**مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران**
**سال هجدهم، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۲، صفحات ۹۶-۸۹**

# بررسی فراوانی و الگوی مقاومت دارویی اشرشیاکلی شیگاتوکسیژنیک در نمونه‌های سبزیجات شهر تهران

فاطمه احمدی[۱]، آتنا صادقی[۲]، سعید بشارتی[۲]، پروانه صفاریان[۱]، الهه تاج الدین[۳]، پرویز اولیاء[۴]، محمد رضا صالحی[۴]، نوید سعیدی[۴]، فرشته فانی[۵]، غلامرضا پولادفر[۵]، محمد رهبر[۶]، پریسا اسلامی[۷]، مسعود آل بویه[۸]

۱- گروه میکروب شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد، تهران، ایران

۳- گروه میکروب شناسی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۴- مرکز تحقیقات میکروب شناسی مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

۵- بخش میکروب شناسی، مرکز تحقیقات میکروب شناسی بالینی استاد البرزی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

۶- آزمایشگاه مرجع سلامت، مرکز تحقیقات آزمایشگاه مرجع سلامت، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، تهران، ایران

۷- بخش میکروبیولوژی، آزمایشگاه مرکزی، بیمارستان میلاد، تهران، ایران

۸- نویسنده مسئول: مرکز تحقیقات عفونی اطفال، پژوهشکده سلامت کودکان، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
پست الکترونیکی: masoud.alebouyeh@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۸/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۲/۳

## چکیده

**سابقه و هدف:** آلودگی مواد غذایی به سروتیپ‌های بیماریزای *اشرشیا کلی* شیگا توکسیژنیک (STEC) می تواند سبب ایجاد اسهال و بیماری‌های حاد در مصرف کنندگان شود. این مطالعه با هدف بررسی فراوانی و تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سروتیپ‌های STEC در نمونه‌های سبزیجات شهر تهران صورت گرفت.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه ۹۷ نمونه سبزیجات از مناطق ۲۲ گانه شهر تهران طی تیر ماه ۱۳۹۷ الی اسفند ماه ۱۳۹۷ مورد بررسی قرار داده شد. جهت شناسایی سویه‌های STEC از روش استاندارد غنی‌سازی و کشت در محیط اختصاصی و انجام PCR جهت تأیید حضور ژن‌های $stx_1$ و $stx_2$ استفاده گردید. همچنین حضور ژن‌های *eae* و *ehxA* درتمامی جدایه های STEC ارزیابی شد. تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن برای پانزده آنتی‌بیوتیک انجام گرفت و الگوی مقاومت چند دارویی (MDR) تعیین شد.

**یافته‌ها:** STEC در ۱۴/۴ درصد نمونه‌ها جداسازی گردید (stx1+، stx2+ و stx1+/stx2+ به ترتیب در ۸، ۱ و ۵ درصد از جدایه ها) و حضور ژن‌های eae در ۱٪ و ehxa در 2% از جدایه‌های STEC نشان داده شد. بیشترین مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سولفامتوکسازول (۱۰۰٪)، اریترومایسین (۷۳/۳۳٪) و تتراسیکلین (۸۵/۷ ٪) و کم‌ترین مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مروپنم و ایمی‌پنم/سفتازیدیم (۰ و ۷٪) تعیین گردید.

**نتیجه‌گیری:** مطالعه حاضر وجود آلودگی به سبزیجات به STEC دارای الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی چندگانه را در شهر تهران تأیید نمود. انجام مطالعات تکمیلی بر نمونه‌های انسانی می تواند این ارتباط را روشن تر بسازد.

**واژگان کلیدی:** اشرشیاکلی شیگاتوکسیژنیک، سبزیجات، مقاومت دارویی، فاکتورهای بیماریزایی، تهران

## • مقدمه

*اشرشیاکلی* شیگا توکسیژنیک (STEC) عامل مسبب یک بیماری منتقله از راه غذا است که از طریق مواد غذایی آلوده منتقل و یک مشکل جهانی محسوب می شود. این باکتری در آب آلوده، گوشت، سبزیجات، و نمونه‌های مدفوع یافت می‌شود.

[ Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-02-16 ]

ST*EC* می‌تواند منجر به طیف وسیعی از بیماری‌های انسان از اسهال ملایم تا شرایط بسیار شدید و تهدیدکننده زندگی، مانند کولیت هموراژیک، سندرم اورمی هموراژیک (Hemolytic uremic syndrome, HUS) ، و پورپورای ترومبوسیتوپنیک ترومبوتیک (TTPP) شود (۱) از جمله فاکتورهای مهم در این گروه از باکتری‌ها می‌توان به دو سیتوتوکسین به نام شیگا توکسین ۱ و ۲ (ژن‌های $stx_1$ و $stx_2$) و پروتئین اینتیمین (ژن *eae*) جهت اتصال باکتری به سلول‌های اپیتلیال روده و همچنین انتروهمولیزین (ژن *ehx*A) اشاره نمود. سویه‌های *اشرشیاکلی* مقاوم به عوامل ضد میکروبی، می‌توانند بین فرآورده‌های غذایی حیوانی و انسانی در زنجیره غذایی منتقل شده و ژنهای مقاومت خود را به پاتوژن‌های دیگر انتقال دهند.

میوه و سبزیجات به عنوان مخزن برخی از طغیان‌های منتقله از راه غذا شناخته شده است. در یک طغیان در کشور ژاپن، ترب و تربچه به عنوان مخزن انتقال ST*EC* سبب بروز بیش از ۶۰۰۰ مورد ابتلا به کولیت هموراژیک و ۱۰۰ مورد ابتلا به HUS گردید (۲). در مطالعه دیگری در سال ۲۰۰۷ کاهوی آلوده به عنوان مخزن انتقال ST*EC* در اسکاتلند اعلام شد. در آمریکا و کانادا، سبزیجات پس از گوشت چرخ کرده به عنوان دومین مخزن شایع انتقال ST*EC* O157 به انسان شناخته می شوند (۳). در سال‌های اخیر سویه‌های non-O157 ST*EC* نیز مانند سویه‌های O157 سبب بروز بسیاری از طغیان‌های منتقله از راه غذا شده اند. انتقال این سویه‌ها از طریق سبزیجات می تواند مخاطره‌آمیز باشد و سبب HUS در کودکان شود. در یک همه گیری در اروپا و شمال آمریکا در سال ۲۰۱۱، جوانه آلوده به سروتیپ O104:H4، یکی از سویه‌های نوظهور non-O157 STEC، به عنوان منبع انتقال آلودگی و طغیان در بیش از ۱۶ کشور شناسایی گردید.(۴)

علیرغم دخالت بالای سروتیپ O157 در بروز طغیان‌های منتقله از راه غذا در اروپا و آمریکا، مطالعات صورت گرفته در ایران نقش آن را در بیماریزایی انسان و طغیان‌های ناشی از مصرف مواد غذایی مورد تأیید قرار نداده‌اند (۵).

وجود الگوی مقاومت دارویی چندگانه در سروتیپ‌های O157 و non-O157 و تولید توکسین‌های مربوطه مهمترین ضرورت درمانی در مبتلایان محسوب می گردد (۶). همچنین تجویز آنتی‌بیوتیک‌های طیف گسترده در بیماران با آزاد سازی توکسین در دستگاه گوارش و متعاقب آن ورود آنها به جریان خون همراه است که تهدید کننده حیات می باشد (۷)، هرچند تجویز آنتی‌بیوتیک در مبتلایان به سویه‌های مسبب HUS و کولیت هموراژیک مورد توافق نیست، تجویز آنها تنها در بیماران در شرایط ویژه ای همچون عفونت سیستمیک و تحت مراقبت‌های پزشکی صورت می گیرد. لذا اطلاع از وضعیت مقاومت دارویی این سویه‌ها جهت بروزرسانی راهنماهای درمانی ضروری می باشد. بتا-لاکتام‌ها از جمله آنتی‌بیوتیک‌های تجویزی در بیماران دارای عفونت‌های مهاجم STEC محسوب شده و بتا-لاکتامازهای طیف گسترده (ESBLs) عامل ایجاد مقاومت آنتی‌بیوتیکی به این خانواده از داروها می باشند (۸). با توجه به محدود بودن اطلاعات در کشور در حوزه ی موارد ذکر شده، انجام مطالعات اپیدمیولوژیک در ایران جهت شناسایی مخازن محیطی و تعیین وضعیت بیماریزایی و مقاومت دارویی سویه‌های ST*EC* در این منابع می‌تواند از بروز رخدادهای مشابه و بروز بیماری‌های حاد در مصرف کنندگان جلوگیری نماید. در این تحقیق تلاش شده است تا وضعیت آلودگی سبزیجات در مراکز توزیع مجاز شهرداری تهران بررسی و الگوی ژنوتیپ بیماریزایی و مقاومت دارویی جدایه‌های بدست آمده از این نمونه‌ها شناسایی گردد.

## • مواد و روش‌ها

در این مطالعه توصیفی تعداد ۹۷ نمونه سبزجات از مراکز توزیع شهری مجاز در تیر ماه ۱۳۹۷ لغایت اسفند ماه ۱۳۹۷ گردآوری گردید. این نمونه‌ها شامل سبزیجات تازه بودند که بطور روزانه در مراکز و میادین میوه و تره بار مناطق ۲۲ گانه ی شهری تهران توزیع می شوند. تمامی نمونه‌ها با رعایت زنجیره سرد در شرایط دمایی ۴ درجه به آزمایشگاه منتقل شدند و اطلاعات مربوط به هر نمونه در پرسش نامه ثبت گردید.

**کشت نمونه‌های سبزیجات**

جهت شناسایی STEC از روش استاندارد DS/CEN ISO/TS 13136 استفاده گردید. در این روش ابتدا مقدار ۲۵ گرم از هر نمونه سبزی را وزن کرده و در فلاسک حاوی مقدار ۲۲۵ میلی لیتر محیط غنی کننده ی تریپتیک سوی براث حاوی ۲ میلی گرم بر لیتر نووبیوسین اضافه شد. مخلوط برای ۶ ساعت در دمای ۳۷ درجه ی سانتی‌گراد گرمخانه گذاری، پس از آن فلاسک برای ۱۴ ساعت به انکوباتور شیکردار در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد منتقل گردید. در روز دوم مقدار ۱ میلی‌لیتر از نمونه ی داخل فلاسک جدا و جهت تخلیص DNA به دمای -۲۰ درجه سانتی‌گراد منتقل و ۱/۵ میلی‌لیتر از نمونه به همراه ۵۰۰ µl گلیسرول جهت آنالیزهای بعدی در دمای ۸۰ - درجه سانتی‌گراد ذخیره شد.

[ Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-02-16 ]

**جدول ۱.** پرایمرهای مورد استفاده و شرایط تکثیر ژن‌های بیماریزایی STEC

| نام پرایمر | توالی پرایمر (3′→5′) | شرایط تکثیر | | | ژن هدف | منبع |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | تعداد چرخه | دما (°C) | مراحل | | |
| *Stx1*.F | ATAAATCGCCATTCGTTGACTAC | ۱ | ۹۵ | Denaturation: | *stx*$_1$ | ۹ |
| *Stx*$_1$.R | AGAACGCCCACTGAGATCATC | ۳۰<br>۳۵<br>۳۵<br>۱ | ۹۵<br>۵۳<br>۵۷<br>۷۲ | Initial denaturation<br>Annealing<br>Extension<br>Final extension | | |
| *Stx*$_2$.F | GGCACTGTCTGAAACTGCTCC | ۱ | ۹۵ | Denaturation: | *stx*$_2$ | ۱۰ |
| *Stx*$_2$.R | TCGCCAGTTATCTGACATTCTG | ۳۰<br>۳۵<br>۳۵<br>۱ | ۹۵<br>۵۳<br>۵۷<br>۷۲ | Initial denaturation<br>Annealing<br>Extension<br>Final extension | | |
| *Eae*-F | GACCCGGCACAAGCATAAGC | ۱ | ۹۴ | Denaturation: | *eae* | ۱۱ |
| *Eae*-R | CCACCTGCAGCAACAASAGG | ۳۰<br>۳۵<br>۳۵<br>۱ | ۹۴<br>۵۸<br>۷۲<br>۷۲ | Initial denaturation<br>Annealing<br>Extension<br>Final extension | | |
| *ExhA*-F | GCATCATCAAGCGTACGTTCC | ۹۴ | ۱ | Denaturation: | *exhA* | ۱۲ |
| *Exh*A-R | AATGAGCCAAGCTGGTTAAGCT | ۹۴<br>۵۵<br>۷۲<br>۷۲ | ۳۰<br>۳۵<br>۳۵<br>۱ | Initial denaturation<br>Annealing<br>Extension<br>Final extension | | |

استخراج DNA توسط کیت سیناژن انجام و PCR توسط پرایمرهای اختصاصی در شرایط نمایش داده شده در جدول ۱ صورت پذیرفت. کشت مجدد بر روی نوترینت آگار و غربالگری کلنی‌های مختلف مربوط به نمونه‌های PCR مثبت از نظر stx1 و stx2 برای ۵۰ کلنی از هر نمونه مثبت (در گروه‌های ۱۰-گانه) و متعاقب آن بر روی هر کلنی از گروه مثبت صورت گرفت. تمامی محصولات PCR بر روی ژل آگاروز ۱/۵ درصد الکتروفورز و پس از اتمام الکتروفورز با دستگاه transllluminator از نظر طول مورد نظر مورد بررسی قرار داده شدند. در صورت مثبت بودن محصولات PCR، استوک نگهداری شده از هر کلنی جهت بررسی تخمیر سوربیتول به پلیت CT-SMAC آگار منتقل و رشد کلنی‌ها در دمای ۳۷ درجه ی سانتی‌گراد مورد بررسی قرار داده شد. همچنین نمونه هایی که هر کدام از ژن‌های stx1 یا stx2 و یا هر دوی آن مثبت بود از نظر حضور ژن‌های eae و exhA بررسی شد. ایزوله‌های تک کلون از STEC در نهایت در شرایط مشابه جهت استفاده بمنظور آنتی بیوگرام ذخیره گردیدند.

**تعیین حساسیت ضد میکروبی به روش آنتی بیوگرام**

برای تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن، تمامی جدایه‌های STEC از نظر حساسیت ضد میکروبی به آنتی‌بیوتیک‌ها مطابق دستور عمل CLSI 2018 تحت آنتی بیوگرام قرار داده شدند (۱۳). بدین منظور سویه‌ها مجددا روی محیط NA کشت و به مدت یک شب در دمای ۳۷ درجه ی سانتی‌گراد قرار داده شدند. تلقیح غلظت نیم مک فارلند توسط سوآپ سر پنبه ای استریل روی محیط کشت مولر هینتون آگار انجام و دیسک‌های آنتی‌بیوتیک شامل اریترومایسین، سولفامتوکسازل، اریترومایسین،سفتریاکسون، سفوتاکسیم، کلاولانیک اسید، تتراسایکلین، سیپروفلوکساسین، آزیترومایسین، مروپنم، ایمی‌پنم، سفوتاکسیم، آمپی‌سیلین، سفتازیدیم، سفپیم، و سفوکسیتین داخل محیط کشت به فاصله ۲/۵ سانتی‌متری از هم قرار داده شد. پس از گرمخانه گذاری پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، قطر هاله عدم رشد توسط خط کش اندازه گیری شدسپس تفسیر نتایج مطابق با دستور العمل ذکر شده در CLSI ارائه گردید.

## • یافته‌ها

فراوانی *اشرشیاکلی*شیگا توکسیژنیک در نمونه‌های سبزیجات تازه جهت بررسی نمونه‌های سبزی، تعداد ۹۷ نمونه مجزا از مخلوط سبزیجات تازه، شامل: تره، شاهی، ریحان، تربچه، پیازچه، نعنا، مرزه، و ترخان که مربوط به مزارع سبزی شهریار، ورامین و شهرری بودند از مراکز مجاز میوه و تره بار شهرداری تهران خریداری شد. جهت دستیابی به جدایه‌های خالص STEC، نمونه‌های حاوی DNA مرتبط با

[ Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-02-16 ]

سویه‌های STEC که با PCR در مرحله ی قبل مشخص شدند، در محیط CT-SMACکشت و تحت بررسی بیشتر فنوتیپی و خالص سازی قرار گرفتند. همچنین این سویه‌ها از نظر تخمیر سوربیتول به دو صورت سوربیتول منفی و سوربیتول مثبت ارزیابی گردیدند. نتایج این بررسی نشان داد که همه نمونه‌های حاوی STEC روی محیط CT-SMAC رشد نمودند. انجام PCR روی ۵۰ سری ۱۰-عددی از این کلنی‌ها و تأیید نهایی تک-کلون‌های STEC مؤید حضور $stx_1$، $stx_2$، و $stx_1$+$stx_2$ در ۹۷ نمونه از نمونه‌های سبزیجات بررسی شده بود. این نتایج در مجموع فراوانی۱۴/۹۵ درصد از ST*EC* را در نمونه‌های سبزیجات شهر تهران نشان داد. نتایج انجام PCR بر روی سویه‌های ST*EC* حضور ژن‌های *eae* و *ExhA* را به ترتیب در ۲ و ۳ درصد سویه‌های ST*EC* تأیید نمود (جدول ۲).

**بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جدایه‌های اشرشیا کلی شیگا توکسیژنیک در نمونه‌های سبزیجات**

کمترین مقاومت جدایه‌های STEC نسبت به مروپنم (۰)، ایمی پنم/سفتازیدیم (هر یک ۷٪)، سفوتاکسیم/ سفوکسیتین/آزیترومایسین (هر یک ۲۱/۴ ٪) و بیشترین مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های اریترومایسین (۷۳/۳ ٪)، تریمپتوپریم سولفامتوکسازول (۱۰۰٪)، تتراسیکلین (۸۵/۷ ٪)، و آمپی سیلین/سیپروفلوکساسین (هر یک ۶۴/۲ ٪) نشان داده شد. مقاومت دارویی به سه و تعداد بیشتر از خانواده‌های آنتی‌بیوتیکی ( MDR در تمامی سویه‌های STEC مشاهده گردید (۱۰۰٪). الگوی مقاومتی چندگانه آنتی‌بیوتیک‌های مروپنم، اریترومایسین و سفتازیدیم بیشترین الگوی MDR در این سویه‌ها بود. فنوتیپ ESBL و AmpC به ترتیب در ۱ جدایه و ۳ جدایه از STEC شناسایی گردید.

**جدول ۲.** تنوع ژنوتیپ‌های اشرشیا کلی شیگاتوکسیژنیک در جدایه‌های سبزیجات شهر تهران

| نوع نمونه | نوع شیگاتوکسین | فراوانی N (%) | حضور *eae* | حضور *exhA* | EH*EC* | | non-O157 ST*EC* | مجموع ST*EC* |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | $stx^+/eae^+$ | $stx^+/eae^+/exhA^+$ | $stx^+/exhA^+$ | |
| سبزیجات (N=۹۷) | $stx_1^+/stx_2^+$ | 5 (5%) | 0 | 0 | 2 (2%) | 1 (1%) | 0 | 14 (14.4%) |
| | $stx_2^+$ | 1 (1%) | 1 (%) | 1 (%) | 0 | 0 | 0 | |
| | $stx_1^+$ | 8 (8%) | 2 (%) | 3 (%) | 1 (1%) | 0 | 3 (3%) | |

## • بحث

موارد اسهال عفونی اهمیت زیادی در سراسر دنیا دارند و به عنوان دومین عامل مرگ و میر در میان بیماری‌های عفونی در کودکان کمتر از ۵ سال شناخته می‌شوند. از تعداد ۱۲۱ میلیون مرگی که در سال، توسط سازمان بهداشت جهانی گزارش می‌شود، اسهال به عنوان علت رخداد ۵ تا ۶ میلیون آنها گزارش شده است (۱۴). سالانه نزدیک به یک میلیارد مورد اسهال در کودکان زیر ۵ سال اتفاق می‌افتد که از این میان حدود ۴/۵ میلیون نفر جان خود را از دست می‌دهند. مطالعات فراوانی جهت بررسی عوامل بیماریزای رودهای مولد اسهال در دنیا انجام گرفته است که مقایسه نتایج آنها بیان کننده متغیر بودن شیوع آنها در مناطق مختلف می‌باشد. در ایران نیز اسهال دومین عامل مرگ و میر بعد از عفونت‌های تنفسی به شمار می‌رود. در میان عوامل بیماریزای باکتریایی، اشرشیاکلی به عنوان یکی از باکتری‌های مهم در عفونت‌های بیمارستانی مطرح است. اشرشیاکلی مولد اسهال از مهمترین عوامل مسبب اسهال‌های اندمیک و اپیدمیک در جهان شناخته شده است (۱۵).

با توجه به نتایج مطالعه ی حاضرآلودگی با اشرشیاکلی شیگاتوکسیژنیک در ۱۴ درصد از نمونه‌های سبزی تازه شناسایی گردید. حضور سایر فاکتورهای بیماریزایی تقویت کننده بیماری (۳ ٪ *eae* و ۴ ٪ *ExhA*) در این سویه‌ها خطر ابتلای مصرف کنندگان این مواد غذایی را به HUS و اسهال خونی را یادآوری می کند. نتایج این مطالعه با نتایج مطالعات قبلی در تهران همخوانی دارد. در دهه اخیر شیوع بیماری های عفونی اسهالی ناشی از مصرف مواد غذایی آلوده به ویژه سبزیجات خام به طور فزاینده ای گزارش شده است. سویه های اشرشیاکلی انتروپاتوژنیک گروه مهمی از E.coli اسهالی هستند که می توانند باعث اسهال نوزادان به ویژه در کشورهای در حال توسعه شوند. از آنجایی که شیوه کشاورزی ممکن است

[ Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-02-16 ]

مسئول آلودگی سبزیجات به عوامل بیماری‌زای انسانی مانند سویه‌های EPEC باشد، سیاست‌های رسمی حفاظت از سلامت در این زمینه برای کنترل مناسب و نظارت بر استفاده از فاضلاب‌های آلوده و همچنین لازم است. جایگزینی کودهای غیرآلوده با کودهای حاصل از حیوانات آلوده. مطابق با این ضرورت، ما اشاره کرده‌ایم که نمونه‌های مثبت ما از زمین‌های زراعی که در آن طیف وسیعی از کود گاوی برای تغذیه خاک استفاده می‌شد و در برخی موارد از فاضلاب برای آبیاری استفاده می‌شد. (۱۶). انجام مطالعات تکمیلی و ارائه راهکارهای مدیریتی می تواند در این خصوص به کنترل بیشتر انتقال این سویه‌های بیماریزا از طریق مواد غذایی خام کمک نماید.

در مطالعه‌ای که توسط سلمانزاده و همکاران در سال ۲۰۰۶ بر روی سبزیجات تره و جعفری انجام گرفت، فراوانی شیوع به STEC ، ۸/۱۲ درصد اعلام شد. در پژوهشی که توسط سلمانزاده روی تره و جعفری در تهران انجام شد $stx_2$ به نسبت کمتر از $stx_1$ یافت شد که با آمار به دست آمده در مطالعه حاضر هم خوانی دارد، هرچند حضور ژن *eae* در آن پژوهش تأیید نگردید (۱۷). همچنین در مطالعه‌ای که توسط خندقی و همکاران روی میزان آلودگی سبزیجات در تبریز صورت گرفت .نتایج این مطالعه نشان داد که ۰/۳۵ ٪ از این نمونه‌ها به سروتیپ O157:H7 آلوده بوده اند (۱۸). در یک پژوهش که در سال ۲۰۱۰ انجام شد برگ‌های کاهو به عنوان عامل آلودگی معرفی شدند. در این تحقیق بعد از کاهو و نعناع، گشنیز به عنوان فراوان ترین منبع آلودگی معرفی شد. مقادیر کمتری از آلودگی نیز مربوط به کلم بود زیرا برگ‌های کلم از تماس مستقیم با خاک در امان اند. از ۳۲ درصد نمونه‌های بررسی شده سروتیپ O157: H7 جدا شد (۱۹). در پژوهشی که در سال ۱۳۹۰ توسط سلمانزاده و همکاران در بین ۱۰۰ نمونه تره و ۱۰۰ نمونه جعفری انجام شد ، نتایج پژوهش نشان دادند ۲۴ ٪، ۲۴ ٪ و ۳۶ ٪ نمونه‌ها به ترتیب حاوی ژن‌های $stx_2$، $stx_1$ و $stx_2$+ $stx_1$ بودند (۲۰). Nigar sultana maghla و همکاران در پژوهشی که در سال ۲۰۲۱ در شهر جاشور در کشور بنگلادش بر روی سبزیجات مخصوص سالاد انجام دادند، از میان ۱۱۹ نمونه بررسی شده ۵۵ نمونه (۴۶/۲ درصد) STEC بودند که بیشترین نمونه ی یافت شده مربوط به ژن $stx_1$ بود و بیشترین مقاومت دارویی مربوط به آنتی‌بیوتیک‌های اریترومایسین ۸۳/۶۴٪، استرپتومایسین ۷۸/۱۸ ٪ و سفریکسون ۷۰/۹۱ ٪ بود (۲۱). در مطالعه‌ای که بر روی ۳۷۳ نمونه سبزیجات تازه در منطقه مرطوب پامپا در کشور آرژانتین انجام گرفت، از میان تمامی نمونه‌ها ۳۸/۴ ٪ E. coli شناسایی شد که ۲ ایزوله آن STEC و ما بقی EPEC بودند (۲۲). طی پژوهشی که در بین سال‌های ۲۰۰۰ و ۲۰۰۱ درکشور پرو توسط AzucenaMora بر روی ۴۵۷ نمونه ی غذایی شامل سبزیجات تازه، گوشت گاو چرخ شده و پنیر نرم انجام پذیرفت، از میان ۱۰۱ نمونه سبزیجات ۱۴٪ دارای ژن‌های $stx_1$+$stx_2$ بودند (۲۳). در مطالعه ای که در سال ۲۰۰۸ در کانادا بر روی نمونه‌های سبزیجات الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ۳۰۰ باکتری مولد ESBL انجام گرفت بالای ۵۰ درصد از باکتری‌ها نسبت به سفتازدیدیم مقاوم بودند (۲۴). در این مطالعه نیز مقاومت به سفتازیدیم در سبزیجات ۶۳ ٪ مشاهده شد. در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۳ در کره بر روی نمونه‌های سبزیجات ۲۲۰ باکتری مولد ESBL انجام شد، مقاومت نسبت به آنتی بوتیک سفپیم ۳۵ ٪ گزارش شد. در مطالعه ی حاضر نیز مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک سفپیم در سبزیجات ۳۳/۳ ٪ به دست آمد. در پژوهشی که در سال ۲۰۱۶ در کشور ایران توسط شاکریان و همکاران بر روز ۴۲۰ نمونه سبزیجات تازه و سالاد انجام گرفت، ۴۹/۵ ٪ *E. coli* شناسایی شد که از این میان ۱۳۰ نمونه در بین سبزیجات و ۵۰ نمونه در بین سالاد STEC بودند. بیشترین میزان ژن‌های شناسایی شده مربوط به $stx_1$ و *eae* بودند و بالاترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی مربوط به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین (۹۶/۶ ٪) تترا سایکلین (۸۷ ٪) و جنتامایسین (۹۰ ٪) شناسایی گردید (۲۵).

نتایج مطالعه ی حاضر وجود درصد بالایی از آلودگی به اشرشیاکلی شیگاتوکسیژنیک را در سبزیجات شهر تهران نشان می دهد. وجود این آلودگی در نمونه‌های سبزیجات توزیع شده در مناطق مختلف شهری اهمیت اجرای کنترل انتقال آلودگی طی زنجیره ی غذایی به جامعه را گوشزد می‌کند، همچنین این یافته توجه بیشتر به سلامت آب جهت آبیاری زمین‌های کشاورزی را نشان می‌دهد. بر اساس نتایج این مطالعه بالا بودن میزان مقامت به آنتی‌بیوتیک‌های سولفامتوکسازول، اریترومایسین، تتراسیکلین و آمپی سیلین در جدایه‌های سبزیجات و بروز مقامت‌های چندگانه می تواند به عنوان یک عامل خطر مهم در توسعه مقاومت دارویی و شکست درمان عفونت‌های خارج روده ای در مبتلایان در نظر گرفته شود.

## سپاسگزاری

نویسندگان این مطالعه از کلیه همکاران موسسه ملی توسعه تحقیقات پزشکی جمهوری اسلامی ایران (نیماد، NIMAD ، گرنت شماره 958101) که حمایت مالی جهت انجام این مطالعه را فراهم نمودند، مرکز کنترل بیماری‌های

[ Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-02-16 ]

واگیر، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، آزمایشگاه مرجع سلامت، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی و کارکنان مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد تشکر می نمایند. نویسندگان همچنین مایلند از مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی کودکان، پژوهشکده سلامت کودکان، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، برای ارائه تسهیلات جهت انجام این مطالعه تشکر کنند.

## • References


1. Carlamaria Zoja, Simona Buelli , Marina Morigi, Shiga toxin triggers endothelial and podocyte injury: the role of complement activation, Pediatric Nephrology volume 34, pages379–388 (2019) , DOI: 10.1007/s00467-017-3850-x
2. Saied Bokaie , Ehsan Mosa Farkhani. Epidemiological investigation of waterborne and foodborne disease outbreaks in Iran, Journal of Military Medicine 2019 ,Volume 21, Issue 6 Pages: 637-646
3. Katherine E Marshall, April Hexemer, Sharon L Seelman, Marianne K Fatica, Tyann Blessington, Maha Hajmeer, et al.Lessons Learned from a Decade of Investigations of Shiga Toxin-Producing Escherichia coli Outbreaks Linked to Leafy Greens, United States and Canada;) Emerg Infect Dis. 2020 Oct; 26(10): 2319–2328
4. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Outbreak of Escherichia coli O104:H4 infections associated with sprout consumption - Europe and North America, May-July 2011. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2013 Dec 20;62(50):1029-31. PMID: 24352067; PMCID: PMC4584579
5. Jafari A, Aslani MM, Bouzari S. Escherichia coli: a brief review of diarrheagenic pathotypes and their role in diarrheal diseases in Iran. Iran J Microbiol 2012;4(3):102-117
6. Ma Y, Chen J, Fong K, Nadya S, Allen K, Laing C, Ziebell K, Topp E, Carroll LM, Wiedmann M, Delaquis P, Wang S. Antibiotic Resistance in Shiga Toxigenic Escherichia coli Isolates from Surface Waters and Sediments in a Mixed Use Urban Agricultural Landscape. Antibiotics (Basel). 2021 Feb 26;10(3):237
7. Wong CS, Jelacic S, Habeeb RL, Watkins SL, Tarr PI. The risk of the hemolytic-uremic syndrome after antibiotic treatment of Escherichia coli O157:H7 infections. *N Engl J Med*. 2000 Jun 29. 342(26):1930-6
8. Rosenstraus M., Wang Z., Chang S-Y, DeBonville D., Spadoro J.P. An Internal Control for Routine Diagnostic PCR: Design, Properties, and Effect on Clinical Performance; Journal of Clinical Microbiology .1998;36 (1): 191-197
9. N Keykhaei , S Salari , A Rashki. Frequency of k99, stx1, and stx2 Virulence Factors in Escherichia coli isolated from Diarrheic and Clinically Healthy Suckling Calves in Sistan and Baluchistan Province, Iran, jurnal of Razi institute 76(2) June 2021Pages 283-291
10. Alikhani, Y., Mirsalehian, M., Fatollahzadeh, B., Pourshafie, M.R. and Aslani, MM. Prevalence of Enteropathogenic and Shiga Toxin-producing Escherichia coli among Children with and without Diarrhoea in Iran. Journal of Health, Population and Nutrition. 2007 ;25(1):88-93
11. Xi Yang,1 Hui Sun,1 Ruyue Fan,1 Shanshan Fu,1 Ji Zhang,2 Andreas Matussek,et al. Genetic diversity of the intimin gene (eae) in non-O157 Shiga toxin-producing Escherichia coli strains in China, 2020; 10: 3275,doi: 10.1038/s41598-020-60225-w
12. Marijana Sokolovic, Borka Šimpraga, Tajana Amšel-Zelenika , Marija Berendika and Fani Krstulovi´c. Prevalence and Characterization of Shiga Toxin Producing Escherichia coli Isolated from Animal Feed in Croatia, MDPI stays neutralwith regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliationss 2022, 10, 1839.https://doi.org/10.3390/
13. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing M100,18th edition
14. Kobra A ,Pourmand M.Saneie Fard F ,Mardani N ,Soltani D . Identification of Escherichia coli strains containing Shiga toxin gene in diarrheal samples of children under 5 years'old. Scientific Research Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd. 2009; 17(4) :279-284
15. Patricia J. Baudry ,Kim Nichol, Melanie DeCorby, Laura Mataseje, Michael R. Mulvey, et al. Comparison of Antimicrobial Resistance Profiles among Extended-Spectrum-β-Lactamase-Producing and Acquired AmpC β-Lactamase-Producing Escherichia coli Isolates from Canadian Intensive Care Units 2008, Antimicrob. Agents Chemother. May 2008; 52(5): 1846- 1849. doi: 10.1128/AAC.01176-07
16. Salmanzadeh-Ahrabi, Fatemeh Razeh,et al. Evaluation of the frequency of Escherichia coli pathogroups in Brassica oleracea cultivars . Iran J Microbiol. 2022 Feb; 14(1): 84–89.
17. Mansour khakpour,Farhad Nazeri,Jalil Khandaghi ,Jalal Shayegh ,A study of the abundance of verotoxicogenic Escherichia coli bacteria in the feces of slaughtered cows and calves in Tabriz slaughterhouse, Journal of Clinical Pathology, Winter 2019, pages 1379-1386
18. Jianfa Bai [1], Xiaorong Shi, T G Nagaraja,2010, A multiplex PCR procedure for the detection of six major virulence genes in Escherichia coli O157:H7, 2010 Jul;82(1):85-9. doi: 10.1016/j.mimet.2010.05.003. Epub 2010 May 16.
19. Somayeh Mazaheri , Siavosh Salmanzadeh Ahrabi 1, Mohammad Mahdi Aslani,2014, Shiga Toxin-Producing *Escherichia Coli* Isolated From Lettuce Samples in Tehran, Iran, Jundishapur J Microbiol. 2014 November; 7(11): e12346.
20. Nigar Sultana Meghla, Debashish Mridha, Md. Sohel Rana, Md. Ahosanul Haque Shahid and Md. Muket Mahmud,2021, Isolation, identification and antibiogram of verotoxin producing *Escherichia coli* from raw salad vegetables at Jashore, Bangladesh, 2021; Accepted 23 July, 2021
21. JulianaGonzálezJimena S, CadonaMarceloSanzAna V, BustamanteA. MarielSanso. 2017, Molecular characterization of diarrheagenic *Escherichia coli* isolated from vegetables in Argentina, https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.09.021Get rights and content
22. AzucenaMoraaSantanaL.LeónbcMiguelBlancoaJesúsE.BlancoaCeciliaLópezaGhizlaneDahbiaAuroraEcheitadEnrique A. Gonzáleza JorgeBlancoa 2001, Phage types, virulence genes and PFGE profiles of Shiga toxin-producing Escherichia coli O157:H7 isolated from raw beef, soft cheese and vegetables in Lima (Peru), International


[ Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-02-16 ]

Journal of Food MicrobiologyVolume 114, Issue 2, 10 March 2007, Pages 204-210

23. Arbeloa, A, Oates CV, Marches O, Hartland EL, Frankel G. The enteropathogenic Escherichia coli type III secretion effector EspV induces radical morphological changes in eukaryotic cells. Infection and Immunity. 2010; 79(3): 1067-76.

24. Jang W1, Park YJ, Park KG, Yu J. Evaluation of MicroScan WalkAway andl actamase-β spectrum-extended of susceptibility the of determination for 2 producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae isolates to cefepime, cefotaxime and ceftazidime. J Antimicrob Chemother. 2013 Oct;68(10):2282-5.

25. SHAKERIAN A, RAHIMI E, EMAD P. Vegetables and Restaurant Salads as a Reservoir for ShigaToxigenic Escherichia coli: Distribution of Virulence Factors,O-Serogroups, and Antibiotic Resistance Properties, Journal of Food Protection, Vol. 79, No. 7, 2016, Pages 1154–1160

[ Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-02-16 ]

# Investigation of Frequency and Antimicrobial Resistance Patterns of Shiga Toxigenic *Escherichia coli* in Vegetable Samples from Tehran, Iran

*Ahmadi F[1], Sadeghi A[2], Besharati S[2], Saffarian P[1], Tajeddin E[3], Owlia P[4], Mohammadsalehi R[4], Saidi N[4], Fani F[5], Pouladfar Gh[5], Rahbar M[6], Eslami P[7], Alebouyeh M[8*]*

*1- Department of Biology, School of Basic Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran*

*2- Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran*

*3- Department of Microbiology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran*

*4- Molecular Microbiology Research Center, Faculty of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran*

*5- Professor, Alborzi Clinical Microbiology Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran*

*6- Department of Microbiology, Iranian Reference Health Laboratory Research Center, Ministry of Health and Medical Education, Tehran, Iran*

*7- Department of Microbiology, Central Laboratory, Milad Hospital, Tehran, Iran*

*5- Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran*

*8- *Corresponding author: Pediatric Infections Research Center, Research Institute for Children's Health, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran. Email: masoud.alebouyeh@gmail.com*

**Received 2 Nov, 2022** **Accepted 22 Feb, 2023**

**Background and Objectives:** Contaminated foods with Shiga toxigenic serotypes of *Escherichia coli* (ST*EC*) can cause diarrhea and severe diseases in consumers. The aim of this study was to investigate frequency of Shiga toxigenic *Escherichia coli* serotypes and their antibiotic resistance patterns in vegetable samples from Tehran, Iran.

**Materials & Methods:** In this study, a total of 97 vegetable samples from 22 urban areas of Tehran, Iran, were investigated, July 2018 to March 2019. To identify Shiga toxigenic *Escherichia coli* strains, standard method of enrichment and culture in selective media and polymerase chain reaction for verifying presence of $stx_1$ and $stx_2$ genes were used. Presence of *eae* and *ehx*A genes was investigated in Shiga toxigenic *Escherichia coli* isolates. Antibiotic resistance was assessed using disk diffusion method for 15 antibiotics and the multidrug resistance phenotype was assessed.

**Results:** Shiga toxigenic *Escherichia coli* strains were isolated in 14/4% of vegetable samples ($stx_1$, $stx_2$, $stx_1$/$stx_2$ of 8, 1 and 5%, respectively). Presence of *eae* and *ehxA* genes was shown in 1 and 2% of Shiga toxigenic *Escherichia coli* isolates, respectively. The highest resistance was detected to trimethoprim-sulfamethoxazole (100%), erythromycin (73.33%) and tetracycline (85.7%) and the lowest against meropenem (0%) and imipenem/ceftazidime (7/7%).

**Conclusion:** In this study, contamination of vegetables with multidrug resistant Shiga toxigenic *Escherichia coli* was verified in Tehran, Iran. Further studies on human samples can clarify this contamination.

**Keywords:** Shiga toxigenic *Escherichia coli*, Vegetables, Antibiotic resistance, Virulence factors, Tehran, Iran

[ Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-02-16 ]