zoonosis.ir

مجله بیماری های قابل انتقال بین انسان و حیوان

مقاله پژوهشی

# فراوانی ژن‌های *stx1*، *stx2* و *eaeA* در باکتری‌های *اشریشیاکلی* مولد شیگاتوکسین جدا شده از ماهی و میگو در استان بوشهر

**پریسا بهشود[1]، الهه تاج بخش[2]، فهیمه نوربخش[3*]**

۱. گروه میکروب‌شناسی، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران.

۲. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران.

۳. مرکز تحقیقات سم‌شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.



***نویسنده مسئول:** nourbakhshf951@mums.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۰۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۳۱

**چکیده**

*اشریشیاکلی* مولد توکسین شیگا یک پاتوژن مهم در بیماری‌های ناشی از غذا می‌باشد و تاکنون چندین همه‌گیری ناشی از غذا در سراسر جهان را مرتبط با این باکتری دانسته‌اند. آلودگی با این ارگانیسم باعث اسهال آبکی و خونی می‌شود. در این مطالعه تعداد ۴۰۰ نمونه ماهی و میگو در استان بوشهر تهیه گردید و با انجام آزمایش‌های میکروبیولوژی و مولکولی وجود *اشریشیاکلی* تائید گردید و در حضور زوج پرایمرهای اختصاصی فراوانی ژن‌های *stx1*، *stx2* و *eaeA* مورد بررسی قرار گرفت. در نمونه‌هایی که به صورت بسته‌بندی مورد بررسی قرار گرفتند، باکتری *اشریشیا کلی* جدا نگردید اما در نمونه‌های غیر بسته‌بندی از تعداد ۲۰۰ نمونه ماهی مورد بررسی در ۳۵ نمونه (۱۷/۵درصد) *اشریشیا کلی* جداسازی گردید و از ۵۰ نمونه میگوی مورد بررسی در ۱۰ نمونه (۲۰درصد) *اشریشیاکلی* جداسازی گردید. پس از انجام آزمون Multiplex PCR در حضور پرایمرهای اختصاصی، در ایزوله‌های جداشده از ماهی باندهای مربوط به ژن‌های *stx1*، *stx2* و *eaeA* به تنهایی در هیچ نمونه‌ایی یافت نشد. در دو ایزوله (۲۰درصد) باند مربوط به ژن‌های *stx1* و *eaeA* و در یک ایزوله (۱۰درصد) باند مربوط به ژن‌های *stx1*، *stx2* و *eaeA* مشاهده گردید، درصورتی‌که در ایزوله‌های *اشریشیاکلی* جداشده از میگو، تنها در یک نمونه (۳۳/۳۳ درصد) ژن *stx1* مشاهده گردید. در این تحقیق مشخص گردید که فراوانی ژن *stx1* از ژن *stx2* بیشتر می‌باشد. به‌این‌ترتیب می‌توان بیان نمود که الگوی ژنتیکی غالب *stx1* می‌باشد.

**کلمـات کلیدی:** *اشریشیاکلی*، شیگاتوکسین، فرآورده‌های دریایی، ژن‌های *stx1*، *stx2* و *eaeA*.

[ Downloaded from zoonosis.ir on 2026-11-19 ]

[ DOR: 20.1001.1.28209982.1401.2.1.6.1 ]

**مقدمه**

تاکنون چندین همه‌گیری ناشی از غذا در سراسر جهان به علت *اشریشیاکلی* مولد توکسین شیگا مشاهده شده است. آلودگی با این ارگانیسم باعث اسهال آبکی و خونی می‌شود و از عوارض بعدی عفونت با سروتیپ O:157 H:7 این باکتری می‌توان به کولیت هموراژیک و سندرم اورمیک همولیتیک اشاره کرد (۱). بیش از صد سروتیپ از *اشریشیاکلی* شناسایی‌شده است که توانایی تولید شیگاتوکسین را داشته و دارای یکی از ژن‌های *stx1*، *stx2* یا واریانت‌هایی از *stx2* هستند که محل این ژن‌ها بر روی باکتریوفاژ لیزوژنیک می‌باشد. علاوه بر تولید توکسین، دیگر فاکتور ویرولانس STEC پروتئینی به نام Intimin با وزن مولکولی ۹۴ کیلو دالتون موجود در غشای خارجی باکتری است که مسئول چسبندگی به سلول‌های اپیتلیوم روده می‌باشد و توسط ژن *eae* رمز می‌شود (۲). آلودگی انسان با این باکتری از طریق مصرف مواد غذایی و آب آلوده یا انتقال شخص به شخص صورت می‌گیرد (۳). سویه‌های *اشریشیاکلی* تولید کننده شیگاتوکسین در اواخر دهه ۱۹۷۰ به‌عنوان عامل اتیولوژیک اسهال در کانادا شناسایی شدند (۴). سویه‌های *اشریشیاکلی* وروتوکسیژنیک، توکسینی ترشح می‌کنند که به دلیل توانایی آن در کشتن سلول‌های vero، وروتوکسین و به دلیل 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. ژن تولیدکننده وروتوکسین بر روی ژنوم باکتریوفاژ معتدل قرار دارد و توسط تبدیل فاژی به *اشریشیاکلی* وارد می‌گردد. توکسین‌های vero به دو گروه *stx1*, *stx2* تقسیم‌بندی می‌گردند. وروتوکسین با اثر بر روی RNA ریبوزومی سبب ممانعت از سنتز پروتئین‌ها می‌شود، توانایی باکتری *اشریشیاکلی* O:157 H:7 در ایجاد بیماری‌های شدید برای انسان، به دلیل ترشح شیگاتوکسین‌های *stx1* و *stx2* یا وروتوکسین‌های *vt2* و *vt10* و واریته‌های این توکسین است (۵). شناسایی این سویه‌ها به‌طور روتین در آزمایشگاه‌ها انجام نمی‌گیرد و پژوهشگران درصدد یافتن راه‌های ساده برای غربالگری این باکتری‌ها هستند (۶). هموژن بودن این سویه ازنظر ژنتیکی سبب یافتن متدهای زیادی برای جداسازی این سویه‌ها نظیر عدم قدرت تخمیر سوربیتول و عدم تولید بتا دی‌گلوکورونیداز است که بیشتر انواع *اشریشیاکلی* قادر به انجام آن می‌باشند. از این جهت با ساختن محیط‌های انتخابی نظیر سوربیتول‌مکانکی‌آگار، سفیکسیم پتاسیم تلوریت سوربیتول‌مکانکی‌آگار و سفکسیم پتاسیم تلوریت رامنوز سوربیتول مکانکی آگار می‌توان این سویه‌ها را غربالگری کرد (۷). *اشریشیاکلی* به‌عنوان یکی از مهم‌ترین باکتری‌ها به‌عنوان شاخص آلودگی مدفوعی نقش حائز اهمیتی را در بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی بر عهده دارد. این باکتری عامل مهم اسهال و اختلالات گوارشی در کشورهای درحال توسعه و مکان‌های با فقر بهداشتی است. بیماری‌های اسهالی مهم‌ترین مشکل سلامت عمومی در سرتاسر جهان هستند و سالانه منجر به مرگ بیش از دو میلیون نفر در کشورهای در حال توسعه می‌شوند (۸). از آنجاکه تاکنون در مورد فراوانی ژن‌های *stx1* و *stx2* در سویه‌های شیگاتوکسین *اشریشیاکلی* جداشده از فرآورده‌های دریایی در استان بوشهر، صورت نگرفته است، در این تحقیق برآن شدیم تا ضمن جداسازی این باکتری فراوانی ژن‌های *stx1*، *stx2* و *eaeA* را نیز مورد بررسی قراردهیم.

**مواد و روش‌ها**

این مطالعه تعداد ۴۰۰ نمونه از فرآورده‌های دریایی (۱۰۰ نمونه میگو که ۵۰ نمونه به‌صورت بسته‌بندی شده و ۵۰ نمونه به‌صورت غیر بسته‌بندی از مراکز فروش میگو و ۳۰۰ نمونه ماهی ۱۰۰ نمونه به‌صورت بسته‌بندی شده و ۲۰۰ نمونه به‌صورت غیر بسته‌بندی از مراکز فروش ماهی) در استان بوشهر تهیه گردید و با رعایت زنجیره سرما و در شرایط استریل به آزمایشگاه کنترل کیفی اداره کل دامپزشکی استان بوشهر انتقال داده شدند.



[ Downloaded from zoonosis.ir on 2026-11-19 ]
[ DOR: 20.1001.1.28209982.1401.2.1.6.1 ]

به‌منظور غنی‌سازی ۲۵ گرم از هر نمونه (از قسمت‌های سطحی و داخلی) جداسازی و به شکل هموژن شده به ۲۲۵ سی‌سی محیط تریپتیک سوی براث (difco, TSB) حاوی ۲۰ mg/l نووبیوسین کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه گرم‌خانه گذاری گردید. سپس برای جداسازی باکتری، تمام نمونه‌های غنی‌شده بر روی محیط سوربیتول مک‌کانکی آگار حاوی ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر سفکسیم، ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر تلوریت پتاسیم، کشت داده شدند و پس از ۲۴ ساعت گرم‌خانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد کلونی‌های سوربیتول منفی، خالص‌سازی گردید. به‌منظور ارزیابی تخمیر لاکتوز و تعیین هویت باکتری‌های جداسازی شده از محیط ویولت رد بایل آگار (VRBA Merck) و متیلن بلو آگار (EMB Merck) استفاده شد. درنهایت به‌منظور تشخیص قطعی *اشریشیاکلی*، از کلنی‌های ایزوله تشکیل‌شده بر روی محیط EMB تست‌های بیوشیمیایی تأییدی IMVIC و TSI بر روی کلنی‌ها انجام گرفت. به‌منظور تائید تشخیص قطعی باکتری *اشریشیاکلی* و با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن *16srRNA* واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز صورت پذیرفت (۹ و ۱۰). جهت ارزیابی کیفیت DNA استخراج‌شده از نمونه‌های مورد مطالعه از روش الکتروفورز روی ژل آگاروز استفاده شد. به این منظور ۵ میکرولیتر از DNA استخراج‌شده روی ژل یک درصد آگاروز الکتروفورز گردید. به‌منظور کمیت سنجی DNA تخلیص شده از دستگاه بایوفوتومتر استفاده شد و با اندازه گیری میزان DNA در نمونه در طول‌موج نوری ۲۸۰ نانومتر میزان DNA موجود در نمونه تعیین گردید. نمونه DNA هایی که دارای کیفیت مناسب و کمیتی معادل ۵۰ نانوگرم بودند جهت مراحل بعدی و انجام آزمایش PCR انتخاب گردیدند. آزمایش PCR به‌منظور تشخیص قطعی *اشریشیاکلی* با استفاده از کیت Accupower PCR PreMix ساخت BioNEER در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر با افزودن ۲ میکرولیتر از پرایمرهای F و R، یک میکرولیتر از DNA الگو و ۱۷ میکرولیتر آب مقطر به محتویات کیت Accupower PCR PreMix انجام گرفت. ترکیبات موجود در کیت در جدول شماره یک نشان داده‌شده است. تمام نمونه‌های باکتری *اشرشیاکلی* با تکثیر PCR قطعه ۲۰۰ جفت باز ژن *16srRNA* تایید شدند. در این تحقیق *اشرشیاکلی ATCC 25922* و *سودوموناس آئروژینوزا ATCC 27853* به ترتیب به عنوان کنترل مثبت و منفی در نظر گرفته شدند (۹).

**جدول ۱.** اجزای کیت Accupower PCR PreMix

| Component | 20 µl Reaction |
|---|---|
| Taq DNA Polymerase | 1 U |
| Each dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTp) | 250 µM |
| Tris-HCl (pH=9) | 10 mM |
| KCl | 30 mM |
| MgCl2 | 1.5 mM |
| Stabilizer and tracking | |

برنامه حرارتی برای تکثیر ژن *16srRNA* به‌صورت ۹۴ درجه به مدت ۵ دقیقه،۳۰ سیکل تکراری ۹۴ درجه به مدت ۱۵ ثانیه، ۶۰ درجه به مدت ۶۰ ثانیه و ۷۲ درجه به مدت ۶۰ ثانیه و یک سیکل انتهایی ۷۲ درجه به مدت ۵ دقیقه انجام شد. مشاهده باند ۲۰۰ جفت بازی نشان‌دهنده مثبت بودن تست است (۹). به‌منظور بررسی ژن‌های *stx1*، *stx2* و *eaeA* در حضور زوج پرایمرهای نشان داده‌شده در جدول شماره دو واکنش PCR صورت پذیرفت.

[ Downloaded from zoonosis.ir on 2026-11-19 ]
[ DOR: 20.1001.1.28209982.1401.2.1.6.1 ]

**جدول۲.** توالی پرایمر های مورداستفاده برای ردیابی ژن‌های *stx1*، *stx2* و *eaeA* در ایزوله‌های *اشریشیاکلی*.

| Gene | Sequence (5'–3') | Annealing (˚C) | Size of product (bp) |
|---|---|---|---|
| *Stx1* | F: ACACTGGATGATCTCAGTGG<br>R: CTGAATCCCCCTCCATTATG | 58 | 614 |
| *Stx2* | F: CCATGACAACGGACAGCAGTT<br>R: CCTGTCAACTGAGCAGCACTTTG | 58 | 779 |
| *eaeA* | F: GTGGCGAATACTGGCGAGACT<br>R: CCCCATTCTTTTTCACCGTCG | 58 | 890 |
| *16srRNA* | 16S-F, GCGGACGGGTGAGTAATGT<br>16S-R, TCATCCTCTCAGACCAGCTA | - | 200 |

آزمایش PCR به‌منظور تشخیص ژن‌های *stx1*، *stx2* و *eaeA* با استفاده از کیت Accupower PCR PreMix ساخت BioNEER در حجم نهایی ۵۰ میکرولیتر با افزودن ۲۰پیکومول از پرایمرهای F و R، ۴ میکرولیتر از DNA الگو و ۱ واحد آنزیم تک پلیمراز به محتویات کیت انجام گرفت. برنامه حرارتی برای تکثیر ژن‌های *stx1*، *stx2*، *eaeA* به‌صورت ۹۵ درجه به مدت ۳ دقیقه، ۳۰ سیکل تکراری ۹۵ درجه به مدت ۲۰ ثانیه، ۵۸ درجه به مدت ۴۰ ثانیه و ۷۲ درجه به مدت ۹۰ ثانیه و یک سیکل انتهایی ۷۲ درجه به مدت ۵ دقیقه انجام شد. به‌منظور تائید وجود قطعه تکثیرشده از الکتروفورز محلول PCR روی ژل آگارز ۱/۵درصد استفاده شد (۱۱).

## نتـایج

مطالعه حاضر با هدف تعیین فراوانی ژن‌های *stx1*، *stx2*، *eaeA* در ایزوله‌های *اشریشیاکلی* مولد شیگاتوکسین جداشده از ماهی و میگو استان بوشهر در فصل بهار انجام گرفت. پس از بررسی نمونه‌های گرم‌خانه گذاری شده در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در محیط EMB آگار، نمونه‌هایی که کلنی سبزرنگ دارای جلای فلزی داشتند، به‌عنوان باکتری *اشریشیاکلی*، در نظر گرفته شدند. در نمونه‌هایی که به‌صورت بسته‌بندی مورد بررسی قرار گرفتند، باکتری *اشریشیاکلی* جدا نگردید اما در نمونه‌های غیر بسته‌بندی از تعداد ۲۰۰ نمونه ماهی مورد بررسی در ۳۵ نمونه (۱۷/۵درصد) *اشریشیاکلی* جداسازی و از ۵۰ نمونه میگوی مورد بررسی در ۱۰ نمونه (۲۰درصد) *اشریشیاکلی* جداسازی گردید. از ۳۵ ایزوله *اشریشیاکلی* جداشده از ماهی، ۱۰ ایزوله دارای واکنش سوربیتول منفی و واکنش لاکتوز مثبت داشتند و از ۱۰ ایزوله *اشریشیاکلی* جداشده از میگو سه ایزوله دارای واکنش سوربیتول منفی و واکنش لاکتوز مثبت داشتند و در محیط EMB جلای سبز فلزی نشان دادند. نتایج در جدول ۳ نشان داده‌شده است.

[ Downloaded from zoonosis.ir on 2026-11-19 ]

[ DOR: 20.1001.1.28209982.1401.2.1.6.1 ]

**جدول ۳.** تعداد و درصد موارد مثبت سویه‌های مولد شیگاتوکسین و سویه‌های غیر شیگاتوکسین در ایزوله‌های *اشریشیاکلی* از نمونه‌های غیر بسته‌بندی‌شده.

| Serotype | تعداد و درصد موارد مثبت در نمونه‌های ماهی | تعداد و درصد موارد مثبت در نمونه‌های میگو |
|---|---|---|
| STEC | ۱۰ | ۳ |
| | ۵درصد | ۶درصد |
| Non STEC | ۲۵ | ۷درصد |
| | ۱۲/۵درصد | ۱۴درصد |
| Total | ۳۵ | ۱۰درصد |
| | ۱۷/۵درصد | ۲۰درصد |

پس از انجام آزمون PCR به‌منظور تشخیص قطعی *اشریشیاکلی* و حضور توالی ژن *16SrRNA*، در ۴۵ نمونه مورد بررسی مثبت تشخیص داده شد. مشاهده باند ۲۰۰ جفت بازی نشان‌دهنده مثبت بودن این تست می‌باشد. پس از انجام آزمون Multiplex PCR در حضور پرایمرهای اختصاصی، از ۳۵ ایزوله *اشریشیاکلی* جداشده از ۲۰۰ نمونه ماهی بسته‌بندی نشده، ۱۰ ایزوله STEC بوده که باندهای مربوط به ژن‌های *stx1*، *stx2* و *eaeA* به تنهایی در هیچ نمونه‌ایی یافت نشد. در ۲ ایزوله (۲۰درصد) باند مربوط به ژن‌های *stx1*، *eaeA* و در ۱ ایزوله (۱۰درصد) باند مربوط به ژن‌های *stx1*، *stx2* و *eaeA* مشاهده گردید؛ بنابراین ژن *stx1* در ۳ نمونه (۳۰درصد)، ژن *stx2* در یک نمونه (۱۰درصد) و ژن *eaeA* در ۳ نمونه (۳۰درصد) در ماهی یافت شد. در ۳ ایزوله *اشریشیاکلی* ETEC جداشده از ۵۰ نمونه میگوی بسته‌بندی نشده، تنها در ۱ نمونه ژن *stx1* (۳۳/۳۳ درصد) مشاهده گردید. درنتیجه از ۱۳ ایزوله *اشریشیاکلی* ETEC جداشده از ۲۵۰ نمونه فرآورده‌های دریایی بسته‌بندی نشده، باندهای مربوط به ژن‌های *stx1*، *stx2* و *eaeA* به‌تنهایی در یک نمونه (۷/۶۹ درصد) یافت شد. در ۲ ایزوله (۱۵/۳۸درصد) باند مربوط به ژن‌های *stx1*، *eaeA* و در ۱ ایزوله (۷/۶۹درصد) باندهای مربوط به هر سه ژن *stx1*، *stx2* و *eaeA* مشاهده گردیدند؛ بنابراین ژن *stx1* در ۳ نمونه (۳۰/۷۶درصد)، ژن *stx2* در ۱ نمونه (۷/۶۹ درصد) و ژن *eaeA* در ۳ نمونه (۲۳/۰۷ درصد) در فرآورده‌های دریایی یافت شد.

## بحث

دریای عمان و خلیج‌فارس، این آبراه سرشار از مواهب خدادادی، با مساحتی حدود ۲۳۹۰۰۰ کیلومترمربع و مرز آبی حدود ۱۸۰۰ کیلومتر، از دماغه گواتر آغاز و تا اروندرود ادامه یافته است. این آبراه حساس اقتصادی با عمقی حدود ۷۰ تا ۹۰ متر، از دیرباز مسیر داد و ستد و مرکز تمدن و پیشرفت بشر بوده و هست. عمق سواحل آن کم است و از ۲۰ متر تجاوز نمی‌کند، لذا ازنظر صیادی و بهره‌برداری از منابع دریایی و صید ماهی و میگو اهمیت ویژه‌ای دارد. با توجه به اهمیت اقتصادی ماهی و میگو در این تحقیق بر آن شدیم تا به فراوانی بعضی از فاکتورهای ویرولانس در ایزوله‌های *اشریشیاکلی* جداشده از ماهی و میگو در



[ Downloaded from zoonosis.ir on 2026-11-19 ]
[ DOR: 20.1001.1.28209982.1401.2.1.6.1 ]

استان بوشهر بپردازیم. *اشریشیاکلی* عموماً به‌عنوان بخشی از فلور میکروبی طبیعی روده انسان و بسیاری از حیوانات محسوب می‌شود، به این علت نقش مهمی را در میکروب‌شناسی غذا و آب به‌عنوان شاخص آلودگی مدفوعی به عهده دارد. سویه‌های *اشریشیاکلی* مولد شیگاتوکسین از مهم‌ترین باکتری‌های بیماری‌زای منتقل‌شونده به‌وسیله مواد غذایی هستند. این سویه‌ها باکتری‌های کومانسال نشخوارکنندگان و گوسانان می‌باشند که از طریق مواد غذایی به‌ویژه گوشت‌های نیم‌پز مانند همبرگر و سبزی‌ها خام مانند کاهو و اسفناج به انسان منتقل می‌شوند (۱۲).

تحقیقات محدودی در مورد بررسی فراوانی ژن‌های ویرولانس در سویه‌های STEC جداشده از فرآورده‌های دریایی صورت گرفته است. در این تحقیق که برای اولین بار در استان بوشهر صورت گرفت، از ۲۵۰ نمونه فرآورده‌های دریایی غیر بسته‌بندی‌شده، ۴۵ نمونه (۱۸درصد) آلوده به *اشریشیاکلی* بوده و از این تعداد ۱۳ ایزوله (۲۸/۸۹درصد) STEC بودند. از ۲۰۰ نمونه ماهی که به‌صورت غیر بسته‌بندی تهیه‌شده بود، در ۳۵ نمونه (۱۷/۵درصد) *اشریشیاکلی* جداسازی گردید و از ۵۰ نمونه میگوی غیر بسته‌بندی موردبررسی در ۱۰ نمونه (۲۰درصد) *اشریشیاکلی* جداسازی گردید. از ۳۵ ایزوله *اشریشیاکلی* جداشده از ماهی، ۱۰ ایزوله (۲۸/۵۷ درصد) دارای واکنش سوربیتول منفی و واکنش لاکتوز مثبت داشتند و از ۱۰ ایزوله *اشریشیاکلی* جداشده از میگو ۳ ایزوله (۳۰ درصد) دارای واکنش سوربیتول منفی و واکنش لاکتوز مثبت داشتند که به‌عنوان سویه‌های مولد شیگاتوکسین مورد بررسی قرار گرفتند. پس از انجام آزمون PCR به‌منظور بررسی فراوانی ژن‌های *stx1*، *stx2* و *eaeA* در ایزوله‌های مولد شیگاتوکسین جداشده از ماهی، ژن‌های *stx1* و *eaeA* در ۲ ایزوله (۲۰ درصد) و ژن‌های *stx1*، *stx2* و *eaeA* باهم در یک ایزوله (۱۰درصد) مشاهده گردیدند؛ اما در ایزوله‌های جداشده از میگو تنها در یک نمونه (۳۳/۳۳ درصد) ژن *stx1* مشاهده گردید. درنتیجه از ۱۳ ایزوله *اشریشیاکلی* ETEC جداشده از ۲۵۰ نمونه فرآورده‌های دریایی بسته‌بندی نشده، باندهای مربوط به ژن‌های *stx1*، *stx2* و *eaeA* به تنهایی در یک نمونه (۷/۶۹ درصد) یافت شد. در ۲ ایزوله (۱۵/۳۸درصد) باند مربوط به ژن‌های *stx1*، *eaeA* و در یک ایزوله (۷/۶۹درصد) باندهای مربوط به هر سه ژن *stx1*، *stx2* و *eaeA* مشاهده گردیدند؛ بنابراین ژن *stx1* در ۳ نمونه (۳۰/۷۶ درصد)، ژن *stx2* در یک نمونه (۷/۶۹ درصد) و ژن *eaeA* در ۳ نمونه (۲۳/۰۷ درصد) در فرآورده‌های دریایی یافت شد. برخی از سویه‌های مولد شیگاتوکسین هیچ‌کدام از ژن‌های موردنظر را نداشتند و هم‌چنین به‌ندرت سویه‌هایی دیده می‌شود که تمامی ژن‌ها را داشته باشند. سویه‌هایی که هم‌زمان دارای چند ژن باشند، به‌عنوان سویه‌های با بیماری‌زایی بیشتر در نظر گرفته می‌شوند. مطالعات محققان دیگر درزمینه‌ی میزان آلودگی ماهی به باکتری *اشریشیاکلی* نشان‌دهنده بالاتر بودن میزان آلودگی نسبت به تحقیق ما هست، به‌طوری‌که Gupta و همکاران آلودگی به *اشریشیاکلی* را در ۹۶ نمونه ماهی را ۴۸/۹۵درصد گزارش کردند که نسبت به تحقیق ما بسیار بالاتر می‌باشد. در همین تحقیق فراوانی ژن *stx1* ۷۶/۵۹ درصد و فراوانی ژن *stx2* ۵۱/۰۶ درصد گزارش گردید درحالی‌که ۳۷/۰۳ درصد از نمونه‌ها هم‌زمان دو ژن *stx1* و *stx2* را داشتند (۱۳). مطالعات انجام‌شده در ایران به‌منظور بررسی فراوانی ژن‌های ویرولانس در باکتری *اشریشیاکلی* بیشتر بر روی گوشت و یا فرآورده‌های لبنی صورت گرفته است، به‌طوری‌که در این مطالعات مشخص گردیده معمولاً در طی کشتار، پوست گاوسانان با این باکتری آلوده می‌شوند و به‌عنوان یک فاکتور خطر برای آلوده نمودن محصولات گوشتی دارای اهمیت می‌باشد. به‌طوری‌که Barkocy در سال ۲۰۰۳ میزان آلودگی پوست گاو با *اشریشیاکلی* *E.coli* O157:H7 را ۶۰/۶ درصد گزارش کردند (۱۴). در تحقیق انجام‌شده توسط کارگر و همکاران در سال ۱۳۹۲ از ۴۲۸ نمونه همبرگر جمع‌آوری شده در شیراز ۲۶۴ نمونه (۶۱/۶۸ درصد) به‌عنوان باکتری *اشریشیاکلی* تولیدکننده شیگاتوکسین تشخیص داده شدند، که با انجام تست تأییدی ۵ نمونه (۱/۸۹

[ Downloaded from zoonosis.ir on 2026-11-19 ]

[ DOR: 20.1001.1.28209982.1401.2.1.6.1 ]

درصد) باکتری *اشریشیاکلی* O157 H7 تشخیص داده شدند. در این تحقیق ۲ ایزوله (۰/۷۶درصد) دارای ژن‌های *stx1* و *eaeA* بودند (۱۵). در تحقیق انجام‌شده توسط Sanath Kumar و همکاران در ۲۰۰۹ بر روی آلودگی ماهی و صدف، سویه‌های STEC *اشریشیاکلی* به ترتیب ۳ درصد و ۵ درصد گزارش گردید در این تحقیق سروتیپ O69 به‌عنوان غالب‌ترین سروتیپ مشخص گردید (۱۶).

## نتیجه گیری کلـــی و پیشنهادها

در این تحقیق و تحقیقات محققان دیگر مشخص گردید که فراوانی ژن *stx1* از ژن *stx2* بیشتر می‌باشد. به‌این‌ترتیب می‌توان بیان نمود که الگوی ژنتیکی غالب *stx1* می‌باشد. سروتیپ بسیار مهم *اشریشیاکلی* مولد شیگاتوکسین *E. coli* O:157 H:7 می‌باشد که به‌طور طبیعی در گاوسانان وجود دارد. مطالعات نشان داده است که حداکثر دفع این باکتری از طریق مدفوعی طی تابستان و اوایل پاییز صورت می‌گیرد و از صفر تا ۶۱ درصد در مزارع دامی متغیر است و هم‌چنین تحقیقات نشان می‌دهد که بیشترین میزان جداسازی این باکتری در ماه‌های گرم سال صورت می‌گیرد. با توجه به دوز عفونی اندک سویه های مولد شیگاتوکسین باکتری *اشریشیاکلی* پایش مستمر و هم‌زمان انواع نمونه‌های مواد غذایی و کلینیکی در تمام نقاط کشور توصیه می شود.

## تقـدیر و تشـکر

از تمامی کسانی که در جمع آوری نمونه برای این پژوهش یاری رسانده‌اند تشکر می‌نماییم.

## تعارض منافع

هیچ‌گونه تضاد منافعی بین نویسندگان وجود ندارد و این مقاله با اطلاع و هماهنگی آنها ارسال شده است.

## فهرست منابع

[1]. Xia X, Meng J, McDermott PF, Ayers S, Blickenstaff K, Tran TT, Abbott J, Zheng J, Zhao S. Presence and characterization of Shiga toxin-producing Escherichia coli and other potentially diarrheagenic E. coli strains in retail meats. Applied and environmental microbiology. 2010;76(6):1709-17.

[2]. Mora A, Blanco M, Blanco JE, Dahbi G, López C, Justel P, Alonso MP, Echeita A, Bernárdez MI, González EA, Blanco J. Serotypes, virulence genes and intimin types of Shiga toxin (verocytotoxin)-producing Escherichia coli isolates from minced beef in Lugo (Spain) from 1995 through 2003. Bmc Microbiology. 2007;7(1):1-9.

[3]. Wang J, Zhang H, Allen RD. Overexpression of an Arabidopsis peroxisomal ascorbate peroxidase gene in tobacco increases protection against oxidative stress. Plant and Cell Physiology. 1999;40(7):725-32.

[4]. Ali, MY, Rahman MT, Islam MA, Choudhury KA and Rahman MA. Characteristics of *E. coli* isolates of human and animal origin. Progressive Agriculture. 1998:9: 221-24

[5]. Adwan K, Abu-Hasan N, Essawi T, Bdir M. Isolation and characterisation of Shiga toxigenic Escherichia coli strains from northern Palestine. Journal of medical microbiology. 2002;51(4):332-5.

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

[7]. Kerrn MB, Klemmensen N, Frimodt-Moller F. Susceptibility of Danish *Escherichia coli* strains isolated from urinary tract infections and bacteraemia, and distribution of *sul* genes conferring sulphonamide resistance. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2002;50:513–6.

[8]. Heiman KE, Mody RK, Johnson SD, Griffin PM, Gould LH. Escherichia coli O157 outbreaks in the United States, 2003–2012. Emerging infectious diseases. 2015;21(8):1293

[ Downloaded from zoonosis.ir on 2026-11-19 ]
[ DOR: 20.1001.1.28209982.1401.2.1.6.1 ]

[9]. Bakhtiari S, Mahmoudi H, Seftjani SK, Amirzargar MA, Ghiasvand S, Ghaffari ME, Adabi M. Antibiotic resistance pattern and phylogenetic groups of the uropathogenic Escherichia coli isolates from urinary tract infections in Hamedan, west of Iran. Iranian Journal of Microbiology. 2020;12(5):388..
[10]. Karmali MA. Infection by verocytotoxin-producing Escherichia coli. Clinical microbiology reviews. 1989;2(1):15-38.
[11]. Ziauddini A H, Gholami-Ahangaran M, Ahmadi-Dastgerd A I. Detection of virulence genes of intimin, hemolysin and shigatoxin in Escherichia coli isolated from Pscittacin. NCMBJ. 2020; 10 (38) :61-68
[12]. Ostroff SM, Griffin PM, Tauxe RV, Shipman LD, Greene KD, Wells JG, LEWIS JH, Blake PA, Kobayashi JM. A statewide outbreak of Escherichia coli 0157: H7 infections in Washington State. American Journal of Epidemiology.1990 1;132(2):239-47.
[13]. Gupta B, Ghatak S, Gill JP. Incidence and virulence properties of E. coli isolated from fresh fish and ready-to-eat fish products. Veterinary World. 2013;6(1).
[14]. Barkocy-Gallagher GA, Edwards KK, Nou X, Bosilevac JM, Arthur TM, Shackelford SD, Koohmaraie M. Methods for recovering Escherichia coli O157: H7 from cattle fecal, hide, and carcass samples: sensitivity and improvements. Journal of food protection. 2005;68(11):2264-8.
[15]. Kargar M, Dianati P, Homayoon M, Jamali H. Isolation, characterization and antibiotic resistance of shiga toxin-producing Escherichia coli in hamburger and evolution of virulence genes stx1, stx2, eaeA and hly by multiplex PCR. Journal of Fasa University of Medical Sciences. 2013;3(3):208-14.
[16]. Sanath Kumar H, Otta SK, Karunasagar I, Karunasagar I. Detection of Shiga-toxigenic Escherichia coli (STEC) in fresh seafood and meat marketed in Mangalore, India by PCR. Letters in Applied Microbiology. 2001 Nov 6;33(5):334-8.

[ Downloaded from zoonosis.ir on 2026-11-19 ]

[ DOR: 20.1001.1.28209982.1401.2.1.6.1 ]

"This journal is following of Committee on Publication Ethics (COPE) and complies with the highest ethical standards in accordance with ethical laws".

zoonosis.ir

مجله بیماری های قابل انتقال بین انسان و حیوان

Research Article

# Prevalence of *stx1*, *stx2*, and *eaeA* genes in Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from fish and shrimp in Bushehr, Iran

**Parisa Behshood [1], Elahe Tajbakhsh[2], Fahimeh Nourbakhsh [3*]**

1. Ph.D. Department of Microbiology, Young Researchers and Elite Club, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.
2. Ph.D. Department of Biology, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran.
3. Ph.D. Medical Toxicology Research Centre, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.



**[*]Corresponding author:** nourbakhshf951@mums.ac.ir

Received: 2022/05/28 Accepted: 2022/06/21

**Abstract**

Shiga toxin-producing *Escherichia coli* is an important pathogen in food-borne diseases, and several food-borne epidemics around the world have been linked to this bacterium. Contamination with this organism causes watery and bloody diarrhea. In this study, 400 fish and shrimp samples were prepared in Bushehr province, and the presence of *Escherichia coli* was confirmed by conducting microbiological and molecular tests, and the abundance of *stx1*, *stx2* and *eaeA* genes was investigated in the presence of a pair of specific primers. *Escherichia coli* was not isolated in the packaged samples, but in non-packaged samples, out of 200 fish samples, *Escherichia coli* was isolated in 35 samples (17.5%) and out of 50 shrimp samples in 10 samples (20%) of *Escherichia coli* were isolated. After performing the multiplex PCR test in the presence of specific primers, *stx1*, *stx2* and *eaeA* genes were not found alone banned in any of the strains isolated from fish. In two isolates (20%), the band related to *stx1* and *eaeA* genes and in one isolate (10%) the band related to *stx1*, *stx2* and *eaeA* genes were observed, while in *Escherichia coli* strains isolated from shrimp, only in one sample (33.33%) *stx1* gene was observed. In this research, it was found that the frequency of *stx1* gene is higher than *stx2* gene. In this way, it can be stated that the genetic pattern is *stx1*dominant.

**Keywords:** *Escherichia coli*, Shiga toxin, sea products, *stx1*, *stx2* and *eaeA* genes.

**How to cite this article:** Behshood P, Tajbakhsh E, Nourbakhsh F. Prevalence of *stx1*, *stx2* and *eaeA* genes in Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from fish and shrimp in Bushehr. Journal of Zoonosis. 2022; 2 (1): 1-9.

[ Downloaded from zoonosis.ir on 2026-11-19 ]

[ DOR: 20.1001.1.28209982.1401.2.1.6.1 ]