مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و سوم/شماره ۳۶۰/هفته چهارم دی ماه ۱۳۹٤

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۷/۴
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۹/۳۰

ردیابی ژن‌های gyrB، oprL، ETA و 16SrDNA در سویه‌های Pseudomonas aeruginosa جدا شده از نمونه‌های بالینی مراکز درمانی کرج

مهسا عطایی آشتیانی[۱]، دکتر تقی زهرایی صالحی[۲]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: Pseudomonas aeruginosa یکی از عوامل مهم عفونت‌های بیمارستانی به ویژه در بیماران مبتلا به نقص سیستم ایمنی و کودکان است. ژن‌های gyrB، oprL، ETA و 16SrDNA جهت تدوین برنامه‌ی پیش‌گیری و مبارزه، ضروری می‌باشند و فراوانی بیشتری نسبت به سایر ژن‌ها دارند. از این رو، مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی این ژن‌ها با استفاده روش Multiplex-PCR (Multiplex-polymerase chain reaction) انجام شد.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی مقطعی- توصیفی، ۵۵ سویه‌ی Pseudomonas aeruginosa از نمونه‌های بالینی متفاوت جمع‌آوری و بعد از کشت بر روی محیط MacConkey agar و Cetrimide agar و انجام آزمایش‌های بیوشیمیایی تشخیص داده شد. DNA ژنومیک باکتری استخراج شد و توالی‌های هدف مورد نظر با ژن‌های gyrB، oprL، ETA و 16SrDNA تکثیر یافت.

یافته‌ها: آزمون مولکولی نشان داد که میزان فراوانی ژن‌های oprL، ETA، gyrB و 16SrDNA به ترتیب ۹۶/۳۶، ۹۴/۵۰، ۱۰۰ و ۱۰۰ درصد بود.

نتیجه‌گیری: ژن‌های oprL و ETA از حساسیت بیشتر و ویژگی کمتری برای شناسایی Pseudomonas aeruginosa برخوردار است؛ در صورتی که تشخیص این باکتری با استفاده از ژن‌های gyrB و 16SrDNA دارای ویژگی بیشتری است و استفاده‌ی همزمان از ژن‌های gyrB، oprL، ETA و 16SrDNA حساسیت کافی را برای شناسایی Pseudomonas aeruginosa از نمونه‌های بالینی فراهم می‌کند.

واژگان کلیدی: Pseudomonas aeruginosa، 16SrDNA، ژن

ارجاع: عطایی آشتیانی مهسا، زهرایی صالحی تقی. **ردیابی ژن‌های gyrB، oprL، ETA و 16SrDNA در سویه‌های Pseudomonas aeruginosa جدا شده از نمونه‌های بالینی مراکز درمانی کرج.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۶۰): ۲۰۴۸-۲۰۴۳

مقدمه

Pseudomonas aeruginosa به عنوان یک عامل فرصت طلب و مقاوم به اکثر آنتی‌بیوتیک‌ها، در عفونت‌های بیمارستانی نقش مهمی ایفا می‌نماید (۱). این باکتری، در بخش‌های مختلف بیمارستانی، مخازن مرطوب، وان، دستشویی، زمین‌شوی‌ها (تی)، وسایل تنفسی و دیالیز و حتی در محلول‌های ضد عفونی کننده، می‌تواند کلونیزه شود (۱). در غشای خارجی Pseudomonas aeruginosa انواع مختلفی از پروتئین‌ها وجود دارند. بیشترین پروتئین پورینی موجود در غشای خارجی این باکتری، پروتئین F است که کمبود این پروتئین موجب از بین رفتن خاصیت نفوذ پذیری غشای خارجی این باکتری نسبت به یک نوع سفالوسپورین می‌شود (۲).

Pseudomonas aeruginosa محصولات سلولی زیادی تولید می‌کند که به عنوان Adhesions، حفاظت از باکتری در مقابل فاگوسیتوز، تغییر سیستم ایمنی و یا آسیب به بافت‌های میزبان، منجر به ایجاد بیماری می‌گردند (۳). حدود ۹۵ درصد سویه‌های Pseudomonas aeruginosa، توانایی تولید اگزوتوکسین A را دارند. مکانیسم این ماده مانند توکسین دیفتری، موجب توقف سنتز پروتئین از طریق غیر فعال نمودن عامل طویل کننده‌ی ۲- (EF یا Elongation factor) می‌باشد (۵-۴).

oprL از لیپوپروتئین‌های تشکیل دهنده‌ی پمپ‌های تراوش (Efflux pump) در غشای خارجی Pseudomonas aeruginosa به شمار می‌روند که در مقاومت آنتی‌بیوتیکی این باکتری نقش دارند.

۱- کارشناس ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده‌ی علوم پایه، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران
۲- استاد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده‌ی دام‌پزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر تقی زهرایی صالحی
Email: tsalehi@ut.ac.ir

مقاومت ذاتی Pseudomonas aeruginosa، نتیجه‌ی حضور پروتئین oprL است که در سیستم‌های انتقالی و قابلیت نفوذ پذیری سلول باکتری نقش دارد. پروتئین‌های غشای خارجی Pseudomonas aeruginosa، نقش مهمی در واکنش باکتری با محیط دارند و برای شناسایی گونه‌ی Pseudomonas aeruginosa به کار می‌روند (۹-۶، ۲).

ژن 16SrDNA دارای تمام ویژگی‌های مربوط به مطالعات فیلوژنی موجودات است و سطوح مناسبی از توالی حفاظت شده را دارا می‌باشد. این ژن، دارای بزرگ‌ترین پایگاه اطلاعاتی برای مقایسه‌ی ایزوله‌های جدید است (۱۱-۱۰). فلوروکینولون‌ها به عنوان داروی انتخابی در درمان عفونت‌های ناشی از Pseudomonas aeruginosa استفاده می‌شوند. ایجاد مقاومت نسبت به این دسته از آنتی‌بیوتیک‌ها، مهار فعالیت DNA گیراز (توپوایزومراز II) است که با ژن‌های gyrA و gyrB کد می‌شود. موتاسیون کروموزومی در ژن‌های ساختاری DNA گیراز، مهم‌ترین دلیل مقاومت نسبت به فلوروکینولون‌ها می‌باشد (۱۲-۱۱).

در تحقیقی بر روی Pseudomonas aeruginosa، استفاده از ترکیب ۴ ژن oprL، ETA، gyrB و 16SrDNA در روش Multiplex -PCR (Multiplex-polymerase chain reaction) به عنوان روشی با قابلیت اعتماد بالا و تشخیص جامع که برای غربال‌گری عفونت زخم و کمک به درمان مناسب است، معرفی می‌شود (۱۱). هدف این مطالعه، تعیین ژن‌های oprL، ETA، gyrB و 16SrDNA در نمونه‌های Pseudomonas aeruginosa جدا شده از نمونه‌های بالینی بود.

روش‌ها

در این مطالعه‌ی مقطعی- توصیفی، بر اساس مطالعات قبلی و سطح اطمینان ۹۵ درصد و خطای قابل قبول ۰/۰۵، نمونه‌های مختلف بالینی مانند ادرار، خون، زخم و ترشحات ریه از آزمایشگاه‌های کرج و مراکز درمانی شهر کرج در بهار و تابستان سال ۱۳۹۳ جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شد. این نمونه‌ها، بعد از کشت بر روی محیط‌های MacConkey agar و Cetrimide agar در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه گردید و در نهایت، ۵۵ سویه‌ی باکتری Pseudomonas aeruginosa جداسازی شد. بعد از شناسایی و تأیید حضور باکتری Pseudomonas aeruginosa، آزمون‌های بیوشیمیایی، TSI agar (Triple sugar iron agar)، Simmons citrate agar و اکسیداز جهت تأیید نهایی به انجام رسید (۱۵-۱۳).

برای استخراج DNA از کیت باکتری‌های گرم منفی سیناژن (Cinna Pure DNA KIT-PR881613) استفاده گردید. برنامه‌ی آزمون Multiplex-PCR شامل مرحله‌ی دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه، مرحله‌ی دناتوراسیون در دمای ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، مرحله‌ی اتصال در دمای ۵۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۷۰ ثانیه، مرحله‌ی بسط در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه (تعداد ۳۵ چرخه)، مرحله‌ی بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه بود. پرایمرهای مورد استفاده در این آزمون از اطلاعات بانک ژنی (Genbank data base) استخراج و بخشی از ژن انتخاب و با نرم‌افزارهای DNASIS و Oligo، پرایمر بالادست (Forward primer) و پرایمر پایین‌دست (Reverse primer) تأیید شد و سنتز انجام گردید. توالی نوکلئوتیدی پرایمرها در جدول ۱ آمده است (۱۱).

مخلوط‌های استفاده شده جهت انجام واکنش به این شرح بود: آب مقطر ۱۰/۹۵ میکرولیتر، 1X. PCR buffer به میزان ۲ میکرولیتر، $MgCl_2$ به میزان ۰/۸ میکرولیتر، dNTP mix (Deoxynucleotide triphosphate) (۵ Mm) به میزان

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت انجام Multiplex-PCR (Multiplex-polymerase chain reaction)

پرایمر	توالی پرایمر (5’ to 3’)	ژن هدف	اندازه‌ی باند (bp)
gyrB-F	CCTGACCATCCGTCGCCACAAC	gyrB	۲۲۲
gyrB-R	CGCAGCAGGATGCCGACGCC	gyrB	۲۲۲
ETA-F	GACAACGCCCTCAGCATCACCA	ETA	۳۹۷
ETA-R	CGCTGGCCCATTCGCTCCAGCG	ETA	۳۹۷
oprL-F	ATG GAAATGCTGAAATTCGGC	oprL	۵۰۴
oprL-R	CTTCTTCAGCTCGACGCGACG	oprL	۵۰۴
Pa16s-F	GGGGGATCTTCGGACCTCA	16SrDNA	۹۵۶
Pa16s-R	TCCTTAGAGTGCCCACCCG	16SrDNA	۹۵۶

۰/۸ میکرولیتر، پرایمرهای مورد استفاده هر کدام ۰/۶ میکرولیتر، آنزیم Taq polymerase به میزان ۰/۲۵ میکرولیتر، نمونه‌ی DNA ۴ میکرولیتر در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر تهیه گردید. آزمون Multiplex-PCR در دستگاه BIORAD انجام شد. جهت بررسی محصول Multiplex-PCR نمونه‌ها بر روی ژل آگارز ۱ درصد انتقال داده شد و بعد از رنگ‌آمیزی در دستگاه ژل داک BIORAD مورد بررسی قرار گرفت. داده‌های آماری با نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۹ (version 19, SPSS Inc., Chicago, IL) و با استفاده از آزمون‌های آماری توصیفی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت

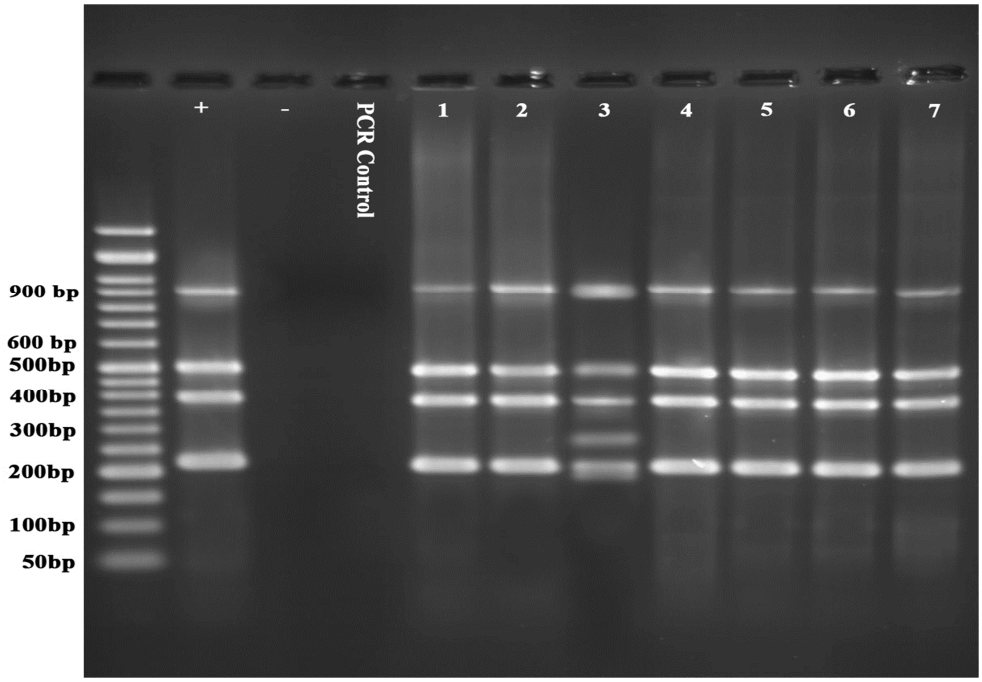
یافته‌ها

این تحقیق بر روی ۵۵ ایزوله‌ی جداسازی شده از بیماران با علایم بالینی انجام گرفت. نوع نمونه‌های بالینی مختلف جمع‌آوری شده در جدول ۲ آمده است. بیشترین تعداد نمونه‌ها مربوط به ادرار (۴۵ درصد) و زخم (۱۸ درصد) بوده است که از بیماران بستری جداسازی گردید. کلونی نمونه‌های خلط و تراشه‌ی رشد یافته بر روی محیط MacConkey agar، به صورت موکوئیدی بود و همزمان کلیه‌ی نمونه‌هایی که بر روی محیط Cetrimide agar کشت داده شده بودند، پیگمان پیووردین (سبز) تولید کرده بودند.

جدول ۲. توزیع فراوانی ایزوله‌های Pseudomonas aeruginosa جدا شده از نمونه‌های بالینی

نوع نمونه	تعداد (درصد) نمونه‌ها
ادرار	۲۵ (۴۵)
زخم	۱۰ (۱۸)
تراشه	۶ (۱۱)
خلط	۵ (۹)
آبسه	۴ (۷)
خون	۳ (۵)
مایعات بدن	۲ (۴)
جمع	۵۵ (۱۰۰)

نتایج حاصل از شناسایی مولکولی به روش Multiplex PCR برای شناسایی ژن‌های gyrB با طول باند ۲۲۲ bp و 16SrDNA با طول باند ۹۵۶ bp در همه‌ی نمونه‌ها (۱۰۰ درصد) شناسایی شد. همچنین، از مجموع نمونه‌ها، ۹۶/۳۶ درصد دارای ژن oprL با طول باند ۵۰۴ bp و ۹۴/۵ درصد واجد ژن ETA با طول باند ۳۹۷ bp بودند (شکل ۱).



شکل ۱. نتایج واکنش PCR (polymerase chain reaction) برای شناسایی ژن‌های oprL، ETA، 16SrDNA که تکثیر ناحیه‌ی ۲۲۲ bp، ۳۹۷ bp، ۵۰۴ bp و ۹۵۶ bp بیانگر مثبت بودن نمونه می‌باشد. به ترتیب، شاهد مثبت، شاهد منفی، شاهد PCR، نمونه‌های Pseudomonas aeruginosa ۷-۱ حاوی ژن‌های مورد بررسی

بحث

در این تحقیق، ژن‌های gyrB و 16SrDNA (به خصوص ژن gyrB) با بیشترین میزان فراوانی در بین ژن‌های مورد استفاده به میزان ۱۰۰ درصد، بیانگر وجود موتاسیون در بین نمونه‌های seudomonas aeruginosa جداسازی شده بود. این امر، نشان دهنده‌ی وجود عوامل عفونی مقاوم به درمان از جمله Pseudomonas aeruginosa به عنوان شایع‌ترین عامل در مراکز درمانی می‌باشد. نجفی مصلح و همکاران، طی مطالعه‌ای با استفاده از PCR به این نتیجه دست یافتند که استفاده از روش Multiplec-PCR، از نظر شناسایی ژن‌های ETA و oprL به ترتیب دارای حساسیت ۶۸ و ۷۰ درصد می‌باشد (۸). در تحقیق حاضر نیز استفاده از این روش به طور کامل اثبات گردید.

Khan و Cerniglia برای اولین بار از اگزوتوکسین A جهت شناسایی Pseudomonas aeruginosa استفاده و مشخص نمودند که ۹۶ درصد نمونه‌ها، دارای ژن ETA بوده‌اند (۱۶). در طی جهت شناسایی Pseudomonas aeruginosa با استفاده از دو ژن ETA و oprL صورت گرفت که فراوانی ژن oprL بیشتر از ETA گزارش گردید (۱۷). نتایج این مطالعات با تحقیق حاضر همخوانی داشت و درصد جداسازی ژن oprL در این بررسی ۹۶/۳۶ و ژن ETA ۹۴/۵ درصد بود. ژن oprL در سیستم‌های انتقالی و یا قابلیت نفوذ پذیری سلول باکتری نقش دارد و جهت تشخیص گونه به کار می‌رود (۲). de Vos و همکاران گزارش دادند که ۸۲ سویه‌ی Pseudomonas aeruginosa جدا شده از عفونت‌های سوختگی همگی واجد ژن oprL بودند. همچنین، این محقق برای اولین بار از ژن OprL برای شناسایی گونه‌ی Pseudomonas aeruginosa استفاده نمود و طبق نتایج به دست آمده، این ژن از حساسیت بسیار بالایی برای شناسایی Pseudomonas aeruginosa برخوردار بوده است (۲).

Xu و همکاران از ژن oprL برای شناسایی سریع Pseudomonas aeruginosa استفاده و بیان نمودند که ژن لیپوپروتئین غشای خارجی Pseudomonas aeruginosa در بیماران مبتلا به فیبروز سیستیک منجر به شناسایی سریع این باکتری می‌شود و در مقایسه با روش کشت دارای ارجحیت است (۱۷).

در بررسی یوسفی مشعوف و همکاران بر روی ژن اگزوتوکسین A سویه‌های Pseudomonas aeruginosa جداسازی شده از زخم سوختگی در همدان، ۹۳/۶۷ درصد سویه‌ها دارای ژن ETA بودند و نتایج حاصل نشان داد که حساسیت روش PCR با واسطه‌ی ژن ETA در شناسایی سویه‌های Pseudomonas aeruginosa قابل توجه است و می‌توان از آن به عنوان یک عامل مؤثر با دقت بالا در تشخیص سویه‌های Pseudomonas aeruginosa استفاده کرد (۱۸).

در مطالعه‌ی امینی و همکاران نیز بیش از ۹۵ درصد سویه‌های Pseudomonas aeruginosa، دارای ژن ETA بود (۶). همچنین، در مطالعه‌ی نیک‌بین و همکاران مشاهده شد که ژن oprL دارای ویژگی پایین و حساسیت بالا در شناسایی Pseudomonas aeruginosa می‌باشد (۹). مقایسه‌ی نتایج سایر مطالعات با تحقیق حاضر، مؤید این نکته می‌باشد که میزان فراوانی این ژن‌ها با توجه به منطقه‌ی جداسازی و یا نوع نمونه، تا حدودی تفاوت دارد، اما از ویژگی بالا جهت تشخیص برخوردار می‌باشد.

در انتها، باید گفت که با توجه به مزایای روش‌های مولکولی نسبت به روش‌های بیوشیمیایی، استفاده از روش‌های مولکولی در تشخیص باکتری‌های مولد عفونت‌های بیمارستانی از جمله Pseudomonas aeruginosa، می‌تواند روش مناسب و سریع در تشخیص عامل عفونت و در نتیجه انتخاب روش صحیح درمان و جلوگیری از عوارض بیشتر عفونت در بیماران شود. همچنین، شناسایی عوامل مؤثر در بیماری‌زایی Pseudomonas aeruginosa می‌تواند در انتخاب روش‌های پیش‌گیری و درمان مناسب عفونت‌های مختلف سودوموناس کاربرد داشته باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان کمال تشکر و سپاسگزاری خود را از کارشناسان آزمایشگاه گروه پژوهشی میکروبیولوژی پاسارگاد به ویژه جناب آقایان دکتر کیومرث امینی، دکتر علیرضا مختاری، مهندس ابوالفضل مقدم و رامین خاکی جوان که در انجام مراحل عملی این تحقیق یاری نمودند، اعلام می‌دارد.

References

1. Girlich D, Naas T, Leelaporn A, Poirel L, Fennewald M, Nordmann P. Nosocomial spread of the integron-located veb-1-like cassette encoding an extended-pectrum beta-lactamase in Pseudomonas aeruginosa in Thailand. Clin Infect Dis 2002; 34(5): 603-11.
2. de Vos D, Lim A, Jr., Pirnay JP, Struelens M, Vandenvelde C, Duinslaeger L, et al. Direct detection and identification of Pseudomonas aeruginosa in clinical samples such as skin biopsy specimens and expectorations by multiplex PCR based on two outer membrane lipoprotein genes, oprI and oprL. J Clin Microbiol 1997; 35(6): 1295-9.
3. Procop GW. Molecular diagnostics for the detection and characterization of microbial pathogens. Clin

Infect Dis 2007; 45(Suppl 2): S99-S111.
4. Armstrong S, Yates SP, Merrill AR. Insight into the catalytic mechanism of Pseudomonas aeruginosa exotoxin A. Studies of toxin interaction with eukaryotic elongation factor-2. J Biol Chem 2002; 277(48): 46669-75.
5. Hussein SN. Detection of Exo A and OPR I genes in Pseudomonas aeruginosa using polymerase chain reaction. Iraqi J Biotech 2013; 12(1): 44-50.
6. Amini B, Kamali M, Zarei Mahmod Abadi A, Mortazavi Y, Ebrahim Habibi A, Bayat E, et al. Cloning of catalytic domain of exotoxin A from Pseudomonas aeruginosa. J Zanjan Univ Med Sci 2010; 18(71): 24-33. [In Persian].
7. Aslani MM, Hahsemipour M, Nikbin VS, Shahcheraghi F, Eidi A, Sharafi Z. PCR identification of Pseudomonas aeruginosa based on two outermembrane lipoprotein oprI, oprL, and exotoxin A gene. Yafteh 2009; 11(2): 21-6. [In Persian].
8. Najafimosleh M, Rashnotaie S, Ghaznavi Rad E, Abtahi H, Taleie Gh. Designing of the specific DNA primers for detection of the exoA, oprL and algD pathogenicity genes for rapid diagnosis of Pseudomonas aeruginosa. Tehran Univ Med J 2013; 71(8): 493-501. [In Persian].
9. Nikbin VS, Aslani MM, Sharafi Z, Hashemipour M, Shahcheraghi F, Ebrahimipour GH. Molecular identification and detection of virulence genes among Pseudomonas aeruginosa isolated from different infectious origins. Iran J Microbiol 2012; 4(3): 118-23.
10. Singh A, Goering RV, Simjee S, Foley SL, Zervos MJ. Application of molecular techniques to the study of hospital infection. Clin Microbiol Rev 2006; 19(3): 512-30.
11. Salman M, Ali A, Haque A. A novel multiplex PCR for detection of Pseudomonas aeruginosa: A major cause of wound infections. Pak J Med Sci 2013; 29(4): 957-61.
12. Daikos GL, Lolans VT, Jackson GG. Alterations in outer membrane proteins of Pseudomonas aeruginosa associated with selective resistance to quinolones. Antimicrob Agents Chemother 1988; 32(5): 785-7.
13. Brooks GF, Butel JS, Morse SA. Jawetz, Melnick, and Adelberg's medical microbiology. 23th ed. New York, NY: McGraw-Hill Medical; 2004. p. 401-7.
14. Farmer JJ, Herman LG. Pyocin typing of Pseudomonas aeruginosa. J Infect Dis 1974; 130(Suppl) :S43-S46.
15. Tang YW, Stratton ChW. Advanced techniques in diagnostic microbiology. New York, NY: Springer; 2006.
16. Khan AA, Cerniglia CE. Detection of Pseudomonas aeruginosa from clinical and environmental samples by amplification of the exotoxin A gene using PCR. Appl Environ Microbiol 1994; 60(10): 3739-45.
17. Xu J, Moore JE, Murphy PG, Millar BC, Elborn JS. Early detection of Pseudomonas aeruginosa--comparison of conventional versus molecular (PCR) detection directly from adult patients with cystic fibrosis (CF). Ann Clin Microbiol Antimicrob 2004; 3: 21.
18. Yousefi Mashouf R, Esmaeili R, Yousef Alikhani M, Ghanbari M. Evaluation of exotoxin A gene and frequency of polymerase chain reaction sensitivity in detection of pseudomonas aeruginosa isolated from burn patients. Tehran Univ Med J 2014; 72(3): 167-73. [In Persian].

Journal of Isfahan Medical School

Vol. 33, No. 360, 4th Week, January 2016

Received: 26.09.2015

Accepted: 21.12.2015

Molecular Detection of the Genes gyrB, oprL, ETA, 16SrDNA in Pseudomonas Aeruginosa Strains Isolated from Clinical Samples of Karaj City Health Centers, Iran

Mahsa Ataee-Ashtiani MSc[1], Taghi Zahraei-Salehi PhD[2]

Original Article

Abstract

Background: Pseudomonas aeruginosa is one of the most important factors for nosocomial infections, particularly in immunosuppressed patients such as children. Study on the genes gyrB, oprL, ETA, 16SrDNA is essential to develop prevention programs; in this study, we tried to the study these genes in an Iranian population using multiplex-polymerase chain reaction (multiplex PCR) method.

Methods: 55 different strains of Pseudomonas aeruginosa from clinical specimens collected from Karaj City Health Centers, Iran, after cultivation on the cetrimid agar and MacConkey agar media were detected via biochemical tests. DNA was extracted from bacterial genomics and the sequencing of target genes gyrB, oprL, ETA, 16SrDNA was amplified.

Findings: Molecular test results showed that the frequencies of oprL, ETA, gyrB and 16SrDNA genes were 96.36, 94.50, 100 and 100 percent, respectively.

Conclusion: The results show that the genes oprL and ETA are more sensitive and less specific for detecting Pseudomonas aeruginosa; but, using the genes gyrB and 16SrDNA has the most specificity. Simultaneous use of the genes oprL, ETA, 16SrDNA and gyrB would provide enough sensitivity to detect Pseudomonas aeruginosa from clinical specimens.

Keywords: Pseudomonas aeruginosa, 16SrDNA, Gene

Citation: Ataee-Ashtiani M, Zahraei-Salehi T. **Molecular Detection of the Genes gyrB, oprL, ETA, 16SrDNA in Pseudomonas Aeruginosa Strains Isolated from Clinical Samples of Karaj City Health Centers, Iran.** J Isfahan Med Sch 2016; 33(360): 2043-8

1- Department of Microbiology, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran
2- Professor, Department of Microbiology, School of Vetrinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
Corresponding Author: Taghi Zahraei-Salehi PhD, Email: tsalehi@ut.ac.ir