مقاله تحقیقی
مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۹۷، دوره ۷۳، شماره ۴، ۵۲۳-۵۱۵
Original Article
DOI: 10.22059/jvr.2017.228134.2594

مقایسه برخی شاخص‌های ژنتیکی جدایه‌های اشریشیا کلی از موارد عفونت ادراری انسان و کلی باسیلوز طیور در شهرستان سمنان، ایران

سمانه جورابلو[۱] حمید استاجی[۲] مریم رسولی[۲]
[۱]دانش آموخته دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه سمنان، سمنان، ایران
[۲]گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه سمنان، سمنان، ایران

(دریافت مقاله: ۳ اردیبهشت ماه ۱۳۹۷، پذیرش نهایی: ۱۵ مرداد ماه ۱۳۹۷)

چکیده

زمینه مطالعه: باکتری اشریشیا کلی گونه پیچیده‌ای است که به طور کلی به دو گروه پاتوتیپ بیماریزای روده‌ای و خارج روده‌ای (ExPEC) تقسیم می‌شود و سویه‌های موجود در گروه بیماریزای خارج روده‌ای بیماری‌های متفاوتی را در میزبان‌های مختلف ایجاد می‌نمایند و ممکن است به علت خصوصیات ژنتیکی مشترک، احتمال انتقال آن‌ها از یک گونه به گونه‌ای دیگر محتمل تر باشد.

هدف: گزارش‌های اخیر در مورد شیوع عفونت‌های ادراری در انسان مشخص نموده این باکتری از منابع دامی به ویژه از طریق مواد غذایی مانند لاشه طیور می‌تواند به انسان منتقل شده، موضعی و تکثیر گردد، لذا هدف از مطالعه حاضر تعیین قرابت ژنتیکی سویه‌های مربوط به این دو میزبان می‌باشد.

روش کار: در مجموع ۲۶۰ جدایه باکتری اشریشیا کلی از موارد عفونت ادراری در انسان (۱۶۰ جدایه) و کلی‌باسیلوز طیور (۱۰۰جدایه) از شهر سمنان جمع‌آوری شدند و گروه‌های فیلوژنی با استفاده از تکنیک Triplex-PCR و همچنین تعیین ژنوتیپ حدت سویه‌های فوق با استفاده از یک تکنیک Tetraplex-PCR اصلاح شده که در آن ژن‌های *sfa/focDE*، *iucD*، *hly* و *papEF* ردیابی شدند، انجام شد.

نتایج: آنالیز نتایج نشان داد که ۷۷ ٪ جدایه‌های مربوط به عفونت ادراری در گروه‌های B۲ و D قرار داشته و در مورد جدایه‌های طیور ۶۶ ٪ آن‌ها متعلق به گروه‌های D و A هستند. آنالیز آماری مشخص نمود که شیوع گروه A در جدایه‌های طیور نسبت به موارد انسانی و شیوع گروه B۲ در جدایه‌های انسانی نسبت به طیور به طور معنی‌داری بیشتر می‌باشد. نتایج تعیین ژنوتیپ حدت و آنالیز آن‌ها در دو میزبان مشخص نمود که ژن *iucD* در جدایه‌های مربوط به طیور نسبت انسان به طور معنی‌داری شیوع بیشتری دارد. همچنین ژن *sfa/focDE* در جدایه‌های انسانی به طور معنی‌داری بیش‌تر از سویه‌های طیور است.

نتیجه گیری نهایی: در مجموع به جز تفاوت‌های معنی‌دار اندکی که مشاهده شد، شباهت‌های ژنتیکی عمده‌ای در جدایه‌های اشریشیا کلی مربوط به عفونت ادراری انسان و کلی‌باسیلوز طیور در منطقه مشاهده شده و احتمالاً این دو میزبان می‌توانند به عنوان مخزن برای یکدیگر مطرح باشند.

واژه‌های کلیدی: اشریشیا کلی، گروه فیلوژنی، ژن‌های حدت، عفونت ادراری در انسان، کلی‌باسیلوز طیور

کپی رایت ©: حق چاپ، نشر و استفاده علمی از این مقاله برای مجله تحقیقات دامپزشکی محفوظ است.

*) نویسنده مسئول: تلفن: ۰۲۳-۳۳۶۵۴۲۱۵، نمابر: ۰۲۳-۳۳۶۵۴۲۱۵ Email: hstaji@semnan.ac.ir

How to Cite This Article
Joorablou, S., Estaji, H., Rassouli, M. (2019). Comparison of Some Genetic Determinants in Escherichia coli Isolates From Human Urinary Tract Infection and Avian Colibacillosis in Semnan, Iran. J Vet Res, 73(4), 515-523. doi: 10.22059/jvr.2017.228134.2594

مقدمه

اشریشیا کلی (*E. coli*) یک باکتری میله‌ای شکل و گرم منفی از خانواده انتروباکتریاسه می‌باشد که بصورت همزیست درون دستگاه گوارش انسان و حیوانات خونگرم زندگی می‌کند و سویه‌های مختلف این گونه از باکتری براساس نوع گونه میزبانی، بافت و ارگانی که مورد حمله قرار می‌دهند در پاتوتیپ‌های مختلفی قرار می‌گیرند (۲۵،۳۱). سویه‌هایی از باکتری *E. coli* را که در مکان‌هایی خارج از دستگاه گوارش ایجاد عفونت و بیماری می‌نمایند تحت عنوان پاتوتیپ بیماریزای خارج روده‌ای (Extraintestinal Pathogenic *E. coli* = ExPEC) نام گذاری نموده و این سویه‌ها بواسطه عوامل حدت خاصی مانند عوامل چسبندگی (فیمبریه‌های نوع P و S)، سیستم‌های دخیل در جذب آهن از محیط، کپسول و توکسین‌هایی از قبیل همولیزین توانایی تهاجم و ایجاد عفونت را در بخش‌هایی خارج از دستگاه گوارش بدست می‌آورند (۲۹). دو نمونه از مهمترین تحت گروه‌های پاتوتیپ ExPEC، سویه‌های بیماریزا در پرندگان (Avian pathogenic *E. coli*; APEC) و سویه‌های ایجاد کننده عفونت ادراری در انسان و دام (UroPathogenic *E. coli*; UPEC) می‌باشند (۱۵). اعضای APEC در طیور صنعتی مسبب ایجاد عفونت کلی باسیلوز بوده و به این طریق سالانه میلیون‌ها دلار ضرر اقتصادی را به صنعت پرورش طیور در دنیا وارد می‌نمایند و همچنین سویه‌های موجود در گروه UPEC باعث ایجاد عفونت در کلیه و مجاری ادراری انسان و برخی حیوانات شده و خسارات تشخیصی و درمانی ناشی از این عفونت فقط در انسان در برخی مناطق مانند ایالات متحده آمریکا مبلغی در حدود ۱/۶-۱ میلیارد دلار برآورد شده است (۱۰،۱۷،۳۰).

در مطالعات مختلفی که در نقاط مختلف دنیا صورت گرفته است مشخص شده است که سویه‌های مربوط به پاتوتیپ‌های APEC و UPEC توانایی تهاجم به بافت‌های خارج روده‌ای و عوامل حدت مورد نیاز برای ایجاد چنین عفونت‌هایی را دارا می‌باشند و همچنین نوع گروه سرمی آنتی ژن پیکری (O) در این دوگروه حالت تشابه و هم پوشانی داشته (۲۷) و از طرفی سایر مطالعات نشان داده‌اند که انتقال سویه‌های *E. coli* و پلاسمیدهای آن‌ها از طیور به انسان گاهی اتفاق افتاده و برخی پلاسمیدهای مربوط به اعضاء APEC در ایجاد عفونت ادراری در برخی پستانداران توسط سویه‌هایی از UPEC دخیل بوده و مشارکت می‌نمایند (۲۲،۳۲،۳۶).

سویه‌های مختلف *E. coli* براساس حضور سه نشانگر ژنتیکی *yjaA*، *chuA* و *C۲.Tspe۴* در چهار گروه فیلوژنتیکی B۱، A، B۲ و D قرار گرفته و جهت تعیین قرابت ژنتیکی جدایه‌های مختلف این باکتری از منابع متفاوت، از تعیین گروه فیلوژنتیکی استفاده می‌شود و مشخص شده است که سویه‌های بیماریزای خارج روده‌ای عمدتاً در گروه‌های B۲ و D قرار می‌گیرند در حالیکه سویه‌هایی که متعلق به گروه‌های A و B۱ هستند بیشتر بصورت همزیست و فرصت طلب در دستگاه گوارشی میزبان و یا محیط اطرافی انتشار داشته و کمتر بیماریزا هستند (۶،۷،۳۳). در جدول ۱ نحوه تعیین گروه و تحت گروه فیلوژنتیکی جدایه‌های اشریشیا کلی بر اساس روش Gordon و همکاران در سال ۲۰۰۸ (۱۳) آمده است.

مدارک مختلفی دال بر اینکه یکی از مهمترین منابع غذایی که می‌تواند به عنوان مخزن ExPEC برای انسان‌ها عمل نماید گوشت طیور بوده و مشخص شده است که در برخی مناطق این منبع غذایی در انتقال و انتشار سویه‌های مقاوم به آنتی بیوتیک‌هایی خاص و قابلیت ایجاد عفونت‌هایی از قبیل عفونت دستگاه ادراری در انسان دخیل بوده و می‌تواند به عنوان یکی از معضلات بهداشتی منطقه مطرح باشد (۱۸،۳۷). لذا هدف از انجام مطالعه حاضر تعیین قرابت فیلوژنتیکی و مقایسه انتشار برخی عوامل حدت در میان سویه‌های اشریشیا کلی جداسازی شده از موارد عفونت‌های ادراری و لاشه طیور مبتلا به کلی باسیلوز در شهر سمنان می‌باشد تا از این طریق نقش احتمالی گوشت طیور را بعنوان مخزن *E. coli* برای انسان‌های منطقه به ویژه در ایجاد عفونت‌های ادراری مشخص نماییم.

مواد و روش کار

جداسازی و تشخیص اشریشیا کلی از نمونه‌های مربوط به انسان و طیور: مطالعه حاضر نوعی مطالعه مقطعی- تحلیلی می‌باشد که به منظور بررسی میزان فراوانی ژن‌های حدت *sfa/focDE*، *papEF*، *hly* و *iucD* در گروه‌های فیلوژنتیک اشریشیا کلی جداسازی شده از موارد عفونت ادراری در انسان و کلی‌باسیلوز طیور صورت گرفته است. جامعه مورد بررسی شامل جدایه‌های اشریشیا کلی مربوط به گروه عفونت ادراری در انسان و گروه لاشه‌های طیور مشکوک به کلی‌باسیلوز می‌باشد. نمونه‌گیری با هماهنگی تعدادی از آزمایشگاه‌های انسانی و دامپزشکی شهرستان سمنان طی مدت زمان یک سال، از آبان ماه ۱۳۹۳ تا آبان ماه ۱۳۹۴ انجام گردید. جهت جداسازی و تشخیص سویه‌های *E. coli* از موارد عفونت ادراری نمونه‌های ادراری، از ۲۴۰ نفر از افراد بیمار و دارای علائمی نظیر سوزش ادرار و تکرر ادرار، در ظروف استریل مخصوص جمع‌آوری ادرار، اخذ شده و سریعا در کنار یخ به آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه سمنان منتقل گردید. به منظور جداسازی *E. coli* از طیور مورد بررسی، تعداد

جدول ۱. نحوه تعیین گروه‌ها و تحت گروه‌های فیلوژنتیکی باکتری اشریشیا کلی بر اساس حضور سه ژن *yjaA*، *chuA* و *C۲.Tspe۴*.

ژن مربوط به گروه و تحت گروه‌فیلوژنتیکی	A_0	A_1	B_1	B_{22}	B_{23}	D_1	D_2
chuA	-	-	-	+	+	+	+
yjaA	-	+	-	+	+	-	-
C۲.TSPE۴	-	-	+	-	+	-	+

جدول ۲. توالی آغازگرهای استفاده شده در مطالعه حاضر جهت تعیین گروه فیلوژنتیک و ردیابی ژن‌های حدت در جدایه‌های اشریشیا کلی مربوط به عفونت ادراری انسان و کلی باسیلوز طیور.

نام آغازگر	توالی آغازگرها (۳←۵)	اندازه محصول (bp)	سویه‌های شاهد مثبت
آغازگرهای مربوط به تعیین گروه فیلوژنتیک			
(رفرانس ۱۳)	*chuA-F*	GACGAACCAACGGTCAGGAT	ECOR۶۲ ۲۷۹
	chuA-R	TGCCGCCAGTACCAAAGACA	
	yjaA-F	TGCCGCCAGTACCAAAGACA	ECOR۶۲ ۲۱۱
	yjaA-R	ATGGAGAATGCGTTCCTCAAC	
	F-TSPE۴C۲	GAGTAAGTTCGGGGCATTCA	ECOR۶۲ ۱۵۲
	R-TSPE۴C۲	CGCGCCAACAAAGTATTACG	
آغازگرهای مربوط به ژن‌های حدت مورد بررسی (رفرانس ۱)			
	sfa/focDE-F	CTCCGCAGAACTGGGTGCATCTTA	(+*sfa/focDE*+; *papEF*) J۹۶ ۴۱۰
	sfa/focDE-R	CGCAGGAGTAATTACAAACCTGGCA	
	papEF-F	GCAACAGCAACGCTGGTTGCATCA	(+*sfa/focDE*+; *papEF*) J۹۶ ۳۳۶
	papEF-R	AGAGAGAGCCACTCTTATACGGACA	
	iucD-F	TACCGGATTGTCATATGCAGACCGT	(+*iucD*) A۳۰ ۶۰۲
	iucD-R	AATATCTTCCTCCAGTCCGGAGAAG	
	hly-F	AACAAGGATAAGCACTGTTCTGGCT	(+۲۸C (*hly* ۱۱۷۷
	hly-R	ACCATATAAGCGGTCATTCCCGTCA	

۱۴۰ نمونه احشایی از لاشه‌های مشکوک به کلی‌باسیلوز طیور در ساعات اولیه پس از مرگ و شرایط دمایی پایین، با رعایت اصول کالبدگشایی و نمونه‌برداری اخذ گردید. در مرحله بعد جداسازی و تشخیص *E. coli* از نمونه‌های اخذ شده بر اساس روش ارائه شده توسط Bonadio و همکاران در سال ۲۰۰۱ و Manges و همکاران در سال ۲۰۰۷ صورت پذیرفت (۵،۱۸) و درنهایت جدایه‌های اشریشیا کلی بصورت سوسپانسیون یکنواخت در محیط آبگوشت مغذی درآمده و با گلیسرین مخلوط شده و تا زمان انجام مراحل بعدی در دمای ۲۰- ذخیره سازی می‌شدند.

استخراج ژنوم از جدایه‌های اشریشیا کلی و انجام آزمون‌های Multiplex-PCR جهت تعیین گروه فیلوژنتیک و شیوع ژن‌های حدت: در این مرحله ابتدا DNA جدایه‌های اشریشیا کلی با استفاده از روش ROSE براساس لیز قلیایی استخراج شده (۲۴) و تعیین گروه فیلوژنتیک جدایه‌ها با استفاده روش Triplex-PCR ارائه شده به واسطه Gordon و همکاران در سال ۲۰۰۸ انجام پذیرفت (۱۳) و پس از تعیین گروه فیلوژنتیک، جدایه‌های *E. coli* جهت تعیین شیوع ژن‌های حدت *sfa/focDE*، *papEF*، *iucD* و *hly* با استفاده از روش Tetraplex-PCR بهینه شده توسط Staji و همکاران در سال ۲۰۱۶ (۳۳) مورد بررسی قرار گرفتند و شیوع ژن‌های مورد نظر در جدایه مورد ارزیابی قرار گرفت. توالی پرایمرهای مورد استفاده در مطالعه حاضر جهت تعیین گروه فیلوژنتیک و ردیابی ژن‌های حدت مورد نظر در جدول ۲ ارائه شده است.

تجزیه و تحلیل آماری نتایج جهت مقایسه میزان شیوع گروه‌های فایلوژنتیک و ژن‌های حدت فوق الذکر به واسطه آزمون‌های مربع کای (Chi Square = X۲) و Fisher's Exact Test با سطح اطمینان ۹۵٪ و میزان معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) توسط نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ انجام پذیرفت.

نتایج

نتایج مربوط به کشت و جداسازی اشریشیا کلی از نمونه‌های ادراری انسان و کلی باسیلوز طیور مشخص نمود که به ترتیب ۱۶۰ جدایه باکتری *E. coli* از ۲۴۰ نمونه ادرار انسان (۶۶٪) با علائم خاص عفونت‌های ادراری و ۱۰۰ جدایه از ۱۴۰ نمونه مربوط به لاشه طیور (۷۱٪) مشکوک به کلی باسیلوز تشخیص داده شده و جداسازی شد.

نتایج مربوط به آزمون PCR جهت تعیین فیلوگروه و فیلوتیپ و همچنین ردیابی ژن‌های حدت ذکر شده در تصویر ۱ ارائه شده است.

براساس نتایج آزمون Triplex-PCR جهت مقایسه گروه‌های فیلوژنی جدایه‌های اشریشیا کلی عفونت ادراری در انسان و کلی‌باسیلوز طیور مشخص گردید جدایه‌های مورد نظر در چهار گروه فیلوژنی انتشار دارند که بیش‌ترین فراوانی در جدایه‌های انسانی مربوط به فیلوگروه B۲ (۴۷٪) و سپس گروه D (۳۰٪) می‌باشد. همچنین در جدایه‌های مربوط به کلی‌باسیلوز طیور، بیش‌ترین فراوانی مربوط به فیلوگروه D (۳۴٪) و سپس گروه A (۳۲٪) می‌باشد (جدول ۳).

آنالیز آماری میزان شیوع جدایه‌ها در گروه‌های فیلوژنی در میان سویه‌های مرتبط با عفونت ادراری و کلی‌باسیلوز طیور مشخص نمود که میزان شیوع سویه‌ها در گروه فیلوژنی A در جدایه‌های اشریشیا کلی مربوط به کلی باسیلوز طیور به طور معنی‌دار بیش‌تر از جدایه‌های اشریشیا کلی

جدول ۳. میزان شیوع گروه‌های فیلوژنتیک، فیلوتیپ‌ها و ژن‌های حدت مورد بررسی در جدایه‌های اشریشیا کلی مربوط به کلی باسیلوز طیور و عفونت ادراری انسان. × اختلاف معنی‌دار (P=۰/۰۰۲) شیوع گروه A بین جدایه‌های مربوط به عفونت ادراری انسان و کلی باسیلوز طیور. # اختلاف معنی‌دار (P=۰/۰۰۹) شیوع گروه B۲ بین جدایه‌های مربوط به عفونت ادراری انسان و کلی باسیلوز طیور. ×× اختلاف معنی‌دار (P=۰/۰۰۶) شیوع گروه A۰ بین جدایه‌های مربوط به عفونت ادراری انسان و کلی باسیلوز طیور. ××× اختلاف معنی‌دار (P=۰) شیوع گروه B۲۳ بین جدایه‌های مربوط به عفونت ادراری انسان و کلی باسیلوز طیور. ## اختلاف معنی‌دار (P=۰) شیوع گروه D۱ بین جدایه‌های مربوط به عفونت ادراری انسان و کلی باسیلوز طیور. β اختلاف معنی‌دار (P=۰) شیوع ژن *iucD* بین جدایه‌های مربوط به عفونت ادراری انسان و کلی باسیلوز طیور. α اختلاف معنی‌دار(P=۰/۰۰۴) شیوع ژن *sfa/focDE* بین جدایه‌های مربوط به عفونت ادراری انسان و کلی باسیلوز طیور.

	گروه فیلوژنی	تعداد سویه‌ها (٪)	فیلوتایپ	تعداد سویه‌ها (٪)	ژن‌های حدت (٪)			
					hly	*iucD*	*Sfa/focDE*	*papEF*
عفونت ادراری	A	۲۵ (۱۵/۶)*	A_0 **	۲ (۱/۲۵)	۰ (۰)	۱۱ (۴/۸۴)	۱ (۰/۴۴)	۱ (۰/۴۴)
			A_1	۲۳ (۱۴/۳۵)				
	B۱	۱۲ (۷/۵)	B_1	۱۲(۷/۵)	۱ (۰/۴۵)	۴ (۱/۷۶)	۶ (۲/۶۴)	۲ (۰/۸۸)
	B۲	۷۵ (۴۶/۹)#	B_{22}	۸ (۵)	۱۶ (۷/۰۵)	۴۴ (۱۹/۳۸)	۳۶ (۱۵/۸۵)	۲۲ (۹/۷)
			B_{23} ***	۶۷ (۴۱/۹)				
	D	۴۸ (۳۰)	D_1 ##	۲۲ (۱۳/۷۵)	۲ (۰/۸۸)	۲۴ (۱۰/۶)	۱۴ (۶/۱۵)	۴ (۱/۷۵)
			D_2	۲۶ (۱۶/۲۵)				
	تعداد کل	۱۶۰ (۱۰۰)	تعداد کل	۱۶۰ (۱۰۰)	۱۹ (۸/۳۸)	۸۳ (۳۶/۵۸)β	۵۷ (۲۵/۰۹)α	۲۹ (۱۲/۷۷)
کلی باسیلوز طیور	A	۳۲ (۳۲)*	A_0 **	۸ (۸)	۱ (۰/۷)	۳۱ (۲۲)	۳ (۲/۱۳)	۵ (۳/۵۴)
			A_1	۲۴ (۲۴)				
	B۱	۳ (۳)	B_1	۳ (۳)	۰ (۰)	۳ (۲/۱۳)	۰ (۰)	۱ (۰/۷۱)
	B۲	۳۱ (۳۱)#	B_{22}	۱۲ (۱۲)	۴ (۲/۸۳)	۲۶ (۱۸/۴۴)	۷ (۴/۹۶)	۸ (۵/۷)
			B_{23} ***	۱۹ (۱۹)				
	D	۳۴ (۳۴)	D_1 ##	۲۰ (۲۰)	۲ (۱/۴۲)	۲۹ (۲۰/۵۳)	۹ (۶/۳۸)	۹ (۶/۳۸)
			D_2	۱۴ (۱۴)				
	تعداد کل	۱۰۰ (۱۰۰)	تعداد کل	۱۰۰ (۱۰۰)	۷ (۴/۹۵)	۸۹ (۶۳/۱)β	۱۹ (۱۳/۴۷)α	۲۳ (۱۶/۳۳)

عفونت ادراری در انسان می‌باشد (P=۰/۰۰۲). همچنین شیوع سویه‌ها در گروه فیلوژنی B۲ در جدایه‌های اشریشیا کلی عفونت ادراری به طور معنی‌دار بیش‌تر از جدایه‌های اشریشیا کلی کلی‌باسیلوز طیور می‌باشد (P=۰/۰۰۹).

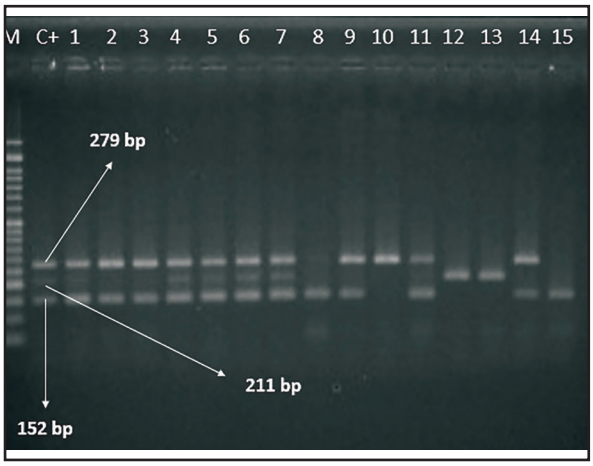
تعیین فیلوتایپ جدایه‌های اشریشیا کلی عفونت ادراری و کلی‌باسیلوز طیور نشان داد که جدایه‌های مورد نظر در هفت تحت گروه فیلوژنی انتشار دارند که بیش‌ترین فراوانی در جدایه‌های انسانی مربوط به تحت گروه B۲۳ (۴۱/۹٪) و سپس تحت گروه D۲ (۱۶/۲۵٪) بوده و در جدایه‌های مربوط به طیور، بیش‌ترین فراوانی مربوط به تحت گروه A۱ (۲۴٪) و سپس تحت گروه B۲۳ (۱۹٪) می‌باشد (جدول ۳). آنالیز آماری نیز مشخص نمود که سویه‌های فیلوتیپ A۰ و D۱ در جدایه‌های اشریشیا کلی طیور به طور معنی‌دار بیش‌تر از جدایه‌های ادراری انسان است (P=۰/۰۰۶) و (P=۰). همچنین مشخص گردید شیوع سویه‌های فیلوتیپ B۲۳ در جدایه‌های اشریشیا کلی عفونت ادراری به طور معنی‌دار بیش‌تر از جدایه‌های کلی‌باسیلوز طیور است (P=۰).

ردیابی ژن‌های *sfa/focDE*، *iucD*، *hly* و *papEF* توسط آزمون Tetraplex-PCR در جدایه‌های اشریشیا کلی عفونت ادراری و کلی‌باسیلوز نشان داد که ژن *iucD*، دارای بیش‌ترین فراوانی در جدایه‌های هر دو میزبان می‌باشد (جدول ۳). آنالیز آماری میزان شیوع ژن‌های حدت مورد نظر در میان دو میزبان نشان داد که میزان شیوع ژن *iucD* درجدایه‌های اشریشیا کلی کلیباسیلوز طیور به طور معنی‌دار بیش‌تر از جدایه‌های اشریشیا کلی عفونت ادراری است (P=۰) و ژن *sfa/focDE* در جدایه‌های مرتبط با عفونت ادراری انسان به طور معنی‌دار بیش‌تر از جدایه‌های اشریشیا کلی کلی‌باسیلوز طیور است (P=۰/۰۰۴).

بررسی فراوانی ژن‌های حدت در گروه‌های فیلوژنی جدایه‌های اشریشیا کلی انسانی و طیور نشان داد ژن *iucD* در چهار گروه فیلوژنی دارای بیش‌ترین فراوانی بوده و در جدایه‌های مربوط به طیور بیش‌ترین توزیع ژن‌ها، درگروه فیلوژنی D و در مورد جدایه‌های انسانی بیش‌ترین توزیع ژن‌ها، درگروه فیلوژنی B۲ می‌باشد (جدول ۳).

بحث

اعضاء پاتوتیپ‌های APEC و UPEC هر دو به عنوان دو زیر گروه بسیار مهم از اشریشیا کلی‌های بیماریزای خارج روده‌ای (ExPEC) مطرح بوده و از اهمیت بهداشتی بسیار بالایی برخوردار هستند و توانایی ایجاد عفونت‌های مشترک بین انسان و دام را نیز دارا هستند که این موارد اهمیت بسیار بالای این باکتری‌ها را نشان می‌دهد (۲۸، ۱۴، ۹، ۸، ۵). در مطالعه حاضر مشخص شد که در ۶۶ ٪ از افراد نشان دهنده علائم بالینی عفونت‌های ادراری مراجعه کننده به آزمایشگاه‌های تشخیص طبی شهر سمنان، *E. coli* مسبب ایجاد عفونت بوده است. همچنین مشخص شد که اشریشیا کلی در ۷۱٪ از موارد در طیور گوشتی ارجاعی به آزمایشگاه‌های



تصویر ۱. نتایج مربوط به آزمون Triplex-PCR جهت تعیین گروه‌های فیلوژنتیک اشریشیا کلی. M: مارکر ۵۰ جفت بازی، C+: شاهد مثبت (سویه حاوی ۳ ژن مورد نظر در مطالعه Staji و همکاران ۲۰۱۶) حاوی هر سه ژن *chuA*، *yjaA* و *C۲.Tspe۴*. شماره‌های ۸-۱ جدایه‌های اشریشیا کلی مورد مطالعه. C-: شاهد منفی (مخلوط واکنش فاقد DNA الگو).

تشخیصی دامپزشکی در سمنان مسبب ایجاد عفونت عمومی و سپتی سمی می‌باشد و این نتایج اهمیت گونه *E. coli* را در ایجاد عفونت‌های فوق الذکر مشخص می‌نماید.

تعیین گروه‌های فیلوژنتیک یکی دیگر از راه‌های دسته بندی یا رده بندی باکتری *E. coli* در میزبان‌های متفاوت می‌باشد و مشخص شده است که سویه‌های ExPEC انسانی عمدتاً در گروه‌های فیلوژنتیک B۲ و D قرار دارند درحالی که سویه‌هایی که در گروه‌های A و B۱ قرار می‌گیرند عموما بصورت همزیست و یا فرصت طلب مطرح بوده و کمتر بیماریزا هستند، گرچه در برخی مطالعات مشخص شده که اعضاء متعلق به همین گروه‌های همزیست ممکن است ژن‌های حدت بسیار مهمی را با خود حمل کرده و به سایر سویه‌ها از طریق انتقال افقی و عمودی منتقل نمایند (۱۳،۳۴). در مطالعه حاضر سویه‌های متعلق به گروه‌های B۲ و D بیشترین فراوانی را در میان جدایه‌های اشریشیا کلی ایجاد کننده عفونت ادراری به خود اختصاص داده‌اند که این امر با مطالعات پیشین توسط دیگر محققان هم خوانی دارد (۱۷) گرچه در مطالعه مشابه دیگری که در منطقه دیگری از ایران صورت گرفته است گروه‌های A و B۱ نیز بعنوان سویه‌های بیماریزای دستگاه ادراری شایع معرفی شده‌اند (۳۳). در این رابطه برخی محققان بیان نموده‌اند که سویه‌های همزیست و بیماریزای داخل روده‌ای نیز می‌توانند به عنوان منشأ عفونت در بافت‌های خارج روده‌ای مانند دستگاه ادراری مطرح باشند و دلیل این امر معمولا عدم رعایت موازین بهداشتی بیان شده است (۴،۲۶). در مورد جدایه‌های طیور نیز در این مطالعه بیشترین شیوع متعلق به گروه‌های B۲ و A می‌باشد. برخی از فاکتورهایی که بر انتشار گروه‌های فیلوژنتیک در میزبان‌ها بسیار مؤثر می‌باشد شامل منطقه جغرافیایی، نوع تغذیه، تجویز آنتی بیوتیک‌ها و سایر عوامل اکولوژیکی می‌باشند (۶). به هرحال مطالعه حاضر نشان داد که سویه‌های گروه B۲ بخش اعظم و مشترکی را در میان جدایه‌های *E. coli* ادراری و کلی باسیلوز طیور به خود اختصاص داده‌اند و این امر اهمیت گوشت طیور را به عنوان مخزن عفونت برای اشریشیا کلی‌های خارج روده‌ای انسان و بویژه عفونت زای ادراری بیش از پیش روشن می‌سازد (۳۷) گرچه نقش و اهمیت سویه‌های متعلق به گروه A نیز در ایجاد عفونت ادراری قبلا روشن شده و اعضای این فیلوگروه جزء بیماریزاهای اصلی در عفونت‌های ادراری انسان معرفی نشده اند، ولی به هر حال به عنوان اجرام بیماریزا در دستگاه ادراری انسان (هرچند با اهمیت کمتر نسبت به گروه‌های B۲ و D) حضور داشته و اهمیت آن‌ها منتفی نمی باشد (۳۳).

بررسی میزان شیوع ژن‌های حدت *papEF*، *iucD*، *hly* و *sfa/focDE* در جدایه‌های اشریشیا کلی مربوط به مطالعه حاضر مشخص نمود که ژن *iucD* بیشترین فراوانی را در سویه‌های *E. coli* مربوط به هر دو میزبان نسبت به سایر عوامل حدت مورد بررسی دارا می‌باشد. این ژن یکی از پنج ژن تشکیل دهنده اپرن بیان کننده سیستم آئروباکتین می‌باشد که در تولید سیدروفورها و جذب آهن از محیط دخیل می‌باشند (۲۳). مطالعات قبلی مشخص نموده‌اند که سویه‌های ExPEC باکتری معمولا حامل این اپرن بوده و بواسطه این اپرن توانایی بقاء و تکثیر شدن در مکان‌هایی با غلظت پایین آهن را بدست می‌آورند (۱۲،۲۳). مقایسه میزان شیوع *iucD* در جدایه‌های عفونت ادراری و طیور نشان دهنده شیوع بیشتر این ژن در جدایه‌های طیور نسبت به جدایه‌های انسانی از لحاظ آماری می‌باشد. با توجه به اینکه یون‌های آهن در بسیاری از فعالیت‌های سلولی مانند احیاء پراکسید، انتقال الکترون و بیوسنتز اسیدهای نوکلئیک دارا می‌باشد، این گونه عنوان شده است که سویه‌های مختلف ExPEC از مکانیسم‌های مختلفی جهت اخذ آهن از محیط استفاده می‌نمایند (۱۱) و بر این اساس می‌توان اینطور استنباط نمود که به هر حال سویه‌های UPEC که فاقد ژن *iucD* می‌باشند از سایر مکانیسم‌ها و امکانات جذب آهن برای مرتفع نمودن نیاز خود بهره می‌گیرند. مقایسه شیوع *iucD* در گروه‌های فیلوژنی در دو میزبان نیز نشان داد که بیشترین شیوع این ژن در جدایه‌های مربوط به طیور در گروه D و در جدایه‌های مربوط به عفونت ادراری در گروه B۲ می‌باشد و با توجه به اینکه گروه‌های فوق در میزبان‌های مذکور بیشترین انتشار را داشته اند، لذا شیوع بیشتر این ژن در این گروه‌ها قابل توجیه می‌باشد.

پس از ژن *iucD* که در جذب آهن دخیل می‌باشد، در مطالعه حاضر شیوع ژن‌های *papEF* و *sfa/focDE* بیشترین میزان شیوع را به خود اختصاص داده‌اند. سویه‌های مربوط به پاتوتیپ ExPEC مانند اعضاء متعلق به پاتوتیپ‌های بیماریزای داخل روده‌ای *E. coli* گروه بسیار نامتجانس و متغیری از لحاظ ژنتیکی بوده و ممکن است از لحاظ توانایی موضعی شدن و تکثیر در بافت‌های خارج از دستگاه گوارشی با یکدیگر متفاوت باشند (۳۸) و عوامل چسبندگی که بیشترین میزان شیوع را در میان سویه‌های ExPEC دارند شامل فیمبریه نوع یک (P، S/F۱C ۱-type، pilli) و عوامل

اتصال‌های خانواده Dr می‌باشند (۲۰). در مطالعه حاضر مشخص شد که حدود ۳۸ ٪ از جدایه‌های مربوط به عفونت ادراری و ۳۰ ٪ جدایه‌های مرتبط به کلی باسیلوز طیور حامل ژن‌های مربوط به آدزین‌های P و S/F۱C می‌باشند و این نتایج نشان دهنده اهمیت این نوع عوامل چسبندگی و سایر انواع عوامل اتصال در این دو نوع عفونت خارج روده‌ای می‌باشد. مقایسه میزان شیوع ژن‌های مرتبط با این دو نوع عامل اتصال در فیلوگروه‌های مختلف نشان داد که بیشترین میزان شیوع در اعضاء گروه‌های B۲ و D می‌باشد که این امر تایید کننده اهمیت بیشتر گروه‌های فوق الذکر در ایجاد عفونت‌های خارج روده‌ای توسط *E. coli* می‌باشد. همچنین مقایسه شیوع ژن‌های مربوطه در میان جدایه‌های انسان و طیور نشان دهنده شیوع بیشتر عامل اتصال نوع S/F۱C در میان جدایه‌های مربوط به عفونت ادراری نسبت به طیور می‌باشد که با مطالعات سایر محققین همخوانی داشته (۱۹،۲۰،۳۳) و اهمیت بیشتر این نوع عامل اتصال را در استقرار و تکثیر شدن در مخاطات دستگاه ادراری انسان نشان می‌دهد. همولیزین یکی از مهمترین توکسین‌های گونه *E. coli* بوده و اپرن رمز کننده این توکسین بر روی یکی از پلاسمیدهای سروتیپ H۷:O۱۵۷ \شریشیا کلی قرار دارد. همچنین اپرن این توکسین در کنار ژن‌های رمز کننده فیمبریه نوع pap در یک جزیره بیماریزایی (Pathogenicity Island) و در محل کروموزوم برخی سویه‌های پاتوتیپ UPEC قرار دارد (۳). همولیزین بصورت یک آنزیم در آسیب سلول‌های میزبان، تسهیل انتشار و بیماریزایی باکتری دخیل بوده و بیان شده است که شیوع این آنزیم بیشتر در میان سویه‌های مهاجم *E. coli* به دستگاه ادراری نسبت به سویه‌های فرصت طلب مشاهده می‌شود (۱۶). بررسی شیوع ژن *hly* در جدایه‌های \شریشیا کلی مربوط به دو میزبان و گروه‌های فیلوژنتیک مشخص نمود که عمدتاً میزان انتشار در گروه‌های B۲ و D قرار داشته و نقش و اهمیت بیشتر اعضاء این دو گروه را در ایجاد عفونت‌های خارج روده‌ای خاطرنشان می‌نماید. همچنین حضور این ژن در جدایه‌های مربوط به سایر گروه‌های فیلوژنتیک و جدایه‌های مربوط به طیور تاییدی بر این امر می‌باشد که ژن‌های حدت در باکتری \شریشیا کلی قادرند بواسطه مکانیسم‌های مختلف انتقال ژن در میان سویه‌های مختلف انتشار یافته و به هرحال اعضاء گروه‌های فیلوژنی غیرمهاجم نیز گاهی حامل ژن‌های برخی عوامل حدت بسیار مهم و بیماریزا باشند (۱،۲،۳۴).

درمطالعات مختلف و بسیار زیادی که تاکنون صورت گرفته است گوشت طیور به عنوان یکی از مخازن اصلی و بسیار مهم سویه‌های ExPEC برای انسان معرفی شده است (۱۷) و نتایج مربوط به برخی مطالعات نشان دهنده حضور ژن‌های حدت دخیل در ایجاد عفونت‌های خارج روده‌ای در پلاسمیدهای قابل انتقال بین پاتوتیپ‌های APEC و UPEC می‌باشند (۲۷)، گرچه بسیاری دیگر از ژن‌های دخیل در حدت بر روی کروموزوم واقع شده‌اند اما به هرحال این ژن‌ها نیز قادرند توسط مکانیسم‌های مختلف انتقال ژن در بین اعضاء یک گونه منتشر و جا به جا شوند (۲۱،۳۵).

نتیجه گیری نهایی: در مطالعه حاضر نیز به جز تفاوت‌های معنی‌دار اندکی که درخصوص شیوع گروه‌های فیلوژنتیک و نوع عامل اتصالی غالب در جدایه‌های مربوط به عفونت ادراری انسان و کلی باسیلوز طیور در منطقه سمنان مشاهده شد، می‌توان این چنین عنوان نمود که همپوشانی‌های عمده‌ای از نقطه نظر فیلوژنی و برخی ژن‌های حدت در میان سویه‌های *E. coli* بیماریزا در این دو میزبان در منطقه حضور دارد و گوشت طیور می‌تواند بعنوان یک مخزن مهم برای انسان مطرح باشد، گرچه هم مخازن این باکتری برای انسان بسیار متنوع می‌باشند و هم نوع عفونت‌های روده‌ای و خارج روده‌ای که باکتری در انسان ایجاد می‌نماید نسبتا زیاد هستند. لذا جهت تعیین دقیق ارتباط بین سویه‌های \شریشیا کلی بیماریزا در میزبان‌های متفاوت در یک منطقه تعیین نوع سروتیپ، ژنوتیپ دقیق و همه جانبه چه از نظر حدت و چه از سایر دیدگاه‌ها نظیر مقاومت دارویی و همچنین تعیین ارتباط و مشاهده شباهت بین الگوهای مقاومت آنتی بیوتیکی در بین سویه‌های مربوط به دو میزبان بسیار راه گشا و تعیین کننده بوده و برای این امر مهم توصیه می‌شوند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان برخود لازم می‌دانند که از مسئولین محترم دانشکده دامپزشکی و معاونت پژوهشی دانشگاه سمنان جهت تسهیل روند انجام پژوهش فوق، مراتب تشکر و قدردانی خود را ابراز نمایند.

تعارض در منافع

بین نویسندگان هیچ گونه تعارض در منافع گزارش نشده است.

References

1. Adib, N., Ghanbarpour, R., Solatzadeh, H., Alizade, H. (2014). Antibiotic resistance profile and virulence genes of uropathogenic *Escherichia coli* isolates in relation to phylogeny. Trop Biomed, 31, 17-25.
2. Agarwal, J., Mishra, B., Srivastava, S., Srivastava, R. (2013). Genotypic characteristics and biofilm formation among *Escherichia coli* isolates from Indian women with acute cystitis. Trans R Soc Trop Med Hyg, 107:183-187.
3. Staji, H., Shahaboddin, E., Kafshdouzan, KH. (2017). Correlation of *Escherichia coli* Strains Isolated from Wild Bird Feces and Human Urinary Tract Infections from Phylogenetic Point of View. Avicenna J Clin Microbiol Infect, 4, 1-7.
4. Bingen, E., Picard, B., Brahimi, N., Mathy, S., Desjardins, P., Elion, J., Denamur, E. (1998).

Phylogenetic analysis of *Escherichia coli* strains causing neonatal meningitis suggests horizontal gene transfer from a predominant pool of highly virulent B2 group strains. J Infec Dis, 177, 642-650.

5. Bonadio, M., Meini, M., Spitaleri, P., Gigli, C. (2001). Current microbiological and clinical aspects of urinary tract infections. Eur Urol, 40, 439-445.
6. Carlos, C., Pires, M. M., Stoppe, N. C., Hachich, E. M., Sato, M. I., Gomes, T. A., Amaral, A. L., Ottoboni, L. M. (2010). *Escherichia coli* phylogenetic group determination and its application in the identification of the major animal source of fecal contamination. BMC microbiol, 10, 161-171.
7. Clermont, O., Bonacorsi, S., Bingen, E. (2000). Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group. Appl Environ Microbiol, 66, 4555-4558.
8. Delanghe, J. R., Kouri, T. T., Huber, A. R., Hannemann-Pohl, K., Guder, W. G., Lun, A., Sinha, P., Stamminger, G., Beier, L. (2000). The role of automated urine particle flow cytometry in clinical practice. Clin Chim Acta, 301, 1-18.
9. Farajnia, S., Alikhani, M. Y., Ghotaslou, R., Naghili, B., Nakhlband, A. (2009). Causative agents and antimicrobial susceptibilities of urinary tract infections in the northwest of Iran. Int Infect Dis, 13, 140-144.
10. Foxman, B. (2002). Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity, and economic costs. Am J Med, 113, 5-13.
11. Gao, Q., Wang, X., Xu, H., Xu, Y., Ling, J., Zhang, D., Gao, S., Liu, X. (2012). Roles of iron acquisition systems in virulence of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: salmochelin and aerobactin contribute more to virulence than heme in a chicken infection model. BMC microbiol, 12, 143-152.
12. Ghanbarpour, R., Oswald, E. (2009). Characteristics and virulence genes of *Escherichia coli* isolated from septicemic calves in southeast of Iran. Trop Anim health Prod, 41, 1091-1098.
13. Gordon, D. M., Clermont, O., Tolley, H., Denamur, E. (2008). Assigning *Escherichia coli* strains to phylogenetic groups: multi-locus sequence typing versus the PCR triplex method. Environ Microbiol, 10, 2484-2496.
14. Hoberman, A., Wald, E. R. (1997). Urinary tract infections in young febrile children. Pediatr Infect Dis, 16, 11-17.
15. 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. J Bacteriol, 189, 3228-3236.
16. Katouli, M., Vollmerhausen, T. (2010). Population structure of gut *Escherichia coli* and its role in development of extra-intestinal infections. Iran J Microbiol, 2, 59-72.
17. Manges, A. (2016). *Escherichia coli* and urinary tract infections: the role of poultry-meat. Clin Microbiol Infect, 22, 122-129.
18. Manges, A. R., Smith, S. P., Lau, B. J., Nuval, C. J., Eisenberg, J. N., Dietrich, P. S., Riley, L. W. (2007). Retail meat consumption and the acquisition of antimicrobial resistant *Escherichia coli* causing urinary tract infections: a case-control study. Foodborne Pathog Dis, 4, 419-431.
19. Mulvey, M. A. (2002). Adhesion and entry of uropathogenic *Escherichia coli*. Cell Microbiol, 4, 257-271.
20. Staji, H., Rassouli, M., Jourablou, S. (2019). Comparative virulotyping and phylogenomics of *Escherichia coli* isolates from urine samples of men and women suffering urinary tract infections. Iran J Basic Med Sci, 22:1-4.
21. Ochman, H., Lawrence, J. G., Groisman, E. A. (2000). Lateral gene transfer and the nature of bacterial innovation. Nature, 405, 299-304.
22. Ojeniyi, A. (1989). Direct transmission of *Escherichia coli* from poultry to humans. Epidemiol Infect, 103, 513-522.
23. Oliveira, F., Paludo, K., Arend, L., Farah, S., Pedrosa, F., Souza, E. M., Surek, M., Picheth, G., Fadel-Picheth, C. M. T. (2011). Virulence char-

acteristics and antimicrobial susceptibility of uropathogenic *Escherichia coli* strains. Genet Mol Res, 10, 4114-4125.

24. Osmundson, T. W., Eyre, C. A., Hayden, K. M., Dhillon, J., Garbelotto, M. M. (2013). Back to basics: an evaluation of NaOH and alternative rapid DNA extraction protocols for DNA barcoding, genotyping, and disease diagnostics from fungal and oomycete samples. Mol Ecol Res, 13, 66-74.
25. Palaniappan, R. U., Zhang, Y., Chiu, D., Torres, A., DebRoy, C., Whittam, T. S., Chang, Y.-F. (2006). Differentiation of *Escherichia coli* pathotypes by oligonucleotide spotted array. J Clin Microbiol, 44, 1495-1501.
26. Pupo, G. M., Karaolis, D., Lan, R., Reeves, P. R. (1997). Evolutionary relationships among pathogenic and nonpathogenic *Escherichia coli* strains inferred from multilocus enzyme electrophoresis and mdh sequence studies. Infect Immun, 65, 2685-2692.
27. 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. Microbiol, 151, 2097-2110.
28. Rodriguez-Siek, K. E., Giddings, C. W., Doetkott, C., Johnson, T. J., Nolan, L. K. (2005). Characterizing the APEC pathotype. Vet Res, 36, 241-256.
29. Russo, T. A., Johnson, J. R. (2000). Proposal for a new inclusive designation for extraintestinal pathogenic isolates of *Escherichia coli*: ExPEC. J Infect Dis, 181, 1753-1754.
30. Russo, T. A., Johnson, J. R. (2003). Medical and economic impact of extraintestinal infections due to *Escherichia coli*: focus on an increasingly important endemic problem. Microbiol Infect, 5, 449-456.
31. Salehi, T. Z., Tonelli, A., Mazza, A., Staji, H., Badagliacca, P., Tamai, I. A., Jamshdi, R., Harel, J., Lelli, R., Masson, L. (2012). Genetic characterization of *Escherichia coli* O157: H7 strains isolated from the one-humped camel (*Camelus dromedarius*) by using microarray DNA technology. Mol Biotech, 51, 283-288.
32. Skyberg, J. A., Johnson, T. J., Johnson, J. R., Clabots, C., Logue, C. M., Nolan, L. K. (2006). Acquisition of avian pathogenic *Escherichia coli* plasmids by a commensal *E. coli* isolate enhances its abilities to kill chicken embryos, grow in human urine, and colonize the murine kidney. Infect Immun, 74, 6287-6292.
33. Staji, H., Khoshgoftar, J., Vayeghan, A. J., Bejestani, M. R. S. (2016). Phylogenetic grouping and assessment of virulence genotypes, with antibiotic resistance patterns, of *Escherichia Coli* strains implicated in female urinary tract infections. Int J Enteric Pathog, 4, 1-8.
34. Staji, H., Tonelli, A., Javaheri-Vayeghan, A., Changizi, E., Salimi-Bejestani, M. R. (2015). Distribution of Shiga toxin genes subtypes in B1 phylotypes of *Escherichia coli* isolated from calves suffering from diarrhea in Tehran suburb using DNA oligonucleotide arrays. Iran J Microbiol, 7, 191-197.
35. Thomas, C. M., Nielsen, K. M. (2005). Mechanisms of, and barriers to, horizontal gene transfer between bacteria. Nat Rev Microbiol, 3, 711-721.
36. Van den Bogaard, A., London, N., Driessen, C., Stobberingh, E. (2001). Antibiotic resistance of faecal *Escherichia coli* in poultry, poultry farmers and poultry slaughterers. J Ant Chem, 47, 763-771.
37. Vincent, C., Boerlin, P., Daignault, D., Dozois, C. M., Dutil, L., Galanakis, C., Reid-Smith, R. J., Tellier, P. P., Tellis, P. A., Ziebell, K., Manges, A. R. (2010). Food reservoir for *Escherichia coli* causing urinary tract infections. Emerg Infect Dis, 16, 88-95.
38. Zhang, L., Foxman, B., Manning, S. D., Tallman, P., Marrs, C. F. (2000). Molecular epidemiologic approaches to urinary tract infection gene discovery in uropathogenic *Escherichia coli*. Infect Immun, 68, 2009-2015.

Journal of Veterinary Research
J. Vet. Res. 73,4: 515-523, 2018
Original Article

Comparison of Some Genetic Determinants in *Escherichia coli* Isolates From Human Urinary Tract Infection and Avian Colibacillosis in Semnan, Iran

Samaneh Joorablou[1], Hamid Staji[2], Maryam Rassouli[2]

[1]*Graduated From the Faculty of Veterinary Medicine, Semnan University, Semnan, Iran*
[2]*Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Semnan University, Semnan, Iran*
(Received 23 April 2018, Accepted 6 August 2018)

Abstract:

BACKGROUND: *Escherichia coli* is a particularly complex species that is grouped into pathotypes of partly zoonotic intestinal pathogenic *E. coli* and extraintestinal pathogenic *E. coli* (ExPEC). Strains belonging to ExPEC are able to cause various clinical signs in hosts and due to similar genetic determinants, these hosts may act as a source of infection for each other.

OBJECTIVES: Recent reports of outbreaks of human urinary tract infections (UTIs) have stimulated interest in the potential that *E. coli* from animals has to cause human UTIs via the food supply especially poultry meat, so we aimed to assess the genetic relationships between strains from these two hosts.

METHODS: A total of 260 *E. coli* isolates were obtained from human UTI's (160 strains) and poultry colibacillosis cases (100 strains) and phylogenetic grouping was done based on the Triplex-PCR method and virulence genotyping was carried out using a modified Tetraplex-PCR detecting *hly*, *iucD*, *papEF* and *sfa*/focDE genes.

RESULTS: Statistical analysis of results demonstrated that prevalence of B2 & D phylogroups in human UTI's (77%) and D & A groups in poultry strains (66%) are higher than others, considerably. Statistical analysis showed that distribution of A phylogroup within poultry isolates versus human and B2 phylogroup within human isolates versus poultry ones were higher, significantly. It was shown that *iucD* is noticeablymore prevalent in poultry strains rather than human isolates,. Also, *sfa*/*focDE* gene was significantly more distributed in human strains than poultry isolates.

CONCLUSIONS: In sum, despite the minor genetic differences between isolates from both hosts, our results showed that there are major genetic similarities in *E. coli* isolates from human UTI and poultry colibacillosis cases in the region and these two hosts can play an important role as infection source for the other one.

Keyword:

Escherichia coli, Phylogenic group, Virulence genes, Human UTI, Poultry colibacillosis.

Figure Legends and Table Captions

Table 1. Identification of *Escherichia coli* Phylogroups and Phylotypes based on the presence of three genetic markers: *chuA*, *yjaA* and *TSPE4.C2*.

Table 2. Primer sequences used in this study for identification of phylogenetic groups and detection of Virulence genes in *E. coli* isolates from urinary tract infections and poultry colibacillosis.

Table 3. Prevalence and distribution of Phylogroups, Phylotypes and detected Virulence genes in *E. coli* isolates from poultry colibacillosis and urinary tract infections.

Figure 1. Triplex-PCR Gel Electrophoresis results for identification of *E. coli* Phylogenetic. M: 50 bp marker, Lane C+: positive control (strain harboring all 3 genes in Staji et al., 2016 study) harboring *chuA*, *yjaA* and *Tspe4.C2*. 1-8: *E. coli* isolates. C-: Negative control (Reaction mixture without DNA template).

***Corresponding author's email: hstaji@semnan.ac.ir, Tel: 023-33654215, Fax: 023-33654215**