Original Article

The prevalence of uropathogenic *E. coli* and detection of some virulence genes isolated from patients referred to Kashan Shahid-Beheshti hospital during 2012-2013

Neamati F[1], Firoozeh F[2*], Saffary M[2], Mousavi GA[3]

1- Student Research Committee, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.
2- Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.
3- Trauma Research Center, Shahid-Beheshti Hospital, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.

Received November 30, 2013; Accepted May 31, 2014

Abstract:

Background: Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) is one of the most important etiologic agent of urinary tract infection (UTI). UPEC strains have various types of virulence factors such as adhesins, toxins and iron uptake systems. Virulence genes are located on transmissible genetic elements and/or in particular locus on the chromosome called pathogenicity islands (PAI). The aim of this study was to investigate the prevalence of UPEC and the virulence factors among the UPEC isolates.

Materials and Methods: Of 370 urine samples collected from hospitalized patients with UTI in Kashan Shahid-Beheshti hospital, a total of 150 *E.coli* strains were isolated between December 2012 and June 2013. Biochemical and standard microbiological techniques were used to identify the *E.coli* followed by screening for virulence genes using the polymerase chain reaction (PCR).

Results: The prevalence of UTI infection was 40.5% and the frequency of UPEC virulence genes was *traT* (74%), *aer* (30.7%), *PAI* (61.4%), *sfa* (0%), *pap* (16.7%), *cnf1* (0%), *afa* (0%) and *hly* (4.5 %).

Conclusion: Our study showed that the *traT*, *PAI* and *aer* virulence genes were highly prevalent among the UPEC strains isolated from hospitalized patients in our region; therefore, these genes could be studied as targets for medical interventions.

Keywords: Uropathogenic *Escherichia coli*, Urinary tract infection, Virulence genes, Pathogenicity islands

* **Corresponding Author.**
Email: ffiroozeh@ut.ac.ir
Tel: 0098 912 560 1989
Fax: 0098 31 5554 1112

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences August, 2014; Vol. 18, No 3, Pages 267-274

Please cite this article as: Neamati F, Firoozeh F, Saffary M, Mousavi GA. The prevalence of uropathogenic *E. coli* and detection of some virulence genes among isolates of patients referred to Kashan Shahid-Beheshti hospital during 2012-2013. ***Feyz*** 2014; 18(3): 267-74.

Archive of SID

www.SID.ir

بررسی فراوانی *اشریشیاکلی* یوروپاتوژنیک مولد عفونت ادراری و تعیین برخی ژن‌های ویرولانس در ایزوله‌های جدا شده از بیماران مراجعه کننده به بیمارستان شهید بهشتی کاشان طی سال‌های ۹۲-۱۳۹۱

فروغ نعمتی [۱]، فرزانه فیروزه [۲*]، محمود صفاری [۲]، سید غلامعباس موسوی [۳]

خلاصه :

سابقه و هدف: *اشریشیاکلی* یوروپاتوژنیک یکی از مهمترین عوامل ایجادکننده عفونت مجاری ادراری است. این سویه‌ها انواع مختلفی از فاکتورهای ویرولانس از جمله چسبنده‌ها، توکسین‌ها و سیستم‌های اکتساب آهن را دارا می‌باشند. ژن‌های ویرولانس روی عناصر ژنتیکی متحرک و یا در نواحی خاصی از کروموزوم که جزایر پاتوژنیسیتی نامیده می‌شوند، قرار دارند. هدف از این مطالعه بررسی شیوع *اشریشیاکلی* یوروپاتوژنیک و فاکتورهای ویرولانس در میان سویه‌های *اشریشیاکلی* یوروپاتوژنیک می‌باشد.

مواد و روش‌ها: از ۳۷۰ نمونه‌ی ادرار جمع‌آوری شده از بیماران بستری در بیمارستان شهید بهشتی کاشان مجموعه‌ای از ۱۵۰ ایزوله‌ی *اشریشیاکلی* بین آذرماه ۱۳۹۱ تا تیرماه ۱۳۹۲جدا گردید. باکتری *اشریشیاکلی* با استفاده از تکنیک‌های بیوشیمیایی و میکروب‌شناسی استاندارد شناسایی شد و بررسی شیوع فاکتورهای ویرولانس با استفاده از روش PCR انجام گرفت.

نتایج: شیوع عفونت مجاری ادراری ایجاد شده با *اشریشیاکلی* ۴۰/۵ درصد برآورد گردید. شیوع ژن‌های ویرولانس *traT* , *pai*، *aer*، *pap*، *hly* به‌ترتیب شامل ۷۴، ۶۱/۴، ۳۰/۷، ۱۶/۷ و ۴/۵ درصد به‌دست آمد و ژن‌های *sfa* , *afa* , *cnf* در سویه‌های ما شناسایی نشدند.

نتیجه‌گیری: مطالعه حاضر نشان داد که شیوع ژن‌های ویرولانس *traT* , *pai* و *aer* در میان سویه‌های *اشریشیاکلی* یوروپاتوژنیک جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان در منطقه‌ی ما بالا می‌باشد. بنابراین، ژن‌های فوق می‌توانند به‌عنوان هدف در مداخلات درمانی مورد بررسی بیشتری قرارگیرند.

واژگان کلیدی: *اشریشیاکلی* یوروپاتوژنیک، عفونت مجاری ادراری، ژن‌های ویرولانس، جزایر پاتوژنیسیتی

دو ماه‌نامه علمی- پژوهشی فیض، دوره هجدهم، شماره ۳، مرداد و شهریور ۱۳۹۳، صفحات ۲۸۶-۲۸۰

مقدمه

عفونت مجاری ادراری (UTI) یکی از شایع‌ترین عفونت‌های باکتریایی در انسان است که به‌طور عمده توسط *اشریشیاکلی* (*E.coli*) ایجاد می‌شود [۱]. *E.coli* عامل ۹۰-۸۰ درصد از UTI اکتسابی از جامعه و ۵۰-۳۰ درصد از UTI بیمارستانی است [۲]. UTI از علل عمده بستری شدن در بیمارستان با عوارض قابل توجه و هزینه‌های مراقبت بهداشتی است [۳].

تشخیص و درمان موثر UTI یک نگرانی بزرگ در زمینه‌ی مراقبت‌های بهداشتی است [۴]. در سراسر جهان حدود ۱۵۰ میلیون نفر با UTI تشخیص داده شده‌اند که هر ساله هزینه اقتصادی در این زمینه بیش از ۶ میلیارد دلار در جهان می‌باشد [۵]. شدت UTI به دو عامل ویرولانس باکتری و حساسیت میزبان بستگی دارد [۱]. *E.coli* ایجاد کننده‌ی عفونت مجاری ادراری (UPEC) فاکتور-های ویرولانس مختلفی از جمله آلفا همولیزین، فاکتور نکروز دهنده سایتوتوکسیک، چسبنده‌ها و سیستم‌های اکتساب آهن دارد؛ این فاکتورها در نهایت منجر به آسیب بافتی می‌شوند [۸-۶]. اتصال باکتری به سلول‌های اورو اپی‌تلیال یک مرحله ضروری برای شروع و گسترش UTI است. این فرآیند به باکتری اجازه می‌دهد تا در مقابل عملکرد شستشوی ادرار و تخلیه مثانه و فعال شدن مسیرهای انتقال پیام در میزبان مقاومت کند. سویه‌های UPEC قادر هستند تا انواع متفاوتی از چسبنده‌های لازم برای تشخیص و اتصال به رسپتورهای مجاری ادراری را تولید کنند؛ از جمله فیمبریه تیپ ۱ که توسط ژن *fim* کد می‌شود، P فیمبریه که توسط ژن‌های *pap* (phylonephritis-associated pili) کد می‌شود، S فیمبریه که توسط ژن‌های *sfa* کد می‌شود و چسبنده‌ی Afa که توسط ژن‌های *afa* کد می‌شود [۱۱-۹]. تولید توکسین‌ها

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

[۲] استادیار، گروه میکروب شناسی و ایمنی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

[۲] دانشیار، گروه میکروب شناسی و ایمنی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

[۳] مربی، مرکز تحقیقات تروما، بیمارستان شهید بهشتی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

*** نشانی نویسنده مسئول:**

کاشان، کیلومتر ۵ بلوار قطب راوندی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، دانشکده پزشکی، گروه میکروب شناسی و ایمنی شناسی

تلفن: ۰۹۱۲ ۵۶۰۱۹۸۹ **دورنویس:** ۰۳۱ ۵۵۵۴۱۱۱۲

پست الکترونیک: ffiroozeh@ut.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۲/۹/۲۱ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۹۳/۳/۱۰

Archive

www.SID.ir

مانند همولیزین و سایتوتوکسیک نکروزیتینگ فاکتور ۱ (CNF1) باعث آسیب بافتی می‌شود که انتشار باکتری و ترشح مواد غذایی میزبان را تسهیل می‌کند و ممکن است هم‌چنین باعث تغییر مسیر-های انتقال پیام در میزبان شود [۱۲]. از دیگر خصوصیات UPEC برای ایجاد UTI سیستم اکتساب آهن است که باکتری با کمک سیدروفورها آهن را از محیط جذب می‌کند. ژن *aer* سیدروفور آئروباکتین را کد می‌کند [۱۳]. هم‌چنین مقاومت به سرم خصو-صیتی است که باکتری به‌وسیله آن از فعالیت باکتریسیدال سرم رهایی می‌یابد. پروتئین TraT در غشای خارجی باعث مقاومت باکتری در مقابل سرم می‌شود که ژن *traT* این پروتئین را کد می-کند [۱۴]. علاوه بر این، شرایط میزبان مانند سن بالا و زمینه‌هایی مانند انسداد مجاری ادراری، دیابت شیرین و ضعف مثانه به کلونیزاسیون باکتری کمک کرده و نقش مهمی در UTI دارد [۱۶،۱۵]. تحقیقات نشان می‌دهد که شیوع فاکتورهای ویرولانس در سویه‌های UPEC با پاتوژنیسیته ادراری در ارتباط است؛ برای مثال در مطالعات مختلف دیده شده است که همولیزین در پیلونفریت، سیستیت و باکتریوری بدون علامت بیشتر دیده می‌شود [۱۷]. با توجه به عدم دسترسی به اطلاعات دقیق در منطقه بر آن شدیم که شیوع UPEC و برخی ژن‌های ویرولانس را در میان سویه‌های *E.coli* جدا شده از نمونه ادرار بیماران بستری در بیمارستان شهید بهشتی کاشان بررسی کنیم. امید است که یافته‌های این بررسی بتواند در برنامه‌ریزی غربالگری، پیش‌گیری و اقدامات درمانی UTI مورد استفاده قرار گرفته و باعث کاهش هزینه‌های بهداشتی‌درمانی گردد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری سویه‌های باکتری:

از ۳۷۰ نمونه‌ی ادرار جمع‌آوری شده از بیماران بستری در بیمارستان شهید بهشتی کاشان ۱۵۰ ایزوله‌ی *E.coli* بین آذرماه ۱۳۹۱ تا تیرماه ۱۳۹۲ جدا گردید. شناسایی ایزوله‌ها با استفاده از روش‌های معمول میکروب شناسی و تکنیک‌های بیوشیمیایی استاندارد انجام شد. ورود باکتری به ادرار با 10^5 CFU/mL نشان دهنده عفونت مجاری ادراری است. همه‌ی ایزوله‌ها در محیط TSB غنی شده با ۱۰ درصد گلیسرول در دمای ۷۰ – درجه سلسیوس ذخیره شدند.

جداسازی DNA:

استخراج DNA باکتری‌ها با روش جوشاندن انجام گرفت؛ به‌طور خلاصه یک کلونی خالص از کشت تازه‌ی باکتری در میکروتیوب حاوی محیط نوترینت براث (مرک، آلمان) تلقیح گردید و به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سلسیوس انکوبه شد. میکروتیوب در دور ۱۰۰۰۰ به‌مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. مایع رویی دور ریخته شد و ۳۰۰ میکرولیتر آب مقطر استریل به آن اضافه شد و به‌خوبی مخلوط گردید. میکروتیوب در دور ۱۴۰۰۰ به‌مدت ۱ دقیقه سانتریفیوژ شد. مایع رویی دور ریخته شد و ۲۰۰ میکرولیتر آب مقطر استریل به آن اضافه شد و مخلوط گردید. میکروتیوب به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس و در مرحله بعد به‌مدت ۱ دقیقه در دمای ۲۰- درجه سلسیوس قرار داده شد و سپس در دور ۱۴۰۰۰ به‌مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. مایع رویی حاوی DNA است که در میکروتیوب دیگر ریخته شده و به‌عنوان DNA الگو مورد استفاده قرار می‌گیرد. DNA استخراج شده در آب مقطر دیونیزه و در فریزر ۲۰- درجه سلسیوس ذخیره گردید.

انجام تست مولکولی PCR برای تعیین ژن‌های ویرولانس:

از روش PCR برای شناسایی حضور ژن‌های ویرولانس استفاده شد. پرایمرهای مورد استفاده در جدول شماره‌ی ۱ نشان داده شده است. آزمون PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر انجام پذیرفت که مراحل آن به‌ترتیب عبارت بودند از: ۱۴ میکرولیتر آب مقطر، ۵ میکرولیتر DNA استخراج شده ، ۰/۲۵ میکرولیتر آنزیم Taq DNA Polymerase، ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR، ۰/۷۵ میکرولیتر MgCl2 ، ۰/۵ میکرولیتر dNTP، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر (سیناژن، ایران). چرخه‌های دمایی PCR به‌ترتیب عبارت بودند از: ۱ سیکل ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای ۶۰ ثانیه، ۲۵ سیکل شامل: ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای ۶۰ ثانیه، ۶۳ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه، ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای ۹۰ ثانیه و سیکل نهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰۰ ثانیه بودند. شناسایی محصولات PCR با الکتروفورز روی ژل آگاروز ۱/۵ درصد و سپس رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید، در بافر TBE زیر نور UV انجام گرفت.

آنالیز آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام شد. مقایسه آماری بین گروه‌ها با استفاده از آزمون‌های مجذور کای و دقیق فیشر انجام گرفت.

Archive of SID

www.SID.ir

نتایج

در این مطالعه از ۳۷۰ بیمار بستری مشکوک به UTI در مدت زمان ۸ ماه نمونه‌گیری انجام شد. پس از انجام بررسی‌های میکروب شناسی بر اساس منابع معتبر ۱۵۰ ایزوله *E.coli* جدا شد؛ به‌عبارت دیگر، شیوع UTI ایجاد شده توسط *E.coli* حدود ۴۰/۵ درصد برآورد گردید. از این تعداد، افراد دارای عفونت ادراری ناشی از *E.coli*، ۱۱۶ نفر زن (۷۷/۳ درصد) و ۳۴ نفر مرد (۲۲/۷ درصد) بودند. محدوده سنی بیماران از ۱ تا ۹۵ سال متغیر بود (میانگین ۲۶/۲۴۵±۴۹/۵۳). ۵۶ نفر (۳۷/۳ درصد) از بیماران در محدوده سنی زیر ۴۰ سال بودند، در حالی‌که ۹۴ نفر (۶۲/۷ درصد) در محدوده سنی ۴۰ سال و بالاتر بودند. هم‌چنین، ۷۲ نفر (۴۸ درصد) دارای پیلونفریت و ۷۸ نفر (۵۲ درصد) مبتلا به سیستیت بودند. به‌طور کلی ژن‌های ویرولانس هدف در ۱۳۰ ایزوله (۸۶/۷ درصد) شناسایی شدند. در این بررسی ژن‌های ویرولانس در ۱۹ الگوی مشخص شناسایی شدند (جدول شماره ۲).

جدول شماره ۱- ژن‌های مورد بررسی، پرایمرهای مورد مطالعه و توالی آنها و اندازه ژن‌ها

نام ژن	نام پرایمر	نام پرایمر	طول قطعه	منبع
pap EF	gcaacagcaacgctggttgcatcat agagagagccactcttatacggaca	Pap EF f Pap EF r	336bp	۱۰
sfa/foc DE	ctccggagaactgggtgcatcttac cggaggagtaattacaaacctggca	Sfa 1 Sfa 2	410bp	۱۰
afa/dra BC	ggcagagggccggcaacaggc cccgtaacgcgccagcatctc	Afa f Afa r	559bp	۱۰
hly A	aacaaggataagcactgttctggct accatataagcggtcattcccgtca	hly f hly r	1177bp	۱۰
cnf1	aagatggagtttcctatgcaggag cattcagagtcctgccctcattatt	cnf1 cnf2	498bp	۱۰
traT	ggtgtggtgcgatgagcacag cacggttcagccatccctgag	TraT f TraT r	290bp	۱۰
PAI	ggacatcctgttacagcgcgca tcgccaccaatcacagccgaac	RPAi f RPAi r	930bp	۱۰
aer	taccggattgtcatatgcagaccgt aatatcttcctccagtccggagaag	aer1 aer2	602bp	۱۳

جدول شماره ۲- الگوی ویرولانس شناسایی شده میان سویه‌های *شریشیاکلی* یوروپاتوژنیک جدا شده از بیماران دارای UTI بستری شده در بیمارستان شهید بهشتی کاشان طی سال‌های ۱۳۹۲-۱۳۹۱

الگو	ژن‌های ویرولانس								تعداد
	traT	*Pai*	*Aer*	*Pap*	*hly*	*cnf-1*	*afa*	*sfa*	
EC1	-	-	-	-	-	-	-	-	۲۰
EC2	+	-	-	-	-	-	-	-	۲۲
EC3	-	+	-	-	-	-	-	-	۶
EC4	-	-	+	-	-	-	-	-	۵
EC5	-	-	-	+	-	-	-	-	۱
EC6	+	+	-	-	-	-	-	-	۳۷
EC7	+	-	+	-	-	-	-	-	۶
EC8	+	-	-	+	-	-	-	-	۱
EC9	+	-	-	-	+	-	-	-	۱
EC10	-	+	+	-	-	-	-	-	۳
EC11	-	+	-	+	-	-	-	-	۳
EC12	+	+	+	-	-	-	-	-	۲۲
EC13	+	+	-	+	-	-	-	-	۱۰
EC14	+	+	-	-	+	-	-	-	۲
EC15	+	-	+	+	-	-	-	-	۳
EC16	-	+	+	+	-	-	-	-	۳
EC17	+	+	+	+	-	-	-	-	۳
EC18	+	+	+	-	+	-	-	-	۱
EC19	+	+	-	+	+	-	-	-	۱

Archive of SID

www.SID.ir

در میان این ۸ ژن ویرولانس، ژن *traT* از همه شایع‌تر بود و در ۱۱۱ سویه (۷۴ درصد) UPEC یافت شد. ژن *Pai* در ۹۲ سویه (۶۱/۴ درصد)، ژن *pap* در ۲۵ سویه (۱۶/۷ درصد)، ژن *aer* در ۴۶ سویه (۳۰/۷ درصد)، ژن *hly* در ۶ سویه (۴/۵ درصد) شناسایی شد. ژن‌های ویرولانس *afa, sfa, cnf* در هیچ سویه‌ای شناسایی نشدند. از میان ۳۴ مرد، ۲۶ نفر (۷۶/۵ درصد) و از ۱۱۶ زن، ۶۶ نفر (۵۶/۹ درصد) از نظر حضور ژن *pai* مثبت بودند که این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار بود (P=۰/۰۳۹)؛ به‌عبارت دیگر، مردها ۲/۴۶ برابر زنان *pai* مثبت بودند. از ۳۴ مرد ۳۰ نفر (۸۸/۲ درصد) و از ۱۱۶ زن، ۸۱ نفر (۶۹/۸ درصد) از نظر حضور ژن *traT* مثبت بودند (P=۰/۰۳۱)؛ به‌عبارت دیگر مردها ۳/۲۴ برابر زنان *traT* مثبت بودند. از ۷۲ نفر مبتلا به پیلونفریت ۲۰ نفر (۲۷/۸ درصد) و از ۷۸ نفر دارای سیستیت ۵ نفر (۶/۴ درصد) از نظر حضور ژن *pap* مثبت بودند (P=۰/۰۰۱)؛ به‌عبارت دیگر افراد دارای پیلونفریت ۵/۶ برابر افراد دارای سیستیت *pap* مثبت بودند. از ۷۲ نفر دارای پیلونفریت، ۵۹ نفر (۸۱/۹ درصد) و از ۷۸ نفر دارای سیستیت، ۳۳ نفر (۴۲/۳ درصد) از نظر حضور ژن *pai* مثبت بودند (P=۰/۰۰۱)؛ به‌عبارت دیگر افراد دارای پیلونفریت ۶/۱۸ برابر افراد دارای سیستیت *pai* مثبت بودند.

بحث

E.coli عامل بیش از ۸۰ درصد موارد UTI در تمام رده‌های سنی است [۱۹،۱۸]. درمان نامناسب UTI با گذشت زمان می‌تواند باعث نارسایی کلیوی شود [۲۰]. فاکتورهای ویرولانس مختلفی به پاتوژنیسیته‌ی UPEC نسبت داده می‌شود [۲۱]. آگاهی بهتر از خصوصیات ویرولانس ارگانیسم پاتوژن به پزشک این امکان را می‌دهد که روند پیشرفت عفونت در میزبان و درمان مناسب آن را پیش‌بینی کند [۲۰]. شیوع باکتری *E.coli* در نمونه ادرار افراد بستری در مطالعه‌ی ما ۴۰/۵ درصد بود. مطالعه بهروزی و همکارانش نیز نشان می‌دهد که باکتری *E.coli* پاتوژن غالب جدا شده از نمونه‌های ادرار است [۲۲]. شیوع UTI در نقاط مختلف دنیا متفاوت است [۲۵-۲۳]، هرچند مطالعه‌ی Akoacher و همکارانش در سال ۲۰۱۲ و در کامرون نشان داد که بین شیوع UTI و محل مطالعه ارتباطی دیده نمی‌شود [۵]. به‌طور کلی شیوع UTI در مطالعه ما در زنان شایع‌تر از مردان است که این می‌تواند به‌خاطر تفاوت در آناتومی مجاری ادراری آنها باشد که این نتیجه در مطالعات دیگر نیز دیده شده است [۲۷،۲۶]. میانگین محدوده سنی در جمعیت مورد مطالعه ما بالا است؛ دلیل این امر می‌تواند بیشتر بودن ریسک فاکتورهای UTI در افراد مسن باشد؛ از جمله ضعف سیستم ایمنی، انسداد مجاری ادراری، دیابت شیرین، بزرگی پروستات و تخلیه‌ی ضعیف مثانه [۲۶،۲۷]. از طرف دیگر جمعیت مورد مطالعه ما افراد بستری در بیمارستان هستند که وجود بیماری‌های زمینه‌ای، استفاده از کاتتر و عدم رعایت موازین بهداشتی توسط بیمار و کادر درمانی هم‌چنین می‌تواند یک ریسک فاکتور مهم در ایجاد UTI باشد. در این مطالعه میان سن و شیوع ژن‌های ویرولانس ارتباط معنی‌داری دیده نشد. از نظر ارتباط بین جنس و شیوع ژن‌های ویرولانس فقط ژن‌های *traT* و *pai* با جنس ارتباط معنی‌داری را نشان دادند و در مردان بیش از زنان دیده شدند. پاتوژن‌های ادراری مهاجم معمولا مقاومت بالایی به فعالیت‌های کشنده سرم دارند و در مقابل باکتری‌های غیر بیماری‌زا و بدون خاصیت تهاجمی حساس به سرم هستند. نقش پروتئین TraT در مقاومت باکتری نسبت به سرم بسیار اختصاصی است [۲۶]. نتایج ما نشان می‌دهد که ۷۴ درصد ایزوله‌های UPEC دارای ژن *traT* هستند. Kudinha و همکارانش در استرالیا در سال ۲۰۱۲ با روش multiplex PCR – Based Reverse line Blot در ۷۷ درصد نمونه‌های افراد مبتلا به سیستیت ژن *traT* را شناسایی کردند [۱۹]. هم‌چنین، مطالعه Oliviera و همکارانش در برزیل در سال ۲۰۱۱ نشان داد ۷۶ درصد ایزوله‌های *E.coli* جدا شده از نمونه‌های ادراری دارای ژن *traT* می‌باشند [۱۳]. مطالعه‌ای روی نمونه خون بیماران دچار اوروسپسیس در سال ۲۰۰۰ در آمریکا نشان داد که *traT* یک ژن شایع در بیماران دارای نقص ایمنی و افراد با سیستم ایمنی کامل است [۱۰]. نتایج مطالعه ما با نتایج به‌دست آمده از این مطالعات هم‌خوانی دارد. این نتایج نشان می‌دهد که *traT* یک فاکتور مهم و شایع در سویه‌های UPEC است و به‌دلیل عملکرد اختصاصی‌اش می‌تواند به‌عنوان هدف در مداخلات درمانی مدنظر قرار بگیرد. شیوع مارکر PAI در ایزوله‌های ما بالا بوده است. فراوانی PAI در نتایج ما ۶۱/۳ درصد برآورد شده است که این فراوانی در افراد دارای پیلونفریت بیش از سیستیت دیده شده است. در یک مطالعه‌ی انجام شده در آمریکا در سال ۲۰۰۰ که روی بیماران مبتلا به اوروسپسیس انجام شد، شیوع مارکر فوق ۷۱ درصد بوده است [۱۰]. مطالعه نویدنیا و همکارانش در ایران در سال ۲۰۱۲ روی نمونه ادرار کودکان مبتلا به UTI شیوع مارکر PAI را ۸۹ درصد نشان داد [۲۸]. از آنجا که بیشتر فاکتورهای ویرولانس خارج روده‌ای روی عناصر متحرک از جمله PAI کلاستر می‌شوند و هم‌چنین مارکر PAI موجب انتقال افقی ژن‌های ویرولانس می‌گردد، شیوع ۶۱/۳ درصدی مارکر PAI می‌تواند نشان دهنده خطر گسترش وسیع سویه‌های UPEC با پاتوژنیسیته‌ی بالا در میان بیماران بستری در بیمارستان باشد

Archive of SID

www.SID.ir

[۲۸،۱۰]. آئروباکتین (*aer*) نوعی سیستم اکتساب آهن است که باعث فراهم کردن آهن برای باکتری در محیط‌های فقیر از نظر آهن هم‌چون مجاری ادراری می‌شود؛ به‌همین خاطر نوعی مکانیسم دفاعی برای باکتری محسوب می‌شود [۲۹]. شیوع ژن *aer* در سویه‌های ما ۳۰/۷ درصد برآورد شده است. در مطالعه‌ای که در آمریکا در سال ۲۰۱۰ توسط Mercon و همکاران روی بیماران پیوند کلیوی انجام شد، شیوع ژن *aer* ۳۳ درصد گزارش شده است [۳۰]. در مطالعه انجام شده توسط Santo و همکاران در سال ۲۰۰۶ شیوع این ژن ۲۳ درصد گزارش شد [۲۰] که این نتایج مشابه نتایج به‌دست آمده از مطالعه‌ی ما است. توانایی UPEC برای ایجاد UTI با توانایی بیان چسبنده‌های سطحی که کلونیز-اسیون به سلول‌های اپی‌تلیال ادراری را تسهیل می‌کند، تشخیص داده می‌شود [۳۱]. نتایج تحقیقات نشان می‌دهد ژن *pap* عامل مهمی در ایجاد باکترمی در افراد دچار UTI است. هم‌چنین، ژن *pap* نقشی اساسی در پاتوفیزیولوژی پیلونفریت دارد [۳۲،۲۱]. در مطالعه حاضر ۱۶/۷ درصد از ایزوله‌های UPEC حضور ژن *pap* را نشان داده‌اند. شیوع ژن *pap* در افراد دارای پیلونفریت بیش از سیستیت دیده شد که این نتیجه مشابه نتایج دیگر مطالعات است [۳۲،۲۱]. در مطالعه‌ای که توسط Usein و همکارانش در سال ۲۰۰۱ در رومانی انجام شد، شیوع ژن *pap* در افراد بستری ۱۷ درصد مشاهده شد [۳۳]. Santo و همکارانش در سال ۲۰۰۶ در برزیل گزارش کرده‌اند که ۱۴ درصد از ایزوله‌های UPEC در میان افراد بستری دارای ژن *pap* هستند [۲۰]. از طرف دیگر فراوانی *pap* در سایر مطالعات از صفر تا ۷۷ درصد متفاوت بوده است [۳۴،۱۳،۱۶،۲۱]. این تنوع در شیوع ژن *pap* میان مطالعات مختلف می‌تواند به این خاطر باشد که سویه‌های UPEC انواع مختلفی از چسبنده‌ها را برای اتصال به سلول‌های اپی‌تلیال ادراری و شروع عفونت دارا می‌باشند. سویه‌های که فاقد چسبنده *pap* هستند، ممکن است از چسبنده‌های دیگر مانند Afa و Sfa برای اتصال استفاده کنند. ژن‌های *afa* و *sfa* در سویه‌های مورد مطالعه ما یافت نشدند. مطالعه Qin و همکارانش در سال ۲۰۱۲ روی سویه‌های *E.coli* نشان داد که هیچ‌کدام از ایزوله‌های جدا شده از موارد حاد سیستیت و یا پیلونفریت ژن *afa* را حمل نمی‌کنند [۲۹]. در مطالعه Koren و همکارانش در اسلواکی که روی سویه‌های *E.coli* ایجاد کننده‌ی پیلونفریت در بچه‌ها در سال ۲۰۱۳ انجام شده است، گزارش شد در ۲/۸ درصد سویه‌ها ژن afa شناسایی گردیده است [۳۵]. در مطالعه‌ی Santo و همکارانش در برزیل و Arisoy و همکارانش در ترکیه برخلاف مطالعه‌ی ما شیوع ژن *sfa* در نمونه ادرار افراد بستری به‌ترتیب ۵ و ۶ درصد گزارش شده است [۲۰،۳۶]. سویه‌های UPEC انواع مختلف توکسین‌ها مانند همولیزین و CNF1 را تولید می‌کنند تا محیط داخل بدن میزبان را برای ایجاد عفونت آماده کنند. معمولاً بیان ژن این دو توکسین در راستای یکدیگر است و نزدیک به‌هم هستند [۳۷]. فراوانی ژن *hly* در این مطالعه ۴ درصد گزارش شد که با مطالعه‌ی انجام شده توسط Oliviera و همکاران در برزیل که فراوانی این ژن را ۵ درصد گزارش کردند، هم‌خوانی دیده می‌شود [۱۳]. ژن *cnf-1* در سویه‌های مورد مطالعه‌ی ما یافت نشد که با مطالعه‌ی انجام شده توسط Tarchouna و همکاران در دانمارک (۳ درصد) و مطالعه انجام یافته توسط Usein و همکاران در سال ۲۰۰۱ که فراوانی ژن *cnf-1*، ۹ درصد گزارش شده است، هم-خوانی دیده نمی‌شود که می‌تواند تا حدودی به‌دلیل تفاوت جمعیت مورد مطالعه باشد [۳۳،۱۸].

نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر نشان داد که شیوع ژن‌های ویرولانس *pai*، *traT* و *aer* در میان سویه‌های *اشریشیاکلی* یوروپاتوژنیک جدا شده از بیماران بستری در بیمارستان در منطقه‌ی ما بالا می‌باشد. بنابراین، ژن‌های فوق می‌توانند به‌عنوان هدف در مداخلات درمانی مورد بررسی‌های بیشتری قرار گیرند.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از پایان‌نامه مقطع کارشناسی ارشد میکروب شناسی و طرح تحقیقاتی شماره ۹۱۹۱، مصوب معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کاشان می‌باشد. پژوهش-گران از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کاشان، سرکار خانم دکتر رضوان منیری مدیر محترم گروه میکروب شناسی و آقای محمد پوربابایی که در پیش‌برد این تحقیق یاری ارزنده و سودمند داشته‌اند، قدردانی به‌عمل می‌آورند.

References:

[1] Griebling TL. Urologic diseases in America project trends in resource use for urinary tract infections in women. ***J Urol*** 2005; 173(4): 1281–7.
[2] Ejrnaes K. Bacterial characteristic of importance for recurrent urinary tract infection caused by *Escherichia coli*. ***Dan Med Bull*** 2011; 58(4): 1-22.
[3] Bader MS, Haeboldt J, Brooks A. Managment of complicated urinary tract infection in the era of antimicrobial resistance. ***Post Grade Med*** 2010; 122(6): 7-15.
[4] Hickerson AD, Carson CC. The treatment of urinary tract infection and use of ciprofloxacin

Archive of SID
www.SID.ir

extended release. ***Expert opin Investig Drugs*** 2006; 15(5): 519-32.
[5] Akoachere JF, Yvonne S, Akum NH, Seraphine EN. Etiologic profile and antimicrobial susceptibility of community – acquired urinary tract infection in two cameronian towns. ***BMC Res Notes*** 2012; 5(1): 219.
[6] Dobrindt U. (Patho-)Genomics of *Escherichia coli*. ***Int J Med Microbiol*** 2005; 295(6-7): 357-71.
[7] Johnson JR, Russo TA. Molecular epidemiology of extraintestinal pathogenic (uropathogenic) *Escherichia coli*. ***Int J Med Microbiol*** 2005; 295(6-7): 383–404.
[8] Slavchev G, Pisareva E, Markova N.Virulence of uropathogenic *Escherichia coli*. ***J Cult Collect*** 2009; 6: 3-9.
[9] Antao EM, Wieler LH, Ewers C. Adhesive threads of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*. ***Gut Pathog*** 2009; 1(1): 22.
[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] Kaper JB, Nataro JP, Mobley HL. Pathogenic *Escherichia coli*. ***Nat Rev Microbiol*** 2004; 2(2): 123-40.
[12] Wiles TJ, Dhakal BK, Eto DS, Mulvey MA. Inactivation of host Akt/protein kinase B signaling by bacterial pore-forming toxins. ***Mol Biol Cell*** 2008; 19(4): 1427-38.
[13] Oliveira FA, Paludo KS, Arend LN, Farah SM, Pedrosa SO, Souza EM, et al. Virulence characteristics and antimicrobial susceptibility of uropathogenic *Escherichia coli* strains. ***Genet Mol Res*** 2011; 10(4): 4114-25.
[14] Mellata M, Dho-Moulin M, Dozois CM, Curtiss R, Brown PK, Arné P, et al. Role of virulence factors in resistance of avian pathogenic *Escherichia coli* to serum and in pathogenicity. ***Infect Immun*** 2003; 71(1): 536-40.
[15] Gales AC, Sader HS, Jones RN. Urinary tract infection trends in Latin American hospitals: report from the sentry antimicrobial surveillance program (1997–2000). ***Diagn Microbiol Infect Dis*** 2002; 44(3): 289–99.
[16] Ulleryd P. Febrile urinary tract infection in men. ***Int J Antimicrob Agents*** 2003 ; 22 Suppl 2: 89–93.
[17] Johnson JR. Virulence factors in *Escherichia coli* urinary tract infection. ***Clin Microbiol Rev*** 1991; 4(1): 80-128.
[18] Karimian A, Momtaz H, Madani M. Detection of uropathogenic *Escherichia coli* virulence factors in patients with urinary tract infections in Iran. ***Afr J Microbiol Res*** 2012; 6(39): 6811-6.
[19] Kudinha T, Kong F, Johnson JR, Andrew SD, Anderson P, Gilbert GL. Multiplex PCR-based reverse line blot assay for simultaneous detection of 22 virulence genes in uropathogenic Escherichia coli. ***Appl Environ Microbiol*** 2012; 78(4): 1198–202.
[20] Santo E, Macedo C, Marin JM. Virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli* from a university hospital in Ribeirao Preto, Sao Paulo, Brazil. ***Rev Inst Med Trop Sao Paulo*** 2006; 48(4): 185-8.
[21] Tarchouna M, Ferjani A, Ben-Selma W, Boukadida J. Distribution of uropathogenic virulence genes in *Escherichia coli* isolated from patients with urinary tract infection. ***Int J Infect Dis*** 2013; 17(6): 450-3.
[22] Behrooozi A, Rahbar M, Yousefi J. A survey on epidemiology of urinary tract infections and resistance pattern of uropathogenes in an Iranian 1000-bed tertiary care hospital. ***Afr J Microbiol Res*** 2010; 4(9): 735-56.
[23] Assob NJC, Weledji EP, Njunda AL, Bolimo F, Asongalem EA, Kamga FHL, et al. Bacteriological and mycological characterization of some pathogens of the urogenital tract in Buea subdivision (South West Region Cameroon). ***Health Sci Dis*** 2009; 10(3): 10–6.
[24] Bours PH, Polak R, Hoepelman AIM, Delgado E, Jarquin A, Matute AJ. Increasing resistance in community-acquired urinary tract infections in Latin America, five years after the implementation of national therapeutic guidelines. ***Int J Infect Dis*** 2010; 14(9): 770–4.
[25] Akram M, Shahid M, Khan AU. Etiology and antibiotic resistance patterns of community acquired urinary tract infections in J N M C Hospital Aligarh, India. ***Ann Clin Microbiol Antimicrob*** 2007; 6(1): 4-6.
[26] Jadhav S, Hussain A, Devi S, Kumar A, Parveen S, Gandham N, et al. Virulence characteristics and genetic affinities of multiple drug resistant uropathogenic *Escherichia coli* from a semi urban locality in India. ***PLoS One*** 2011; 6(3): e18063.
[27] Brumbaugh AR, Mobley HL. Preventing urinary tract infection: progress toward an effective *Escherichia coli* vaccine. ***Expert Rev Vaccines*** 2012; 11(6): 663–76.
[28] Navidinia M, Najar Peerayeh SH, Fallah F, Bakhshi B, Adabian S, Alimehr SH, et al. Distrubtion of the pathogenicity islands markers (PAIs) in uropathogenic *E.coli* isolated from children in Mofid children Hospital. ***Arch Pediatr Infect Dis*** 2013; 1(2): 75-9.
[29] Qin X, Hu F, Wu S, Ye X, Zhu D, Zhang Y, et al. Comparison of adhesin genes and antimicrobial susceptibilities between uropathogenic and intestinal commensal *Escherichia coli* strains. ***PLoS One*** 2013; 8(4): e61169.
[30] Mercon M, Regua-Mangia AH, Teixeira LM, Irino K, Tuboi SH, Goncalves RT, et al. Urinary tract infections in renal transplant recipients: virulence traits of uropathogenic *Escherichia coli*. ***Transplantat Proc*** 2010; 42: 483–5.

Archive of SID

www.SID.ir

[31] Nam EH, Ko S, Chae JS, Hwang CY. Characterization and zoonotic potential of uropathogenic *Escherichia coli* isolated from dogs. ***J Microbiol Biotechnol*** 2013; 23(3): 422–9.
[32] Bahalo S, Tajbakhsh E, Tajbakhsh S, Momeni M, Tajbakhsh F. Detection of some virulence factors of *Escherichia coli* isolated from urinary tract infection isolated of children in Shahrekord Iran by multiplex PCR. ***Middle-East J Sci Res*** 2013; 14 (1): 29-32.
[33] Usein CR, Damian M, Tatu-Chitoiu D, Capusa C, Fagaras R, Tudorache D, et al. Prevalence of virulence genes in *Escherichia coli* strains isolated from Romanian adult urinary tract infection cases. ***JCell Mol Med*** 200; 5(3): 303-10.
[34] Farshad SH, Ranjbar R, Japoni A, Hosseini M, Anvarinejad M, Mohammadzadegan R. Microbial susceptibility, virulence factors, and plasmid profiles of uropathogenic *Escherichia Coli* strains isolated from children in Jahrom, Iran. ***Arch Iran Med*** 2012; 15(5): 312–6.
[35] Koren J, Curova K, Kmetova M, Siegfried L, Janko V, Kovacs L, Hupkova H, et al. Involvement of virulence properties and antibiotic resistance in *Escherichia coli* strains causing pyelonephritis in children. ***Folia Microbiol (Praha)*** 2013; 58(1): 53-9.
[36] Arisoy M, Aysev D, Ekim M, Ozel D, Köse SK, Ozsoy ED, et al. Detection of virulence factors of *Escherichia coli* from children by multiplex polymerase chain reaction. ***Int J Clin Pract*** 2006; 60(2): 170-3.
[37] Justice SS, Hunstad DA. UPEC hemolysin: more than just for making holes. ***Cell Host Microbe*** 2012; 11(1): 4–5.

Archive of SID

www.SID.ir