Original Article

Iranian Journal of Medical Microbiology

Iran J Med Microbiol: Volume 9, Number 2 (05-2015)

Journal homepage: www.ijmm.ir

Study of relationship between a strain of *E.coli* and colorectal cancer

Fariba Dastjani Farahani[1], Shahla Mohammad Ganji[2], Mojtaba Sohrabi[1]

1. Department of Microbiology ,Qom branch ,Islamic Azad university ,Qom,Iran.
2. National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology (NIGEB), Tehran, Iran.

Article Information

Article history:
Received: 2014/07/19
Accepted: 2015/05/13
Available online:2015/06/10

Article Subject:
Medical Bacteriology

IJMM 1394; 9(2): 26-31

Corresponding author at:

Dr. Shahla Mohammad Ganji

National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology (NIGEB), Tehran, Iran

Email:
shahlamg@yahoo.com

Abstract

Background and Aim: The most important factors of colorectal cancer (CRC), as a multifactorial disease is bacterial infections. The studies showed that a certain type of infection with *E.coli* with PKS positive strain. This strain of bacteria can be promoted colorectal cancer in patients with inflammatory bowel disease (IBD) and ulcerative colitis (UC). In fact, the *E.coli* with PKS gene disrupt the cell cycle by producing the colibactin as secondary metabolites of bacteria, so leads to initiation and progression of colorectal cancer. The aim of this paper is describing the latest achievements regarding molecular study of this matter in the Iranian patients with CRC.

Materials and Methods: 126 colon biopsies were obtained from colorectal cancer patients (60sample) and the healthy individuals (66samples) during Aug_Dec 2013. After Isolating the *E.coli* and extraction of their DNA, duplex-PCR performed for *PKs* Island region.

Results: The frequency of *E.coli* with *Pks* positive strains was 12.2% and 4% in colorectal cancer patient and healthy individuals, respectively.

Conclusions: The results of this study rather than similar studies in European countries showed the lower frequencies for *E. coli* with PKs positive strain in patients with CRC.

Key Words: *Escherichia coli*, Colorectal Neoplasms, colibactin

Copyright © 2015 Iranian Journal of Medical Microbiology. All rights reserved.

How to cite this article:

Dastjani Farahani F, Mohammad Ganji S, Sohrabi M. Study of relationship between a specific strain of E.coli and colorectal cancer. Iran J Med Microbiol. 2015; 9 (2) :26-31

مقاله پژوهشی

مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران

سال ۹ – شماره ۲ – تابستان ۱۳۹۴

Journal homepage: www.ijmm.ir

بررسی ارتباط سویه های باکتری *E.coli* و سرطان کولورکتال

فریبا دستجانی فراهانی[۱]، شهلا محمد گنجی[۲]، مجتبی سهرابی[۱]

۱. دانشگاه ازاد اسلامی، واحد قم، گروه میکروبیولوژی، قم، ایران.

۲. پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران، ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخچه مقاله

دریافت:۱۳۹۳/۰۴/۲۸

پذیرش:۱۳۹۴/۰۲/۲۴

انتشار آنلاین:۱۳۹۴/۰۳/۲۰

موضوع:

باکتری شناسی پزشکی

IJMM 1394; 9(2): 26-31

نویسنده مسئول:

دکتر شهلا محمد گنجی

پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران، ایران.

تلفن: ۰۹۱۲۶۲۱۹۳۲۳

پست الکترونیک:

shahlamg@yahoo.com

چکیده

زمینه و اهداف: یکی از مهم ترین فاکتورهای ایجاد سرطان کولورکتال، عفونتهای باکتریایی است. بررسی ها نشان می دهد عفونت با نوع خاصی از باکتری *E.coli* در افراد مبتلا به بیماری های التهابی روده، بخصوص کولیت اولسراتیو، می تواند باعث شروع سرطان کولورکتال شود. این باکتری‌ها با استفاده از التهاب موجود، شرایط فلور میکروبی روده را برای پاتوژنز خود مهیا می کنند. باکتری با تولید توکسین ترشحی کلی باکتین که بعنوان متابولیت ثانویه باکتری مطرح می باشد، با اختلال در سیکل سلولی باعث شروع، پیشرفت و توسعه سرطان کولورکتال می گردد. لذا هدف این مطالعه بررسی ارتباط سویه های خاصی از باکتری *اشریشیا کلی* و سرطان کولورکتال می باشد.

مواد و روش کار: ۱۲۶ بیوپسی از روده بزرگ مراجعه کنندگان به کلینیک گوارش شامل ۶۰ نمونه از افراد مبتلا به سرطان کولورکتال و ٦٦ نمونه از افراد سالم از نظر بیماری های روده ای و سرطان کولورکتال) گرفته شد. پس از جداسازی باکتری *E.coli* و استخراج DNA تکنیک Duplex-PCR برای دو ژن *clbB* و *clbN* بعنوان مار کر جزایر ژنومی Polyketide synthases (*PKSs*) انجام شد.

یافته‌ها: از میان باکتری های *E.coli* جدا شده از بیوبسی افراد مبتلا به سرطان کولورکتال و گروه شاهد، به ترتیب ۱۲/۲٪ و ٤٪ موارد دارای این دو ژن بودند. در این مطالعه، ارتباط معناداری بین فراوانی باکتری های *E.coli* واجد ژنهای *clbB* و *clbN* و سرطان کولورکتال یافت نشد($p = ۰/۲$).

نتیجه‌گیری: نتایج حاصله بررسی این ژنها که برای اولین بار در جامعه ایرانی انجام شده است، نسبت به نتایج منتشر شده مشابه در کشورهای اروپایی، فراوانی کمتری را نشان می دهد.

کلمات کلیدی : *اشریشیا کلی*، کلی باکتین ،سرطان کولورکتال

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

مقدمه

سرطان کولورکتال سومین سرطان رایج و چهارمین دلیل مرگ و میر در جهان است. شیوع سرطان کولورکتال، بیش از ۹٪ تمام انواع سرطان‌ها است.سرطان کولورکتال در ایران، پس از سرطان-های معده، مثانه و پروستات در مردان، چهارمین سرطان بوده و در زنان بعد از سرطان سینه، دومین سرطان محسوب می‌شود (۱). از نظر فیلوژنی، *E. coli* به چهار گروه A,B1,B2,D تقسیم می شود که هرگروه نقش اکولوژیکی خاصی دارند.کلی باکتین اغلب درسویه های *E. coli* پاتوژن خارج روده ای (extraintestinal) از گروه فیلوژنیک B2 مشخص شده است (۲). این گروه دارای توالی حفاظت شده ای به نام جزایر پلی کتاید سنتاز می باشند. پلی کتایدها دسته ای از متابولیت های ثانویه می باشند که دارای خاصیت های متنوعی از جمله خاصیت های دارویی می باشند. پلی کتاید به همراه پپتید غیرریبوزومی تشکیل هیبرید می دهند و باعث تولید ژنوتوکسین به نام کلی باکتین (Colibactin) می شوند. هر دو نوع باکتری کومنسال و پاتوژن *E.coli*، در روده بزرگ یافت شده است. توکسین

کلی باکتین در باکتری های انتروباکتریاسه دیده شده است ونه تنها در سویه های *E.coli* بلکه در *کلبسیلا پنومونیه* و *انتروباکتر ائروژینز* (*Enterobacter aerogenes*) و *Citrobacter koseri* مشاهده شده است (۳). آنزیم های مورد نیاز جهت سنتز کلی-باکتین توسط محدوده ژنی با اندازه ۵۴kb رمز شده و بیان می-شود و محل این ژن در لوکوس asnW از tRNA واقع شده است. محدوده ژنومی سنتز کننده کلی باکتین از ۳ تا NRPS، ۳ تا PKS، ۲هیبرید NRPS/PKS و ۹ آنزیم کمکی ویرایشی و برش دهنده شامل clbA, clbB, clbC, clbH, clbI, clbJ, clbK, clbN, clbO تشکیل شده است (۴). خواص شیمیایی کلی باکتین به علت وجود سه آنزیم clbP, clbB, clbN است که در سنتز و طویل شدن و شکست folding کلی باکتین نقش دارند. در ابتدا clbN به همراه clbB و NRPS/PKS باعث تولید precolibactin در فضای سیتوپلاسمی باکتری شده و سپس با عبور از کانال ها وارد فضای پری پلاسمیک می شود و در آنجا توسط clbP **به** colibactin تبدیل می شود. کلی باکتین می تواند با عبور از غشای خارجی باکتری ترشح شده و روی سلول های انتروسیت روده میزبان اثر سایتوتوکسیک می گذارد. (۵) کلی باکتین با فعال شدن مسیر سیگنالینگ، باعث آسیب به DNA می شود. بدین ترتیب که ابتدا پروتیئنAtaxia telangiectasia mutated (ATM) را در پاسخ به آسیب DNA فعال می کند و باعث فسفوریله شدن Chk2 و سپس فسفریله شدن Cdc25C می گردد. در انتها نیز Cdk1 (با ایفای نقش در چک پوینت G2 چرخه تقسیم سلولی میتوز)، فسفریله شده و مقادیر زیادی try15 غیرفعال فسفریله از Cdk1 نمایان می شود. همچنین هیستون γH2AX و چرخه سلولی در مرحله G2 متوقف می گردد و این اختلال در سیکل سلولی منجر به ایجاد سرطان کولون می شود (۶). هدف از این مطالعه، جدا سازی و شناسایی یاکتریولوژی و مولکولی سویه های خاصی از باکتری *E.coli* واجد ژن pks از بیوبسی بیماران ایرانی مبتلا به سرطان کولورکتال می باشد.

مواد و روش‌ها

جمع آوری نمونه ها و جداسازی *E.coli*

تعداد ۶۰ نمونه بیوپسی روده بزرگ بیماران مبتلا به سرطان کولون و ۶۶ نمونه بیوبسی طی مدت زمان خرداد ۱۳۹۲ تا آذر ماه ۱۳۹۲ از بافت روده سالم (بیماران به بیمارستان مراجعه کرده، مورد کولونوسکوپی قرار گرفته اند اما نتایج پاتولوژی حاکی از سلامت ایشان از نظر سرطان کولورکتال بوده است.)جهت مقایسه با فلور طبیعی از بیماران مراجعه کننده به کلینیک گوارش بیمارستان های بقیه ا... (عج) و مرکز تومور بانک امام خمینی، درون ویال های استریل بر روی یخ به آزمایشگاه انتقال داده شد. جهت جمع آوری نمونه تازه، پس از هماهنگی با مسئولین بیمارستانهای بالا، فرم های پرسشنامه طرح تحقیقاتی و رضایت نامه توسط بیماران تکمیل و امضا شد. از طرفی این پروژه در مرکز تحقیقات بیمارستان امام خمینی داوری و در کمیته اخلاق پزشکی آن مرکز تصویب شد.

جامعه آماری مورد نظر ما شامل بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال می باشد که به بخش جراحی بیمارستان امام خمینی مراجعه می کنند. پس از تعیین حجم نمونه و هماهنگی با مسئولین مراکز جراحی، اقدام به شناسایی بیماران و اخذ نمونه از آنها می نماییم. حجم نمونه، پس از مشاوره با متخصص آمار و با توجه به عوامل زیر تعیین گردید:

شیوع این بیماری در ایران، مطالعات انجام شده قبلی توسط سایر محققین و نتایج حاصل از این بررسی‌ها، در نظر گرفتن خطاهای نوع اول و دوم و با توجه به فرمول زیر. با توجه به اینکه انتظار داریم در روش پیشنهادی (بررسی سنجش کمی میزان بیان ژن HIF جهت شناسایی مراحل توموری بویژه متاستاز در سرطان کولورکتال) حداقل همبستگی برابر ۳/. داشته باشیم، با اطمینان ۹۵٪ و توان آزمون ۸۰٪، تعداد نمونه برای بررسی با هر دو روش Realtime PCR و ایمونوهیستوشیمی و مقایسه آنها بر اساس فرمول زیر، برابر ۸۵ نمونه خواهد بود.

$$n = \frac{\{Z\left(1-\frac{\alpha}{2}\right) + Z(1-\beta)\}^2}{(C(r))^2} + 3$$

معیار ورود و خروج نمونه ها:

در این مورد لازم است که ابتدا با تنظیم پرسشنامه، اطلاع به بیماران و اخذ رضایت نامه از آنها، قوانین اخلاق زیستی را رعایت نمود.

نمونه هایی که از ادامه مطالعه در این بررسی خارج خواهند شد، نمونه هایی خواهند بود که فاقد شرایط لازم به شرح زیر باشند:

اگر محل اولیه سرطان نامشخص باشد

اگر بیمار علاوه بر کولورکتال ، به نوع دیگری از سرطان مبتلا باشد

اگر از نظر هیستولوژیکی برای تومور، تشخیصی غیر از کولورکتال تایید شود

اگر اطلاعات دقیقی در مورد تاریخچه یا گزارشات پاتولوژی بیماران در دسترس نباشد

در صورتی‌که بیماران با هم نسبت فامیلی داشته باشند و یا سرطان کلورکتال درآنها بصورت ارثی باشد

برای جداسازی باکتری *E.coli* از بافت روده بزرگ بیماران مبتلا محیط های کشت مغذی از جمله محیط LB broth، و افتراقی برای باکتری های خانواده انتروباکتریاسه، EMB Agar و محیط های بیوشیمیایی از جمله: TSI، IMViC، Urea agar و بافر PBS جهت شستشوی اولیه قسمتی از بافت مورد استفاده قرار گرفت. تمامی محیط های کشت از شرکت MERCK خریداری شده بود.

هر نمونه در شرایط استریل و در زیر هود آزمایشگاهی با کمک اسکالپل به دو قسمت تقسیم شد. یک قسمت در درون ارلن حاوی ۵ml محیط LB broth و دیگری در ارلن حاوی ۵ml بافرPBS ریخته شد و بمدت ۲۴ساعت در انکوباتور شیکردار در دمای ۳۷ °C گرماگذاری شد. بعد از ۲۴ ساعت نمونه ها بیرون آورده شد و تعین رقت در محیط های حاوی ۹ml بافر PBS انجام گرفت و سپس براساس پروتکل میکروبی از تمامی رقت ها بر روی محیط افتراقی مک کانکی آگار برده شد بصورتی که هنگامی که محیط به دمای۴۵ °C رسید از محیط حاوی باکتری به میزان ۱ml درون پلیت ریخته و بعد محیط را به آن اضافه کرده و در جهت عقربه های ساعت پلیت چرخانده می شود تا محیط کاملا پخش شود سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ °C گرما گذاری انجام گرفت.

پس از رنگ آمیزی گرام، کشت ۴ مرحله ایی باکتری ها بر روی محیط افتراقی EMB انجام و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ °C گرماگذاری شد تا باکتری *E.coli* ایزوله شود.

بعد از جداسازی و خالص سازی باکتری تست های بیوشیمیایی TSI، IMViC و اوره برای باکتری مورد نظر انجام گرفت و پس از شناسایی به روش بیوشیمیایی یک پلیت کامل حاوی کشت تازه باکتری به درون ۵ml محیط LB broth تلقیح کرده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ °C گرماگذاری شد و سپس۷۵۰µL گلیسرول استریل به فالکون های حاوی باکتری خاص شده اضافه گردید و به درون ویال های استریل انتقال یافت و در فریزر ۲۰ °C- جهت نگهداری ذخیره شد.

استخراج DNA از نمونه ها

پس از تلقیح باکتری ها در۵ml محیط مایع BHI و پس ازگرما گذاری به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷°C استخراج ژن از باکتریها بر اساس دستورالعمل کیت سیناکلون انجام شد.

کیفیت DNA استخراج شده توسط الکتروفورز بر روی ژل آگاروز ۱٪ بررسی شد و کمیت آنها توسط اسپکتروفتومتری در طول موج ها ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر بررسی شد در نهایت DNA استخراج شده از باکتری‌ها در فریزر ۲۰ °C- ذخیره شد.

واکنش ملکولی Duplex PCR

پس از طراحی پرایمر اختصاصی برای ژنهای *clbB* و *clbN* مطابق جدول ۱، آزمایش دوبلکس PCR برای DNAهای استخراج شده از باکتری‌های بیماران انجام شد. تکثیر ژن با حجم نهایی ۲۵µl برای هر مخلوط واکنش بود. مقدار مورد نیاز از هر ماده برای انجام این آزمایش به شرح زیر است طبق جدول ۲ : 12.5 µl Master mix، 9.5 µl Deionized Water ، 1 µl DNA، و 0.5 µl از هر یک از پرایمرهای *clbB* R و *clbB* F و *clbN* R و *clbN* F. master mix از شرکت DreamTaq, Fermentase, Ca. و پرایمرها از شرکت ژن فن آوران تهیه شد. میکروتیوبها در ترموسیکلر Techno, UK و در شرایط دمایی ۹۴°C بمدت ۵ دقیقه، سپس۳۵ سیکل دمایی بصورت ۹۴°C ، ۵۶°C و ۷۲°C و هر یک بمدت ۳۰ ثانیه و در نهایت بمدت ۵ دقیقه در ۷۲°C گذاشته شد. مطابق جدول ۳ پس از انجام آزمایش PCR Duplex، محصولات حاصله بر روی ژل آگاروز ۲٪ بررسی شد.

جدول ۱: توالی پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه

نام پرایمر	توالی('5 به '3)
ClbB F	5'GAT TTG GAT ACT GGC GAT AAC CG3'
ClbB R	5'CCA TTT CCC GTT TGA GCA CAC3'
ClbN F	5'GTT TTG CTC GCC AGA TAG TCA TTC3'
ClbN R	5'CAG TTC GGG TAT GTG TGG AAG G3'

آزمون آماری

در این مطالعه از آزمون های آماری t-Test استفاده شد و در صورتی P-*Value* معنادار درنظر گرفته شد که ($p<0.05$) بود.

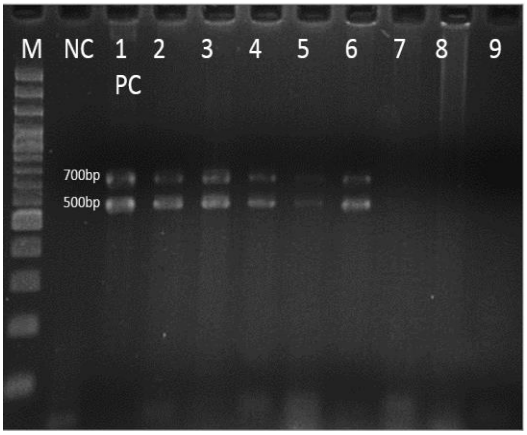
یافته‌ها

نتایج حاکی از آن بود که باکتری ایزوله شده با رنگ آمیزی گرم، بصورت کوکوباسیل های گرم منفی در زیر میکروسکوپ مشاهده شد. سپس باکتری‌ها بوسیله تست های بیوشیمیایی تشخیص داده شد. نتایج نشان داد که باکتریهای *E.coli* از نظر تست های بیوشیمیایی، endol، Motility و MR، TSI مثبت هستند و برای تست های Citrate و Urea منفی می باشند.

نتایج آزمایش Duplex PCR بر روی باکتری های *اشریشیاکلی* ایزوله شده و شناسایی شده بصورت بالا، و پرایمرهای اختصاصی برای ژنهای *clbB* و*clbN* نشان داد که ۴۱ نمونه *اشریشیاکلی* از ۶۰ بیمار مبتلا به سرطان کولورکتال جدا گردید که ۵ باکتری دارای ژن های *clbB* و*clbN* بودند (۱۲/۲٪). در گروه کنترل از ۶۶ نمونه بافت سالم روده بزرگ ۴۷ نمونه *اشریشیاکلی* جدا گردید که ۴ باکتری دارای باند در منطقه مورد نظر ما (۵۰۰-۷۰۰ kb) مشاهده گردید (۸/۵٪).

بحث

ارتباط باکتری ها با سرطان از مدت ها پیش مورد مطالعه بوده است (۷) اما اخیراً افزایش شیوع باکتری *E.coli* در سرطان روده بزرگ و کولون گزارش شده است. (۸) که حضور باکتری های مهاجم در این سرطان احتمالاً می تواند ناشی از نقش آنها در ایجاد بیماری، مشابه با نقش *هلیکوباکتر پیلوری* در سرطان معده باشد. (۹) مطالعه Arlette Darfeuille–Michaud و همکارانش در سال 2004 بر روی بیماری کرون نشان داد که در این بیماری تعداد باکتری *E.coli* در مخاط کولون و ایلئوم افزایش یافته است. بدین صورت که *E.coli* به ناحیه ایلئوم می چسبد و در شرایط in Vivo به سلول های اپی تلیال حمله می کند. در بیماران مبتلا به کولیت اولسراتیو یا بیماری کورن، خطر احتمال ابتلا به سرطان کولورکتال تا ۵ برابر افزایش می یابد. (۱۰) التهاب روده بزرگ موجب استقرار پاتوژن های روده ای مانند *E.coli* می شود. اگر اپی تلیوم، بعنوان اولین لایه دفاعی روده در مقابل آنتی ژن ها و باکتری ها درست کار نکند، احتمال عفونت باکتریایی و التهاب روده افزایش می یابد که در بیماران با التهاب روده مشاهده شده است.



شکل ۱: نتایج آزمایشDuplex PCR برای ژنهای clbB و clbN واقع در محدوده ژنومی PKS برروی ژل آگاروز ۲٪. از چپ به راست: لدر bp۱۰۰, کنترل منفی، چاهک۱ کنترل مثبت، باکتری *E.coli* سویه Nissel که از کاشف این ژن و از دانشگاه Toulouse فرانسه برای این مطالعه هدیه داده شد. چاهکهای ۶-۲ : نمونه های باکتریایی جدا شده از بیماران که واجد ژن منطقه pks بودند، چاهکهای ۹-۷ نمونه های باکتریایی جدا شده از بیماران که فاقد ژن منطقه pks بودند.

مطالعات نشان داده است در تعدادی از بیماری ها مانند IBD روابط همزیستی میزبان و فلور میکروبی شکست می خورد. سابقه بیماری های روده ای مانند IBD، کولیت اولسراتیو و بیماری کرون احتمال ابتلا به سرطان کولورکتال را افزایش می دهد، زیرا در این بیماری ها روده بزرگ به مدت طولانی ملتهب می باشد.در سال ۲۰۰۹، Putze به بررسی وجود توکسین کلی باکتین در خانواده انتروباکتریاسه پرداخت و به این نتیجه مهم رسید که علاوه بر سویه های *E.coli* این ژن با فراوانی بسیار کمتری در *کلبسیلا پنومونیه* و سیترو باکتر و انتروباکتر وجود دارد. (۳) بررسی حاضر برای اولین بار در ایران به منظور جداسازی باکتری *E.coli* حاوی ژن *pks* از ایزوله‌های *اشریشیاکلی* جداسازی شده از بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال و گروه کنترل انجام گرفت. در مطالعه حاضر از روش Duplex-PCR برای بررسی حضور دو ژن *clbB* و*clbN* (تولید کننده کلی باکتین) در ایزوله های *E.coli* استفاده شد و باکتری *E.coli* سویه Nissel که از کاشف این ژن و از دانشگاه Toulouse فرانسه برای این مطالعه هدیه داده شد، بعنوان کنترل مثبت درنظر گرفته شد. مطابق نتایج این مطالعه، از نظر مولکولی از میان باکتریهای *Ecoli* جدا شده از مبتلایان به سرطان

کولورکتال، ۱۲/۲٪ افراد مبتلا برای ژن‌های*clbB* و *clbN* (از ژنهای مهم محدوده ژنومی *PKS* و تولید کننده کلی باکتین) در باکتری *Ecoli* جدا شده مثبت بودند درحالیکه این فراوانی در افراد گروه کنترل تنها ۸/۵٪ بود. بررسی حاضر در راستای مطالعات قبلی شکل گرفت، درسال ۲۰۰۸ توسط Johnson و همکاران ارتباط فیلوژنی و اپیدمیولوژی باکتری *E.coli* حاوی *pks* که کد کننده ژنوتوکسین کلی‌باکتین را بررسی و بیان کرد دو ژن *clbB* و *clbN* با سویه های متعلق به گروه فیلوژنی (B2 Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* (ExPEC ارتباط دارد و ۴۴ تا از ۵۸ سویه برای این ژن مثبت بودند (**۱۱**). از حیث بررسی دو ژن مطالعه حاضر مشابه بوده است اما در مطالعه ایشان تعداد سویه های کمتری حاوی دو ژن *clbB* و *clbN* است. در مطالعه انجام شده توسط jobin و همکاران در سال 2012 و بر روی سویه *E.coli NC101* جدا شده از روده به منظور بررسی ارتباط بین *PKS* island و بیماریهای التهابی روده (syndrome bowel Inflamatory) و سرطان کولورکتال (CRC) مشخص شد در بین ۳۵ نمونه IBD، ۲۱ نمونه CRC و۲۴ نمونه سالم از لحاظ بیماریهای التهابی روده و سرطان کولورکتال، محدوده های ژنومی *PKS* در حدود٪ ۲۰/۸نمونه های کنترل، ۴۰٪ نمونه های IBD و۶۶/۷٪ از نمونه های CRC موجود هستند (**۱۲**). در مقایسه کار انجام شده با کار مورد مطالعه ما تعداد بالای سویه های مثبت در کشورهای اروپایی دیده شده است که می-توان علت آن را ترکیب متفاوت فلور باکتریایی روده در دو جامعه ایرانی و اروپایی و هم چنین شیوع بالای سرطان کولورکتال و بیماری های روده ای در جوامع اروپایی دانست. هدف این پژوهش بررسی وجود سویه‌های *اشریشیاکلی* حاوی ژن *pks* در جامعه ایرانی بود که مشاهد کردیم با فراوانی کمتری در جامعه مورد مطالعه در افراد مبتلا به سرطان کولورکتال وجود دارد و هم چنین در ادامه هدف بعدی ما بررسی ارتباط سویه های *اشریشیاکلی* حاوی ژن *pks* با سرطان کولورکتال بود که با *P* valu =0.2 ارتباط معنی‌داری وجود نداشت که دلایل مختلفی می تواند داشته باشد. یکی اینکه تعداد کم نمونه تهیه شده در صورت افزایش آنها، جواب‌های جامع و کامل بدست خواهد آمد این مطالعه یک برآورد آزمایشگاهی بوده و لذا نتایج بدست آمده در مرحله مقدماتی ارزشمند به نظر می رسد. لازم است در آینده بررسی جامع تری صورت گیرد و هم چنین دسترسی به بیماران در مراحل مختف پیشرفت بیماری امکان پذیر نبود زیرا همان طور که اشاره شد التهاب موجود در روده شرایط را برای استقرار این سویه جدید از *E.coli* مهیا می کند. امید است با ارتباط بهتر مراکز درمانی و بیماران و دانشگاه ها اهداف مطالعاتی به سمت بهبود حال بیماران آینده قدم بگذارد.

تقدیر و تشکر

نویسندگان بر خود لازم می دانند از متخصصین گوارش بیمارستان شهید بهشتی استان قم، آقایان دکتر سرکشیکیان، دکتر محمدرضا قدیر، دکتر پزشکی، دکتر ایرانی خواه و جراح بیمارستان ولیعصر استان قم آقای دکتر علی بزم و از آقای دکتر امینی و همکاران در کلینیک گوارش بیمارستان بقیه ا... (عج) و نیز مسئولان محترم تومور بانک ایران واقع در بیمارستان امام خمینی تهران جهت همکاری ارزشمندشان در تهیه نمونه های بیوبسی از بیماران و افراد نرمال، قدردانی نمایند.

تعارض منافع:

بین نویسندگان و مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران هیچ گونه تعارض منافعی وجود ندارد.

References

1. Moradi A, Khayamzadeh M, Guya MM, Mirzaei HR, Salmanian R, Rakhsha A, et al. Survival of colorectal cancer in Iran. Asian Pac J Cancer Prev. 2009;10(4):583-86

2. Nougayrède J-P, Homburg S, Taieb F, Boury M, Brzuszkiewicz E, Gottschalk G, et al. Escherichia coli induces DNA double-strand breaks in eukaryotic cells. Science. 2006;313(5788):848-51

3. Putze J, Hennequin C, Nougayrède J-P, Zhang W, Homburg S, Karch H, et al. Genetic structure and distribution of the colibactin genomic island among members of the family Enterobacteriaceae. Infection and immunity. 2009;77(11):4696-703

4. Guerra L, Guidi R, Frisan T. Do bacterial genotoxins contribute to chronic inflammation, genomic instability and tumor progression? Febs Journal. 2011;278(23):4577-588

5. Brotherton CA, Balskus EP, editors. Characterization of the prodrug resistance mechanism of colibactin biosynthesis. Abstracts of Papers - American

Chemical Society; 2013: Amer Chemical Soc 1155 16TH ST, NW, Washington, DC 20036 USA.

6. Cuevas-Ramos G ,Petit CR, Marcq I, Boury M, Oswald E, Nougayrède J-P. Escherichia coli induces DNA damage in vivo and triggers genomic instability in mammalian cells. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2010;107(25):11537-542.

7. Nath G, Gulati AK, Shukla VK. Role of bacteria in carcinogenesis, with special reference to carcinoma of the gallbladder. World journal of gastroenterology: WJG. 2010;16(43):5395- 404.

8. Gill SR, Pop M, DeBoy RT, Eckburg PB, Turnbaugh PJ, Samuel BS, et al. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. science. 2006;312(5778):1355-359.

9. Maloy KJ, Powrie F. Intestinal homeostasis and its breakdown in inflammatory bowel disease. Nature. 2011;474(7351):298-306

10. Darfeuille-Michaud A, Boudeau J, Bulois P, Neut C, Glasser A-L ,Barnich N, et al. High prevalence of adherent-invasive *Escherichia coli* associated with ileal mucosa in Crohn's disease. Gastroenterology. 2004;127(2):412-21.

11. Johnson JR, Russo TA. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*:"The other bad E coli". Journal of Laboratory and Clinical Medicine. 2002;139(3):155-62.

12. Arthur JC, Perez-Chanona E, Mühlbauer M, Tomkovich S, Uronis JM, Fan T-J, et al. Intestinal inflammation targets cancer-inducing activity of the microbiota. Science .2012;338(610:):120-23.