

به کارگیری روشهای ایمونوفلورسانس، ایمونودات و ایمونوبلاتینگ جهت شناسایی

سویه‌های بیماریزای اشریشیاکلی واجد فیمبریه F11، در کلی باسیلوز طیور*

دکتر حسن تاج‌بخش^۱ دکتر سیدعلی پوربخش^۲ دکتر رضا قنبرپور ممقانی^۳

مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۵۶، شماره ۴، ۹-۱۲، ۱۳۸۰

آنتروباکتریاسه واجد این ژنها بوده و در سویه‌های بیماریزا و غیر بیماریزا حضور دارد. این فیمبریه قادر به هماگلوتیناسیون گلبولهای قرمز گونه‌های مختلف حیوانات بوده و به سلولهای مخمری و بسیاری از انواع سلولهای دیگر متصل می‌شود و با محلول ۵ درصد مانوز می‌توان از هماگلوتیناسیون ناشی از این فیمبریه ممانعت نمود (۴ و ۱۳). فیمبریه P که به وسیله دسته ژنی pap کد می‌گردد باعث هماگلوتیناسیون گلبولهای قرمز گونه‌های خاصی می‌شود که این هماگلوتیناسیون نسبت به مانوز مقاوم (MRHA+) است. تاکنون این فیمبریه فقط در سطح سویه‌های بیماریزای اشریشیاکلی جدا شده از طیور و بوقلمون شناسایی شده که با سویه‌های عفونتهای دستگاه ادراری انسان در ارتباط است. این فیمبریه نسبت به اثرات باکتری کشی سرم مقاوم بوده و قادر است به سلولهای اپیتلیال دستگاه تنفسی طیور متصل گردد. در واقع هر یاخته‌ای که واجد ترکیب آلفا - دی - گالاکتوپیرانوزیل - بتا - دی گالاکتوپیرانوزید باشد دارای پذیرنده‌ای برای این فیمبریه است (۸، ۱۰، ۱۲، ۱۳، ۱۴).

بر اساس مطالعاتی که بر روی ویژگیهای مرفولوژی، بیوشیمیایی، عملکردی، سرولوژی و وزن مولکولی فیمبریه مقاوم به مانوز (موجود بر سطح سویه‌های طیور) صورت گرفته، مشخص شده‌است که این فیمبریه مشابه F11 بوده و جزء فیمبریه‌های دسته P محسوب می‌شود. در یک مطالعه میزان حضور فیمبریه F11 در سویه‌های اشریشیاکلی جدا شده از طیور ۷۸ درصد گزارش شده است (۱۶).

نمود فیمبریه F11 همانند سایر فیمبریه‌ها تحت کنترل شرایط محیطی است و هنگامی که این سویه‌ها در شرایط آزمایشگاهی در محیط کشت جامد و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار گیرند، فیمبریه‌ای با تحت واحد اصلی ۱۸ کیلو دالتونی ظاهر می‌سازند که همان فیمبریه F11 است (۳ و ۹).

با توجه به اهمیت فیمبریه F11 در بیماریزایی اشریشیاکلی و اینکه تاکنون این جزء فقط در سویه‌های بیماریزا شناسایی شده‌است با تأیید حضور این فیمبریه می‌توان سویه‌های پاتوژن را شناسایی نمود. در این پژوهش هدف بر این است که با استفاده از چندین روش دقیق نسبت به تعیین این فیمبریه و در نهایت شناسایی و تعیین سروتیپ سویه‌های بیماریزا اقدام نمود.

مواد و روش کار

سویه‌های باکتریایی: از لاشه‌های طیور مبتلا به کلی باسیلوز (ارجاعی به درمانگاه طیور موسسه رازی) نمونه‌های باکتریولوژی تهیه شده و طبق روشهای معمول میکروبیولوژی نسبت به جداسازی اشریشیاکلی اقدام گردید که در مجموع ۳۰۰ سویه اشریشیاکلی جداسازی و در دمای ۷۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد.

کشت جهت نمود فیمبریه F11: هریک از سویه‌ها بر روی محیط کشت تریپتیک سوی آگار (TSA oxoid) و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد، به صورت متوالی ۳-۶ بار پاساژ داده شد سپس با استفاده از محلول بافری فسفات نسبت به جمع‌آوری باکتری از سطح محیط کشت اقدام گردید (۵، ۹، ۱۳).

آزمایش هماگلوتیناسیون: برای این منظور از تعلیق ۲ درصد گلبولهای

* این طرح با پشتیبانی مالی امور پژوهشی دانشگاه تهران انجام گرفته است.

۱) گروه آموزشی میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

۲) مؤسسه تحقیقات واکنس و سرم سازی رازی کرج، کرج - ایران.

۳) گروه آموزشی میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهیدباهنر کرمان، کرمان - ایران.

تاکنون فیمبریه F11 فقط در سویه‌های بیماریزای اشریشیاکلی جدا شده از طیور، بوقلمون و انسان گزارش شده‌است. به منظور شناسایی این فیمبریه ابتدا ۳۰۰ سویه از لاشه‌های طیور گوشتی مبتلا به کلی باسیلوز جداسازی و هر یک از آنها در محیط TSA چندین بار پاساژ داده شد تا فیمبریه F11 نمود یابد. در مرحله بعدی تعلیق باکتریایی تهیه شده از آنها با گلبولهای قرمز گروه خونی O انسان مجاور گردید و با افزودن قند مانوز سویه‌های واجد فیمبریه مقاوم به مانوز (MRHA+) مشخص شدند. سپس با استفاده از تعلیق باکتریایی و آنتی سرم اختصاصی ضد فیمبریه F11 خرگوشی، آزمایش ایمونوفلورسانس غیرمستقیم انجام شد و برای انجام روشهای ایمونودات و ایمونوبلاتینگ (وستر بلات) ابتدا عصاره فیمبریه‌های خام از هریک از سویه‌ها تهیه شد و بر روی آنها آزمایشهای مذکور صورت پذیرفت و در نهایت سروتیپ سویه‌هایی که در هریک از آزمایشهای واجد فیمبریه F11 بودند، تعیین شد. بدین ترتیب در روش هماگلوتیناسیون تنها پنج سویه (MRHA+) بودند و در روشهای ایمونوفلورسانس و ایمونودات، شش سویه واجد فیمبریه F11 تشخیص داده شدند. در ایمونوبلاتینگ نیز شش سویه واجد تحت واحد اصلی ۱۸ کیلو دالتونی بودند که با آنتی سرم اختصاصی ضد فیمبریه F11 واکنش نشان دادند. تمامی سویه‌های واجد فیمبریه، متعلق به گروه سرمی O1 بودند.

واژه‌های کلیدی: اشریشیاکلی، کلی باسیلوز، طیور، فیمبریه F11.

کلی باسیلوز طیور یکی از بیماریهای مهمی است که بعد از ایجاد ضایعه در دستگاه تنفسی به وسیله عواملی مانند مایکوپلاسماها و ویروس برونشیت عفونی به صورت ثانوی در طیور بروز می‌کند و با علایمی نظیر بریکاردیت و پری هپاتیت و عفونت کیسه‌های هوایی همراه بوده و باعث مرگ و میر در طیور می‌شود که خسارات اقتصادی فراوانی بر صنعت طیور وارد می‌سازد (۴، ۵، ۱۶).

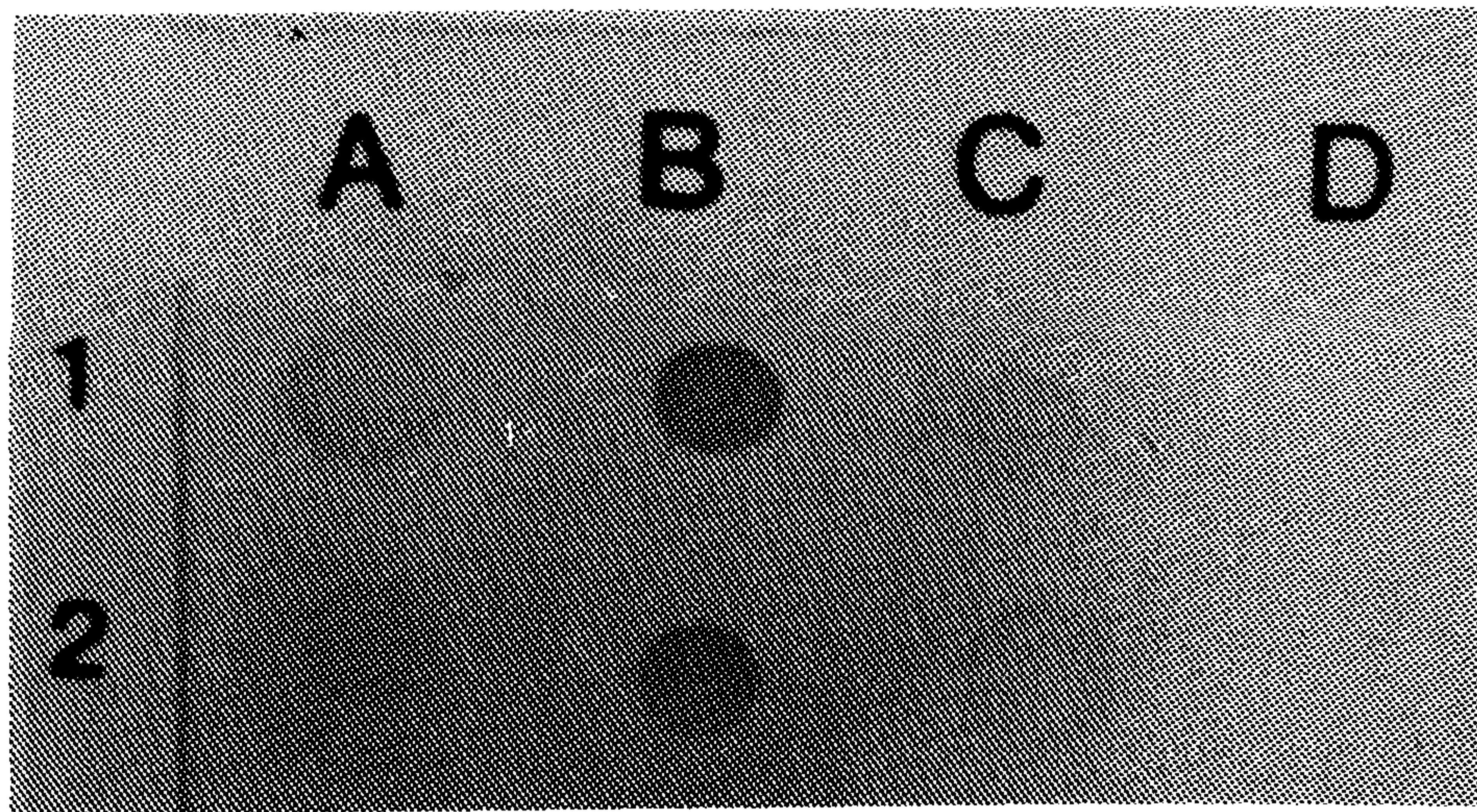
گرچه سروتیپ‌های مختلفی از موارد کلی باسیلوز طیور جدا شده‌است اما متداولترین آنها سروتیپ‌های O1, O2, O78 می‌باشد (۴، ۱۵، ۱۶). عوامل حدت اشریشیاکلی عبارت‌اند از کپسول، سیتوتوکسین‌ها (آلفاهمولیزین، آنتروهمولیزین، وروتوکسین، سیتوتوکسین Vir و عامل نکروز سیتوتوکسیک)، آنتروتوکسین‌ها (حساس و مقاوم به حرارت) و عوامل چسبنده که همگی آنها در بیماریزایی جرم دخالت دارند. با توجه به اینکه در بیماریزایی این باکتری بین حدت و قدرت اتصال جرم به سلولهای اپیتلیال دستگاه تنفسی ارتباط مستقیمی وجود دارد و فیمبریه‌ها (پیلی) به عنوان واسطه در این عمل شرکت دارند لذا فیمبریه‌ها در مستقر شدن و بیماریزایی باکتری نقش مهمی ایفا می‌کنند. مطالعات نشان می‌دهد که واکنشهای تهیه شده از این جزء باعث محافظت طیور در مقابل بیماری کلی باسیلوز می‌گردد (۲، ۶، ۸، ۱۱).

تاکنون در سطح سویه‌های اشریشیاکلی جدا شده از طیور فیمبریه‌های مختلفی شناسایی شده‌است که آنها را می‌توان در دو گروه اصلی فیمبریه حساس به مانوز یا تیپ A و فیمبریه مقاوم به مانوز یا دسته P تقسیم‌بندی نمود. فیمبریه تیپ A به وسیله دسته ژنی fim کد می‌شود که اکثر باکتریهای خانواده

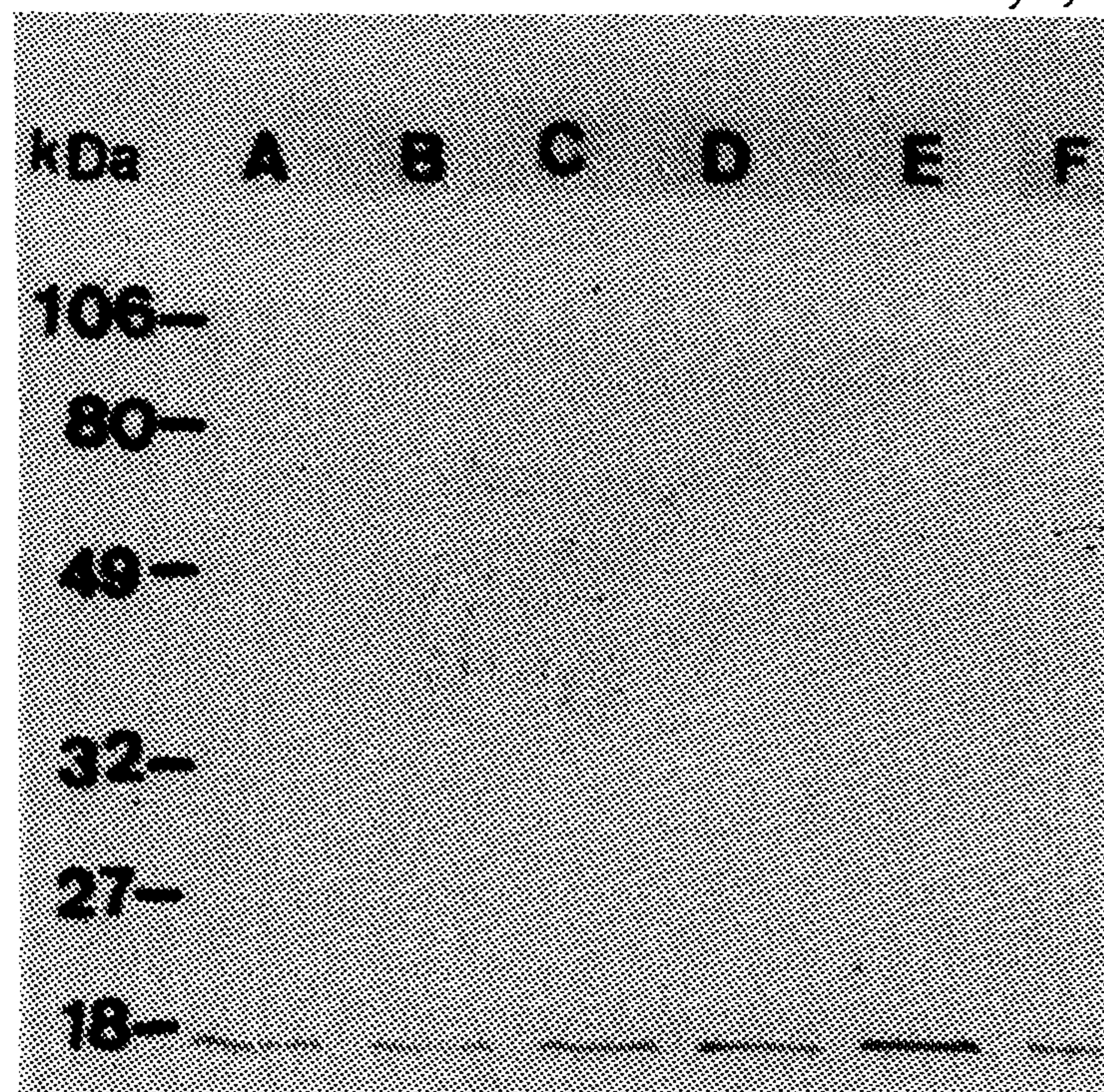




تصویر ۱- نتیجه آزمایش ایمونوفلورسانس غیرمستقیم. توده باکتریایی که آنتی بادیهای درخشان به قسمت پیرامونی باکتریها متصل شده است و پیکر باکتریها درخشان نیست.



تصویر ۲- نتیجه آزمایش ایمونودات. نمونه‌های مورد آزمایش هر شش سویه با آنتی بادی اختصاصی واکنش مثبت نشان داده‌اند که نشان دهنده وجود فیمریه F11 در عصاره خام هریک از نمونه‌هاست.



تصویر ۳- نتیجه آزمایش ایمونوبلاتینگ (وسترن بلات). هریک از شش سویه مورد آزمایش واجد تحت واحد ۱۸ کیلودالتونی هستند که با آنتی بادی اختصاصی واکنش نشان داده‌اند.

قرمز شسته گروه خونی O انسان استفاده شد. در مورد سویه‌هایی که از نظر هماگلوتیناسیون مثبت بودند آزمایشهای تکمیلی با حضور مانوز ۵ درصد انجام شد تا اثر مهارتی مانوز در ممانعت از هماگلوتیناسیون، جهت شناسایی سویه‌های واجد فیمریه مقاوم به مانوز (MRHA+) مشخص شود (۵،۱۳،۱۶).
آزمایش ایمونوفلورسانس غیرمستقیم (IDFAT): این آزمایش طبق روش بیان شده توسط Dozois و همکاران در سال ۱۹۹۵ به انجام رسید. بدین ترتیب که برای تهیه گسترش از تعلیق باکتریایی به دست آمده از آخرین پاساژ استفاده گردید و بعد از تثبیت با حرارت، آنتی سرم خرگوشی ضد فیمریه F11 (تهیه شده در موسسه رازی) با رقت $\frac{1}{50}$ اضافه گردید سپس آنتی بادی کونژوگه (FITC, KPL) با رقت $\frac{1}{100}$ مورد استفاده قرار گرفت و در نهایت گسترش تهیه شده با میکروسکوپ فلورسنت بررسی شد (۵).

آزمایش ایمونوبلاتینگ (وسترن بلات): جهت انجام این آزمایش ابتدا به تغلیظ نسبی فیمریه (تهیه عصاره خام فیمریه‌ای) اقدام گردید که طبق روش بیان شده توسط Korhonen و همکاران در سال ۱۹۸۰ به انجام رسید. بدین ترتیب که ابتدا به تعلیق باکتریایی هریک از سویه‌ها، شوک حرارتی به مدت ۲۰ دقیقه در ۶۵ درجه سانتیگراد داده شده و در مرحله بعدی عمل جداسازی فیمریه از سطح باکتری با استفاده از دستگاه همونیزر (Ominimixer Sorvall) به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۶۰۰۰ دور و درکنار یخ انجام شد. پس از انجام سانتریفوژ به مدت ۳۰ دقیقه (با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در هر دقیقه) پیکر باکتریها رسوب نموده و مایع رویی به عنوان عصاره خام فیمریه‌ای برداشت شد و آزمایش SDS-PAGE روی آن انجام گرفت و بر روی کاغذ نیتروسولوز انتقال داده شد. سپس با آنتی سرم ضد خرگوشی فیمریه F11 و به دنبال آن با آنتی بادی ضد خرگوشی کونژوگه پروکسیدازی (KPL) انکوبه گردید. مراحل مختلف و جزئیات انجام این آزمایش مشابه روش انجام شده توسط پوربخش و همکارش در سال ۱۹۹۴ بوده است (۹ و ۱۳).

آزمایش ایمونودات: عصاره خام فیمریه‌ای بر روی کاغذ نیتروسولوز قرار داده شد و بعد از قراردادن در محلول ۰/۵ درصد آلبومین سرم گاو، ابتدا با آنتی سرم ضد خرگوشی فیمریه F11 و سپس با آنتی بادی ضد خرگوشی کونژوگه پروکسیدازی (KPL) با رقت $\frac{1}{250}$ انکوبه گردید و در نهایت محلول حاوی کلروفتول اضافه گردید (۱۳).

تعیین سروتیپ سویه‌های واجد فیمریه F11: سویه‌هایی اشریشیاکلی که طی آزمایشهای قبلی واجد فیمریه F11 بودند با استفاده از آنتی سرمهای استاندارد پلی والان و منو والان (Mast diagnostics) تعیین سروتیپ شدند. برای این منظور ابتدا سویه‌های مورد نظر در ۱۲۱ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه اتو کلاو شده و آزمایش آگلوتیناسیون روی لام جهت تعیین سروتیپ آنها مطابق روش پیشنهادی کمپانی سازنده انجام گردید.

نتایج

در آزمایش هماگلوتیناسیون بر روی ۳۰۰ سویه جدا شده فقط ۵ سویه، هماگلوتیناسیون مقاوم نسبت به مانوز را نشان دادند اما در آزمایشهای ایمونوفلورسانس، ایمونوبلات و ایمونودات شش سویه واجد فیمریه F11 تشخیص داده شدند. در آزمایش ایمونوفلورسانس تظاهر میکروسکوپی سویه واجد فیمریه F11 نشان می‌دهد که آنتی بادی کونژوگه به سطح خارجی باکتری اتصال یافته است (تصویر ۱ یکی از موارد مثبت را نشان می‌دهد). در آزمایش ایمونودات نیز ۶ سویه واجد فیمریه F11 تشخیص داده شدند. (تصویر ۲ نتیجه این آزمایش را برای تعدادی از سویه‌ها نشان می‌دهد). نتیجه به دست آمده از آزمایش ایمونوبلاتینگ نشان می‌دهد که اگر سویه‌ای امکان ژنتیکی برای نمود فیمریه F11 را داشته باشد و تحت شرایط مناسب کشت داده شود در آن باکتری، جزیی نمود می‌یابد که دارای تحت واحد ۱۸ کیلو دالتونی بوده و با آنتی سرم اختصاصی ضد فیمریه F11 واکنش نشان می‌دهد. (تصویر ۳ نتیجه آزمایش ایمونوبلاتینگ را در مورد ۶ سویه مثبت نشان می‌دهد).



با نتایج پژوهشهای دیگر همخوانی دارد. مقایسه نتایج به دست آمده از مطالعات مختلف نشان می‌دهد که میزان وفور فیمبریه F11 با تفاوت قابل ملاحظه‌ای گزارش شده است که شاید به علت استفاده از تکنیکهای مختلف در این مطالعات باشد.

لذا جهت تعیین میزان حضور فیمبریه F11 در مناطق مختلف و همچنین شناسایی سروتیپهای مختلف واجد این فیمبریه، ادامه مطالعات در این زمینه الزامی می‌باشد.

References

1. Arp, L.H. and Jensen, A.E. Piliation, (1980): Hemagglutination, motility, and generation time of *Escherichia coli*: that are virulent or avirulent for turkeys. *Avian Dis.* 24,1:153-161.
2. Brito, B.G., Silva, L.D., Linhares, R.E.C., Vidotto, M.C., Birto, B.G. and Silva- Letite, A. (1999): Virulence associated factors of uropathogenic *Escherichia coli* strains isolated from pigs. *Veterinary Microbiology.* 65,2:123-132.
3. De Ree, J.M., Schillens, P. and Van den Bosch, J.F. (1985): Molecular cloning of F11 fimbriae from a uropathogenic *Escherichia coli* and characterization of fimbria with polyclonal and monoclonal antibodies. *FEMS Microbiology Lett.* 29:91-97.
4. Dho Moulin, M., Van den Bosch, J.F., Girardeau, J.P., Barata, T. and Lafont, J.P. (1990): Surface antigens from *Escherichia coli* O2 and O78 strains of avian origin. *Infect Immun.* 58,3:740-745.
5. Dozois, C.M., Pourbakhsh, S.A. and Fairbrother, H.M. (1995): Expression of P and type 1 (F1) fimbriae in pathogenic *Escherichia coli* from poultry. *Vet. Microbiology.* 45:297-309.
6. Gyimah, J.E. and Panigrahy, B. (1998): Adhesin-receptor interactions mediating the attachment of pathogenic *Escherichia coli* to chicken tracheal epithelium. *Avian Dis.* 32,1:74-78.
7. Gyles, C. (1991): *Escherichia coli* cytotoxins and enterotoxins. *Canadian Journal of Microbiology.* 38:734-749.
8. Gorasson, M., Forsman, K. and Uhin, B.E. (1988): Function and structural homology among regulatory cistrons of pili-adhesin determination in *Escherichia coli*. *Mol Gen Genet.* 212, 3:412-417.
9. Korhonen, T.K. Nurmiähu, E., Ranta, H. and Svanborg, E.C. (1980): New Method for isolation of immunologically pure pili from *Escherichia coli*. *Infect. Immun.* 27:569-575.
10. Kuhen, M.J., Heuser, J.H., Normak, S. and Hultegren, S.J.P. (1992): Pili in a uropathogenic *E. coli* are composite fibers with distinct fibrillar adhesive tips. *Nature.* 365:252-255.
11. Pourbakhsh, S.A. Boulianne, M., Martineau D.B. and Fairbrother, J.M. (1997): Virulence mechanisms of avian fimbriated *Escherichia coli* in experimentally inoculated chickens. *Vet. microb.* 58,2:195-213.
12. Pourbakhsh, S.A., Dho Moulin, M., Bree, A., Desautels, C.,

نتیجه به دست آمده از سروتایپینگ سویه‌های واجد فیمبریه F11 نشان می‌دهد که تمامی آنها مربوط به گروه سرمی O1 بودند و بدین ترتیب ۱۰۰ درصد موارد مثبت از نظر فیمبریه مذکور، جزء گروه سرمی O1 محسوب می‌شوند.

به طور کلی با توجه به نتایج، هر سه آزمایش (ایمنوفلورسانس، ایمونودات و ایمنوبلاتینگ) از نظر شناسایی سویه‌های مثبت مشابه می‌باشند اما از آنجایی که آزمایش ایمنوبلات بعد از انجام SDS-PAGE صورت گرفته و آنتی سرم اختصاصی ضد فیمبریه F11 فقط با باند ۱۸ کیلو دالتونی منتقل شده به کاغذ نیتروسولوز واکنش نشان می‌دهد لذا نتیجه این آزمایش از ارزش بیشتری برخوردار است ولی از نظر سهولت آزمایشهای ایمنوفلورسانس و ایمونودات ترجیح داده می‌شود.

بحث

گرچه مطالعه در مورد فیمبریه اشیریشیاکلی از سالبان قبل شروع شده است اما جداسازی و تعیین هویت فیمبریه F11 در سویه‌های جدا شده از طیور از سال ۱۹۹۳ مورد توجه قرار گرفته است. در سال ۱۹۸۰ Arp نشان داد که اکثر سویه‌های بیماریزا برای طیور واجد فیمبریه می‌باشند و هماگلوتیناسیون گلوبولهای قرمز بوقلمون با حضور فیمبریه در سطح اشیریشیاکلی در ارتباط است (۱). Yersalmi در سال ۱۹۹۰، وجود فیمبریه (بیلی) با تحت واحد اصلی ۱۸ کیلو دالتونی را در سویه‌های اشیریشیاکلی جدا شده از طیور تأیید نمود (۱۷). Van den Bosch در سال ۱۹۹۳، نشان داد که برخی از سویه‌های جدا شده از طیور وقتی بر روی محیط جامد کشت داده شوند در آنها فیمبریه‌ای نمود می‌یابد که بر اساس خصوصیات سرولوژی، وزن مولکولی و بیوشیمیایی مشابه فیمبریه F11 بوده و با سرم ضد F11 واکنش اختصاصی نشان می‌دهد. وی با استفاده از روش ELISA میزان حضور این فیمبریه را در سطح سویه‌های بیماریزا طیور ۹۶ درصد برآورد نمود که در سروتایپینگ، تمامی سویه‌های واجد فیمبریه F11 متعلق به گروه سرمی O1 بودند گرچه Van den Bosch در گروه‌های سرمی دیگر نیز حضور این فیمبریه را محتمل دانسته است (۱۶). پوربخش در سال ۱۹۹۴ نسبت به تخلیص و تعیین هویت فیمبریه P جدا شده از موارد کلی باسیلوز بوقلمون اقدام نمود نتایج به دست آمده در این مطالعه نشان می‌دهد که فیمبریه مذکور دارای تحت واحد اصلی با وزن ۱۸ کیلو دالتون بوده و در آزمایش ایمنوبلات با سرم ضد فیمبریه F11 واکنش نشان می‌دهد. در مطالعه مذکور نیز تمامی سویه‌های واجد فیمبریه F11، متعلق به گروه سرمی O1 بودند (۱۳).

Dozois و همکاران در سال ۱۹۹۵، پس از جداسازی سویه‌های اشیریشیاکلی از طیور و کشت آنها در محیط کشت جامد، با استفاده از روش هماگلوتیناسیون سویه‌های حساس و مقاوم به مانوز را تعیین نموده و با استفاده از روشهای ایمنوفلورسانس، ایمنوبلاتینگ و ایمونودات نسبت به شناسایی سویه‌های واجد فیمبریه F11 اقدام نمودند. نتایج به دست آمده نشان داد که ۵۰-۳۵ درصد از سویه‌ها واجد فیمبریه F11 بوده و تمامی آنها متعلق به گروه سرمی O1 می‌باشند (۵).

در مطالعه حاضر نتایج به دست آمده در اکثر موارد با نتایج محققان دیگر همخوانی دارد. در این مطالعه نشان داده شد که در آزمایش ایمنوبلاتینگ آنتی سرم اختصاصی ضد فیمبریه F11 با جزء ۱۸ کیلو دالتونی واکنش نشان می‌دهد و سویه‌هایی که در این آزمایش مثبت بودند در آزمایشهای ایمنوفلورسانس و ایمونودات نیز واکنش مثبت نشان دادند ولی در آزمایش هماگلوتیناسیون (در حضور مانوز) فقط ۵ سویه مثبت بود، که شاید بخاطر حساسیت کمتر این آزمایش در مقایسه با سه روش دیگر باشد اما جهت تأیید این نظر باید از تعداد نمونه بیشتری استفاده نمود.

با وجود اینکه در مطالعه Van den Bosch به حضور فیمبریه F11 در سایر گروه‌های سرمی نیز اشاره شده است اما در مطالعه سایر محققین تأیید نشده است. در مطالعه حاضر نیز تمامی موارد مثبت متعلق به گروه سرمی O1 بود که



- Martineau D.B. and Fairbrother, J.M. (1997): Localization of the in vivo expression of P and F1 fimbriae in chickens experimentally inoculated with pathogenic *Escherichia coli*. *Microb. Pathog.* 22.6:331-341.
13. Pourbakhsh, S.A. and Fairbrother, J.M. (1994): Purification and characterization of P fimbriae from and *Escherichia coli* strain isolated from a septicemic turkey. *FEMS Microbiol. Lett.* 122:313-318.
14. Roberts, J.A. (1999): Management of pyelonephritis and upper urinary tract infections. *Urol Clin North Am.* 26.4:753-763.
15. Suwanichkul, A. and Panigrahy, B. (1986): Biological and immunological characterization of *Escherichia coli* serotypes O1, O2 and O78 pathogenic to poultry. *Avian Dis.* 30:781-787.
16. Van den Bosch, J.F., Henriks, J.I.M., Hemmie, M.C., Gladigua, I., Willems, H.M., Storm, P.K. and De Graff, F.K. (1993): Identification of F11 fimbriae on chicken *Escherichia coli* strains. *Infect. Immun.* 61.3:800-806.
17. Yershalmi, Z., Smorodinsky, N.I., Naveh, M.W. and Ron, E.Z. (1990): Adherence pili of avian strains of *Escherichia coli* O78. *Infect. Immun.* 58:1129-1131.

Application of immunofluorescence, immunodot and immunoblotting methods for detection of pathogenic, F11 fimbriated strains of *Escherichia coli* in poultry colibacillosis.

Tajbakhsh, H.¹, Pourbakhsh, S.A.², Ghanbarpour, R.³

¹*Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran-Iran.* ²*Razi Institute, Hesarak, Karaj, Iran.* ³*Department of Microbiology Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar, University of Kerman, Kerman - Iran.* ***J. Fac. Vet. Med. Tehran. Univ.* 56, 4: 9-12, 2001.**

In this study for detection of F11 fimbriae on pathogenic *E. coli* 300 strains isolated from chickens with colisepticemia or colibacillosis were grown and subjected 3-6 consecutive passages on TSA. Bacterial suspension were mixed with human erythrocyte suspension. For testing mannose-resistant hemagglutination (MRHA+) mannose was added to the erythrocyte suspension. Rabbit antifimbrial (F11) serum used to detection of fimbrial antigen on indirect immunofluorescence technique. Crude fimbrial extracts from isolates prepared for immunodot and immunoblotting. Results indicate that five of these strains showed mannose resistant hemagglutination of human erythrocytes when grown at 37°C on TSA. On immunofluorescence and immunodot, six strains reacted with F11 antiserum. On immunoblotting, six strains demonstrated 18-kDa major fimbrial subunit which reacted with specific F11 antiserum. All of the fimbriated strains belong to O1 serogroup

Key words: *Escherichia coli*, Colibacillosis, Poultry, F11 fimbriae.

