مقاله پژوهشی

شناسایی ژن‌های بیماری‌زایی در سویه‌های اوروپاتوژنیک *اشریشیا کلی* (UPEC) به روش Multiplex-PCR

جواد محمدی، کیومرث امینی*

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

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۵/۰۲/۰۶ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۵/۰۷/۰۹

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 به‌منظور شناسایی ژن‌های *iha*، *iroN* و *ompT* در جدایه‌های *اشریشیا کلی* اوروپاتوژنیک جداشده 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 ازنظر وجود ژن‌های فاکتور بیماری‌زایی به روش Multiplex-PCR ارزیابی شدند.

نتایج: نتایج Multiplex-PCR نشان داد که ۱۰۰٪ نمونه‌ها دارای یک یا دو و یا هر سه ژن بیماری‌زایی به‌صورت هم‌زمان می‌باشند. بیشترین توزیع فراوانی مربوط به ژن *iha* با ۵۶/۷٪ 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: *ompT*،*iroN*، *iha*، اوروپاتوژنیک ، اشریشیا کلی

مقدمه

اشریشیاکلی (*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. *اشریشیا کلی* عامل بیش از ۹۰-۸۰ 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 ازجمله عوامل خطرساز جهت ایجاد این نوع 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 *اشریشیاکلی* مولد عفونت ادراری (UPEC) دارای فاکتورهای ویرولانس متعددی هستند. از میان تمامی فاکتورهای بیماری‌زایی در باکتری، فیمبریه P(*pap*)، فیمبریه S(*sfa*)، فیمبریه مرتبط بااتصال باکتری (*afa*)، همولیزین (*hly*)، فاکتور نکروزان سایتوتوکسیک (*cnf-1*)، آئروباکتین (*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 ویرولانس مذکور سبب چسبندگی و تهاجم *اشریشیا 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

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

فاکتورهای ویرولانس 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 ویرولانس با دو عملکرد است که هم به‌عنوان گیرنده سیدروفور و هم در پروتئین‌های غشای خارجی (OMP) به‌عنوان 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* به‌واسطه تولید ترکیبات شلاته کننده آهن مانند آئروباکتین با پروتئین‌های شلاته کننده آهن موجود در بدن رقابت کرده و آهن را از آن‌ها می‌گیرد. ژن *aer* سیدروفور آئروباکتین را کد می‌کند. تاکنون بیش از ۵۰۰ نوع سیدروفور شناسایی شده است. انتقال کمپلکس فریک-سیدروفور از غشای خارجی *اشریشیاکلی* وابسته به انرژی تولیدشده از طریق نیروی محرکه پروتون (PMF) و کمپلکس پروتئینی TonB-ExbB-ExbD انجام می‌گیرد. در شرایط کمبود آهن سیدروفوری بنام انتروباکتین از *اشریشیاکلی* و چندین گونه از اعضای خانواده انتروباکتریاسه به محیط ترشح شده که به پروتئین غشای خارجی بنام FepA متصل شده و به‌وسیله آن در فضای پری پلاسمیک آزاد می‌گردد. FepB پروتئینی در فضای پری پلاسمیک بوده که به کمپلکس فریک-انتروباکتین 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 ویرولانس 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 جداشده ضروری به نظر می‌رسد. لذا مطالعه حاضر به‌منظور ردیابی ژن‌های بیماری‌زای کد کننده پروتئاز خارج سلولی (*ompT*)، رسپتورسیدروفور (*iroN*) و *iha* در سویه‌های *اشریشیاکلی* جداشده از عفونت‌های ادراری (UPEC) به‌دست‌آمده از بیمارستان‌های شهر کرمان به روش Multiplex-PCR است.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه توصیفی-مقطعی، در بازه زمانی شش‌ماهه از ابتدای مرداد لغایت انتهای دی‌ماه ۱۳۹۴، تعداد ۲۰۰ نمونه ادرار به روش Mide-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. به‌منظور جداسازی سویه‌های *اشریشیاکلی*، هرکدام از نمونه‌ها به‌طور مجزا بر روی محیط‌های افتراقی شامل مک 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،

جدول ۱- توالی اولیگونوکلئوتیدی پرایمرهای مورد استفاده

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

سیمون سیترات، اوره آز، تولید H_2S، تست تخمیر قندها و احیای نیترات استفاده شد. از سویه رفرنس *اشریشیاکلی* ATCC 25922 به‌عنوان کنترل کیفی استفاده گردید.

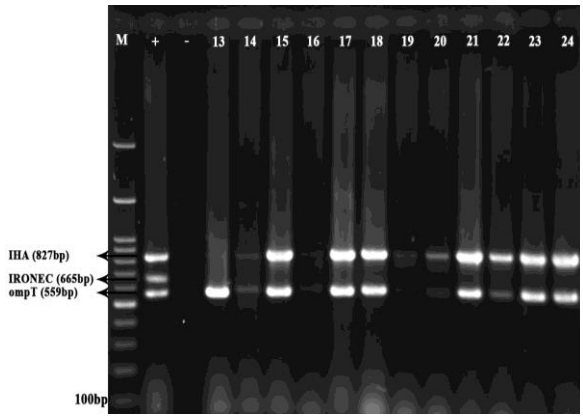
به‌منظور انجام Multiplex-PCR، استخراج DNA ژنومی سویه‌ها از کشت ۲۴ ساعته در محیط لوریا برتانی براث (مرک، آلمان) در ۳۷ درجه سلسیوس استفاده شد. استخراج طبق دستورالعمل کیت استخراج سیناژن (Cinna Pure DNA KIT- PR881613) (البرز، ایران) انجام گردید. برای تکثیر ژن‌های *iha*، *iroN* و *ompT* از توالی‌های اختصاصی الیگونوکلئوتیدی پرایمرهای موجود در جدول ۱ و تهیه شده از شرکت سیناکلون (تهران، ایران) استفاده شد (جدول ۱). جهت تائید 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)، $MgCl_2$ (mM) و dNTPs (0.4mM) 0.8، میکرولیتر از هر یک از پرایمرها به غلظت ۰/۸ میکرومولار (سیناکلون، ایران)، 0.6 میکرولیتر از DNA الگو (۱۰ نانوگرم) و ۱۴/۱ 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 طویل 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 استاندار *اشریشیا کلی* ATCC 25922 آنالیز گردید.

نتایج

نتایج مطالعات اکسیداز، TSI، KIA، سیترات، 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 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 (٪) ژن هدف			تعداد کل سویه
ompT	*iroN*	*iha*	
۱۴(۲۳٪/۳)	۱۲(۲۰٪)	۳۴(۵۶٪/۷)	۶۰



شکل ۱- نتیجه تکثیر ژن‌های موردبررسی. 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 اخذشده از بیماران، باندهای 559 bp، ۶۶۵bp و 827 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 ویرولانس است (۱۷). لذا، شناخت بهتر از خصوصیات ویرولانس ارگانیسم 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 *iroN*, *ompT* و *iha* در *اشریشیا کلی* اوروپاتوژنیک

با روشMultiplex 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) بامطالعه بر روی سویه‌های UPEC نشان دادند که فراوانی ژن‌های *ompT* و *iha* به ترتیب برابر ۴٪/۸۷ و ۱۷/۸۸٪ است که بامطالعه 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 بامطالعه 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* جداشده از دستگاه تناسلی زنان اعلام نمودند که میزان شیوع ژن‌های *fimH, iucD, iroN* 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 درنتیجه منشأ نمونه (ادرار در مقابل نمونه دستگاه تناسلی) است. در تحقیق صفرپور 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 *اشریشیا 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 درنتیجه 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 مقاومت ضد میکروبی *اشریشیا کلی* جداشده 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 *اشریشیا کلی* جداشده 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 ارائه‌شده با مطالعات پیشین می‌تواند در تعداد و نوع نمونه‌های بالینی و یا منطقه جغرافیایی در بین مطالعات ذکرشده 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 *اشریشیاکلی* 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 منافعی را اعلام نکرده‌اند.

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 entrotoxigenic 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): 6811-6.
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

Journal of Fasa University of Medical Sciences 7 (2017): 128-133