JVM Journal of Veterinary Microbiology

نشریه میکربیولوژی دامپزشکی/ دوره دوازدهم، شماره اول، ۱۳۹۵، پیاپی ۳۲: ۶۸-۶۱

شناسایی ژن عامل تورم و مرگ سلول(cdt) در سویه های *اشریشیا کلی* جداشده از کلی باسیلوز طیور

خاطره کفشدوزان[1*]، تقی زهرایی صالحی[2]

۱- استادیار گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران

۲- استاد بخش میکروب شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۲۶ آبان ۱۳۹۳ *تاریخ پذیرش: ۲۰ خرداد ۱۳۹۴*

چکیده: *عامل تورم و مرگ سلول(cdt) توکسینی است که حضور آن در بسیاری از باکتریهای بیماریزای گرم منفی نظیر اشریشیا کلی، اشریشیا آلبرتی، گونه های مختلف کمپیلوباکتر و شیگلا گزارش شده است. سویه های اشریشیا کلی تولید کننده این توکسین از بیماران مبتلا به گاستروانتریت، عفونت های دستگاه ادراری و سپتی سمی در انسان جداسازی شده است. منبع عفونت در انسان تاکنون ناشناخته مانده است. از آنجایی که گوشت و فرآورده های آن، یکی از علل مهم عفونت های ناشی از مواد غذایی محسوب می‌شوند و نیز با توجه به اهمیت گوشت مرغ به عنوان یکی از منابع مهم تأمین پروتئین حیوانی درایران، هدف از این مطالعه، بررسی حضور این ژن در اشریشیا کلی های جدا شده از موارد کلی باسیلوز طیور در نظر گرفته شد. جهت دستیابی به این منظور ۲۴۶ نمونه اشریشیا کلی‌جدا شده از کلی باسیلوز و ۵۴ نمونه جدا شده از کلواک پرندگان به ظاهر سالم از چندین آزمایشگاه دامپزشکی سطح شهر تهران و مزارع پرورش مرغ گوشتی جمع آوری گردیده و حضور ژن تولید کننده این توکسین با روش کلونی هیبریداسیون مورد بررسی قرار گرفت. تنها۱/۶۲ درصد از سویه های جدا شده از موارد کلی باسیلوز واجد این ژن تشخیص داده شدند. درحالیکه در هیچ یک از سویه‌های مدفوعی ژن عامل این توکسین مشاهده نگردید. با توجه به‌میزان حضور کم این ژن در سویه های جدا شده از طیور میتوان اظهار داشت، گوشت مرغ در انتقال این توکسین از طریق باکتری اشریشیا کلی نقش چندان موثری ندارد. اگرچه انتقال از طریق سایر باکتری‌های گرم منفی بیماری‌زا در طیورنظیر کمپیلوباکتردوراز انتظار نیست.*

کلمات کلیدی: *ژن عامل تورم و مرگ سلول، اشریشیاکلی، کلی باسیلوز طیور*

**نویسنده مسئول: خاطره کفشدوزان*

آدرس: گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران. تلفن:۰۲۳۳۳۶۶۴۸۹۳

پست الکترونیک: kafshdouzan@semnan.ac.ir

مقدمه

اشریشیاکلی فلور طبیعی دستگاه گوارش انسان و حیوانات خونگرم است و یکی از اعضای مهم خانواده انتروباکتریاسه محسوب می‌شود. علیرغم اینکه این باکتری فلور طبیعی دستگاه گوارش است، تعدادی از سویه‌ها به دلیل حضور برخی عوامل حدت خاص موجب بروز بیماری های مختلفی نظیر گاسترو انتریت، عفونت های دستگاه ادراری - تناسلی، عفونت تنفسی و مننژیت نوزادان در انسان و حیوانات می شوند. کلی باسیلوز یکی از بیماری های بسیار شایع صنعت طیور است که توسط گروهی از *اشریشیاکلی* های بیماریزا در خارج از دستگاه گوارش ایجاد می‌شود (8) (ExPEC). در پرندگان به این دسته از باکتری ها *اشریشیاکلی های* بیماریزا در پرندگان (APEC) اطلاق می‌شود. این بیماری بسته به حدت سویه، وضعیت میزبان و حضور انواع عوامل مستعدکننده باعث ایجاد عوارض متعددی در ارگانهای مختلف می‌شود. از عوارض مهم این بیماری می‌توان به سپتی سمی، پریکاردیت، پری هپاتیت، التهاب کیسه‌های هوایی، التهاب و عفونت مجاری تخمدان، و سندروم کله بادی اشاره کرد (۷).

با تشخیص حضور عوامل حدتی نظیر ژن‌های کدکننده فاکتورهای چسبندگی، تهاجم، ملکول‌های سطح سلولی، ملکول‌های ترشحی، عوامل انتقال و سیدروفورها میتوان سویه های بیماریزا را از سویه‌های غیر بیماریزا تفریق کرد(۶).

حضور عوامل حدتی نظیر ژن عامل تورم و مرگ سلول(*cdt*) با بیماریزایی *اشریشیاکلی* در دستگاه گوارش و خارج از آن مرتبط است. این ژن اولین بار در سال ۱۹۸۷ از بیماران مبتلا به اسهال ناشی از *اشریشیاکلی* جداسازی شد و حضور آن در پاتوتیپ‌های مختلف نظیر *اشریشیاکلی‌های* انتروپاتوژنیک به اثبات رسیده است (۱۲). ژن کدکننده این توکسین، به طور گسترده‌ای در میان باکتری های گرم منفی نظیر *اشریشیاکلی*، گونه‌های مختلف کمپیلوباکتر، هموفیلوس، شیگلا و سالمونلا انتریکا سروار تیفی موریوم حضور دارد (۵).

توکسین کامل هتروتریمری متشکل از سه زیر واحد پروتئینی Cdt A, Cdt B, Cdt C است که به وسیله سه ژن مجاور که گاهی اوقات به میزان کمی با یکدیگر همپوشانی دارند کد می شود. برای تولید توکسین فعال بیان هر سه ژن لازم است. زیر واحد Cdt B زیر واحد فعال این توکسین است که واجد فعالیت دزوکسی ریبونوکلئاز می‌باشد. این آنزیم به آنزیم DNas I پستانداران شباهت زیادی دارد (۲). مطالعات نشان میدهد زیر واحد A و C در انتقال زیر واحد B به سلول هدف نقش ایفا می کنند. پس از ورود به سلول هدف، Cdt B، که واجد فعالیت DNase می‌باشد، باعث تخریب DNA میشود. به دنبال شکست اتصالات DNA، توقف غیر قابل بازگشت چرخه سلولی در فاز G2/ M رخ میدهد که به مرگ سلول می‌انجامد. این توکسین به وسیله پاتوتیپ های مختلف *اشرشیاکلی* نظیر انترو هموراژیک، انتروپاتوژنیک و همچنین پاتوتیپ های بیماریزا در خارج از دستگاه گوارش تولید میشود. تاکنون پنج نوع مختلف این توکسین در *اشرشیاکلی* شناسایی شده است (CDT I – V). نوع سه، عمدتا در جدایه‌های حیوانی و نوع یک و دو در جدایه های انسانی شایعند (۱۳،۲). نقش توکسین CDT در بیماریزایی *اشریشیاکلی* در پرندگان به اثبات نرسیده است، اما حضور این ژن در سویه های جدا شده از کلی باسیلوز طیور و مدفوع پرندگان به ظاهر سالم، بیانگر این مطلب است که پرندگان میتوانند حاملین بالقوه ژن تولید کننده این توکسین باشند. با توجه به اهمیت این

ژن در سویه های انترو پاتوژنیک و انتروهموراژیک و همچنین عوارض گوارشی ناشی از آن در انسان، انتقال باکتری واجد این ژن از طریق مصرف گوشت آلوده طیور، ممکن است منجر به ایجاد عوارض گوارشی مشابه در انسان شود. به همین خاطر به منظور شناسایی منابع بالقوه آلودگی در ایران، هدف از این مطالعه شناسایی سویه‌های واجد ژن cdt در *اشریشیاکلی*‌های جدا شده از موارد کلی باسیلوز و هچنین مدفوع پرندگان به ظاهر سالم میباشد. آگاهی از میزان حضور این ژن در درک ارتباط احتمالی این توکسین با بیماری در پرندگان نیز حائز اهمیت می‌باشد.

مواد و روش کار

نمونه برداری: جهت شناسایی جدایه‌های واجد ژن *cdt* در مجموع سیصد نمونه *اشریشیا کلی*، شامل ۲۴۶ نمونه جدا شده از دستگاه تنفس لاشه طیور مبتلا به کلی باسیلوز، مراجعه شده به آزمایشگاه‌های دامپزشکی در شهر تهران و ۵۴ نمونه از کلواک پرندگان به ظاهر سالم، به عنوان شاهد از سه مزرعه پرورش مرغ گوشتی متفاوت اخذ گردید. هر سوآب در محیط انتقالی Amies (Difco,USA) قرار گرفته و در کوتاهترین زمان ممکن به آزمایشگاه میکروبیولوژی منتقل گردید.

روش کشت و جداسازی

هر یک از نمونه‌ها به صورت خطی روی محیط مکانکی آگار (Merck, Germany) کشت داده شد. سپس ۴-۳ پرگنه لاکتوز مثبت مشکوک به *اشریشیا کلی* به وسیله آنس استریل برداشته شده و در محیط‌های اوره و TSI کشت گردید. جدایه‌های قادر به تخمیر قند لاکتوز که از نظر حضور آنزیم اوره آز منفی بودند، از لحاظ سایر خصوصیات بیوشیمیایی از جمله تولید اندول، عدم استفاده از سیترات به عنوان منبع کربن و تخمیر اسیدهای مخلوط (آزمایش MR) مورد بررسی قرار گرفتند. پس از کشت در محیط EMB آگار (Merck, Germany) جدایه‌های تایید شده به عنوان *اشریشیا کلی* جهت انجام تست کلونی هیبریداسیون در محیط BHI حاوی ۳۰ در صد گلیسرول در دمای ۲۰- درجه نگهداری شدند.

سنتز کاوشگر نشاندار و کلونی هیبریداسیون: از روش Wu و همکاران (۲۰۱۰) جهت ردیابی این ژن به روش کلونی هیبریداسیون استفاده شد. دراین مطالعه پاتوتیپ STEC O113: NM به عنوان کنترل مثبت و *اشریشیاکلی* سویه C600 به عنوان کنترل منفی مورد استفاده قرار گرفت. سه ژن *cdt IB,cdt IIIB, cdt IVB* با استفاده از پرایمرهای اختصاصی، DNA بدست آمده با روش جوشانیدن در بافر TE و شرایط دمایی مندرج در جدول یک با استفاده از کیت (Takara Bio. Inc [Shiga Japan]) و ترموسایکلر (Gene Amp PCR system 2400 or 9700,Applied Biosystems) تکثیر شده و در ژل آگارز ۱/۵درصد الکترفورز گردید. فراورده‌های حاصل از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با استفاده از کیت QIAGEN GmbH, Hilden (Germany) خالص شده و پس از تعیین توالی با کیت Big Dye terminator sequencing cycle با استفاده از دستگاه ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer(Applied Biosystems, Foster city CA) و اطمینان از توالی مورد نظر سنتز کاوشگر با استفاده از مخلوط این سه ژن با روش آغاز گرهای تصادفی با استفاده از کیت Amersham Mega prime DNA labeling System مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده صورت گرفت. نشانگر تهیه شده با استفاده از مخلوط سه ژن مورد استفاده در این مطالعه، قادر به شناسایی هر پنج نوع ژن کدکننده این توکسین می‌باشد(۱۵).

جدایه‌های خالص گلیسرینه *اشریشیا کلی* درمحیط آگار مکانکی کشت داده شد و سپس کلونی‌های خالص به غشاء نیتروسلولزی (Schleicher & Schuell, Dassal, Germany) منتقل گردیدند. کلونی هیبریداسیون در شرایط سخت (غلظت ۵۰ در صد فرمامید در بافر ودمای ۶۵ درجه در زمان شستشو) انجام شد و پس از خشک شدن، غشاءها به کاست رادیوگرافی منتقل شده و اتورادیوگرافی صورت گرفت(۱۵).

نتایج

از میان ۲۴۶ نمونه مورد بررسی که از عفونت تنفسی ناشی از کلی باسیلوز جدا شده بود، چهار نمونه (۱/۶۲ درصد) واجد ژن *cdt* تشخیص داده شد. در هیچ یک از نمونه‌های جدا شده از موارد سالم حضور این ژن مشاهده نگردید.

جدول شماره ۱: توالی پرایمرها، شرایط دمایی مورد استفاده و اندازه محصول در آزمون PCR

Primer	Sequence (5'-3')	PCR condition			Amplicon (bp)	Target gene	Reference
		Denaturing	Annealing	Extension			
Cdt-IBF Cdt-IBR	GATTTTGCCGGGTATTTCT CCCTCAACAGAGGAAGAA	94°C, 30 s	50°C, 30 s	72°C, 60 s	700	*cdt-IB*	۱۵
Cdt-IIIBF Cdt-IIIBR	TGTGCAGGAGGCAGGT TTGTGTCGGTGCAGCA	94°C, 30 s	50°C, 30 s	72°C, 60 s	490	*cdt-IIIB*	۱۵
Cdt-IVBF Cdt-IVBR	TACCATCTTCAGCTACAC GCTCCAGAATCTATACCT	94°C, 30 s	50°C, 30 s	72°C, 60 s	298	*cdt-IVB*	۱۵

بحث

امروزه با افزایش روزافزون جمعیت، دستیابی به منابع غذایی سالم و بهداشتی به یکی از دغدغه‌های اصلی بشر تبدیل شده است. به دنبال شیوع روزافزون انواع بیماری‌های قلبی- عروقی، گوشت سفید به دلیل اثرات سلامت بخش آن، یکی از منابع مهم پروتئین در سراسر دنیا محسوب می‌شود و در این میان گوشت مرغ به دلیل طعم مطلوب و قیمت مناسب به میزان زیادی مورد توجه قرار گرفته است. پرندگان مبتلا و یا بهبود یافته از بیماری‌های عفونی، یکی از منابع مهم انتقال آلودگی از طریق مواد غذایی محسوب میشوند. کلی باسیلوز یکی از بیماری‌های بسیار شایع طیور صنعتی در سراسر جهان به شمار میرود که عامل آن *اشریشیا کلی* می‌باشد. با توجه به این که *اشریشیا کلی* فلور نرمال دستگاه گوارش بسیاری از موجودات زنده تلقی میشود، حضور آن در محیط، آب و مواد غذایی آلوده به مدفوع بدیهی به نظر می‌رسد. در کشتارگاه، آلودگی لاشه به مدفوع و محتویات روده و سایر احشاء اجتناب ناپذیر است. بنابراین گوشت مرغ یکی از منابع مهم آلودگی به *اشریشیا کلی* محسوب میشود. در سال‌های اخیر، این باکتری به یک عامل بیماریزای تهدیدکننده سلامت عمومی تبدیل شده است (۲). این باکتری به دلیل دارا بودن توکسین‌های متعدد، قادر به ایجاد مسمومیت‌های غذایی خطرناک می‌باشد (۱۰).

اهمیت *اشریشیا کلی*‌های تولیدکننده توکسین CDT در ایجاد عفونت‌های گوارشی و خارج گوارشی انسان هنوز به طور کامل شناخته نشده است. جداسازی سویه‌های CTEC (Cytolethal distending toxin producing *Escherichia coli*) از بیماران مبتلا به سپتی سمی، اسهال و عفونت‌های دستگاه ادراری، فرضیه ارتباط این سویه‌ها با بیماری در انسان را تقویت میکند (۵). به دلیل ارتباط الل‌های مختلف این توکسین با عناصر متحرک ژنتیکی و پروفاژ، انتقال افقی آن بین سویه‌های مختلف بسیار محتمل است. پرس و همکاران

نشان دادند ژن *cdt III* روی یک پلاسمید بزرگ واجد ژن‌های حدت واقع شده است (۹) و ژن‌های *cdt I , cdt IV* به وسیله پروفاژ لامبدا رمزدهی می‌شوند (۱،۱۴). در این مطالعه به منظور شناخت مخازن احتمالی و منابع بالقوه این آلودگی، تعدادی از *اشریشیاکلی*‌های جدا شده از کلی باسیلوز طیور و همچنین مدفوع پرندگان به ظاهر سالم از نظر حضور ژن تولیدکننده این توکسین با روش کلونی هیبریداسیون مورد مطالعه قرار گرفت. این روش یکی از روش‌های مناسب ملکولی در مطالعات اپیدمیولوژیک محسوب می‌شود. با استفاده از این روش در مدت زمان کوتاهی می‌توان حجم زیاد نمونه را مورد بررسی قرار داد. نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد تنها در چهار نمونه از ۲۴۶ نمونه جدا شده از موارد کلی باسیلوز ژن کدکننده این توکسین حضور دارد و در هیچ یک از نمونه‌های اخذ شده از موارد سالم این ژن مشاهده نگردید.

قنبرپور و همکاران در سال ۲۰۱۰، ۲۵۳ نمونه *اشریشیا کلی* شامل ۱۴۱نمونه جدا شده از موارد سپتی سمی و ۱۱۲ نمونه *اشریشیاکلی* جداشده از مدفوع پرندگان به ظاهر سالم را به منظور تعیین سیمای عوامل حدت مورد بررسی قرار دادند. که در هیچ یک از نمونه‌های مورد بررسی ژن *cdt*مشاهده نشد (۴). نتایج حاصل از مطالعه این محققین، ضمن تایید نتایج حاصل از این مطالعه، نشان می‌دهد میزان شیوع این ژن در اشریشیا کلی جداشده از پرندگان بسیار کم است.

در مطالعه‌ای که توسط ژائو و همکاران در چین به منظور مقایسه فاکتورهای حدت *اشریشیاکلی*‌های پاتوژن در پرندگان و دستگاه ادراری تناسلی انسان در سال ۲۰۰۹ صورت گرفت، نشان داده شد که به ترتیب ۸٪ و ۲۱٪ از سویه‌ها واجد این ژن می‌باشند (۱۶). همچنین در مطالعه مشابه دیگری که توسط محققین آمریکایی بر روی ۱۰۷۴ نمونه *اشریشیاکلی* پاتوژن در خارج از دستگاه گوارش صورت گرفت، شصت و هفت فاکتور حدت ارزیابی شد که میزان شیوع این ژن ۲۸/۷ درصد در APEC و ۵/۳ درصد در UPEC گزارش گردید (۱۱).

در مطالعه‌ای که توسط هینونیا و همکاران در سال ۲۰۱۴ صورت گرفت از ۱۰۲ نمونه جدا شده از مدفوع گاو، ۴۵ نمونه جدا شده از مدفوع خوک و ۴۵ نمونه جدا شده از مدفوع پرندگان به ترتیب ۸۸٪، ۳۱٪ از نمونه‌ها واجد ژن *cdt* تشخیص داده شدند و در هیچ یک از نمونه‌های جدا شده از پرندگان این ژن مشاهده نگردید. در این مطالعه نشان داده شد که برخی از سویه‌های CTEC مورد مطالعه، حامل ژن‌های حدت مرتبط با عفونت‌های انسانی هستند. در قسمت دیگری از نتایج این مطالعه، بیان شده است که این سویه‌ها از نظر سرولوژی نیز، شباهت زیادی با سروتیپ‌های شایع در عفونت‌های انسانی دارند (۵). با توجه به این نتایج میتوان اظهار کرد، گاو و خوک به طور بالقوه از منابع مهم آلودگی با این سویه‌ها در کشور ژاپن به شمار می‌روند.

مهدی پور و همکاران در سال ۲۰۱۱ لاشه ۱۵۰ گوسفند ذبح شده در کشتارگاه‌های صنعتی در مناطق جنوب غربی ایران را از نظر آلودگی به *اشریشیاکلی* و حضور ژن *cdt* مورد مطالعه قرار دادند. از این تعداد ۳۲ لاشه (۲۱/۳ در صد) آلوده به *اشریشیاکلی* تشخیص داده شدند که ده مورد (۳۱/۲۵ در صد) واجد ژن *cdt* بودند (۸). بنابراین به نظر می‌رسد در کشور ما گوشت گوسفند میتواند به عنوان یکی از منابع مهم احتمالی در انتقال این توکسین مورد مطالعه قرار گیرد.

نتایج حاصل از این مطالعه و مقایسه آن با نتایج تحقیقات مشابه حاکی از این مطلب است که گوشت

مرغ در مقایسه با سایر منابع پروتئینی نظیر گوشت گوسفند و گوساله از میزان آلودگی کمتری به سویه‌های واجد این توکسین برخوردار است. با توجه به این که این مطالعه بر روی سویه‌های جدا شده از لاشه طیور تلف شده از کلی باسیلوز و مدفوع پرندگان سالم صورت گرفته، پیشنهاد می‌شود مطالعه مشابهی بر روی *اشریشیاکلی*های جدا شده از گوشت طیور آماده عرضه به بازار، پس از فرآوری در کشتارگاه هم صورت گیرد تا تخمین دقیق‌تری از میزان احتمال انتقال این توکسین از طریق مصرف گوشت مرغ به دست آید. بررسی حضور تحت تیپ‌های این توکسین نیز که در ارتباط با ایجاد و شدت بیماری اهمیت دارد، در بررسی‌های اپیدمیولوژیک ضروری به نظر می‌رسد. همچنین باید این نکته را نیز مد نظر قرار داد که احتمال انتقال سویه‌های حامل این توکسین از طریق سایر باکتری‌های آلوده‌کننده لاشه طیور نظیر *کمپیلوباکتر ژژونی* نیز بسیار محتمل است(۳).

منابع

1. Asakura, M., Hinenoya, A., Alam, M.S., Shima, K., Zahid, S.H., Shi, L., Sugimoto, N., Ghosh, A.N., Ramamurthy, T., Faruque, S.M., Nair, G.B., Yamasaki, S. (2007). An inducible lambdoid prophage encoding cytolethal distending toxin (Cdt-I) and a type III effector protein in enteropathogenic *Escherichia coli*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*. **104:** 14483–88.
2. Bouzari, S., Oloomi, M., Oswald, E. (2005). Detection of the cytolethal distending toxin locus *cdtB* among diarrheagenic *Escherichia coli* isolates from humans in Iran. *Research in Microbiology* **156:** 137–44.
3. De Carvalho, A.F., Da Silva, D.M., Azevedo, S.S., Piatti, R.M., Genovez, M.E., Scarcelli, E. (2013). Detection of CDT toxin genes in *Campylobacter* spp. strains isolated from broiler carcasses and vegetables in São Paulo, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology* **44(3):** 693-9.
4. Ghanbarpour, R., Sami, M., Salehi, M., Ouromiei, M. (2011). Phylogenetic background and virulence genes of *Escherichia coli* isolates from colisepticemic and healthy broiler chickens in Iran. *Tropical Animal Health and Production* **43:** 153–7.
5. Hinenoya, A., Shima, K., Asakura, M., Nishimura, K., Tsukamoto, T., Ooka, T., Hayashi, T., Ramamurthy, T., Faruque, S., Yamasaki, S. (2014). Molecular characterization of cytolethal distending toxin gene-positive Escherichia coli from healthy cattle and swine in Nara, Japan. *BMC Microbiology* **14:** 97.
6. Johnson, T.J., Wannemuehler, Y., Johnson, S.J., Stell, A.L., Doetkott, C., Johnson, J.R., Kim, K.S., Spanjaard, L., Nolan, L.K. (2008). Comparison of Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli* Strains from Human and Avian Sources Reveals a Mixed Subset Representing Potential Zoonotic Pathogens. *Applied and Environmental Microbiology* 7043–50.
7. Kafshdouzan, K.h., Zahraei Salehi, T., Nayeri Fasaei, B., Madadgar, O., Yamasaki, S.h., Hinenoya, A.,Yasuda, N. (2013). Distribution of virulence associated genes in isolated *Escherichia coli* from avian colibacillosis. *Iranian Journal of Veterinary Medicine* **7(1):** 1-6.
8. Mehdipour, S., Doosti, A., Ghasemi Dehkordi, P. (2012). Detection of cytolethal distending toxin (*cdt*) and cytotoxic necrotizing factor (*cnf*) genes among *Escherichia coli* isolates from Iranian sheep carcasses. *Comparative Clinical Pathology* **21:**1683–88.
9. Pérès, S.Y., Marchès, O., Daigle, F., Nougayrède, J.P., Herault, F., Tasca, C., De Rycke, J., Oswald, E. (1997). A new cytolethal distending toxin (CDT) from *Escherichia coli* producing CNF2 blocks HeLa cell division in G2/M phase. *Molecular Microbiology* **24:** 1095–107.
10. Pickett, C.L., Lee, R.B., Eyigor, A., Elitzur, B., Fox, E.M., Strockbine, N.A. (2004). Patterns of variations in *Escherichia coli* strains that produce cytolethal distending toxin. *Infection and Immunity* **72(2):** 684–90.

11. Rodriguez-siek, K.E., Giddings, C.W., Doetkott, C., Johnson, T.J., Nolan, L.K. (2005) Characterizing the APEC pathotype. *Veterinary Research* **36:** 241-56.
12. Sahilah, A.M., Audrey, L.Y., Ong, S.L., Wan Sakeenah, W.N., Safiyyah, S., Norrakiah, A.S., Aminah, A., Azuhairi, A. (2010). DNA profiling among egg and beef meat isolates of Escherichia coli by enterobacterial repetitive intergenic consensus-PCR (ERIC-PCR) and random amplified polymorphic DNA-PCR (RAPD-PCR). *International Food Research Journal* **17:** 853–66.
13. Sváb, D., Horváth, B., Maróti, G., Dobrindt U., Tóth, I. (2013). Sequence Variability of P2-Like Prophage Genomes Carrying the Cytolethal Distending Toxin V Operon in *Escherichia coli* O157. *Applied and Environmental Microbiology* **79(16):** 4958- 64.
14. Tóth, I., Nougayrède, J.P., Dobrindt, U., Ledger, T.N., Boury, M., Morabito, S., Fujiwara, T., Sugai, M., Hacker, J., Oswald, E. (2009). Cytolethal distending toxin type I and type IV genes are framed with lambdoid prophage genes in extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*. *Infection and Immunity* **77:** 492–500.
15. Wu, Y., Hinenoya, A., Taguchi, T., Nagita, A., Shima, K., Tsukamoto, T., Sugimoto, N., Asakura, M., Yamasaki, S. (2010). Distribution of virulence genes related to adhesins and toxins in shiga toxin-producing Escherichia coli strains isolated from healthy cattle and diarrheal patients in Japan. *Journal of Veterinary Medical Science* **72(5):** 589-97.
16. Zhao, L., Gao, S., Huan, H., Xu, X., Zhu, X., Yang, W., Gao, Q., Liu, X. (2009). Comparison of virulence factors and expression of specific genes between uropathogenic *Escherichia coli* and avian pathogenic *E. coli* in a murine urinary tract infection model and a chicken challenge model. *Microbiology* **155:** 1634–44.

Journal of Veterinary Microbiology, Volume 12, Issue 1, 2016

Detection of *Cytolethal distending toxin* (*cdt*) Genes in *Escherichia coli* Isolates from Poultry Colibacillosis

Kafshdouzan, KH. [*1]***, Zahraee-Salehi T.*** [2]

1. Assistant Professor, *Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Semnan, Semnan, Iran*

2. Professor, Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

Received Date: 17 November 2014 *Accepted Date: 10 June 2015*

Abstract: *Detection of Cytolethal distending toxin (cdt) genes in Escherichia coli isolates from poultry colibacillosis has been reported from variety of pathogenic Gram negative bacteria such as Escherichia coli, Escherichia albertii, Campylobacter spp and Shigella spp. CDT producing Escherichia coli (CTEC) has been isolated from patients with gastrointestinal, urinary tract infection and sepsis. Up to now the source of human infection remains unknown. Since meat and meat products have been incriminated as the predominant causes of many food borne infections and poultry meat is one of the most important sources of animal proteins in Iran, the purpose of this study was detection of Cytolethal distending toxin gene in Escherichia coli isolated from poultry colibacillosis. 246 Escherichia coli isolated from avian colibacillosis (APEC) and fifty-four fecal E.coli isolates from the feces of apparently healthy birds (AFEC) were investigated for the presence of cdt genes. Isolates collected from veterinary medicine laboratories in Tehran and detection carried out with colony hybridization assay. The results showed only 1.62% of isolates possess cdt gene. This finding indicates that poultry meat probably could not be the main reservoir of CTEC. However expression of CDT from other Gram negative bacteria in poultry meat is not unexpected.*

Keywords: *Cytolethal distending toxin (CDT); Escherichia coli; Poultry colibacillosis*

**Corresponding author: Kafshdouzan, KH.*
Address: Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Semnan, Semnan, Iran.
Tel: +982333664892
Email: kafshdouzan@semnan.ac.ir