ردیابی ملکولی ژن‌های pap GII, sfa , afa در جدایه های اشریشیا کلی موارد کلی‌باسیلوز طیور و عفونت ادراری انسان

خاطره کفشدوزان[1*] ، تقی زهرایی صالحی[2]، بهار نیری فسایی[2]

چکیده

توصیف خصوصیات حدت اشریشیا کلیهای بیماریزای خارج از دستگاه گوارش ابزار مناسبی برای شرح چگونگی بیماریزایی و طراحی شیوه‌های نوین درمان و کنترل بیماری به شمار می‌رود. هدف از این مطالعه، بررسی فراوانی ژن‌هایpap G II، afa و sfa در اشریشیا کلیهای جدا شده از کلی باسیلوز طیور و عفونت ادراری انسان در مقایسه با اشرشیاکلی های جدا شده از پرندگان به ظاهر سالم بود. در مجموع ۳۲۰ نمونه اشریشیا کلی شامل ۲۴۷ نمونه جدا شده از کلی باسیلوز طیور، ۵۳ نمونه از کلواک پرندگان به ظاهر سالم و ۲۰ نمونه از عفونت ادراری انسان از مناطق مختلف استان سمنان، تهران و گیلان، جهت بررسی حضور ژن‌های pap GII, sfa , afa به روش کلونی هیبریداسیون مورد ارزیابی قرار گرفتند. فراوانی pap G II در اشریشیا کلی‌های جدا شده از کلی باسیلوز طیور و عفونت ادراری انسان و پرندگان به ظاهر سالم به ترتیب ۲۱/۰۵، ۳۵ و ۱۳/۲ درصد بود. فراوانی ژن sfa در اشریشیا کلی های جدا شده از موارد عفونت ادراری انسان بیشتر از پرندگان بود و در هیچ یک از گروه‌ها، ژن afa مشاهده نشد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که ژن pap GII نسبت به سایر عوامل چسبندگی مورد مطالعه به میزان بیشتری در اشریشیا کلیهای جدا شده از موارد کلی‌باسیلوز طیور و عفونت ادراری انسان حضور داشته و احتمالا نقش موثری در بیماریزایی اشریشیا کلیهای خارج روده ای دارد. بنابراین pap GII می تواند به عنوان کاندید مناسب در روش‌های نوین درمان بر مبنای عوامل حدت و نیز طراحی واکسن در نظر گرفته شود.

واژگان کلیدی: اشریشیاکلی، عوامل حدت، آدزین فیمبریه‌ای

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱/۲۱

مقدمه

امروزه افزایش عفونت ناشی از اشریشیاکلیهای بیماریزا در خارج از دستگاه گوارش(pathogenic Extraintestinal Escherichia coli) و مرگ و میر ناشی از آن، یکی از نگرانی‌های اصلی بهداشتی در سراسر جهان محسوب می‌شود. این دسته از باکتری‌ها شامل سویه‌های بیماریزا در دستگاه ادراری (Uropathogenic E. coli) سویه‌های مولد مننژیت(Neonatal Meningitis E. coli) سویه‌های مسبب سپتی‌سمی(Sepsis-Associated E. coli) و سویه‌های بیماریزا در پرندگان (Avian-pathogenic E. coli) موجب عفونت‌های متنوعی نظیر عفونت دستگاه ادراری-تناسلی، مننژیت نوزادان، سپتی سمی در انسان و بیماری بسیار مهم کلی‌اسیلوز در طیور بوده و سالیانه خسارت‌های اقتصادی بسیار زیادی وارد می کنند. این باکتری در پرندگان، بیماریزای فرصت‌طلبی است که عمدتا به دنبال عفونت‌های ویروسی و مایکوپلاسمایی، موجب بروز بیماری کلی-باسیلوز می‌گردد. 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 سپتی‌سمی، پریکاردیت، پری-هپاتیت، التهاب کیسه‌های هوایی، التهاب و عفونت مجاری تخمدان، و سندروم کله بادی اشاره کرد (۱). اگرچه تحقیقات اخیر نشان می‌دهد، اشریشیا کلی به عنوان یکی از عوامل اصلی ایجاد کننده عفونت‌های بیمارستانی و سپتی-سمی نوزادان مطرح است، هنوز اشریشیا کلی‌های یوروپاتوژنیک (UPEC) عامل اولیه عفونت دستگاه ادراری در کشورهای توسعه یافته محسوب می¬شوند. به طوریکه در ایالات متحده آمریکا سالانه ۱,٦ میلیون دلار هزینه صرف درمان این عفونت می¬گردد (۲).

*۱- گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه سمنان، سمنان، ایران kafshdouzan@semnan.ac.ir
۲- گروه میکروبیولوژی و ایمونولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران

عوامل حدت زیادی در اشریشیا کلیهای بیماریزا در خارج از دستگاه گوارش شناسایی شده‌اند که به آنها اجازه سیطره، تهاجم و ایجاد عفونت در خارج از دستگاه گوارش می‌دهد. توانایی این دسته از باکتری‌ها برای ایجاد عفونت در دستگاه ادراری به وسیله دو نوع عامل حدت: عوامل چسبندگی(نظیر فیمبریه نوع I، فیمبریه P، فیمبریه S) و توکسین‌ها میسر می‌گردد. دو سیستم چسبندگی فیمبریه‌ای و یک سیستم غیر فیمبریه‌ای مهم، تاکنون در اشریشیا کلی‌های مرتبط با عفونت‌های دستگاه ادراری شناسایی شده‌اند که عبارتند از fim, pap, sfaو afaکه به ترتیب فیمبریه S فیمبریه P، فیبریه نوع یک و آدهزین‌های غیر فیمبریه‌ای را کد می‌کنند. فیمبریه p یا F11 نوعی عامل چسبندگی است که عمدتا در اشریشیا کلی‌های جدا شده از عفونت¬های دستگاه ادراری انسان یافت شده، اما به طور اتفاقی در تعدادی از جدایه‌های ادراری سگ، جدایه¬های سیستمیک خوک و تعدادی از اشریشیا کلیهای بیماریزای طیور نیز دیده شده است. این فیمبریه علاوه بر توانایی اتصال به گلبول قرمز، قادر است به گالاکتوزهای دی ساکاریدی موجود در سلول‌های اپی تلیوم دستگاه ادراری که تقریبا در ۹۹ درصد جمعیت وجود دارد؛ نیز متصل شود. بیان این فیمبریه در عفونت¬های دستگاه ادراری و کیسه‌های هوایی ماکیان اثبات شده است (۱, ۳).

فیمبریه S نوعی فیمبریه است که عمدتا در اشریشیا کلیهایی که موجب پیلونفریت می¬شوند، شناسایی شده است. این فیمبریه ساختارهای حاوی سیالیک اسید را بیشتر از سایر رسپتورها شناسایی می‌کند. باکتری¬های حاوی این فیمبریه به طور اختصاصی به سطوح اندوتلیوم عروق بزرگ بافت کلیه، اندوتلیوم شبکه مویرگی و اپی تلیوم گلومرول‌ها متصل می‌شوند (٤).

آدهزین‌های غیر فیمبریه‌ای که به وسیله خوشه ژنی afa رمز می¬شوند، عمدتا در جدایه¬های مرتبط با عفونت ادراری و اسهال گزارش شده‌اند. این ملکول ها از نظر خصوصیات مورفولوژی و بیوشیمیایی با آدهزین‌های دیگر تفاوت دارند. یکی از ویژگی‌های غیر معمول جدایه‌های واجد ژن afa ایجاد عفونت‌های روده‌ای در کودکان می‌باشد. این جدایه¬های ایجادکننده اسهال جزء پاتوتیپ چسبنده منتشره (Diffuse adhering Escherichia coli) می‌باشند (٤).

مطالعات سال‌های اخیر نشان می‌دهد بسیاری از سویه¬های اشریشیا کلی بیماریزا در خارج از دستگاه گوارش که از انسان و ماکیان جدا شده‌اند، دارای ژن‌های حدت و گروه-های فیلوژنیک مشابهی هستند. ژن‌های حدت این دسته از باکتری‌ها با اشریشیا کلی‌های جدا شده از فرآورده‌های غذایی به خصوص گوشت مرغ مشترک است (۵, ٦). همچنین اشریشیا کلیهای جدا شده از منابع طیور به صورت آزمایشگاهی موجب عفونت دستگاه ادراری، سپتی‌سمی و مننژیت در جوندگان آزمایشگاهی مشابه انسان شده‌اند(۷). این شباهت‌ها به خصوص در ژن‌های مرتبط با عوامل حدت، نشان می‌دهد که فرآورده‌های طیور می‌توانند به عنوان مخزن اشریشیا کلیهای خارج از دستگاه گوارش انسان محسوب شده و موجب سپتی‌سمی، عفونت‌های دستگاه ادراری-تناسلی و مننژیت نوزادان در انسان باشند (۸). شناسایی عوامل حدت نه تنها موجب درک بهتر بیماریزایی عوامل عفونی می‌گردد، بلکه با توجه به افزایش بی‌رویه مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در سال‌های اخیر، در ارائه راهکارهای نوین درمانی و کنترل بیماری نیز بسیار کارگشا خواهد بود (۹).

حضور عوامل چسبندگی در سویه‌های اشریشیا کلی با روش‌های فنوتیپی نظیر هماگلوتیناسیون و یا آگلوتیناسیون ذرات لاتکس قابل بررسی است اما با توجه به این که بیان عوامل مرتبط با بیماریزایی باکتری‌ها ممکن است در محیط کشت تقلیل یابد، استفاده از روش‌های ملکولی جهت شناسایی اپرون‌های pap, sfa, afa در DNA کروموزومی

باکتری‌ها توصیه می‌شود تا تخمین دقیق-تری از فراوانی عوامل چسبندگی در اشریشیا کلیهای مولد عفونت داشته باشیم (۱۰).

با توجه به اهمیت ملکول‌های عامل چسبندگی در سیطره اشریشیا کلیهای بیمایزا در موضع میزبان و آغاز عفونت و همچنین توجه به عوامل حدت مشترک در اشریشیا کلیهای بیماریزای خارج از دستگاه گوارش در انسان و ماکیان، از آنجاییکه تاکنون گزارشی از فراوانی عوامل حدت مذکور در اشریشیاکلی‌های جدا شده از ایران به روش کلونی هیبریداسیون وجود ندارد، هدف از این مطالعه بررسی میزان فراوانی ژن‌های عامل چسبندگی G II afa,sfa,pap در اشریشیا کلی‌های جدا شده از کلی باسیلوز طیور و عفونت ادراری انسان به منظور ارزیابی نقش احتمالی اشریشیا کلیهای بیماریزای طیور در بروز عفونت دستگاه ادراری انسان به روش کلونی هیبریداسیون و نیز پیشنهاد کاربرد آنها در طراحی روش¬های نوین کنترل و درمان عفونت های ناشی از اشریشیاکلی در نظر گرفته شد.

مواد و روش‌کار

نمونه برداری: جهت شناسایی جدایه¬های واجد ژن¬های afa,sfa,pap در مجموع سیصد و بیست نمونه اشریشیا کلی، شامل ۲۴۷ نمونه جدا شده از کیسه های هوایی و کبد لاشه طیور مبتلا به کلی¬باسیلوز با علائم بی حالی و مشکلات تنفسی، مراجعه شده به آزمایشگاه¬های دامپزشکی مناطق مختلف استان سمنان، تهران و گیلان ،۵۳ نمونه از کلواک پرندگان به ظاهر سالم به عنوان شاهد از سه مزرعه پرورش مرغ گوشتی در استان سمنان و ۲۰ نمونه اشریشیا کلی از بیماران مبتلا به عفونت دستگاه ادراری – تناسلی مراجعه کننده به بیمارستان امام خمینی تهران، اخذ گردید. هر سوآب در محیط انتقالی Amies (Difco,USA) قرار گرفته و درکوتاه‌ترین زمان ممکن به آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده منتقل گردید.

روش کشت و جداسازی

هر یک از نمونه‌ها به صورت خطی روی محیط مکانکی آگار (Merck, Germany) کشت داده شد. سپس ٤-۳ پرگنه لاکتوز مثبت مشکوک به اشریشیاکلی به وسیله آنس استریل برداشته شده و در محیط‌های اوره و TSI (Merck, Germany) کشت گردید. جدایه‌های قادر به تخمیر قند لاکتوز که از نظر حضور آنزیم اوره‌آز 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) جدایه¬های تایید شده به عنوان اشریشیاکلی جهت انجام تست کلونی هیبریداسیون در محیط BHI حاوی ۳۰ درصد گلیسرول در دمای ۲۰- درجه نگهداری شدند.

سنتز کاوشگر نشاندار و کلونی هیبریداسیون

از روش Wu و همکاران در سال ۲۰۱۰ جهت ردیابی ژن-های مورد مطالعه به روش کلونی هیبریداسیون استفاده شد (۱۱). دراین مطالعه پاتوتیپ STEC O113: NM به عنوان کنترل مثبت و اشریشیا کلی سویه C600 به عنوان کنترل منفی مورد استفاده قرار گرفت. استخراج DNA با روش جوشانیدن در بافر TE صورت گرفت. اشریشیا کلی های حاوی هریک از ژن¬های G II afa ,sfa ,pap با استفاده از پرایمرهای اختصاصی 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 و در ژل آگارز ۱/۵درصد الکترفورز شدند. فراورده¬های حاصل از واکنش زنجیره ای پلیمراز با استفاده از کیت QIAGEN GmbH ,Hilden (Germany)) خالص شده و با استفاده از کیت sequencing cycle Big Dye terminator به وسیله دستگاه ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer(Applied Biosystems,

Foster city CA) تعیین توالی شدند. پس از اطمینان از صحت توالی مورد نظر، سنتز کاوشگر با روش آغاز گرهای تصادفی با استفاده از کیت Amersham Mega prime DNA labeling System مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده صورت گرفت.

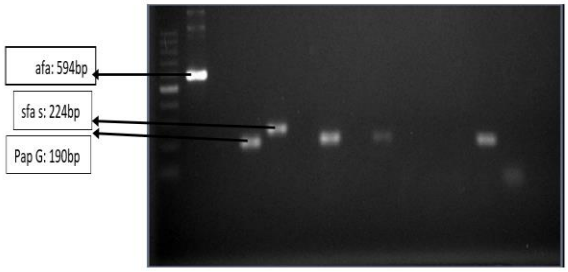
جدایه‌های خالص گلیسرینه اشریشیا کلی درمحیط آگار مکانکی کشت داده شد و سپس کلونی‌های خالص به غشاء نیتروسلولزی (Schleicher & Schuell, Dassal, Germany)) منتقل گردیدند. کلونی هیبریداسیون در شرایط سخت (غلظت ۵۰ در صد فرمامید در بافر ودمای ٦٥ درجه در زمان شستشو) انجام شد و پس از خشک شدن، غشاءها به کاست رادیوگرافی منتقل شده و اتورادیوگرافی صورت گرفت.

آنالیز آماری

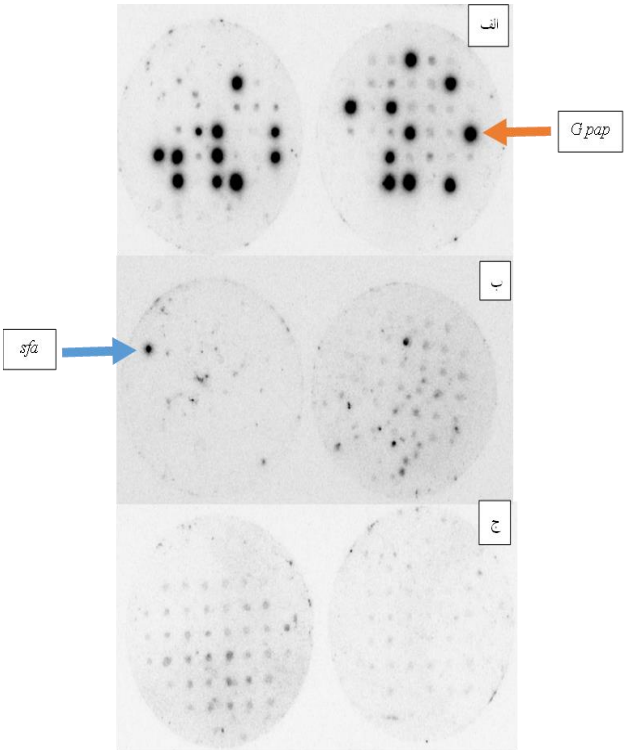
آنالیز آماری داده ها توسط نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۳ (SPSS Inc., Chicago iL) وآزمون مربع کای صورت گرفت و سطح معنی داری $P<0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد ژن*pap* ، عامل چسبندگی فیمبیریه‌ای غالب در *اشریشیا کلی*های جدا شده از موارد عفونت ادراری انسان وکلی باسیلوز طیور می‌باشد. ازمیان۲٤۷ نمونه جدا شده از موارد کلی باسیلوز در این مطالعه، ۵۲ نمونه واجد ژن*pap* ، ۳ نمونه واجد ژن *sfa* ، بوده و هیچ‌یک دارای ژن *afa* نبودند. در حالیکه از ۵۳ نمونه *اشریشیا کلی* جدا شده از پرندگان به ظاهر سالم تنها ۷ نمونه دارای ژن *pap* و یک نمونه واجد ژن *sfa* تشخیص داده شد. در هیچ‌یک از نمونه‌های جدا شده در این دسته نیز، ژن *afa* مشاهده نگردید. همچنین فراوانی هریک از ژن های*pap* ، *sfa* و *afa* در *اشریشیا کلی* های جدا شده از ادرار افراد مبتلا به عفونت دستگاه ادراری-تناسلی، به ترتیب ۷، ۱ و صفر گزارش شد. فراوانی هریک از ژن‌ها در گروه‌های مورد بررسی اختلاف آماری معناداری نداشت.



نگاره شماره ۱: الکتروفورز محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمراز چندگانه ژن‌های *papG*(190 bp), *sfa*(224bp) و *afa* (594bp). چاهک M مارکر ۱۰۰ جفت بازی. چاهک ۱، ۳ و ٤ کنترل مثبت ژن‌های *afa* ,*pap G* و*sfa*. چاهک ۵: کنترل منفی و چاهک ١٤-٦ تعدادی از نمونه های مورد بررسی.



نگاره شماره ۲. نتایج حاصل از کلونی هیبریداسیون ژن‌های *pap G* *sfa*و *afa* . در تصاویر الف و ب به ترتیب نقاط تیره برروی صفحات نیتروسلولزی نشانگر کلونی های واجد ژن *pap* و *sfa* می باشد. ج: هیچ یک از کلونی‌های مورد بررسی واجد ژن *afa* نبودند.

جدول ۱. پرایمرهای مورد استفاده برای شناسایی فاکتورهای چسبندگی.

ژن	اندازه	توالی	شرح
afa	594	۳F 5 -GGCAGAGGGCCGGCAACAGGC-	Afimbrial adhesion
		R 5 -CCCGTAACGCGCCAGCATCTC- 3	
sfa	244	F 5 -GTGGATACGACGATTACTGTG- 3	Mannose resistant adhesion
		R 5 -CCGCCAGCATTCCCTGTATTC- 3	
Pap G II	190	F 5 -GGGATGAGCGGGCCTTTGAT- 3	Pilus associated with pyelonephritis
		R 5 -CGGGCCCCCAAGTAACTCG- 3	

جدول ۲. میزان فراوانی هریک از ژن های عامل چسبندگی در *اشرشیاکلی* های مورد مطالعه.

فاکتور چسبندگی	*اشریشیاکلی* جدا شده از موارد کلی باسیلوز n=۲٤۷	*اشریشیاکلی* جدا شده از پرندگان سالم n=۵۳	*اشریشیاکلی* جدا شده از موارد عفونت ادراری n=۲۰
papG II	۵۲ (۲۱/۰۵ ٪)	۷ (۱۳/۲ ٪)	۷ (۳۵ ٪)
Sfa	۳ (۱/۲۱ ٪)	۱ (۱/۸۹ ٪)	۱ (۵ ٪)
afa	–	–	–

بحث

*اشریشیا کلی*های بیماریزا در خارج از دستگاه گوارش، یکی از عوامل بسیار مهم عفونت‌زا در انسان و دام به شمار می‌روند و از موارد متنوعی نظیر عفونت زخم تا سپتی سمی و مننژیت جداسازی شده اند. به همین خاطر عوامل حدت گوناگون این باکتری که در بیماریزایی آن نقش ایفا می‌کنند، به صورت گسترده در سراسر جهان مورد مطالعه قرارگرفته اند. از مهم‌ترین عوامل حدتی که در بیماریزایی باکتری بسیار موثرند، فاکتورهای عامل چسبندگی به سلول‌های میزبان می‌باشند. توانایی باکتری در چسبندگی به سلول‌های میزبان عامل بسیار مهمی درکلونیزه شدن باکتری در بدن میزبان محسوب می‌شود. این پدیده تمایل بافتی (Tissue tropism) نامیده شده و در واقع واکنش اختصاصی میان گیرنده‌های سلول هدف و سطوح بافتی است. بیان ملکول‌های چسبندگی سطحی موجب تماس نزدیک باکتری به سلول میزبان و در نتیجه افزایش حدت *اشریشیا کلی*های بیماریزا می‌شود (۱۲).

Pap (G) ، یکی از مهم‌ترین فاکتورهای چسبندگی شناسایی شده در *اشریشیا کلی* در سراسر جهان می‌باشد. این فیمبریه عمدتا در *اشریشیا کلی*‌های جدا شده از عفونت دستگاه ادراری انسان مشاهده شده، اما در ٦٥درصد از *اشریشیا کلی*‌های عامل مننژیت نوزادان (NMEC) و ٦٠درصد *اشریشیا کلی*‌های بیماریزای طیور(APEC) نیز گزارش شده است (١٣-١٥).

عامل چسبندگی Pap (G)، دارای سه واریاته ملکولی *Pap G I*، *Pap G II* و *Pap G III* است. Pap G II در *اشریشیا کلی*‌های جدا شده از کلی باسیلوز طیور و موارد باکتریمی انسان و (٢٢،٢٥) Pap G III نیز عمدتا مرتبط با موارد *اشریشیا کلی* جدا شده از التهاب مثانه در بانوان و کودکان می‌باشد (١٢). در سال‌های اخیر با توجه به افزایش نگران کننده مقاومت‌های آنتی بیوتیکی در سراسر جهان، استفاده از روش‌های نوین درمانی نظیرکاهش قدرت بیماریزایی باکتری‌ها از طریق کاهش بیان عوامل حدت مورد توجه قرار گرفته است. از آنجاییکه عوامل موثر در چسبندگی، نقش بسیار مهمی در سیطره باکتری در بافت میزبان و آغاز عفونت دارند، Gupta و همکاران در سال ٢٠٢١ کاهش قدرت بیماریزایی سویه های UPEC را با استفاده از روش-های نوین ژنتیکی مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد با کاهش بیان ژن *pap G* با روش CRISPER قدرت بیماریزایی سویه‌های UPEC به طور قابل ملاحظه‌ای کاهش می‌یابد (٩). از سوی دیگر استفاده از pap G به عنوان کاندید مناسب واکسن در درمان عفونت های عود کننده ناشی از UPEC مورد توجه قرار گرفته است. Roberts و همکاران نشان دادند تزریق داخل صفاقی پروتئین pap GD به میمون های نژاد موجب افزایش قابل توجه آنتی‌بادی ضد این پروتئین در مقایسه با گروه کنترل شده است (١٦). در همین راستا Ashrafi و همکاران در سال ٢٠١٥ با بیان پروتئین pap G بر سطح لاکتوباسیلوس، پیشنهاد کردند از این تکنیک در تولید واکسن برای کنترل عفونت دستگاه ادراری استفاده شود (١٧).

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد ٢١/٠٥درصد از سویه‌های جدا شده از موارد کلی باسیلوز،١٣/٢ درصد از *اشریشیا کلی*‌های جدا شده از پرندگان به ظاهر سالم و ٣٥ درصد از *اشریشیا کلی*‌های جدا شده از موارد تائید شده عفونت ادراری در بانوان دارای علامت بالینی، واجد ژن *Pap G II* هستند. در مطالعه مشابهی که توسط Terezinha و همکاران در سال ٢٠٠٦ صورت گرفت از ٣٥٩ سویه *اشریشیا کلی* جدا شده از موارد سپتی‌سمی طیور در برزیل ١٧/٤ درصد موارد واجد ژن *Pap* قلمداد گردیدند (١٨). در مطالعه Stordeur و همکاران نیز در سال٢٠٠٢ پس از مطالعه حدود هزار و ششصد *اشریشیا کلی* جدا شده از عفونت‌های روده‌ای و خارج روده‌ای جوجه‌های گوشتی، بوقلمون و اردک در اروپا با روش کلونی هیبریداسیون، ٢٣/٩ درصد از موارد واجد این ژن گزارش گردید (١٩).

در مطالعات مشابه دیگر در سایر نقاط جهان، فراوانی این ژن در *اشریشیا کلی*‌های جدا شده از موارد سلولیت ماکیان، عفونت بند ناف، عفونت لوله‌های تخمدان و عفونت مزمن دستگاه تنفس ٤٠-٨ درصد گزارش شده است (١, ٢٠, ٢١). در مطالعه‌ای که به منظور مقایسه ژن‌های چسبندگی بین *اشریشیا کلی*‌های جدا شده از عفونت ادراری و کومنسال روده‌ای توسط Qin و همکاران در سال ٢٠١٥ صورت گرفت، فراوانی فیمبریه P در سویه‌های UPEC و کومنسال به ترتیب ٢٨ و ٥ درصد گزارش شد (٢٢). Le Bouguéne و همکاران نیز در سال ١٩٩٢ فراوانی اپرون *pap* را تقریبا در ٧٥ درصد موارد پیلونفریت، ٤٥ درصد موارد عفونت مثانه و٢٤ درصد موارد باکتریوری بدون علامت گزارش کردند (١٠).

Biggel و همکاران درسال ۲۰۲۰، با بررسی ملکولی و مقایسه ۹۰۷ سویه *اشریشیا کلی* (جدا شده از موارد عفونت شدید ادراری، عفونت بدون علامت و مدفوع انسان)، بیان کردند ***pap GII*** یک ژن کلیدی در سویه‌های مهاجم *اشریشیا کلی* مولد عفونت ادراری شدید، پیلونفریت و باکتریمی ناشی از عفونت ادراری است. این محققین در مطالعه‌خود که در مجله ***Nature communication*** به چاپ رسیده است، نشان دادند که انتقال افقی جزایر بیماریزایی مختلف واجد این ژن، موجب ظهور سویه‌های مهاجم UPEC درکلونی‌های *اشریشیا کلی* می‌شود. این محققین بیان کردند اتصال این فیمبریه به گلیکواسفنگولیپید موجود بر سطح سلول‌های اورواپیتلیال با اثر بر بیان برخی از ژن-های التهابی موجود در سلول‌های بافت کلیه، موجب بروز التهاب و پیلونفریت می شود (۲۳). اگرچه فراوانی این ژن در مطالعات مختلف متفاوت است و این امر عمدتا مربوط به میزان و شدت عفونت در میزبان، روش مطالعه و تعداد و نوع نمونه مورد بررسی می باشد، همه مطالعات اذعان دارند ***Pap G II*** به تنهایی و یا به همراه سایر عوامل در بیماریزایی *اشریشیاکلی* جدا شده از پرندگان و یا عفونت‌های ادراری نقش موثری دارد. به همین خاطر توانایی این فیمبریه برای ایجاد ایمنی محافظت کننده به منظور تولید واکسن جهت پیشگیری از عفونت‌های ادراری ناشی از *اشریشیا کلی* مورد توجه قرار گرفته است (۱, ۱٦).

علاوه بر فیمبریه P، عوامل چسبندگی دیگری نظیر sfa و afa در *اشرشیا کلی*‌های جدا شده از موارد کلی‌باسیلوز طیور و عفونت ادراری به عنوان عوامل حدت، در نقاط مختلف دنیا مورد بررسی قرار گرفته‌اند. آدزین‌های Sفیمبریه‌ای، علاوه بر سطح اپی تلیال دستگاه ادراری، قادرند به ماتریکس خارج سلولی و سیالوگلیکوپروتئین‌های سلول‌های اندوتلیوم عروق مغزی نیز متصل شوند. در مطالعه حاضر فراوانی ژن ***Sfa*** در *اشریشیا کلی*‌های جدا شده از موارد کلی باسیلوز، پرندگان به ظاهر سالم و عفونت ادراری بانوان، به ترتیب، ۱/۲۱ ، ۱ و ۱ درصد مشاهده شد. در حالیکه هیچ یک از نمونه ها، واجد ژن ***afa*** نبودند. در مطالعه Stordeur و همکاران در سال ۲۰۰۲ که پیش از این به آن اشاره شد، به ترتیب ٤/۳ ، ۵/٤ و ۱/۸ درصد سویه-های جدا شده از طیور گوشتی، بوقلمون و اردک واجد ژن ***sfa*** بودند. در هر سه میزبان فراوانی این ژن در *اشریشیا کلی*‌های جدا شده از عفونت‌های خارج روده‌ای، بیشتر از عفونت‌های روده‌ای گزارش گردید (۱۹). در مطالعه Le Bouguénec و همکاران در سال ۲۰۰۱ فراوانی اپرون‌های ***sfa*** و ***afa*** تقریبا ۲۵ و ۱۰ درصد در موارد پیلونفریت و ۲۰ و ۱۲ درصد در موارد عفونت مثانه و۲۷ و صفر درصد در موارد باکتریوری بدون علامت گزارش شده است (۱۰). در ایران، Eslami و همکاران در سال ۲۰۱۵ گزارش کردند که در ۱۲۲ جدایه اخذ شده از بیماران مبتلا به عفونت مجاری ادراری، ۳ جدایه (۲/٤۵ درصد) دارای ژن ***afa*** و یک جدایه (۰/۸۱ درصد) نیز واجد ژن ***Sfa*** بوده‌اند. در نمونه‌های بررسی شده توسط این محققین، ۲۰ جدایه (۱٦/۳۹ درصد) دارای ژن های ***Sfa*** , ***Pap*** به طور همزمان بودند (٤). در مطالعه Farshad و همکاران در سال ۲۰۰۹ نیز ۱۸/۷۵ درصد از جدایه‌ها، واجد این ژن قلمداد گردیدند (۲٤).

بررسی مطالعات صورت گرفته نشان می دهد که به طور کلی فراوانی این دو ژن در مطالعات مختلف صورت گرفته بر روی *اشرشیا کلی*‌های جدا شده از موارد کلی باسیلوز طیور در ایران و سایر نقاط دنیا ٤-۰ درصد گزارش شده است (۱, ٤, ٦). با توجه به اینکه میزان فراوانی این ژن‌ها در عفونت‌های مختلف ناشی از *اشریشیا کلی* در پرندگان، نظیر سندروم کله بادی، عفونت بندناف، سپتی سمی، و عفونت‌های مزمن دستگاه تنفس، متغیر می باشد؛ لازم است مطالعات بیشتری جهت درک عملکرد این ژن‌ها در بیماریزایی باکتری در پرندگان صورت گیرد. ازآنجاییکه

فراوانی این عوامل چسبندگی در *اشریشیا کلی*های جدا شده از پرندگان ناچیز بوده و نقش آن‌ها در بیماریزایی باکتری هنوز به درستی روشن نیست ممکن است باکتری حاوی این ژن، منبع انسانی داشته و جوجه‌های گوشتی به دلیل ضعف سیستم بهداشتی در جوجه‌کشی به باکتری‌های حامل این ژن‌ها آلوده شده باشند (۱۸).

فهرست منابع

1. Kafshdouzan K, Zahraei Salehi T, Nayeri B, Madadgar O, Yamasaki S, Hinenoya A, et al. Distribution of virulence associated genes in isolated Escherichia coli from avian colibacillosis. Iranian Journal of Veterinary Medicine. 2013;7(1):1-6.
2. Nazemi A, Naderi M, Jafarpour M, Mirinargesi M, Sharifi S. The Detection of Fimbrial Pathogenic Genes in E. coli Strains Isolated from Patients with Urinary Tract Infection. Medical Laboratory Journal. 2010;4(2):31-7.
3. La Ragione R, Woodward MJ. Virulence factors of Escherichia coli serotypes associated with avian colisepticaemia. Research in veterinary science. 2002;73(1):27-35.
4. Eslami M, Ghanbarpour R. Determination of P, S and Afa fimbria coding genes in Escherichia coli isolates from urinary tract infections. Journal of Isfahan Medical School. 2015;33(331):546-53.
5. Buberg ML, Mo SS, Sekse C, Sunde M, Wasteson Y, Witsø IL. Population structure and uropathogenic potential of extended-spectrum cephalosporin-resistant Escherichia coli from retail chicken meat. BMC microbiology. 2021;21(1):1-15.
6. Ewers C, Antão E-M, Diehl I, Philipp H-C, Wieler LH. Intestine and environment of the chicken as reservoirs for extraintestinal pathogenic Escherichia coli strains with zoonotic potential. Applied and environmental microbiology. 2009;75(1):184-92.
7. Mellata M, Johnson J, Curtiss III R. Escherichia coli isolates from commercial chicken meat and eggs cause sepsis, meningitis and urinary tract infection in rodent models of human infections. Zoonoses and public health. 2018;65(1):103-13.
8. Mitchell NM, Johnson JR, Johnston B, Curtiss III R, Mellata M. Zoonotic potential of Escherichia coli isolates from retail chicken meat products and eggs. Applied and environmental microbiology. 2015;81(3):1177-87.
9. Gupta S, Kumar P, Rathi B, Verma V, Dhanda RS, Devi P, et al. Targeting of Uropathogenic Escherichia coli papG gene using CRISPR-dot nanocomplex reduced virulence of UPEC. Scientific reports. 2021;11(1):1-14.
10. Le Bouguenec C, Archambaud M, Labigne A. Rapid and specific detection of the pap, afa, and sfa adhesin-encoding operons in uropathogenic Escherichia coli strains by polymerase chain reaction. Journal of clinical microbiology. 1992;30(5):1189-93.
11. Wu Y, Hinenoya A, Taguchi T, Nagita A, Shima K, Tsukamoto T, et al. 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. 2010:1001200133.-
12. Sarowska J, Futoma-Koloch B, Jama-Kmiecik A, Frej-Madrzak M, Ksiazczyk M, Bugla-Ploskonska G, et al. Virulence factors, prevalence and potential transmission of extraintestinal pathogenic Escherichia coli isolated from different sources: recent reports. Gut pathogens. 2019;11(1):1-16.
13. Ewers C, Li G, Wilking H, Kieβling S, Alt K, Antáo E-M, et al. Avian pathogenic, uropathogenic, and newborn meningitis-causing Escherichia coli: how closely

related are they? International journal of medical microbiology. 2007;297(3):163-76.
14. Johnson TJ, Wannemuehler Y, Johnson SJ, Stell AL, Doetkott C, Johnson JR, et al. Comparison of extraintestinal pathogenic Escherichia coli strains from human and avian sources reveals a mixed subset representing potential zoonotic pathogens. Applied and environmental microbiology. 2008;74(22):7043-50.
15. Vandemaele FJ, Mugasa JP, Vandekerchove D, Goddeeris BM. Predominance of the papGII allele with high sequence homology to that of human isolates among avian pathogenic Escherichia coli (APEC). Veterinary microbiology. 2003;97(3-4):245-57.
16. Roberts JA, Kaack MB, Baskin G, Chapman MR, Hunstad DA, Pinkner JS, et al. Antibody responses and protection from pyelonephritis following vaccination with purified Escherichia coli PapDG protein. The Journal of urology. 2004;171(4):1682-5.
17. Ashrafi F, Mehrabadi JF, Siadat SD, Aghasadeghi MR. Expression and purification of the uropathogenic Escherichia coli PapG protein and its surface absorption on Lactobacillus reuteri: implications for surface display system vaccines. Jundishapur Journal of Microbiology. 2015;8.(٩)
18. Knöbl T, Gomes TAT, Vieira MAM, Ferreira F, Bottino JA, Ferreira AJP. Some adhesins of avian pathogenic Escherichia coli (APEC) isolated from septicemic poultry in Brazil. Brazilian Journal of Microbiology. 2006;37:379-84.
19. Stordeur P, Marlier D, Blanco J, Oswald E, Biet F, Dho-Moulin M, et al. Examination of Escherichia coli from poultry for selected adhesin genes important in disease caused by mammalian pathogenic E. coli. Veterinary microbiology. 2002;84(3):231-41.
20. Delicato ER, de Brito BG, Gaziri LCJ, Vidotto MC. Virulence-associated genes in Escherichia coli isolates from poultry with colibacillosis. Veterinary microbiology. 2003;94(2):97-103.
21. Rodriguez-Siek KE, Giddings CW, Doetkott C, Johnson TJ, Nolan LK. Characterizing the APEC pathotype. Veterinary research. 2005;36(2):241-56.
22. Qin X, Hu F, Wu S, Ye X, Zhu D, Zhang Y, et al. Comparison of adhesin genes and antimicrobial susceptibilities between uropathogenic and intestinal commensal Escherichia coli strains. PLoS One. 2013;8(4):e61169.
23. Biggel M, Xavier BB, Johnson JR, Nielsen KL, Frimodt-Møller N, Matheeussen V, et al. Horizontally acquired papGII-containing pathogenicity islands underlie the emergence of invasive uropathogenic Escherichia coli lineages. Nature communications. 2020;11(1):1-15.
24. Farshad S, Emamghorashi F, Amin Shahidi M. Epidemiologic evaluation of virulence genes, pap ،sfa ،cnf-1 ،hlyin E. colistrains isolated from children withurinary tract infection. Iranian Journal of Medical Microbiology. 2009;2(3):31-7.