



مقاله پژوهشی

شناسایی ژن‌های بیماری‌زایی در سویه‌های اوروپاتوژنیک/شریشیا کلی (UPEC) به روش Multiplex-PCR

جواد محمدی، کیومرث امینی*

گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۵/۰۷/۰۹

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۵/۰۲/۰۶

چکیده

زمینه و هدف: عفونت دستگاه ادراری یکی از شایع‌ترین بیماری‌ها در تمامی گروه‌های سنی در جهان است. حضور فاکتورهای بیماری‌زایی مختلف عامل مهمی در بروز عفونت دستگاه ادراری است. مطالعه حاضر به منظور شناسایی ژن‌های *ompT* و *iroN* در جدایه‌های/شریشیا کلی اوروپاتوژنیک جدا شده از نمونه‌های بالینی با روش Multiplex-PCR در استان کرمان انجام گردید.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه توصیفی-مقطعی تعداد ۲۰۰ نمونه ادرار از بیمارستان‌های شهر کرمان جمع‌آوری گردید. پس از انجام تست‌های استاندارد بیوشیمیایی و میکروبیولوژیکی، تمامی سویه‌ها از نظر وجود ژن‌های فاکتور بیماری‌زایی به روش Multiplex-PCR ارزیابی شدند.

نتایج: نتایج Multiplex-PCR نشان داد که ۱۰۰٪ نمونه‌ها دارای یک یا دو یا هر سه ژن بیماری‌زایی به صورت هم‌زمان می‌باشند. بیشترین توزیع فراوانی مربوط به ژن *iha* با ۵۶٪ و کمترین فراوانی مربوط به ژن *iroN* به میزان ۲۰٪ گزارش شد.

نتیجه‌گیری: با توجه به شیوع عفونت‌های ادراری در جامعه و انتشار فاکتورهای مقاومت و بیماری‌زایی، شناسایی سریع و دقیق این سویه‌ها و فاکتورهای دخیل در پاتوژنز ضروری به نظر می‌رسد.

کلمات کلیدی: *iroN*، *ompT*، *iha*، اوروپاتوژنیک، شریشیا کلی

مقدمه

عفونت‌ها محسوب می‌شوند. از علائم بالینی این عفونت می‌توان به تکرر ادرار، سوزش ادرار و وجود خون و چرک در ادرار اشاره کرد. شدت عفونت ادراری بستگی به عواملی مانند حساسیت میزبان و وجود فاکتورهای بیماری‌زایی در سویه‌های مولد عفونت دارد (۲-۵). مطالعات نشان داده است که سویه‌های/شریشیاکلی مولد عفونت ادراری (UPEC) دارای فاکتورهای ویروالانس متعددی هستند. از میان تمامی فاکتورهای بیماری‌زایی در باکتری، فیمبری *(pap)*، فیمبریه *(sfa)*، فیمبریه مرتبط با اتصال باکتری *(afa)*، همولیزین *(hly)*، فاکتور نکروزان سایتوتوکسیک *(cnf-1)*، آئروباکترین *(eae)*، فاکتور *fim* و فاکتورهای دیگر از قبیل *usp*، *iroN*، *set-1*، *astA*، *iha* و *iutA* نقش اصلی را در بروز UTI دارند (۶ و ۷). حضور ژن‌های ویروالانس مذکور سبب چسبندگی و تهاجم/شریشیا کلی به سلول‌های اپی تلیوم مجاری ادراری و همچنین تولید سایتوکین و سایر فاکتورهای التهابی، آپوپتوزیس سلول‌های دفاعی و جلوگیری از فاگوسیتوز است (۸). بیشتر ژن‌های کد کننده

/شریشیاکلی (*E. coli*) باسیلی گرم منفی، متحرک، بی‌هوازی اختیاری و بدون اسپور بوده که فلور طبیعی روده انسان‌ها و دیگر جانوران خونگرم است (۱). این ارگانیسم شایع‌ترین عامل عفونت مجاری ادراری (UTI) به‌ویژه در خانم‌های جوان است. /شریشیا کلی عامل بیش از ۸۰-۹۰ درصد از عفونت‌های مجاری ادراری کسب‌شده از جامعه و ۵۰-۳۰ درصد موارد UTI بیمارستانی است و از عوامل عمده بستری شدن در بیمارستان با عوارض قابل‌توجه و هزینه‌های مراقبتی بهداشتی بالا است. بروز عفونت‌های دستگاه ادراری معمولاً در زنان نسبت به مردان بیشتر است، چراکه نیمی از زنان در طول زندگی خود حداقل یک‌بار این عفونت را تجربه می‌کنند و عود عفونت امری شایع است. آناتومی بدن زنان، مقاربت جنسی، سابقه خانوادگی، سن بالا، دیابت شیرین و ضعف مثانه از جمله عوامل خطر ساز جهت ایجاد این نوع

* نویسنده مسئول: کیومرث امینی، استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران
Email: dr_kumarss_amin@yahoo.com

ویروالانس در سویه‌های UPEC با پاتوژنیسیته ادراری در ارتباط است؛ برای مثال در مطالعات مختلف مشاهده شده است که همولیزین در پیلونفریت، سیستیت و باکتریوری بدن علامت بیشتر دیده می‌شود (۱۵)؛ بنابراین با توجه به افزایش روزافزون عفونت‌های مرتبط با *اشریشیاکلی* و متفاوت بودن فاکتورهای دخیل در بیماری‌زایی باکتری در مناطق مختلف دنیا، مطالعه بررسی عوامل مرتبط با بیماری‌زایی در باکتری‌های جدا شده ضروری به نظر می‌رسد. لذا مطالعه حاضر به منظور ردیابی ژن‌های بیماری‌زای کد کننده پروتئاز خارج سلولی (*ompT*)، ریسپتورسیدروفور (*iroN*) و *iha* در سویه‌های *اشریشیاکلی* جدا شده از عفونت‌های ادراری (UPEC) به دست آمده از بیمارستان‌های شهر کرمان به روش Multiplex-PCR است.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه توصیفی-مقطعی، در بازه زمانی شش ماهه از ابتدای مرداد لغایت انتهای دی‌ماه ۱۳۹۴، تعداد ۲۰۰ نمونه ادرار به روش Mid-stream از بیمارستان‌های شهر کرمان جمع‌آوری گردید. عفونت ادراری توسط کادر پزشکی بیمارستان و بر پایه تظاهرات کلینیکی و تفسیر تست‌های آزمایشگاهی تشخیص داده شد. معیار آزمایشگاهی UTI یک کشت مثبت از ارگانیسم با حداقل 10^5 cfu/ml در نظر گرفته شد. به منظور جداسازی سویه‌های *اشریشیاکلی*، هر کدام از نمونه‌ها به طور مجزا بر روی محیط‌های افتراقی شامل مک

فاکتورهای ویروالانس از قبیل *cnf1*، *irp2*، *iha* و *ompT* جایگیری باکتری را در اپیتلیوم مجاری ادراری-تناسلی تسهیل می‌کند (۹). پروتئین ۶۹ کیلو دالتونی Iha و کد شونده توسط ژن *iha* مستقر در جزیره پاتوژنیسیته (PAI-II) نوعی فاکتور ویروالانس با دو عملکرد است که هم به عنوان گیرنده سیدروفور و هم در پروتئین‌های غشای خارجی (OMP) به عنوان ادهسین ایفای نقش می‌کند (۱۰). پروتئین دیگری که در غشای خارجی ایفای نقش می‌کند نوعی پروتئاز به نام OmpT است که کاتیونیک پپتیدهای آنتی میکروبی سلول‌های پوششی و ماکروفاژها را تجزیه می‌نماید (۱۱). آهن یکی از مواد غذایی مهم برای رشد باکتری‌ها است. *E. coli* به واسطه تولید ترکیبات شلاته کننده آهن مانند آئروباکترین با پروتئین‌های شلاته کننده آهن موجود در بدن رقابت کرده و آهن را از آن‌ها می‌گیرد. ژن *aer* سیدروفور آئروباکترین را کد می‌کند. تاکنون بیش از ۵۰۰ نوع سیدروفور شناسایی شده است. انتقال کمپلکس فریک-سیدروفور از غشای خارجی *اشریشیاکلی* وابسته به انرژی تولید شده از طریق نیروی محرکه پروتون (PMF) و کمپلکس پروتئینی TonB-ExbB-ExbD انجام می‌گیرد. در شرایط کمبود آهن سیدروفوری بنام آئروباکترین از *اشریشیاکلی* و چندین گونه از اعضای خانواده آئروباکتریاسه به محیط ترشح شده که به پروتئین غشای خارجی بنام FepA متصل شده و به وسیله آن در فضای پری پلاسمیک آزاد می‌گردد. FepB پروتئینی در فضای پری پلاسمیک بوده که به کمپلکس فریک-

جدول ۱- توالی اولیگونوکلوئیدی پرایمرهای مورد استفاده

ژن	سکانس نوکلئوتیدی (۵'→۳')	اندازه محصول (bp)
<i>iha</i>	F: ۵' - CTGGCGGAGGCTCTGAGATCA-3' R: 5' - TCCTTAAGCTCCCGCGGCTGA-3'	۸۲۷
<i>iroN</i>	F: 5' - AAGTCAAAGCAGGGGTTGCCCG-3' R: 5' - GACGCCGACATTAAGACGCAG-3'	۶۶۵
<i>ompT</i>	F: 5' - ATCTAGCCGAAGAAGGAGGC-3' R: 5' - CCCGGTCATAGTGTTCATC-3'	۵۵۹

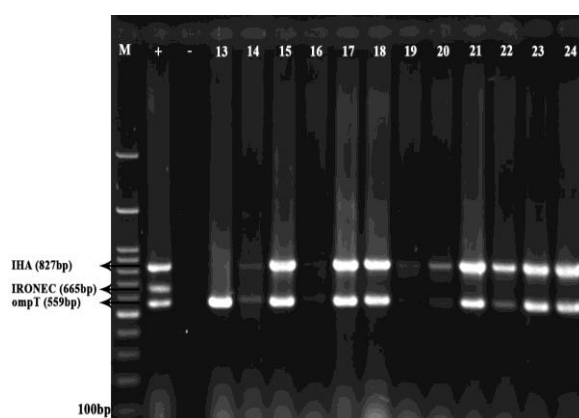
کانکی، بلاد آگار و ائوزین متیلن بلو آگار (مرک، آلمان) کشت داده شد. همچنین از تست‌های استاندارد بیوشیمیایی و میکروبیولوژی نظیر رنگ‌آمیزی گرم، تست کاتالاز، اکسیداز و استفاده از محیط‌های افتراقی مانند TSI، SIM، MR-VP،

آئروباکترین متصل شده و آن را از فضای پری پلاسمیک عبور داده و در اختیار انتقال‌دهنده ABC موجود در غشای سیتوپلاسمیک می‌گذارد تا فعالانه از غشای سیتوپلاسمی عبور کند (۱۲-۱۴). تحقیقات نشان می‌دهد که شیوع فاکتورهای

ژن *iha* با ۵۶/۷٪ و کمترین فراوانی مربوط به ژن *iroN* به میزان ۲۰٪ گزارش شده است (جدول ۲).

جدول ۲- توزیع فراوانی ژن‌های تحت مطالعه

تعداد کل سویه	تعداد (٪) ژن هدف		
	<i>iha</i>	<i>iroN</i>	<i>ompT</i>
۶۰	۳۴ (۵۶٪/۷)	۱۲ (۲۰٪/۰)	۱۴ (۲۳٪/۳)



شکل ۱- نتیجه تکثیر ژن‌های مورد بررسی. به ترتیب از چپ M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی (Fermentas, GmbH, Germany. 100-3000 bp)، (+) کنترل مثبت (*E. coli* ATCC 25922)، (-) کنترل منفی (*Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883)، چاهک‌های ۱۳ الی ۲۴ نمونه‌های اخذ شده از بیماران، باندهای ۵۵۹ bp، ۶۶۵ bp و ۸۲۷ bp به ترتیب نشانگر تکثیر ژن‌های *ompT*، *iroN* و *iha* است.

بحث و نتیجه گیری

اشریشیا کلی عامل بیش از ۸۰ درصد موارد UTI در تمامی رده‌های سنی است. بیشتر ایزوله‌های به‌دست‌آمده از موارد عفونت‌های ادراری ناشی از اشریشیا کلی، واجد ژن‌های بیماری‌زایی مختلفی می‌باشند و تصور می‌گردد که توانایی بالقوه برای پاتوژنیک بودن ایزوله‌های اشریشیا کلی، وابسته به حضور عناصر ویروالانس است (۱۷). لذا، شناخت بهتر از خصوصیات ویروالانس ارگانیزم مهاجم به پزشک این امکان را می‌دهد که روند پیشرفت عفونت در میزبان و درمان مناسب را پیش‌بینی کند. در مطالعه پیش رو جداسازی ژن‌های بیماری‌زایی *ompT*، *iroN* و *iha* در اشریشیا کلی اوروپاتوژنیک

سیمون سیترا، اوره آز، تولید H_2S ، تست تخمیر قندها و احیای نیترا استفاده شد. از سویه رفرنس اشریشیا کلی ATCC 25922 به‌عنوان کنترل کیفی استفاده گردید.

به‌منظور انجام Multiplex-PCR، استخراج DNA ژنومی سویه‌ها از کشت ۲۴ ساعته در محیط لوریا برتانی براث (مرک، آلمان) در ۳۷ درجه سلسیوس استفاده شد. استخراج طبق دستورالعمل کیت استخراج سیناژن (Cinna Pure DNA KIT- PR881613) (البرز، ایران) انجام گردید. برای تکثیر ژن‌های *iha*، *iroN* و *ompT* از توالی‌های اختصاصی الیگونوکلوئیدی پرایمرهای موجود در جدول ۱ و تهیه شده از شرکت سیناکلون (تهران، ایران) استفاده شد (جدول ۱). جهت تأیید درجه خلوص DNA استخراج‌شده از دستگاه بیوفتومتر (Bio-Rad، USA) استفاده گردید. درنهایت، واکنش Multiplex-PCR به حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۵/۵ میکرولیتر PCR master mix 5X (سیناکلون، ایران) حاوی Taq DNA polymerase (0.05 U/μl)، $MgCl_2$ (۰.۴ mM) و dNTPs (۰.۸ mM)، ۰/۸ میکرومولار (سیناکلون، ایران)، ۰.۶ میکرولیتر از DNA الگو (۱۰ نانوگرم) و ۱/۴ میکرولیتر آب دیونیزه استریل با استفاده از گرادیانت ترموسایکلر (اپندورف، آلمان) برای ۳۰ سیکل به‌صورت زیر انجام گرفت؛ مرحله واسرشتگی در دمای ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۴۵ ثانیه، مرحله اتصال پرایمرها در ۵۸ درجه سلسیوس به مدت ۶۰ ثانیه و مرحله طولیل سازی در ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۷۵ ثانیه. در پایان، محصولات واکنش M-PCR در ژل آگارز ۱٪ حاوی ژل رد (Biotium Co. USA) در مقایسه با سویه استاندارد اشریشیا کلی ATCC 25922 آنالیز گردید.

نتایج

نتایج مطالعات اکسیداز، TSI، KIA، سیترا، SIM، MRVP، لیزین دکربوکسیلاز بر روی نمونه‌های ادرار به‌دست‌آمده نشان داد که از مجموع ۲۰۰ نمونه ادرار جمع‌آوری‌شده تعداد ۶۰ نمونه آلوده به *E. coli* بودند. آزمون Multiplex-PCR برای بررسی ژن‌های بیماری‌زایی بر روی ۶۰ جدایه اشریشیا کلی انجام گرفت و نتایج نشان داد که ۱۰۰٪ نمونه‌ها دارای یک یا دو و یا هر سه ژن بیماری‌زایی به‌صورت هم‌زمان می‌باشند (شکل ۱). بیشترین توزیع فراوانی مربوط به

مقاومت ضد میکروبی /شریشیا کلی جدا شده از واژن بر روی ۱۳۲ نمونه واژنی *E.coli* ایزوله شده از زنان باردار و غیر باردار بین ۱۸ تا ۵۵ سال ژن‌های *fimH* ۷۱٪ و *ompT* ۴۵٪ بیشترین فراوانی را داشته‌اند (۲۳). جیمز و همکاران در سال ۲۰۰۰ تحقیقی بر روی ۶۷ نمونه /شریشیا کلی جدا شده از بیماران مبتلا به اوروسپسیس انجام داده و به این نتیجه رسیدند که ۵۵٪ آن‌ها دارای ژن *iha* و ۳۹٪ آن‌ها دارای ژن *iron* بودند که در تکامل نژادی و مقاومت ضد میکروبی نقش دارند (۲۴). این میزان شیوع با میزان فراوانی این دو ژن در مطالعه ما منطبق بوده هرچند فراوانی ژن *iroN* در تحقیق James بیشتر بوده است. یکی دیگر از اختلافات نتایج مطالعه ارائه شده با مطالعات پیشین می‌تواند در تعداد و نوع نمونه‌های بالینی و یا منطقه جغرافیایی در بین مطالعات ذکر شده و فصول سال نمونه‌گیری و حتی گروه فیلوژنتیکی و سروگروپ ایزوله‌ها باشد.

مطالعه حاضر نشان داد که ادرار بیماران مبتلا به UTI، منبع بالقوه انتشار سویه‌های /شریشیا کلی با فاکتورهای بیماری‌زایی مختلف می‌تواند باشد. لذا با توجه به شیوع عفونت ادراری، انتشار فاکتورهای مقاومت و بیماری‌زایی، شکست درمانی و عواقب ناشی از این عفونت‌ها مانند پیلونفریت، سیستیت و پروستاتیت شناسایی سریع و دقیق این سویه‌ها ضروری به نظر می‌رسد.

تشکر و قدردانی

از کارکنان آزمایشگاه پژوهشی میکروبیولوژی پاسارگاد که در انجام مراحل عملی این تحقیق یاری نمودند تشکر و قدردانی می‌گردد.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافی را اعلام نکرده‌اند.

با روش Multiplex PCR انجام گرفت. نتایج نشان داد که بیشترین و کمترین فراوانی به ترتیب مربوط به ژن *iha* و *iroN* با ۳۴ (۵۶٪/۷) و ۱۲ (۲۰٪) سویه است. در سال ۲۰۱۲ کریمیان و همکاران (۱۸) با مطالعه بر روی سویه‌های UPEC نشان دادند که فراوانی ژن‌های *ompT* و *iha* به ترتیب برابر ۴٪/۸۷ و ۱۷٪/۸۸ است که با مطالعه حاضر مغایرت دارد و دلیل این تضاد می‌تواند در سال و محل اخذ نمونه‌گیری باشد. همچنین سانس و همکاران در سال ۲۰۰۴ شیوع ژن‌های *ompT* و *iha* را به ترتیب برابر ۲۵٪ و ۵۱٪ گزارش کردند (۱۹). در مطالعه ممتاز و همکاران نیز پراکندگی ژن‌های *ompT* و *iha* به ترتیب برابر ۶۲٪ و ۱۴٪ گزارش گردید که تقریباً با مطالعه حاضر همخوانی دارد (۲۰). عبدی و همکاران در سال ۱۳۹۲ با بررسی رابطه فیلوژنی و توزیع ژن‌های کد کننده فاکتورهای بیماری‌زا در ایزوله‌های *E.coli* جدا شده از دستگاه تناسلی زنان اعلام نمودند که میزان شیوع ژن‌های *iroN*، *iucD*، *fimH* و *hlyA* به ترتیب ۷۱، ۳۷، ۳۱ و ۱۷٪ است که *fimH*، *iucD* و *iroN* شایع‌ترین ژن‌های بیماری‌زا در *E.coli* می‌باشند (۲۱). علت این تفاوت در نتیجه منشأ نمونه (ادرار در مقابل نمونه دستگاه تناسلی) است. در تحقیق صفروپور و همکاران (۲۲) در سال ۱۳۹۲ با عنوان ردیابی فاکتورهای بیماری‌زایی ایزوله‌های *E.coli* یوروپاتوژنیک از نمونه‌های سوآب قسمت فوقانی دستگاه تناسلی زنان نازا دریافتند که ۱۸/۵۷٪ نمونه‌ها حاوی /شریشیا کلی بود و هیچ نمونه *E.coli* مثبتی در زنان سالم وجود نداشت. همچنین فراوان‌ترین ژن‌های بیماری‌زایی ردیابی شده به ترتیب برابر ۹۷/۷۶٪ و ۸۴/۵۳٪ برای ژن‌های *iroN* و *iha* بود. علت این اختلاف می‌تواند در نتیجه نوع و محل نمونه‌گیری، سال انجام مطالعه، اختلافات جغرافیایی و سطح بهداشت دو منطقه (بابل در مقابل کرمان) مرتبط باشد. احمد راشکی در سال ۲۰۱۴ در پژوهشی با عنوان بررسی فاکتورهای بیماری‌زا و

References

1. Foxman B. Urinary tract infection syndromes: occurrence, recurrence, bacteriology, risk factors, and disease burden. Infectious Disease Clinics of North America. 2014(31):1-3.
2. Xia P, Yajie Z, Yiting W, Yujie S. Receptor for the F4 fimbriae of enterotoxigenic Escherichia coli (ETEC). Applied Microbiology and Biotechnology. 2015; (99): 4953-4959.
3. Garcia TA, Ventura CL, Smith MA, Merrell DS, O'Brien AD. Cytotoxic necrotizing factor and hemolysin from uropathogenic Escherichia coli elicit different host responses in the murine bladder. Infection and Immunity. 2013; (81): 99-109.
4. Khosravi AD, Khaghani S, Farajzadeh Sheikh A, Ahmadzadeh A, Shamsizadeh A. Prevalence of Escherichia coli O157:H7 in Children with Bloody

- Diarrhea Referring to Abuzar Teaching Hospital, Ahvaz, Iran. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2016; (10): 13-15.
5. Srivastava S, Agarwal J, Mishra B, Srivastava R. Virulence versus fitness determinants in *Escherichia coli* isolated from asymptomatic bacteriuria in healthy nonpregnant women. *Indian Journal of Medical Microbiology*. 2016; (34): 46-51.
6. Gioia-Di Chiacchio R, Cunha M, Sturn R, Moreno L, Moreno A, Pereira C, et al. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC): zoonotic risks associated with psittacine pet birds in home environments. *Veterinary microbiology*. 2016; 184:27-30.
7. Croxen MA, Finlay BB. Molecular mechanisms of *Escherichia coli* pathogenicity. *Nature Reviews Microbiology*. 2010; (8): 26-38.
8. Akhi MT, Toloue Ostadgavahi A, Ghotaslou R, Asgharzadeh M, Pirzadeh T, Sorayaei Sowmesarayi V. Detection, Virulence Gene Assessment and Antibiotic Resistance Pattern of O157 Enterohemorrhagic *Escherichia coli* in Tabriz, Iran. *Jundishapur Journal of Microbiology*. 2015; 8(11): e25317.
9. Pan H, Zhang J, Kuang D, Yang X, Ju W, Huang Z, et al. Molecular analysis and antimicrobial susceptibility of enterotoxigenic *Escherichia coli* from diarrheal patients. *Diagnostic microbiology and infectious disease*. 2015;81(2):126-31.
10. Tarchoun M, Ferjani A, Ben-Selma W, Boukadid J. Distribution of uropathogenic virulence genes in *Escherichia coli* isolated from patients with urinary tract infection. *International Journal of Infectious Diseases*. 2013; (17): e450-e453.
11. Soto S, Zuniga S, Ulleryd P, Vila J. Acquisition of a pathogenicity island in an *Escherichia coli* clinical isolate causing febrile urinary tract infection. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*. 2011;30(12):1543-50.
12. Narváez-Bravo C, Echeverry A, Miller MF, Rodas-González A, Brashears MT, Aslam M, et al. Virulence characterization and molecular subtyping of typical and atypical *Escherichia coli* O157: H7 and O157: H (-) isolated from fecal samples and beef carcasses in Mexico. *Journal of Food Protection®*. 2015;78(2):264-72.
13. Brannon JR, Burk DL, Leclerc J-M, Thomassin J-L, Portt A, Berghuis AM, et al. Inhibition of outer membrane proteases of the omptin family by aprotinin. *Infection and immunity*. 2015;83(6):2300-11.
14. Carniel E. The *Yersinia* high-pathogenicity island: an iron-uptake island. *Microbes Infect*. 2010; 3(7): 561-9.
15. Brannon JR, Thomassin JL, Desloges I, Gruenheid S, Le Moual H. Role of uropathogenic *Escherichia coli* OmpT in the resistance against human cathelicidin LL-37. *FEMS Microbiology Letters*. 2013; (345): 64-71.
16. Karimian A, Momtaz H, Madani M. Detection of uropathogenic *Escherichia coli* virulence factors in patients with urinary tract infections in Iran. *African Journal of Microbiology Research*. 2012; (6): 6811-16.
17. Haiko J, Laakkonen L, Juuti K, Kalkkinen N, Korhonen TK. The omptins of *Yersinia pestis* and *Salmonella enterica* cleave the reactive center loop of plasminogen activator inhibitor 1. *Journal of bacteriology*. 2010;192(18):4553-61.
18. Karimian A, Momtaz H, Madani M. Detection of uropathogenic *Escherichia coli* virulence factors in patients with urinary tract infections in Iran. *African Journal of Microbiology Research*. 2012; (6): 6811-16.
19. Sannes MR, Kuskowski MA, Owens K, Gajewski A, Johnson JR. Virulence factor profiles and phylogenetic background of *Escherichia coli* isolates from veterans with bacteremia and uninfected control subjects. *Journal of Infectious Diseases*. 2004;190(12):2121-8.
20. Momtaz H, Karimian A, Madani M, Dehkordi FS, Ranjbar R, Sarshar M, et al. Uropathogenic *Escherichia coli* in Iran: serogroup distributions, virulence factors and antimicrobial resistance properties. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*. 2013;12(1):8.
21. Abdi HA, Rashaki A, Rashaki Ghalehno Z, Shahkarami F, Shahraki Z. The evaluation of phylogeny relationship and distribution of genes encoding virulence factors in the *E.coli* strains isolated from women's genital tract referred to Zabul clinic city by M_PCR. *Iranian journal of medical microbiology*. 2013; 7(3):4.
22. Safarpour Dehkordi F, Momtaz H, Esmailzadeh S, Kheyat Khamenehi M, Yahaghi E. Evaluation of virulence factors in the uropathogenic *E. coli* isolates from the upper vaginal swab samples in the infertile women. *Iranian journal of medical microbiology*. 2013; 7(2):4.
23. Rashki A. Cervico-vaginopathogenic *Escherichia coli* in Iran: Serogroup distributions, virulence factors and antimicrobial resistance properties. *Microbial Pathogenesis*. 2014; (75): 29-34.
24. Johnson JR, Russo TA, Tarr PI, Carlino U, Bilge SS, Vary JC, et al. Molecular epidemiological and phylogenetic associations of two novel putative virulence genes, *iha* and *iroNE*. *coli*, among *Escherichia coli* isolates from patients with urosepsis. *Infection and immunity*. 2000;68(5):3040-7.



Original Article

Detection of Virulence Genes in Uropathogenic *E. coli* (UPEC) Strains by Multiplex-PCR Method

Mohammadi J, Amini K*

Department of Microbiology, School of Basic Sciences, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran

Received: 25 Apr 2016

Accepted: 30 Sep 2016

Abstract

Background & Objectives: Urinary tract infection caused by *E. coli* is one of the most common illnesses in all age groups worldwide. Presence of virulence genes is a key factor in bacterial pathogens in uroepithelial cells. The present study was performed to detect *iha*, *iroN*, *ompT* genes in the Uropathogenic *E.coli* isolates from clinical samples using multiplex-PCR method in Kerman.

Materials & Methods: In this descriptive cross-sectional study, 200 samples of patients with urinary tract infections in Kerman hospitals were collected. After biochemical and microbiological tests, all strains were tested with regard to the presence of *iha*, *iroN*, and *ompT* genes using multiplex-PCR method.

Results: The results of Multiplex-PCR showed that all specimens had one, two, or three virulence genes simultaneously. The highest and lowest frequency distribution of genes was related to *iha* (56.7%) and *iroN* (20%) respectively.

Conclusion: According to the prevalence of urinary tract infection in the community and distribution of resistance and virulence factors, the fast and accurate detection of the strains and virulence genes is necessary.

Keywords: Uropathogenic, *iha*, *iroN*, *ompT*, *E. coli*

*Corresponding author: Kumarss Amini, Department of Microbiology, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran
E.mail: dr_kumarss_amini@yahoo.com