فصلنامه علمی- پژوهشی زیست‌شناسی میکروارگانیسم‌ها
سال دوم، شماره ۶، تابستان ۱۳۹۲، صفحه ۱۱- ۱۸
تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۲/۱۰ – تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۰۲/۱۸

بررسی ژن‌های *stx1*، *stx2* و *eaeA* به روش Multiplex PCR در *اشریشیا کلی*‌های جداسازی شده از گوشت گوسفندان استان چهارمحال و بختیاری

سمانه مهرابیان: دانشجوی دکتری دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، ایران، samanehmehrabiyan@yahoo.com
حسین طهماسبی: دکتری دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، ایران، h.tahmasby@yahoo.com *
حسن ممتاز: دانشیار میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، ایران، hamomtaz@yahoo.com
ناصر خسروی: عضو دپارتمان بیماریهای عفونی وگرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، ایران، nkhosravi@skums.ac.ir
حسین کابلی بروجنی: دانشجوی دکتری دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، ایران، hkaboli@yahoo.com
ویدا نجف زاده: دانشجوی دکتری دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، ایران، vida_n2008@yahoo.com
مرضیه طادی بنی: دانشجوی دکتری دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، ایران، marzieh.tadi@yahoo.com
فرنوش انصاری: دانشجوی دکتری دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، ایران، farnoushansari86@yahoo.com

چکیده

مقدمه: عوامل بیماری‌زا ممکن است از طریق مصرف گوشت آلوده به انسان منتقل شوند و ایجاد بیماری کنند. *اشریشیا کلی*‌های تولید کننده شیگاتوکسین می‌توانند ایجاد اسهال آبکی خفیف تا کمپلکس‌های جدی از قبیل کولیت هموراجیک و سندروم اورمی همولیتیک تا حتی مرگ نمایند. این مطالعه، به منظور ردیابی *اشریشیا کلی*‌های تولید کننده‌ی شیگاتوکسین در گوشت گوسفندان استان چهارمحال و بختیاری انجام شد.

مواد و روش‌ها: ۹۰ جدایه‌ی *اشریشیا کلی* از گوشت گوسفندان استان چهارمحال و بختیاری از نظر ژن‌های *stx1*، *stx2* و *eaeA* به وسیله آزمون واکنش زنجیره ای پلی مراز چندگانه (Multiplex PCR) ارزیابی شدند.

نتایج: میزان ژن‌های *stx1* و *eaeA* در جدایه‌های *اشریشیا کلی* به ترتیب ۱۱/۱ درصد (۱۰ از ۹۰) و ۸/۸ درصد (۸ از ۹۰) بود. ژن *stx2* در هیچ کدام از جدایه‌ها یافت نشد.

بحث و نتیجه‌گیری: گوشت گوسفندان در این منطقه *اشریشیا کلی*‌های تولید کننده شیگاتوکسین را در خود جای داده بودند و می‌توانند عاملی در انتقال *اشریشیا کلی*‌های تولید کننده شیگاتوکسین از گوشت گوسفند به انسان تلقی شوند و برای سلامت انسان خطرناک باشند.

واژه‌های کلیدی: *اشریشیا کلی*، گوشت، PCR

* نویسنده مسؤول مکاتبات

مقدمه

حیواناتی که گوشت آن‌ها برای مصارف غذایی استفاده می‌شوند، مهم‌ترین مخازن بسیاری از عوامل بیماری‌زا از قبیل *کمپیلوباکتر*، *سالمونلا انتریکا*، *اشریشیاکلی*‌های تولید کننده‌ی شیگاتوکسین و *یرسینیا انتروهمولیتیکا* هستند (۱). رعایت نکردن بهداشت در هنگام ذبح و حمل و نقل گوشت این حیوانات می‌تواند به آلودگی آن‌ها به عوامل بیماری‌زا منجر شود. این عوامل بیماری‌زا از طریق زنجیره‌ی غذایی ممکن است به انسان انتقال یابند و به ایجاد بیماری‌های ناشی از مواد غذایی در انسان منجر شوند (۲).

اشریشیاکلی‌های تولیدکننده شیگاتوکسین در اواخر دهه ۱۹۷۰ درکانادا به عنوان یک عامل اتیولوژیک اسهال شناسایی شدند (۳). سویه‌های *اشریشیا کلی*، وروتوکسیژنیک توکسینی ترشح می‌کنند که به دلیل توانایی آن در کشتن سلول‌های ورو[1] وروتوکسین و به دلیل شباهتش به نوروتوکسین شیگای مترشحه از شیگلادیسانتری تیپ یک، توکسین شبه شیگا نامیده می‌شود و سویه‌های تولید کننده آن به *اشریشیاکلی*‌های تولید کننده‌ی شیگاتوکسین نیز معروفند (۴). توکسین‌های ورو به دو گروه *stx1* و *stx2* تقسیم بندی می‌شوند. وروتوکسین با اثر بر RNA ریبوزومی سبب ممانعت از سنتز پروتئین‌ها می‌شود. انواعی از *اشریشیاکلی* که این سم را تولید می‌کنند موجب سندروم‌های خطرناکی از جمله کولیت هموراژیک و به دنبال آن نارسایی کلیوی به ویژه در کودکان و پورپورای ترمبوتیک ترمبوسایتوپنیک در انسان می‌شوند (۵- ۷).

از دیگر عوامل بیماری زای این سویه‌ها، پروتئینی به نام اینتیمین[2] است که مسئول اتصال باکتری به روده و ایجاد آسیب‌های خاصی به نام اتصال و محو شدن در سلول‌های اپی تلیال روده است. به همین دلیل به ژن کد کننده این پروتئین eae[3] می‌گویند (۸).

تحقیقات نشان می‌دهد سویه‌های تولیدکننده شیگاتوکسین در چهارپایان نیز وجود داشته که ۴۰ درصد آن‌ها برای انسان بیماری‌زا شناخته شده اند. این مسئله چهارپایان را به عنوان مخزن مهم برای سویه‌ها مطرح می‌سازد (۹).

بروز کلینیکی عفونت با *اشریشیاکلی*‌های شیگاتوکسین‌زا می‌تواند از اسهال آبکی خفیف تا کمپلکس‌های جدی از قبیل کولیت هموراجیک و سندروم اورمی همولیتیک تا حتی مرگ باشد (۱۰ و ۱۱). اگرچه سروتیپ *O157*/*اشریشیاکلی* معمول‌ترین سروتیپ تولید کننده شیگاتوکسین است اما نشان داده شده که بیش از ۲۵۰ سروتیپ مختلف از آنتی ژن O، شیگاتوکسین تولید می‌کنند و بیش از ۱۰۰ عدد از آن‌ها با بیماری‌های انسانی مرتبط اند (۱۲). سایر سروتیپ‌های شیگاتوکسین‌زای *اشریشیاکلی* (غیر از *O157*) عامل ایجاد ۶۰ درصد از عفونت‌های *اشریشیاکلی* شیگاتوکسین‌زا هستند و در بسیاری از نقاط دنیا از قبیل آرژانتین، استرالیا، اسپانیا، دانمارک، شیلی و آلمان شایع هستند (۱۲).

بیشتر مطالعاتی که در زمینه بررسی آلودگی گوشت‌های مختلف از نظر آلودگی به ژن‌های حدت *اشریشیاکلی* در نقاط مختلف انجام شده است نشان دهنده وضعیت متفاوت آلودگی به این ژن‌ها از مقادیر پایین تا بالا در مناطق مختلف بوده است. برای مثال طی مطالعاتی که در سال‌های اخیر در کره، ایتالیا و آرژانتین انجام شده، میزان آلودگی به *اشریشیاکلی* شیگاتوکسین‌زا به ترتیب ۲/۶، ۴۳/۴ و ۸۷ گزارش شده

است (۱۳– ۱۵). متاسفانه در کشور ما تنها در یک مطالعه به بررسی سایر سروتیپ‌های تولید کننده شیگاتوکسین (غیر از *O157*) که عامل ایجاد ۶۰ درصد از عفونت‌های *اشریشیا کلی* شیگاتوکسین‌زا هستند پرداخته شده است (۱۶) و بیشتر مطالعات انجام شده روی ردیابی ژن‌های تولید کننده شیگاتوکسین در *اشریشیا کلی O157:H7* محدود بوده است (۱۷– ۲۱).

در مطالعه حاضر، با توجه به توانایی بالقوه گوشت در انتقال عوامل بیماری‌زا به انسان و با در نظر گرفتن اهمیت بیماری‌زایی ژن‌های *stx1*، *stx2* و *eaeA*، به جست و جوی این ژن‌ها در *اشریشیا کلی*‌های جداسازی شده از نمونه‌های گوشت گوسفندان استان چهارمحال و بختیاری به روش Multiplex PCR پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه، از ۲۷۰ نمونه گوشت گوسفند در پاییز و زمستان سال ۱۳۸۹ در شرایط استریل نمونه گیری انجام شد. برای جستجوی *اشریشیا کلی* ۲۵ گرم از هر نمونه به شکل هموژن شده به ۲۲۵ میلی‌لیتر آبگوشت تریپتون سوی[۴] (مرک، ساخت آلمان) اضافه شد و به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. سپس، ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه غنی شده بر روی محیط مکانیکی آگار (مرک، ساخت آلمان) به منظور ردیابی *اشریشیا کلی* کشت داده شد و به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرم خانه گذاری شد. پرگنه‌های مشکوک روی محیط آبگوشت تریپتون سوی کشت داده شدند و آزمون‌های اندول، متیل رد، وگس پروسکوئر و سیترات (IMViC) بر روی نمونه‌های مشکوک انجام شد. جدایه‌های *اشریشیا کلی* تا زمان انجام PCR در محیط آبگوشت تریپتون سوی به شکل گلیسیرینه در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگه داری شدند.

جدایه‌های *اشریشیا کلی* پس از استخراج DNA، به وسیله PCR با استفاده از پرایمرهای توصیف شده توسط ویدال[۵] و همکاران (۲۲) آزمایش شدند. (جدول ۱). مواد PCR از شرکت سیناژن ساخت ایران تهیه شد و واکنش در حجم ۲۵ میکرولیتر (۲/۵ میکرولیتر بافر 10X PCR، ۱/۵ میکرولیتر MgCl2 ۵۰ میلی‌مولار، ۰/۵ میکرولیتر dNTP ۱۰ میلی‌مولار، ۱/۵ واحد آنزیم Taq پلی مراز، ۰/۵ میکرولیتر با غلظت ۱۰ میکرومولار از هر پرایمر، ۱ میکرولیتر DNA الگو) انجام شد. برنامه دمایی مورد استفاده به ترتیب واسرشت ابتدایی در ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه و ۴۰ سیکل از قرار ۹۴ درجه به مدت ۴۵ ثانیه، ۶۴ درجه به مدت ۴۵ ثانیه، ۷۲ درجه به مدت ۶۰ ثانیه و گسترش نهایی در ۷۲ درجه به مدت ۵ دقیقه در دستگاه ترموسایکلر (بایورد، ساخت آمریکا) انجام شد. در پایان، محصولات PCR روی ژل آگاروز (ساخت سیناژن، ایران) ۱/۵ درصد الکتروفورز (بایورد، ساخت آمریکا) شد.

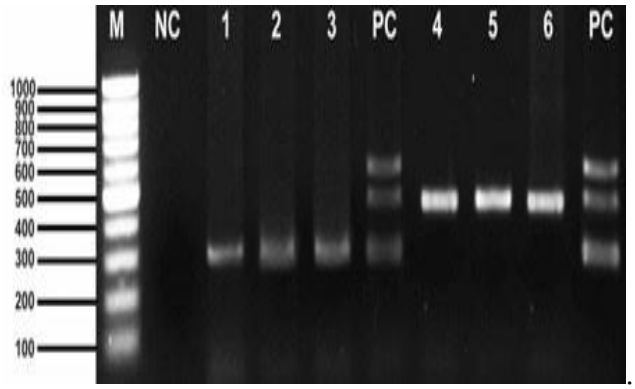
جدول ۱– مشخصات پرایمرهای مورد استفاده

نام پرایمرها	توالی پرایمرها	اندازه محصول
stx1	F: 5´ CAG TTA ATG TGG TGG CGA AGG 3´ R: 5´ CAC CAG ACA ATG TAA CCG CTG 3´	348 bp
stx2	F: 5´ ATC CTA TTC CCG GGA GTT TAC G 3´ R: 5´ GCG TCA TCG TAT ACA CAG GAG C 3´	584 bp
eaeA	F: 5´ TCA ATG CAG TTC CGT TAT CAG TT 3´ R: 5´ GTA AAG TCC GTT ACC CCA ACC TG 3´	482 bp

نتایج

میزان آلودگی نمونه‌های مورد مطالعه به *اشریشیا کلی* در کل ۳۳/۳ درصد (۹۰ از ۲۷۰) بود. میزان ژن‌های *stx1* و *eaeA* در جدایه‌های *اشریشیا کلی* به به ترتیب ۱۱/۱ (۱۰ از ۹۰) و ۸/۸ درصد (۸ از ۹۰) بود. ژن *stx2* در هیچ کدام از جدایه‌ها یافت نشد. جدایه‌های *اشریشیا کلی* که واجد ژن *stx1* بودند هیچ کدام حامل ژن *eaeA* نبودند (شکل ۱)

اگرچه میزان آلودگی به *اشریشیا کلی* در فصل زمستان از فصل پاییز بیشتر بود اما هیچ‌کدام از آن‌ها واجد ژن‌های کد کننده‌ی شیگاتوکسین (*stx1* و *stx2*) نبودند (جدول۲).



شکل ۱- تصویر الکتروفورز ژل آگاروز. M: نشانگر ۱۰۰ جفت بازی پلاس، NC: کنترل منفی، PC: کنترل مثبت، ۱ تا ۳: نمونه‌های مثبت از نظر آلودگی به ژن *stx1*، ۴ تا ۶: نمونه‌های مثبت از نظر آلودگی به ژن *eaeA*

جدول۲- مشخصات نمونه‌های آزمایش شده

فصل نمونه‌گیری	تعداد نمونه‌ها	آلودگی به *اشریشیا کلی*	*stx1* درصد	*stx2* درصد	*Eae* درصد	*eae* و *stx1*
پاییز	۲۰۶	۶۵ (۳۱/۵ درصد)	۱۰ (۱۵/۴ درصد)	صفر	۸ (۱۲/۳ درصد)	صفر
زمستان	۶۴	۲۵ (۳۹ درصد)	صفر	صفر	صفر	صفر
کل	۲۷۰	۹۰ (۳۳/۳ درصد)	۱۰ (۱۱/۱ درصد)	صفر	۸ (۸/۸ درصد)	صفر

بحث و نتیجه گیری

هرچند *اشریشیا کلی‌های* تولید کننده شیگاتوکسین در روده بسیاری از گونه‌های حیوانی یافت می‌شوند، اما نشخوارکنندگان به عنوان مخزن اصلی آن‌ها محسوب می‌شوند و ممکن است از طریق این حیوانات به انسان منتقل شوند. شنا کردن در آب‌های آلوده به مدفوع این حیوانات، نوشیدن آب از منابعی از قبیل: چشمه‌ها و چاه‌های آلوده که بیشتر در روستاها استفاده می‌شوند، از عوامل بسیار مهم آلودگی تلقی می‌شوند. منبع عفونت می‌تواند آغشته شدن به گل و لای آلوده به مدفوع گاو و تماس مستقیم با حیوان باشد. البته راه انتقال این عوامل به انسان فقط محدود به تماس با حیوانات آلوده به *اشریشیا کلی‌های* تولید کننده شیگاتوکسین و همچنین محیطی که حیوانات آلوده در آن زندگی می‌کنند نمی‌شود، بلکه استفاده از غذاهای آلوده به مدفوع این حیوانات در آلوده شدن به *اشریشیا کلی‌های* تولید کننده

شیگاتوکسین می‌تواند بسیار موثر باشد. عادت‌های غذایی از قبیل مصرف گوشت‌های نیم‌پز و خام و لبنیات غیرپاستوزیره که با زندگی روستایی ارتباط نزدیکی دارند را نیز به عنوان عوامل موثر در ابتلای به این عوامل می‌توان ذکر کرد (۲۳-۲۵). رعایت نکردن بهداشت کافی در هنگام ذبح و حمل و نقل گوشت می‌تواند به آلودگی آن‌ها به عوامل بیماری‌زا منجر شود. این عوامل بیماری‌زا از طریق زنجیره‌ی غذایی ممکن است به انسان انتقال یابند و به ایجاد بیماری‌های ناشی از مواد غذایی در انسان منجر شوند (۲).

غیر از سروتیپ *اشریشیاکلی O157*، سایر سروتیپ‌های تولید کننده‌ی شیگاتوکسین عامل ایجاد ۶۰ درصد از عفونت‌های *اشریشیاکلی* شیگاتوکسین‌زا و در بسیاری از نقاط دنیا از قبیل آرژانتین، استرالیا، اسپانیا، دانمارک، شیلی و آلمان شایع هستند (۱۲).

مطالعاتی که در مناطق مختلف دنیا در مورد بررسی آلودگی به ژن‌های حدت *اشریشیاکلی* در نقاط مختلف انجام شده است نشان دهنده وضعیت متفاوت آلودگی به این ژن‌ها از مقادیر پایین تا بالا بوده است. برای مثال طی مطالعاتی که در کره (۲۰۱۲)، ایتالیا (۲۰۱۲) و آرژانتین (۲۰۱۱) انجام شده، میزان آلودگی به *اشریشیاکلی* شیگاتوکسین‌زا به ترتیب ۲/۶، ۴۳/۴ و ۸۷ گزارش شده است (۱۳-۱۵). گزارشات متعددی نیز وجود دارند که از نظر آلودگی به *اشریشیاکلی*‌های تولید کننده شیگاتوکسین از جهاتی تشابه زیادی با مطالعه‌ی حاضر دارند. در مطالعه اوجو[۶] و همکاران در نیجریه میزان آلودگی به *اشریشیاکلی*‌های واجد ژن *stx1*، ۱۱ درصد گزارش شد که از این نظر با مطالعه حاضر تشابه داشت. اما خلاف این مطالعه‌ی که ژن *stx2* در هیچ کدام از جدایه‌ها یافت نشد، ۲۵/۳ درصد از جدایه‌ها واجد ژن‌های *stx2* بودند و درصد بالایی نیز (۵۶/۵ درصد) دارای ژن *eaeA* بودند (۲۶). در مطالعه بروک[۷] و همکاران در نیوزیلند میزان آلودگی به *اشریشیاکلی*‌های تولید کننده‌ی شیگاتوکسین در گوشت گاو ۱۲ درصد گزارش شد که با نتایج مطالعه‌ی حاضر تشابه زیادی داشت، اما خلاف مطالعه‌ی حاضر که ۸/۸۸ درصد از جدایه‌ها واجد ژن *eaeA* بودند، در هیچ کدام از جدایه‌ها این ژن یافت نشد (۲۷). در مطالعه اتچوریا[۸] و همکاران در آرژانتین روی گوشت گاو، *اشریشیاکلی*‌های تولید کننده‌ی شیگاتوکسین در ۱۲/۳۴ درصد از موارد یافت شدند که با نتایج مطالعه‌ی حاضر مشابهت زیادی داشت، اما خلاف مطالعه‌ی حاضر که ژن *stx2* در هیچ کدام از جدایه‌ها یافت نشد، ژن *stx2* ژن به عنوان ژن غالب در جدایه‌ها یافت شد (۲۸).

همان‌طور که ذکر شد در کشورمان به وضعیت آلودگی گوشت به *اشریشیاکلی*‌های تولید کننده شیگاتوکسین و نقش آن‌ها در انتقال این عامل بیماری‌زا به انسان چندان توجهی نشده است و وضعیت آلودگی به این عوامل بیماری‌زا چندان واضح نیست و بیشتر مطالعات انجام شده در کشور محدود به بررسی ژن‌های مولد شیگاتوکسین در جدایه‌های *اشریشیاکلی O157:H7* بوده است (۱۷-۲۱) و تنها در یک مطالعه روی نمونه‌های گوشت جمع آوری شده از تهران به بررسی *اشریشیاکلی*‌های مولد شیگاتوکسین (غیر از *O157*) که عامل ایجاد ۶۰ درصد از عفونت‌های *اشریشیاکلی* شیگاتوکسین‌زا هستند پرداخته شده است. در این مطالعه، درصد آلودگی به *اشریشیاکلی*‌های تولید کننده شیگاتوگسین به میزان چشمگیری بالا بوده به نحوی که ۲۴ (۸۰ درصد) جدایه دارای ژن *stx2*، دو جدایه (۶/۷ درصد) هم ژن *stx2* و هم *stx1* را داشته و ۴

(۱۳/۳ درصد) جدایه دارای *stx2* و eae مثبت بودند (۱۶).

نتایج این مطالعه نشان داد که گوشت گوسفندان این منطقه با *اشریشیاکلی*های تولید کننده شیگاتوکسین می‌توانند آلوده شوند و می‌توانند حامل و عاملی در انتقال *اشریشیاکلی*های تولید کننده شیگاتوکسین از گوشت گوسفند به انسان تلقی شوند و برای سلامت انسان ایجاد خطر نمایند.

همچنین با توجه به نتایج به نظر می‌رسد ژن *stx2* در این منطقه چندان شایع نیست که ممکن است بیانگر این مسئله باشد که ژن *stx2* در ایجاد اسهال‌های با منشا مواد غذایی به ویژه گوشت گوسفند در این منطقه چندان نقشی ندارد.

ممکن است گوشت گوسفندان این منطقه، حامل عوامل بیماری‌زای دیگری نیز باشند که در این مطالعه بررسی نشده است بنابراین، بررسی‌های بیشتر در این زمینه توصیه می‌شود.

References

(1) Mead PS, Slutsker L, Dietz V, McCaig LF, Bresee JS, Shapiro C, et al. Food-related illness and death in the United States. *Emerging Infect Dis J* 1999; 5 (5): 607–25.

(2) Crump JA, Griffin PM, Angulo FJ. Bacterial Contamination of Animal Feed and Its Relationship to Human Foodborne Illness. *Clin Infect Dis* 2002; 1, 35 (7): 859-65.

(3) Griffin PM, Tauxe RV. The epidemiology of infections caused by *Escherichia coli O157:H7*, other enterohemorrhagic E. coli, and the associated hemolytic uremic syndrome. *Epidemiol Rev* 1991; 13: 60-98.

(4) Walker TS. Microbiology. *Philadelphia, W.B. Sanders Company* 1998: 20-30

(5) Adwank Abu-Hassan N, Essawi T, Bdir M. Isolation and characterization of shiga toxigenic *Escherichia coli* strains from northern Palestine. *J Med Microbiol* 2002; 51 (4): 332-5

(6) Chart H, Perry NT, Cheasty T, Wright PA. The kinetics of antibody production to antigens of *Escherichia coli O157* with hemolytic uremic syndrome. *J Med Microbiol* 2002; 51 (6): 522-525

(7) Whittam TS, Wolfe ML, Selander RK, Dyer DW, Loos BG. Clonal relationship among E.coli strains that cause hemorrhagic colitis and infantile diarrhea. *Infect Immun* 1993; 61 (5): 1619-29

(8) Wales AD, Wood Ward MJ, Pearson GR. Attaching-effacing bacteria in animals. *J Comp Pathol* 2005; 132 (1): 1-26.

(9) Montenegro MA, Bülte M, Trumpf T, Aleksić S, Reuter G, Bulling E, et al. Detection and characterization of fecal verotoxinproducing *Escherichia coli* from healthy cattle. *J Clin Microbiol* 1990; 28 (6): 1417-21.

(10) Gyles CL. Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: an overview. *J Anim Sci* 2007; 85 (13): 45–62.

(11) Levine MM, Xu JG, Kaper JB, Lior H, Prado V, Tall B, et al. A DNA probe to identify enterohemorrhagic *Escherichia coli* of *O157:H7* and other serotypes that cause hemorrhagic colitis and hemolytic uremic syndrome. *J Infect Dis* 1987; 156 (1): 175–82.

(12) Johnson KE, Thorpe CM, Sears CL. The emerging clinical importance of non-*O157* Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *Clin Infect Dis* 2006; 43 (12): 1587–95.

(13) Mazzette R, Mureddu A, Busia G, Mazza R, Lamon S, Meloni D. Prevalence of Verocytotoxin-Producing E. coli in Sheep Meat at a Slaughterhouse. *Vet Sci* 2012; 4: 161-5.

(14) Park H, Jo Kim Y. Antibiotic Resistance and Virulence Potentials of Shiga Toxin-producing *Escherichia coli* Isolates from Retail Meat Products in Korea. *Int Assoc Food Protec. Wednesday, July 25, 2012 Exhibit Hall (Rhode Island Convention Center)*

(15) Krüger A, Lucchesi P M A, Parma A E. Verotoxins in Bovine and Meat Verotoxin-Producing *Escherichia coli* Isolates: Type, Number of Variants, and Relationship to Cytotoxicity. *Appl Environ Microbiol* 2011; 77 (1): 73-9

(16) Baghbani Arani F , Salmanzadeh Ahrabi S , Jafari F , Habibi E , Zali MR . Isolation of Shigatoxin-Producing *Escherichia coli* (STEC) from Meat Samples by PCR in Tehran and Evaluation of Antibacterial Patterns of Isolated Strains. *Pajoohandeh J* 2007; 12 (2): 107-14

(17) Kargar M, Daneshvar M, Homayoun M. Surveillance of Virulence Markers and Antibiotic Resistance of Shiga toxin Producing *E. coli O157:H7* Strains from Meats Purchase in Shiraz. *Iran South Med J* 2011; 14 (2):76-83

(18) Rahimi E, Kazemeini H R, Salajegheh M. *Escherichia coli O157:H7*/NM prevalence in raw beef, camel, sheep, goat, and water buffalo meat in Fars and Khuzestan provinces, Iran. *Vet Res Forum* 2012; 3 (1): 13-17

(19) Rahimi E, Momtaz H, Mohammad Hosseini Anari M, M Alimoradi, Momeni M, Riahi M. Isolation and genomic characterization of *Escherichia coli O157:NM* and *Escherichia coli*O157:H7 in minced meat and some traditional dairy products in Iran. *Afr J Biotechnol* 2012; 11 (9): 2328-32

(20) Kargar M, Daneshvar M, Homayoon M. Prevalence of shiga toxins, intimin and hemolysin genes of *Escherichia coli O157:H7* strains from industrial ground meat in Shiraz. *J Shaheed Sadoughi Univ Med Sci* 2011; 18 (6): 512-20.

(21) Bonyadian M, Zahraei Salehi T, Momtaz H, Hasanpour A. Isolation and determination of the virulence genes of *Escherichia coli O157* in ground beefs and hamburgers in Shahrekord. *Iran Vet J* 2010; 5 (4 (25)): 5-12.

(22) Vidal R, Vidal M, Lagos R, Levine M, Prado V. Multiplex PCR for diagnosis of enteric infections associated with diarrheagenic *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol* 2004; 42 (4): 1787-9.

(23) Beutin L, Bülte M, Weber A, Zimmermann S, Gleier K. Investigation of human infections with verocytotoxin producing strains of *Escherichia coli* (VTEC) belonging to serogroup O118 with evidence for zoonotic transmission. *Epidemiol Infect* 2000; 125 (1): 47–54.

(24) Beutin L. Emerging Enterohaemorrhagic *Escherichia coli*, Causes and Effects of the Rise of a Human Pathogen. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* 2006; 53 (7): 299-305.

(25) Caprioli A, Morabito S, Brugère H, Oswald E. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli*: emerging issues on virulence and modes of transmission. *Vet Res* 2005; 36 (3): 289–311.

(26) Ojo OE, Ajuwape AT, Otesile EB, Owoade AA, Oyekunle MA, Adetosoye AI.

Potentially zoonotic shiga toxin-producing *Escherichia coli* serogroups in the faeces and meat of food-producing animals in Ibadan, Nigeria. *Int J Food Microbiol* 2010; 142 (1-2): 214-21.

(27) Brooks HJ, Mollison BD, Bettelheim KA, Matejka K, Paterson KA, Ward VK. Occurrence and virulence factors of non-*O157* Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in retail meat in Dunedin, New Zealand. *Lett Appl Microbiol* 2001; 32 (2): 118-22.

(28) Etcheverría AI, Padola NL, Sanz ME, Polifroni R, Krüger A, Passucci J, et al. Occurrence of Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) on carcasses and retail beef cuts in the marketing chain of beef in Argentina. *Meat Sci* 2010; 86 (2): 418-21.

[1]. vero
[2]. intimin
[3]. *E. coli* attaching and effacing (eae)
[4]. Tryptic Soy Broth (TSB)
[5]. Vidal
[6]. Ojo
[7]. Brook
[8]. Etcheverría

Multiplex PCR detection of *stx1*, *stx2* and *eaeA* genes in *Escherichia coli* isolated from lambs in ChaharmahalvaBakhtiari, Iran

Samaneh Mehrabiyan
DVM Student, University of Shahrekord, Iran, samanehmehrabiyan@yahoo.com
Hossein Tahmasby *
DVM, University of Shahrekord, Iran, h.tahmasby@yahoo.com
Hassan Momtaz
Associate Professor of Microbiology, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Iran, hamomtaz@yahoo.com
Naser Khosravi
Member of Infectious Diseases & Tropical Medicine Department, Shahrekord University of Medical Sciences, Iran, nkhosravi@skums.ac.ir
Hossein Kaboli Boroujeni
DVM Student, University of Shahrekord, Iran, hkaboli@yahoo.com
Vida Najafzadeh
DVM Student, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran, vida_n2008@yahoo.com
Marzieh Tadi Beni
DVM Student, University of Shahrekord, Iran, marzieh.tadi@yahoo.com
Farnoush Ansari
DVM Student, University of Shahrekord, Iran, farnoushansari86@yahoo.com

Abstract

Introduction: Pathogens can be transmitted to the humans through the consumption of contaminated meat and thus causing disease. Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* can cause mild watery diarrhea to more serious complications of hemorrhagic colitis, and hemolytic uremic syndrome to even death. Present study was conducted to detect Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from sheep meat (lamb) in ChaharmahalvaBakhtiari, Iran.

Materials and methods: 90 *Escherichia coli* isolates from sheep meat in ChaharmahalvaBakhtiari were evaluated to investigate *stx1*, *stx2* and *eaeA* genes by multiplex PCR.

Results: The rate of *stx1* and *eaeA*-positive *Escherichia coli* isolates were 11.11% (10/90) and 8.88% (8/90), respectively. *Stx2* gene was not found in any isolate.

Discussion and conclusion: Lamb harbored Shiga-toxin-producing *E. coli* and could be a component of Shiga-toxin-producing *E. coli* transmission from lambs to the humans and can pose a risk to human health in the region.

Key words: *Escherichia coli*, Meat, PCR

* Corresponding Author
Received: February 28, 2013 / **Accepted** May 8, 2013