بسم الله الرحمن الرحيم

دانشکده دامپزشکی

پایان نامه

جهت دریافت درجه دکتری عمومی در رشته دامپزشکی(DVM)

شماره ثبت:۵۰۳

ارزیابی پروفایل ژن‌های حدت درجدایه‌های *اشریشیا کلی* از گوساله‌های نوزاد مبتلا به اسهال و سالم

به کوشش :

زهره حیدری

اساتید راهنما :

دکتر مهرناز راد و دکتر غلامرضا محمدی

استاد مشاور :

دکتر عبدالله جمشیدی

اسفند ماه ۱۳۹۲

تعهدنامه

اینجانب **زهره حیدری** دانشجوی دوره **دکترای حرفه‌ای** رشته **دامپزشکی** دانشکده**دامپزشکی**، دانشگاه فردوسی مشهد، نویسنده پایان‌نامه: **ارزیابی پروفایل ژن‌های حدت درجدایه‌های *اشریشیا کلی* از گوساله‌های نوزاد مبتلا به اسهال و سالم**

تحت راهنمایی**خانم دکتر مهرناز راد و آقای دکتر غلامرضا محمدی** متعهد می‌شوم:

- تحقیقات در این پایان‌نامه توسط اینجانب انجام شده است و از صحت و اصالت برخوردار است.
- در استفاده از نتایج پژوهشه‌ای محققان دیگر به مرجع مورد استفاده استناد شده است.
- مطالب مندرج در پایان‌نامه تاکنون توسط خود یا فرد دیگری برای دریافت هیچ نوع مدرک یا امتیازی در هیچ جا ارائه نشده است.
- کلیه حقوق معنوی این اثر متعلق به دانشگاه فردوسی مشهد می‌باشد و مقالات مستخرج با نام «دانشگاه فردوسی مشهد» و یا«Ferdowsi University of Mashhad» به چاپ خواهد رسید. حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان‌نامه تأثیرگذار بوده‌اند در مقالات مستخرج از رساله رعایت شده است.
- در کلیه مراحل انجام این پایان‌نامه، در مواردی که از موجود زنده (یا بافتهای آنها) استفاده شده است ضوابط و اصول اخلاقی رعایت شده است.
- در کلیه مراحل انجام این پایان‌نامه، در مواردی که به حوزه اطلاعات شخصی افراد دسترسی یافته یا استفاده شده است، اصل رازداری، ضوابط و اصول اخلاق انسانی رعایت شده است.

تاریخ و امضای دانشجو

مالکیت نتایج و حق نشر

- کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، کتاب، برنامه‌های رایانه‌ای، نرم‌افزارها و تجهیزات ساخته شده) متعلق به دانشگاه فردوسی مشهد می‌باشد. این مطلب باید به نحو مقتضی در تولیدات علمی مربوطه ذکر شود.
- استفاده از اطلاعات و نتایج موجود در پایان‌نامه بدون ذکر مرجع مجاز نمی‌باشد.

به نام خدا

گواهی اعضای کمیته ی پایان نامه

ارزیابی پروفایل ژن‌های حدت درجدایه‌های *اشریشیا کلی* از گوساله‌های نوزاد مبتلا به اسهال و سالم

به کوشش:

زهره حیدری

پایان نامه

ارائه شده به تحصیلات تکمیلی دانشگاه فردوسی مشهد به عنوان بخشی از فعالیت‌های تحصیلی لازم جهت اخذ درجه دکترای حرفه‌ای دامپزشکی

در رشته ی دامپزشکی

از دانشگاه فردوسی مشهد

جمهوری اسلامی ایران

این پایان نامه در جلسه مورخ**۹۲/۱۲/۱۷** با درجه **بسیار خوب** و نمره **۱۸/۸۵** به تصویب هیئت محترم داوران رسید.

امضای ارزیابی کمیته ی پایان نامه:

استاد راهنما: دکتر مهرناز راد، دانشیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی مشهد، دانشگاه فردوسی مشهد

استاد راهنما: دکتر غلامرضا محمدی، استاد گروه علوم درمانگاهی- بهداشت و پیشگیری بیماریهای دامی، دانشکده دامپزشکی مشهد، دانشگاه فردوسی مشهد

استاد مشاور: دکتر عبدالله جمشیدی، دانشیار گروه آموزشی بهداشت مواد غذایی و آبزیان، دانشکده دامپزشکی مشهد، دانشگاه فردوسی مشهد

داور پایان نامه: دکتر غلامرضا هاشمی تبار، استاد گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی مشهد، دانشگاه فردوسی مشهد

داور پایان نامه: دکتر سید علیرضا تقوی رضوی زاده، استادیار گروه علوم درمانگاهی- بهداشت و پیشگیری بیماریهای دامی، دامپزشکی دانشگاه فردوسی

ماحصل آموخته هایم را تقدیم می کنم به آنان که مهر آسمانی شان آرام بخش

آلام زمینی ام است

به استوارترین تکیه گاهم، دستان پرمهر پدرم

به سبزترین نگاه زندگیم، چشمان سبز مادرم

که هرچه آموختم در مکتب عشق شما آموختم و هرچه بکوشم قطره ای از

دریای بی کران مهربانیتان را سپاس نتوانم بگویم.

امروز هستی ام به امید شماست و فردا کلید باغ بهشتم رضای شما

راه آوردی گران سنگ تر از این ارزان نداشتم تا به خاک پایتان نثار کنم، باشد

که حاصل تلاشم نسیم گونه، غبار خستگیتان را بزداید.

بوسه بر دستان پرمهرتان

سپاس

شکر شایان نثار ایزد منان که توفیق را رفیق راهم ساخت تا این پایان نامه را به پایان برسانم.

و با تقدیر و تشکر شایسته از اساتید فرهیخته و فرزانه سرکار خانم دکتر راد و جناب آقای دکتر محمدی که با نکته های دلاویز و گفته های بلند، صحیفه های سخن را علم پرور نمودند و همواره راهنما و راه گشای نگارنده در اتمام و اکمال پایان نامه بوده‌اند.

با سپاس ویژه از جناب آقای دکتر جمشیدی که بنده را در انجام این پایان نامه مشاوره فرمودند.

و از اساتید فاضل و اندیشمند جناب آقای دکترهاشمی تبار و جناب آقای دکتر سید علیرضا تقوی رضوی زاده به خاطر قبولی داوری این پایان نامه صمیمانه تشکر میکنم.

همچنین با سپاس بی دریغ خدمت دوستان گران مایه‌ام، خانم‌ها قویدل و قهستانی که همیشه مرا صمیمانه و مشفقانه یاری داده‌اند و نیز تمامی دوستان خوبم در ورودی ۸۶، برایشان بهترین‌ها را آرزومندم.

و با تشکر خالصانه خدمت همه‌ی کسانی که به نوعی مرا در به انجام رساندن این مهم یاری نموده‌اند و تمامی کارکنان محترم دانشکده که شرایط تحصیل و تحقیق را برایم فراهم نمودند.

چکیده

ارزیابی پروفایل ژن‌های حدت درجدایه‌های *اشریشیا کلی* از گوساله های نوزاد مبتلا به اسهال و سالم

به کوشش:

زهره حیدری

تعداد ۱۱۰جدایه *اشریشیا کلی* از گوساله‌های نوزاد مبتلا به اسهال جهت ردیابی ژن‌های stx_1، stx_2، *f41*، *sta*، *hly*، *eae* و*f17* و نیز ۱۱۰ جدایه *اشریشیا کلی* از گوساله‌های نوزاد سالم به منظور بررسی وجود سه ژن *f41*، *f17*، *sta* با استفاده از روش Duplex PCR وUniplex مورد آزمایش قرار گرفتند.

در بین ۱۱۰ جدایه *اشریشیا کلی* از گوساله‌های نوزاد مبتلا به اسهال، ژن‌های stx_1، stx_2، *eae*، *hlyA*، *sta*، *f17* و *f41* به ترتیب در ۴۱ جدایه (۳۷/۲۷٪)، در ۷۶ جدایه (۶۹/۰۹٪)، در ۲۵ جدایه (۲۲/۷۲٪)، در ۲۲ جدایه (۲۰٪)، در ۱۴جدایه (۱۲/۷۲٪)، در ۴۵ جدایه (۴۰/۹٪) و در ۳ جدایه (۲/۷۲٪) ردیابی گردیدند.

در میان ۳۹ تا از ۱۱۰ جدایه (۳۵/۴۵٪) *اشریشیا کلی* از گوساله‌های نوزاد مبتلا به اسهال، که هر دو ژن stx_1 و stx_2 را دارا بودند، در ۱۴جدایه (۱۲/۷۲٪) فقط دو ژن stx_1 و stx_2 با هم حضور داشتند و در بقیه‌ی جدایه‌ها ژن‌های دیگری هم وجود داشتند.

در بین ۱۱۰ جدایه *اشریشیا کلی* از گوساله‌های نوزاد مبتلا به اسهال، بیست و هفت الگوی متفاوت ژنی مشاهده گردید.

در جدایه‌های *اشریشیا کلی* از گوساله‌های نوزاد سالم، ژن‌های *f17*، *f41* و *sta* به ترتیب در ۶۵ تا از ۱۱۰جدایه (۵۹/۰۹٪)، ۷ جدایه از ۱۱۰ جدایه (۶/۳۶٪) و ۸ تا از ۱۱۰ جدایه (۷/۲۷٪) وجود داشتند.

در جدایه‌های *اشریشیا کلی* از گوساله‌های نوزاد سالم، چهار الگوی متفاوت ژنی مشاهده گردید، که الگوی ژنی *sta/f41* در جدایه‌های *اشریشیا کلی* از گوساله‌های نوزاد مبتلا به اسهال نیز وجود داشت.

ژن *f17* به طور معنی داری در جدایه‌های *اشریشیا کلی* از گوساله‌های نوزاد سالم بیشتر از جدایه‌های *اشریشیا کلی* از گوساله‌های نوزاد مبتلا به اسهال بود ولی اختلاف معنی داری در مورد دو ژن *f41* و *sta* در دو گروه مشاهده نشد.

بر اساس نتایج ما اکثر جدایه‌های *اشریشیا کلی* از گوساله‌های نوزاد مبتلا به اسهال، تولیدکننده‌ی شیگاتوکسین بودند که اهمیت گوساله به عنوان مخزن STEC را نشان می‌دهد.

فهرست مطالب

ارزیابی پروفایل ژن‌های حدت درجدایه‌های *اشریشیا کلی* از گوساله‌های نوزاد مبتلا به اسهال و سالم

«مقدمه»..... ۱

«فصل اول» مروری بر تحقیقات انجام شده..... ۶

۱-۱ مروری بر تحقیقات گذشته..... ۷

۱-۲ خانواده‌ی انتروباکتریاسه..... ۱۱

۱-۲-۱ کشت خانواده‌ی انتروباکتریاسه..... ۱۱

۱-۲-۲ خواص بیوشیمیایی..... ۱۲

۱-۲-۳ جایگاه طبیعی..... ۱۳

۱-۲-۴ تفکیک اعضای خانواده‌ی انتروباکتریاسه..... ۱۳

۱-۳ باکتری *اشریشیا کلی*..... ۱۵

۱-۳-۱ تاریخچه..... ۱۵

۱-۳-۲ خصوصیات ظاهری کشت..... ۱۶

۱-۳-۳ خصوصیات بیوشیمیایی..... ۱۷

۱-۴ بیماریزایی *اشریشیا کلی*..... ۱۹

۱-۵ ژن‌های حدت..... ۲۴

۱-۵-۱ ژن *stx*..... ۲۴

۱-۵-۲ ژن *eae*..... ۲۴

۱-۵- ۳ ژن *hly*..... ۲۴

۱-۵-۴ ژن‌های *f41* و *f17* ۲۵
۱-۵-۵ ژن *sta* ۲۶
۱-۶ طبقه بندی باکتری‌های *اشریشیا کلی* ۲۸
۱-۶-۱ باکتری‌های *اشریشیا کلی* عامل بیماری‌های روده‌ای ۲۸
۱-۶-۱-۱ سویه‌های ETEC ۲۸
۱-۶-۱-۲سویه‌های AEEC ۲۹
۱-۶-۱-۲-۱سویه‌های Entero pathogenic *E.coli* (EPEC) ۲۹
۱-۶-۱-۲-۲ سویه‌های Shiga toxin producing *E.coli* (STEC) ۳۰
۱-۶-۱-۳ سویه‌های EAggEC ۳۰
۱-۶-۲ سویه‌های *اشریشیا کلی* بیماریزا در خارج از دستگاه گوارش ۳۰
۱-۶-۲-۱ *اشریشیا کلی* بیماریزای طیور (APEC) ۳۰
۱-۶-۲-۲ *اشریشیا کلی* سپتیسمیک (SEPEC) ۳۱
۱-۶-۲-۳ *اشریشیا کلی* اوروپاتوژنیک (UPEC) ۳۱
۱-۶-۳ سویه‌های *اشریشیا کلی* ایجادکننده‌ی عفونت‌های موضعی ۳۱
۱-۷ عفونت‌های مهم بالینی به موجب *اشریشیا کلی* در دام‌های اهلی ۳۱
۱-۷-۱ کلی باسیلوز روده‌ای در دام ۳۲
۱-۷-۲ کلی سپتی سمی در دام ۳۳
۱-۷-۳ ورم پستان کلی فرمی ۳۴
۱-۸ روش‌های تشخیصی ۳۴
۱-۹ درمان ۳۶
۱-۱۰ کنترل ۳۶
۱-۱۱ آزمون PCR ۳۷

«فصل دوم» مواد و روش‌ها ۳۸

۲-۱ مواد و وسایل مورد استفاده ۳۹

۲-۲جدایه‌های *اشریشیا کلی* ۳۹

۲-۲-۱ جدایه‌های *اشریشیا کلی* مورد مطالعه ۳۹

۲-۳ استخراج DNA ۴۰

۲-۴ آزمون PCR ۴۰

۲-۴-۱ پرایمرهای مورد استفاده و مشخصات آن‌ها ۴۱

۲-۴-۲ آماده سازی پرایمر ۴۳

۲-۴-۳ مراحل PCR ۴۳

۲-۴-۴ برنامه‌ی PCR ۴۴

۲-۵ بررسی محصول نهایی PCR ۴۷

۲-۵-۱ الکتروفورز روی ژل آگارز ۴۸

۲-۵-۱-۱ تهیه‌ی ژل ۴۸

۲-۵-۱-۲ لودکردن نمونه‌ها ۴۸

۲-۵-۲ آنالیز داده‌ها ۴۹

۳-۱ نتایج بررسی محصولات PCR ۵۱

۳-۱-۱ نتایج مربوط به آزمون Uniplex PCR و Duplex PCR در جدایه‌های *اشریشیا کلی* از گوساله‌های مبتلا به اسهال ۵۱

۳-۱-۱-۱ الگوهای ژن‌های حدت در جدایه‌های *اشریشیا کلی* از گوساله‌های مبتلا به اسهال ۵۳

۳-۱-۲ نتایج مربوط به آزمون Uniplex PCR و Duplex PCR در جدایه‌های *اشریشیا کلی* از گوساله‌های سالم ۵۷

۳-۱-۲-۱ الگوهای ژن‌های حدت در جدایه‌های *اشریشیا کلی* از گوساله‌های سالم ۵۸

۳-۱-۳ تعیین پاتوتیپ‌ها در جدایه‌های *اشریشیا کلی* از گوساله‌های سالم و مبتلا به اسهال ۶۰
۳-۱-۴ نتایج آزمون آماری در جدایه‌های *اشریشیا کلی* از گوساله‌های مبتلا به اسهال و سالم ۶۱
«فصل چهارم» بحث، نتیجه گیری و پیشنهادها ۶۱
۴-۱ بحث ۶۲
۴-۲ نتیجه‌گیری ۷۱
۴-۳ پیشنهادات ۷۲
منابع و مراجع ۷۳

فهرست تصاویر

تصویر ۱-۱ : همولیز سویه‌های STEC ۱۵

تصویر ۱-۲ : منابع و راه‌های گسترشSTEC به انسان ۲۲

تصویر ۱-۳ : گوساله‌ی مبتلا به اسهال ناشی از باکتری *اشریشیا کلی* ۳۲

تصویر ۳-۱ : تصویر ژل الکتروفورز مربوط به ژن‌های حدت مورد مطالعه ۵۲

تصویر ۳-۲ : تصویر ژل الکتروفورز جدایه‌های *اشریشیا کلی* دارای ژن‌های stx_1 و stx_2..... ۵۳

تصویر ۳-۳ : تصویر ژل الکتروفورز جدایه‌های *اشریشیا کلی* دارای ژن *f17* ۵۲

فهرست نمودارها

نمودار ۳-۱ : درصد موارد مثبت ژن های حدت در جدایه های *اشریشیا کلی* از گوساله های مبتلا به اسهال ۵۱

نمودار ۳-۲ : الگوهای ژن‌های حدت در جدایه‌های *اشریشیا کلی* از گوساله‌های مبتلا به اسهال ۵۶

نمودار ۳-۳ : درصد موارد مثبت ژن های حدت در جدایه های *اشریشیا کلی* از گوساله های سالم ۵۷

نمودار ۳-۴ : الگوهای ژن‌های حدت در جدایه‌های *اشریشیا کلی* از گوساله‌های سالم ۵۹

فهرست جداول

جدول ۱-۱: اهمیت بالینی، خصوصیات رشد و واکنش‌های بیوشیمیایی اعضای مهم خانواده‌ی انتروباکتریاسه در دامپزشکی ۱۳

جدول ۱-۲ : خلاصه‌ای از ویژگی‌های سلولی و بیوشیمیایی باکتری *اشریشیا کلی* ۱۸

جدول ۱-۳ : مکانیزم‌های بیماریزایی پاتوتیپ‌های باکتری *اشریشیا کلی* ۲۶

جدول ۲-۱ : مشخصات پرایمرها ۴۲

جدول ۲-۲ : شرایط PCR ژن‌های stx_1/stx_2 ..... ۴۵

جدول ۲-۳ : شرایط PCR ژن‌های *eae/hly* ۴۶

جدول ۲-۴ : شرایط PCR ژن‌های *f41/sta* ۴۶

جدول ۲-۵ : شرایط PCR ژن *f17* ۴۶

جدول ۳-۱ : درصد موارد مثبت ژن های حدت در جدایه های *اشریشیا کلی* از گوساله های مبتلا به اسهال ۵۰

جدول ۳-۲ : الگوهای ژن‌های حدت در جدایه‌های *اشریشیا کلی* از گوساله‌های مبتلا به اسهال ۵۵

جدول ۳-۳ : درصد موارد مثبت ژن های حدت در جدایه های *اشریشیا کلی* از گوساله های سالم ۵۷

جدول ۳-۴: الگوهای ژن‌های حدت در جدایه‌های *اشریشیا کلی* از گوساله‌های سالم ۵۷

جدول ۳-۵ : پاتوتیپ‌های جدایه های *اشریشیا کلی* از گوساله‌های مبتلا به اسهال..... ۵۹

«مقدمه»

« مقدمه »

اشریشیا کلی[1] یکی از ساکنین اصلی روده بوده و احتمالا آشناترین میکروبی است که در میکروب شناسی بر روی آن پژوهش‌های فراوان انجام گرفته است. این باکتری یک باکتری از خانواده‌ی انتروباکتریاسه[2]، گرم منفی، میله‌ای شکل، اکسیداز منفی، کاتالاز مثبت، اوره آز منفی، بی هوازی اختیاری و اغلب متحرک است، که گلوکز را تخمیر و بر روی محیط کشت مک کانکی آگار[3] رشد می‌کند.

این باکتری‌ها انتشار وسیع داشته و در سراسر دنیا در روده‌ی انسان و حیوانات خونگرم به عنوان فلور نرمال یافت می‌شوند. به همین دلیل از آن‌ها به عنوان معرف آلودگی آب با مدفوع استفاده می‌کنند.

بیماری‌های عفونی بخصوص اسهال در زمره‌ی مهمترین بیماری‌های گوساله‌ها قرار دارند که موجب ضررهای اقتصادی می‌شوند. علاوه بر تاثیر عوامل مدیریتی، محیطی و فیزیولوژیکی عناصر عفونی نقش مهمی در اسهال گوساله‌های نوزاد دارا می‌باشند و در بین عفونت‌های باکتریایی که عامل مهمی در ابتلا و مرگ و میر دام‌های نوزاد هستند، باکتری *اشریشیا کلی* از اهمیت زیادی برخوردار است. تعداد بیشماری از عوامل عفونی ایجاد کننده‌ی اسهال در حیوانات زئونوز بوده است و در ارتباط با بیماری‌های منتقله از غذا می‌باشند، که *اشریشیا کلی* و تحت گونه‌های آن خصوصا *اشریشیا کلی* انتروتوکسین‌زا[4] در این ارتباط قرار می‌گیرند. اخیرا چندین گونه از باکتری *اشریشیا کلی* بوجود آمده است که پاتوژن‌های غذایی قوی محسوب می‌شوند و انتروتوکسین[5] قوی تولید می‌نمایند. یک سویه‌ی خاص بنام O157:H7 موجب حداقل ۲۰۰۰۰ مورد مسمومیت غذایی و ۲۵۰ مورد مرگ در آمریکا شده است. بیماری به صورت اسهال خونی پدید می‌آید. راه‌های انتقال آلودگی از طریق محصولات حیوانی و بیشتر به علت مصرف گوشت خام و شیر غیر پاستوریزه و راه‌های کمتر شایع از طریق تماس بین انسان و دام و یا بین انسان و انسان می‌باشد.

---

[1] .*Escherichia coli*
[2] .Enterobacteriaceae
[3] .MacConkey agar
[4] .Enterotoxigenic *E. coli*
[5] .Enterotoxin

« مقدمه »

ژن‌های حدت[1] احتمالا تحت فشار انتخابی می‌باشند و در روندهای انتخاب طبیعی، ژن‌های مهم در محل خاصی باقی می‌مانند. به علاوه بسیاری از ژن‌های حدت روی عناصر قابل انتقال قرار دارند مثل پلاسمیدها[2]، که می توانند انتشار آن‌ها را از طریق باکتری‌ها در یک محیط خاص موجب شوند، بنابراین جدایه‌های متعلق به محیط‌های مختلف احتمالا دارای ژن‌های متفاوتی بوده که موجب شناسایی باکتری‌های با منشاء مختلف می‌شوند. مطالعات زیادی در خصوص فاکتورهای حدت *اشریشیا کلی* در دام صورت گرفته است، بر اساس این مطالعات به نظر می-رسد برای گونه‌های مختلف دامی الگوهای مختلف فاکتورهای حدت وجود دارد که در بیماری نقش مهمی دارند، زیرا پاتوژنز بیماری در بین دام‌های مختلف متفاوت است، بنابراین سویه‌های *اشریشیا کلی* ناشی از منابع مختلف برای بقا پروفایلی از ژن‌های حدت را کسب نموده اند. البته ممکن است سن دام یا ایمنی در ایجاد بیماری‌های به موجب باکتری *اشریشیا کلی* نیز مهم باشند. از طرفی عفونت‌های به موجب باکتری *اشریشیا کلی* معمولا در دام‌های جوان با ضعف ایمنی یا از قبل بیمار یا تحت شرایط استرس صورت می‌گیرد، بنابراین پاتوژن‌های بالقوه حتما در عدم حضور بیماری نیز ممکن است بقا یابند، ۲۰٪ از *اشریشیا کلی* جدا شده از طیور به ظاهر سالم حاوی ژن‌های حدت می‌باشند. در مطالعات صورت گرفته نشان داده شده که تعدادی از فاکتورهای حدت در جدایه‌های *اشریشیا کلی* از گوساله‌های بیمار در *اشریشیا کلی* جدا شده از گوساله‌های سالم بالغ نیز وجود دارد. بر اساس این مطالعات *اشریشیا کلی* جدا شده از گونه‌های مختلف دامی سالم از نقاط مختلف جغرافیایی صرف نظر از محل جغرافیایی‌شان دارای ژن‌های حدت متفاوتی می‌باشند. بنابراین انتخاب جدایه‌های *اشریشیا کلی* از منابع بالینی نقطه شروع خوبی برای ارزیابی فاکتورهای حدت بوده که می‌تواند به عنوان بهترین فاکتور در برنامه ردیابی منشاء مورد استفاده قرار بگیرد.

در گوساله‌ها رایج‌ترین نوع *اشریشیا کلی*، *اشریشیا کلی* انتروتوکسین‌زا است که با تولید توکسین باعث ایجاد اسهال آبکی می‌شود. از جمله انتروتوکسین‌های شناخته شده در این تیپ می‌توان به انتروتوکسین حساس به حرارت[3] (lt_I/lt_{II}) اشاره کرد که lt_I در نمونه‌های گاوی دیده نمی شود و همچنین به انتروتوکسین مقاوم به حرارت[4] (sta/stb) اشاره کرد که sta

[1] .Virulence genes
[2] .Plasmids
[3] .Heat labile enterotoxin
[4] .Heat stable enterotoxin

بیشتر در ایجاد اسهال در گوساله‌های نوزاد نقش دارد. عوامل چسبندگی عمدتا شامل فیمبریه[1] می‌باشند. فیمبریه f_5 در سویه‌های بیماریزا در حیوانات مختلف (گوساله، بره، خوک) وجود دارد، در حالیکه سویه‌های واجد f_4 فقط توانایی ایجاد بیماری در خوک را دارا هستند. از دیگر فیمبریه‌های این سویه‌ها می‌توان به (f_{17}، f_6، f_{41}) و تعدادی دیگر که توانایی ایجاد اسهال را ندارند، اشاره کرد. اما ساختار چسبندگی شاخص برای *اشریشیا کلی* انتروتوکسین‌زا، CFA[2] (CFA_I/CFA_{II}) است که به باکتری اجازه‌ی اتصال به مخاط روده‌ی کوچک و رساندن توکسین به هدف را می‌دهد.

سویه‌های AEEC[3] توانایی ایجاد جراحات A/E را در سطح سلول‌های پوششی روده را دارند و شامل STEC[4] / EPEC[5] هستند.

سویه‌های *اشریشیا کلی* تولیدکننده‌ی شیگاتوکسین (STEC) که در رخداد کلی‌باسیلوز در گوساله‌های تازه متولد شده نقش دارند به خوبی شناخته شده‌اند، اما به هر حال هم در روده‌ی گوساله‌های مبتلا به اسهال و هم در روده‌ی گوساله‌های سالم وجود دارند و بیشتر در رابطه با اسهال خونی می‌باشند. بیماریزایی *اشریشیا کلی* تولیدکننده شیگاتوکسین از طریق ژن‌های رمزکننده‌ی (stx_1/stx_2) و intimin / Attaching & effacing (*eae*) و مکانیزم‌های همولیتیک (ژن *Ehly*) صورت می‌گیرد. گزارشات در مورد سروتیپ‌های STEC بیماریزا در انسان در سراسر جهان بیشتر در مورد سروتیپ O157:H7 است و اگرچه این سروتیپ از دیگر حیوانات مثل آهوی وحشی نیز جدا شده است اما نشخوارکنندگان اهلی بخصوص گاو به عنوان مخزن اصلی در نظر گرفته می‌شود.

سویه‌ی *اشریشیا کلی* انتروپاتوژنیک (EPEC) فاقد ژن *stx* است اما می‌تواند جراحات A/E را ایجاد کند. فاکتورهای حدت *اشریشیا کلی* انتروپاتوژنیک عبارتند از : اینتیمین و پیلی (bfp) bundle forming pili که به ترتیب به وسیله‌ی ژن *eae* و پلاسمید EAF رمز می‌شوند.

[1] .Fimbriae
[2] .Colonization factor antigens
[3] .Attaching and effacing *E.coli*
[4] .Shiga toxin producing *E. coli*
[5] .Enteropathogenic *E. coli*

سویه‌های EAggEC[1] در دو دسته طبقه بندی می‌شوند، تیپیکال که دو نوع انتروتوکسین EAST1 و Pet و همچنین فیمبریه‌ی (AA) در این دسته شناسایی شده است و غیرتیپیکال که در سویه‌های مربوط به این دسته انتروتوکسین و عوامل اتصالی مشاهده نشده‌اند.

هدف از این مطالعه تعیین وجود تعدادی از ژن‌های حدت در جدایه‌های *اشریشیا کلی* و شناسایی پاتوتیپ‌های مختلف در گوساله‌ها می‌باشد، تا با تحقیقاتی از این قبیل بتوان سویه‌های بیماریزا را شناسایی نمود و اقدامات پیشگیری و کنترلی و نیز درمان موثر اعمال گردد.

[1] .Enteroaggregative *E. coli*