Archive of SID

Journal of Veterinary Microbiology

نشریه میکربیولوژی دامپزشکی/ دوره پانزدهم، شماره اول، ۱۳۹۸، پیاپی ۳۸: ۱۱۸-۱۰۹

شیوع ژن‌های حدت در اشرشیاکلی‌های جدا شده از موارد کلی باسیلوز طیور و عفونت دستگاه ادراری انسان

ملاحت احمدی[۱]، سالار داداش زاده[۲]، ابوالفضل غنی ئی[۳*]

۱- استاد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۲- فارغ التحصیل دکتری عمومی دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۳- استادیار، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

تاریخ ارسال:۱۳۹۷/۴/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۸/۲۲

چکیده

اشرشیاکلی یکی از مهمترین میکروب‌های بیماری‌زا در انسان و پرندگان محسوب می‌شود. جدایه‌های اشرشیاکلی بیماریزای پرندگان (APEC) و اشرشیاکلی بیماریزای دستگاه ادراری (UPEC) قادر به بیماریزایی خارج از محیط روده می‌باشند. این جدایه‌ها صفات مشترکی دارند. این احتمال وجود دارد که انتقال برخی از خصوصیات مشترک بین میزبان‌های مختلف، در اپیدمیولوژی بیماری در انسان و طیور حائز اهمیت باشد. در مطالعه حاضر، شیوع ۴ ژن وابسته به حدت (*sitA*، *iutA*، *traT* و *tsh*) در ۲۶ جدایه APEC و ۲۵ ایزوله UPEC جدا شده از موارد بالینی مشکوک به عفونت اشرشیاکلی در آذربایجان غربی به روش واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR) بررسی گردید. آنالیز آماری با استفاده از نرم افزار minitab 15 انجام گرفت. فراوانی ژن‌های حدت در جدایه‌های APEC و UPEC به ترتیب در مورد ژن *traT* ۹۶/۲٪ و ۶۴٪، ژن *sitA* ۸۸/۵٪ و ۷۶٪، ژن *iutA* ۸۴/۶٪ و ۶۸٪، و *tsh* ۶۱/۵٪ و ۱۶٪ می‌باشد. ژن‌های حدت *traT* و *sitA* به ترتیب در جدایه‌های APEC و UPEC بالاترین فراوانی را داشتند. تنوع زیادی از حضور ژن‌های حدت در این جدایه‌ها مشاهده شد. ترکیب *iutA-sitA-tsh-traT* بیشترین فراوانی ژن‌های حدت را در بین جدایه‌های بیماریزای پرندگان داشت. در مورد جدایه‌های بیماریزا در عفونت ادراری انسان، بالاترین فراوانی را ترکیب *iutA-sitA-traT* داشت. این احتمال وجود دارد که ژن‌های حدت بین طیور و انسان انتقال یابند. ضروری است تا مطالعات بیشتری انجام گیرد و اهمیت چنین احتمالاتی را در اپیدمیولوژی بیماری در انسان و طیور ارزیابی نماید.

کلمات کلیدی: اشرشیاکلی بیماریزای پرندگان (APEC)، اشرشیاکلی بیماریزای دستگاه ادراری (UPEC)، ژن‌های حدت، ایران.

*نویسنده مسئول: ابوالفضل غنی ئی

آدرس: گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران. تلفن: ۰۵۱۳۸۸۰۳۷۶۸

پست الکترونیک: ghaniei@ferdowsi.um.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

اشرشیاکلی بیماریزای خارج روده ای (ExPEC) عامل ایجاد کننده کلی باسیلوز در طیور و نیز عفونت‌های مختلف در انسان می‌باشند که از این جمله می‌توان به عفونت‌های دستگاه ادراری (UTIs)، منتژیت نوزادان و سپسیس اشاره کرد (۱۴). این سویه‌ها خسارت‌های اقتصادی زیادی ایجاد می‌کنند که هزینه‌های درمانی و افت بهره وری از این جمله می‌باشد (۲۲). جدایه‌های ExPEC صفات مرتبط با حدت خاصی دارند که توان زیستن خارج از محیط روده را به آن‌ها می‌دهد که از این جمله تولید ادهسین‌ها (Adhesins)، توکسین‌ها، پروتکتین‌ها، سیدروفورها و سیستم‌های انتقال آهن می‌باشند (۸). شناسایی این خصوصیات در جدایه‌های اشرشیاکلی این نظریه را تقویت کرده است که برخی از جدایه‌های بیماریزای پرندگان به انسان قابل سرایت می‌باشند (۳، ۹، ۱۱).

جدایه‌های بیماریزای پرندگان (APEC) بیماری‌های مختلفی در طیور ایجاد می‌کنند که کلی سپتی سمی، سپتی سمی هموراژیک، کلی گرانولوما، بیماری کیسه-های هوایی، سندرم کله بادی، کلی‌باسیلوز مقاربتی، سلولیت کلی‌فرمی، پریتونیت، سالپنژیت، استئومیلیت، سینوویت، پن افتالمی، عفونت بند ناف، عفونت کیسه زرده و انتریت از این جمله می‌باشند (۱۷). کلی باسیلوز رایج ترین عفونت باکتریایی در گله‌های طیور می‌باشد که خسارت‌های اقتصادی زیادی ایجاد می‌کند. اشرشیاکلی‌های بیماریزای پرندگان نقش مهمی به عنوان پاتوژن منتقله از راه خوراک بر عهده دارند و فراورده‌های طیور منبع مناسبی از ExPEC از جمله جدایه‌های بیماریزا در انسان می‌باشند. بنابراین کنترل کلی باسیلوز در بهداشت جوامع انسانی و حیوانی مفید می‌باشد (۱۰).

در برخی موارد تائید شده است که بین اشرشیاکلی بیماریزا در انسان و حیوان ارتباط وجود دارد. گزارشات اخیر از عفونت دستگاه ادراری انسان، این احتمال را که اشرشیاکلی از منابع حیوانی می‌تواند از طریق خوراک عفونت دستگاه ادراری در انسان ایجاد کند، تقویت کرده است (۷، ۱۸). اگر چه مشخص شده که منبع اصلی جدایه‌های UPEC در عفونت‌های دستگاه ادراری انسان، فلور میکروبی دستگاه گوارش شخص مبتلا می‌باشد (۶)، APEC منبع عفو نت‌های اشرشیاکلی محسوب می‌شوند که از راه غذا به انسان منتقل می‌شوند و عفونت دستگاه ادراری انسان ایجاد نمایند (۱۹ و ۲۰). لذا، بهره گیری از مارکرهای مشترک APEC به عنوان واکسن یا ابزارهای تشخیصی می‌تواند منتهی به رهیافت‌هایی در جهت کنترل کلی باسیلوز گردد.

جدایه‌های APEC تشابه قابل توجهی با UPEC از نظر ژنومی دارند (۹ و ۱۵). جدایه CFT073 که UPEC محسوب می‌شود، در مدل عفونی تنفسی برای پرنده‌ها حاد شناخته شد، اما جدایه‌های APEC تاکنون در انسان بیماری ایجاد نکرده اند (۱۵). پیشنهاد شده است که APEC بلع شده از قطعات طیور آلوده می‌تواند به عنوان منبع سویه‌های مشابه UPEC و فاکتورهای حدت عمل نمایند (۱۹ و ۲۰).

هدف از انجام مطالعه حاضر بررسی شیوع برخی از ژن‌های حدت (*iutA*، *sitA*، *traT* و *tsh*) در جدایه‌های APEC در جمعیت طیور و UPEC در جوامع انسانی می‌باشد. چنین مطالعاتی می‌تواند خصوصیات اپیدمیولوژی عفونت را در جمعیت انسانی و طیور روشن تر نمایند.

www.SID.ir

Archive of SID

مواد و روش کار

جدایه‌ها

جهت تهیه جدایه‌های اشرشیاکلی از ۸۵ مزرعه گوشتی واقع در استان آذربایجان غربی (شمال غرب ایران) نمونه برداری شد. از خون قلب و کبد پرنده‌های مشکوک به کلی سپتی سمی به شیوه آسپتیک جهت تهیه جدایه‌های اشرشیاکلی نمونه برداری گردید. صد و بیست نمونه ادرار انسانی از مراجعات مشکوک به عفونت ادراری در بیمارستان امام خمینی ارومیه نیز در این مطالعه استفاده گردیدند. نمونه‌های روی محیط مک کانکی (مرک، آلمان) کشت داده شدند. پرگنه‌های صورتی پررنگ از محیط مک کانکی برداشته شده و مجدد خالص سازی می‌گردد. برای تائید جدایه‌ها از تست‌های بیوشیمیایی استفاده شد.

ژنوتایپینگ حدت جدایه‌ها

با استفاده از روش جوشاندن DNA نمونه‌ها استخراج گردید (۵). در مطالعه حاضر ژن‌های زیر مورد بررسی قرار گرفت: *sitA*، ژن اپرون sit (۲۳)؛ *iutA*، ژن کد کننده گیرنده آئروباکتین (۲)؛ *traT*، پروتئین‌های خارجی غشا را کد می‌کند که بقا در سرم را افزایش می‌دهد (۲۶)؛ و *tsh*، ژن هماگلوتینین حساس به حرارت (۱۷). پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه از شرکت سیناکلون (ایران) تهیه گردیدند و بر اساس دستوالعمل شرکت تهیه گردیدند (جدول ۱). واکنش تکثیری در حجم ۲۵ میکرولیتری انجام گرفت که شامل 1x PCR buffer، ۰/۲ میلی مولار dNTPs، ۰/۴ میکرومولار از پرایمرها، ۱/۲۵ واحد *Taq* DNA polymerase، ۲/۵ میلی مولار کلرید منیزیم، ۲ میکرولیتر DNA و ۱۶/۵ میکرولیتر آب دیونیزه می‌باشد. واکنشگرها از شرکت سیناکلون (ایران) تهیه گردید. واکنش در دستگاه ترموسایکلر (اپندورف، آلمان) انجام گرفت. شرایط تکثیر در مورد هر ژن تاحدی متفاوت بود. واکنش تکثیر ژن *sitA* شامل شرایط زیر بود: ۳۰ چرخه دناتوراسیون در ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ ثانیه، انلینگ در ۵۹ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ ثانیه و بسیط سازی در ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ ثانیه. تکثیر ژن‌های *iutA* و *traT* طبق شرایط زیر انجام گرفت: ۲۵ چرخه ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ ثانیه، ۶۳ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۱۸۰ ثانیه. در مورد ژن *tsh* ۹ چرخه ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۶۰ ثانیه، ۵۵ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ ثانیه انجام گرفت. سویه‌های اشرشیاکلی ۵۳۶، X7122 و BEN2908 به ترتیب به عنوان سویه‌های کنترل مثبت ژن‌های *iutA*، *tsh* و *sitA* استفاده شد (۲۵). از سویه FBC114 به عنوان کنترل مثبت ژن *traT* استفاده شد (۱). در تمامی واکنش‌های تکثیری کنترل منفی (آب دیونیزه به عنوان DNA الگو) نیز استفاده شد. محصولات تکثیری با استفاده از ژل الکتروفورز در ژل الکتروفورز ۱٪ مشاهده شد.

جدول ۱: پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه برای تکثیر ژن‌های حدت.

نام ژن	اندازه قطعه تکثیری	توالی پرایمر	منبع
sitA	۶۰۸	F: aggggcacaactgattctcg R: taccgggccgttttctgtgc	۲۱
iutA	۳۰۲	F: ggctggacatcatgggaactg R: cgtcgggaacgggtagaatcg	۶
traT	۲۹۰	F: ggtgtggtgcgatgagcacag R: cacggttcagccatccctgag	۶
Tsh	۴۲۰	F: gggaaatgacctgaatgctgg R: ccgctcatcagtcagtaccac	۱۳

www.SID.ir

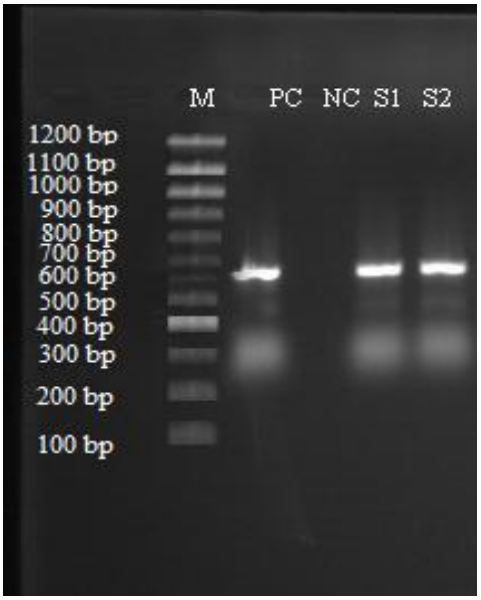
Archive of SID

آنالیز آماری

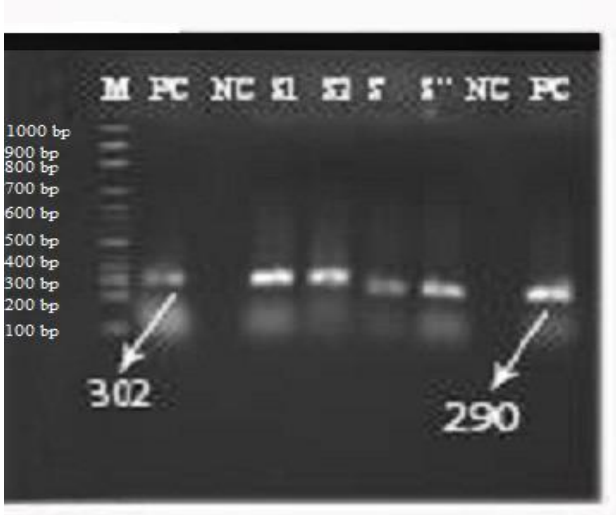
جهت ارزیابی‌های آماری از نرم افزار Minitab15 و تست فیشر استفاده شد. مقادیر P کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

در مجموع با استفاده از روش کشت میکروبی و تست‌های بیوشیمیایی ۲۶ جدایه APEC و ۲۵ جدایه UPEC شناسایی گردید. حضور ژن‌های حدت در جدایه‌های باکتریایی با استفاده از روش واکنش زنجیره ای پلیمراز ارزیابی گردید (تصاویر ۱، ۲ و ۳). فراونی چهار ژن حدت در دو گروه از جدایه‌های اشرشیاکلی در جدول ۲ و نمودار ۱ آورده شده است. ژن‌های *traT* و *sitA* به ترتیب در جدایه‌های APEC و UPEC بالاترین فراوانی را داشتند. آنالیز فراونی ژن‌های حدت نشان داد که ژن‌ها حدت بررسی شده در این مطالعه در جدایه‌های APEC نسبت به جدایه‌های UPEC فراوانی بالاتری داشتند.



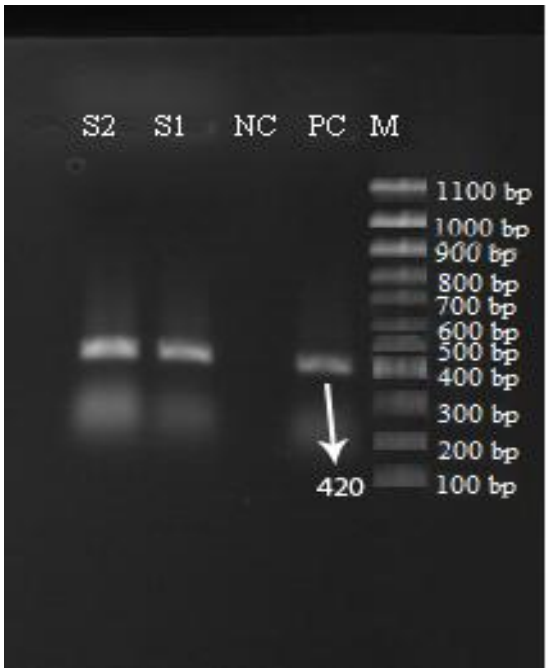
شکل ۱: حضور ژن *sitA* در جدایه‌های APEC و UPEC. M: نردبان ۱۰۰ جفت بازی شرکت سیناکلون؛ PC: کنترل مثبت ژن *sitA*؛NC: کنترل منفی ژن *sitA*؛S1: جدایه مثبت ژن *sitA* در APEC ؛ S2: جدایه مثبت ژن *sitA* در UPEC.



شکل ۲: حضور ژن‌های *iutA*و*traT* درجدایه‌های APEC و UPEC. M: نردبان ۱۰۰ جفت بازی شرکت سیناکلون؛ PC: کنترل مثبت ژن *iutA* که ۳۰۲ جفت باز می باشد؛NC: کنترل منفی ژن *iutA*؛ S1: جدایه مثبت ژن *iutA* در APEC ؛ S2: جدایه مثبت ژن *iutA* در UPEC. 'S : جدایه مثبت ژن *traT* در APEC ؛ "S: جدایه مثبت ژن *traT* در UPEC. NC: کنترل منفی ژن *traT* ؛ PC : کنترل مثبت ژن *traT* که ۲۹۰ جفت باز می‌باشد.

www.SID.ir

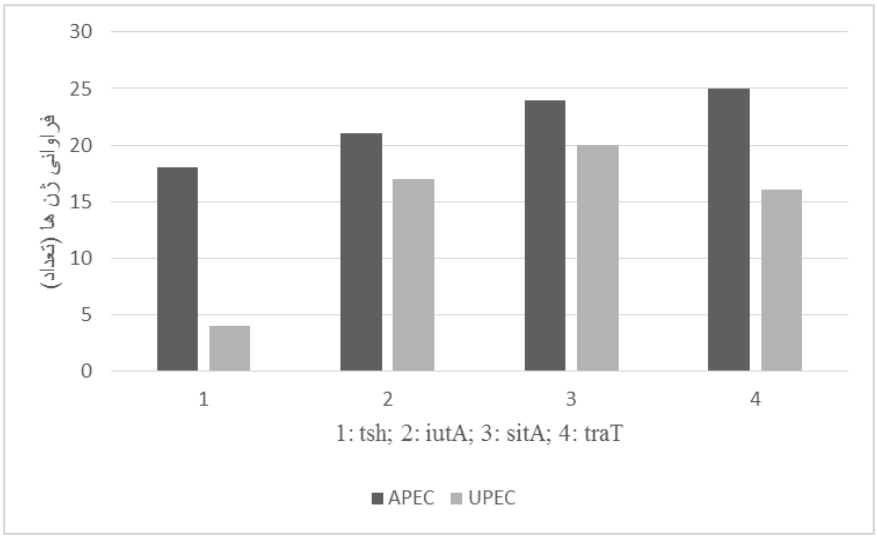
Archive of SID



شکل ۳:حضور ژن *tsh* در جدایه‌های APECو UPEC. M: نردبان ۱۰۰ جفت بازی شرکت سیناکلون؛ PC: کنترل مثبت ژن *tsh* ؛NC: کنترل منفی ژن *tsh* ؛S1: جدایه مثبت ژن *tsh* در APEC ؛ S2: جدایه مثبت ژن *tsh* در UPEC.

جدول ۲: شیوع ژن‌های وابسته به حدت در جدایه‌های APEC و UPEC.

ژن وابسته به حدت	APEC (تعداد=۲۶)		UPEC (تعداد=۲۵)		P-value
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	
tsh	۱۸	۶۹/۲۳	۴	۱۶	۰/۰۰۰
iutA	۲۱	۸۰/۷۷	۱۷	۶۸	۰/۳۴۹
sitA	۲۴	۹۲/۳۱	۲۰	۸۰	۰/۲۴۸
traT	۲۵	۹۶/۱۵	۱۶	۶۴	۰/۰۰۵



نمودار ۱: شیوع ژن‌های وابسته به حدت در جدایه‌های APEC و UPEC.

ترکیب‌های مختلفی از ژن‌های حدت در جدایه‌های APEC و UPEC شناسایی گردید. تنها در یک جدایه UPEC ژن حدت شناسایی نشد. ترکیب *iutA-sitA-tsh-traT* بیشترین فراوانی ژن‌های حدت را در بین جدایه‌های APEC داشت. در مورد جدایه‌های UPEC بالاترین فراوانی را ترکیب *iutA-sitA-traT* داشت (جدول ۳).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳: فراوانی ترکیب‌های مختلف ژن‌های حدت در بین جدایه‌های APEC و UPEC.

ترکیب ژن	APEC (تعداد=۲۶)	UPEC (تعداد=۲۵)
iutA-sitA-tsh-traT	٪۵۳/۸	٪۱۲
sitA-traT	٪۷/۶	٪۲۰
iutA-sitA-traT	٪۱۵/۳	٪۲۴
sitA-tsh-traT	٪۱۱/۵	–
iutA-traT	٪۷/۶	٪۴
iutA-sitA-tsh	٪۳/۸	٪۴
iutA	–	٪۸
sitA	–	٪۴
iutA-sitA	–	٪۱۶
traT	–	٪۴
فاقد ژن حدت	–	٪۴

بحث

اشرشیاکلی‌های جدا شد از انسان و طیور را به چهار گروه فیلوژنتیک تقسیم بندی می‌کنند (۴ و ۲۴). هر گروه خصوصیات اکولوژی و توان بیماریزایی آن را بازگو می‌کند. از این رو، آگاهی از هویت جمعیت باکتریایی در درک اپیدمیولوژی بیماری مهم می‌باشد. شواهد نشان می‌دهد که حدت یک جدایه ExPEC بیش از آن که به ساختار فیلوژنتیک آن مربوط باشد به ساختار اکولوژی آن ارتباط دارد (۱۵). شباهت‌هایی که بین جدایه‌های APEC و UPEC از نظر سروگروه‌ها و ژنوتیپ حدت وجود دارد این نظریه را تقویت می‌کند که طیور به عنوان حامل اشرشیاکلی‌های ایجاد کننده عفونت ادراری مطرح می‌شود (۱۱ و ۱۹).

محصولات حاصل از ژن *sitA* در انتقال کاتیون‌های دوظرفیتی خصوصا آهن و منگنز نقش موثری دارند و به بقای باکتری کمک شایانی می‌نمایند (۲۳). در این مطالعه ژن *sitA* بیشترین فراوانی (٪۸۰) را در بین جدایه‌های UPEC داشت. در این رابطه اختلاف معنی داری بین جدایه‌های APEC و UPEC وجود نداشت. رودریگز-سیک و همکاران نشان دادند که ژن *sitA* فراوانی بالایی در میان جدایه‌های APEC و UPEC دارد (۱۹). شولر و همکاران نشان دادند که *sitA* بالاترین فراوانی را در بین جدایه‌های APEC دارد (۲۵).

ژن *iutA* در غشای خارجی باکتری‌های گرم منفی از جمله اشریشیاکولای قرار دارند و با انتقال سیدروفور هیدروکسامات از پیرامون باکتری به فضای پری پلاسم، سبب انباشت و اتصال آنها به گیرنده‌های پروتئینی پری پلاسمی می‌شوند (۱۷). فراوانی ژن *iutA* در جدایه‌های APEC و UPEC به ترتیب ۸۰/۷۷ ٪ و ۶۸٪ بود. اختلاف بین دو گروه معنی‌دار نبود. در مطالعه ای که Zhao و همکاران انجام دادند *iutA* بیشترین فراوانی را در بین جدایه‌های APEC و UPEC داشت (۲۷). مطالعه دیگری نشان داد که *iutA* در ۸۲/۷ ٪ از جدایه‌های APEC حضور دارد (۱۸). مطالعه ای توسط کفشدوزان و همکاران روی ۲۳۴ جدایه APEC انجام گرفت. نتایج تحقیق آن‌ها نشان داد که ۶۷/۴ ٪ از جدایه‌ها از نظر ژن *iutA* مثبت بودند (۱۲).

آنتی ژن *traT* یک پروتئین غشای خارجی است که توسط پلاسمید F کد می‌شود، وتصور بر این است که این پروتئین در محافظت باکتری از جزء C3 کمپلمان عمل می‌کند (۱۷). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که فراوانی ژن *traT* در جدایه‌های APEC به طور معنی داری بالاتر از جدایه‌های UPEC می‌باشد. نتایج

www.SID.ir

Archive of SID

ارزیابی‌های Zhao و همکاران نشان داد که فراوانی ژن *traT* در جدایه‌های UPEC (۷۵٪) بالاتر از جدایه‌های APEC (۷۴٪) می‌باشد (۲۷). در مطالعه ای که روی ۱۵۰ جدایه UPEC در کاشان انجام گرفت، ۷۴٪ جدایه‌ها از نظر ژن *traT* مثبت بودند (۱۶).

پروتئین tsh پروتئینی با دو عملکرد ادهزینی و پروتئازی است و ممکن است در کلونیزاسیون سیستم تنفسی میزبان در مرحله اولیه عفونت نقش داشته باشد (۱۷). تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که فراوانی ژن *tsh* در جدایه‌های APEC به طور معنی داری بالاتر از جدایه‌های UPEC می‌باشد. این نتایج همسو با نتایج Rodriguez-Seik و همکاران است که شیوع بالاتر ژن *tsh* را در جدایه‌های APEC نسبت جدایه‌های UPEC نشان دادند. آن‌ها نشان دادند که این اختلاف معنی‌دار نیز می‌باشد (۱۹). Schouler و همکاران گزارش کردند که ۵۲/۸ ٪ از جدایه‌های APEC ژن *tsh* دارند (۲۵).

بر پایه یافته‌های تحقیق کنونی معلوم گردید که ژن‌های وابسته به حدت فراوانی بالایی در جدایه‌های APEC و UPEC دارند. البته ذکر این نکته ضروری است که حضور ژن‌های حدت بیشتر به این معنا نمی‌باشد که سویه بیماریزایی بیشتری نیز دارد. ضروری است مطالعات بیشتری در این زمینه انجام گیرد تا اهمیت بالینی این شاخصه‌های حدت را در میزبان‌ها ارزیابی نماید و مشخص نمایند که طیور به عنوان منبع ژن‌های حدت در جوامع انسانی و بالعکس مطرح می‌باشند.

نتایج مطالعه حاضر مشخص نمود که ژن‌های حدت *traT* و *sitA* شیوع بالایی در میان جدایه‌های APEC و UPEC در آذربایجان غربی دارند، از این رو می‌توان این ژن‌ها را به عنوان گزینه احتمالی مداخلات پروفیلاکسی مانند واکسن در نظر گرفت. در ضمن شیوع *traT* و *tsh* در جدایه‌های APEC بالاتر از جدایه‌های UPEC بوده و این اختلاف معنی‌دار می‌باشد. در نتیجه می‌توان این احتمال را مطرح نمود که جدایه‌های APEC به عنوان مخزن این دو ژن برای جدایه‌های APEC عمل نمایند.

تقدیر و تشکر

از بیمارستان امام خمینی ارومیه و آزمایشگاه دامپزشکی دکتر قره باغی به دلیل همکاری در جمع‌آوری نمونه‌ها تقدیر می‌گردد. ضمنا این مطالعه با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه ارومیه انجام گرفته است.

منابع

1- Ananias, M., Yano, T. (2008). Serogroups and virulence genotypes of *Escherichia coli* isolated from patients with sepsis. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research,* **41**:877-883.

2- DeLorenzo, V., Bindereif, A., Paw, B.H., Neilands, J.B. (1986). Aerobactin biosynthesis and transport genes of plasmid ColV-K30 in Escherichia coli K-12. *Journal of Bacteriology,* **165**:570-578.

3- Ewers, C., Li, G., Wilking, H., Kiessling, S., Alt, K., Antáo, E.M., Laturnus, C., Diehl, I., Glodde, S., Homeier, T., Böhnke, U., Steinrück, H., Philipp, H.C., Wieler, L.H. (2007). Avian pathogenic, uropathogenic, and newborn meningitis-causing Escherichia coli: how closely related are they? *International Journal of Medical Microbiology,* **297**:163–176.

4- Herzer, P.J., Inouye, S., Inouye, M., Whittam, T.S. (1990). Phylogenetic distribution of branched RNA-linked multicopy single-stranded DNA among natural isolates of *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology,* **172**: 6175-6181.

5- Johnson, J.R., Brown, J.J. (1996). A novel multiply primed polymerase chain reaction assay for identification of variant *papG* genes encoding the Gal (alpha 1-4) Gal-binding PapG adhesins of *Escherichia coli*. *The Journal of Infectious Diseases,* **173**: 920-6.

6- Johnson, J.R., Delavari, P., O'Bryan, T.T., Smith, K.E., Tatini, S. (2005). Contamination of retail foods, particularly turkey, from community markets (Minnesota, 1999–2000) with

www.SID.ir

Archive of SID

14- Mellata, M. (2013). Human and avian extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: infections, zoonotic risks, and antibiotic resistance trends. *Foodborne Pathogens and Diseases,* **10**:916–932.

15- Moulin-Schouleur, M., Répérant, M., Laurent, S., Brée, A., Mignon-Grasteau, S., Germon, P., Rasschaert, D., Schouler, C. (2007). Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* strains of avian and human origin: link between phylogenetic relationships and common virulence patterns. *Journal of Clinical Microbiology,* **45**:3366–3376.

16- Neamati, F., Firoozeh, F., Saffari, M., Zibaei, M. (2015). Virulence genes and antimicrobial resistance pattern in uropathogenic *Escherichia coli* isolated from hospitalized patients in Kashan, Iran. *Jundishapur Journal of Microbiology,* **8**:e17514.

17- Nolan, L.K., Barnes, H.J., Vaillancourt, J.P., Abdul-Aziz, T., Logue, C.M. (2013). Colibacillosis In: Swayne D.E. (Eds) *Diseases of poultry*. Wiley-Blackwell, 13th edition, 751-805.

18- Riley, M., Manges, A.R. (2005). Epidemiologic versus genetic relatedness to define an outbreak-associated uropathogenic *Escherichia coli* group. *Clinical Infectious Diseases,* **41**:567–568.

19- Rodriguez-Siek, K.E., Giddings, C.W., Doetkott, C., Johnson, T.J., Fakhr, M.K., Nolan, L.K. (2005). Comparison of Escherichia coli isolates implicated in human urinary tract infection and avian colibacillosis. *Microbiology,* **151**:2097–2110.

20- Ron, E.Z. (2006). Host specificity of septicemic *Escherichia coli*: human and avian pathogens. *Current Opinion in Microbiology,* **9**:28–32.

21- Runyen-Janecky, L., Reeves, J., Gonzales, S.A.E.G., Payne, S.M. (2003). Contribution of the Shigella flexneri Sit, Iuc, and Feo ironacquisition systems to iron acquisition in vitro and in cultured cells. *Infection and Immunity,* **71**:1919–1928.

22- Russo, T.A., Johnson, J.R. (2003). Medical and economic impact of extraintestinal infections due to *Escherichia coli*: focus on an increasingly important antimicrobial-resistant and extraintestinal pathogenic Escherichia coli. *Foodborne Pathogens and Diseases,* **2**:38–49.

7- Johnson, T.J., Kariyawasam, S., Wannemuehler, Y., Mangiamele, P., Johnson, S.J., Doetkott, C., Skyberg, J.A., Lynne, A.M., Johnson, J.R., Nolan, L.K. (2007). The genome sequence of avian pathogenic Escherichia coli strain O1:K1:H7 shares strong similarities with human extraintestinal pathogenic E. coli genomes. *Journal of Bacteriology,* **189**:3228 –3236.

8- Johnson, J.R., Russo, T.A. (2005). Molecular epidemiology of extraintestinal pathogenic (uropathogenic) Escherichia coli. *International Journal of Medical Microbiology,* **295**: 383–404.

9- Johnson, J.R., Stell, A.L. (2000). Extended virulence genotypes of 26 *Escherichia coli* strains from patients with urosepsis in relation tophylogeny and host compromise. *Journal of Infectious Diseases,* **181**:261–272.

10- Johnson, T.J., Wannemuehler, Y., Doetkott, C., Johnson, S.J., Rosenberger, S.C., Nolan, L.K. (2008). Identification of Minimal Predictors of Avian Pathogenic *Escherichia coli* Virulence for Use as a Rapid Diagnostic Tool. *Journal of Clinical Microbiology,* **46**: 3987- 3996.

11- Johnson, T.J., Wannemuehler, Y., Jonson, S.J., Stell, A.L., Doetkott, C., Johnson, R.J., Kim, K.S., Spanjaard, L., Nolan, L.K. (2008). Comparison of extraintestinal pathogenic Escherichia coli strains from human and avian sources reveals a mixed subset representing potential zoonotic pathogens. *Applied and Environmental Microbiology,* **74**:7043–7050.

12- Kafshdouzan, Kh., Zahraei Salehi, T., Nayeri Fasaei, B., Madadgar, O., Yamasaki, Sh., Hinenoya, A., Yasuda, N. (2013). Distribution of virulence associated genes in isolated *Escherichia coli* from avian colibacillosis. *IJVM,* **7**(1):1-6.

13- Maurer, J.J., Brown, T.P., Steffens, W.L., Thayer, S.G. (1998). The occurrence of ambient temperature-regulated adhesins, curli, and thetemperature-sensitive hemagglutinintsh among avian *Escherichia coli*. *Avian Diseases,* **42**: 106–118.

www.SID.ir

Archive of SID

endemic problem. *Microbes and Infection,* **5**:449-456.

23- Sabri, M., Le´veille´, S., Dozois, C.M. (2006). A SitABCD homologue from an avian pathogenic *Escherichia coli* strain mediates transport of iron and manganese and resistance to hydrogen peroxide. *Microbiology,* **152**:745–758.

24- Sabarinath, A., Tiwari, K.P., Deallie, C., Belot, G., Vanpee, G., Matthew, V., Sharma, R., Hariharan, H. (2011). Antimicrobial resistance and phylogenetic groups of commensal Escherichia Coli isolates from healthy pigs in Grenada. *WebmedCentral Veterinary medicine,* **2011**; 2.

25- Schouler, C., Schaeffer, B., Brée, A., Mora, A., Dahbi, G., Biet, F., Oswald, E., Mainil, J., Blanco, J., Moulin-Schouleura, M. (2012). Diagnostic strategy for identifying avian pathogenic *Escherichia coli* based on four patterns of virulence genes. *Journal of Clinical Microbiology,* **50**(5):1673–1678.

26- Waters, V.L., Crosa, J.H. (1991). Colicin V virulence plasmids. *Microbiological Reviews,* **55**:437–450.

27- Zhao, L., Gao, S., Huan, H., Xu, X., Zhu, X., Yang, W., Gao, Q., Liu, X. (2009). Comparison of virulence factors and expression of specific genes between uropathogenic *Escherichia coli* and avian pathogenic E. coli in a murine urinary tract infection model and a chicken challenge Model. *Microbiology,* **155**:1634-1644.

www.SID.ir

Archive of SID

Journal of Veterinary Microbiology, Volume 15, Issue 1, 2019

Prevalence of virulence genes in *Escherichia coli* isolates implicated in poultry colibacillosis and human urinary tract infection

Ahmadi, M.[1], Dadashzadeh, S.[2], Ghaniei, A.[3*]

1. Professor, Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran
2 D.V.M. Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran
3 Assistant professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

Received: 15 July 2018 Accepted: 13 November 2018

Abstract

Escherichia coli is one of the most important bacterial pathogens of human and poultry. Avian pathogenic Escherichia coli (APEC) and uropathogenic Escherichia coli (UPEC) isolates cause diseases outside intestine environment. These strains share some common traits. It has been suggested that transfer of these commonalities between different hosts is of importance in the epidemiology of disease in poultry and human. In the present study, presence of 4 virulence associated genes (sitA, iutA, traT, and tsh) were investigated among 26 APEC and 25 UPEC isolates by polymerase chain reaction (PCR) assay. Statistical analysis was also carried out using minitab 15. The frequencies of the presence of these selected genes in APEC and UPEC isolates were 96.2% and 64% for traT, 88.5% and 76% for sitA, 84.6% and 68% for iutA, and 61.5% and 16% for tsh, respectively. traT and sitA were the most prevalent genes among APEC and UPEC isolates, respectively. Diverse combinations of virulence associated genes were also detected among these strains. Combinations of virulence genes of iutA-sitA-tsh-traT and iutA-sitA-traT were the most frequent in APEC and UPEC isolates, respectively. It supports possibility of virulence genes transfer between poultry and human. Further studies are needed to ascertain the importance of such possibilities in the epidemiology of the infection in human and poultry.

Keywords: APEC, UPEC, virulence genes, Iran.

[*]Corresponding author: Ghaniei, A.
Address: Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
Tel. 05138803768
Email: ghaniei@ferdowsi.um.ac.ir

www.SID.ir