مجله دنیای میکروب ها
سال چهارم، شماره اول و دوم (پیاپی ۱۰)، تابستان ۱۳۹۰
صفحات ۲۸ ـ ۲۳

Original Article

تمایز اشریشیا کلی و شیگلا از سایر انتروباکتریاسه‌ها با استفاده از تکثیر ژن *lamB*

جمیله نوروزی[۱]، رمضان رجب نیا[۲]، سیده مریم چناری*[۳]

[۱]استاد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، گروه میکروبیولوژی، [۲]استادیار، مرکز تحقیقات بیماری های عفونی، دانشگاه علوم پزشکی بابل
[۳]کارشناس ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، گروه میکروبیولوژی

چکیده

سابقه و هدف: وجود جلای فلزی و تخمیر لاکتوز برای شناسایی و تمایز اشریشیا کلی از سایر انتروباکتریاسه‌ها سال‌هاست که در آزمایشگاه‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. اما این روش‌ها اشکالاتی را نیز در تشخیص دقیق اشریشیا کلی به همراه دارد. در این مطالعه برای اولین بار در ایران با استفاده از تکنیک PCR به بررسی ژن *lamB* به منظور تمایز اشریشیا کلی و شیگلا از سایر اعضای انتروباکتریاسه جدا شده از نمونه‌های بالینی و آب‌های سطحی شهر بابل پرداخته شد.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش به صورت مقطعی ـ توصیفی بر روی ۱۰۰ نمونه بالینی جدا شده بیماران مراجعه کننده به مراکز درمانی و ۳۰ نمونه آب‌های سطحی شهر بابل انجام شد. تمامی نمونه‌ها بر روی محیط‌های ائوزین متیلن بلو و بلاد آگار کشت داده شدند. کلنی‌های رشد کرده با انجام تست‌های بیوشیمیایی شناسایی گشتند. سپس DNA نمونه‌ها استخراج و ژن *lamB* با استفاده از روش PCR تکثیر گردید.

یافته‌ها: تمامی ۱۳۰ نمونه کشت داده شده بر روی محیط‌های بلاد آگار و ائوزین متیلن بلو رشد کردند. در این پژوهش تمامی سویه‌های اشریشیا کلی (۴۰ مورد) و شیگلای (۳۰ مورد) مورد پژوهش به میزان ۱۰۰٪ ژن *lamB* را داشتند. اما در هیچ یک از باکتری‌های سالمونلا و کلبسیلا (هر کدام ۳۰ مورد) ژن یاد شده وجود نداشت.

نتیجه گیری: نتایج این پژوهش نشان داد که پایش ژن *lamB* یک روش مناسب برای جداسازی اولیه اشریشیا کلی و شیگلا از سایر اعضای انتروباکتریاسه می‌باشد.

واژگان کلیدی: انتروباکتریاسه، اشریشیا کلی، شیگلا، *lamB*

دریافت مقاله: بهمن ۱۳۸۹ پذیرش برای چاپ: اردیبهشت ۱۳۹۰

مقدمه

خانواده انتروباکتریاسه گروه بزرگ و ناهمگونی از باسیل‌های گرم منفی می‌باشند که در روده انسان و حیوانات زندگی می‌کنند. برخی از این ارگانیسم‌های روده‌ای مانند اشریشیا کلی و کلبسیلا قسمتی از فلور طبیعی انسان بوده و گاهی ایجاد بیماری می‌کنند. در حالی که برخی دیگر مانند سالمونلا و شیگلا به عنوان پاتوژن‌های اصلی شناخته شده‌اند (۱). اشریشیا کلی مهم‌ترین عضو خانواده بزرگ انتروباکتریاسه می‌باشد. برخی از تیپ‌های این باکتری با آسیب مستقیم و یا تهاجم بافتی ایجاد اسهال می‌نمایند (۲).

*) آدرس برای مکاتبه: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، دانشکده علوم پایه.
تلفن: ۰۹۳۵۵۰۲۳۷۰۵
پست الکترونیک: maryamchenary@yahoo

شیگلا از علل مهم ایجاد اسهال خونی در سراسر جهان بوده که منجر به تخریب سلول‌های اپیتلیال مخاط روده می‌گردد. برخی از سویه‌های این باکتری تولید انتروتوکسین و شیگا توکسین می‌نمایند که شباهت زیادی به وروتوکسین تولیدی توسط سویه O157:H7 از اشریشیا کلی دارند. شیگا توکسین و وروتوکسین موجب بروز سندرم اورمیک همولیتیک می‌شوند (۳). عفونت‌های سالمونلایی در تمامی نقاط دنیا منتشر بوده و التهاب حاد روده و تب تیفوئید از شایع‌ترین علایم آن به شمار می‌آیند (۴). کلبسیلا بزرگ‌ترین کپسول را در میان جنس‌های انتروباکتریاسه دارد. این کپسول تمام سطح سلول را پوشانده و باعث ایجاد مقاومت در برابر بسیاری از مکانیسم‌های دفاعی میزبان می‌گردد. این میکروارگانیسم‌ها عوامل مهمی در عفونت‌های بیمارستانی محسوب می‌شوند (۵).

ژن *lamB* پروتئین اینتگرال غشای خارجی به نام پروتئین LamB را کد می‌کند. این پروتئین ترایمری از زیر واحدهای مشابه است که هر یک از ۱۸ رشته متصل به هم به شکل بشکه‌های B تشکیل شده‌اند. هر زیر واحد یک منفذ پر از آب به قطر ۶-۵ آنگستروم دارد که به طور انتخابی به مالتوز و مالتودکسترین‌ها نفوذ پذیر می‌باشند. همچنین پروتئین LamB گیرنده برخی از فاژها مانند λ، K10 و TP1 می‌باشد (۶ و ۷). در مطالعات اخیر ارتباط ژنتیکی بین اشریشیاکلی و شیگلا مشخص شده است. به طوری که بررسی تشابه DNA نشان داده است که جنس شیگلا شباهت زیادی به اشریشیا کلی دارد (۸). به منظور تشخیص بیماری‌های عفونی استفاده از روش‌های باکتریولوژی مانند کشت میکروارگانیسم‌ها در محیط‌های انتخابی و شناسایی سویه‌ها با توجه به مرفولوژی و خصوصیات بیوشیمیایی آن‌ها بسیار زمان بر می‌باشد. وجود جلای فلزی و تخمیر لاکتوز برای شناسایی و تمایز اشریشیا کلی از سایر اعضای انتروباکتریاسه سال‌هاست که در آزمایشگاه‌ها مورد استفاده قرار گرفته است. اما این روش‌ها اشکالاتی را نیز در تشخیص دقیق اشریشیا کلی به همراه داشته است. در سال‌های اخیر، استفاده از تکنیک PCR تشخیص باکتری‌ها را در مدت زمان کوتاهی امکان پذیر کرده است (۹). در این مطالعه برای اولین بار در ایران با استفاده از روش PCR به بررسی ژن *lamb* به منظور تمایز اشریشیا کلی و شیگلا از سایر اعضای انتروباکتریاسه جدا شده از نمونه‌های بالینی و آب‌های سطحی شهر بابل پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

الف) جمع آوری نمونه‌ها: این پژوهش به صورت مقطعی- توصیفی بر روی ۱۰۰ نمونه بالینی شامل ادرار بیماران مبتلا به عفونت ادراری، آبسه، زخم و مدفوع بیماران مراجعه کننده به مراکز درمانی شهرستان بابل و نیز ۳۰ نمونه از آب‌های سطحی این شهرستان انجام پذیرفت. تمامی نمونه‌ها پس از جمع‌آوری به آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی بابل انتقال داده شدند.

ب) کشت و جداسازی: در ابتدا تمامی نمونه‌ها بر روی محیط‌های بلاد آگار و ائوزین متیلن بلو (EMB) کشت داده شده و به مدت ۲۴-۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شدند. سپس کلنی‌های خالص با استفاده از تست‌های بیوشیمیایی سیمون سیترات، اوره آز، لایزین دکربوکسیلاز، اورنیتین دکربوکسیلاز، آرژنین دهیدرولاز، TSI، SIM و MR/VP از نظر جنس و گونه شناسایی شدند. کلنی‌های خالص هر یک از جدایه‌ها تا انجام مراحل بعدی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردیدند (۱۰).

ج) استخراج *DNA* و *PCR*: به منظور استخراج DNA از کیت High Pure Template Preparation ساخت شرکت Roche آلمان استفاده شد. به منظور تکثیر قطعه *lamB* از پرایمرهای F: 5′-CTGATCGAATGGCTGCCAGGCTCC-3′ و R: 5′-CAACCAGACGATAGTTATCACGCA-3′ استفاده گردید (۱۱). واکنش PCR به منظور تکثیر قطعه مورد نظر با حجم نهایی ۵۰ میکرولیتر شامل: ۳۰ میکرولیتر آب دیونیزه، ۵۰ میلی مولار KCl، ۵۰ میلی مولار Tris-HCl، ۰/۲ پیکو مول از هر پرایمر، ۰/۲ میلی مولار dNTPs، ۱/۵ واحد آنزیم DNA پلی مراز *Taq*، ۲ میلی مولار $MgCl_2$ و ۴۰۰ نانوگرم از DNA الگو انجام گرفت. واکنش PCR در دستگاه ترموسایکلر (corbet، استرالیا) با شرایط دمایی ۵ دقیقه واسرشت شدن ابتدایی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد و در ادامه ۳۵ چرخه شامل واسرشت شدن در دمای ۹۴

جدول ۱: نمونه‌های جدا شده از مراکز درمانی و آب‌های سطحی شهرستان بابل.

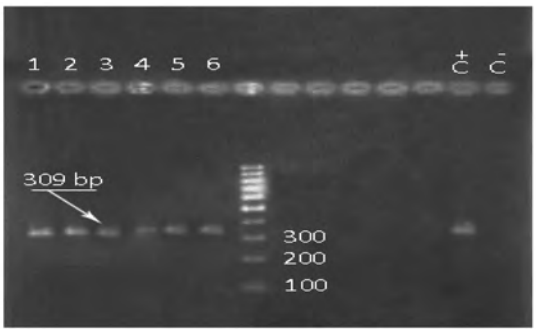
نوع نمونه	اشریشیا کلی	کلبسیلا	شیگلا	سالمونلا	جمع کل
بالینی	۲۵ (٪۲۵)	۲۵ (٪۲۵)	۳۰ (٪۳۰)	۲۰ (٪۲۰)	۱۰۰ (٪۱۰۰)
محیطی	۱۵ (٪۵۰)	۵ (٪۱۶/۶۷)	-	۱۰ (٪۳۰/۳۳)	۳۰ (٪۱۰۰)
جمع	۴۰ (٪۳۰/۷۶)	۳۰ (٪۲۳/۰۸)	۳۰ (٪۲۳/۰۸)	۳۰ (٪۲۳/۰۸)	۱۳۰ (٪۱۰۰)

درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، اتصال در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، طویل شدن در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و در نهایت طویل شدن نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه انجام شد. محصول PCR به ژل آگاروز ۱/۵ درصد منتقل و در ولتاژ ۷۰ ولت به مدت ۴۵ دقیقه الکتروفورز گردید. در نهایت محصول PCR زیر نور UV عکس برداری شد و باندها مورد بررسی قرار گرفتند.

نتایج

الف) جداسازی باکتری‌های: در مجموع ۱۳۰ نمونه بالینی و محیطی به ترتیب از مراکز درمانی و آب‌های سطحی شهرستان بابل جمع‌آوری گردید. تمامی نمونه‌های کشت داده شده بر روی محیط‌های بلاد آگار و ائوزین متیلن بلو رشد کردند. باکتری‌های رشد کرده بر اساس تست‌های بیوشیمیایی و مطابق با جداول تشخیصی میکروبیولوژی شناسایی شدند (جدول ۱) .

ب) شناسایی ژن *lamB*: نتایج PCR نشان دهنده حضور باند ۳۰۹ جفت بازی و تکثیر ژن *lamB* بود. در این پژوهش از ۴۰ باکتری اشریشیا کلی و ۳۰ شیگلای جداسازی شده هر کدام به طور ۱۰۰٪ دارای ژن *lamB* بودند (شکل ۱). اما در هیچ یک از باکتری های سالمونلا و کلبسیلا چنین باندی مشاهده نگردید.



شکل ۱: نتایج حاصل از الکتروفورز محصول PCR. ستون‌های ۱ تا ۶ نشان دهنده حضور ژن *lamB* (۳۰۹bp)، M) سایز مارکر (۱۰۰bp)، -C) کنترل منفی، +C) کنترل مثبت.

بحث

در آزمایشگاه‌های میکروب‌شناسی، باکتری اشریشیا کلی با کشت بر روی محیط ائوزین متیلن بلو (EMB) و ایجاد جلای فلزی شناسایی می‌گردد. اما اصولاً هر باکتری که بتواند لاکتوز را تخمیر و محیط کشت را به شدت اسیدی نماید مانند برخی از گونه‌های انتروباکتر و سیتروباکتر نیز می‌تواند بر روی این محیط جلای فلزی ایجاد کند. این مساله به نوع، کیفیت و چگونگی ساخت محیط کشت و pH آب مقطر مصرفی بستگی دارد و از این رو فاکتور تشخیصی مناسبی نمی‌باشد. زیرا برخی از گونه‌های اشریشیا مانند اشریشیا ایناکتیو (*E. inactive*) به دلیل ناتوانایی تخمیرلاکتوز و یا تخمیر دیر هنگام آن جلای فلزی نیز ایجاد نمی‌نمایند (۱۲).

ویلسونویل (Wilsonville) نیز در سال ۲۰۰۸ این مطلب را تأکید و بیان داشت که به دلیل غیر اختصاصی بودن محیط کشت ائوزین متیلن بلو در شناسایی اشریشیا کلی و سایر باکتری‌های تخمیر کننده، به آزمایش‌های دیگری برای تشخیص دقیق باکتری‌ها نیاز می‌باشد (۱۳).

بج (Bej) و همکاران در سال ۱۹۹۰ برای شناسایی کلی‌فرم‌ها از نمونه‌های آب از محیط‌های کشت اختصاصی و تست‌های افتراقی استفاده نمودند. آن‌ها همچنین برای آن که بتوانند این باکتری‌ها را سریع‌تر از روش‌های بیوشیمیایی شناسایی کنند از واکنش PCR

برای تکثیر ژن‌های *lamB* و *lacZ* استفاده نمودند (۱۱).

آسنسی (Asensi) و همکاران در سال ۱۹۸۱ باکتری‌های اشریشیا کلی و سالمونلا را از نمونه‌های مرغ جداسازی کردند. آن‌ها برای شناسایی سریع‌تر این باکتری‌ها از روش Multiplex PCR استفاده نمودند. همچنین آن‌ها برای تشخیص اشریشیاکلی از ژن *lamB* استفاده کردند (۹). اما در مطالعه حاضر با استفاده از روش PCR اقدام به تکثیر ژن *lamB* گردید.

در گذشته به طور معمول گروه بندی گونه‌های شیگلا مانند بسیاری از باکتری‌های دیگر بر اساس خصوصیات فیلوژنی و یا منشا آن‌ها پایه‌گذاری شده بود. بعدها کلیدهایی برای گروه‌بندی ویژگی‌هایی مانند مصرف سوبسترا و فعالیت‌های آنزیمی پیشنهاد شد. اما امروزه با توجه به توسعه روش‌های مولکولی پیشنهادات جدیدی در مورد گروه بندی شیگلا ارائه شده است (۱۴).

مارتینز (Martínez) و همکارانش در سال ۲۰۰۴ با مطالعه بر روی ژن‌های کلبسیلا درپی اصلاح گروه‌بندی این باکتری برآمدند. این محققین بیان داشتند که مشخصات فنوتیپی در بین سویه‌های خویشاوند بسیار متنوع است و در سویه‌های مختلف در توانایی استفاده از یک سوبسترای معین تفاوت‌هایی وجود دارد. بنابراین استفاده از سوبسترا نمی‌تواند استدلال قابل اطمینانی برای گروه‌بندی باشد (۱۵). همچنین سو (So) و همکاران در سال ۱۹۹۴ گزارش کردند که اطلاعات فنوتیپی در برخی از باکتری‌ها یافت می‌شود که با سایر ارزیابی‌های گروه بندی در تضاد می‌باشند (۱۶). ولچ (Welch) و همکاران نیز در سال ۲۰۰۲ بیان داشتند که اطلاعات به دست آمده از توالی‌یابی ژن‌ها با گروه‌بندی رایج باکتری‌های روده‌ای در تضاد می‌باشند (۱۷).

پوپو (Pupo) و همکاران در سال ۲۰۰۶ در کشور استرالیا اظهار داشتند که باکتری‌های شیگلا و اشریشیا کلی به دلیل رابطه خویشاوندی بسیار نزدیکی که با یکدیگر دارند همیشه مورد توجه بوده‌اند. اما یافتن خصوصیاتی که بتوانند سویه‌های شیگلا را از اشریشیا کلی متمایز نمایند در تست‌های تشخیص پزشکی ضروری است. در گذشته عدم توانایی در تخمیر قند لاکتوز و غیرمتحرک بودن شیگلا به عنوان فاکتوری در جداسازی این باکتری‌ها از اشریشیا کلی مطرح بوده است. اما در دهه ۱۹۴۰ با شناسایی سویه‌های پاتوژنی که توانایی تخمیر برخی از قندها و مشخصات دیگر اشریشیاکلی را بیشتر از شیگلا داشتند، موضوع بغرنج و پیچیده‌تر گردید. این ارگانیسم‌ها به عنوان فرم‌های پاتوژنیک اشریشیاکلی تلقی شدند. اما اکنون واضح به نظر می‌رسد که سویه‌های شیگلا گروه گسسته و مجزایی از اشریشیا کلی نمی‌باشند و حتی یک زیرگونه را نیز تشکیل نمی‌دهند. به همین دلیل پژوهشگران تمامی سویه‌های شیگلا را به عنوان فرم‌هایی از اشریشیاکلی می‌شناسند (۱۸).

امروزه مطالعات تشابه DNA نشان داده است که شیگلا در جنس اشریشیاکلی قرار می‌گیرد. در مطالعه حاضر نیز باکتری‌های اشریشیاکلی و شیگلا هر دو توانستند با استفاده از روش PCR ژن *lamB* را تکثیر نمایند. اما این رویداد در باکتری‌های سالمونلا و کلبسیلا مشاهده نگردید. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که احتمالاً باکتری‌های اشریشیا کلی و شیگلا در یک گروه قرار دارند. اما سالمونلا و کلبسیلا باید در گروه جداگانه‌ای طبقه‌بندی شوند.

نتیجه‌گیری

برای جداسازی اشریشیا کلی و شیگلا از سایر اعضای انتروباکتریاسه به دلیل شباهت مورفولوژیکی و بیوشیمیایی باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه ، بهتر است ابتدا ارزیابی وجود ژن *lamB* انجام شود و سپس با استفاده از تست‌های بیوشیمیایی این دو باکتری از یکدیگر تفکیک گردند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از کارشناس محترم آزمایشگاه دانشگاه علوم پزشکی بابل آقای مقداد باقری و خانم‌ها فاطمه آهنگرکانی، مهتاب علیجان پور، نادیا قاسمیان به دلیل همکاری صمیمانه در اجرای این پژوهش کمال امتنان را دارند.

References

1. Messaoudi A, Wagenlehner F. Identification of meat-isolated *Enterobacteriaceae* by an insilico-ARDRA approach. Emir J Food Agric. 2010; 22 (2): 91-102.
2. Renato H.o, Stoppe NC, Ines MZ, Ottoboni M. Identification of *Escherichia coli* form groups A, B1, B2 and D in drinking water in Brazil. J Water Health. 2007; 5 (2): 256-289.
3. Nicolas X, Granier H, Le Guen P. Shigellosis or bacillary dysentery. Presse Med. 2007; 36(11): 1606-1618.
4. Nolan CM, Laborde MA, Howell RT, Robbins JB. Identification of *Salmonella typhi* in feacal specimens by antiserum-agar method. J Med Microbiol. 1980; 13 (5): 373-377.
5. Kamatchi C, Magesh H, Sekhar U, Vaidyanathan R. Identification of clonal clusters of *Klebsiella pneumoniae* isolates from Chennai by extended spectrum beta lactamase genotyping and antibiotic resistance phenotyping analysis. Am J Infect Dis. 2009; 5(2): 74-82.
6. Andersen C, Bachmeyer C, Tauber H, Benz R, Wang J, Michel V, Newton SM, Hofnung M, Charbit A. In vivo and in vitro studies of major surface loop deletion mutants of the *Escherichia coli* K-12 maltoporin: contribution to maltose and maltooligosaccharide transport and binding. Mol Microbiol. 1999; 32 (3): 851-867.
7. Clement JM, Neagebaur H. LamB maltose outer membrane porin (maltoporin) *Escherichia coli str.K12 substr. MG1655*. Wikigenes. 2008; 54 (6): 364-373.
8. Lan R, Reeves PR. *Escherichia coli* in disguise: molecular origins of *Shigella*. Microbes Infect. 2002; 4(11): 1125-1132.
9. Asensi GF, Rodriguez DP, Silva JT, Paschoalin VMF. Isolation and identification of *E. coli* and *Salmonella* in chicken rinse through microbiological and molecular methods. Appl Environ Microbiol. 1981; 41(2): 647-53.
10. Murphy CP, Reid-Smith RJ, Boerlin P, Weese JS, Prescott JF, Janecko N, Hassard L, McEwen SA. *Escherichia coli* and selected veterinary and zoonotic pathogens isolated from environmental sites incompanion animal veterinary hospitals in southern Ontario. Can Vet J. 2010; 51 (9): 963-972.
11. Bej AK, Steffan RJ, DiCesare J, Haff L, Atlas RM. Detection of coliform bacteria in water by polymerase chain reaction and gene probes. Appl Environ Microbiol. 1990; 56(2): 307-314.
12. Sansonetti PJ, Hauteville H, Ecobichon C, Pourcel C. Molecular comparison of virulence plasmids in *Shigella* and enteroinvasive *Escherichia coli*. Ann Microbiol. 1983; 134 (1): 295-318.
13. Wilsonville M. Eosin methylene blue (EMB) media. PML Microbiol. 2009; 215 (4): 50-58.
14. Johnson JR. *Shigella* and *Escherichia coli* at the cross roads: Machiavellian masqueraders or taxonomic treachery? J Med Microbiol. 2000; 49 (7): 583-585.
15. Martinez J, Martinez L, Rosenblueth M, Silva J, Martinez-Romero E., How are gene sequence analyses modifying bacterial taxonomy? The case of *Klebsiella*. Int Microbiol. 2004; 7(4): 261-268.
16. So RB, Ladha JK, Young JP. Photosynthetic symbionts of *Aeschynomene* spp. form a cluster with bradyrhizobia on the basis of fatty acid and rRNA analyses. Int J Syst Bacteriol. 1994; 44 (3): 392-403.
17. Welch RA, Burland V, Plunkett G, Redford P, Roesch P, Rasko D, Buckles EL, Liou SR, Boutin A, Hackett J, Stroud D, Mayhew GF, Rose DJ, Zhou S, Schwartz DC, Perna NT, Mobley HLT, Donnenberg MS, Blattner FR. Extensive mosaic structure revealed by the complete genome sequence of uropathogenic *Escherichia coli*. Proc Natl Acad Sci USA. 2002; 99(26): 17020-17024.
18. Pupo GM, Lan R, Reeves PR. Multiple independent origins of Shigella clones of *Escherichia coli* and convergent evolution of many of their characteristics. Proc Natl Acad Sci USA. 2000; 97(19): 10567-10572.

Journal of Microbial World
Volume 4, No. 1 & 2, September 2011

Identification and differentiation of *E. coli* and *Shigella* from other *Enterobacteriaceae* sp. by *lamB* gene amplification

Jamileh Nowroozi[1], Ramazan Rajabnia[2], Seyedeh Maryam Chenari[3]

[1]Professor, Department of Microbiology, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
[2]Assistant Professor, Infectious Diseases Research Center, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran.
[3]M.Sc., Department of Microbiology, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Abstract

Background and Objective: Metallic green sheen and lactose fermentation has been used for identification and differentiation of *E. coli* from other *Enterobacteriaceae* in laboratories for many years. However, these methods defect to accurate diagnosis of *E. coli*. This study employed lamB gene PCR amplification to distinguish *E. coli* and *Shigella* from other *Enterobacteriaceae* isolated from clinical samples and surface waters, collected in Babol, Iran.

Material and Methods: In this cross-sectional study, 100 clinical samples from patients attending health centers and 30 surface water samples were gathered in Babol. All samples were grown on blood agar and Eosin methylene blue. After first biochemical identification, DNA of the samples were extracted and *lamB* gene was amplified using the PCR reaction.

Results: After cultivation of the samples on blood agar and eosin methylene blue media and biochemical identification of the strains, it has been shown that all 40 isolated *E. coli* and 30 *Shigella* carry the *lamB* gene. However, none of the *Salmonella* and *Klebsiella* strains showed the related band.

Conclusions: According to the findings of this study, investigation of *lamB* gene is an appropriate method for initial isolation of *E. coli* and *Shigella* from other *Enterobacteriaceae*.

Keywords: Enterobacteriaceae, E. coli, Shigella, lamB gene.

Correspondance to: Seyedeh Maryam Chenari
Tel: +989355023705
E-mail: maryamchenary@yahoo
Journal of Microbial World, 2011, 4(1&2): 23-28.