NCMBJ
Research article

New Cell Mol Biotech
j.10/39 , 2020

Scan online to view this article

The phylogeny of *Escherichia coli* isolates involved in Colibacillosis and cellucitis in broiler chickens in shahrebabak by Multiplex PCR Technique

Akbar Asadi*[1], Taghi Zahraei Salehi[2], Reza Ghanbarpour[3] ،navid asadi[4]

1. ShahrBabak Branch Islamic Azad University, Shahrebabak, Iran
2. Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
3. Department of Microbiology and Immunology ،Faculty of Veterinary Medicine ،Shahid Bahonar ،Kerman ،Iran
4. Veterinary student of Bahonar university,kerman,Iran.

Abstract

Aim and Background: *Escherichia coli* infections in poultry have a word wide spread. Serotypies O_1, O_2, O_8, O_{35}, O_{78} *Escherichia coli* is involved in the development of generalized colibacillosis disease. Genes such as F17, Sfa, pap, afa, , fimH , crl , iuc, bla, yja, chu, are considered as an *Escherichia coli* acuity factoro. the aim of the present study were Phylogentic of *Escherichia coli* isolates involved in Colibacillosis and cellucitis in broiler chickens in shahrebabak(Kerman Province) by Multiplex PCR Technique

Material and methods: From 117 samples of *Escherichia coli* (83 colibacillosis samples and 34 cellulitis samples) were isolated. These samples were examined and confirmed by biochemical methods.

Results: *Colibacillosis* isolates were belonged to A (54.27%), B1 (7.22%), B2 (6.03%) and D (32.53%) phylogroups. Where as, the isolates from cellulitis cases were belonged to three main phylogroups; A (55.88%), B1 (5.88%) and D (38.24%).

Conclusion: Statistical analysis showed a specific association between the presence of crl virulence gene and Phylogrups of A and D ($P<0.05$) in *colibacillosis* isolates.
The results showed that the isolates from both diseases in broiler chickens could be assigned to various phylogenetic groups (mainly A). Also, the virulence genes profile of cellulitis *E.coli* is completely different from that of *colibacillosis* in this region..

Key words: *Escherichia coli, colibacillosis*, phylogenetic group, cellulitis, virulence genes.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.39.2.9]

Corresponding author:
ShahrBabak Branch Islamic Azad University, Shahrebabak, Iran
Email: Dr.asadi44@yahoo.com

مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی مولکولی
دوره ۱۰ - شماره -۳۹ تابستان ۱۳۹۹
مقاله پژوهشی

برای مشاهده این مقاله به صورت آنلاین اسکن کنید

فیلوژنی جدایه‌های *اشریشیاکلی* مؤثر در موارد کلی‌باسیلوز و سلولیت طیور گوشتی درشهربابک به‌روش Multiplex PCR

اکبر اسدی*[۱]، تقی زهرایی صالحی [۲]،رضا قنبرپور[۳] ،نوید اسدی[۴]

۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهربابک، ایران
۲- گروه میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران،ایران
۳- گروه میکروبیولوژی و ایمنی‌شناسی دانشکده دامپزشکی شهید باهنر ،کرمان،ایران
۴- گروه دامپزشکی دانشگاه شهید باهنر ،کرمان،ایران

چکیده

سابقه و هدف: عفونت‌های ناشی از *اشریشیاکلی* در طیور انتشار جهانی دارد. سروتیپ‌های O_1، O_2، O_8، O_{35} و O_{78}، *اشریشیاکلی* در ایجاد بیماری کلی‌باسیلوز نقش دارند. ژن‌هایی مانند F_{17}، *SFa*، *pap*، *aFa*، *fimH*، *CrL*، *iuc*، *bla*، *yja* و *chu* به‌عنوان فاکتور حدت *اشریشیا* به‌شمار می‌روند. هدف از مطالعه حاضر تعیین فیلوژنی جدایه‌های *اشریشیاکلی* دخیل در موارد کلی‌باسیلوز و سلولیت طیور گوشتی در شهربابک (استان کرمان) به‌روش Multiplex PCR بود.

مواد و روش‌ها: از ۱۱۷ نمونه *اشریشیاکلی* (۸۳ نمونه کلی‌باسیلوزی و۳۴ نمونه سلولیتی) جدا گردید. این نمونه‌ها به روش‌های بیوشیمیایی مورد بررسی و تأیید قرار گرفتند.

یافته‌ها: جدایه‌های مربوط به موارد کلی‌باسیلوز متعلق‌به گروه‌های فیلوژنی، گروه A (۵۴/۲۷ درصد)، گروه B1 (۷/۲۲درصد)، گروه B2 (۶/۰۳ درصد) و گروه D (۳۲/۵۳ درصد) بودند. موارد سلولیت جدا شده متعلق‌به سه گروه اصلی فیلوژنی A (۵۵/۸۸ درصد)، گروه B1 (۵/۸۸ درصد) و گروه D (۳۸/۲۴ درصد) تعلق داشتند.

نتیجه‌گیری: آنالیز آماری ارتباط ویژه‌ای بین حضور ژن حدت *crL* و گروه‌های فیلوژنی A و D را در جدایه‌های حاصل از کلی‌باسیلوز نشان داد ($P<0/05$). نتایج مطالعه نشان داد که جدایه‌های هر دو بیماری در جوجه‌های گوشتی می‌تواند در گروه‌های فیلوژنی مختلف (به‌طور عمده A) تقسیم‌بندی شود. هم‌چنین پروفایل ژن‌های حدت در *اشریشیاکلی* جدا شده از موارد سلولیت با پروفایل موارد کلی‌باسیلوز در این منطقه کامل متفاوت بود.

واژه‌های کلیدی: گروه فیلوژنی، *اشریشیاکلی*، کلی‌باسیلوز، سلولیت، ژن حدت

مقدمه

عفونت‌های ناشی از *اشریشیاکلی* در طیور انتشار جهانی دارند و در اکثر کشورها باعث ایجاد خسارات اقتصادی فراوانی به صنعت طیور می‌گردد. در سالیان اخیر پیشرفت‌هایی در زمینه تعیین مکانیسم‌های بیماری‌زایی این باکتری حاصل شده است ولی نقش عوامل حدت به‌طور کامل شناخته نشده است. این باکتری فرصت‌طلب متعلق‌به خانواده آنتروباکتریاسه بوده و اکثر سویه‌های آن غیر بیماری‌زا هستند، سویه‌های بیماری‌زا جزء میکروفلور طبیعی دستگاه گوارش بوده و در شرایط استرس محیطی و تضعیف سیستم ایمنی باعث ایجاد بیماری کلی باسیلوز می‌شوند. حدود ۱۵-۱۰ درصد از کلی‌فرم‌های روده مربوط به سروتیپ‌های بیماری‌زا هستند. سروتیپ‌های بیماری‌زا را همراه با سروتیپ‌های غیر بیماری‌زا از محیط اطراف طیور جدا نموده‌اند (۱،۲).

نویسنده مسئول:
دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهربابک، ایران
پست الکترونیکی: Dr.asadi44@yahoo.com
تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۳/۰۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۷/۲۹

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-23]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.39.2.9]

سروتیپ‌های O_1، O_2، O_8، O_{35} و O_{78} در بروز بیماری کلی‌باسیلوز و ایجاد عفونت‌های تنفسی و سیستمیک نقش دارند. بیماری‌هایی مثل عفونت کیسه زرده، کلی گرانولوما، سلولیت، سینوویت و پریتونیت و آنتریت به‌وسیله *اشریشیاکلی* ایجاد می‌شود. فاکتورهای حدتی مانند: *SUL*، *yja*، *chu*، *bla*، *Flo*، *tet*، *sFa*، *aFa*، *FimH*، *PaP*، *crl*، *cat*، *aer* و *Stx* با شدت بیماری و میزان تلفات رابطه مستقیمی دارند. ژن *aFa* و فیمبریه S و P به‌ترتیب به اپرون‌های *aFa*، *sFa* و *PaP E* مربوط بوده و در چسبندگی باکتری به سلول میزبان و همولیز باکتری نقش دارند. آئروباکتین محصول ژن *iucD* بوده و باکتری را قادر می‌سازد تا در جذب آهن با سلول میزبان به رقابت بپردازد (۳،۴).

اشریشیاکلی به اکثر آنتی‌بیوتیک‌ها مانند کلرامفنیکل، کلرتتراسایکلین، نئومایسین، جنتامایسین، استرپتومایسین، پلی‌میکسین B ، انروفلوکساسین و تریمتوپریم حساس بوده، ولی مصرف بی‌رویه دارو باعث بروز مقاومت دارویی می‌شود. در ارزیابی تکامل ژنتیکی *اشریشیاکلی*، بررسی فیلوژنتیکی اهمیت زیادی دارد که با روش PCR چندگانه و آنزیم الکتروفورزیس صورت می‌گیرد، به‌طوری‌که تعدادی از محققین احتمال می‌دهند برخی ژن‌های *اشریشیاکلی* پتانسیل ژئونوتیک بودن دارند (۶،۵). برای بررسی‌های فیلوژنیکی از حضور ژن‌هایی مثل *chuA*، *yjaA* و هم‌چنین قطعه‌ای از DNA تحت عنوان TSPE4.c استفاده می‌گردد. ارتباط فیلوژنیکی سویه ECOR (مجموعه سویه‌های رفرانس *اشریشیاکلی*) نشان می‌دهد که سویه‌های اشریشیا در چهار گروه فیلوژنی A، B1، B2، D قرار می‌گیرند .به‌منظور افزایش دقت گروه‌بندی فیلوژنی برخی محققین پیشنهاد دادند که هفت تحت گروه فیلوژنی به نام‌های A-1، A-2، B1-1، B2-1، B2-2، D-1، D-2 در *اشریشیاکلی* تعریف شود (۷). بیش‌تر فراوانی سویه‌های APEC در گروه فیلوژنی A قرار دارند که این فراوانی توسط تعداد زیادی از محققین به اثبات رسیده (۸).

تاکنون هیچ‌گونه مطالعه جامعی در ارتباط با اهمیت عفونت‌های ناشی از باکتری *اشریشیاکلی* در طیور صنعتی شهرستان شهربابک صورت نگرفته، لذا هدف از تحقیق حاضر بررسی برخی از ژن‌های حدت و توزیع فراوانی گروه‌ها و تحت گروه‌های فیلوژنی سویه‌های *اشریشیاکلی*، موارد کلی‌باسیلوز و سلولیت در طیور گوشتی منطقه بود.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری وکشت نمونه‌ها

در یک فاصله زمانی ۶ ماهه در سال ۹۷ از ۱۵ مرغداری موجود در سطح شهرستان شهربابک تعداد ۱۵۰ نمونه جمع‌آوری و از لاشه‌های غیر گندیده و سالم تعداد ۱۱۷ نمونه *اشریشیاکلی* (۸۳ نمونه مبتلا به کلی‌باسیلوز و ۳۴ نمونه مبتلا به بیماری سلولیت) جدا گردید. بعد از تقسیم‌بندی نمونه‌ها، از کبد و قلب هر پرنده در محیط مک‌کانکی به‌روش خطی کشت داده شد. بعد از طی ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد کلنی‌ها رشد نموده و مورد ارزیابی قرار گرفت.

در صورتی‌که در محیط مک‌کانکی کلنی صورتی رنگ مشاهده می‌گردید تشخیص اولیه، *اشریشیاکلی* بود که جهت تأیید تشخیص یک کلنی خالص برداشته و در محیط‌های TSI، SIM، MR- VP و اوره کشت داده شد. برای تعیین فرمول Imvic از محیط MRVP نیز استفاده گردید. برای ذخیره باکتری از محیط لوریابرتانی LB استفاده گردید. یک سی‌سی ازاین محیط داخل میکروتیوب‌های ۲۰۰۰ میکرولیتری ریخته و از کلنی تأیید شده داخل این میکروتیوب‌ها کشت داده شده و بعد از ۲۴ ساعت که باکتری در حرارت ۳۷ درجه رشد نمود، یک سی‌سی گلیسرول ۳۰ درصد به آن‌ها اضافه و ورتکس نموده و تا زمان استفاده در حرارت ۲۰- درجه نگه‌داری شد.

تأیید نمونه‌های *اشریشیاکلی* و استخراج DNA

نمونه‌های فریز شده را از فریزر خارج و پس از ذوب در دمای اتاق در محیط جامد لوریابرتانی کشت داده، سپس از کلنی رشد نموده به میکروتیوب‌های حاوی ۲۵ میکرولیتر سود ۰/۵ نرمال اضافه نموده، ۲۰- ۳۰ دقیقه بعد ۲۵ میکرولیتر تریس ۱ مولار اضافه و در نهایت با افزودن ۴۵۰ میکرولیتر آب مقطر استریل، حجم محلول را به ۵۰۰ میکرولیتر رسانده که به‌عنوان DNA استخراج شده در آزمایش‌های بعدی مورد استفاده قرار گرفت. جهت تعیین فیلوتایپینگ نمونه‌ها آزمایش PCR صورت گرفت برای این منظور ژن‌های *chuA*، *yjaA* و قطعه TSPE4 طبق روش پیشنهادی Clermont و همکاران

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-23]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.39.2.9]

در سال ۲۰۰۰ مورد آزمایش قرار گرفتند. در این آزمایش از سویه استاندارد ECOR ۶۲ به‌عنوان کنترل مثبت استفاده گردید (جدول ۱). برای تهیه محلول اصلی آزمایش PCR چندگانه مواد: ۱- آب مقطر ۲- لودینگ بافر ۳- mgcl2 ۴- dNTP ۵- Taq DNA Polymerase ۶- DNA ۷- سه زوج پرایمر در میکروتیوب‌های عاری از DNAase با یکدیگر مخلوط گردیدند.

جدول ۱- پرایمرها و سویه‌های استاندارد به کار رفته در PCR فیلوژنی

منابع	اندازه قطعات(bp)	توالی('3-'5)	پرایمر	ژن
۱۷	۲۷۹	GAC GAA CCA ACG GTC AGG AT	chuA.1	*chuA*
		TCG CCA GTA CCA AAG ACA	chuA.2	
۲۳	۲۱۱	TGA AGT GTC AGG AGA CGC TG	yajA.1	*yajA*
		ATG GAG AAT GCG TTC CTC AAC	yajA.2	
۲۳	۱۵۲	GAG TAA TGT CGG GGC ATT CA	TSPE4C2.1	*TSP*
		CGC GCC AAC AAA GTA TTA CG	TSPE4C2.2	

آزمایش PCR جهت تعیین فیلوتایپینگ جدایه‌ها و الکتروفورزو آنالیز محصولات PCR

محصولات PCR در ژل آگارز ۲ درصد الکتروفورز گردیده و سپس جهت بررسی حضور باندهای مورد نظر ژل‌های الکتروفورز شده با دستگاه UV مورد بررسی قرار گرفتند و براساس تشکیل باند در جایگاه‌های خاص، به‌حضور و عدم حضور ژن‌های مذکور در سویه پی برده و در پایان به کمک نرم‌افزار آماری SPSS اطلاعات به‌دست آمده مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون مربع کای و رگرسیون لجستیک استفاده گردید.

نتایج

الف: مرحله جداسازی و تأیید تشخیص *اشریشیاکلی:* برای جداسازی *اشریشیاکلی* از محیط مک‌کانکی استفاده، که کلنی صورتی رنگ می‌شود. برای تأیید تشخیص از محیط‌های TSI، SIM و اوره و برای تعیین فرمول IMVIC (سیمون سیترات، وژپرسکوئر، متیل رد، اندول) از محیط MRVP استفاده گردید. در محیط TSI به علت تولید اسید و گاز وقتی معرف فنل‌رد اضافه گردید زردرنگ می‌شود. در محیط اوره به‌علت این‌که این باکتری آنزیم اوره‌آز ندارد هیچ‌گونه تغییررنگی مشاهده نگردید. در محیط SIM عدم تولید گاز H_2S داریم. در محیط MRVP متیل‌رد آن مثبت ولی VP زمانیکه معرف باریت اضافه شد منفی بود. و فرمول Imvic به‌صورت -- ++ است.

ب: نتایج PCR در ارتباط با گروه‌های فیلوژنی: مطابق با جدول ۲ و شکل ۱ گروه‌های مختلف فیلوژنی به این صورت تعریف می‌شوند که حضور باند ۱۷۹ نشان‌دهنده گروه فیلوژنی D-1، حضور باند ۱۵۱ گروه B1-1، حضور باند ۲۱۱ گروه A-2، حضور باندهای ۲۷۹ و ۲۱۱ هم‌زمان گروه B2-1، حضور هم‌زمان باندهای ۲۷۹ و ۱۵۱ گروه D-2، حضور هم‌زمان باندهای ۲۷۹، ۲۱۱ و ۱۵۱ گروه B2-2، حضور دو باند ۲۱۱ و ۱۵۱ گروه B1-2 و عدم حضور هر سه باند نشان دهنده گروه فیلوژنی A-1 است.

به‌طور کلی آنالیز فیلوژنی ۱۱۷ جدایه *اشریشیاکلی* از موارد پاتولوژیک طیور گوشتی نشان می‌دهد که این جدایه‌ها در ۴ گروه فیلوژنی قرار گرفتند، ۶۴ جدایه (۵۴/۷ درصد) در گروه A، ۴۰ جدایه (۳۴/۲ درصد) در گروه D، ۸ جدایه (۶/۸ درصد) در گروه B1 و ۵ جدایه (۴/۳ درصد) در گروه B2 قرار داشته و ۴۰ جدایه از این ۱۱۷ جدایه دارای الگوی ژنی *crl.fimH.papc SFa / Foc* بوده و اکثر این جدایه‌ها (۶۷/۵ درصد) متعلق‌به گروه فیلوژنی A بودند (جدول ۳). از مجموع ۸۳ جدایه کلی باسیلوزی ۵۴/۲۷ درصد متعلق‌به گروه فیلوژی A، ۶/۰۳ متعلق‌به گروه B2، ۳۲/۵۳ درصد متعلق‌به گروه D و ۷/۲۲ درصد متعلق‌به گروه B1 بودند و از مجموع ۳۴ جدایه سلولیتی مورد مطالعه ۵۵/۸۸ درصد متعلق‌به گروه فیلوژنی A، ۳۸/۲۴ درصد متعلق‌به گروه D، ۵/۸۸

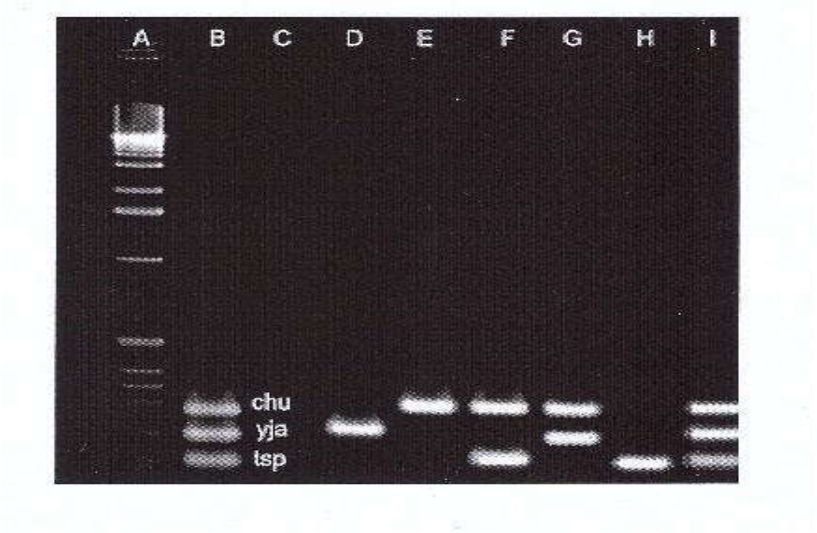
[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.39.2.9]

درصد متعلق-به گروه B1 هستند و هیچ‌کدام در گروه B2 قرار نداشتند.

در مورد تحت گروه‌های فیلوژنی از ۱۱۷ مورد *اشریشیاکلی* مورد مطالعه ۴۱/۸ درصد در تحت گروه A0، ۶/۸ درصد در تحت گروه A1، ۱۳/۶ درصد در تحت گروه B1، ۳/۷ درصد در تحت گروه B2-2، ۰/۹ درصد درتحت گروه B2-3، ۲۴/۷ درصد در تحت گروه D1، ۸/۵ درصد در تحت گروه فیلوژنی D2 قرار داشتند. (از مجموع ۸۳ جدایه مورد کلی‌باسیلوزی ۳۸/۳ درصد در تحت گروه فیلوژنی A0، ۷/۲ درصد در تحت گروه A1، ۱۶ درصد در تحت گروه B1، ۴/۸ درصد در تحت گروه B2-2، ۱/۲ درصد در تحت گروه B2-3، ۳۱/۳ درصد در تحت گروه D1 و ۱/۲ درصد در تحت گروه فیلوژنی D2 قرار داشتند.

در مورد ۳۴ جدایه سلولیت مورد مطالعه تحت گروه فیلوژنی A0 با ۵۰ درصد بیش‌ترین و تحت گروه فیلوژنی B1 با ۵/۹ درصد کم‌ترین مورد را داشتند ضمن آنکه هیچ موردی در تحت گروه B2-2 و B2-3 دیده نشده است.



شکل ۱- نتیجه آزمایش PCR جهت شناسایی ژن‌های تعیین کننده گروه فیلوژنی *chu* (۲۷۹ bp)، *yja* (۲۱۱ bp) و *tsp* (۱۵۱ bp).
A. لادر ۱ کیلوبازی، B. کنترل مثبت (سویه استاندارد ECORE62). جدایه های مثبت از نظر گروه‌های فلوژنی C. تحت گروه فیلوژنی A1، D. تحت گروه A2، E. تحت گروه D1، F. تحت گروه D2، G. تحت گروه B2-1، H. تحت گروه B1-1 و I. تحت گروه B2-2

جدول ۲- گروه‌های مختلف فیلوژنی

باند	A-۱	A-۱	B۱-۱	B۱-۲	B۲-۱	B۲-۲	D۱	D۲
chu (۲۷۹ bp)	-	-	-	-	+	+	+	+
yja (۲۱۱)	-	+	-	+	+	+	-	-
tsp (۱۵۱)	-	-	+	+	-	+	-	+

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.39.2.9]

جدول ۳- الگوی ژن‌های حدت جدا شده در ارتباط با گروه / تحت گروه‌های فیلوژنی در *اشرشیاکلی* جدا شده از موارد پاتولوژیک طیور گوشتی

گروه‌ها وتحت گروه‌های فیلوژنی		A		B۱	B۲		D		(%) .مجموع
		A۰	A۱	B۱	B۲-۲	B۳-۲	D۱	D۲	
الگوهای تشخیص ژنی	**APEC**								
crl fimH papC sfa/foc	کلی‌باسیلوز	۲۳	۴	۳	-	-	۱۰	-	۴۰(۳۴/۱۸)
crl fimH sfa/foc	کلی‌باسیلوز	۳	۳	-	-	-	-	۱	۷(۵/۹۸)
crl fimH iucD	کلی‌باسیلوز	۱	۲	-	-	-	-	-	۳(۲/۵۶)
crl- fimH	کلی‌باسیلوز	۳	-	۱	۱	-	-	-	۵(۴/۲۷)
crl- papC	کلی‌باسیلوز	-	۳	۱	۲	-	۱	-	۷(۵/۹۸)
fimH-papC	کلی‌باسیلوز	-	-	-	-	-	۱	-	۱(۰/۸۵)
fimH-sfa/foc	کلی‌باسیلوز	۱	-	-	-	-	-	-	۱(۰/۸۵)
papC-sfa/foc	کلی-باسیلوز	۱	۱	۱	۱	۱	-	-	۵(۴/۲)
fimH	سلولیت	۱۶	-	۲	-	-	-	۳	۲۱(۱۷/۹)
crl	سلولیت	-	۲	-	-	-	۴	۳	۹(۷/۶۹)
papC	سلولیت	۱	-	-	-	-	-	-	۱(۰/۸۵)
غیرقابل تشخیص		-	-	-	-	-	۱۴	۳	۱۷(۱۴/۵۲)
مجموع تحت گروه		۴۹	۱۵	۸	۴	۱	۳۰	۱۰	۱۱۷
مجموع گروه فیلوژنی		۶۴	-	۸	۵	-	۴۰	-	۱۱۷

بحث

اشریشیاکلی یکی از باکتری‌های کومنسال روده است که می‌تواند به‌عنوان باکتری پاتوژن در طیور بیماری گوارشی و غیرگوارشی ایجاد نماید (۹). کلی‌باسیلوز در طیور به‌وسیله سویه‌های پاتوژن ایجاد می‌شود و از نظر اقتصادی در صنعت طیور بسیار مهم است (۱۰).

چندین گزارش نیز وجود دارد که براساس یافته‌های عوامل حدت و فیلوژنی، سویه‌های *اشریشیاکلی* بیماری‌زا را در طیور عواملی معرفی می‌کند که پتانسیل زئونوتیک دارد. نقش عوامل حدت در پاتوژنز سویه‌های بیماری‌زای *اشریشیاکلی* APEC هنوزبه‌طور کامل مشخص نشده گرچه در سال‌های اخیر پیشرفت‌های زیادی در این زمینه حاصل شده است (۱۱).

چندین آدزین فیمبریه‌ای و غیرفیمبریه‌ای در سویه‌های APEC شناسایی شده است که مهم‌ترین آن‌ها فیمبریه p و f1 است. فیمبریه f_1 که به‌وسیله اپرون (*fim*) کد می‌شود در مراحل اولیه عفونت *اشریشیاکلی* نقش بازی کرده و موجب کلنیزه شدن باکتری در سطوح اپی‌تلیال سلول‌های ریه، کیسه‌های هوایی و نای می‌گردد، در حالی‌که فیمبریه p به‌وسیله ژن (*pap*) کد می‌شود که در سایر مراحل ایجاد عفونت به‌وسیله این باکتری نقش خود را ایفا می‌کند (۱۳،۱۲). در سویه‌های APEC فیمبریه s به‌وسیله ژن (*sfa*) کد می‌شود که شامل دسته‌ای از آدزین‌های فیمبریه‌ای است (۱۴). عوامل غیرفیمبریه‌ای تحت عنوان آدزین‌های *afa* نامیده می‌شوند در سویه‌های APEC شناسایی شده‌اند (۱۵). آئروباکتین که به‌عنوان مکانیسم کسب آهن در اکثرسویه‌های *اشریشیاکلی* گزارش شده است به‌وسیله دسته ژنی (*iucD*) کد می‌شود (۱۶).

باتوجه‌به این‌که سویه‌های محیطی و مدفوعی *اشریشیاکلی* که از طیور جدا شده‌اند دارای برخی ژن‌های حدت یادشده در بالا هستند به‌نظر می‌رسد شناسایی سویه‌های پاتوژن از سویه‌های غیرپاتوژن نیازمند مطالعه‌های دیگری است. در این ارتباط آنالیز فیلوژنتیکی سویه‌های *اشریشیاکلی* از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌شود (۱۷). براساس یافته‌های فیلوژنتیکی سویه‌های *اشریشیاکلی* را می‌توان در ۴ گروه A،

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.39.2.9]

B_1، B_2 و D تقسیم‌بندی نمود. به‌نظر می‌رسد سویه‌های *اشریشیاکلی* بیماری‌زای خارج گوارشی EXPEC به‌طور عمده متعلق‌به گروه B2 هستند و به‌مقدار کمی به گروه D متعلق‌اند. درحالی‌که اکثر سویه‌های کومنسال انسانی متعلق‌به گروه A هستند. آنچه مسلم است ۴ گروه فیلوژنتیکی ذکر شده از نظر ویژگی‌های اکولوژیکی تاریخچه بیولوژیکی و قابلیت بیماری‌زایی متفاوت هستند (۱۹، ۱۸).

هدف از این بررسی تعیین ژن‌های حدت گروه‌ها و تحت گروه‌های فیلوژنتیکی در سویه‌های *اشریشیاکلی* جدا شده از موارد پاتولوژیک طیور در منطقه شهربابک بوده است. همان‌گونه که در بخش نتایج نشان داده شده است سویه‌های APEC در این بررسی در هر ۴ گروه فیلوژنتیکی A، B1، B2 و D انتشار دارند که بیش‌ترین فراوانی متعلق‌به گروه A (۴۸٪)، گروه D (۳۰٪)، گروه B1 (۱۷٪) و گروه B2 (۵٪). علاوه‌بر این جدایه های مورد بررسی از نظر تحت گروه فیلوژنتیکی نیز در گروه‌های B2-1 ، D2 ، D1 ، B2-2 ، B1-1 ، A2 ، A1 قرار گرفتند.

به‌طور کلی، آنالیز فیلوژنی ۱۱۷ جدایه *اشریشیاکلی* از موارد پاتولوژیک جوجه‌های گوشتی نشان داد که این جدایه‌ها در چهار گروه فیلوژنی قرار دارند. تعداد ۶۴ جدایه (۵۴/۷ درصد) در گروه A، ۴۰ جدایه (۳۴/۱۸ درصد) در گروه D، ۸ جدایه (۶/۸۳ درصد) در گروه B1 و ۵ جدایه (۴/۲۷ درصد) در گروه فیلوژنی B2 قرار گرفتند (۲۰).

مطالعه مشابه‌ای که توسط Rodriguez و همکاران در سال ۲۰۰۵ انجام شده نشان می‌دهد سویه‌های APEC متعلق به ۴ گروه A (۳۸٪)،D (۲۸/۱٪)، B1 (۱۸/۵٪)،B2 (۱۵/۵٪) بوده است که از نظر فراوانی کمابیش با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. بررسی مقایسه‌ای انتشار فیلوژنتیکی سویه‌های EXPEC جدا شده از انسان با سویه‌های APEC جدا شده از طیور نشان می‌دهد که سویه‌های EXPEC انسانی به‌طور عمده در گروه B2 و سپس D قرار دارند در حالی‌که سویه‌های طیوری به‌طور غالب در گروه A انتشار دارند (۲۱).

مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۸ توسط Dissanayake و همکاران جهت تعیین تفاوت‌های فیلوژنتیکی سویه‌های APEC و سویه‌های غیر بیماری‌زای مدفوعی طیور انجام شده است نشان می‌دهد که سویه‌های APEC به‌ترتیب متعلق‌به گروه‌های A(۷۱٪)، B1(۴/۱٪)، B2 (۷/۹٪)، D (۱۸/۶۵٪) بوده (۲۲). از سویه‌های APEC جدا شده از نواحی جغرافیایی مختلف فراوانی ژن‌های حدت از جمله آئروباکتین را بین ۲۳ تا ۸۰ درصد گزارش نموده‌اند (۲۳).

از مجموع ۱۱۷ جدایه، ۴۰ جدایه (۳۴/۱۸ درصد) دارای الگوی ژنی *crl fimH papC sfa/foc* بودند که بیش‌ترین فراوانی در بین الگوهای ژنی مربوط به این الگو بود و اکثر این جدایه‌ها (۶۷/۵ درصد) متعلق‌به گروه فیلوژنی A بودند (جدول ۲).

براساس مطالعه‌های انجام شده انتقال ژن‌های حدت امکان دارد به‌صورت افقی در بین سویه‌های *اشرشیاکلی* انجام گیرد و دلیل انتشار ژن‌های حدت در گروه‌های فیلوژنتیکی کسب این ژن‌ها به‌صورت افقی از سایر سویه‌های *اشریشیاکلی* است که در نهایت منجر به ایجاد تنوع ژنتیکی سویه‌های APEC از نظر گروه‌های فیلوژنتیکی و ژن‌های حدت می‌گردد گرچه علاوه‌بر انتقال افقی، موتاسیون هم در ایجاد این تنوع ژنتیکی دخالت دارد (۲۴). نکته‌ای که هنوز در مورد کسب ژن حدت بی‌پاسخ مانده است این است که آیا صرف قابلیت بیماری‌زایی و حدت را در باکتری دریافت کننده افزایش می‌دهد یا علاوه‌بر دریافت ژن حدت سایر عوامل زمینه‌ای نیز در مورد این ژن مؤثراند (۲۵).

حضور درصد بالای ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جدایه‌های *اشریشیاکلی* از موارد پاتولوژیک در این منطقه نشان‌دهنده این است که این جدایه‌ها می‌توانند منبع انتشار مقاومت آنتی‌بیوتیکی باشند. مکانیسم انتقال ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی از جدایه‌های حیوانی به انسان هنوز به‌درستی شناخته نشده است (۲۶).

نتیجه‌گیری

جدایه‌های *اشریشیاکلی* جدا شده در منطقه به‌طور عمده در گروه فیلوژنی A قرار گرفتند که این جدایه با درصد بالای دارای ژن‌های حدت فیمبریه‌ای بودند. پروفایل الگوهای ژنی و مقاومت آنتی‌بیوتیکی مشاهده شده در موارد کلی‌باسلیوز با موارد سلولیت به‌طور کامل متفاوت بود. نتیجه تحقیق این است که اگر شباهت ژنومی در جدایه‌ها داشته باشیم نشانه شرایط نامساعد و ضعف مدیریتی مشابه در مرغداری‌ها بوده و برای از بین بردن جدایه‌ها باید روش مناسب اتخاذ نمود و اگر گونه جدیدی در منطقه وجود داشته باشد باید راهکار مناسبی برای مقابله با آن پیدا نمود. حضور و شیوع این بیماری‌ها با وجود درمان‌های آنتی‌بیوتیکی ارتباط زیادی با

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.39.2.9]

مسائل مدیریتی و بهداشتی دارد. به‌طور کلی این گونه تحقیقات کمک به شناسایی گونه های جدید،بررسی شباهت‌ها و تفاوت‌های سویه‌ها، صرفه‌جویی در هزینه‌ها، چگونگی انتقال و تکثیر ژن‌ها و عوامل مؤثر در بروز جهش در ژنوم باکتری می‌نماید.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.39.2.9]

منابع

1- Akond MA, Alam S, Hassan SMR, Shirin M. Antibiotic resistance of Escherichia coli isolated from poultry and poultry environment of Bangladesh. Internet Journal of food safety; 2015. 11: 19-23ce

2- Dissanayake DR, Wijewardana TG, Gunawardena GA, Poxton IR. Distribution of lipopolysaccharide core types among avian pathogenic Escherichia coli in relation to the major phylogenetic groups. Vet Microbiol; 2008. 132: 355-363.

3- Escobar-Paramo P, Clermont O, Blanc-Potard AB, Bui H, Bouguenec Cle, Denamur E. A specific genetic background is required for acquisition and expression of virulence factors in Escherichia coli. Mol Biol Evol; 2012. 41: 1085-1094.

4- Bernard D, Renato D, Herman EN, Ginsberg H. Microbiology. 7th Ed. Lippincton; 2014. 93:27-35.

5-Caza MF, Lepine SM, Dozois CM. Specific roles of the iroBC DEN genes in virulence of an avian pathogenic Escherichia coli O78 strain and in production of salmochelins. Infect Immun; 2011. 87:3539-3549.

6-Chouikha I, Bree A, Moulin-Schouleur M, Gilot P, Germon P. Differential expression of iutA and ibeA in the early stages of infection by extra-intestinal pathogenic E. coli. Microbes Infect; 2017. 18:432-438.

7- Delicato ER, de Brito BG, Gaziri LC, Vidotto MC. Virulence-associated genes in Escherichia coli isolates from poultry with colibacillosis. Vet Microbiol; 2013. 94: 97-103.

8- Jeffeyies R, Kuskowski MA, Gajewski A, Soto S, Horcajada JP, Jimenez de Anta MT, Vila J. Extended virulence genotypes and phylogenetic background of Escherichia coli isolates from patients with cystitis, pyelonephritis, or prostatitis. J Infect Dis; 2013. 191: 46-50.

9- Mohsenifard E, et al. phylogenic andcoiv plasmid associaited virulence genecity of E.coli isolaited from broiler chickness with colibacillosis in iran comclinpatho; 2016. 25:1035-1041

10- Clermont P, Girardeau J, Darfeuille-Michaud A, Contrepois M. Characterization of k2 fimbria, a new adhesion of septicaemic and diarrhea – associated Escherichia coli strains, that belongs to a family of adhesions with N-acetyl-D-glucosamine recognition. Infection and Immunity; 2010. 66 (3): 4555-4558.

11- Johnson JR, Delavari P, Kuskowski M, Stell AL. Phylogenetic distribution of extraintestinal virulence-associated traits in Escherichia coli. Journal of Infectious Diseases; 2017. 183(1): 78-88

12- Stordeur P, Bree A, Mainil J, Moulin-Schouleur M. Pathogenicity of pap-negative avian Escherichia coli isolated from septicaemic lesions. Microbes Infect; 2008. 6: 637-645.

13- Tivendale KA, Noormohammadi AH, Allen JL, Browning GF. The conserved portion of the putative virulence region contributes to virulence of avian pathogenic Escherichia coli. Microbiology; 2009. 155:450-460.

14- Willking N, acquemin J, Oswald E, mainil E. Multiplex PCRs for indentification of necrotoxigenic Escherichia coli. Clinical Microbiology; 2014. 67(9): 4480-4482.

15- Vandekerchove D, Vandemaele FC, Adriaensen M, Zaleska JP, Hernalsteens L, De Baets P, Butaye F, Van Immerseel P, Wattiau H, Laevens J, Mast B, Goddeeris B, Pasmans F. Virulence-associated traits in avian Escherichia coli: comparison between isolates from colibacillosis-affected and clinically healthy layer flocks. Vet Microbiol; 2015. 123: 75-87.

16- Gordon DM, Clermont O, Tolley H, Denamur E. Assigning Escherichia coli strains to phylogenetic groups: multi-locus sequence typing versus the PCR triplex method. Environ Microbiol; 2017. 16: 2484-2496.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.39.2.9]

17- Khan KA, Khan SA, Aslam A, Rabbani M, Tipu MY. Factors contributing to yolk retention in poultry: a review. Pakistan Veterinary Journal; 2014. 24 (1): 46–5

18- Gomis SM, Gomis AI, Horadagoda NU, et al. Studies on cellulitis and other disease syndromes caused by Escherichia coli in broilers in Sri Lanka. Trop Anim Health Prod; 2011. 32:341-351

19. Skurnik D, Ruimy R, Andremont A, Amorin C, Rouquet P, Picard B, Denamur E. Effect of human vicinity on antimicrobial resistance and integrons in animal faecal Escherichia coli. Journal of Antimicrobial Chemotherapy; 2017. 57(6): 1215-1219

20. Smith JM, Smith NH, O'Rourke M, Spratt BG. How clonal are bacteria. Proceedings of the National Academy of Sciences; 2017. 90(10): 4384-4388

21- Elphinstone JG. The current bacterial wilt situation: a global overview. Pages 9-28 in: Bacterial Wilt: The Disease and the Ralstonia solanacearum Species Complex. Allen C, Prior P, Hayward AC, eds. American Phytopathological Society, St. Paul, MN; 2014.

22- Zuleske TL, Grant EC, Inendino KR, Kassler TW, Claussen JE, Phillip DP. Increased infectious disease susceptibility resulting from outbreeding depression. Conservation Biology; 2018. 19:455-462.

23- Stehling EG, Campos TA, Azevedo V, Brocchi M, Silveira WD.DNA sequencing of a pathogenicity-related plasmid of an avian septicemic Escherichia coli strain. Genet Mol Res; 2014. 6: 231-237.

24- Drid SN, Raver EE, Gussakovsky M, Derouet M, Picard A, Gertler M, Taouis M. Biological activities of recombinant chicken leptin C4S analog compared with unmodified leptins. Am Journal of Physiology; 2018. 279: 116-123.

25-Ghanbarpour R. genetipicanalysis of virulence genes antimicrobial profile of diarrrea agenic Escherichia coli isolaited from disease poultray in iran tropanima healtprod; 2017. Dol 10.1007/s 11250-017-1234-7

26-Mokadya T, Murray PR, Kobayashi GS, Pfaller MA, Rosenthal Ken S. Medical Microbiolog 6end Ed., International edition; 2010. 295(6-7):455-462.

27- scobar-Páramo P, Menac'h L, Gall T, Amorin, C, Gouriou, S, Picard B, Denamur E. Identification of forces shaping the commensal Escherichia coli genetic structure by comparing animal and human isolates. Environmental microbiology; 2016. 8(11): 1975-1984.

28- Salehi M, Ghanbarpour R. Phenotypic and genotypic properties of Escherichia coli isolated from colisepticemic cases of Japanese quail. Tropical Animal Health and Production; 2017.42(7): 1497-1504.

29- Zhu SY, Lu H, Wang J. [Isolation of avian Escherichia coli and PCR detection of their F1 and HPI genes]. Wei Sheng Wu Xue Bao; 2017. 83:795-799.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.39.2.9]