



O-serogrouping of *Escherichia coli* strains isolated from patients with Urinary tract infection by using PCR method

Vahid Goudarzi¹, Mohsen Mirzaee², Reza Ranjbar³

1. Department of Cell and Molecular Biology, Boroujerd Branch, Islamic Azad University, Boroujerd, Iran
2. Department of Medical Laboratory Sciences, Boroujerd Branch, Islamic Azad University, Boroujerd, Iran
3. Molecular Biology Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Article Information

Article history:

Received: 2016/01/30

Accepted: 2016/04/17

Available online: 2016/10/17

Article Subject:

Medical Bacteriology

IJMM 2017; 10(6): 01-08

Corresponding author at:

Dr. Mohsen Mirzaee

Department of Medical
Laboratory Sciences,
Boroujerd Branch, Islamic
Azad University, Boroujerd,
Iran

Tel: 0986642513054

Email:

Mohsen1439@yahoo.com

Abstract

Background and Aim: Urinary tract infection (UTI) is one of the most common infections, and *Escherichia coli* is so far the most common causative agent of this disease. The O antigen, consisting of many repeats of an oligosaccharide unit, is part of the lipopolysaccharide (LPS) in the outer membrane of Gram-negative bacteria. The variability of the O antigen provides the major basis for serological schemes of Gram-negative bacteria. The aim of this study was to investigate the prevalence of O-serogroups among *E. coli* isolated from patients with UTI.

Materials and Methods: During three months, 210 patients with urinary tract infection, referred to three hospitals of Tehran, Sanandaj and Boroujerd. *E. coli* isolates were identified using standard methods then serogrouping was performed by using PCR method.

Results: A total of 150 *E. coli* strains were isolated from the urine samples. The most common types of O antigens were O1 (13.33%), O16 (8%), O8 (5.33%) and O21 (4%). There was no positive isolate for O22 and O83 genes.

Conclusions: The present study revealed that serogroup O1 was isolated with maximum frequency followed by O16, O8 and O21, respectively. In UPEC, the O-serogroups can be related to the virulence factor profile of each strain. Further studies from other parts of Iran and on other serogroup are recommended.

KeyWords: *Escherichia coli*, Urinary tract infection, O-Antigen

Copyright © 2017 Iranian Journal of Medical Microbiology. All rights reserved.

How to cite this article:

Goudarzi V, Mirzaee M, Ranjbar R. O-serogrouping of *Escherichia coli* strains isolated from patients with Urinary tract infection by using PCR method. Iran J Med Microbiol. 2017; 10 (6): 01-08



Farnam Inc.

تعیین سروگروپ‌های O در سویه‌های اشریشیاکلی جدا شده از بیماران مبتلابه عفونت دستگاه

اداراری با استفاده از روش PCR

وحید گودرزی^۱، محسن میرزایی^۲، رضا رنجبر^۳

۱. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران

۲. گروه علوم آزمایشگاهی، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران

۳. مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه... (عج)، تهران، ایران

چکیده

اطلاعات مقاله

زمینه و اهداف: عفونت ادراری (UTI) یکی از شایع‌ترین عفونت‌ها بوده و اشریشیاکلی رایج‌ترین دلیل بروز عفونت ادراری می‌باشد. آنتی‌ژن O متشکل از واحدهای الیگوساکاریدی تکراری است که یکی از اجزاء لیپوپلی ساکارید (LPS) در غشاء خارجی باکتری‌های گرم منفی می‌باشد. تغییرات آنتی‌ژن O مبنای اصلی مطالعات سرولوژیک در باکتری‌های گرم منفی می‌باشد. هدف از این مطالعه بررسی شیوع انواع سروگروپ‌های O در باکتری اشریشیاکلی جدا شده از بیماران مبتلابه عفونت ادراری بود.

مواد و روش کار: در طول سه ماه، ۲۱۰ بیمار مبتلا به عفونت ادراری، مراجعه‌کننده به سه بیمارستان شهرهای تهران، سنندج و بروجرد مورد بررسی قرار گرفتند. جدایه‌های اشریشیاکلی با استفاده از روش‌های استاندارد تعیین هویت شدند. سپس تعیین سروگروپ‌های این جدایه‌ها با استفاده از روش PCR انجام گرفت.

یافته‌ها: از تعداد کل بیماران مورد مطالعه قرار گرفته، ۱۵۰ جدایه اشریشیاکلی از نمونه ادرار جدا شد. شایع‌ترین انواع آنتی‌ژن O، O_{۱۶} (%۸)، O_{۱۶} (%۸)، O_{۱۶} (%۸)، O_{۱۶} (%۸)، O_{۱۶} (%۸) و O_{۱۶} (%۸) گزارش شد و هیچ جدایه مثبتی برای ژن‌های O_{۲۲} و O_{۸۳} شناسایی نگردید.

نتیجه‌گیری: مطالعه حاضر نشان داد که سروگروپ O_{۱۶} با حداکثر تکرار و به دنبال آن سروگروپ‌های O_{۱۶}، O_۸ و O_{۲۱}، به ترتیب از فراوانی بیشتری برخوردار بودند. در اشریشیاکلی مولد عفونت ادراری (UPEC)، سروگروپ‌های O می‌توانند با الگوی عوامل ویروالانس در هر سویه در ارتباط باشند. علاوه بر این، مطالعات بیشتر در خصوص فراوانی انواع سروگروپ‌ها در سایر نقاط ایران و از دیگر سروگروپ توصیه می‌شود.

کلمات کلیدی: اشریشیاکلی، عفونت دستگاه ادراری، آنتی‌ژن O

کپی‌رایت ©: حق چاپ، نشر و استفاده علمی از این مقاله برای مجله میکروبی شناسی پزشکی ایران محفوظ است.

تاریخچه مقاله
دریافت: ۱۳۹۴/۱۱/۱۰
پذیرش: ۱۳۹۵/۰۱/۲۹
انتشار آنلاین: ۱۳۹۵/۰۷/۲۶

موضوع:
باکتری‌شناسی پزشکی
IJMM 1395; 10(6): 01-08

نویسنده مسئول:
دکتر محسن میرزایی
گروه علوم آزمایشگاهی، دانشگاه
آزاد اسلامی واحد بروجرد، بروجرد،
ایران

تلفن: ۰۹۸۶۶۴۲۵۱۳۰۵۴
پست الکترونیک:
Mohsen1439@yahoo.com

مقدمه

رنج می‌برد (۱). عفونت دستگاه ادراری یکی از مهم‌ترین عفونت‌های انسان محسوب می‌شود و از نظر فراوانی بعد از عفونت تنفسی قرار دارد و یکی از شایع‌ترین عفونت‌ها در بین بیماران بستری در بیمارستان و مراجعه‌کننده به آزمایشگاه‌ها می‌باشد. عامل این عفونت در اغلب این موارد اشریشیاکلی می‌باشد. که در تمام گروه‌های سنی و در هر دو جنس دیده می‌شود، اما احتمال ابتلا به عفونت ادراری در میان خانم‌های جوان بیش‌تر است (۲). در بین سویه‌های اشریشیاکلی بیماری‌زا، سویه‌های اشریشیاکلی یوروپاتوژن (Uropathogenic E.coli: UPEC)، شایع‌ترین

عفونت مجاری ادراری (UTI: Urinary Tract Infection)، نوعی پاسخ التهابی این مجرا نسبت به تهاجم عوامل عفونی از جمله باکتری‌ها می‌باشد. میکروارگانیسم‌های مختلف قادر هستند از راه مجاری ادراری وارد مثانه شده و با طی مسیری به سمت کلیه‌ها حرکت کنند. چنانچه قسمت‌های تحتانی مجاری ادراری مانند مثانه درگیر شوند بیمار از سوزش و درد به هنگام ادرار رنج می‌برد. اگر قسمت‌های فوقانی مجاری ادراری مانند کلیه‌ها درگیر شود، عفونت را التهاب کلیه (پیلونفریت) می‌نامند و بیمار از علائمی چون درد پهلو، تهوع، استفراغ، تب و لرز شدید

به‌طور نرمال روی کروموزوم در درون یک دسته ژنی بین *galf* و *gnd* می‌باشد. ژن‌های *wzx* و *wzy* به‌طور نرمال برای آنتی‌ژن O علاوه بر اختصاصیت، تنوع ژنتیکی داشته و می‌توانند به‌عنوان هدف در روش‌های تایپینگ مولکولی از قبیل PCR برای شناسایی سروگروپ‌های مختلف /شریشیالکی استفاده شوند (۹).

مواد و روش‌ها

در یک مطالعه توصیفی- مقطعی، طی مدت ۴ ماه (از اسفند ۱۳۹۳ لغایت خرداد ۱۳۹۴)، ۲۱۰ نمونه ادرار از افراد مبتلا به علائم عفونت ادراری به روش mid-stream (قسمت میانی جریان ادرار) از بیمارستان‌های امام خمینی (ره) بروجرد، بعثت سنجند و بقیه... (عج) تهران جمع‌آوری گردید. ابتدا نمونه‌ها بر روی محیط‌های مک کانکی آگار و EMB کشت داده شدند (سپس با استفاده از آزمایش‌های رایج بیوشیمیایی مانند اوره، SIM، MR/VP، TSI و سیمون سیترات (تمامی محیط‌های فوق ساخت شرکت مرک آلمان)، تعداد ۱۵۰ ایزوله /شریشیالکی جمع‌آوری شد.

استخراج DNA و بررسی فراوانی ژن‌های سروگروپ O

استخراج DNA باکتری با روش جوشاندن انجام گرفت، به‌طور خلاصه یک کلنی خالص از کشت تازه باکتری در میکروتیوپ حاوی محیط مایع LB (مرک، آلمان) تلقیح گردید و به مدت ۲۰ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس انکوبه شد. میکروتیوپ در دور ۱۲۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. مایع رویی دور ریخته شد و ۵۰۰ میکرولیتر آب مقطر استریل به آن اضافه شد و به‌خوبی مخلوط گردید. میکروتیوپ به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس قرار داده شد و سپس در دور ۱۲۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. مایع رویی حاوی DNA است که در میکروتیوپ دیگر ریخته شد. تا زمان انجام واکنش PCR در فریزر ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند. به‌منظور تشخیص حضور ژن‌های سروگروپ O از روش PCR استفاده گردید. در جدول ۱ توالی پرایمرهای استفاده‌شده (پیشگام- ایران) آورده شده است. هریک از سویه‌های دریافت شده در آزمایشگاه با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن *16SrRNA* باکتری /شریشیالکی تأیید شدند. اجزاء واکنش، حجم واکنش و برنامه حرارتی در جدول ۲ آمده است.

سویه‌های ایجادکننده عفونت ادراری هستند (۳). /شریشیالکی‌ها شامل هر دو کلنی از سویه‌های بیماری‌زا و کومنسال هستند که به‌طور معمولی توسط سروگروپ‌های آنتی‌ژن‌های سطحی این باکتری‌ها، مانند آنتی‌ژن O (لیپوپلی ساکارید)، آنتی‌ژن H (فلاژله) و در برخی موارد آنتی‌ژن K (کپسول) شناسایی می‌شوند. که از بین آنتی‌ژن سوماتیک O اهمیت بیشتری نسبت به سایرین دارد. آنتی‌ژن O قسمتی از لیپوپلی ساکارید موجود در غشای خارجی باکتری‌های گرم منفی است که از واحدهای اولیگوساکارید تکرارشونده ساخته شده است. این آنتی‌ژن به‌طور میانگین ۳ تا ۱۶ واحد قندی ساخته شده که روی سطح سلول نقش یک آنتی‌ژن اصلی را ایفا کرده و عامل اصلی برای تحریک سیستم ایمنی میزبان می‌باشد (۴). آنتی‌ژن O باعث ایجاد تغییرات آنتی‌ژن یک در باکتری با واسطه تفاوت در اجزاء قندی، ارتباطات و ساختمان واحدهای تکراری قندی می‌شود. برای اولین بار، /شریشیالکی بر اساس انواع مختلفی از آنتی‌ژن O توسط Kauffmann طبقه‌بندی شد. در حال حاضر بیش ۱۸۴ گروه O در /شریشیالکی‌های مختلف طبقه‌بندی شده وجود دارد به‌جز شش سروگروپ (O122, O94, O72, O67, O47, O31) که تعیین نشده‌اند (۵). ژن‌های موردنیاز برای سنتز آنتی‌ژن O /شریشیالکی در کلاستر ژنی آنتی‌ژن O روی کروموزوم باکتری واقع شده‌اند. این ژن‌ها بین یک ناحیه حفاظت‌شده ۳۹ جفت بازی در بالادست و ژن *gnd* کد کننده آنزیم ۶- فسفولگوکونات دهیدروژناژ در پایین دست قرار دارند. ژن‌هایی که در سنتز آنتی‌ژن O به‌طور نرمال نقش دارند شامل سه گروه می‌باشند، ۱- ژن سنتز کننده گروه قند نوکلئوتید ۲- ژن سنتز کننده گلیکوزیل ترانسفراز ۳- ژن پردازش کننده واحد O که شامل ژن فلیپاز (*wzx*) و ژن پلیمراز (*wzy*) می‌باشد (۶، ۷). با توجه به تفاوت در ترکیب آنتی‌ژن O، ژن‌هایی که آنزیم‌های موردنیاز برای سنتز آنتی‌ژن O را کد می‌کنند میان سروگروپ‌های مختلف در /شریشیالکی متفاوت هستند.

از بین بیش از ۱۸۴ سروگروپ که از باکتری /شریشیالکی شناسایی شده است، سروگروپ‌های O1, O2, O4, O6, O7, O8, O15, O16, O18, O21, O22, O25, O75 و O83 ترجیحاً در ارتباط با سویه‌های /شریشیالکی یوروپاتوزنیک هستند (۸). همان‌طور که گفته شد، همه ژن‌های مخصوص سنتز آنتی‌ژن O

جدول ۱: فهرست پرایمرهای مورداستفاده برای شناسایی ژن‌های سرگروپ در اشریشیاکلی یوروپاتوژنیک جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری

Serogroup	Target gene	Primer sequences (5'- 3')	Size of product (bp)
O1	wzx	F: GTGAGCAAAAGTGAATAAGGAACG R: CGCTGATACGAATACCATCCTAC	۱۰۹۸
O8	orf469	F: CCAGAGGCATAATCAGAAATAACAG R: GCAGAGTTAGTCAACAAAAGGTCAG	۴۴۸
O16	wzx	F: GGTTCATCTCACAGCAACTCAG R: GTTAGAGGGATAATAGCCAAGCGG	۳۰۲
O21	wzx	F: CTGCTGATGTCGCTATTATTGCTG R: TGAAAAAAGGGAAACAGAAGAGCC	۲۰۹
O22	wzx	F: TTCATTGTCGCCACTACTTTCCG R: GAAACAGCCCATGACATTACTACG	۴۶۸
O83	wzx	F: GTACACCAGGCAAACTCGAAAG R: TTCTGTAAGCTAATGAATAGGCACC	۳۶۲
<i>E. coli</i>	16S rRNA	F: AGAGTTTGATCMTGGCTCAG R: CCGTCAATTCATTTGAGTTT	۹۱۹

جدول ۲: حجم، فرایند دمایی و تعداد سیکل واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمرز

حجم واکنش	برنامه PCR	ژن‌های هدف
25µL Taq 2x Master Mix 1x: Tris-Hcl pH 8.5, (NH ₄) ₂ SO ₄ , 3Mm Mgcl ₂ , 0.2% Tween 20 – 0.4 Mm dNTPs- 0.2 units/µl Ampliqon Taq DNA polymerase (Pishgam) 1 µM of each primers F & R (Pishgam) 3 µL DNA template	1 Cycle 95°C5 min	O83 ,O22 ,O21 ,O16 ,O8 ,O1
	30 Cycle 95°C30 s	
	55°C60 s	
	72°C60 s	
	1Cycle 72°C5 min	

الکتروفورز محصول PCR

برای بررسی محصولات PCR از الکتروفورز در ژل آگاروز ۱/۱/۵٪ و رنگ آمیزی DNA بارنگ سایبر گرین انجام شد. ژل‌ها با استفاده از دستگاه Gel Documentation (Viber، آلمان) مورد بررسی قرار گرفتند.

تجزیه تحلیل آماری

داده‌های حاصل از این مطالعه با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (SPSS Inc. 2007. Version 16.0. Chicago.) و آزمون‌های آماری مربع کای و فیشر تجزیه و تحلیل گردید. مرز معنی‌داری روی $P < 0.05$ قرار داده شد.

یافته‌ها

از اسفند ۱۳۹۳ لغایت خرداد ۱۳۹۴، از دویست و ده نمونه مورد بررسی، ۱۵۰ ایزوله اشریشیاکلی مولد عفونت ادراری شناسایی گردید (تصویر ۱). نتایج نشان می‌دهد از میان ۱۵۰

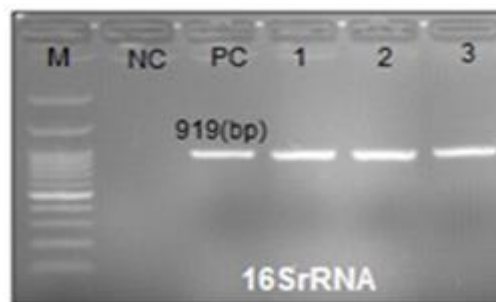
ایزوله، ۳۹ مورد (۲۶٪) مربوط به جنس مذکر و ۱۱۱ مورد (۷۴٪) مربوط به جنس مؤنث بود. بیش‌ترین شیوع اشریشیاکلی مولد عفونت ادراری در خانم‌ها در گروه سنی ۳۰ تا ۵۰ سال (۱۷/۳۳٪) و در آقایان در گروه سنی بالاتر از ۶۵ سال (۸/۶۶٪) دیده شد. فراوانی باکتری اشریشیاکلی یوروپاتوژنیک جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت‌های ادراری برحسب بخش بستری به این صورت بود: ۶۰٪ نمونه‌ها از بخش داخلی، ۲۶/۶۶٪ از اورژانس، ۴/۶۶٪ از بخش ICU، ۲/۶۶٪ از بخش قلب، ۲/۶۶٪ بیماران سرپایی، ۱/۳۳٪ از بخش CCU و ۲٪ از بخش ارولوژی و سایر بخش‌ها. فراوانی ژن‌های سرگروپ O1، O8، O16، O21، O22 و O83 در باکتری اشریشیاکلی جداسازی شده از بیماران مبتلا به عفونت‌های ادراری در جدول ۳ آمده است. بر طبق نتایج به‌دست‌آمده در میان جدایه‌ها شیوع ژن‌های O1، O8، O16 و O21، به ترتیب شامل ۱۳/۳۳، ۵/۳۳، ۸ و ۴ درصد به دست آمد و ژن‌های O22 و O83 در سویه‌های ما شناسایی نشد (تصویر ۲).

جدول ۳: فراوانی ژن‌های سرگروپ O در باکتری *اشریشیاکلی* یوروپاتوژنیک جداسازی شده از بیماران مبتلابه عفونت ادراری برحسب بیمارستان و جنسیت

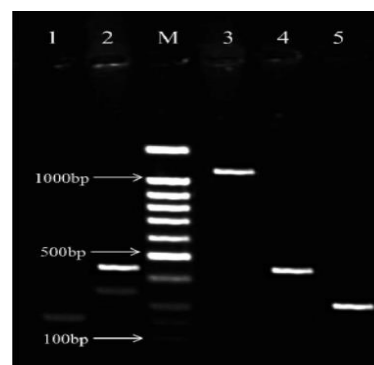
ژن‌های سرگروپ O (تعداد %)								
O83	O22	O21	O16	O8	O1	جنس	بیمارستان	
-	-	۱ (۱۰)	-	-	۲ (۲۰)	مذکر (۱۰)	بقیه... (عج)	
-	-	۲ (۴/۵۴)	۸ (۱۸/۱۸)	۴ (۹/۰۹)	۶ (۱۳/۶۳)	مؤنث (۴۴)	تهران	
-	-	۳ (۵/۵۵)	۸ (۱۴/۸۱)	۴ (۷/۴۰)	۸ (۱۴/۸۱)	کل (۵۴)		
-	-	۲ (۱۱/۱۱)	۱ (۵/۵۵)	-	۲ (۱۱/۱۱)	مذکر (۱۸)	بعثت	
-	-	-	۱ (۳/۰۳)	-	۴ (۱۲/۱۲)	مؤنث (۳۳)	سنندج	
-	-	۲ (۳/۹۲)	۲ (۳/۹۲)	-	۶ (۱۱/۷۶)	کل (۵۱)		
-	-	۱ (۹/۰۹)	۲ (۱۸/۱۸)	-	۱ (۹/۰۹)	مذکر (۱۱)	امام خمینی (ره)	باکتری
-	-	-	-	۴ (۱۱/۷۶)	۵ (۱۴/۷۰)	مؤنث (۳۴)	بروجرد	<i>اشریشیاکلی</i> ۱۵۰
-	-	۱ (۲/۲۲)	۲ (۴/۴۴)	۴ (۸/۸۸)	۶ (۱۳/۳۳)	کل (۴۵)		
-	-	۶ (۴)	۱۲ (۸)	۸ (۵/۳۳)	۲۰ (۱۳/۳۳)	کل (۱۵۰)		

بحث

عفونت مجاری ادراری شامل عفونت‌های کلیه‌ها و مثانه است که از نظر شیوع، دومین نوع عفونت باکتریایی پس از عفونت مجاری تنفسی می‌باشد (۱۵، ۱۴). *اشریشیاکلی* عامل بیش از ۸۰ درصد موارد UTI در تمام رده‌های سنی است (۱۷، ۱۶). درمان نامناسب UTI باگذشت زمان می‌تواند باعث نارسایی کلیوی شود (۱۸). *اشریشیاکلی* مهم‌ترین عامل ایجادکننده عفونت ادراری است. سویه‌های *اشریشیاکلی* یوروپاتوژنیک (UPEC) خصوصیات ویروالانس خاصی از قبیل توانایی کسب آهن، اتصال، سرگروپ‌های H: K: O اختصاصی و توانایی ساخت سیتوتوکسین‌های خاصی را از خود نشان می‌دهند. همه این ویژگی‌ها در کلونیزاسیون و تهاجم باکتری نقش دارند. سویه‌های *اشریشیاکلی* به‌طور معمول با روش سروتایپینگ برای آنتی‌ژن H (فلاژل)، O (لیپوپلی ساکارید) و در برخی موارد آنتی‌ژن K (کپسول) شناسایی می‌شوند (۱۹). سرگروپ‌های سویه‌های UPEC با برخی از عوامل مؤثر در بیماری‌زایی این باکتری در ارتباط می‌باشند. در مطالعات گذشته گزارش‌هایی مبنی بر ارتباط بین سرگروپ‌های O1، O2، O4، O6، O7، O8، O15، O16، O18، O21، O22، O25، O75 و O83 با سویه‌های UPEC مشاهده گردیده است (۱۲). در مطالعه حاضر ۶ سرگروپ O در جدایه‌های *اشریشیاکلی* مولد عفونت ادراری مورد بررسی قرار گرفت. از ۱۵۰ جدایه *اشریشیاکلی* مورد بررسی ۴۶ جدایه (۳۰/۶۶ درصد) واجد یکی از سرگروپ‌های O مورد بررسی بوده و ۶۹/۳۴



تصویر ۱: واکنش PCR برای ردیابی ژن 16S rRNA باکتری *اشریشیاکلی* یوروپاتوژنیک در نمونه‌های ادراری بیماران مبتلابه عفونت‌های ادراری. M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی، NC: کنترل منفی، PC: کنترل مثبت، شماره ۱-۳ نمونه‌های مثبت



تصویر ۲: محصول PCR با اندازه‌های ۱۰۹۸، ۴۴۸، ۳۰۲، ۲۰۹، ۴۶۸ و ۳۶۲ جفت بازی حاصل از پرایمرهای مورد استفاده برای ژن‌های O1، O8، O16، O21، O22 و O83. M: مارکر

مثانه را بررسی کردند و نشان دادند که سرگروپ‌های اصلی ردیابی شده در کودکان مبتلابه پیلونفریت O1، O2، O4، O7، O25 و سرگروپ‌های اصلی ردیابی شده در کودکان مبتلابه التهاب مثانه O16، O18، O75، O22 بودند و شیوع سرگروپ‌های O1، O16، O22 را به ترتیب ۲۹٪، ۱۱/۲٪، ۱/۶٪ گزارش کردند (۲۳). همچنین در مطالعه‌ای که توسط Issazadeh و همکاران در سال ۲۰۱۴ انجام شد سرگروپ O1 از فراوانی بیشتری برخوردار بود (۲۴). همان‌طور که مشاهده می‌شود در این مطالعه نیز مشابه مطالعه ما سرگروپ O1 فراوانی بیشتری در بین سرگروپ‌های موردبررسی داشت. از سوی دیگر همان‌طور که گفته شد در مطالعه حاضر دو سرگروپ‌های O22 و O83 در هیچ‌یک از جدایه‌های مورد مطالعه ما شناسایی نشد. در مطالعه Momtaz و Dormanesh در سال ۲۰۱۳ نیز سرگروپ‌های O22 و O83 کمترین فراوانی را داشته و در مطالعه Dormanesh و همکارانش در سال ۲۰۱۳ سرگروپ O83 در هیچ‌یک از سویه‌های موردبررسی شناسایی نشد که با مطالعه ما همخوانی دارد (۲۳، ۱۰). با توجه به نتایج به‌دست‌آمده در خصوص سرگروپ‌های O22 و O83 می‌توان گفت احتمالاً این دو سرگروپ در بین جدایه‌های اشریشیاکلی مولد عفونت ادراری در ایران از شیوع پائینی برخوردار هستند.

بر اساس نتایج به‌دست‌آمده در تحقیق حاضر، سرگروپ O1 از فراوانی بیشتری در بین جدایه‌های اشریشیاکلی جدا شده از بیماران مبتلابه عفونت ادراری برخوردار بود. شیوع بالای سرگروپ O1 در جدایه‌های مولد عفونت ادراری می‌تواند نتیجه ارتباط بین سرگروپ‌ها با توانایی ایجاد بیماری و حضور عوامل ویروالانس باکتری باشد. یافتن و درک ارتباط بین عوامل مؤثر در بیماری‌زایی با سرگروپ‌های مختلف در آینده نه‌چندان دور می‌تواند زمینه‌ساز جایگزینی درمان‌های اکولوژیک محور را با درمان‌های به نسبت تهاجمی‌تر نظیر استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها فراهم می‌نماید. از سوی دیگر بررسی این ارتباط‌ها می‌تواند فراهم‌کننده بینش وسیع‌تر محققین در خصوص روند بیماری‌زایی باکتری‌ها از قبیل اشریشیاکلی و در مرحله بعد پیشگیری از آن خواهد بود. از سوی دیگر استفاده از روش PCR می‌تواند یک استراتژی کارآمد و مناسب برای سرگروپ‌های سویه‌های اشریشیاکلی مولد عفونت ادراری و اجتناب از معایب روش سرولوژی سنتی باشد. بنابراین، توسعه این روش می‌تواند برای

درصد سویه‌ها فاقد این سرگروپ‌ها بودند. از این میان سرگروپ O1 با فراوانی ۱۳/۳۳٪ بیشترین فراوانی را در بین ژن‌های موردبررسی به خود اختصاص داد. برای اولین بار کافمن سویه‌های اشریشیاکلی را بر اساس انواع مختلف آنتی‌ژن O طبقه‌بندی نمود (۱۹). تاکنون بیش از ۱۸۰ نوع آنتی‌ژن O مورد شناسایی قرار گرفته است (۲۰). تنها تعداد محدودی از سرگروپ‌های O در اشریشیاکلی مانند O1، O2، O4، O6، O7، O15، O21، O22، O25، O75، O83 و غیره با UTI در ارتباط بوده است و شیوع آن‌ها در مکان‌های مختلف و در طول زمان تغییر می‌کند (۲۱).

در ایران مطالعات زیادی در خصوص سرگروپ بندی جدایه‌های اشریشیاکلی مولد عفونت ادراری بر اساس آنتی‌ژن O انجام گرفته است. در یکی از مطالعاتی که توسط Emamghoraishi و همکارانش در سال ۲۰۱۱ انجام گرفت ۹۶ جدایه اشریشیاکلی مولد عفونت ادراری جدا شده از کودکان مبتلابه پیلونفریت و سیستمیت از نظر سرگروپ‌های O موردبررسی قرار دادند (۲۲). آن‌ها در مطالعه خود به این نتیجه رسیدند که بین برخی از سرگروپ‌های O و ژن‌های دخیل در بیماری‌زایی ارتباط وجود دارد. در این مطالعه مشابه مطالعه ما سرگروپ O1 شایع‌ترین سرگروپ در جدایه‌های مولد پیلونفریت و سیستمیت گزارش شده است. در مطالعه حاضر سرگروپ‌های O1، O8، O16 و O21، به ترتیب از فراوانی برابر ۱۳/۳۳، ۵/۳۳، ۸ و ۴ درصد برخوردار بودند و سرگروپ‌های O22 و O83 در جدایه‌های مورد مطالعه ما شناسایی نشد. در مطالعه Li و همکاران که با استفاده از روش PCR چهارده سرگروپ O موردبررسی قرار دادند (O1، O2، O4، O6، O7، O14، O18، O22، O75 و O83) سرگروپ‌های O1، O2، O18 و O75 از فراوانی بالاتری برخوردار بودند (۱۳). در بسیاری از مطالعات انجام شده در گذشته سرگروپ O6 رایج‌ترین سرگروپ در سویه‌های اشریشیاکلی مولد عفونت ادراری گزارش گردیده است. مطالعه ما O1، O16 و O8 از فراوانی بیشتری برخوردار بودند، علت این تفاوت در نتایج به‌دست‌آمده در مطالعه حاضر می‌تواند به این دلیل باشد که O6 یک سرگروپ شایع در سویه‌هایی از اشریشیاکلی است که از کودکان با عفونت ادراری جدا شده‌اند حال آنکه نمونه‌های مورد مطالعه ما در همه سنین مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند.

Dormanesh و همکارانش در سال ۲۰۱۳، ۱۲۱ سویه اشریشیاکلی از نمونه‌های ادرار افراد مبتلا به پیلونفریت و التهاب

تعارض منافع

بین نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافی وجود ندارد.

تشخیص بالینی، مطالعات اپیدمیولوژی و کنترل این بیماری بسیار مفید باشد.

تقدیر و تشکر

نویسندگان این مقاله لازم می‌دانند بدین‌وسیله از دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد جهت تأمین امکانات و همکاری صمیمانه در انجام این پروژه قدردانی نمایند.

References

- Schaechter M, Engleberg NC, Dirita VJ, Dermody TS. Schaechter's mechanisms of microbial disease. Pathophysiology of infection disease. 2nd ed. Lippincott Williams & Wilkins; 2012. p. 643-650.
- Hamid-Farahani R, Tajik A, Noorifard M, Keshavarz A. Antibiotic resistance pattern of E.coli isolated from urine culture in 660 Army clinical laboratory center in Tehran 2008. J Army Univ Med Sci 2012; 10 (1): 45-49. [in Persian]
- Wilson BA, Salyers AA, Whitt DD, Winkler ME. Bacterial pathogenesis: a molecular approach. 2nd ed. ASM Press; 2011. p. 823-832.
- Sarkar S, Ulett GC, Totsika M, Phan M-D, Schembri MA. Role of Capsule and O Antigen in the Virulence of Uropathogenic *Escherichia coli*. PLoS one 2014; 9(4): e94786.
- Kalynych S, Yao D, Magee J, Cygler M. Structural characterization of closely related O-antigen lipopolysaccharide (LPS) chain length regulators. J Biol Chem 2012; 287(19):15696-705.
- Wang Q, Perepelov AV, Beutin L, Senchenkova SN, Xu Y, Shashkov AS and et al. Structural and genetic characterization of the *Escherichia coli* O180 O antigen and identification of a UDP-GlcNAc 6-dehydrogenase. Glycobiology 2012; 22(10):1321-31.
- Debrooy C, Roberts E, Valadez AM, Dudley EG, Cutter CN. Detection of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O26, O45, O103, O111, O113, O121, O145, and O157 serogroups by multiplex polymerase chain reaction of the *wzx* gene of the O-antigen gene cluster. Foodborne Pathog Dis 2011; 8(5):651-2.
- Liu Y, Yan X, Debrooy C, Fratamico PM, Needleman DS, Li RW, Wang W, Losada L, Brinkac L, Radune D, Toro M. *Escherichia coli* O-antigen gene clusters of serogroups O62, O68, O131, O140, O142, and O163: DNA sequences and similarity between O62 and O68, and PCR-based serogrouping. Biosensors 2015; 5(1):51-68.
- DebRoy C, Roberts E, Fratamico PM. Detection of O antigens in *Escherichia coli*. Anim Health Res Rev 2011; 12 (2): 169-185.
- Momtaz H, Karimian A, Madani M, Safarpour Dehkordi F, Ranjbar R, Sarshar M, Souod N. Uropathogenic *Escherichia coli* in Iran: Serogroup distributions, virulence factors and antimicrobial resistance properties. Ann Clin Microbiol Antimicrob 2013; 12 (8): e 23627669.
- Yun KW, Kim DS, Kim W, Lim IS. Molecular typing of uropathogenic *Escherichia coli* isolated from Korean children with urinary tract infection. Korean J Pediatr 2015; 58(1): 20-7.
- Molina-López J, Aparicio-Ozores G, Ribas-Aparicio RM, Gavilanes-Parra S, Chávez-Berrocal ME, Hernández-Castro R, Manjarrez-Hernández HÁ. Drug resistance, serotypes, and phylogenetic groups among uropathogenic *Escherichia coli* including O25-ST131 in Mexico City. J Infect Dev Ctries 2011; 5(12):840-9.
- Li D, Liu B, Chen M, Guo D, Guo X, Liu F, Feng L, Wang L. A multiplex PCR method to detect 14 *Escherichia coli* serogroups associated with urinary tract infections. J Microbiol Methods 2010; 82(1):71-7
- 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.
- Nielubowicz GR and Harry M. Host-pathogen interactions in urinary tract infection. Nat Rev Urol 2010; 7 (8): 430-441.
- 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.

17. Kudinha T, Kong F, Johnson JR, Andrew SD, Anderson P, Gilbert GL. Multiplex PCR-based reverse line blot assay for simultaneous detection of 22 virulence genes in uropathogenic *Escherichia coli*. *Appl Environ Microbiol* 2012; 78(4): 1198–202.
18. Asadi S, Kargar M, Solhjoo K, Najafi A, and Ghorbani-Dalini S. The association of virulence determinants of uropathogenic *Escherichia coli* with antibiotic resistance. *Jundishapur J Microbiol* 2014; 7 (7): e9936. [in Persian]
19. Rashki A and Hussein AA. O-serotyping of *Escherichia coli* Strains isolated from Patients with Urinary Tract Infection in Southeast of Iran. *Int J Enteric Pathog* 2014; 2(4): e20968
20. Wang Q, Perepelov AV, Beutin L, Senchenkova SN, Xu Y, Shashkov AS, et al. Structural and genetic characterization of the *Escherichia coli* O180 O antigen and identification of a UDP-GlcNAc 6-dehydrogenase. *Glycobiolog* 2012; 22(10):1321-31.
21. Shweta S, Nirmaljit K, Shalini M, Preeti M, Wasim A and Charoo H. Serotyping and Antimicrobial Susceptibility Pattern of *Escherichia coli* Isolates from Urinary Tract Infections in Pediatric Population in a Tertiary Care Hospital. *J Pathog* 2016; e2548517.
22. Emamghoraishi F, Farshad S, Kalani M. Relationship between O serotype and virulent genes in *Escherichia coli* causing urinary tract infections. *Iran J Kidney Dis* 2011; 5(4):234-7. [in Persian]
23. Dormanesh B, Safarpour F, Hosseini S, Momtaz H, Mirnejad R, Hoseini MJ, Yahaghi E. Virulence factors and O-serogroups profiles of uropathogenic *Escherichia coli* isolated from Iranian pediatric patients. *Iran Red Crescent Med J* 2014; 16 (2). e14627. [in Persian]
24. Issazadeh K, Naghibi SN, Khoshkholgh-Pahlaviani MM. Drug Resistance and Serotyping of Uropathogenic *Escherichia coli* among Patients with Urinary Tract Infection in Rasht, Iran. *Zahedan J Res Med Sci* 2015; 17 (6): 1-5. [in Persian]