تحقیقی

ارتباط گروه‌های فیلوژنتیکی با توزیع ژن‌های ویرولانس در ایزوله‌های اشریشیاکلی جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری

حسینعلی عبدی[۱]، دکتر احمد راشکی*[۲]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه زابل.

۲- استادیار میکروب شناسی و ژنتیک مولکولی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل.

چکیده

زمینه و هدف : *سویه‌های اشریشیاکلی یوروپاتوژنیک (UPEC) بیشترین عامل ایجاد کننده عفونت‌های دستگاه ادراری هستند. این سویه‌ها به دلیل داشتن عوامل ویرولانس خاصی از جمله fimH ، iucD ، iroN و hlyA توانایی ایجاد بیماری در مجاری ادراری را دارند. این مطالعه به منظور تعیین فراوانی ژن‌های کدکننده عوامل ویرولانس و ارتباط آنها با گروه فیلوژنتیکی در اشریشیاکلی جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری انجام شد.*

روش بررسی : *این مطالعه توصیفی تحلیلی روی ۱۰۰ ایزوله اشریشیاکلی جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری انجام شد. پس از استخراج DNA از نمونه‌ها به روش جوشاندن، حضور ژن‌های کدکننده عوامل ویریولانس به روش multiplex-PCR بررسی شد. علاوه بر آن تعیین گروه‌های فیلوژنتیکی شامل A ، B1 ، B2 و D بااستفاده از حضور یا عدم حضور ژن‌های chuA و yjaA و قطعه TspE4.C2 به روش triple-PCR انجام گردید.*

یافته ها : *مقادیر ژن‌های ویرولانس fimH ، iucD ، iroN و hlyA به ترتیب ۹۵درصد، ۶۹درصد، ۲۹درصد و ۳۲درصد و مقادیر گروه‌های فیلوژنی A ، B1 ، B2 و D در بین ایزوله‌ها به ترتیب ۱۷درصد، ٦درصد، ۵۵درصد و ۲۲درصد تعیین شد. بین حضور ژن‌های کدکننده عوامل ویریولانس و گروه فیلوژنتیک B2 ارتباط آماری معنی‌داری یافت شد (P<۰/۰۵).*

نتیجه‌گیری : *ژن‌های ویرولانس در بین ایزوله‌های گروه B2 گسترش زیادی نسبت به سایر گروه‌های فیلوژنتیکی دارد.*

کلید واژه‌ها : *عفونت ، دستگاه ادراری ، اشریشیاکلی ، ژن‌های ویرولانس ، گروه‌های فیلوژنیک*

* نویسنده مسؤول : دکتر احمد راشکی ، پست الکترونیکی ah_rashki@usal.es

نشانی : زابل، دانشگاه زابل، دانشکده دامپزشکی، گروه پاتوبیولوژی، تلفن ۳۱۲۳۲۲۵۰-۰۵٤ ، نمابر ۳۱۲۳۲۲۵۱

وصول مقاله : ۱۳۹۳/۱/۱۸ ، اصلاح نهایی : ۱۳۹۳/٤/۲۹ ، پذیرش مقاله : ۱۳۹۳/۷/۱۵

مقدمه

عفونت دستگاه ادراری (UTI) یکی از شایع‌ترین بیماری‌های عفونی باکتریایی است که در تمام سنین بروز می‌کند. باکتری اشریشیاکلی خارج روده‌ای عامل اصلی ۸۰-۵۰ درصد از این عفونت‌هاست (۳-۱). عفونت ادراری از نظر میزان شیوع دومین نوع عفونت باکتریال بوده که بروز آن در جنس مؤنث بسیار بیشتر از جنس مذکراست (۴و۵). این بیماری با عفونت مثانه شروع می شود؛ اما اغلب به کلیه‌ها توسعه می‌یابد و سرانجام ممکن است منجر به نارسایی کلیوی گردد (۶). سویه‌های اشریشیاکلی مولد عفونت ادراری یا اشریشیاکلی یوروپاتوژنیک(UPEC) از سویه‌های غیربیماری‌زا با کسب عوامل ویریولانس جدید به روش انتقال افقی DNA اغلب به وسیله خوشه‌های (جزایر پاتوژنیک) واقع در سطح کروموزومی یا پلاسمیدی توانایی ایجاد بیماری را در اندام‌های خارج روده‌ای دارند (۹-۷). این سویه‌ها عوامل ویرولانس مهمی از جمله ادهسین‌ها (fimH, pap, sfa/foc)، سیدروفورها (iroN و iucD) و سیتوتوکسین‌ها (cnf1) را حمل می‌کنند که به پیشرفت و توسعه بیماری کمک می‌کند (۱۰و۱۱). توانایی اتصال سویه‌های UPEC به بافت‌های میزبان یکی از مهم‌ترین عواملی است که کلونیزاسیون این باکتری را در مجاری ادراری تسهیل نموده و به باکتری اجازه می‌دهد تا جریان فشاری ادرار را تحمل کرده و بتواند به سلول‌های پوششی حمله کند (۱۲). ادهسین (fimH) برای جذب باکتری به داخل سلول‌های پوششی مثانه لازم است (۱۳و۱۴). آئروباکتین (iucD و iroN) عامل باکتریایی شلاته‌کننده آهن است که در باکتری اشریشیاکلی دیده می‌شود و این عامل بیماری‌زا

باکتری را قادر می‌سازد تا بتواند آهن مورد نیاز خود را در محیط‌های فقیر از آهن مانند دستگاه ادراری به‌دست آورد (۱۵). همولیزین (hlyA) با تخریب غشای پلاسمایی گلبول‌های قرمز باعث تخریب این سلول‌ها می‌شود. این فعالیت علاوه بر بیماری‌زایی، در شرایط کمبود آهن موجب افزایش غلظت آهن و بهبود شرایط برای رشد باکتری می‌شود (۱۶و۱۷). مطالعات فیلوژنتیک نشان داده است که باکتری اشریشیاکلی در چهار گروه اصلی A، B1، B2 و D قرار می‌گیرد. در این میان سویه‌های خارج روده‌ای بیماری‌زا اساساً در گروه B2 و به مقدار کمتر در گروه D و سویه‌های کومنسال متعلق به گروهA و B1 هستند (۱۸و۱۹). آنالیز فیلوژنتیکی توسط سه مارکر شامل ژن‌های chuA (ضروری برای کد کردن پروتئین انتقال آهن) (۱۸و۲۰و۲۱) و yjaA (کد کردن پروتئینی با فعالیت ناشناخته در ابتدای شناسایی توالی باکتری اشریشیاکلی K-12) و یک قطعه DNA به نام TSPE4.C2 انجام می‌شود (۱۸). توزیع ژن‌های مختلف بیماری‌زا سویه‌های خارج روده‌ای متعلق به این چهار گروه متفاوت است (۱۵). اگرچه مطالعاتی راجع به درصد ژنی عوامل ویرولانس اشریشیاکلی مولد عفونت ادراری در ایران انجام شده است؛ اما فراوانی این ژن‌ها بین ایزوله‌های مربوط به گروه‌بندی فیلوژنتیکی کمتر مورد توجه قرار گرفته است. لذا این مطالعه به منظور تعیین فراوانی ژن‌های کدکننده عوامل ویرولانس و ارتباط آنها با گروه فیلوژنتیکی در اشریشیاکلی های جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه توصیفی تحلیلی به صورت مقطعی روی ۱۰۰ ایزوله اشریشیاکلی جدا شده از ۱۸۵ نمونه ادرار بیماران مبتلا به عفونت ادراری بستری در بیمارستان‌های منطقه سیستان و بیماران مراجعه کننده به آزمایشگاه‌های شهر زابل طی مردادماه تا آذرماه ۱۳۹۲ انجام شد.

نمونه‌های ادرار از قسمت میانی جریان ادرار تهیه و در ظرف استریل جمع‌آوری و با استفاده از لوپ استاندارد بر روی محیط‌های آگار خوندار مکانیکی و EMB در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت کشت داده شد. سپس کلنی‌ها شمارش گردید و نمونه‌هایی که تعداد کلنی رشد کرده آنها برابر یا بیش از 10^5 بود؛ از نظر ابتلا به عفونت ادراری مثبت تلقی شد. سپس آزمایش‌های بیوشیمیایی مانند اکسیداز، تخمیر قندها، حرکت، ایندول، اوره‌آز، احیای نیترات، MR، VP، H2S و سیمون سیترات انجام گردید. در نهایت تعداد ۱۰۰ ایزوله اشریشیاکلی جدا شد.

استخراج DNA ژنومی ایزوله‌های اشریشیاکلی به روش جوشاندن انجام شد. به‌طوری که تعداد چند کلنی باکتری از محیط جامد مکانیکی به لوله حاوی ۵ میلی‌لیتر محیط براث LB منتقل و به‌مدت ۲۴-۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری شد. سپس لوله حاوی سلول‌های باکتری با دور ۵۰۰۰ در دقیقه سانتریفوژ گردید. رسوب حاصله با یک میلی‌لیتر محلول PBS یک درصد حل و به میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتری منتقل شد و دوبار با محلول PBS یک درصد شستشوی داده شد. در نهایت ۲۰۰ میکرولیتر به رسوب اضافه و پس از ورتکس کردن، میکروتیوب‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در بن‌ماری جوش (۱۰۰ درجه سانتی گراد) قرار گرفت. سپس میکروتیوب‌ها به مدت ۳ دقیقه با ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. محلول رویی حاوی DNA ژنومی باکتری برای انجام واکنش PCR استفاده شد. وجود DNA در مایع رویی با استفاده از اسپکتروفتومتر و با بررسی جذب در ۲۶۰ nm بررسی گردید.

برای شناسایی وجود ژن‌های کدکننده عوامل حدت (fimH، iucD، iroN و hlyA) در ایزوله‌های اشریشیاکلی جداشده از پرایمرهای جدول یک و تکنیک Multiplex-PCR استفاده شد. واکنش PCR با استفاده از دستگاه ترموسایکلر اپندورف انجام گردید. برای انجام فرایند PCR آنزیم Master Mix RED 2× از شرکت پیشگام خریداری شد. در این واکنش ۲ میکرولیتر از DNA الگو ۱۲/۵ میکرولیتر از Master Mix RED 2× و یک میکرولیتر از پرایمرهای Forward و Reverse (۲۰ پیکو مول در میکرولیتر) را با یکدیگر مخلوط نمودیم و حجم نهایی با آب مقطر دوبار تقطیر به ۲۵ میکرولیتر رسانده شد. برنامه اجرایی سیکل‌های PCR واجد مراحل زیر بود.

واسرشتگی (denaturation) اولیه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه و سپس ۳۵ سیکل تکثیر شامل واسرشتگی در ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و اتصال پرایمرها (annealing) به DNA الگو در ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت

جدول ۱ : توالی پرایمرهای مورد استفاده

ژن	توالی پرایمر (۵ به ۳)	اندازه (bp)
hlyA	*F- GTTAGCGGGTGTCACCAGAAAT* *R- GTGTGATTACCCTGCCGTCTTT*	*1361*
iroN	*F- CGGTTCCTGGCACGAATATCAT* *R- TTTTGGGATTTCCCCAACCTGG*	*1048*
iucD	*F- ATGGCATCACTGCCGATTCTTT* *R- AGTGAGTTAAAGCAGCAGCCTC*	*534*
fimH	*F- ATTCCTCACAATCAGCGCACTT* *R- ATCAGCAGTACAGCAAACAGGG*	*170*

جدول ۲ : توزیع ژن‌های کدکننده عامل حدت در ایزوله‌های متعلق به گروه‌های فیلوژنتیکی

Phy. gp (No.)	hlyA (32)	iroN (29)	iucD (69)	fimH (95)
A (17)	۰	۳	۱۱	۱۲
B1 (6)	۱	۲	۲	٦
B2 (55)	۲۹	۲۲	٤٦	٥٥
D (22)	۲	۲	۱۰	۲۲

۵۰ ثانیه و طویل شدن رشته الگو (extension) در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۰ ثانیه و طویل شدن نهایی (final extension) به مدت ۷ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد انجام شد. پس از انجام واکنش ۵ میکرولیتر از محصولات واکنش در ژل آگارز ۲درصد به مدت ۴۰ دقیقه تحت تاثیر ولتاژ ۷۵ الکتروفورز شد و قطعات تکثیر شده با استفاده از نشانگر Ladder 100 ارزیابی گردید (شکل یک).

تعیین فیلوژنتیکی ایزوله‌های اشریشیاکلی جمع‌آوری شده با استفاده از روش ذکر شده در سال ۲۰۰۰ توسط Clermont و همکاران انجام شد (۱۸). پس از استخراج DNA ژنومی ایزوله‌های اشریشیاکلی، حضور یا عدم حضور ژن‌های مارکر chuA، yjaA و قطعه TspE4.C2 با استفاده از تکنیک Triple-PCR و پرایمرهای جدول یک ارزیابی شد. برنامه Triple-PCR به صورت یک سیکل ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۰ سیکل ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و یک سیکل ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه انجام گردید.

گروه‌بندی فیلوژنتیکی براساس وجود یا عدم وجود باندهای تکثیری ژن‌های فوق به شرح زیر انجام شد (۱۸).

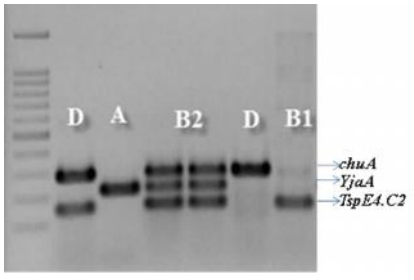
گروه B2 (chuA+, yjaA+ و TspE4.C2±)

گروه D (chuA+, yjaA− و TspE4.C2±)

گروه B1 (chuA−, yjaA± و TspE4.C2+)

گروه A (chuA−, yjaA± و TspE4.C2−)

داده ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-15 و آزمون دقیق فیشر تجزیه و تحلیل شدند. مقادیر کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی شد.



شکل ۱ : تصویر الکتروفورز ژل آگارز
M مارکر ۱۰۰ جفت بازی، ایزوله‌های مثبت برای ژن‌های chuA ، yjaA و TspE4.C2

یافته‌ها

مقادیر ژن‌های hlyA، iroN، iucD و fimH در میان ۱۰۰ ایزوله اشریشیاکلی به ترتیب ۳۲ درصد، ۲۹ درصد، ۶۹ درصد و ۹۵ درصد تعیین شد. بین سویه‌های مورد بررسی ژن fimH بیشترین درصد فراوانی را به خود اختصاص داد و ژن‌های کدکننده آئروباکتین (iucD)، رسپتور سیدروفور (iroN) و همولیزین (hlyA) به ترتیب در رده‌های بعدی قرار گرفتند.

از ۱۰۰ ایزوله اشریشیاکلی جمع‌آوری شده ۱۷ درصد در گروه A، ۶ درصد در گروه B1، ۵۵ درصد در گروه B2 و ۲۲ درصد در گروه D قرار گرفتند.

بیشترین توزیع ژن‌های کدکننده عوامل ویریولانس مربوط به ایزوله‌های گروه B2 بود. درصد ژن‌های hlyA، iroN، iucD و fimH در بین ایزوله‌های گروه B2 به ترتیب ۹۰/۲۵درصد، ۷۵/۸۶ درصد، ۶۶/۶۶ درصد و ۵۷/۹ درصد مشاهده شد (جدول ۲).

توزیع ژنی در تمام گروه‌های فیلوژنی مشاهده شد؛ بجز ژن hlyA که در گروه A مشاهده نگردید. میزان درصد ژن fimH در بین تمام ایزوله‌های مربوط به گروه‌های فیلوژنی A ، B1، B2 و D به ترتیب ۱۲ درصد، ۶ درصد، ۵۵ درصد و ۲۲ درصد بود. فراوانی ژن hlyA در ایزوله‌های گروه B2 نسبت به سایر ایزوله‌های گروه‌های فیلوژنی بالاتر بود (جدول ۲) (P<۰/۰۰۰۲).

بحث

در این مطالعه ۹۵ درصد از ایزوله های اشریشیاکلی حداقل یکی از انواع ژن‌های کدکننده عوامل ویریولانس را دارا بودند. میزان درصد ژن‌های کدکننده عوامل ویریولانس آئروباکتین (iucD)، سیدروفور (iroN) و همولیزین (hlyA) در بین ایزوله‌های اشریشیاکلی به ترتیب ۶۹درصد، ۲۹ درصد و ۳۲ درصد بود که این مقادیر با نتایج مطالعات Tarchouna و همکاران (۲۲) و Rijavec (۲۳) مطابقت ندارد.

در مطالعه حاضر ژن fimH در ۹۵درصد از ایزوله‌های اشریشیاکلی مولد عفونت‌های ادراری مشاهده گردید که با مطالعات کریمیان و همکاران (۲۴) و ممتاز و همکاران (۱۰) مطابقت دارد. فراوانی ژن hlyA در مطالعه حاضر کمتر از نتایج مطالعه کریمیان و همکاران (۲۴) و بیشتر از نتایج مطالعه فرشاد و امام‌قریشی (۲۵) بود. دلیل آن را می‌توان تفاوت در تعداد و محل جغرافیایی ایزوله‌ها ذکر کرد.

در مطالعه حاضر گروه‌های فیلوژنتیکی ایزوله‌های اشریشیاکلی به ترتیب گروه A (۱۷ درصد)، B1 (۶ درصد)، B2 (۵۵ درصد) و D (۲۲ درصد) تعیین شد که تقریباً نزدیک به نتایج مطالعات Sannes و همکاران (۲۶)، Clermont و همکاران (۱۵) و Bashir و همکاران (۱۱) بود و با مطالعات علیزاده و همکاران (۲۷) و Kilic و Basustaoglu (۲۸) تفاوت داشت. می‌توان یکی از علل تفاوت نتایج مطالعه حاضر با دو مطالعه فوق را به خاطر متفاوت بودن منطقه جغرافیایی مورد مطالعه و تفاوت در تعداد ایزوله‌ها عنوان کرد.

در مطالعه حاضر ژن fimH در تمام نمونه‌های مربوط به گروه‌های فیلوژنی B1، B2 و D مشاهده شد. حضور مولکول‌های ادهسین در باکتری اشریشیاکلی مولد عفونت ادراری مهم‌ترین شاخص بیماری‌زایی آن است؛ اما نقش بیماری‌زایی فیمبریا نوع ۱ (fim) در انسان نامشخص است (۲۹و۳۰). مقایسه فراوانی ژن کدکننده همولیزین (hlyA) در ایزوله‌های مربوط به گروه‌های فیلوژنتیکی نشان می‌دهد که فراوانی این ژن در ایزوله‌های مربوط به گروه B2 به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر گروه‌ها است. تحقیقات مختلف نشان داده حضور این ژن در ایزوله‌های مولد عفونت‌های ادراری باعث عبور بهتر آنها از سد مخاطی مثانه و افزایش توانایی آنها در ایجاد سیستیت می‌شود (۲۹و۳۱). تنوع فراوانی ژن hlyA در ایزوله‌های گروه‌های فیلوژنتیکی ممکن است به دلیل تفاوت در جمعیت بیماران مورد مطالعه و تنوع ژنتیکی سویه‌های مورد بررسی باشد.

نتیجه‌گیری

ژن‌های ویرولانس در بین ایزوله‌های گروه B2 گسترش زیادی نسبت به سایر گروه‌های فیلوژنتیکی دارد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از پایان‌نامه حسینعلی عبدی برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته ژنتیک از دانشگاه زابل بود. بدین‌وسیله از اساتید و کارکنان دانشکده دامپزشکی و گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم دانشگاه زابل که امکانات لازم را برای انجام این تحقیق فراهم نمودند؛ سپاسگزاری می‌نماییم.

References

1. Farrell DJ, Morrissey I, De Rubeis D, Robbins M, Felmingham D. A UK multicentre study of the antimicrobial susceptibility of bacterial pathogens causing urinary tract infection. J Infect. 2003 Feb; 46(2):94-100.

2. Ha US, Kim ME, Kim CS, Shim BS, Han CH, Lee SD, et al. Acute bacterial prostatitis in Korea: clinical outcome, including symptoms, management, microbiology and course of disease. Int J Antimicrob Agents. 2008 Feb;31 Suppl 1:S96-101.

3. Kahlmeter G. The ECO.SENS Project: a prospective, multinational, multicentre epidemiological survey of the prevalence and antimicrobial susceptibility of urinary tract pathogens--interim report. J Antimicrob Chemother. 2000 Sep; 46 (Suppl 1):15-22.

4. Kulkarni R, Dhakal BK, Slechta ES, Kurtz Z, Mulvey MA, Thanassi DG. Roles of putative type II secretion and type IV pilus systems in the virulence of uropathogenic Escherichia coli. PLoS One. 2009;4(3):e4752.

5. Fihn SD, Boyko EJ, Chen CL, Normand EH, Yarbro P, Scholes D. Use of spermicide-coated condoms and other risk factors for urinary tract infection caused by Staphylococcus saprophyticus. Arch Intern Med. 1998 Feb;158(3):281-7.

6. Sorsa LJ, Feldmann F, Hildinger K, Dufke S, Schubert S. Characterization of four novel genomic regions of uropathogenic Escherichia coli highly associated with the extraintestinal virulent phenotype: a jigsaw puzzle of genetic modules. Int J Med Microbiol. 2007 Apr;297(2):83-95.

7. Sorsa LJ, Dufke S, Heesemann J, Schubert S. Characterization of an iroBCDEN gene cluster on a transmissible plasmid of uropathogenic Escherichia coli: evidence for horizontal transfer of a chromosomal virulence factor. Infect Immun. 2003 Jun; 71(6):3285-93.

8. González-Ortiz M, Hernández-González SO, Hernández-Salazar E, Martínez-Abundis E. Effect of oral L-carnitine administration on insulin sensitivity and lipid profile in type 2 diabetes mellitus patients. Ann Nutr Metab. 2008;52(4):335-8.

9. Bronowski C, Smith SL, Yokota K, Corkill JE, Martin HM, Campbell BJ, et al. A subset of mucosa-associated Escherichia coli isolates from patients with colon cancer, but not Crohn's disease, share pathogenicity islands with urinary pathogenic E. coli. Microbiology. 2008 Feb;154(Pt 2):571-83.

10. Momtaz H, Karimian A, Madani M, Safarpoor Dehkordi F, Ranjbar R, et al. Uropathogenic Escherichia coli in Iran: serogroup distributions, virulence factors and antimicrobial resistance properties. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2013 Apr; 12:8.

11. Bashir S, Haque A, Sarwar Y, Ali A, Anwar MI. Virulence profile of different phylogenetic groups of locally isolated community acquired uropathogenic E. coli from Faisalabad region of Pakistan. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2012;11:23.

12. De Gaetano A, Mingrone G, Castagneto M, Calvani M. Carnitine increases glucose disposal in humans. J Am Coll Nutr. 1999 Aug;18(4):289-95.

13. Mulvey MA, Schilling JD, Martinez JJ, Hultgren SJ. Bad bugs and beleaguered bladders: interplay between uropathogenic Escherichia coli and innate host defenses. Proc Natl Acad Sci U S A. 2000 Aug;97(16):8829-35.

14. Gao XF, Chen W, Kong XP, Xu AM, Wang ZG, Sweeney G, et al. Enhanced susceptibility of Cpt1c knockout mice to glucose intolerance induced by a high-fat diet involves elevated hepatic gluconeogenesis and decreased skeletal muscle glucose uptake. Diabetologia. 2009 May;52(5):912-20.

15. Clermont O, Johnson JR, Menard M, Denamur E. Determination of Escherichia coli O types by allele-specific polymerase chain reaction: application to the O types involved in human septicemia. Diagn Microbiol Infect Dis. 2007 Feb; 57(2):129-36.

16. Bien J, Sokolova O, Bozko P. Role of Uropathogenic Escherichia coli Virulence Factors in Development of Urinary Tract Infection and Kidney Damage. Int J Nephrol. 2012; 2012:681473.

17. Slavchev G, Pisareva E, Markova N. Virulence of uropathogenic Escherichia coli. Journal of Culture Collections.

2009; 6(1): 3-9.

18. Clermont O, Bonacorsi S, Bingen E. Rapid and simple determination of the Escherichia coli phylogenetic group. Appl Environ Microbiol. 2000 Oct;66(10):4555-8.

19. Duriez P, Clermont O, Bonacorsi S, Bingen E, Chaventré A, Elion J, et al. Commensal Escherichia coli isolates are phylogenetically distributed among geographically distinct human populations. Microbiology. 2001 Jun;147(Pt 6):1671-6.

20. Mills M, Payne SM. Genetics and regulation of heme iron transport in Shigella dysenteriae and detection of an analogous system in Escherichia coli O157:H7. J Bacteriol. 1995 Jun; 177(11):3004-9.

21. Wyckoff EE, Boulette ML, Payne SM. Genetics and environmental regulation of Shigella iron transport systems. Biometals. 2009 Feb;22(1):43-51.

22. 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 Jun;17(6):e450-3.

23. Rijavec M, Müller-Premru M, Zakotnik B, Zgur-Bertok D. Virulence factors and biofilm production among Escherichia coli strains causing bacteraemia of urinary tract origin. J Med Microbiol. 2008 Nov;57(Pt 11):1329-34. doi: 10.1099/jmm.0.2008/002543-0.

24. 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 Oct; 6(39):6811-6.

25. 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 Jul;20(4):613-7.

26. 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. J Infect Dis. 2004 Dec 15;190(12):2121-8.

27. Alizade H, Ghanbarpour R, Aflatoonian MR, Abdollahi H. Determination of phylogenetic background, fimbrial genes, and antibiotic susceptibility of Escherichia coli isolates from urinary tract infections in Bam region, Iran. Comp Clin Pathol. 2014 Sep; 23(5): 1253-7.

28. Kilic A, Basustaoglu AC. Double triplex real-time PCR assay for simultaneous detection of Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus hominis, and Staphylococcus haemolyticus and determination of their methicillin resistance directly from positive blood culture bottles. Res Microbiol. 2011 Dec;162(10):1060-6.

29. Nowrouzian FL, Wold AE, Adlerberth I. Escherichia coli strains belonging to phylogenetic group B2 have superior capacity to persist in the intestinal microflora of infants. J Infect Dis. 2005 Apr; 191(7):1078-83.

30. Piatti G, Mannini A, Balistreri M, Schito AM. Virulence factors in urinary Escherichia coli strains: phylogenetic background and quinolone and fluoroquinolone resistance. J Clin Microbiol. 2008 Feb; 46(2): 480-7.

31. Keane WF, Welch R, Gekker G, Peterson PK. Mechanism of Escherichia coli alpha-hemolysin-induced injury to isolated renal tubular cells. Am J Pathol. 1987 Feb;126(2):350-7

Original Paper

Relationship between phylogenetic group and distribution of virulence genes of *Escherichia coli* isolated from patients with urinary tract infection

Abdi HA (M.Sc)[1], Rashki A (Ph.D)*[2]

[1]M.Sc Student of Genetics, Department of Biology, Faculty of Basic Science, University of Zabol, Azbol, Iran.
[2]Assistant Professor of Molecular Genetics and Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Physiopathology, University of Zabol, Zabol, Iran.

Abstract

Background and Objective: Uropathogenic strains of *Escherichia coli* (UPEC) are the most common cause of urinary tract infections. UPEC strains possess an arsenal of virulence factors including *fimH, iucD, iroN* and *hlyA* which increase their ability to cause urinary tract infections. This study was done to determine the relationship between phylogenetic group and distribution of virulence genes of *Escherichia coli* isolated from patients with urinary tract infection.

Methods: This descriptive - analytic study was performed on 100 isolates *Escherichia coli* which collected from patients with UTIs. DNA was extracted from all isolates by the boiling method and subsequently DNA was used to determine the presence of genes encoding virulence factors by Multiplex-PCR. In addition, determination of phylogenetic group, A, B1, B2 and D, was performed by determination of present or absent of of *yjaA* and *chuA* genes and DNA fragment TSPE4.C2 using Triple-PCR.

Results: The frequency of virulence factors, *fimH, iucD, iroN* and *hlyA* were 95%, 69%, 29% and 32%, respectively. In all isolates, the frequency of phylogeny of groups A, B1, B2 and D were 17%, 6%, 55% and 22%, respectively. A significant correlation was found between the presence of virulence encoding genes and the B2 phylogenetic group ($P<0.05$).

Conclusion: Virulence genes were common in phylogenetic group B2 isolates among all phylogenetic groups.

Keywords: Infection, Urinary tract, *Escherichia coli*, Virulence genes, Phylogenetic group

*** Corresponding Author: Rashki A (Ph.D), E-mail: ah_rashki@usal.es**

Received 7 Apr 2014 **Revised** 20 Jul 2014 **Accepted** 7 Oct 2014

Cite this article as: Abdi HA, Rashki A. [Relationship between phylogenetic group and distribution of virulence genes of *Escherichia coli* isolated from patients with urinary tract infection]. J Gorgan Uni Med Sci. 2015; 17(2): 92-97. [Article in Persian]