

آلودگی گوشت گوسفندان شهرستان شهرکرد به باکتری *E.coli* و سروتیپ های O۱۵۷، O۲۶ و O۱۲۸ *E.coli* به روش PCR

• مجتبی بنیادیان

دانشیار گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد

حسین طهماسبی (نویسنده مسئول)

دانشجوی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد

• ابوالفضل آخوندزاده دره، • ناصر صالحی و • سمیرا ملانوری شمسی

دانشجویان دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد

• یدالله خسروی

کارشناس آزمایشگاه گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی دانشگاه شهرکرد

تاریخ دریافت: دی ماه ۱۳۹۰ تاریخ پذیرش: فروردین ماه ۱۳۹۱

تلفن تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۳۷۳۲۵۰۷۱

Email: h.Tahmasby@yahoo.com

چکیده

اطلاعاتی که وضعیت میکروبی محصولات گوشت را نشان می دهند به عنوان خط پایه برای تنظیم استانداردها و در حمایت از تشخیص عوامل خطر ساز به منظور تایید عملی در سیستم نظارتی می تواند ارزشمند باشد. O۱۰۳، O۹۱، O۴۵، O۲۶، O۱۱۱، O۱۱۳، O۱۲۱، O۱۲۸، O۱۴۵ و O۱۵۷ شایع ترین سروتیپ های انتروهموراجیک *E.coli* مرتبط با بیماری های انسانی هستند. با توجه به اهمیت آنچه ذکر گردید و احتمال انتقال سروتیپ های انتروهموراجیک *E.coli* به انسان توسط گوشت گوسفند، مطالعه ی حاضر به منظور ارزیابی آلودگی گوشت گوسفندان شهرستان شهرکرد به باکتری *E.coli* و سروتیپ های O۱۵۷، O۲۶ و *E.coli* O۱۲۸ به روش PCR انجام پذیرفت. در مجموع تعداد ۱۳۵ نمونه از لاشه های گوسفندان ذبح شده در کشتارگاه جوققان واقع در استان چهارمحال و بختیاری جمع آوری گردید. نمونه ها در آبگوشت تریپتون سوی غنی شدند. سپس برات های انکوبه شده بر روی محیط های مکانکی آگار سوربیتول دار و مکانکی آگار به عنوان محیط های انتخابی کشت داده شدند. کلنی های مشکوک به وسیله آزمون واکنش زنجیره ای پلی مرز مورد ارزیابی قرار گرفتند. میزان آلودگی لاشه ها به *E.coli* ۵۰/۳۷ درصد (۶۸ از ۱۳۵) به دست آمد. ۱/۴۸ درصد (۲ از ۱۳۵) از نمونه ها آلوده به سروتیپ *E.coli* O۱۲۸ بودند. هیچ نمونه ی آلوده به سروتیپ های O۱۵۷ و *E.coli* O۲۶ یافت نشد. نتایج حاضر می توانند بیانگر عدم حضور سروتیپ های O۱۵۷ و *E.coli* O۲۶ در این منطقه باشد.

کلمات کلیدی: *E.coli*، گوشت، PCR، شهرکرد

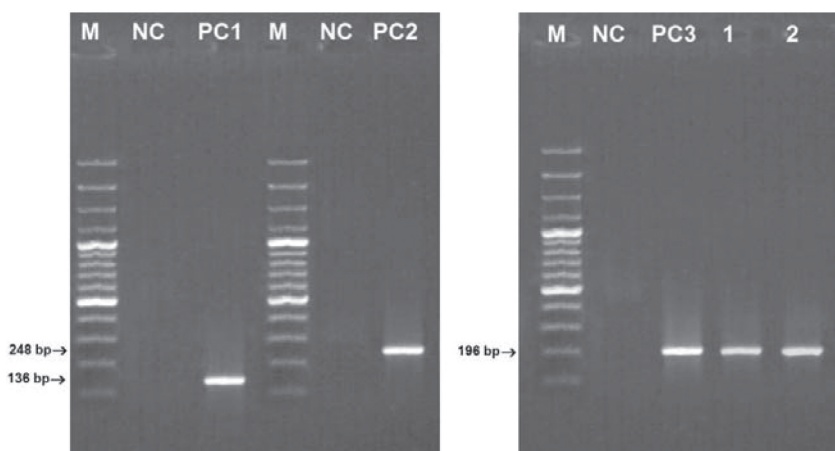
همکاران (۱۱) و Phillips و همکاران (۹) میزان آلودگی گوشت گوسفندان به *E. coli* به ترتیب ۴۳، ۵۶/۶ و ۴۳ درصد اعلام گردید که نتایج آن ها با نتایج به دست آمده در این مطالعه تشابه دارد.

Jafareyan-Sedigh و همکاران در شیراز (۱۰) و Shekarfroush و همکاران (۴) در اصفهان میزان آلودگی به سروتیپ *E. coli* HV:O157 در گوشت گوسفند به ترتیب ۳/۹۲ و ۶/۸ درصد گزارش نمودند. در مطالعاتی که جهت تعیین سروتیپ های ایزوله های *E. coli* از گوشت گوسفند توسط Urdahl و همکاران در نروژ (۱۲) و Bennett و Bettelheim در نیوزیلند (۲) صورت گرفت، آلودگی به سروتیپ O128 به ترتیب در ۱۰ ایزوله از ۱۰۲ ایزوله و ۲ ایزوله از ۴۰ ایزوله یافت گردید. در مطالعات ذکر شده هیچ یک از سروتیپ های O157 و O26 یافت نشد که از این نظر نتایج آن ها با نتایج به دست آمده در این مطالعه تشابه دارد. از علل میزان پایین آلودگی به سروتیپ O128 و O26 سروتیپ های ذکر شده شاید بتوان این مسئله را ذکر کرد که از آنجایی که یکی از منابع مهم این باکتری مدفوع این حیوانات که خصوصاً پوست و پشم آن ها بدن آلوده است می تواند باشد اما صنعتی بودن این کشتارگاه، استفاده از دستگاه های اتوماتیک، تماس کمتر دست با لاشه ها و رعایت سطح بالاتر شرایط بهداشتی احتمال آلودگی به این باکتری ها را کاهش داده است. همچنین سرد و خشک بودن آب و هوا بر کاهش بقای میکروب ها بسیار موثر است و این مطالعه در فصل پاییز و زمستان که بقای میکروب ها در آن کاهش می یابد و همچنین در شهرکرد که منطقه ای است با آب و هوای سرد و خشک انجام شده است. مسائلی که ذکر گردید می توانند بر نتیجه بدست آمده در این مطالعه بسیار موثر باشند.

محیط TSB به صورت گلیسرینه در دمای ۲۰- نگه داری گردیدند. کنترل مثبت ها از کلکسیون باکتری های گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران تهیه گردیدند. نمونه های مشکوک جهت جست و جوی سروتیپ های O157، O26 و O128 به وسیله ی PCR با استفاده از پرایمرهای توصیف شده توسط Lin و همکاران (۸) مورد آزمون قرار گرفتند. مواد PCR از شرکت سیناژن ساخت ایران تهیه شد و واکنش در حجم ۲۵ میکرولیتر (۲/۵ میکرولیتر بافر PCR 10X، ۱/۵ میکرولیتر $MgCl_2$ ۵۰ میلی مولار، ۱ میکرولیتر dNTP ۱۰ میلی مولار، ۱/۵ واحد آنزیم Taq پلی مراز، ۱ میکرولیتر با غلظت ۱۰ میکرومولار از هر پرایمر، ۱ میکرولیتر DNA الگو) انجام گردید. برنامه های دمایی مطابق با برنامه حرارتی Lin و همکاران (۸) در دستگاه ترموسایکلر (Biorad، ساخت آمریکا) صورت پذیرفت. در پایان محصولات PCR روی ژل آگارز (ساخت سیناژن، ایران) ۱/۵ درصد الکتروفورز (ساخت پایپژوهش پارس، ایران) گردید.

میزان آلودگی لاشه های گوسفندان مورد مطالعه به *E. coli* در کل ۵۰/۳۷ درصد (۶۸ از ۱۳۵) بود. آلودگی لاشه ها در فصل پاییز ۴۷/۶ درصد (۴۹ از ۱۰۳) و در فصل زمستان ۵۹/۴ درصد (۱۹ از ۳۲) به دست آمد. ۱/۴۸ درصد (۲ از ۱۳۵) از نمونه ها آلوده به سروتیپ O128 *E. coli* بودند که این دو نمونه در فصل پاییز اخذ شده بودند. اما هیچ نمونه ی آلوده به سروتیپ های O157 و O26 *E. coli* یافت نشد (شکل ۱).

Jafareyan-Sedigh و همکاران طی مطالعه ای در اصفهان میزان آلودگی گوشت گوسفندان را به *E. coli* ۲۹/۱ اعلام نمودند (۴). در مطالعات صورت گرفته توسط Jordan و همکاران (۶) و Sierra



شکل ۱- تصویر الکتروفورز ژل آگارز برای سروتیپ های O157، O26 و O128. M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی، NC: کنترل منفی، PC1: کنترل مثبت سروتیپ O157 (۱۳۶ جفت بازی)، PC2: کنترل مثبت سروتیپ O26 (۲۴۸ جفت بازی)، PC3: کنترل مثبت سروتیپ O128 (۱۹۶ جفت بازی)، ۱: ایزوله های مثبت برای سروتیپ O128 *E. coli*

to identify enterohemorrhagic *Escherichia coli* of O157:H7 and other serotypes that cause hemorrhagic colitis and hemolytic uremic syndrome. *Journal of Infectious Diseases*. 156, 175–182.

8- Lin, A., Nguyen, L., Lee, T., Clotilde, L.M., Kase, J.A., Son, I., Carter, J.M., Lauzon, C.R. (2011) Rapid O serogroup identification of the ten most clinically relevant STECs by Luminex microbead-based suspension array. *Journal of Microbiological Methods*. 87, 105–110

9- Phillips, D., Jordan, D., Morris, S., Jenson, I., Sumner, J. (2004) Microbiological quality of Australian sheep meat in. *Meat Science*. 74, 261-6.

10- Shekarfroush, S., Tahamtan, Y., Pournabakhsh, A. (2008) Detection and frequency of Stx2 gene in *Escherichia coli* O157 and O157:H7 strains isolated from sheep carcasses in Shiraz-Iran. *Pakistan Journal of Biochemistry*. 11, 1085-92.

11- Sierra, M.L., Gonzalez-Fandos, E., Garcia-Lopez, M.L., Garcia-Fernandez, M.C. and Prieto, M. (1995) Prevalence of *Salmonella*, *Yersinia*, *Aeromonas*, *Campylobacter*, and Cold-Growing *Escherichia coli* on Freshly Dressed Lamb Carcasses. *Journal of Food Protection*. 58 (11), 1183-1185

12- Urdahl, A.M., Beutin, L., Skjerve, E., Wasteson, Y. (2002) Serotypes and virulence factors of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from healthy Norwegian sheep. *Journal of Applied Microbiology*. 93 (6):1026-33.

منابع مورد استفاده

۱- رضویلی، و. (۱۳۷۸) میکروب های بیماری زا در مواد غذایی و اپیدمیولوژی مسمومیت های غذایی، موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران. صفحات ۸۴-۹۰

2- Bennett, J., Bettelheim, K.A. (2002) Serotypes of non-O157 verocytotoxigenic *Escherichia coli* isolated from meat in New Zealand. *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases*. 25(2),77-84.

3- Gyles, C.L. (2007) Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: an overview. *Journal of Animal Science*. 85, 45–62.

4- Jafareyan-Sedigh, M.R., Rahimi, E., Doosti, A. (2011) Isolation of *Escherichia coli* O157: H7 in sheep meats using cultural and PCR method. *Journal of Shahrekord University of Medical Sciences*. 13(2), 61-68.

5- Johnson, K.E., Thorpe, C.M., Sears, C.L. (2006) The emerging clinical importance of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *Clinical Infectious Diseases*. 43, 1587–1595.

6- Jordan, D., Phillips, D., Sumner, J., Morris, S., Jenson, I. (2007) Relationships between the density of different indicator organisms on sheep and beef carcasses and in frozen beef and sheep meat. *Journal of Applied Microbiology*. 102, 57–64

7- Levine, M.M., Xu, J.G., Kaper, J.B., Lior, H., Prado, V., Tall, B., Nataro, J., Karch, H., Wachsmuth, K. (1987) A DNA probe

