

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



پایان نامه دکتری حرفه‌ای دامپزشکی

بررسی میزان شیوع سویه های وروتوکسین زای
شریشیا کلی در بیماران مبتلا به اسهال

استاد راهنما:

دکتر مجتبی بادبان

استادان مشاور:

دکتر حمداله مشتاق

دکتر رؤف بان

پژوهشگر:

مهسا زمان

مهرماه .



پایان نامه . مهسا زمانی جهت اخذ درجه دکتری حرفه ای رشته دامپزشکی با عنوان: بررسی میزان شیوع سویه های وروتوکسین زای اشریشیا کلی در بیماران مبتلا به اسهال در تاریخ // با حضور هیأت داوران زیر بررسی و با رتبه.....مورد تصویب نهایی قرار گرفت.

امضاء استاد راهنمای پایان نامه دکتر مجتبی بنیادیان با مرتبه علمی استادیار

استادان مشاور پایان نامه

امضاء دکتر حمداله مشتاقی با مرتبه علمی دانشیار

امضاء دکتر رویا حبیبیان با مرتبه علمی استادیار

امضاء استاد داور داخلی گروه دکتر محمد رضا محزونیه با مرتبه علمی دانشیار

امضاء استاد داور خارجی گروه دکتر عزیزاله ابراهیمی با مرتبه علمی مربی

مسئولیت کلیه عقاید و نظراتی که در این پایان آورده شده است به عهده نگارنده بوده و دانشکده دامپزشکی هیچ مسئولیتی را در این زمینه تقبل نمی؛

دکتر حسین نورانی

ریاست دانشکده دامپزشکی

دکتر سعید حبیبیان دهکردی

معاونت پژوهش و تحصیلات تکم

دانشکده دامپزشکی

کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات، ابتکارات
و نوآوری های ناشی از تحقیق موضوع این پایان نامه
متعلق به دانشگاه شهرکرد است.

تقدیر و تشکر

سپاس خدای را که نبات را رویدن آموخت و انسان را آموختن.

تقدیر و سپاس از:

استاد گرانمایه، جناب آقای دکتر بنیادیان که بنده را در تمام مراحل انجام این تحقیق راهنمایی و یاری نمودند و افتخار شاگردی در محضر پر بار علمی و اخلاقی ایشان برای اینجانب مایه سرافرازی می باشد.

اساتید ارجمند، جناب آقای دکتر مشتاقی و سرکار خانم دکتر حبیبیان که با راهنمایی های دلسوزانه و ارزشمند خویش مشکل گشا و راهنمای من بودند.

اساتید گرامی، جناب آقای دکتر ابراهیمی و جناب آقای دکتر محزونیه که زحمت دآوری این پایان نامه را به عهده گرفتند.

با تشکر فراوان از آقای دکتر ممتاز، آقای مومنی، آقای خسروی و خانم جعفری که مرا در انجام این تحقیق یاری نمودند.

با بمان که ظلمت شب از راه می‌رسد، وقتی که هیچ یآوری نیست و آسایش گریخته است.

خدایا، ای یاور بی‌کسان، با من بمان! در هر لحظه به حضور تو نیازمندم!

چه چیزی جز لطف تو می‌تواند ترس‌ها را در هم شکند؟

چه کسی جز تو می‌تواند راهنما و پناه من باشد؟

در روزهای ابری و آفتابی با من بمان!

تقدیم به مادر مهربانم

عزیزی که سیمای مهربان و پر از مهر و گذشتش همواره

قوتم بخشید تا کدورت غمی، التهاب نیازی و سایش و

فرسایشی، مرا از رفتن باز ندارد.

تقدیم به پدر عزیزم

ستاره درخشان زندگیم که وجود پر مهرش تکیه‌گاهم و تلالؤ

چشمانش نور امیدم است. عزیزی که محبت را به من

آموخت و اخلاص و گذشت را در دلم کاشت.

تقدیم به دو برادر عزیزم

مهدی و حامد

آنان که زیبایی زندگیم هستند و مهرشان در قلبم جاودانه

خواهد ماند.

چکیده

در طی تابستان و پاییز سال ۱۳۹۷ این مطالعه جهت ارزیابی میزان شیوع سویه های وروتوکسین زای /شریشیا کلی در بیماران مبتلا به اسهال در شهرکرد انجام شد. تعداد ۱۰۰ نمونه مدفوع از افراد مبتلا به اسهال اخذ گردید و آزمونهای میکروبیولوژی جهت جداسازی باکتری /شریشیا کلی بر روی نمونه ها انجام شد. برای جداسازی باکتری /شریشیا کلی، نمونه ها بر روی محیط های مکانکی آگار و سوربیتول مکانکی آگار کشت داده شدند و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور قرار گرفتند. های مشکوک جدا سازی شده و جهت تایید باکتری /شریشیا کلی آزمونهای بیوشیمیایی (IMViC) بر روی آنها انجام شد. /شریشیا کلی O157 و بررسی ژنهای *Hly VT2 VT1* و *eae* بر روی پرگنه های تأیید شده، آزمون PCR انجام شد. در آزمون های اولیه میکروبی، تعداد ۱۰ نمونه به عنوان کلنی های مشکوک جداسازی شدند. پس از انجام آزمون های بیوشیمیایی، تعداد ۱۰ (۱۰۰ درصد) به عنوان باکتری /شریشیا کلی مورد تأیید قرار گرفتند. نتایج آزمون PCR نشان داد که هیچ کدام از نمونه های مورد آزمون O157 نبودند ولی ۱۰ (۱۰۰ درصد) جدایه *eae* (۱۰ درصد) حاوی ژن *Hly* (۱۰ درصد) حاوی ژن *VT1* (۱۰ درصد) حاوی ژن های *VT1* و *eae* (۱۰ درصد) جدایه (۱۰ درصد) حاوی ژن *Hly* بودند و هیچ کدام از نمونه ها واجد ژن *VT2* نبودند.

کلمات کلیدی: اسهال، انسان، اشیریشیا کلی و سویه های وروتوکسینزا

عنوان

فصل اول -

فصل دوم .. کلیات

- - خانواده آنتروباکتریاسه
- - خواص شکلی (مورفولوژی)
- - خصوصیات بیوشیمیایی و کشت
- - اشیشیا
- - خصوصیات کلی / اشیشیا کلی
- - جایگاه میکروبی
- - خصوصیات باکتریولوژی
- - خصوصیات کشت و واکنش های بیوشیمیایی
- - مقاومت میکروبی
- - تنوع کلنی
- - ساختار پادگنی / اشیشیا کلی
- - آنتی ژن های پیکری O
- - آنتی ژن های کپسولی K
- - آنتی ژن M
- - آنتی ژن تاژکی H
- - پاتوفیز یولوژی / اشیشیا کلی
- - تحت گروه / اشیشیا کلی خونریزی دهنده روده ای
- - *E.coli* O157:H7
- - خصوصیات باکتریولوژی *E.coli* O157:H7
- - ژن های حدت باکتری *E.coli* O157:H7
- - مخازن و راه های انتقال باکتری *E.coli* O157:H7
- - پاتوژنز عفونت های *E.coli* O157:H7
- - کولیت خونریزی دهنده
- - سندرم HUS
- - مروری بر سابقه تحقیق
- - فصل سوم .. مواد و روش کار
- - مواد مورد استفاده
- - مراحل اجرای طرح
- - روش کار
- - مراحل انجام آزمون PCR
- - استخراج DNA باکتری های مشکوک
- - مواد مورد استفاده در آزمون PCR
- - توالی پرایمرها

PCR برنامہ حرارتی آزمون - - -

تہیہ ژل آگارز - - -

الکتروفورز محصولات PCR - - -

مشاہدہ نتایج - - -

فصل چہارم -

eae - -

Hly - -

VT1 - -

VT2 - -

-

فهرست شکل ها

- عنوان
- شکل (-) اشريشيا كلي
- شکل (-) ساختار پادگني اشريشيا كلي
- شکل (-) تقسيم بندي E.coli براساس فاکتورهای حدت
- شکل (-) اتصال تحت گروه EHEC به اپیتلیوم روده
- شکل (-) اتصال اشريشيا كلي O157:H7 به رسپتورهای سلول انسان
- شکل (-) پاتوژنز عفونت E.coli O157:H7
- شکل (-) کولیت خونريزي دهنده
- شکل (-) تشخيص فراورده های PCR توسط ژل الکتروفورز
- شکل (-) آزمون PCR به منظور جداسازی ژن حدت eae
- شکل (-) آزمون PCR به منظور جداسازی ژن حدت Hly
- شکل (-) آزمون PCR به منظور جداسازی ژن حدت VT1
- شکل (-) آزمون PCR به منظور جداسازی ژن حدت VT2

فهرست جدول ها

- عنوان
- جدول (-) تقسیم بندی خانواده آنتروباکتریاسه
 - جدول (-) ویژگی های افتراقی گونه های اشریشیا
 - جدول (-) خصوصیات بیوشیمیایی E.coli
 - جدول (-) خصوصیات بیوشیمیایی E.coli O157:H7 فیزیولوژیکی
 - جدول (-) مقدار مواد مورد نیاز برای انجام PCR برای یک نمونه در حجم میکرولیتر
 - جدول (-) توالی ، وزن و دمای مربوط به هر پرایمر
 - جدول (-) برنامه حرارتی آزمون PCR
 - جدول (-) نتایج مطالعات جداسازی E.coli O157
 - جدول (-) فراوانی ژن های حدت در سویه های اشریشیاکلی جدا شده از بیماران

فصل اول

مقدمه

باکتری/شیریشیا کلی جزء فلور طبیعی روده بزرگ حیوانات خونگرم می باشد [Ashraf et al, 2005]. اهمیت این باکتری به دلیل وجود سویه های بیماری زایی است که عامل ایجاد کننده بیماریهای روده ای و مسمومیت های غذایی انسان به ویژه نوزادان می باشد. *E.coli* معروفترین گونه از جنس/شیریشیا [مرتضوی و همکاران؛ و مرتضوی و همکاران؛]. حضور این باکتری در آب و غذا به عنوان شاخص آلودگی مدفوعی و حضور احتمالی پاتوژن های غالب پذیرفته شده است [Endoy and Rsyruqi, 2002]. پنج گروه بیماری زای/شیریشیا کلی عبارتند از: *EPEC* (*Enteropathogenic E.coli*) *EIEC* (*Enteroinvasive E.coli*)، *EHEC* (*Invasive E.coli*)، *EA-AggEC* (*Enterohemorrhagic E.coli*) و *EA-AdhEC* (*Enterohemorrhagic E.coli*) [رضویلر و ودود، .]. چندین سویه از باکتری/شیریشیا کلی به عنوان پاتوژن های بالقوه غذازاد معرفی شده اند. *EHEC* توانایی تولید فاکتورهای چسبندگی و شینگاتوکسین را دارد که توسط ژنهای *STx1 Hly eaeA* و *STx2* کد می شود. یکی از سویه های مهم که در تحت گروه *EHEC* قرار می گیرد، *E.coli* O157:H7 است که به عنوان یکی از عمده ترین سویه های بیماری زای انسان معرفی شده است که سالانه باعث بروز چندین مورد مرگ شده و از طریق مواد غذایی مختلف، خصوصاً مواد غذایی با منشأ دامی به انسان منتقل می شود. این باکتری توانایی تولید سمی شبیه به سم باکتری شینگلا را دارد. شیریشیا کلی تولیدکننده شینگاتوکسین در گروه باکتری های مولد کولیت هموراژیک (*Hemorrhagic colitis*) و سندرم اورمی همولیتیک (*Hemolytic uremic syndrome*) قرار می گیرد [Journal et al, 1996 و Parry and Palmer, 2000 و Paton and Paton, 1998].

تعدادی از حیوانات از جمله گاو و گوساله به عنوان مخزن اصلی این سروتیپ محسوب می شوند. گوساله مهمترین منبع غذایی است که معمولاً طی روندهای انجام شده بر روی آن به این باکتری آلوده می گردد [زعیم کهن،].

اولین بار سویه O157:H7 در سال ۱۹۹۶ از فرد مبتلا به اسهال خونی جداسازی شد [مرتضوی و همکاران،].

بیماری زایی این باکتری بر پایه تولید سم می باشد. سموم این باکتری به نام سموم مشابه شیگا خوانده (وروتوکسین و) [مرتضوی و همکاران، و زعیم کهن،].

اشریشیا کلی تولید کننده شیگا توکسین (STEC) به عنوان پاتوژن غذایی مهم مطرح است و موجب ایجاد بیماری هایی از قبیل اسهال خونی ، کولیت هموراژیک ، سندرم هموریتیک اورمیک (HUS) و ترومبوسایتوپنی پورپورا (TTP) [رضویلر و ودود،].

موارد زیادی از مرگ و میر توسط باکتری *E.coli* O157:H7 در جهان گزارش شده است [و فبروزی،].

بر این اساس، مطالعه حاضر طراحی گردید تا میزان حضور سویه های وروتوکسین زای باکتری از جمله *E.coli* O157:H7 در مدفوع افراد مبتلا به اسهال خونی در شهرستان شهرکرد مشخص گردد و ژن های حدت اشریشیا کلی های جدا شده نیز مورد ارزیابی قرار گیرند.

کلیات

- - خانواده آنتروباکتریاسه

خانواده آنتروباکتریاسه از تعداد زیادی گونه های وابسته و نزدیک به هم تشکیل شده که در خاک، آب و مواد در حال فساد و دستگاه گوارش انسان، حیوانات و حشرات یافت می شوند. جایگاه طبیعی آنها در بدن انسان، روده است؛ به همین دلیل این اجرام را به نام باکتری های روده ای (Enteric bacilli) یا انتریک (Enterics) [تاج بخش، . و Joklik et al, 1992].

بعضی از اعضای این خانواده از مهمترین عوامل بیماریهای دستگاه گوارش مانند تب (Typhoid fever) و اسهال خونی باسیلی (Bacillary dysentery). اکثر گونه های این خانواده پاتوژنهای روده ای نیستند اما گونه های فرصت طلبی نیز وجود دارند که اگر به بدن میزبان وارد شوند، می توانند اندام های دیگر بدن را مورد تهاجم قرار دهند [Joklik et al, 1992].

باکتری های خانواده آنتروباکتریاسه عامل اکثر عفونت های بیمارستانی (Nosocomial infections) . این عفونت ها از نظر پزشکی و اقتصادی حائز اهمیت اند؛ به طوری که سالانه حدود دو میلیون بیمار (درصد) جمعیت کلی بیمارستانها در ایالات متحده دچار این عفونتها می شوند. لازم به ذکر است که بسیاری از گونه های جدا شده از عفونت های با منشأ بیمارستانی نسبت به عوامل ضد میکروبی مقاومت چندگانه ای نشان می دهند و این امر وخامت و پیچیدگی قضیه را روشن می سازد [تاج بخش، و Joklik et al, 1992].

انواده آنتروباکتریاسه از باسیل های گرم منفی بدون اسپور تشکیل شده که هوازی و بی هوازی اختیاری بوده و روی محیط های معمولی که منشأ آنها عصاره گوشت است و آگار لاکتوزدار مکانکی که حاوی نمک های صفرآوی است رشد کرده و به محیطی ویژه برای رشد نیازمند نیستند [Stewart, 1977].

این باکتری ها اکثراً متحرکند و واجد تاژک اطرافى (*Peritrichous flagella*) می باشند و تعدادی نیز غیر متحرکند. این باسیل ها فاقد هاگ داخلی (*Endospore*) و میکروکیست (*Microcysts*) هستند و در برابر اسید و الکل مقاوم (*Acid fast*). اکسیداز منفی اند و بیشتر آنها کاتالاز مثبت اند و نیترات را به نیتريت احیا می کنند. اعضای این خانواده در آب پپتونه، گلوکز را با تولید اسید و گاهی همراه با تولید گاز تخمیر می کنند و همچنین گلوکز و کربوهیدرات های دیگر را هم از راه تخمیری (*Fermentatively*) شرایط بی هوازی و هم از راه اکسیداتیو تحت شرایط هوازی تجزیه می کنند [شهریاری و امام جمعه، و Gancevici et al, 1989].

تقسیم بندی های مختلفی از سال تا به امروز برای باکتری های عضو این خانواده در نظر گرفته شده که آنچه از طرف کمیته مخصوص آنتروباکتریاسه مجمع میکروب شناسی آمریکا برای این خانواده در نظر گرفته شده در جدول زیر نشان داده شده است:

جدول - - تقسیم بندی خانواده آنتروباکتریاسه [Joklik et al, 1992]

Tribe 1: <i>Escherichieae</i>	<i>Escherichia</i> <i>Shigella</i>	<i>E.coli</i> <i>All Species</i>
Tribe 2: <i>Salmonelleae</i>	<i>Salmonella</i> <i>Arizona</i> <i>Citrobacter</i>	<i>All Subgroups</i> <i>C.diversus</i> , <i>C.freundii</i>
Tribe 3: <i>Klebsialleae</i>	<i>Klebsiella</i> <i>Enterobacter</i> <i>Serratia</i>	<i>K.pneumoniae</i> , <i>K.oxytoca</i> <i>E.agglomerans</i> , <i>E.cloacae</i> <i>S.marcescens</i> , <i>S.liquifaciens</i>
Tribe 4: <i>Proteeae</i>	<i>Proteus</i> <i>Providencia</i>	<i>P.mirabilis</i> , <i>P.vulgaris</i> <i>P.alcalifaciens</i> , <i>P.rettgeri</i> , <i>P.stuartii</i>
Tribe 5: <i>Edwardsielleae</i>	<i>Edwardsiella</i>	
Tribe 6: <i>Erwinieae</i>	<i>Erwinia</i>	

- - خواص شکلی (مورفولوژی)

باکتری های خانواده آنتروباکتریاسه باسیل های میله ای شکل گرم منفی، فاقد هاگ و با اندازه کوچک (/ میکرون) . چنانچه ذکر شد این باکتری ها متحرک یا فاقد حرکت می باشند. متحرکها دارای تاژکهای اطرافى هستند که حرکت در آنها توسط این تاژکها انجام می شود. این خاصیتی است که در تفریق باکتری های روده ای از خانواده پزودوموناداسه (*Pseudomonadaceae*) و ویبریوناسه ها (*Vibrionaceae*) که دارای تاژکهای قطبی (*Polar flagellated*) هستند، به ما کمک می کند. برخی جنسهای این خانواده مانند شیگلا و کلبسیلا فاقد تاژک و غیر متحرک هستند [تاج بخش، و زعیم کهن،].

باکتری های روده ای ممکن است واجد یک کپسول کاملاً مشخص باشند آنچه که در جنس ک مشاهده می شود و یا دارای یک پوشش سست نامشخص باشند که به آن لایه لعابی گفته می شود و یا ممکن است فاقد هرگونه ساختار کپسول مانند باشند [زهرایی صالحی،].

- - خصوصیات بیوشیمیایی و کشت

باکتری های این خانواده اجرام هوازی بی هوازی اختیاری (Facultive anaerobic) و متغیری هستند که وقتی در شرایط بی هوازی یا فشار کم اکسیژن قرار می گیرند، کربوهیدرات ها را تخمیر می کنند؛ اما هنگامی که در معرض اکسیژن کافی قرار می گیرند از چرخه اسید تری کربوکسیلیک و سیستم انتقال الکترون برای تولید انرژی استفاده می کنند [تاج بخش، و زهرایی صالحی، و شهریاری و امام جمعه،].

گونه های مختلف این خانواده بر روی محیط های غیر انتخابی نظیر آگار خون دار و آگار مغذی قابل تفریق از یکدیگر نیستند و پرگنه هایی با اندازه ۱ میلیمتر، همولیتیک یا غیر همولیتیک، صاف خاکستری و یا کرم رنگ ظاهر می کنند [زهرایی صالحی، و شهریاری و امام جمعه،].

تمام اعضای این خانواده گلوکز را تخمیر می کنند. اکثر آنها گلوکز را از گذرگاه اسیدهای مخلوط (Mixed acid fermentation pathway) تخمیر می کنند ولی اعضای متعلق به جنس های کلبسیلا، آنتروباکتر و سراشیا این قند را از گذرگاه تخمیری بوتاندیل به مصرف می رسانند. این دو مسیر تخمیری پایه و اساس آزمایش های متیل رد (MR) و وگوس پراسکوئر (VP) می باشد که برای تشخیص باکتری های این خانواده به کار می رود [زهرایی صالحی، و Baltimore, 1984].

باکتری های این خانواده به استثناء برخی سوبه های اروینیا (*Erwinia*) و یرسینیا، نیترات را به نیتريت احیا می کنند [تاج بخش، و زهرایی صالحی،].

عدم حضور فعالیت های سیتوکروم اکسیداز از مشخصه های مهم این باکتری ها است و این خانواده را از بسیاری از باسیل های گرم منفی هوازی به ویژه پزودوموناس ها متمایز می کند. تخمیر و یا عدم تخمیر لاکتوز همراه با تولید یا عدم تولید سولفید هیدروژن (H_2S) ظاهر خاصی را در محیط سه قندی آهن دار (TSI) ایجاد می کند که برای شناسایی جنس ها و گونه های این خانواده مؤثر است [تاج ؛ و زعیم کهن، و شهریاری و امام جمعه،].

- - اشیشیا

یکی از جنس های مهم خانواده آنتروباکتریاسه جنس اشیشیا است. این جنس دارای ۱ گونه است که عبارتند از: *E.coli* *E.fergusonii* *E.hermannii* *E.vulneris* *E.blattae* و *E.adecarboxilata*.

این گونه ها توسط نتایج به دست آمده به روش آمیخته گری DNA (DNA-DNA hybridization) و همچنین با روشهای بیوشیمیایی مخصوص قابل تشخیص و افتراق از یکدیگر می باشند.

جدول - - ویژگی های افتراقی گونه های اشریشیا [و لطفعلی]

Test or property	<i>E.coli</i>	<i>E.fergusonii</i>	<i>E.hermannii</i>	<i>E.vulneris</i>	<i>E.blattae</i>	<i>E.adecarboxilata</i>
Indole production	+	+	+	-	-	+
Lysine decarboxylase	+	+	-	V	+	-
Ornithin-decarboxylase	V	+	+	-	+	-
Motility	+	+	+	+	-	+
Gas production during fermentation	+	+	+	+	+	+
Acetate utilization	+	+	V	V	-	+
Growth in KCN	-	-	+	V	-	+
Yellow pigment	-	-	+	V	-	-
Fermentation of:						
Lactose	+	-	V	V	-	+
Sucrose	V	-	V	-	-	V
Mucate	+	-	+	V	V	-
D-Monnitol	+	+	+	+	-	+
Adonitol	-	+	-	-	-	+
D-Sorbitol	+	-	-	-	-	-
Cellobiose	-	+	+	+	-	+
D-arabitol	-	+	-	-	-	+

V:Variable

اشریشیا کلی از مهمترین باکتری هایی است که در این جنس قرار دارند. نام های دیگر رایج آن *Coli bacilli* و *bacillus* . علت این نامگذاری به خاطر جایگاه اصلی میکروبو بوده که در روده بزرگ یا کولون می باشد و بدین علت اشریشیا خوانده می شود [Boyd and Haerl, 1987].
اشریشیا کلی جزء فلور طبیعی روده تمام حیوانات خونگرم است و در تمام دوران زندگی به تعداد فوق العاده زیاد در این محل دیده می شود؛ به طوری که اگر مدفوع به روش هوازی کشت داده شود تعداد آنها از کلیه میکروبو های روده بیشتر خواهد بود. به همین علت نقش مهمی را در میکروبو شناسی غذا و آب به عنوان شاخص آلودگی مدفوعی به عهده دارد [تاج بخش، .] .

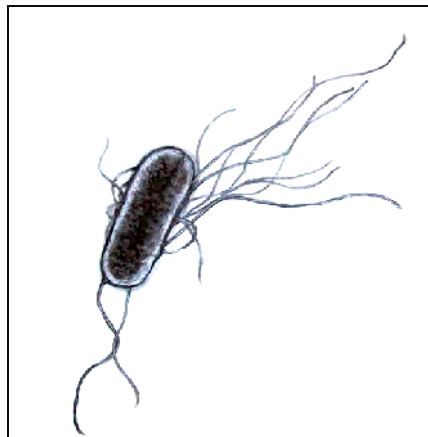
- - خصوصیات کلی اشریشیا کلی

- - - جایگاه میکروبی

اشریشیا کلی باکتری بی هوازی اختیاری غالب در روده انسان بوده و به حفظ فعالیت فیزیولوژیک روده کمک می کند. این باکتری به فاصله کوتاهی پس از تولد در روده انسان و حیوان جایگزین شده و در تمام دوران زندگی به تعداد زیادی در این محل دیده می شود [Boyd and Haerl, 1987 و Davis et al, 1982].
بر خلاف نظریات گذشته که معتقد بودند *E.coli* فرد مخصوص خودش بوده و قابل جایگزین با سروتیپ های دیگر نیست، امروزه ثابت شده است که نزدیک به سروتیپ مختلف به طور طبیعی در یک فرد دیده می شوند؛ ولی فلور طبیعی ثابت نمانده و اغلب اوقات سروتیپ های دیگر جایگزین آنها می شوند. به عنوان مثال بیمارانی که در بیمارستان بستری اند، بعد از چند هفته سروتیپ های بیمارستانی را در روده خواهند داشت [Leislle et al, 1998].

- - - خصوصیات باکتریولوژی

به طور کلی این باکتری به شکل باسیل های کوتاه دیده می شود ولی اشکال کوکوباسیل (*Coccobacilli*) و یا بلند نیز دارد که طول آن میکرون و عرض آن میکرون می باشد. این باکتری مانند سایر اعضای خانواده آنتروباکتریاسه، گرم منفی بوده و کلیه خصوصیات عمومی آنها را دارا است؛ که در شرایط متفاوت رشد از نظر خصوصیات ظاهری تغییر می کند.



شکل - - - اشد کلی

[www.sflwater.com/Florida%27s-water.php]

از نظر حرکت، *E. coli* وضعیت ثابتی ندارد و در حدود ۱ درصد آنها متحرک اند. ساختمان داخلی مشخصی هم که کمک به تشخیص نماید، ندارد. بعضی از نمونه های آن دارای کپسول اند، خصوصاً زمانی که باکتری در حرارت های پایین کشت داده شود. به طور کلی قابل ذکر است که شکل ظاهری باکتری به هیچ وجه کمکی به تشخیص تفریقی آن از سایر باسیل های گرم منفی نمی نماید [Stanier and Aldberg, 1978 و Stewart, 1977].

- - - خصوصیات کشت و واکنش های بیوشیمیایی

E. coli یک باکتری هوازی و بی هوازی اختیاری (Facultative anaerobe) بوده و به آسانی روی محیط های ساده و معمولی مثل آب پیتون دار که محیط بسیار ساده ای است بین ۱۰ تا ۱۵ درجه قادر به رشد می کند. بهترین درجه حرارت برای رشد این باکتری ۳۷ درجه سانتیگراد است. پرگنه های ۱۰ تا ۱۵ ساعته آنها در درجه بر روی محیط آگار حدود ۱ تا ۲ میلیمتر هستند و با ظاهری صاف، مدور، خاکستری و با سطحی براق و لبه های گرد مشخص می باشند. بعضی از سویه های میکروب روی آگار خون دار همولیز ایجاد می کنند. محیط آبگوشت مغذی را به طور یکنواخت کدر می کند و رسوبی در انتهای لوله ایجاد کرده که با تکان دادن حل می شود [زهراپی صالحی، و شهریاری و امام جمعه؛].

بوی کشت باکتری به خصوص در محیط های مایع، مشخص بوده و بی شباهت به بوی مدفوع رقیق شده نمی باشد. کلی های این باکتری بر روی محیط اتوزین متیلن بلو (EMB) دارای جلای فلزی می باشند و از روی همین خاصیت به آسانی از کلی های آنتروباکتر و کلبسیلا تمیز داده می شود. بر روی محیط های مکانکی

که حاوی لاکتوز و معرف اند به علت تخمیر لاکتوز پرگنه های قرمز رنگ ایجاد می کند؛ در صورتی که پروتئوس و باکتری هایی که لاکتوز را تخمیر نمی کنند بر روی همین محیط پرگنه های بی رنگ ایجاد می کنند.

بر اثر تخمیر لاکتوز بر روی محیط های جامد لاکتوز دار کلنی های قرمز تولید می کنند. برخی از این باکتری ها لاکتوز را به کندی تخمیر کرده و یا اصلاً تخمیر نمی کنند که این باکتری ها را در ابتدا پاراکلنی می نامیدند که امروزه توسط آزمایش ارتونیتروفنل بتاگالاکتوزوئید (O.N.P.G) به وسیله این آنزیم باکتری هایی را که دارای آنزیم بتاگالاکتوزیداز، برای تخمیر لاکتوز، هستند و لاکتوز را به کندی تخمیر کنند مشخص می کنند. این باکتری ها ژلاتین را ذوب نکرده و H₂S تولید نمی کنند.

اگر/شرشیا کلی را در محیط آبگوشت مکانکی کشت داده و در درجه قرار دهند گاز تولید می کند ولی در سایر آنتروباکتریاسه ها مثل کلبسیلا و سیتروباکتر گاز تولید نمی شود [Joklik et al, 1992].

به طور کلی باکتری، اندول تولید می کند و واکنش متیل رد آن مثبت است؛ بالعکس واکنش Voges Proskauer آن منفی بوده و روی محیط Simmon's Citrate قادر به رشد نیست، بنابراین فرمول IMViC آن به صورت ++-- خواهد بود.

در عمل برای تشخیص فوری باکتری، پس از آنکه فرمول Triple sugar iron (TSI) آن معلوم گردید (اسید/اسید + گاز)، به دو خاصیت تولید اندول و منفی بودن کشت روی محیط سیترات می توان اکتفا کرد [Davis et al, 1982].

جدول ۱ - خصوصیات بیوشیمیایی *E.coli* و لطفعلی [

Glucose	+
Lactose	+
B.Galactosidase	+
Manitol	+
Indole	+
Methyl red	+
Voges Proskauer	-
Simon's citrate	-
Urease	-
H ₂ S	-
KCN	-
Phenylalanine deaminase	-
Sacharose	Variable
Lysine decarboxylase	Variable
IMViC	++--
T.S.I	Acid/Acid + Gas