دانشگاه علوم پزشکی همدان
معاونت تحقیقات و فناوری

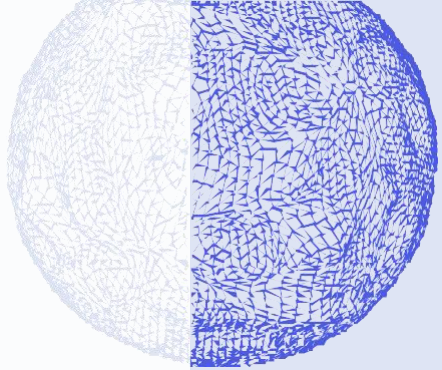
مرکز تحقیقات بیماری های عفونی

MIC

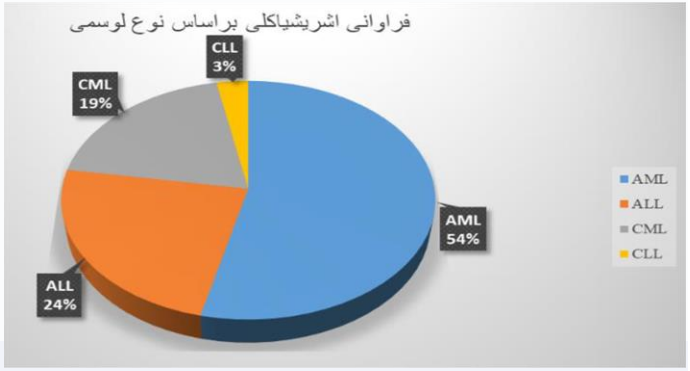
مجری طرح:

دکتر لیلی شکوهی زاده

دانشیار باکتری شناسی پزشکی



مقدمه

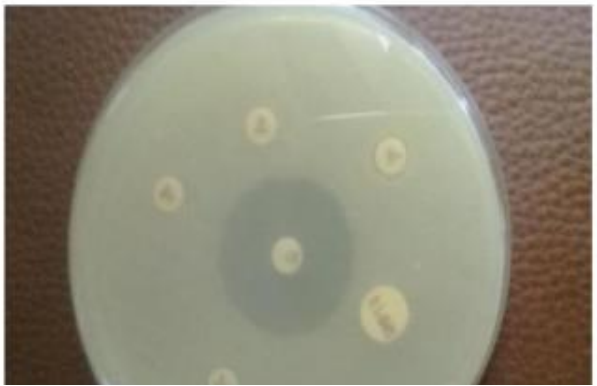


بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی، قدرت تشکیل بیوفیلم، میزان بیان ژن‌های ویرولانس و سیستم‌های توکسین - آنتی‌توکسین در غلظت‌های تحت MIC ایمی پنم، سیپروفلوکساسین، سفتریاکسون و تیپ بندی مولکولی توسط تکنیک‌های ERIC-PCR و MLST ایزوله‌های اشریشیا کلی جدا شده از کشت خون بیماران مبتلا به لوسمی مقدمه: عفونت‌های جریان خون (BSIs) یکی از شایع‌ترین عوارض مشاهده‌شده در بیماران مبتلا به لنفوم، لوسمی، مولتیپل میلوما می باشد .

هدف از این مطالعه بررسی ارتباط بین ژن‌های توکسین - آنتی‌توکسین، ژن‌های کدکننده فاکتورهای ویرولانس، تشکیل بیوفیلم وتیپ بندی مولکولی، تعیین گروه‌های فیلوژنتیک و همچنین میزان بیان ژن های ویرولانس و توکسین-آنتی توکسین در غلظت های تحت MIC ایمی پنم، سیپروفلوکساسین و سفتریاکسون در ایزوله های اشریشیاکلی جدا شده از عفونت خون در بیماران مبتلا به لوسمی بود

تعداد ۶۷ ایزوله اشریشیا کلی از کشت خون های مربوط به عفونت خون بیماران مبتلا به لوسمی در بخش های انکولوژی در بیمارستان های شریعتی تهران و رشت جمع‌آوری شد. مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله ها با استفاده از روش‌های دیسک دیفیوژن و میکروبراث دایلوشن تعیین شد. میزان قدرت تشکیل بیوفیلم ایزوله ها به روش میکروتیتروپلیت بررسی شد. و سپس روش PCR برای بررسی حضور ژن‌های مختلف از جمله ژن‌های ویرولانس، ژن‌های سیستم‌های توکسین-آنتی‌توکسین، ژن‌های مقاومت به بتالاکتام‌ها و ژن‌های مقاوم به فلوروکینولون ها استفاده شد.

علاوه بر این، ارتباط ژنتیکی ایزوله ها با استفاده از روش-ERIC PCRمورد بررسی قرار گرفت. طبقه‌بندی فیلوژنتیک ایزوله ها(A ، B1، B2و (Dبا روش PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی انجام شد. بیان ژن‌های ژن‌های کدکننده فاکتورهای ویرولانس و سیستم توکسین-آنتی‌توکسین در اشریشیا کلی قبل و بعد از مواجهه در غلظت‌های sub-MIC سیپروفلوکساسین، سفتریاکسون و ایمی‌پنم با استفاده از روش کمی PCR (qRT-PCR) بررسی شد. برای تعیین سکانس تایپ ها (ST) سویه های انتخابی از روش MLST بر اساس توالی یابی محصولات PCR حاصل از تکثیر هفت ژن housekeepingاستفاده شد.



از مجموع از ۶۷ ایزوله اشـریشـیا کلی جدا شـده از عفونت جریان خون بیماران مبتلا به لوسـمی، ۳۶ (۵۳/۷٪) سویه‌های تولیدکننده ESBL بودند. بیشترین مقاومت آنتی بیوتیکی (۹۲٪) به آمپی‌سیلین و آموکسی‌سیلین/کلاوولانیک اسید (۸۸ ٪) و بیشترین حساسیت به ایمی پنم (۹۲ ٪)، آمیکاسین (۷۱/۶ ٪) و کلرامفنیکل (۶۸ ٪) مشاهده شد. دراین مطالعه از مجموع۶۷ ایزوله اشـریشـیاکلی ۵۶ (۸۳/۵ ٪) ایزوله اشریشیاکلی تولیدکننده بیوفیلم بودند که با روش میکروتیتر پلیت انجام شد. از بین ۳۲ ایزوله تولید کننده ESBL شـایع‌ترین ژن کد کننده بتالاکتاماز ژن blaCTX-M(8/63%) بود.

همچنین میزان شـیوع ژن‌های کدکننده فاکتورهای ویرولانس در بین ۶۷ ایزوله اشـریشـیاکلی (hlyA۵۵/۲ (6/77.%) traT٪(7/59.) ٪ iutA (و(۵۳/۷ ٪ afa (را در اشریشیاکلی مشاهده شد. فراوانی ژن های توکسین- آنتی توکسینMazEF ، ccdAB، RelB، MqsRAو hipBA به ترتیب ۷۱/۶، ۷۰، ۷۷/۶، ۳۵/۸ و ۳۱/۳ درصـد بود. ارزیابی گروه‌های فیلوژنتیکی ایزوله‌های اشریشیاکلی جدا شده از بیماران مبتلا به لوسمی نشان داد؛ که به ترتیب میزان فراوانی مربوط به فیلوگروه(% 2/43) B2 67/29 ، ۱۷/۶۷ (3/25%) در گروهD ۶۷، 4/19) /13 (%در گروه B1 و ۸/۶۷ (۱۱٪/۹) در گروه A قرار گرفتند فیلو گروه‌های B2 و D بیشترین فراوانی را داشتند. بر اساس نتایج ERIC-PCR تنوع ژنتیکی بالایی در بین ایزوله ها مشاهده شد. بر اساس نتایج MLST تمامی سـکانس تایپ ها جدید بودند و پروفایل آللی متفاوتی داشـتند. نتایج بررسـی بیان ژن‌های ژن‌های کدکننده فاکتورهای ویرولانس و توکسـین آنتی‌توکسـین بیانگر کاهش بیان ژن‌های ویرولانس و سیستم توکسین-آنتی‌توکسین اشریشیاکلی در حضور غلظت های تحت MIC سیپروفلوکساسین، سفتریاکسون و ایمی پنم بود هر چند که بیان ژن ویرولانس hlyA افزایش نشان داد. همچنین مقایسـه بیان ژن ها توکسـین آنتی توکسـین وژن های کدکننده ژن‌های کدکننده فاکتورهای ویرولانس به صورت fold changeگزارش شـد. برای ژن هایی که کاهش بیان داشـتند

بر اسـاس نتایج این مطالعه سـویه های اشـریشـیاکلی متنوع، مقاوم و بیماریزا در بین بیماران مبتلابه لوسـمی در بیمارسـتان‌های ایران در گردش هسـتند. مطالعه ما بر اهمیت نظارت مداوم بر اپیدمیولوژی و ویژگی‌های فنوتیپی و ژنوتیپی ایزوله های اشـریشـیاکلی در عفونت‌های جریان خون در بیماران مبتلا به لوسمی تأکید می‌کند.

اسـتفاده پیشـگیرانه از سـیپروفلوکسـاسـین و درمان با سـفتریاکسـون و ایمی‌پنم در بیماران مبتلا به بدخیمی‌های خونی می تواند با کاهش بیان ژن‌های کدکننده فاکتورهای ویرولانس و ژن‌های سـیسـتم توکسین-آنتی‌توکسین، از عوارض عفونت‌های خونی جلوگیری کند.

تحقیقات بیشـتری برای درک کامل رابطه بین توانایی تشـکیل بیوفیلم اشریشیاکلی، ژن‌های کدکننده فاکتورهای ویرولانس و ژن‌های سیستم توکسـین-آنتی‌توکسـین و نتایج بالینی در بیماران مبتلا به لوسـمی نیاز است.