Evaluation of *eaeA* gene expression in Enteropathogenic *Escherichia coli* in the presence of fructose

Nasrin Shakarami[1], Mohammad Reza Mehrabi*[2], Mohsen Mirzaee[2], Reza Yari[3]

1. Department of Biology, Bo. C., Islamic Azad University, Borujerd, Iran.
2. Department of Laboratory Science, Bo. C., Islamic Azad University, Borujerd, Iran.
3. Department of Biology, Medicinal Plants, Health and Food Safety Research Center, Bo. C., Islamic Azad University, Borujerd, Iran.

Abstract

Aim and Background Enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) is one of the oldest identified pathotypes of *Escherichia coli* that proliferates in the small intestine and causes acute and non-bloody diarrhea in developing countries. One of the main causes of pathogenicity of this bacterium is *eaeA* gene activity. This study aimed to investigate the expression of the *eaeA* gene in this bacterium in the presence of fructose as a potential inhibitory factor derived from honey's sugar components.

Materials and Methods: In this descriptive cross-sectional study, four isolates of EPEC were first cultured, and the presence of the eaeA gene was confirmed by PCR. Then, RNA extraction was performed on culture media supplemented with fructose concentrations of 2%, 8.5%, 17%, and 34% (Merck, Germany), with a fructose-free sample as a control. Finally, the Real-time PCR technique (ABI StepOne, USA) was used to investigate the effect of fructose on eaeA gene expression.

Results: The results showed that the studied fructose had a significant effect on the expression of the eaeA gene in EPEC ($p<0.05$). While the expression of the eaeA gene at 2% fructose concentration was higher than other treatments, it showed a significant decrease compared to the control group. Gene expression decreased further at 8.5% and 17% concentrations and was completely inhibited at 34% concentration.

Conclusion: Since *eaeA* gene expression is one of the most important virulence factors for EPEC colonization, the results suggest that fructose can effectively reduce EPEC pathogenicity in a dose-dependent manner. According to the results, controlled oral consumption of fructose or fructose-containing products may partially inhibit EPEC activity in patients; however, this requires further clinical trials.

Keywords: *Escherichia coli*, EPEC, *eaeA* gene, Fructose.

Corresponding Author:
Mohammad Reza Mehrabi ,Department of Laboratory Science, Bo. C., Islamic Azad University, Borujerd, Iran
E-mail: mr.mehrabi @iau.ac.ir

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-27]

بررسی بیان‌ژن *eaeA* در باکتری *اشریشیا کلی* اِنتروپاتوژنیک در حضور فروکتوز

نسرین شاکرمی[۱]، محمدرضا مهرابی*[۲]، محسن میرزایی[۲]، رضا یاری[۳]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران.
۲. استادیار، گروه علوم آزمایشگاهی، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران.
۳. استادیار، گروه زیست شناسی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، سلامت و امنیت غذایی، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران.

چکیده

سابقه و هدف: *اشرشیا کلی* اِنتروپاتوژنیک (EPEC) یکی از قدیمی‌ترین پاتوتایپ‌های شناسایی‌شدهٔ *اشریشیا کلی* است که در رودهٔ کوچک تکثیر می‌یابد و عامل اسهالِ حاد و غیرخونی در کشورهای درحال توسعه محسوب می‌شود. یکی از عواملِ اصلیِ بیماری‌زاییِ این باکتری، فعالیت ژن *eaeA* می‌باشد. این مطالعه با هدف بررسیِ بیان‌ژن *eaeA* این باکتری در حضور فروکتوز، به‌عنوان یک عامل مهارکنندهٔ احتمالی بر پایهٔ ترکیب‌های قندیِ عسل انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه، ابتدا ۴ جدایهٔ باکتریاییِ EPEC کشت داده شدند و پس از استخراجِ DNA، وجود ژن *eaeA* با استفاده از PCR تأیید شد. سپس استخراج RNA از روی محیط‌های کشت همراه با غلظت‌های فروکتوز ۲، ۸/۵، ۱۷ و ۳۴ درصد (Merck, Germany) و نمونهٔ کنترل فاقد فروکتوز انجام شد. درنهایت جهت بررسی تأثیر فروکتوز بر بیان‌ژن *eaeA* از تکنیک Real-Time PCR (ABI step one, USA) استفاده شد.

یافته ها: نتایج نشان دادند که فروکتوز موردمطالعه تأثیر معنی‌داری بر بیان‌ژن *eaeA* در EPEC در غلظت‌های مختلف دارد. میزان بیان‌ژن *eaeA* در فروکتوز در غلظت ۲ درصد اگرچه نسبت به سایر تیمارها بالاتر بود، اما نسبت به گروه کنترل کاهش بیان نشان داد ($p<۰/۰۵$). در غلظت ۸/۵ و۱۷درصد به‌ترتیب کاهش بیان‌ژن شدیدتر و در غلظت ۳۴ درصد بیان‌ژن به‌طور کامل مهار شد.

نتیجه‌گیری: ازآنجایی‌که بیان‌ژن *eaeA* از مهم‌ترین فاکتورهای ویرولانس و کلونیزاسیون باکتری EPEC می‌باشد، با توجه به نتایج این پژوهش می‌توان گفت شاید فروکتوز بتواند بر کاهش بیماری‌زاییِ EPEC و بهبود اسهال در کودکان و بزرگسالان مؤثر باشد. همچنین با توجه به نتایج مطالعهٔ حاضر می‌توان بیان داشت که مصرف فروکتوز می‌تواند بر کاهش بیماری‌زایی نیز مؤثر باشد. به‌علاوه نتایج نشان دادند که مصرف مستقیم و وابسته به دوز (Dose-dependent) فروکتوز یا داروهای حاویِ آن احتمالاً قادر به مهار فعالیت این ژن در بیماران می‌باشد اما تأیید نهایی نیاز به کارآزمایی‌های بالینی دارد.

واژگان کلیدی: *اشریشیا کلی*، EPEC، ژن *eaeA*، فروکتوز.

***نویسندهٔ مسئول:** محمدرضا مهرابی،استادیار، گروه علوم آزمایشگاهی، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران.
پست الکترونیکی: mr.mehrabi @iau.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۳/۰۸
تاریخ پذیرش:۱۴۰۴/۰۵/۰۶

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-27]

۱- مقدمه

اشریشیا کلی انتروپاتوژن[1]، باکتری گرم‌منفی است که به‌صورت تک‌گیر و همه‌گیر، علت عمدهٔ اسهال حاد و غیرخونی در کودکان کشورهای درحال توسعه می‌باشد (۲ و ۱). ویژگی این پاتوتایپ ایجاد ضایعات هیستوپاتولوژیک در اپی‌تلیومِ روده بوده ولی قادر به تولید سموم شیگا نمی‌باشد. سویه‌های معمول این پاتوتایپ، پلاسمیدهایی را با خود حمل می‌کنند که آن‌ها را قادر می‌سازد تا فیلامنت‌هایی به‌نام BFP[2] تولید کرده تا به‌صورت موضعی به سلول‌های اپی‌تلیال متصل شوند (۳). این باکتری از طریق اتصال به سلول‌های اپی‌تلیالِ روده سبب اختلال در ساختار این سلول‌ها شده و سبب ایجاد ضایعات هیستوپاتولوژیک A/E[3] در سطحِ روده می‌شود. این امر منجر به اختلال در عملکرد جذب و دفع روده‌ای می‌شود (۴). قابلیتِ ایجادِ ضایعات A/E توسط ژن‌هایی کُد می‌شود که این ژن‌ها در جزیرهٔ بیماری‌زاییِ[4] باکتری قرار دارند. پاتوتایپ انتروپاتوژنیک در لوکوس ژنی LEE[5] دارای ژن *eaeA*[6] می‌باشد که پروتئینِ اینتیمین با وزنِ مولکولیِ ۹۴ کیلودالتون تولید می‌کند. این پروتئین، قابلیت اتصال به انتروسیت‌ها و ایجاد ضایعات A/E را دارد (۵ و ۴). فروکتوز با فرمول ساختاری $C_6H_{12}O_6$ قندی است که از طریق مصرف عسل، میوه و افزودن شکر و شیرین‌کننده‌ها به رژیم‌غذایی دریافت می‌گردد (۶). خاصیت ضدباکتریایی و همچنین پاک‌سازی و ترمیم زخم توسط عسل از دوران باستان شناخته شده بود. خاصیت شفابخش عسل به فعالیت ضدباکتریایی، حفظ شرایط مرطوب زخم و ویسکوزیتهٔ بالای آن بازمی‌گردد و به ایجاد یک سد محافظ در برابر عفونت کمک می‌کند. خواص ایمنی‌شناسی عسل مربوط به خواص تعدیل‌کنندگیِ ایمنی جهتِ ترمیم سریع‌تر زخم‌ها می‌باشد (۶). عسل طبیعیِ حرارت‌ندیده در برابر باکتری‌های پاتوژن (از جمله *اشریشیا کلی*)، باکتری‌های دهان و همچنین باکترهای فاسدکنندهٔ موادغذایی طیف گسترده‌ای از فعالیت ضدمیکروبی از خود نشان می‌دهد (۶). عسل ترکیبِ جاذبِ رطوبت است به این معنا که می‌تواند رطوبت را خارج سازد و در نتیجه قادر است باکتری‌ها را با دِهیدراتاسیون منهدم کند. عسل با محتوای بالای فروکتوز و pH پایین خود می‌تواند از رشد میکروارگانیسم‌ها جلوگیری کند. همچنین می‌تواند باعث تسریع در ترمیمِ مخاط رودهٔ آسیب‌دیده و تحریک رشد بافت جدید شود و همچنین به‌عنوان یک عامل ضدالتهاب عمل کند (۷).

هدف پژوهشِ حاضر بررسیِ امکانِ کاهش بیان‌ژن *eaeA* در حضور فروکتوز است تا مشخص شود آیا مصرف موادغذایی حاوی فروکتوز مانند عسل می‌توانند تأثیری در مهار اسهال و کنترل بیماری‌زاییِ EPEC داشته باشد یا خیر. باکتری‌های نادری وجود دارند که قادر به استفاده از فروکتوز و رفع اثر مهاری آن در موادغذایی و دارویی می‌باشند و شاید یکی از علل التیام‌بخشی و استفاده از عسل برای پانسمانِ زخم‌ها و ترمیمِ مخاط رودهٔ آسیب‌دیده وجود همین فروکتوز باشد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- جداسازی، شناسایی و کشت باکتری‌ها

مطالعهٔ حاضر با کداخلاق IR.IAU.B.REC.1402.029 به ثبت رسیده و طی دورهٔ ۶ ماهه در سال ۱۴۰۲ انجام شده است. در این مطالعهٔ توصیفی-مقطعی، جدایه‌های باکتری از بیماران مراجعه‌کننده به آزمایشگاهِ بیمارستانِ شهرستانِ بروجرد جمع‌آوری شده و به آزمایشگاهِ تحقیقاتِ میکروبیِ دانشگاه آزاد بروجرد منتقل و در محیط BHI گلیسرول‌دار نگهداری شدند. در ادامهٔ مطالعه جدایه‌ها یخ‌زدایی شده و مجدداً بر روی محیط BHI احیا شدند. سپس جدایه‌ها روی محیط بلادآگار و EMB کشت‌داده‌شده و کلنی‌های جداشده از نظر جنس و گونه از طریق آزمون‌های بیوشیمیاییِ IMVIC و مولکولی با پرایمر 16s rRNA و درنهایت سروتایپینگ؛ EPEC بودن آن‌ها تأیید شد (روش ترکیبیِ بیوشیمیایی و مولکولی). درنهایت ۴ جدایه از باکتری *اشریشیا کلی* انتروپاتوژنیک شناسایی و موردبررسی قرار گرفتند. در تمامیِ مراحل آزمایش از سویهٔ استاندارد

[1] EntroPathogenic *Escherichia coli*; EPEC
[2] Bundle Forming Pili
[3] Attaching and Effacing Lesion
[4] Pathogenicity Island
[5] Locus of Enterocyte Effacement
[6] *Escherichia coli* attaching and effacing

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-27]

ATCC 43887 (*eaeA* مثبت و *stx* منفی) جهت کنترلِ کیفی استفاده شد.

۲-۲- استخراج DNA

ابتدا جدایه‌ها روی محیط BHI براث به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجهٔ سلسیوس گرماگذاری شده و سپس از باکتری‌های رشدیافته، DNA ژنومیک به روش جوشاندن استخراج گردید. بدین صورت که پس از سانتریفیوژ مختصر، مایعِ رویی دور ریخته و چند کلنی از باکتری را در ۵۰۰ میکرولیتر آب‌مقطر استریل در یک میکروتیوب ۱/۵ میلی‌لیتری به‌صورت سوسپانسیون درآورده شد. سپس به‌مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجهٔ سلسیوس قرار داده شد تا سلول‌ها لیز شوند و پس از خنک شدن به‌مدت ۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ g سانتریفیوژ گردید. مایعِ رویی حاوی DNA به درون میکروتیوبِ استریل منتقل شد و در دمای ۲۰- درجهٔ سلسیوس به‌منظور انجام واکنش PCR ذخیره شد (۸).

۲-۳- آماده‌سازی پرایمر و انجام PCR

پرایمرهای مورداستفاده (جدول ۱) از شرکت سیناژن خریداری شد و بعد از رقیق‌سازی با غلظت ۱۰ پیکومولار برای تهیهٔ مخلوط PCR استفاده گردید.

جدول ۱- مشخصات پرایمرهای مورداستفاده جهت تکثیر ژن‌های *eaeA* و *16s rRNA* (۹)

ژن	توالی نوکلئوتیدی ′۵ → ′۳	طول قطعات bp
eaeA	F: CGGCGATTACGCGAAAGA R: CCTAAATTTGCCGTAAAGCGG	۲۳۱
16s rRNA	F:AGTTATCCCCCTCCATCAGG R: TGCAAGTCGAACGGTAACAG	۹۹

حجم نهایی واکنش PCR جهت شناسایی ژن *16s rRNA* و *eaeA*، ۲۵ میکرولیتر بود که شامل ۳ میکرولیتر DNA الگو (۱ نانوگرم بر میکرولیتر)، ۱۲/۵ میکرولیتر مسترمیکس ۲x (Ampliqon دانمارک)، یک میکرولیتر از هر پرایمر (با غلظت ۱۰ پیکومولار) و ۷/۵ میکرولیتر آب‌مقطر دوبار تقطیر استریل می‌باشد. جهت تکثیر ژنِ موردمطالعه از ترموسایکلر BioRad C1001 استفاده گردید. برنامهٔ دمایی برای واسرشتِ اولیهٔ ژن *eaeA* و طویل شدن نهایی به‌ترتیب ۹۴ و ۷۲ درجهٔ سلسیوس به‌مدت ۵ دقیقه لحاظ شد (جدول۲).

جدول ۲- برنامهٔ دمایی/زمانی PCR

مراحل	چرخه	زمان	دما (درجهٔ سلسیوس)	ژن
دناتوراسیون اولیه	۱	۱ دقیقه	۹۵ درجه	***16s rRNA***
بازشدن DNA اتصال پرایمر گسترش DNA طویل‌شدن نهایی	۳۴	۲۰ ثانیه ۲۵ ثانیه ۲۰ثانیه ۱ دقیقه	۹۴ درجه ۶۰ درجه ۷۲ درجه ۷۲ درجه	
دناتوراسیون اولیه	۱	۵ دقیقه	۹۴ درجه	***eaeA***
بازشدن DNA اتصال پرایمر گسترش DNA طویل‌شدن نهایی	۳۴	۳۰ ثانیه ۲۵ ثانیه ۳۰ ثانیه ۵ دقیقه	۹۴ درجه ۵۸ درجه ۷۲ درجه ۷۲ درجه	
(HOLD)	-	-	۴ درجه	

۲-۴- الکتروفورز محصول PCR

سه میکرولیتر از محصول نهایی PCR در ژل آگارز ۱/۵ درصد با بافر TBE الکتروفورز شد. از DNA مارکر ۱۰۰bp شرکت سیناژن برای شناساییِ باند موردنظر استفاده شد.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-27]

۲-۵- استخراج RNA و سنتز cDNA

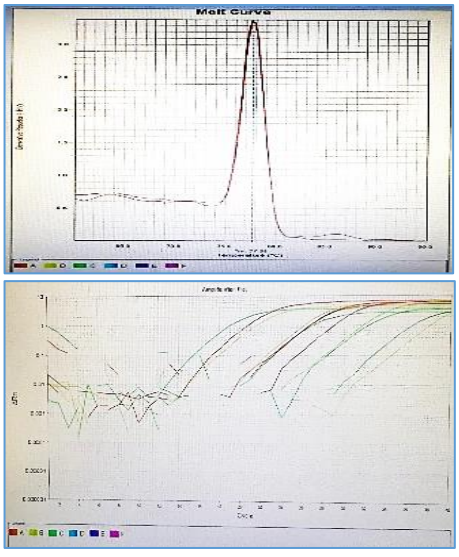
کشت جدایه‌ها بدونِ حضورِ فروکتوز و کشت در حضور غلظت‌های مختلف ۲، ۸/۵، ۱۷ و ۳۴ درصد فروکتوز انجام شد. به‌دلیل عدم‌انجام مطالعه‌ای درخصوص غلظتِ تیمارهای فروکتوز، این مقادیر در مطالعهٔ حاضر براساس غلظت‌های فروکتوز برحسب میزانِ قندِ موجود در عسل یا آستانهٔ تحملِ اسمزیِ باکتری انتخاب شده‌اند. جهت استخراج RNA و سنتز cDNA طبق دستورالعملِ کیت شرکت سیناکلون اقدام شد (Kit Cat No. EX6051).

۲-۶- بررسی کمّی و کیفی RNA استخراج‌شده

پس از استخراجِ RNA، کمیّت و کیفیت آن با روش‌های UV اسپکتروفتومتری با استفاده از جذبِ نوری در طول‌موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر و الکتروفورز ژل آگارز ۱ درصد جهتِ ارزیابیِ حضور باندهای RNA ریبوزومی ۱۶S و ۲۳S بررسی گردید (تصاویر ارائه نشده است).

۲-۷- Real-Time PCR

برای انجام واکنش از دستگاه ABI Step one آمریکا استفاده شد. واکنش در حجم ۱۵ میکرولیتر شامل ۷/۵ میکرولیتر مسترمیکس ریل ROX شرکت سیناژن، ۱/۵ میکرولیتر آب‌مقطر فاقد RNase شرکت سیناژن، ۱ میکرولیتر cDNA و هرکدام از پرایمرهای رفت و برگشت به‌میزان ۰/۷ میکرولیتر انجام شد. در شکل ۱ نمودار تکثیر و منحنیِ ذوب ارائه شده است. دمای ذوب تمامیِ نمونه‌ها ۸۲-۸۳ درجهٔ سلسیوس ثبت شد که منحنیِ تکثیر نیز صحت روش Real-Time PCR را تأیید نمود (شکل ۱).



شکل ۱- منحنی ذوب و تکثیر ژن *eaeA*.

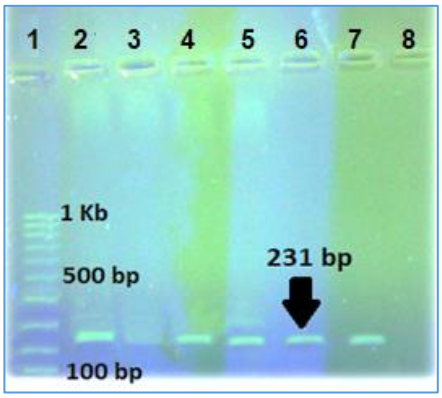
۲-۸- تجزیه‌وتحلیل داده‌ها

نتایج به‌دست‌آمده از انجام واکنش Real-Time PCR توسط نرم‌افزارهای SPSS ver. 26 و REST 2009 با سطح معنی‌داری $p<۰/۰۵$ بررسی و آنالیز شد. تغییرهای بیانِ نسبی با فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ با روش Livak انجام شد. کارایی PCR بیش از ۸۵ درصد محاسبه گردید. از آزمون ANOVA جهت بررسی نتایج درون‌گروهی و مقایسه با کنترل (فاقد فروکتوز) و سپس توکی استفاده شد.

۳- نتایج

۳-۱- نتایج PCR جدایه‌های *اشریشیاکلی* انتروپاتوژنیک

محصولات PCR ژن *eaeA* در ژل ۱/۵ درصد آگارز الکتروفورز شد. تصویر محصولات PCR به‌اندازهٔ ۲۳۱ bp حاکی از وجود ژن *eaeA* در جدایه های *اشریشیاکلی* انترو پاتوژنیک موردمطالعه می‌باشد (شکل ۲).



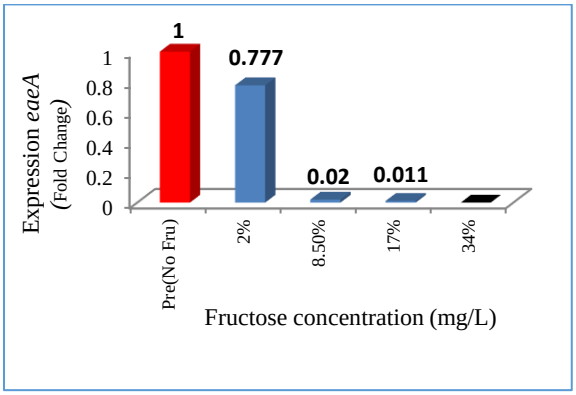
شکل ۲- ژل الکتروفورز محصول PCR ژن *eaeA* جدایه‌های EPEC روی ژل آگارز ۱/۵ درصد. چاهک ۱: DNA Ladder 100 bp، چاهک ۲: کنترل مثبت (ATCC 43887)، چاهک ۳: کنترل منفی (سویهٔ *اشریشیاکلی* فاقد ژن *eaeA*)، چاهک ۴ الی ۷: جدایه‌های واجد ژن *eaeA*، چاهک ۸ کنترل منفی (نمونه دارای آب‌مقطر به‌جای DNA؛ NTC).

۳-۲- بررسی بیان‌ژن *eaeA* با روش Real-Time PCR

میزان بیان‌ژن *eaeA* در باکتری *اشریشیاکلی* انتروپاتوژنیک در حضور غلظت های مختلف فروکتوز با سطح معنی‌داری $p<۰/۰۵$ به این صورت بود: بیان‌ژن *eaeA* در حضور غلظت ۲ در صد فروکتوز بیشترین بیان در حضور غلظت‌های فروکتوز موردبررسی را به مقدار ۰/۷۷ داشت و در غلظت‌های ۸/۵ و ۱۷ درصد فروکتوز کاهش بیان نسبت به نمونهٔ کنترل در

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-27]

سطوح ۰/۰۲ و ۰/۰۱۱ مشاهده شد. در غلظت ۳۴ درصد فروکتور، مهار کامل بیان‌ژن بیماری‌زای *eaeA* نسبت به نمونهٔ کنترل فاقدفروکتوز رخ داد (نمودار ۱).



نمودار ۱- تغییرهای میزان بیان‌ژن *eaeA* در جدایه‌های EPEC در حضور غلظت‌های مختلف فروکتوز. سطح معنی‌داری p<۰/۰۵.

۴- بحث

مطالعه‌های انجام‌شده توسط Kim و همکاران در سال ۲۰۲۴ و Shokouhi Moghadam و همکاران در سال ۲۰۲۲ بر لزوم استفاده از روش‌های استاندارد و سویه‌های کنترلی تأییدشده جهت ارزیابیِ دقیقِ بیان‌ژن‌های بیماری‌زا در پاسخ به منابعِ کربوهیدراتیِ مختلف تأکید دارند که با متدولوژی به‌کار رفته در پژوهشِ حاضر همسو می‌باشد (۹ و ۱۰). یافته‌ها نشان دادند که فروکتوز، به‌ویژه در غلظت‌های بالاتر، توانایی قابل‌توجهی در کاهش بیان‌ژن *eaeA* در جدایه‌های *اشریشیا کلی* انتروپاتوژنیک دارد. این نتیجه با فرضیهٔ پژوهش مبنی‌بر بررسیِ امکانِ مهارِ اسهال و کنترل بیماری‌زایی EPEC از طریق مصرف موادغذایی حاوی فروکتوز (مانند عسل) همسو است. کاهش بیان‌ژن *eaeA* که مسئول تولید پروتئینِ اینتیمین و ایجاد ضایعات A/E است؛ به‌طور مستقیم بر قابلیت اتصال باکتری به انتروسیت‌های روده و در نتیجه بر پاتوژنز EPEC تأثیر می‌گذارد. در غلظت ۳۴ درصد فروکتوز، مهار کامل بیان این ژن بیماری‌زا نشان‌دهندهٔ پتانسیل بالای فروکتوز به‌عنوان عامل تعدیل‌کنندهٔ بیماری‌زاییِ EPEC است.

در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۲ در ایران توسط Najibi و همکاران انجام شد از ۳۰۹ نمونهٔ اسهالیِ مربوط به کودکان زیر ۵ سال در ۲۸ جدایه (۹ درصد) EPEC گزارش شده است (۱۱). اما در مطالعهٔ حاضر طی دورهٔ ۶ ماهه در سال ۱۴۰۲ جداسازیِ ۴ جدایهٔ EPEC از بیش از ۲۰۰ نمونهٔ مدفوع اطفالِ دچارِ اسهال زیر دو سال انجام شد که معادل حدود ۲ درصد فراوانیِ پاتوتایپِ EPEC در ایجاد گاستروانتریت کودکان زیر دو سال در شهرستانِ بروجرد بود. همچنین در مطالعه‌های Moshtagian و همکاران در ۲۰۱۶ در بابل بر روی بیش از ۲۰۰ نمونهٔ مدفوعِ اطفال زیر ۵ سال دچار گاستروانتریت شیوعِ EPEC ۲۱/۵ درصد؛ در مطالعهٔ Ahmadi و همکاران در سال ۲۰۱۵ به‌صورت متاآنالیز میزانِ فراوانیِ پاتوتایپِ EPEC کلاسیک و غیرکلاسیک ۱۴ درصد؛ در مطالعهٔ Ahmadi و همکاران در سال ۲۰۱۶ این فراوانی ۱۳/۱ درصد و در آخرین مطالعهٔ در دسترس مربوط به Eybpoosh و همکاران در سال ۲۰۲۱ این فراوانی ۱۳/۲ درصد محاسبه گردید (۱۳-۱۶). این مطالعه‌ها نشان دادند که EPEC با فراوانی ۱۳/۲ درصد، پاتوتایپِ غالب در کودکانِ ایرانیِ مبتلا به اسهال حاد است. تفسیر یافته‌های این پژوهش در کنار سایر مطالعه‌های اپیدمیولوژیک نشان می‌دهند که شیوعِ بالای این باکتری در کودکان (به‌ویژه گروه سنی زیر ۵ سال) می‌تواند با عواملی نظیر سطح بهداشت محیط، سلامت آب و دفع فاضلاب در مناطق مختلف مرتبط باشد که این امر ضرورت مداخله‌های پیشگیرانه را دوچندان می‌کند (۱۶). در همین راستا، Moradi و همکاران در سال ۲۰۲۳ در مطالعه‌ای به فراوانی قابل‌توجه فاکتورهای ویرولانس در سویه‌های *اشریشیا کلی* جداشده از گاستروانتریت کودکان در ایران اشاره کردند. یافته‌های آن‌ها در کنار نتایج Moshtagian و همکاران در سال ۲۰۱۶ لزوم شناساییِ ترکیب‌های مهارکنندهٔ اختصاصی نظیر فروکتوز را برای کنترل این پاتوتایپ‌های شایع در سطحِ منطقه دوچندان می‌سازد (۱۲ و ۱۳).

Yin و همکاران در سال ۲۰۱۱ نیز به بررسی بیان‌ژن‌های مختلف و چسبندگیِ *اشریشیا کلی* انتروهموراژیک گونهٔ $O_{157}:H_7$ در رودهٔ خوک پرداختند. آن‌ها در این آزمایش با استفاده از محیط‌های با پایهٔ لاکتوز و نمک صفراوی بیان‌ژن‌ها را با روش Real-Time PCR ارزیابی نمودند و مشخص شد که بیان‌ژن‌های *eaeA*، *espD* و همچنین ژن‌هایی که بر روی جزیرهٔ ژنومی LEE قرار دارند در حضور این مواد کاهش قابل‌توجهی دارند (۱۷). در

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-27]

مطالعهٔ Kehl و همکاران در سال ۲۰۲۵ نیز بر اهمیت درک تنظیم بیان‌ژن‌های بیماری‌زای پاتوتایپِ EPEC در جزایر LEE تأکید شده است (۱۸). این مطالعه‌ها با پژوهشِ حاضر که بیان‌ژن *eaeA* در حضور غلظتِ بالای فروکتوز (۳۴ درصد) به‌طور کامل مهار شد؛ هم‌خوانی دارد و احتمالاً ناشی از تأثیر فروکتوز بر پروتئین‌های تنظیم‌کننده و بیان‌ژن بیماری‌زای ژن *eaeA* می‌باشد. Mandal و همکاران در سال ۲۰۱۱ با مطالعه بر روی عسل به فعالیت ضدمیکروبیِ آن اشاره کردند و علت آن را ناشی از محتوای قند بالا، اسیدیته، فعالیت کمِ آب، تولید پراکسید هیدروژن و مواد فرّار با منشا گیاهی یا دیگر اجزای ناشناس غیرپراکسیدی دانستند (۱۹). Han و همکاران در سال ۲۰۲۵ پی به وجود یک عامل محیطیِ مهم مانند اکسیژن روده در تنظیم بیان‌ژن‌های ناحیهٔ LEE و کلونیزاسیونِ پاتوتایپِ $O_{157}:H_7$ باکتری EPEC بردند (۲۰). Liu و همکاران در سال ۲۰۲۲ نیز اهمیت ریبوفلاوین تولیدی توسط میکروبیوتای روده جهت تحریک بیان‌ژن‌های سیستمِ ترشحیِ نوع III و افزایشِ بیماری‌زایی را نشان دادند. این یافته‌ها تأثیر عوامل محیطی را در بیان‌ژن‌های بیماری‌زایِ EPEC نظیر *eaeA* مطابق مطالعهٔ حاضر موردتأکید قرار دادند (۲۱). Medellin-pena و همکاران در سال ۲۰۰۷؛ Karimi و همکاران در سال ۲۰۱۷؛ Rostami و همکاران در سال ۲۰۲۲ و نیز Bansal و همکاران در سال ۲۰۲۳ به بررسی اثر پروبیوتیک‌ها و میکروبیوتای روده بر بیان‌ژن‌های بیماری‌زا در *اشریشیا کلی* گونهٔ $O_{157}:H_7$ پرداختند و نتایج آن‌ها نشان دادند که پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* می‌توانند منجر به کنترل بیان‌ژن‌های بیماری‌زای *اشریشیا کلی* و باعث غیرفعال شدن کلونیزاسیون در این باکتری شود و آن‌ها اثرهای بسزایی بر کاهش چسبندگی و بیان‌ژن *eaeA*، ایجاد رقابتِ غذایی، تولید ترکیب‌های ضدمیکروبی و تعدیل سیستم‌ایمنیِ میزبان دارند (۲۵-۲۲). فروکتوز احتمالاً از طریق سیستم ترانس‌پورتر فسفوترانسفراز یا تأثیر بر روی تنظیم‌کننده‌های جهانی مثل CRP باعث سرکوبِ جزیرهٔ بیماری‌زاییِ LEE شده است (۲۶). نتایج مطالعهٔ حاضر مبنی‌بر مهار بیان‌ژن *eaeA* در حضور غلظت‌های بالای فروکتوز، با یافته‌های Nakanishi و همکاران در سال ۲۰۱۱ هم‌خوانی دارد. آن‌ها نشان دادند که پروتئین‌های تنظیم‌کنندهٔ متابولیک مانند Cra که پیش‌تر FruR نامیده می‌شد در پاسخ به متابولیت‌های قندی، بیان‌ژن‌های ناحیهٔ LEE را تحت‌تأثیر قرار می‌دهند. بنابراین، احتمال می‌رود که فروکتوز در این پژوهش از طریق تغییر در فعالیت پروتئین‌های تنظیمیِ کاتابولیک، منجر به خاموش شدن بیان‌ژن *eaeA* شده باشد. این امر حاکی از اهمیت شناساییِ اثرهای ترکیب‌های غذایی بر کاهش یا افزایش شدت بیماری‌زاییِ پاتوتایپِ EPEC می‌باشد و پتانسیلِ مداخله‌های تغذیه‌ای بر کنترل عفونت‌های EPEC را تقویت می‌کند. در مطالعهٔ حاضر ترکیبِ قندیِ عسل یعنی تأثیر فروکتوز به‌تنهایی موردارزیابی قرار گرفت و نتایج ازاین‌نظر که نقش هم‌افزایی سایر ترکیب‌های موجود در عسل را نیز منتفی می‌کند و به ارزیابیِ نقشِ فقط فروکتوز می‌پردازد، حائز اهمیت است. نتایج نشان‌دهندهٔ نقش معنی‌دار ($p<۰/۵$) افزایشِ غلظتِ فروکتوز در کاهش هرچه بیشتر بیان‌ژن *eaeA* است که در اتصال باکتری به سلول اپی‌تلیال، کلونیزاسیون آن و ایجاد زخم اهمیت دارد، ضمن آنکه نیاز به پروبیوتیک‌ها و صرف هزینهٔ بیشتر را نیز مرتفع می‌کند.

۵- نتیجه گیری

با توجه به یافته‌های مطالعهٔ حاضر درصورت حساسیت افراد به مقادیر بالای فروکتوز در مواد غذایی و دارو ها می‌توان از غلظت های کمتر آن استفاده نمود. چنانچه نتایجِ تکمیلیِ سایرِ محققان اثر مثبت قندِ کتوزی فروکتوز بر کاهش بیماری‌زایی EPEC را با مهار فعالیت ژن *eaeA* تأیید نمایند؛ می‌توان از فروکتوز به‌عنوان راهکاری جدید جهت کاهش شیوع اسهال در کودکان و بزرگسالان استفاده نمود.

۶- ملاحظات اخلاقی

مطالعهٔ حاضر با کداخلاق IR.IAU.B.REC.1402.029 به ثبت رسیده است.

۷- تشکر و قدردانی

نویسندگان از مسئولین آزمایشگاه میکروبیولوژیِ مولکولی دانشگاه آزاد واحد بروجرد کمال تشکر را دارند.

۸- تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که در پژوهشِ حاضر هیچ‌گونه تعارضِ منافعی وجود ندارد.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-27]

۹- سهم نویسندگان

طراحی مطالعه و متدولوژی توسط محسن میرزایی، انجام آزمایش‌های آزمایشگاهی نسرین شاکرمی، تحلیل آماری و نگارش متن مقاله رضا یاری و نظارت نهایی و تأیید مقاله توسط محمدرضا مهرابی انجام شده است.

۱۰- منابع

1. Mulu B.M, Belete M.A, Demlie T.B, Tassew H, and Sisay Tessema, T. Characteristics of Pathogenic *Escherichia coli* Associated with Diarrhea in Children under Five Years in Northwestern Ethiopia. Tropical Medicine and Infectious Disease. 2024;9(3): 1-15.
2. Ghorbani Moghaddam R, Asgharzadeh A, Amani A, Hosseinzadeh M.R, and Kasaian J. Evaluation of antibacterial effect of methanolic extract of *Verbascum thapsus* L. Ecotypes in North Khorasan against of *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* in vitro. New Cellular and Molecular Biotechnology Journal. 2021;11(44), 41–56.
3. Kehl A, Bader L, Kaiping A.C, Kieninger B, Fritsch J, Mellmann A, and Mühlen S. Enteropathogenic *Escherichia coli* revisited – New insights into old EPEC isolates using whole genome sequencing. International Journal of Medical Microbiology. 2025;320:151659.
4. Ahmad O.M, Rukh S, Dos Santos Pereira S, Saran A, Chandran V.I, Muneeb A, et al. A comprehensive review of the role of virulence factors in enteropathogenic *Escherichia coli*-induced intestinal injury. Cureus. 2025;17(5): e83475.
5. Caravelli A, Luz D.E, Andrade F.B, Moraes C.T.P, Maranhão A.Q, and Piazza R.M.F. Sensitive and specific detection of enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli* using recombinant anti-intimin antibody by immunofluorescence assay. FEMS Immunology & Medical Microbiology. 2021;72(2): 268–278.
6. Machado A.M, Marto J, Gonçalves L.M, Ribeiro H.M, Duarte A, Tomás A, et al. Antimicrobial and wound healing effects associated to cytocompatibility and the relationship with phytochemical profile of selected Portuguese monofloral honeys. Journal of Food Composition and Analysis. 2025;144: 107659.
7. Ogwu M.C, and Izah S.C. Honey as a Natural Antimicrobial. Antibiotics. 2025;14(3): 255-284.
8. Singh R, Singh R, and Singh B. Comparison of four DNA extraction methods for detection of bacterial pathogens in fresh produce by quantitative PCR. Journal of Food Protection. 2020;83(7): 1184–1191.
9. Kim S.Y, Ahn Y.W, Kim J.K, Lee J.H, and Choi Y.S. Equivalence analysis for five Korean NCCP microorganism strains as ATCC reference strains alternative in Korean pharmacopoeia microbiological tests. Journal of Pharmaceutical Society of Korea. 2024;68(3):168-209.
10. Shokouhi Moghadam M, Kashef N, and Fani M. Evaluation of the effect of different carbohydrate sources on biofilm formation and virulence gene expression in Pathogenic Bacteria. New Cellular and Molecular Biotechnology Journal. 2022;12(46): 25-38.
11. Najibi S, Bakhshi B, Fallahzad S, Pourshafie M, Katouli M, Sattari M, et al. Distribution of Class I Integrons Among Enteropathogenic *Escherichia coli*. Canadian Journal of Microbiology. 2012;58(5): 637-643.
12. Moradi M, and Rohani M. Molecular prevalence of virulence factors in *Escherichia coli* strains isolated from pediatric gastroenteritis. New Cellular and Molecular Biotechnology Journal. 2023;13(50): 45-58.
13. Moshtagian F, Alipour M, and Yahyapour Y. Prevalence of *Escherichia coli* Pathotypes Among Children with Diarrhea in Babol, Northern Iran. International Journal of Enteric Pathogens. 2016;4(3): 1-36326.
14. Ahmadi F, Rastegar Lari A, Mostafavi M, and Esfahani A. An overview of diarrheagenic *Escherichia coli* in Iran: A systematic review and meta-analysis. Gastroenterology and Hepatology from Bed to Bench. 2015;8(3): 191–206.
15. Ahmadi F, Ghasemian A, Bakhshi H, Ghayoumi R, and Mirzazadeh A. Prevalence of Enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) isolated from children with diarrhea in Iran: A systematic review and meta-analysis. Iranian Journal of Pediatric Hematology and Oncology. 2016;6(4): 255-265.
16. Eybpoosh S, Mostaan S, Gouya M.M, Masoumi-Asl H, Owlia P, Eshrati B, Montazer Razavi Khorasan M.R, and Bouzari S. Frequency of five *Escherichia coli* pathotypes in Iranian adults and children with acute diarrhea. PloS one. 2021;16(2): 1-13. e0245470.
17. Yin X, Zhu J, Feng Y, Chambers J.R, Gong J, and Gyles C.L. Differential gene expression and adherence of *Escherichia coli* O_{157}:H_7 *in vitro* and in ligated pig intestines. Plos one. 2011;6(2): 1-13. e17424.
18. Kehl A, Bader L, Kaiping A.C, Kieninger B, Fritsch J, Mellmann A, and Mühlen S. Enteropathogenic *Escherichia coli* revisited – New insights into old EPEC isolates using whole genome sequencing. International Journal of Medical Microbiology. 2025;320:151659.
19. Mandal M.D, and Mandal S. Honey: its medicinal property and antibacterial activity. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 2011;1(2): 154-160.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-27]

20. Han R, Qian Y, and Zheng C. A novel small RNA regulates Locus of Enterocyte Effacement and site-specific colonization of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O_{157}:H_7 in gut. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. 2025;14:1517328.

21. Liu B, Liu Y, Yang B, Wang Q, Liu X, Qin J, et al. *Escherichia coli* O_{157}:H_7 senses microbiota-produced riboflavin to increase its virulence in the gut. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2022;119(48):1-11.
22. Medellin-pena M.J, Wang H, Johnson R, Anand S, and Griffiths M.W. Probiotics affect virulence-related gene expression in *Escherichia coli* O_{157}:H_7. Appl Environ Microbiol. 2007;73(13): 4259-4267.
23. Karimi S, Azizi F, Nayeb-Aghaee M, and Mahmoodnia L. The antimicrobial activity of probiotic bacteria Escherichia coli isolated from different natural sources against hemorrhagic *E. coli* O157:H7. Electronic Physician. 2017;10(3): 6548-6553.
24. Rostami S, Fasihi M.A, Bagheri K, and Khodabakhshi B. 2022. Inhibitory effect of *Lactobacillus plantarum* on adhesion and *eaeA* gene expression in enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O_{157}:H_7 and enteropathogenic *E. coli*. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials. 2023;21(1): 966-986.
25. Bansal T, and Sharma M. Gut microbiota-mediated defense against diarrheagenic *Escherichia coli* infections: A narrative review. Microorganisms. 2023;11(8): S39-S43.
26. Nakanishi N, Tashiro K, Kuhara S, Hayashi T, Sugimoto K, Tobe T. Regulation of virulence by sugars via the L-fucose pathway in enterohemorrhagic *Escherichia coli*. Journal of Bacteriology. 2011;193 (17): 4351-4360.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-27]