Original Article

Prevalence of Shiga toxin and Intimine genes in Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from urine samples in Lorestan, Iran

Adeli Z[1], Firoozeh F[2*], Zibaei M[3], Shakib P[4]

1- Department of Microbiology, Islamic Azad University, Damghan Branch, I. R. Iran.
2- Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.
3- Department of Parasitology and Mycology, Faculty of Medicine, Lorestan University of Medical Sciences, Khorram Abad, I. R. Iran.
4- Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Medicine, Lorestan University of Medical Sciences, Khorram Abad, I. R. Iran.

Received November 12, 2012; Accepted February 20, 2013

Abstract:

Background: Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC), as one of the most important food-borne pathogen, in human may lead to deadly syndromes, like hemolytic–uremic syndrome (HUS). Occurrence of HUS following urinary tract infection (UTI) has been previously reported. The aim of this study was to identify *stx1*, *stx2* and *eaeA* genes in *E. coli* strains isolated from urine samples in Alashtar **(**Lorestan, Iran)

Materials and Methods: A total number of 144 bacterial isolates were collected from three hospitals in Alashtar during a six-month period. One-hundred *E. coli* isolates were identified using the standard biochemical tests as well as the selective and differential media. The multiplex PCR method was used to evaluate the presence of *stx1*, *stx2* and *eaeA* genes.

Results: Two out of 100 *E. coli* isolates carried both *stx2* and *eaeA* genes and one isolate (1%) only *sxt1*gene. Moreover, the three genes were not found in any of the isolates tested.

Conclusion: Detection of Shiga toxin-producing *E. coli* (e.g. O157:H7 and non-O157:H7 serotypes), which may lead to life-threatening syndromes such as HUS, from urine samples is of great importance. Further research in this field using the fast and precise molecular methods is recommended.

Keywords: *E. coli*, Shiga toxin, Intimine, Urinary tract infection

* **Corresponding Author.**
Email: ffiroozeh@ut.ac.ir
Tel: 0098 912 560 1989
Fax: 0098 361 555 1112

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences May, 2013; Vol. 17, No 2, Pages 188-194

Please cite this article as: Adeli Z, Firoozeh F, Zibaei M, Shakib P. Prevalence of Shiga toxin and Intimine genes in Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from urine samples in Lorestan, Iran. ***Feyz*** 2013; 17(2): 188-94.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-06-11]

بررسی شیوع ژن‌های شیگاتوکسین و اینتیمین در سویه‌های *اشریشیاکلی* مولد شیگاتوکسین جدا شده از نمونه‌های عفونت ادراری در استان لرستان

زهرا عادلی [۱]، فرزانه فیروزه [۲*]، محمد زیبایی [۳]، پگاه شکیب [٤]

خلاصه:

سابقه و هدف: *اشریشیاکلی* تولیدکننده شیگاتوکسین یکی از پاتوژن‌های مهم ایجادکننده بیماری‌های منتقل شونده از طریق مواد غذایی می‌باشد که ممکن است منجر به بروز سندروم‌های خطرناکی مانند سندروم اورمی همولیتیک در انسان گردد. تاکنون مواردی از بروز اورمی همولیتیک متعاقب عفونت‌های ادراری گزارش شده است. هدف از این پژوهش بررسی ژن‌های stx۱, *stx۲*, *eaeA* در سویه‌های *اشریشیا کلی* جدا شده از نمونه‌های ادراری در شهرستان الشتر، استان لرستان می‌باشد.

مواد و روش‌ها: تعداد ۱٤٤ جدایه باکتریایی عامل عفونت ادراری در مدت شش ماه از سه بیمارستان در شهرستان الشتر جمع‌آوری گردید. پس از کشت نمونه‌های فوق در محیط‌های افتراقی، اختصاصی و استفاده از آزمون‌های بیوشیمیایی استاندارد، از میان آن‌ها، تعداد ۱۰۰ جدایه *اشریشیا کلی* تعیین هویت گردید. با استفاده از روش Multiplex PCR و پرایمرهای اختصاصی حضور ژن‌های *stx۱*, *stx۲* و *eaeA* مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج: از ۱۰۰ جدایه *اشریشیا کلی* مورد بررسی، تعداد ۲ جدایه (۲ درصد) دارای ژن‌های *stx۲* و *eaeA* بودند. یک جدایه (۱ درصد) دارای ژن *stx۱* بود و هیچ جدایه‌ای با هر سه ژن مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: جداسازی *اشریشیاکلی‌های* تولیدکننده شیگاتوکسین مانند سروتیپ‌های O۱۵۷: H۷ و غیر O۱۵۷: H۷ از عفونت‌های ادراری به‌دلیل امکان ایجاد سندروم‌های کلینیکی خطرناک مانند سندروم اورمی همولیتیک از اهمیت زیادی برخوردار است و لزوم بررسی‌های بیشتر در این زمینه با استفاده از روش‌های سریع و دقیق مانند روش‌های مولکولی را نشان می‌دهد.

واژگان کلیدی: *اشریشیا کلی*، شیگاتوکسین، اینتیمین، عفونت ادراری

دو ماه‌نامه علمی– پژوهشی فیض، دوره هفدهم، شماره ۲، خرداد و تیر ۱۳۹۲، صفحات ۱۹٤-۱۸۸

مقدمه

سویه‌های *اشریشیاکلی* مولد شیگاتوکسین (Shiga toxin-producing *E. coli*; STEC)، از مهم‌ترین باکتری‌های بیماری‌زای منتقل شونده به‌وسیله مواد غذایی هستند. این سویه‌ها می‌توانند علاوه بر ایجاد مسمومیت غذایی، عامل بیماری‌های شدیدی مانند اسهال خونی، کولیت خونریزی دهنده، و سندروم اورمی همولیتیک باشند. بیشترین موارد کولیت خونریزی دهنده و سندروم اورمی همولیتیک مربوط به سروتیپ O۱۵۷: H۷ می‌باشد که به‌عنوان مهم‌ترین سروتیپ این سویه در نظر گرفته می‌شود [۱].

سایر سروتیپ‌های تولیدکننده شیگاتوکسین مانند سروتیپ‌های غیر O۱۵۷: H۷ نیز در بسیاری از موارد تک‌گیر و یا طغیان عامل بیماری و نیز سندروم اورمی همولیتیک گزارش شده است. جداسازی سروتیپ‌های غیر O۱۵۷: H۷ از موارد بیماری یک روند رو به افزایش داشته است [۲]. اگرچه جداسازی STEC خارج روده‌ای کمتر گزارش شده است، اما مواردی از عفونت ادراری که منجر به سندروم اورمی همولیتیک شده است نیز گزارش گردیده است [۳]. سویه‌های *اشریشیاکلی* وروتوکسیژنیک (VTEC) توکسینی ترشح می‌کنند که به‌دلیل توانایی آن در کشتن سلول‌های vero، وروتوکسین و به‌دلیل شباهت آن به نوروتوکسین شیگای مترشحه از *شیگلا دیسانتری* تیپ I، توکسین شبیه شیگاتوکسین نامیده شده و سویه‌های تولیدکننده آن نیز به STEC معروف می‌باشند [٤]. ژن تولیدکننده وروتوکسین بر روی ژنوم باکتریوفاژ معتدل قرار دارد و توسط تبدیل فاژی به *اشریشیا کلی* وارد می‌گردد [٤]. توکسین‌های ورو به دو گروه stx_1, stx_2 تقسیم‌بندی می‌شوند، وروتوکسین با اثر بر روی RNA ریبوزومی سبب ممانعت از سنتز پروتئین‌ها می‌شود [٦،٥] توانایی باکتری *اشریشیا-کلی* O۱۵۷:H۷ در ایجاد بیماری های شدید برای انسان‌ها، به‌دلیل

[۱] کارشناس ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان

[۲] استادیار، گروه میکروب شناسی و ایمنی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

[۳] استادیار، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان

[٤] کارشناس ارشد، گروه میکروب شناسی و ایمنی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان

***نشانی نویسنده مسئول:**

کاشان، کیلومتر ۵ بلوارقطب راوندی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، دانشکده پزشکی، گروه میکروب شناسی و ایمنی شناسی

تلفن: ۰۹۱۲ ۵۶۰۱۹۸۹ **دورنویس:** ۰۳۶۱ ۵۵۵۱۱۱۲

پست الکترونیک: ffiroozeh@ut.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۱/۸/۲۲ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۹۱/۱۲/۲

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-06-11]

ترشح شیگاتوکسین‌های stx_1 و stx_2 یا وروتوکسین‌ها (VT۲, VT۱) و واریته‌های این توکسین‌ها است [۷]. یکی دیگر از عوامل بیماریزای این سویه، پروتئینی به نام اینتیمین (Intimin) است که یک پروتئین ۹٤ kDa غشای خارجی بوده و به‌وسیله ژن *eae* کد می‌شود. این پروتئین مسئول اتصال نزدیک باکتری به سلول‌های اپی‌تلیال روده و ایجاد آسیب طی مکانیسم‌های خاصی به نام اتصال و محو شدن است [۷]. آلودگی با باکتری *اشریشیا کلی* O۱۵۷:H۷ اغلب به‌دلیل مصرف مواد غذایی آلوده مانند انواع گوشت و گوشت چرخ کرده، ساندویچ‌های گوشتی، شیر خام و پاستوریزه آلوده، ماست، پنیر، همبرگر، سوسیس، سبزیجات و آب میوه‌ها ایجاد می‌شود [۸]. شناسایی این سویه‌ها به‌طور معمول در آزمایشگاه‌ها انجام نمی‌شود و پژوهشگران درصدد یافتن راه‌های ساده برای غربالگری این باکتری هستند. یکی از روش‌های استاندارد شناسایی توکسین ورو، کشت سلولی و اثر سیتوتوکسیک توکسین بر روی سلول‌های ورو می‌باشد. این روش آهسته بوده، استاندارد کردن آن مشکل است و نیاز به تجربه و مهارت‌های خاصی دارد. علاوه بر آن به امکاناتی نظیر کشت سلولی، آنتی-توکسین ورو جهت خنثی کردن و تشخیص نوع توکسین نیاز دارد. سروتیپ‌های متعددی در ارتباط با تولید توکسین شناخته شده‌اند و بهره‌گیری از تست‌های سرولوژیک جهت تعیین هویت سروتیپ‌ها فرآیندهائی زمان‌بر است و از نظر اقتصادی نیز مقرون به صرفه نمی‌باشد [۱۰،۹]. سروتیپ O۱۵۷: H۷ مهم‌ترین سروتیپ در گروه *اشریشیا کلی* انتروهموراژیک به‌شمار می‌رود و در بیشتر کشورها به‌عنوان عامل اصلی عفونت شناخته شده است [۱۱]. جداسازی *اشریشیا کلی* O۱۵۷:H۷ در آزمایشگاه بر اساس دو ویژگی عدم تخمیر سریع سوربیتول و عدم توانایی تولید بتاگلوکورونیداز انجام می‌شود که به جداسازی فنوتیپی *اشریشیا کلی* O۱۵۷: H۷ از سویه‌های دیگر کمک می‌کند. بر همین اساس می‌توان از محیط‌های سوربیتول مک کانکی آگار و کروم آگار اختصاصی O۱۵۷ به-منظور شناسایی باکتری استفاده نمود [۸]. به‌منظور ژنوتایپینگ و بررسی هم‌زمان ژن‌های بیماری زای این باکتری، برخی محققین با استفاده از روش Multiplex PCR پرایمرهای مختلفی را برای تشخیص این ژن‌ها پیشنهاد نموده‌اند [۱٤-۱۲]. جداسازی سروتیپ‌های غیر O۱۵۷: H۷ از موارد اورمی همولیتیک روند رو به افزایش داشته است [۱۵]. بررسی شیوع بیماری‌های ایجاد شده به‌وسیله سروتیپ‌های غیر O۱۵۷: H۷ دشوار بوده زیرا این سروتیپ‌ها سوربیتول مثبت می‌باشند و محیط‌های اختصاصی جهت تعیین هویت آنها وجود ندارد، لذا جهت تعیین هویت آنها بهره-گیری از روش‌های مولکولی بر اساس ژن‌های ویرولانس نظیر *stx* توصیه می‌گردد [۱۵]. با توجه به نکات اشاره شده فوق و این‌که مطالعات بر روی فراوانی این سویه‌ها در ایران محدود بوده و در اکثر آنها صرفا از روش کشت برای شناسایی استفاده شده است [۱٦]، هدف از مطالعه حاضر بررسی شیوع ژن‌های *stx۱*، *stx۲*، *eaeA* در سویه‌های *اشریشیا کلی* مولد شیگا توکسین جدا شده از نمونه‌های عفونت ادراری در استان لرستان می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه توصیفی-مقطعی تعداد ۱٤٤ نمونه عفونت ادراری باکتریایی از بیمارستان امام خمینی و درمانگاه شهید ابراهیم حسنوند در شهرستان الشتر به‌مدت شش ماه (اسفند ۱۳۹۰ لغایت مرداد ۱۳۹۱) جمع آوری شد. پس از کشت نمونه های فوق در محیط‌های افتراقی، اختصاصی و استفاده از آزمون‌های بیوشیمیایی استاندارد، تعداد ۱۰۰ جدایه *اشریشیا کلی* تعیین هویت گردید [۱۷]. جهت انجام مراحل بعدی مطالعه، سویه‌های جدا شده در محیط تریپتوکیس سوی براث (TSB) حاوی ٤۰ درصد گلیسرول و در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. استخراج و تخلیص DNA: جهت استخراج DNA ژنومیک از کیت استخراج DNA شرکت تکاپو زیست استفاده شد. پس از استخراج با دستگاه اسپکتوفتومتر، UV و الکتروفورز، بررسی کمی و کیفی بر روی کلیه نمونه‌های استخراجی صورت گرفت. محصول استخراج تا زمان انجام PCR در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. آزمون PCR چند گانه: در این تحقیق از بافر و Taq DNA پلیمراز شرکت سیناژن استفاده شد. برای انجام PCR از دو جفت پرایمر اختصاصی به ژن‌های شیگاتوکسین‌ها به نام‌های VT1a ,VT1b (*stx1*) و VT2a ,VT2b (*stx2*) و نیز پرایمر اختصاصی به ژن *اینتیمین* (*eae*) استفاده گردید. پرایمرها توسط شرکت سینا ژن تهیه شده و بر طبق دستورالعمل شرکت سازنده آماده‌سازی گردید. جدول شماره ۱ توالی الیگونوکلئوتیدی سه جفت پرایمر مورد استفاده برای ژن‌های هدف و اندازه محصولات تقویت شده، را نشان می‌دهد [۱۸]. جهت انجام آزمون PCR چندگانه، حجم نهایی واکنش PCR، ۵۰ میکرولیتر تهیه گردید و شامل موارد زیر بود: ۱۰ میلی‌مولار بافر Tris-HCL، ۳ میلی‌مولار کلرید منیزیم، ۰/۲ میلی‌مولار dNTPs،۱ واحد آنزیم Taq DNA پلیمراز، ۲۰ پیکومول از هر یک از پرایمرها و ٤ میکرولیتر DNA الگو. واکنش PCR با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (Techne, UK) با شرایط: حرارت ۹۵ درجه سانتی‌گراد ۳ دقیقه (Initial denaturation)، ۳۰ سیکل شامل: حرارت ۹۵ درجه سانتی‌گراد ۲۰ ثانیه (Denaturation)، حرارت ۵۸ درجه سانتی‌گراد ٤۰ ثانیه

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-06-11]

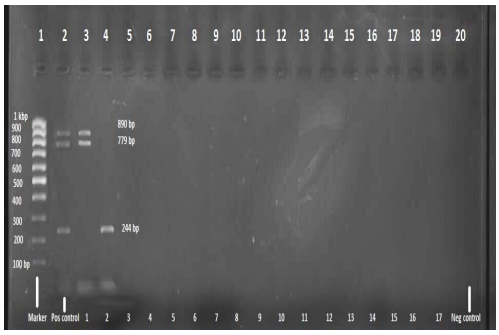
(Annealing)، حرارت ۷۲ درجه سانتی‌گراد ۹۰ ثانیه (Extension) و در نهایت حرارت ۷۲ درجه سانتی‌گراد ۵ دقیقه (Final extension) انجام پذیرفت. جهت مشاهده باندهای مربوط به ژن‌های تکثیر شده، ۱۰ میکرولیتر از محصول PCR در چاهک‌های تعبیه شده روی ژل آگارز ۱/۵ درصد انتقال داده شد و پس از الکتروفورز و رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید، توسط دستگاه Transilluminator مورد بررسی قرار گرفت. در آزمایش واکنش زنجیره پلیمراز از DNA سویه استاندارد *اشریشیاکلی* O۱۵۷:H۷ که از انستیتو پاستور ایران تهیه گردیده بود و دارای هر سه ژن ویرولانس *stx۱*, *stx۲*, *eaeA* بود به‌عنوان کنترل مثبت و هم‌چنین از ترکیبات PCR بدون افزودن DNA الگو به‌عنوان کنترل منفی استفاده گردید.

نتایج

نتایج بررسی فراوانی عوامل ایجادکننده عفونت ادراری باکتریال در این مطالعه نشان داد از مجموع ۱٤٤ جدایه باکتری عامل عفونت ادراری ۱۰۰ جدایه *اشریشیا کلی*، ۲٤ جدایه *کلبسیلا پنومونیه*، ۱۳ جدایه *استافیلوکوک* کواگولاز منفی، ۵ جدایه گونه‌های *انترو باکتر* و گونه‌های *پروتئوس* و *سودوموناس ائروژینوزا* هریک یک جدایه تشخیص داده شدند. نتایج آزمون PCR چند گانه جهت بررسی ژن‌های *stx۱*, *stx۲*, *eaeA* روی جدایه‌های *اشریشیاکلی* نشان داد که از بین ۱۰۰ جدایه مورد آزمایش، ۲ جدایه به‌صورت هم‌زمان دارای هر دو ژن *eae* A و *stx۲* بودند و یک جدایه دارای ژن *stx۱* بود؛ به‌طوری‌که ژن‌های *eae*, *stx۲* هر یک دارای فراوانی ۲ درصد بوده و ژن *stx۱* با فراوانی ۱ درصد شناسایی گردید. هم‌چنین، هیچ جدایه‌ای که هر سه ژن مورد بررسی را به‌صورت هم‌زمان دارا باشد، به‌دست نیامد. بررسی نمونه کنترل مثبت باندهای با اندازه‌های ۲٤٤bp, ۷۷۹bp, ۸۹۰bp را نشان داد که به‌ترتیب مربوط به ژن‌های *stx۱*, *stx۲*, *eaeA* می‌باشند (شکل شماره ۱).

جدول شماره ۱- توالی اسید نوکلئیک پرایمرهای مورد استفاده در Multiplex PCR

نام پرایمر	توالی الیگونوکلئوتیدی	اندازه محصول
stx1-F	CGATGTTACGGTTTGTTACTGTGACAGC	۲٤٤bp
stx1-R	AATGCCACGCTTCCCAGAATTG	۲٤٤bp
stx2-F	CCATGACAACGGACAGCAGTT	۷۷۹bp
stx2-R	CCTGTCAACTGAGCAGCACTTTG	۷۷۹bp
eaeA-F	GTGGCGAATACTGGCGAGACT	۸۹۰bp
eaeA-R	CCCCATTCTTTTTCACCGTCG	۸۹۰bp



شکل شماره ۱- نمایش باندهای مربوط به ژن های شیگاتوکسین و اینتیمین تعیین شده با روش PCR Multiplex با استفاده از پرایمرهای اختصاصی، پس از الکتروفورز بر روی ژل آگارز. ردیف ۱: مارکر bp ۱۰۰ است. ردیف ۲: کنترل مثبت دارای هر سه ژن *stx۱*, *eaeA*, *stx۲* با اندازه‌های به ترتیب ۲٤٤،۷۷۹ و ۸۹۰ جفت باز. ردیف ۳: جدایه *اشریشیا کلی* که دارای *ژن stx۲*, *eaeA* است. ردیف ٤: جدایه *اشریشیا کلی* که دارای ژن *stx۱* است. ردیف‌های ۵ تا ۱۹: جدایه‌های *اشریشیا کلی* بیماران با عفونت ادراری که فاقد ژن‌های مورد بررسی می‌باشند. ردیف ۲۰: کنترل منفی.

بحث

خانواده انتروباکتریاسه به‌ویژه *اشریشیاکلی* از عوامل اصلی ایجاد کننده عفونت ادراری می‌باشند [۱۹]. در مطالعه حاضر بیشترین عامل ایجاد کننده عفونت ادراری، باکتری *اشریشیا کلی* با فراوانی ٦۹/٤ درصد بوده و سایر عوامل ایجاد کننده عفونت ادراری به‌ترتیب فراوانی شامل *کلبسیلا پنومونیه* (۱٦/۷ درصد)، استافیلوکوک‌های کواگولاز منفی (۹/۱ درصد)، *انترو باکتر* (۳/۲ درصد)، گونه‌های *پروتئوس* (۰/۸ درصد) و *سودوموناس ائروژینوزا* (۰/۸ درصد) می‌باشد. در مطالعه‌ای که توسط کلانتر و همکاران در سال ۲۰۰۸ بر روی ٤۳۸ نمونه عفونت ادراری کودکان با کشت مثبت که در ۱۲ استان ایران انجام پذیرفته است، *اشریشیاکلی* بیشترین پاتوزن جدا شده با میزان ٥٤/۸ درصد و پس از آن *کلبسیلا پنومونیه* با ۱٦ درصد، استافیلوکوک‌های کواگولاز منفی با (۱۱/٦ درصد)، گونه‌های *انتروباکتر* با (۹/٦ درصد)، گونه‌های *پروتئوس* با (۱/٤ درصد) و *سودوموناس ائروژینوزا* با فراوانی (۱/٤ درصد) گزارش شده است [۱۹]. نتایج به‌دست آمده از نظر اولویت جداسازی عامل عفونت ادراری با نتایج مطالعات فوق هماهنگی دارد. فراوانی بیشتر مربوط به *اشریشیا کلی* می‌تواند مربوط به این باشد که مطالعه فوق تنها بر روی گروه سنی کودکان انجام پذیرفته اما مطالعه حاضر تمامی گروه‌های سنی را در بر می‌گیرد. جداسازی *اشریشیاکلی* تولیدکننده شیگاتوکسین از عفونت‌های ادراری در موارد اندکی صورت می‌پذیرد، اما مطالعات انجام شده در مناطق مختلف دنیا نشان دهنده مواردی از بروز سندروم‌های

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-06-11]

خطرناکی مانند اورمی همولیتیک و کولیت هموراژیک متعاقب عفونت ادراری می‌باشد [۲۰]. هم‌چنین، موارد بروز عفونت ادراری ناشی از سویه‌های *اشریشیا* شیگا توکسیژنیک رو به افزایش می‌باشد [۲۱]. تشخیص سویه‌های STEC بسیار حائز اهمیت می‌باشد، زیرا می‌تواند منجر به بروز سندروم‌های خطرناکی مانند اورمی همولیتیک و کولیت هموراژیک گردد. بنابراین پیشگیری مناسب در برابر این عفونت بستگی به تشخیص سریع این پاتوژن با بهره‌گیری از روش دقیق و سریع دارد. در مطالعه حاضر از روش Multiplex PCR جهت بررسی ژن‌های ویرولانس نظیر تولید *شیگاتوکسین* و *اینتیمین* جهت تشخیص سویه‌های تولیدکننده *شیگاتوکسین* استفاده گردیده است. در مطالعات مختلف از روش‌های متفاوتی جهت تشخیص سویه‌های STEC در نمونه‌های بالینی استفاده گردیده است. در بررسی که توسط Johnson و همکاران در سال ۲۰۰۲ در آمریکا بر روی ۵۹۷ جدایه *اشریشیاکلی* جدا شده از عفونت ادراری جهت توانایی تولید *شیگاتوکسین*‌ها به‌روش ایمیونواسی انجام شده است، هیچ‌یک از جدایه‌های *اشریشیا کلی* تولید کننده شیگاتوکسین یافت نگردیده است [۳]. در مطالعه‌ای که توسط Pulz و همکاران در سال ۲۰۰۳ بر روی ۲۹۵ نمونه مدفوع جهت بررسی سویه‌های تولید کننده *stx*/*اشریشیا کلی* با روش‌های ELISA و PCR انجام شده است، روش PCR روش مناسب و مفیدی جهت تشخیص سریع سویه‌های STEC در نمونه‌های کلینیکی معرفی گردیده است [۲۲]. در یک تحقیق دیگر که در سال ۲۰۰۹ در کانادا توسط Gilmour و همکاران جهت جداسازی سویه‌های *اشریشیاکلی* از روش‌های بررسی اثر سیتوتوکسیسیتی در کشت سلولی، ایمیونواسی و روش PCR جهت دست‌یابی به شاخص‌های تولید شیگاتوکسین بر روی ۸۷۶ نمونه مدفوع کودکان استفاده گردیده است، نتایج نشان داده است که روش‌های مولکولی دارای توانایی بالا جهت تشخیص سویه‌های STEC در نمونه‌های بالینی می‌باشند [۲۳]. نتایج مطالعه ما نشان داد که از میان ۱۰۰ جدایه *اشریشیاکلی* وارد شده در این بررسی، ۳ جدایه دارای ژن‌های *stx1*, *stx2* و نیز *eaeA* بوده و به‌عنوان سویه‌های STEC تعیین هویت گردیدند. از میان آنها یک جدایه دارای ژن *stx1* و دو جدایه حضور هم‌زمان ژن‌های *stx2* و *eaeA* را نشان دادند. طبق بررسی‌های انجام شده حضور هریک از ژن های *stx1* و یا *stx2* به‌همراه *eaeA* نشان‌دهنده سروتیپ O157:H7 می‌باشد [۱۲]. بیشتر طغیان‌های بیماری ناشی از سروتیپ‌های O157:H7 بوده است، اما در بسیاری از گزارشات نیز موارد تک گیر و یا طغیان بیماری ناشی از سایر سروتیپ‌های تولید کننده STEC و سروتیپ‌های غیر O157:H7 عامل بیماری بوده، هم‌چنین، یک روند رو به افزایش داشته است [۲۴]. تخمین زدن شیوع بیماری ناشی از سویه‌هایی مانند Non-O157:H7 STEC بسیار پیچیده می‌باشد و نیاز به بررسی مولکولی حضور ژن‌هایی نظیر *stx1* و *stx2* دارد، زیرا این سروتیپ‌ها معمولا سوربیتول مثبت می‌باشند، از طرفی محیط‌هایی مانند مک کانکی سوربیتول آگار جهت تعیین هویت آنها موجود نمی‌باشد [۲۴]. تخمین زده شده است که بین ۲۰ تا ۲۵ درصد از موارد HUS در آمریکای شمالی ناشی از سروتیپ‌های غیرO157:H7 باشد [۲۴]. در یک مطالعه در بلژیک، ۶۲ درصد *اشریشیاکلی* مولد شیگاتوکسین مربوط به سروتیپ Non-O157:H7 بوده‌اند [۲۵]. در بررسی که در تهران بر روی نمونه‌های عفونت ادراری با استفاده از روش PCR انجام شده است، نتایج نشان داد از ۱۸۰ جدایه *E.coli*، ۲۴ درصد نمونه‌ها متعلق به سروتیپ O۱۵۷ و ۷۶ درصد مربوط به سروتیپ غیر O۱۵۷ بوده‌اند [۲۱]. در یک مطالعه‌ی دیگر که در اسپانیا انجام گرفت، شیوع سروتیپ‌های Non-O157:H7 جدا شده از دام بسیار بالاتر از سروتیپ‌های O157:H7 به‌دست آمد [۲۴]. از فاکتورهای ویرولانس دیگر جهت تشخیص سویه‌های پاتوژنیک تولید *اینتیمین* می‌باشد که از طریق بررسی ژن *eaeA* امکان‌پذیر است. در یک مطالعه در ژاپن تقریباً تمامی جدایه‌های *اشریشیا کلی* تولیدکننده شیگاتوکسین، سروتیپ‌های O۱۵۷ و غیر O۱۵۷ جدا شده از گاو دارای ژن *stx* بودند. هم‌چنین، اکثریت آنها حامل ژن *eaeA* تشخیص داده شدند که نشان‌دهنده‌ی آن می‌باشد که سروتیپ‌های O۱۵۷ و غیر O۱۵۷ جدا شده از گاو می‌توانند برای انسان پاتوژنیک باشند [۲۶]. در بررسی انجام شده در اسپانیا شیوع ژن *stx1* (۹/۷ درصد) و شیوع ژن *stx2* (۴۸/۴ درصد) به‌دست آمد و ۴۱/۹ درصد از جدایه‌ها دارای هردو ژن *stx1*, *stx2* بودند. هم‌چنین، ژن *stx2* در تمامی سویه‌های *اشریشیا کلی* O157:H7 و در ۸۸ درصد از سویه‌های Non-O157:H7 یافت گردید و تمامی سروتیپ‌های O157:H7 به‌غیر از دو جدایه حامل ژن *eaeA* نیز بودند [۲۴]. جداسازی جدایه‌های STEC تولیدکننده *eaeA* همراه با بیماری شدیدی گزارش گردیده است [۲۷]، بنابراین جداسازی ژن *eaeA* به‌ویژه همراه با ژن *stx2* در مطالعه حاضر حائز اهمیت است.

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی جداسازی سویه‌های *اشریشیاکلی* STEC از نمونه‌های عفونت ادراری در استان لرستان نشان‌دهنده حضور سروتیپ‌های O157: H7 و غیر O157: H7 در این منطقه می‌باشد. جداسازی سویه‌های فوق به‌دلیل امکان ایجاد عوارض

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-06-11]

کلینیکی مخاطره‌آمیز مانند سندروم اورمی همولیتیک از اهمیت زیادی برخوردار است. مطالعات بیشتر با بهره‌گیری از روش‌های دقیق مولکولی در مناطق مختلف ایران منجر به بالا بردن آگاهی ما از شیوع سروتیپ‌های پر اهمیت فوق گردیده و در مدیریت بیماری و جلوگیری از بروز سندروم‌های خطر ناک کلینیکی موثر می‌باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از پایان نامه مقطع کارشناسی ارشد میکروب شناسی می‌باشد. پژوهشگران از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی لرستان و کلیه‌ی عزیزانی که در انجام این پژوهش همکاری داشته‌اند، قدردانی به‌عمل می‌آورند.

References:

[1] Mora A, Blanco M, Blanco JE, Dahbi G, López C, Justel P, et al. Serotypes, virulence genes and *intimin* types of Shiga toxin (verocytotoxin)-producing *Escherichia coli* isolates from minced beef in Lugo(Spain) from1995 through 2003. ***BMC Microbiol*** 2007; 1(7): 1-9.

[2] Goldwater PN, Bettelheim KA. Treatment of enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) infection and hemolytic uremic syndrome (HUS). ***BMC Med*** 2012; 10(12): 1-8.

[3] Johnson JR, Jerome C, Boster DR, Stapleton AE, Tarr PI. Analysis of urinary *Escherichia coli* isolates for ability to produce shiga toxin. ***J Clin Microbiol*** 2002; 40(6): 2247–8.

[4] Obrig TG. *Escherichia coli* shiga toxin mechanisms of action in renal disease. ***Toxins*** 2010; 2(12): 2769-94.

[5] Whittam TS, Wolfe ML, Wachsmuth IK, Orskov F, Orskov I, Wilson RA. Clonal relationship among *E. coli* strains that cause hemorrhagic colitis and infantile diarrhea. ***Infect Immun*** 1993; 61(5): 1619-29.

[6] Chart H, Perry NT, Cheasty T, Wright PA. The kinetics of antibody production to antigens of *Escherichia coli* O157 with hemolytic uremic syndrome. ***J Med Microbiol*** 2002; 51(6): 522-5.

[7] Leotta GA, Miliwebsky ES, Chinen I, Espinosa EM, Azzopardi K, Tennant SM, et al. Characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 strains isolated from humans in Argentina, Australia and New Zealand. ***BMC Microbiol*** 2008; 8(46): 1-8.

[8] Kim JY, Kim S, Kwon N, Bae WK, Lim JY, Koo HC, et al. Isolation and identification of *Escherichia coli* O157: H7 using different detection methods and molecular determination by multiplex PCR and RAPD. ***J Vet Sci*** 2005; 6(1): 7-19.

[9] March SB, Ratnam S. Sorbitol–MacConkey medium for detection of *Escherichia coli* O157:H7 associated with hemorrhagic colitis. ***J Clin Microbiol*** 1986; 23(5): 869-72.

[10] Feng P, Robin C, Choong H, Richard A, Wilson N. Identification of rough strain of *Escherichia coli* O157:H7 that produces no detectable O157 antigen. ***J Clin Microbiol*** 1998; 36(8): 2339-41.

[11] Chahed A, China B, Mainil J, Daube G. Prevalence of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* from serotype O157 and other attaching and effacing *Escherichia coli* on bovine carcasses in Algeria. ***J Appl Microbiol*** 2006; 101(2): 361–8.

[12] Paton AW, Paton JC. Detection and characterization of shiga toxigenic *Escherichia coli* by using multiplex PCR assay for *stx1*, *stx2*, *eaeA*, enterrohemorrhagic *Escherichia coli hlyA*, *rfbO*111, *rfbO*157. ***J Clin Microbiol*** 1998; 36(2): 598-602.

[13] Pradel N, Liverlli V, Champs CD, Palcoun J, Reynaud A, Scheutz F, et al. Prevalence and characterization of shiga-toxin producing *Escherichia coli* isolated from cattle, food, and children during a one-year prospective study in France. ***J Clin Microbiol*** 2000; 38(3): 1023-31.

[14] Blanco M, Blanco JE, Mora A, Rey J, Alonso JM, Hermoso M, et al. Serotypes, virulence genes, and intimin types of shiga toxin (verotoxin)-producing *Escherichia coli* isolates from healthy sheep in spain. ***J Clin Microbiol*** 2003; 41(4): 1351-6.

[15] Eklund M, Scheutz F, Sitonen A. Clinical isolates of non-O157 shiga toxin-producing *Escherichia coli*: serotypes, virulence characteristics, and molecular profiles of strains of the same serotype. ***J Clin Microbiol*** 2001; 39(8): 2829-34.

[16] Sharifi T. Some physiological properties of *Escherichia coli* isolated from urine and feces for detection of enterohemorrhagic strain 7H157O, along with the pattern of antimicrobial resistance of bacteria isolated [Thesis]. Kerman. Kerman University of Medical Sciences. 2001.

[17] Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G. Text book of diagnostic microbiology. 4th ed. Sunders Elsevier; 2006. p. 430-5.

[18] Santaniello A, Gargiulo A, Borrelli L, Dipineto L, Cuomo A, Sensale M, et al. Survey of shiga-toxin producing *Escherichia coli* in urban pigeons (Columba Livia) in the city of Napoli, Italy. ***Ital J Anim Sci*** 2007; 6(2): 313-16.

[19] Kalantar E, Motlagh ME, Lornejad H, Reshadmanesh N. Prevalence of urinary tract pathogens and antimicrobial susceptibility patterns in children at hospitals in Iran. ***Iran J Clin Infect Dis*** 2008; 3(3): 149-53.

[20] Borriello SP, Murray PR, Funke G. Topley & Wilson's Microbiology and microbial infections. 10th ed. Hodder Arnold, ASM Press; 2005. p. 1360-85.

[21] Navidinia M, Karimi A, Rahbar M, Fallah F, Radmanesh Ahsani R, Malekan MA, et al. Study

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-06-11]

prevalence of verotoxigenic *E. coli* isolated from urinary tract infections (UTIs) in an Iranian Children Hospital. ***Open Microbiol J*** 2012; 6: 1-4.
[22] Pulz M, MatussekA, Monazahian M, Tittel A, Nikolic E, Hartmann M, et al. Comparison of a shiga toxin Enzyme-Linked Immunosorbent Assay and two types of PCR for detection of shiga toxin-producing *Escherichia coli* in human stool specimens. ***J Clin Microbiol*** 2003; 41(10): 4671–5
[23] Gilmour MW, Chui L, Chiu T, Tracz DM, Hagedorn K, Tschetter L, et al. Isolation and detection of shiga toxin-producing *Escherichia coli* in clinical stool samples using conventional and molecular methods. ***J Med Microbiol*** 2009; 58(Pt 7): 905–11.
[24] Oporto B, Esteban JI, Aduriz G, Juste RA, Hurtado A. *Escherichia coli* O157: H7 and non-O157 shiga toxin-producing *E. coli* in healthy cattle, sheep and swine herds in Northern Spain. ***Zoonoses Public Hlth*** 2008; 55(2): 73–81.
[25] Pierard D, van Etterijck R, Breynaert J, Moriau L, Lauwers S. Results of screening for verocytotoxin-producing *Escherichia coli* in faeces in Belgium. ***Eur J Clin Microbiol Infect Dis*** 1990; 9(3): 198–201.
[26] Sasaki Y, Tsujiyama Y, Kusukawa M, Murakami M, Katayama S, Yamada Y. Prevalence and characterization of shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 and O26 in beef farms. ***Vet Microbiol*** 2011; 150(1-2): 140-5.
[27] Fernandez D, Rodriguez EM, Arroyo GH, Padola NL, Parma AE. Seasonal variation of shiga toxin-encoding genes (*stx*) and detection of *E. coli* O157 in dairy cattle from Argentina. ***J Appl Microbiol*** 2009; 106(4): 1260-7.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-06-11]