

مقاله پژوهشی

میزان توزیع جزایر بی‌ماری‌زا در جدایه‌های اشرشیاکلای جمع‌آوری شده از بیماران مراجعه‌کننده به درمانگاه‌های زنان در شهرستان زابل به روش Multiplex-PCR

احمد راشکی^{۱*}، میلاد شکوهی^۲

^۱ دانشیار، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

^۲ کارشناس ارشد ژنتیک، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه زابل، زابل، ایران

چکیده

مقدمه: باکتری اشرشیاکلای خارج روده‌ای نقش مهمی در عفونت‌های دستگاه ادراری تناسلی زنان دارند. ژن‌های کد کننده عوامل بیماری‌زا در جزایر بیماری‌زا می‌توانند جزء اساسی‌ترین فاکتورهای دخیل در ایجاد بیماری و آسیب به لایه اپی‌تلیوم دستگاه ادراری تناسلی زنان باشند. این مطالعه به منظور تعیین میزان توزیع جزایر بیماری‌زا در جدایه‌های اشرشیاکلای جمع‌آوری شده از بیماران مراجعه‌کننده به درمانگاه‌های زنان در شهرستان زابل بوده است.

روش کار: در مجموع ۳۸۲ نمونه سواب از ترشحات واژن و اندوسرویکس در طی شش ماه، از بهمن تا مرداد ۹۱، جمع‌آوری شد. تعداد ۱۰۴ ایزوله، اشرشیاکلای از نمونه‌های کلینیکی جمع‌آوری شده با استفاده از روش‌های بیوشیمیایی استاندارد تعیین هویت شدند. پس از استخراج DNA از نمونه‌ها به روش جوشاندن، از DNA برای تعیین حضور جزایر بیماری‌زای *PAI I₅₃₅*، *PAI II₅₃₅*، *PAI IV*، *PAI I_{CFT073}*، *PAI II_{CFT073}*، *PAI I_{J96}* و *PAI II_{J96}* و ژن‌های بیماری‌زای *k1*، *traT*، *cvaC* و *FyuA* به روش Multiplex-PCR استفاده شد.

یافته‌ها: میزان حضور ژن‌های *k1*، *traT* و *FyuA* در بین ۱۰۴ جدایه به ترتیب ۳۸، ۱۴ و ۶ درصد و جزایر بیماری‌زای *PAI I_{CFT073}*، *PAI II_{CFT073}*، *PAI II₅₃₆* و *PAI I_{J96}* به ترتیب ۳، ۱۳، ۵۳ و ۱ درصد تعیین گردید. همچنین سه جزیره بیماری‌زای *PAI I₅₃₆*، *PAI II₅₃₆* و *PAI II_{J96}* در جدایه‌های این مطالعه مشاهده نگردید.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که ژن *traT* و جزیره *PAI IV₅₃₆* بیشترین حضور را در بین اشرشیاکلای جدا شده از عفونت دستگاه زنان در شهر زابل نشان دادند. مارکر *PAI* می‌تواند نشان‌دهنده خطر گسترش وسیع سویه‌های بیماری‌زا/اشرشیاکلای در عفونت‌های دستگاه زنان باشد؛ بنابراین، ژن‌های فوق می‌توانند به عنوان هدف در مداخلات درمانی مورد بررسی بیشتری قرار گیرند.

کلید واژه‌ها: جزایر بیماری‌زا، اشرشیاکلای، عفونت ادراری - تناسلی

اطلاعات مقاله

دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۰۶

پذیرش: ۱۳۹۶/۰۲/۰۳

*مؤلف مسئول

احمد راشکی

ایران، زابل، دانشگاه زابل،
دانشکده دامپزشکی، گروه
پاتوبیولوژی.

تلفن: ۰۵۴۲۴۲۸۲۲۵۰

پست الکترونیک:

ah_rashki@usal.es

Distribution of pathogenic islands in *Escherichia coli* isolates collected from female genital tract among patients attending Obstetrics and Gynecology clinics in Zabol-Iran by Multiplex-PCR

Ahmad Rashki^{1*}, Milad Shokohi²

¹ Associate professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Zabol University, Zabol, Iran

² M.Sc. in Genetics, Department of Biology, Faculty of Sciences, Zabol University, Zabol, Iran

Abstract

Introduction: Extra-intestinal *E. coli* plays an important role in development of woman urogenital tract infections. Encoding virulence factors genes on the pathogenic islands can be the most fundamental factors that contribute to distribution of disease and damage to the epithelium layer of women genito- urinary tract system. The aim of this study was to determine the prevalence of pathogenic islands in *E. coli* isolates collected from patients referred to Gynecology clinics in Zabol-Iran.

Methods: In this study, 382 cervico-vaginal swabs were obtained from patients with genital tract infections referred to Gynecology clinics in Zabol-Iran during the period of six months (from January to July 2013). A total 104 *E. coli* isolates were confirmed by conventional biochemical tests. DNA was extracted from all isolates by the boiling method and then DNA was used to determine the presence of pathogenic Islands, PAI *I*₅₃₆, PAI *II*₅₃₆, PAI *IV*₅₃₆, PAI *I*_{CFT073}, PAI *II*_{CFT073}, PAI *I*_{J96}, PAI *II*_{J96} and virulence gens. *traT*, *k1*, *FyuA*, *cvaC* by multiplex- PCR technique.

Results: In 104 isolates, the frequency *traT*, *k1*, *FyuA* and *cvaC* genes were 38, 14 and 6 percent respectively. The prevalence of pathogenic islands PAI *IV*₅₃₆, PAI *I*_{CFT073}, PAI *II*_{CFT073} and PAI *I*_{J96} were 53, 3, 13 and 1 percent respectively. The three pathogenic islands PAI *I*₅₃₆, PAI *II*₅₃₆ and PAI *II*_{J96} were not detected in any of the isolates.

Conclusion: The results of this study showed that the *traT* gene and PAI *IV*₅₃₆ marker were the most common pathogenic determinants in *E. coli* isolates collected from genital tract of patients in the city of Zabol. The pathogenicity-associated island (PAI) as a marker could indicate the risk of wide spread pathogenic *E.coli* among hospitalized patients.

Keywords: pathogenicity-associated island, *Escherichia coli*, urogenital tract infection

Article Info

Received: Jan. 25, 2017

Accepted: Apr. 23, 2017

***Corresponding Author:**
Ahmad Rashki
Department of
Pathobiology, Faculty
of Veterinary Medicine,
Zabol University,
Zabol, Iran

Tel: +985424282250

Email:
ah_rashki@usal.es

Vancouver referencing:

Rashki A, Shokohi M. Distribution of pathogenic islands in *Escherichia coli* isolates collected from female genital tract among patients attending Obstetrics and Gynecology clinics in Zabol-Iran by Multiplex-PCR. *Journal of Jiroft University of Medical Sciences* 2017; 3(1): 12-22.

مقدمه

اشرشیاکلای جزء فلور طبیعی دستگاه گوارش انسان و حیوانات محسوب می‌شود (۱). چندین سویه از این باکتری می‌تواند ژن‌های بیماری‌زا را به طرق مختلف بدست آورد که به آن خاصیت بیماری‌زایی می‌بخشد (۲). میکرو فلورای واژن معمولاً از ۵-۱۵ گونه مختلف باکتریایی (هوازی و بی‌هوازی) تشکیل شده که به‌طور بالقوه می‌توانند سندرم‌های مختلف بالینی از جمله واژینوز باکتریایی و بیماری‌های التهابی لگن را در زنان ایجاد نمایند (۳). اشرشیاکلای فراوان‌ترین عامل عفونت دستگاه ادراری-تناسلی بوده که در زنان شایع‌تر از مردان می‌باشد. به‌طوری که تقریباً نیمی از خانم‌ها حداقل یک‌بار عفونت دستگاه تناسلی را در طول عمر خود تجربه کرده‌اند. مطالعات انجام گرفته در جوامع مختلف نشان می‌دهد باسیل‌های گرم منفی در ۹ تا ۲۸ درصد از عفونت‌های دستگاه تناسلی زنان غیر باردار جدا شده که در بین آن‌ها/اشرشیاکلای بیش از ۸۰ درصد موارد عفونت‌های حاد دستگاه تناسلی تشکیل می‌دهد (۴) عامل اصلی عفونت‌های دستگاه تناسلی توسط سویه‌های اشرشیاکلای خارج روده‌ای ایجاد می‌شود که معمولاً عفونت‌های مختلفی را ایجاد می‌کند (۵).

جزایر بیماری‌زا از جمله عناصر ژنتیکی متحرک می‌باشد که به‌وسیله جابجایی خود باعث به وجود آمدن سویه‌های بیماری‌زا می‌شوند. این جزایر برای اولین بار در سال ۱۹۹۰ در اشرشیاکلای توصیف شد (۶)؛ اما با گذشت زمان مشخص شد که در ژنوم باکتری‌های بیماری‌زای مختلف انسانی، جانوری و گیاهی هم وجود دارد (۷). جزایر بیماری‌زایی (که در مناطق ناپایدار DNA کروموزومی قرار می‌گیرند) قطعاتی به طول ۲۰۰-۱۰ Kbp هستند که ژن‌های کد کننده فاکتورهای بیماری‌زا را در خود جای داده‌اند (۶). تاکنون در سویه اشرشیاکلای یوروپاتوژنیک ۵۳۶ چهار جزیره بیماری‌زا (I₅₃₆، IV₅₃₆ و III₅₃₆) شناسایی شده است که یک کپی از اوپرون های hly و

پیلوس p بر آن‌ها قرار دارد (۸). جزایر بیماری‌زای PAI I₉₆ و PAI II₉₆ همچنین در سویه اشرشیاکلای J96 شناسایی شده که حاوی ژن‌های اوپرون همولیزین، پیلوس P و توالی ژن *cnf1* می‌باشد (۹). علاوه بر آن جزایر PAII_{CFT073} و PAIII_{CFT073} در سویه اشرشیاکلای CFT073 شناسایی شده که حاوی اوپرون های pap، hly و ژن‌های کد کننده سیدروفور می‌باشد (۱۰). مطالعات زیادی در مورد میزان حضور این جزایر در جدایه‌های اشرشیاکلای و اهمیت آن در قدرت بیماری‌زایی باکتری انجام شده است که نشان‌دهنده این مطلب است که این جزایر به مقدار زیاد در سویه‌های مختلف خارج روده‌ای مشاهده می‌شوند، درحالی‌که در ژنوم سویه‌های اشرشیاکلای غیر بیماری‌زا وجود ندارند (۶، ۱۱). جزایر بیماری‌زا به‌طور گسترده‌ای در ژنوم باکتری‌های بیماری‌زا مورد بررسی قرار گرفته (۱۲-۱۴)، اما اطلاعات کمی در مورد چگونگی توزیع جزایر بیماری‌زا و بعضی از ژن‌های بیماری‌زای: *traT* (کد کننده پروتئین خارج غشایی)، *cvaV* (کد کننده کلیسین)، *fyuA* (کد کننده رسپتور *yersiniabactin*) و *k1* (کد کننده پروتئین کپسولی) در اشرشیاکلای جایگزین شده در دستگاه تناسلی زنان وجود دارد.

نظر به اهمیت عوامل بیماری‌زا در استقرار و پیشرفت عفونت در سلول‌های اپیتلیال دستگاه تناسلی زنان و استقرار این عوامل در جزایر بیماری‌زا، شناسایی جدایه‌های حاوی این جزایر از لحاظ بالینی از اهمیت به سزایی برخوردار است. همچنین این عوامل می‌توانند در صورت وجود به‌عنوان مارکر جهت ارزیابی قدرت استقرار و پیشرفت عفونت‌های ناشی از این ارگانیسم‌ها در دستگاه تناسلی زنان مورد توجه قرار گیرد. لذا مطالعه حاضر با هدف بررسی میزان فراوانی جزایر بیماری‌زا و برخی از فاکتورهای بیماری‌زا در اشرشیاکلای جدا شده از

دستگاه تناسلی زنان مراجعه کننده به درمانگاه های زنان در شهرستان زابل انجام شد.

روش کار

این مطالعه بر روی ۱۰۴ جدایه اشرشیاکلاهی جمع آوری شده از ۳۸۲ سواب گرفته شده از ترشحات واژن و اندوسرویکس (۱۵) زنان (۱۸ تا ۵۵ سال) مبتلا به سرویکوواژنیت (وجود ترشحات واژن، عفونت گردن رحم، تورم و التهاب در دیواره واژن و دهانه رحم) مراجعه کننده به درمانگاه های خصوصی زنان در طی شش ماه از بهمن ۹۱ تا مرداد شهرستان زابل صورت پذیرفت. تمام نمونه ها بر روی محیط های مکانیکی و آگار خونی به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷°C کشت داده شدند. جدایه های باکتریایی با استفاده از

آزمون های استاندارد بیوشیمیایی و میکروب شناسی زیر تعیین هویت شدند: رنگ آمیزی گرم، بررسی میکروسکوپی، کشت بر روی محیط های مکانیکی آگار، (Sulfide indole) (Triple sugar iron) TSI, motility) SIM اکسیداز، لیزین دکربوکسیلاز، متیل رد و گس پروسکائر (۱۶). همه جدایه ها در محیط با ۲۰ درصد گلیسرول در (Tryptic soy broth) TSB دمای ۷۰- درجه سانتی گراد ذخیره شدند.

استخراج DNA ژنومی: ابتدا جدایه های اشرشیاکلاهی

روی محیط مایع Tryptic Soy Broth (HIMEDIA) کشور هند) در دمای ۳۷°C به مدت ۲۴-۱۸ ساعت گرما گذاری گردید. سپس باکتری های رشد یافته از محیط مایع به وسیله سانتریفوژ جدا گردید.

جدول ۱: توالی پرایمرهای استفاده شده در این مطالعه

نام پرایمر	توالی (۵' - ۳')	طول (bp)	منابع
PAI I536	F TAA TGC CGG AGA TTC ATT GTC R AGG ATT TGT CTC AGG GCT TT	1802	27
PAI II536	F CAT GTC CAA AGC TCG AGC C R CTA CGT CAG GCT GGC TTT G	1042	27
PAI IV536	F AAG GAT TCG CTG TTA CCG GAC R TCG TCG GGC AGC GTT TCT TCT	287	27
PAI ICFT073	F GGA CAT CCT GTT ACA GCG CGC A R TCG CCA CCA ATC ACA GC GAA C	930	27
PAI IICFT073	F ATG GAT GTT GTA TCG CGC R ACG AGC ATG TGG ATC TGC	421	27
PAI IJ96	F TCG TGC TCA GGT CCG GAA TTT R TGG CAT CCC ACA TTA TCG	461	27
PAI IJ96	F GGA TCC ATG AAA ACA TGG TTA ATG GG R GAT ATT TTT GTT GCC ATT GGT TAC C	2300	27
K1	F TAGCAAACG TTC TAT TGGTGC R CAT CCA GAC GAT AAG CAT GAG CA	151	این مطالعه
CvaC	F CAC ACA CAA ACG GGA GCT GTT R CTT CCC GCA GCA TAG TTC CAT	677	27
FyuA	F TGA TTA ACC CCG CGA CGG AA R CGC AGT AGG CAC GAT CTT GTA	752	27
TraT	F GGT GTG GTG CGA TGA GCA CAG R CAC GGT TCA GCC ATC CCT GAG	288	30

* توالی پرایمرها از منابع ذکر شده انتخاب شده است و صحت توالی و طول قطعه های پیش بینی شده توسط برنامه primer-blast سایت NCBI مورد بررسی قرار گرفت.

های/اشرشیاکلای از پرایمرهای جدول ۱ و روش Multiplex-PCR استفاده شد.

واکنش PCR با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (اپندورف، آلمان) انجام گردید. در این واکنش ۲۰ نانوگرم از DNA الگو، ۱۲/۵ میکرو لیتر از 2× Master Mix Red (شرکت آمپلکون) و ۱ میکرو لیتر از پرایمرهای Forward و Reverse (۲۰ پیکو مول در میکرو لیتر) را با یکدیگر مخلوط و حجم نهایی با آب مقطر دو بار تقطیر به ۲۵ میکرو لیتر رسانده شد. برنامه اجرایی سیکل های PCR در جدول ۲ آمده است.

جدول ۲: برنامه Multiplex-PCR ژن های بیماری زا

ژن هدف	برنامه Multiplex-PCR
K1، traT، PAI I ₉₆ ،cvaC،fyuA،PAI I _{cft073}	1 cycle 95 °C -----5 min
	30 cycle 94 °C-----50 s 58 °C-----30 s 72 °C-----30 s
	1 cycle 72 °C-----6 min
PAI I ₅₃₆ ، PAI II ₅₃₆ ،PAI II ₉₆ ، PAI IV ₅₃₆ ، PAI II _{cft073}	1 cycle 95 °C -----5 min
	30 cycle 94 °C-----50 s 60 °C-----30 s 72 °C-----30 s
	1 cycle 72 °C-----6 min

آنزیم های *TfiI* و *AluI* تأیید گردید. جدایه های ECR06 (K1⁺، PAI II₅₃₆، PAI I_{cft073}، FyuA⁺ و CvaC⁺) و ECR39 (PAI I₉₆، PAI I_{cft073} و TraT⁺) که قبلاً توسط تعیین توالی حضور ژن های ذکر شده تأیید شده بود، به عنوان کنترل مثبت و اشرشیاکلای سویه DH5α کنترل منفی استفاده شد.

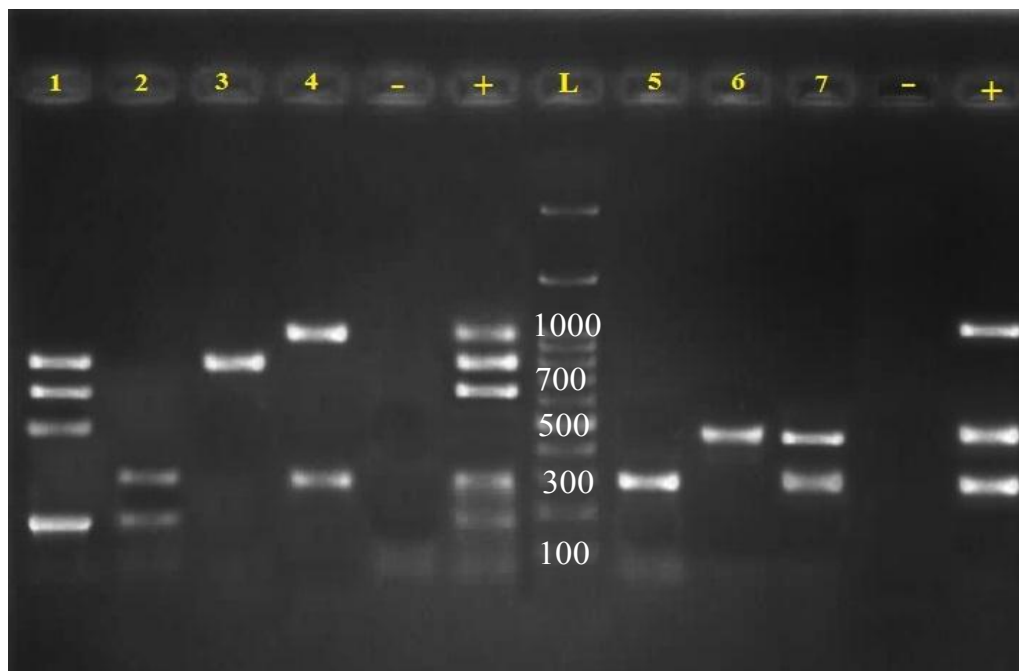
سلول ها طی دو مرحله با محلول Phosphate-buffered saline (PBS1) درصد شستشوی داده شدند و در ۲۰۰ میکرو لیتر آب مقطر استریل به صورت سوسپانسیون درآمدند. سوسپانسیون به مدت ۱۰ دقیقه در درجه حرارت ۹۵°C جوشانده شد (۱۷). پس از سانتریفیوژ، محل رویی حاوی DNA الگو در ۲۰°C به منظور انجام واکنش PCR ذخیره شد.

آزمون Multiplex-PCR

برای شناسایی حضور ژن های کد کننده فاکتورهای بیماری زا *cvaV*، *fyuA*، *k1* و *traT* و جزایر بیماری زا در جدایه

پس از انجام واکنش ۵ میکرو لیتر از تمام محصولات واکنش در ژل آگارز ۲ درصد به مدت ۴۰ دقیقه تحت تأثیر ولتاژ ۷۵ الکتروفورز شد و قطعات تکثیر شده با استفاده از نشانگر (Ladder 100, SMO321 شرکت Fermentas) ارزیابی شد (شکل ۱).

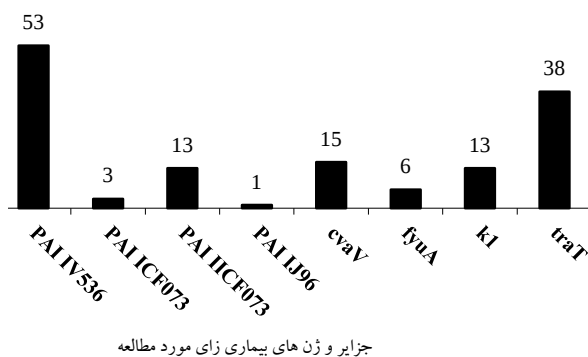
قطعات تکثیر شده توسط تعیین توالی و هضم آنزیمی توسط



شکل ۱: نمونه ای از Multiplex-PCR بارگزاری شده به ژل آگاروز ۲ درصد را نشان می دهد. در این بارگذاری از لدر ۱۰۰ جفت باز استفاده شده است. چاهک ۱) *PAI I₉₆*، *CvaC* و *FyuA*، چاهک ۲) *PAI IV₅₃₆* و *K1*، چاهک ۳) *CvaC*، چاهک ۴) *PAI IV₅₃₆* و *PAI I_{CF073}*، چاهک - (کنترل منفی)، چاهک + کنترل مثبت، چاهک ۵) *PAI IV₅₃₆*، چاهک ۶) *PAI I₉₆* و چاهک ۷) *PAI IV₅₃₆* و *PAI I₉₆*

یافته ها

از میان ۱۰۴ جدایه /اشرشیاکلاهی ۱۰ درصد دارای ژن *cvaV*، ۶ درصد دارای ژن *fyuA*، ۱۳ درصد دارای ژن *k1* و ۳۸ درصد دارای ژن *traT* بودند (نمودار ۱). در این مطالعه مشخص شد که ۵۷ درصد از جدایه ها حداقل یکی از جزایر بیماری زای مورد مطالعه را حمل می کنند. در بین جدایه های مورد بررسی جزیره بیماری زای *PAI IV₅₃₆* بیشترین درصد فراوانی را به خود اختصاص داده است و میزان توزیع جزایر بیماری زای *PAI I_{CF073}*، *PAI II_{CF073}* و *PAI I₉₆* به ترتیب در رده های بعدی قرار گرفتند (نمودار ۱).



نمودار ۱: میزان فراوانی جزایر و ژن های بیماری زای بر حسب درصد

جزایر بیماری زای $PAI I_{536}$ ، $PAI II_{536}$ و $PAI II_{96}$ در هیچ کدام از جدایه ها مشاهده نشد. در این مطالعه مشخص شد که در بین جدایه های مورد بررسی فقط ۷ جدایه دارای PAI IV_{536} و II_{CF073} بودند. تعداد ۳ جدایه $PAI II_{CF073}$ ، $PAI IV_{536}$ و $PAI I_{536}$ را دارا بودند (جدول ۳).

همچنین $PAI I_{96}$ و $PAI IV_{536}$ را حمل می کردند. یک جدایه $PAI I_{CF073}$ و $PAI IV_{536}$ را دارا بودند (جدول ۳).

جدول ۳: الگوی توزیع جزایر و ژن های بیماری زای اشرشیاکلاهی

ژن ها و جزایر بیماری زای مورد مطالعه در اشرشیاکلاهی جدا شده از نمونه های دستگاه تناسلی زنان												تعداد ایزوله درصد
الگوها	K1	FyuA	PAI ICF073	cvaC	traT	PAI IJ96	PAI IV536	PAI IICF073	PAI I536	PAI II536	PAI IIJ96	
EC* 1	+	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	1(1%)
EC 2	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	1(1%)
EC 3	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	4(4%)
EC 4	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	2(2%)
EC 5	-	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-	1(1%)
EC 6	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	1(1%)
EC 7	-	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	1(1%)
EC 8	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	7(7%)
EC 9	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	1(1%)
EC 10	-	+	-		+	-	+	-	-	-	-	2(2%)
EC 11	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	2(2%)
EC 12	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	1(1%)
EC 13	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	3(3%)
EC 14	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	1(1%)
EC 15	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	12(12%)
EC 16	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	16(15%)
EC 17	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	4(4%)
EC 18	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	6(6%)
EC 19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	38(37%)
جمع	۱۴	۶	۳	۱۰	۴۰	۱	۵۵	۱۴	۰	۰	۰	104(100%)

اشرشیاکلاهی

بحث

اشرشیاکلای به عنوان یک عامل ایجادکننده عفونت دستگاه ادراری-تناسلی در انسان محسوب می شود. در اکثر موارد کلون های یوروپاتوژنیک در روده وجود دارند و تصور می شود که توانایی بالقوه برای بیماری زا بودن سویه های اشرشیاکلای وابسته به حضور جزایر و فاکتورهای بیماری زا باشد (۱۸، ۱۹). بر این اساس، آگاهی بهتر از میزان حضور این فاکتورها به متخصصین بهداشت و درمان این امکان را می دهد که روند پیشرفت عفونت در میزبان و میزان وخامت آن را پیش بینی کنند (۵). مطالعه حاضر بر روی میزان حضور جزایر بیماری زا و بعضی از ژن های کد کننده فاکتورهای بیماری زا در اشرشیاکلای جدا شده از عفونت های سرویکوواژینال زنان مراجعه کننده به درمانگاه های خصوصی زنان در شهر زابل انجام گرفت.

نتایج این مطالعه بیانگر حضور نسبتاً پایین جزایر بیماری زا PAI ، $PAI I_{CFT073}$ ، $PAI II_{CFI073}$ ، $PAI IV_{536}$ در بین جدایه های اشرشیاکلای مولد عفونت های دستگاه تناسلی می باشد. همچنین سه جزیره بیماری زا $PAI I_{536}$ ، $PAI II_{536}$ و $PAI II_{J96}$ در نمونه های این مطالعه مشاهده نگردید. در مطالعه حاضر مشخص شد که از ۱۰۴ جدایه اشرشیاکلای، ۵۷ درصد حداقل یکی از انواع جزایر بیماری زا را دارا بودند. در این مطالعه دریافت شد که شیوع ژن های کد کننده فاکتورهای بیماری زا $cvaC$ ، $K1$ ، $fyuA$ و $traT$ به ترتیب ۱۰ درصد، ۶ درصد، ۱۳ درصد و ۳۸ درصد بود که با مطالعات انجام شده کمتر همخوانی دارد (۲۰، ۲۱). حضور نسبتاً بالای جزیره بیماری زا $PAI IV_{536}$ نسبت به سایر جزایر مورد مطالعه، ممکن است در قدرت بیماری زایی جدایه های حاوی آن دخیل باشد (۲۲، ۲۳). هم سو با مطالعه حاضر سایر گزارشات نشان می دهد که $PAI IV_{536}$ در بیشتر باکتری های خانواده انتروباکتریاسه دیده شده است (۲۲، ۲۴). مطالعات

مختلف نشان داده است که $PAI IV_{536}$ در قدرت بیماری زایی باکتری های اشرشیاکلای خارج روده ای دخیل می باشد. Middendorf و همکاران در سال ۲۰۰۴ گزارش کردند که حضور جزیره $PAI IV$ در اشرشیاکلای ۵۳۶ پایدار و ثابت است که ممکن است دلیل بر فراوانی بالای آن در اکثر جدایه های این مطالعه باشد (۲۵). در یک بررسی، نویدی نیا و همکاران در سال ۲۰۱۳ در تهران نشان داند که ۸۶ درصد از جدایه های جمع آوری شده از عفونت های ادراری کودکان حامل حداقل یکی از جزایر بیماری زا مورد مطالعه بودند (۲۶). از آنجایی که بیشتر فاکتورهای بیماری زا روی عناصر متحرک از جمله جزایر بیماری زا وجود دارند، حضور نسبتاً بالای جزیره $PAI IV_{536}$ در مطالعه حاضر، ممکن است نشان دهنده خطر گسترش وسیع سویه های با قدرت بیماری زایی بالا در میان افراد این منطقه باشد.

Bingen-Bidois و همکاران در سال ۲۰۰۲ با مطالعه ای بر روی میزان حضور جزایر بیماری زا در اشرشیاکلای جدا شده از نمونه های ادراری، نتایجی مخالف با نتایج مطالعه حاضر گزارش کردند. آن ها فراوانی جزایر بیماری زا $PAI IV_{536}$ ، $PAI II_{J96}$ ، $PAI I_{CFT073}$ و $PAI I_{536}$ به ترتیب در ۹۲ درصد، ۲۴ درصد، ۱۹ درصد و ۱ درصد گزارش کردند (۲۷) که دلیل اختلاف ممکن است تفاوت در مکان آناتومیک جداسازی، ناحیه جغرافیایی و یا آب و هوای منطقه باشد. آنچه در این مطالعه مهم و بارز به نظر می رسد وجود شاخص جزیره بیماری زا $PAI IV_{536}$ در مقایسه با سایر جزایر بیماری زا است. این یافته شاید دلالت بر نقش کلیدی ژن های موجود در این جزیره بیماری زا در عفونت های ناشی از اشرشیاکلای دستگاه تناسلی زنان منطقه داشته باشد.

Sabaté و همکاران در سال ۲۰۰۶ میلادی، در مطالعه ای بر روی اشرشیاکلای جدا شده از عفونت های ادراری

بررسی که توسط López-Banda و همکاران در سال ۲۰۱۴ انجام شد، میزان فراوانی ژن *traT*، ژن کد کننده گیرنده آهن *fyuA* و ژن کلی سین *cvaC V* به ترتیب ۷۸، ۴۴ و ۳ درصد در جدایه های /شرشیاکلای گزارش شد (۳۰). در مطالعه ای Ananias و Yano در سال ۲۰۰۸ برخلاف مطالعه حاضر فراوانی ژن *fyuA* را ۸۲ درصد در جدایه های جمع آوری شده از بیماران مبتلا به سپسیس گزارش کردند (۳۱). در یک مطالعه Obata-Yasuoka و همکاران در سال ۲۰۰۲ نشان دادند که ۴۴ درصد از ایزوله های /شرشیاکلای جدا شده از عفونت های دستگاه تناسلی زنان حاوی ژن *K1* بودند (۳). در مطالعه حاضر میزان حضور ژن های فوق از فراوانی کمتری برخوردار بود. در واقع ممکن است ژن های *cvaC*، *fyuA*، *K1* و *traT* در ایجاد عفونت های ناحیه دستگاه تناسلی زنان نقش کمتری داشته باشد که نیاز به بررسی های بیشتر و تکمیلی دارد.

نتیجه گیری

مطالعه حاضر نشان داد که شیوع ژن های بیماری زا و جزایر بیماری زا در میان جدایه /شرشیاکلای جدا از بیماران مبتلا به عفونت های دستگاه تناسلی نسبت به مطالعات مشابه انجام شده روی سویه های /شرشیاکلای یورپا توژنیک نسبتاً پایین است بنابراین ممکن است که ژن های فوق در /شرشیاکلای مولد عفونت های دستگاه تناسلی از اهمیت کمتری برخوردارند.

تقدیر و تشکر

این مطالعه حاصل کار پایان نامه مقطع کارشناسی ارشد در دانشگاه زابل با کد اخلاق IR-UOZ-91005 می باشد. بدین وسیله از کارکنان محترم آزمایشگاه میکروب شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه زابل تشکر و قدردانی می گردد.

نشان دادند که جزایر بیماری زای *PAI IV₅₃₆* در ۸۹ درصد، *PAI I₅₃₆* در ۳۳ درصد، *PAI II₅₃₆* در ۲۰ درصد، *PAI I_{CFT073}* در ۷۳ درصد، *PAI II_{CFT073}* در ۴۶ درصد و *PAI II₉₆* در ۳۴ درصد یافت شد (۱۲). فراوانی پایین تر این فاکتورها در مطالعه حاضر می تواند به دلیل این واقعیت باشد که اختلاف در محل آناتومیکی عفونت ممکن است در میزان فراوانی جزایر بیماری زا تأثیر داشته باشد. فرض دومی این اختلاف، احتمال دارد /شرشیاکلای کمون سال غیر بیماری زا (که حاوی جزایر بیماری زای کمتری هستند) (۲۸) در عفونت های دستگاه تناسلی زنان دخیل باشند. لذا چنین وضعیتی می تواند محققین را به سمت بررسی های بیشتر و تکمیلی هدایت کند. همچنین در مطالعه حاضر، میزان فراوانی فاکتورهای بیماری زا *cvaC*، *fyuA*، *K1* و *traT* به ترتیب ۱۰ درصد، ۶ درصد، ۱۳ درصد و ۳۸ درصد مشاهده شد که با مطالعات انجام شده کمتر همخوانی دارد. نتایج این مطالعه نشان می دهد که ۳۸ درصد از ایزوله ها دارای ژن *traT* هستند. در مطالعه ای Oliviera و همکارانش در سال ۲۰۱۱ در برزیل نشان داد که ۷۶ درصد ایزوله های /شرشیاکلای جدا شده از نمونه های ادراری دارای ژن *traT* بودند (۲۰). در سال ۲۰۱۲، Kudinho و همکارانش میزان فراوانی این ژن ۷۷ درصد گزارش کردند (۲۱). در مطالعه ای که توسط Johnson و Stell بر روی نمونه خون بیماران دچار اوروسپسیس در سال ۲۰۰۰ در آمریکا انجام شد نشان داد که *traT* یک ژن شایع در بیماران دارای نقص ایمنی و افراد با سیستم ایمنی کامل است (۲۹). نتایج مطالعه حاضر با نتایج به دست آمده از این مطالعات همخوانی ندارد. این نتایج نشان می دهد که برخلاف عفونت های ادراری ژن *traT* یک فاکتور مهم و شایع در ایزوله های جدا شده از عفونت های دستگاه تناسلی نیست. در

References

1. West DM, Sprigings KA, Cassar C, Wakeley PR, Sawyer J, Davies RH. Rapid detection of *Escherichia coli* virulence factor genes using multiplex real-time TaqMan PCR assays. *Veterinary microbiology*. 2007;122(3-4):323-31.
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. *Journal of clinical microbiology*. 2003;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;148(9):2745-52.
4. Foxman B. Urinary tract infection syndromes: occurrence, recurrence, bacteriology, risk factors, and disease burden. *Infectious disease clinics of North America*. 2014;28(1):1-13.
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. *International Journal of Infectious Diseases*. 2013;17(6):e450-3.
6. Dobrindt U, Janke B, Piechaczek K, Nagy G, Ziebuhr W, Fischer G, et al. Toxin genes on pathogenicity islands: impact for microbial evolution. *International journal of medical microbiology*. 2000;290(4-5):307-11.
7. Schmidt H, Hensel M. Pathogenicity islands in bacterial pathogenesis. *Clinical Microbiology Reviews*. 2004;17(1):14-56.
8. Karch H, Schubert S, Zhang D, Zhang W, Schmidt H, Ölschläger T, et al. A genomic island, termed high-pathogenicity island, is present in certain non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* clonal lineages. *Infection and immunity*. 1999;67(11):5994-6001.
9. Blattner FR, Plunkett G, 3rd, Bloch CA, et al. The complete genome sequence of *Escherichia coli* K-12. *Science*. 1997;277(5331):1453-62.
10. Phillips AD, Navabpour S, Hicks S, Dougan G, Wallis T, Frankel G. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157: H7 target Peyer's patches in humans and cause attaching/effacing lesions in both human and bovine intestine. *Gut*. 2000;47(3):377-81.
11. Napolitano MG, Almagro-Moreno S, Boyd EF. Dichotomy in the evolution of pathogenicity island and bacteriophage encoded integrases from pathogenic *Escherichia coli* strains. *Infection, Genetics and Evolution*. 2011;11(2):423-36.
12. Sabaté M, Moreno E, Pérez T, Andreu A, Prats G. Pathogenicity island markers in commensal and uropathogenic *Escherichia coli* isolates. *Clinical microbiology and infection*. 2006;12(9):880-6.
13. Samei A, Haghi F, Zeighami H. Distribution of pathogenicity island markers in commensal and uropathogenic *Escherichia coli* isolates. *Folia microbiologica*. 2016;61(3):261-8.
14. Bateman SL, Stapleton AE, Stamm WE, Hooton TM, Seed PC. The type 1 pili regulator gene fimX and pathogenicity island PAI-X as molecular markers of uropathogenic *Escherichia coli*. *Microbiology*. 2013;159(8):1606-17.
15. Rashki A. Cervico-vaginopathogenic *Escherichia coli* in Iran: Serogroup distributions, virulence factors and antimicrobial resistance properties. *Microbial pathogenesis*. 2014;75:29-34.
16. Rahdar M, Rashki A, Miri HR, Ghalehnoo MR. Detection of pap, sfa, afa, foc, and fim Adhesin-Encoding Operons in Uropathogenic *Escherichia coli* Isolates Collected From Patients With Urinary Tract Infection. *Jundishapur journal of microbiology*. 2015;8(8): e22647.
17. Abdi HA, Rashki A. The phylogenetic study of Uropathogenic *Escherichia coli* strains in Sistan of Iran. *Journal of Birjand University of Medical Sciences*. 2014;21(3):385-93.

18. Holoda E, Vu-Khac H, Andraskova S, Chomova Z, Wantrubova A, Krajňák 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 microbiologica*. 2005;50(2):107-12.
19. Momtaz H, Karimian A, Madani M, Dehkordi FS, Ranjbar R, Sarshar M, et al. Uropathogenic *Escherichia coli* in Iran: serogroup distributions, virulence factors and antimicrobial resistance properties. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*. 2013;12(1):8.
20. Oliveira FA, Paludo KS, Arend LN, Farah SM, Pedrosa FO, Souza EM, et al. Virulence characteristics and antimicrobial susceptibility of uropathogenic *Escherichia coli* strains. *Genetic and Molecular Research*. 2011;10(4):4114-25.
21. Kudinha T, Kong F, Johnson JR, Andrew SD, Anderson P, Gilbert GL. Multiplex PCR-based reverse line blot assay for simultaneous detection of 22 virulence genes in uropathogenic *Escherichia coli*. *Applied and environmental microbiology*. 2012;78(4):1198-202.
22. Schubert S, Picard B, Gouriou S, Heesemann J, Denamur E. Yersinia high-pathogenicity island contributes to virulence in *Escherichia coli* causing extraintestinal infections. *Infection and immunity*. 2002;70(9):5335-7.
23. Flannery EL, Mody L, Mobley HL. Identification of a modular pathogenicity island that is widespread among urease-producing uropathogens and shares features with a diverse group of mobile elements. *Infection and immunity*. 2009;77(11):4887-94.
24. Schubert S, Rakin A, Karch H, Carniel E, Heesemann J. Prevalence of the "High-Pathogenicity Island" of Yersinia Species among *Escherichia coli* Strains That Are Pathogenic to Humans. *Infection and immunity*. 1998;66(2):480-5.
25. Middendorf B, Hochhut B, Leipold K, Dobrindt U, Blum-Oehler G, Hacker J. Instability of pathogenicity islands in uropathogenic *Escherichia coli* 536. *Journal of bacteriology*. 2004;186(10):3086-96.
26. Navidinia M, Peerayeh SN, Fallah F, Bakhshi B, Adabian S, Alimehr S, et al. Distribution of the Pathogenicity Islands Markers (PAIs) in Uropathogenic *E. coli* Isolated from Children in Mofid Children Hospital. *Archives of Pediatric Infectious Diseases*. 2013;1(2):75-9.
27. Bingen-Bidois M, Clermont O, Bonacorsi S, Terki M, Brahimi N, Loukil C, et al. Phylogenetic analysis and prevalence of urosepsis strains of *Escherichia coli* bearing pathogenicity island-like domains. *Infection and immunity*. 2002;70(6):3216-26.
28. Houdouin V, Bonacorsi S, Bidet P, Bingen-Bidois M, Barraud D, Bingen E. Phylogenetic background and carriage of pathogenicity island-like domains in relation to antibiotic resistance profiles among *Escherichia coli* urosepsis isolates. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2006;58(4):748-51.
29. Johnson JR, Stell AL. Extended virulence genotypes of *Escherichia coli* strains from patients with urosepsis in relation to phylogeny and host compromise. *Journal of Infectious Diseases*. 2000;181(1):261-72.
30. López-Banda DA, Carrillo-Casas EM, Leyva-Leyva M, Orozco-Hoyuela G, Manjarrez-Hernández ÁH, Arroyo-Escalante S, et al. Identification of virulence factors genes in *Escherichia coli* isolates from women with urinary tract infection in Mexico. *BioMed Research International*. 2014;2014: :959206.
31. Ananias M, Yano T. Serogroups and virulence genotypes of *Escherichia coli* isolated from patients with sepsis. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 2008;41(10):877-83.