مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و سوم/شماره ۳٤۱/هفته اول شهریور ماه ۱۳۹٤
تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۲/۱۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۴/۱۱

ردیابی ژن‌های حدت eae، hly و flich۷ در باکتری اشریشیاکلی جدا شده از نمونه‌های اسهال

یوسف رمضانی[۱]، دکتر مهدی پرویز[۲]، دکتر سعید خلج‌زاده[۳]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: اغلب سویه‌های اشریشیاکلی می‌تواند موجب بیماری‌های روده‌ای و خارج روده‌ای شوند. بیماری‌های ناشی از (EHEC) Enterohemorragic Escherichia coli سویه‌ی O157:H7 رو به افزایش است؛ به طوری که امروزه، در کشورهای توسعه یافته، به عنوان سومین عامل ایجاد اسهال قرار گرفته است. هدف از این مطالعه، بررسی ژن‌های حدت eae، hly و flich۷ در باکتری اشریشیاکلی جدا شده از نمونه‌های اسهال بود.

روش‌ها: پس از جمع آوری ۵۵ نمونه‌ی اسهال انسانی از بیمارستان‌های شهر تهران، آزمایش‌های مختلف میکروبی و شیمیایی انجام و باکتری اشریشیاکلی جداسازی و DNA جدایه‌ها با استفاده از روش Multiplex polymerase chain reaction (Multiplex PCR) استخراج گردید.

یافته‌ها: از مجموع ۵۵ نمونه‌ی انسانی، ۳۴ نمونه (۶۱/۸ درصد) دارای ژن flich۷، ۱۱ نمونه (۲۰/۰ درصد) دارای ژنhly و ۴ نمونه (۷/۲ درصد) دارای ژن eaeA بود.

نتیجه‌گیری: تفاوت مشاهده شده در میزان شیوع در این تحقیق نسبت به سایر تحقیقات می‌تواند به علت سن افراد، نوع نمونه، محل جغرافیایی، نوع رژیم غذایی، روش‌های شناسایی و جدا سازی باکتری، وضعیت بهداشت فردی و حتی فصول سال باشد.

واژگان کلیدی: O157:H7، اشریشیاکلی، (EHEC) Enterohemorragic Escherichia coli

ارجاع: رمضانی یوسف، پرویز مهدی، خلجزاده سعید. **ردیابی ژن‌های حدت eae، hly و flich۷ در باکتری اشریشیاکلی جدا شده از نمونه‌های اسهال.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۴۱): ۱۰۴۳-۱۰۳۷

مقدمه

اشریشیاکلی شایع‌ترین باکتری جدا شده در آزمایشگاه‌های میکروب‌شناسی بالینی از نمونه‌های مدفوع و دستگاه ادراری است که عامل اصلی عفونت‌های روده‌ای و خارج روده‌ای می‌باشد (۲-۱). در خلال دو دهه‌ی گذشته، بیماری ناشی از EHEC (Enterohemorragic Escherichia coli) افزایش یافته است؛ به طوری که امروزه در کشورهای توسعه یافته از نظر ایجاد اسهال پس از کمپیلوباکتر، سالمونلا و شیگلا قرار گرفته‌اند. در سال‌های اخیر، مرکز کنترل و پیشگیری بیماری‌ها (Center for Disease Control یا CDC) خاطرنشان ساخته است که EHEC سالانه بیش از ۲۰۰۰۰ مورد در آمریکا رخ می‌دهد و تنها حدود ۲۵۰ مورد منجر به مرگ می‌شود.

۱- کارشناس ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ساوه، ساوه، ایران
۲- مربی، گروه میکروبیولوژی، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ساوه، ساوه، ایران
۳- استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ساوه، ساوه، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: یوسف رمضانی
Email: uosef.ramezani.ac@gmail.com

منشأ سویه‌های EHEC آب، غذای گوشتی، انواع فرآورده‌های دامی، آبمیوه و ماست می‌باشند. نشخوار کنندگان به ویژه گاو و گوسفند نیز از مخازن طبیعی EHEC می‌باشند. به نظر می‌رسد که حضور سویه‌های EHEC در سال‌های اخیر در ایران افزایش داشته است و نباید به سادگی به فراموشی سپرده شود (۴-۳). موارد عفونت بدون علامت با اشریشیاکلی O157:H7 در موارد اپیدمی‌ها، اغلب قابل تشخیص است (۶-۵). مطالعات نشان می‌دهد که ۶۱-۳۸ درصد از عفونت‌های روده‌ای منجر به کولیت هموراژیک می‌شوند (۹-۷). اتصال تنگاتنگ سویه‌های (Enteropathogenic Escherichia coli) EPEC به سلول‌های اپیتلیال توسط یک پروتئین به نام اینتیمین (eae) انجام می‌شود. بررسی ژن eae نشان داده است که انواع متعددی از ژن‌های eae وجود دارد که در حال حاضر، تعداد آن‌ها به ۱۵ عدد می‌رسد (۱۲-۱۰).

به هر حال، تأثیرات بیولوژیک به تجزیه‌ی گلبول قرمز محدود نشده و سمیت سلولی برای تعدادی از انواع سلول‌ها گزارش شده است. افزون بر آن، مشخص شده است که رهاسازی لکوترین‌ها از گرانولوسیت‌ها و IL-lβ (Interleukin-lβ) از مونوسیت‌های کشت داده شده را میانجی‌گری می‌کند و اتصال به عوامل کموتاکتیک به وسیله‌ی نوتروفیل‌ها را کاهش می‌دهد (۱۴-۱۳).

هدف از این مطالعه، بررسی و تعیین ژن‌های حدت eae، hly و flichv در باکتری اشریشیاکلی به روش (Multiplex polymerase chain reaction) Multiplex PCR در نمونه‌های اسهالی انسانی جمع‌آوری شده از مراکز درمانی در شهر تهران بود.

روش‌ها

تعداد ۵۵ نمونه از نمونه‌های اسهال پس از جمع‌آوری از بیمارستان‌های سطح شهر تهران، به آزمایشگاه میکروب‌شناسی منتقل و برای تأیید وجود اشریشیاکلی و جداسازی باکتری، روی محیط‌های مک‌کانکی آگار (Mac Conkey agar)، Eosin methylene blue agar (EMB آگار) و Escherichia coli chrome agar (کروم آگار ECC) کشت داده شدند. بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد با استفاده از محیط‌های افتراقی و آزمایش‌های تکمیلی بیوشیمیایی از جمله آزمایش IMViC (Indol test, Methyl red test, Voges-Proskaur test, Simon citrate test)، TSI agar (Triple sugar iron agar) باکتری اشریشیاکلی پاتوژن شناسایی و تأیید گردید (۱۵).

برای استخراج DNA، از کیت شرکت مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران (Molecular Biological Kit0041) استفاده گردید. برنامه‌ی آزمون Multiplex PCR شامل مرحله‌ی دناتوراسیون اولیه ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، مرحله‌ی دناتوراسیون ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه، مرحله‌ی اتصال ۵۵ درجه‌ی سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه، مرحله‌ی بسط ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه (تعداد ۳۵ سیکل) و مرحله‌ی بسط نهایی ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه بود. پرایمرهای مورد استفاده در این آزمون، در جدول ۱ آمده است (۱۶).

مخلوط‌های استفاده شده جهت انجام واکنش به این شرح بودند: آب مقطر ۱۲/۷ میکرولیتر، ۱X. PCR buffer به میزان ۲ میکرولیتر، $MgCl_2$ به میزان ۰/۵ میکرولیتر، dNTP mix (۵ Mm)

(Deoxynucleotide mix) به میزان ۰/۵ میکرولیتر، پرایمرهای مورد استفاده هر کدام ۰/۵ میکرولیتر، آنزیم Taq polymerase به میزان ۰/۳ میکرولیتر و نمونه‌ی DNA ۳ میکرولیتر که در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر تهیه گردید (۱۶).

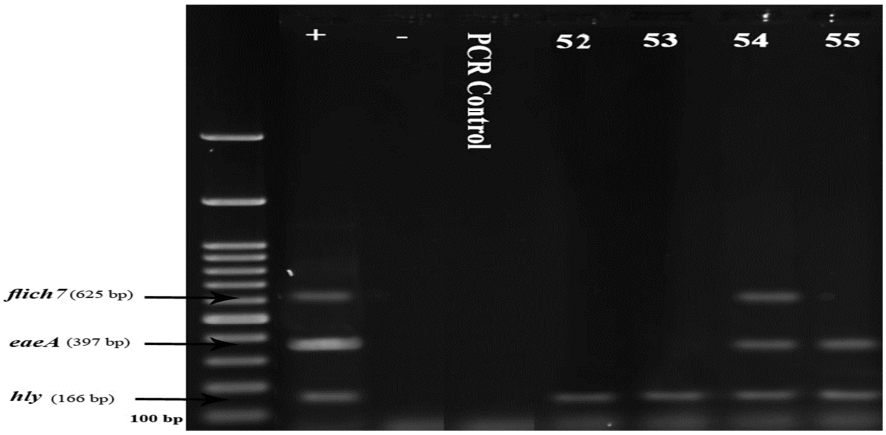
بعد از انجام آزمون Multiplex PCR در دستگاه ترموسایکلر، جهت بررسی محصول، نمونه‌ها بر روی ژل آگارز ۱ درصد انتقال داده شد و با رنگ‌آمیزی در دستگاه ژل داک BIORAD مورد بررسی قرار گرفت. داده‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۹ (version 19, SPSS Inc., Chicago, IL) و آزمون‌های آماری توصیفی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها

نمونه‌های مورد مطالعه شامل ۴ (۷/۲ درصد) ژن eaeA، ۱۱ (۲۰/۰ درصد) ژن hly و ۳۴ (۶۱/۸ درصد) ژن flichv بود که بیشترین میزان فراوانی، مربوط به ژن flichv (۶۱/۸ درصد) بوده است. در هیچ نمونه‌ای، هر ۳ ژن مورد بررسی همزمان شناسایی نگردید. در ۶ نمونه نیز هیچ کدام از ژن‌های مورد بررسی مشاهده نشد. در یک نمونه، hly و flichv و در ۲ نمونه، hly و eaeA به طور هم‌زمان شناسایی گردید. نتیجه‌ی آزمون Multiplex PCR با ژن‌های مورد نظر در شکل ۱ مشخص شده است.

جدول ۱. پرایمرهای مورد استفاده جهت آزمون Multiplex PCR (Multiplex polymerase chain reaction)

پرایمر	توالی پرایمر (۳'-۵')	ژن هدف	طول محصول (bp)
۲۲AE	ATTACCATCCACACAGACGGT	eaeA	۳۹۷
۲۰-۲AE	ACAGCGTGGTTGGATCAACCT	eaeA	
Flichv-F			
MFS۱-F	ACGATGTGGTTTATTCTGGA	hly	۱۶۶
MFS۱-R	CTTCACGTCACCATACATAT		
Flichv-F	GCGCTGTCGAGTTCTATCGAGC	vFlich	۶۲۵
Flichv-R	CAACGGTGACTTTATCGCCATTCC		



شکل ۱. نتایج Multiplex PCR (Multiplex polymerase chain reaction) به ترتیب از چپ به راست: نشانگر (۵۰ bp)، شاهد مثبت، نمونه‌های شماره‌ی ۵۴ و ۵۵ واجد ژن eaeA (۳۹۷ bp)، نمونه‌های شماره‌ی ۵۲، ۵۳، ۵۴ و ۵۵ واجد ژن hly (۱۶۶ bp)، نمونه‌ی ۵۵ واجد ژن flichv (۶۲۵ bp)

بحث

با افزایش بهای تمام شده در آزمایشگاه‌های میکروب‌شناسی بالینی، فشار اقتصادی مانع از آزمایش روزمره‌ی نمونه‌های مدفوع از نظر EHEC می‌گردد. دلایل بالینی، بهداشت عمومی و اقتصادی برای غربالگری روزانه‌ی EHEC جهت شناسایی همه‌گیری، به منظور محدود ساختن موارد مرگ و میر لازم می‌باشد. بیش از ۶۰ سویه‌ی EHEC قادر به ایجاد اسهال خونی هستند که اغلب آن‌ها از سروتایپ‌های غیر از O157:H7 می‌باشند.

مطالعاتی در این زمینه در نقاط مختلف دنیا و ایران به عمل آمده است که نشان دهنده‌ی اهمیت این عوامل در بیماری‌زایی سویه‌های اشریشیاکلی در انسان و دام می‌باشد؛ به ویژه آن که اکثر جدایه‌های انتروهموراژیک و وروتوکسیژنیک، مسؤول بیماری‌های مهمی در انسان از جمله سندرم اورمی‌همولیتیک و کولیت خونریزی دهنده می‌باشند و به میزان قابل توجهی در دام‌ها وجود دارند و آن‌ها را مخازن مهمی برای این جدایه‌های قابل انتقال به انسان معرفی می‌کنند (۱۷، ۹).

Yamamoto و همکاران، عوامل حدت UPEC (Uropathogenic Escherichia coli) از جمله hly و چند عامل دیگر را در ۱۹۴ نمونه‌ی اشریشیاکلی جدا شده از بیماران با علایم عفونت حاد مثانه با استفاده از روش Multiplex PCR بررسی کردند. ۴۱ درصد نمونه‌ها، واجد ژن hly بودند (۱۸). Khan و همکاران، سویه‌های STEC (Shiga toxin-producing Escherichia coli)، O157 را از جهت حضور ژن‌های حدتی مثل eae با استفاده از روش PCR بررسی کردند. از مجموع ۶۲ سویه‌ی جمع‌آوری شده‌ی مختلف (نمونه از انسان، نمونه از گاو و نمونه از گوشت گاو) ۱۹ درصد واجد ژن Stx۲، ۳۶/۵ درصد حاوی ژن Stx۱ و ۴۴/۵ درصد حاوی هر دو ژن بودند. در این میان، فقط ۶/۶ درصد از سویه‌ها واجد eae و بیشتر همراه با Stx۱ بودند (۱۹).

Blanco و همکاران به روش Multiplex PCR نمونه‌های مدفوعی انسان را به منظور بررسی ژن‌های Stx۲، Stx۱ و ردیابی جداگانه‌ی ژن‌های eaeA و hly مورد استفاده قرار دادند. ۵۵ درصد نمونه‌ها واجد ژن Stx۱، ۳ درصد واجد ژن Stx۲، ۴۲ درصد دارای ژن‌های Stx۲ و Stx۱، ۶ درصد دارای ژن eae و ۲۸ درصد واجد ژن hlyA بودند. فراوانی بالای ژن Stx در این مطالعه قابل توجه است (۲۰).

Moyo و همکاران در تانزانیا، از روش Multiplex PCR به منظور شناسایی پاتوتیپ‌های EAEC (Enteroaggregative Escherichia coli)، EPEC (Enteropathogenic Escherichia coli)، ETEC (Enterotoxigenic Escherichia coli)، EIEC (Enteroinvasive Escherichia coli) و EHEC (Enterohaemorrhagic Escherichia coli) استفاده کردند. در ۲۲/۹ درصد از کودکان مبتلا به اسهال، اشریشیاکلی تشخیص داده شد. ۴/۶ درصد از سویه‌ها به عنوان پاتوتیپ EPEC شناسایی و در ۹۲/۳ درصد از پاتوتیپ‌های EPEC، به عنوان EPEC تیپیک حامل هر دو ژن eae و bfPA شناسایی گردیدند. ژن‌های مربوط به EHEC (Stx۱ و Stx۲) و EIEC در هیچ کدام از نمونه‌ها مشاهده نشد (۲۱).

کارگر و همکاران، طی مطالعه‌ای بر روی ژن‌های Stx۱، Stx۲، eaeA و hly، عنوان نمودند که ۳ سویه

دارای مخلوطی از ژن‌های Stx۱ و eaeA و ۱ سویه دارای مخلوطی از ژن‌های Stx۱، Stx۲ و eaeA و ۱ سویه نیز دارای ژن hly بود (۲۲).

Cagney و همکاران طی مطالعه بر روی نمونه‌ی گوشت و همبرگر به روش Multiplex PCR، اعلام نمودند ۲/۸ درصد دارای E.coli O157:H7، ۶/۹۷ درصد دارای ژن eaeA، ۹/۳ درصد دارای ژن hly و ۲/۳۲ درصد دارای ژن flichv بودند (۱۷).

Sarimehmetoglu و همکاران در بررسی گوشت‌های تازه‌ی گاو از نظر وجود E.coli O157:H7 در ترکیه گزارش نمودند که ۰/۷۹ درصد نمونه‌ها آلوده به E.coli O157:H7 بودند که ژن‌های eaeA، hly و flichv در این نمونه‌ها به روش Multiplex PCR شناسایی گردید (۹). در پژوهش اخیر نیز در یک نمونه ژن‌های flichy۷ و hly و در ۲ نمونه ژن‌های eaeA و hly به طور هم‌زمان شناسایی شدند. طی مطالعه‌ی اخیر سلیمانی‌فرد و همکاران، با بررسی نمونه‌های ادراری جهت شناسایی مولکولی پاتوتیپ‌های EAEC و EPEC با استفاده از روش Multiplex PCR، گزارش نمودند که ژن CVD۴۳۲ در پاتوتیپ EAEC با (۲ درصد) فراوانی مشاهده شد و ژن eae در هیچ یک از نمونه‌ها مشاهده نگردید (۲۳).

در تحقیق حاضر، کمترین میزان شیوع فراوانی هر یک از ژن‌ها با نتایج سایر تحقیقات منطبق بود و کمترین فراوانی مربوط به ژن eaeA بود. در مجموع، نتایج به دست آمده از این تحقیقات در مورد ژن‌های حدت در پاتوتیپ EHEC با نتایج تحقیقات سایر پژوهشگران همخوانی داشت.

در مطالعه‌ی Sarimehmetoglu و همکاران میزان فراوانی نمونه های O157:H7، ۷/۶ درصد بود و ژن flichv در دو نمونه شناسایی گردید، در صورتی که مطابق مطالعه ی حاضر، فراوانی این ژن ۶۱/۸ درصد، پاتوتیپ STEC ۲۰ درصد و EPEC ۷/۲ درصد گزارش شده است. تفاوت در میزان فراوانی، می‌تواند به سن افراد، نوع نمونه، محل جغرافیایی، نوع رژیم غذایی، روش‌های شناسایی و جداسازی باکتری، وضعیت بهداشت فردی و حتی فصول سال نیز ارتباط داشته باشد (۹).

پیشنهاد می‌شود که از روش‌های نوین ملکولی جهت بررسی وجود جدایه‌های بیماری‌زای STEC و EHEC و بررسی وجود عوامل حدت آن‌ها استفاده گردد. در نقاط مختلف دنیا، مطالعات زیادی راجع به پاتوتیپ‌های Ecoli و ژن‌های آن صورت گرفته است و با روش Multiplex PCR می‌توان در زمان کوتاه و با دقت بیشتر، حضور ژن‌های بیماری‌زا را شناسایی و با درمان مناسب از انتقال این ژن‌ها در جمعیت‌های انسانی و حیوانی جلوگیری به عمل آورد.

تشکر و قدردانی

پژوهشگران کمال تشکر و سپاسگزاری خود را از کارکنان آزمایشگاه پژوهشی میکروبیولوژی پاسارگاد به ویژه جناب آقای دکتر کیومرث امینی که در انجام مراحل عملی این تحقیق یاری نمودند، اعلام می‌دارد. همچنین، از زحمات و تلاش‌های بی‌دریغ جناب آقای دکتر علیرضا مختاری تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

1. Brooks GF, Butel JS, Morse SA. Jawetz, Melnick and Adelberg's medical microbiology. 25th ed. New York, NY: McGraw-Hill; 2006.
2. Saif YM, Glisson JR, Fadly AM, McDougald LR, Nolan L. Diseases of Poultry. Ames, IA: Iowa State Press; 2003.
3. Besser RE, Griffin PM, Slutsker L. Escherichia coli O157:H7 gastroenteritis and the hemolytic uremic syndrome: an emerging infectious disease. Annu Rev Med 1999; 50: 355-67.
4. Nataro JP, Baldini MM, Kaper JB, Black RE, Bravo N, Levine MM. Detection of an adherence factor of enteropathogenic Escherichia coli with a DNA probe. J Infect Dis 1985; 152(3): 560-5.
5. Ryan CA, Tauxe RV, Hosek GW, Wells JG, Stoesz PA, McFadden HW, Jr., et al. Escherichia coli O157:H7 diarrhea in a nursing home: clinical, epidemiological, and pathological findings. J Infect Dis 1986; 154(4): 631-8.
6. Carter AO, Borczyk AA, Carlson JA, Harvey B, Hockin JC, Karmali MA, et al. A severe outbreak of Escherichia coli O157:H7--associated hemorrhagic colitis in a nursing home. N Engl J Med 1987; 317(24): 1496-500.
7. Edelman R, Karmali MA, Fleming PA. From the National Institutes of Health. Summary of the International Symposium and Workshop on Infections due to Verocytotoxin (Shiga-like toxin)-producing Escherichia coli. J Infect Dis 1988; 157(5): 1102-4.
8. Riley LW. The epidemiologic, clinical, and microbiologic features of hemorrhagic colitis. Annu Rev Microbiol 1987; 41: 383-407.
9. Sarimehmetoglu B, Aksoy MH, Ayaz ND, Ayaz Y, Kuplulu O, Kaplan YZ. Detection of Escherichia coli O157:H7 in ground beef using immunomagnetic separation and multiplex PCR. Journal Food Control 2009; 20(4357361).
10. Blanco JE, Blanco M, Alonso MP, Mora A, Dahbi G, Coira MA, et al. Serotypes, virulence genes, and intimin types of Shiga toxin (verotoxin)-producing Escherichia coli isolates from human patients: prevalence in Lugo, Spain, from 1992 through 1999. J Clin Microbiol 2004; 42(1): 311-9.
11. Schmidt H, Beutin L, Karch H. Molecular analysis of the plasmid-encoded hemolysin of Escherichia coli O157:H7 strain EDL 933. Infect Immun 1995; 63(3): 1055-61.
12. Yu J, Kaper JB. Cloning and characterization of the eae gene of enterohaemorrhagic Escherichia coli O157:H7. Mol Microbiol 1992; 6(3): 411-7.
13. Paton JC, Paton AW. Pathogenesis and diagnosis of Shiga toxin-producing Escherichia coli infections. Clin Microbiol Rev 1998; 11(3): 450-79.
14. Calderwood SB, Acheson DWK, Keusch GT, Barrett TJ, Griffin PM, Strockbine NA, et al. Proposed new nomenclature for Shiga-like toxin (verotoxin) family. ASM News 1996; 62: 118-9.
15. Smith DR, Moxley RA, Peterson RE, Klopfenstein TJ, Erickson GE, Bretschneider G, et al. A two-dose regimen of a vaccine against type III secreted proteins reduced Escherichia coli O157:H7 colonization of the terminal rectum in beef cattle in commercial feedlots. Foodborne Pathog Dis 2009; 6(2): 155-61.
16. Gannon VP, D'Souza S, Graham T, King RK, Rahn K, Read S. Use of the flagellar H7 gene as a target in multiplex PCR assays and improved specificity in identification of enterohemorrhagic Escherichia coli strains. J Clin Microbiol 1997; 35(3): 656-62.
17. Cagney C, Crowley H, Duffy G, Sheridan JJ, OBrien S, Carney E, et al. Prevalence and numbers of Escherichia coli O157:H7 in minced beef and beef burgers from butcher shops and supermarkets in the Republic of Ireland. Food Microbiology 2004; 21(2): 203-12.
18. Yamamoto S, Terai A, Yuri K, Kurazono H, Takeda Y, Yoshida O. Detection of urovirulence factors in Escherichia coli by multiplex polymerase chain reaction. FEMS Immunol Med Microbiol 1995; 12(2): 85-90.
19. Khan A, Das SC, Ramamurthy T, Sikdar A, Khanam J, Yamasaki S, et al. Antibiotic resistance, virulence gene, and molecular profiles of Shiga toxin-producing Escherichia coli isolates from diverse sources in Calcutta, India. J Clin Microbiol 2002; 40(6): 2009-15.
20. Blanco M, Blanco JE, Mora A, Rey J, Alonso JM, Hermoso M, et al. Serotypes, virulence genes, and intimin types of Shiga toxin (verotoxin)-producing Escherichia coli isolates from healthy sheep in Spain. J Clin Microbiol 2003; 41(4): 1351-6.
21. Moyo SJ, Maselle SY, Matee MI, Langeland N, Mylvaganam H. Identification of diarrheagenic Escherichia coli isolated from infants and children in Dar es Salaam, Tanzania. BMC Infect Dis 2007; 7: 92.
22. Kargar M, Dianati P, Homayoon M. Evolution of virulence genes and antibiotic resistance of enterohemorrhagic Escherichia coli isolated from hamburger by multiplex PCR in Shiraz. J Isfahan Med Sch 2011; 29(148): 977-87. [In Persian].
23. Soleimanifard N, Amini K, Moradli Gh. Molecular identification of Escherichia coli pathotypes EPEC and EAEC strains isolated from urinary tract infections and antibiotic susceptibility pattern by multiplex polymerase chain reaction. J Isfahan Med Sch 2015; 32(310): 1954-64. [In Persain].

Journal of Isfahan Medical School Received: 06.05.2015

Vol. 33, No. 341, 1st Week, September 2015 Accepted: 02.07.2015

Determining eaeA, hly, and flich7 Virulence Genes in Escherichia Coli Diarrheal Stool Samples

Uosef Ramezani MSc[1], Mehdi Parviz PhD[2], Saeed Khalajzadeh PhD[3]

Original Article

Abstract

Background: Most of the Escherichia coli strains can cause intestinal and extra-intestinal diseases. Enterohemorragic Escherichia coli (EHEC) O157:H7 diseases have increased in developed countries, and today is the third cause of diarrhea. The purpose of this study was to investigate the eaeA, hly, and flich7 virulence genes in Escherichia coli isolated from diarrheal stool samples.

Methods: After collecting 55 samples of human diarrhea in Tehran city hospitals, Iran, chemical and microbial tests for Escherichia coli strains were done, the bacteria were isolated and DNA was extracted using multiplex polymerase chain reaction (multiplex PCR) method.

Findings: Of 55 human samples, 34 (61.8%) were of the flich7 gene, 11 (20.0%) were of the hly gene and 4 (7.2%) were of the eaeA gene.

Conclusion: The controversy of the results of this study and other studies may be due to age, sample type, geographical location, type of diet, methods of detection and isolation, individual health status and even seasons of the year.

Keywords: O157:H7, Escherichia coli, Enterohemorragic Escherichia coli (EHEC)

Citation: Ramezani U, Parviz M, Khalajzadeh S. **Determining eaeA, hly, and flich7 Virulence Genes in Escherichia Coli Diarrheal Stool Samples.** J Isfahan Med Sch 2015; 33(341): 1037-43

1- Department of Microbiology, School of Basic Sciences, Islamic Azad University, Saveh Branch, Saveh, Iran
2- Lecturer, Department of Microbiology, School of Basic Sciences, Islamic Azad University, Saveh Branch, Saveh, Iran
3-Assistant Professor, Department of Microbiology, School of Basic Sciences, Islamic Azad University, Saveh Branch, Saveh, Iran
Corresponding Author: Uosef Ramezani MSc, Email: uosef.ramezani.ac@gmail.com