



Detection of Virulence Genes of Enterotoxigenic *Escherichia coli* Pathotypes Isolated from the Feces of Small Ruminants in Kerman

Mojtaba Alimolaei¹ , Majid Ezatkhah² , Mohadese Amiri³

1. Research and Development Department, Kerman branch, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Kerman, Iran
2. Research and Production Department of biological products, Kerman branch, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Kerman, Iran
3. PhD Student of Bacteriology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman.

ABSTRACT

Background and Aim: Each pathotype of *Escherichia coli* possesses specific virulence factors, making them significant from both medical and veterinary perspectives. These factors include adhesins, invasins, toxins, and secretion systems. The enterotoxigenic *E. coli* (ETEC) pathotype was the first diarrheagenic type whose pathogenic mechanism was identified between 1959 and 1967, and it was recognized as an independent pathotype. The ability to produce heat-labile (*LT*) and/or heat-stable (*ST*) toxins is the most important characteristic of ETEC.

Materials and Methods: In this study, a total of 130 rectal swabs were collected from healthy sheep and goats in Kerman during the spring and summer of 2013. The collected swabs were cultured on selective media to isolate *Escherichia coli*, and identification was confirmed using biochemical tests. DNA was then extracted by the boiling method, and the isolates were examined for the presence of *LT* and *ST* genes using the PCR technique.

Results: The results showed that the frequency of the enterotoxigenic pathotype was 39.99%, with the *LT* gene detected in 27.69% of isolates and the *ST* gene in 12.30%.

Conclusion: This study revealed a notable presence of ETEC pathotype in healthy small ruminants in Kerman. The detection of *LT* and *ST* genes suggests a potential risk of zoonotic transmission. Therefore, regular monitoring and implementation of hygienic measures in livestock farms are recommended.

Keywords: *Escherichia coli*, ETEC, *LT* virulence gene, *ST* virulence gene, pathotype, enterotoxigenic, Kerman

Received: 15.04.2026

Accept: 04.05.2026

Final Edit: 01.06.2026

Online Publish: 19.06.2026

Corresponding Information: Mohadese Amiri, PhD Student of Bacteriology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran. Email: mohadeseamiri1990@gmail.com



Cite this article: Alimolaei, M; Ezatkhah, M; Amiri, M (2025). Detection of Virulence Genes of Enterotoxigenic *Escherichia coli* Pathotypes Isolated from the Feces of Small Ruminants in Kerman. *Animal Health and Infectious Diseases*. 1(3), 32-38.

© Author (s) retain the copyright.

DOI: <https://doi.org/10.22034/jahid.2025.2060855.1059>



شناسایی ژن های حدت پاتوتیپ های انتروتوکسیژنیک /شریشیاکلی جدا شده از مدفوع نشخوارکنندگان کوچک کرمان

مجتبی علی ملائی^۱، مجید عزت خواه^۲، محدثه امیری^۳

۱. بخش تحقیق و توسعه، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرمان، ایران
۲. موسسه تحقیقات و سرم سازی رازی شعبه کرمان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرمان، ایران
۳. دانشجو دکتری تخصصی باکتری شناسی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، ایران

چکیده

زمینه و هدف: هر یک از پاتوتیپ های باکتری /شریشیاکلی دارای فاکتورهای بیماریزای مخصوص خود می باشند. که باعث این شده است آن ها چه نظر پزشکی یا دامپزشکی قابل اهمیت باشند. این فاکتورها شامل آدهسین ها، اینویزینو ها، توکسین ها و سیستم های ترشحی است. پاتوتیپ انتروتوکسیژنیک (ETEC) اولین پاتوتیپ اسهال زایی بود که مکانیسم بیماری زایی آن طی سال های ۱۹۵۹ الی ۱۹۶۷ مشخص شد و به عنوان یک پاتوتیپ مستقل، شناسایی شد. توانایی تولید توکسین حساس به حرارت (LT)، توکسن مقاوم به حرارت (ST) و یا هردوی آن ها، مهم ترین ویژگی پاتوتیپ انتروتوکسیژنیک است.

مواد و روش ها: در این مطالعه تعداد ۱۳۰ سوآب معقدی در بازه ی زمانی بهار تا تابستان سال ۱۳۹۲ از گوسفندان و بز های سالم کرمان جمع آوری شد. سوآب های های جمع آوری شده جهت تایید جدایه /شریشیاکلی بر روی محیط های اختصاصی کشت داده و با استفاده از آزمون های بیوشیمیایی مورد تایید قرار گرفت. پس از استخراج DNA به روش جوشاندن جدایه ها جهت بررسی ژن های LT و ST با روش PCR مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته ها: نتایج بدست آمده از این مطالعه نشان داد که میزان فراوانی پاتوتیپ انتروتوکسیژنیک ۳۹/۹۹ درصد بوده است که فراوانی ژن LTI ۲۷/۶۹ درصد و فراوانی ژن STI ۱۲/۳۰ درصد بوده است.

نتیجه گیری: این مطالعه نشان داد پاتوتیپ انتروتوکسیژنیک /شریشیاکلی (ETEC) با فراوانی قابل توجهی در نشخوارکنندگان کوچک سالم در کرمان وجود دارد. شناسایی ژن های LT و ST بیانگر خطر بالقوه انتقال این سویه ها به انسان است. بنابراین، پایش منظم و اقدامات بهداشتی در دامداری ها ضروری به نظر می رسد.

کلیدواژه ها: /شریشیاکلی، انتروتوکسیژنیک، پاتوتیپ، ژن حدت LT ، ژن حدت ST ، کرمان

دریافت: ۱۴۰۵/۰۱/۲۶ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۲/۱۴ ویرایش نهایی: ۱۴۰۵/۰۳/۱۱ انتشار آنلاین: ۱۴۰۵/۰۳/۲۹

اطلاعات نویسنده مسئول: محدثه امیری، دانشجو دکتری تخصصی باکتری شناسی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید باهنر کرمان،

ایران. Email: mohadeseamiri1990@gmail.com

استناد: علی ملائی، م؛ عزت خواه، م؛ امیری، م (۱۴۰۵). شناسایی ژن های حدت پاتوتیپ های انتروتوکسیژنیک /شریشیاکلی جدا شده از مدفوع نشخوارکنندگان

کوچک کرمان. بهداشت و بیماری های عفونی دام، ۱ (۳)، ۳۸-۳۲.

© نویسندگان



DOI: <https://doi.org/10.22034/jahid.2025.2060855.1059>

مقدمه

اشریشیالکی باکتریایی از میکرو فلور روده انواع حیوانات و انسان ها است. با این حال، همه گونه های اشریشیالکی بی خطر نیستند، زیرا برخی از آنها قادر به ایجاد بیماری در انسان و همچنین در پستانداران و پرندگان هستند (۱). سویه های بیماریزای اشریشیالکی به دو دسته تقسیم می شوند: مواردی که باعث آسیب شناسی روده می شوند و آنهایی که باعث آسیب شناسی خارج روده می شوند (۲).

جدایه های بیماری زای روده ای بر اساس فاکتور های حدت، ویژگی های فنوتیپی و بیماری زایی به شش پاتوتیپ شامل اشریشیالکی انتروتوکسیژنیک (ETEC)، اشریشیالکی انتروپاتوژنیک (EPEC)، اشریشیالکی تولید کننده شیگاتوکسین (STEC)، اشریشیالکی انترواگریگیتیو (EAEC)، اشریشیالکی انترواینویسیو (EIEC)، اشریشیالکی چسبنده منتشر (DAEC) و سویه های بیماری زای غیر روده ای به سه پاتوتیپ، سویه ایجاد کننده ی عفونت دستگاه ادراری (UPEC)، سویه های ایجاد کننده ی بیماری در پرندگان (APEC) و سویه های ایجاد کننده ی مننژیت (NMEC) تقسیم بندی می شوند (۳). اشریشیالکی انتروتوکسیژنیک توسط باکتری های گرم منفی ایجاد می شود که سبب ایجاد اسهال شدید در انسان، نوزادان و حیوانات می گردد. انتروتوکسیژنیک بیشتر در کشور های در حال توسعه رواج داشته و باعث مرگ و میر سالیانه ۳۸۰۰۰۰ نفر در کشور های در حال توسعه می شود و همچنین عامل اسهال مسافران نیز می باشد. این اسهال به علت وجود ۲ انتروتوکسین، انتروتوکسین حساس به حرارت (LT) با وزن مولکولی ۸۰۰۰۰ دالتون و انتروتوکسین مقاوم به حرارت (ST) با وزن مولکولی ۴۰۰۰-۱۵۰۰۰ دالتون ایجاد می گردد. انتروتوکسین حساس به حرارت از نظر عملکرد شبیه به انتروتوکسین وبا است و تحت کنترل ژنتیکی پلاسمید می باشد (۴). این انتروتوکسین توسط ژن *eltAB* کد گذاری می شود. اشریشیالکی انتروتوکسیژنیک دارای ۲ زیر واحد با نام های A و B است که زیر واحد A باعث فعال شدن آدنیلات سیکلاز می شود و زیر واحد B این توکسین را به گانگلیوزید GM1 موجود در حاشیه سلول های اپتلیال روده کوچک متصل می نماید. همچنین انتروتوکسین مقاوم به حرارت توسط ژن *ESTA* کد گذاری می گردد و موجب فعال شدن گوانیلین سیکلاز در سلول های روده می شود. این دو انتروتوکسین سبب ایجاد اختلال در مسیر های سیگنالی آب و الکترولیت ها در سلول های اپتلیال روده ی انسان و حیوانات می گردند که برای جبران از دست رفتن آب و ایجاد تعادل الکترولیت ها از محلول های قندی

نمکی استفاده می شود (۵). هدف این مطالعه، شناسایی ژن های حدت پاتوتیپ انتروتوکسیژنیک/اشریشیالکی (ETEC) شامل ژن های LT و ST در فیلوتاایپ های اشریشیالکی جدا شده از نمونه های مدفوع گوسفندها و بزهای سالم در دامداری های شهرستان کرمان است.

روش کار

این مطالعه بر روی ۱۳۰ نمونه سوآپ مقعدی اخذ شده از نشخوارکنندگان کوچک (گوسفند و بز) از شهرستان کرمان انجام شد. باکتری های مشکوک به اشریشیالکی، از کشت نمونه های مدفوعی بر روی محیط کشت مک کانکی، و تست های بیوشیمیایی (TSI MR/VP, SIM) (مرک، آلمان) و کشت روی محیط کشت EMB (مرک، آلمان) ارزیابی و تایید گردیدند.

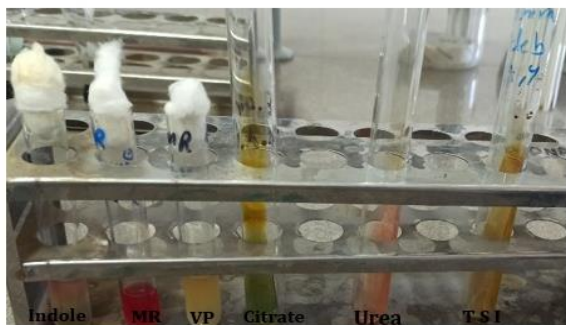
استخراج DNA

در این مطالعه جهت استخراج DNA از روش جوشاندن استفاده شد (۶). در روش جوشاندن ابتدا باید باکتری را روی محیط لوریا برتانی آگار (LB Agar) (مرک-آلمان) کشت دهیم و به مدت ۱۸-۱۶ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شوند. پس از اتمام مدت زمان انکوباسیون برای استخراج DNA از تک کلنی های بدست آمده استفاده گردید.

در این روش ابتدا باید به میزان ۴۰۰ ماکرولیتر آب دیونیزه به درون میکروتیوب های استریل ریخته شوند و سپس یک تک کلنی در آن حل شود. میکروتیوب ها در دستگاه هیتینگ بلاک (اپندورف-آلمان) در دمای ۹۸ درجه سانتی گراد به مدت زمان ۱۰ دقیقه قرار داده شدند. سپس به مدت ۵ دقیقه در فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد میکروتیوب ها سرد گردید و به مدت ۱۰ ثانیه میکروتیوب ها ورتکس شدند و در نهایت میکروتیوب ها به مدت ۳ دقیقه با دور، با سرعت ۱۲ هزار دور در دقیقه سانترفیوژ (اپندورف-آلمان) شدند. میکروتیوب ها از دستگاه خارج شدند و ۳۰۰ ماکرو لیتر از مایع رویی آن ها به داخل میکروتیوب های استریل جدیدی منتقل گردید (۶).

شناسایی سویه ETEC

برای انجام PCR از مستر میکس آماده (-سینا کلون ایران) به میزان ۱۲/۵ ماکرولیتر، ۰/۳ ماکرولیتر از هر کدام از پرایمر ها (سینا کلون-ایران)، DNA نمونه های مورد نظر به میزان ۵ ماکرولیتر و آب دیونیزه تا حجم واکنش (۲۵ میکرو لیتر) استفاده گردید. برای شناسایی سویه ها از نظر ژن حدت مورد نظر، تمامی محصولات PCR بر روی ژل آگارز یک درصد حاوی DNA safe stain (سیناکلون، ایران)، الکتروفورز گردید. پس از انجام الکتروفورز ژل مورد نظر توسط دستگاه ژل داک (Optigo ISOGEN) مشاهده گردید. در این پژوهش برای انجام PCR به منظور ردیابی ژن های حدت *STI* و *LTI*، از پرایمر

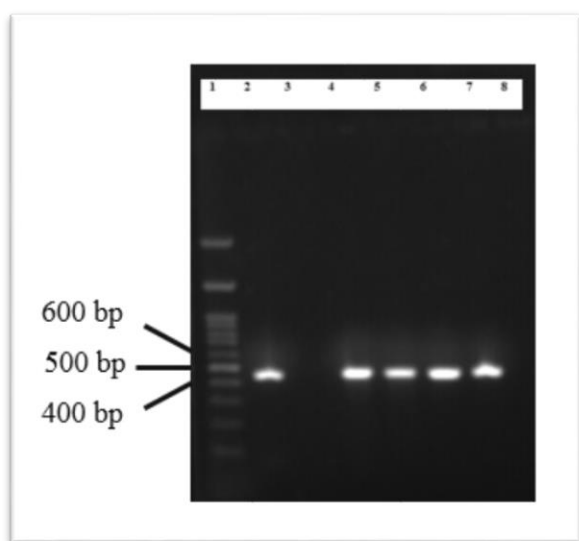


تصویر ۲: نتایج تست های بیوشیمیایی جدایه /شریشیاکلی

نتایج مولکولی

همان گونه که ذکر شد ژن *ST* و *LT* جهت شناسایی پاتوتیپ ETEC مورد آزمایش قرار گرفتند. نتایج PCR باند با اندازه ۴۵۰ bp (تصویر ۳) برای ژن *LT* و باند با اندازه ۱۹۰ bp برای ژن *ST* (تصویر ۴) را نشان می دهد.

نتایج بدست آمده در این مطالعه نشان داد که میزان فراوانی پاتوتیپ انتروتوکسیژنیک (ETEC) ۳۹/۹۹ درصد بوده است که فراوانی ژن حساس به حرارت آن (*LT*) ۲۷/۶۹ درصد فراوانی ژن مقاوم به حرارت (*ST*) ۱۲/۳۰ درصد بوده است.



تصویر ۳: باندهای اختصاصی ژن *LT* در روش PCR؛ ۱: مارکر ۱۰۰bp، ۱: نمونهی مثبت (سویه کنترل مثبت *E.coli* 10407)، ۳: نمونهی کنترل منفی، ۴ تا ۸: نمونه های مثبت واجد ژن *LT* با آمپلیکون با اندازه ۴۵۰ جفت باز

اختصاصی معرفی شده در مطالعه آرنادا و همکاران استفاده گردید (جدول شماره ۱). از سویه *E.coli* 10407 به عنوان کنترل مثبت و همچنین از آب دیونیزه به عنوان کنترل منفی استفاده شد (۷).

برنامه ی دمایی مورد استفاده برای شناسایی ژن های مورد مطالعه عبارت بود از: ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۵ سیکل شامل ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ ثانیه، ۴۹ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ ثانیه (جهت ژن *LT*) / ۵۲ درجه (جهت ژن *ST*)، ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ ثانیه و ۷۲ درجه به مدت ۷ دقیقه (۸).

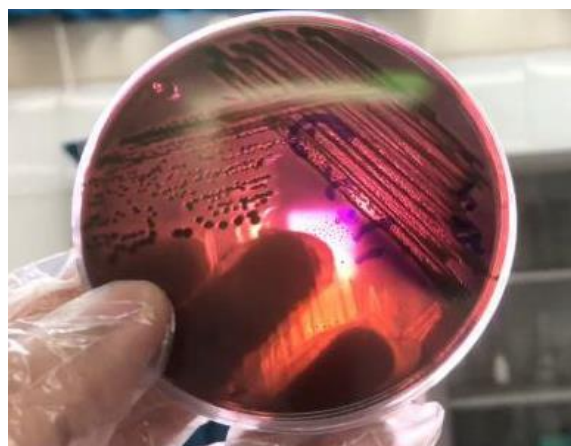
هدف	توالی (۵' - ۳')	اندازه محصول bp
<i>STI</i>	ATT TTT MTT TCTGTA TTR TCT T CAC CCG GTA CAR GCA GGA TT	۱۹۰
<i>LT</i>	GGC GAC AGA TTA TAC CGT GC CGG TCTCTA TAT TCC CTG TT	۴۵۰

جدول ۱: توالی پرایمرهای مورد استفاده برای ردیابی ژن های *STI* و *LT*

نتایج

نتایج کشت و تست های بیوشیمیایی

نمونه های جمع آوری شده در آزمایشگاه روی محیط EMB کشت داده شدند. باکتری هایی که در محیط کشت EMB دارای جلای سبز رنگ بودند (تصویر ۱)، به عنوان جدایه های /شریشیاکلی انتخاب شدند. همچنین برای تایید نهایی از تست های بیوشیمیایی (MR/VP ، TSI SIM) استفاده شد که نتایج در تصویر ۲ مشخص می باشد. نتایج تست IMViC برای باکتری /شریشیاکلی به ترتیب به صورت (+/+/ -/-) مثبت/مثبت/منفی/منفی مشاهده شد.



تصویر ۱: کشت باکتری /شریشیاکلی روی محیط کشت EMB

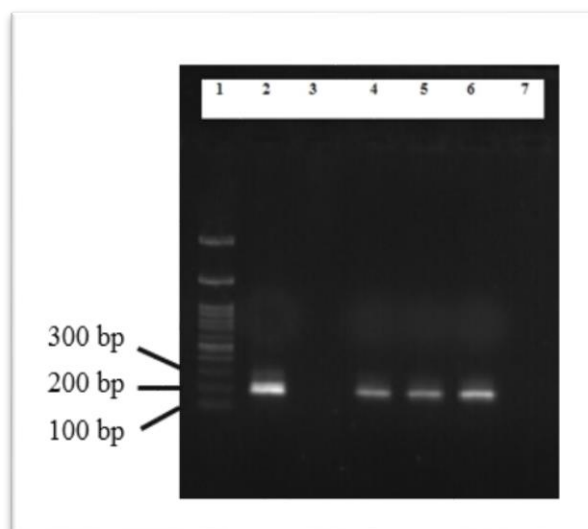
عوامل میزبان، نوع تغذیه و همچنین موقعیت جغرافیایی بستگی داشته باشد.

از توکسین های مهم و موثر در بیماری زایی سویه های انتروتوکسیژنیک ، توکسین مقاوم به حرارت (*ST*) و حساس به حرارت (*LT*) می باشند. نتایج بدست آمده از این مطالعه نشان داد که میزان فراوانی پاتوتیپ انتروتوکسیژنیک ۳۹/۹۹ درصد بوده است که فراوانی ژن *LT* ۲۷/۶۹ درصد فراوانی ژن *ST* ۱۲/۳۰ درصد بوده است. از این رو در مقایسه با گزارش عثمان و همکاران که در سال ۲۰۱۲ بر روی ۶۰۰ نمونه ی اسهالی اخذ شده از گاو، گو سفند و بز که بر روی ژن های *stx1*, *stx2*, *hlyA*, *F41*, *K99*, *sta*, *LT*, *eae* انجام شده بود نتایج این مطالعه با مطالعه ی عثمان و همکاران دارای تفاوت بود به طوری که نتایج حاصل از مطالعه ی عثمان و همکاران نشان داد که میزان فراوانی ژن *sta* در گوساله ها و بز ها به میزان ۱۷/۶ درصد و میزان فراوانی این ژن در گوسفندان صفر درصد همچنین میزان فراوانی ژن *LT* در گوساله ها صفر درصد و در گوسفند و بز به میزان ۵/۹ درصد بوده است (۱۲).

عبدالعظیم و همکاران در سال ۲۰۲۰ در یونان به بررسی ژن های *Stx1*, *Stx2* و *Stx2*, *Stx1* و *LT* در ۲۷۴ نمونه بدست آمده از گوساله های اسهالی یونان پرداختند. نتایج بدست آمده از پژوهش عبدالعظیم و همکاران نشان داد که میزان شیوع ژن های مورد بررسی بدین شرح می باشد، ژن *LT* ۱۲/۷ درصد، ژن *Stx1* ۸/۹ درصد و *LT/Stx1* به میزان ۵ درصد بوده است. همچنین میزان ژن های *Stx1*، ۵ درصد *Stx2* ۳/۷ درصد، *Stx1/Stx2* ۲/۵ درصد و *Stx1/Stx2/ae* ۸/۹ درصد گزارش شده است (۱۳). فراوانی ژن *LT* در مطالعه ی عبدالعظیم و همکاران در مقایسه با مطالعه ی حاضر به میزان کمتری می باشد.

همچنین در مطالعه ی ارجمندپور و همکاران که در بازه ی زمانی سال های ۱۳۹۲ تا ۱۳۹۳ در شیراز، بر روی ۲۰۰ نمونه سواب از رکتوم گوساله اسهالی و بره های که دارای سن یک تا ۳۰ روزه صورت گرفته بود به بررسی ژن های *Stx2*، *Stx1* و *eae* جهت تعیین پاتوتیپ EHEC، ژن های *Bfp* و *eae* جهت تعیین پاتوتیپ های EPEC و ژن *ST* جهت بررسی پاتوتیپ ETEC استفاده شد. نتایج حاصل از پژوهش ارجمندپور و همکاران نشان داد که از ۱۳۳ نمونه تایید شده میزان ۹/۷ درصد دارای ژن *stx1*، ۱۲/۰۳ درصد دارای ژن *stx2*، ۱۳/۵۳ درصد دارای ژن *eae* و ۲۷ درصد دارای ژن *Sta* بودند (۱۴).

قنبرپور و همکاران در سال ۲۰۱۷ در کرمان به بررسی ژن های *stx1*، *stx2*، *LT*، *ST*، *eae* از جدایه های جدا شده از ۳۰۰ سواب مقعدی بره های اسهالی در کرمان پرداختند. در این پژوهش میزان ژن *LT* صفر درصد، میزان ژن *ST* ۴/۴ درصد، میزان ژن *eae* ۲۴/۱۳ درصد، میزان ژن *stx2* ۳۴/۴۸ درصد و میزان ژن *stx1* ۳/۷۲ درصد گزارش



تصویر ۴: باندهای اختصاصی ژن *ST* در روش PCR؛ ۱: مارکر ۱۰۰bp، ۲: نمونه مثبت (سویه کنترل مثبت *E. coli* 10407)، ۳: نمونه کنترل منفی، ۴: ۸ نانومتر، ۵: ۱۹۰ نانومتر، ۶: ۲۰۰ نانومتر، ۷: ۲۵۰ نانومتر، ۸: ۳۰۰ نانومتر، ۹: ۳۵۰ نانومتر، ۱۰: ۴۰۰ نانومتر، ۱۱: ۴۵۰ نانومتر، ۱۲: ۵۰۰ نانومتر، ۱۳: ۵۵۰ نانومتر، ۱۴: ۶۰۰ نانومتر، ۱۵: ۶۵۰ نانومتر، ۱۶: ۷۰۰ نانومتر، ۱۷: ۷۵۰ نانومتر، ۱۸: ۸۰۰ نانومتر، ۱۹: ۸۵۰ نانومتر، ۲۰: ۹۰۰ نانومتر، ۲۱: ۹۵۰ نانومتر، ۲۲: ۱۰۰۰ نانومتر، ۲۳: ۱۰۵۰ نانومتر، ۲۴: ۱۱۰۰ نانومتر، ۲۵: ۱۱۵۰ نانومتر، ۲۶: ۱۲۰۰ نانومتر، ۲۷: ۱۲۵۰ نانومتر، ۲۸: ۱۳۰۰ نانومتر، ۲۹: ۱۳۵۰ نانومتر، ۳۰: ۱۴۰۰ نانومتر، ۳۱: ۱۴۵۰ نانومتر، ۳۲: ۱۵۰۰ نانومتر، ۳۳: ۱۵۵۰ نانومتر، ۳۴: ۱۶۰۰ نانومتر، ۳۵: ۱۶۵۰ نانومتر، ۳۶: ۱۷۰۰ نانومتر، ۳۷: ۱۷۵۰ نانومتر، ۳۸: ۱۸۰۰ نانومتر، ۳۹: ۱۸۵۰ نانومتر، ۴۰: ۱۹۰۰ نانومتر، ۴۱: ۱۹۵۰ نانومتر، ۴۲: ۲۰۰۰ نانومتر، ۴۳: ۲۰۵۰ نانومتر، ۴۴: ۲۱۰۰ نانومتر، ۴۵: ۲۱۵۰ نانومتر، ۴۶: ۲۲۰۰ نانومتر، ۴۷: ۲۲۵۰ نانومتر، ۴۸: ۲۳۰۰ نانومتر، ۴۹: ۲۳۵۰ نانومتر، ۵۰: ۲۴۰۰ نانومتر، ۵۱: ۲۴۵۰ نانومتر، ۵۲: ۲۵۰۰ نانومتر، ۵۳: ۲۵۵۰ نانومتر، ۵۴: ۲۶۰۰ نانومتر، ۵۵: ۲۶۵۰ نانومتر، ۵۶: ۲۷۰۰ نانومتر، ۵۷: ۲۷۵۰ نانومتر، ۵۸: ۲۸۰۰ نانومتر، ۵۹: ۲۸۵۰ نانومتر، ۶۰: ۲۹۰۰ نانومتر، ۶۱: ۲۹۵۰ نانومتر، ۶۲: ۳۰۰۰ نانومتر، ۶۳: ۳۰۵۰ نانومتر، ۶۴: ۳۱۰۰ نانومتر، ۶۵: ۳۱۵۰ نانومتر، ۶۶: ۳۲۰۰ نانومتر، ۶۷: ۳۲۵۰ نانومتر، ۶۸: ۳۳۰۰ نانومتر، ۶۹: ۳۳۵۰ نانومتر، ۷۰: ۳۴۰۰ نانومتر، ۷۱: ۳۴۵۰ نانومتر، ۷۲: ۳۵۰۰ نانومتر، ۷۳: ۳۵۵۰ نانومتر، ۷۴: ۳۶۰۰ نانومتر، ۷۵: ۳۶۵۰ نانومتر، ۷۶: ۳۷۰۰ نانومتر، ۷۷: ۳۷۵۰ نانومتر، ۷۸: ۳۸۰۰ نانومتر، ۷۹: ۳۸۵۰ نانومتر، ۸۰: ۳۹۰۰ نانومتر، ۸۱: ۳۹۵۰ نانومتر، ۸۲: ۴۰۰۰ نانومتر، ۸۳: ۴۰۵۰ نانومتر، ۸۴: ۴۱۰۰ نانومتر، ۸۵: ۴۱۵۰ نانومتر، ۸۶: ۴۲۰۰ نانومتر، ۸۷: ۴۲۵۰ نانومتر، ۸۸: ۴۳۰۰ نانومتر، ۸۹: ۴۳۵۰ نانومتر، ۹۰: ۴۴۰۰ نانومتر، ۹۱: ۴۴۵۰ نانومتر، ۹۲: ۴۵۰۰ نانومتر، ۹۳: ۴۵۵۰ نانومتر، ۹۴: ۴۶۰۰ نانومتر، ۹۵: ۴۶۵۰ نانومتر، ۹۶: ۴۷۰۰ نانومتر، ۹۷: ۴۷۵۰ نانومتر، ۹۸: ۴۸۰۰ نانومتر، ۹۹: ۴۸۵۰ نانومتر، ۱۰۰: ۴۹۰۰ نانومتر، ۱۰۱: ۴۹۵۰ نانومتر، ۱۰۲: ۵۰۰۰ نانومتر، ۱۰۳: ۵۰۵۰ نانومتر، ۱۰۴: ۵۱۰۰ نانومتر، ۱۰۵: ۵۱۵۰ نانومتر، ۱۰۶: ۵۲۰۰ نانومتر، ۱۰۷: ۵۲۵۰ نانومتر، ۱۰۸: ۵۳۰۰ نانومتر، ۱۰۹: ۵۳۵۰ نانومتر، ۱۱۰: ۵۴۰۰ نانومتر، ۱۱۱: ۵۴۵۰ نانومتر، ۱۱۲: ۵۵۰۰ نانومتر، ۱۱۳: ۵۵۵۰ نانومتر، ۱۱۴: ۵۶۰۰ نانومتر، ۱۱۵: ۵۶۵۰ نانومتر، ۱۱۶: ۵۷۰۰ نانومتر، ۱۱۷: ۵۷۵۰ نانومتر، ۱۱۸: ۵۸۰۰ نانومتر، ۱۱۹: ۵۸۵۰ نانومتر، ۱۲۰: ۵۹۰۰ نانومتر، ۱۲۱: ۵۹۵۰ نانومتر، ۱۲۲: ۶۰۰۰ نانومتر، ۱۲۳: ۶۰۵۰ نانومتر، ۱۲۴: ۶۱۰۰ نانومتر، ۱۲۵: ۶۱۵۰ نانومتر، ۱۲۶: ۶۲۰۰ نانومتر، ۱۲۷: ۶۲۵۰ نانومتر، ۱۲۸: ۶۳۰۰ نانومتر، ۱۲۹: ۶۳۵۰ نانومتر، ۱۳۰: ۶۴۰۰ نانومتر، ۱۳۱: ۶۴۵۰ نانومتر، ۱۳۲: ۶۵۰۰ نانومتر، ۱۳۳: ۶۵۵۰ نانومتر، ۱۳۴: ۶۶۰۰ نانومتر، ۱۳۵: ۶۶۵۰ نانومتر، ۱۳۶: ۶۷۰۰ نانومتر، ۱۳۷: ۶۷۵۰ نانومتر، ۱۳۸: ۶۸۰۰ نانومتر، ۱۳۹: ۶۸۵۰ نانومتر، ۱۴۰: ۶۹۰۰ نانومتر، ۱۴۱: ۶۹۵۰ نانومتر، ۱۴۲: ۷۰۰۰ نانومتر، ۱۴۳: ۷۰۵۰ نانومتر، ۱۴۴: ۷۱۰۰ نانومتر، ۱۴۵: ۷۱۵۰ نانومتر، ۱۴۶: ۷۲۰۰ نانومتر، ۱۴۷: ۷۲۵۰ نانومتر، ۱۴۸: ۷۳۰۰ نانومتر، ۱۴۹: ۷۳۵۰ نانومتر، ۱۵۰: ۷۴۰۰ نانومتر، ۱۵۱: ۷۴۵۰ نانومتر، ۱۵۲: ۷۵۰۰ نانومتر، ۱۵۳: ۷۵۵۰ نانومتر، ۱۵۴: ۷۶۰۰ نانومتر، ۱۵۵: ۷۶۵۰ نانومتر، ۱۵۶: ۷۷۰۰ نانومتر، ۱۵۷: ۷۷۵۰ نانومتر، ۱۵۸: ۷۸۰۰ نانومتر، ۱۵۹: ۷۸۵۰ نانومتر، ۱۶۰: ۷۹۰۰ نانومتر، ۱۶۱: ۷۹۵۰ نانومتر، ۱۶۲: ۸۰۰۰ نانومتر، ۱۶۳: ۸۰۵۰ نانومتر، ۱۶۴: ۸۱۰۰ نانومتر، ۱۶۵: ۸۱۵۰ نانومتر، ۱۶۶: ۸۲۰۰ نانومتر، ۱۶۷: ۸۲۵۰ نانومتر، ۱۶۸: ۸۳۰۰ نانومتر، ۱۶۹: ۸۳۵۰ نانومتر، ۱۷۰: ۸۴۰۰ نانومتر، ۱۷۱: ۸۴۵۰ نانومتر، ۱۷۲: ۸۵۰۰ نانومتر، ۱۷۳: ۸۵۵۰ نانومتر، ۱۷۴: ۸۶۰۰ نانومتر، ۱۷۵: ۸۶۵۰ نانومتر، ۱۷۶: ۸۷۰۰ نانومتر، ۱۷۷: ۸۷۵۰ نانومتر، ۱۷۸: ۸۸۰۰ نانومتر، ۱۷۹: ۸۸۵۰ نانومتر، ۱۸۰: ۸۹۰۰ نانومتر، ۱۸۱: ۸۹۵۰ نانومتر، ۱۸۲: ۹۰۰۰ نانومتر، ۱۸۳: ۹۰۵۰ نانومتر، ۱۸۴: ۹۱۰۰ نانومتر، ۱۸۵: ۹۱۵۰ نانومتر، ۱۸۶: ۹۲۰۰ نانومتر، ۱۸۷: ۹۲۵۰ نانومتر، ۱۸۸: ۹۳۰۰ نانومتر، ۱۸۹: ۹۳۵۰ نانومتر، ۱۹۰: ۹۴۰۰ نانومتر، ۱۹۱: ۹۴۵۰ نانومتر، ۱۹۲: ۹۵۰۰ نانومتر، ۱۹۳: ۹۵۵۰ نانومتر، ۱۹۴: ۹۶۰۰ نانومتر، ۱۹۵: ۹۶۵۰ نانومتر، ۱۹۶: ۹۷۰۰ نانومتر، ۱۹۷: ۹۷۵۰ نانومتر، ۱۹۸: ۹۸۰۰ نانومتر، ۱۹۹: ۹۸۵۰ نانومتر، ۲۰۰: ۹۹۰۰ نانومتر، ۲۰۱: ۹۹۵۰ نانومتر، ۲۰۲: ۱۰۰۰۰ نانومتر، ۲۰۳: ۱۰۰۵۰ نانومتر، ۲۰۴: ۱۰۱۰۰ نانومتر، ۲۰۵: ۱۰۱۵۰ نانومتر، ۲۰۶: ۱۰۲۰۰ نانومتر، ۲۰۷: ۱۰۲۵۰ نانومتر، ۲۰۸: ۱۰۳۰۰ نانومتر، ۲۰۹: ۱۰۳۵۰ نانومتر، ۲۱۰: ۱۰۴۰۰ نانومتر، ۲۱۱: ۱۰۴۵۰ نانومتر، ۲۱۲: ۱۰۵۰۰ نانومتر، ۲۱۳: ۱۰۵۵۰ نانومتر، ۲۱۴: ۱۰۶۰۰ نانومتر، ۲۱۵: ۱۰۶

بحث

اشرشیاکلی اکثر ابی ضرر یا دارای حدت کم بوده و حضور آن به عنوان یک ارگانایسم کامنسال در بخش های پایینی روده برای حفظ اکوسیستم و سلامت آن، ضروری می باشد (۸). **اشرشیاکلی** ممکن است عفونت های فرصت طلبی را در مکان های خارج روده ای مانند غدد پستانی و مجاری ادراری ایجاد کند. همچنین برخی سویه ها نیز با داشتن یا کسب عوامل ژنتیکی حدت، جزو بیماری زا های اصلی به شمار می آیند (۹). در سویه های بیماری زا، ژن های کد کننده ی عوامل حدت، اغلب در جزایر بیماری زایی قرار دارد، در حالی که سویه های کامنسال، فاقد این جزایر بیماری زایی در ژنوم خود می باشند. همچنین تعداد زیادی از عوامل بیماری زا، توسط ژن های اکتسابی موجود در اجزاء ژنتیکی متحرک مانند پلاسمید، بکتیریوفاز و ترانسپوزن ها کد می شود (۱۰).

از دیدگاه بهداشت عمومی، حضور این ژن‌های حدت در حیوانات سالم می‌تواند یک هشدار جدی باشد؛ چرا که تماس مستقیم با دام، مصرف محصولات دامی آلوده، یا آلودگی محیطی می‌تواند منجر به انتقال سویه‌های بیماری‌زا به انسان گردد. در این راستا، رعایت اصول بهداشتی در دامداری‌ها، کنترل کیفیت خوراک، آب آشامیدنی و برنامه‌ریزی‌های واکسیناسیون و مراقبت‌های دامپزشکی می‌تواند در کنترل انتشار *شریشیاکله*، یا توژن مؤثر باشد (۱۱).

میزان شیوع متفاوتی از پاتوتیپ های *اشریشیاکلی* موافق و یا مخالف با پژوهش حاضر در زیر بیان شده است، که این تفاوت ها در میزان شیوع می تواند متناسب با بهداشت آن منطقه، روش های مطالعه،

شده است (۱۵). نتایج حاصل از پژوهش قنبرپور و همکاران دارای تفاوت در میزان فراوانی با پژوهش حاضر می باشد.

نادری و همکاران در سال ۲۰۲۴ در کرمان به بررسی ژن های *stx1*، *stx2*، *ST*، *LT* و *cnf1* از جدایه های بدست آمده از گوساله های سالم کرمان پرداختند. نتایج بدست آمده از مطالعه ی نادری و همکاران نشان داد که میزان فراوانی ژن *LT* صفر درصد و میزان فراوانی ژن *ST* ۵/۸۸ درصد بوده است (۱۶).

عوامل متعددی می توانند در تفاوت شیوع ژن های *LT* و *ST* بین مطالعات مختلف نقش داشته باشند. نخست، وضعیت بالینی دامها (سالم یا مبتلا به اسهال) تأثیر چشمگیری دارد؛ به طور معمول، مطالعات انجام شده بر روی دام های مبتلا به اسهال، شیوع بالاتری از ژن های حدت را گزارش می دهند، چراکه در شرایط بیماری، میزان تکثیر و حذف پاتوژن ها افزایش می یابد. برای نمونه، عدم شناسایی ژن *LT* در برخی تحقیقات ممکن است به علت تمرکز بر دام های فاقد علائم بالینی یا سالم بوده باشد.

دوم، شرایط بهداشتی، مدیریتی و زیست محیطی دامداری ها می تواند در انتقال و انتشار سویه های بیماری زا مؤثر باشد. وضعیت عمومی دامداری ها، رعایت اصول بهداشت، کیفیت آب و خوراک، تراکم دام، و وجود یا فقدان نظارت دام پزشکی، همگی بر فشار انتخابی برای بقا و انتقال پاتوژن ها مؤثرند.

سوم، تفاوت در روش های آزمایشگاهی، طراحی پرایمرها، کیفیت DNA استخراج شده و حساسیت آزمون های مولکولی مانند PCR، می تواند بر دقت و صحت شناسایی ژن های هدف تأثیر بگذارد و منجر به گزارش شیوع متفاوت شود.

چهارم، تفاوت های جغرافیایی و فصلی بین مناطق مختلف، از جمله نوع آب و هوا، دمای محیط، و نوع نژاد دام ها، نیز در تکثیر و بیان عوامل بیماری زا در دستگاه گوارش نشخوارکنندگان تأثیرگذار است. برای مثال، شرایط آب و هوایی خشک و گرم در مناطقی نظیر استان کرمان می تواند بر پایداری و انتشار باکتری های روده ای تأثیرگذار باشد.

در نهایت، عواملی نظیر سن دام ها، زمان نمونه برداری، وضعیت ایمنی و وجود استرس های محیطی یا تغذیه ای نیز می توانند در بروز نوسانات آماری و اختلاف در فراوانی ژن های حدت نقش داشته باشند. بنابراین، بررسی دقیق و کنترل این متغیرها برای تحلیل قابل اعتماد از شیوع پاتوتیپ های بیماری زا ضروری است.

به طور کلی، یافته های این تحقیق ضمن تأکید بر اهمیت نشخوارکنندگان کوچک به عنوان مخزن بالقوه ی پاتوژن های انسانی و دامی، ضرورت انجام مطالعات گسترده تر و نظارت مداوم بر ژن های حدت در جمعیت های دامی مناطق مختلف کشور را نشان می دهد.

نتیجه گیری

یافته های این مطالعه نشان می دهد که پاتوتیپ انتروتوکسیژنیک /شریشیالکی (ETEC) با فراوانی نسبتاً قابل توجه ای در نشخوارکنندگان کوچک (گوسفند و بز) در شهرستان کرمان حضور دارد. این نتایج بیانگر شیوع قابل توجه ETEC در نشخوارکنندگان این منطقه بوده و می تواند نقش بالقوه ای در انتقال بیماری های گوارشی به سایر حیوانات و حتی انسان داشته باشد. بنابراین، نظارت بهداشتی و اقدامات کنترلی برای پیشگیری از انتشار این پاتوتیپ در جمعیت دام و انسان ضروری به نظر می رسد.

تعارض منافع

بین نویسندگان این مطالعه هیچگونه تعارض منافی وجود ندارد.

منابع

1. Riley LW. Distinguishing pathovars from nonpathovars: *Escherichia coli*. Microbiology spectrum. 2020 Dec 31;8(4):10-128.
2. Akanbi BO, Mbah IP, Kerry PC. Prevalence of *Escherichia coli* O157: H7 on hides and faeces of ruminants at slaughter in two major abattoirs in Nigeria. Letters in Applied Microbiology. 2011 Sep 1;53(3):336-40.
3. Jafari A, Aslani MM, Bouzari S. *Escherichia coli*: a brief review of diarrheagenic pathotypes and their role in diarrheal diseases in Iran. Iranian journal of microbiology. 2012 Sep;4(3):102.
4. Jawetz E, Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA, Mietzner TA. Jawetz, Melnick, & Adelberg's medical microbiology. (No Title). 1991.
5. Ugalde-Silva P, Gonzalez-Lugo O, Navarro-Garcia F. Tight junction disruption induced by type 3 secretion system effectors injected by enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli*. Frontiers in cellular and infection microbiology. 2016 Aug 24;6:87.
6. Jamshidian-Mojaver, M., Amiri, M., Farzin, H. Phenotypic and genotypic evaluation of fluoroquinolones resistance in *Klebsiella pneumoniae* isolates from urinary tract infections in Bojnourd city. Medical Journal of Mashhad university of Medical Sciences, 2020; 63(3): 2335-2340.

7. Aranda K. R. S., Fagundes-Neto U., Scaletsky I. C. A., 2004, Evaluation of Multiplex PCRs for Diagnosis of Infection with Diarrheagenic *Escherichia coli* and *Shigella* spp. J. Clin. Microbiol, pp 5849–5853.
8. Estrada-Garcia T, Navarro-Garcia F. Enteraggative *Escherichia coli* pathotype: a genetically heterogeneous emerging foodborne enteropathogen. FEMS Immunology & Medical Microbiology. 2012 Dec 1;66(3):281-98.
9. Loy JD, Clawson ML, Adkins PR, Middleton JR. Current and emerging diagnostic approaches to bacterial diseases of ruminants. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice. 2023 Mar 1;39(1):93-114.
10. Caumette P, Brochier-Armanet C, Normand P. Taxonomy and phylogeny of prokaryotes. In: Environmental microbiology: fundamentals and applications: microbial ecology 2014 Jul 17 (pp. 145-190). Dordrecht: Springer Netherlands.
11. Desvaux M, Dalmasso G, Beyrouthy R, Barnich N, Delmas J, Bonnet R. Pathogenicity factors of genomic islands in intestinal and extraintestinal *Escherichia coli*. Frontiers in microbiology. 2020 Sep 25;11:2065.
12. Osman KM, Mustafa AM, Elhariri M, Abdelhamed GS. The distribution of *Escherichia coli* serovars, virulence genes, gene association and combinations and virulence genes encoding serotypes in pathogenic *E. coli* recovered from diarrhoeic calves, sheep and goat. Transboundary and emerging diseases. 2013 Feb;60(1):69-78.
13. Algammal AM, W. El-Kholy A, Riad EM, Mohamed HE, Elhaig MM, Yousef SA, Hozzein WN, Ghobashy MO. Genes encoding the virulence and the antimicrobial resistance in enterotoxigenic and shiga-toxigenic *E. coli* isolated from diarrheic calves. Toxins. 2020 Jun 10;12(6):383.
14. Arjomandpoor P, Tahamtan Y. Molecular Identification of Virulence Factors of *E. coli* in Three Strains of ETEC, EHEC and EPEC in Calves and Lambs with Diarrhea in Shiraz. Veterinary Research & Biological Products. 2017 Jun 22;30(2):27-34.
15. Ghanbarpour R, Askari N, Ghorbanpour M, Tahamtan Y, Mashayekhi K, Afsharipour N, Darijani N. Genotypic analysis of virulence genes and antimicrobial profile of diarrheagenic *Escherichia coli* isolated from diseased lambs in Iran. Tropical animal health and production. 2017 Mar;49:591-7.
16. Naderi Z, Ghanbarpour R, Jajarmi M, Dehdashti S, Bagheri M, Eskandarzade N, Mohseni P, Alizade H. Antibiotic resistance profiling and phylotyping of human-diarrheagenic *Escherichia coli* pathotypes detected from diarrheic and non-diarrheic calves in Iran. Molecular Biology Reports. 2024 Dec;51(1):494.