مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و سوم/شماره ۳۳۱/هفته سوم خرداد ماه ۱۳۹٤

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۲/۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۲/۱۰

ردیابی ژن‌های کد کننده‌ی فیمبریه‌های P، S و Afa در جدایه‌های اشریشیاکلی ازعفونت‌های ادراری

محبوبه اسلامی[۱]، دکتر رضا قنبرپور[۲]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: اشریشیاکلی عامل مهمی در بروز عفونت مجاری ادراری کودکان و زنان می‌باشد. در سویه‌های اشریشیاکلی درگیر در عفونت‌های ادراری عوامل حدت متعددی شناسایی شده است که دسته‌ی مهمی از آن‌ها عوامل فیمبریه‌ای P، S و Afa می‌باشند که به ترتیب توسط ژن‌های papEF، afaBC و sfa/focDE کد می‌شوند. هدف از این مطالعه، تعیین حضور و فراوانی ژن‌های عوامل حدت فیمبریه‌ای در جدایه‌های اشریشیاکلی از بیماران مبتلا به عفونت ادراری در شهرستان رفسنجان بود.

روش‌ها: در این بررسی، ۱۴۵ نمونه‌ی ادراری جهت شناسایی اشریشیاکلی کشت داده شد. جدایه‌ها بر اساس آزمایش‌های بیوشیمیایی استاندارد تشخیص داده شد و DNA استخراج شده از جدایه‌های تأیید شده به منظور تعیین ژن‌های papEF، afaBC و sfa/focDE به روش Multiplex-PCR (Multiplex-polymerase chain reaction) مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: در مجموع، ۱۲۲ جدایه‌ی اشریشیاکلی از نمونه‌های ادراری کشت داده شده، شناسایی گردید. بررسی ژنوتیپی ژن‌های حدت نشان داد که ۳۸/۵ درصد از جدایه‌ها حداقل یکی از سه ژن حدت را دارا بودند. ژن papEF با ۱۸/۸۵ درصد بیشترین فراوانی و ژن‌های sfa/focDE و afaBC به ترتیب ۲/۴۵ و ۰/۸۱ درصد فراوانی داشتند. ۲۰ جدایه (معادل ۱۶/۳۹ درصد) واجد هر دو ژن papEF و sfa/focDE بودند.

نتیجه‌گیری: ژن papEF بیشترین درصد فراوانی را به خود اختصاص داد و ژن‌های فیمبریه‌ای afaBC و sfa/focDE در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند.

واژگان کلیدی: اشریشیاکلی، ژن فیمبریه‌ای، عفونت مجاری ادراری

ارجاع: اسلامی محبوبه، قنبرپور رضا. **ردیابی ژن‌های کد کننده‌ی فیمبریه‌های P، S و Afa در جدایه‌های اشریشیاکلی ازعفونت‌های ادراری.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۳۱): ۵۵۳-۵۴۶

مقدمه

عفونت مجاری ادراری، شایع‌ترین عفونت باکتریایی اکتسابی در بین زنان و کودکان می‌باشد. ۸۰ درصد از عفونت‌های دستگاه ادراری در انسان توسط باکتری اشریشیاکلی ایجاد می‌گردد (۱). یکی از مهم‌ترین عوامل چسبندگی، فیمبریه‌های مقاوم به مانوز می‌باشند که باعث اتصال باکتری به سلول‌های اپی‌تلیال می‌شوند و در ایجاد بیماری نقش دارند (۲). اتصال اشریشیاکلی به سلول‌های اروپی‌تلیال در پاتوژنیسیتی بیماری اهمیت به‌سزایی دارد. عوامل حدت سطحی سویه‌های یوروپاتوژنیک اشریشیاکلی شامل چند آدهزین از جمله فیمبریه است، به

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه میکروبیولوژی، واحد علوم و تحقیقات سیرجان، دانشگاه آزاد اسلامی، سیرجان، ایران
۲- استاد، گروه پژوهشی میکروبیولوژی مولکولی، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر رضا قنبرپور
Email: ghanbar@uk.ac.ir

خصوص فیمبریه‌ی p که توسط ژن pap، فیمبریه‌ی s که توسط ژن sfa و فیمبریه‌ی a که توسط ژن afa کد می‌شوند و در روند عفونت مجاری ادراری نقش دارند (۵-۳).

آدهزین غیر فیمبریه‌ای (afa) اولین بار از جدایه‌های یوروپاتوژنیک و مرتبط با اسهال در انسان توصیف شدند. ژن afa نقش مهمی را در بیماری‌زایی عفونت مجاری ادراری بر عهده دارد و به طور معمول در زنان باردار، کودکان و بیمارانی با عود مجدد عفونت مجاری ادراری دیده می‌شوند. یکی از ویژگی‌های غیر معمول جدایه‌های واجد ژن afa، ایجاد عفونت‌های روده‌ای در کودکان می‌باشد. این جدایه‌های ایجاد کننده‌ی اسهال، جزء پاتوتیپ چسبنده‌ی منتشره (DAEC یا Diffuse-adhering Escherichia coli) می‌باشند (۲).

در اپیدمیولوژی‌های گسترده، استفاده از یک روش سریع برای تشخیص به هنگام و دقیق پاتووارها در ارتباط با عامل بیماری‌زا، نقش مهمی در شناسایی ژن‌های مورد نظر جهت پیشگیری و درمان مناسب دارد. ارزیابی اپیدمیولوژی‌های گسترده، از به وجود آمدن جدایه‌های مقاوم جلوگیری می‌نماید. هدف از انجام این تحقیق ردیابی ژن‌های sfa، afa و pap اشریشیاکلی از موارد عفونت ادراری انسان با روش PCR چندگانه‌ای (Multiplex- PCR یا Multiplex- polymerase chain reaction) می‌باشد.

روش‌ها

در این پژوهش تعداد ۱۴۵ نمونه از بیماران مبتلا به عفونت‌های مجاری ادراری پذیرش شده در بیمارستان علی‌ابن‌ابیطالب (ع) رفسنجان و آزمایشگاه‌های تشخیص طبی جمع‌آوری گردید و به آزمایشگاه میکروب‌شناسی منتقل شد. معیار آزمایشگاهی عفونت مجاری ادراری حاد با اشریشیاکلی شامل یک کشت مثبت با تعداد کلنی‌های حداقل 10^5 کلنی در هر میلی‌لیتر ادرار بود.

نمونه‌ها ابتدا در محیط MacConkey agar و Blood agar کشت داده شد و در دمای ۳۷ °C به مدت یک شب انکوبه شدند. کلنی اشریشیاکلی در محیط MacConkey agar به دلیل تخمیر لاکتوز صورتی رنگ است. بعد از انکوباسیون، کلنی‌های لاکتوز مثبت از محیط MacConkey agar بر روی محیط EMB آگار (Eosin methylene blue agar) کشت داده شد و بعد از رشد باکتری‌ها توسط آزمایش‌های بیوشیمیایی جهت شناسایی اشریشیاکلی مورد بررسی و تأیید قرار گرفت (۷-۶).

استخراج DNA: در این تحقیق از سه روش متفاوت به منظور مقایسه‌ی میزان DNA حاصل از استخراج استفاده شد. روش اول: در این روش از لیز NaOH نیم نرمال استفاده گردید. بدین صورت که ابتدا از ذخیره‌ی باکتریایی پس از خروج از حالت انجماد در محیط کشت Luria bertani broth به مدت ۲۴-۱۸ ساعت کشت داده شد. سپس به میزان ۷۰۰ µl از کشت باکتری، به میکروتیوب حاوی ۲۵ µl NaOH نیم نرمال اضافه گردید تا شیرابه‌ای تهیه گردد. پس از گذشت ۳۰-۲۰ دقیقه، ۲۵ µl محلول تریس M ۱ به محلول پیش‌گفته اضافه شد تا عمل هضم باکتری توسط NaOH متوقف گردد و محلولی با pH نهایی ۷/۵ تهیه شود. بلافاصله با افزودن ۴۵۰ µl آب مقطر استریل، حجم محلول به ۵۰۰ µl رسید و رقت نهایی از عصاره‌ی DNA،

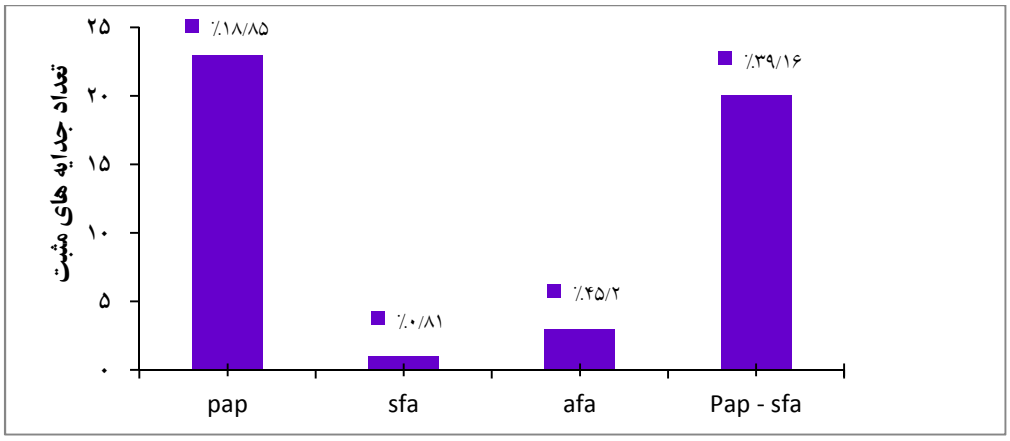
جهت انجام آزمایش PCR آماده گردید.

روش دوم استفاده از روش فنل کلرفرم و روش سوم جهت استخراج DNA از کیت مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران (MBK0041) استفاده شد (۸). برای تهیه‌ی محلول اصلی آزمایش Multiplex- PCR، مخلوط‌های استفاده شده جهت انجام واکنش به این شرح بودند: آب مقطر ۳۶/۴ µl، لودینگ بافر ۲/۵ µl، $MgCl_2$ ۲/۵ µl، dNTP (Nucleoside triphosphate) ۰/۴ µl، TaqDNA polymerase ۰/۲ µl، سه زوج پرایمر (جدول ۱) هر کدام ۰/۵ µl، DNA ۵ µl در حجم نهایی ۵۰ µl تهیه شد. به منظور فراهم کردن شرایط مناسب جهت تکثیر DNA و اتصال پرایمرها، این مخلوط به دستگاه ترمال سایکلر BIORAD انتقال یافت و طبق برنامه اقدام به تکثیر ژن‌های هدف گردید: ۹۵ °C به مدت ۵ دقیقه، ۹۵ °C به مدت ۱ دقیقه، ۶۶ °C به مدت ۱ دقیقه، ۷۲ °C به مدت ۱ دقیقه (۳۵ سیکل) و ۷۲ °C به مدت ۱۰ دقیقه. سویه‌های استاندارد از دانشکده‌ی دامپزشکی شهید باهنر کرمان تهیه شد و پرایمرهای به کار رفته در آزمایش Multiplex- PCR در جدول ۱ آمده است (۸). همچنین محصول آزمایش Multiplex- PCR بر روی ژل الکتروفورز ۱ درصد منتقل و نتایج در شکل ۱ ارایه شده است. این تحقیق مطالعه‌ای مقطعی بود که به روش توصیفی- تحلیلی طراحی و اجرا گردید.

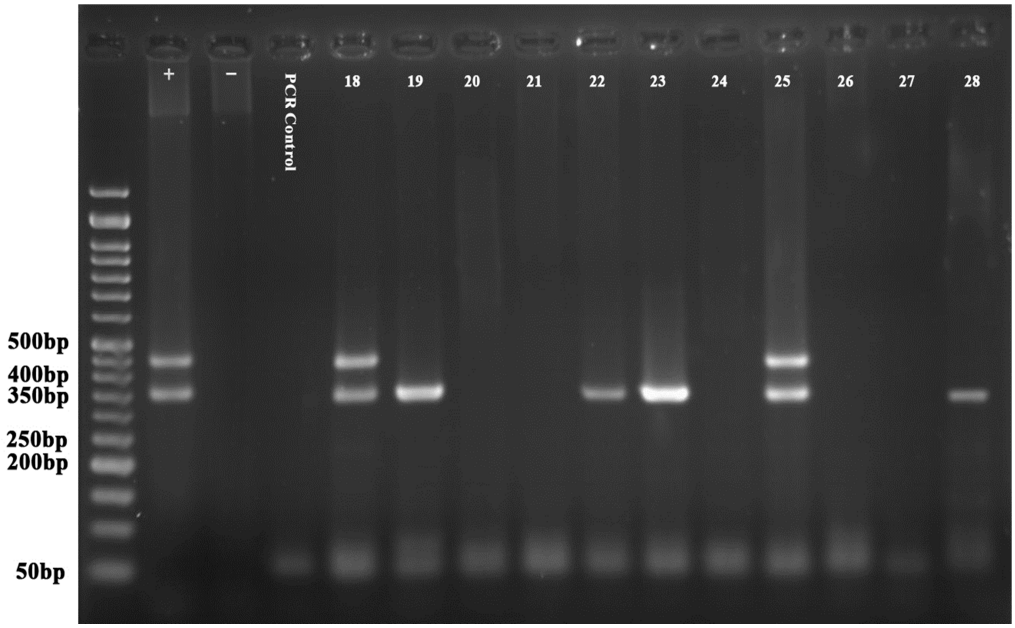
با توجه به نوع طرح مطالعه وشیوه‌ی تجزیه و تحلیل داده‌ها و همچنین با توجه به عدم نیاز به اطلاعات شخصی بیماران اعم از نام و نام خانوادگی و سایر اطلاعات بیماران، این مطالعه ملاحظات اخلاقی نداشت.

جدول ۱. پرایمرها و سویه‌های استاندارد به کار رفته در Multiplex-polymerase chain reaction (Multiplex-PCR)(۸)

نام ژن	اندازه محصول	توالی پرایمر (۳→۵)	پرایمر
pap	۳۳۶	1:GACGGCTGTACTGCAGGGTGTGGC G 2: ATA TCC TTT CTG CAG GGA TGC AATA	pap
sfa	۴۱۰	1:CTCCG GAGAACTGGGTGCATCTTAC 2:CGG AGGAGT AA TTA CA AACCTGGCA	sfa
afa	۷۵۰	1:GCTGGGCAGCAAACTGATAACTCTC 2:CATCAAGCTGTTTGTTCGTCCGCCG	afa



شکل ۱. تعداد و درصد عوامل فیمبریه‌ای در جدایه‌ها



شکل ۲. نتیجه‌ی آزمایش Multiplex-polymerase chain reaction (Multiplex-PCR) به ترتیب از چپ به راست: نشانگر bp ۵۰، شاهد مثبت، شاهد منفی، چاهک ۱۸ و ۲۵ جدایه‌های مثبت از نظر وجود ژن‌های pap و saf، چاهک‌های ۱۹، ۲۲، ۲۳ و ۲۸ جدایه‌های مثبت از نظر وجود ژن pap می‌باشد.

یافته‌ها

از ۱۴۵ نمونه‌ی اخذ شده از بیماران مبتلا به عفونت مجاری ادراری، ۱۲۲ باکتری اشریشیاکلی جداسازی و مورد تأیید قرار گرفت. بر اساس نتیجه‌ی آزمایش Multiplex- PCR جهت شناسایی ژن‌های pap، sfa و afa مشخص گردید که در ۱۲۲ جدایه‌ی مورد مطالعه، ۲۳ جدایه (۱۸/۸۵ درصد) دارای ژن pap، سه جدایه (۲/۴۵ درصد) دارای ژن afa، ۱ جدایه نیز (۰/۸۱ درصد) دارای ژن sfa و ۲۰ جدایه (۱۶/۳۹ درصد) دارای ژن‌های pap و sfa بودند. در این بررسی الگوی ترکیب ژنی papEF+sfa/focDE در ۲۰ جدایه‌ها (۱۶/۳۹ درصد) شناسایی شد. شکل ۱ نتیجه‌ی آزمایش Multiplex-PCR جهت شناسایی جدایه‌های مثبت از نظر عوامل فیمبریه‌ای شکل ۲ نتیجه‌ی این آزمایش بر روی تعدادی از جدایه‌های مثبت را نشان می‌دهد.

بحث

اشریشیاکلی به عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل ایجاد عفونت‌های ادراری، زخم‌های عفونی التهاب صفاق، التهاب پرده‌ی مغز (مننژیت)، پنومونی گرم منفی و سپتی‌سمی شناخته شده است. اکثر جدایه‌ها از موارد عفونت‌های ادراری واجد ژن‌های حدت خاصی می‌باشند و مطالعات اپیدمیولوژی مولکولی متعددی در زمینه‌ی کشف و شناسایی این عوامل حدت صورت می‌گیرد که غالب این مطالعات در زمینه‌ی شناسایی عوامل حدت در پاتوژنز عفونت‌های ادراری به عنوان یک عفونت بالا رونده نقش دارند (۹، ۳).

در بین عوامل حدت در جدایه‌های بیماری‌زای اشریشیاکلی از موارد عفونت‌های ادراری، فیمبریه‌ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند. فیمبریه‌ی P به عنوان یکی از فیمبریه‌های مقاوم به مانوز است که بیشترین نقش را در ایجاد عفونت‌های ادراری داشته است

(۱۱-۱۰). در مطالعه‌ی حاضر، فیمبریه‌ی P به عنوان یکی از مهم‌ترین ژن‌های حدت به میزان ۱۸/۸۵ درصد شناسایی گردید. با توجه به این که حضور این فیمبریه به عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل خطر در بروز عفونت بالا رونده‌ی ادراری انسان محسوب می‌گردد، گزارش‌های زیادی در کشورهای مختلف در این زمینه وجود دارد (۱۲).

در بررسی حاضر فیمبریه‌ی S به عنوان یکی از عوامل آدهزینی مورد بررسی قرار گرفت و فراوانی آن ۰/۸۱ درصد گزارش گردید. فراوانی ژن afa در مطالعه‌ی حاضر ۲/۴۵ درصد شناسایی شد. بر اساس نتایج این تحقیق، ۳۸/۵ درصد از جدایه‌ها واجد ژن‌های حدت بودند. فرشاد و همکاران گزارش کردند که در جهرم فراوانی ژن‌های فیمبریه‌ی pap ۳۰/۲ درصد است و شیوع بیشتری نسبت به فیمبریه‌ی sfa (۱۸/۷۵ درصد) دارد (۱۳). مطابق با مطالعه‌ی Oliveira و همکاران در برزیل، فراوانی ژن pap ۲۵ درصد، ژن sfa ۲۶ درصد و ژن afa ۶ درصد گزارش شده است (۱۴). در مطالعه‌ی دیگری که در شهر سائوپائولو برزیل توسط Tiba و همکاران انجام شد، فراوانی ژن‌های papE/F (۳۲/۷ درصد)، sfaD/E (۲۷/۸ درصد) و afaB/C (۶/۲ درصد) برآورد شده است (۱۵).

بررسی دیگری در کشور برزیل توسط Santo و همکاران صورت گرفت که از ۱۰۰ ایزوله‌ی اشریشیاکلی، ۱۲ جدایه واجد هر دو ژن pap و sfa و ۱ جدایه نیز واجد هر دو ژن sfa و afa بودند (۱۶). در مطالعه‌ای که Arisoy و همکاران بر روی عوامل حدت اشریشیاکلی انجام دادند، از ۱۳۶ باکتری مورد آزمایش، ۶ جدایه واجد ژن pap، ۵ جدایه واجد ژن afaI و دو جدایه نیز واجد ژن sfa بودند. همچنین سه جدایه دارای ترکیب ژنی sfa و pap بودند (۱۷).

فراوانی ژن‌های بررسی شده در مطالعه‌ی حاضر، همخوانی بیشتری با یافته‌های Arisoy و همکاران (۱۷) نشان می‌دهد. به نظر می‌رسد ابتلا به عفونت‌های ادراری بیمارستانی که عامل ایجاد کننده‌ی آن اشریشیاکلی بود، در جنس مؤنث با طول دوره‌ی بستری و مدت زمان استفاده از سوند ادراری مرتبط است. با به کارگیری سیاست‌های کنترل همانند استفاده از سوند ادراری در موارد ضروری، به کارگیری روش‌های آسپتیک و اجرای برنامه‌های پیشگیرانه، می‌توان میزان ابتلا را در بیماران کاهش داد (۱۳).

در ایران ناطقی و همکاران با بررسی حضور ۸ ژن اشریشیاکلی یوروپاتوژنیک انسان و با توجه به شناسایی ژن‌های papc، irp2، iss و astA هر دو سویه‌ی UPEC و APEC نتیجه‌گیری نمودند که این ژن‌ها می‌توانند به عنوان عوامل مؤثر در عفونت‌های خارج روده‌ای مطرح باشند. بعد از انجام Multiplex- PCR مشخص شد که ژن papc در ایجاد عفونت ادراری بسیار مؤثر می‌باشد (۱۸). Blanco و همکاران در پژوهشی که در ارتباط با جداسازی ژن‌های حدت یوروپاتوژنیک اشریشیاکلی به وسیله‌ی آزمایش زنجیره‌ای پلیمراز با استفاده از روش‌های فنوتیپ ژن‌های sfa، afa و pap بالاترین درصد را در عفونت‌های ادراری نشان دادند (۱۹).

Arisoy و همکاران در مطالعه‌ای نشان دادند که در ۱۶۱ سویه‌ی اشریشیاکلی از کودکان مبتلا به عفونت مجاری ادراری با بررسی ژن‌های sfa، hly، cnf1 و pap شیوع ژن pap در بین سویه‌های ایجاد

کننده‌ی سیستئین پایین می‌باشد. در نتیجه، اکثر افراد مبتلا به سیستئین بودند (۱۷). عربی و همکاران در پژوهشی بر روی ژنوتیپ فیمبریه‌ی مشترک در عفونت ادراری اشریشیاکلی از ۳۴۳ سویه باکتری اشریشیاکلی ایزوله شده، توزیع ژن‌های فیمبریه‌ی sfa، pap و afa بیشترین فراوانی را در تولید عفونت ادراری بعد از آزمایش PCR داشتند که به ترتیب ۸۷/۷ درصد (۳۰۱ مورد)، ۲۳/۹ درصد (۱۱۳ مورد) و ۱۶/۶ درصد (۵۷ مورد) می‌باشند (۲۰).

کریمیان و همکاران در تحقیقی که در رابطه با ارزیابی آنزیم بیماری‌زایی باکتری اشریشیاکلی و عوامل مؤثر در بیماران مبتلا به عفونت ادراری در شهرکرد انجام دادند، نتایج باز هم درصد بالای ژن‌های sfa و pap را از ژن‌های حدت در ایجاد عفونت‌های ادراری اعلام کرد (۷). بهالو و همکاران با بررسی عوامل حدت جداسازی شده از اشریشیاکلی در کودکان مبتلا به عفونت ادراری در شهرکرد به وسیله‌ی Multiplex- PCR دریافتند که از مجموع ۱۰۰ اشریشیاکلی ایزوله شده، بالاترین فراوانی را ژن‌های sfa و pap دارا هستند (۲۱). به طور کلی، می‌توان نتیجه گرفت که بر طبق مطالعات انجام شده و مقایسه‌ی آن با نتایج این پژوهش، میزان ژن pap در همه‌ی جدایه‌ها بیشترین درصد را به خود اختصاص داده‌اند و ژن‌های فیمبریه و afa و سپس sfa در رتبه‌های بعدی قرار گرفته‌اند.

در بیشتر مطالعات، ژن‌های pap و sfa دارای ترکیب ژنی می‌باشند و مقایسه‌ی مطالعات پیشین با مطالعه‌ی اخیر نشان داد که بیشترین عفونت ادراری در زنان وجود دارد و بیشترین فراوانی مربوط به ژن‌های sfa و pap می‌باشد. مؤثرترین ژن در ایجاد عفونت ادراری ژن pap می‌باشد. با توجه به این که حدود یک سوم از جدایه‌ها در این بررسی دارای ژن‌های فیمبریه‌ای بودند و بیشترین فراوانی مربوط به ژن pap و سپس afa و بعد از آن sfa می‌باشد، نیاز به مطالعات بیشتری در زمینه‌ی شناسایی ژن‌های فیمبریه‌ای در عفونت‌های ادراری انسان ضروری به نظر می‌رسد؛ چرا که دو سوم از جدایه‌ها بدون این که دارای ژن فیمبریه‌ای باشند، قابلیت ایجاد بیماری را دارند. ژن‌های حدت مختلفی در عفونت‌های ناشی از اشریشیاکلی در انسان شناسایی شده است. از این رو، لزوم تعیین حضور و فراوانی این ژن‌ها بیش از پیش نمایان می‌گردد.

همچنین در این تحقیق از سه روش متفاوت استخراج DNA با کتری جهت مقایسه‌ی میزان DNA حاصل استفاده شد و مشخص گردید که روش استخراج با استفاده از کیت‌های تجاری نتایج بهتری در آزمون PCR چندگانه‌ای دارد.

تشکر و قدردانی

مقاله‌ی حاضر برگرفته از پایان‌نامه‌ی دوره‌ی کارشناسی ارشد است. بدین وسیله پژوهشگران کمال تشکر و سپاسگزاری خود را از کارکنان آزمایشگاه پژوهشی میکروبیولوژی پاسارگاد به ویژه جناب آقای دکتر کیومرث امینی، مهندس ابوالفضل مقدم و رامین خاکی جوان و آقای دکتر حسام علی‌زاده که در انجام مراحل عملی و علمی این تحقیق یاری نمودند، اعلام می‌دارند.

References

1. Tramuta C, Nucera D, Robino P, Salvarani S, Nebbia P. Virulence factors and genetic variability of uropathogenic Escherichia coli isolated from dogs and cats in Italy. J Vet Sci 2011; 12(1): 49-55.
2. Le BC, Lalioui L, du Merle L, Jouve M, Courcoux P, Bouzari S, et al. Characterization of AfaE adhesins produced by extraintestinal and intestinal human Escherichia coli isolates: PCR assays for detection of Afa adhesins that do or do not recognize Dr blood group antigens. J Clin Microbiol 2001; 39(5): 1738-45.
3. Manges AR, Johnson JR, Foxman B, O'Bryan TT, Fullerton KE, Riley LW. Widespread distribution of urinary tract infections caused by a multidrug-resistant Escherichia coli clonal group. N Engl J Med 2001; 345(14): 1007-13.
4. Moreno E, Prats G, Sabate M, Perez T, Johnson JR, Andreu A. Quinolone, fluoroquinolone and trimethoprim/sulfamethoxazole resistance in relation to virulence determinants and phylogenetic background among uropathogenic Escherichia coli. J Antimicrob Chemother 2006; 57(2): 204-11.
5. 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; 20(4): 613-7.
6. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Medical microbiology: with student consult. 7th ed. Philadelphia, PA: Saunders; 2012.
7. 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; 6(39): 6811-6.
8. 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.
9. Yamamoto S. Molecular epidemiology of uropathogenic Escherichia coli. J Infect Chemother 2007; 13(2): 68-73.
10. Terai A, Yamamoto S, Mitsumori K, Okada Y, Kurazono H, Takeda Y, et al. Escherichia coli virulence factors and serotypes in acute bacterial prostatitis. Int J Urol 1997; 4(3): 289-94.
11. Gunther NW, Snyder JA, Lockatell V, Blomfield I, Johnson DE, Mobley HL. Assessment of virulence of uropathogenic Escherichia coli type 1 fimbrial mutants in which the invertible element is phase-locked on or off. Infect Immun 2002; 70(7): 3344-54.
12. Ishitoya S, Yamamoto S, Mitsumori K, Ogawa O, Terai A. Non-secretor status is associated with female acute uncomplicated pyelonephritis. BJU Int 2002; 89(9): 851-4.
13. Farshad S, Emamghoraishi F, Japoni A. Association of virulent genes hly, sfa, cnf-1 and pap with antibiotic sensitivity in Escherichia coli strains isolated from children with community-acquired UTI. Iran Red Crescent Med J 2010; 12(1): 33-7.
14. Oliveira FA, Paludo KS, Arend LN, Farah SM, Pedrosa FO, Souza EM, et al. Virulence characteristics and antimicrobial susceptibility of uropathogenic Escherichia coli strains. Genet Mol Res 2011; 10(4): 4114-25.
15. Tiba MR, Yano T, Leite DS. Genotypic characterization of virulence factors in Escherichia coli strains from patients with cystitis. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 2008; 50(5): 255-60.
16. Santo E, Macedo C, Marin JM. Virulence factors of uropathogenic Escherichia coli from a university hospital in Ribeirao Preto, Sao Paulo, Brazil. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 2006; 48(4): 185-8.
17. Arisoy M, Aysev D, Ekim M, Ozel D, Kose SK, Ozsoy ED, et al. Detection of virulence factors of Escherichia coli from children by multiplex polymerase chain reaction. Int J Clin Pract 2006; 60(2): 170-3.
18. Nateghi F, Jafarpour M, Nazemi A. A survey for detection of eight correlated genes of avian pathogenic Escherichia coli in human uropathogenic Escherichia coli. Journal of Microbial World 2010; 3(8): 169-76.
19. Blanco M, Blanco JE, Rodriguez E, Abalia I, Alonso MP, Blanco J. Detection of virulence genes in uropathogenic Escherichia coli by polymerase chain reaction (PCR): comparison with results obtained using phenotypic methods. Journal of Microbiological Methods 1997; 31(12): 37-43.
20. Arabi Sh, Tohidi F, Naderi S, Nazemi A. The common fimbarie genotyping in uropathogenic Escherichia coli. Annals of Biological Research 2012; 3(10): 4951-4.
21. Bahalo S, Tajbakhsh E, Tajbakhsh S, Momeni M, Tajbakhsh F. Detection of some virulence factors of Escherichia coli isolated from urinary tract infection isolated of children in Shahrekord Iran by multiplex PCR. Middle-East J Sci Res 2013; 14(1): 29-32.

Journal of Isfahan Medical School Received: 25.02.2015

Vol. 33, No. 331, 3rd Week, June 2015 Accepted: 30.04.2015

Determination of P, S and Afa Fimbria Coding Genes in Escherichia Coli Isolates from Urinary Tract Infections

Mahbobeh Eslami[1], Reza Ghanbarpour PhD[2]

Original Article

Abstract

Background: Escherichia coli (E. coli) is a major cause of urinary tract infection in children and women. Several virulence factors have been detected in uropathogenic Escherichia coli strains. P, S and Afa fimbria are the most important factors which are coding by pap, sfa and afa genes, respectively. This study aimed to determine the presence and prevalence of fimbrial virulence genes in Escherichia coli isolates from patients with urinary tract infection in Rafsanjan city, Iran.

Methods: In this study, 145 urine samples were cultured for identification of Escherichia coli. The isolates were examined via standard biochemical tests. DNA extracts from the confirmed isolates were examined to determine papEF, afaBC and sfa / focDE genes using multiplex-polymerase chain reaction (PCR) method.

Findings: Among the cultured samples, 122 Escherichia coli isolates were determined. Virulence genes genotyping of isolates showed that 38.50% of the isolates were possessed at least one of the three virulence genes. The papEF gene was the most prevalent (18.85%) and prevalences of sfa/focDE and afaBC were 2.45% and 0.81%, respectively. Twenty isolates (16.39%) contained both papEF and sfa/focDE genes.

Conclusion: The results of this study in comparison with other researchers showed that papEF gene is in the high frequency, and then, afaBC and sfa/focDE fimbrial genes.

Keywords: Escherichia coli, Fimbrial genes, Urinary tract infection

Citation: Eslami M, Ghanbarpour R. **Determination of P, S and Afa Fimbria Coding Genes in Escherichia Coli Isolates from Urinary Tract Infections.** J Isfahan Med Sch 2015; 33(331): 546-53

1- MSc Student, Department of Microbiology, Sirjan Science and Research Branch, Islamic Azad University, Sirjan, Iran
2- Professor, Molecular Microbiology Research Group, Shahid Bahonar University, Kerman, Iran
Corresponding Author: Reza Ghanbarpour, Email: ghanbar@uk.ac.ir