مقاله پژوهشی

مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران

سال ۷ – شماره ۴ – زمستان ۱۳۹۲

Journal homepage: www.ijmm.ir

بررسی رابطه فیلوژنی با توزیع ژن های کد کننده فاکتورهای بیماریزا در ایزوله های *اشریشیا کلی* جدا شده از دستگاه تناسلی زنان مراجعه کننده به کلینیک زنان شهرستان زابل به روش Multiplex-PCR

حسینعلی عبدی[۱], احمد راشکی[۲], زهرا راشکی قلعه‌نو[۳] , فاطمه شاه کرمی[۴] ، زهرا شهرکی[۵]

۱. گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه زابل، زابل، ایران.
۲. گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.
۳. گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زابل، زابل، ایران.
۴. بخش ژنتیک، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.
۵. گروه زنان و زایمان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زابل، زابل ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخچه مقاله
دریافت:۱۳۹۲/۰۸/۱۰
پذیرش:۱۳۹۲/۹/۱۲
انتشار آنلاین:۱۳۹۳/۰۳/۱۹
موضوع:
میکروب شناسی مولکلی

IJMM 1392; 7(4): P 9-15

نویسنده مسئول:
احمد راشکی
گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران
تلفن: : ۰۰۹۸۵۴۲۴۲۸۲۲۵۰
پست الکترونیک:
ah_rashki@usal.es

چکیده

زمینه و اهداف: توانایی اتصال به سطوح میزبانی ، وجود گیرنده های سیدروفور و اگزوتوکسین (آلفا همولیزین) جزء اساسی ترین فاکتورهای دخیل در ایجاد بیماری توسط پاتوژنهای میکروبی می باشند. سویه های *اشریشیا کلی* ایجاد کننده عفونت های دستگاه ادراری- تناسلی دارای تعداد زیادی از ژن های کد کننده فاکتورهای بیماریزا می باشند. این مطالعه با هدف تعیین فراوانی ژن های کد کننده فاکتور های بیماریزا در *اشریشیا کلی* مولد عفونت ادراری- تناسلی در زنان مراجعه کننده به کلینیک زنان شهرستان زابل انجام شده است.

مواد و روش کار: در مجموع ۳۸۰ نمونه سواب از ترشحات واژن و اندوسرویکس در طی شش ماه از بهمن ۹۱ تا مرداد ۹۲ جمع آوری شد. با استفاده از روش های بیوشیمیایی استاندارد *اشریشیا کلی* بودن ۱۳۲ نمونه تایید شد. پس از استخراج DNA از نمونه ها به روش جوشاندن ، از DNA برای تعیین حضور و شیوع ژن های کد کننده فاکتورهای بیماریزا از جمله *iroN, iucD, fimH* و *hlyA* استفاده شد. تعیین گروه های فیلوژنی تمام ایزوله ها با استفاده از حضور ژن های *chuA*، *yjaA* و قطعه TspE4.C2 انجام شد.

یافته‌ها: میزان شیوع ژن‌های *hlyA, iroN, iucD, fimH* در بین ۱۳۲ جدایه به ترتیب ۷۱, ۳۷, ۳۱ و ۱۷٪ تعیین گردید. از مجموع جدایه ها ۶۰٪، ۱۹٪، ۷٪ و ۱۴٪ به ترتیب در گروه‌های *B2, D,A,B1* قرار گرفتند که در گروه *B2* بیشترین شیوع ژن‌های بیماری‌زا نسبت به سایر گروها یافت شد.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که *iroN, iucD, fimH* شایع‌ترین ژن‌های بیماری‌زا در *اشریشیا کلی* های جدا شده از عفونت دستگاه تناسلی در شهر زابل می‌باشد. این مسئله می‌تواند اطلاعاتی در رابطه با اهمیت آنها در آسیب‌شناسی عفونت دستگاه ادراری-تناسلی, مدیریت *CVI* و راهکارهای درمانی فراهم آورد.

کلمات کلیدی : عفونت ادراری-تناسلی، *fimH* , *hlyA*، گروه های فیلوژنی، *اشریشیا کلی*

کپی‌رایت ©: حق چاپ، نشر و استفاده علمی از این مقاله برای مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران محفوظ است.

مقدمه

اشریشیا کلی جزء فلور نرمال دستگاه گوارش انسان و حیوانات خونگرم محسوب می‌شود(۱). این باکتری‌ها اگرچه

معمولاً بی‌ضرر می‌باشد، اما چندین سویه از آن‌ها عوامل ژنتیکی (ژن‌های بیماریزا) را به دست آورده‌اند که به آنها خاصیت بیماری‌زایی برای انسان و حیوان می‌بخشد(**۲**).

میکروفلورای واژن معمولاً از ۵-۱۵ گونه مختلف باکتریایی (هوازی و بی‌هوازی) تشکیل‌شده که به‌طور بالقوه می‌توانند سندرم‌های مختلف بالینی ازجمله واژینوز باکتریایی و بیماری‌های التهابی لگن را در زنان ایجاد نماید(**۳**). *اشریشیاکلی* فراوان‌ترین عامل عفونت دستگاه ادراری-تناسلی بوده که در زنان شایع‌تر از مردان می‌باشد. به طوری که تقریباً نیمی از خانم‌ها حداقل یک‌بار عفونت دستگاه تناسلی را در طول عمر خود تجربه کرده‌اند. مطالعات انجام‌گرفته در جوامع مختلف نشان می‌دهد باسیل‌های گرم منفی در ۹ تا ۲۸٪ از عفونت‌های دستگاه تناسلی زنان غیر باردار جداشده که در بین آنها *اشریشیا کلی* بیش از ۸۰٪ موارد عفونت‌های حاد دستگاه ادراری تشکیل می‌دهد(**۴**، **۵**). عامل اصلی عفونت‌های دستگاه ادراری-تناسلی توسط سویه‌های *اشریشیا کلی* یوروپاتوژنیک ایجاد می‌شود که معمولاً عفونت‌های خارج روده‌ای را ایجاد می‌کند(**۶**). بیشتر سویه *اشریشیا کلی* یوروپاتوژنیک در گروهای B2 وD فیلوژنی قرار دارند(**۷**). امروزه تعیین گروه های فیلوژنی در باکتری اشریشیا کلی با استفاده از حضور ژن های chuA (پروتئینی را کد می کند که برای انتقال heme در *اشریشیا کلی* انتروهمورژیک O157:H7 نیاز است.) (**۷-۹**)، yjaA (پروتئینی با عملکرد ناشناخته را کد می کند که ابتدا در ژنوم *اشریشیا کلی* سویه K-12 شناسایی شد.) (**۱۰**) و قطعه TspE4.C2 DNA انجام می شود. (**۷**). توانایی *اشریشیا کلی* یوروپاتوژنیک برای ایجاد عفونت علائم دار دستگاه ادراری-تناسلی به سه نوع عامل بیماری زای، ادهسین ها (مثل فیمبریه نوع I)، وجود رسپتور های سیدروفور سطح سلولی(آئروباکتین) و توکسین ها (مثل همولیزین) بستگی دارد(**۱۱**). این فاکتور های بیماری زا باکتری را قادر می سازد تا عفونت های مختلفی از جمله عفونت داخل آمنیوتیک، عفونت پورپرال، مننژیت، عفونت مجاری ادراری و عفونت های نوزادان را ایجاد کنند. واژینوپاتوژنیک *اشریشیا کلی* (VPEC) تعدادی از فاکتورهای بیماری زا را فعال می نماید که در نتیجه آنها رشدشان رادر سلول های مخاطی دستگاه تناسلی میزبان تسهیل می سازد. اطلاعات کمی در مورد فیلوژنی، نوع و چگونگی عمل فاکتور های بیماری زا در *اشریشیا کلی* جایگزین شده در دستگاه تناسلی زنان وجود دارد. بیماری زایی هریک از این گروه های فیلوژنی(A,B1,B2 and D) همراه با فعالیت فاکتور های بیماری زای متفاوتی همراه است(**۱۲**، **۱۳**). بنابراین با توجه به افزایش روزافزون عفونت های *اشریشیا کلی* و متفاوت بودن فاکتور های دخیل در بیماری زایی در مناطق مختلف دنیا، مطالعه عوامل مرتبط با بیماری زایی در باکتری های جدا شده ضروری به نظر می‌رسد. بررسی حاضر با هدف تعیین میزان فراوانی ژن های بیماری زای کد کننده پروتئین های آلفا همولیزین(*hlyA*)، انتقال دهنده آهن(*iroN*)، آئروباکتین(*iucD*) و ادهسین(*fimH*) درگروه های مختلف فیلوژنی *اشریشیا کلی* جدا شده دستگاه تناسلی زنان مراجعه کننده به کلنیک های خصوصی زنان در شهرستان زابل انجام گرفت.

مواد و روش ها

این مطالعه توصیفی بر روی ۳۸۰ نمونه گرفته شده از ترشحات واژن و اندوسرویکس زنان باردار و غیر باردار مشکوک به عفونت واژینال مراجعه کننده به کلینیک های خصوصی زنان شهرستان زابل در فاصله زمانی بهمن 1391 تا مرداد 1392 انجام پذیرفت. نمونه های جمع آوری شده به آزمایشگاه میکروب شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه زابل منتقل شده و ابتدا روی محیط شکلات آگار در دمای ۳۷ °C به مدت ۱۸-۲۴ ساعت کشت داده شد. کلنی های رشد کرده با ظاهر شبیه *اشریشیا کلی* را روی محیط کشت مکانکی آگار (Liofilchem® srl) انتقال داده و با انجام تست های بیوشیمیایی نظیر سیمون سیترات (Liofilchem® srl) , ایندول, SIM(HIMEDIA) , MR-VP(Liofilchem® srl) تعیین هویت گردید.در نتیجه تست های بیوشیمیایی ، ۱۳۲ ایزوله *اشریشیا کلی* جدا گشت.

استخراج DNA و انجام Multiplex-PCR

ابتدا ایزوله های *اشریشیا کلی* روی محیط براث(TSB (HIMEDIA به مدت ۱۸-۲۴ ساعت در دمای ۳۷ °C گرما گذاری گردید. از باکتری های رشد یافته DNA ژنومیک به روش جوشاندن استخراج گردید (**۱۴**)، بدین صورت که مقداری کلونی از این باکتری برداشته شد و در آب دیونیزه وارد و به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۵ °C جوشانیده شد و پس از سانتریفوژ، محلول رویی به عنوان DNA الگو در ۲۰- درجه سلسیوس به منظور انجام واکنش PCR ذخیره شد. بر اساس توالی ژن مورد نظر یک جفت پرایمر با استفاده از نرم افزار MP primer طراحی گردید (جدول ۱). شناسایی ژن های کد کننده

فاکتور های بیماریزا به روش Multiplex-PCR انجام پذیرفت. بدین منظور ۲ میکرولیتر از DNA استخراج شده با ۱۲/۵ میکرولیتر از Master Mix RED, 2× مخلوط گردید. مستر میکس شامل آنزیم Taq DNApolymerase $MgCl_2$ 1.5Mm و ۴۰۰ میکرومول از هر کدام از dNTP بود. در این بررسی از ۴ جفت پرایمر استفاده گردید. ژن های مورد ارزیابی ، توالی های پرایمر، اندازه محصولات PCR در جدول شماره ۱ ارائه شده است. برنامه Multiplex-PCR به صورت یک سیکل ۹۴ درجه ۵ دقیقه, ۳۰ سیکل ۹۴ درجه ۱ دقیقه, ۵۹ درجه ۵۰ ثانیه, ۷۲ درجه ۷۰ ثانیه و یک سیکل ۷۲ درجه ۶ دقیقه انجام پذیرفت. الکتروفورز محصولات PCR در ژل ۱/۵ درصد آگارز به مدت ۸۰ دقیقه در۸۰ ولت صورت گرفت. رنگ آمیزی ژل با استفاده اتیدیوم بروماید انجام شده و نتایج توسط دستگاه Gel Documentation (UVITEC,Cambridge) مشاهده شد. همچنین از مارکر ۱۰۰bp برای تایید وزن مولکلی محصولات PCR استفاده گردید(شکل ۱).تمام مواد و آنزیم های بکار رفته در واکنش های PCR از شرکت پیشگام خریداری شده است. اطلاعات جمع آوری شده با استفاده از آمار توصیفی و با به کارگیری آزمونهای مجذور کای و تست دقیق فیشر مورد تجزیه و تحلیل قرارگرفتند. در این مطالعه از ایزوله های *اشریشیا کلی* که قبلا توسط تعیین توالی یا برش آنزیمی درستی محصول PCR آنها تایید شده بود به عنوان کنترل مثبت و سویه *اشریشیا کلی DH5a* به عنوان کنترل منفی برای ژن های *hlyA, iroN, iucD, fimH* استفاده شد. بررسی فیلوژنی ایزوله های جمع آوری شده با استفاده از روش ذکر شده در سال ۲۰۰۰ توسط Clermont و همکاران انجام شد (**۷**) (شکل 1A). به طور خلاصه پس از استخراج DNA ژنومی توالی های ژن های مارکر *chuA*, *yjaA* وقطعه TspE4.C2 با استفاده از روش Triple-PCR تکثیر گردید. برنامه Triple-PCR به صورت یک سیکل ۹۴ درجه ۵ دقیقه, ۳۰ سیکل ۹۴ درجه ۳۰ ثانیه, ۵۵ درجه ۳۰ ثانیه, ۷۲ درجه ۳۰ ثانیه و یک سیکل ۷۲ درجه سلسیوس ۷ دقیقه انجام پذیرفت. گروه بندی فیلوژنی بر اساس وجود یا عدم وجود باندهای تکثیری ژن های فوق یه صورت: گروه B2 ($chuA^+$, $yjaA^+$ و$TspE4.C2^{\pm}$) , گروه D ($chuA^+$, $yjaA^-$ و$TspE4.C2^{\pm}$) و گروه B1 ($chuA^-$, $yjaA^{\pm}$ و$TspE4.C2^+$) و گروه A ($chuA^-$, $yjaA^{\pm}$ و$TspE4.C2^-$) انجام گرفت.

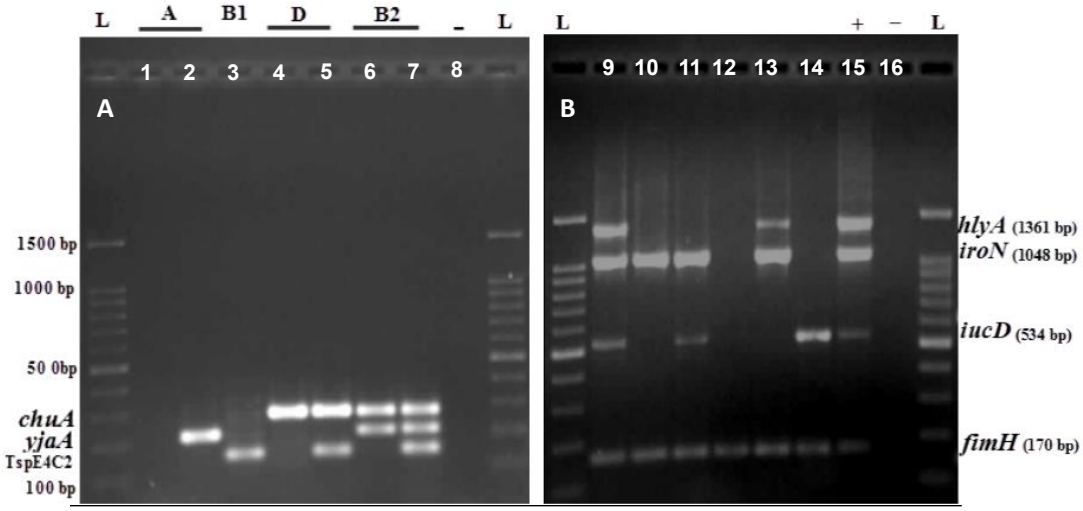
جدول ۱: توالی پرایمر های ژن‌های بیماری‌زای *اشریشیا کلی*

ژن	Accession number	توالی پرایمر (′۵ به ′۳)	اندازه (bp)	رفرنس
hlyA	1039496	F- GTTAGCGGGTGTCACCAGAAAT R- GTGTGATTACCCTGCCGTCTTT	1361	این مطالعه
iroN	1034931	F- CGGTTCCTGGCACGAATATCAT R- TTTTGGGATTTCCCCAACCTGG	1048	این مطالعه
iucD	1039579	F- ATGGCATCACTGCCGATTCTTT R- AGTGAGTTAAAGCAGCAGCCTC	534	این مطالعه
fimH	1037233	F- ATTCCTCACAATCAGCGCACTT R-ATCAGCAGTACAGCAAACAGGG	170	این مطالعه
ChuA	-	F- GACGAACCAACGGTCAGGAT R- TGCCGCCAGTACCAAAGACA	279	(7)
YjaA	-	F- TGAAGTGTCAGGAGACGCTG R- ATGGAGAATGCGTTCCTCAAC	211	(7)
TspE4C2	-	F- GAGTAATGTCGGGGCATTCA R- CGCGCCAACAAAGTATTACG	152	(7)

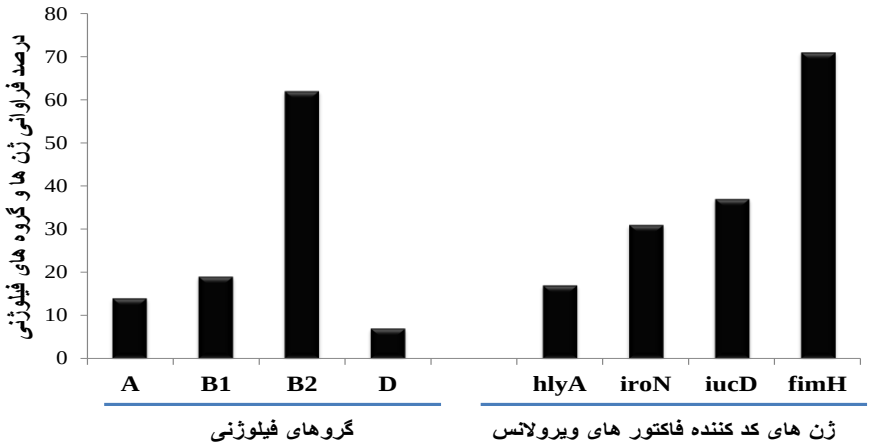
یافته‌ها

پس از تست های بیوشیمیایی بر روی تمامی۳۸۰ سواب کشت داده از نمونه های گرفته شده از ترشحات واژن و اندوسرویکس زنان باردار و غیر باردار مشکوک به عفونت واژینال مراجعه کننده به کلینیک های خصوصی زنان شهرستان زابل, ۱۳۲ ایزوله *اشریشیا کلی* مشخص گردید. سپس با انجام واکنش PCR با روش Multiplex-PCR برروی DNA های استخراج شده از این این نمونه ها, مشخص گردید که از ۱۳۲ ایزوله $fimH^+$, ($icuD^+$ (٪۷۱), (٪۳۷) $iroN^+$(۳۱%) و $hlyA^+$ (٪۱۷) را حاوی بودند (نمودار ۱). به طور جالب توجهی مشخص شد که فقط ٪۲۹ از نمونه های مورد بررسی فاقد هرگونه ادهسین روی سطح خود هستند. در این مطالعه مشخص شد که ژن ها ی کد کننده

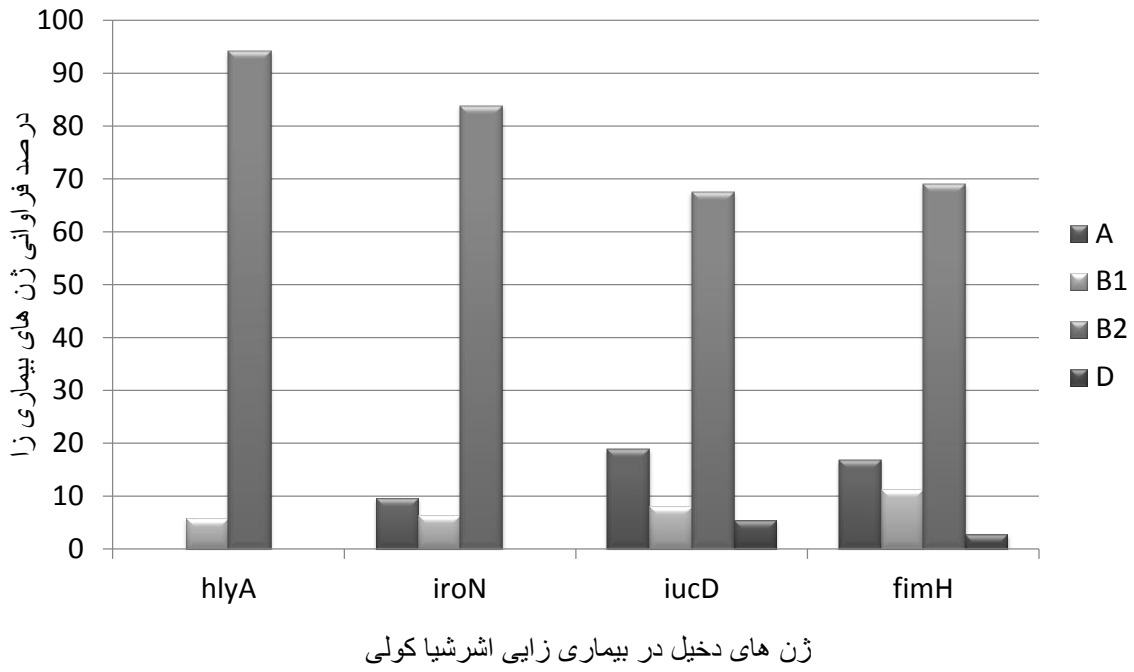
گیرنده های سطح سلولی سیدروفور در ۳۷ و ۳۱ درصد از ایزوله ها وجود دارد. نتیجه این مطالعه نشان داد که در بین سویه های مورد بررسی شیوع ژن fim بیشترین درصد آماری را به خود اختصاص داده است و شیوع ژن های کد کننده سیدروفور (*icuD* و *iroN*) و توکسین(*hlyA*) به ترتیب در رده های بعدی قرار گرفتند(نمودار۱). تعیین فیلوژنی ۱۳۲ ایزوله *اشریشیا کلی* با استفاده از روش Triple-PCR و پرایمر های ذکر شده در جدول ۱ انجام شد. نمودار شماره ۱ نشان داد که از ۱۳۲ ایزوله *اشریشیا کلی* ۶۰٪، ۱۹٪، ۷٪ و ۱۴٪ به ترتیب در گروه های B2, B1, D, B1 قرار گرفتند. مقایسه فراوانی ژن های دخیل در بیماری زایی ایزوله های مورد مطالعه نشان داد که فراوان ترین ژن ها در گروه B2 قرار گرفتند(نمودار۲). بیشترین میزان فراوانی ژن های بیماری زا در گروه B2 به صورت: *fimH* (۶۹/۱٪)، *hlyA* (۹۴/۱۱٪)، *iucD* (۶۷/۵۶٪) و *iroN* (۸۳/۸۷٪) قرار گرفتند (نمودار۲). همچنین نمودار ۲ نشان می دهد که فقط دو ژن *fimH* و *IucD* به ترتیب با فراوانی ۲/۸۱٪ و ۵/۴ ٪ در گروه D مشاهده شده است. گروه های B1 و B2 حاوی چهار ژن بیماریزای مورد بررسی را بودند در حالیکه گروه های A و D به ترتیب ۳ و ۲ ژن را دارا بودند.



شکل ۱: تصویر الکتروفورز ژل آگارز; L مارکر(لادر) ۱۰۰ جفت بازی A چاهک های شماره ۱ تا ۷, ایزوله های مثبت برای ژن های *chuA*,*yjaA* و قطعه TspE4C2 و شماره ۸ کنترل منفی تصویر B چاهک های شماره ۹ تا ۱۴ حضور ژن های کد کننده فاکتور های بیماریزا همراه با اندازه باند های تکثیر شده را نشان می دهد، چاهک ۱۵ و ۱۶ به ترتیب کنترل مثبت و منفی را نشان می دهد



نمودار ۱: نمودار سمت چپ میزان فراوانی ژن‌های بیماری‌زا در باکتری *اشریشیاکلی* جدا شده از عفونت‌های دستگاه ادراری- تناسلی. نمودار سمت راست نمودار میزان فراوانی ژن‌های بیماری زا در باکتری *اشریشیاکلی* و ارتباط آن با گروه های فیلوژنی



نمودار ۲: درصد توزیع ژن های کد کننده فاکتور های بیماریزا در گروه های فیلوژنی ایزوله های اشریشیا کلی را نشان می دهد.

بحث

اشریشیا کلی به عنوان یک عامل ایجاد کننده عفونت دستگاه ادراری-تناسلی در انسان محسوب می شود. در اکثر موارد کلونهای یوروپاتوژنیک در مدفوع وجود دارند و تصور می گردد که توانایی بالقوه برای پاتوژنیک بودن سویه های *اشریشیا کلی* وابسته به حضور فاکتورهای بیماریزا باشد(**۱۴-۱۷**).

دانشمندان بر این باورند که اولین مرحله درایجاد عفونت دستگاه تناسلی، اتصال باکتری به اپیتلیوم واژن یا سرویکس می باشد. در موارد زیادی نشان داده شد که پروتئین های فیمبریه واسطه این اتصال می باشند(**۳, ۱۸, ۱۹**). علاوه بر پروتئین های ادهسین, گیرنده های سیدروفور سطح سلول می تواند در بیماری زایی باکتری *اشریشیا کلی* نقش داشته باشد. این مطالعه برای اولین بار بر روی *اشریشیاکلی* جدا شده از عفونت های سرویکوواژینال بر اساس شایع ترین فاکتور های بیماری زا و نوع گروه فیلوژنی باکتری در ایران و شهر زابل انجام شد. در مطالعه حاضر از روش Multiplex-PCR برای بررسی حضور ژن های بیماریزا و ژن های chuA, وyjaA و TspE4.C2 بکار رفته در مطالعات فیلوژنتیکی ایزوله های *اشریشیاکلی* استفاده شد. Multiplex-PCR یک روش مطالعه ژنوتیپی خیلی اختصاصی است که برای آشکار سازی گروهی از ژن های کد کننده ادهسین و دیگر فاکتورهای بیماریزای با وقت و هزینه کمتر مورد استفاده قرار می گیرد. در این مطالعه دریافت شد که شیوع ژن های بیماریزا فیمبریا, کد کننده رسپتور های سیدروفور , آئروباکتین و همولیزین به ترتیب ۷۱, و۳۷, ۳۱ و ۱۷ درصد می باشد. این یافته ها کمتر از نتایج به دست آمده از مطالعات Elmiah و همکارانش در سال ۲۰۱۳ می باشد. آنها عنوان کردند که شیوع ژن های کد کننده فیمبریه نوع I (fimH), آئروباکتین (iucD) و همولیزین (hylA) به ترتیب در ۱۰۰, ۹۰,۹ و ۷۲,۷ درصد ایزوله های جدا شده مشاهده شده است(**۱۹**). در مطالعه ای که توسط Lan و همکارانش در سال ۲۰۰۷ در دانشگاه میشیگان انجام شد، مشخص گردید که فیمبریه نوع I به مقدار زیادی در طول عفونت دستگاه ادراری بیان می گردد که این بیان می تواند منجر به کاهش حرکت باکتری گردد و این موضوع به عنوان یک عامل مهم در عفونت، بویژه در ۲۴ ساعت از زمان کلونیزاسیون در مثانه، تلقی می گردد(**۱۴**). در مطالعه ای Karimian و همکاران در سال ۲۰۱۲ میزان فراوانی ژن های hlyA، iroN و iuc را به ترتیب در ۵۰,۴٪، ۴۲,۲۷٪ و ۱۰,۵۶٪ از *اشریشیا کلی* جدا شده از عفونت ها مجاری ادراری بیماران مراجعه کننده به بیمارستان بقیه الله گزارش کردند(**۲۱**). همچنین bahalo و همکاران در سال ۲۰۱۳ فراوانی ژن fimH را در ۳۰ درصد *اشریشیا کلی* جدا شده از عفونت های ادراری کودکان مراجعه کننده به آزمایشگاه

های خصوصی شهر کرد گزارش کردند(**۲۱**). نتایج مطالعه حاضر با نتایج بدست آمده از مطالعات Goral و همکاران در سال ۲۰۱۰ مطابقت دارد. آن ها گزارش کردند که ژن های iuc D, و iroN و hlyA به ترتیب در ۴۰, ۵۷ و ۳۳٪ از *اشریشیا کلی* جدا شده از زنان باردار و غیر باردار تکثیر شده است(**۵**). در مطالعه حاضر علاوه بر ژن های بیماری زا بروی فیلوژنی جدایه های *اشریشیا کلی* بر اساس روش ارائه شده توسط Clermont و همکاران در سال ۲۰۰۰ بررسی شد. بر اساس نتایج بدست آمده ۶۰٪, ۱۹٪, ۷٪ و ۱۴٪ به ترتیب در گروه های B1, D,B1,B2 قرار گرفتند. شیوع ژن های کد کننده فیمبریه, سیدروفور و همولیزین بیشتر در گروه B2 دیده شد. مطالعات قبلی نشان داده است که *اشریشیا کلی* های (VPEC) پروفایل بیماریزای, فیلوژنی و سروتیپی مشترکی با *اشریشیا کلی* های جدا شده از عفونت های ادراری و نئونتال در مقایسه با *اشریشیا کلی* های با منشاء مدفوعی دارند (**۳, ۲۳, ۲۴**). دلیل این تفاوت را میتوان به شرایط آناتومیک محیط واژن نسبت داد. بطوریکه گونه هایی که دارای خصوصیات بیماری زایی قوی هستند قادر به جایگزینی و ایجاد بیماری در این محیط می باشند (**۲۵**). شیوع بالای عوامل بیماری زای ادهسین (۶۹,۰۱٪), گیرنده های سیدروفور (۸۳,۸۷٪)، آئروباکتین (۶۷,۵۶٪) و همولیزین(۹۴,۱۱٪) در گروه B2 نشان دهنده پتانسیل بیماری زایی بالای این ایزوله ها به عنوان ایزوله های خارج روده ای می باشد. مطالعات قبلی نشان داد که بیشتر ایزوله های خارج روده ای متعلق به گروه B2 می باشد (**۲۶**). علاوه برآن, یوروپاتوژنتیک *اشریشیا کلی* دارای تعداد زیادی عوامل بیماری زا از جمله; پروتئین های ادهسین (فیمبریه P، فیمبریه نوع I)، توکسین ها (همولیزین، فاکتور نکروز کننده سیتوتوکسیک)، سیدروفورها (سیستم آئروباکتین) و کپسول نوع II می باشند (**۲۷, ۲۸**). همچنین در این تحقیق حضور عوامل بیماریزا مثل توکسین ها، سیستم های جمع کننده آهن و ... نیز همراه با فیمبریه برای اولین بار در عفونت های دستگاه تناسلی زنان باردار و غیر باردار و ارتباط این عوامل با فیلوژنی جدایه ها مورد بررسی قرار گرفت. این مطالعه اهمیت وجود این ژنها را در سویه هایVPEC نشان می دهد. با دانستن نقش مهم و کلیدی این ژنها در بیماریزایی سویه های ایجاد کننده عفونت های دستگاه تناسلی و با وجود هزینه های زیادی که هر ساله برای درمان این نوع عفونت ها بر جامعه و خانواده تحمیل می شود می توان طراحی واکسن علیه این بیماری را پیشنهاد نمود. همچنین نتایج این مطالعه اطلاعات جامع ای در رابطه با اهمیت این ژن ها در آسیب شناسی عفونت دستگاه ادراری-تناسلی, مدیریت CVI و راه کارهای درمانی در اختیار دست اندرکاران بهداشت و درمان قرار می دهد.

تشکر و قدردانی

از حمایت بخش میکروب‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه زابل و دوستانی که ما را در اجرای این تحقیق صمیمانه یاری داده‌اند، نهایت سپاسگزاری را داریم.

References

1. Stunes AK, Westbroek I, Gustafsson BI, Fossmark R, Waarsing JH, Eriksen EF, et al. The peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) alpha agonist fenofibrate maintains bone mass, while the PPAR gamma agonist pioglitazone exaggerates bone loss, in ovariectomized rats. BMC Endocrine Disorders 2011;11:11
2. Bekal S, Brousseau R, Masson L, Prefontaine G, Fairbrother J, Harel J. Rapid identification of Escherichia coli pathotypes by virulence gene detection with DNA microarrays. J Clin Microbiol. 2003 May;41(5):2113-25
3. Obata-Yasuoka M, Ba-Thein W, Tsukamoto T, Yoshikawa H, Hayashi H. Vaginal Escherichia coli share common virulence factor profiles, serotypes and phylogeny with other extraintestinal E. coli. Microbiology. 2002 Sep;148(Pt 9):2745-52. Foxman B. Urinary Tract Infection Syndromes: Occurrence, Recurrence, Bacteriology, Risk Factors, and Disease Burden. Infect Dis Clin North Am. 2000 Mar;28(1):1-13.
4. Guiral E, Bosch J, Vila J, Soto SM. Prevalence of Escherichia coli among samples collected from the genital tract in pregnant and nonpregnant women: relationship with virulence. FEMS Microbiol Lett. 2011 Jan;314(2):170-3.
5. Tarchouna M, Ferjani A, Ben-Selma W, Boukadida J. Distribution of uropathogenic virulence genes in Escherichia coli isolated from patients with urinary tract infection. Int J Infect Dis. 2013 Jun;17(6):e450-3.
6. Clermont O, Bonacorsi S, Bingen E. Rapid and simple determination of the Escherichia coli phylogenetic group. Appl Environ Microbiol. 2000 Oct;66(10):4555-8.
7. Mills M, Payne SM. Genetics and regulation of heme iron transport in Shigella dysenteriae and detection of an analogous system in Escherichia coli O157:H7. J

Bacteriol. 1995 Jun;177(11):3004-9Torres AG, Payne SM. Haem iron-transport system in enterohaemorrhagic Escherichia coli O157:H7. Mol Microbiol. 1997 Feb;23(4):825-33

8. Blattner FR, Plunkett G, 3rd, Bloch CA, Perna NT, Burland V, Riley M, et al. The complete genome sequence of Escherichia coli K-12. Science. 1997 Sep 5;277(5331):1453-62.
9. Graciano MF, Santos LR, Curi R, Carpinelli AR. NAD(P)H oxidase participates in the palmitate-induced superoxide production and insulin secretion by rat pancreatic islets. J Cell Physiol. Apr;226(4):1110-7.
10. Soto SM, Jimenez de Anta MT, Vila J. Quinolones induce partial or total loss of pathogenicity islands in uropathogenic Escherichia coli by SOS-dependent or -independent pathways, respectively. Antimicrob Agents Chemother. 2006 Feb;50(2):649-53. Dang TN, Zhang L, Zollner S, Srinivasan U, Abbas K, Marrs CF, et al. Uropathogenic Escherichia coli are less likely than paired fecal E. coli to have CRISPR loci. Infect Genet Evol. 2013 Oct;19:212-8.
11. Lane MC, Simms AN, Mobley HL. complex interplay between type 1 fimbrial expression and flagellum-mediated motility of uropathogenic Escherichia coli. J Bacteriol. 2007 Aug;189(15):5523-33.
12. Miyazaki J, Ba-Thein W, Kumao T, Obata Yasuoka M, Akaza H, Hayshi H. Type 1, P and S fimbriae, and afimbrial adhesin I are not essential for uropathogenic Escherichia coli to adhere to and invade bladder epithelial cells. FEMS Immunol Med Microbiol. 2002 Mar 25;33(1):23-6.
13. Sakai Y, Fujisawa M, Nakano Y, Miyazaki S, Arakawa S, Kamidono S. Bacterial adherence in a rat bladder augmentation model: ileocystoplasty versus colocystoplasty. J Urol. 2000 Dec;164(6):2104-7.
14. Holoda E, Vu-Khac H, Andraskova S, Chomova Z, Wantrubova A, Krajnak M, et al. PCR assay for detection and differentiation of K88ab(1), K88ab(2), K88ac, and K88ad fimbrial adhesins in E. coli strains isolated from diarrheic piglets. Folia Microbiol (Praha). 2005;50(2):107-12.
15. Snyder JA, Haugen BJ, Lockatell CV, Maroncle N, Hagan EC, Johnson DE, et al. Coordinate expression of fimbriae in uropathogenic Escherichia coli. Infect Immun. 2005 Nov;73(11):7588-96. Sjostrom AE, Balsalobre C, Emody L, Westerlund-Wikstrom B, Hacker J, Uhlin BE. The SfaXII protein from newborn meningitis E. coli is involved in regulation of motility and type 1 fimbriae expression. Microb Pathog. 2009 May;46(5):243-52.
16. Al-Mayahie SM. Vaginal colonization by papG allele II+ Escherichia coli isolates from pregnant and nonpregnant women as predisposing factor to pyelonephritis. Infect Dis Obstet Gynecol.2013:860402.
17. Karimian A, Momtaz H, Madani M. Detection of uropathogenic Escherichia coli virulence factors in patients with urinary tract infections in Iran Afr J Microbiol Res. 2012 Dec;39(68):6811–6. Bahalo S, Tajbakhsh E, Tajbakhsh S, Momeni M, Tajbakhsh F. Detection of Some Virulence Factors of Escherichia coli Isolated from Urinary
18. Tract Infection Isolated of Children in Shahrekord Iran by Multiplex PCR. Middle-East Journal of Scientific Research. 2013;14(1):29-32.
19. Kang ES, Galloway MS, Bean W, Cook GA, Olson G. Acute alterations in the regulation of lipid metabolism after intravascular reexposure to a single bolus of homologous virus during influenza B infection in ferrets: possible model of epiphenomena associated with influenza. Int J Exp Pathol. 1991 Jun;72(3):319-27.
20. Ovalle A, Levancini M. Urinary tract infections in pregnancy. Curr Opin Urol. 2001 Jan;11(1):55-9.
21. Watt S, Lanotte P, Mereghetti L, Moulin-Schouleur M, Picard B, Quentin R. Escherichia coli strains from pregnant women and neonates: intraspecies genetic distribution and prevalence of virulence factors. J Clin Microbiol. 2003 May;41(5):1929-35.
22. Clermont O, Johnson JR, Menard M, Denamur E. Determination of Escherichia coli O types by allele-specific polymerase chain reaction: application to the O types involved in human septicemia. Diagn Microbiol Infect Dis. 2007 Feb;57(2):129-36. Yamamoto S. Molecular epidemiology of uropathogenic Escherichia coli. J Infect Chemother. 2007 Apr;13(2):68-73. PubMed PMID: 17458672.
23. Tiba MR, Yano T, Leite Dda S. Genotypic characterization of virulence factors in Escherichia coli strains from patients with cystitis. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2008 Sep-Oct;50(5):255-60.