابقت دارد و اندک اختلاف‌ها می‌تواند ناشی از نحوه نمونه‌گیری، منطقه جغرافیایی، تعداد نمونه و تنوع ژنتیکی در گروه‌های فلوژنتیکی جدایه‌ها باشد و از طرفی حساسیت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها می‌تواند بر میزان فراوانی ژن‌های حدت آن‌ها موثر باشد (۲۶، ۲۷). اما به طور کلی در بیشتر مطالعه‌های انجام شده، ژن *fimH* دارای فراوانی زیادی نسبت به دیگر ژن‌های بررسی شده بود. در این مطالعه و دیگر مطالعه‌های انجام شده، اهمیت ژن‌های فیمبریال را در بیماری‌زایی سویه‌های یوروپاتوژنیک اشریشیا کلی نشان می‌دهد. که با آگاهی از نقش و اهمیت این ژن‌ها می‌توان اقدام‌های موثری برای طراحی واکسن علیه این بیماری انجام داد. برای یافتن اطلاعات جامع‌تر برای کنترل و درمان عفونت ادراری باید تحقیق‌های گسترده‌تری روی دیگر عوامل حدت از جمله تولید توکسین انجام شود و نتایج ارزیابی شده و مقایسه‌ای کلی بین فاکتورهای دخیل در عفونت و بیماری‌زایی انجام شود.

طبق نتایج حاضر در این مطالعه، میزان ۶۲/۶ درصد از جدایه‌های اشریشیا کلی مقاوم آنتی‌بیوتیک ایمنی پنم بودند که در قیاس با سایر مطالعه‌های انجام شده روی حساسیت آنتی‌بیوتیکی اشریشیا کلی‌های بیماری‌زا، میزان مقاومت به نسبت بالایی است. در مطالعه گودرزی و همکاران (۱۳۹۴)، از ۲۰۰ جدایه یوروپاتوژن، بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی مربوط به آنتی‌بیوتیک نالیدیسیک اسید (۶۴ بود) بود و هیچ مقاومتی نسبت به آنتی‌بیوتیک ایمنی پنم

پس از انجام تست‌های بیوشیمیایی روی ۲۳۵ نمونه ادراری، تعداد ۷۵ نمونه (۳۱/۹ درصد) حاوی باکتری اشریشیا کلی بودند. پس از انجام تست آنتی‌بیوگرام، تعداد ۴۷ نمونه (۶۲/۷ درصد) از جدایه‌های اشریشیا کلی مقاوم به ایمنی پنم تشخیص داده شدند. پس از انجام واکنش PCR روی DNA‌های استخراج شده از نمونه‌های مقاوم به ایمنی پنم، مشخص شد که تعداد ۲۸ جدایه (۵۹/۶ درصد) از نظر حضور ژن *fimH*، ۸ جدایه (۱۷ درصد) از نظر حضور ژن *pap* و ۱۹ جدایه (۴۰/۴۲ درصد) از نظر حضور ژن *sfa* مثبت بودند و ۲ جدایه (۴/۲ درصد) فاقد هرگونه از ژن‌های مورد بررسی بودند. از بین ۴۷ نمونه، ۲۸ نمونه از نظر حضور ژن *fimH* مثبت بودند که ۱۸ جدایه تنها دارای ژن *fimH* و بقیه علاوه بر این ژن، دارای حداقل یکی از ژن‌های *pap* و *sfa* نیز بودند. از بین هشت جدایه مثبت از نظر حضور ژن *pap*، شش جدایه تنها دارای این ژن و دو جدایه به طور همزمان دارای ژن *fimH* بودند. از ۱۹ جدایه دارای ژن *sfa*، تعداد ۱۱ جدایه تنها حاوی ژن *sfa* بودند و بقیه به طور همزمان دارای ژن‌های *sfa* و *pap* بودند. نتایج نشان داد که در بین سویه‌های مطالعه شده، ژن *fimH* شایع‌ترین ژن کدکننده فیمبریه در اشریشیا کلی‌های جدا شده از عفونت ادراری در شهر امل بود. هرچند این یافته به لحاظ آماری معنادار نبود ($P < 0.05$). همچنین در بررسی آماری نتایج مقاومت آنتی‌بیوتیکی و حضور ژن‌های حدت فیمبریال، هیچ ارتباط معناداری بین متغیرها (آنتی‌بیوتیک‌های مطالعه شده و ژن‌های حدت) مشاهده نشد ($P < 0.05$).

جدول ۱-۳. الگوی حضور ژن‌های فیمبریال مطالعه شده در میان جدایه‌های اشریشیا کلی به دست آمده از عفونت‌های ادراری



شکل ۱-۳. توزیع فراوانی نسبی ژن‌های فیمبریال *pap*، *sfa* و *fimH* در جدایه‌های اشریشیا کلی مولد عفونت ادراری

بحث

نتایج نشان داد که از ۲۳۵ نمونه بررسی شده ۷۵ نمونه از نظر اشریشیا کلی مثبت بودند. از ۷۵ نمونه اشریشیا کلی مثبت، ۴۷ نمونه (۶۲/۶ درصد) مقاوم به آنتی‌بیوتیک ایمنی پنم شناسایی شد. در مطالعه حاضر، شیوع ژن‌های ویروالانس فیمبریه *fimH*، *pap* و *sfa* به ترتیب ۵۹/۶ درصد، ۱۷ درصد و ۴۰/۴۲ درصد بود. نتایج نشان داد که ژن *fimH* شایع‌ترین ژن کدکننده فیمبریه در اشریشیا کلی‌های جدا شده از عفونت ادراری در شهر امل بود.

است. از طرفی تجویز بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها سبب افزایش چشمگیری در مقاومت به انواعی از آنتی‌بیوتیک‌ها می‌شود (۳۱). به همین دلیل کاهش مصرف آنتی‌بیوتیک برای جلوگیری از مقاومت آنتی‌بیوتیکی و درمان موثر تر بیماری‌ها امری ضروری است.

نتیجه‌گیری

سویه‌های یوروپاتوژنیک اشریشیاکلی در مرحله اول برای بیماری‌زایی و عفونت ادراری، باید به محل مورد نظر اتصال پیدا کنند و ژن‌های فیمبریه نقش مهمی را در این اتصال فراهم می‌کنند. باتوجه به نتایج حاضر در مطالعه، به نظر می‌رسد که از بین سه ژن بررسی شده، ژن *fimH* بیشترین فراوانی را در این مطالعه داشت. از آنجا که عفونت دستگاه ادراری از رایج‌ترین عفونت‌های بیمارستانی است و از طرفی مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در اثر مصرف بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها، لزوم انجام تحقیق‌های گسترده برای طراحی واکسن علیه این فیمبریه را نشان می‌دهد.

منابع:

- Ejrnæs K. Bacterial characteristics of importance for recurrent urinary tract infections caused by *Escherichia coli*. *Dan Med Bull*. 2011 ;58(4):B4187.
- Sarowska J, Futoma-Koloch B, Jama-Kmiecik A, Frej-Madrzak M, Ksiazczyk M, Bugla-Ploskonska G, et al. Virulence factors, prevalence and potential transmission of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* isolated from different sources: recent reports. *Gut pathogens*. 2019 ;11(1):10.
- Shah C, Baral R, Bartaula B, Shrestha LB. Virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) and correlation with antimicrobial resistance. *BMC microbiology*. 2019 ;19(1):204.
- Saki A, Mizaei M. Frequency of fimbriae virulence genes *pap*, *fim* and *sfa* in *Escherichia coli* isolates of patients with urinary tract infections in selected hospitals of Tehran, Boroujerd and Sanandaj in 2015-2016. *Scientific Research Monthly of Yazd Shahid Sadoughi University of Medical Sciences*. 2017 ;24(11):913-2. (Full Text in Persian)
- Emody L, Kerenyi M, Nagy G. Virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli*. *International journal of antimicrobial agents*. 2003 ;22:29-33.
- Shams N, Jaydari A. Molecular detection of the gene encoding fimbriae type 1 (*fimH*) in uropathogenic strains of *Escherichia coli* isolated from outpatients with urinary tract infections. *Journal of Fasa University of Medical Sciences*. 2016 ;6(2):221-6.
- Dodson KW, Pinkner JS, Rose T, Magnusson G, Hultgren SJ, Waksman G. Structural basis of the interaction of the pyelonephritic *E. coli* adhesin to its human kidney receptor. *Cell*. 2001 ;105(6):733-43.
- Stamm WE, Norrby SR. Urinary tract infections: disease panorama and challenges. *The Journal of infectious diseases*. 2001 ;183(Supplement_1):S1-4.
- Zakavati M, Habibzadeh S, Sadeghieh S, Mohammadi P, Mostafalou S. The Pattern of Imipenem/Cilastatin Administration in Imam Khomeini Hospital (Ardabil) in 2018. *Journal of Ardabil University of Medical Sciences*. 2019 ;19(1):100-9.
- Tambekar DH, Dhanorkar DV, Gulhane SR, Khandelwal VK, Dudhane MN. Antibacterial susceptibility of some urinary tract pathogens to commonly used antibiotics. *African Journal of Biotech*

مشاهده نشد (۲۸). عبدالهی خیرآبادی و همکاران (۱۳۹۱)، الگوی مقاومت دارویی در سویه‌های اشریشیا کلی جدا شده از بیماران مراجعه‌کننده به بیمارستان ولی‌عصر شهرستان فسا را بررسی کردند، نتایج تست آنتی‌بیوگرام نشان داد که ۱۱/۱ درصد از جدایه‌های اشریشیاکلی مقاوم به ایمی‌پنم بودند و مقاومت جدایه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین (۲۲/۷ درصد) بیشتر از ایمی‌پنم بود (۲۹). Shrestha و همکاران (۲۰۲۰)، از ۲۶۶۱ نمونه ادرار، ۳۴/۶۴ درصد اشریشیاکلی جداسازی کردند که نسبت به آموکسی‌سیلین و سفالوسپورین مقاوم، اما از نظر ایمی‌پنم، آمیکاسین و ایتروفرانتوئین حساس بودند (۳۰).

از عوامل محدودکننده این مطالعه می‌توان به محدودیت جغرافیایی در گسترش عفونت مجاری ادراری اشاره کرد. محدودیت جغرافیایی می‌تواند روی الگوی مقاومت دارویی موثر باشد. برای رسیدن به نتایج جامع‌تر باید محدوده جغرافیایی وسیع‌تری ارزیابی شود.

با افزایش میزان عفونت‌های بیمارستانی، مطالعه روی انواع عفونت‌ها و الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های مولد عفونت از اهمیت خاصی برخوردار

nology. 2006;5(17).

- Foxman B. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity, and economic costs. *The American journal of medicine*. 2002 ;113(1):5-13.
- Farshad S, Emamghorashi F. The prevalence of virulence genes of *E. coli* strains isolated from children with urinary tract infection. *Saudi Journal of Kidney Diseases and Transplantation*. 2009 ;20(4):613.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 20th informational supplement. CLSI document M100-S20. Wayne, PA: CLSI, 2010.
- Hojati Z, Zamanzad B, Hashemzadeh M, Molaie R, Gholi-pour A. The *FimH* gene in uropathogenic *Escherichia coli* strains isolated from patients with urinary tract infection. *Jundishapur journal of microbiology*. 2015;8(2).
- 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 microbiology letters*. 2011 Jan 1;314(2):170-3.
- Yazdi M, Bouzari M, Ghaemi EA. Detection of *fim*, *pap*, *sfa* and *afa* adhesin-encoding operons in *Escherichia coli* strains isolated from urinary tract infections. *Medical Laboratory Journal*. 2018 Sep 10;12(5):10-5.
- Lai YM, Norgainathai R, Zaw MT, Lin Z. A new primer set for detection of *fimH* gene in *Escherichia coli* isolates. *Int. J. Collab. Res. Inter. Med. Pub. Heal*. 2015;7(4):65-71.
- Yamamoto S. Molecular epidemiology of uropathogenic *Escherichia coli*. *Journal of Infection and Chemotherapy*. 2007;13(2):68-73.
- Wright KJ, Seed PC, Hultgren SJ. Development of intracellular bacterial communities of uropathogenic *Escherichia coli* depends on type 1 pili. *Cellular microbiology*. 2007 ;9(9):2230-41.
- Watts RE, Hancock V, Ong CL, Vejborg RM, Mabbett AN, Totsika M, et al. *Escherichia coli* isolates causing asymptomatic bacteriuria in catheterized and noncatheterized individuals possess similar virulence properties. *Journal of clinical microbiology*. 2010;48(7):2449-58.
- Saki A, Mirzaei M. Frequency of fimbrial virulence genes (*fim*, *pap*, *sfa*) in *Escherichia coli* isolated from the patients with

urinary tract infections from selective hospitals of Tehran, Boroujerd and sanandej citu in 2015-2016. Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences. 2017;24 (11): 913-23.

22. Nazemi A, Naderi M, Jafarpour M, Mirinargesi M, Sharifi SH. The Detection of Fimbrial Pathogenic Genes in *E. coli* Strains Isolated from Patients with Urinary Tract Infection. Medical Laboratory Journal. 2010 ;4(2):31-7.

23. Salehi M, Amini K. The frequency of fimbriae genes *papA*, *fimH*, *kpsMT*, *papEF* and *ibeA* in *Escherichia coli* isolated from children urinary tract infection. journal of shahrekord university of medical sciences. 2016 ;18(5):73-82.

24. Ghasemipour Z, Salehzadeh A, Zamani H. Prevalence of *FimH* and *PAI* virulence genes in *Escherichia coli* bacteria isolated from urinary tract infections in Rasht. Ilam University of Medical Sciences. 2018 ;26(3):63-71. (Full Text in Persian)

25. Kaczmarek A, Budzyńska A, Gospodarek E. Prevalence of genes encoding virulence factors among *Escherichia coli* with K1 antigen and non-K1 *E. coli* strains. Journal of medical microbiology. 2012 ;61(10):1360-5.

26. Asadi S, Kargar M, Solhjoo K, Najafi A, Ghorbani-Dalini S. The association of virulence determinants of uropathogenic *Escherichia coli* with antibiotic resistance. Jundishapur journal of microbiology. 2014;7(5).

27. Drews SJ, Poutanen SM, Mazzulli T, McGeer AJ, Sarabia A, Pong-Porter S, et al. Decreased prevalence of virulence factors among ciprofloxacin-resistant uropathogenic *Escherichia coli* isolates. Journal of clinical microbiology. 2005;43(8):4218-20.

28. Goodarzi, Baharvand Ahmadi, Azin. prevalence of TEM gene in *Escherichia coli* strains of Euro-pathogenic gene producing broad-spectrum beta-lactamase enzymes isolated from Khorramabad city in 2013. Journal of pajoohande. 2015;20(1):33-7. (Full Text in Persian)

29. Abdollahi Khairabadi S, Najafipour S, Kafilzadeh F, Abdollahi A, Jafari S, Maroj A. Evaluation of drug resistance pattern in *Escherichia coli* strains isolated from patients referred to Vali Asr Hospital in Fasa. Journal of Fasa University of Medical Sciences. . 2013 ; 2(4):273-8. (Full Text in Persian)

30. Shrestha UT, Shrestha S, Adhikari N, Rijal KR, Shrestha B, Adhikari B, et al. Plasmid Profiling and Occurrence of β -Lactamase Enzymes in Multidrug-Resistant Uropathogenic *Escherichia coli* in Kathmandu, Nepal. Infection and drug resistance. 2020;13:1905.

31. Poole K. Resistance to β -lactam antibiotics. Cellular and Molecular Life Sciences CMLS. 2004;61(17):2200-23.