تیپ‌بندی مولکولی سویه‌های اشریشیاکلی اوروپاتوژنیک (UPEC) در استان اصفهان و دسته‌بندی ژنتیکی جدایه‌های سروگروپ O25 به روش ERIC-PCR

حسن ممتاز[1*]، فاطمه رییسی[2]، زهرا بمزاده[3]

۱. استاد، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران
۲. دانش آموخته کارشناسی‌ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران
۳. گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۸/۲۲؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۲/۱۳)

چکیده

سابقه و هدف: اشریشیاکلی شامل طیف گسترده ای از سویه‌های مختلف در اکوسیستم‌ها با تنوع زیاد در ژنوم آن‌ها است. برخی از انواع سویه‌ها باعث ایجاد بیماری‌های جدی مانند عفونت‌های دستگاه ادراری (UTI) می‌گردند. اشریشیاکلی اوروپاتوژنیک (UPEC) شایع ترین عامل ایجاد عفونت ادراری در انسان است. هدف از این مطالعه بررسی شیوع انواع سروگروپ‌های O در جدایه‌های اشریشیاکلی جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری در استان اصفهان و دسته‌بندی ژنتیکی جدایه‌های سروگروپ O25، به روش ERIC-PCR می‌باشد.

مواد و روش کار: ۲۲۶ نمونه ادرار از بیماران مبتلا به عفونت ادراری در بیمارستان‌های استان اصفهان جمع آوری و مورد بررسی قرار گرفتند. جدایه‌های اشریشیاکلی با استفاده از روش‌های بیوشیمیایی شناسایی شدند. سروگروپ‌های این جدایه‌ها به روش PCR تعیین و دسته بندی ژنتیکی جدایه‌های دارای سروگروپ O25 با استفاده از روش ERIC-PCR انجام گرفت.

نتایج: از میان کل نمونه‌های مورد مطالعه، ۹۶ جدایه اشریشیاکلی جدا گردید. شایع ترین انواع سروگروپ O، O25(۳۷/۵ درصد)، O21(۹/۳۷ درصد) و O6(۸/۳۳ درصد) بودند. دسته بندی ژنتیکی جدایه‌های دارای سروگروپ O25، ۲۵ پروفایل مختلف را در میان این ۳۶ جدایه نشان داد.

نتیجه‌گیری: تکنیک ERIC-PCR روش سریع، حساس و ارزان قیمت می‌باشد. وجود تنوع ژنتیکی در جدایه‌ها نشانگر منابع مختلف آلوده کننده دستگاه ادراری به این باکتری است و این روش یک تکنیک مناسب جهت تایپینگ مولکولی سویه‌های اشریشیاکلی جدا شده از منابع مختلف عفونت‌های مجاری ادراری می‌باشد.

کلیدواژگان

ERIC-PCR، اشریشیاکلی اوروپاتوژنیک، آنتی ژن O، عفونت دستگاه ادراری.

* نویسنده مسئول، رایانامه: hamomtaz@yahoo.com

مقدمه

عفونت مجرای ادراری یکی از مهمترین و شایع ترین عفونت‌هایی است که در سنین مختلف در انسان رخ می‌دهد و درمان نادرست آن می‌تواند منجر به بروز عوارض خطرناکی مانند اختلالات دستگاه ادراری، فشار خون، اورمی و زایمان زودرس در زنان باردار شود(۱). بروز عفونت‌های دستگاه ادراری معمولاً در زنان نسبت به مردان بیشتر است و حداقل نیمی از زنان در طول زندگی خود حداقل یک بار این عفونت را تجربه می‌کنند و عود عفونت امری شایع است(۲). آناتومی بدن زنان، مقاربت جنسی، سابقه خانوادگی، سن بالا، دیابت شیرین و ضعف مثانه از جمله عوامل خطرساز جهت ایجاد این نوع عفونت‌ها محسوب می‌شوند. شدت عفونت ادراری بستگی به عواملی مانند حساسیت میزبان و وجود فاکتورهای بیماری زایی در سویه‌های مولد عفونت دارد(۳،۴). از میکروارگانیسم‌های ایجاد کننده عفونت‌های ادراری می‌توان از باکتری‌های اشریشیا کلی، کلبسیلا پنومونیه، پروتئوس میرابیلیس، سودوموناس آئروژینوزا، انتروکوکوس فکالیس و قارچ کاندیدا آلبکانس نام برد(۸-۵).

اشریشیاکلی باسیلی گرم منفی، متحرک، بیهوازی اختیاری و بدون اسپور بوده که جزء فلور طبیعی روده انسان‌ها و دیگر جانوران خونگرم است(۹). این ارگانیسم شایع ترین عامل عفونت مجاری ادراری بویژه در خانم‌های جوان می‌باشد. اشریشیاکلی عامل بیش از ۹۰-۸۰ درصد از عفونت‌های مجاری ادراری کسب شده از جامعه و ۵۰-۴۰ درصد موارد بیمارستانی بوده و اشریشیاکلی اوروپاتوژنیک نامیده می‌شود(۱۰). سویه‌های اشریشیاکلی به طور معمول بر اساس ویژگی‌های سرولوژیکی خود مانند آنتی ژن‌های سطحی H (فلاژل)، O (لیپوپلی ساکارید) و در بعضی مواقع K (کپسول) شناسایی می‌شوند. بر این اساس سویه‌های اشریشیاکلی به ۱۷۶ سروگروپ O تقسیم می‌گردند. در سویه‌های اوروپاتوژنیک اشریشیاکلی، سروگروپ‌های O با فاکتورهای بیماریزایی هر سویه مرتبط هستند. مطالعات قبلی نشان داده است که گروه‌های O1، O2، O4، O6، O7، O8، O15، O16، O18، O21، O22، O25، O75 و O83 با گونه‌های اوروپاتوژنیک اشریشیاکلی مرتبط هستند(۱۳-۱۱).

در سالیان اخیر، روش‌های مولکولی، به عنوان ابزارهایی مهم و کار آمد در طبقه بندی و شناسایی باکتری‌ها به کار گرفته شده اند و با پیشرفت این روش‌ها، انواع روش‌های طبقه بندی همچون طبقه بندی فیلوژنتیک به روش PCR بر اساس ویژگی‌های ژنتیکی باکتری‌ها نسبت به روش‌های کلاسیک تیپ بندی و نیز روش‌های طبقه بندی فنوتیپی با فراوانی بیشتر در سراسر د نیا در حال انجام می باشند. روش‌های طبقه بندی ژنوتیپی به علت پایداری در بیان ژن‌ها و اینکه تا حد زیادی در بین گونه‌ها حفظ شده اند و قدرت تمایز دهندگی بالا، بر روش‌های فنوتیپی ارجحیت دارند. از جمله این روش‌ها می‌توان به روش‌های مبتنی بر PCR مانند ERIC-PCR اشاره کرد(۱۴). ERIC-PCR یک روش مولکولی ساده، قابل اعتماد و مقرون به صرفه جهت شناسایی سویه‌های مختلف یک گونه می‌باشد (۱۵). توالی ERIC در ژنوم تعداد زیادی از باکتری‌ها از جمله اعضای خانواده انتروباکتریاسه مثل اشریشیاکلی شناخته شده است. دنباله‌های پالیندرومی ناقص به طور کلی در نواحی رونویسی شده در پیوستگی بین ژن‌ها شناسایی می‌شوند. علاوه بر این، تعداد زیادی از نسخه‌های ترکیبی ERIC در بین گونه‌های باکتریایی وجود دارد. جالب توجه این است که تنوع قابل توجهی از تعداد کپی در میان گونه‌های مختلف اشریشیاکلی وجود دارد. این تنوع موجب فرآیند تکاملی در میان

گونه‌های باکتریایی در یک گونه خاص مانند اشریشیاکلی می‌گردد(۱۹-۱۶). هدف از این مطالعه تایپینگ سویه‌های اشریشیاکلی جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری در استان اصفهان و دسته‌بندی ژنتیکی جدایه‌های سروگروپ O25، به روش ERIC-PCR می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جمع آوری، جداسازی و شناسایی جدایه‌ها

در این مطالعه، تعداد ۲۲۶ نمونه ادرار در بازه زمانی خرداد ۱۳۹۵ تا خرداد ۱۳۹۶ از مراکز درمانی و بیمارستان‌های سطح استان اصفهان جمع آوری گردید. شناسایی اولیه اشریشیاکلی از طریق کشت و آزمایشات مختلف بیوشیمیایی مانند تخمیر لاکتوز، TSI، SIM، MR/VP، سیمون سیترات و. . . انجام شد (۲۰).

شناسایی مولکولی جدایه‌ها به روش PCR

به منظور تأیید جدایه‌های احتمالی اشریشیاکلی تکثیر ژن 16srRNA با روش PCR انجام گردید. جهت انجام PCR ابتدا ژنوم باکتری‌هایی که بر اساس تست‌های بیوشیمیایی به عنوان اشریشیاکلی تشخیص داده شدند به کمک کیت استخراج DNA (سیناژن-ایران) استخراج شد. پرایمرهای مورد استفاده جهت تکثیر ژن 16srRNA در جدول ۱ نشان داده شده است (۲۱). درنهایت محصولات PCR در ژل آگارز ۱٪ الکتروفورز گردید و در پایان با دستگاه UV transilluminator مورد ارزیابی قرار گرفت. جهت بررسی باندهای حاصل از محصول PCR از DNA ladder به اندازه ۱۰۰ جفت باز و یک کیلوباز و از سویه استاندارد اشریشیاکلی ATCC25922 به عنوان کنترل مثبت و از آب مقطر به عنوان کنترل منفی استفاده شد.

شناسایی سروگروپ‌های اوروپاتوژنیک اشریشیاکلی (UPEC)

به منظور شناسایی سروگروپ‌های اوروپاتوژنیک اشریشیاکلی (UPEC) از پرایمرهای ذکر شده در جدول ۱ به روش PCR استفاده گردید.

جدول ۱- پرایمرهای مورداستفاده جهت تکثیر *ژن 16srRNA* و شناسایی سروگروپ‌های UPEC (۲۱)

سروگروپ	ژن هدف	توالی پرایمر	طول محصول تکثیر یافته (bp)
E. coli	16srRNA	F(5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3′) R(5'-CCGTCAATTCATTTGAGTTT-3′)	۹۱۹
O1	wzx	F(5′-GTGAGCAAAAGTGAAATAAGGAACG-3′) R(5′-CGCTGATACGAATACCATCCTAC-3′)	۱۰۹۸
O2	wzy	F(5′-AGTGAGTTACTTTTTAGCGATGGAC-3′) R(5′-AGTTTAGTATGCCCCTGACTTTGAA-3′)	۷۷۰
O4	wzy	F(5′-TTGTTGCGATAATGTGCATGTTCC-3′) R(5′-AATAATTTGCTATACCCACACCCTC-3′)	۶۶۴
O6	wzy	F(5′-GGATGACGATGTGATTTTGGCTAAC-3′) R(5′-TCTGGGTTTGCTGTGTATGAGGC-3′)	۷۸۳
O7	wzx	F(5′-CTATCAAAATACCTCTGCTGGAATC-3′) R(5′-TGGCTTCGAGATTAAACCTATTCCT-3′)	۶۱۰
O8	orf469	F(5′-CCAGAGGCATAATCAGAAATAACAG-3′) R(5′-GCAGAGTTAGTCAACAAAAGGTCAG-3′)	۴۴۸

سروگروپ	ژن هدف	توالی پرایمر	طول محصول تکثیر یافته (bp)
O15	wzy	F(5′-TCTTGTTAGAGTCATTGGTGTATCG-3′) R(5′-ATAAAACGAGCAAGCACCACACC-3′)	۱۸۳
O16	wzx	F(5′-GGTTTCAATCTCACAGCAACTCAG-3′) R(5′-GTTAGAGGGATAATAGCCAAGCGG-3′)	۳۰۲
O18	wzx	F(5′-GTTCGGTGGTTGGATTACAGTTAG-3′) R(5′-CTACTATCATCCTCACTGACCACG-3′)	۵۵۱
O21	wzx	F(5′-CTGCTGATGTCGCTATTATTGCTG-3′) R(5′-TGAAAAAAAGGGAAACAGAAGAGCC-3′)	۲۰۹
O22	wzx	F(5′-TTCATTGTCGCCACTACTTTCCG-3′) R(5′-GAAACAGCCCATGACATTACTACG-3′)	۴۶۸
O25	wzy	F(5′-AGAGATCCGTCTTTTATTTGTTCGC-3′) R(5′-GTTCTGGATACCTAACGCAATACCC-3′)	۲۳۰
O75	wzy	F(5′-GAGATATACATGGGGAGGTAGGCT-3′) R(5′-ACCCGATAATCATATTCTTCCCAAC-3′)	۵۱۱
O83	wzx	F(5′-GTACACCAGGCAAACCTCGAAAG-3′) R(5′-TTCTGTAAGCTAATGAATAGGCACC-3′)	۳۶۲

دسته‌بندی ژنتیکی جدایه‌های سروگروپ O25 به روش ERIC-PCR

دسته‌بندی ژنتیکی جدایه‌های سروگروپ O25 اشریشیاکلی با استفاده از روش ERIC-PCR انجام شد(۲۲). پرایمرهای مورد استفاده در این روش در جدول۲ نشان داده شده است. در این مرحله محصول PCR روی ژل آگارز ۲٪ الکتروفورز گردید و در پایان با دستگاه UV transilluminator مورد ارزیابی قرار گرفت. جهت بررسی باندهای حاصل از محصول PCR از DNA ladder به اندازه ۱۰۰ جفت باز و یک کیلوباز استفاده گردید.

جدول ۲- پرایمرهای مورد استفاده در روش ERIC-PCR

نام روش	توالی پرایمر
ERIC-PCR	ERIC1 (5'-ATGTAAGCTCCTGGGGATTCAC-3′) ERIC2(5'-AAGTAAGTGACTGGGGTGAGCG-3′)

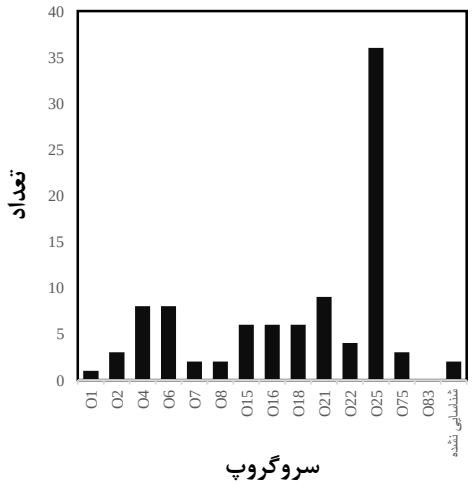
آنالیز نتایج

ژل حاصل از الکتروفورز ۳۶ جدایه با نرم افزار Applied Maths, Sint-) Bionumerics software Martems-Latem, Belgium) آنالیز شد. شباهت بالای ۸۰ درصد دریک پروفایل قرار گرفت.

یافته‌ها

نتایج حاصل از بررسی میکروبی نشان داد از ۲۲۶ نمونه ادرار مورد مطالعه، ۹۶ نمونه آلوده به اشریشیاکلی بودند. تمام نمونه‌های که در روش بیوشیمیایی اشریشیاکلی تشخیص داده شدند، از نظر دارا بودن ژن 16srRNA مورد آزمایش PCR قرار گرفتند. تمام جدایه‌های جدا شده حامل این ژن بودند.

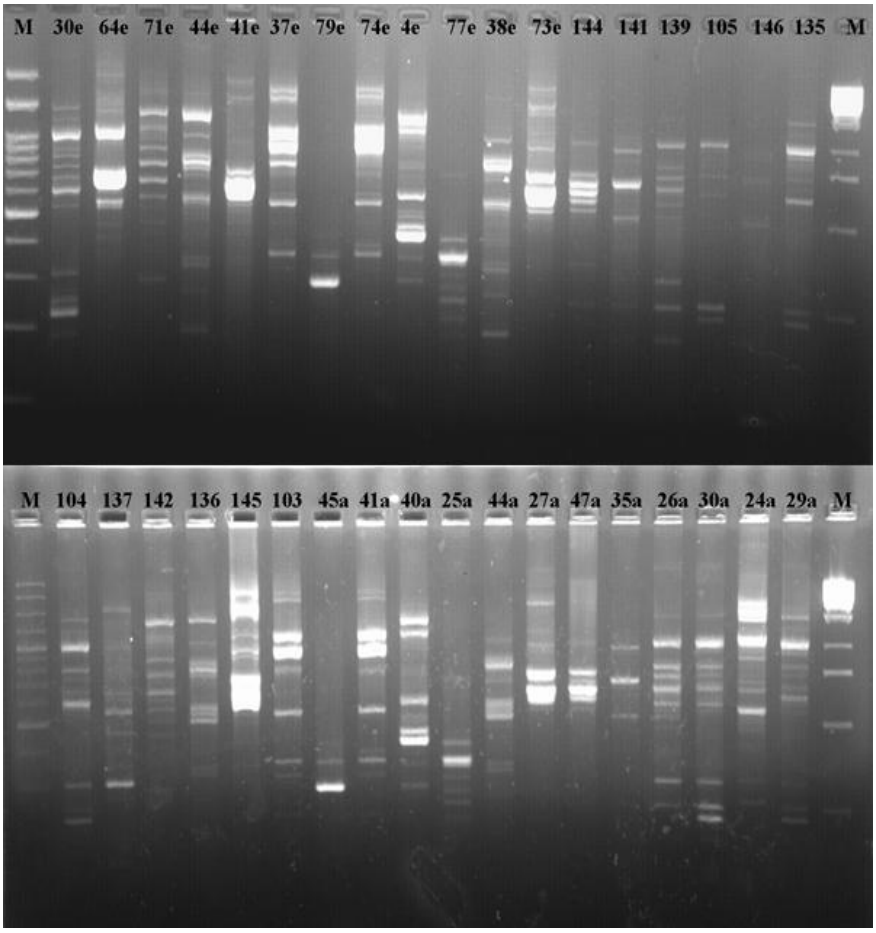
جهت شناسایی سروگروپ‌های مختلف جدایه‌های اشریشیاکلی جدا شده از روش PCR استفاده گردید. نتایج حاصل نشان داد در میان این جدایه‌ها، سروگروپ O25 از فراوانی بیشتری نسبت به سایر سروگروپ‌ها برخوردار است (شکل ۱).



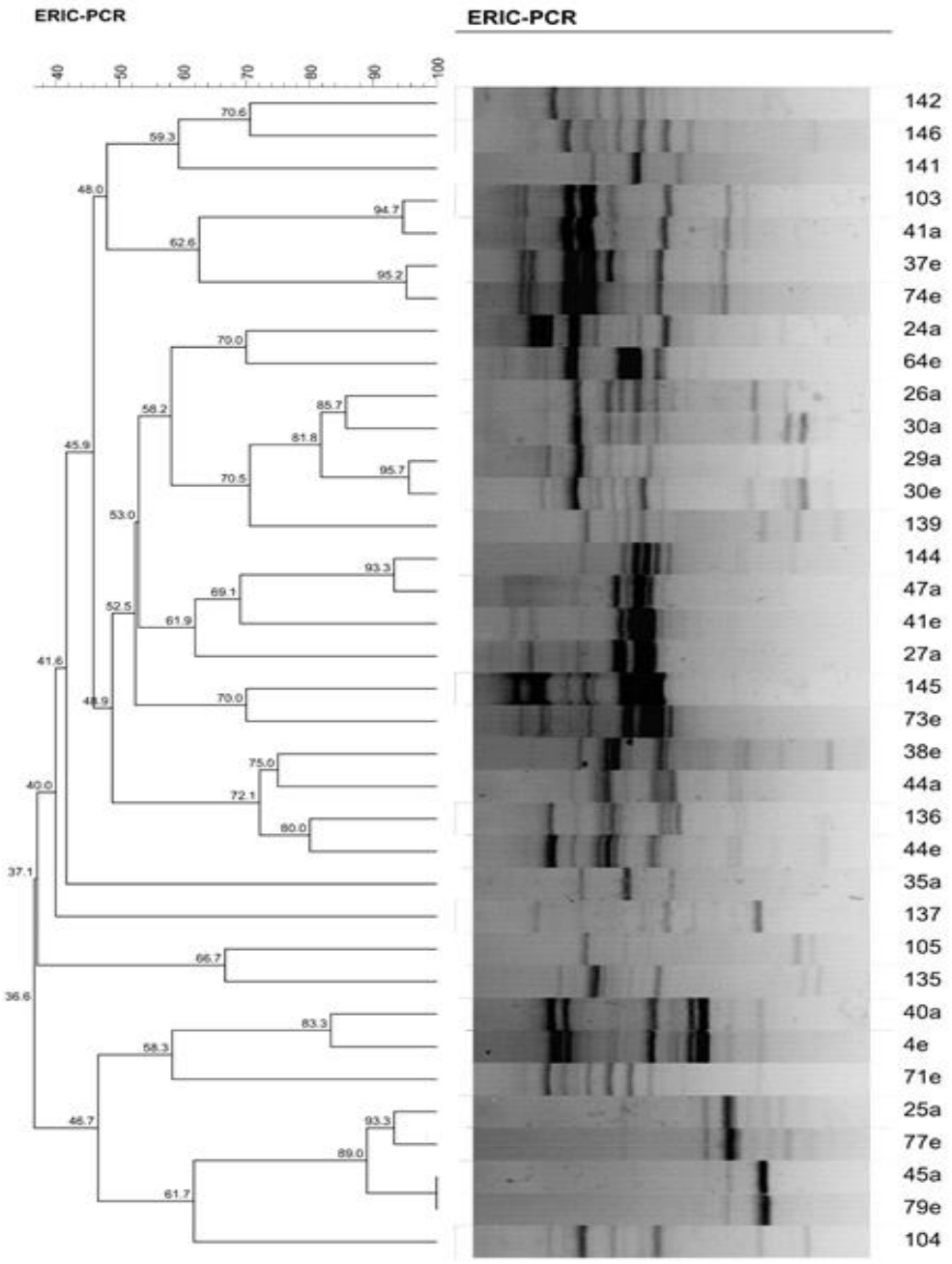
شکل ۱- نتایج شناسایی سروگروپ‌های اوروپاتوژنیک اشریشیاکلی (UPEC)

نتایج دسته‌بندی ژنتیکی جدایه‌های سـروگروپ O25 به روش ERIC-PCR

۳۶ جدایه مربوط به گروه سرمی O25 انتخاب و به روش ERIC -PCR دسته بندی شدند. همان طور که در شکل ۲ نشان داده شده است، جدایه‌های مورد مطالعه دارای الگوی باندی از محدوده ۲۰۰ تا ۳۳۰۰ جفت باز بودند. آنالیز ERIC، ۲۵ پروفایل مختلف در ۳۶ جدایه O25 اشریشیاکلی را نشان داد. یک جفت از جدایه‌ها شامل (45a, 79e) الگوی یکسانی را از خود نشان دادند. بجز قرابت ۱۰۰ درصدی بین جدایه‌های فوق، بیشترین قرابت ژنتیکی معادل ۹۵/۷ و کمترین میزان ۳۶/۶ درصد تشابه تعیین شد و جدایه‌هایی که قرابت بالای ۸۰ درصد داشتند در یک پروفایل قرار گرفتند (شکل ۳).



شکل ۲- باندهای حاصل از روش ERIC-PCR مربوط به سروگروپ‌های O25 باکتری اشریشیا کلی، چاهک M: Marker 100 bp, 1 kb



شکل ۳- دندروگرام ارتباط ژنتیکی بین سروگروپ‌های O25 باکتری اشریشیاکلی بر اساس روش ERIC-PCR

بحث

عفونت‌های دستگاه ادراری یکی از شایع ترین بیماری‌های عفونی در انسان و از عوامل اصلی مرگ و میر می‌باشد. عفونت دستگاه ادراری شامل طیف وسیعی از اختلالات، از جمله عفونت مثانه و عفونت کلیه است که به علت حضور میکروارگانیسم‌ها در دستگاه ادراری رخ می‌دهد(۲۳). برآورد شده است که بین ۴۰ تا ۵۰ درصد از زنان حداقل یک بار در طول زندگی خود مبتلا به عفونت ادراری می‌گردند(۲۴). عفونت ادراری یک علت شایع تب در کودکان است.

برآورد شده است که عفونت ادراری در ۱٪ پسران و در ۸-۳٪ دختران وجود دارد(۲۵). بسیاری از میکروارگانیسم‌های شناخته شده از جمله کاندیدا آلبیکنس، سودوموناس آئروژینوزا، استافیلوکوک ساپروفیتیکس و اشریشیا کولی به عنوان عوامل ایجاد کننده عفونت ادراری شناخته می‌شوند(۲۶). گونه‌های اشریشیاکلی که سبب ایجاد عفونت دستگاه ادراری می‌شوند، اشریشیاکلی اوروپاتوژنیک نامیده می‌شوند (۲۷). سویه‌های اشریشیاکلی بر اساس داشتن آنتی ژن O به چندین سروگروپ مختلف تقسیم می‌گردند که برخی از این سروگروپ‌ها در سویه‌های بیماریزا مشاهده شده است(۲۸).

در مطالعه حاضر، ۱۴ سروگروپ O در جدایه‌های اشریشیاکلی مولد عفونت ادراری مورد بررسی قرار گرفت. از ۹۶ جدایه مورد بررسی، ۹۴ جدایه (۹۷/۹۱٪) واجد یکی از سروگروپ‌های مورد بررسی بوده و فقط ۲/۰۹ ٪ سویه‌ها فاقد این سروگروپ بوده اند. از این میان سروگروپ O25 با فراوانی ۳۷/۵٪ بیش ترین فراوانی را در میان سروگروپ‌های مورد مطالعه به خود اختصاص داد. در یک مطالعه مشابه که در رشت توسط عیسی زاده و همکاران انجام شد، میزان فراوانی سروگروپ O25 برابر۳۹/۱٪ به دست آمد که تقریبا مشابه این مطالعه می‌باشد(۲۹). همچنین بر اساس مطالعه مورالس اسپینوزا و همکارانش در شهر مکزیکوسیتی نیز سروگروپ O25 دارای بیشترین فراوانی بود(۳۰). نتایج مطالعه شارما و همکاران در هند نیز نشان داد که سروگروپ O25 دارای بیشترین فراوانی می‌باشد(۳۱). احتمالا این سروگروپ تمایل بیشتری به ایجاد عفونت در دستگاه ادراری دارد. برعکس، در مطالعات گودرزی و همکاران و امام قریشی و همکاران، سروگروپ O1 دارای بیش ترین فراوانی بود که به طور کامل با مطالعه حاضر متفاوت می‌باشد. در مطالعه حاضر سروگروپ O83 در هیچ کدام از جدایه‌ها شناسایی نشد. در مطالعه ممتاز و همکاران و همچنین گودرزی نیز همانند مطالعه حاضر سروگروپ O83 در هیچ کدام از جدایه‌ها شناسایی نگردید که با مطالعه حاضر همخوانی دارد (۲۱،۳۲،۳۳). با توجه به نتایج به دست آمده در خصوص سروگروپO83 می‌توان گفت احتمالاً این سروگروپ در بین جدایه‌های اشریشیاکلی مولد عفونت ادراری در ایران از شیوع پائینی برخوردار است.

در حال حاضر طیف گسترده ای از تکنیک‌های مولکولی بر پایه PCR در دسترس است که هر کدام دارای مزایا و معایب مخصوص به خود می‌باشند. البته، تکنیک مورد استفاده در هر مطالعه با توجه به امکانات اقتصادی در دسترس انتخاب می‌گردد. برخی از تکنیک‌ها دارای دقت بالا و سریع اما گران قیمت هستند. در میان تکنیک‌های مختلف ERIC-PCR یک روش سریع، دارای استفاده آسان و ارزان قیمت با نتیجه قابل قبول است(۳۴،۳۵).

بر اساس نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر، سروگروپ O25 از فراوانی بیشتری در بین جدایه‌های اشریشیاکلی جداشده از بیماران مبتلابه عفونت ادراری برخوردار بود. به همین دلیل ۳۶ جدایه دارای این سروگروپ انتخاب و جهت شناسایی به کمک روش ERIC-PCR دسته بندی شدند.

اخیراًروش‌های مختلفی برای تعیین منشأ و منبع میکروب‌ها به‌کاررفته‌اند. روش‌هایی مثل ریبوتایپینگ، ERIC-PCR، RAPD-PCR و RFLP به طرز موفقیت‌آمیزی برای متمایز کردن سویه‌های باکتری‌های مختلف استفاده شده‌اند(۳۹-۳۶).

از کاربردی‌ترین روش‌ها در تیپ‌بندی سویه‌های اشریشیاکلی روش‌های مبتنی بر PCR به‌ویژه سه روش ERIC-PCR،RAPD-PCR و RFLP-PCR می‌باشد، در این مطالعه نیز از روش ERIC-PCR جهت دسته‌بندی جدایه‌های یوروپاتوژنیک

اشریشیاکلی در بیماران بستری در بیمارستان‌های استان اصفهان استفاده شد.

۳۶ جدایه اشریشیاکلی یوروپاتوژنیکO26 با نشانگرERIC-PCR، آزمایش و میزان شباهت ژنتیکی آن‌ها با ضریب دایس و الگوریتم UPGMA تعیین گردید. به‌جزشباهت ۱۰۰ درصدی که در یک مورد بین جدایه‌های 45a,79e مشاهده شد، بیشترین و کمترین درصد قرابت از ۳۶/۶ تا ۹۵/۷ درصد بین جدایه‌های موردمطالعه دیده شد و همان‌گونه که در درخت فیلوژنی ترسیم‌شده بر اساس ضریب دایس، مشهود است، جدایه‌هایUPEC مورد بررسی در سطح تشابه بالای ۸۰ درصد در ۲۵ پروفایل قرار گرفتند که خود نشانگر تنوع بالای ژنتیکی بین جدایه‌های مورد مطالعه می‌باشد.

در سال 2002، da Silveira و همکاران ۴۹ جدایه اشریشیاکلی جداشده از مرغان مبتلابه سپتی‌سمی، سندرم تورم سر و مرغ‌های بدون علائم کلینیکی، جداسازی و از روشERIC-PCR برای دسته‌بندی آن‌ها استفاده کردند. جدایه‌ها در چهار گروه A تا D قرار گرفتند و نتایج نشان داد که روش ERIC-PCR می‌تواند جایگزین مناسبی برای روش‌های مولکولی مثل RAPD-PCRو RFLP-PCR باشد(۴۰).

Meacham و همکاران در دانشگاه میشیگان، تعداد زیادی از جدایه‌های اشریشیاکلی را ژنوتایپینگ کرده و نتیجه گرفتند که بیش از یک روش ERIC-PCR را باید جهت دسته‌بندی ژنتیکی این باکتری استفاده کرد(۴۱).

در مطالعه Ranjbar و Ardakani(۲۰۱۶) از روش ERIC-PCR جهت ژنوتایپینگ ۹۸ جدایه اشریشیاکلی که در فاصله ژوئن ۲۰۱۴ تا ژانویه ۲۰۱۵ از بیمارستان بقیه‌الله تهران جداشده بودند استفاده کردند. در این بررسی جدایه‌ها در سطح تشابه ۷۰ درصد در ۶ زیرگروه E_1 تا E_6 قرار گرفتند(۴۲).

در سال ۲۰۰۶، Wilson و همکاران، انتشار توالی‌هایERIC را درکل ژنوم باکتری‌های روده‌ای از جمله اشریشیاکلی و شیگلا بررسی کردند و مشاهده کردند که توالی‌هایERIC در ناحیه نزدیک ژن‌هایی با بیان بالا، بیشتر یافت می‌شوند و چون این توالی‌ها کوچک هستند، تکنیک ERIC-PCR کاربرد گسترده‌ای در ژنوتایپینگ جدایه‌های باکتریایی دارد(۱۷).

Ramezanzadeh و همکاران (۲۰۱۱) از روش ERIC برای ارزیابی تنوع ژنتیکی ۲۳۰ جدایه اشریشیاکلی جداشده از عفونت‌های بیمارستانی استفاده کردند و دریافتند که ۲۰۵ جدایه از این نمونه‌ها را می‌توان در ۲۰ ژنوتیپ جداگانه قرار داد که اغلب آن‌ها در گروه فیلوژنتیکی D قرار می‌گیرند(۴۳).

Xiu-Yan و همکاران در مطالعه‌ای روی جدایه‌های انتروتوکسیژنیک اشریشیاکلی جداشده از گاو نشان دادند که روش ERIC-PCR یک روش کاربردی و سریع در طبقه‌بندی فیلوژنتیکی و بررسی ساختار تکامل نژادی سویه‌های اشریشیاکلی می‌باشد(۴۴).

انتخاب یک تکنیک ژنوتایپینگ به سطح مهارت کاربران و امکانات آزمایشگاه و نیز به هدف بررسی وابسته است. در بررسی حاضر از تکنیک ERIC-PCR جهت دسته‌بندی ژنتیکی سویه‌هایUPECبه‌عنوان یکی از مهم‌ترین و شایع‌ترین میکروارگانیسم‌های یوروپاتوژن استفاده شد و قرار گرفتن جدایه‌های موردمطالعه در چندین زیرگروه نشانگر قدرت تمایزدهی قابل‌قبول این تکنیک در ژنوتایپینگ اشریشیاکلی می‌باشد. درمجموع نتایج تحقیق حاضر نشان داد که روشERIC-PCR، روشی ساده، سریع و کم‌هزینه جهت توصیف تنوع ژنتیکی سویه‌های مختلف اشریشیاکلی ازجمله سویه‌هایUPEC می‌باشد اما توصیه می‌گردد که مطالعات بیشتری روی نمونه‌های اخذشده از بیمارستان‌های مختلف سطح کشور انجام و روش ERIC-PCR با روش‌های مولکولی نوین‌تر مثلPFGE مقایسه گردد امید است که نتایج

مطالعه ما در بررسی اپیدمیولوژی مولکولی سویه‌های یوروپاتوژنیک اشریشیاکلی و ارتقای سلامت عمومی جامعه استان اصفهان مفید باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد ERIC-PCR روشی مناسب جهت تایپینگ مولکولی سویه‌های اشریشیاکلی جدا شده از عفونت‌های ادراری می‌باشد. پیشنهاد می‌گردد جهت تعین سویه‌های مختلف مربوط به یک گونه باکتریایی، از این روش به عنوان یک ابزار ساده، دقیق و ارزان قیمت استفاده گردد. نتایج حاصل از این روش می‌تواند توسط انواع نرم افزارهای مختلف مانند Gel Clust برای تولید دندروگرام‌های مفید به عنوان روش‌های ارزشمند در زمینه طبقه بندی انواع گونه‌های باکتریایی مانند اشریشیاکلی مورد پردازش قرار گیرد.

تقدیر و تشکر

نویسندگان مقاله از زحمات مدیریت محترم بخش عفونی بیمارستان‌های مورد مطاله و کارشناس محترم آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد جناب آقای مهندس سهراب صفری تشکر و قدردانی می‌کنند.

منابع و مآخذ

1. Molaabaszadeh H, Hajisheikhzadeh B, Molazadeh M, Eslami K, Mohammadzadeh Gheshlaghi N., Study of sensibility and antimicrobial resistance in Escherichia coli isolated from urinary tract infection in Tabriz city. J Fasa Univ Mes Sci. 2013; 3(2): 149-154. [In Persian]
2. Garcia,TA, Ventura,CL, Smith,MA, Merrell,DS, O'Brien,AD.Cytotoxic necrotizing factor 1 and hemoly sin from uropathogenic Escherichia coli elicit differenthost responses in the murine bladder. Infect Immun. 2013;81(1):99-109.
3. Stapleton,PJ, Lundon,DJ, McWade,R, Scanlon,N, Hannan,MM, O'Kelly,F, Lynch,M.Antibiotic resistan ce patterns of Escherichia coli urinary isolates and comparison with antibioticconsumption data over 10 years, 2005-2014. Ir J Med Sci. 2017;186(3):733-741.
4. Gulsun,S, Oguzoglu,N, Inan,A, Ceran,N.The virulence factors and antibiotic sensitivities of Escherichia coli isolated from recurrenturinary tract infections. Saudi Med J. 2005;26(11):1755-1758.
5. Flores-Mireles,AL, Walker,JN, Caparon,M, Hultgren,SJ.Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. Nat Rev Microbiol. 2015;13(5):269-84.
6. Parish,A, Holliday,K.Longterm care acquired urinary tract infections' antibiotic resistance patterns and e mpiricthерapy: a pilot study. Geriatr Nurs. 2012; 33(6):473-8.
7. Palou J, Angulo JC, Ramón de Fata F, García-Tello A, González-Enguita C, Boada A, Sanz M. Randomized comparative study for the assessment of a new therapeutic schedule of fosfomycintrometamol in postmenopausal women with uncomplicated lo wer urinary tract infection. Actas Urol Esp. 2013;37(3):147-55.
8. Hof H. Candiduria! What now? : Therapy of urinary tract infections with Candida. Urologe A. 2017;56(2):172-179.
9. Foxman B. Urinary tract infection syndromes: occurrence, recurrence, bacteriology, risk factors, and disease burden. Infect Dis Clin North Am. 2014;28(1):1-13.
10. Dormanesh B, Safarpoor Dehkordi F, Hosseini S, Momtaz H, Mirnejad R, Hoseini MJ, Yahaghi E, Tarhriz V, Khodaverdi Darian 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
11. Wiles,TJ, Kulesus,RR, Mulvey,MA.Origins and virulence mechanisms of uropathogenic Escherichia co li. Exp Mol Pathol. 2008;85(1):11-9.
12. Abe CM, Salvador FA, Falsetti IN, Vieira MA, Blanco J, Blanco JE, Blanco M, Machado AM, Elias WP, Hernandes RT, Gomes TA. Uropathogenic Escherichia coli (UPEC) strains may carry virulence properties of diarrhoeagenicE. coli. FEMS Immunol Med Microbiol. 2008;52(3):397-406.
13. Yamamoto S. Molecular epidemiology of uropathogenic Escherichia coli. J Infect Chemother. 2007;13(2):68-73.
14. Ejrnæs K. Bacterial characteristics of importance for recurrent urinary tract infections caused by Escherichia coli. Dan Med Bull. 2011r;58(4):B4187.
15. Leung KT, Mackereth R, Tien YC, Topp E. A comparison of AFLP and ERIC-PCR analyses for discriminating Escherichia coli from cattle, pig and human sources. FEMS Microbiol Ecol. 2004;47(1):111-9.
16. Dalla-Costa LM, Irino K, Rodrigues J, Rivera IN, Trabulsi LR. Characterisation of diarrhoeagenic Escherichia coli clones by ribotyping and ERIC-PCR. J Med Microbiol. 1998;47(3):227-34.

17. Wilson,LA, Sharp,PM.Enterobacterial repetitive intergenic consensus (ERIC) sequences in Escherichia coli: Evolutionand implications for ERIC-PCR. Mol Biol Evol. 2006;23(6):1156-68.

18. Hulton CS, Higgins CF, Sharp PM. ERIC sequences: a novel family of repetitive elements in the genomes of Escherichia coli, Salmonella typhimurium and other enterobacteria. Mol Microbiol. 1991;5(4):825-34.

19. Ranjbar R, Tabatabaee A, Behzadi P, Kheiri R. Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus Polymerase Chain Reaction (ERIC-PCR) Genotyping of Escherichia coli Strains Isolated from Different Animal Stool Specimens. Iranian J Pathol. 2017;12(1):25-34.

20. Adibfar P. Medical Microbiology for undergraduate medical students, paramedical and specialized fields. 1st edn. Tehran, Iran. Noor-e Danesh publisher. 2000: 85-100. [In Persian]

21. Momtaz H, Karimian A, Madani M, Safarpoor 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.

22. Versalovic J, Koeuth T, Lupski JR. Distribution of repetitive DNA sequences in eubacteria and application to fingerprinting of bacterial genomes. Nucleic Acids Res. 1991;19(24):6823-31.

23. 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.

24. Foxman B. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity, and economic costs. Dis Mon. 2003;49(2):53-70.

25. World Health Organization (WHO). Urinary tract infections in infants and children in developing countries in the context of IMCI. 2005.

26. Foxman B, Brown P. Epidemiology of urinary tract infections: transmission and risk factors, incidence, and costs. Infect Dis Clin North Am. 2003;17(2):227-41.

27. Struelens MJ, Denis O, Rodriguez-Villalobos H. Microbiology of nosocomial infections: progress and challenges. Microbes Infect. 2004;6(11):1043-8.

28. Liu B, Knirel YA, Feng L, Perepelov AV, Senchenkova SN, Wang Q, Reeves PR, Wang L. Structure and genetics of Shigella O antigens. FEMS Microbiol Rev. 2008;32(4):627-53.

29. 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.

30. Morales-Espinosa R, Hernandez-Castro R, Delgado G, Mendez JL, Navarro A, Manjarrez A, Cravioto A. UPEC strain characterization isolated from Mexican patients with recurrent urinary infections. J Infect Dev Ctries. 2016;10(4):317-28.

31. Sharma S, Kaur N, Malhotra S, Madan P, Ahmad W, Hans C. Serotyping and Antimicrobial Susceptibility Pattern of Escherichia coli Isolates from UrinaryTract Infec tions in Pediatric Population in a Tertiary Care Hospital. J Pathog. 2016;2016:2548517.

32. 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):1-8.

33. Emamghoraishi,F, Farshad,S, Kalani,M.Relationship between O serotype and virulent genes in Escheric hia coli causing urinary tractinfections. Iran J Kidney Dis. 2011;5(4):234-7.

34. Simona ES, Diana P, Robertina IO, Ionela A, Ileana ST, Tatiana VD. Molecular identification of some yeast strains involved in oral candidosis. Rom Biotechnol Lett. 2009;14(1):4180-6.

35. Wei, G., Pan, L., Du, H., Chen, J., Zhao, L., ERIC-PCR fingerprinting-

based community DNA hybridization to pinpoint genomespecificfragments as molecular markers to ide ntify and track populations common to healthy human guts. J Microbiol Methods. 2004;59(1):91-108.

36. Gomes AR, Muniyappa L, Krishnappa G, Suryanarayana VVS, Isloor S, Prakash B, Hugar PG. Genotypic characterization of avian Escherichia coli by Random Amplification of Polymorphic DNA. Int J Poult Sci. 2005;4(6):378-81.
37. Kamerbeek J, Schouls L, Kolk A, van Agterveld M, van Soolingen D, Kuijper S, Bunschoten A, Molhuizen,H, Shaw,R, Goyal,M, van,Embden,J.Simultaneous detection and strain differentiation of Mycobacterium tuberculosis for diagnosisand epidemiology. J Clin Microbiol. 1997;35(4):907-14.
38. Prabhu V, Isloor S, Balu M, Suryanarayana VVS, Rathnamma D. Genotyping by Eric PCR of *Escherichia coli* isolated from bovine mastitis cases. Indian J Biotechnol. 2010;9(3):298-301.
39. Rodtong S, Tannock GW. Differentiation of Lactobacillus strains by ribotyping. Appl Environ Microbiol. 1993;59(10):3480-4.
40. da Silveira WD, Ferreira A, Lancellotti M, Barbosa IA, Leite DS, de Castro AF, Brocchi M. Clonal relationships among avian Escherichia coli isolates determined by enterobacterial repetitive intergenic consensus (ERIC)-PCR. Vet Microbiol. 2002;89(4):323-8.
41. Meacham,KJ, Zhang,L, Foxman,B, Bauer,RJ, Marrs,CF.Evaluation of genotyping large numbers of Esc herichia coli isolates by enterobacterial repetitiveintergenic consensus-PCR. J Clin Microbiol. 2003;41(11):5224-6.
42. Ardakani MA, Ranjbar R. Molecular typing of uropathogenic E. coli strains by the ERIC-PCR method. Electron Physician. 2016;8(4):2291-6.
43. Ramazanzadeh,R, Zamani,S, Zamani,S.Genetic diversity in clinical isolates of Escherichia coli by enter obacterial repetitive intergenicconsensus (ERIC)-PCR technique in Sanandaj hospitals. Iran J Microbiol. 2013;5(2):126-31.
44. Xiu-Yan LA, ZHANG YL, JIANG HT, Jiao LI, Hong-Bo NI. Development of an enterobacterial repetitive intergenic consensus polymerase chain reaction (ERIC-PCR) to detect and genotype enterotoxigenic Escherichia coli of calf origin. Afr J Microbiol Res. 2013;7(31):4001-5.