مجله دانشگاه علوم پزشکی جیرفت

سال ۳ (۱)، خرداد ۱۳۹۶، صفحه ۲۲-۱۲

مقاله پژوهشی

میزان توزیع جزایر بیماری‌زا در جدایه های *اشرشیاکلای* جمع آوری شده از بیماران مراجعه‌کننده به درمانگاه‌های زنان در شهرستان زابل به روش Multiplex-PCR

احمد راشکی[1*]، میلاد شکوهی[2]

[1] دانشیار، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

[2] 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 به‌منظور تعیین میزان توزیع جزایر بیماری‌زا در جدایه های *اشرشیاکلای* جمع‌آوری شده از بیماران مراجعه‌کننده به درمانگاه‌های زنان در شهرستان زابل بوده است.

روش‌کار: در مجموع ۳۸۲ نمونه سواب از ترشحات واژن و اندوسرویکس در طی شش ماه، از بهمن تا مرداد ۹۱، جمع‌آوری شد .تعداد ۱۰۴ ایزوله، اشریشیاکلای 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 $PAI\ I_{535}$، $PAI\ II_{535}$، $PAI\ IV_{536}$، $PAI\ I_{CFT073}$، $PAI\ II_{CFT073}$، $PAI\ I_{J96}$ و $PAI\ II_{J96}$ و ژن های بیماری‌زای *traT*، *k1*، *FyuA* و *cvaC* به روش Multiplex-PCR استفاده شد.

یافته‌ها: میزان حضور ژن‌های *traT*، *k1*، *FyuA* و *cvaC* در بین ۱۰۴ جدایه به ترتیب ۳۸، ۱۴ و ۶ درصد و جزایر بیماری‌زای $PAI\ I_{CFT073}$، $PAI\ II_{CFTO73}$، $PAI\ II_{536}$ و $PAI\ I_{J96}$ به ترتیب ۳، ۱۳، ۵۳ و ۱ درصد تعیین گردید. همچنین سه جزیره بیماری‌زای $PAI\ I_{536}$، $PAI\ II_{536}$ و $PAI\ II_{J96}$ در جدایه های این مطالعه مشاهده نگردید.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که ژن *traT* و جزیره $PAI\ IV_{536}$ بیشترین حضور را در بین *اشرشیاکلای* جداشده 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 به‌عنوان 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

***مولف مسئول**

احمد راشکی

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

تلفن: ۰۵۴۲۴۲۸۲۲۵۰

پست الکترونیک:

ah_rashki@usal.es

[Downloaded from journal.jmu.ac.ir on 2026-11-12]

Journal of Jiroft University of Medical Sciences

Vol. 3, No. 1, June 2017, P.12-22

Original Article

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 Shokohi[2]

[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، 382cervico-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.

[Downloaded from journal.jmu.ac.ir on 2026-11-12]

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 نماید(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 ۱۰-۲۰۰Kb هستند که ژن‌های کد کننده فاکتورهای بیماری‌زا را در خود جای داده‌اند(۶). تاکنون در سویه *اشرشیاکلای* یوروپاتوژنیک ۵۳۶ چهار جزیره بیماری‌زا (I_{536} IV_{536}، II_{536} و III_{536}) شناسایی شده است که یک کپی از اوپرون های hly و پیلوس p بر آن‌ها قرار دارد(۸). جزایر بیماری‌زای $PAI\ I_{j96}$ و $PAI\ II_{j96}$ همچنین در سویه *اشرشیاکلای* J96 شناسایی شده که حاوی ژن‌های اپرون 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 جدایه های *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 غشائی)، *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 جدایه های 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

[Downloaded from journal.jmu.ac.ir on 2026-11-12]

دستگاه تناسلی زنان مراجعه‌کننده به درمانگاه‌های زنان در شهرستان زابل انجام شد.

روش کار

این مطالعه بر روی ۱۰۴ جدایه *اشرشیاکلای* جمع‌آوری 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) مراجعه‌کننده به درمانگاه‌های خصوصی زنان در طی شش ماه از بهمن ۹۱ تا مرداد شهرستان زابل صورت پذیرفت. تمام نمونه‌ها بر روی محیط‌های مکانکی و آگار خونی به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷°C کشت داده شدند.جدایه های باکتریایی با استفاده از آزمون‌های استاندارد بیوشیمیایی و میکروب‌شناسی زیر تعیین هویت شدند :رنگ‌آمیزی گرم، بررسی میکروسکوپی، کشت بر روی محیط‌های مکانکی آگار، Sulfide indole)SIM(motility،TSI(Triple sugar iron) آزمون‌های اکسیداز، لیزین دکربوکسیلاز، متیل رد وگس پروسکائر(۱۶). همه جدایه‌ها در محیط با ۲۰ درصد گلیسرول در Tryptic) TSB (soy broth دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره شدند.

استخراج DNA ژنومی: ابتدا جدایه های *اشرشیاکلای* روی محیط مایع Tryptic Soy Broth (HIMEDIA کشور هند) در دمای ۳۷°C به مدت ۲۴-۱۸ ساعت گرما گذاری گردید. سپس باکتری‌های رشد یافته از محیط مایع به‌وسیله سانتریفوژ جدا گردید.

جدول ۱: توالی پرایمرهای استفاده شده در این مطالعه

نام پرایمر		توالی(′۳-′۵)	طول(bp)	منابع
PAI I536	F	TAA TGC CGG AGA TTC ATT GTC		
	R	AGG ATT TGT CTC AGG GCT TT	1802	27
	F	CAT GTC CAA AGC TCG AGC C		
PAI II536	R	CTA CGT CAG GCT GGC TTT G	1042	27
	F	AAG GAT TCG CTG TTA CCG GAC		
PAI IV536	R	TCG TCG GGC AGC GTT TCT TCT	287	27
	F	GGA CAT CCT GTT ACA GCG CGC A		
PAI ICFT073	R	TCG CCA CCA ATC ACA GC GAA C	930	27
	F	ATG GAT GTT GTA TCG CGC		
PAI IICFT073	R	ACG AGC ATG TGG ATC TGC	421	27
	F	TCG TGC TCA GGT CCG GAA TTT		
PAI IJ96	R	TGG CAT CCC ACA TTA TCG	461	27
	F	GGA TCC ATG AAA ACA TGG TTA ATG GG		
PAI IIJ96	R	GAT ATT TTT GTT GCC ATT GGT TAC C	2300	27
	F	TAGCAAACG TTC TAT TGGTGC		
K1	R	CAT CCA GAC GAT AAG CAT GAG CA	151	این مطالعه
	F	CAC ACA CAA ACG GGA GCT GTT		
CvaC	R	CTT CCC GCA GCA TAG TTC CAT	677	27
FyuA	F	TGA TTA ACC CCG CGA CGG AA	752	27
	R	CGC AGT AGG CAC GAT CTT GTA		
TraT	F	GGT GTG GTG CGA TGA GCA CAG	288	30
	R	CAC GGT TCA GCC ATC CCT GAG		

*توالی پرایمرها از منابع ذکر شده انتخاب شده است و صحت توالی و طول قطعه‌های پیش‌بینی شده توسط برنامه primer –blast سایت NCBI مورد بررسی قرار گرفت.

[Downloaded from journal.jmu.ac.ir on 2026-11-12]

سلول‌ها طی دو مرحله با محلول Phosphate-buffered saline (PBS1) درصد شستشوی داده شدند و در ۲۰۰ میکرو لیتر آب مقطر استریل به‌صورت سوسپانسیون درآمدند. سوسپانسیون به مدت ۱۰ دقیقه در درجه حرارت $^{\circ}C$۹۵ جوشانده شد(۱۷). پس از سانتریفیوژ، محل رویی حاوی DNA الگو در $^{\circ}C$۲۰- به‌منظور انجام واکنش PCR ذخیره شد.

آزمون Multiplex-PCR

برای شناسایی حضور ژن‌های کد کننده فاکتورهای بیماری‌زا *cvaV*، *fyuA*، *k1* و *traT* و جزایر بیماری‌زا در جدایه 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 سیکل‌های PCR در جدول ۲ آمده است.

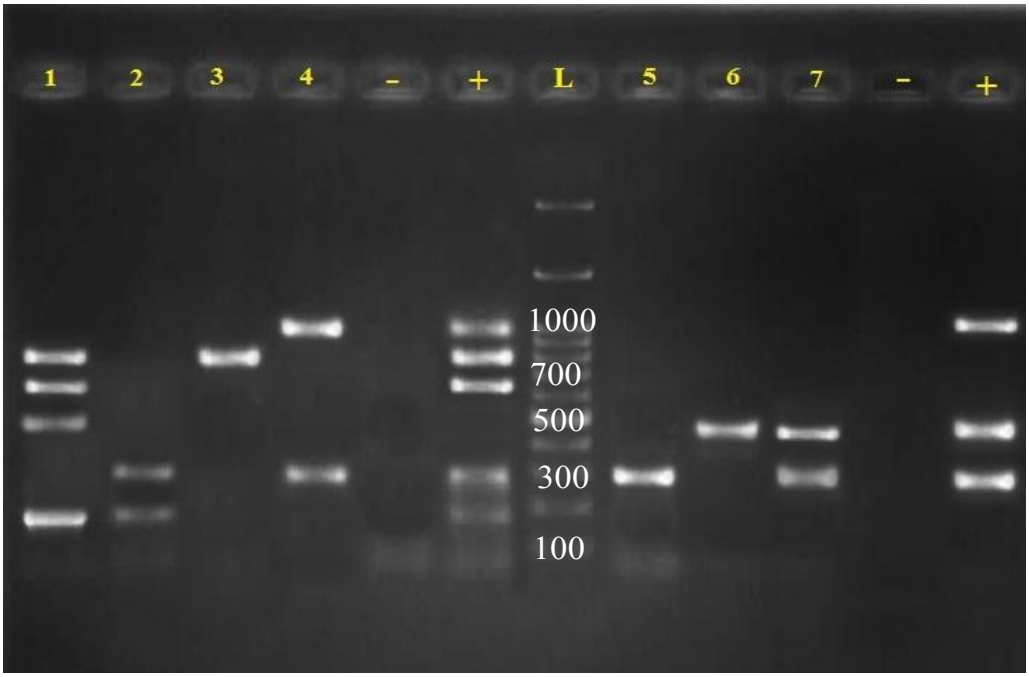
جدول ۲: برنامه- Multiplex-PCR ژن‌های بیماری‌زا

ژن هدف	برنامه Multiplex-PCR	
K1، traT، PAI I_{j96}،cvaC،fyuA،PAI I_{cft073}	1 cycle 95 ºC ----------5 min 30 cycle 94 ºC----------50 s 58 ºC----------30 s 72 ºC----------30 s 1 cycle 72 ºC----------6 min	برنامه Multiplex1
PAI I_{536}، PAI II_{536}،PAI II_{j96}، PAI IV_{536}, PAI II_{cfto73}	1 cycle 95 ºC ----------5 min 30 cycle 94 ºC----------50 s 60 ºC----------30 s 72 ºC----------30 s 1 cycle 72 ºC----------6 min	برنامه Multiplex2

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) (Fermantas ارزیابی شد (شکل ۱).

قطعات تکثیر شده توسط تعیین توالی و هضم آنزیمی توسط آنزیم‌های *TfiI* و *AluI* تأیید گردید. جدایه‌های ECR06 ($K1^{+}$، $PAI\ II_{536}^{+}$، $PAI\ I_{CFT073}^{+}$، $FyuA^{+}$ و $CvaC^{+}$) و ECR39($PAI^{+}\ I_{J96}$، $PAI\ I_{CFT073}^{+}$ و $TraT^{+}$) که قبلاً توسط تعیین توالی حضور ژن‌های ذکر شده تأیید شده بود، به‌عنوان کنترل مثبت و اشرشیاکلای سویه DH5α کنترل منفی استفاده شد.

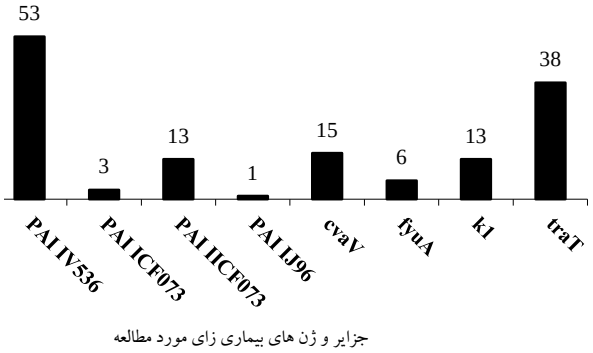
[Downloaded from journal.jmu.ac.ir on 2026-11-12]



شکل ۱: نمونه‌ای از Multiplex-PCR بارگزاری شده به ژل آگاروز ۲ درصد را نشان می‌دهد. در این بارگذاری از لدر ۱۰۰ جفت باز استفاده شده است. چاهک ۱(K1، $PAI\ I_{J96}$، FyuA و CvaC)، چاهک ۲ (K1 و $PAI\ IV_{536}$)، چاهک ۳ (CvaC)، چاهک ۴ ($PAI\ IV_{536}$ و $PAI\ I_{CFT073}$)، چاهک - (کنترل منفی)، چاهک + کنترل مثبت، چاهک ۵($PAI\ IV_{536}$)، چاهک ۶($PAI\ I_{J96}$) و چاهک ۷($PAI\ IV_{536}$ و $PAI\ I_{J96}$)

یافته‌ها

از میان ۱۰۴ جدایه *اشرشیاکلای* 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 جدایه‌ها حداقل یکی از جزایر بیماری‌زای مورد مطالعه را حمل می‌کنند. در بین جدایه های مورد بررسی جزیره بیماری‌زای $PAI\ IV_{536}$ بیشترین درصد فراوانی را به خود اختصاص داده است و میزان توزیع جزایر بیماری‌زای $PAI\ II_{CF073}$، $PAI\ I_{CF073}$ و $PAI\ I_{J96}$ به ترتیب در رده‌های بعدی قرار گرفتند (نمودار ۱).



نمودار ۱: میزان فراوانی جزایر و ژن‌های بیماری‌زا بر حسب درصد

[Downloaded from journal.jmu.ac.ir on 2026-11-12]

جزایر بیماری‌زای $PAI\ I_{536}$، $PAI\ II_{536}$ و $PAI\ II_{J96}$ در هیچ‌کدام از جدایه‌ها مشاهده نشد. در این مطالعه مشخص شد که در بین جدایه‌های مورد بررسی فقط ۷ جدایه دارای $PAI\ II_{CF073}$ و $PAI\ IV_{536}$ بودند. تعداد ۳ جدایه $PAI\ II_{CF073}$، $PAI\ I_{CF073}$ و $PAI\ IV_{536}$ را حمل می‌کردند. یک جدایه همچنین $PAI\ IV536$ و $PAI\ I_{J96}$ را دارا بودند (جدول ۳).

جدول ۳: الگوی توزیع جزایر و ژن‌های بیماری‌زای *اشرشیاکلای*

الگوها	ژن‌ها و جزایر بیماری‌زای مورد مطالعه در اشرشیاکلای جدا شده از نمونه‌های دستگاه تناسلی زنان											تعداد ایزوله درصد
	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%)

*اشرشیاکلای

[Downloaded from journal.jmu.ac.ir on 2026-11-12]

بحث

اشـــرشـــیاکلای به‌عنوان یک عامل ایجادکننده عفونت د ستگاه ادراری-تنا سلی در انسان محسوب می شود. در اکثر موارد کلون‌های یوروپاتوژنیک در روده وجود دارند و تصـور می‌شـود که توانایی بالقوه برای بیماری‌زا بودن سـویه های *اشـرشـیاکلای* وابسته به حضـور جزایر و فاکتورهای بیماری‌زا باشد(۱۸, ۱۹). بر این اساس، آگاهی بهتر از میزان حضور این فاکتورها به متخصصین بهداشت و درمان این امکان را می‌دهد که روند پیشـرفت عفونت در میزبان و میزان وخامت آن را پیش‌بینی کنند(۵). مطالعه حاضـر بر روی میزان حضـور جزایر بیماری‌زا و بعضـی از ژن‌های کد کننده فاکتورهای بیماری‌زا در *اشرشیاکلای* جدا شده از عفونت‌های سرویکوواژینال زنان مراجعه‌کننده به درمانگاه‌های خصـوصـی زنان در شـهر زابل انجام گرفت.

نتایج این مطالعه بیانگر حضـور نسـبتاً پایین جزایر بیماری‌زای PAI IV_{536}، PAI II_{CFI073}، PAI I_{CFT073} ، PAI I_{J96} در بین جدایه های *اشرشیاکلای* مولد عفونت‌های د ستگاه تناسـلی می‌باشـد. همچنین سـه جزیره بیماری‌زای PAI I_{536}، PAI II_{536} و PAI II_{J96} در نمونه های این مطالعه مشـاهده نگردید. در مطالعه حاضـر مشـخص شـد که از ۱۰۴ جدایه اشرشیاکلای، ۵۷ درصد حداقل یکی از انواع جزایر بیماری‌زا را دارا بودند. در این مطالعه دریافت شد که شیوع ژن‌های کد کننده فاکتورهای بیماری‌زا *cvaC*، *fyuA*، *K1* و *traT* به ترتیب ۱۰ در صد، ۶ در صد، ۱۳ در صد و ۳۸ در صد بود که با مطالعات انجام شده کمتر همخوانی دارد(۲۰, ۲۱). حضور نسبتاً بالای جزیره بیماری‌زای *PAI IV536* نسـبت به سـایر جزایر مورد مطالعه، ممکن اسـت در قدرت بیماری‌زایی جدایه های حاوی آن دخیل باشد(۲۲, ۲۳). همسو با مطالعه حاضر سایر گزارشات نشان می‌دهد که PAI IV_{536} در بیشتر باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسـه دیده شـده اسـت(۲۲, ۲۴). مطالعات مختلف نشان داده است که PAI IV_{536} در قدرت بیماری‌زایی باکتری‌های *اشـرشـیاکلای* خارج روده‌ای دخیل می‌باشـد. Middendorf و همکاران در سـال ۲۰۰۴ گزارش کردند که حضـور جزیره PAI IV در *اشـرشـیاکلای* ۵۳۶ پایدار و ثابت است که ممکن است دلیل بر فراوانی بالای آن در اکثر جدایه های این مطالعه باشـد(۲۵). در یک بررسـی، نویدی نیا و همکاران در سـال ۲۰۱۳ در تهران نشـان داند که ۸۶ درصـد از جدایه های جمع‌آوری شـده از عفونت‌های ادراری کودکان حـامـل حـداقـل یکی از جزایر بیمـاری‌زای مورد مطـالعـه بودند(۲۶). از آنجایی که بیشـتر فاکتورهای بیماری‌زا روی عناصـر متحرک از جمله جزایر بیماری‌زا وجود دارند، حضـور نسبتاً بالای جزیره PAI IV_{536} در مطالعه حاضر، ممکن است نشان‌دهنده خطر گسترش وسیع سویه‌های با قدرت بیماری‌زایی بالا در میان افراد این منطقه باشد.

Bingen-Bidois و همکاران در سال ۲۰۰۲ با مطالعه‌ای بر روی میزان حضـور جزایر بیماری‌زا در *اشـرشـیاکلای* جدا شده از نمونه‌های ادراری، نتایجی مخالف با نتایج مطالعه حاضر گزارش کردند. آن‌ها فراوانی جزایر بیماری‌زای *PAI IV536*، PAI II_{J96}، PAI I_{CFT073} و PAI I_{536} به ترتیب در ۹۲ درصد، ۲۴ در صد، ۱۹ در صد و ۱ در صد گزارش کردند(۲۷) که دلیل اختلاف ممکن است تفاوت در مکان آناتومیک جداسازی، ناحیه جغرافیایی و یا آب و هوای منطقه باشـد. آنچه در این مطالعه مهم و بارز به نظر می‌رسـد وجود شـاخص جزیره بیماری‌زای *PAI IV536* در مقایسـه با سـایر جزایر بیماری‌زا است. این یافته شاید دلالت بر نقش کلیدی ژن‌های موجود در این جزیره بیماری‌زا در عفونت‌های ناشـی از *اشـرشـیاکلای* دستگاه تناسلی زنان منطقه داشته باشد.

Sabaté و همکـاران در سـال ۲۰۰۶ میلادی، در مطالعه‌ای بر روی *اشرشیاکلای* جدا شده از عفونت‌های ادراری

[Downloaded from journal.jmu.ac.ir on 2026-11-12]

نشـان دادند که جزایر بیماری‌زای *PAI IV*$_{536}$ در 89 درصـد، *PAI I*$_{536}$ در ۳۳ درصـد، *PAI II*$_{536}$ در ۲۰ درصـد، *PAI I*$_{CFT073}$ در ۷۳ درصـد، *PAI II*$_{CFT073}$ در ۴۶ درصـد و *PAI II*$_{J96}$ در ۳۴ درصـد یافت شـد (۱۲). فراوانی پایین‌تر این فاکتورها در مطالعه حاضـر می‌تواند به دلیل این واقعیت باشـد که اختلاف در محل آناتومیکی عفونت ممکن اسـت در میزان فراوانی جزایر بیماری‌زا تأثیر داشـته باشـد. فرض دومی این اختلاف، احتمال دارد *اشـرشـیاکلای* کمونسـال غیر بیماری‌زا (کـه حـاوی جزایر بیمـاری‌زای کمتری هسـتنـد)(۲۸) در عفونت‌های دسـتگاه تناسـلی زنان دخیل باشـند. لذا چنین وضـعیتی می‌تواند محققین را به سـمت بررسـی‌های بیشـتر و تکمیلی هدایت کند. همچنین در مطالعه حاضـر، میزان فراوانی فاکتورهای بیماری‌زا *cvaC*، *fyuA*، *K1* و *traT* به ترتیب ۱۰ در صد، ۶ در صد، ۱۳ در صد و ۳۸ در صد مشاهده شد که با مطالعات انجام شده کمتر همخوانی دارد. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که ۳۸ درصـد از ایزوله‌ها دارای ژن *traT* هسـتند. در مطالعه‌ای Oliviera و همکارانش در سـال ۲۰۱۱ در برزیل نشان داد که ۷۶ در صد ایزوله‌های *شرشیاکلای* جدا شده از نمونه‌های ادراری دارای ژن *traT* بودند(۲۰). در سـال ۲۰۱۲، Kudinho و همکـارانش میزان فراوانی این ژن۷۷ درصـد گزارش کردند(۲۱). در مطالعه‌ای که توسـط Johnson و Stell بر روی نمونه خون بیماران دچار اوروسپسیس در سال 2000در 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 می‌دهد که برخلاف عفونت‌های ادراری ژن *traT* یک فاکتور مهم و شـایع در ایزوله‌های جدا شده از عفونت‌های دستگاه تناسلی نیست. در بررسی که توسط López-Banda و همکاران در سال ۲۰۱۴ انجام شـد، میزان فراوانی ژن *traT*، ژن کد کننده گیرنده آهن *fyuA* و ژن کلی سین *cvaC V* به ترتیب ۷۸، ۴۴ و ۳ در صد در جدایه های *اشـرشـیاکلای* گزارش شـد(۳۰). در مطالعه‌ای Ananias و Yano در سـال ۲۰۰۸ برخلاف مطالعه حاضـر فراوانی ژن *fyuA* را ۸۲ در صد در جدایه‌های جمع‌آوری شده از بیماران مبتلا به سپسیس گزارش کردند(۳۱). در یک مطالعه Obata-Yasuoka و همکاران در سال ۲۰۰۲ نشـان دادند که ۴۴ در صد از ایزوله‌های *شرشیاکلای* جدا شده از عفونت‌های دسـتگاه تناسـلی زنان حاوی ژن *K1* بودند(۳). در مطالعه حاضر میزان حضور ژن‌های فوق از فراوانی کمتری برخوردار بود. در واقع ممکن اسـت ژن‌های *cvaC*، *fyuA*، *K1* و *traT* در ایجاد عفونت‌های ناحیه دستگاه تناسلی زنان نقش کمتری داشته باشد که نیاز به بررسی‌های بیشتر و تکمیلی دارد.

نتیجه‌گیری

مطالعه حاضـر نشـان داد که شـیوع ژن‌های بیماری‌زا و جزایر بیماری‌زا در میان جدایه *اشـرشـیاکلای* جدا از بیماران مبتلا به عفونت‌های دسـتگاه تناسـلی نسـبت به مطالعات مشـابه انجام شده روی سویه‌های *شرشیاکلای* یوروپاتوژنیک نسبتاً پـایین اسـت بنـابراین ممکن اسـت کـه ژن‌هـای فوق در *اشـرشـیاکلای* مولد عفونت‌های دسـتگاه تناسـلی از اهمیت کمتری برخوردارند.

تقدیر و تشکر

این مطالعه حاصل کار پایانامه مقطع کارشناسی ارشد در دانشـگاه زابل با کد اخلاق IR-UOZ-91005 می باشـد. بدین‌وسـیله از کارکنان محترم آزمایشـگاه میکروب‌شـناسـی دانشکده دامپزشکی دانشگاه زابل تشکر و قدردانی می‌گردد.

[Downloaded from journal.jmu.ac.ir on 2026-11-12]

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.

[Downloaded from journal.jmu.ac.ir on 2026-11-12]

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.

[Downloaded from journal.jmu.ac.ir on 2026-11-12]