

## گروه فیلوژنی اش‌ریشیا کلی‌های جدا شده از جوجه بلدرچین‌های ژاپنی سپتی سمیک در اهواز

• زهرا برومند (نویسنده مسئول)

استادیار بهداشت و بیماری‌های طیور، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز

• رضا زارع

دانشجوی دکتری تخصصی بهداشت و بیماری‌های طیور، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز

• داریوش غریبی

دانشیار میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز

• رمضانعلی جعفری

استاد بهداشت و بیماری‌های طیور، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز

• مسعود قربانپور

استاد میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز

• کتابون کاظمی

فارغ‌التحصیل دوره عمومی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز  
تاریخ دریافت: ۱۳۹۶-۱۰-۰۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶-۱۲-۰۵

Email: z.boroomand@scu.ac.ir



### چکیده

بهداشت مناسب، مرگ و میر را در کلیه مراحل رشد بلدرچین در سطح پایین نگه می‌دارد. یکی از مهم‌ترین علت‌های مرگ و میر در جوجه‌های نوزاد، عفونت‌های باکتریایی می‌باشد. باکتری اش‌ریشیا کلی یکی از مهم‌ترین عوامل بیماری‌زای جدا شده در جوجه بلدرچین‌های ژاپنی سپتی-سمیک است. این میکروارگانیسم انتشار جهانی داشته و جزء فلور طبیعی دستگاه گوارش در انسان و حیوانات است. این مطالعه به منظور شناسایی گروه ژنوتیپی اش‌ریشیا کلی‌های جدا شده از بلدرچین‌های سپتی‌سمیک در مزارع بلدرچین صنعتی اطراف اهواز بر اساس حضور یا عدم حضور ۳ ژن *chua*، *vjaA* و *TspE4.C2* انجام گرفت. بدین منظور DNA بیست و نه جدایه اش‌ریشیا کلی استخراج و با استفاده از سه زوج پرایمر اختصاصی حضور سه ژن مذکور به روش زنجیره پلیمرز چندتایی (Multiplex PCR) بررسی شد. بررسی فیلوژنتیکی ۲۹ جدایه اش‌ریشیا کلی بلدرچین توزیع این جدایه‌ها را در چهار گروه فیلوژنتیکی (A (۳۴/۴۸)، B1 (۱۷/۲۴)، B2 (۱۰/۳۵) و D (۲۷/۵۸) نشان داد. بیشترین فراوانی در گروه فیلوژنی A مشاهده شد.

کلمات کلیدی: اش‌ریشیا کلی، گروه فیلوژنی، بلدرچین ژاپنی، PCR چندگانه

● Veterinary Researches & Biological Products No 119 pp: 72-78

### Phylogenetic groups of *E. coli* isolated from septicemic Japanese quail in Ahvaz

By: Boroomand, Z., (Corresponding Author) Avian Health and Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz-Iran. Zare, R., Avian Health and Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz-Iran. Gharibi, D., Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz-Iran. Jafari, R., Avian Health and Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz-Iran. And Ghorbanpour, M., Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz-Iran. Kazemi, K. DVM graduated student of Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz-Iran

Received: 2017-12-28 Accepted: 2018-02-24

Email: z.boroomand@scu.ac.ir

Suitable hygiene keeps low mortality rates in all quail growth stages. One of the most important causes of death in newborns is bacterial infections. *Escherichia coli* is one of the most important microbial agents in septicemic Japanese quail chicks. It has a global distribution and is part of the natural flora of the digestive system in human and animals. Phylogenetic study indicated that the great majority of *E. coli* strains can be classified into one of the four phylo-groups (A, B1, B2, and D). This study was conducted to identify the phylogenetic groups of *E. coli* isolated from septicemic Japanese quail in Ahvaz based on the presence or absence of three genes (*chuA*, *yjaA* and *TspE4.C2*). For this purpose, the DNA of 29 isolates of *E. coli* was extracted and tree mentioned genes were detected by multiplex polymerase chain reaction (Multiplex PCR). The isolates belonged to four main phylo-groups, including 34.48% isolates to A, 17.27% to B1, 10.35% B2 and 27.58% to D. The highest frequency was observed in the phylogenetic group A.

□ **Key words:** *E. coli*, phylo-groups, Japanese quail, multiplex PCR

### مقدمه

بلدرچین علاوه بر تولید گوشت و تخم، به دلیل سرعت رشد بالا و فاصله نسلی کوتاه به عنوان پرنده آزمایشگاهی هم کاربرد دارد. آلودگی باکتریایی در جوجه بلدرچین‌های نوزاد یکی از عوامل محدودکننده در پرورش این گونه از پرندگان است (۱۵). میکروارگانیسم‌های مختلفی باعث عفونت کیسه‌ی زرده می‌شوند. باکتری اشریشیا کلی یکی از مهم‌ترین اجرام میکروبی در این عفونت است که هم می‌تواند از طریق اوبدات و هم از طریق پوسته منتقل شود. در بعضی مواقع نفوذ این باکتری از دیواره کیسه زرده باعث انتشار آلودگی به پرده صفاق، کیسه‌های هوایی، پریکارد و صفاق کبدی می‌شود که به ترتیب به پریتونیت، تورم کیسه‌های هوایی، پریکاردیت و پریهپاتیت منجر می‌شود (۱۲).

اشریشیا کلی انتشار جهانی داشته و جزء فلور طبیعی دستگاه گوارش در انسان و حیوانات است (۱۳) و به آسانی از طریق غذا و آب (۲۱) و نیز تخم پرندگان در اکوسیستم‌های مختلف انتشار می‌یابد. بعضی از سویه‌های روده‌ای آن در پرندگان از پاتوژن‌های فرصت طلب هستند که اغلب به دنبال عوامل مستعدکننده عفونی یا غیرعفونی موجب جراحات موضعی یا عمومی گردیده و خسارات سنگینی را به صنعت طیور وارد می‌کنند (۱۸). در انسان نیز، این باکتری باعث عفونت خارج روده‌ای مثل عفونت ادراری و مننژیت می‌شوند (۷).

آنالیز فیلوژنتیکی سویه‌های اشریشیا کلی که براساس حضور یا عدم حضور سه ژن *chuA*، *yjaA* و *TSPE4.C2* صورت می‌گیرد، نشان داده است که جدایه‌ها در ۴ گروه فیلوژنتیکی اصلی B1، B2، A و D قرار می‌گیرند (۵). البته این باکتری در شش تحت گروه فیلوژنتیکی A0، A1، D1، B23، B22، B1 و D2 نیز قابل دسته‌بندی می‌باشند (۱۶). نظر به این که مطالعات زیادی در خصوص گروه فیلوژنتیکی اشریشیا کلی جدا شده از جوجه بلدرچین‌های صنعتی ایران صورت نگرفته است، در این مطالعه حضور یا عدم حضور ۳ ژن *chuA*، *yjaA* و *TspE4.C2* در جدایه‌های اشریشیا کلی بدست آمده از بلدرچین ژاپنی سپتی‌سمیک، با هدف تعیین گروه فیلوژنی انجام گرفت.

### مواد و روش کار

تعداد بیست و نه جدایه باکتری اشریشیاکلی به دست آمده از جوجه بلدرچین‌های سپتی‌سمیک (۱۱) که قبلاً شناسایی و تعیین هویت شده و آزمایش‌های بیوشیمیایی و آنتی‌بیوگرام بر روی آن‌ها انجام شده بود، در فریزر منفی ۸۰ در محیط شیر خشک نگهداری می‌شد (استوک)، پس از ذوب، بر روی محیط مک کانکی آگار کشت داده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در گرمخانه نگهداری شد. ۳ الی ۵ تا از کلنی‌های صورتی تیره (احتمالاً *E. coli*) بصورت تصادفی انتخاب شده

کنترل مثبت استفاده شد (۶). سویه اشریشیا کلی MG1655 که فاقد هر سه ژن *chuA*، *yjaA* و *TspE4.C2* می‌باشد، به عنوان کنترل منفی استفاده گردید. سکانس زوج پرایمرهای مورد استفاده و وزن مولکولی محصولات PCR مطابق جدول ۱ می‌باشد.

واکنش PCR چندانگانه از یک مخلوط واکنش ۲۵ μl بدست می‌آید که شامل ۱۲/۵ μl ماستر میکس (حاوی Tris-HCL pH۸.۵، ۲SO<sub>4</sub> (NH<sub>4</sub>)، ۰.۲، ۰.۴mM dNTPS، ۰.۲ Tween، ۰.۲، ۱.۵mM MgCl<sub>2</sub> هر پرایمر (Bionner ۱ μL from) (۱۰ μM)، کره جنوبی)، آب مقطر ۲/۵ L و نمونه DNA ۴ L است.

برنامه PCR در یک چرخه حرارتی انجام شد (اپندورف، آلمان)؛ به شرح زیر: تغییر ساختار اولیه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای ۵ دقیقه و سپس ۳۰ چرخه شامل ۳۰ ثانیه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۳۰ ثانیه در ۵۵ درجه سانتی‌گراد و ۳۰ ثانیه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد و سپس یک گسترش نهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه. محصولات بر روی ژل آگاروز ۱/۵ درصد شامل رنگ ایمن (safe stain) از هم جدا شدند.

### آنالیز آماری

نتایج به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۰) و با استفاده از آزمون مربع کای و فیشر انجام گرفت و تفاوت‌ها در سطح  $(p \geq 0/05)$  معنی‌داری تلقی شدند.

### نتایج

بررسی فیلوژنتیکی ۲۹ جدایه‌ی اشریشیا کلی بلدرچین با استفاده از آزمایش PCR چندتایی، (شکل ۱)، توزیع این جدایه‌ها را در چهار گروه فیلوژنتیکی B1، A، B2 و D نشان داد. آزمون مربع کای نشان داد

و با استفاده از آزمون‌های بیوشیمیایی استاندارد و کشت مجدد بر روی محیط EMB بار دیگر *E. coli* بودن آن‌ها تأیید شد.

### استخراج DNA

استخراج DNA از طریق روش جوشاندن انجام شد. به طور خلاصه، چند تا از کلنی‌های تک خالص مربوط به هر نمونه در ۳۰۰ μl آب مقطر استریل حل شدند تا به صورت محلول در آمدند؛ سپس در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد حمام آب گرم به مدت ۱۰ دقیقه حرارت دیدند و در انتها به مدت ۵ دقیقه به صورت مستقیم بر روی یخ قرار گرفتند. سپس میکروتیوب‌ها در دور ۱۳۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند که در نهایت مایع رویی به عنوان الگو DNA استفاده شد.

### تعیین گروه و زیرگروه‌های فیلوژنیک با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز چندگانه (Multiplex PCR)

جدایه‌های *E. coli* به روش PCR سه‌گانه بر اساس حضور یا عدم حضور ۳ ژن *chuA*، *yjaA* و *TspE4.C2* به چهار گروه فیلوژنیک متمایز (D و A، B1، B2) و ۷ زیرگروه (D1، B23، B22، B1، A1، A0 و D2)، تفکیک می‌شوند. آزمایش PCR برای شناسایی ژن‌های تعیین‌کننده‌ی گروه فیلوژنتیکی مطابق با روش‌های پیشنهادی کلرمونت و همکاران (۲۰۰۰) و جراردو و همکاران (۲۰۰۵) انجام گرفت (۳ و ۸) و تحت گروه‌های فیلوژنتیکی بر اساس روش پیشنهادی اسکوبار- پارامو و همکاران (۲۰۰۴) تعیین شدند (۵). با قرار دادن سه مارکر ژنتیکی شامل: ژن *chuA*، ژن *yjaA* و ژن *c2.TspE4*، گروه فیلوژنتیکی هر یک از جدایه‌ها به روش PCR چندتایی تعیین شد. بر اساس تکثیر یا عدم تکثیر این سه مارکر ژنتیکی و با توجه به نمودار درختی، گروه فیلوژنی آن‌ها تعیین گردید. سویه‌های استاندارد اشریشیا کلی ECOR۶۲ در آزمایش PCR به عنوان

جدول ۱- پرایمرها و سویه‌های استاندارد مورد استفاده در PCR فیلوژنی و جزئیات آن‌ها

کنترل منفی	کنترل مثبت	وزن محصول	سکانس اولیگونوکلئوتیدی (۳ ۵)
<i>E. coli</i> MG1655	<i>E. coli</i> ECOR۶۲ B۲(B۲۳)	279 bp	<i>chuA1</i> GACGAACCAACGGTCAGGAT <i>chuA2</i> TGCCGCCAGTACCAAAGACA
<i>E. coli</i> MG1655	<i>E. coli</i> ECOR۶۲ B۲(B۲۳)	211 bp	<i>yjaA1</i> TGCCGCCAGTACCAAAGACA <i>yjaA2</i> ATGGAGAATGCGTTCCTCAAC
<i>E. coli</i> MG1655	<i>E. coli</i> ECOR۶۲ B۲(B۲۳)	151 bp	<i>TspE4C2.1</i> GAGTAATGTCGGGGCATTTC <i>TspE4C2.2</i> CGCGCAACAAAGTATTACG

صنعتی، مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها و فرمولاسیون جیره‌های غذایی مختلف از مهم‌ترین عواملی هستند که تنوع سویه‌ای را موجب می‌شوند (۶). این تنوع که حاصل موتاسیون یا انتقال افقی ژن‌ها می‌باشد، باعث شده است تا هر سویه‌ای به یک اکوسیستم خاص سازگار شود (۲۲). کلرمونت و همکاران (۲۰۰۰) برای اولین بار از روش PCR به منظور ارزیابی ژن‌های *chua*، *yjaA* و *TSPE4.C2* در ۲۳۰ سویه اشریشیا کلی استفاده نمودند (۳). تکنیک PCR به عنوان روشی ساده و سریع در مطالعات گروه‌بندی فیلوژنتیک استفاده می‌گردد. از آنجایی که ژن *chua* در تمامی سویه‌ها متعلق به گروه‌های B<sub>۲</sub> و D حضور دارد اما در گروه‌های A و B<sub>۱</sub> وجود ندارد، بنابراین می‌توان این دو گروه فیلوژنتیک را از یکدیگر جدا نمود. بر همین اساس ارزیابی حضور یا عدم حضور ژن *yjaA* موجب تفکیک کامل بین دو گروه B<sub>۲</sub> و D می‌گردد. در نهایت قطعه *TSPE4.C2* سویه‌های دو

توزیع داده‌ها در فیلوگروه‌ها یکنواخت نمی‌باشد ( $P=0/001$ ) به طوریکه فراوانی فیلوگروه A (۳۴/۴۸) نسبت به گروه‌های B<sub>۱</sub> (۱۷/۲۴)، B<sub>۲</sub> (۱۰/۳۵) و D (۲۷/۶۳) به طور معنی داری بیشتر بود ( $P<0/05$ ). فراوانی و درصد جدایه‌ها در فیلوگروه‌ها در جدول‌های ۲ و ۳ آمده است.

### بحث

اشریشیا کلی از خانواده انتروباکتریاسه از پاتوژن‌های فرصت‌طلب است که اغلب به دنبال عوامل مستعدکننده عفونی یا غیرعفونی موجب جراحات موضعی یا عمومی می‌گردد (۱۸). انتشار جهانی اشریشیاکلی نشان می‌دهد که برای رشد در محیط‌های مختلف توانایی زیادی دارد و در نتیجه ممکن است گروه‌های فیلوژنتیکی متفاوتی از این باکتری وجود داشته باشند. محیطی که میزبان در آن زندگی می‌کند، اصلاح نژاد پرندگان

جدول ۲- توزیع اشریشیا کلی جدا شده از جوجه بلدرچین‌های سپتیمیسمیک در گروه‌های فیلوژنتیک

جدایه	تعداد	درصد
A	۱۰	۳۴/۴۸
B <sub>۱</sub>	۵	۱۷/۲۴
B <sub>۲</sub>	۳	۱۰/۳۵
D	۸	۲۷/۵۸
Untypeable	۳	۱۰/۳۵
کل	۲۹	۱۰۰

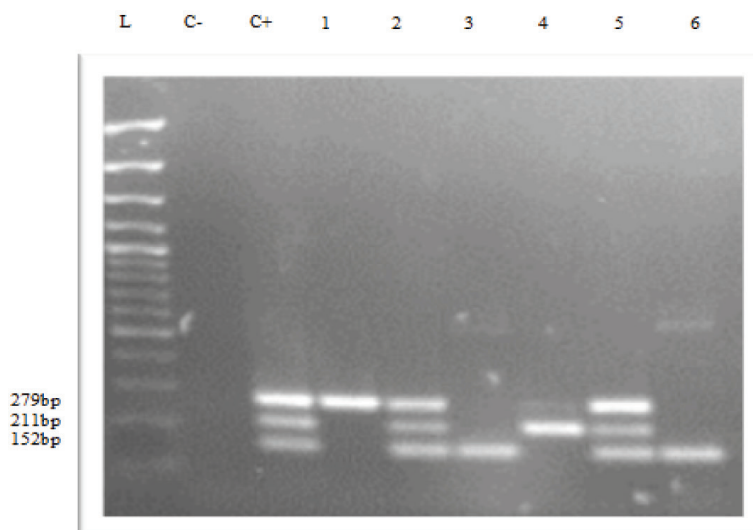
جدول ۳- توزیع اشریشیا کلی جدا شده از جوجه بلدرچین‌های سپتیمیسمیک در زیرگروه‌های فیلوژنتیکی

جدایه	تعداد	درصد
A0	۲	۶/۹
A1	۸	۲۷/۵۸
B <sub>۱</sub>	۵	۱۷/۲۴
B <sub>۲۲</sub>	۲	۶/۹
B <sub>۲۳</sub>	۱	۳/۴۵
D <sub>۱</sub>	۷	۲۴/۱۳
D <sub>۲</sub>	۱	۳/۴۵
Untypeable	۳	۱۰/۳۴
کل	۲۹	۱۰۰

کلی‌باسیلوز پرنندگان، ۴۶/۱ درصد جدایه‌ها را در گروه A و ۳۵/۱ درصد در گروه B<sub>۲</sub> گزارش کردند (۷). صالحی و قنبرپور (۲۰۱۰) جدایه‌های اشریشیا کلی جدا شده از مزارع پرورش بلدرچین را از نظر آنالیز فیلوژنی مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که حدود ۵۵ درصد جدایه‌ها متعلق به گروه فیلوژنی A، ۱۸/۳ درصد متعلق به B<sub>۱</sub>، ۱۷/۴ درصد متعلق به B<sub>۲</sub> و ۹/۲ درصد متعلق به گروه D بود. فراوانی قرار گرفتن جدایه‌ها در گروه‌های فیلوژنی مختلف به ترتیب به صورت B<sub>۲</sub>، A، B<sub>۱</sub> و D بود (۱۹). به نظر می‌رسد جدایه‌های اشریشیا کلی از نمونه‌های مورد مطالعه مختلف از نظر انتشار فیلوژنتیکی متفاوت هستند و بیشتر جدایه‌های بدست آمده در این مطالعه همانند سایر مطالعات متعلق به گروه فیلوژنی A بودند. با توجه به مطالعه دیسایاناک و همکاران (۲۰۰۸) در بررسی توزیع فراوانی اشریشیا کلی بیماری‌زا و همزیست در طیور در گروه‌های فیلوژنی نشان داده شد که بیشترین فراوانی به ترتیب متعلق به گروه A به میزان ۷۰ درصد، D به میزان ۱۸/۶۵ درصد می‌باشد و گروه‌های فیلوژنی B<sub>۲</sub> و B<sub>۱</sub> به ترتیب به میزان ۷/۹ و ۴/۱ درصد دارای کمترین مقادیر بودند و مجموعاً حدود ۸۶ درصد از نمونه‌های همزیست متعلق به فیلوگروپ A بود (۴) که با نتایج این مطالعه همسو می‌باشد. با توجه به اینکه سویه‌های مختلف اشریشیا کلی در گروه‌های مختلف فیلوژنتیکی و در وضعیت جغرافیایی متفاوت باعث ایجاد بیماری‌های مختلفی می‌گردد (۹) و دارای تفاوت‌هایی در بسیاری از ویژگی‌های خود مانند مکان و نحوه زندگی، استفاده از منابع مختلف کربن برای تولید انرژی، نرخ رشد، میزان پاتوژنسیته و مقاومت آنتی‌بیوتیکی می‌باشند (۱) می‌توان گفت که با توجه به نوع جدایه در شرایط متفاوت می‌تواند متعلق

گروه A و B<sub>۱</sub> از هم تفکیک می‌نماید. با توجه به مطالب یاد شده به نظر می‌رسد که گروه‌های B<sub>۲</sub> و D و نیز گروه‌های A و B<sub>۱</sub> خواهری می‌باشند که از لحاظ تاریخچه‌ای تکاملی احتمالاً دارای جد مشترک بوده‌اند. B<sub>۲</sub> به عنوان یک جد مشترک برای این دو گروه شناخته شده است (۱). علاوه بر این اندازه ژنوم نیز در بعضی از این گروه‌ها متغیر می‌باشد به طوری که گروه‌های A و B<sub>۱</sub> دارای ژنوم کوچک‌تری نسبت به گروه‌های B<sub>۲</sub> و D می‌باشند (۲). در مطالعه حاضر ۳۴/۴۸ درصد کل جدایه‌های اشریشیا کلی در گروه A، ۱۷/۲۴ درصد در گروه B<sub>۱</sub>، ۱۰/۳۵ درصد در گروه B<sub>۲</sub>، ۲۷/۵۸ درصد در گروه D بودند. در بین جدایه‌ها بیشترین فراوانی متعلق به گروه A بود. ملکی و همکاران (۱۳۹۴) به شناسایی تعدادی از ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی و ارتباط آن با گروه فیلوژنی در اشریشیا کلی جدا شده از ماکیان گوشتی سالم و سپتی‌سمیک در اهواز پرداختند. در مطالعه آن‌ها ۵۲ درصد کل جدایه‌های (مدفوعی و سپتی‌سمیک) اشریشیا کلی در گروه A، ۲۸/۷ درصد در گروه D، ۱۰ درصد در گروه B<sub>۲</sub> و ۹/۳ درصد در گروه B<sub>۱</sub> بودند. در بین جدایه‌های مدفوعی و سپتی‌سمیک بیشترین فراوانی متعلق به گروه A و بعد از آن D بود (۱۴).

شیبانی و همکاران (۲۰۱۱) در بررسی فیلوژنتیکی ۱۱۱ جدایه بیماری‌زای اشریشیا کلی شامل ۲۳ جدایه از موارد مرگ جنینی، ۱۶ جدایه از عفونت کیسه زرده و ۷۲ جدایه از کلی‌سپتی‌سمی کبک‌ها در منطقه کرمان نشان دادند که جدایه‌ها در ۴ گروه فیلوژنتیکی B<sub>۲</sub>، A، B<sub>۱</sub> و D توزیع شدند که بیشترین فراوانی به ترتیب مربوط به گروه فیلوژنی ۴۷/۷ درصد در گروه A و ۲۷ درصد در گروه B<sub>۱</sub> می‌باشد (۲۰). اورز و همکاران (۲۰۰۷) در بررسی و تعیین فیلوژنی جدایه‌های اشریشیا کلی در



شکل ۱- الکتروفورز محصول واکنش PCR جهت تعیین گروه و زیر گروه فیلوژنی روی ژل آگاروز

L: مارکر C-bp<sub>۱۰۰</sub>: اشریشیا کلی سویه MG1655 (کنترل منفی)، C+: اشریشیا کلی سویه ECOR۶۲ (کنترل مثبت)، ۱ تا ۶: نمونه

6. Escobar-Páramo, P., Menac'h, L., Gall, T., Amorin, C., Gouriou, S., Picard, B., and Denamur, E. 2006. Identification of forces shaping the commensal *Escherichia coli* genetic structure by comparing animal and human isolates. *Environmental microbiology* 8(11): 1975-1984.
7. Ewers, C.G., Li, H., Wilking, S., Kiessling, K., Alt, E.M., Anta'o, C., Laturmus, I., Diehl, S., Glodde, T., Homeier, U., Böhnke, H., Steinrück, H., Philipp, C., and Wieler, L.H. 2007. Avian pathogenic, uropathogenic, and newborn meningitis-causing *Escherichia coli*. *International Journal of Medical Microbiology* 297: 163-176.
8. Girardeau, J.P., Dalmaso, A., Bertin, Y., Ducrot, C., Bord, S., Livrelli, V., Vernozy-Rozand, C., and Martin, C. 2005. Association of virulence genotype with phylogenetic background in comparison to different seropathotypes of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolates. *Journal of Clinical Microbiology* 43: 6098-6107.
9. Gordon, D.M., and Cowling, A. 2003. The distribution and genetic structure of *Escherichia coli* in Australian vertebrates: host and geographic effects. *Microbiology* (2003), 149, 3575-3586.
10. Johnson, J.R., Delavari, P., Kuskowski, M., and Stell, A.L. 2001. Phylogenetic distribution of extraintestinal virulence-associated traits in *Escherichia coli*. *Journal of Infectious Diseases* 183(1): 78-88.
11. Kazemi, K. 2015. An investigation into enterobacteriaceal agents responsible for early mortality in Japanese quail chicks and their antibiotic susceptibility patterns. DVM thesis. Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran. (In Persian).
12. Khan, K.A., Khan, S.A., Aslam, A., Rabbani, M., and Tipu, M.Y. 2004. Factors contributing to yolk retention in poultry: a review. *Pakistan Veterinary Journal* 24 (1): 46-51.
13. Livermore, D.M. 1998.  $\beta$ -Lactamases-mediated resistance and opportunities for its control. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 41(4): 25-41.
14. Maleki, E. 2015. Detection of antimicrobial resistance genes and its relation to phylogenetic groups in *Escherichia coli* isolated from healthy and septicemic broiler chickens in Ahvaz. Ph.D thesis. Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran. (In Persian).
15. Nain, S., and Smits, J. E.G. 2011. Validation of a disease model in Japanese quail (*Coturnixcoturnix japonica*) with the use of *Escherichia coli* serogroup O2 isolated from a Turkey. *Can J Vet Res* 75(3): 171-175.
16. Picard, B., Garcia, J.S., Gouriou, S., Duriez, P., Brahimi, N., Bingen, E., and Denamur, E. 1999. The Link between Phylogeny and Virulence in *Escherichia coli* Extraintestinal Infection. *Infection and Immunity* 67(2): 546-553.
17. Rodriguez-Siek, K.E., Giddings, C.W., Doetkott, C., Johnson,

به گروه فیلوژنی متفاوتی باشد. عمده‌ترین اشریشیا کلی همزیست و غیرپاتوژن جدا شده از ماکیان سالم به فیلوگروپ A و گاهی B<sub>1</sub> تعلق دارد (۳). می‌توان نتیجه گرفت که بیشترین اشریشیا کلی بیماری‌زا در طیور متعلق به گروه فیلوژنی A و D می‌باشد و شاید جدایه‌های بیماری‌زای تعلق به گروه A همان جدایه همزیست بوده که به صورت فرصت طلب و به طور ثانویه باعث ایجاد عفونت شدند (۱۷). اغلب سویه‌هایی از باکتری اشریشیا کلی که قادر به تحمل محیط بیرون می‌باشند در گروه B<sub>1</sub> و اغلب پاتوژن‌های خارج روده‌ای این باکتری اغلب در گروه‌های B<sub>2</sub> و D قرار دارند و نشان داده شده‌است که دارای فاکتور پاتوژن‌سپسته بیشتری نسبت به دو گروه دیگر می‌باشند (۱۰).

مطالعات گسترده‌ای در نقاط مختلف جهان از جمله ایران بر سویه‌های همزیست و سپتی‌سمیک اشریشیا کلی طیور انجام شده است. این مطالعه نیز به منظور بررسی گروه فیلوژنی اشریشیا کلی‌های جدا شده از جوجه بلدرچین‌های ژاپنی سپتی‌سمیک در اهواز، یکی از مناطق مهم پرورش صنعتی طیور گوشتی در ایران، انجام شد تا با تعیین فیلوژنی این باکتری بسیار مهم بتوان سیاست پیشگیری و درمانی مناسبی را در منطقه اتخاذ نمود.

#### تشکر و قدردانی

نویسندگان وظیفه خود می‌دانند از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز که پژوهش فوق را حمایت مالی نمودند، تشکر و قدردانی نمایند.

#### منابع مورد استفاده

1. Akond, M.A., Alam, S., Hassan, S.M.R., and Shirin, M. 2009. Antibiotic resistance of *Escherichia coli* isolated from poultry and poultry environment of Bangladesh. *Internet Journal of food safety* 11: 19-23.
2. Bergthorsson, U., and Ochman, H. 1998. Distribution of chromosome length variation in natural isolates of *Escherichia coli*. *Molecular Biology and Evolution* 15(1): 6-16.
3. Clermont, O., Bonacorsi, S., and Bingen, E. 2000. Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group. *Applied and Environmental Microbiology* 66(10): 4555-4558.
4. Dissanayake, D.R.A., Wijewardana, T.G., Gunawardena, G.A., and Poxton, I.R. 2008. Distribution of lipopolysaccharide core types among avian pathogenic *Escherichia coli* in relation to the major phylogenetic groups. *Veterinary Microbiology* 132(3): 355-363.
5. Escobar-Paramo, P., Grenet, K., Le Menac'h, A., Rode, L., Salgado, E., Amorin, C., Gouriou, S., Picard, B., Rahimy, M.C., Andremont, A., Denamur, E., and Ruimy, R. 2004. Large-scale population structure of human commensal *Escherichia coli* isolates. *Applied and Environmental Microbiology* 70: 5698-5700.

- T.J., Fakhr, M.K., and Nolan, L.K. 2005. Comparison of *Escherichia coli* isolates implicated in human urinary tract infection and avian colibacillosis. *Microbiology* 151(6): 2097-2110.
18. Saif, Y.M., and Etteradossi, N. 2008. Infectious bursal disease. pp. 153-184, In: Disease of Poultry. Saif, Y.M., Fadly, A.M., Glisson, J.K., Mcdouglad, L.R., Nolan, L.K., and Swayne. DE. 12th Edition. Blackwell Publishing Professional. Ames, Iowa, U.S.A.
19. Salehi, M., and Ghanbarpour, R. 2010. Phenotypic and genotypic properties of *Escherichia coli* isolated from colisepticemic cases of Japanese quail. *Tropical Animal Health and Production* 42(7): 1497-1504.
20. Sheibani, H. 2011. Identification of fementeria factors in the *Escherichia coli* isolated from general cases of Quebec colisepticemic. Ph.D. thesis. ShahidBahonar University of Kerman, Iran. (In Persian).
21. Skurnik, D., Ruimy, R., Andremont, A., Amorin, C., Rouquet, P., Picard, B., and Denamur, E. 2006. Effect of human vicinity on antimicrobial resistance and integrons in animal faecal *Escherichia coli*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 57(6): 1215-1219.
22. Smith, J.M., Smith, N.H., O'Rourke, M., and Spratt, B.G. 1993. How clonal are bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 90(10): 4384-4388.

