

## شناسایی عامل ویروالانسی فیمبریای P در سویه های یوروپاتوژنیک اشریشیاکلی جدا شده

### از بیمارستان های شهر کرد به روش PCR

امیر ارسلان سراجیان<sup>۱</sup>، بهنام زمان زاد<sup>۲</sup>، پرویز افروغ<sup>۳</sup>، محمد مهدی سلطان دلال<sup>۴</sup>

۱. عضو هیئت علمی، جهاد دانشگاهی خوزستان، گروه پژوهشی آموزش سلامت، اهواز، ایران

۲. دانشیار میکروب شناسی، گروه میکروب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی چهارمحال بختیاری، شهرکرد، ایران

۳. کارشناسی ارشد میکروب شناسی، گروه پاتوبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران-دانشکده بهداشت، تهران، ایران

۴. استاد میکروب شناسی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران (مؤلف مسئول) تلفن: ۸۸۹۹۲۶۷۱-۰۲۱

soltanirad34@yahoo.com

### چکیده

**زمینه و اهداف:** عفونت مجاری ادراری یکی از شایعترین بیماری های با منشأ باکتریال در انسان می باشد. شایعترین عامل ایتیلوژیک، باکتری اشریشیاکلی بوده و مهمترین عامل ویروالانسی در سویه های یوروپاتوژنیک اشریشیاکلی فیمبریای p می باشد. ساخت فیمبریای p توسط اپرون پاپ کد می گردد. اهمیت فیمبریای p در بروز عفونت مجاری ادراری بخصوص در مجاری فوقانی است. هدف از این مطالعه بررسی شیوع فیمبریای p در سویه های یوروپاتوژنیک اشریشیاکلی ایزوله شده می باشد.

**روش بررسی:** تعداد ۱۸۲ ایزوله اشریشیاکلی بررسی گردید. ابتدا توسط روش جوشاندن (boiling) DNA باکتری استخراج و سپس با استفاده از روش PCR، سویه های باکتری از نظر وجود ژن papC یا به عبارتی اپرون پاپ مورد آزمایش قرار گرفتند. پس از انجام مراحل PCR، محصولات PCR با استفاده از ژل پلی آکریل آمید، الکتروفورز و رنگ آمیزی گردیدند. **یافته ها:** بر اساس نتایج بدست آمده از آزمایش PCR، از بین ۱۸۲ سویه جدا شده، ۶۶ نمونه (۳۶/۳٪) واجد ژن papC بودند. **نتیجه گیری:** نتایج بدست آمده نشان داد که شیوع اپرون پاپ در سویه های ایزوله شده در دامنه شیوع جهانی قرار داشته و در موارد پیلونفریت این شیوع به مراتب بیشتر از سیستمیت و باکتریوری بدون علامت می باشد.

**واژه های کلیدی:** عفونت مجاری ادراری، اپرون پاپ، ژن papC، فیمبریای p

وصول مقاله: ۹۰/۵/۲۹ اصلاحیه نهایی: ۹۰/۱۱/۲۳ پذیرش: ۹۰/۱۰/۱۱

### مقدمه

عفونت مجاری ادراری باکتریال اکتسابی از جامعه است (۷ و ۶ و ۴ و ۱). از میان سروتایپ های متعدد اشریشیاکلی تنها تعداد کمی از سویه ها توانایی ایجاد عفونت مجاری ادراری را دارا می باشند که بنام سویه های یوروپاتوژنیک (UPEC=Uropathogenic *E.coli*) نامیده می شوند. فیمبریاها مسئول اتصال باکتری به سطح سلول های اپی تلیال مجاری ادراری و کلیه ها بوده و مهمترین فیمبریا در سویه های یوروپاتوژنیک اشریشیاکلی، فیمبریای p یا PAP (Pyelonephritis Associated Pili) می باشد (۸ و ۹).

عفونت مجاری ادراری (Urinary Tract infection=UTI) از نظر شیوع دومین نوع عفونت باکتریال پس از عفونت مجاری تنفسی می باشد که میزان بروز آن در جنس مؤنث بسیار بیشتر از جنس مذکر است (۳-۱). شایعترین اشکال بالینی عفونت مجاری ادراری شامل پیلونفریت، سیستمیت و باکتریوری بدون علامت می باشند (۵ و ۴). باکتری اشریشیاکلی (*Escherichia coli*) شایعترین علت ایجاد عفونت مجاری ادراری در افراد با دستگاه ادراری سالم می باشد و مسئول ۹۰٪ از کل موارد

تسهیل کند. در موارد درمان غیر مؤثر یک عفونت مجاری ادراری ایجاد شده توسط اشریشیاکلی، آزمایش حضور فیمبریای p می‌تواند به منظور ارائه تغییرات درمانی مناسب انجام گیرد (۹ و ۱۳).

هدف از این مطالعه شناسایی عامل ویروالانس فیمبریای p در سویه های یورپاتوزنیک اشریشیاکلی جدا شده از بیمارستان های شهرکرد به روش PCR و ارتباط آن با فرم های کلینیکی مختلف عفونت مجاری ادراری و همچنین سن و جنس بیماران می باشد.

### روش بررسی

این تحقیق مطالعه‌ای مقطعی است که به روش توصیفی تحلیلی طراحی و اجرا گردید.

در این تحقیق تعداد ۱۸۲ سویه باکتری اشریشیا کلی که شمارش کلنی بیش از  $10^5$  در هر میلی لیتر ادرار داشتند از آزمایشگاه بیمارستان های دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد جمع آوری و به آزمایشگاه گروه میکرب شناسی دانشکده پزشکی منتقل گردیدند. ضمناً جهت گردآوری داده های مورد نیاز پرسشنامه‌ای در اختیار بیماران قرار گرفته و اطلاعاتی از قبیل جنس، سن، علایم بالینی بیماری و سابقه ابتلا قبلی به عفونت مجاری ادراری جمع آوری گردید.

پس از جمع آوری کامل نمونه‌ها، ابتدا با استفاده از تست های بیوشیمیایی استاندارد شامل اندل- متیل رد- سیمون سترات و ووجس پروسکوئر باکتری های جدا شده را از جهت اشریشیا کلی بودن مورد تأیید قرار گرفتند. باکتری اشریشیا کلی به خوبی بر روی محیط های کشت آزمایشگاهی رشد کرده و اغلب سویه ها بر روی محیط کشت ائوزین-متیلن بلو بدلیل تخمیرشدید قند لاکتوز ایجاد جلای فلزی میکنند. سپس کلیه نمونه ها بر روی محیط مایع لوریابرتانی کشت داده شدند. در ادامه محیط های کشت را به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه قرار داده و سپس ۱/۵ سی سی از محیط به میکروتیوب های دربدار منتقل شده و پس از

فیمبریای p کلونیزاسیون باکتری را تسهیل کرده و از حذف باکتری توسط جریان فیلتراسیون ادراری جلوگیری کرده و قدرت تکثیر و تهاجم به بافت کلیه را افزایش می دهد. مطالعات تجربی در مدل های حیوانی نشان داده که فیمبریای p کلونیزاسیون باکتری را در مراحل اولیه عفونت سرعت بخشیده و با تکثیر در اپیتلیوم مجاری ادراری منجر به ایسکمی و ارتشاح سلول های ایمنی میگردد (۹ و ۱۰).

بیان فیمبریای p توسط اپرون پاپ صورت می گیرد که دارای ۱۱ ژن مختلف است. از بین ژن های مذکور ژن papC یک ژن کاملاً حفاظت شده بوده و برای بررسی حضور اپرون پاپ مورد استفاده قرار میگیرد (۶ و ۱۰). اکثر سویه های یورپاتوزنیک اشریشیاکلی جدا شده از موارد پیلونفریت دارای فیمبریای p بوده در صورتی که سویه های جدا شده از عفونت های مثانه موارد کمتری از فیمبریای p را دارا می باشند (۸ و ۱۱ و ۱۲).

عفونت مجاری ادراری ناشی از اشریشیاکلی هنوز به عنوان یک مشکل بهداشتی عمومی در تمام کشورهای دنیا باقی مانده و منجر به مرگ و میر و هزینه های قابل ملاحظه درمانی می گردد. ابتلای مکرر به عفونت و مقاومت جدی باکتری در برابر شیمی درمانی مؤثر، مطالعه عوامل ویروالانس سویه های جدا شده اشریشیاکلی از عفونت مجاری ادراری را ارزشمند می سازد. نتایج این مطالعات ممکن است در اصلاح مدیریت و کنترل عفونت مجاری ادراری مشارکت داشته باشند. شناخت بهتر ویژگی های ویروالانس باکتری عامل عفونت به پزشکان اجازه می دهد که نقطه تکامل پیشرفت عفونت را پیش بینی کنند (۱۲ و ۱۳).

بواسطه ی شناخت عوامل ویروالانس، یک پزشک بالینی قادر است مرحله بیماری و پیامد عفونت مجاری ادراری را حدس زده و درمان مناسب را تجویز کند. شناسایی حضور فیمبریای p در باکتری اشریشیاکلی می تواند در موارد مورد انتظار عفونت مجاری ادراری حتی در حضور مقادیر باکتریوری پایین تصمیم گیری در مورد درمان مناسب را

سانتریفوژ رسوب حاوی باکتری در ۲۰۰ سی سی آب مقطر استریل به شکل سوسپانسیون در آمد. پس از بستن درب میکروتیوب ها آنها را به مدت ۱۵ دقیقه در بن ماری ۱۰۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد. بدنبال خارج ساختن میکروتیو ب ها از بن ماری آنها را به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۸۰۰۰ سانتریفوژ نموده و مایع رویی را که حاوی دی ان آ باکتری بود جدا کرده و در منهای ۲۰ درجه سانتیگراد فریز نموده شد در ادامه بر روی نمونه های DNA تهیه شده جهت شناسایی اپرون پاپ آزمایش PCR انجام گرفت. در این مرحله جهت شناسایی اپرون پاپ از ژن papC با شماره دسترسی به بانک ژنی X61239 استفاده گردید که یک ژن کاملاً حفاظت شده بوده و توالی پرایمرهای مورد استفاده از منابع موجود تهیه گردید (۱۱ و ۶) (جدول ۱).

در آزمایش PCR مواد مختلف مورد استفاده بر طبق جدول شماره ۲ بکاررفته و مراحل مختلف PCR به همراه سیکل های مربوطه در جدول شماره ۳ ارائه گردیده است. جهت کنترل مثبت از سویه FVL2 و کنترل منفی از سویه HB101 استفاده گردید (جدول ۳ و ۲).

سپس محصول PCR با استفاده از ژل پلی اکریل امید درکنار نمونه های کنترل مثبت و منفی شناسایی و اطلاعات مربوط به نمونه ها جمع آوری گردید. ضمناً اطلاعات مربوط به بیماران از طریق تکمیل پرسشنامه تهیه شده و یافته ها و نتایج حاصل نیز با استفاده از نرم افزار spss و آزمون مجذور کای (chi-square) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

جدول ۱: توالی پرایمرهای مورد استفاده در روش PCR

| Gene  | Amplicon    | Primer sequence                                            | Refrence                |
|-------|-------------|------------------------------------------------------------|-------------------------|
| pap C | ۳۲۸ جفت باز | F GACGGCTGTACTGCAGGGTGTGGCG<br>R ATATCCTTTCTGCAGGGATGCAATA | LE Bouguenec<br>Chantal |

جدول ۲: مواد مورد نیاز برای یک واکنش و تهیه Master Mix برای ۹ نمونه

| Component                   | Volume for one Reaction | Master mix  | Final concentration |
|-----------------------------|-------------------------|-------------|---------------------|
| Mgcl <sub>2</sub> (10 mmol) | ۴ $\mu$ l               | ۴۰ $\mu$ l  | ۱.۶mmol             |
| dNTPs mix                   | ۱ $\mu$ l               | ۱۰ $\mu$ l  | ۲۰۰ $\mu$ m         |
| PCR Buffer(10x)             | ۲.۵ $\mu$ l             | ۲۵ $\mu$ l  | ۱x                  |
| Primer F                    | ۱ $\mu$ l               | ۱۰ $\mu$ l  | ۰.۵-۰.۱ $\mu$ m     |
| Primer R                    | ۱ $\mu$ l               | ۱۰ $\mu$ l  | ۰.۵-۰.۱ $\mu$ m     |
| Taq DNA Polymerase          | ۰.۲ $\mu$ l             | ۲ $\mu$ l   | .....               |
| dd H <sub>2</sub> O         | ۱۱.۵ $\mu$ l            | ۱۱۵ $\mu$ l | -----               |

جدول ۳: برنامه PCR جهت تکثیر ژن papC

| Step         | Temperature | Time   |
|--------------|-------------|--------|
| Start        | ۹۴° C       | ۵ min  |
| Denaturation | ۹۴° C       | ۳۰ sec |
| Annealing    | ۶۵° C       | ۳۰ sec |
| Extension    | ۷۲° C       | ۱ min  |
| End          | ۷۲° C       | ۶ min  |

DNA مشاهده نگردید. همراه با نمونه‌های الکتروفرز شده از کنترل‌های منفی و مثبت و همچنین DNA Ladder نیز استفاده گردید. در کنترل منفی هیچگونه بانندی از DNA مشاهده نگردید و در کنترل مثبت بانندی از DNA که در ناحیه ۳۲۸ bp قرار داشت مشاهده گردید (شکل ۱).

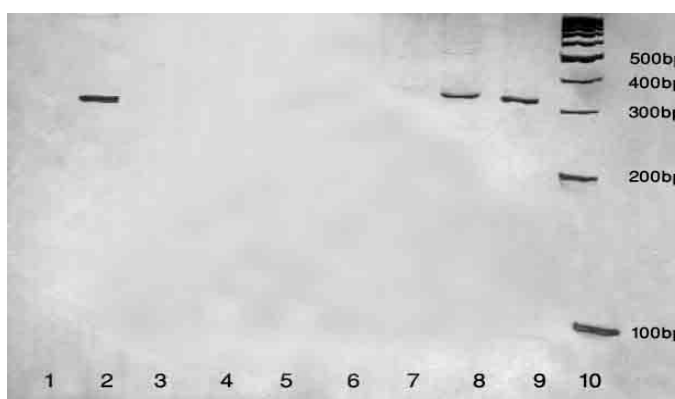
لازم به ذکر است مرحله واسرشت اولیه (start) و مرحله Extension انتهایی (End) شامل یک سیکل بوده ولی سه مرحله اصلی PCR شامل ۳۰ سیکل می‌باشند.

### یافته ها

از بین ۱۸۲ نمونه PCR شده تعداد ۶۶ نمونه (۳۶/۳٪) واجد اپرون پاپ بودند. در ۱۱۶ نمونه منفی هیچگونه بانندی از

شکل ۱: نتایج واکنش PCR جهت شناسایی ژن papC

۱- کنترل منفی ۲- کنترل مثبت ۳-۹ نمونه بیمار ۱۰- DNA Ladder



بیماران که ۹۲ نفر (۵۰/۵٪) می‌باشند هیچ سابقه ای از عفونت مجاری ادراری در گذشته را نشان ندادند. از مجموع ۱۸۲ نمونه کشت مثبت باکتری اشريشياکلی ۶۶ مورد (۳۶/۳٪) دارای ژن papC یا به عبارتی اپرون پاپ بودند که در نتیجه شیوع آن برابر با ۳۶/۳٪ بدست آمد. آزمون مجذور کای نشان داد که شیوع ژن papC ارتباط معنی داری با جنسیت، سن و وضعیت بستری بودن بیماران نداشته است ( $P > 0.05$  برای کلیه موارد). بر اساس علایم بالینی و یافته های آزمایشگاهی بیماران مبتلا به عفونت مجاری ادراری در سه فرم شایع سیستیت، پیلونفریت و باکتریوری

در مجموع سویه های اشريشياکلی جدا شده از نمونه کشت مثبت ۱۸۲ بیمار مبتلا به یکی از انواع مختلف عفونت مجاری ادراری مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. ۳۴ نمونه (۱۸/۷٪) مربوط به جنس مذکر و ۱۴۸ نمونه (۸۱/۳٪) مربوط به جنس مونث بود. سن بیماران در دامنه یک ماه تا ۷۸ سال با میانگین  $29.1 \pm 2.2$  سال بود که ۴۶ نفر (۲۵/۳٪) در گروه سنی زیر ۱۵ سال و ۸۶ نفر (۴۷/۳٪) در گروه سنی ۱۵-۳۹ سال و مابقی (۲۷/۵٪) در گروه سنی بالای ۴۰ سال قرار داشتند. ۹۰ نفر از بیماران (۴۹/۵٪) سابقه ای از عفونت مجاری ادراری قبلی را نشان می‌دادند و بقیه

از بیماران مبتلا به عفونت مجاری ادراری شیوع ژن papC را ۵۴٪ بدست آوردند (۱۵).

در سال ۲۰۰۱ در تحقیق انجام شده در کشور آمریکا مانینگ و همکاران ضمن مقایسه دو روش PCR و Dot blot Hybridization شیوع اپرون پاپ را در ۸۱۵ سویه جدا شده اشریشیا کلی ۴۱٪ تعیین کردند (۸). یوشاین و همکاران ضمن بررسی ۷۸ سویه اشریشیا کلی جدا شده از بیماران مبتلا به اشکال مختلف عفونت مجاری ادراری در کشور رومانی در سال ۱۹۹۹ به این نتیجه رسیدند که شیوع ژن papC در بین این سویه ها ۳۶٪ می باشد (۱۲).

در سال ۲۰۰۳ میلادی طی تحقیق صورت گرفته بر روی ۱۶۳ سویه اشریشیا کلی جدا شده از اشکال کلینیکی مختلف عفونت مجاری ادراری توسط ریتلوسکا و همکاران شیوع اپرون پاپ ۴۲/۲٪ بدست آمد (۱۸). همچنین در تحقیق دیگری که در آمریکا در سال ۲۰۰۴ صورت گرفته شیوع اپرون پاپ ۵۱/۵٪ گزارش شده است (۱۹).

در ارتباط با عامل ویروالانس فیبریای p مطالعات انگشت شماری در ایران صورت گرفته که اغلب این مطالعات نیز جدید بوده و در سال های اخیر صورت گرفته است. در یکی از این مطالعات فرشاد و امامقریشی ۹۶ نمونه اشریشیا کلی جدا شده از عفونت مجاری ادراری را مورد بررسی قرار داده و شیوع اپرون پاپ را ۲۷/۱٪ گزارش نمودند (۲۰). در مطالعه دیگر صورت گرفته فتح الهی و همکاران ۱۳۰ نمونه اشریشیا کلی جدا شده از اشکال مختلف عفونت مجاری ادراری را بررسی نموده و شیوع اپرون پاپ را ۶۱٪ گزارش نمودند (۲۱).

براساس نتایج آزمایش PCR در تحقیق حاضر و مقایسه با تحقیقات مشابه صورت گرفته در ایران و سایر نقاط جهان مشخص گردید که مشابهت هایی با نتایج یوشاین و همکاران در رومانی و مانینگ و جانسون در آمریکا و ریتلوسکا در لهستان داشته است (۲۲ و ۱۸ و ۱۲ و ۸). ضمناً شیوع اپرون پاپ بدست آمده توسط فتح الهی و همکاران در ایران و بلانکو و

بدون علامت دسته بندی گردیدند و ارتباط بین این سه فرم کلینیکی بیماری با شیوع ژن papC مورد بررسی قرار گرفت. از بین ۱۸۲ نمونه بیمار مورد بررسی ۱۱۴ نفر مبتلا به سیستیت، ۴۴ نفر مبتلا به پیلونفریت و ۲۴ نفر مبتلا به باکتریوری بدون علامت بودند. آزمون مجذور کای نشان داد که شیوع ژن papC یا به عبارتی اپرون پاپ با فرم کلینیکی بیماری دارای ارتباط معنی دار می باشد (۰/۰۱/P<). ارتباط بین این سه فرم کلینیکی بیماری با شیوع ژن papC مورد بررسی قرار گرفته و شیوع ژن مذکور در سه شکل کلینیکی بیماری تعیین گردید.

بر اساس نتایج بدست آمده بیشترین شیوع ژن papC در فرم کلینیکی پیلونفریت و کمترین شیوع در فرم کلینیکی باکتریوری بدون علامت می باشد. شیوع ژن papC در موارد سیستیت ۳۰/۷٪ و در پیلونفریت ۷۰/۵٪ می باشد. در فرم کلینیکی باکتریوری بدون علامت هیچ موردی از ژن papC مشاهده نگردید.

## بحث

در مطالعات صورت گرفته در کشورهای مختلف شیوع ژن papC بین ۲۳ تا ۵۷ درصد گزارش شده است (۱۵-۱۲). در پژوهش حاضر شیوع ژن papC در ۱۸۲ ایزوله اشریشیا کلی جدا شده ۳۶/۳٪ بدست آمد که در دامنه شیوع جهانی قرار داشته و نشاندهنده تشابه بین سویه های اشریشیا کلی مورد مطالعه با سایر نقاط جهان از جهت دارا بودن فیبریای p می باشد.

در سال ۱۹۹۹ در مطالعه صورت گرفته توسط برتین و همکاران در کشور فرانسه شیوع ژن papC در سویه های اشریشیا کلی جدا شده ۵۰٪ گزارش گردید (۱۶). اما آریسوی و همکاران در کشور ترکیه در سال ۲۰۰۵ شیوع اپرون پاپ را ۲۲/۹۸٪ گزارش کردند (۱۷). همچنین بلانکو و همکاران در تحقیقی که در سال ۱۹۹۷ در کشور اسپانیا انجام دادند در بین ۲۴۳ سویه اشریشیا کلی جدا شده

اپرون پاپ را ۸۰٪ تعیین نمودند (۱۱). در مطالعات محدود صورت گرفته در ایران نیز بر شیوع بیشتر اپرون پاپ در پیلونفریت نسبت به سیستمیت تاکید شده است از جمله در تحقیق صورت گرفته توسط فرشاد شیوع اپرون پاپ در پیلونفریت ۶۶/۶٪ و در سیستمیت ۳۳/۳٪ گزارش شده است (۲۰).

### نتیجه گیری

با توجه به بررسی بعمل آمده در منابع و نتایج حاصل از تحقیق حاضر، هماهنگی و همخوانی بین فراوانی ژن papC در سویه های اشریشیا کلی یورپاتوژن در سایر نقاط دنیا با سویه های بررسی حاضر مشخص گردید که شیوع این ژن در موارد پیلونفریت بسیار بیشتر از سیستمیت می باشد. از نتایج غیر منتظره عدم وجود اپرون پاپ در سویه های اشریشیا کلی جدا شده از موارد باکتریوری بدون علامت می باشد. در خاتمه اعلام می گردد علیرغم عدم بررسی ارتباط عواملی نظیر سن و جنس بیمار با ژن papC در تحقیقات مشابه در سایر نقاط جهان، در تحقیق حاضر این ارتباط مورد بررسی قرار گرفت و مشخص گردید که هیچ رابطه ای بین این عوامل با ژن مذکور وجود ندارد.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله لازم می دانند بدینوسیله از کارکنان محترم آزمایشگاههای بیمارستان های دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد تشکر و قدردانی نمایند.

همکاران در اسپانیا و لی بوگونک و همکاران با نتایج این طرح مغایرت داشته است که این امر احتمالاً ناشی از تفاوت در خصوصیات ژنوتیپی سویه های مسئول عفونت مجاری ادراری میباشد (۲۱ و ۱۵).

در این مطالعه ارتباط بین شیوع ژن papC با اشکال کلینیکی مختلف بیماری نیز مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که شیوع اپرون پاپ در پیلونفریت بسیار بیشتر از موارد سیستمیت می باشد. شیوع ژن papC در موارد سیستمیت ۳۰/۷٪ و در پیلونفریت ۷۰/۵٪ بدست آمد. در باکتریوری بدون علامت هیچ موردی از ژن papC مشاهده نگردید. در ارتباط با شیوع ژن papC و فرم کلینیکی عفونت مجاری ادراری تحقیقات نسبتاً کمی در سطح دنیا صورت گرفته است. از جمله ریتلوسکا و همکاران در کشور لهستان ۱۸۴ کودک مبتلا به عفونت مجاری ادراری را مورد بررسی قرار داده و شیوع ژن papC را در پیلونفریت ۷۵٪ و در سیستمیت ۴۳٪ گزارش نمودند (۱۸).

یوشاین و همکاران ۷۸ سویه اشریشیا کلی جدا شده از موارد عفونت مجاری ادراری را مورد بررسی قرار داده و شیوع ژن papC را در پیلونفریت ۸۰٪ و در سیستمیت ۳۰٪ بدست آوردند (۱۲). بلاتکو و همکاران در سال ۱۹۹۷ با بررسی ۲۴۳ سویه اشریشیا کلی جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت مجاری ادراری شیوع ژن papC را به ترتیب در پیلونفریت، سیستمیت و باکتریوری بدون علامت ۹۴٪، ۶۷٪ و ۵۷٪ اعلام کردند (۱۵).

همچنین جانسون و همکاران در کشور آمریکا تعدادی از کودکان مبتلا به سیستمیت را مورد بررسی قرار داده و شیوع ژن papC را ۳۴٪ گزارش کردند (۲۲). همین محققین با بررسی سیستمیت در زنان شیوع ژن papC را ۳۷٪ اعلام نمودند (۲۳). لی بوگونک و همکاران در سال ۱۹۹۲ سویه های اشریشیا کلی جدا شده از ۹۷ بیمار مبتلا به پیلونفریت را جهت وجود اپرون پاپ مورد بررسی قرار داده و شیوع

## Reference

1. Foxman B. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity, and economic costs. *Am J Med* 2002;113 Suppl 1A:5S-13S.
2. Stapleton AE. Urinary tract infections in healthy women. *Curr Treat Opt Infect Dis* 2003;5:43-51.
3. Stamm WE, Norrby SR. Urinary tract infections: disease panorama and challenges. *J Infect Dis* 2001;183:Suppl 1:S1-S4.
4. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Principles and practice of infectious diseases. Churchill Livingstone 2005. P.881-882.
5. Wald ER. Cystitis and pyelonephritis. In: Feigin RD, Chery JD, Demmier GJ, Kapan SL, eds. Textbook of pediatric infectious diseases. 5th ed. Philadelphia: Saunders 2004. P.541-543.
6. Marrs CF, Zhang L, Foxman B, Wicher K, Kossinski D. Escherichia coli mediated urinary tract infection: are there distinct uropathogenic E. coli (UPEC) pathotypes culture media. *FEMS Microbiol Lett* 2005;252:183-189.
7. Manges AR, Tabor H, Tellis P, Vincent C, Tellier PP. Endemic and epidemic lineages of Escherichia coli that cause urinary tract infections. *Emerg Infect Dis* 2008;14:1575-1583.
8. Manning SD, Zhang L, Foxman B, Spindler A, Tallman P, Marrs CF. Prevalence of known P-fimbrial G alleles in Escherichia coli and identification of a new adhesin class. *Clin Diagn Lab Immunol* 2001;8:637-640.
9. Wullt B, Bergsten G, Connell H, Rollano P, Gebretsadik N, Hull R and et al. P fimbriae enhance the early establishment of Escherichia coli in the human urinary tract. *Mol Microbiol* 2000;38:456-464.
10. Otto G, Magnusson M, Svensson M, Braconier JH, Svanborg C. Pap genotype and p fimbriae expression in E. coli causing bacteremic and nonbacteremic febrile urinary tract infection. *Clin Infect Dis* 2001;32:1523-1531.
11. Le Bouguenec C, Archambaud M, and Labigne A. Rapid and specific detection of the pap, afa, and sfa adhesin-encoding operons in uropathogenic Escherichia coli strains by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1992;30:1189-1193.
12. Usein CR, Damian M, Tatu-Chitoiu D. Prevalence of virulence genes in Escherichia coli strains isolated from Romanian adult urinary tract infection cases. *J Cell Mol Med* 2001;5:303-310.
13. Melican K, Sandoval RM, Kader A, Josefsson L, Tanner GA and et al. Uropathogenic Escherichia coli P and type 1 fimbriae act in synergy in a living host to facilitate renal colonization leading to nephron obstruction. *PLoS Pathog* 2011;7:e1001298.
14. Arisoy M, Ayser D, Ekim M, Ozel D, Kose SK, Ozsoy ED, Akar N. Detection of virulence factors of Escherichia coli from children by multiplex polymerase chain reaction. *Int J Clin Pract* 2006;60:170-173.
15. Blanco M, Blanco JE, Alonso Mp, Mora A, Balsalobre C, Munoa F and et al. Detection of pap, sfa and afa adhesin-encoding operons in uropathogenic Escherichia coli strains: relationship with expression of adhesins and production of toxins. *Res Microbiol* 1997;148:745-55.
16. Bertin Y, Girardeau JP, Darfeuille-michaud A, Martin C. Epidemiological study of papG genes among diarrhegenic or septicemic E. coli strains producing C531 A and F17 adhesins and characterization of Pap 31 A fimbriae. *J Clin Microbiol* 2000;38:1502-1515.
17. Arisoy M, Ayser D, Ekim M, Ozel D, Kose SK, Ozsoy ED and et al. Detection of virulence factors of E. coli from children by multiplex PCR. *Int J Clin Pract* 2006;60:170-173.

18. Rytlevska M , Sikorska – W Grazyna , Liberek Anna . Selected virulence factors of uropathogenic E.coli strains and clinical course of urinary tract infections in children . Med Sci Monitor 2003;9(suppl 4): 56-59.
19. Rodriguez-Siek KE, Giddings CW, Doetkott C,Johnson T,Fakhr MK,Nolan LK.Comparison of Escherichia coli isolates implicated in human urinary tract infection and avian colibacillosis. Microbiology 2005;151(Pt 6): p.2097-2110.
20. Farshad S , Emamghorashi F . The prevalence of virulence genes of E.coli strains isolated from children with urinary tract infection. Saudi J Kidney Dis Transpl 2009;20:613-617.
21. Fathollahi S ,Yousefi-Mashouf R , Goodazi MT , Hajiloei M, Hemati S, Mostafaei A and et al.Typing of the uropathogenic E.coli strains using O-serotyping and detection of pap adhesion-encoding operon by polymerase chain reaction. Iran J Clin Infect Dis 2009;4:77-81.
22. Johnson JR, Johnson CE, Maslow JN.Clinical and bacteriologic correlates of the papG alleles among Escherichia coli strains from children with acute cystitis. Pediatr Infect Dis J 1999;18:446-451.
23. Johnson James R, Russo Thomas A, Brown Jennifer J, Stapleton Ann. PapG alleles of Escherichia coli strains causing first-episode or recurrent acute cystitis in adult women. Infect Dis J 1998;177:97-101.