مجله دنیای میکروب ها
سال سوم، شماره سوم (پیاپی ۸)، پاییز ۱۳۸۹
صفحات ۱۷۶ ـ ۱۶۹

Original Article

# 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، [۲]استادیار گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تنکابن،
[۳]استادیار 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.

یافته ها: فراوانی ژن‌های *astA*، *iss*، *irp2* و *papC* در سویه UPEC جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری به ترتیب ۱۳٪، 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.

نتیجه گیری: 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: ۰۹۱۱۱۹۲۶۶۲۹،
پست الکترونیک: s.jafarpour@tonekaboniau.ac.ir

## مقدمه

باکتری اشریشیا کلی به عنوان مهم‌ترین 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 بیماری‌های عفونی می‌گردد (۱). سویه‌های اشریشیا کلی بیماری‌زا باعث عفونت‌های روده‌ای یا خارج روده‌ای در تعدادی از میزبان‌های اختصاصی می‌شوند (۲).

طیف وسیعی از عفونت‌های خارج روده‌ای در انسان و حیوانات مهره دار به وسیله سویه‌های اشریشیا کلی خارج روده ای (EXPEC) ایجاد می‌گردد (۳ و ۴). این کلی باسیل‌ها عبارتند از: ۱) اشریشیا کلی اوروپاتوژنیک (UPEC) که در انسان و حیوانات عفونت ادارای ایجاد می کند. ۲) کلی باسیل‌های عامل مننژیت در نوزادان تازه متولد شده (NMEC). ۳) کلی باسیل‌های عامل عفونت‌های سیستمیک در انسان و حیوانات. ۴) کلی باسیلوس طیور (APEC)(۱، 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 شایع‌ترین بیماری‌های جوامع بشری بوده که عامل آن UPEC (Uropathogenic *Escherichia coli*) می‌باشد. مطالعات اخیر شواهدی مبنی بر نقش اشریشیا کلی حیوانی به عنوان عامل پیدایش و حضور UPEC را نشان می‌دهد (۷ و ۸). (Avian Pathogenic Escherichia coli) APEC یکی از مهم‌ترین عوامل بیماریزای طیور و نیز عامل اصلی باسیلوزیس در طیور می‌باشد (۱، ۴، ۱۱-۹). این بیماری با عفونت دستگاه تنفسی شروع شده و موجب انتشار عفونت دراندام‌های داخلی می‌گردد (۱۲).

غالباً سویه‌های بیماریزای APEC به واسطه ۵ ژن حدت از ۸ ژن شناخته شده *astA*، *iss*، *irp2*، *papC*، *iucD*، *tsh*، *vat* و *cva/cvi* مشخص می‌گردند. این ژن‌ها به ترتیب نقش‌هایی 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 کیسه‌های هوایی، واکوئله‌کردن و انتقال سایتوتوکسین و تولید کلی سین باکتریایی را بر عهده دارند (۱۱، ۲۴-۱۳).

مطالعات اخیر شباهت حضور ژن‌های حدت بین سویه‌های APEC و سویه‌های ExPEC انسانی را تأیید می‌نماید (۴). بررسی‌ها نشان داده است که سویه‌های APEC و UPEC برای ایجاد عفونت در مکان‌های خارج روده‌ای با مکانیسم‌های مشابهی عمل می‌کنند (۲۵).

هدف از این پژوهش، مقایسه حضور ژن‌های موثر در بیماری زایی سویه‌های UPEC و APEC به منظور ارزیابی نقش کلی باسیل‌های جدا شده از طیور به عنوان منبع پیدایش UPEC بود.

## مواد و روش‌ها

الف) جمع آوری نمونه‌ها: در مجموع ۱۰۰ نمونه تأیید شده اشریشیا کلی از بیماران مبتلا به عفونت‌های ادراری مراجعه کننده به سه آزمایشگاه در غرب تهران و ۱۰۵ نمونه از قلب، کبد، طحال و کیسه‌های هوایی جوجه‌های گوشتی مبتلا به کلی باسیلوز تهیه شده از آزمایشگاه‌های ساری (دکتر طبری و دکترجعفری)، قائم شهر (دکتر رکابی)، بابل (نوهفردی)، بابلسر، آمل (دکتررصدی و شهره)، بهشهر (دکترساعی)، نکاء (دکتر طبری)، نور، چالوس و تنکابن (دکتر جعفرپور) جمع آوری گردید. تمامی نمونه‌ها با استفاده از تست‌های 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 ۳۱/۵ میکرولیتر آب دیونیزه، ۵ میکرولیتر بافر (100 mM TrisHCL, 15 Mm $MgCl_2$, 500Mm KCl) 10× (ژن فناوران ایران)، ۴ میکرولیتر از هر پرایمر (5 pmol) (سیناژن ایران) (جدول ۱)، ۳ میکرولیتر dNTPs (ژن فناوران ایران)، ۲U ۰/۵میکرولیتر آنزیم DNA پلی مراز *Taq* (سیناژن ایران)، ۱/۵ میکرولیتر (50 mM) $MgCl_2$ (ژن فناوران ایران) و ۵ میکرولیتر از DNA الگو انجام گرفت.

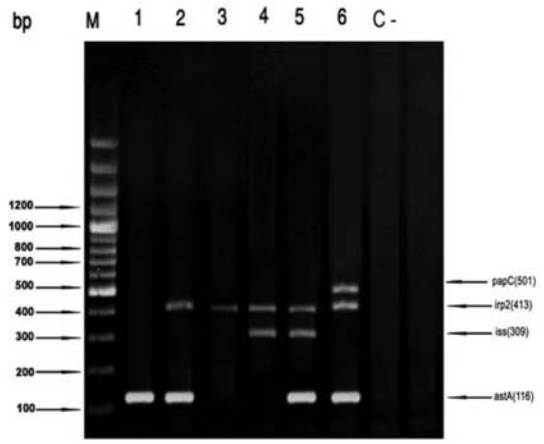
**جدول ۱:** پرایمرهای مورد استفاده در واکنش Multiplex PCR.

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

واکنش PCR در دستگاه ترموسایکلر (Biorad) با شرایط دمایی ۴ دقیقه واسرشت شدن ابتدایی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد و در ادامه ۳۵ چرخه شامل واسرشت شدن در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، اتصال در دمای ۵۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، طویل شدن در دمای ۶۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه و در نهایت طویل شدن نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد 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 داکیومنتر(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 ژن‌های مورد مطالعه در سویه‌های APEC و UPEC از نسخه شانزدهم نرم افزار SSPS و آزمون مربع کای استفاده گردید.




**شکل ۱:** نتایج حاصل از الکتروفورز محصول PCR سویه‌های UPEC. ستون‌های ۱ تا ۶ نشان‌دهنده حضور ژن‌های بیماریزا سویه‌های APEC، M) سایز مارکر (۱۰۰bp)، C-) کنترل منفی.

## نتایج

فراوانی ژن‌های *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 ژن‌های *vat* , *tsh* , *iucD* و *cva/cvi* در هیچ یک از سویه‌های جداسازی شده مشاهده نشد (جدول ۲).

## بحث

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 سپتسمی 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 زئونوز 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*، *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 فرضیاتی مانند زئونوز 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 اشریشیا کلی (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 (*tsh*، *papG*، *papEF*، *papC*، *papAH*، *mat*، *iha* و *hra*) فراوانی 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 اشریشیا کلی (NMEC, APEC, UPEC) 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 و یا یک پلاسمید کامل برای دیگر سویه‌های ExPEC مطرح باشد (۶).

مولین شولئور (Moulin-Schouleur) و همکاران در سال ۲۰۰۶، ۲۲ جدایه اشریشیا کلی انسان، ۱۵جدایه سپتیسمی، ۷ جدایه مننژیت و ۳۳ جدایه طیور را به منظور حضور ژن‌های *fimA*، *fimAv*، *fimH*، *neuC*، *felA*، *iutA*، *focG tsh*، *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*، *F1C* 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 سویه ها حضور داشت. ژن های *cdt* و *tsh* در مقایسه با دیگر ژن‌ها به طور قابل ملاحظه ای حضور

| متغیرها | فراوانی (درصد) ۱۰۰ سویه UPEC | فراوانی (درصد) ۲۸ سویه APEC |
|---|---|---|
| *astA* | (۳) ۳ | (۸۵/۷۱) ۲٤ |
| *iss* | (۱۱) ۱۱ | (۹٦/٤۳) ۲۷ |
| *irp2* | (۳۳) ۳۳ | (۵۳/۵۷) ۱۵ |
| *papc* | (۳) ۳ | (۸۲/۱٤) ۲۳ |
| *iucD* | ۰ | (۸۵/۷۱) ۲٤ |
| *tsh* | ۰ | (۸۵/۷۱) ۲٤ |
| *vat* | ۰ | (۸۵/۷۱) ۲٤ |
| *cva/cvi* | ۰ | (۱۰/۷۱) ۳ |

**جدول۲:** مقایسه فراوانی ژن‌های دخیل در بیماریزایی سویه های APEC با UPEC.

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 مطالعه ای 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 ازسویه‌های 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 فیلوژنیکی 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 حمایت های 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, Antáo EM, Laturnus C, Diehl I, Glodde S, Homeier T, Böhnke

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, Laturnus 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 is 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.

Journal of Microbial World
Volume 3, No. 3, Sep. 2010

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

Fatemeh Nateghi[1], Mustafa Jafarpour[2], Ali Nazemi[3]

[1]M.Sc., Department of Microbiology, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran.
[2]Assistant Professor, Department of Microbiology, Islamic Azad University, Tonekabon Branch, Tonekabon, Iran.
[3]Assistant 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

Correspondence to: Mustafa Jafarpour
E-mail: s.jafarpour@tonekaboniau.ac.ir
Tel: +989111926629
Journal of Microbial World 2010 3(3): 169-176