



بررسی حضور ۸ ژن اشریشیا کلی پاتوژنیک طیور در اشریشیا کلی اوروپاتوژنیک انسان

فاطمه ناطقی^۱، دکتر مصطفی جعفرپور^{۲*}، دکتر علی ناظمی^۳

^۱ کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تنکابن، گروه میکروبیولوژی، آستادیار گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تنکابن،
^۲ آستادیار گروه ژنتیک، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تنکابن

چکیده

سابقه و هدف: طیف وسیعی از عفونت‌های خارج روده‌ای در انسان و حیوانات به وسیله سویه‌های اشریشیا کلی خارج روده‌ای (EXPEC) ایجاد می‌شوند. از آن جمله می‌توان به سویه‌های APEC (عامل بیماری‌زای طیور) و UPEC (عامل عفونت دستگاه ادراری در انسان) اشاره نمود. این مطالعه با هدف مقایسه حضور ۸ ژن بیماری‌زایی در دو سویه UPEC و APEC و بررسی فرضیه نقش کلی باسیل‌های جدا شده طیور به عنوان منبع مناسب جهت پیدایش و حضور UPEC انجام شد.

مواد و روش‌ها: در مجموع ۱۰۰ نمونه اشریشیا کلی از بیماران مبتلا به عفونت ادراری و ۱۰۵ نمونه از جوجه‌های گوشتی مبتلا به کلی باسیلوز جمع آوری گردید. پس از استخراج DNA به منظور بررسی حضور ژن‌های *astA*، *iss*، *irp2*، *papC*، *iucD*، *tsh*، *vat* و *cva/cvi* از روش Multiplex PCR استفاده گردید. سپس از آزمون آماری مربع کای به منظور ارزیابی همبستگی بین سویه‌های APEC و UPEC استفاده شد.

یافته‌ها: فراوانی ژن‌های *astA*، *iss*، *irp2* و *papC* در سویه UPEC جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری به ترتیب ۱۱٪، ۳۳٪ و ۳٪ بود. همچنین ژن‌های *vat*، *tsh*، *iucD* و *cva/cvi* در هیچ یک از سویه‌های انسانی مشاهده نگردید. اما تمامی ژن‌های مورد بررسی در سویه‌های جدا شده از طیور وجود داشتند.

نتیجه‌گیری: با توجه به شناسایی ژن‌های *astA*، *iss*، *irp2* و *papC* در هر دو سویه APEC و UPEC، می‌توان نتیجه‌گیری نمود که این ژن‌ها می‌توانند به عنوان عوامل موثر در حضور خارج روده‌ای باکتری مطرح باشند. از این میان ژن *iss* به دلیل دارا بودن بیشترین شیوع در هر دو سویه و نیز ژن *irp2* با فراوانی ۳۳٪ در سویه‌های UPEC، با احتمال بیشتری می‌توانند به عنوان مهم‌ترین عوامل بیماری‌زای در سویه‌های اشریشیا کلی معرفی شوند.

کلمات کلیدی: عوامل حدت، UPEC، APEC

دریافت مقاله: تیر ۱۳۸۹ پذیرش برای چاپ: شهریور ۱۳۸۹

* آدرس برای مکاتبه: تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، گروه میکروبیولوژی
تلفن: ۰۹۱۱۹۲۶۶۲۹

پست الکترونیک: s.jafarpour@tonekaboniu.ac.ir

مقدمه

باکتری اشریشیا کلی به عنوان مهم ترین عضو خانواده انتروباکتریاسه و فلور طبیعی روده انسان ها، پرندگان و پستانداران شناخته شده است. این باکتری بیماریزای فرصت طلب، به صورت ثانویه پس از سرکوب سیستم ایمنی میزبان و وقوع بیماری اولیه ویروسی و مایکوپلاسمایی بروز کرده و موجب ایجاد بیماری های عفونی می گردد (۱). سویه های اشریشیا کلی بیماری زا باعث عفونت های روده ای یا خارج روده ای در تعدادی از میزبان های اختصاصی می شوند (۲).

طیف وسیعی از عفونت های خارج روده ای در انسان و حیوانات مهره دار به وسیله سویه های اشریشیا کلی خارج روده ای (EXPEC) ایجاد می گردد (۳ و ۴). این کلی باسیل ها عبارتند از: ۱) اشریشیا کلی اوروپاتوژنیک (UPEC) که در انسان و حیوانات عفونت اداری ایجاد می کند. ۲) کلی باسیل های عامل مننژیت در نوزادان تازه متولد شده (NMEC). ۳) کلی باسیل های عامل عفونت های سیستمیک در انسان و حیوانات. ۴) کلی باسیلوس طيور (APEC) (۵ و ۶).

ارتباط بین بیماری ایجاد شده به وسیله اشریشیا کلی در انسان و حیوان در برخی موارد اثبات شده است اما در مواردی هنوز ابهاماتی وجود دارد. عفونت دستگاه اداری (UTI) یکی از شایع ترین بیماری های جوامع بشری بوده که عامل آن UPEC (*Uropathogenic Escherichia coli*) می باشد. مطالعات اخیر شواهدی مبنی بر نقش اشریشیا کلی حیوانی به عنوان عامل پیدایش و حضور UPEC را نشان می دهد (۷ و ۸). (*Avian Pathogenic Escherichia coli*) APEC یکی از مهم ترین عوامل بیماریزای طيور و نیز عامل اصلی باسیلوزیس در طيور می باشد (۱، ۴، ۹-۱۱). این بیماری با عفونت دستگاه تنفسی شروع شده و موجب انتشار عفونت در اندام های داخلی می گردد (۱۲).

غالباً سویه های بیماریزای APEC به واسطه ۵ ژن حدت از ۸ ژن شناخته شده *cva/cvi vvat tsh iucD, papC irp2, iss, astA* مشخص می گردند. این ژن ها به ترتیب نقش هایی مانند استقرار باکتری در دیواره روده و تهاجم، افزایش پایداری کلی باسیل و جلوگیری از

فعالیت کمپلمان، سیستم جذب آهن، عامل چسبندگی فیمبریه P، کد کننده پروتئین آئروباکتین، رشد و گسترش ضایعات رسوب فیبرین در کیسه های هوایی، واکوئله کردن و انتقال سایتوتوکسین و تولید کلی سین باکتریایی را بر عهده دارند (۱۱، ۲۴-۱۳).

مطالعات اخیر شباهت حضور ژن های حدت بین سویه های APEC و سویه های ExPEC انسانی را تأیید می نماید (۴). بررسی ها نشان داده است که سویه های APEC و UPEC برای ایجاد عفونت در مکان های خارج روده ای با مکانیسم های مشابهی عمل می کنند (۲۵).

هدف از این پژوهش، مقایسه حضور ژن های موثر در بیماری زایی سویه های UPEC و APEC به منظور ارزیابی نقش کلی باسیل های جدا شده از طيور به عنوان منبع پیدایش UPEC بود.

مواد و روش ها

الف) جمع آوری نمونه ها: در مجموع ۱۰۰ نمونه تأیید شده اشریشیا کلی از بیماران مبتلا به عفونت های اداری مراجعه کننده به سه آزمایشگاه در غرب تهران و ۱۰۵ نمونه از قلب، کبد، طحال و کیسه های هوایی جوجه های گوشتی مبتلا به کلی باسیلوز تهیه شده از آزمایشگاه های ساری (دکتر طبری و دکتر جعفری)، قائم شهر (دکتر رکابی)، بابل (نوهفردی)، بابلسر، آمل (دکتر صدی و شهره)، بهشهر (دکتر ساعی)، نکاء (دکتر طبری)، نور، چالوس و تنکابن (دکتر جعفرپور) جمع آوری گردید. تمامی نمونه ها با استفاده از تست های بیوشیمیایی شناسایی کننده خانواده انتروباکتریاسه (IMVIC) (Merck آلمان) مورد بررسی قرار گرفتند.

ب) استخراج DNA: برای این منظور از روش جوشانیدن (Boiling) استفاده گردید (۲۶).

ج) روش *Multiplex PCR*: واکنش PCR با حجم نهایی ۵۰ میکرولیتر شامل ۳۷/۵ میکرولیتر آب دیونیزه، ۵ میکرولیتر بافر 10× (100 mM TrisHCL, 15 Mm MgCl₂, 500Mm KCl) (ژن فناوران ایران)، ۴ میکرولیتر از هر پرایمر (5 pmol) (سیناژن ایران) (جدول ۱)، ۳ میکرولیتر dNTPs (ژن فناوران ایران)، ۰/۵ میکرولیتر آنزیم DNA پلی مراز *Taq* (سیناژن ایران)، ۱/۵ میکرولیتر (50 mM) MgCl₂ (ژن فناوران ایران) و ۵ میکرولیتر از DNA الگو انجام گرفت.

جدول ۱: پرایمرهای مورد استفاده در واکنش Multiplex PCR.

ژن	توالی پرایمر	موقعیت	شماره دسترسی	اندازه (bp)
<i>astA</i>	TGCCATCAACACAGTATATCC TCAGGTCGCGAGTGACGGC	797-817 912-894	AF143819	116
<i>iss</i>	ATCACATAGGATTCTGCCG CAGCGGAGTATAGATGCCA	(-)-10-(-)28 282-264	X52665	309
<i>irp2</i>	AAGGATTCGCTGTTACCGGAC AACTCCTGATACAGGTGGC	22-42 434-416	L18881	413
<i>papC</i>	TGATATCACGCAGTCAGTAGC CCGCCATATTCACATAA	1284-1304 1784-1767	Y00529	501
<i>iucD</i>	ACAAAAGTTCTATCGCTTCC CCTGATCCAGATGATGCTC	239-256 952-934	M18968	714
<i>tsh</i>	ACTATTCTCTGCAGGAAGTC CTCCGATGTTCTGAACGT	132-151 955-937	AF218073	824
<i>vat</i>	TCCTGGGACATAAATGGTCAG GTGTCAGAACGGAATTGT	1076-1095 2056-2038	AY151282	981
<i>cva A/B</i> <i>cvi cvaC</i>	TGGTAGAATGTGCCAGAGCAAG GAGCTGTTTGTAGCGAAGCC	10745-10764 11925-11904	AJ223631	1181

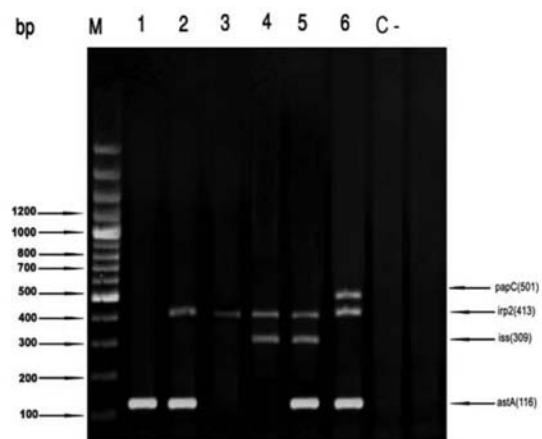
۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. محصول PCR به ژل آگاروز ۲ درصد حاوی اتیدیوم برماید منتقل و الکتروفورز گردید. در نهایت برای مشاهده باندها از دستگاه ترانس ایلومیناتور (Ultra Violet Trans Illuminator، آمریکا) و ترانس داکيومنتر (UV Trans documenter، آمریکا) استفاده شد (شکل ۱). حضور ۵ ژن بیماریزای مورد نظر یا بیشتر در این مطالعه به عنوان APEC در نظر گرفته شد (۲۷).

د) تجزیه و تحلیل آماری: به منظور بررسی همبستگی بین ژن های مورد مطالعه در سویه های APEC و UPEC از نسخه شانزدهم نرم افزار SSPS و آزمون مربع کای استفاده گردید.

نتایج

فراوانی ژن های *astA*، *iss*، *irp2* و *papC* در سویه UPEC جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری به ترتیب ۱۳٪، ۱۱٪، ۳۳٪ و ۳٪ گزارش گردید. همچنین ژن های *vat*، *tsh*، *iucD* و *cva/cvi* در هیچ یک از سویه های جداسازی شده مشاهده نشد (جدول ۲).

واکنش PCR در دستگاه ترموسایکلر (Biorad) با شرایط دمایی ۴ دقیقه واسرشت شدن ابتدایی در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد و در ادامه ۳۵ چرخه شامل واسرشت شدن در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ ثانیه، اتصال در دمای ۵۸ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه، طولیل شدن در دمای ۶۸ درجه سانتی گراد به مدت ۳ دقیقه و در نهایت طولیل شدن نهایی در دمای



شکل ۱: نتایج حاصل از الکتروفورز محصول PCR سویه های UPEC. ستون های ۱ تا ۶ نشان دهنده حضور ژن های بیماریزا سویه های APEC، M سایز مارکر (۱۰۰bp)، C- کنترل منفی.

بحث

فرضیاتی مانند ژنونوز بودن سویه‌های APEC و ExPEC و نیز معرفی سویه APEC به عنوان مخزنی برای ژن‌های وابسته به حدت ExPEC در انسان می‌تواند قابل توجه باشد (۵). اورس (Ewers) و همکاران در سال ۲۰۰۹ مشخصات ژن‌های دخیل در حدت و مقاومت سرمی ۳۶۷ سویه اشریشیاکلی (شامل ۱۲۱ سویه APEC و ۲۴۶ سویه مدفوعی) را مورد ارزیابی قرار دادند. یافته‌های آن‌ها نشان داد که در سویه‌های APEC، ژن‌های کد کننده چسبنده‌ها (*papAH*, *papC*, *papEF*, *papG*, *tsh*)، فراوانی (*ihra* و *ihmat*) بیشتری دارد و تعدادی از سویه‌های مدفوعی نیز ویژگی‌های خاص APEC و به طور اساسی ExPEC حیوان و انسان را داشتند (۱۰).

اورس (Ewers) و همکاران در سال ۲۰۰۷، ۳۳ ژن را به منظور بررسی ارتباط بین ۵۲۶ جدایه اشریشیاکلی (NMEC, UPEC, APEC) مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج آن‌ها نشان دهنده شیوع ژن‌های تهاجمی (*ibe*, *gimB*) و ژن کد کننده کپسول k_1 (*neuC*) و نیز ارتباط نزدیک بین سویه‌های APEC و NMEC بود. ژن‌های وابسته به پلاسمیدهای *colV* (*iss*, *tsh* و *sit*) در سویه APEC نسبت به سویه‌های UPEC و NMEC فراوانی بیشتری داشتند. یافته‌های آن‌ها نشان داد که سویه APEC می‌تواند به عنوان مخزنی برای ژن‌های قرار گرفته بر روی پلاسمید *colV* یا یک پلاسمید کامل برای دیگر سویه‌های ExPEC مطرح باشد (۶).

مولین شولنور (Moulin-Schouleur) و همکاران در سال ۲۰۰۶، ۲۲ جدایه اشریشیاکلی انسان، ۱۵ جدایه سپتیمی، ۷ جدایه مننژیت و ۳۳ جدایه طیور را به منظور حضور ژن‌های *focG*, *tsh*, *iutA*, *felA*, *neuC*, *fimH*, *fimAv*, *fimA*, *papG3*, *papG2*, *papG1*, *papC* و *sfaS* مورد بررسی قرار دادند. نتایج آن‌ها حاکی از فراوانی یکسان ژن‌های بیماریزا و قطعات ژنومی در هر دو سویه بود. بیش از ۹۷٪ از سویه‌ها حاوی ژن‌های *sfa* و *fim* بودند اما سایر ژن‌های کد کننده ادهسین (فیمبریه *p*, *FIC* و *afA*) در آن‌ها شناسایی نگردید. همچنین ژن *ibeA* در تمامی سویه‌ها به جز یک سویه sp-1 انسانی و ژن *iutA* در بیش از ۸۵ درصد سویه‌ها حضور داشت. ژن‌های *cdt* و *tsh* در مقایسه با دیگر ژن‌ها به طور قابل ملاحظه ای حضور

APEC یکی از مهم‌ترین عوامل عفونی در پرورش طیور گوشتی و نیز عامل اصلی باسیلوزیس در پرندگان به شمار می‌رود. این پاتوتیپ باکتریایی به دنبال عفونت‌های اولیه ویروسی و مایکوپلاسمایی، به صورت ثانویه بروز کرده و موجب کلی سپتیمی می‌گردد. به همین دلیل می‌تواند خسارات اقتصادی فراوانی را به صنعت طیور وارد سازد (۱، ۴، ۹ و ۱۱). اگرچه به طور گسترده فرض شده است که اکثر سویه‌های APEC توانایی ژنونوز بودن را ندارند اما گزارش‌های اخیر یافته‌های دیگری را خلاف این فرضیات ارائه داده است (۳، ۶ و ۲۸). برخی از مطالعات مشاهداتی مبنی بر انطباق‌پذیری سویه‌های APEC در میزبان انسانی و همچنین انتقال پلاسمیدهای آن‌ها ارائه نموده است. از طرفی مطالعات دیگری نیز تشابهات فیلوژنتیکی، ژنوتیپی و سروتیپی را در بین سویه‌های APEC و ExPEC انسانی مشتق شده از عفونت‌های دستگاه ادراری و مننژیت نوزادان نشان داده است (۴ و ۲۹).

سویه‌های APEC به واسطه دارا بودن ۵ ژن حدت از ۸ ژن شناخته شده *astA*, *iss*, *irp2*, *papC*, *iucD*, *tsh* و *vat* و *cva/cvi* مشخص می‌گردند (۱۷ و ۱۸). در مطالعه حاضر نیز به منظور بررسی ارتباط بین منشا حضور UPEC از APEC، وجود این ۸ ژن در نمونه‌های آلوده به UPEC مورد ارزیابی قرار گرفت. مطالعات بوچارت (Bauchart) و همکاران در سال ۲۰۱۰ نشان داد که سویه‌های APEC و ExPEC مخزن ژنی مشابهی در خصوص ژن‌های حدت دارند. بنابراین با توجه به این یافته

متغیرها	فراوانی (درصد) ۱۰۰ سویه UPEC	فراوانی (درصد) ۲۸ سویه APEC
<i>astA</i>	۳ (۳)	۲۴ (۸۵/۷۱)
<i>iss</i>	۱۱ (۱۱)	۲۷ (۹۶/۴۳)
<i>irp2</i>	۳۳ (۳۳)	۱۵ (۵۳/۵۷)
<i>papC</i>	۳ (۳)	۲۳ (۸۲/۱۴)
<i>iucD</i>	۰	۲۴ (۸۵/۷۱)
<i>tsh</i>	۰	۲۴ (۸۵/۷۱)
<i>vat</i>	۰	۲۴ (۸۵/۷۱)
<i>cva/cvi</i>	۰	۳ (۱۰/۷۱)

جدول ۲: مقایسه فراوانی ژن‌های دخیل در بیماریزایی سویه‌های APEC با UPEC.

می‌توان ارتباط بین سویه‌های انسانی و حیوانی را مورد بررسی بیشتری قرار داد. همچنین در این مطالعه ۴ ژن دیگر (*iucD*، *tsh*، *vat* و *cva/cv*) نیز در سویه‌های APEC و UPEC مورد ارزیابی قرار گرفتند. اما به دلیل عدم مشاهده این ژن‌ها در نمونه UPEC، تنها به صورت توصیفی مورد بررسی قرار گرفتند.

نتیجه گیری

با توجه به حضور ژن‌های بیماری‌زای *astA*، *iss*، *irp2* و *papC* در هر دو سویه APEC و UPEC می‌توان نتیجه‌گیری کرد که این ژن‌ها می‌توانند به عنوان عوامل موثر در حضور خارج روده‌ای این سویه‌ها مطرح گردند. در مطالعه حاضر ژن *iss* به دلیل دارا بودن بیشترین فراوانی در هر دو سویه با احتمال بیشتری می‌تواند به عنوان این عامل در نظر گرفته شود. همچنین با توجه به فراوانی بالای ژن *irp2* (جذب‌کننده آهن) در نمونه‌های UPEC، به نظر می‌رسد که این ژن نقش اساسی را در بیماری‌زایی سویه‌های UPEC داشته باشد و موجب بقای سویه‌های UPEC در محیط‌های دارای مقادیر کم آهن گردد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از معاون محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی تنکابن و همچنین پرسنل آزمایشگاه میکروب شناسی به دلیل حمایت‌های علمی و اجرایی کمال امتنان را دارند.

References

1. Nakazato G, de Campos TA, Stehling EG, Brocchi M, da Silveira WD. Virulence factors of avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). Pesq Vet Bras. 2009; 29(7): 479-486.
2. Ron EZ. Host specificity of septicemic *Escherichia coli*: human and avian pathogens. Curr Opin Microbiol. 2006; 9(1): 28-32.
3. Moulin-Schouleur M, Répérant M, Laurent S, Brée A, Mignon-Grasteau S, Germon P, Rasschaert D, Schouler C. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* strains of avian and human origin: link between phylogenetic relationships and common virulence patterns. J Clin Microbiol. 2007; 45 (10): 3366-3376.
4. Moulin-Schouleur M, Schouler C, Tailliez P, Kao MR, Brée A, Germon P, Oswald E, Mainil J, Blanco M, Blanco J. Common virulence factors and genetic relationships between O18:K1:H7 *Escherichia coli* isolates of human and avian origin. J Clin Microbiol. 2006; 44(10): 3484-3492.
5. Bauchart P, Germon P, Bree A, Oswald E, Hacker J, Dobrindt U. Pathogenomic comparison of human extraintestinal and avian pathogenic *Escherichia coli*--search for factors involved in host specificity or zoonotic potential. Microb Pathog. 2010; 49(3): 105-115.
6. Ewers C, Li G, Wilking H, Kiessling S, Alt K, Antão EM, Laturus C, Diehl I, Glodde S, Homeier T, Böhnke

کمتری را در سویه‌ها داشتند و ژن *cnf1* تنها در یک جدایه طیور و یک جدایه انسانی حضور داشت. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد که سویه‌های ExPEC و طیور بر اساس ژنوتیپ بیماری‌زایی و گروه فیلوژنتیکی شباهت زیادی به یکدیگر دارند (۴).

جانسون (Johnson) و همکاران در سال ۲۰۰۸ مطالعه‌ای را به منظور ارزیابی ژن‌های متنوع پلاسمیدی و کروموزومی بر روی ۵۳۱ نمونه UPEC، ۴۵۲ نمونه APEC و ۹۱ نمونه NMEC انجام دادند. در مطالعه آنها شیوع ژن‌های *tsh*، *papC* و *vat* در سویه APEC به ترتیب ۵۲/۷، ۴۰/۵ و ۳۳/۴ درصد، در سویه UPEC به ترتیب ۲/۶، ۵۹/۷ و ۶۲/۳ درصد و در سویه NMEC به ترتیب ۳۱/۱، ۳۵/۶ و ۷۴/۴ درصد گزارش گردید (۳۰). نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان می‌دهد که از مجموع ۱۰۰ نمونه UPEC بررسی شده فراوانی ژن‌های *astA*، *iss*، *irp2* و *papC* به ترتیب ۳، ۱۱، ۳۳ و ۳ درصد بوده است و ژن‌های *iucD*، *tsh*، *vat*، *cva/cvi*، در هیچ یک از سویه‌های UPEC مشاهده نگردید. بنابراین ژن‌های *iss* و *irp2* بیشترین فراوانی را در میان سویه‌های UPEC داشته‌اند. بر اساس نتایج مطالعه جعفرپور ژن‌های *iss* (۹۶٪) و *tsh* (۹۶٪) نیز بیشترین شیوع را در سویه‌های APEC به خود اختصاص داده بودند (۲۷). با استفاده از آزمون مربع کای مشخص گردید که ارتباط معنی داری بین حضور ژن‌های موثر در بیماری‌زایی سویه‌های APEC و UPEC وجود دارد ($p < 0.001$). با توجه به ارتباط معنی دار حضور ژن‌های موثر در بیماری‌زایی سویه‌های APEC و UPEC، بنابراین با مطالعات فیلوژنتیکی

- U, Steinrück H, Philipp HC, Wieler LH. Avian pathogenic, uropathogenic, and newborn meningitis-causing *Escherichia coli*: How closely related are they? *Int J Med Microbiol*. 2007; 297(3): 163-176.
7. Johnson TJ, Kariyawasam S, Wannemuehler Y, Mangiamele P, Johnson SJ, Doetkott C, Skyberg JA, Lynne AM, Johnson JR, Nolan LK. The genome sequence of avian pathogenic *Escherichia coli* strain O1:K1:H7 shares strong similarities with human extraintestinal pathogenic *E. coli* genomes. *J Bacteriol*. 2007; 189 (8): 3228-3236.
 8. Zhao L, Gao S, Huan H, Xu X, Zhu X, Yang W, Gao Q, Liu X. 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*. 2009; 155(5): 1634-1644.
 9. Antão EM, Glodde S, Li G, Sharifi R, Homeier T, Laturus C, Diehl I, Bethe A, Philipp HC, Preisinger R, Wieler LH, Ewers C. The chicken as a natural model for extraintestinal infection caused by avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC), *Microb Pathog*. 2008; 45(5-6): 361-369.
 10. Ewers C, Antao EM, Diehl I, Phlipp HC, Wieler LH. Intestine and environment of the chicken as reservoirs for extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* strains with zoonotic potential. *Appl Environ Microbiol*. 2009; 75(1): 184 -192.
 11. Kwon SG, Cha SY, Choi EJ, Kim B, Song HJ, Jang HK. Epidemiological prevalence of avian pathogenic *Escherichia coli* differentiated by multiplex PCR from commercial chickens and hatchery in Korea. *J Bacteriol Virol*. 2008; 38(4): 179-188.
 12. Mora A, López C, Dabhi G, Blanco M, Blanco JE, Alonso MP, Herrera A, Mamani R, Bonacorsi S, Moulin-Schouleur M, Blanco J. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* O1:K1:H7/NM from human and avian origin: detection of clonal groups B2 ST95 and D ST59 with different host distribution. *BMC Microbiol*. 2009; 9: 132.
 13. Delicato ER, de Brito BG, Konopatzki AP, Gaziri LC, Vidotto MC. Occurrence of the temperature-sensitive hemagglutinin among avian *Escherichia coli*. *Avian Dis*. 2002; 46(3): 713-716.
 14. Dozois CM, Dho-Moulin M, Brée A, Fairbrother JM, Desautels C, Curtiss R 3rd. Relationship between the Tsh autotransporter and pathogenicity of avian *Escherichia coli* and localization and analysis of the Tsh genetic region. *Infect Immun*. 2000; 68(7): 4145-4154.
 15. Ewers C, Janssen T, Kiessling S, Philipp HC, Wieler LH. Rapid detection of virulence associated genes in avian pathogenic *Escherichia coli* by multiplex polymerase chain reaction. *Avian Dis*. 2005; 49(2): 269-273.
 16. Ewers C, Janssen T, Kiessling S, Philipp HC, Wieler LH. Molecular epidemiology of avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) isolated from colisepticemia in poultry. *Vet Microbiol*. 2004; 104(1-2): 91-101.
 17. Gibbs PS, Maurer JJ, Nolan LK, Wooley RE. Prediction of chicken embryo lethality with the avian *Escherichia coli* traits complement resistance, colicin V production, and presence of the increased serum survival gene cluster (iss). *Avian Dis*. 2003; 47(2): 370-379.
 18. Johanson, TJ, Siek, KE, Johanson, SJ, Nolan, LK. DNA sequence of a ColV plasmid and prevalence of selected plasmid encoded virulence gene among avian *Escherichia coli* strains. *J Bacteriol*. 2006; 188(2): 745-758.
 19. Knöbl T, Gomes TAT, Vieira MAM, Ferreira F, Bottino JA, Ferreira AJP. Some adhesins of avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) isolated from septicemic poultry in Brazil. *Braz J Microbiol*. 2006; 37(3): 1517-8382.
 20. Moon BM, Won GY, Choi YY, Jin JK, Park, JH, EO SK, Lee JH. Isolation and characteristics of avian pathogenic *Escherichia coli* from birds associated with colibacillosis. *Proceedings of AZWMP*. Chulalongkorn Uni. Fac. of Vet. Sc., Bangkok, Thailand, 26-29 Oct 2006.
 22. Rocha, ACGP, Rocha SLS, Lima- Rosa, CAV, Souza GF, Moraes HLS, Salle FO, Moraes LB, Salle CTP. Genes associated with pathogenicity of avian *Escherichia coli* (APEC) isolated from respiratory case of poultry. *Pesq Vet Bras*. 2008; 28(3): 183-186.
 23. Skyberg JA, Horne SM, Giddings CW, Wooley RE, Gibbs PS, Nolan LK. Characterizing avian *Escherichia coli* isolates with multiplex polymerase chain reaction. *Avian Dis*. 2003; 47(4): 1441-1447.
 24. Won GY, Moon BM, Oh IG, Matsuda K, Chaudhari AA, Hur J, Eo SK, Yu IJ, Lee YJ, Lee YS, Kim BS, Lee JH. Profiles of virulence-associated genes of avian pathogenic *Escherichia coli* isolates from chickens with colibacillosis. *J Poultry Sci*. 2009; 46(3), 260-266.
 25. Rodriguez-Siek KE, Giddings CW, Doetkott C, Johnson TJ, Fakhr MK, Nolan LK. Comparison of

- Escherichia coli* isolates implicated in human urinary tract infection and avian colibacillosis. Microbiology. 2005; 151(6): 2097-2110.
26. Apun K, Kho KL, Chong YL, Hashimatol FH, Abdullah MT, Rahman MA, Lesley MB, Samuel L. Detection of *Escherichia coli* O157:H7 in Wildlife from Disturbed Habitats in Sarawak, Malaysia. Res J Microbiol. 2011; 6(2): 132-139.
27. Jafarpour M, Kalaei S, Nazemi A. molecular identification of avian pathogenic *E.coli* in broilers bred in northern Iran by multiplex PCR.(Accepted and Modified for publishing in Lahijan bio science journal)
28. Adiri RS, Gophna U, Ron EZ. Multilocus sequence typing (MLST) of *Escherichia coli* O78 strains. FEMS Microbiol Lett. 2003; 222(2): 199-203.
29. Mokady D, Gophna U, Ron EZ. Extensive gene diversity in septicemic *Escherichia coli* strains. J Clin Microbiol. 2005; 43(1): 66-73.
30. Johnson TJ, Wannemuehler Y, Johnson SJ, Stell AL, Doetkott C, Johnson JR, Kim KS, Spanjaard L, Nolan LK. Comparison of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* strains from human and avian sources reveals a mixed subset representing potential zoonotic pathogens. Appl Environ Microbiol. 2008; 74(22): 7043-7050.



A Survey for Detection of Eight Correlated Genes of Avian Pathogenic *Escherichia coli* in Human Uropathogenic *Escherichia coli*

Fatemeh Nateghi¹, Mustafa Jafarpour², Ali Nazemi³

¹M.Sc., Department of Microbiology, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran.

²Assistant Professor, Department of Microbiology, Islamic Azad University, Tonekabon Branch, Tonekabon, Iran.

³Assistant Professor, Department of Genetics, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran.

Abstract

Background and Objectives: A wide range of extraintestinal infections in humans and vertebrate animals are created by the extraintestinal *E. coli* strains (EXPEC), including APEC (Avian pathogenic *Escherichia coli*) and UPEC (urinary tract infection in humans). This study aimed to survey presence of eight involving virulent genes of APEC and UPEC strains in human extraintestinal *E. coli* strains to support the hypothesis that these genes in human APEC and UPEC were originated from avian APEC and UPEC strains.

Materials and Methods: A total of 100 and 105 *Escherichia coli* samples were collected from patients with urinary tract infection and the infected chickens with colibacillose, respectively. After DNA extraction, Multiplex PCR was used for the presence of genes *astA*, *iss*, *papC*, *iucD*, *tsh*, *vat*, *cva* / *cvi* (related to strain APEC). Correlation between APEC and UPEC were analyzed by chi-square test.

Results: The frequency of *astA*, *iss*, *irp2* and *papC* genes in UPEC strains isolated from patients with urinary tract infection were 13%, 11%, 33% and 3%, respectively. The genes *iucD*, *tsh*, *vat*, and *cva* / *cvi* were observed in only one of the isolated strains. All genes were observed in all avian strains.

Conclusion: presence of *astA*, *iss*, *irp2*, *papC* genes in both APEC and UPEC strains confirmed their role in extraintestinal infections. Between them, *iss* gene (the most common isolated gene) and *irp2* gene (with 33% frequency in of UPEC) are more likely the most important pathogenic factors in the *E. coli* strains.

Keywords: Virulence Factors, UPEC, APEC